

Aus dem Institut für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Bedeutung von beta-Zell-Autoantikörpern für Diabetes mellitus
bei Erwachsenen in Ghana-Land und Ghana-Stadt sowie bei
ghanaischen Migranten in Amsterdam, London und Berlin

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Diomira Chalanka Sahabandu

aus Bonn

Datum der Promotion: 17.09.2021

Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in: Hampe CS, **Sahabandu D**, Kaiser V, Telieps T, Smeeth L, Agyemang C, Spranger J, Schulze MB, Mockenhaupt FP, Danquah I, Rolandsson O. Geographic location determines beta-cell autoimmunity among adult Ghanaians: Findings from the RODAM study. *Immun Inflamm Dis*. 2020 Sep;8(3):299-309. doi:10.1002/iid3.306.

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung/Abstract	6
2. Einleitung.....	9
2.1 Epidemiologie des Diabetes mellitus bei afrikanischen Bevölkerungsgruppen.....	9
2.1.1 Häufigkeit von Diabetes in Subsahara Afrika.....	9
2.1.2 Häufigkeit der Erkrankung bei afrikanischen Migranten in Europa.....	10
2.2 Diabetes-Management in Afrika und Europa.....	11
2.2.1 Behandlungssituation von Diabetes in Afrika.....	11
2.2.2 Behandlungssituation von Diabetes bei Migranten aus Subsahara Afrika in Europa.....	13
2.3 Klassifikation von Diabetes mellitus.....	14
2.3.1 Atypische Diabetes in Subsahara Afrika.....	17
2.4 Zielsetzung und Fragestellung.....	20
3. Material und Methodik.....	20
3.1 Studiendesign und Studienpopulation.....	20
3.2 Rekrutierung und Ablauf.....	21
3.3 Ethik-Erklärung.....	23
3.4 Fragebogengestützte Interviews.....	23
3.5 Anthropometrische Messungen.....	24
3.6 Biologische Probenverarbeitung und klinische Biomarker.....	24
3.7 Messungen von Beta-Zell-Autoantikörpern.....	25
3.8 Statistische Analyse.....	30
4. Ergebnisse.....	33
4.1 Charakteristika der Studienbevölkerung.....	33

4.2 GAD65Ak in Abhängigkeit vom Studienort.....	33
4.3 Immunglobulin-Isotypen und IgG-Subklassen.....	39
4.4 Faktoren, die mit den GAD65Ak-Konzentrationen zusammenhängen.....	39
4.5 GAD65Ak in Abhängigkeit vom Diabetes-Status.....	45
5. Diskussion.....	47
5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse.....	47
5.2 Stärken und Limitationen.....	47
5.3 GAD65Ak-Konzentrationen, Ethnizität und Diabetes-Status.....	48
5.4 Infektiöse Umwelt und GAD65Ak.....	50
5.5 Schlussfolgerungen.....	52
6. Literaturverzeichnis.....	52
7. Eidesstattliche Versicherung.....	65
8. Anteilserklärung.....	66
9. Lebenslauf.....	67
10. Publikationsliste.....	69
11. Danksagung.....	70

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Ursache und Risikofaktoren von Typ-1-Diabetes, Typ-2-Diabetes und Gestationsdiabetes.....	16
Tabelle 2: Überblick über die Bewertungen der Beta-Zell-Autoantikörper in der Population der RODAM-Studie.....	29
Tabelle 3: Allgemeine Merkmale der RODAM-Studienpopulation, nach Geschlecht und Studienort (N = 5.898).....	34

Tabelle 4: Proportionen der GAD65Ab-Positivität nach Diabetes mellitus-Status und Studienort.....	37
Tabelle 5: Angepasste Mittelwerte für GAD65Ak-Konzentrationen (U/mL) nach soziodemographischen und klinischen Faktoren.....	43
Abbildung 1: Kompetitive Assays von GAD65Ak in Ghana und Europa.....	26
Abbildung 2: Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analysen für Ghana und Europa.....	27
Abbildung 3: Flussdiagramm der ausgeschlossenen Teilnehmer und der imputierten Daten.....	32
Abbildung 4: GAD65Ak-Konzentrationen (U/mL) bei 5.898 Teilnehmern, nach Studienort.....	36
Abbildung 5: ZnT8Ak-Konzentrationen (U/mL) bei 146 Teilnehmern aus Europa und 141 Teilnehmern aus Ghana.....	38
Abbildung 6: Immunglobulin (Ig)-Isotypen und IgG-Subklassen (mg/mL) bei 316 Teilnehmern nach Studienort.....	40
Abbildung 7: Immunglobulin-(Ig)-Isotope und IgG-Subklassen (mg/mL) bei 316 Teilnehmern.....	41
Abbildung 8: Spearman-Korrelationen zwischen GAD65Ak und Immunglobulin-Isotypen und Konzentrationen der IgG-Subklassen bei 316 Teilnehmern.....	42
Abbildung 9: GAD65Ak-Konzentrationen (U/mL) unter Verwendung des Radioliganden-Bindungs-Assays (RBA) und zweier Enzym-Immunsorbent-Assays (ELISA).....	46

1. ZUSAMMENFASSUNG/ABSTRACT

Einleitung: Beta-Zell-Autoantikörper sind bekannte Autoantikörper, die mit Diabetes mellitus (im Folgenden: DM) assoziiert sind. Diese Marker der Autoimmunität wurden zwischen ghanaischen Erwachsenen mit und ohne DM verglichen, die in Ghana auf dem Land und in der Stadt sowie in Amsterdam, Berlin und London leben.

Methodik: Die Autoantikörper gegen Glutaminsäuredecarboxylase (GAD65Ak) wurden mittels Radioligandenbindungsassay (RBA) in der Research on Obesity and Diabetes among African Migrants (RODAM)-Studie gemessen (N=5.898). Die Cut-offs für die Positivität wurden durch eine Verdrängungsanalyse bestimmt. Der neu etablierte Marker für Autoimmunität, Zink-Transporter-8-Autoantikörper (ZnT8Ak), wurde mittels RBA in zwei Unterproben (d.h. Europa und ländliches Ghana) untersucht. Die Beziehung zwischen GAD65Ak und jeweils ökologischen, soziodemographischen und klinischen Faktoren wurde bestimmt.

Ergebnisse: Die Studienpopulation hatte ein Durchschnittsalter von 46,1±11,9 Jahren und 62% waren weiblich. 1111 Teilnehmer stammten aus dem ländlichen Ghana, 1455 aus dem städtischen Ghana und 3332 lebten in Europa. 9,2% der Studienpopulation hatten DM mit Beginn im Erwachsenenalter. Die höchste Konzentration von GAD65Aks wurde in der Stichprobe aus dem ländlichen Ghana gefunden (32,4, 10,8-71,3 U/mL), gefolgt vom städtischen Ghana (26,0, 12,3-49,1 U/mL) und Europa (11,9, 3,0-22,8 U/mL). Zwischen den europäischen Städten wurden keine Unterschiede in den GAD65Ak-Konzentrationen festgestellt. Ähnliche Konzentrationsmuster wurden für ZnT8Ak ermittelt. Erhöhte Konzentrationen von Leber-Enzymen, Fieber in der Vorgeschichte und aktuelles Fieber hatten nur einen

geringen Einfluss auf die GAD65Ak-Konzentrationen an jeweiligem Studienort. Die Häufigkeit der GAD65Ak-Positivität war in der DM- und Nicht- DM-Gruppe ähnlich (5,4% vs. 6,1%, $p=0,25$). Dies war auch bei der ZnT8Ak-Positivität der Fall.

Schlussfolgerung: Die GAD65Ak- und ZnT8Ak-Positivität wurde durch die geografische Lage und nicht durch den DM-Status bestimmt. Dies deutet darauf hin, dass Marker der Beta-Zell-Autoimmunität möglicherweise nicht geeignet sind, zwischen verschiedenen DM-Typen in dieser Population zu unterscheiden.

Introduction: Beta-cell autoantibodies are well known autoantibodies associated with diabetes mellitus (hereafter: DM): These markers of autoimmunity were compared between Ghanaian adults with or without DM, living either in rural or urban Ghana, Amsterdam, Berlin or London.

Methods: Autoantibodies against glutamic acid decarboxylase (GAD65Ab) were measured by radioligand binding assay (RBA) in the multi-center cross-sectional Research on Obesity and Diabetes among African Migrants (RODAM)-Study (N=5,898). Cut-offs were determined for positivity by displacement analysis. The newly established marker for autoimmunity, zinc transporter 8 autoantibodies (ZnT8Ab), was tested for in a sub-sample (i.e. Europe and rural Ghana) by RBA. The relationship between GAD65Ab and environmental, socio-demographic and clinical factors, respectively, were determined.

Results: The study population had an average age of 46.1 ± 11.9 year and 62% were female. 1111 participants were from rural Ghana, 1455 from urban Ghana and 3332

lived in Europe. 9.2% of the study population had DM with adult onset. The highest concentration of GAD65Abs were found in the sample from rural Ghana (32.4, 10.8-71.3 U/mL), followed by urban Ghana (26.0, 12.3-49.1 U/mL) and Europe (11.9, 3.0-22.8 U/mL). No differences in GAD65Ab concentrations were found between European cities. A similar pattern of concentration was observed for ZnT8Abs. Elevated concentrations of liver enzymes, history of fever and current fever had only a slight effect on GAD65Ab concentrations in each study location. The frequency of GAD65Ab positivity was similar in the DM and non-DM group (5.4% vs. 6.1%, $p=0.25$). This was also the case for ZnT8Ab positivity.

Conclusion: GAD65Ab and ZnT8Ab positivity was determined by the geographic location rather than by DM status. This suggests that markers of beta-cell autoimmunity may not be appropriate to distinguish between different types of DM in this population.

2. EINLEITUNG

2.1 Epidemiologie des Diabetes mellitus bei afrikanischen Bevölkerungsgruppen

Diabetes mellitus (im Folgenden: DM) stellt eine große Herausforderung für die Gesundheitssysteme vieler Länder dar. Nach Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat sich die Zahl der Erwachsenen mit DM zwischen 1980 und 2014 auf 422 Millionen verdoppelt (1). Während dieser rasche Anstieg weitgehend auf das Auftreten von Typ-2-Diabetes (T2D) in Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen zurückzuführen ist, ist die Unterscheidung zwischen den wichtigsten DM-Subtypen nicht unerheblich. Dies gilt insbesondere für Afrikaner in ihrem Herkunftsland und für afrikanische Migranten in Europa; beide Gruppen sind unverhältnismäßig stark von der Erkrankung betroffen (2).

2.1.1 Häufigkeit von Diabetes in Subsahara Afrika

Laut der International Diabetes Federation (IDF) sind in der IDF Africa Region (bestehend aus 48 Länder in sub-Sahara Afrika) schätzungsweise 15,5 (9,8-27,8) Millionen Erwachsene im Alter von 20-79 Jahren an DM erkrankt (3). Die höchste Prävalenz von DM liegt zwischen 55 und 64 Jahren und über zwei Drittel (69,2%) der Menschen mit DM sind sich ihrer Erkrankung nicht bewusst (3). Mehr als die Hälfte (55,3%) der Menschen mit DM leben in Städten, obwohl die Bevölkerung in der Region überwiegend (60,3%) auf dem Land lebt (3).

Einige der bevölkerungsreichsten Länder in sub-Sahara Afrika haben die höchste Zahl von Menschen mit DM, darunter Äthiopien (2,6 (1,1-3,8) Millionen), Südafrika (1,8 (1,1-3,6) Millionen), die Demokratische Republik Kongo (1,7 (1,4-2,1) Millionen) und Nigeria (1,7 (1,2-3,9) Millionen) (3). Etwa 45,1% aller Erwachsenen im Alter von 20-79 Jahren mit DM in der Region leben in diesen vier Ländern (3).

Mit zunehmender Urbanisierung und alternder Bevölkerung wird T2D eine immer größere Herausforderung für die Gesundheitssysteme darstellen. Es wird erwartet, dass im Jahr 2045 in dieser Region 40,7 Millionen Erwachsene im Alter von 20 bis 79 Jahren mit DM leben werden, mehr als doppelt so viele wie im Jahr 2017 (3). Ebenso wird erwartet, dass sich die Zahl der Menschen mit eingeschränkter Glukosetoleranz (IGT) zwischen 2017 und 2045 mehr als verdoppeln wird (1, 3). Schätzungsweise 50.600 Kinder und Jugendliche unter 20 Jahren leben mit Typ-1-Diabetes (T1D) in der IDF Africa Region (3).

2.1.2 Häufigkeit der Erkrankung bei afrikanischen Migranten in Europa

Im Allgemeinen ist es schwierig, spezifische Zahlen über das Auftreten von DM bei Migranten aus Subsahara Afrika in Europa zu ermitteln. Jedoch haben allgemein Migranten in Europa eine höhere Inzidenz, Prävalenz und Sterblichkeitsrate für DM als die Bevölkerung des Gastlandes (4). Bei Migranten in der Europäischen Region der WHO wird beobachtet, dass sie ein erhöhtes Risiko haben, an T2D zu erkranken, und diese Entwicklung kann in einem früheren Alter eintreten als bei der Aufnahmebevölkerung des Herkunftslandes (5,6,7). Einige Länder in der Region verzeichnen zudem mehr chronische DM-Komplikationen bei Migranten, insbesondere mikrovaskuläre Komplikationen wie Nephropathie, diabetische Retinopathie und periphere Neuropathie sind bei dieser Bevölkerung schlimmer (4). Die Sterblichkeit bei DM ist in einigen Ländern höher, wobei die Raten bei Männern dreimal und bei Frauen, die in die Niederlande eingewandert sind, viermal so hoch sind (4). Diese Beobachtungen zur Mortalität hängen jedoch vom Herkunftsland oder der Herkunftsregion der Flüchtlinge und Migranten ab. Beispielsweise ist laut der WHO die Inzidenz von DM bei Flüchtlingen und Migranten aus Afrika, Asien und

dem Nahen Osten nach Dänemark 2,5-mal höher als bei der Aufnahmebevölkerung (8), während bei Flüchtlingen und Migranten aus anderen europäischen oder amerikanischen Ländern die Inzidenz von DM um 20% niedriger ist als bei der dänischen Bevölkerung (9). Hinweise aus Schweden legen nahe, dass Migranten aus Asien eine 3,2-mal höhere Wahrscheinlichkeit haben, an T2D zu erkranken, Migranten aus Subsahara-Afrika eine 2,5-mal höhere Wahrscheinlichkeit und Migranten aus Nordafrika/der Nahost-Region eine 2,1-mal höhere Wahrscheinlichkeit (10). Unterschiede zwischen der Bevölkerung des Aufnahmelandes und der Migrantenbevölkerung können auf Faktoren wie bessere Gesundheitsfrüherkennungsprogramme zur Förderung der Frühdiagnose in den europäischen Ländern der WHO (7), genetischer Hintergrund, Nichterreichen von Behandlungszielen, niedrige Früherkennungsraten, fehlende Präventionsmaßnahmen, sozioökonomische Faktoren und Qualität der Diabetesversorgung zurückzuführen sein (4).

2.2 Diabetes-Management in Afrika und Europa

2.2.1 Behandlungssituation von Diabetes in Afrika

In den letzten Jahren hat es in Afrika bedeutende Fortschritte bei der Behandlung von DM gegeben, wobei die Abdeckung und die Art der DM-Versorgungsdienste erweitert wurden. Die Schaffung von nationalen Diabetesregistern, Diabetesverbänden und nationalen Diabetesprogrammen und die Annahme angepasster Richtlinien für den Umgang mit DM in mehreren Ländern Afrikas sowie die Ausweitung des multidisziplinären Ansatzes bei der Behandlung von DM haben in Afrika zunehmend an Boden gewonnen (11). Trotz der Fortschritte, die im Umgang mit DM in Afrika erzielt wurden, bleibt bei der Versorgung von DM-

Patienten in Afrika noch viel zu tun. DM ist eine teure chronische Krankheit, nicht nur für die Gesundheitssysteme der Länder Afrikas, sondern auch für den einzelnen Patienten angesichts der Organisation und Finanzierung der Gesundheitssysteme und der Bezahlung der Gesundheitsdienste durch die Patienten (3, 12).

Choukem et al. (2019) schlussfolgern in Ihrem umfassenden Kapitel zur DM Behandlungssituation in Afrika, dass die Hindernisse für eine angemessene Behandlung von DM vielseitig seien (11). Im Einzelnen durch die Nichtverfügbarkeit der Logistik für die Diabetesversorgung, die mangelnde Kenntnis der Bevölkerung für DM und seine Behandlung und Komplikationen aufgrund von Nichtbehandlung oder mangelnder Compliance, die schlechte Blutzuckereinstellung und späte Vorstellung in Gesundheitseinrichtungen, insbesondere bei T1D (13), die Knappheit an Gesundheitspersonal insgesamt und in an der Diabetesversorgung geschultem Personal und der Zugang zu Medikamenten aufgrund ihrer Kosten (14).

Es wird prognostiziert, dass sich die Ausgaben von Menschen mit DM bis 2045 verdoppeln und 6,0 Milliarden USD erreichen werden (3).

Die Länder in der IDF Africa Region mit den höchsten durchschnittlichen Gesundheitsausgaben für DM sind Äquatorialguinea (Internationale Dollar (ID) 2.087), Südafrika (ID 1.884) und Namibia (ID 1.611), während die Länder mit den niedrigsten durchschnittlichen Ausgaben die Zentralafrikanische Republik (ID 46), die Demokratische Republik Kongo (ID 65) und Madagaskar (ID 86) sind (3).

Afrika, das anfangs nur von der Belastung durch übertragbare Krankheiten geplagt war, sieht sich heute einer doppelten Krankheitslast gegenüber, da die Zahl der Patienten mit nicht übertragbaren Krankheiten zunimmt. Daher stehen die Gesundheitssysteme der Länder in diesem Teil der Welt vor der Herausforderung, die Ressourcen von den traditionellen übertragbaren Krankheiten wie Malaria, HIV und

Tuberkulose auf den Umgang mit chronischen nichtübertragbaren Krankheiten wie DM umzuverteilen (12). Dies wird daher für die Gesundheitssysteme dieser Länder, die standardmäßig eher für den Umgang mit akuten Krankheiten als mit chronischen Krankheiten geeignet sind, zu einer extremen Herausforderung (15).

2.2.2 Behandlungssituation von Diabetes bei Migranten aus Subsahara Afrika in Europa

Die Belastung durch DM bei Einwanderergruppen, die ethnische Minderheitengruppen in westlichen Ländern bilden, gilt allgemein als höher (16, 17). Nach Angaben der National Institute for Health and Care Excellence (NICE) ist Ethnizität ein Risikofaktor für die Entwicklung von T2D (18). Migranten aus Subsahara Afrika in Europa sind besonders von DM betroffen, da bei ihnen in der Literatur eine höhere Prävalenz von DM angegeben wird (19). Beispielsweise wird berichtet, dass Migranten aus Subsahara Afrika in den Niederlanden ein mehr als fünfmal höheres Risiko haben, an DM zu erkranken, als die Allgemeinbevölkerung (20). Zudem zeigen Studien, dass die Diabetesprävalenz unter afrikanischen Einwanderern mit den Jahren der Migration zunimmt (21). Alloh et al. (2019) erforschen in einem systematischen Review Erklärungen für das schlechtere DM-Management bei Migranten aus Subsahara Afrika (21). Dazu gehören die späte Diagnose von DM, Ernährungsprobleme und das Fehlen einer individualisierten Betreuung. Diese Faktoren sind wichtig, um zu einem adäquaten DM-Management beizutragen, da sie mit Faktoren des Lebensstils bei der DM-Behandlung zusammenhängen (22). Es hat sich gezeigt, dass Lebensstil-Faktoren die erfolgreiche Behandlung von DM stark beeinflussen (23). Dies gilt umso mehr, als es sich beim DM-Management in erster Linie um einen Zustand des Selbstmanagements handelt

(23). Eine weitere Erklärung für das schlechtere Management bei Migranten aus Subsahara Afrika könnte auf ein geringeres Bewusstsein für DM zurückzuführen sein, da in dieser Gruppe über ein geringeres Bewusstsein für DM berichtet wird (21). Viele kennen ihren DM-Status nicht, und in den überprüften qualitativen Studien wird über ein begrenztes Wissen über DM als Krankheit berichtet (21).

2.3 Klassifikation von Diabetes mellitus

In der Vergangenheit wurde DM nach dem Erkrankungsalter und der Behandlungsmethode klassifiziert, die 1979 von der National Diabetes Data Group (NDDG) festgelegt worden war (24). Sie umfasst vier Diabetikergruppen: den insulinabhängigen Diabetes mellitus (IDDM), den nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus (NIDDM), den Schwangerschaftsdiabetes und den sekundären Diabetes (z.B. aufgrund eines Pankreaskarzinoms). Die darauffolgende Klassifikation der WHO aus dem Jahr 1999 konzentrierte sich stattdessen auf die Pathophysiologie, die zu Hyperglykämie führt, wodurch IDDM und NIDDM obsolet wurden (25). Genauer gesagt führen bestimmte genetische und metabolische Störungen der Insulinsekretion und/oder -sensibilität zu einer gemeinsamen klinischen Präsentation einer Hyperglykämie. Dies führte dazu, dass die zwei Haupttypen von DM, d.h. T1D und T2D, IDDM und NIDDM verdrängt haben. In der derzeitigen Klassifikation der WHO (2019) werden noch zusätzliche Subtypen hinzugefügt, wodurch es aktuell sechs Subtypen gibt: T1D, T2D, Gestationsdiabetes, hybride Formen von DM, andere spezifische Typen von DM und nicht klassifizierter DM (26). Ähnlich der vorhergehenden Klassifikation bestimmt die Krankheitsursache im Allgemeinen die Einteilung in die DM-Subtypen und somit die Behandlungsmöglichkeiten (26). T1D ist durch die Zerstörung der β -Zellen in der Bauchspeicheldrüse und einer

autoimmunen Genese gekennzeichnet. Bezüglich Erstmanifestation der Erkrankung sind in der Regel jüngere Personen betroffen (26). T2D entsteht durch Insulinresistenz und/oder Insulinsekretionsdefekte, die sich schleichend entwickeln und meist bei älteren Personen festgestellt werden und daher häufig als Altersdiabetes bezeichnet wird (26). Der GD ähnelt in mehrfacher Hinsicht dem T2D, wobei eine Kombination aus relativ unzureichender Insulinsekretion und Ansprechbarkeit vorliegt (23). Es tritt erstmals während der Schwangerschaft auf und ist auf hormonelle Veränderungen während der Schwangerschaft zurückzuführen. Hybride Formen von DM sind atypische Formen von DM, die weiter unten diskutiert werden. Andere spezifische Typen von DM umfassen eine heterogene Gruppe an Erkrankungen, wie z.B. endokrine Störungen und Erkrankungen des exokrinen Pankreas. Der nicht klassifizierte DM wird zum Großteil vorübergehend verwendet, besonders kurz vor der Diagnosestellung von DM, wenn es noch keine eindeutige diagnostische Kategorie gibt. In **Tabelle 1** werden T1D, T2D, GD näher beschrieben, da es sich um die geläufigsten Formen von DM handelt.

Tabelle 1. Ursache und Risikofaktoren von Typ-1-Diabetes, Typ-2-Diabetes und Gestationsdiabetes (23, 27)

	Typ-1-Diabetes	Typ-2-Diabetes	Gestationsdiabetes
Ursache	Autoimmunreaktion -> Zerstörung der β -Zellen des Pankreas	Multifaktoriell, wie z.B. Lebensstil, Adipositas, Ernährung, das metabolisches Syndrom -> Periphere Insulinresistenz und verminderte Insulinsekretion	Hormonelle Veränderungen während der Schwangerschaft -> Periphere Insulinresistenz und verminderte Insulinsekretion
Risikofaktoren	Familienanamnese: Eine Verwandte/ein Verwandter 1. Grades mit T1D Alter: In jedem Alter Erkrankungsbeginn möglich, jedoch wahrscheinlicher als Kind, Teenager oder junger Erwachsener Ethnizität: In den USA haben Amerikaner europäischer Herkunft eine höhere Wahrscheinlichkeit, an T1D zu erkranken, als Afroamerikaner und Hispanoamerikaner/Lateinamerikaner	Gestörte Glukosetoleranz Adipositas Alter: ≥ 45 Jahre Familienanamnese: Eine Verwandte/ein Verwandter 1. Grades mit T2D Körperliche Aktivität: < 3 Mal pro Woche Vorherige Schwangerschaft: Gestationsdiabetes oder ein Neugeborenes > 4000 g Ethnizität: In den USA haben Afroamerikaner, Hispanoamerikaner/Lateinamerikaner, Native Americans oder Ureinwohner Alaskas (einige Pazifikinsulaner und Asiaten) eine höhere Wahrscheinlichkeit an T2D zu erkranken	Vorherige Schwangerschaft: Gestationsdiabetes oder ein Neugeborenes > 4000 g Adipositas Alter: > 25 Jahre Familienanamnese: Eine Verwandte/ein Verwandter 1. Grades mit T2D Krankheitsanamnese: Polyzystisches Ovarialsyndrom (eine Hormonstörung) Ethnizität: In den USA haben Afroamerikaner, Hispanoamerikaner/Lateinamerikaner, Native Americans, Ureinwohner Alaskas, Ureinwohner Hawaiis oder Pazifikinsulaner eine höhere Wahrscheinlichkeit an GD zu erkranken Postpartal: Der GD ist in der Regel rückläufig nach der Geburt, aber es besteht im Verlauf ein erhöhtes Risiko an T2D zu erkranken. Das Neugeborene ist als Kind oder Jugendliche/r häufiger fettleibig und hat im Verlauf eine höhere Wahrscheinlichkeit an T2D zu erkranken

Im Allgemeinen wird Erkrankungsbeginn im Erwachsenenalter als Altersdiabetes bezeichnet (26). Es gibt jedoch eine Überschneidung zwischen diesen Subtypen. In vielen nicht-afrikanischen Populationen sind 5-10% der als T2D klassifizierten Personen positiv für Autoantikörper, die gegen das β -Zell-Autoantigen Glutamatdecarboxylase 65 (GAD65Ak) gerichtet sind; diese Untergruppe wird als Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) bezeichnet und in der aktuellen WHO Klassifikation als hybride Form von DM eingeordnet (26, 28). Darüber hinaus werden noch neuere Subtypen von DM im Erwachsenenalter vorgeschlagen, darunter ein Autoimmun-Subtyp für Erwachsene (29). GAD65Ak sind somit etablierte sensitive und spezifische Biomarker der Autoimmunität bei neu diagnostiziertem T1D bei jüngeren Personen, sowie Autoimmundiabetes, einschließlich LADA, der erst im Erwachsenenalter auftritt (30-32).

Das Auftreten von GAD65Ak stellt ein wesentliches Entscheidungskriterium für die Behandlungsmöglichkeiten dar (33), da es die Rate des C-Peptid-Verlusts und die Notwendigkeit einer Insulinbehandlung voraussagt (34). Dennoch wird der Nutzen von GAD65Ak für die Identifizierung von Autoimmundiabetes sowohl für Afrikaner in ihrem Heimatland als auch für afrikanische Migranten in Europa nur selten thematisiert. Die wenigen früheren Studien spiegeln möglicherweise nicht den Gesundheitsversorgungsbedarf der Bevölkerung wider, da es sich nicht um bevölkerungsbezogene Stichproben handelt (35-37).

2.3.1 Atypische Diabetes in Subsahara Afrika

Seit Ende der 1960er Jahre beschreiben Forscher atypische Formen von DM, bei denen Patienten afrikanischer Abstammung die Insulinbehandlung abbrechen und auf orale Antidiabetika (OADs) oder nur auf Diät und Bewegung umgestellt werden

können. Dazu gehören auch Patienten, die zur Entwicklung einer Ketoazidose neigen (38-43). Die am häufigsten berichtete atypische Form von DM sind Patienten, die anfangs eine schwere Hyperglykämie und Ketoazidose aufweisen, die charakteristisch für T1D sind, und danach in Remission gehen, d.h. die β -Zellfunktion wiedererlangen, was die Einstellung der Insulinbehandlung mit oder ohne Rezidiv ermöglicht. Letzteres ähnelt dem klinischen Verlauf der T2D. Es wird spekuliert, dass eine Unterernährung die atypische Präsentation verursachen könnte. Nichtsdestotrotz wurde die bereits erwähnte Klassifizierung des DM von 1979 durch die NDDG weitgehend akzeptiert und international angewandt. 1985 übernahm die WHO die NDDG-Klassifikation und zusätzlich den unterernährungsbedingten Diabetes mellitus (MRDM: malnutrition related diabetes mellitus), wobei letzterer als atypischer DM anerkannt wurde. MRDM wird als in tropischen Entwicklungsländern weit verbreitet angesehen und weiter unterteilt in fibrokalkulöser pankreatischer Diabetes (FCPD) und Proteinmangel pankreatischer Diabetes (PDPD: protein deficiency pancreatic diabetes) (44). FCPD wird durch eine chronische kalzifizierende Pankreatitis unbekannter Ätiologie verursacht, die zu ausgedehnter Fibrose, Bauchschmerzen, Abmagerung und DM im jungen Alter (< 30) führt (44). Die PDPD ist damit assoziiert, dass sie in jungen Jahren (< 35) mit einer Vorgeschichte von schwerer Unterernährung, Ketose-Resistenz, partieller Insulinresistenz und ohne Pankreas Kalzifizierung und Fibrose auftritt (44). Die überarbeitete WHO-Klassifikation von 1999 integrierte in gewissem Umfang den atypischen DM als Subtyp von T1D mit der Bezeichnung "idiopathisch" und zusätzlich Typ-3-Diabetes unter "andere" (45). Ersterer wird als häufiger bei Asiaten und Afrikanern mit einem intermittierenden Insulinbedarf, einer Neigung zur Entwicklung einer Ketoazidose und einem Fehlen von Autoantikörpern angesehen, und letzterer schließt FCPD ein.

In ihrem umfassenden Literatur-Review schlussfolgern die Autoren Bavuma et al. (2019), dass verschiedene Begriffe, die sich auf atypische DM beziehen, hauptsächlich zwei Phänotypen beschreiben, nämlich MRDM und Ketose-anfälliger Diabetes (KPD: ketosis prone diabetes) (46). Die Hauptmerkmale des MRDM stimmen mit der WHO-Definition von 1985 überein. Laut Bavuma et al. (2019) tritt MRDM bei Menschen mit einem niedrigen BMI ($\leq 18\text{kg/m}^2$) auf, die aus einem armen sozioökonomischen Hintergrund stammen und eine Vorgeschichte von Unterernährung haben. Des Weiteren weist die KPD Merkmale von T1D zu Beginn der Erkrankung auf, d.h. das Vorhandensein von Ketose und Insulinbedarf, um eine glykämische Kontrolle zu erreichen, und von T2D nach einer Periode von Normoglykämie, d.h. eine erhaltene β -Zellfunktionsreserve, die es ermöglichen kann, das Insulin abzusetzen und auf OADs und/oder Ernährung und Bewegung umzustellen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Klassifikation von DM ständig weiterentwickelt hat und ihre Darstellung in den Entwicklungsländern heterogen ist. Letzteres wurde erheblich durch die Urbanisierung und Verwestlichung der Region beeinflusst (46). Es gibt einen Mangel an verfügbaren Informationen über atypische DM. MRDM und KPD werden jedoch von Bavuma et al. (2019) als unterschiedliche Phänotypen identifiziert werden, die in der spärlich veröffentlichten Literatur dominieren. Da der Anstieg von DM in Entwicklungsländern ein öffentliches Gesundheitsproblem darstellt, ist es entscheidend geeignete Behandlungsmethoden zu entwickeln, um eine optimale Behandlung zu gewährleisten. Es steht insbesondere die Vorbeugung langfristiger Auswirkungen der Erkrankung, wie z.B. chronisches Nierenversagen, im Vordergrund, da sie eine erhebliche Belastung auf die

Gesundheitssysteme dieser Länder darstellen, die bereits durch die Bekämpfung von Infektionskrankheiten überlastet sind.

2.4 Zielsetzung und Fragestellung

Das Ziel dieser Studie war es, die bevölkerungsspezifische GAD65Ak-Prävalenz als Marker für Autoimmundiabetes in einer repräsentativen Stichprobe ghanaischer Erwachsener zu bestimmen und die Beziehungen zu geographischer Lage, soziodemographischen und klinischen Faktoren zu identifizieren. Die konkreten Fragestellungen waren:

- Wie sind die Konzentrationen der GAD65Ak und die Prävalenz von GAD65Ak-Positivität anhand spezifischer Grenzwerte bei ghanaischen Erwachsenen?
- Wie unterscheiden sich die GAD65Ak-Konzentrationen und die Prävalenz der GAD65Ak-Positivität bei ghanaischen Erwachsenen zwischen Ghana und Europa und zwischen Menschen mit und ohne DM?
- Welche Faktoren hängen mit geographischen Unterschieden der GAD65Ak-Konzentrationen und der Prävalenz von GAD65Ak-Positivität bei ghanaischen Erwachsenen zusammen?

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1 Studiendesign und Studienpopulation

Diese Studie nutzte Daten der RODAM-Studie. Das Studienprotokoll und Verfahren der RODAM-Studie sind an anderer Stelle veröffentlicht worden (47).

Zusammengefasst untersuchte diese multizentrische Querschnittsstudie zwischen Juli 2012 und September 2015 ghanaische Erwachsene (N = 6385; Altersgruppe: 25-70

Jahre), die im ländlichen und städtischen Ghana sowie in Europa (Amsterdam, London und Berlin) wohnten. Wenn beide Elternteile in Ghana geboren wurden oder wenn die Teilnehmerin/der Teilnehmer selbst in Ghana geboren wurde, dann wurde Ghana als Herkunftsland definiert.

3.2 Rekrutierung und Ablauf

Als zentrales Merkmal der RODAM-Studie wurde an allen Studienorten ein gut standardisierter Ansatz für die Datenerhebung verwendet. Frühere Studien unter afrikanischen Gemeinden in Europa zeigten, dass die Beteiligung der Gemeindeverantwortlichen die Studienteilnahme verbessert (47, 48). Die RODAM-Studie bezog daher die ghanaischen Gemeindeführer an allen fünf geographischen Standorten mit ein. In Ghana wurden zwei gezielt ausgewählte Städte und 15 Dörfer in der Ashanti-Region als städtische bzw. ländliche Rekrutierungsstandorte genutzt. Die Teilnehmer wurden nach dem Zufallsprinzip aus der Liste der 30 Aufzählungsgebiete in der Ashanti-Region auf der Grundlage der Volkszählung von 2010 ausgewählt. In Amsterdam wurden die ghanaischen Teilnehmer nach dem Zufallsprinzip aus dem Gesundheitsregister von der Stadt Amsterdam, das Daten über das Geburtsland der Bürger und ihrer Eltern enthält, gezogen, so dass eine Stichprobe auf der Grundlage des niederländischen Standardindikators für die ethnische Herkunft gezogen werden konnte. In London gab es kein Bevölkerungsregister für Migrantengruppen. Folglich dienten ghanaische Organisationen als Stichprobengrundlage. Listen dieser Organisationen wurden von der ghanaischen Botschaft und der Association of Ghanaian Churches im Vereinigten Königreich in den Bezirken mit der bekanntermaßen höchsten Konzentration an Ghanaern angefordert. Es wurden auch Listen aller Mitglieder ihrer Organisationen angefordert.

In Berlin wurde vom Einwohnermeldeamt des Bundeslandes Berlins eine Liste ghanaischer Einzelpersonen zur Verfügung gestellt, aber wegen der geringen Resonanz auf die schriftliche Einladung wechselten wir zu Mitgliederlisten ghanaischer Kirchen und Organisationen als Auswahlrahmen. An allen europäischen Standorten erhielten alle ausgewählten Teilnehmer aus diesen Listen eine schriftliche Einladung, verbunden mit Informationen zur Studie und einer Antwortkarte. Nach einer positiven Antwort wurden die Teilnehmer telefonisch kontaktiert, um Termin und Ort des Interviews mit geschulten wissenschaftlichen MitarbeiterInnen ghanaischer Herkunft zu vereinbaren oder sich je nach Präferenz des Teilnehmers für den selbstauszufüllenden Papierfragebogen oder die digitale Online-Version zu entscheiden, wo Angaben zur Anamnese, Lebensstil und sozio-ökonomischen Faktoren erfasst wurden. Im Anschluss an das Ausfüllen des Fragebogens wurde dann ein Termin für die körperliche Untersuchung festgelegt. Alle Teilnehmer wurden angewiesen, in der Nacht vor der körperlichen Untersuchung ab 22.00 Uhr zu fasten. Alle Blutproben wurden nach standardisierten Verfahren entnommen, gehandhabt, verarbeitet, gelagert und im gleichen Labor in Berlin (Charité) analysiert. In dieser Querschnittsstudie wurde DM definiert als Nüchtern-Plasmaglukose (NPG) $\geq 7,0$ mmol/L oder dokumentierte Einnahme von glukosesenkenden Medikamenten oder selbstberichteter DM.

Die Teilnahmequote lag im ländlichen Ghana bei 76 % und im städtischen Ghana bei 74 %. In London stimmten 75 % der Personen, die in den verschiedenen ghanaischen Organisationen registriert und eingeladen waren, der Studie zu und nahmen daran teil. In Berlin lag diese Zahl bei 68 %. In Amsterdam erhielten wir von 67 % der Eingeladenen eine Antwort, entweder per Antwortkarte oder nach einem Hausbesuch eines Interviewers ghanaischer Herkunft. Von diesen stimmten 53 % zu und nahmen

an der Studie teil. Fast alle Ghanaer in Europa waren Migranten der ersten Generation (99 %), und die durchschnittliche Aufenthaltsdauer war an den drei europäischen Standorten im Allgemeinen ähnlich.

3.3 Ethik-Erklärung

Die RODAM-Studie wurde gemäß den festgelegten Richtlinien in der Deklaration von Helsinki von 1964 und ihren nachfolgenden Änderungen durchgeführt. Alle Verfahren, an denen Menschen beteiligt waren, wurden von den jeweiligen Ethikkommissionen in Ghana, den Niederlanden, Großbritannien und Deutschland überprüft und genehmigt. Von allen Teilnehmern wurde eine schriftliche, informierte Einwilligungserklärung eingeholt.

3.4 Fragebogengestützte Interviews

Soziodemographische Daten wurden in fragebogengestützten Interviews erhoben (47). Der Fragebogen umfasste Alter, Geschlecht, Aufenthaltsdauer in Europa und Bildungsniveau. Die selbstberichtete medizinische Vorgeschichte umfasste das Alter bei der Erstdiagnose vom DM, die Familiengeschichte bezüglich des DM, die Art der DM -Behandlung (Lebensstilveränderung; orale Antidiabetika; Insulin), die Insulinbehandlung unmittelbar nach der DM-Diagnose, die Insulinbehandlung innerhalb von 6 Monaten nach der DM-Diagnose, das aktuelle Auftreten von Fieber und das Auftreten von Fieber innerhalb der letzten 2 Wochen. Angaben zum Rauchen wurden als aktuelle und ehemalige Raucher oder Nichtraucher kategorisiert.

3.5 Anthropometrische Messungen

Anthropometrische Messungen wurden in leichter Kleidung ohne Schuhe vorgenommen und auf die nächste Dezimalstelle aufgerundet. Das Gewicht wurde mit einer Personenwaage (SECA 877, SECA, Deutschland) und die Stehhöhe mit einem tragbaren Stadiometer (SECA 217, SECA, Deutschland) bestimmt. Der Taillenumfang wurde mit einem Maßband gemessen. Der Body-Mass-Index (BMI) wurde als Gewicht (kg) geteilt durch die Körpergröße² (m²) berechnet.

3.6 Biologische Probenverarbeitung und klinische Biomarker

Nüchtern venöse Blutproben wurden unmittelbar nach der Entnahme gemäß Standardarbeitsanweisungen entnommen und aliquotiert und bei -20°C zwischengelagert. Erster Urin am Morgen wurde gesammelt. Die getrennten Blutproben und Urinproben wurden bei -80°C gelagert. NPG, C-reaktives Protein (CRP), Leber-Enzyme (Aspartat-Aminotransferase (ASAT), Alanin-Aminotransferase (ALAT), γ -Glutamyltransferase (GGT) und Biomarker der Nierenfunktion (Kreatinin, Urinalbumin) wurden mit dem chemischen Laboranalysegerät ABX Pentra 400 (HORIBA ABX, Montpellier, Frankreich) gemessen. Um DM zu definieren wurden NPG-Werte herangezogen, da die Genauigkeit des HbA1c-Wertes als DM-Indikator in Bevölkerungsgruppen mit häufigen Hämoglobinopathien und Erkrankungen, die die Lebensdauer der Erythrozyten verkürzen, fraglich ist. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR; mL/min pro 1,73 m²) wurde mit der abgekürzten Formel Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) berechnet: $186 \times (\text{Kreatinin in mg/dL})^{-1,154} \times (\text{Alter in Jahren})^{-0,203} \times (0,742 \text{ bei Frauen}) \times (1,212 \text{ bei Afrikanern})$. Die Insulinkonzentration wurde mit dem Mercodia-ELISA-Kit (Mercodia, Uppsala, Schweden) mit einer

unteren Nachweisgrenze von 76 pmol/L bestimmt. HbA1c (mmol/mol) wurde mit dem TOSOH G8 HPLC-Analysator (TOSOH Bioscience, Tokio, Japan) bestimmt.

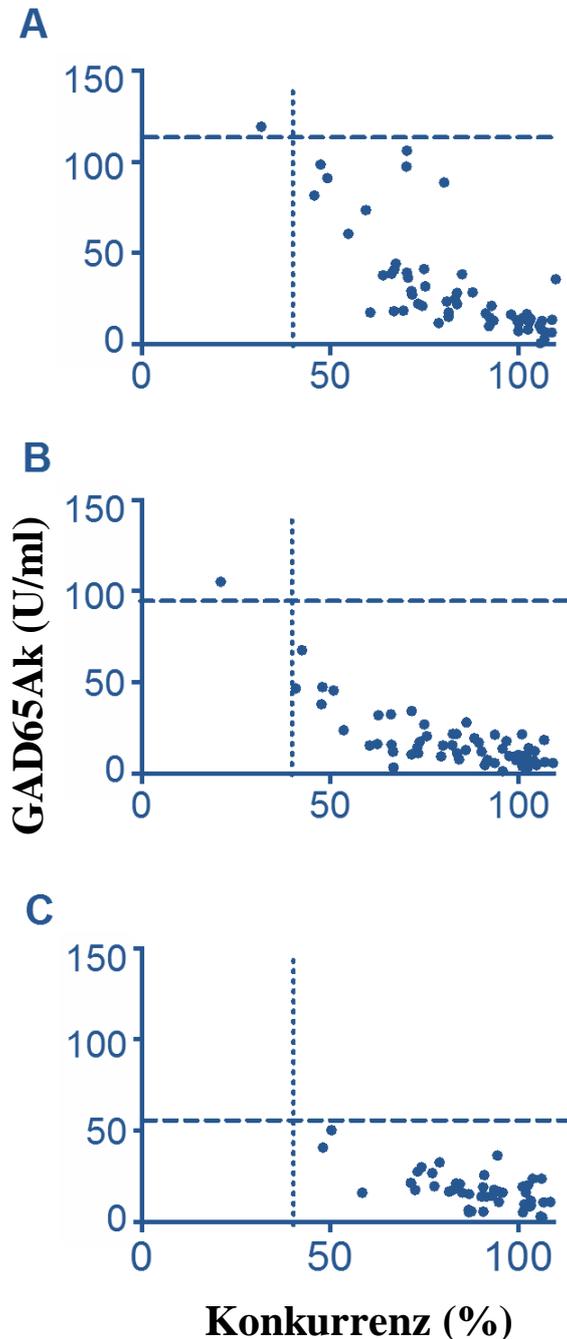
3.7 Messungen von Beta-Zell-Autoantikörpern

GAD65Ak wurden in allen 5.898 Proben mittels RBA, wie zuvor beschrieben, analysiert (48). Die Antikörperspiegel wurden als relativer Index angegeben, zur Korrektur von inter-assay Variation und unter Verwendung des WHO-Standards für GAD65Ak (49). Zur Bestimmung des relativen Index wurden positive und negative Kontrollproben in allen Assays einbezogen. Der Assay zeigte beim International Combined Autoantibody Workshop eine Sensitivität von 70% und eine Spezifität von 98% für GAD65Ak (50). Für statistische Analysen und Vergleichbarkeit wurde der Index in U/mL (Index 1=1000 U/mL) übersetzt.

Um spezifische Cut-off-Werte für die GAD65Ak-Positivität in dieser Population zu ermitteln, verzichteten wir auf die Verwendung willkürlicher Cut-off-Werte, die äußerst laborspezifisch sind. Stattdessen wurde bei 59 Teilnehmern in Ghana ohne DM und bei 58 Teilnehmern in Europa ohne DM ein kompetitives Assay unter Verwendung von rekombinantem humanem (rh) GAD65 (Diamyd Medical, Schweden) durchgeführt (51). Die Proben wurden mit [³⁵S]-GAD65 in Abwesenheit oder Anwesenheit von rhGAD65 (200 ng/mL) inkubiert. Proben, deren Bindung an [³⁵S]-GAD65 in Gegenwart von rhGAD65 um 40% reduziert wurde, wurden als spezifisches GAD65Ak (echt positiv) betrachtet (**Abbildung 1**). Diese Bindungsstärke wurde bei höheren GAD65Ak-Konzentrationen in Proben aus Ghana als in Proben aus Europa erreicht und wurde in der anschließenden Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analyse als Goldstandard festgelegt (**Abbildung 2**). Bei einer Sensitivität von 78% und einer Spezifität von 70% lagen die GAD65Ak-

Grenzwerte für die ghanaischen Studienzentren bei 121 U/mL und für die europäischen Studienzentren bei 97 U/mL.

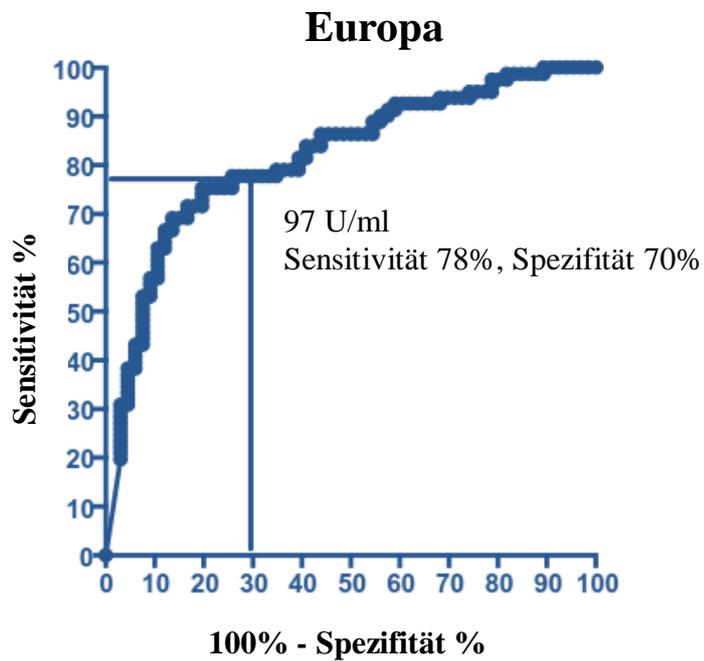
Abbildung 1. Kompetitive Assays von GAD65Ak in Ghana und Europa (52)



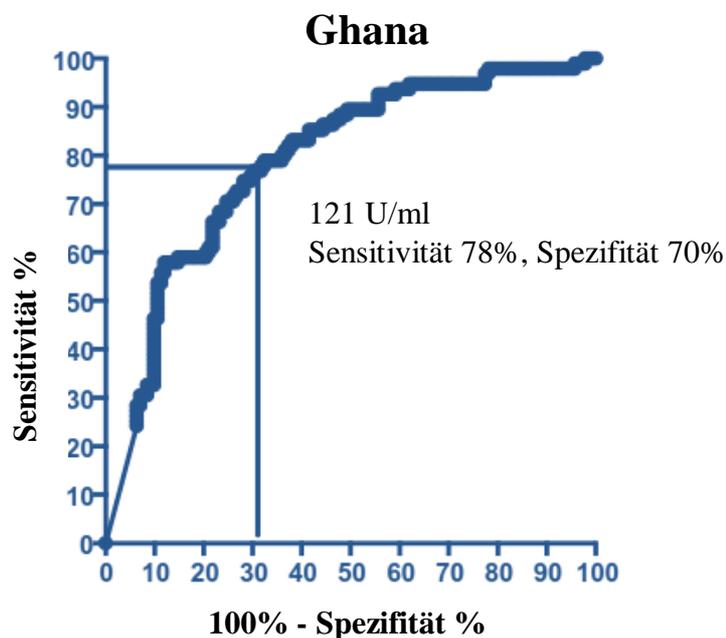
Bindung von Serumproben an radioaktiv markiertes GAD65: (A) 59 ghanaische Erwachsene ohne DM, (B) 58 ghanaische Migranten in Europa ohne DM und (C) 44 europäische Erwachsene in Seattle ohne DM. Vertikale Linien zeigen den Cut-off für die Spezifität der Bindung an, während horizontale Linien den entsprechenden Cut-off zur Definition der GAD65Ak-Positivität angeben.

Abbildung 2. Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analysen für Ghana und Europa (52)

A



B



Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analysen auf reduzierte Bindungsstärke an [35]S-GAD65 in Gegenwart von 40% rekombinantem humanem (rh)GAD65 während kompetitiven Assays (echt positiv); (A) 58 ghanaische Migranten in Europa ohne DM; (B) 59 ghanaische Erwachsene ohne DM.

In Teilproben wurde die Robustheit des GAD65Ak-Nachweises mit alternativen Labormethoden beurteilt (**Tabelle 2**). Diese wurden durchgeführt mittels a) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) mit einem Kit von Kronus (Boise, USA) (n=124), b) ELISA mit einem Kit von DRG International Inc., USA (n=84), und c) luciferase immunoprecipitation system (LIPS) (n=140), letzteres in einem unabhängigen Labor am Helmholtz-Zentrum München, Deutschland (53). Zudem haben wir Zink-Transporter-8-Autoantikörper (ZnT8Ak) als neuen Marker für Autoimmundiabetes gemessen. ZnT8Ak wurden unter ähnlichen Bedingungen gemessen wie für die GAD65Ak beschrieben, wobei die Konstrukte die zytosolischen Segmente (aa268-369) enthielten, die die aa325-Codonvarianten CGG (T) und TGG (W) kodieren. Die Ergebnisse für ZnT8Ak wurden in willkürliche Einheiten umgerechnet durch Extrapolation unter Verwendung eines panreaktiven positiven Serums von einem Patienten mit T1D mit festgelegten 1000 willkürlichen Einheiten. Der Cut-off wurde auf 10 U/mL für Autoantikörper gegen ZnT8R und 18 U/mL für ZnT8W festgelegt, basierend auf dem 98. Perzentil, das bei 162 Personen ohne DM beobachtet wurde.

Schließlich wurde eine isotyp-spezifische Identifizierung von Immunglobulinen (Ig) mit einem ELISA (Bio-Rad, USA) in 316 Proben (ländliches Ghana: n=124; Europa: n=192) durchgeführt, um Isotypverschiebungen während der verschiedenen Phasen der humoralen Immunantwort zu berücksichtigen. Es wurden Gesamt-IgG 1, 2, 3, 4, IgE, IgA und IgM gemessen. Diese Analyse wurde durchgeführt, weil der RBA für die Messung von GAD65Ak nicht zwischen GAD65Ak verschiedener Ig-Isotypen unterscheidet.

Tabelle 2. Überblick über die Bewertungen der Beta-Zell-Autoantikörper in der Population der RODAM-Studie (52)

Beta-Zell-Autoantikörper	N	Stichprobenmerkmale	Assay	Cut-off zur Definition von Positivität	Intra-Assay-Variationskoeffizient
GAD65Ak	5.898	Ländliches Ghana: 1.111 Städtisches Ghana: 1.455 Europa: 3.332	Radioligand binding assay (RBA)	Ghana: >121 U/mL Europa: >97 U/mL	1-10%
GAD65Ak	126	Ländliches Ghana: 25 Städtisches Ghana: 31 Europa: 70	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) by Kronus, Boise, USA	>5 U/mL	3-16%
GAD65Ak	84	Ländliches Ghana: 84 (42 DM und 42 alters- und geschlechtsangepasst nicht-DM)	ELISA by DRG International, Inc., EIA, USA	>1,05 U/mL	5%
GAD65Ak	140	Berlin: 140 (70 DM und 70 alters- und geschlechtsangepasst nicht-DM)	Luciferase immunoprecipitation system (LIPS)	≥12,5 U/mL	13%
ZnT8Ak	287	Ländliches Ghana: 141 Europa: 146	Radioligand binding assay (RBA)	>10 U/ml für ZnT8R Ak >18 U/ml für ZnT8W Ak	1-14%

GAD65Ak, Glutaminsäure-Decarboxylase 65-Autoantikörper; ZnT8Ak, Zink-Transporter-8-Autoantikörper

3.8 Statistische Analyse

Die Merkmale der Studienpopulation werden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) für normalverteilte kontinuierliche Variablen, als Median (Interquartilsbereich, IQR) für nicht-normalverteilte kontinuierliche Variablen und als Anzahl der Individuen (Prozentsatz) für kategoriale Daten dargestellt. **Abbildung 3** zeigt das Flussdiagramm der imputierten Daten, was zu einer endgültigen analytischen Stichprobengröße von 5.898 Teilnehmern führte. Zur Schätzung der fehlenden Werte wurde die multiple Imputation angewandt (n=10; discriminant fully conditional specification (FCS); relative Effizienz: 97-99%).

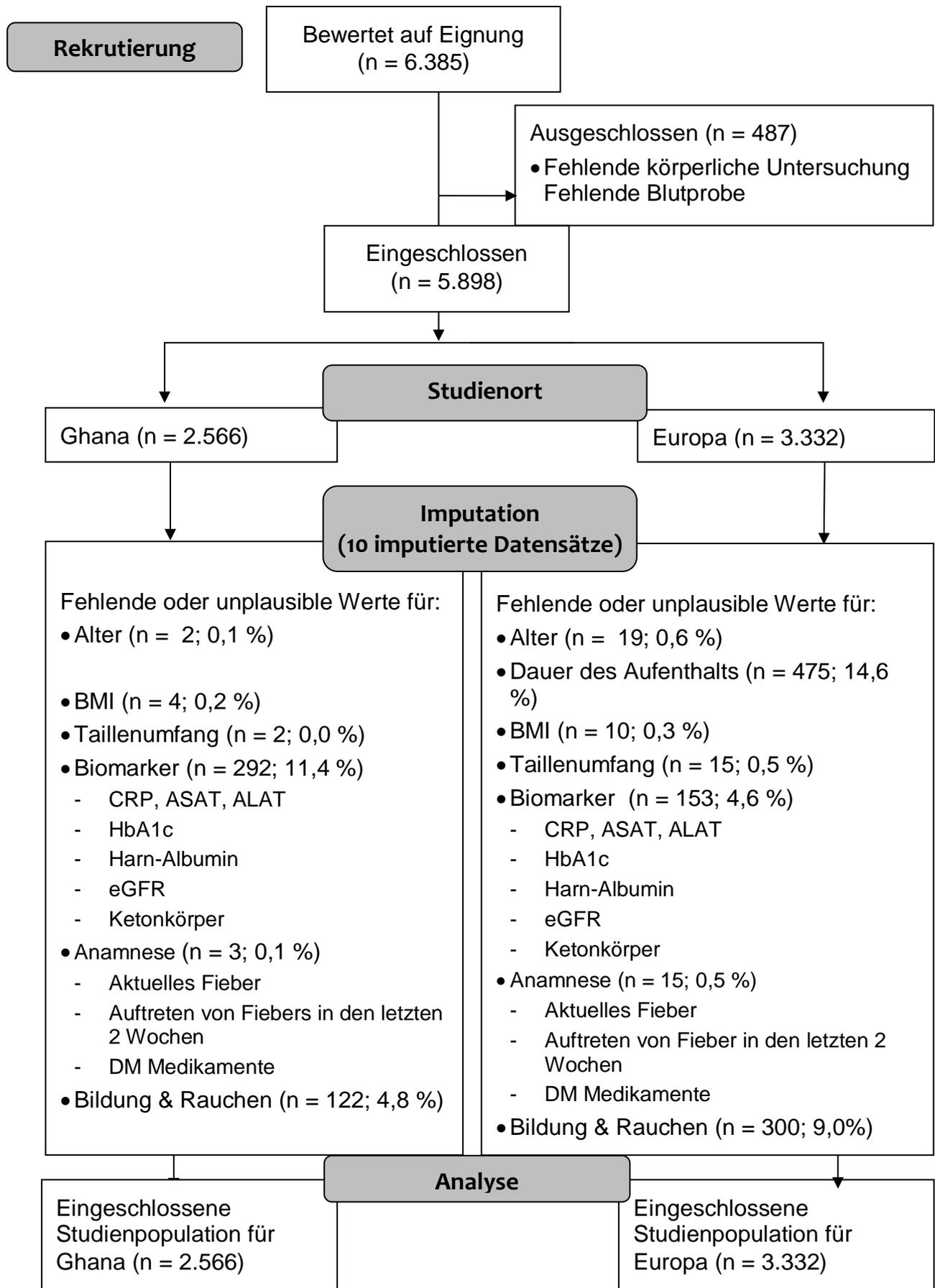
Die Cut-offs für die GAD65Ak-Positivität wurden durch eine Receiver Operator Characteristic (ROC)-Analyse unter Verwendung eines Konkurrenz-Assays berechnet, wie in den Abbildungen 1 und 2 beschrieben. Für die ghanaischen Studienzentren lag der Cut-off bei 121 U/mL, und für die europäischen Studienzentren betrug der Cut-off 97 U/mL (beide mit 78% Sensitivität und 70% Spezifität).

Spearman-Korrelationen wurden verwendet, um die Beziehungen der GAD65Ak-Konzentrationen zwischen verschiedenen Assays und mit verschiedenen Isotypen zu untersuchen. Vergleiche zwischen Studienzentren und nach DM-Status wurden mit dem student's t-test, dem Wilcoxon rank sum test und dem χ^2 -test durchgeführt.

Als nächstes untersuchten wir Assoziationen von Wohnort, soziodemographischen und klinischen Faktoren mit GAD65Ak-Konzentrationen. Lineare Regressionsmodelle wurden verwendet, um angepasste Mittelwerte der GAD65Ak-Konzentrationen mit ihren 95%-Konfidenzintervallen (CIs) zu berechnen. Studienort und Aufenthaltsdauer in Europa wurden als wichtige soziodemographische Faktoren einbezogen. Zu den klinisch relevanten Faktoren gehörten die Dauer des DM und Insulinbehandlung. Insbesondere stellten wir die Hypothese auf, dass Infektionserreger als potenzielle umweltbedingte Auslöser für die Inselautoimmunität dienen könnten (35, 54-55), und untersuchten die folgenden Faktoren:

CRP, das aktuelle Auftreten von Fieber, das Auftreten von Fieber innerhalb der letzten 2 Wochen, ALAT, ASAT, ASAT-ALAT-Verhältnis, GGT, eGFR und Urinalalbumin. Die Regressionsmodelle wurden nach Alter und Geschlecht (Modell 1) und zusätzlich nach Ausbildung, BMI, Taillenumfang und Raucherstatus (Modell 2) angepasst. In Modell 3 schlossen wir ferner infektionsbezogene Faktoren ein, um zu beurteilen, ob sie die Unterschiede der GAD65Ak-Konzentrationen zwischen den Studienorten verringern werden. Als Sensitivitätsanalyse wiederholten wir den Vergleich nach Wohnort und DM-Status unter Ausschluss von Personen mit selbstberichtetem DM. Alle Analysen wurden mit SAS 6.1 (SAS Institute Inc., Cary, USA) durchgeführt, und ein 2-seitiger p-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Abbildung 3. Flussdiagramm der ausgeschlossenen Teilnehmer und der imputierten Daten (52)



4. ERGEBNISSE

4.1 Charakteristika der Studienbevölkerung

Tabelle 3 zeigt die Merkmale der Studienpopulation nach Geschlecht und Wohnort. Das Durchschnittsalter der Studienpopulation betrug 46,1 Jahre \pm 11,9 Jahre und die Mehrheit war weiblich (62%). Die Personen in Europa waren hauptsächlich Migranten der ersten Generation (98%) und ihre durchschnittliche Aufenthaltsdauer in Europa betrug 17,3 Jahre \pm 8,8 Jahre. Insgesamt hatten die meisten Teilnehmer an der RODAM-Studie eine niedrige schulische Ausbildung (70,7%) und arbeiteten in manuellen Berufen (68,1%). In Bezug auf DM betrug die grobe Prävalenz 9,2% in der gesamten Studienpopulation, und die überwiegende Mehrheit hatte einen Krankheitsbeginn im Erwachsenenalter (Median: 48 Jahre, IQR: 40-54 Jahre). DM trat häufiger bei Männern als bei Frauen auf (11% vs. 8%), und häufiger bei Migranten als bei Nicht-Migranten (Europa: 11%, städtisches Ghana: 9%, ländliches Ghana: 5%). Mehr als zwei Drittel (69%) gaben an, an DM zu leiden, und 58% hatten einen NPG \geq 7 mmol/L. Die mediane Dauer von DM betrug 5,0 Jahre (IQR: 1,0-11,0 Jahre) und war zwischen den Studienorten ähnlich. Vierundfünfzig Prozent der DM-Patienten erhielten eine Behandlung: orale Antidiabetika (80%), Lebensstilveränderung (55%) und Insulinbehandlung (15%).

4.2 GAD65Ak in Abhängigkeit vom Studienort

Abbildung 4 zeigt, dass Einzelpersonen im ländlichen Ghana die höchsten GAD65Ak-Konzentrationen aufwiesen (Median: 32,4; IQR: 10,8-71,3 U/mL), gefolgt vom städtischen Ghana (Median: 26,0; IQR: 12,3-49,1 U/mL; $p=0,002$) und Europa (Median: 11,9; IQR: 3,0-22,8 U/mL; $p<0,0001$). Es wurden keine Unterschiede in den GAD65Ak-Konzentrationen zwischen Amsterdam (Median: 12,7; IQR: 4,2-23,0

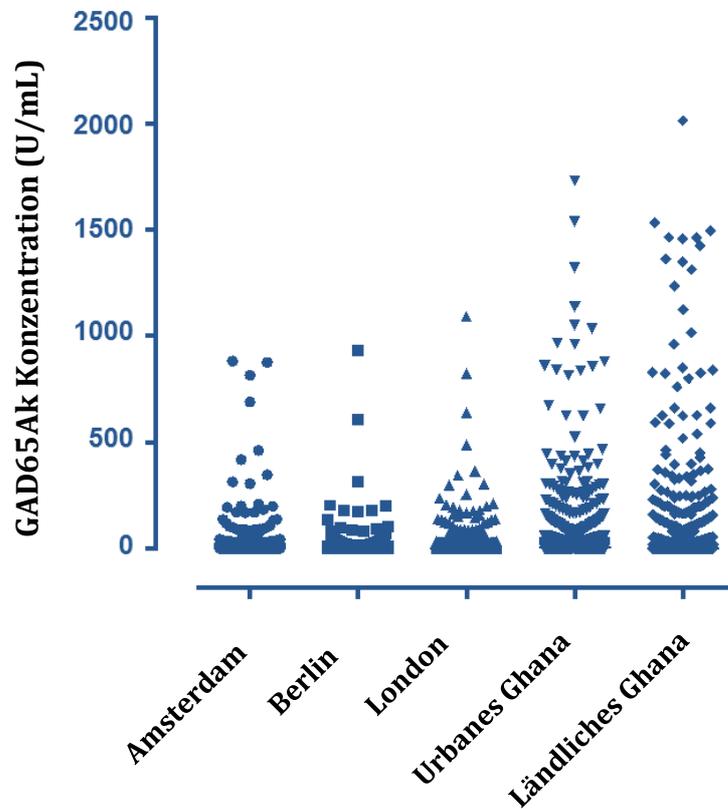
Tabelle 3. Allgemeine Merkmale der RODAM-Studienpopulation, nach Geschlecht und Studienort (N = 5.898) (52)

Merkmale	Insgesamt (n = 5.898)	Männer (n = 2.229)	Frauen (n = 3.669)	Ländliches Ghana (n = 1.111)	Städtisches Ghana (n = 1.455)	Europa (n = 3.332)
Soziodemographische Merkmale						
Alter (Jahren)	46,1 ± 11,9	46,8 ± 12,2	45,7 ± 11,7	48,4 ± 14,4	45,3 ± 11,5	45,7 ± 11,0
Geschlecht (weiblich, %)	62,2	-	-	61,0	71,2	58,7
Aufenthaltsdauer in Europa (Jahren)	17,3 ± 8,8	17,1 ± 9,1	17,3 ± 8,6	-	-	17,3 ± 8,8
Generation der Migration (1., %)	98,4	98,7	98,2	-	-	97,1
Bildung (%)						
Nicht/Grundschulbildung	34,2	20,8	42,3	58,2	43,5	22,1
Mittlere Reife	36,5	40,0	34,5	30,6	39,1	37,4
Allgemeine Hochschulreife	18,3	22,6	15,7	7,4	12,5	24,4
Hochschulbildung	11,0	16,7	7,6	3,8	4,9	16,1
Beruf (%)						
Nicht-manuell	31,9	30,2	32,9	12,7	35,9	36,5
Manuell	68,1	69,8	67,1	87,3	64,1	63,5
Rauchen (jemals, %)	10,3	20,5	4,0	9,5	7,1	11,9
Klinische Merkmale						
DM* (ja, %)	9,2	10,7	8,2	5,0	9,3	10,5
DM in der Familie (ja, %)	20,1	19,1	20,7	11,2	20,6	22,8
Dauer des DM (Jahren)	5,0 (1,0-11,0)	5,0 (2,0-11,0)	5,0 (1,0-11,0)	4,5 (1,0-13,0)	4,0 (1,0-9,0)	5,0 (2,0-11,0)
Nüchtern-Plasmaglukose (mmol/L)	5,4 ± 1,8	5,5 ± 2,0	5,3 ± 1,6	5,1 ± 1,6	5,6 ± 2,2	5,3 ± 1,6
HbA1c (mmol/mol)	38,3 ± 12,1	38,3 ± 12,6	38,1 ± 11,6	32,2 ± 9,7	38,8 ± 15,4	40,0 ± 10,2

HbA1c (%)	5,7 ± 1,1	5,7 ± 1,2	5,6 ± 1,1	5,1 ± 0,9	5,7 ± 1,4	5,8 ± 0,9
GAD65Ak (U/mL)	16,8 (5,5-35,4)	18,4 (6,4-38,5)	15,9 (4,8-33,4)	32,4 (10,8-71,3)	26,0 (12,3-49,1)	11,9 (3,0-22,8)
GAD65Ak Positivität (ja, %)	6,1	7,1	5,4	14,0	8,4	2,4
C-reaktives Protein (mg/L)	0,7 (0,2-2,5)	0,5 (0,2-1,5)	1,0 (0,3-3,2)	0,8 (0,2-2,9)	0,8 (0,2-3,1)	0,7 (0,2-2,2)
Aktuelles Fieber (ja, %)	4,9	3,9	5,5	11,3	5,9	2,3
Fiebers in den vergangene 2 Wochen (ja, %)	15,3	11,8	17,4	30,7	20,6	7,8
ALAT (U/L)	19,3 (14,9-25,7)	22,9 (17,5-30,8)	17,6 (13,9-22,6)	18,7 (14,9-24,8)	19,4 (15,0-25,9)	19,4 (14,8-25,9)
ASAT (U/L)	31,4 (25,7-39,0)	34,4 (28,5-42,6)	29,5 (24,4-36,7)	35,9 (30,3-43,0)	34,4 (28,7-41,6)	28,6 (23,9-35,8)
ASAT/ALAT	1,6 (1,3-2,0)	1,5 (1,2-1,9)	1,7 (1,4-2,0)	1,9 (1,5-2,3)	1,7 (1,4-2,1)	1,5 (1,2-1,8)
GGT (U/L)	30,6 (23,0-42,8)	36,6 (26,8-51,8)	27,8 (21,6-37,3)	29,4 (22,3-42,3)	31,5 (23,9-43,2)	30,6 (22,9-42,8)
Serum Kreatinin (µmol/L)	83,0 (71,7-95,7)	96,4 (86,6-107,2)	75,9 (67,9-85,0)	81,3 (70,1-92,5)	82,8 (71,5-95,2)	83,7 (72,4-97,0)
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	0,53 (0,46-0,61)	0,54 (0,47-0,61)	0,52 (0,46-0,61)	0,54 (0,46-0,64)	0,52 (0,45-0,59)	0,53 (0,47-0,61)
Harn-Albumin (mg/L)	4,0 (4,0-11,8)	4,0 (4,0-11,6)	4,0 (4,0-11,9)	4,0 (4,0-8,5)	4,0 (4,0-14,3)	4,0 (4,0-11,9)
Mikroalbuminurie (ja)	15,0	14,9	15,0	10,2	18,5	15,1
Morphometrische Merkmale						
Body mass index (kg/m ²)	27,1 ± 5,5	25,2 ± 4,5	28,3 ± 5,7	22,5 ± 4,2	26,9 ± 5,3	28,8 ± 5,0
Übergewicht (ja, %)	35,5	37,2	34,4	17,7	34,2	42,0
Adipositas (ja, %)	27,5	12,9	36,4	5,4	25,7	35,7
Taillenumfang (cm)	90,4 ± 12,7	87,8 ± 12,1	91,9 ± 12,8	81,1 ± 10,7	89,3 ± 11,9	93,9 ± 12,0
Abdominelle Adipositas (ja, %)	42,0	11,2	60,7	19,9	42,7	49,0

Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung für normalverteilte kontinuierliche Variablen, als Median (Interquartilbereich) für schiefe kontinuierliche Variablen und als Prozentsatz für kategoriale Variablen dargestellt. *, definiert als Nüchtern-Plasmaglukose ≥ 7 mmol/L oder Verwendung von glukosesenkenden Medikamenten oder selbstberichteter DM.

Abbildung 4. GAD65Ak-Konzentrationen (U/mL) bei 5.898 Teilnehmern, nach Studienort (52)



U/mL), London (Median: 8,4; IQR: 0,3-20,2 U/mL) oder Berlin (Median: 15,9; IQR: 7,4-26,1 U/mL) festgestellt. Daher haben wir in den folgenden Analysen die europäischen Studienorte zusammengelegt. Dementsprechend war der Anteil der Personen mit GAD65Ak-Positivität im ländlichen Ghana am höchsten, gefolgt vom städtischen Ghana und Europa (**Tabelle 4**).

Die Ergebnisse, die mit dem Kronus-ELISA in 124 Proben erzielt wurden, waren mit den RBA-basierten Messungen vergleichbar: Die mittleren GAD65Ak-Konzentrationen lagen für Ghana bei 64,5 U/mL (IQR: 54,9-101,8 U/mL) und für Europa bei 58,5 U/mL (IQR: 53,2-68,9 U/mL; $p=0,069$).

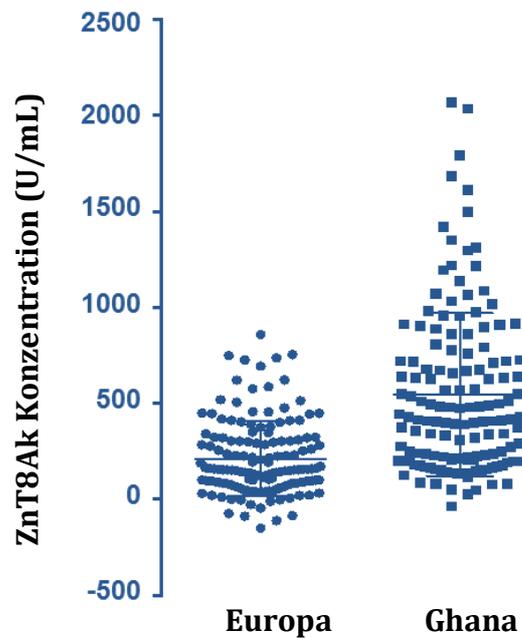
Tabelle 4. Proportionen der GAD65Ab-Positivität nach Diabetes mellitus-Status und Studienort (52)

	N	Kein Diabetes mellitus	Diabetes mellitus	p-Wert
Hauptanalyse*				
Gesamt	5.898	6,1%	5,4%	0,479
Ländliches Ghana	1.111	13,9%	14,3%	0,941
Städtisches Ghana	1.455	8,3%	8,9%	0,824
Europa	3.332	2,4%	2,6%	0,826
Sensitivitätsanalyse*				
Gesamt	5.539	6,1%	5,5%	0,728
Ländliches Ghana	1.082	13,9%	14,8%	0,896
Städtisches Ghana	1.377	8,3%	8,8%	0,907
Europa	3.080	2,4%	1,0%	0,380

**, Für die Hauptanalyse wurde DM definiert als ≥ 7 mmol/L oder Verwendung von Glukose-senkenden Medikamenten oder selbstberichteter DM. Für die Sensitivitätsanalyse wurde selbstberichteter DM ausgeschlossen.*

Die Pearson-Korrelation zwischen dem Kronus-ELISA und dem RBA betrug $r=0,49$ mit $p<0,0001$. Für den DRG-ELISA und die LIPS-Analyse können wir keine ortsspezifischen Ergebnisse kommentieren, da diese Assays nur in Proben aus dem ländlichen Ghana bzw. Berlin durchgeführt wurden (**Tabelle 2**). Wie aus **Abbildung 5** hervorgeht, waren jedoch auch die ZnT8Ak-Konzentrationen in Ghana signifikant höher als in Europa ($p<0,0001$). ZnT8Ak korrelierte mäßig mit den GAD65Ak-Konzentrationen ($r=0,24$; $p<0,0001$).

Abbildung 5. ZnT8Ak-Konzentrationen (U/mL) bei 146 Teilnehmern aus Europa und 141 Teilnehmern aus Ghana (52)



Medianbindung und Standardabweichungen sind angegeben.

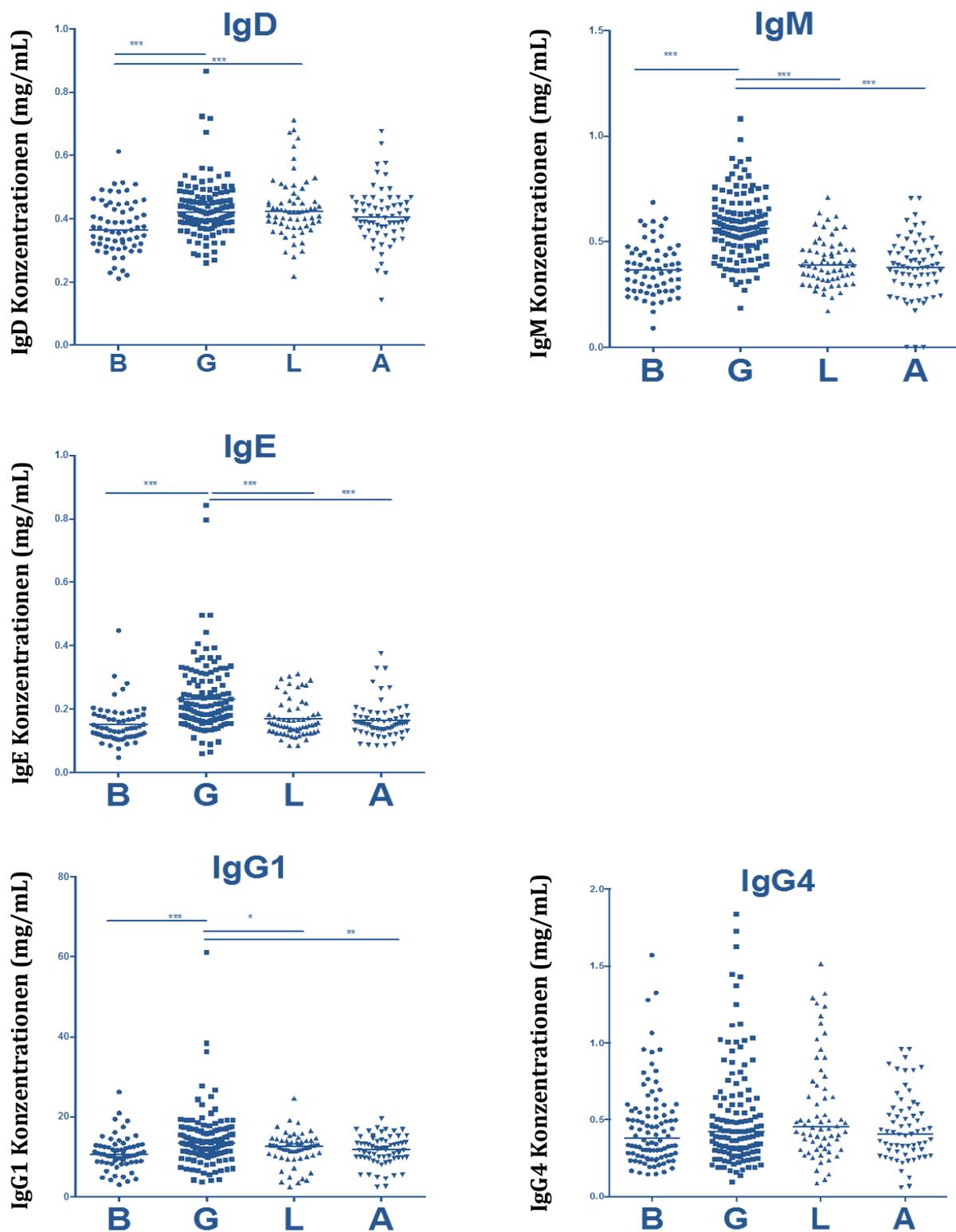
4.3 Immunglobulin-Isotypen und IgG-Subklassen

Die zusätzlichen Isotyp-Analysen ergaben, dass der am weitesten verbreitete Serum-Autoantikörper-Isotyp in allen Studienorten IgG war, wobei IgG1 die Hauptsubklasse darstellte (**Abbildung 6**). Die IgG1-Konzentrationen in Proben aus Ghana (Median 13,4; IQR: 10,9-16,7 mg/mL) waren im Vergleich zu denen aus Europa signifikant höher (Median: 11,7; IQR: 9,5-13,6 mg/mL; $p < 0,0001$ und **Abbildung 7**). Dies galt auch für die IgM- (0,56 mg/mL vs. 0,38 mg/mL; $p < 0,0001$) und IgE-Konzentrationen (0,20 mg/mL vs. 0,15 mg/mL; $p < 0,0001$; **Abbildung 7**). Die Korrelationen für GAD65Ak-Konzentrationen mit den Ig-Isotypen und IgG-Subklassen sind in **Abbildung 8** dargestellt. Die IgM-, IgG- und IgE-Spiegel korrelierten mit den GAD65Ak-Konzentrationen in den 316 analysierten Proben für alle vier Parameter. Bei Stratifizierung nach Studienort korrelierten jedoch nur die IgM-Spiegel mit den GAD65Ak-Konzentrationen und nur in Ghana ($r = 0,28$; $p = 0,002$).

4.4 Faktoren, die mit den GAD65Ak-Konzentrationen zusammenhängen

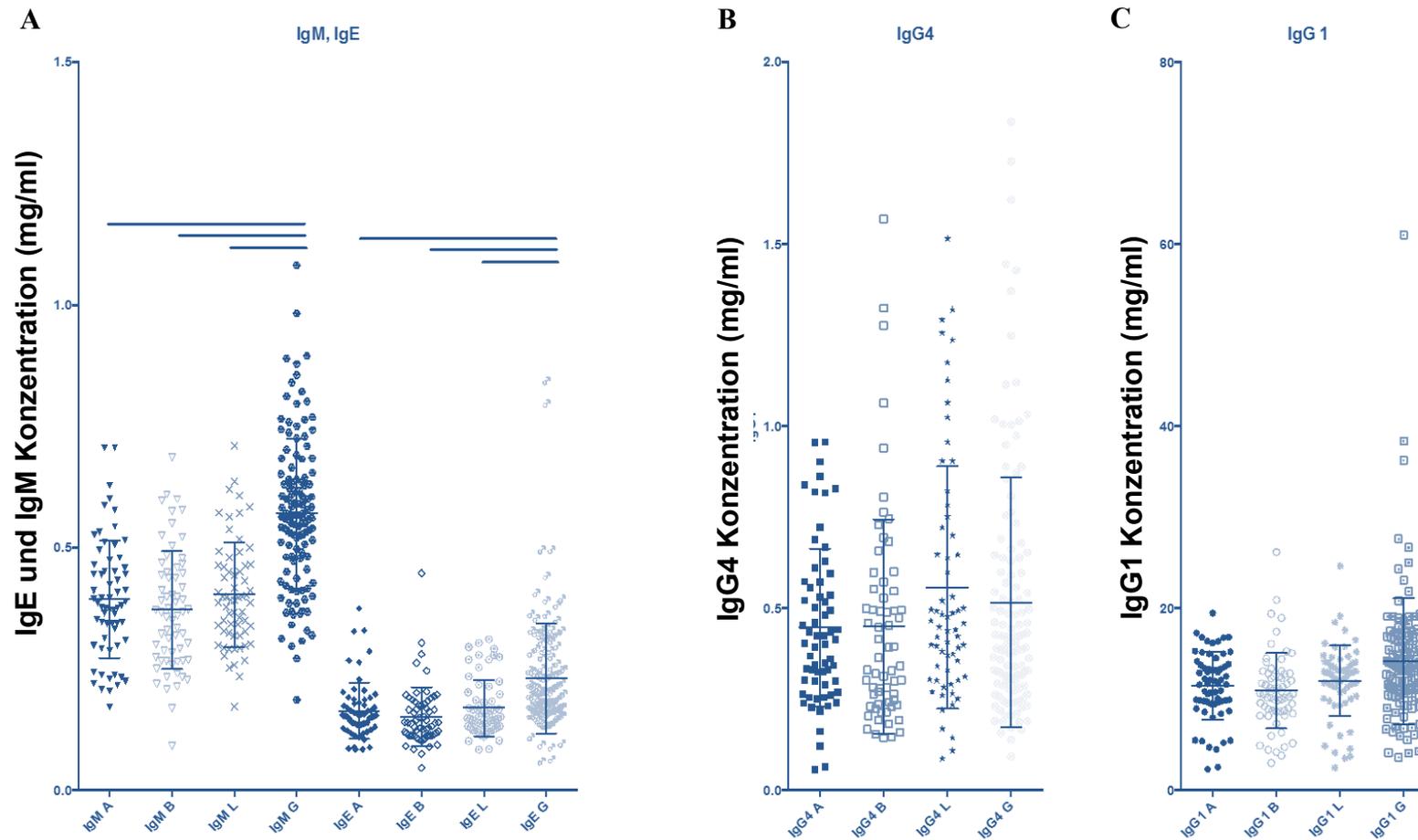
Zusammengenommen waren die Konzentrationen von GAD65Ak, IgG1, IgE und IgM in Ghana signifikant höher als in Europa. Diese Beobachtungen und die Tatsache, dass andere Infektionsmarker im ländlichen Ghana am höchsten waren (**Tabelle 3**), gaben Anlass zu der Hypothese, dass GAD65Ak mit einer infektiösen Umgebung zusammenhängen könnte. In **Tabelle 5** präsentieren wir die Mittelwerte der GAD65Ak-Konzentrationen, die um wichtige soziodemographische und klinische Faktoren angepasst wurden. Der Aufenthalt im ländlichen Ghana blieb mit höheren GAD65Ak-Konzentrationen assoziiert, gefolgt vom städtischen Ghana und Europa. Im Hinblick auf infektionsbezogene Faktoren waren die GAD65Ak-Konzentrationen bei Personen höher, die innerhalb der letzten 2 Wochen Fieber hatten oder von einer Fieberanamnese berichteten. Zusätzlich waren höhere Konzentrationen von ASAT mit höheren GAD65Ak-Konzentrationen assoziiert. Außerdem waren die Konzentrationen

Abbildung 6. Immunglobulin (Ig)-Isotypen und IgG-Subklassen (mg/mL) bei 316 Teilnehmern nach Studienort (52)



Die Immunglobulin-Isotypen IgD, IgM, IgE und IgG-Subklassen IgG1 und IgG4 werden in mg/mL angegeben: B, Berlin; G, Ghana; L, London; A, Amsterdam. Mediane Konzentrationen sind angegeben. Signifikante Unterschiede in den Immunglobulinkonzentrationen zwischen den Studienorten werden durch horizontale Balken und Sternchen angezeigt (*, p -Wert $<0,05$ - $0,01$; **, p -Wert $<0,01$ - $0,001$; ***, p -Wert $<0,0001$).

Abbildung 7. Immunglobulin-(Ig)-Isotope und IgG-Subklassen (mg/mL) bei 316 Teilnehmern (52)



Subklassen von IgM und IgE (A), IgG4 (B) und IgG1 (C) werden für 316 Proben gezeigt (124 ländliches Ghana: G, 64 London: L, 64 Berlin: B und 64 Amsterdam: A). Mediane Konzentrationen sind angegeben. Signifikante Unterschiede in den Immunglobulinkonzentrationen zwischen den Studienorten werden durch horizontale Balken und Sternchen angezeigt (p -Wert $<0,05$ - $0,01$: *, p -Wert $<0,01$ - $0,001$: **, p -Wert $<0,0001$: ***).

Abbildung 8. Spearman-Korrelationen zwischen GAD65Ak und Immunglobulin-Isotypen und Konzentrationen der IgG-Subklassen bei 316 Teilnehmern (53)

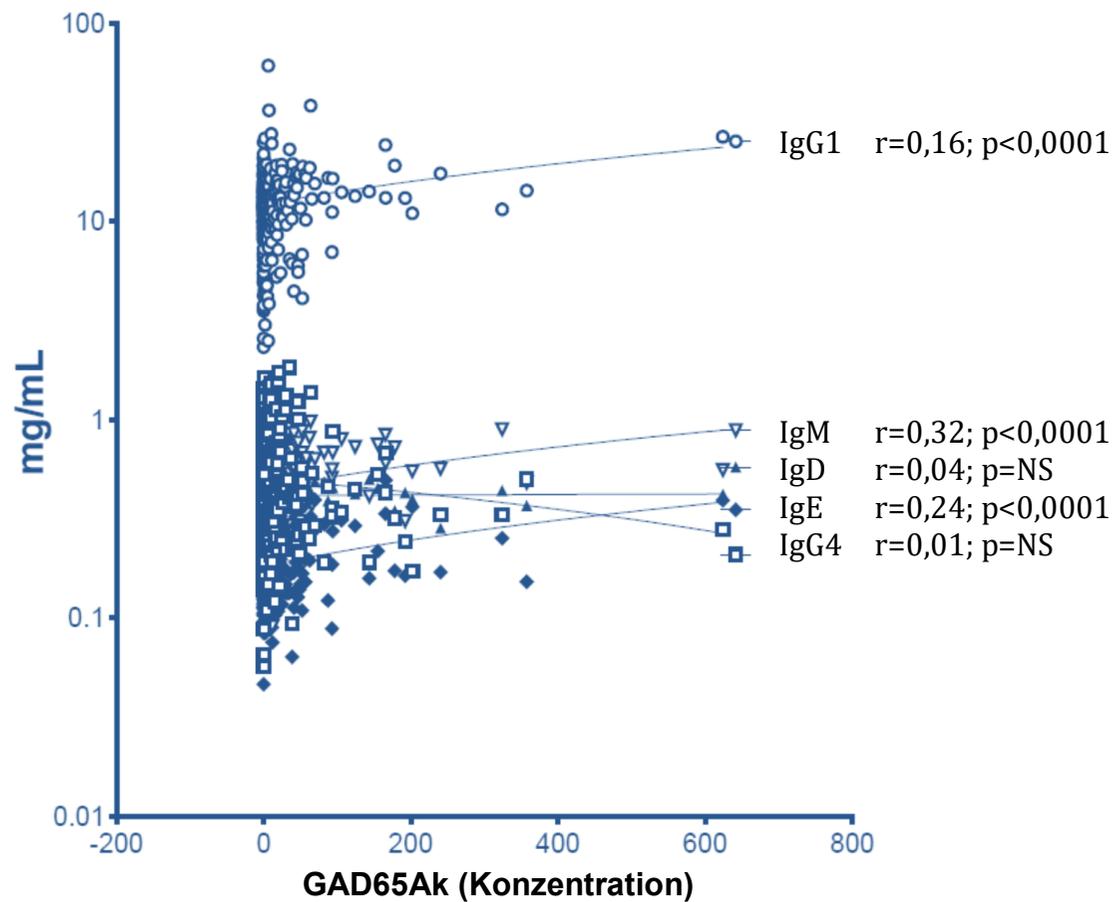


Tabelle 5. Angepasste Mittelwerte für GAD65Ak-Konzentrationen (U/mL) nach soziodemographischen und klinischen Faktoren (52)

Infektionsbezogener Faktor	N	Angepasste Mittelwerte in U/mL (95% CI): Modell 1	Angepasste Mittelwerte in U/mL (95% CI): Modell 2	Angepasste Mittelwerte in U/mL (95% CI): Modell 3
Studienort	5.898			
Ländliches Ghana	1.111	85,0 (78,3, 91,7)*	85,4 (76,5, 94,3)*	84,0 (74,9, 93,1)*
Städtisches Ghana	1.455	58,2 (52,3, 64,2)	61,4 (53,9, 68,9)	60,7 (53,1, 68,3)
Europa	3.332	22,0 (18,2, 25,9)	26,8 (21,3, 32,3)	27,3 (21,7, 32,8)
Dauer des Aufenthalts in Europa (Jahre)	3.332			
≤10	708	22,3 (18,2, 26,5)	22,8 (17,9, 27,7)	
11-20	1431	21,7 (18,9, 24,6)	22,4 (18,6, 26,1)	
21-30	973	19,9 (16,4, 23,5)	20,5 (16,4, 24,6)	
>30	220	25,0 (17,4, 32,5)	25,4 (17,6, 33,2)	
Dauer des DM (Jahre)	541			
<2	142	31,2 (12,7, 49,7)	28,1 (6,8, 49,3)	
2<5	114	30,9 (10,6, 51,1)	26,1 (3,3, 49,4)	
5<10	118	30,9 (10,9, 50,9)	26,4 (3,8, 49,0)	
10<20	115	40,0 (19,6, 60,4)	34,7 (11,7, 57,7)	
≥20	52	55,6 (25,8, 85,8)	50,5 (18,3, 82,8)	
Insulin-Behandlung	541			
Nein	459	34,0 (23,8, 44,2)	38,7 (13,1, 64,2)	
Ja	82	42,1 (18,1, 66,0)	29,0 (14,0, 44,0)	
C-reaktives Protein (mg/L)	5.898			
<3,0	1.680	45,8 (40,2, 51,4)	39,7 (32,6, 46,7)	
3,0-4,9	3.385	40,3 (36,3, 44,3)	41,1 (35,4, 46,8)	
5,0-9,9	488	44,8 (34,4, 55,2)	49,9 (38,7, 61,1)	
≥10,0	345	43,6 (21,3, 56,0)	46,4 (33,5, 59,4)	
Aktuelles Fieber	5.898			
Nein	5.611	41,2 (38,1, 44,3)*	40,9 (35,9, 46,1)*	

Ja	287	68,2 (54,7, 81,7)	61,5 (47,3, 75,6)
Auftreten von Fieber in den letzten 2 Wochen	5.898		
Nein	4.997	39,7 (36,4, 42,9)*	40,1 (34,9, 45,3)*
Ja	901	58,9 (51,2, 66,6)	52,8 (43,9, 61,6)
ALAT (U/L)	5.898		
Terzil 1 ($\leq 16,3$)	1.977	40,9 (35,5, 46,3)	37,9 (31,2, 44,7)
Terzil 2 (16,4-23,0)	1.953	43,9 (38,7, 49,2)	43,4 (36,7, 50,0)
Terzil 3 ($\geq 23,1$)	1.969	42,5 (37,3, 47,6)	43,5 (37,0, 50,1)
ASAT (U/L)	5.898		
Terzil 1 ($\leq 27,6$)	1.976	29,8 (24,1, 34,9)*	32,1 (25,5, 38,7)*
Terzil 2 (27,7-36,1)	1.960	42,0 (36,8, 47,2)	41,2 (34,5, 47,8)
Terzil 3 ($\geq 36,2$)	1.962	54,4 (49,3, 59,5)	51,9 (45,3, 58,3)
ASAT/ALAT	5.898		
$\leq 1,0$	434	28,4 (14,5, 39,3)*	33,6 (21,9, 45,4)
$> 1,0$	5.464	43,7 (40,5, 46,9)	42,4 (37,2, 47,5)
GGT (U/L)	5.898		
Terzil 1 ($\leq 25,3$)	1.971	42,3 (36,9, 47,7)	39,3 (32,5, 46,1)
Terzil 2 (25,4-37,5)	1.965	47,0 (41,8, 52,2)	46,3 (39,6, 53,0)
Terzil 3 ($\geq 37,6$)	1.962	38,4 (33,3, 43,6)	39,9 (33,5, 46,4)
MDRD-eGFR (ml/min/1,73 m ²)	5.898		
Terzil 1 ($\leq 0,48$)	1.967	42,3 (36,9, 47,7)	43,0 (36,3, 49,8)
Terzil 2 (0,49-0,57)	1.965	40,0 (34,8, 45,2)	39,8 (33,3, 46,3)
Terzil 3 ($\geq 0,58$)	1.966	45,1 (39,8, 50,4)	42,3 (35,6, 49,1)
Harn-Albumin (mg/L)	5.898		
0-19,9	5.014	42,5 (39,2, 45,8)	41,3 (36,1, 46,6)
20,0-29,9	277	47,9 (34,2, 61,6)	49,7 (35,6, 63,9)
$\geq 30,0$	607	39,5 (30,3, 48,8)	40,9 (30,9, 51,0)

Modell 1: lineare Regression, angepasst an Alter und Geschlecht, Modell 2: lineare Regression, angepasst an Alter, Geschlecht, Bildungsniveau, Raucherstatus, Body-Mass-Index und Taillenumfang, Modell 3: lineare Regression, angepasst an alle Faktoren in Modell 2 und Infektionsmarker, * p für Trend $< 0,05$.

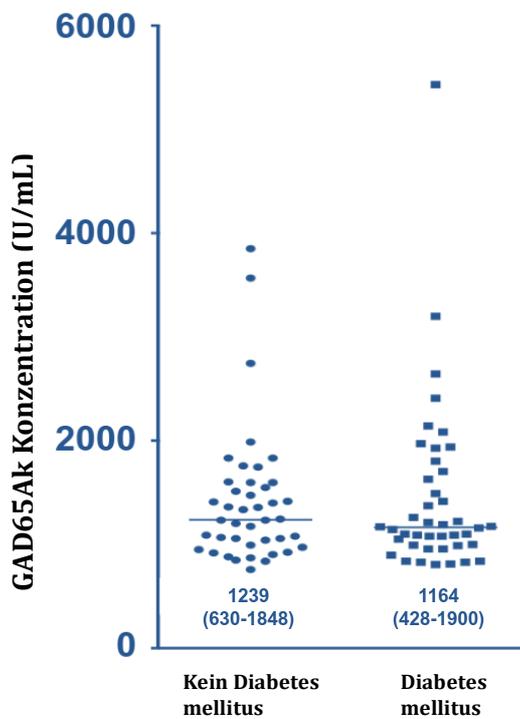
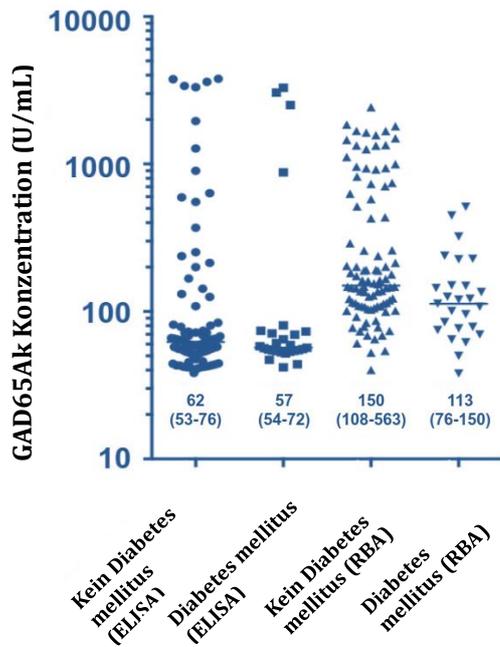
von CRP, ALAT und ASAT tendenziell direkt mit den GAD65Ak-Konzentrationen assoziiert (**Tabelle 5**). Keine anderen klinisch relevanten Faktoren, wie z.B. die Insulinbehandlung und die Dauer des DM, waren mit den GAD65Ak-Konzentrationen assoziiert. Die Unterschiede der GAD65Ak-Konzentrationen zwischen den Studienorten blieben bestehen, wenn infektionsbezogene Faktoren als potenzielle erklärende Variablen zu soziodemographischen und anthropometrischen Faktoren hinzugefügt wurden.

4.5 GAD65Ak in Abhängigkeit vom Diabetes-Status

Tabelle 4 zeigt auch die Anteile der GAD65Ak-positiven Personen nach DM-Status. In der Population der vorliegenden Studie waren 5,4% der Personen in der Gruppe mit Diabetesbeginn im Erwachsenenalter GAD65Ak-positiv, während der Anteil der GAD65Ak-Positivität in der Nicht- DM-Gruppe 6,1% betrug ($p=0,48$). Darüber hinaus gab es bei der GAD65Ak-Positivität keine Unterschiede zwischen DM- und Nicht-DM-Gruppen pro Studienort. Diese Befunde wurden bestätigt unter Ausschluss von Personen mit selbstberichtetem DM (**Tabelle 4, unterer Abschnitt**). Die GAD65Ak-Konzentrationen nach DM-Status, die mit dem Kronus-ELISA und dem DRG-ELISA ermittelt wurden, sind in **Abbildung 9** dargestellt und waren zwischen Personen mit und ohne DM ähnlich verteilt. Auch die LIPS-Analyse zeigte ähnliche Konzentrationen von GAD65Ak bei Personen mit und ohne DM (Median: 1,2 U/mL, IQR: 0,0-4,8 U/mL vs. Median: 0,9 U/mL, IQR: 0,0-4,0 U/mL; $p=0,62$). Daraus ergaben sich 11% (8/70) GAD65Ak-positiv Personen in der DM-Gruppe und 10% (7/70) GAD65Ak-positiv Teilnehmer in der Nicht- DM-Gruppe ($p=0,79$). Bei den Ig-Isotypen und IgG-Subklassen gab es keine Unterschiede zwischen Personen mit

und ohne DM. Schließlich war keine der Personen mit Diabetesbeginn vor dem Alter von 18 Jahren (n=11) GAD65Ak-positiv.

Abbildung 9. GAD65Ak-Konzentrationen (U/mL) unter Verwendung des Radioliganden-Bindungs-Assays (RBA) und zweier Enzym-Immunsorbent-Assays (ELISA) (52)



GAD65Ak-Titer (U/ml), erhalten durch Kronus-ELISA in 124 Proben (obere Abbildung, links), durch RBA in 124 Proben (obere Abbildung, rechts) und durch DRG-ELISA in 84 Proben (untere Abbildung). Die Zahlen geben den Median an (Perzentil 25 - Perzentil 75).

5. DISKUSSION

5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Ziel der vorliegenden Studie war die Bestimmung der Eignung von β -Zell-Autoantikörpern zur Klassifizierung von DM und der geeigneten Therapie bei 5.898 ghanaischen Erwachsenen. Unter Verwendung einer hochspezifischen Nachweismethode für GAD65Ak beobachteten wir überraschenderweise eine ähnliche Prävalenz der GAD65Ak-Positivität zwischen Personen mit und ohne Altersdiabetes. Es zeigte sich ein geografischer Trend in der GAD65Ak-Konzentration mit den höchsten Konzentrationen im ländlichen Ghana, gefolgt vom städtischen Ghana und Europa. Dies konnte jedoch nur teilweise durch Infektionsmarker begründet werden.

5.2 Stärken und Limitationen

Die vorliegende Studie liefert erstmals Ergebnisse aus einer großen afrikanischen Stichprobe aus Subsahara-Afrika zu Biomarkern für Autoimmundiabetes im Erwachsenenalter, die in hauptsächlich europäischen Bevölkerungen etabliert wurden. Dennoch sind unsere Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren. Die Teilnahme an der Studie war auf Erwachsene im Alter von 25 bis 70 Jahren beschränkt. Früher hatten Personen mit T1D in sub-Sahara Afrika eine schlechte Prognose (12). Da >98% unserer Studienteilnehmer mittleren Alters in Ghana geboren wurden, dürften nur wenige Personen mit T1D das Einschlussalter erreicht haben. Dieser Überlebenseffekt könnte zu einer Unterrepräsentierung von T1D in unserer Studienpopulation geführt haben, was durch die Tatsache, dass die meisten DM-Patienten in der vorliegenden Studie im Erwachsenenalter erkrankt waren, zusätzlich bestätigt wird. Ein solcher Überlebenseffekt könnte daher zum Teil die ähnliche Prävalenz der GAD65Ak-

Positivität in der DM- und Nicht-DM-Gruppe erklären. Die genetische Information für die Region des Human Leucocyte Antigen (HLA) beeinflusst die GAD65Ak-Konzentrationen, jedoch waren diese Daten für unsere Studienpopulation nicht verfügbar. Eine wichtige Stärke unserer Studie ist der umfassende Analysesatz zur Überprüfung der Robustheit unserer Ergebnisse. Wir bestätigten die Spezifität der GAD65Ak-Messung durch kompetitive Assays mit einer Sensitivität von 78% und einer Spezifität von 70% sowie durch die Identifizierung von Ig-Isotypen und IgG-Subklassen. Wir verifizierten die unterschiedlichen Anteile der GAD65Ak-Positivität je nach DM-Status durch zwei verschiedene ELISAs, durch LIPS-Analyse in einem unabhängigen Labor und nach Ausschluss von Personen mit selbstberichtetem DM. Darüber hinaus hatten wir eine Reihe von objektiv gemessenen und selbstberichteten infektionsbezogenen Faktoren zur Verfügung, um ihre Beziehungen zu den GAD65Ak-Konzentrationen zu ermitteln.

5.3 GAD65Ak-Konzentrationen, Ethnizität und Diabetes-Status

Frühere Berichte weisen darauf hin, dass das Auftreten von GAD65Ak und ihre Assoziation mit DM ethnisch bedingt ist. Die Prävalenz der GAD65Ak-Positivität bei Personen ohne DM reicht von 1% bei der grönländischen Inuit-Bevölkerung über 2-3% bei Personen europäischer Abstammung bis zu 1-7% bei nicht-spanischstämmigen Schwarzen (56-59). Während kaukasische und asiatische Populationen eine 80-90%ige Autoantikörper-Positivität bei T1D-Patienten (60-61) berichteten, wurden nur 36-44% der T1D-Patienten, die in sub-Sahara Afrika leben, positiv auf Inselzell-Autoantikörper getestet (62, 37), und bei T1D-Patienten, die in Nigeria leben, wurden wesentlich geringere Häufigkeiten (7-9%) beobachtet (63). Diese Diskrepanz zwischen T1D und Autoantikörpern wurde auch bei

Afroamerikanern beobachtet, bei denen T1D diagnostiziert wurde (64), was auf einen starken ethnischen Faktor bei der Entwicklung von β -Zell-Autoantikörpern hindeutet. Der Zusammenhang zwischen GAD65Ak und DM kann auch bei Patienten mit diagnostiziertem Altersdiabetes in Europa beobachtet werden, wo die jeweiligen Anteile Unterschiede von 1-4 Prozentpunkten erreichen (58-59). Bei Personen aus Subsahara-Afrika wird dies jedoch nicht einheitlich gesehen (35, 56). Bei Afroamerikanern in der Third National Health and Nutrition Examination Survey zeigt sich nur ein Trend für Unterschiede in der GAD65Ak-Positivität zwischen DM- und Nicht-DM-Gruppen (3,7% vs. 1,3%; $p=0,08$), wohingegen die Zahlen für nicht-spanischstämmige Weiße sich deutlich unterscheiden: 6,3% vs. 2,0%; $p=0,001$ (58). Eine kleine Studie aus Kumasi, Ghana ($n=120$) berichtet jedoch, dass 18% der Patienten mit insulinpflichtiger DM, 9% der Patienten mit nicht insulinpflichtiger DM und 2% der Personen ohne DM positiv für GAD65Ak sind (35). In dieser Studie handelt es sich bei den Patienten um Erwachsene mit neu aufgetretenem DM (mittleres Alter: $48,2 \pm 13,4$ Jahre; Krankheitsdauer < 1 Jahr), und GAD65Ak wurden mit einem von DRB International Inc, USA entwickelten ELISA gemessen. Erwähnenswert ist, dass dieser Test Anti-Human-IgG zum Nachweis der GAD65-Human-Antikörper-Komplexe verwendet. Der RBA in der vorliegenden Studie und der KRONUS-ELISA-Kit können nicht zwischen verschiedenen Ig-Isotypen unterscheiden. Daher wäre es möglich, dass der hochreaktive IgM-Antikörper den spezifischen Nachweis von GAD65-Antikörpern des IgG-Isotyps im RBA behindert hat. Dies wird durch unseren Befund unterstützt, dass die IgM-Konzentrationen mit GAD65Ak korrelierten. Unsere Analyse in einer Untergruppe von DM- und Nicht-DM-Gruppen mit dem DRB-ELISA-Kit zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede in der GAD65Ak-Konzentration zwischen den beiden Gruppen.

Darüber hinaus korrelierten die mit dem DRB-ELISA erzielten Ergebnisse signifikant mit der vom RBA gemessenen GAD65Ak-Konzentration, was darauf schließen lässt, dass ein erheblicher Anteil der GAD65Ak-Konzentration zum IgG-Isotyp gehörte. Daher könnten die Diskrepanzen zwischen der früheren Studie in Kumasi und unserer Studie auf unterschiedliche Populationsmerkmale und Beschränkungen der Stichprobengröße in der Studie von Agyei-Frempong et al. zurückzuführen sein (35). Zusammengefasst deuten unsere Daten darauf hin, dass GAD65Ak in bestimmten ethnischen Untergruppen möglicherweise nicht zwischen autoimmunem und nicht-autoimmunem DM unterscheidet.

5.4 Infektiöse Umwelt und GAD65Ak

Auffallend war die unterschiedliche Verteilung von GAD65Ak in den verschiedenen Studienorten. Dies lässt uns vermuten, dass die Exposition gegenüber einer infektiösen Umgebung zu dieser Beobachtung beitragen könnte. Die IgM-Konzentrationen waren im ländlichen Ghana am höchsten, und nur dort korrelierte IgM mäßig positiv mit GAD65Ak. Hohe IgM-Konzentrationen deuten auf akute und rezidivierende Infektionen hin (65). In Afrika südlich der Sahara stellen Infektionskrankheiten wie Malaria immer noch eine große Herausforderung für die öffentliche Gesundheit dar (66). Malaria ist typischerweise in ländlichen Gegenden stärker verbreitet, und die humorale Reaktion gegen den Malariaparasiten *Plasmodium falciparum* wird von hohen IgG- und IgM-Serumkonzentrationen dominiert (67). Überraschenderweise ist nur ein Bruchteil dieser Antikörper spezifisch für Malaria-Antigene, während die Mehrheit polyklonal ist und eine Reaktivität auf den Rheumafaktor und eine antinukleäre Spezifität aufweist (68). Bedeutend ist, dass die Antikörperkonzentrationen auch nach der Ausheilung der

klinischen Malaria erhöht bleiben, aber mit den Jahren des Aufenthalts in endemischen Gebieten invers korreliert sind (68-69). Darüber hinaus ist bekannt, dass Infektionen mit Parasiten, wie z.B. Plasmodium spec., Autoimmunreaktionen bei zuvor nicht autoimmunen Individuen auslösen (70). Der Effekt einer infektiösen Umgebung auf die Produktion von Autoantikörpern wurde elegant durch die Prävalenz von antinukleären Autoantikörpern (ANA) bei Migranten aus Nigeria und Ghana nach Italien illustriert (54). Diese Personen zeigen signifikant höhere ANA-Konzentrationen als die italienische Bezugsgruppe, aber die Prävalenz nimmt nach längerer Aufenthaltsdauer in Italien stark ab (≥ 8 Jahre). Dies war in unserer Studienpopulation, in der 88% der Personen seit mehr als 10 Jahren in Europa lebten, nicht so deutlich zu verzeichnen. Die unterschiedlichen GAD65Ak-Konzentrationen zwischen Ghana und Europa blieben auch nach der Einbeziehung von infektionsbezogenen Faktoren in das endgültige Regressionsmodell erkennbar. Tatsächlich ähneln die geringen Anteile der GAD65Ak-Positivität an den europäischen Standorten der vorliegenden Studienpopulation denen, die in der European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-InterAct-Studie in denselben Ländern beobachtet wurden (59). Daher spekulieren wir, dass alternative Umweltfaktoren wie eine im Vergleich zu Europa höhere Exposition gegenüber Luftverschmutzung, Impfstoffen, familiärem Umfeld und Stress in Ghana beteiligt sein könnten (71). GAD65Ak dient daher nicht als spezifischer Marker für Autoimmundiabetes in dieser afrikanischen Bevölkerung in sub-Sahara Afrika.

5.5 Schlussfolgerungen

Bis zur Verifizierung in unabhängigen afrikanischen Bevölkerungsgruppen in sub-Sahara Afrika können unsere Ergebnisse wichtige Auswirkungen auf das klinische

Management und die Planung der Gesundheitsversorgung für diese Bevölkerungsgruppen haben. Unsere Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit, etablierte Marker für Autoimmundiabetes in verschiedenen ethnischen Bevölkerungsgruppen zu verifizieren und neue Marker zu entwickeln. Bis dahin könnten für die wachsende Gruppe von Migranten aus Subsahara-Afrika nach Europa andere Faktoren als der Autoimmunstatus von größerer Bedeutung sein für ein effizientes und wirksames Krankheitsmanagement und für die Identifizierung neuer DM-Untergruppen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. World Health Organization: Global Report on Diabetes. Geneva, Switzerland, World Health Organization, 2016.
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241565257>. Letzter Zugriff: 14 August 2020.
2. Agyemang C, Meeks K, Beune E, Owusu-Dabo E, Mockenhaupt FP, Addo J, de Graft Aikins A, Bahendeka S, Danquah I, Schulze MB, Spranger J, Burr T, Agyei-Baffour P, Amoah SK, Galbete C, Henneman P, Klipstein-Grobusch K, Nicolaou M, Adeyemo A, van Straalen J, Smeeth L, Stronks K. Obesity and type 2 diabetes in sub-Saharan Africans - Is the burden in today's Africa similar to African migrants in Europe? The RODAM study. *BMC Med.* 2016;14:166.
3. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2019.
4. Stirbu I, Kunst AE, Bos V, Mackenbach JP. Differences in avoidable mortality between migrants and the native Dutch in the Netherlands. *BMC Public Health.* 2006;6:78.

5. World Health Organization – Regional Office for Europe. Report on the health of refugees and migrants in the WHO European Region: no public health without refugee and migrant health. Copenhagen, Denmark: World Health Organization, 2018.
6. Addo J, Agyemang C, de-Graft Aikins A, Beune E, Schulze MB, Danquah I, Galbete C, Nicolaou M, Meeks K, Klipstein-Grobusch K, Bahendaka S, Mockenhaupt FP, Owusu-Dabo E, Kunst A, Stronks K, Smeeth L. Association between socioeconomic position and the prevalence of type 2 diabetes in Ghanaians in different geographic locations: the RODAM study. *J Epidemiol Community Health*. 2017 Jul;71(7):633-639. doi: 10.1136/jech-2016-208322. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28348205; PMCID: PMC5485755.
7. Choukem SP, Fabreguettes C, Akwo E, Porcher R, Nguewa JL, Bouche C, Kaze FF, Kengne AP, Vexiau P, Mbanya JC, Sobngwi E, Gautier JF. Influence of migration on characteristics of type 2 diabetes in sub-Saharan Africans. *Diabetes Metab*. 2014 Feb;40(1):56-60. doi: 10.1016/j.diabet.2013.07.004. Epub 2013 Sep 26. PMID: 24076360.
8. Andersen GS, Kamper-Jørgensen Z, Carstensen B, Norredam M, Bygbjerg IC, Jørgensen ME. Diabetes among migrants in Denmark: incidence, mortality, and prevalence based on a longitudinal register study of the entire Danish population. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;122:9–16. 98.
9. Jørgensen ME, Almdal TP, Faerch K. Reduced incidence of lower-extremity amputations in a Danish diabetes population from 2000 to 2011. *Diabetic Med*. 2014;31(4):443–7.
10. Bennet L, Groop L, Lindblad U, Agardh CD, Franks PW. Ethnicity is an independent risk indicator when estimating diabetes risk with FINDRISC scores:

- a cross sectional study comparing immigrants from the Middle East and native Swedes. *Prim Care Diabetes*. 2014;8(3):231–8. 96.
11. Choukem S.P., Dimala C.A., Maadjhou C., Mbanya J.C. (2019) Diabetes Management in Africa. In: Rodriguez-Saldana J. (eds) *The Diabetes Textbook*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11815-0_18.
 12. Beran D, Yudkin JS. Diabetes care in sub-Saharan Africa. *Lancet*. 2006;368(9548):1689–95.
 13. Majaliwa ES, Elusiyan BJ, Adesiyun OO, Laigong P, others. Type 1 diabetes mellitus in the African population: epidemiology and management challenges. *Acta Bio Medica Atenei Parm*. 2009;79(3):255–9.
 14. Mbanya JC, Kengne AP, Assah F. Diabetes care in Africa. *Lancet*. 2006;368(9548):1628–9.
 15. Whiting DR, Hayes L, Unwin NC. Challenges to health care for diabetes in Africa. *J Cardiovasc Risk*. 2003;10(2):103–10.
 16. Creatore MI, Moineddin R, Booth G, Manuel DH, DesMeules M, McDermott S, Glazier RH. Age- and sex-related prevalence of diabetes mellitus among immigrants to Ontario, Canada. *CMAJ*. 2010 May 18;182(8):781-9. doi: 10.1503/cmaj.091551. Epub 2010 Apr 19. PMID: 20403889; PMCID: PMC2871200.
 17. Moss M, Hawthorne K, Hughes N, Lavelle D, Tan MC. Working and engaging with minority ethnic communities in an urban setting. *J Diabetes Nurs*. 2008;12:310-338.
 18. National Institute for Health and Care Excellence. Type 2 diabetes: Prevention in people at high risk. 2012.
<https://www.nice.org.uk/guidance/ph38/chapter/Recommendations#commissioni>

ng-risk-identification-and-intensive-lifestyle-change-programmes. Letzter

Zugriff: 4 September 2020.

19. Oldroyd J, Banerjee M, Heald A, Cruickshank K. Diabetes and ethnic minorities. *Postgraduate Medical Journal*. 2005;81(958):486-490.
doi:10.1136/pgmj.2004.029124.
20. Meeks KA, Stronks K, Beune EJ, Adeyemo A, Henneman P, Mannens MM, Nicolaou M, Peters RJ, Rotimi CN, Snijder MB, Agyemang C. Prevalence of type 2 diabetes and its association with measures of body composition among African residents in the Netherlands--The HELIUS study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2015 Nov;110(2):137-46. doi: 10.1016/j.diabres.2015.09.017. Epub 2015 Sep 25. PMID: 26432411. Reuven Y, Dreiherr J, Shvartzman P. The prevalence of diabetes, hypertension and obesity among immigrants from East Africa and the former Soviet Union: A retrospective comparative 30-year cohort study. *Cardiovasc Diabetol*. 2016;15(1). doi:10.1186/s12933-016-0392-7.
21. Alloh FT, Hemingway A, Turner-Wilson A. Systematic review of diabetes management among black African immigrants, white and South Asian populations. *Journal of Global Health Reports*. 2019;3:e2019020.
doi:10.29392/joghr.3.e2019020.
22. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002;346:393-403. doi:10.1056/NEJMoa01251211832527.
23. Amboss. Diabetes mellitus.
<https://next.amboss.com/de/article/3g0SE2#YKcnUW0>. Letzter Zugriff: 14 August 2020.

24. National Diabetes Data Group. Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. *Diabetes* 1979;28(12):1039–57.
25. World Health Organization: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Geneva, Switzerland, World Health Organization, Department of Non-Communicable Disease Surveillance, 1999.
26. World Health Organization. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
27. Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes Risk Factors. <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/risk-factors.html>. Letzter Zugriff: 8 September 2020.
28. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, Rowley MJ, Knowles W, Mackay IR. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. *Diabetes*. 1993;42:359-362.
29. Ahlqvist E, Storm P, Karajamaki A, Martinell M, Dorkhan M, Carlsson A, Vikman P, Prasad RB, Aly DM, Almgren P, Wessman Y, Shaat N, Spiegel P, Mulder H, Lindholm E, Melander O, Hansson O, Malmqvist U, Lernmark A, Lahti K, Forsen T, Tuomi T, Rosengren AH, Groop L. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6:361-369.
30. Buzzetti R, Zampetti S, Maddaloni E. Adult-onset autoimmune diabetes: current knowledge and implications for management. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13:674-686.

31. Towns R, Pietropaolo M. GAD65 autoantibodies and its role as biomarker of Type 1 diabetes and Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA). *Drugs Future*. 2011;36:847.
32. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. *Lancet*. 2014;383:1084-1094.
33. Huang G, Yin M, Xiang Y, Li X, Shen W, Luo S, Lin J, Xie Z, Zheng P, Zhou Z. Persistence of glutamic acid decarboxylase antibody (GADA) is associated with clinical characteristics of latent autoimmune diabetes in adults: a prospective study with 3-year follow-up. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016;32:615-622.
34. Andersen CD, Bennet L, Nystrom L, Lindblad U, Lindholm E, Groop L, *et al*. Worse glycaemic control in LADA patients than in those with type 2 diabetes, despite a longer time on insulin therapy. *Diabetologia* 2013; 56:252–258.
35. Agyei-Frempong MT, Titty FV, Owiredu WK, Eghan BA. The prevalence of autoimmune diabetes among diabetes mellitus patients in Kumasi, Ghana. *Pak J Biol Sci*. 2008;11:2320-2325.
36. Asanghanwa M, Gorus FK, Weets I, der Auwera BV, Aminkeng F, Mbunwe E, Goubert P, Verhaeghen K, Sobngwi E, Wenzlau JM, Hutton JC, Pipeleers DG, Keymeulen B, Mbanya JC, van Schravendijk C. Clinical and biological characteristics of diabetic patients under age 40 in Cameroon: relation to autoantibody status and comparison with Belgian patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;103:97-105.
37. Panz VR, Kalk WJ, Zouvanis M, Joffe BI. Distribution of autoantibodies to glutamic acid decarboxylase across the spectrum of diabetes mellitus seen in South Africa. *Diabet Med*. 2000;17:524-527.
38. Dodu SR. Diabetes in the tropics. *BMJ* 1967;2:747–750.

39. Ahren B, Corrigan CB. Intermittent need for insulin in a subgroup of diabetic patients in Tanzania. *Diabet Med* 1985;2:262–264.
40. Oli JM. Remittant diabetes mellitus in Nigeria. *Trop Geogr Med* 1978;30:57–62.
41. Oli JM, Bottazzo GF, Doniach D. Islet cell antibodies and diabetes in Nigerians. *Trop Geogr Med* 1981;33:161–164.
42. Adadevoh BK. “Temporary diabetes” in adult Nigerians. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1968;62:528–530.
43. Adetuyibi A. Insulin in the management of diabetes mellitus in Nigerians. *West Afr J Pharmacol Drug Res* 1975;2:97–102.
44. Diabetes mellitus – Report of a WHO Study Group. Geneva: World Health Organization - Technical Report Series 727, 1985. (Letzter Zugriff: 8 September 2020, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39592/1/WHO_TRS_727.pdf).
45. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Geneva: World Health Organization, Department of Noncommunicable Disease Surveillance, 1999. (Letzter Zugriff: 8 September 2020, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66040/1/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf).
46. Bavuma C, Sahabandu D, Musafiri S, Danquah I, McQuillan R, Wild S. Atypical forms of diabetes mellitus in Africans and other non-European ethnic populations in low- and middle-income countries: a systematic literature review. *J Glob Health*. 2019;9(2):020401. doi:10.7189/jogh.09.020401.
47. Agyemang C, Beune E, Meeks K, Owusu-Dabo E, Agyei-Baffour P, Aikins A, Doodoo F, Smeeth L, Addo J, Mockenhaupt FP, Amoah SK, Schulze MB, Danquah I, Spranger J, Nicolaou M, Klipstein-Grobusch K, Burr T, Henneman P, Mannens MM, van Straalen JP, Bahendeka S, Zwinderman AH, Kunst AE,

- Stronks K. Rationale and cross-sectional study design of the Research on Obesity and type 2 Diabetes among African Migrants: the RODAM study. *BMJ Open*. 2014;4:e004877.
48. Hampe CS, Hammerle LP, Bekris L, Ortqvist E, Kockum I, Rolandsson O, Landin-Olsson M, Torn C, Persson B, Lernmark A. Recognition of glutamic acid decarboxylase (GAD) by autoantibodies from different GAD antibody-positive phenotypes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:4671-4679.
49. Mire-Sluis AR, Gaines Das R, Lernmark A. The World Health Organization International Collaborative Study for islet cell antibodies. *Diabetologia*. 2000;43:1282-1292.
50. Verge CF, Stenger D, Bonifacio E, Colman PG, Pilcher C, Bingley PJ, Eisenbarth GS. Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type 1 diabetes: Combinatorial Islet Autoantibody Workshop. *Diabetes*. 1998;47:1857-1866.
51. Rolandsson O, Hagg E, Hampe C, Sullivan EP, Jr., Nilsson M, Jansson G, Hallmans G, Lernmark A. Glutamate decarboxylase (GAD65) and tyrosine phosphatase-like protein (IA-2) autoantibodies index in a regional population is related to glucose intolerance and body mass index. *Diabetologia*. 1999;42:555-559.
52. Hampe CS, Sahabandu D, Kaiser V, Telieps T, Smeeth L, Agyemang C, Spranger J, Schulze MB, Mockenhaupt FP, Danquah I, Rolandsson O. Geographic location determines beta-cell autoimmunity among adult Ghanaians: Findings from the RODAM study. *Immun Inflamm Dis*. 2020 Sep;8(3):299-309.

doi: 10.1002/iid3.306. Epub 2020 May 7. PMID: 32378803; PMCID:
PMC7416037.

53. Walther D, Eugster A, Jergens S, Gavrisan A, Weinzierl C, Telieps T, Winkler C, Ziegler AG, Bonifacio E. Tetraspanin 7 autoantibodies in type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2016;59:1973-1976.
54. Cainelli F, Betterle C, Vento S. Antinuclear antibodies are common in an infectious environment but do not predict systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2004;63:1707-1708.
55. Jakobsen OAJ, Szereday L. The "three amigos" lurking behind type 1 diabetes: hygiene, gut microbiota and viruses. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 2018;65:421-438.
56. Barinas-Mitchell E, Pietropaolo S, Zhang YJ, Henderson T, Trucco M, Kuller LH, Pietropaolo M. Islet cell autoimmunity in a triethnic adult population of the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes*. 2004;53:1293-1302.
57. Dabelea D, Ma Y, Knowler WC, Marcovina S, Saudek CD, Arakaki R, White NH, Kahn SE, Orchard TJ, Goldberg R, Palmer J, Hamman RF, Diabetes Prevention Program Research G. Diabetes autoantibodies do not predict progression to diabetes in adults: the Diabetes Prevention Program. *Diabet Med*. 2014;31:1064-1068.
58. Pedersen ML, Bjerregaard P, Jorgensen ME. GAD65 antibodies among Greenland Inuit and its relation to glucose intolerance. *Acta Diabetol*. 2014;51:641-646.
59. Rolandsson O, Hampe CS, Wennberg P, Radtke J, Langenberg C, Wareham N, Group EP-IS. Prevalence and Regional Distribution of Autoantibodies Against

GAD65Ab in a European Population Without Diabetes: The EPIC-InterAct Study. *Diabetes Care*. 2015;38:e114-115.

60. Notkins AL, Lernmark A. Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *Clin J Invest*. 2001;108:1247-52.
61. Lee YS, Ng WY, Thai AC, Lui KF, Loke KY. Prevalence of ICA and GAD antibodies at initial presentation of type 1 diabetes mellitus in Singapore children. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2001;14:767-72.
62. Lutale JJK, Thordarson H, Holm PI, Eide GE, Vetvik K. Islet cell autoantibodies in African patients with Type 1 and Type 2 diabetes in Dar es Salaam Tanzania: a cross sectional study. *J Autoimmun Dis*. 2007;4:4.
63. Oli JM, Bottazzo GF, Doniach D. Autoantibodies in Nigerian diabetics with pancreatic calcification. *East Afr Med J*. 1981;58:790-4.
64. Libman IM, Pietropaolo M, Trucco M, Dorman JS, LaPorte RE, Becker D. Islet cell autoimmunity in white and black children and adolescents with IDDM. *Diabetes Care*. 1998;21:1824-27.
65. Janeway CAJ, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. The Humoral Immune Response. In: *Immunobiology - The Immune System in Health and Disease* 5th ed. New York: Garland Science; 2001.
66. Murray CJ, Ortblad KF, Guinovart C, Lim SS, Wolock TM, Roberts DA, Dansereau EA, Graetz N, Barber RM, Brown JC, Wang H, Duber HC, Naghavi M, Dicker D, Dandona L, Salomon JA, Heuton KR, Foreman K, Phillips DE, Fleming TD, Flaxman AD, Phillips BK, Johnson EK, Coggeshall MS, Abd-Allah F, Abera SF, Abraham JP, Abubakar I, Abu-Raddad LJ, Abu-Rmeileh NM, Achoki T, Adeyemo AO, Adou AK, Adsuar JC, Agardh EE, Akena D, Al Kahbouri MJ, Alasfoor D, Albittar MI, Alcalá-Cerra G, Alegretti MA, Alemu

ZA, Alfonso-Cristancho R, Alhabib S, Ali R, Alla F, Allen PJ, Alsharif U, Alvarez E, Alvis-Guzman N, Amankwaa AA, Amare AT, Amini H, Ammar W, Anderson BO, Antonio CA, Anwari P, Arnlov J, Arsenijevic VS, Artaman A, Asghar RJ, Assadi R, Atkins LS, Badawi A, Balakrishnan K, Banerjee A, Basu S, Beardsley J, Bekele T, Bell ML, Bernabe E, Beyene TJ, Bhala N, Bhalla A, Bhutta ZA, Abdulhak AB, Binagwaho A, Blore JD, Basara BB, Bose D, Brainin M, Breitborde N, Castaneda-Orjuela CA, Catala-Lopez F, Chadha VK, Chang JC, Chiang PP, Chuang TW, Colomar M, Cooper LT, Cooper C, Courville KJ, Cowie BC, Criqui MH, Dandona R, Dayama A, De Leo D, Degenhardt L, Del Pozo-Cruz B, Deribe K, Des Jarlais DC, Dessalegn M, Dharmaratne SD, Dilmen U, Ding EL, Driscoll TR, Durrani AM, Ellenbogen RG, Ermakov SP, Esteghamati A, Faraon EJ, Farzadfar F, Fereshtehnejad SM, Fijabi DO, Forouzanfar MH, Fra Paleo U, Gaffikin L, Gamkrelidze A, Gankpe FG, Geleijnse JM, Gessner BD, Gibney KB, Ginawi IA, Glaser EL, Gona P, Goto A, Gouda HN, Gughani HC, Gupta R, Gupta R, Hafezi-Nejad N, Hamadeh RR, Hammami M, Hankey GJ, Harb HL, Haro JM, Havmoeller R, Hay SI, Hedayati MT, Pi IB, Hoek HW, Hornberger JC, Hosgood HD, Hotez PJ, Hoy DG, Huang JJ, Iburg KM, Idrisov BT, Innos K, Jacobsen KH, Jeemon P, Jensen PN, Jha V, Jiang G, Jonas JB, Juel K, Kan H, Kankindi I, Karam NE, Karch A, Karema CK, Kaul A, Kawakami N, Kazi DS, Kemp AH, Kengne AP, Keren A, Kereselidze M, Khader YS, Khalifa SE, Khan EA, Khang YH, Khonelidze I, Kinfu Y, Kinge JM, Knibbs L, Kokubo Y, Kosen S, Defo BK, Kulkarni VS, Kulkarni C, Kumar K, Kumar RB, Kumar GA, Kwan GF, Lai T, Balaji AL, Lam H, Lan Q, Lansingh VC, Larson HJ, Larsson A, Lee JT, Leigh J, Leinsalu M, Leung R, Li Y, Li Y, De Lima GM, Lin HH, Lipshultz SE, Liu S, Liu Y, Lloyd BK, Lotufo PA,

Machado VM, Maclachlan JH, Magis-Rodriguez C, Majdan M, Mapoma CC, Marcenes W, Marzan MB, Masci JR, Mashal MT, Mason-Jones AJ, Mayosi BM, Mazorodze TT, McKay AC, Meaney PA, Mehndiratta MM, Mejia-Rodriguez F, Melaku YA, Memish ZA, Mendoza W, Miller TR, Mills EJ, Mohammad KA, Mokdad AH, Mola GL, Monasta L, Montico M, Moore AR, Mori R, Moturi WN, Mukaigawara M, Murthy KS, Naheed A, Naidoo KS, Naldi L, Nangia V, Narayan KM, Nash D, Nejjari C, Nelson RG, Neupane SP, Newton CR, Ng M, Nisar MI, Nolte S, Norheim OF, Nowaseb V, Nyakarahuka L, Oh IH, Ohkubo T, Olusanya BO, Omer SB, Opio JN, Orisakwe OE, Pandian JD, Papachristou C, Caicedo AJ, Patten SB, Paul VK, Pavlin BI, Pearce N, Pereira DM, Pervaiz A, Pesudovs K, Petzold M, Pourmalek F, Qato D, Quezada AD, Quistberg DA, Rafay A, Rahimi K, Rahimi-Movaghar V, Ur Rahman S, Raju M, Rana SM, Razavi H, Reilly RQ, Remuzzi G, Richardus JH, Ronfani L, Roy N, Sabin N, Saeedi MY, Sahraian MA, Samonte GM, Sawhney M, Schneider IJ, Schwebel DC, Seedat S, Sepanlou SG, Servan-Mori EE, Sheikhabaei S, Shibuya K, Shin HH, Shiue I, Shivakoti R, Sigfusdottir ID, Silberberg DH, Silva AP, Simard EP, Singh JA, Skirbekk V, Sliwa K, Soneji S, Soshnikov SS, Sreeramareddy CT, Stathopoulou VK, Stroumpoulis K, Swaminathan S, Sykes BL, Tabb KM, Talongwa RT, Tenkorang EY, Terkawi AS, Thomson AJ, Thorne-Lyman AL, Towbin JA, Traebert J, Tran BX, Dimbuene ZT, Tsilimbaris M, Uchendu US, Ukwaja KN, Uzun SB, Vallely AJ, Vasankari TJ, Venketasubramanian N, Violante FS, Vlassov VV, Vollset SE, Waller S, Wallin MT, Wang L, Wang X, Wang Y, Weichenthal S, Weiderpass E, Weintraub RG, Westerman R, White RA, Wilkinson JD, Williams TN, Woldeyohannes SM, Wong JQ, Xu G, Yang YC, Yano Y, Yentur GK, Yip P, Yonemoto N, Yoon SJ, Younis M, Yu C, Jin

- KY, El Sayed Zaki M, Zhao Y, Zheng Y, Zhou M, Zhu J, Zou XN, Lopez AD, Vos T. Global, regional, and national incidence and mortality for HIV, tuberculosis, and malaria during 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384:1005-1070.
67. Desowitz RS, Elm J, Alpers MP. *Plasmodium falciparum*-specific immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgE antibodies in paired maternal-cord sera from east Sepik Province, Papua New Guinea. *Infect Immun*. 1993;61:988-993.
68. Stanistic DI, Fowkes FJ, Koinari M, Javati S, Lin E, Kiniboro B, Richards JS, Robinson LJ, Schofield L, Kazura JW, King CL, Zimmerman P, Felger I, Siba PM, Mueller I, Beeson JG. Acquisition of antibodies against *Plasmodium falciparum* merozoites and malaria immunity in young children and the influence of age, force of infection, and magnitude of response. *Infect Immun*. 2015;83:646-660.
69. Folegatti PM, Siqueira AM, Monteiro WM, Lacerda MV, Drakeley CJ, Braga EM.
A systematic review on malaria sero-epidemiology studies in the Brazilian Amazon: insights into immunological markers for exposure and protection. *Malar J*. 2017;16:107.
70. Pradhan V, Ghosh K. Immunological disturbances associated with malarial infection. *J Parasit Dis*. 2013;37:11-15.
71. Butalia S, Kaplan GG, Khokhar B, Rabi DM. Environmental Risk Factors and Type 1 Diabetes: Past, Present, and Future. *Can J Diabetes*. 2016;40:586-593.

7. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Diomira Sahabandu, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Bedeutung von beta-Zell-Autoantikörpern für Diabetes mellitus bei Erwachsenen in Ghana-Land und Ghana-Stadt sowie bei ghanaischen Migranten in Amsterdam, London und Berlin“; „The importance of beta-cell autoantibodies for diabetes mellitus in adults in Ghana country and Ghana city as well as in Ghanaian migrants in Amsterdam, London and Berlin“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

8. Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Diomira Chalanka Sahabandu hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Hampe CS, **Sahabandu D**, Kaiser V, Teliyps T, Smeeth L, Agyemang C, Spranger J, Schulze MB, Mockenhaupt FP, Danquah I, Rolandsson O. Geographic location determines beta-cell autoimmunity among adult Ghanaians: Findings from the RODAM study. *Immun Inflamm Dis.* 2020 Sep;8(3):299-309. doi:10.1002/iid3.306. Impact Faktor: 2,50

Beitrag im Einzelnen (bitte detailliert ausführen):

- Die Argumentationsketten der Einleitung und der Diskussion dieser Veröffentlichung dienten als Grundlage für die Herleitung meiner Fragestellung (Einleitung) sowie der Einordnung meiner Ergebnisse (Diskussion).
- Aus meiner statistischen Auswertung sind die Tabellen 2, 3, 4 und 5 sowie die Abbildungen 3 und 5.
- Die Beschreibung der Methoden diente als Grundlage für den Methodenteil meiner Monografie.
- Die Struktur des Diskussionskapitels diente als Grundlage für den Diskussionsteil meiner Monografie.

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

9. LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen
Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

10. PUBLIKATIONSLISTE

1. Raufelder D, **Sahabandu D**, Martínez GS & Escobar V (2015) The mediating role of social relationships in the association of adolescents' individual school self-concept and their school engagement, belonging and helplessness in school, *Educational Psychology*, 35:2, 137-157, DOI: 10.1080/01443410.2013.849327.
2. Bavuma C, **Sahabandu D**, Musafiri S, Danquah I, McQuillan R, Wild S. Atypical forms of diabetes mellitus in Africans and other non-European ethnic populations in low- and middle-income countries: a systematic literature review. *J Glob Health*. 2019 Dec;9(2):020401. doi: 10.7189/jogh.09.020401. PMID: 31673335; PMCID: PMC6818125.
3. Hampe CS, **Sahabandu D**, Kaiser V, Teliéps T, Smeeth L, Agyemang C, Spranger J, Schulze MB, Mockenhaupt FP, Danquah I, Rolandsson O. Geographic location determines beta-cell autoimmunity among adult Ghanaians: Findings from the RODAM study. *Immun Inflamm Dis*. 2020 Sep;8(3):299-309. doi:10.1002/iid3.306.

11. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich nochmals recht herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Frank Mockenhaupt bedanken für die Vergabe dieser Promotionsarbeit und für die beständige Unterstützung bei jeder Phase dieses Prozesses. Ein ganz besonderer Dank gilt PD Dr. Ina Danquah für die intensive und durchgehende Betreuung, sowie den langen Atem und Zusprache von Motivation, die maßgeblich zu der Durchführung und Fertigstellung dieser Dissertation beigetragen hat. Des Weiteren danke ich den zahlreichen KollegInnen, die an der Durchführung dieser Arbeit mitgewirkt haben, sowie den TeilnehmerInnen der RODAM-Studie, durch die diese Promotionsarbeit erst ermöglicht wurde. Zuletzt danke ich Frau Janina Kirsch, die mich in den letzten Zügen Richtung Abgabe vorangetrieben hat.

Ich widme diese Promotionsarbeit meinen Eltern, Sanjivi und Nihal Sahabandu, und meiner Schwester, Tatyana Sahabandu, sowie meinem Partner, Pascal Nadler-Sahabandu, die mir während des Studiums jederzeit zur Seite standen.

Berlin,