

2 Probandinnen, Material und Methoden

2.1 Probandenkollektiv

Alle Untersuchungen fanden in der Schwangerenberatung der Universitätsfrauenklinik der Charité des Campus Virchow Klinikums statt. Die schwangeren Frauen wurden im Zeitraum Oktober 2001 bis März 2002 via Zeitungsanzeige rekrutiert. Die Studie wurde vom lokalen Ethikkomitee genehmigt.

Die Ausschlusskriterien umfassten Nikotinabusus und Alkoholkonsum während der Schwangerschaft, eine Mehrlingsschwangerschaft, einen bereits in einer vergangenen Schwangerschaft aufgetretenen Gestationsdiabetes und Schilddrüsenerkrankungen.

2.2 Zeitlicher Ablauf der Studie

Die Probandinnen sollten bei der Rekrutierung die 16. SSW (errechnet nach der Naegele-Regel) noch nicht überschritten haben. Um longitudinale Veränderungen während der Schwangerschaft beobachten zu können, wurden die erforderlichen Untersuchungen in 5 Blöcke gegliedert. In der 16. SSW, 22. SSW, 30. SSW und in der 36. SSW, sowie 6 Wochen post partum wurden die Schwangeren in die Frauenklinik einbestellt.

Dabei wurde am Tag 1 des jeweiligen Blockes ein Blutzuckermessgerät ausgehändigt. In das Unterhautfettgewebe an der lateralen Bauchwand wurde ein Glucosesensor (CGMS® der Firma Minimed-Medtronic, Düsseldorf, Deutschland) gesetzt, der eine kontinuierliche Blutzuckermessung über die folgenden Tage alle 5 Minuten durchführte.

Für die Tage 1 bis 3 wurde die Schwangere angehalten, sich mindestens sieben mal täglich den Blutzucker jeweils eine halbe Stunde vor und zwei Stunden nach der erfolgten Hauptmahlzeit, sowie vorm zu Bett gehen zu messen und mit der Angabe der Zeit zu protokollieren.

Am Tag 4 erschienen die Probandinnen am Morgen nüchtern in unserer Klinik. Nach erfolgter Blutentnahme zu Hormonbestimmungen (siehe 2.4) und Messung des Nüchternblutzuckers wurde ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt (im Folgenden nur noch oGTT abgekürzt, siehe auch 2.3.8)

Weiterhin wurden die Schwangeren gewogen und die Körperzusammensetzung durch das Verfahren der Body Impedanz Analysis (BIA) ermittelt (siehe Bestimmung der Körperzusammensetzung durch BIA). Im Anschluss erfolgte die Biometrie des heranwachsenden Feten durch Ultraschall durch erfahrene Ärzte in der Schwangerenberatung.

2.3 Erhebung von Probandinnendaten

2.3.1 Alter

Für das Alter der Frau legten wir das Alter zum Zeitpunkt des errechneten Geburtstermins fest.

2.3.2 Gewicht, Gewichtszuwachs, Größe und BMI

Das prägravide Gewicht konnte nur anamnestisch festgelegt werden, das jeweilige Gewicht und den daraus resultierenden Gewichtszuwachs im Verlauf der Schwangerschaft wurde mit der Waage Söhnle von uns ermittelt. Die Größe wurde einmalig zu Beginn der Studie gemessen.

Der jeweilige Body-Mass-Index (BMI) [=: Gewicht (kg)/ Größe² (m²)] wurde durch das Programm NUTRI4 angegeben.

2.3.3 Nationalität

Es wurden ausschließlich deutschsprachige Probandinnen rekrutiert, um eine exakte Durchführung der zahlreichen Blutzuckermessungen und genaue Protokollierung der Nahrung sicherzustellen.

2.3.4 Geburtsanamnese

Hier wurden die Parameter wie Gravidität (incl. der bestehenden Schwangerschaft), Parität (excl. der bevorstehenden Entbindung), sowie Aborte/ Interruptionen erfragt.

2.3.5 Schwangerschaftsdauer

Dabei wurden die vollendeten SSW angegeben, die nach der Nägele-Regel berechnet wurden. Nur in Einzelfällen wurde zur Korrektur ein Frühultraschall genutzt.

2.3.6 Geburtsmodus

Dabei wurden folgende Klassifikationen gewählt: „Spontangeburt“, „primäre sectio caesaria“, „sekundäre sectio caesaria“, „Zange“, „Vakuumextraktion“, „Löffel“.

2.3.7 Kindliche Daten

Hier waren für uns Geburtsgewicht und Körperlänge, der APGAR und der pH-Wert des Nabelschnurblutes interessant. Das längenbezogene Geburtsgewicht wurden nach den Perzentilgrenzen nach Voigt (Voigt et al; 1996) eingeteilt.

2.3.8 Durchführung des oGTT

Die Probandinnen wurden morgens nüchtern einbestellt, d.h. mit einer Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz seit 22:00 Uhr des Vortages. Wir entnahmen nach Desinfektion kapilläres Blut zur Bestimmung des Blutzuckers aus der Fingerbeere. Danach mussten die Schwangeren 75 g Oligosaccharide gelöst in

300 ml Flüssigkeit (Dextro O.G.-T.®, Boehringer Mannheim) zügig austrinken. Es erfolgte nach 60 min und nach 120 min eine weitere kapilläre Blutentnahme zur Blutzuckerbestimmung. Die Bewertung erfolgte analog den Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft.

2.4 Bestimmung der Laborparameter

2.4.1 Glukosebestimmung aus dem mütterlichen Kapillarblut

Es wurde 100 µl kapilläres Blut mittels Einstich mit einer sterilen Lazette in die Fingerbeere entnommen. Anschließend wurde das Blut in 1 ml Perchlorsäure enteiweißt. Die Mischung wurde für 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Von dem dabei gewonnenen Überstand wurden 100 µl mit 2 ml Reagenz „Gluco-Quant“ der Firma Boehringer Mannheim versetzt und anschließend photospektographisch (Beckmann, DU®-70-Spectrophotometer) die Glukosekonzentration bestimmt.

2.4.2 Bestimmung des Blutzuckertagesprofils (BTZP) durch die Probandin

Die Blutzuckerkontrollen über die drei Tage, an denen die Probandin das Blutzuckergerät zur Verfügung gestellt bekommen hatte, erfolgte nach unserer Einweisung durch die Probandin selbständig jeweils 30 min vor einer der drei Hauptmahlzeiten und 120 min nach dieser. Außerdem sollte ein siebter Wert am späten Abend vor dem Zubettgehen gemessen werden. Dazu wurden Sensor-Control-Teststreifen der Marke Accu-Check® (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) verwendet. Alle gewonnenen Werte wurden mit Zeitangabe protokolliert.

2.4.3 Hormonbestimmungen

Alle nun folgenden Parameter wurden aus dem Blutplasma gewonnen. Die Blutabnahmen erfolgten im nüchternen Zustand, die heparinisierten Röhren wurden nach der venösen Blutabnahme für 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Plasmaüberstand wurde abpipettiert und bis zur Hormonbestimmung tiefgefroren.

Progesteron

Die quantitative Progesteronbestimmung erfolgte mittels Radioimmunoassay „RIA-mat® Progesteron“ der Firma Byk-Sangtec Diagnostica, 63128 Dietzenbach, Deutschland.

17-beta-Östradiol

Die Östradiolbestimmung erfolgte ebenfalls per Radioimmunoassay „RIA-mat® Estradiol“ der Firma Byk-Sangtec Diagnostica, 63128 Dietzenbach, Deutschland.

Prolaktin

Prolaktin wurde mit einem immunluminometrischen Test „LIA®-mat Prolaktin der Firma Byk-Sangtec Diagnostica, 63128 Dietzenbach, Deutschland quantifiziert.

HPL

Humanes Placenta Lactogen konnte mittels Radioimmunoassay „hPL-RIA-CT“ der Firma BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles Belgium bestimmt werden.

Leptin

Die Leptinkonzentrationen wurde mittels Immunoradiometrischer Assay (DSL-23100-ACTIVE™ Human-Leptin Coated-Tube-Assay der Firma DSL Deutschland GmbH, 74889 Sinsheim) bestimmt.

TNF- α

TNF- α wurde mit Hilfe eines Immunoassays „Quantikine® HS Human TNF- α Immunoassay“ der Firma R&D Systems GmbH, 65205 Wiesbaden-Nordenstadt bestimmt. Bei der Bestimmung der TNF- α -Konzentrationen in der Schwangerschaft fielen zwei Probandinnen (ca. 32 pg/ml und 10 pg/ml) mit extrem hohen Werten über den gesamten Schwangerschaftsverlauf auf. Aufgrund von Doppelbestimmungen können wir Messfehler ausschließen. Vergleichbare Studien, die sich mit Insulinresistenz und TNF- α beschäftigen weisen maximal Werte bis 5,5 pg/ml (Kirwan et al; 2002) bei Nutzung des gleichen Immunoassays auf.

Insulin

Die Insulinbestimmungen erfolgten mittels Radioimmunoassay der Firma Pharmacia, Freiburg, Deutschland.

C-Peptid

Die quantitative Bestimmung von C-Peptid im Plasma erfolgte mittels Radioimmunoassay mit dem DSL-7000 C-Peptid-Kit der Firma DSL Deutschland GmbH, 74889 Sinsheim.

Adiponectin

Die Adiponectinkonzentration im Serum wurde mit dem RIA-Kit von LINCO Research® bestimmt.

2.4.4 Bestimmung der Blutfette

Die nachgenannten Parameter wurden im Zentrallabor des Klinikums im Rahmen einer Routineblutuntersuchung bestimmt.

Cholesterin wurde mit einer enzymatischen Farbreaktion bestimmt.

HDL-Cholesterin wurde photometrisch nach Fällung mit Phosphor-Wolfram-Säure ermittelt.

LDL-Cholesterin ist ein errechneter Wert.

Die Höhe der Triglyceride wurden ebenfalls mit einer enzymatischen Farbreaktion ermittelt.

2.5 Bestimmung der Körperzusammensetzung

Zur Differenzierung der Veränderungen der Körperzusammensetzung im Schwangerschaftsverlauf ist eine wenig aufwändige und Schwangeren zumutbare Methode nötig, die mehr Aussagekraft als die bloße Gewichtszunahme und der BMI bietet.

2.5.1 Body-Impedance-Analysis (BIA)

Die Methode bietet sich zur Einschätzung von Gesamtkörperfett, Magermasse und Körperwasser an. Dabei wird der elektrische Widerstand des Körpers gemessen. Dafür wird ein Strom durch die Körperflüssigkeiten geleitet, wobei die Fettmasse dem Strom einen höheren Widerstand entgegensetzt als die Magermasse. Dieser Unterschied beruht auf dem unterschiedlichen Wassergehalt zwischen Fettgewebe und Magermasse. Es werden dabei zwei Elektroden an einer Hand und weitere zwei Elektroden an einem Fuß platziert. Die Probandin liegt in entspannter horizontaler Lage auf dem Rücken.

Die BIA beruht auf einem Drei-Komponenten-Modell des Organismus, bei dem zwischen Körperfett, Körperzellmasse und extrazellulärer Masse unterschieden wird. Körperzellmasse und extrazelluläre Masse ergeben Magermasse. Körperzellmasse ist dabei als die Zellmasse definiert, die O₂ verbraucht, Glucose oxidiert und Arbeit leistet. Das ist die Masse, an der der Ruheumsatz und oxidativer Stoffwechsel gebunden ist. Durch die unterschiedliche Verteilung von Wasser in Körperfett und Magermasse kann das Gesamtkörperwasser errechnet werden.

Bezüglich der Validität der BIA in der Schwangerschaft gibt es verschiedene Ansichten. Eine Zunahme an Körperwasser, ein veränderter Hämatokrit, sowie die veränderte Körpergeometrie könnten die Ergebnisse verfälschen. Es existieren jedoch Studien, die mehrere Methoden der Körperzusammensetzungsmessung in der Schwangerschaft verglichen haben. Dabei waren die Abweichungen zwischen den einzelnen Methoden so gering, dass die Body-Impedance-Analysis als sichere und einfache Methode zur Bestimmung der Körperzusammensetzung benutzt werden kann (McCarthy et al; 2004). Die Messungen des Widerstands (Resistance) und des kapazitiven Widerstands (Reactance) führten wir mit dem Gerät BIA- M 2000 der Firma Data Input GmbH (64293, Darmstadt, Deutschland) durch.

2.6 Statistik

2.6.1 Software

Die statistische Auswertung dieser Arbeit erfolgte mittels „SPSS for Windows, Version 10.0“ (SPSS Software GmbH, München). Zur Auswertung der Body- Impedanz-Analyse diente das Programm „Nutri 4“ (Firma Data Input GmbH, 64293, Darmstadt, Deutschland).

2.6.2 Statistische Tests

Da die meisten von uns erhobenen Daten metrisch und nicht normalverteilt sind, fand in der Korrelationsanalyse der Test nach Spearman Anwendung. Bei der Berechnung der Korrelationen, welche um Störvariablen korrigiert wurden, fand die partielle Korrelation Anwendung.

Gruppenvergleiche erfolgten mittels Mann-Whitney-U-Test und aufgrund der geringen Fallzahl wurde die Monte-Carlo-Methode zur Errechnung der Signifikanz benutzt. Vergleiche in Kreuztabellen wurden mittels des Chi-Quadrat-Tests auf ihre Signifikanz überprüft.