

Aus der Medizinischen Klinik für Nephrologie
Campus Charité Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Bedeutung des XbaI – Polymorphismus
des GLUT1 - Glukosetransporters
für das fetale Wachstum und
den Glukosestoffwechsel

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dirk Heimerl

aus Dresden

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. B. Hoher
 2. Prof. Dr. F. J. Schweigert
 3. Prof. Dr. W. Zidek

Datum der Promotion: 29.01.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	5
1.1	Kardiovaskuläre Erkrankungen und ihre Risikofaktoren.....	5
1.2	Die “Barker-Hypothese“.....	6
1.3	Die fetale Insulinhypothese	10
1.4	Die “Advanced fetal programming” Hypothese.....	12
1.5	Das Glukose-Transportsystem	16
1.6	Der XbaI-Polymorphismus	22
1.7	Aufgabenstellung.....	23
2	Material und Methoden.....	25
2.1	Methoden	25
2.1.1	Isolation der menschlichen DNA aus dem Vollblut :.....	26
2.1.2	PCR - Amplifikation	26
2.1.3	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse.....	28
2.1.4	Bestimmung des Totalen Glykosylierten Hämoglobin.....	29
2.2	Verwendete Materialien.....	30
2.2.1	Puffer und Lösungen.....	30
2.2.2	Reagenzien.....	31
2.2.3	Instrumente	32
2.3	Statistik.....	33
3	Ergebnisse	34

3.1	Mütterliche und kindliche Merkmale	34
3.2	Häufigkeitsverteilung der Genotypen und Allele.....	36
3.3	Einfluss des GLUT1-Genotyps auf Geburtsgewicht und TGH.....	37
3.3.1	Einfluss des mütterlichen GLUT1-Genotyps auf Geburtsgewicht und TGH.	38
3.3.2	Einfluss des kindlichen GLUT1-Genotyps auf Geburtsgewicht und TGH.....	43
4	Diskussion	48
4.1	Vergleiche der Genotyp- und Allel-Häufigkeiten.....	48
4.2	Kindliches TGH im Kontext des XbaI-Polymorphismus und seiner Bedeutung für das intrauterine Wachstum und den Glukosestoffwechsel.....	49
4.3	Mütterliches TGH im Kontext des XbaI-Polymorphismus und seiner Bedeutung für das intrauterine Wachstum und den Glukosestoffwechsel.....	53
5	Zusammenfassung	57
6	Literaturverzeichnis	59
7	Abkürzungsverzeichnis.....	77
8	Tabellarischer Lebenslauf	80
9	Erklärung	83
10	Danksagung.....	84

1 Einleitung

1.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen und ihre Risikofaktoren

Herz-Kreislauferkrankungen stehen nach wie vor in der Todesursachenstatistik in den westlichen Industrieländern an erster Stelle, weit vor den bösartigen Neubildungen, die an zweiter Stelle geführt werden. Nahezu jeder zweite Gestorbene erlag 2007 nach dem Statistischen Bundesamt einer Erkrankung des Herz-Kreislaufsystems (43,4%), ein Viertel aller Verstorbenen einer bösartigen Neubildung (25,6%) [1]. Viele neue Erkenntnisse sind in den vergangenen Jahren über diese verschiedenen Erkrankungen des Herzens und der Gefäße hinzugekommen und haben neue Therapieansätze mit sich gebracht. Einen großen Beitrag dazu konnte die Framingham-Studie leisten [2]. So hat man unter anderem zahlreiche Risikofaktoren gefunden, welche die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen fördern. Es werden heute zwei Gruppen unterschieden, die beeinflussbaren und die nicht beeinflussbare Risikofaktoren. Während zur zweiten Gruppe das Lebensalter, das männliche Geschlecht und die familiäre Prädisposition zählen, kann die Gruppe der beeinflussbaren Risikofaktoren noch einmal in zwei Untergruppen unterteilt werden (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Beeinflussbare Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen

Nach der Framingham-Studie werden die beeinflussbaren Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen weiter in zwei Ordnungen unterteilt. Den Risikofaktoren der 1.Ordnung wird eine größere Bedeutung beigemessen. Mit der Anzahl der Risikofaktoren steigt das Erkrankungsrisiko exponentiell an. (Diese Zusammenstellung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.)

Beeinflussbare Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen	
1.Ordnung	2.Ordnung
Arterieller Hypertonus	Lipoprotein(a) > 30 mg/dl
Diabetes mellitus	Hyperfibrinogenämie > 300 mg/dl
Fettstoffwechselstörungen	Hyperhomocysteinämie > 12 µg/l
Adipositas	Bewegungsmangel
Nikotinabusus	Psychosoziale Faktoren

Erste Hinweise darauf, dass möglicherweise auch ein niedriges Geburtsgewicht ein Risikofaktor für die Entstehung kardio- und zerebrovaskulärer Erkrankungen im späteren Erwachsenenalter ist, ergaben sich durch den norwegischen Wissenschaftler A. Forsdahl in den 60iger Jahren des 20. Jahrhunderts [3]. Durch eine epidemiologische Studie stellte Forsdahl fest, dass die Neugeborenensterblichkeit zwischen 1896 und 1925 signifikant mit der Mortalität an Koronarer Herzkrankheit (KHK) bzw. zerebrovaskulären Erkrankungen um das Jahr 1960 korrelierte. Außerdem konnte Forsdahl darlegen, dass der durch den einsetzenden wirtschaftlichen Aufschwung bedingte Abfall der Neugeborenensterblichkeit mit einem Abfall der Mortalität im Erwachsenenalter einherging, und stellte die These auf, dass Personen aus Gebieten mit einer hohen Neugeborenensterblichkeit ein höheres Risiko hätten, im Alter an einer KHK zu versterben.

1.2 Die “Barker-Hypothese“

Ende der 80iger Jahre des 20. Jahrhunderts wurde von dem englischen Wissenschaftler David Barker der Zusammenhang zwischen der Säuglingssterblichkeit und einem deutlich erhöhten Risiko, an kardiovaskulären Erkrankungen im Erwachsenenalter zu versterben, erneut aufgegriffen. Epidemiologische Studien über die Säuglingssterblichkeit zu Beginn des 20. Jahrhunderts in Großbritannien deuteten einen ausgeprägten Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und Säuglingssterblichkeit an [4]. Dabei fiel Barker auf, dass untergewichtige Kinder ein erhöhtes Risiko aufwiesen, im Säuglingsalter zu versterben. Weiterhin fand er nach Vergleich der geografischen Verteilungsmuster eine Übereinstimmung zwischen den Mortalitätsraten für Koronare Herzkrankheit (KHK) in den Jahren von 1968 bis 1978 und Regionen, die Anfang des 20. Jahrhunderts eine hohe Säuglingssterblichkeit aufwiesen. Er schlussfolgerte daraus, dass eine inverse Korrelation zwischen dem Gewicht von Kindern zum Zeitpunkt der Geburt und dem Risiko für eine KHK besteht und dass ein geringes Geburtsgewicht ein Risikofaktor für die Entwicklung von Koronarer Herzkrankheit im Erwachsenenalter darstellt.

Diese Hypothese von David Barker konnte in den darauffolgenden Jahren durch eine Reihe von retrospektiven Studien weiter untermauert werden. Die Herfortshire-Studie mit 16.000 Probanden zeigte eine Verdopplung des Risikos für Koronare Herzkrankheit bei Probanden mit einem Geburtsgewicht von $\leq 2,5$ kg im Vergleich zu Probanden mit

einem Geburtsgewicht $\geq 4,3$ kg [4,5]. Weitere Studien bestätigten ebenfalls den Zusammenhang zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und der erhöhten Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen [80,81]. Die derzeit größte dieser Folgestudien ist die US-amerikanische „Nurses Health Study“ mit über 120.000 untersuchten Krankenschwestern [6]. Auch sie konnte die oben genannte Hypothese stützen und darlegen, dass Frauen mit einem Geburtsgewicht von 2,5 kg und weniger ein signifikant erhöhtes Risiko (ca. 23%) für kardiovaskuläre Erkrankungen, verglichen mit dem Rest der Kohorte, haben.

Neben der entdeckten negativen Korrelation zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und dem erhöhten Risiko, eine KHK zu entwickeln, wurde von vielen Wissenschaftlern vermutet, dass wahrscheinlich auch ein Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und den Risikofaktoren für eine Koronare Herzkrankheit sowie anderen kardiovaskulären Erkrankungen besteht. Gennser und seiner Forschungsgruppe gelang es erstmalig, eine inverse Beziehung zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und dem Auftreten einer arteriellen Hypertonie im späteren Leben zu evaluieren [7]. Zahlreiche weitere Studien bestätigten diesen entdeckten Zusammenhang, dass ein niedriges Gewicht zum Zeitpunkt der Geburt die Entwicklung eines Bluthochdrucks im Erwachsenenalter begünstigt [8-10]. Auch für weitere Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen, wie eine pathologische Glukosetoleranz bzw. ein Diabetes mellitus Typ II [9,11,12,79,96,97], Adipositas [76-78] und metabolisches Syndrom [79], konnten umgekehrte Korrelationen in Bezug auf das Geburtsgewicht nachgewiesen werden. Hales vermochte 1991 mit der Hertfordshire-Studie zu zeigen, dass Probanden mit einem Geburtsgewicht von 2,5 kg und weniger ein siebenfach erhöhtes Risiko haben, eine gestörte Glukose-Toleranz oder einen Diabetes mellitus Typ II zu entwickeln [11]. Barker, Lithell, Curhan und andere bekräftigten mit ihren Studien in den darauffolgenden Jahren die Richtigkeit der entdeckten Korrelation [9,12,79].

Durch zahlreich durchgeführte Tiermodelle an Ratten konnten die Ergebnisse epidemiologischer Studien weiter untermauert werden. Erwachsene Ratten, die während ihrer fetalen Entwicklung mit einer isokalorischen, proteinarmeren Diät gefüttert wurden, wiesen im Vergleich zur Kontrollgruppe neben einem proportional zur Eiweißrestriktion erniedrigten Geburtsgewicht einen höheren Blutdruck und eine eingeschränkte Glukosetoleranz auf [13, 82]. Auch tierexperimentelle Studien an Meerschweinchen [83,84] und

kürzlich an Schafen [85] unterstreichen weiter den Einfluss einer Proteinmangeldiät auf das Geburtsgewicht sowie die inverse Korrelation des Geburtsgewichts mit Herz- und Kreislauferkrankungen.

Auf Grundlage der Ergebnisse der aufgeführten Studien wurde von Hales und Barker die „Thirty-Phenotyp-Hypothese“ entwickelt [92]. Beide Wissenschaftler stellen dabei die These auf, dass die Entstehung einer pathologischen Glukosetoleranz sowie eines Diabetes mellitus Typ II durch eine Unterernährung des Feten durch die Mutter verursacht wird. Die fetale Ursprungshypothese bzw. Hypothese vom „sparsamen Phänotypen“ postuliert, dass sich der intrauterin entwickelnde Fetus der sich ihm bietenden Nähr- und Sauerstoffsituation anpasst. Entsteht eine Mangelernährung des Feten, so kommt es nicht nur zu einer Einschränkung des fetalen Wachstums. Durch Eingreifen in verschiedene Regelsysteme des Körpers, wie z.B. den Glukose-Insulin-Metabolismus, reagiert er außerdem mit einer Adaptation an die im Uterus vorhandenen Bedingungen. Dies wiederum kann durch die verminderte Ausbildung von β -Zellen in den Langerhans-Inseln eine reduzierte Kapazität zur Insulinsekretion zur Folge haben und eine Insulinresistenz fördern. Unter den beschriebenen Bedingungen ermöglichen diese Anpassungsvorgänge dem Feten, sparsam mit dem vorhandenen Angebot umzugehen und dadurch seine Überlebenschancen zu verbessern. Kommt es im späteren Leben zu einer Normalisierung bzw. sogar zu einem Exzess der Ernährungssituation und treten evtl. weitere Risikofaktoren, wie z.B. ein Bewegungsmangel etc., hinzu, so kann der Organismus durch die intrauterin entstandene verminderte Ausbildung der β -Zellen bzw. der intrauterin erworbenen Insulinresistenz nicht adäquat auf den vorhandenen Substratüberschuss reagieren, und die Betroffenen entwickeln eine pathologische Glukosetoleranz bzw. ein Diabetes mellitus Typ II.

Bei dem oben erläuterten Vorgang wird auch von „fetaler Programmierung“ oder „fetal programming“ gesprochen, dem Organstrukturen und mit ihnen assoziierte Funktionen während der Embryonal- und Fetalzeit unterliegen. Während der Fetalzeit durchlaufen Organe und Gewebe des Körpers kritische Zeitfenster der Entwicklung [14]. Diese Phasen sind einige Tage bis Wochen lang und enthalten Perioden schneller Zellteilung. „Programming“ beschreibt einen Prozess, bei dem ein bestimmtes Ereignis während dieser empfindlichen Stadien der Entwicklung zu irreversiblen morphologischen und funktionellen Veränderungen fetaler Organe und Gewebe führt [86]. Dabei passt sich

der Fetus dem intrauterinen Nahrungs- bzw. Sauerstoffmangel vor allem durch eine verlangsamte Zellteilungsrate an, insbesondere in den Geweben, die gerade eine kritische Phase durchlaufen. Hormone und verschiedene Nährstoffe werden auf sogenannte „Soll-Werte“ eingestellt, die für ein Gleichgewicht sowohl intrauterin als auch im späteren Erwachsenenalter sorgen sollen. Veränderungen der embryonalen bzw. fetalen Ernährungssituation können, genauso wie der endokrine Status, in dieser kritischen Phase zu einem Nachstellen der „Soll-Werte“ und zu hormonellen Anpassungsvorgängen in den sich entwickelnden Organen und Geweben an das veränderte intrauterine Milieu führen. Dabei sind permanente Veränderungen auf struktureller, physiologischer und metabolischer Ebene in den betroffenen Strukturen möglich, welche im Erwachsenenalter zu kardiovaskulären, endokrinologischen und metabolischen Erkrankungen prädisponieren können [88]. Die von Barker et al. entwickelte Hypothese der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

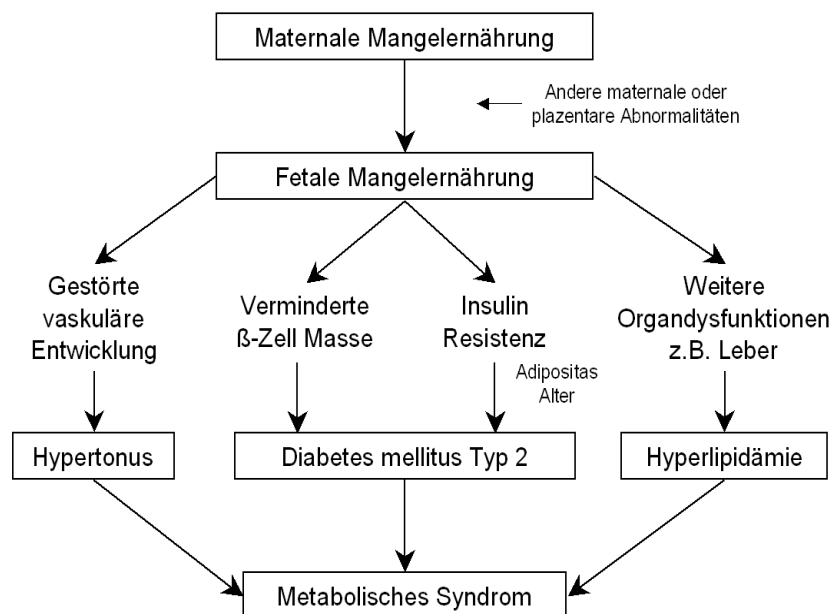


Abbildung 1: Hypothese der fetalen Programmierung

Epigenetische Faktoren beeinflussen während einer Schwangerschaft die Nährstoffversorgung des Feten. Bei unzureichender Versorgung des Feten mit Nährstoffen (z.B. durch unzureichende Nahrungsaufnahme, aufgebrauchte maternale Nährstoffreserven und/ oder durch einen verminderten Transport von Nährstoffen über die Plazenta aufgrund von placentaren Abnormalitäten) kommt es zu Adaptationsprozessen fetaler Organe und Gewebe, welche die Überlebenschancen des Feten unter Mangelbedingungen verbessern. Davon betroffen sind z.B. Blutgefäße, Leber und Pankreasgewebe. Diese Organe unterliegen im Rahmen dieser Anpassungsvorgänge irreversiblen strukturellen und funktionellen Veränderungen.

gen, die lebenslang persistieren und das Auftreten eines metabolischen Syndroms im Erwachsenenalter begünstigen können [4].

Neben der Ernährung [87] oder dem Rauchverhalten [89,90] der Mutter, die zu „programming“ führen können, ließ sich anhand von Zwillingsstudien darlegen, dass auch genetische Faktoren eine wesentliche Rolle zu spielen scheinen [91,93].

1.3 Die fetale Insulinhypothese

Die von Andrew Hattersley und John Tooke entwickelte fetale Insulinhypothese bildet eine alternative Erklärung für die bestehende Assoziation zwischen einem geringen Geburtsgewicht und seiner Bedeutung für die Entwicklung von Diabetes mellitus bzw. kardiovaskulären Erkrankungen im Erwachsenenalter [15]. Dabei ist die fetale Insulinsekretion nach unserem heutigen Wissensstand neben IGF-I, dem Insulin-like growth factor 1, eine der Hauptkomponenten für das fetale Wachstum [16]. In ihrem Konstrukt sind sie der Auffassung, dass die Assoziation zwischen einem erniedrigten Geburtsgewicht und dem Auftreten eines Diabetes mellitus im Erwachsenenalter prinzipiell genetische Ursachen hat. Genetisch determinierte Insulinresistenz führt ihrer Meinung nach nicht nur zu einem verringerten Insulin-vermittelten Wachstum und Geburtsgewicht des Feten, sondern verursacht außerdem eine pathologische Glukosetoleranz im Erwachsenenalter. Geringes Geburtsgewicht als Ausdruck einer Insulinresistenz und damit auch einer späteren Glukoseintoleranz, eines Diabetes mellitus und eines Bluthochdrucks würden so letztlich verschiedene Phänotypen eines und desselben Genotyps darstellen.

Zentraler Punkt der fetalen Insulinhypothese ist das Konzept, dass das fetale Insulinvermittelte Wachstum durch fetale Gene beeinflusst werden kann, welche die Insulinsekretion des Feten bzw. die Sensitivität der fetalen Gewebe auf Insulin regulieren. Treten Mutationen im fetalen Genom auf, so können diese im heranwachsenden Organismus eine verminderte Insulinsekretion bzw. -wirkung hervorrufen, was wiederum ein verzögertes fetales Wachstum und letztendlich ein vermindertes Geburtsgewicht zur Folge haben kann. Bedingt durch derartige genetische Defekte kann es zum Beispiel zu Störungen in der Erkennung der fetalen Blutzuckerkonzentration, der Insulinsekretion und/oder der Insulinempfindlichkeit des fetalen Gewebes kommen. Eine schematische Darstellung der Insulinhypothese findet sich in Abbildung 2.

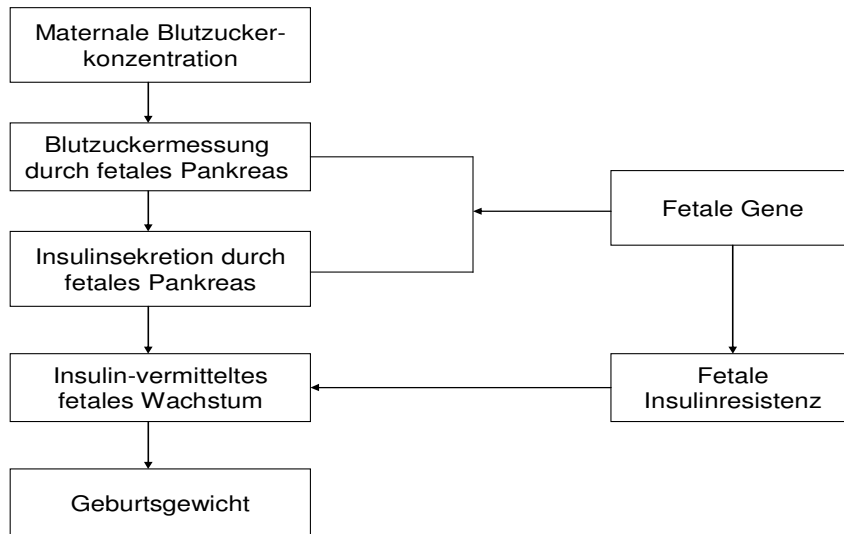


Abbildung 2: Schematische Darstellung der fetalen Insulinhypothese (nach Hattersley und Tooke)

Die Abbildung soll die Auswirkung des maternalen Blutzuckers auf die intravitalen Regulationsvorgänge des Feten veranschaulichen. Glukose gelangt über die Plazenta aus dem mütterlichen in den fetalen Kreislauf, wo von pankreatischen Rezeptoren die Glukosekonzentration gemessen wird. Die fetale Bauchspeicheldrüse sezerniert daraufhin Insulin und IGF-I. Beide Hormone regen das Wachstum an und beeinflussen somit auch das Geburtsgewicht des Kindes. Mutationen im fetalen Genom, die sich auf die fetale Blutzuckermessung, die fetale Insulinsekretion oder auf die Insulinempfindlichkeit des fetalen Gewebes auswirken, haben daher das Potential, in das Wachstum einzugreifen und das Geburtsgewicht zu verändern [15]

Einen Hinweis auf die Bedeutung des Insulins für das fetale Wachstum geben makrosome Neugeborene, deren Mütter einen nicht- oder nur unzureichend eingestellten Schwangerschaftsdiabetes aufwiesen. Die Makrosomie der Neugeborenen ist dabei nach unserem heutigen Wissensstand nicht allein auf einen Anstieg des Nährstoffangebots für den Feten zurückzuführen, sondern entsteht indirekt über den Anstieg der fetalen Insulinsekretion als Antwort auf die maternale Hyperglykämie [17]. Die Einstellung einer euglykämischen Stoffwechsellage bei schwangeren Frauen mit Glukoseintoleranz oder Diabetes führt zu einer deutlichen Reduktion des Risikos, makrosome Kinder zu gebären [97]. Aber auch bei normalen Schwangerschaften existiert eine direkte Korrelation zwischen der mütterlichen Glukosekonzentration im Blut im dritten Trimester der Schwangerschaft, in dem der Fetus die stärkste Gewichtszunahme erfährt, und dem Geburtsgewicht [17,18]. Beobachtungen an Patienten mit monogenetischen Erbleiden, welche die fetale Insulinsekretion und/oder -resistenz beeinflussen, unterstützen die

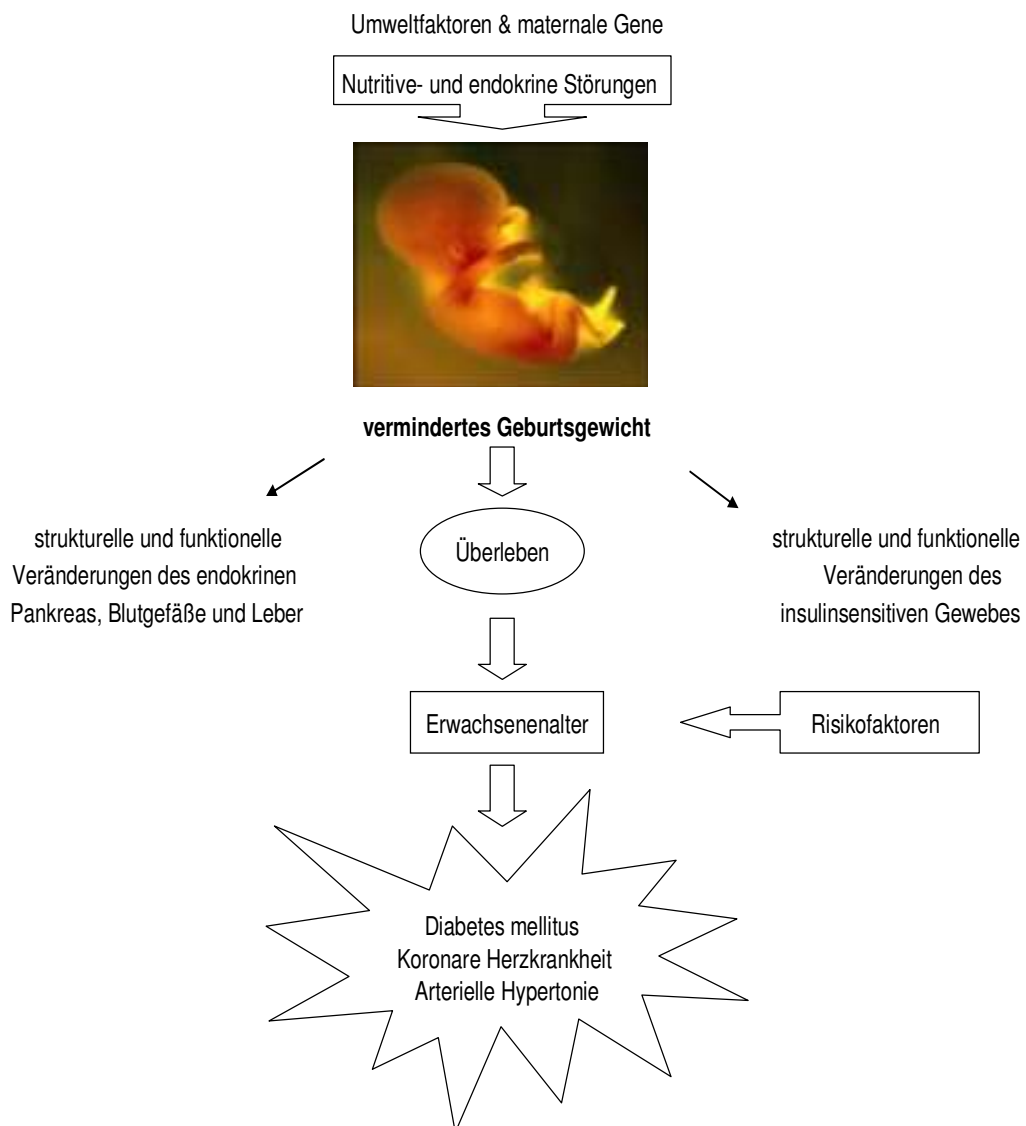
Insulinhypothese nach Hattersley und Tooke. Ein Beispiel stellen die Mutationen im Glukokinasegen dar [19]. Glukokinase ist ein Enzym der Glykolyse, welches im Pankreas neben seiner Funktion als Rezeptor für Glukose gleichzeitig als dessen Sensor agiert und so an der Blutzuckermessung beteiligt ist. Die durch Mutationen veränderten Rezeptoren messen einen falsch-erniedrigten Glukosewert im Blut, woraus eine verminderte Insulinsekretion und so erhöhte Blutzuckerwerte resultieren. Mutationen im Glukokinasegen von Schwangeren führen zu erhöhten Glukosewerten im Blut der Mutter und des Feten. Die kindliche Bauchspeicheldrüse schüttet als Reaktion auf den erhöhten Blutzuckerspiegel vermehrt Insulin aus, was eine Stimulation des fetalen Wachstums zur Folge hat. Somit bringen Mütter mit einer Mutation im Glukokinasegen, verglichen mit der Kontrollgruppe, schwerere Babys zur Welt. Aus derselben Mutation im Genom des Feten resultiert dagegen aufgrund einer inkorrekt erniedrigt gemessenen Glukosekonzentration eine verminderte Insulinausschüttung und damit ein vermindertes Wachstum. Haben sowohl die Mutter als auch der Fetus diese Mutation, gleichen sich die beiden gegensätzlichen Effekte aus, und das Baby zeigt ein normales Geburtsgewicht. Weitere Gendefekte, die Einfluss auf das Geburtsgewicht haben, sind z.B. die Pankreasagenesie [20] mit einem vollständigen Fehlen der Insulinsekretion oder das Leprechaun-Syndrom [21], bei dem es durch Mutation eines Gens für den Insulinrezeptors zu einer ausgeprägten Insulinresistenz kommt.

Anhand der beschriebenen monogenetischen Erkrankungen stellt sich die Bedeutung genetischer Einflüsse eindrucksvoll dar. Monogenetische Defekte kommen allerdings selten vor und können somit die Varianz des Geburtsgewichts in der Normalbevölkerung nicht erklären. Ebenso wie Andrew Hattersley und John Tooke nahmen wir daher an, dass es noch andere, in der Bevölkerung wesentlich weiterverbreitete Mutationen oder Polymorphismen gibt, die unabhängig von der Ernährung [87] oder dem Rauchverhalten [89,90] der Mutter das fetale Wachstum entscheidend beeinflussen können.

1.4 Die “Advanced fetal programming” Hypothese

Ein genetischer Polymorphismus (C825T), der das fetale Wachstum unabhängig von der Ernährung oder dem Rauchverhalten der Mutter entscheidend beeinflusst, existiert auf dem GNB3-Gen und kodiert die β -Untereinheit eines heterotrimeren G-Proteins. Heterotrimere G-Proteine haben bei der Signaltransduktion eine essentielle Bedeutung. Unsere Arbeitsgruppe fand heraus, dass eine Assoziation zwischen dem Polymorphis-

mus auf dem maternalen 825T-Allel der G-Protein β 3-Untereinheit und einem erniedrigten Geburtsgewicht bei Kindern, die sonst keinerlei Risikofaktoren für intrauterine Wachstumsverzögerung aufwiesen, vorhanden ist [121]. Eine Folgestudie an japanischen Frauen bestätigte die Ergebnisse [122]. Wir schlussfolgerten daraus, dass auch maternale Gene damit am Prozess der fetalen Programmierung beteiligt sind. Diese Hypothese wurde als “advanced fetal programming hypothesis“ bezeichnet [93] und ist in Abb. 3 schematisch dargestellt.



A

Abbildung 3: Die “Advanced fetal programming” Hypothese

Sowohl Umweltfaktoren (maternale Ernährung, Rauchen) als auch maternale Gene, welche die Plazenta-funktion kontrollieren, tragen zur Programmierung kardiovaskulärer Erkrankungen im Erwachsenenalter bei. (mod. nach [93])

Neben der Frage, welche exogenen und welche genetischen Faktoren einen entscheidenden Einfluss auf das Geburtsgewicht als Surrogatparameter für das fetale Wachstum ausüben, widmeten sich Thiemo Pfab und Mitarbeiter der Frage, ob Veränderungen des Glukosemetabolismus, welche im Erwachsenenalter zur Entwicklung eines Diabetes mellitus prädisponieren, bereits intrauterin bzw. zum Zeitpunkt der Geburt nachweisbar sind. Abgeschwächte Insulinantworten bei hyperglykämischen Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht wurden in der Vergangenheit mehrfach beschrieben. Yajnik et al. fanden eine Korrelation zwischen einem niedrigem Geburtsgewicht und gestörter Glukosetoleranz bereits bei vierjährigen Kindern [123]. Thiemo Pfab und Kollegen untersuchten dazu das totale glykosylierte Hämoglobin von 1295 Müttern und ihren Neugeborenen. Das totale glykosylierte Hämoglobin beim Neugeborenen reflektiert - ähnlich wie das glykosylierte Hämoglobin A1c beim Erwachsenen - die durchschnittliche fetale Blutglukosekonzentration in den letzten Wochen der Schwangerschaft. Die Studie konnte darlegen, dass eine inverse Korrelation zwischen dem totalen glykosylierten Hämoglobin der neugeborenen Kinder und ihrem Geburtsgewicht besteht. Neugeborene mit einem geringeren Geburtsgewicht haben demnach einen höheren Anteil an totalen glykosyliertem Hämoglobin (siehe auch Abb. 4) [124].

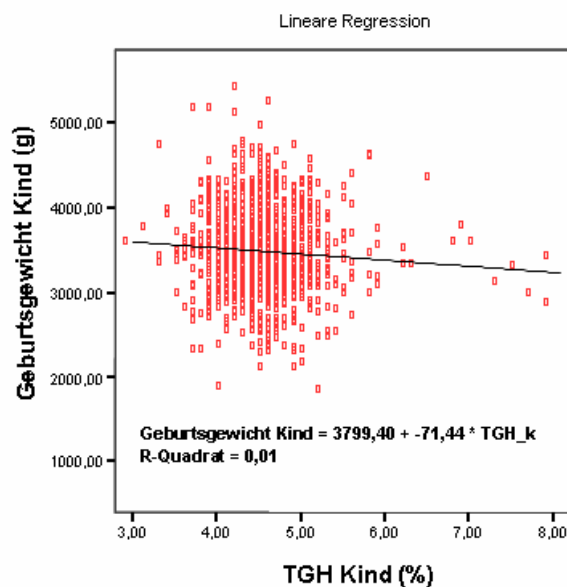


Abbildung 4: Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht des Kindes (in Gramm) und dem kindlichen TGH (in Prozent)

In Analogie zur Überwachung des Hämoglobin A1c beim erwachsenen Diabetiker kann angenommen werden, dass eine verminderte Insulinwirkung, entweder durch verminderte Insulinsekretion oder eine verminderte Insulinsensitivität, bereits intrauterin die fetale Blutglukose und damit den Anteil des fetalen glykosylierten Hämoglobins erhöht. Eine multivariate Regressionsanalyse ergab, dass die Erhöhung des glykosylierten Hämoglobins beim Neugeborenen um einen Prozentpunkt mit einem um 135 Gramm niedrigeren Geburtsgewicht assoziiert ist ($p < 0,0001$), während die gleiche Veränderung bei der Mutter mit einem 88 Gramm höheren Geburtsgewicht assoziiert ist ($p < 0,0001$). Letzteres passt zu der bekannten Beobachtung, dass diabetische Mütter schwerere Kinder bekommen (siehe auch Abb. 5) [124].

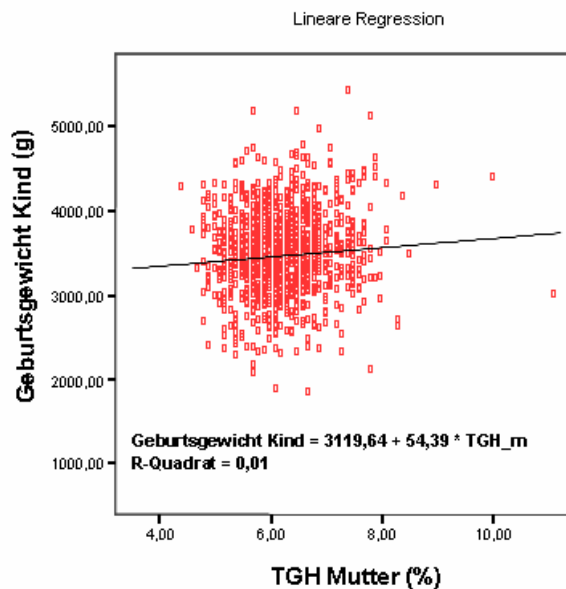


Abbildung 5: Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes (in Gramm) und dem mütterlichen TGH (in Prozent)

Die Studie von Thiemo Pfab et al. konnte erstmals zeigen, dass bereits zum Zeitpunkt der Geburt bei Neugeborenen mit niedrigerem Geburtsgewicht Veränderungen des Glukosemetabolismus vorhanden sind [124]. Wir sind der Meinung, dass diese Veränderungen durch genetische Faktoren, möglicherweise durch eine genetisch verursachte Insulinresistenz, zustande kommen, und glauben, dass der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Transporters imstande ist, derartige Veränderungen und Folgen zu verursachen.

1.5 Das Glukose-Transportsystem

Glukose ist nicht nur für den Menschen, sondern auch für viele andere Lebewesen ein wichtiger Nährstoff und spielt eine zentrale Rolle in der zellulären Homöostase. Viele Zellen sind auf die kontinuierliche Zufuhr von Glukose angewiesen, um durch deren Abbau und Verstoffwechslung Energie in Form von Adenosintriphosphaten (ATP) gewinnen zu können [106]. Da die Plasmamembranen für Glukose impermeabel sind, kann sie nur mit Hilfe geeigneter Transportproteine aufgenommen werden. Es existieren zwei verschiedene Typen von Transportproteinen, welche den Transfer von Glukose und anderen Zuckern durch die Plasmamembran eukaryoter Zellen vermitteln, nämlich die Natrium-abhängigen-Carriersysteme (SGLT) und die Natrium-unabhängigen SLC2 bzw. GLUT-Transporter (Bell, Carruthers). Beide Formen gehören zur großen Familie der „Solute carrier gene series“ (SLC).

Die Natrium-abhängigen Carriersysteme (SGLT 1+2) transportieren Glukose über einen sekundär aktiven Transportmechanismus durch die Plasmamembran [23]. Dieser Transportprozess ist ein Co-Transport von Glukosemolekülen und Natrium-Ionen. Über eine Natrium-Kalium ATPase, die an der basolateralen Seite der Zelle gelegen ist, wird unter ATP-Verbrauch ein elektrochemischer Natrium-Gradient aufgebaut. Durch diesen angetrieben kann Glukose entgegen dem Konzentrationsgradienten zusammen mit dem passiv einströmenden Natrium über einen Symporter, welcher an der luminalen Membran gelegen ist, in die Zellen aufgenommen werden. Sie werden hauptsächlich im Bereich des Dünndarms, des Herzens und der proximalen Tubuli der Nieren exprimiert [24,25].

Die zweite große Gruppe der glukosetransportierenden Proteine sind die Natrium-unabhängigen GLUT- bzw. SCL2-Transporter, deren Prinzip die erleichterte Diffusion darstellt. Erleichterte Diffusion bedeutet, dass diese transmembranären Stoffbewegungen ohne Energieverbrauch mit Hilfe von Carriern geschehen. Sie nutzen den Konzentrationsgradienten von Glukose und anderen Zuckern durch die Plasmamembran [94]. Die GLUT-Familie umfasst derzeit 14 Mitglieder (GLUT1-12, GLUT14, HMIT), von denen elf den Zuckertransport katalysieren. Die individuellen Isotypen besitzen unterschiedliche Substratspezifitäten, kinetische Eigenschaften und Expressionsprofile, welche eine Gewebe-spezifische Adaptation der Glukoseaufnahme durch Regulation über die Genexpression erlauben [26,27].

Im Jahre 1985 waren es Mueckler und seine Kollegen, die durch Klonierung und Sequenzierung von GLUT1 als erste ein Strukturmodell der GLUT-Transporter veröffentlichten [28], nachdem Kasahara und Hinkle bereits 1977 die Aufreinigung des Glukosetransporters GLUT1 aus Erythrozyten gelungen war. Dieses Modell wurde später durch die Ergebnisse einer Studie von Hresko bestätigt [29]. Die GLUT-Glykoproteine bestehen aus zwölf hydrophoben, transmembranären Alpha-Helizes, welche so angeordnet sind, dass ihre N-terminalen und C-terminalen Enden ins Zytoplasma ragen. Sie umformen einen wassergefüllten Kanal. Nach Bindung der Glukosemoleküle an eine extrazelluläre Glykosylierungsstelle gelangen diese entlang des wassergefüllten Kanals in die Zelle. Außerdem existiert jeweils eine unverzweigte N-terminale Oligosaccharid-Seitenkette, welche entweder an der ersten oder vierten extrazellulären Schleife lokalisiert ist. Vergleicht man die Aminosäuresequenzen der einzelnen Mitglieder der GLUT-Familie, ergeben sich, gemessen an GLUT1, Übereinstimmungen zwischen 28 und 65 Prozent. Diese Sequenzvergleiche erlaubten die Definition charakteristischer Kennzeichen für Zuckertransporter [27]: a) sieben erhaltene Glycerin-Residuen innerhalb der Helizes, b) mehrere verschiedene basische und saure Residuen an der Oberfläche von Proteinen, c) zwei erhaltene Tryptophan-Residuen und d) zwei erhaltene Tyrosin-Residuen.

Ebenfalls auf Sequenzvergleichen basierend kann die GLUT-Familie in drei große Klassen eingeteilt werden [27]. Die Klasse **I** der Glukosetransporter vom Prinzip der erleichterten Diffusion umfasst die bereits vollständig charakterisierten Isoformen GLUT1 bis GLUT4 und die erst kürzlich entdeckte Isoform GLUT14. Zur Klasse **II** gehören der spezifische Fruktosetransporter GLUT5 und drei verwandte Proteine, GLUT7, GLUT9 und GLUT11, welche strukturelle Ähnlichkeit mit der Klasse **I** aufweisen. Klasse **III** beinhaltet fünf Mitglieder: GLUT6, GLUT8, GLUT10, GLUT12 und HMIT, einen Protonen-Myo-Inositol-Symporter. Sie umfasst jene Transporter, die erst in den letzten Jahren entdeckt wurden und sich strukturell von denen der Klasse **I** und **II** unterscheiden. Ein Charakteristikum dieser Gruppe ist das Fehlen der extrazellulären Glykosylierung an der kürzeren extrazellulären Schleife 1. Im Gegensatz zur Klasse **I** und **II** existiert eine größere Schleife 9, welche die Glykosylierung enthält, die sich bei den anderen beiden Gruppen an Schleife 1 befindet. Tabelle 2 gibt einen kurzen Überblick über die GLUT-Transporter, ihr Vorkommen und ihre Charakteristika; Abbildung 6 stellt einen passiven Natrium-unabhängigen Glukosetransporter grafisch dar.

Tabelle 2: Die Familie der Glukosetransporter (GLUT). Eine Übersicht über das Vorkommen, biologische Eigenschaften sowie Aufgaben und Referenzen.

Transporter (Klasse)	Vorkommen	Eigenschaften & Aufgaben	Referenz
GLUT1 (I)	Ubiquitär, vor allem in Erythrozyten, Gehirn und Plazenta	Genereller basaler Glukosetransport; Transport über die Blut/Hirn-Schranke	Mueckler et al.[28,117] Baldwin et al.[107]; Brown et al.[109]
GLUT2 (I)	Leber, pankreatische β -Zellen, Niere, Dünndarm Glukose-Homeostasis in Pankreas und Leber	Intestinale und renale Absorption; Kontrolle der	Fukumoto et al.[125] Baldwin[107];Brown [109];Mueckler[117]
GLUT3 (I)	Gehirn (Neuronen)	Glukosetransport in die Neuronen des Gehirns	Kayano et al.[114]; Baldwin[107];Brown [109];Mueckler[117]
GLUT4 (I)	Skelettmuskelzellen, Fettzellen, Kardiomyozyten	Insulinabhängige Glukoseaufnahme in Zellen Insulinempfindlicher Gewebe	Fukumoto et al. [113]; Baldwin[107];Brown [109];Mueckler[117]
GLUT5 (II)	Dünndarm, Hoden und Niere	Absorption von Fruktose in betreffenden Geweben	Kayano et al.[115] Baldwin[107];Brown [109];Mueckler[117]
GLUT6 (III)	Gehirn, Milz; Leukozyten	Fruktosetransporter, Glukose-Transport mit sehr niedriger Affinität	Doege et al.[111]; Joost et al.[27]
GLUT7 (II)	Dünndarm, Kolon, gering in Hoden und Prostata	Glukose- und Fruktosetransporter, Ähnlichkeit mit GLUT5	Cheeseman[126] Li et al.[127]
GLUT8 (III)	Hoden, geringe Anteile auch in Muskelzellen und Gehirn	Glukosetransporter, durch Fruktose inhibiert, evtl. durch Insulin reguliert	Carayannopoulos [110];Doege[111] Ibberson et al.[108]
GLUT9 (II)	Leber und Niere	Glukose- und Fruktosetransporter	Phay et al.[118] Doege et al.[111];
GLUT10 (III)	Leber und Pankreas	Glukosetransport	McVie-Wylie et al.[116]
GLUT11 (II)	Pankreas, Niere, Herz- und Skelettmuskelzellen	Fruktosetransporter mit geringer Affinität für Glukose, evtl. Regulation der Glukosehomöostase	Doege et al.[112]
GLUT12 (III)	Herz und Prostata	Funktion bislang unbekannt	Rogers et al.[119]
GLUT14 (I)	Testis	Funktion bislang unbekannt	Wu et al.[128]
HMIT (III)	Gehirn	H^+ -Myo-Inositoltransporter	Uldry et al.[120]

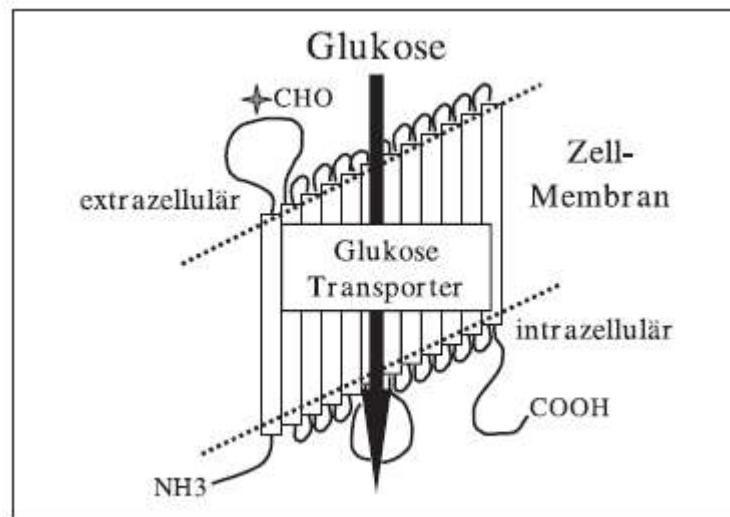


Abbildung 6: Darstellung eines Natrium-unabhängigen Glukosetransporters

Passive Natrium-unabhängige (GLUT-) Glukosetransporter bestehen aus zwölf transmembranären Domänen mit Alpha-Helixstruktur sowie spezifischen zusätzlichen Proteinsequenzen. Die Alpha-Helizes umformen einen wassergefüllten Kanal, durch den die Glukosemoleküle in die Zelle gelangen. Voraussetzung für das Eindringen der Glukosemoleküle in die Zelle ist die Bindung an eine extrazelluläre Glykosylierungsstelle, die mit Ausnahme der Glukosetransporter der Klasse III an der Domäne zwischen der ersten und zweiten Helix liegt. (mod. nach [129])

Der erste Transporter, dessen kodierende Gene isoliert und charakterisiert werden konnten, war GLUT1. Er wurde mit Hilfe spezieller Antikörper gegen humane Erythrozyten-Glukosetransporter aus einer HepG2-Zelllinie geklont [28]. Untersuchungen haben ergeben, dass GLUT1 aus 492 Aminosäureresten besteht und neben einer hohen Affinität eine breite Substratspezifität aufweist. GLUT1 ist in nahezu allen Geweben zu finden, wird aber in unterschiedlichem Ausmaß in den Zellen der jeweiligen Organe exprimiert. Er ist für die Basisversorgung der Zellen mit Glukose verantwortlich, und sein Expressionsgrad korreliert in der Regel mit der Höhe des zellulären Glukosemetabolismus. Aus diesem Grund zeigt der Glukosetransporter GLUT1 die höchste Expressionsdichte in Erythrozyten und in endothelialen Zellen des Gehirns.

Auch in der feto-maternalen Beziehung spielt der Glukosetransport eine bedeutende Rolle. Glukose ist das Hauptsubstrat für die fetale Energiegewinnung, und bei einem Mangel an einer nennenswerten Glukoneogenese des Feten [30] stellt der transplazentare Transport die einzige Versorgungsmöglichkeit dar.

Der Glukosetransport durch die Plazenta erfolgt nach dem Prinzip der carrier-vermittelten erleichterten Diffusion [31]. Dabei ist der plazentare Glukosetransfer bidirektional möglich und von der Differenz zwischen maternaler und fetaler Blutglukosekonzentration abhängig. Steigt die Differenz, so erhöht sich auch die plazentare Flussrate für Glukose, wobei die Richtung vom Konzentrationsgefälle abhängt [32]. Bell und seine Mitarbeiter waren es, welche durch den Nachweis von mRNA die Anwesenheit von Isoformen der GLUT-Transporter in der menschlichen Plazenta registrierten [33,34]. Es konnten drei GLUT-Transporter-Isotypen in der Plazenta nachgewiesen werden. Es ist dabei interessant zu wissen, dass klare Unterschiede zwischen der humanen plazentaren Glukosetransporter-Expression und derjenigen beispielsweise in Mäusen, Ratten und Schafen bestehen. Interessanterweise sind im ersten Trimester der Schwangerschaft die Isoformen GLUT3, GLUT4 und GLUT12 in hohem Maße in Synzytiotrophoblasten exprimiert, später aber nicht mehr nachweisbar [155]. Nach dem ersten Trimester ist nur noch GLUT1 reichlich in Synzytiotrophoblasten der humanen Plazenta vorhanden. Im Gegensatz zu den oben genannten Spezies kommt GLUT3 beim Menschen dann nur noch in Zytotrophoblasten und Endothelzellen fetaler Gefäße vor. Insulinabhängige GLUT4-Transporter sind nur noch in den Stromazellen der humanen Plazenta zu finden [36]. Eine schematische Darstellung der einzelnen GLUT-Isoformen, ihre Lokalisation und Verteilung in der menschlichen Plazenta zeigt Abbildung 7.

Der materno-fetale Transport von Glukose durch die Plazenta erfolgt über den GLUT1-Transporter. GLUT1 bildet damit den Hauptglukosetransporter im villösen Plazentageewebe, wobei die Mehrheit in den Synzytiotrophoblasten exprimiert wird [35,36]. In deutlich geringerem Ausmaß ist GLUT1 auch in Zytotrophoblasten und in Endothelzellen fetaler Gefäße vorhanden. Die Verteilung in den Synzytiotrophoblasten ist dabei asymmetrisch mit einem dreimal größeren Expressionsanteil in den mikrovillösen Membranen als in den Basalmembranen [36]. Aufgrund der unterschiedlichen Oberflächenstruktur der Membranen, die zu einer ca. sechsfach größeren Oberfläche der mütterlichen Membranseite führt, und der asymmetrischen Verteilung von GLUT1, ist die potentielle totale Glukosetransportkapazität auf der mikrovillösen Seite der Synzytiotrophoblasten ca. zwanzigmal größer als auf der Seite der Basalmembranen [38]. Die intrasynzytiale Glukosekonzentration unterscheidet sich dadurch kaum von der im maternalen Blutkreislauf, so dass ein maximaler Konzentrationsgradient zwischen Synzyti-

otrophoblasten und fetalen Plasma aufgebaut werden kann und selbst bei niedrigen Glukosekonzentrationen eine schnelle Zufuhr von Glukose durch die Plazenta gewährleistet ist. Damit fungieren die Glukosetransporter in der Basalmembran unter normalen Perfusionsverhältnissen als geschwindigkeitslimitierendes Element im transsynzytialen Glukosetransport. Daraus ergibt sich, dass Veränderungen von GLUT1 an der basalen Membranseite das Potential haben, den transplazentaren Transport von Glukose wesentlich zu beeinflussen.

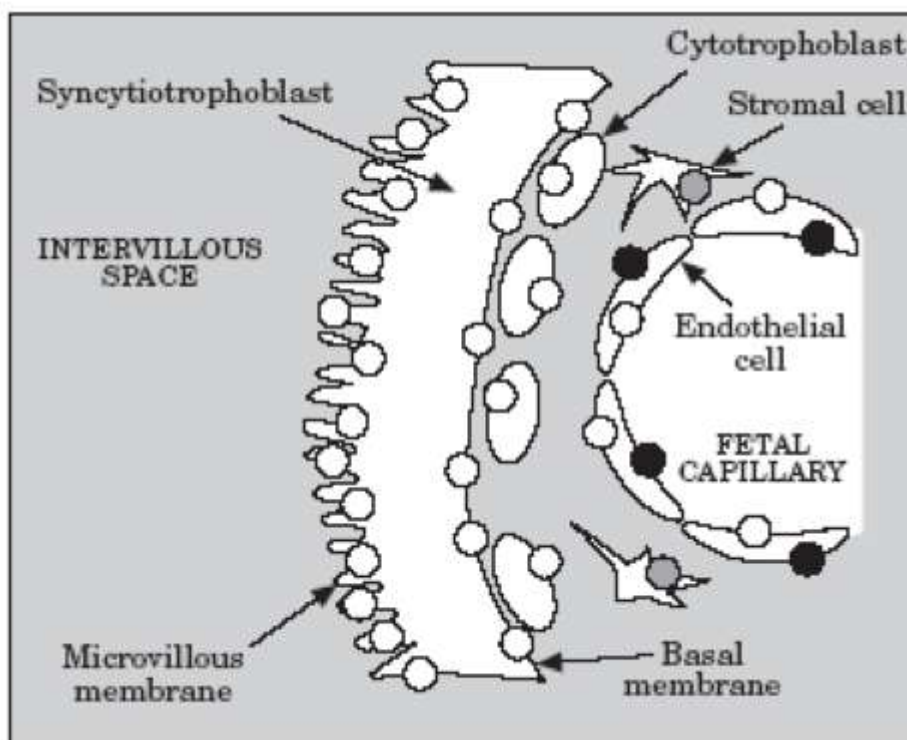


Abbildung 7: Glukose-Transporter in der Plazenta

Die Grafik zeigt das Vorkommen der GLUT-Isoformen in der menschlichen Plazenta, illustriert die asymmetrische Verteilung von GLUT1 und gibt die Lokalisation von GLUT3 in den Endothelzellen sowie von GLUT4 im Stroma grafisch wieder (nach N. P. Illsley [36])

An dieser Stelle stellt sich für uns die Frage, ob möglicherweise die genetische Variabilität des GLUT1-Transporters, speziell der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters imstande ist, das intrauterine Wachstum und damit auch das Geburtsgewicht zu beeinflussen.

1.6 Der XbaI-Polymorphismus

Erstmals wurde der XbaI-Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) 1987 auf dem Chromosom 1p31.3-p35 des GLUT1-Gens beschrieben [40]. RFLP-Analysen (Southern blotting) offenbarten einen aus zwei Allelen bestehenden Polymorphismus. Fukumoto und seine Arbeitsgruppe konnten ihn auf dem zweiten Intron, ungefähr 4,5 kbp vor dem dritten Exon, lokalisieren [33]. Beim XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters handelt es sich um eine Punktmutation, bei der in der mutanten Form ein Austausch von Guanin gegen Thymin stattfindet und dadurch die Schnittstelle aufgehoben wird. Der homozygote AA-Genotyp widerspiegelt in unserem Fall die mutante Form. Allele von Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismen agieren als Markierung für Genvarianten, welche mit einer Erkrankung assoziiert sein können.

Seine Bedeutung als möglicher genetischer Einflussfaktor auf Entwicklung und Ausprägung eines Diabetes mellitus Typ II und seinen Komplikationen wurde in zahlreichen Studien untersucht. Beweise für eine starke genetische Komponente in der Ätiologie des nicht insulinabhängigen Diabetes mellitus ergaben sich aus Familien- und Zwillingsstudien [41,45]. Li und seine Mitarbeiter berichteten schon 1988 von einem signifikanten Anstieg des X1- bzw. A-Allels des XbaI/GLUT1-Polymorphismus unter britischen, japanischen und italienischen Diabetikern, verglichen mit der Kontrollgruppe [42]. Eine Studie von Tao 1995 in der japanischen Bevölkerung konnte die Ergebnisse von Li bekräftigen und ergab eine signifikante Assoziation zwischen dem homozygoten XbaI(-) bzw. A-Allels des GLUT1-Gens und einem nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus Typ II (NIDDM) [44]. Auch der italienische Wissenschaftler Marco Baroni fand einen Zusammenhang zwischen dem XbaI-Polymorphismus innerhalb des Glut1-Gens und einem NIDDM [47], der sich in weiteren Folgestudien jedoch nicht bestätigte [48]. Pontiroli und seine Arbeitsgruppe untersuchten ebenfalls die polymorphen Variationen des GLUT1-Gens und hier speziell den XbaI-Polymorphismus und seinen möglichen Beitrag an der genetischen Beeinflussbarkeit des Diabetes mellitus Typ II [49]. Die Ergebnisse zeigten eine Assoziation des X1-Allels mit NIDDM in den meisten ethnischen Gruppen (Ausnahme: schwarze Amerikaner) und besonders deutlich für übergewichtige weibliche Diabetikerinnen. Zuletzt waren es Makni und Mitarbeiter 2008, die in der tunesischen Bevölkerung eine Assoziation zwischen dem XbaI-Polymorphismus des Glut1-Glukosetransporters und einem Diabetes mellitus Typ II nachweisen konnten

[130]. Allerdings scheiterten auch mehrere Studien in unterschiedlichen ethnischen Populationen und konnten keine Zusammenhänge darstellen [43,46,50,51].

Ebenso scheint eine Assoziation zwischen der diabetischen Nephropathie und dem XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Transporters sehr wahrscheinlich zu sein [53,54]. Die diabetische Nephropathie ist eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität des Diabetes mellitus und seit wenigen Jahren der häufigste Grund für eine terminale Niereninsuffizienz [55]. Im Unterschied zur Retinopathie, die im Laufe der Zeit die Mehrheit der Diabetiker betrifft, entwickelt sich eine Nephropathie nur in einer begrenzten Population von ca. 30 bis 40 Prozent [56,57]. Diese epidemiologischen Phänomene deuten darauf hin, dass eine Untergruppe von Diabetikern besonders anfällig ist, eine Nephropathie zu entwickeln. Auch hier legt die starke familiäre Häufung der Erkrankung eine genetische Komponente nahe. Obwohl sich die Datenlage zum Teil sogar gegensätzlich [58] verhält, zeigt sich in einer neuen Metaanalyse nach Ausschluss einer Studie, deren Kontrollen sich nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befanden, dass ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem homozygoten XbaI(-) bzw. A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters und einer diabetischen Nephropathie sowohl des Typ I als auch des Typ II Diabetes besteht [59]. Eine Assoziation mit anderen diabetischen Komplikationen, wie z. B. einer diabetischen Retinopathie und kardiovaskulären Erkrankungen, konnte nicht gefunden werden [60,61]. Grund dafür ist eventuell die Tatsache, dass der enge Zusammenhang des XbaI(-)Allels und einem Diabetes mellitus vorwiegend einen genetischen Marker für Patienten mit diabetischer Nephropathie darstellt.

1.7 Aufgabenstellung

Nach der „Advanced fetal programming“ Hypothese kommt es während der Schwangerschaft durch bestimmte epigenetische Faktoren, wie z.B. einer Mangelernährung oder Rauchen, aber auch durch genetischen Faktoren, nicht nur zu einer Beeinflussung des fetalen Wachstums, sondern auch zu einer Erhöhung des Risikos, im Erwachsenenalter kardiovaskuläre Erkrankungen zu entwickeln. Die Wissenschaftler Andrew Hattersley und John Tooke konnten erstmals an seltenen monogenetischen Erbleiden nachweisen, dass derartige Mutationen bzw. Polymorphismen existieren. Eine mögliche Ursache könnte eine genetisch determinierte verminderte Insulinsekretion und/oder Insulinresistenz sein. Zuletzt waren es Thiemo Pfab und Kollegen, die zeigen konnten, dass bei Kindern mit einem verminderten Geburtsgewicht bereits zum Zeitpunkt der

Geburt Veränderungen des Glukosemetabolismus vorhanden sind. Dies könnten Anhaltspunkte für das Vorhandensein einer genetisch festgelegten Verbindung zwischen pränatalem Wachstum und postnataler Sensitivität für Insulin sein. Wir gingen von der These aus, dass es einen genetischen Polymorphismus gibt, der nicht nur zu einem niedrigen Geburtsgewicht, sondern auch zu erhöhten Blutglukosekonzentrationen *in utero* führt. Wir glauben, dass der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters einen solchen Einfluss ausüben könnte, zumal sich bereits in der Vergangenheit ein Zusammenhang mit der Entwicklung und Ausprägung für Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen bestätigt hat. GLUT1 gehört zur Gruppe der passiven Natrium-unabhängige (GLUT-) Glukosetransporter. Er ist in nahezu allen Geweben zu finden und für die Basisversorgung der Zellen mit Glukose verantwortlich.

Die vorliegende Arbeit untersucht, ob der XbaI-Polymorphismus, den man bisher mit der Entstehung eines Diabetes mellitus Typ II und einer diabetischen Nephropathie in Zusammenhang gebracht hat, neben einem niedrigen Geburtsgewicht auch eine erhöhte Blutglukosekonzentrationen *in utero* verursachen und damit weitere Hinweise für die Existenz einer genetisch determinierten Verknüpfung zwischen pränatalem Wachstum und postnataler Sensitivität für Insulin liefern kann.

2 Material und Methoden

2.1 Methoden

Wir führten eine prospektive epidemiologische Studie durch, in die wir 1.034 Frauen, welche sich von Juli 2000 bis August 2006 in der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe, Charité Universitätsmedizin Berlin, vorgestellt hatten, und ihre neugeborenen Kinder einschlossen. Das Studienprotokoll, welches Faktoren wie mütterliches Alter, Gewicht vor Eintritt der Schwangerschaft, Größe, Nationalität, Anzahl der Schwangerschaften und Paritäten, Blutdruck, Raucheranamnese, Familienanamnese in Bezug auf primäre arterielle Hypertonie und metabolische Erkrankungen, vor der Schwangerschaft bestehendem arteriellen Hypertonus, Diabetes mellitus und anderen mütterlichen Risikofaktoren vor und während der gegenwärtigen Schwangerschaft beinhaltet, wurde durch ausführliche Gespräche mit jeder Frau erhoben. Nach eingehender Aufklärung wurde von allen Frauen eine Einwilligung zur Erhebung und Weiterverwendung der Daten schriftlich dokumentiert. Die erhobenen Daten wurden in eine Computerdatenbank eingetragen und gesichert (SPSS, Version 12.0).

Das Gestationsalter konnte anhand des Auftretens der letzten Menstruationsblutung bestimmt und durch frühzeitige gynäkologische und geburtshilfliche Untersuchung sowie durch Ultraschall-Screening während der Schwangerschaft bestätigt werden. Zusätzlich diente die fetale Sonographie dem Ausschluss eventueller Anomalien der Plazenta oder des Feten.

Bei allen Frauen wurde venös EDTA-Vollblut abgenommen, während die Blutproben der Kinder arteriell aus der Nabelschnur gewonnen wurden. Mit Hilfe des Blutes aus der Arteria umbilicalis lässt sich unmittelbar nach der Entbindung der pH-Wert des Babys bestimmen. Dieser dient dem Pädiater als wichtiger Parameter zur objektiven Beurteilung einer Atemdepression (Asphyxie). Weiterhin spielt bei der Erstuntersuchung des Neugeborenen neben dem pH-Wert der APGAR-Score eine entscheidende Rolle. Der APGAR-Score, benannt nach der US-amerikanischen Anästhesistin Virginia Apgar, besteht aus fünf Elementen (**A**ussehen, **P**uls, **G**rimassieren, [**M**uskel-] **A**ktivität und **R**espiration). Weitere körperliche Merkmale wie Gewicht, Körperlänge, Kopfumfang und das Geschlecht wurden ebenfalls erhoben und dokumentiert.

Als nächstes isolierten wir aus dem Vollblut von Müttern und Neugeborenen die menschliche DNA.

2.1.1 Isolation der menschlichen DNA aus dem Vollblut :

1. als erster Schritt Abtrennen des Plasmas, Zentrifugieren des Vollbluts bei 3.000 rpm für 5 min, danach 1:1 verdünnen mit 0,9 % isot. NaCl-Lösung.
2. 50 µl des NaCl-Blutes mit 500 µl TE-Puffer mischen and bei 13.000 rpm für 3 min zentrifugieren.
3. Entfernen des Überstandes und Resuspendieren des Pellet in 500 µl TE-Puffer und erneut zentrifugieren bei 13.000 rpm für 1 min.
4. Wiederholen des vorangegangenen Schrittes so oft, bis Pellet nicht mehr rot gefärbt ist
5. Resuspendieren des makroskopisch hämoglobinfreien Pellet in 100 µl K-Puffer
6. bei 56 °C für mindestens 45 Minuten im Wasserbad inkubieren.
7. abschließend Erhitzen der Suspension für 10 Minuten auf 95 °C, um eventuell vorhandene Proteasen, insbesondere DNasen, zu zerstören
8. auf Eis abkühlen lassen und bei -20 °C aufbewahren.

Mit Hilfe der gewonnenen DNA war es nun möglich, eine Typisierung des GLUT1 Gens mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) durchzuführen.

2.1.2 PCR - Amplifikation

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist ein molekularbiologisches Verfahren, mit dem es möglich geworden ist, spezifisch DNA-Sequenzen zu vervielfältigen. Dabei wird zunächst die doppelsträngige DNA durch Erhöhen der Temperatur auf ca. 92-98 °C denaturiert. Die Wasserstoffbrückenbindungen lösen sich, und es entstehen zwei Einzelstränge. Durch Abkühlen lagern sich spezifisch die Primer an die komplementären Enden der beiden Einzelstränge an (annealing). Als Primer werden aus ca. 15 bis 25 Basen bestehende Oligonukleotide bezeichnet, die als Starthilfen für die DNA-Polymerase dienen. Verständlicherweise ist es für die Herstellung der Primer notwendig, dass die Basenfolge des DNA-Abschnittes bekannt ist, an den sich die Primer anlagern sollen. Nach Anlagerung der Primer ist es jetzt der DNA-Polymerase möglich, bei Vorhanden-

sein von Desoxynukleosidtriphosphaten (dNTPs) und Magnesiumchlorid ($MgCl_2$) unter optimalen Temperatur- und pH-Verhältnissen die beiden Einzelstränge zum jeweiligen Doppelstrang zu komplementieren. Dieser eben beschriebene Zyklus kann mehrfach wiederholt werden und ergibt eine exponentielle Zunahme der amplifizierten DNA.

Die Vorbereitung der GLUT1 PCR (22 μ L) erfolgte nach dem Schema in Tabelle 3. Die PCR wurde mit 2 μ l DNA-Matrize (template) und den Primern GLUT1 se und GLUT1 ase (Sequenzen s.o.) in einem Reaktionsvolumen von 22 μ l durchgeführt. Die Amplifikation vollzog sich über 30 Zyklen, bestehend aus der Denaturation bei 94 °C für 30 Sekunden, Annealing bei 50 °C für 30 Sekunden und Extension bei 72 °C für 1 Minute, danach die letzte Extension für 10 Minuten. Das PCR Programm zeigt Tabelle 4.

Tabelle 3: PCR-Protokoll

Material	Konzentration	Reaktionsgemisch (μ L)	Endkonzentration
Autoklaviertes ultrafiltriertes Wasser	-	13,708	-
10x PCR Puffer	500 mM KCl and 100 mM Tris-HCl, pH 8,3	2,2	50 mM KCl and 10 mM Tris-HCl
$MgCl_2$	25 mM	1,76	2 mM
dNTPs	10 mM von jedem	0,44	0,05 mM von jedem
GLUT1 sense		0,88	
GLUT1 anti-sense		0,88	
Taq-Polymerase	5 Units/ μ l	0,132	0,66 Unit/ 22 μ l
DNA-Matrize (template)		2,0	Ca. 150 ng
Volumen		22	

Tabelle 4: PCR-Programm:

Schritt	T.(°C)	Zeit	Zyklen	Reaktionsschritt
1	94	Pause		
2	94	6 Minuten		
3	50	30 Sekunden		
4	72	1 Minute		
5	94	30 Sekunden	29 x	Zurück zu Schritt 3
6	50	30 Sekunden		
7	72	10 Minuten		
8	10	Pause		

2.1.3 Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse

Mit Hilfe von Restriktionsendonukleasen können DNA-Doppelstränge an spezifischen Stellen geschnitten werden. Dabei entstehen unterschiedlich lange DNA-Sequenzen, welche nach elektrophoretischer Auftrennung und Anfärben mit Ethidiumbromid unter ultraviolettem Licht betrachtet werden können. Durch Mutationen im Bereich der spezifischen DNA-Sequenzen kann es sowohl zum Entstehen neuer als auch zum Verlust von Schnittstellen kommen, was sich durch unterschiedliche Bandenmuster unter UV-Licht widerspiegelt.

In unserem Fall wurden die PCR-Produkte nach der Amplifikation mit Xba I Restriktionsendonuklease verdaut (Schnittstelle von Xba I : 5'...T↓CTAGA...3' bzw. 3'...AGATC↑T...5'). Die Restriktion wurde in einem 12 µL Behälter verrichtet, welches 10 µL des PCR Produktes, 1,2 µL 10× Puffer Y+/Tango™ (mit BSA), 0,3 µL destilliertes Wasser und 0,3 µL Xba I enthielt, und über 24 Stunden in einem 37°C warmen Wasserbad inkubiert.

Die Restriktionsfragmente wurden auf ein 2,0%iges hochauflösendes Agarose-Gel aufgetragen und bei 100 Volt bzw. 250 mA und ca. einer Stunde Laufzeit elektrophoretisch

aufgetrennt. Anschließend erfolgte die Färbung mittels 0,05% (0,5 µg/ml) Ethidiumbromid und die Auswertung unter ultraviolettem Licht. Bestand keine Schnittstelle für die XbaI-Restriktionsendonuklease, so stellte sich unter UV-Licht nur eine Bande mit einer Länge von 399 Basenpaaren (bp) der AA-Genotyp dar. Bei kompletter Restriktion zeigten sich jeweils eine Bande bei 230 bp und eine Bande bei 169 bp (BB-Genotyp). Der heterozygote AB-Genotyp wies dementsprechend drei Banden auf (bei 399 bp, 230 bp und 169 bp).

2.1.4 Bestimmung des Totalen Glykosylierten Hämoglobin

Zur Bestimmung des Totalen Glykosylierten Hämoglobin (TGH) untersuchten wir das fetale und das mütterliche Blut mit Hilfe eines Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographen vom Typ „Variant Total Glycated Hemoglobin Testing system“ der Firma Bio-Rad, Hercules, Calif. Dieser arbeitet unabhängig vom Hämoglobin-Typ und ist dadurch in der Lage, sowohl fetales als auch adultes glykosyliertes Hämoglobin zu analysieren. Die Bestimmung von glykosyliertem Hämoglobin mittels Affinitätschromatographie beruht auf dem Prinzip der Trennung von glykosyliertem und nicht-glykosyliertem Hämoglobin auf einer Agarosesäule. Dabei wird ein Boronsäure-haltiges Trägermaterial verwendet. Die auf der Agarosesäule immobilisierte Boronsäure bildet mit dem glykosylierten Hämoglobin einen Komplex, so dass diese Fraktion auf der Säule zurückgehalten wird. Das nichtglykosylierte Hämoglobin passiert ohne Verzögerung als Hauptfraktion die Säule und wird aufgefangen. Das glykosylierte Hämoglobin wird mit einem sorbithaltigen Puffer von der Säule eluiert und ebenfalls separat aufgefangen. Aus den Extinktionen der Fraktionen errechnet man den Anteil des glykosylierten Hämoglobins. Die getrennten Hämoglobin-Säulen passierten dazu ein Filterphotometer, wo die veränderte Absorption bei einer Wellenlänge von 415 nm gemessen wird. Ein zweiter Filter mit 690 nm korrigiert entstehende Matrixeffekte, welche durch die Pufferlösungen unterschiedlicher ionischer Stärken verursacht werden.

Die affinitätschromatografische Trennung von glykosyliertem und nicht-glykosyliertem Hämoglobin zeichnet sich dadurch aus, dass kaum pH-Wert- und Temperatureinflüsse zu verzeichnen sind und keine Interferenzen durch labile glykosylierte Hämoglobinvarianten, Lipidämie, Bilirubin oder Nicht-Glukoseaddukte von Hämoglobin existieren.

2.2 Verwendete Materialien

2.2.1 Puffer und Lösungen

TE-Puffer	10 mM Tris-HCl	
	1 mM EDTA	
	(eingestellt auf einen pH von 7,5 – 8,0)	
PCR-Puffer	50 mM KCl	
	10 mM Tris-Cl	
	2,5 mM MgCl ₂	
	(eingestellt auf einen pH von 8,3)	
K-Puffer	PCR-Puffer	
	0,5% Tween20	
	100 µg/ml Proteinase K	
10x TBE Puffer	Tris-Base 108 g/l	
	Borsäure 55 g/l	
	0,5M EDTA 40 ml/l	
	(eingestellt auf einen pH von 8,0)	
Blaumarker 0.25%	Bromphenol blau	250 mg
	0,25% Xylene cyanol	250 mg
	30% Glycerol	30 g
	destilliertes Wasser bis 100 ml hinzufügen	
10 × Puffer Y+/ Tango™ (mit BSA) (gelb)	33mM Tris-Acetat	
	10mM Magnesium-Acetat	
	66mM Potassium-Acetat	
	0,1 mg/ml BSA	
	(eingestellt auf einen pH von 7,9 bei 37 °C)	
100bp DNA - Basenleiter		

Autoklaviertes ultrafiltriertes Wasser	320 µl
Blaumarker	70 µl
100bp DNA – Basenleiter	10 µl
	(0,1mg DNA/ml)
aufbewahrt bei -20°C. (Verwendung von 10 µl)	

2.2.2 Reagenzien

Primer Sequenzen:

Verwendete Primer	Sequenzen: 5'→3'	das PCR-Produkt (bp)
GLUT1 se	5'- TGT GCA ACC CAT GAG CTA A -3'	399
GLUT1B ase	5'- AG AAT GTA AGA GTA AGG AGG -3'	

TIB molbiol Syntheselabor, Berlin, Germany

SeaKem® LE Agarose, Biozym Diagnostik GmbH, Germany

Restriktionsendonuklease (RE): Xba I (1500u), Konzentration: 10u/µl, MBI fermentas GmbH, St.Leon-Rot, Germany

GeneRuler™ 100bp DNA-Leiter, MBI fermentas GmbH, St.Leon-Rot, Germany

GeneAmp® 10X PCR Puffer II (1,5 ml), verwendet von Biosystems, Germany

MgCl₂ Lösung (25mM; 1,5 ml), verwendet von Biosystems, Germany

AmpliAq Gold® DNA-Polymerase (5 Units/µl) von Biosystems, Germany

GeneAmp® dNTPs (10 mM, von dATP, dCTP, dGTP und dTTP), 320 µl, verwendet von Biosystems, Germany

EDTA, (C₁₀H₁₆N₂O₈), Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Xylene cyanol (C₂₅H₂₇N₂NaO₆S₂), Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Bromphenol blau, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany

Glycerin (C₃H₈O₃), Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Ethidiumbromid (10 mg/ml), Amresco Inc., Ohio, USA

Tris-Base (hydroxymethyl) aminomethane ($C_4H_{11}NO_3$) (2,5 kg), Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Borsäure (H_3BO_3), Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Proteinase K (100 mg), Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany

Tween20, SERVA Feinbiochemica GmbH, Heidelberg, Germany

2.2.3 Instrumente

- pH - Messer
- Gelelektrophorese Apparatur
Biometra standard power pack P25 (115 V/230 V), max. 400 V, 1000 mA, 200 W,
Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Germany
- Thermocycler
Biometra T3 Thermocycler, Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Germany
- Ultraviolette Lichtquelle
TI 1,230 Volt, Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Germany
- -20 °C and 4 °C Kühlschrank
Liebherr BSS 2986 Liebherr-Hausgeräte GmbH, Deizisau, Germany
- Thermoblock
Thermostat TCR 100, Roth, Germany
- 56 °C und 37 °C Wasserbad
- Waage
SBC 22 balance, Scaltec Instruments GmbH, Göttingen, Germany
Sartorius BL 600 balance, Sartorius AG, Göttingen, Germany
- Zentrifuge
Biofuge 13, Heraeus/Sepatech GmbH, Osterode am Harz, Germany

- Vortex

Vortex Genie 2-Mixer, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz

2.3 Statistik

Die Datenanalyse im Ergebnisteil erfolgte mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 12.0 (SPSS GmbH Software, Rosenheimer Str. 30, D-81669 München). Zur Überprüfung von Häufigkeitsverteilungen, also bei Variablen mit nominalem Skalenniveau, wurde der Chi-Quadrat-Test eingesetzt. Der Vergleich von Mittelwerten von zwei Fallgruppen (zumindest Intervallskalenniveau) wurde mit Hilfe des t-Tests (für unabhängige Stichproben) durchgeführt, wobei $p < 0,05$ als statistisch signifikant galt.

3 Ergebnisse

3.1 Mütterliche und kindliche Merkmale

In die Auswertung der mütterlichen und kindlichen Merkmale gingen die Daten von 1034 Mutter-Kind-Paaren ein, die an unserer Studie teilnahmen. Einschlusskriterien waren hierbei eine kaukasische Abstammung, Einlingsschwangerschaft und ein Geburtstermin nach der 36. Schwangerschaftswoche. Die deskriptiven Daten der Studienpopulation einbezogener Mutter-Kind-Paare werden in Tabelle 5, die Verteilung des Geburtsgewichts in Form eines Histogramms in Abbildung 8 dargestellt.

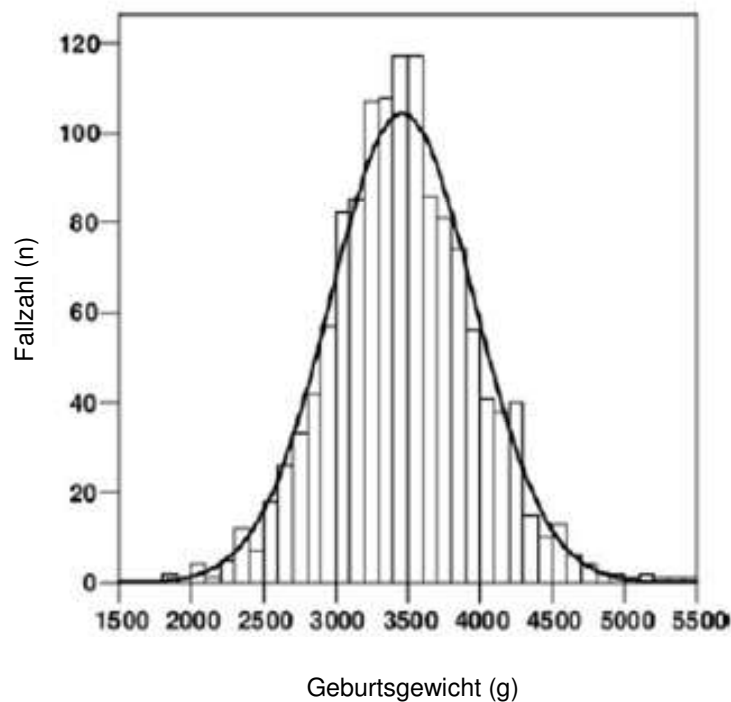


Abbildung 8: Verteilung des Geburtsgewichtes von allen 1034 Neugeborenen. Mittlere Geburtsgewicht 3465 ± 491 g, Median 3445 g, Minimum 1815 g, Maximum 5405 g

Tabelle 5: Deskriptive Daten von Mutter-Kind-Paaren (n=1034)

Merkmale der Mütter	Mittelwert ± Standardabweichung
Alter bei Entbindung (Jahre)	29,9 ± 5,6
Erstschwangerschaft/Erstgebärende (%)	43,8 / 53,6
Körpergröße (cm)	167,3 ± 6,5
Mütterliches Gewicht vor SS (kg)	63,2 ± 11,9
Body Mass Index vor SS (kg/m ²)	22,5 ± 3,8
Körpergewicht Mutter in 1.Hälfte der SS (kg)	66,9 ± 12,3
Körpergewicht Mutter in 2.Hälfte der SS (kg)	75,8 ± 12,6
Rauchen vor / während der SS (%)	44,8 / 18,3
Diabetes mellitus vor / während der SS (%)	1,5 / 2,8
Bluthochdruck in Anamnese (%)	5,9
Mittlere Systolische Blutdruck 1. Hälfte der SS (mmHg)	115,2 ± 11,2
Mittlere Systolische Blutdruck 2. Hälfte der SS (mmHg)	116,4 ± 10,2
Mittlere diastolische Blutdruck 1. Hälfte der SS (mmHg)	68,5 ± 7,7
Mittlere Systolischer Blutdruck 1. Hälfte der SS (mmHg)	69,7 ± 7,3
Geburt in SS-Woche (SS-Woche)	39,5 ± 1,4
Geschlecht Kind, männlich/weiblich (%)	54,5 / 45,5
Apgar Score Kind nach 5min	9,4 ± 0,9
Apgar Score Kind nach 10min	9,7 ± 0,6
Nabelarterie pH Kind	7,27 ± 0,07

Die nachfolgende Tabelle 6 soll einen Überblick über die erhobenen biometrischen Daten der Neugeborenen und das Totale Glykosylierte Hämoglobin (TGH) der Mütter und Kinder geben.

Tabelle 6: Biometrische Daten der Neugeborenen

Merkmale der Kinder	Mittelwert \pm Standardabweichung
Geburtsgewicht Kind (g)	3465 \pm 491
Körperlänge Kind (cm)	51,3 \pm 2,5
Kopfumfang Kind (cm)	34,9 \pm 2,1
Ponderalindex Kind (kg/m ³)	25,7 \pm 3,6
TGH Kind (%)	4,6 \pm 0,5
TGH Mutter (%)	6,3 \pm 0,7
Kind/Mutter TGH-Ratio	0,7 \pm 0,1

3.2 Häufigkeitsverteilung der Genotypen und Allele

Die Genotypisierung des GLUT1-Glukosetransporters der 1034 eingeschlossenen Mutter-Kind-Paare erfolgte mit Hilfe der XbaI-Restriktionsendonuklease durch RFLP und ist in Abbildung 9 veranschaulicht. Die Häufigkeiten der Genotypen und Allelfrequenzen dieser Studie ist in Tabelle 7 wiedergegeben. Die Verteilungen der Genotypen bei den Müttern (AA 10,0%, AB 44,0%, BB 46,0%) und bei den Kindern (AA 9,7%, AB 44,7%, BB 45,6%) zeigten keine signifikanten Unterschiede und folgten dem Hardy-Weinberg-Populationsgesetz. Die Häufigkeit des XbaI(A) Allels lag sowohl bei den Müttern als auch bei den Kindern bei 0,32, die des XbaI(B) Allels folglich bei beiden Gruppen bei 0,68.

Tabelle 7: Häufigkeitsverteilung der GLUT1-Genotypen und Allelfrequenzen, n= 1034, (%)

GLUT1-Genotyp	Mütter	Kinder
AA	103 (10,0)	100 (9,7)
AB	455 (44,0)	462 (44,7)
BB	476 (46,0)	472 (45,6)
Allelfrequenz für A	0,32	0,32
Allelfrequenz für B	0,68	0,68

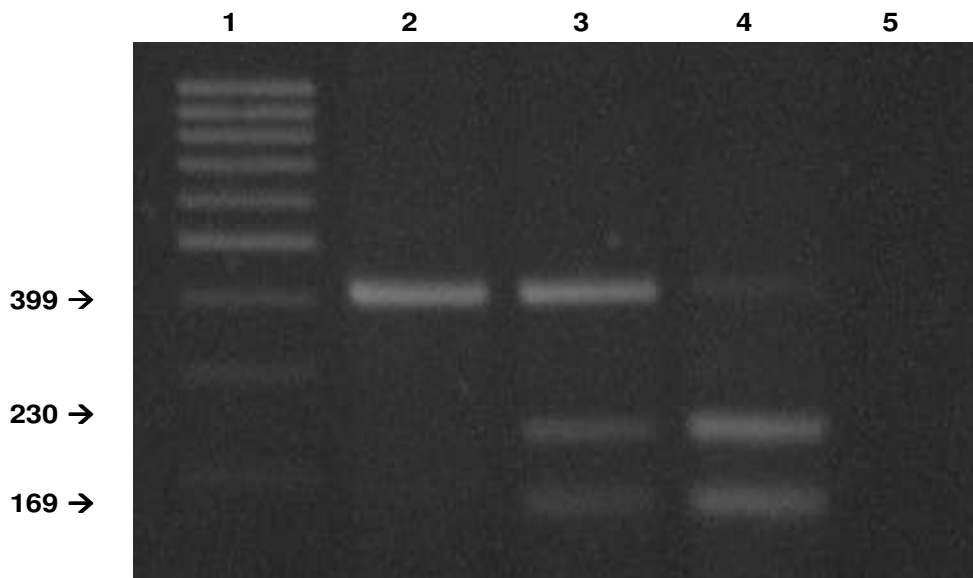


Abbildung 9: Genotypen des XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters

Dargestellt ist ein abgelichtetes 2%iges Agarosegel nach Behandlung mit dem Restriktionsenzym XbaI mit dem dabei entstandenen Bandenmuster; die 1. Spalte stellt die verwendete 100 bp DNA-Basenleiter dar; Spalte 2 zeigt das homozygote A-Allel (eine Bande bei 399 bp), Spalte 3 heterozygot (3 Banden bei 399, 230 und 169 bp), Spalte 4 zeigt das homozygote B-Allel (Wildtyp; 2 Banden bei 230 und 169 bp), Spalte 5 gibt die negative Kontrollprobe wieder.

3.3 Einfluss des GLUT1-Genotyps auf Geburtsgewicht und TGH

In den nachfolgenden Abbildungen ist die Beziehung zwischen dem mütterlichen bzw. fetalen Totalen Glykosylierten Hämoglobin (TGH) und dem Geburtsgewicht in Abhängigkeit vom mütterlichen oder kindlichen GLUT1-Genotyp grafisch wiedergegeben. Nach den Grafiken sind jeweils die multivariaten Regressionsanalysen aufgeführt, in die für das Geburtsgewicht relevante Einflussfaktoren eingingen. Diese sind uns aus früheren Publikationen [131-133] bekannt und umfassen als wichtigste Einflussfaktoren das Gestationsalter bei der Entbindung, das Geschlecht des Neugeborenen, der mütterliche Body-Mass-Index und das Rauchverhalten der Mutter während der Schwangerschaft. Sie sind unabhängig voneinander mit dem Geburtsgewicht des Kindes assoziiert und wurden in der nachfolgenden multivariaten Regressionsanalysen sowohl separat, jeweils bezogen auf das mütterliche als auch auf das fetale TGH sowie auf beide zu-

sammen betrachtet. Eine Korrelationsmatrix stellt abschließend die bivariaten Korrelationskoeffizienten für alle individuellen Variablen dar.

3.3.1 Einfluss des mütterlichen GLUT1-Genotyps auf Geburtsgewicht und TGH

Die Beziehung zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes und dem mütterlichen TGH in Abhängigkeit vom GLUT1-Genotyp der Mutter wird in Abbildung 10 grafisch veranschaulicht. Während mit steigenden mütterlichen TGH-Werten für den heterozygoten AB-Genotyp und den homozygoten BB-Genotyp (Wildtyp) ein Ansteigen des Geburtsgewichtes des Kindes zu erkennen ist (positive Korrelation), sehen wir interessanterweise beim AA-Genotyp einen Abfall des Geburtsgewichtes mit Anstieg des mütterlichen TGH (negative Korrelation). Für den Wildtyp stellt sich dieser Zusammenhang als hochgradig signifikant ($p < 0,001$) dar, während zusammengefasst für den AA- und AB-Genotyp kein signifikanter Zusammenhang vorhanden ist.

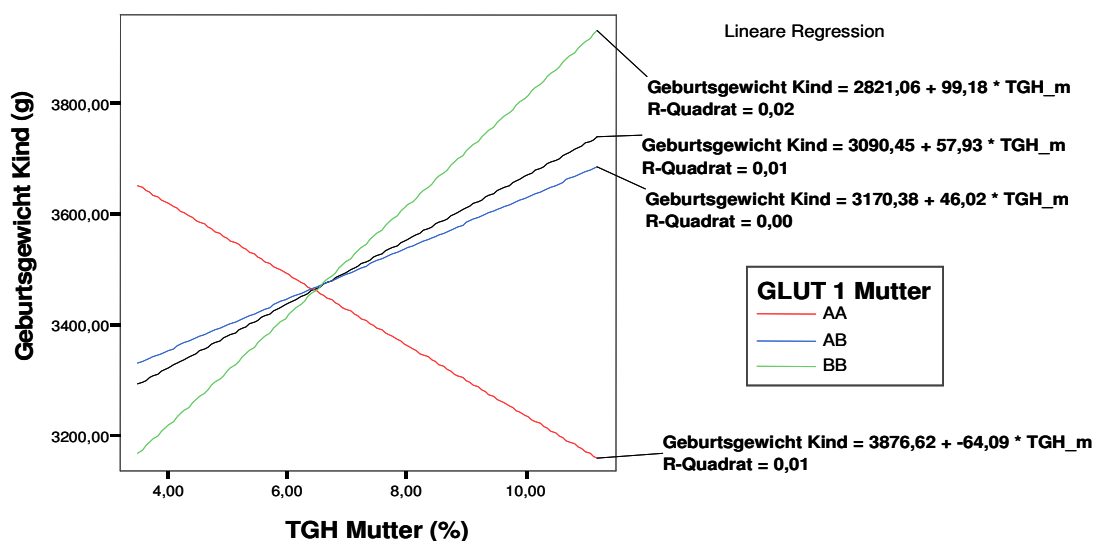


Abbildung 10: Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes (in Gramm) und dem mütterlichen TGH (in Prozent) für den GLUT1-Genotyp der Mutter

Die Abbildung 11 gibt den Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes und dem fetalen TGH in Abhängigkeit vom GLUT1-Genotyp der Mutter grafisch wieder. Dabei wird ersichtlich, dass es bei allen drei Genotypen mit steigenden TGH-Werten zu einem Abfall des Geburtsgewichtes kommt. Am stärksten ist dieser Zusammenhang für den AA-Genotyp zu beobachten. Fasst man den homozygoten AA- und heterozygoten Genotyp zusammen, so stellt sich dieser Abfall des Geburtsgewichtes in der multivariaten Regressionsanalyse sowohl für das separat betrachtete fetale TGH als auch zusammen mit dem maternalen TGH (fetales und maternales TGH) als signifikant dar. Der homozygote BB-Genotyp (Wildtyp) zeigt einzeln betrachtet keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und dem fetalen TGH. Dieser wird allerdings signifikant, wenn das fetale TGH zusammen mit dem mütterlichen TGH in der multivariaten Regressionsanalyse betrachtet wird.

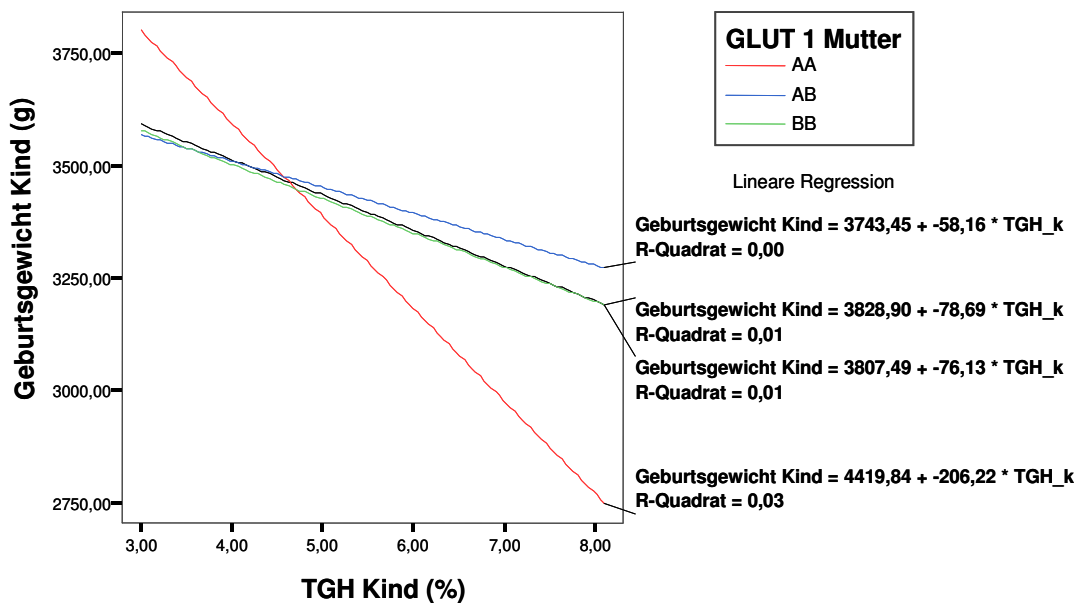


Abbildung 11: Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes (in Gramm) und dem kindlichen TGH (in Prozent) für den GLUT1-Genotyp der Mutter

Tabelle 8: Multivariate Regressionsanalyse für mütterlichen GLUT1-Genotyp

	Mutter AA+AB						
	R ² =	Regressions-Koeffizient	95%-Konfidenzintervall		Standardfehler	T	P
			Untergrenze	Obergrenze			
SS-Woche bei Geburt	0,220	139,37	113,76	164,98	13,05	10,68	0,0000
Geschlecht (m/f)		-138,46	-203,73	-73,18	33,25	-4,16	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		20,11	15,19	25,04	2,51	8,02	0,0000
Rauchen während SS, %		-36,28	-74,99	2,42	19,72	-1,84	0,0661
SS-Woche bei Geburt	0,244	137,19	106,34	168,04	15,70	8,74	0,0000
Geschlecht (m/f)		-123,89	-202,94	-44,85	40,22	-3,08	0,0022
Körpergröße Mutter, cm		22,49	16,36	28,63	3,12	7,20	0,0000
Rauchen während SS, %		-32,71	-79,22	13,81	23,67	-1,38	0,1677
TGH Kind		-101,32	-181,41	-21,22	40,76	-2,49	0,0133
SS-Woche bei Geburt	0,227	129,67	98,53	160,81	15,85	8,18	0,0000
Geschlecht (m/f)		-119,77	-198,93	-40,61	40,28	-2,97	0,0031
Körpergröße Mutter, cm		21,87	15,73	28,01	3,12	7,00	0,0000
Rauchen während SS, %		-30,09	-76,64	16,46	23,69	-1,27	0,2047
TGH Mutter		4,85	-51,20	60,89	28,52	0,17	0,8651
SS-Woche bei Geburt	0,237	133,90	102,13	165,68	16,17	8,28	0,0000
Geschlecht (m/f)		-128,43	-209,44	-47,41	41,22	-3,12	0,0020
Körpergröße Mutter, cm		21,71	15,41	28,02	3,21	6,77	0,0000
Rauchen während SS, %		-29,81	-77,65	18,03	24,34	-1,22	0,2213
TGH Kind		-113,51	-206,42	-20,61	47,27	-2,40	0,0167
TGH Mutter		37,25	-25,39	99,90	31,88	1,17	0,2431

Tabelle 9: Multivariate Regressionsanalyse für mütterlichen GLUT1-Genotyp

	Mutter BB						
	R ² =	Regression Koeffizient	95%-Konfidenzintervall		Standardfehler	T	P
			Untergrenze	Obergrenze			
SS-Woche bei Geburt	0,209	122,38	98,63	146,13	12,09	10,12	0,0000
Geschlecht (m/f)		-164,24	-232,60	-95,89	34,81	-4,72	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		19,93	14,62	25,25	2,71	7,36	0,0000
Rauchen während SS, %		0,57	-40,61	41,75	20,97	0,03	0,9783
SS-Woche bei Geburt	0,181	97,67	68,74	126,59	14,71	6,64	0,0000
Geschlecht (m/f)		-169,14	-256,89	-81,38	44,64	-3,79	0,0002
Körpergröße Mutter, cm		17,24	10,47	24,01	3,44	5,00	0,0000
Rauchen während SS, %		-13,36	-63,92	37,20	25,72	-0,52	0,6038
TGH Kind		-79,77	-168,24	8,69	45,00	-1,7727	0,0770
SS-Woche bei Geburt	0,200	97,06	68,59	125,53	14,48	6,70	0,0000
Geschlecht (m/f)		-172,05	-258,00	-86,10	43,72	-3,94	0,0001
Körpergröße Mutter, cm		17,83	11,13	24,52	3,41	5,23	0,0000
Rauchen während SS, %		-21,92	-71,82	27,99	25,39	-0,86	0,3884
TGH Mutter		110,93	52,87	169,00	29,54	3,7555	0,0002
SS-Woche bei Geburt	0,217	95,05	66,46	123,65	14,54	6,54	0,0000
Geschlecht (m/f)		-177,69	-264,43	-90,95	44,12	-4,03	0,0001
Körpergröße Mutter, cm		17,39	10,72	24,07	3,40	5,12	0,0000
Rauchen während SS, %		-20,44	-70,53	29,66	25,48	-0,80	0,4230
TGH Kind		-159,27	-253,40	-65,13	47,88	-3,3263	0,0010
TGH Mutter		144,96	79,49	210,43	33,30	4,3531	0,0000

Tabelle 10: Korrelation nach Pearson für mütterlichen GLUT1-Genotyp

		Geburtsgewicht Kind	TGH Kind	TGH Mutter	TGH_K__TGH_M	Geburt in SS-Woche	Sex Kind	BMI
GLUT1 Mutter AA+AB	TGH Kind	-0,082						
	TGH Mutter	0,025	0,354					
	TGH_K__TGH_M	-0,093	0,544	-0,578				
	Geburt in SS-Woche	0,385	0,040	-0,004	0,041			
	Sex Kind numerisch	-0,157	-0,043	-0,036	0,020	-0,089		
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,226	0,067	0,107	-0,064	-0,037	0,007	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	-0,084	0,031	-0,003	0,022	0,018	0,001	-0,064
GLUT1 Mutter BB	TGH Kind	-0,087						
	TGH Mutter	0,140	0,376					
	TGH_K__TGH_M	-0,173	0,577	-0,531				
	Geburt in SS-Woche	0,356	0,030	0,010	0,014			
	Sex Kind numerisch	-0,152	-0,014	0,044	-0,061	0,020		
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,093	0,006	0,045	-0,030	-0,004	-0,036	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	-0,038	0,057	0,083	-0,014	0,023	0,076	-0,042

Tabelle 11: Signifikanz (2-seitig) für mütterlichen GLUT1-Genotyp

		Geburtsgewicht Kind	TGH Kind	TGH Mutter	TGH_K__TGH_M	Geburt in SS- Woche	Sex Kind	BMI
GLUT1 Mutter AA+AB	TGH Kind	0,050		0,000	0,000	0,339	0,309	0,144
	TGH Mutter	0,556	0,000		0,000	0,931	0,384	0,021
	TGH_K__TGH_M	0,029	0,000	0,000		0,332	0,638	0,176
	Geburt in SS-Woche	0,000	0,339	0,931	0,332		0,009	0,306
	Sex Kind numerisch	0,000	0,309	0,384	0,638	0,009		0,847
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,000	0,144	0,021	0,176	0,306	0,847	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	0,020	0,506	0,940	0,634	0,616	0,967	0,077
GLUT1 Mutter BB	TGH Kind	0,057		0,000	0,000	0,513	0,766	0,905
	TGH Mutter	0,002	0,000		0,000	0,833	0,327	0,363
	TGH_K__TGH_M	0,000	0,000	0,000		0,759	0,188	0,547
	Geburt in SS-Woche	0,000	0,513	0,833	0,759		0,574	0,924
	Sex Kind numerisch	0,000	0,766	0,327	0,188	0,574		0,350
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,015	0,905	0,363	0,547	0,924	0,350	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	0,320	0,246	0,089	0,773	0,551	0,045	0,271

3.3.2 Einfluss des kindlichen GLUT1-Genotyps auf Geburtsgewicht und TGH

Der Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes und dem mütterlichen TGH in Abhängigkeit vom GLUT1-Genotyp des Kindes ist in der Abbildung 12 grafisch veranschaulicht. Dabei ist dasselbe Phänomen zu beobachten, wie es in Abbildung 10 zu sehen ist. Für den AA-Genotyp zeigt sich eine inverse Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes und dem mütterlichen TGH, wohingegen beim heterozygoten und beim BB-Genotyp (Wildtyp) eine positive signifikante Korrelation zu erkennen ist ($p < 0,05$).

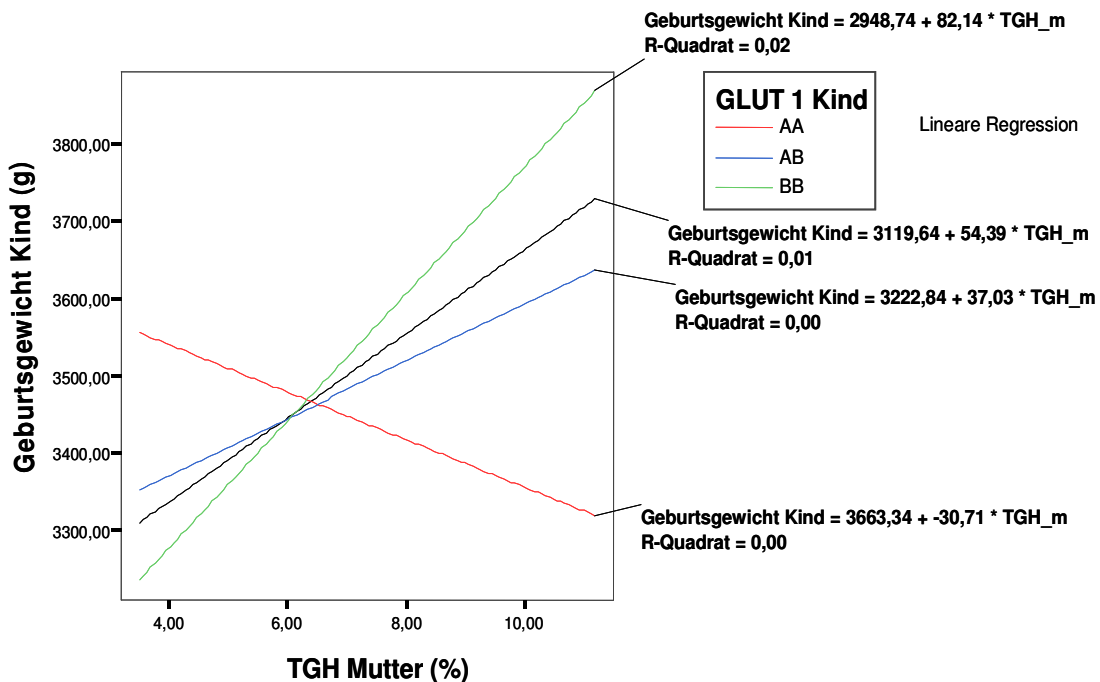


Abbildung 12: Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes (in Gramm) und dem mütterlichen TGH (in Prozent) für den GLUT1-Genotyp des Kindes

In der Abbildung 13 wird der Zusammenhang zwischen dem Gewicht des Neugeborenen zur Geburt und dem fetalen TGH in Abhängigkeit vom kindlichen GLUT1-Genotyp wiedergegeben. Interessanterweise fällt hierbei auf, dass beim kindlichen BB-Genotyp trotz steigender fetaler TGH-Werte keine relevante Veränderung des Geburtsgewichtes

und damit kein Zusammenhang ersichtlich wird, während beim AA- und beim heterozygoten AB-Genotyp mit steigendem fetalen TGH ein deutlicher Abfall des Geburtsgewichtes zu beobachten ist. Hierbei stellt sich eine hochsignifikante ($p < 0,01$) inverse Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht des Neugeborenen und dem fetalen TGH für das A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters dar. Während es bei Kindern, die das A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters tragen, zu einer hochsignifikanten inversen Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht und steigenden fetalen TGH-Werten kommt, verhält sich das Geburtsgewicht bei Neugeborenen mit homozygoten BB-Genotyp unabhängig vom fetalen TGH (kein Zusammenhang).

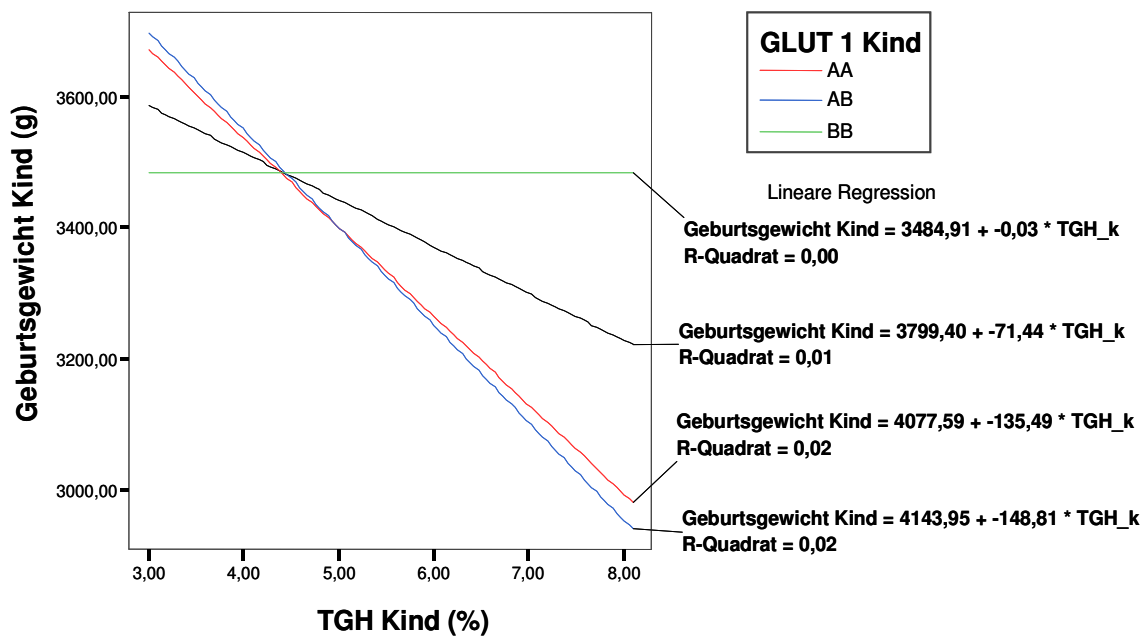


Abbildung 13: Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes (in Gramm) und dem kindlichen TGH (in Prozent) für den GLUT1-Genotyp des Kindes

Tabelle 12: Multivariate Regressionsanalyse für kindlichen GLUT1-Genotyp

	Kind AA+AB						
	R ² =	Regression Coefficient	95%-Konfidenzintervall		Standardfehler	T	P
			Untergrenze	Obergrenze			
SS-Woche bei Geburt	0,196	112,40	89,12	135,69	11,86	9,48	0,0000
Geschlecht (m/f)		-160,47	-226,04	-94,91	33,40	-4,80	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		21,64	16,69	26,59	2,52	8,58	0,0000
Rauchen während SS, %		-21,75	-60,24	16,74	19,61	-1,11	0,2676
SS-Woche bei Geburt	0,175	93,00	65,72	120,27	13,88	6,70	0,0000
Geschlecht (m/f)		-111,72	-192,03	-31,41	40,87	-2,73	0,0065
Körpergröße Mutter, cm		19,94	13,86	26,03	3,10	6,44	0,0000
Rauchen während SS, %		-8,59	-54,99	37,81	23,61	-0,36	0,7161
TGH Kind		-128,93	-212,45	-45,41	42,51	-3,03	0,0026
SS-Woche bei Geburt	0,163	89,84	61,37	118,30	14,49	6,20	0,0000
Geschlecht (m/f)		-107,28	-188,10	-26,46	41,13	-2,61	0,0094
Körpergröße Mutter, cm		19,77	13,58	25,95	3,15	6,28	0,0000
Rauchen während SS, %		-20,73	-67,03	25,57	23,56	-0,88	0,3794
TGH Mutter		59,13	-2,05	120,30	31,13	1,90	0,0581
SS-Woche bei Geburt	0,187	93,86	65,25	122,47	14,56	6,45	0,0000
Geschlecht (m/f)		-114,19	-195,81	-32,58	41,53	-2,75	0,0062
Körpergröße Mutter, cm		19,04	12,75	25,33	3,20	5,95	0,0000
Rauchen während SS, %		-12,71	-59,80	34,38	23,96	-0,53	0,5961
TGH Kind		-188,36	-284,04	-92,69	48,68	-3,87	0,0001
TGH Mutter		114,28	46,41	182,16	34,54	3,31	0,0010

Tabelle 13: Multivariate Regressionsanalyse für kindlichen GLUT1-Genotyp

	Kind BB						
	R ² =	Regression Coefficient	95%-Konfidenzintervall		Standardfehler	T	P
			Untergrenze	Obergrenze			
SS-Woche bei Geburt	0,244	148,80	124,28	173,33	12,49	11,91	0,0000
Geschlecht (m/f)		-163,39	-227,79	-98,99	32,80	-4,98	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		19,59	14,62	24,56	2,53	7,74	0,0000
Rauchen während SS, %		-9,15	-48,55	30,26	20,07	-0,46	0,6488
SS-Woche bei Geburt	0,257	142,47	111,23	173,70	15,89	8,97	0,0000
Geschlecht (m/f)		-193,27	-276,70	-109,84	42,45	-4,55	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		21,26	14,82	27,70	3,28	6,49	0,0000
Rauchen während SS, %		-30,41	-80,06	19,25	25,26	-1,20	0,2294
TGH Kind		-24,43	-107,23	58,38	42,13	-0,58	0,5624
SS-Woche bei Geburt	0,270	143,98	112,84	175,13	15,84	9,09	0,0000
Geschlecht (m/f)		-191,82	-275,64	-107,99	42,64	-4,50	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		19,59	13,06	26,12	3,32	5,90	0,0000
Rauchen während SS, %		-27,76	-78,06	22,55	25,59	-1,08	0,2787
TGH Mutter		54,70	1,61	107,79	27,01	2,03	0,0435
SS-Woche bei Geburt	0,273	144,03	112,21	175,85	16,19	8,90	0,0000
Geschlecht (m/f)		-196,69	-282,51	-110,88	43,65	-4,51	0,0000
Körpergröße Mutter, cm		19,35	12,76	25,95	3,36	5,77	0,0000
Rauchen während SS, %		-32,95	-84,18	18,27	26,06	-1,26	0,2067
TGH Kind		-79,64	-170,81	11,54	46,37	-1,72	0,0867
TGH Mutter		61,75	1,52	121,98	30,63	2,02	0,0445

Tabelle 14: Korrelation nach Pearson für kindlichen GLUT1-Genotyp

		Geburtsgewicht Kind	TGH Kind	TGH Mutter	TGH_K__TGH_M	Geburt in SS-Woche	Sex Kind	BMI
GLUT1 Kind AA+AB	TGH Kind	-0,145						
	TGH Mutter	0,032	0,379					
	TGH_K__TGH_M	-0,157	0,539	-0,568				
	Geburt in SS-Woche	0,326	0,046	-0,022	0,060			
	Sex Kind numerisch	-0,185	-0,001	0,021	-0,004	-0,071		
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,204	0,041	0,126	-0,082	0,010	-0,017	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	-0,079	0,107	0,053	0,041	-0,042	0,011	-0,076
GLUT1 Kind BB	TGH Kind	0,000						
	TGH Mutter	0,127	0,353					
	TGH_K__TGH_M	-0,106	0,578	-0,545				
	Geburt in SS-Woche	0,407	0,026	0,027	-0,005			
	Sex Kind numerisch	-0,124	-0,061	-0,025	-0,030	0,048		
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,087	0,036	0,022	-0,014	-0,075	0,001	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	-0,033	-0,019	0,020	-0,035	0,081	0,058	-0,043

Tabelle 15: Signifikanz (2-seitig) für kindlichen GLUT1-Genotyp

		Geburtsgewicht Kind	TGH Kind	TGH Mutter	TGH_K__TGH_M	Geburt in SS- Woche	Sex Kind	BMI
GLUT1 Kind AA+AB	TGH Kind	0,000		0,000	0,000	0,261	0,977	0,362
	TGH Mutter	0,440	0,000		0,000	0,603	0,622	0,006
	TGH_K__TGH_M	0,000	0,000	0,000		0,153	0,920	0,077
	Geburt in SS-Woche	0,000	0,261	0,603	0,153		0,031	0,785
	Sex Kind numerisch	0,000	0,977	0,622	0,920	0,031		0,630
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,000	0,362	0,006	0,077	0,785	0,630	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	0,024	0,017	0,248	0,375	0,234	0,748	0,031
GLUT1 Kind BB	TGH Kind	0,999		0,000	0,000	0,553	0,172	0,459
	TGH Mutter	0,005	0,000		0,000	0,545	0,577	0,651
	TGH_K__TGH_M	0,021	0,000	0,000		0,920	0,514	0,778
	Geburt in SS-Woche	0,000	0,553	0,545	0,920		0,169	0,042
	Sex Kind numerisch	0,000	0,172	0,577	0,514	0,169		0,986
	BMI Anfang SS (kg1_neu, an Größe)	0,018	0,459	0,651	0,778	0,042	0,986	
	an Rauchen ja-nein (egal ob während aufgehört)	0,363	0,689	0,688	0,485	0,026	0,115	0,246

4 Diskussion

4.1 Vergleiche der Genotyp- und Allel-Häufigkeiten

Das Ziel der von uns durchgeführten Studie lag in der Erhebung der Genotyp-Häufigkeiten und -Verteilung des GLUT1-Glukosetransporters in der kaukasischen Bevölkerung sowie der Untersuchung eines eventuell bestehenden genetischen Einflusses auf die kürzlich nachgewiesene inverse Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht und Konzentrationen von Totalen Glykosylierten Hämoglobin im fetalen Blut. Dazu analysierten wir 1034 Mutter-Kind-Paare, deren erhobene Daten in unsere Auswertung einfließen. Dabei zeigten die Genotyp-Häufigkeiten und Allelfrequenzen eine ähnliche Verteilung wie gesunde Kontrollgruppen anderer Studien [58,62]. Grafisch wird dies in Abbildung 14 veranschaulicht.

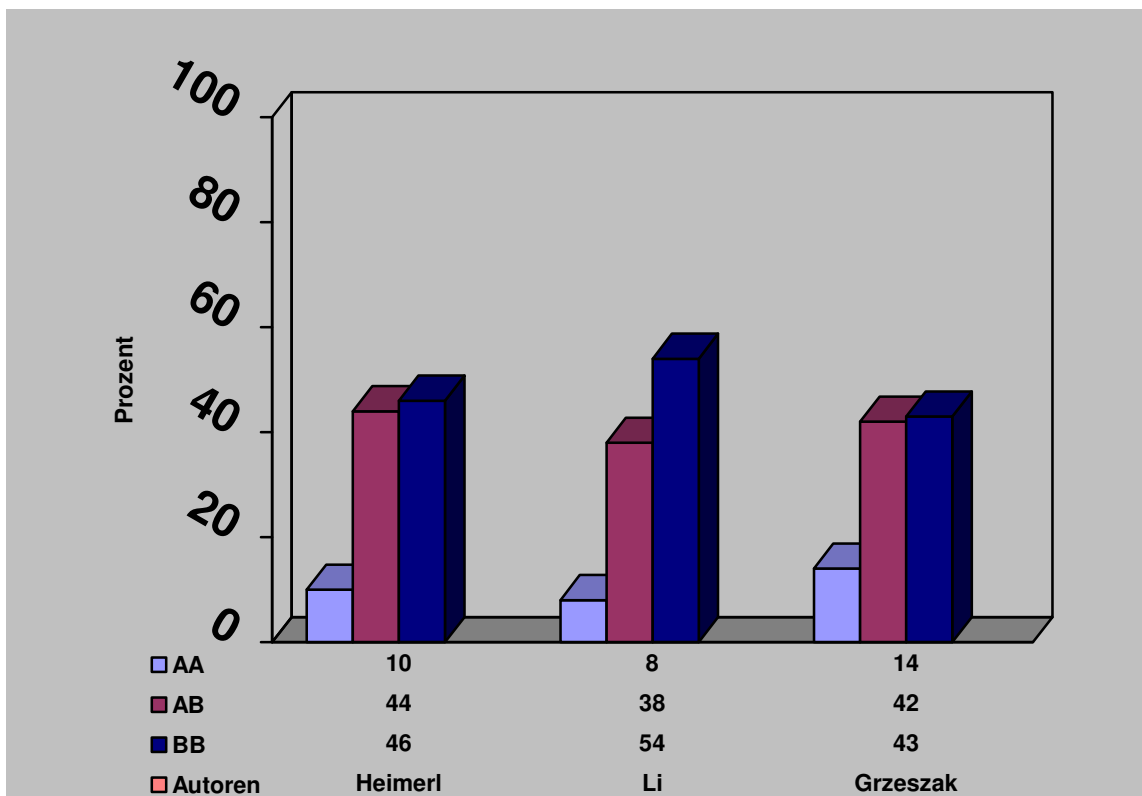


Abbildung 14: Vergleich der GLUT1 Genotyp-Häufigkeiten

4.2 Kindliches TGH im Kontext des XbaI-Polymorphismus und seiner Bedeutung für das intrauterine Wachstum und den Glukosestoffwechsel

In Anlehnung an Thiemo Pfab et al, die 2006 erstmals an 1295 untersuchten Mutter-Kind-Paaren zeigen konnten, dass eine inverse Assoziation zwischen dem TGH der Neugeborenen und ihrem Geburtsgewicht existiert und dass leichtere Neugeborene einen höheren Anteil an fetalen TGH aufweisen [124], untersuchten wir 1034 dieser Mutter-Kind-Paare auf ihren mütterlichen und kindlichen GLUT1-Genotyp. Wir konnten mit unserer Studie erstmals darlegen, dass der beobachteten Korrelation zwischen einem erniedrigten Geburtsgewicht und einem erhöhten Totalen Glykosylierten Hämoglobin des Neugeborenen unter anderem auch genetische Einflüsse, wie hier durch den XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporter, zugrunde liegen. Während es bei Kindern, die das A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters tragen, zu einem hochsignifikanten Abfall des Geburtsgewichts mit steigenden fetalen TGH-Werten kommt, stellt sich das Geburtsgewicht bei Neugeborenen mit homozygoten BB-Genotyp nahezu unabhängig vom fetalen Totalen Glykosylierten Hämoglobin dar.

Fetales Totales Glykosyliertes Hämoglobin stellt dabei einen Surrogat-Parameter für die fetale Glykämie dar und reflektiert unter Umständen eine bereits bestehende Insulinresistenz. Die Insulinresistenz spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung einer pathologischen Glukosetoleranz bzw. der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ II und wurde als Ursache einer Hyperglykämie in Neugeborenen mit vermindertem Geburtsgewicht bereits in früheren Arbeiten beschrieben [134]. Ähnlich den erhöhten Werten für glykosyliertes Hämoglobin (HbA_{1c}) beim erwachsenen Diabetiker führt wahrscheinlich eine bereits *in utero* bestehende Insulinresistenz zu erhöhten fetalen Blutglukosekonzentrationen und konsekutiv zu einem Anstieg des fetalen Totalen Glykosylierten Hämoglobins. Glykosyliertes Hämoglobin entsteht in zwei Schritten durch eine nicht-enzymatische Reaktion zwischen Hämoglobin und der Glukose im Blut. Der ersten Schritt besteht aus der Bildung einer reversiblen Aldimin-Form (Schiff'sche Base). Durch eine Armadori-Umlagerung reagiert das labile Aldimin in einem zweiten Schritt langsam zur stabilen und irreversiblen Ketoamin-Form. Beim gesunden Erwachsenen bildet glykosyliertes HbA_{1c} den Hauptanteil am glykosylierten Hämoglobin. Das Totale Glykosylierte Hämoglobin reflektiert beim Neugeborenen, ähnlich wie das glykosylierte

Hämoglobin beim Erwachsenen (HbA_{1c}), die durchschnittliche fetale Blutglukosekonzentration in den letzten Wochen der Schwangerschaft.

Leichtere Neugeborene sind vermutlich nicht in der Lage, die Blutglukosekonzentration effektiv zu senken. Die Ursache dafür könnte eine bereits *in utero* bestehende verminderte Insulinsekretion und/oder Insulinresistenz sein. Bereits andere Studien lieferten Hinweise, dass der Insulinresistenz bei Neugeborenen und präpubertären Kindern eine wichtige Rolle zukommt [134-136]. Daran könnte der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters beteiligt sein, wie unsere Ergebnisse zeigen, da es nur bei Kindern, die das polymorphe A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters tragen, zu einem Abfall des Geburtsgewichts mit steigenden fetalen TGH-Werten kommt, während sich das Geburtsgewicht bei Neugeborenen mit homozygoten BB-Genotyp nahezu unabhängig vom fetalen TGH darstellt.

Die Ursachen einer Assoziation zwischen einem geringen Geburtsgewicht und Störungen des Glukosemetabolismus bis hin zum Diabetes mellitus wurden bisher kontrovers diskutiert. Während Barker und Bagby postulieren, dass die Entwicklung des Kindes permanent durch das ihn umgebende Milieu beeinflusst wird [137], gehen Hattersley und Tooke davon aus, dass sowohl ein niedriges Geburtsgewicht als auch eine sich im späteren Leben manifestierende pathologische Glukosetoleranz bzw. ein Diabetes mellitus Typ II alles phänotypische Ausprägungen ein und desselben insulinresistenten Genotypen sind [15]. Wie wir wissen, stellt die fetale Insulinsekretion neben dem IGF-I einen wesentlichen fetalen Wachstumsfaktor dar [16]. Durch Veränderungen des fetalen Genoms in Bereichen, welche die Insulinsekretion des Feten bzw. die Sensitivität der fetalen Gewebe auf Insulin regulieren, kann im heranwachsenden Organismus eine verminderte Insulinsekretion bzw. -wirkung hervorgerufen werden, was wiederum ein verzögertes fetales Wachstum und letztendlich ein vermindertes Geburtsgewicht zur Folge haben kann. Bedingt durch derartige genetische Defekte kann es dabei zum Beispiel zu Störungen in der Erkennung der fetalen Blutzuckerkonzentration, der Insulinsekretion und/oder der Insulinempfindlichkeit des fetalen Gewebes kommen. Derartige Störungen können die Ursache für unsere Ergebnisse sein. Sie deuten darauf hin, dass eine genetisch determinierte Insulinresistenz, welche zum Beispiel durch den XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Transporters hervorgerufen sein kann, zu einem verminderten insulinvermittelten fetalen Wachstum und erhöhten Blutglukosekonzentrationen

in utero und damit konsekutiv zu einer Steigerung des fetalen TGH führen. Die von uns ermittelten Daten geben damit Hinweise, dass eine genetisch determinierte Verknüpfung zwischen dem pränatalen Wachstum und der postnatalen Sensitivität für Insulin existiert und bereits zum Zeitpunkt der Geburt nachweisbar ist.

Glukosetransporter sind in diversen peripheren Zielorganen exprimiert und werden neben anderen Mechanismen mit der Entstehung von Insulinresistenz in Verbindung gebracht [138,139]. GLUT1 ist einer dieser Glukosetransporter und bereits weitgehend sowohl auf molekularer als auch auf funktionaler Ebene erforscht. Er ist für die Basisversorgung der Zellen mit Glukose verantwortlich und in nahezu allen Geweben zu finden. Verknüpfungen zwischen der Region auf Chromosom 1p, wo das GLUT1-Gen entschlüsselt wurde, und einer verminderten Insulinantwort sind in der Vergangenheit publiziert worden [140]. Dabei scheint dem Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor (PPAR) in der Pathogenese der Insulinresistenz eine entscheidende Rolle zuzukommen [152]. PPAR ist ein Zellkernrezeptor, der durch die Expression gewisser Gene die Zellentwicklung, -differenzierung und das Wachstum steuert. Nach Bindung eines Liganden kommt es zur Verlagerung des intrazellulär gelegenen Rezeptors in den Zellkern und zur Aktivierung der Gentranskription [153,154]. Es sind drei Subtypen dieses Rezeptors bekannt, wobei vor allem PPAR-gamma in der Steuerung des Glukosemetabolismus eine wichtige Bedeutung hat. Er kommt hauptsächlich im Fettgewebe vor und ist wesentlich an der Reifung des Präadipozyten zum Adipozyten sowie am Glukose- und Fettstoffwechsel beteiligt [141,142]. Der nukleäre Rezeptor bewirkt bei Aktivierung eine vermehrte Exprimierung der Glukosetransporter GLUT1 und GLUT4, welche zu einer verstärkten Aufnahme von Glukose in die Zelle führen. In der Leber verringert er die Glukoneogenese und erhöht die Glykolyse. Außerdem vermindert er die Exprimierung des Tumornekrosefaktor Alpha (TNF α), der als eine Ursache der Insulinresistenz vermutet wird [143]. Therapeutisch wird das Wissen über diese Wirkung bereits durch spezifische Agonisten am PPAR-gamma, die sogenannten Insulinsensitizer genutzt, welche mittels einer Verbesserung des Glukosemetabolismus und Verminderung der Insulinresistenz zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ II eingesetzt werden [144,145]. Pioglitazon (Actos®) oder Rosiglitazon (Avandia®) sind Beispiele für Insulinsensitizer, die heute im klinischen Alltag verwendet werden. Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass Insulin-Sensitizer unter anderem die Expression von GLUT1 in Skelettmuskel- und Fettzellen sowie in Kardiomyozyten steigern [146-149]. Durch die vermehr-

te medikamentös-induzierte Expression von GLUT1 resultiert sowohl ein Anstieg des basalen als auch des insulinvermittelten Glukosetransports, was als Zeichen einer verbesserten Sensitivität des Zielgewebes auf Insulin zu werten ist [150]. Auch eine Überexpression von GLUT1 in transgenen Mäusen führt zu einer Steigerung der basalen Glukoseutilisation und verhindert die Entwicklung von Hyperglykämien und einer Glukoseintoleranz bei hochkalorischer Ernährung [151]. All diese Daten zeigen, dass dem GLUT1-Glukosetransporter in der Pathogenese als auch bei therapeutischen Konzepten zur Behandlung eines Diabetes mellitus Typ II eine maßgebliche Rolle zukommt. Aus diesem Grund könnte auch ein genetischer Defekt des GLUT1-Glukosetransporters, besonders im Hungerzustand, zu einer Störung des basalen Glukosetransports führen, woraus eine pathologische Glukosetoleranz und eine Insulinresistenz resultieren können.

In der Literatur wurde der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters bereits wiederholt in unterschiedlichen Populationen mit einem gehäuften Auftreten eines Diabetes mellitus und diabetischen Komplikationen, wie z.B. der diabetischen Nephropathie, in Verbindung gebracht [42,44,47,48,59,130], wobei die Wirkungsweise des auf einem Intron gelegenen Polymorphismus letztendlich noch nicht geklärt ist. Der XbaI-Polymorphismus konnte auf dem zweiten Intron des GLUT1-Gens nachgewiesen werden und befindet sich in unmittelbarer Nähe zur Enhancer-Region, jedoch nicht in einer bekannten regulatorischen Region des GLUT1-Gens, so dass noch unklar ist, wie er die Genexpression beeinflusst. Ob eine intrinsische Mutation zu Veränderungen der Proteinsequenz führen und dadurch funktionelle Bedeutung erlangen kann, ist aus unserer heutigen Sicht noch nicht endgültig geklärt. Möglicherweise befindet sich auch in unmittelbarer Nähe zum XbaI-Polymorphismus ein weiterer Polymorphismus, der die eigentliche Ursache für die genetische Beeinflussung darstellt, da er aufgrund seiner Lage innerhalb einer regulatorischen Region über die Möglichkeit verfügt, die Genexpression zu modulieren.

4.3 Mütterliches TGH im Kontext des XbaI-Polymorphismus und seiner Bedeutung für das intrauterine Wachstum und den Glukosestoffwechsel

Anders stellt sich dieser Sachverhalt in Bezug auf das mütterliche TGH dar. Während mit steigenden mütterlichen TGH-Werten für den heterozygoten AB- und den homozygoten BB-Genotyp (Wildtyp) erwartungsgemäß ein Ansteigen des Geburtsgewichtes des Kindes zu erkennen ist, sehen wir interessanterweise beim AA-Genotyp einen Abfall des Geburtsgewichtes mit Anstieg des mütterlichen TGH (inverse Korrelation). Dies ist sowohl für den mütterlichen als auch für den kindlichen GLUT1-Genotyp nachweisbar. Für den heterozygoten AB- und den homozygoten BB-Genotyp sehen wir das gut bekannte Phänomen makrosomer Neugeborener, deren Mütter in der Schwangerschaft an einem nicht oder unzureichend eingestellten Diabetes mellitus leiden.

Die Plazenta spielt für das fetale Wachstum eine zentrale Rolle. Treten im ersten und zweiten Trimester der Schwangerschaft Fehler in Wachstum und Entwicklung der Plazenta auf, so sind diese direkt mit einem verminderten fetalen Wachstum im letzten Teil der Schwangerschaft assoziiert [73]. Der Nettotransfer von Glukose kann dabei durch eine veränderte Leistung der Plazenta beeinflusst werden, in die Faktoren wie der Blutfluss, die Glukosetransporter-Dichte und die plazentare Austauschfläche miteinfließen. Wir wissen, dass Veränderungen des plazentaren Glukosetransports zu Abweichungen des fetalen Wachstums führen. Dabei stellt der Glukosetransporter GLUT1 die wichtigste Isoform in der menschlichen Plazenta dar, da vor allem er für den Transport von Glukose durch die Plazenta verantwortlich ist [36]. Um den stetig wachsenden Glukosebedarf des Fetus während der Schwangerschaft decken zu können, kommt es im Laufe der Schwangerschaft in der Plazenta neben einer Vergrößerung der Austauschoberfläche auch zu einer Zunahme der Glukosetransporter-Dichte. Zwischen der 16. Schwangerschaftswoche und der Geburt vergrößert sich das Gewicht des Fetus um das 20-fache, wohingegen die periphere und die mikrovillöse Austauschoberfläche nur um das Zehnfache steigt [63,64]. Um diese Diskrepanz kompensieren zu können, steigt im letzten Teil des zweiten Trimesters die GLUT1-Transporterdichte an der Basalmembran (BM) auf das Doppelte an und behält dieses Level bis zur Geburt bei. Die GLUT1-Transporterdichte im Bereich der mikrovillösen Membran (MVM) verändert sich dagegen im Laufe der Schwangerschaft nicht, was weiterhin darauf hindeutet, dass die BM-

und die MVM-Glukosetransporter-Proteinexpression während der Schwangerschaft unabhängig voneinander reguliert werden [38]. Dieses Beispiel verdeutlicht die Bedeutung des GLUT1-Transporters in der Plazenta sowie seinen Einfluss und seine Regulierbarkeit, um eine suffiziente transplazentare Übertragung von Glukose gewährleisten zu können, welche wiederum das Geburtsgewicht und das intrauterine Wachstum bestimmt.

Bei diabetischen Schwangeren steht das beschleunigte fetale Wachstum in direktem Zusammenhang mit der mütterlichen Hyperglykämie und einem daraus resultierenden gesteigerten plazentaren Glukosetransport. Es konnte in Studien an diabetischen Schwangeren ein signifikanter Anstieg der GLUT1-Proteinexpression und der damit verbundenen Glukosetransport-Aktivität in den Basalmembranen der Plazenta festgestellt werden, während die Expression und Aktivität von GLUT1 in den mikrovillösen Membranen unverändert blieb [65]. Auch bei adäquater Einstellung des maternalen Diabetes kam es dadurch zu einem erhöhten Glukosefluss von den diabetischen Müttern zum Fetus und zu einem Anstieg des Risikos, makrosome Kinder zu gebären. Es wird vermutet, dass während der Schwangerschaft, möglicherweise vor Diagnosestellung oder in einem Zeitraum inadäquater Einstellung des Diabetes, die maternale Hyperglykämie zu einer erhöhten Glukosekonzentration im Blut des Feten führt. Die fetale Hyperglykämie bewirkt die Ausschüttung fetaler Wachstumsfaktoren wie Insulin und IGF-I, welche das fetale Wachstum als auch die Expression von Glukosetransportern in der Basalmembran stimulieren. Daraus resultiert ein kontinuierlich erhöhter transplazentarer Glukosetransport und als Folge die Aufrechterhaltung der schon erhöhten Sekretion fetaler Wachstumsfaktoren, auch unter Normalisierung der maternalen Blutzuckerkonzentration, sowie das erhöhte Risiko für Makrosomie [36]. Diese Daten legen nahe, dass plazentare Glukosetransporter an der Entstehung makrosomer Neugeborener von diabetischen Schwangeren beteiligt sind.

Intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) ist auch heute noch mit einer erhöhten perinatalen Morbidität sowie Mortalität assoziiert, und ein eingeschränktes intrauterines Wachstum stellt einen Risikofaktor für Erkrankungen im Erwachsenenalter dar. IUGR ist dabei definiert als eine Schwangerschaft, bei welcher der Fetus sein genetisch determiniertes Wachstumspotential zu einem vorgegebenen Schwangerschaftsalter nicht erreicht hat, wohingegen „small for gestational age“ (SGA)- Neugeborene mehrheitlich

durch Wachstumsparameter unterhalb 10. Perzentile charakterisiert sind [68]. Da GLUT1 der Hauptglukosetransporter in der humanen Plazenta ist, wurde bei IUGR-Kindern lange Zeit ein gestörter transplazentarer Glukosetransport als pathophysiologischer Mechanismus angenommen. Allerdings konnte in der Vergangenheit durch mehrere Studien belegt werden, dass die Expression plazentarer Glukosetransporter unter diesen Bedingungen nicht beeinflusst zu werden scheint. Jansson und seine Arbeitsgruppe konnten wiederholt keine Unterschiede in der GLUT1-Expression und der vermittelten Glukoseaufnahme in Synzytiotrophoblasten zwischen intrauterin wachstumsretardierten Kindern unbekannter Ursache und einer Kontrollgruppe demonstrieren [38,39].

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass speziell GLUT1 und seine genetische Variabilität in Form des XbaI-Polymorphismus eine wesentliche Rolle spielen. Schaut man sich die Ergebnisse unter Berücksichtigung der beiden Abbildungen 10 und 12 an, so fällt auf, dass es sowohl bei Müttern als auch Kindern, die das A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters tragen, mit steigenden maternalen TGH-Werten zu einem Abfall des Geburtsgewichts kommt. Ursache der inversen Korrelationen könnte wiederum eine genetisch determinierte und zum Teil vererbte Insulinresistenz sein, an welcher der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters beteiligt ist. Die Pathogenese dieser möglichen genetisch determinierten Verknüpfung zwischen dem pränatalen Wachstum und der postnatalen Sensitivität für Insulin ist im Moment noch unklar. Um unsere Thesen zu untermauern und die genaue Rolle des XbaI-Polymorphismus in Bezug auf die neu entdeckten Korrelationen weiter zu erforschen, sind weitere Studien erforderlich.

Aufgrund der großen Anzahl an untersuchten Frauen und ihren Kindern können wir davon ausgehen, dass unsere Daten eine zuverlässige Abschätzung der Genotyp-Verteilung erlauben. Weiterhin macht die große Population unsere Studie weniger anfällig gegenüber unechten Assoziationen, welche versehentlich in kleineren Studien vorkommen können, besonders wenn der Einfluss des Gens gering ist. Es ist auch vorstellbar, dass in unterschiedlichen Populationen der Einfluss des GLUT1-Gens hinsichtlich der entdeckten Assoziationen verschieden ausfällt.

Da unsere Arbeitsgruppe als erste den oben genannten Einfluss erforschte, ist es uns nicht möglich, unsere Daten mit denen anderer Arbeitsgruppen zu vergleichen. Aller-

dings geht aus früheren Studien hervor, dass große populationsbezogene Unterschiede in der Verteilung der GLUT1-Genotypen existieren und auch das Risiko für einen Diabetes mellitus oder eine diabetische Nephropathie in verschiedenen Populationen durch GLUT1 unterschiedlich ausfällt, so dass auch bezogen auf unsere Ergebnisse populationsbedingte Unterschiede existieren können [54].

5 Zusammenfassung

Herz-Kreislaufkrankungen stellen nach wie vor in der industrialisierten Welt die Haupttodesursache dar. Heute weiß man anhand epidemiologischer Studien, dass auch ein niedriges Geburtsgewicht ein Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit im Erwachsenenalter darstellt. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass Genmutationen bei der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen eine entscheidende Rolle spielen. Während David Barker mit seiner fetalen Ursprungshypothese postuliert, dass durch epigenetische Faktoren eine Adaptation fetaler Organe und Gewebe hervorgerufen wird, welche im Erwachsenenalter zu einer erhöhten Sterblichkeit an kardiovaskulären Erkrankungen führt, stellt die fetale Insulinhypothese durch Hattersley und Tooke einen alternativen Erklärungsansatz dar. Sie sehen sowohl in einem geringen Geburtsgewicht als auch in einem Diabetes mellitus bzw. einer KHK phänotypische Ausprägungen ein und desselben Genotyps. Dieser ist eine durch Mutation herbeigeführte Insulinresistenz. Das Ziel, welches wir mit dieser Arbeit verfolgten, war herauszufinden, ob sich der XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporters in Abhängigkeit vom Totalen Glykosylierten Hämoglobin (TGH) auf das Geburtsgewicht und damit das intrauterine Wachstum auswirkt und für die Entstehung einer genetisch determinierten Insulinresistenz verantwortlich sein kann. In der Vergangenheit wurde der XbaI-Polymorphismus bereits mehrfach mit der Entstehung einer pathologischen Glukosetoleranz und einem Diabetes mellitus in Zusammenhang gebracht. Der XbaI-Polymorphismus besteht aus zwei Allelen und ist auf dem zweiten Intron, ungefähr 4,5 kbp aufwärts des dritten Exons auf dem Chromosom 1p31.3-p35 des GLUT1-Gens lokalisiert. Dabei handelt es sich um eine Punktmutation, bei der in der mutanten Form ein Austausch von Guanin gegen Thymin stattfindet und dadurch die Schnittstelle aufgehoben wird. Der homozygote AA-Genotyp stellt die mutante Form dar. Wir führten dazu bei 1034 Mutter-Kind-Paaren eine Genotypisierung durch und bestimmten für alle Mütter und Kinder das Totale Glykosylierte Hämoglobin, welches ähnlich dem HbA_{1c} bei Erwachsenen die durchschnittliche Blutglukosekonzentration der letzten Wochen reflektiert. Die ebenfalls erhobenen phänotypischen Merkmale wurden in Bezug auf den Genotyp miteinander verglichen. Unsere Analysen ergaben, dass es interessanterweise bei Kindern, die das polymorphe A-Allel des GLUT1-Glukosetransporters tragen, zu einem hochsignifikanten Abfall des Geburtsgewichts mit steigenden fetalen TGH-

Werten kommt, während sich das Geburtsgewicht bei Neugeborenen mit homozygoten BB-Wildtyp nahezu unabhängig vom kindlichen Totalen Glykosylierten Hämoglobin darstellt. Fetales TGH stellt dabei einen Surrogat-Parameter für die fetale Glykämie dar und reflektiert hierbei unter Umständen eine bereits bestehende Insulinresistenz. Ursache für den hochsignifikanten Abfall des Geburtsgewichts mit steigenden fetalen TGH-Werten für das A-Allel des GLUT1-Transporters könnte eine bereits *in utero* bestehende verminderte Insulinsekretion und/oder Insulinresistenz sein. Unsere ermittelten Daten geben damit Hinweise, dass eine genetisch determinierte Verknüpfung zwischen dem pränatalen Wachstum und der postnatalen Sensitivität für Insulin existiert und bereits zum Zeitpunkt der Geburt nachweisbar ist, wobei dem XbaI-Polymorphismus des GLUT1-Glukosetransporter eine maßgebliche Rolle zuzukommen scheint. Um unsere Thesen zu untermauern und die genaue Rolle des XbaI-Polymorphismus in Bezug auf die neu entdeckten Korrelationen weiter zu erforschen, sind weitere Studien erforderlich.

6 Literaturverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt. Gesundheitsberichterstattung: Todesursachen 2007 für Deutschland, Wiesbaden 2007.
2. T. R. Dawber, G. F. Meadors, and F. E. Moore, Jr. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am.J.Public Health* 41 (3):279-281, 1951.
3. A. Forsdahl. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br.J.Prev.Soc.Med.* 31 (2):91-95, 1967.
4. D. J. Barker and C. Osmond. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1 (8489):1077-1081, 1986.
5. Osmond, D. J. Barker, P. D. Winter, C. H. Fall, and S. J. Simmonds. Early growth and death from cardiovascular disease in women. *BMJ* 307 (6918):1519-1524, 1993.
6. W. Rich-Edwards, M. J. Stampfer, J. E. Manson, B. Rosner, S. E. Hankinson, G. A. Colditz, W. C. Willett, and C. H. Hennekens. Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976. *BMJ* 315 (7105):396-400, 1997.
7. G. Gennser, P. Rymark, and P. E. Isberg. Low birth weight and risk of high blood pressure in adulthood. *Br.Med.J.(Clin.Res.Ed)* 296 (6635):1498-1500, 1988.
8. C. M. Law and A. W. Shiell. Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systematic review of the literature. *J.Hypertens.* 14 (8):935-941, 1996.
9. G. C. Curhan, W. C. Willett, E. B. Rimm, D. Spiegelman, A. L. Ascherio, and M. J. Stampfer. Birth weight and adult hypertension, diabetes mellitus, and obesity in US men. *Circulation* 94 (12):3246-3250, 1996.

10. G. C. Curhan, G. M. Chertow, W. C. Willett, D. Spiegelman, G. A. Colditz, J. E. Manson, F. E. Speizer, and M. J. Stampfer. Birth weight and adult hypertension and obesity in women. *Circulation* 94 (6):1310-1315, 1996.
11. N. Hales, D. J. Barker, P. M. Clark, L. J. Cox, C. Fall, C. Osmond, and P. D. Winter. Fetal and infant growth and impaired Glukose tolerance at age 64. *BMJ* 303 (6809):1019-1022, 1991.
12. H. O. Lithell, P. M. McKeigue, L. Berglund, R. Mohsen, U. B. Lithell, and D. A. Leon. Relation of size at birth to non-insulin dependent diabetes and insulin concentrations in men aged 50-60 years. *BMJ* 312 (7028):406-410, 1996.
13. S. C. Langley and A. A. Jackson. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin.Sci.(Lond)* 86 (2):217-222, 1994.
14. M. Widdowson and R. A. McCance. A review: new thoughts on growth. *Pediatr.Res.* 9 (3):154-156, 1975.
15. T. Hattersley and J. E. Tooke. The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet* 353 (9166):1789-1792, 1999.
16. J. Hill, J. Petrik, and E. Arany. Growth factors and the regulation of fetal growth. *Diabetes Care* 21 Suppl 2:B60-B69, 1998.
17. G. Farmer, G. Russell, D. R. Hamilton-Nicol, H. O. Ogenbede, I. S. Ross, D. W. Pearson, H. Thom, D. F. Kerridge, and H. W. Sutherland. The influence of maternal Glukose metabolism on fetal growth, development and morbidity in 917 singleton pregnancies in nondiabetic women. *Diabetologia* 31 (3):134-141, 1988.
18. M. C. Breschi, G. Seghieri, G. Bartolomei, A. Gironi, S. Baldi, and E. Ferrannini. Relation of birthweight to maternal plasma glucose and insulin concentrations during normal pregnancy. *Diabetologia* 36 (12):1315-1321, 1993.

19. T. Hattersley, F. Beards, E. Ballantyne, M. Appleton, R. Harvey, and S. Ellard. Mutations in the glucokinase gene of the fetus result in reduced birth weight. *Nat.Genet.* 19 (3):268-270, 1998.
20. A. Stoffers, N. T. Zinkin, V. Stanojevic, W. L. Clarke, and J. F. Habener. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nat.Genet.* 15 (1):106-110, 1997.
21. L. J. Elsas, F. Endo, E. Strumlauf, J. Elders, and J. H. Priest. Leprechaunism: an inherited defect in a high-affinity insulin receptor. *Am.J.Hum.Genet.* 37 (1):73-88, 1985.
22. N. Vaessen, J. A. Janssen, P. Heutink, A. Hofman, S. W. Lamberts, B. A. Oostra, H. A. Pols, and C. M. van Duijn. Association between genetic variation in the gene for insulin-like growth factor-I and low birthweight. *Lancet* 359 (9311):1036-1037, 2002.
23. E. M. Wright, D. D. Loo, M. Panayotova-Heiermann, M. P. Lostao, B. H. Hirayama, B. Mackenzie, K. Boorer, and G. Zampighi. 'Active' sugar transport in eukaryotes. *J.Exp.Biol.* 196:197-212, 1994.
24. M. Wright, D. D. Loo, M. Panayotova-Heiermann, M. P. Lostao, B. H. Hirayama, B. Mackenzie, K. Boorer, and G. Zampighi. 'Active' sugar transport in eukaryotes. *J.Exp.Biol.* 196:197-212, 1994.
25. Zhou, E. V. Cryan, M. R. D'Andrea, S. Belkowski, B. R. Conway, and K. T. Demarest. Human cardiomyocytes express high level of Na⁺/glucose cotransporter 1 (SGLT1). *J.Cell Biochem.* 90 (2):339-346, 2003.
26. G. W. Gould and G. D. Holman. The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem.J.* 295 (Pt 2):329-341, 1993.
27. H. G. Joost and B. Thorens. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol.Membr.Biol.* 18 (4):247-256, 2001.

28. M. Mueckler, C. Caruso, S. A. Baldwin, M. Panico, I. Blench, H. R. Morris, W. J. Allard, G. E. Lienhard, and H. F. Lodish. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 229 (4717):941-945, 1985.
29. R. C. Hresko, M. Kruse, M. Strube, and M. Mueckler. Topology of the Glut 1 glucose transporter deduced from glycosylation scanning mutagenesis. *J.Biol.Chem.* 269 (32):20482-20488, 1994.
30. T. Jones and T. P. Rolph. Metabolism during fetal life: a functional assessment of metabolic development. *Physiol Rev.* 65 (2):357-430, 1985.
31. M. Carstensen, H. P. Leichweiss, G. Molsen, and H. Schroder. Evidence for a specific transport of D-hexoses across the human term placenta in vitro. *Arch.Gynakol.* 222 (3):187-196, 1977.
32. W. W. Hay, Jr. Metabolic interrelationships of placenta and fetus. *Placenta* 16 (1):19-30, 1995.
33. H. Fukumoto, S. Seino, H. Imura, Y. Seino, and G. I. Bell. Characterization and expression of human HepG2/erythrocyte glucose-transporter gene. *Diabetes* 37 (5):657-661, 1988.
34. G. I. Bell, T. Kayano, J. B. Buse, C. F. Burant, J. Takeda, D. Lin, H. Fukumoto, and S. Seino. Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care* 13 (3):198-208, 1990.
35. T. Hahn, M. Hartmann, A. Blaschitz, G. Skofitsch, R. Graf, G. Dohr, and G. Desoye. Localisation of the high affinity facilitative glucose transporter protein GLUT 1 in the placenta of human, marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) and rat at different developmental stages. *Cell Tissue Res.* 280 (1):49-57, 1995.
36. N. P. Illsley. Glucose transporters in the human placenta. *Placenta* 21 (1):14-22, 2000.
37. T. Jansson and E. Persson. Placental transfer of glucose and amino acids in intrauterine growth retardation: studies with substrate analogs in the awake guinea pig. *Pediatr.Res.* 28 (3):203-208, 1990.

38. T. Jansson, M. Wennergren, and N. P. Illsley. Glucose transporter protein expression in human placenta throughout gestation and in intrauterine growth retardation. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 77 (6):1554-1562, 1993.
39. T. Jansson, K. Ylven, M. Wennergren, and T. L. Powell. Glucose transport and system A activity in syncytiotrophoblast microvillous and basal plasma membranes in intrauterine growth restriction. *Placenta* 23 (5):392-399, 2002.
40. T. B. Shows, R. L. Eddy, M. G. Byers, Y. Fukushima, C. R. Dehaven, J. C. Murray, and G. I. Bell. Polymorphic human glucose transporter gene (GLUT) is on chromosome 1p31.3---p35. *Diabetes* 36 (4):546-549, 1987.
41. Newman, J. V. Selby, M. C. King, C. Slemenda, R. Fabsitz, and G. D. Friedman. Concordance for type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in male twins. *Diabetologia* 30 (10):763-768, 1987.
42. S. R. Li, M. G. Baroni, R. S. Oelbaum, J. Stock, and D. J. Galton. Association of genetic variant of the glucose transporter with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 2 (8607):368-370, 1988.
43. S. R. Li, R. S. Oelbaum, P. M. Bouloux, J. Stocks, M. G. Baroni, and D. J. Galton. Restriction site polymorphisms at the human HepG2 glucose transporter gene locus in Caucasian and west Indian subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Hum.Hered.* 40 (1):38-44, 1990.
44. T. Tao, Y. Tanizawa, A. Matsutani, A. Matsubara, T. Kaneko, and K. Kaku. HepG2/erythrocyte glucose transporter (GLUT1) gene in NIDDM: a population association study and molecular scanning in Japanese subjects. *Diabetologia* 38 (8):942-947, 1995.
45. A. H. Barnett, C. Eff, R. D. Leslie, and D. A. Pyke. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* 20 (2):87-93, 1981.
46. J. C. Alcolado and M. G. Baroni. Restriction fragment length polymorphisms at the GLUT4 and GLUT1 gene loci in type 2 diabetes. *Diabet.Med.* 9 (1):58-60, 1992.

47. M. G. Baroni, R. S. Oelbaum, P. Pozzilli, J. Stocks, S. R. Li, V. Fiore, and D. J. Galton. Polymorphisms at the GLUT1 (HepG2) and GLUT4 (muscle/adipocyte) glucose transporter genes and non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Hum.Genet.* 88 (5):557-561, 1992.
48. M. G. Baroni, J. C. Alcolado, C. Gragnoli, A. M. Franciosi, M. G. Cavallo, V. Fiore, P. Pozzilli, and D. J. Galton. Affected sib-pair analysis of the GLUT1 glucose transporter gene locus in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM): evidence for no linkage. *Hum.Genet.* 93 (6):675-680, 1994.
49. E. Pontiroli, F. Capra, F. Veglia, M. Ferrari, K. S. Xiang, G. I. Bell, M. G. Baroni, D. J. Galton, J. U. Weaver, G. A. Hitman, P. G. Kopelman, V. Mohan, and M. Viswanathan. Genetic contribution of polymorphism of the GLUT1 and GLUT4 genes to the susceptibility to type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in different populations. *Acta Diabetol.* 33 (3):193-197, 1996.
50. N. J. Cox, K. S. Xiang, G. I. Bell, and J. H. Karam. Glucose transporter gene and non-insulin-dependent diabetes. *Lancet* 2 (8614):793-794, 1988.
51. K. Kaku, A. Matsutani, M. Mueckler, and M. A. Permutt. Polymorphisms of HepG2/erythrocyte glucose-transporter gene. Linkage relationships and implications for genetic analysis of NIDDM. *Diabetes* 39 (1):49-56, 1990.
52. R. C. Turner, A. T. Hattersley, J. T. Shaw, and J. C. Levy. Type II diabetes: clinical aspects of molecular biological studies. *Diabetes* 44 (1):1-10, 1995.
53. Z. H. Liu, T. J. Guan, Z. H. Chen, and L. S. Li. Glucose transporter (GLUT1) allele (XbaI-) associated with nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 55 (5):1843-1848, 1999.
54. A. D. Hodgkinson, B. A. Millward, and A. G. Demaine. Polymorphisms of the glucose transporter (GLUT1) gene are associated with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 59 (3):985-989, 2001.
55. Valderrabano, F. C. Berthoux, E. H. Jones, and O. Mehls. Report on management of renal failure in Europe, XXV, 1994 end stage renal disease and dialysis report. The EDTA-ERA Registry. European Dialysis and Transplant

- Association-European Renal Association. *Nephrol.Dial.Transplant.* 11 Suppl 1:2-21, 1996.
56. D. G. Fogarty and A. S. Krolewski. Genetic susceptibility and the role of hypertension in diabetic nephropathy. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.* 6 (2):184-191, 1997.
 57. Doria, J. H. Warram, and A. S. Krolewski. Genetic susceptibility to nephropathy in insulin-dependent diabetes: from epidemiology to molecular genetics. *Diabetes Metab Rev.* 11 (4):287-314, 1995.
 58. W. Grzeszczak, D. K. Moczulski, M. Zychma, E. Zukowska-Szczechowska, W. Trautsolt, and I. Szydłowska. Role of GLUT1 gene in susceptibility to diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Kidney Int.* 59 (2):631-636, 2001.
 59. Zintzaras and I. Stefanidis. Association between the GLUT1 gene polymorphism and the risk of diabetic nephropathy: a meta-analysis. *J.Hum.Genet.* 50 (2):84-91, 2005.
 60. Tarnow, N. Grarup, T. Hansen, H. H. Parving, and O. Pedersen. Diabetic microvascular complications are not associated with two polymorphisms in the GLUT-1 and PC-1 genes regulating glucose metabolism in Caucasian type 1 diabetic patients. *Nephrol.Dial.Transplant.* 16 (8):1653-1656, 2001.
 61. Gutierrez, J. Vendrell, R. Pastor, M. Broch, C. Aguilar, C. Llor, I. Simon, and C. Richart. GLUT1 gene polymorphism in non-insulin-dependent diabetes mellitus: genetic susceptibility relationship with cardiovascular risk factors and microangiopathic complications in a Mediterranean population. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 41 (2):113-120, 1998.
 62. P. Ng, L. Canani, S. Araki, A. Smiles, D. Moczulski, J. H. Warram, and A. S. Krolewski. Minor effect of GLUT1 polymorphisms on susceptibility to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 51 (7):2264-2269, 2002.
 63. R. Baur. Morphometry of the placental exchange area. *Adv.Anat.Embryol.Cell Biol.* 53 (1):3-65, 1977.

64. Teasdale. Gestational changes in the functional structure of the human placenta in relation to fetal growth: a morphometric study. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 137 (5):560-568, 1980.
65. K. Gaither, A. N. Quraishi, and N. P. Illsley. Diabetes alters the expression and activity of the human placental GLUT1 glucose transporter. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 84 (2):695-701, 1999.
66. D. L. Economides and K. H. Nicolaides. Blood glucose and oxygen tension levels in small-for-gestational-age fetuses. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 160 (2):385-389, 1989.
67. D. L. Economides, K. H. Nicolaides, and S. Campbell. Relation between maternal-to-fetal blood glucose gradient and uterine and umbilical Doppler blood flow measurements. *Br.J.Obstet.Gynaecol.* 97 (6):543-544, 1990.
68. P. Steer. The management of large and small for gestational age fetuses. *Semin.Perinatol.* 28 (1):59-66, 2004.
69. M. Marconi, C. Paolini, M. Buscaglia, G. Zerbe, F. C. Battaglia, and G. Pardi. The impact of gestational age and fetal growth on the maternal-fetal glucose concentration difference. *Obstet.Gynecol.* 87 (6):937-942, 1996.
70. U. Nicolini, C. Hubinont, J. Santolaya, N. M. Fisk, A. M. Coe, and C. H. Rodeck. Maternal-fetal glucose gradient in normal pregnancies and in pregnancies complicated by alloimmunization and fetal growth retardation. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 161 (4):924-927, 1989.
71. A. Kniss, P. J. Shubert, P. D. Zimmerman, M. B. Landon, and S. G. Gabbe. Insulinlike growth factors. Their regulation of glucose and amino acid transport in placental trophoblasts isolated from first-trimester chorionic villi. *J.Reprod.Med.* 39 (4):249-256, 1994.
72. M. C. Gordon, P. D. Zimmerman, M. B. Landon, S. G. Gabbe, and D. A. Kniss. Insulin and glucose modulate glucose transporter messenger ribonucleic acid expression and glucose uptake in trophoblasts isolated from first-trimester chorionic villi. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 173 (4):1089-1097, 1995.

73. W. W. Hay, Jr., C. S. Catz, G. D. Grave, and S. J. Yaffe. Workshop summary: fetal growth: its regulation and disorders. *Pediatrics* 99 (4):585-591, 1997.
74. D. E. Challis, C. D. Pfarrer, J. W. Ritchie, G. Koren, and S. L. Adamson. Glucose metabolism is elevated and vascular resistance and maternofetal transfer is normal in perfused placental cotyledons from severely growth-restricted fetuses. *Pediatr.Res.* 47 (3):309-315, 2000.
75. L. Magnusson, T. Powell, M. Wennergren, and T. Jansson. Glucose metabolism in the human preterm and term placenta of IUGR fetuses. *Placenta* 25 (4):337-346, 2004.
76. C. M. Law, D. J. Barker, C. Osmond, C. H. Fall, and S. J. Simmonds. Early growth and abdominal fatness in adult life. *J.Epidemiol.Community Health* 46 (3):184-186, 1992.
77. R. Valdez, M. A. Athens, G. H. Thompson, B. S. Bradshaw, and M. P. Stern. Birthweight and adult health outcomes in a biethnic population in the USA. *Diabetologia* 37 (6):624-631, 1994.
78. M. Barker, S. Robinson, C. Osmond, and D. J. Barker. Birth weight and body fat distribution in adolescent girls. *Arch.Dis.Child* 77 (5):381-383, 1997.
79. D. J. Barker, C. N. Hales, C. H. Fall, C. Osmond, K. Phipps, and P. M. Clark. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 36 (1):62-67, 1993.
80. S. Frankel, P. Elwood, P. Sweetnam, J. Yarnell, and G. D. Smith. Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary heart disease. *Lancet* 348 (9040):1478-1480, 1996.
81. E. Stein, C. H. Fall, K. Kumaran, C. Osmond, V. Cox, and D. J. Barker. Fetal growth and coronary heart disease in south India. *Lancet* 348 (9037):1269-1273, 1996.

82. S. C. Langley, R. F. Browne, and A. A. Jackson. Altered glucose tolerance in rats exposed to maternal low protein diets in utero. *Comp Biochem.Physiol Physiol* 109 (2):223-229, 1994.
83. K. L. Kind, G. Simonetta, P. M. Clifton, J. S. Robinson, and J. A. Owens. Effect of maternal feed restriction on blood pressure in the adult guinea pig. *Exp.Physiol* 87 (4):469-477, 2002
84. K. L. Kind, P. M. Clifton, P. A. Grant, P. C. Owens, A. Sohlstrom, C. T. Roberts, J. S. Robinson, and J. A. Owens. Effect of maternal feed restriction during pregnancy on glucose tolerance in the adult guinea pig. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* 284 (1):R140-R152, 2003.
85. G. S. Gopalakrishnan, D. S. Gardner, S. M. Rhind, M. T. Rae, C. E. Kyle, A. N. Brooks, R. M. Walker, M. M. Ramsay, D. H. Keisler, T. Stephenson, and M. E. Symonds. Programming of adult cardiovascular function after early maternal
86. A. Lucas. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. *Arch.Dis.Child* 71 (4):288-290, 1994.
87. D. J. Barker. In utero programming of chronic disease. *Clin.Sci.(Lond)* 95 (2):115-128, 1998.
88. D. J. Barker. The fetal and infant origins of disease. *Eur.J.Clin.Invest* 25 (7):457-463, 1995.
89. W. L. Hellerstedt, J. H. Himes, M. Story, I. R. Alton, and L. E. Edwards. The effects of cigarette smoking and gestational weight change on birth outcomes in obese and normal-weight women. *Am.J.Public Health* 87 (4):591-596, 1997.
90. X. Wang, I. B. Tager, H. Van Vunakis, F. E. Speizer, and J. P. Hanrahan. Maternal smoking during pregnancy, urine cotinine concentrations, and birth outcomes. A prospective cohort study. *Int.J.Epidemiol.* 26 (5):978-988, 1997.
91. P. Magnus. Causes of variation in birth weight: a study of offspring of twins. *Clin.Genet.* 25 (1):15-24, 1984.

92. N. Hales and D. J. Barker. The thrifty phenotype hypothesis. *Br.Med.Bull.* 60:5-20, 2001
93. B. Hocher, T. Slowinski, C. Bauer, and H. Halle. The advanced fetal programming hypothesis. *Nephrol.Dial.Transplant.* 16 (6):1298-1299, 2001.
94. A. Carruthers. Facilitated diffusion of glucose. *Physiol Rev.* 70 (4):1135-1176, 1990.
95. Koupilova, D. A. Leon, H. O. Lithell, and L. Berglund. Size at birth and hypertension in longitudinally followed 50-70-year-old men. *Blood Press* 6 (4):223-228, 1997.
96. P. M. Nilsson, P. O. Ostergren, P. Nyberg, M. Soderstrom, and P. Allebeck. Low birth weight is associated with elevated systolic blood pressure in adolescence: a prospective study of a birth cohort of 149378 Swedish boys. *J.Hypertens.* 15 (12 Pt 2):1627-1631, 1997.
97. C. D. Naylor, M. Sermer, E. Chen, and K. Sykora. Cesarean delivery in relation to birth weight and gestational glucose tolerance: pathophysiology or practice style? Toronto Trihospital Gestational Diabetes Investigators. *JAMA* 275 (15):1165-1170, 1996.
98. A. Diez-Sampedro, B. A. Hirayama, C. Osswald, V. Gorboulev, K. Baumgarten, C. Volk, E. M. Wright, and H. Koepsell. A glucose sensor hiding in a family of transporters. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 100 (20):11753-11758, 2003.
99. M. A. Hediger, E. Turk, and E. M. Wright. Homology of the human intestinal Na⁺/glucose and *Escherichia coli* Na⁺/proline cotransporters. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 86 (15):5748-5752, 1989.
100. H. Jung. Topology and function of the Na⁺/proline transporter of *Escherichia coli*, a member of the Na⁺/solute cotransporter family. *Biochim.Biophys.Acta* 1365 (1-2):60-64, 1998.

101. C. T. Kong, S. F. Yet, and J. E. Lever. Cloning and expression of a mammalian Na⁺/amino acid cotransporter with sequence similarity to Na⁺/glucose cotransporters. *J.Biol.Chem.* 268 (3):1509-1512, 1993.
102. P. A. Smanik, Q. Liu, T. L. Furminger, K. Ryu, S. Xing, E. L. Mazzaferri, and S. M. Jhiang. Cloning of the human sodium iodide symporter. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 226 (2):339-345, 1996.
103. Turk and E. M. Wright. Membrane topology motifs in the SGLT cotransporter family. *J.Membr.Biol.* 159 (1):1-20, 1997.
104. C. Wegener, S. Tebbe, H. J. Steinhoff, and H. Jung. Spin labeling analysis of structure and dynamics of the Na(+)/proline transporter of Escherichia coli. *Biochemistry* 39 (16):4831-4837, 2000.
105. R. G. Wells, T. K. Mohandas, and M. A. Hediger. Localization of the Na⁺/glucose cotransporter gene SGLT2 to human chromosome 16 close to the centromere. *Genomics* 17 (3):787-789, 1993.
106. E. A. Newsholme, A. R. Leech. Biochemistry of medical sciences, John Wiley and Sons, Chichester, 1985
107. S. A. Baldwin. Mammalian passive glucose transporters: members of an ubiquitous family of active and passive transport proteins. *Biochim.Biophys.Acta* 1154 (1):17-49, 1993.
108. M. Ibberson, M. Uldry, and B. Thorens. GLUTX1, a novel mammalian glucose transporter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues. *J.Biol.Chem.* 275 (7):4607-4612, 2000.
109. G. K. Brown. Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency. *J.Inherit.Metab Dis.* 23 (3):237-246, 2000.
110. M. O. Carayannopoulos, M. M. Chi, Y. Cui, J. M. Pingsterhaus, R. A. McKnight, M. Mueckler, S. U. Devaskar, and K. H. Moley. GLUT8 is a glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose uptake in the blastocyst. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 97 (13):7313-7318, 2000.

111. H. Doege, A. Bocianski, H. G. Joost, and A. Schurmann. Activity and genomic organization of human glucose transporter 9 (GLUT9), a novel member of the family of sugar-transport facilitators predominantly expressed in brain and leucocytes. *Biochem.J.* 350 Pt 3:771-776, 2000.
112. H. Doege, A. Bocianski, A. Scheepers, H. Axer, J. Eckel, H. G. Joost, and A. Schurmann. Characterization of human glucose transporter (GLUT) 11 (encoded by SLC2A11), a novel sugar-transport facilitator specifically expressed in heart and skeletal muscle. *Biochem.J.* 359 (Pt 2):443-449, 2001.
113. H. Fukumoto, T. Kayano, J. B. Buse, Y. Edwards, P. F. Pilch, G. I. Bell, and S. Seino. Cloning and characterization of the major insulin-responsive glucose transporter expressed in human skeletal muscle and other insulin-responsive tissues. *J.Biol.Chem.* 264 (14):7776-7779, 1989.
114. T. Kayano, H. Fukumoto, R. L. Eddy, Y. S. Fan, M. G. Byers, T. B. Shows, and G. I. Bell. Evidence for a family of human glucose transporter-like proteins. Sequence and gene localization of a protein expressed in fetal skeletal muscle and other tissues. *J.Biol.Chem.* 263 (30):15245-15248, 1988.
115. T. Kayano, C. F. Burant, H. Fukumoto, G. W. Gould, Y. S. Fan, R. L. Eddy, M. G. Byers, T. B. Shows, S. Seino, and G. I. Bell. Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6). *J.Biol.Chem.* 265 (22):13276-13282, 1990.
116. J. McVie-Wylie, D. R. Lamson, and Y. T. Chen. Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10 (GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM susceptibility. *Genomics* 72 (1):113-117, 2001.
117. M. Mueckler. Facilitative glucose transporters. *Eur.J.Biochem.* 219 (3):713-725, 1994.

118. J. E. Phay, H. B. Hussain, and J. F. Moley. Cloning and expression analysis of a novel member of the facilitative glucose transporter family, SLC2A9 (GLUT9). *Genomics* 66 (2):217-220, 2000.
119. S. Rogers, D.E. James, and J.D. Best. Identification of a novel facilitative transporter like protein-GLUT8. *Diabetes* 47, *Suppl1*: A45.
120. M. Uldry, M. Ibberson, J. D. Horisberger, J. Y. Chatton, B. M. Riederer, and B. Thorens. Identification of a mammalian H(+)-myo-inositol symporter expressed predominantly in the brain. *EMBO J.* 20 (16):4467-4477, 2001.
121. B. Hocher, T. Slowinski, T. Stolze, A. Pleschka, H. H. Neumayer, and H. Halle. Association of maternal G protein beta3 subunit 825T allele with low birthweight. *Lancet* 355 (9211):1241-1242, 2000.
122. Masuda, H. Osada, Y. Iitsuka, K. Seki, and S. Sekiya. Positive association of maternal G protein beta3 subunit 825T allele with reduced head circumference at birth. *Pediatr.Res.* 52 (5):687-691, 2002.
123. S. Yajnik, C. H. Fall, U. Vaidya, A. N. Pandit, A. Bavdekar, D. S. Bhat, C. Osmond, C. N. Hales, and D. J. Barker. Fetal growth and glucose and insulin metabolism in four-year-old Indian children. *Diabet.Med.* 12 (4):330-336, 1995.
124. T. Pfab, T. Slowinski, M. Godes, H. Halle, F. Priem, and B. Hocher. Low birth weight, a risk factor for cardiovascular diseases in later life, is already associated with elevated fetal glycosylated hemoglobin at birth. *Circulation* 114 (16):1687-1692, 2006.
125. H. Fukumoto, S. Seino, H. Imura, Y. Seino, R. L. Eddy, Y. Fukushima, M. G. Byers, T. B. Shows, and G. I. Bell. Sequence, tissue distribution, and chromosomal localization of mRNA encoding a human glucose transporter-like protein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 85 (15):5434-5438, 1988.
126. C. Cheeseman. GLUT7: a new intestinal facilitated hexose transporter. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab* 295 (2):E238-E241, 2008.

127. Q. Li, A. Manolescu, M. Ritzel, S. Yao, M. Slugoski, J. D. Young, X. Z. Chen, and C. I. Cheeseman. Cloning and functional characterization of the human GLUT7 isoform SLC2A7 from the small intestine. *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol* 287 (1):G236-G242, 2004.
128. X. Wu and H. H. Freeze. GLUT14, a duplicon of GLUT3, is specifically expressed in testis as alternative splice forms. *Genomics* 80 (6):553-557, 2002.
129. J. Z. Zhang, A. Behrooz, and F. Ismail-Beigi. Regulation of glucose transport by hypoxia. *Am.J.Kidney Dis.* 34 (1):189-202, 1999.
130. Makni, F. Mnif, M. Boudawara, N. Hamza, N. Rekik, M. Abid, A. Rebai, F. Jaraya, C. Granier, and H. Ayadi. Association of glucose transporter 1 polymorphisms with type 2 diabetes in the Tunisian population. *Diabetes Metab Res.Rev.* 24 (7):544-548, 2008.
131. P. M. Catalano and J. P. Kirwan. Maternal factors that determine neonatal size and body fat. *Curr.Diab.Rep.* 1 (1):71-77, 2001.
132. T. D. Abell, L. C. Baker, and C. N. Ramsey, Jr. The effects of maternal smoking on infant birth weight. *Fam.Med.* 23 (2):103-107, 1991.
133. H. C. Miller and K. Hassanein. Maternal smoking and fetal growth of full term infants. *Pediatr.Res.* 8 (12):960-963, 1974.
134. S. L. Goldman and T. Hirata. Attenuated response to insulin in very low birthweight infants. *Pediatr.Res.* 14 (1):50-53, 1980.
135. Pollak, R. M. Cowett, R. Schwartz, and W. Oh. Glucose disposal in low-birth-weight infants during steady-state hyperglycemia: effects of exogenous insulin administration. *Pediatrics* 61 (4):546-549, 1978.
136. P. L. Hofman, W. S. Cutfield, E. M. Robinson, R. N. Bergman, R. K. Menon, M. A. Sperling, and P. D. Gluckman. Insulin resistance in short children with intrauterine growth retardation. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 82 (2):402-406, 1997.
137. D. J. Barker and S. P. Bagby. Developmental antecedents of cardiovascular disease: a historical perspective. *J.Am.Soc.Nephrol.* 16 (9):2537-2544, 2005.

138. Zorzano, W. Wilkinson, N. Kotliar, G. Thoidis, B. E. Wadzinski, A. E. Ruoho, and P. F. Pilch. Insulin-regulated glucose uptake in rat adipocytes is mediated by two transporter isoforms present in at least two vesicle populations. *J.Biol.Chem.* 264 (21):12358-12363, 1989.
139. G. W. Gould, V. Derechin, D. E. James, K. Tordjman, S. Ahern, E. M. Gibbs, G. E. Lienhard, and M. Mueckler. Insulin-stimulated translocation of the HepG2/erythrocyte-type glucose transporter expressed in 3T3-L1 adipocytes. *J.Biol.Chem.* 264 (4):2180-2184, 1989.
140. D. B. Thompson, R. C. Janssen, V. M. Ossowski, M. Prochazka, W. C. Knowler, and C. Bogardus. Evidence for linkage between a region on chromosome 1p and the acute insulin response in Pima Indians. *Diabetes* 44 (4):478-481, 1995.
141. R. F. Kletzien, S. D. Clarke, and R. G. Ulrich. Enhancement of adipocyte differentiation by an insulin-sensitizing agent. *Mol.Pharmacol.* 41 (2):393-398, 1992.
142. P. Tontonoz, E. Hu, and B. M. Spiegelman. Regulation of adipocyte gene expression and differentiation by peroxisome proliferator activated receptor gamma. *Curr.Opin.Genet.Dev.* 5 (5):571-576, 1995.
143. S. E. Borst and G. J. Bagby. Neutralization of tumor necrosis factor reverses age-induced impairment of insulin responsiveness in skeletal muscle of Sprague-Dawley rats. *Metabolism* 51 (8):1061-1064, 2002.
144. R. Saltiel and J. M. Olefsky. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes* 45 (12):1661-1669, 1996.
145. J. J. Nolan, B. Ludvik, P. Beerdsen, M. Joyce, and J. Olefsky. Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N.Engl.J.Med.* 331 (18):1188-1193, 1994.
146. T. P. Ciaraldi, K. Huber-Knudsen, M. Hickman, and J. M. Olefsky. Regulation of glucose transport in cultured muscle cells by novel hypoglycemic agents. *Metabolism* 44 (8):976-981, 1995.

147. S. Park, T. P. Ciaraldi, L. Abrams-Carter, S. Mudaliar, S. E. Nikoulina, and R. R. Henry. Troglitazone regulation of glucose metabolism in human skeletal muscle cultures from obese type II diabetic subjects. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 83 (5):1636-1643, 1998.
148. M. Bahr, M. Spelleken, M. Bock, M. von Holtey, R. Kiehn, and J. Eckel. Acute and chronic effects of troglitazone (CS-045) on isolated rat ventricular cardiomyocytes. *Diabetologia* 39 (7):766-774, 1996.
149. M. el Kebbi, S. Roser, and R. J. Pollet. Regulation of glucose transport by pioglitazone in cultured muscle cells. *Metabolism* 43 (8):953-958, 1994.
150. D. Kramer, R. Shapiro, A. Adler, E. Bush, and C. M. Rondinone. Insulin-sensitizing effect of rosiglitazone (BRL-49653) by regulation of glucose transporters in muscle and fat of Zucker rats. *Metabolism* 50 (11):1294-1300, 2001.
151. B. A. Marshall, P. A. Hansen, N. J. Ensor, M. A. Ogden, and M. Mueckler. GLUT-1 or GLUT-4 transgenes in obese mice improve glucose tolerance but do not prevent insulin resistance. *Am.J.Physiol* 276 (2 Pt 1):E390-E400, 1999.
152. N. Kubota, Y. Terauchi, H. Miki, H. Tamemoto, T. Yamauchi, K. Komeda, S. Satoh, R. Nakano, C. Ishii, T. Sugiyama, K. Eto, Y. Tsubamoto, A. Okuno, K. Murakami, H. Sekihara, G. Hasegawa, M. Naito, Y. Toyoshima, S. Tanaka, K. Shiota, T. Kitamura, T. Fujita, O. Ezaki, S. Aizawa, T. Kadowaki, and . PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol.Cell* 4 (4):597-609, 1999.
153. B. Desvergne and W. Wahli. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr.Rev.* 20 (5):649-688, 1999
154. C. K. Glass and M. G. Rosenfeld. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes Dev.* 14 (2):121-141, 2000
155. Ericsson, B. Hamark, N. Jansson, B. R. Johansson, T. L. Powell, and T. Jansson. Hormonal regulation of glucose and system A amino acid transport in first

trimester placental villous fragments. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol*
288 (3):R656-R662, 2005.

7 Abkürzungsverzeichnis

α	alpha
β	beta
γ	gamma
A	Adenin
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
BM	Basalmembran
BMI	Body Mass Index
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
C	Cytosin
CTP	Cytidintriphosphat
d	Tag
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
g	Gramm
G	Guanin
G-Protein	guaninnukleotidbindendes Protein

GTP	Guanosintriphosphat
GNB3	Gen, das die beta3 Untereinheit des G-Proteins kodiert
HbA1c	stabiles Addukt von D-Glukose am N-terminalen Ende der β -Kette des Hämoglobin-A-Moleküls
IGF-I	Insulin-like growth factor 1
IUGR	Intrauterine Wachstumsretardierung
kbp	kilo Basenpaare
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
M	Mol
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
mmHg	Millimeter Quecksilber
mod.	modifiziert
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
MVM	Mikrovillöse Membran
NIDDM	Nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus Typ II
PCR	Polymerasekettenreaktion
PPAR	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	revolutions per minute = Umdrehungen pro Minute

SGA	small for gestational age
SGLT	Natrium-abhängige Carriersysteme
SLC2	Natrium-unabhängige Carriersysteme bzw. GLUT-Transporter
SLC	Solute carrier gene series
SSW	Schwangerschaftswoche
s.o.	siehe oben
T	Thymin
Tab.	Tabelle
TNF	Tumornekrosefaktor
TTP	Thymidintriphosphat
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

8 Tabellarischer Lebenslauf

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

Dresden, 20.08.2009

Dirk Heimerl

9 Erklärung

Hiermit bestätige ich, Dirk Heimerl, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Bedeutung des XbaI – Polymorphismus des GLUT1 – Glukosetransporters für das fetale Wachstum und den Glukosestoffwechsel“ selbst und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst habe. Sie stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 20.08.2009

Dirk Heimerl

10 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Berthold Hocher für die Betreuung meiner Dissertation und die Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit.

Herrn Dr. med. Markus Alter und Herrn Dr. med. Micha Godes danke ich für ihr Interesse, die zahlreichen Korrekturvorschläge sowie für die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Bei Frau Christine Poralla, Katrin Krause und Jenny Reichelt möchte ich mich für die Unterstützung beim mühevollen Sammeln der Blutproben und bei der aufwendigen Datenerhebung bedanken.

Ich bedanke mich auch bei Frau Norma Schulz, die mir sehr geduldig die technischen Verfahren und hygienischen Maßnahmen erläutert hat.

Ein großes Dankeschön ist meiner Freundin Maria Nowack gewidmet, die mir immer verständnis- und liebevoll zur Seite gestanden hat, mich bei der Anfertigung dieser Arbeit mit Interesse und Anteilnahme begleitete und immer unterstützte.

Mein besonderer Dank gilt meinen wundervollen Eltern, die mich in jeglicher Hinsicht unterstützt und gefördert haben. Sie haben mir durch ihre Liebe und ihren Glauben an mich, die nötige Kraft gegeben. Ihnen möchte ich diese Arbeit widmen.