

Aus dem Center for Cardiovascular Research
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Das fetale Geschlecht und häufige Polymorphismen
maternaler kardiovaskulärer Suszeptibilitätsgene
(Progesteronrezeptor PROGINs, PPAR γ 2 Pro12Ala, ACE I/D)
haben in Interaktion einen Einfluss auf die maternale
Glykämiekontrolle während der Schwangerschaft.“

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ludwig Schlemm

aus Halle (Saale)

Gutachter: 1. Prof. Dr. B. Hoher
2. Prof. Dr. J.-P. Stasch
3. Prof. Dr. N. Hübner

Datum der Promotion: 30. November 2012

INHALTSVERZEICHNIS

1. Zusammenfassung	1
1.1. Abstract.....	1
1.2. Einleitung und Zielstellung.....	2
1.3. Methodik.....	3
1.4. Ergebnisse.....	6
1.5. Diskussion.....	10
1.6. Abstracts weiterer, thematisch verwandter eigener Arbeiten	13
1.7. Literaturverzeichnis	15
2. Anteilserklärung	17
3. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen	19
3.1. Disproportional intrauterine growth retardation and early life insulin resistance	
3.2. ACE I/D polymorphism and glycemic control during pregnancy.....	
3.3. New evidence for the fetal insulin hypothesis	
3.4. Fetal sex and maternal glycemic control (PPAR γ 2 Pro12Ala)	
3.5. Fetal sex, maternal PROGINS polymorphism, and maternal physiology	
4. Lebenslauf	20
5. Vollständige Publikationsliste	21
6. Selbständigkeitserklärung	22
7. Danksagung	23

1. Zusammenfassung

1.1 Abstract

Das fetale Geschlecht und häufige Polymorphismen maternaler kardiovaskulärer Suszeptibilitätsgene (Progesteronrezeptor PROGINS, PPAR γ 2 Pro12Ala, ACE I/D) haben in Interaktion einen Einfluss auf die maternale Glykämiekontrolle während der Schwangerschaft.

LUDWIG SCHLEMM

HINTERGRUND/ZIEL Seit wenigen Jahren ist bekannt, dass kindliche Gene und/oder das kindliche Geschlecht die mütterliche Physiologie während der Schwangerschaft beeinflussen können. Es ist nicht klar, ob dieser Effekt von einer genetischen Prädisposition auf maternaler Seite abhängt. Wir gingen der Frage nach, ob häufige genetische Polymorphismen im mütterlichen Genom und/oder das Geschlecht des Kindes die Glykämiekontrolle, die Häufigkeit von Bluthochdruck während der Schwangerschaft sowie neu auftretender Ödeme und Proteinurie der Mutter während der Schwangerschaft allein oder in Interaktion beeinflussen.

METHODEN Zweitausendneunundachtzig (2089) Frauen europäischer Abstammung ohne vorbestehenden Diabetes mellitus oder Bluthochdruck mit Einlingsschwangerschaften, die im Zeitraum von September 2000 – September 2002 in der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe der Charité Universitätsmedizin Berlin entbanden, wurden in die Studie eingeschlossen und bezüglich Polymorphismen in den Genen des Progesteronrezeptors (PROGINS), PPAR γ 2 (Pro12Ala) sowie ACE (I/D) typisiert. Die Glykämiekontrolle wurde anhand des totalen maternalen glykierten Hämoglobins (TGH) zum Zeitpunkt der Entbindung beurteilt. Bei der statistischen Auswertung kamen Verfahren zur Korrektur von Störfaktoren (*confounding factors*) und multiplem Testen zum Einsatz.

ERGEBNISSE Weder das Geschlecht des Kindes, noch die jeweiligen genetischen Polymorphismen allein hatten einen signifikanten Einfluss auf die maternale Physiologie, es zeigten sich jedoch statistisch signifikante Interaktionen beider Faktoren. PROGINS-A homozygote Mütter mit einem männlichen Kind wiesen einen signifikant niedrigeren systolischen und diastolischen Blutdruck im ersten Trimester sowie signifikant höhere TGH-Werte bei Entbindung auf als Mütter mit dem gleichen Genotyp, welche Mädchen gebären. Ein analoger Effekt in Bezug auf die Glykämiekontrolle fand sich für den ACE-I/D Polymorphismus bei D-homozygoten Frauen. Signifikant erhöhte TGH-Werte hatten auch Töchter gebärende Mütter mit dem PPAR γ 2 GG Genotyp, im Vergleich mit ebenfalls Töchter gebärenden Trägerinnen des CG oder CC Genotyps. Wir fanden keine Interaktion zwischen Geschlecht des Kindes und maternalem Genotyp mit Bezug auf neu auftretende Ödeme oder Proteinurie.

ZUSAMMENFASSUNG Der Einfluss des kindlichen Geschlechts auf die maternale Physiologie in Form der Glykämiekontrolle während der Schwangerschaft wird von den untersuchten Polymorphismen im maternalen Genom moduliert.

1.2 Einleitung und Zielstellung

Es konnte in der Vergangenheit in verschiedenen unabhängigen Studien in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen gezeigt werden, dass das mütterliche Genom das fetale Wachstum unabhängig vom kindlichen Genotyp beeinflusst.¹⁻⁴ Durch Beobachtung des Schwangerschaftsverlaufs von Müttern, die Kinder mit der seltenen Erbkrankheit Morbus Beckwith–Wiedemann zur Welt brachten, konnte gezeigt werden, dass das kindliche Genom auch einen Einfluss auf die mütterliche Physiologie während der Schwangerschaft ausübt. Frauen, die mit einem Ungeborenen mit diesem Syndrom schwanger sind, haben in der betroffenen Schwangerschaft ein mehr als doppelt so hohes Risiko für schwangerschaftsinduzierten Bluthochdruck und Glukosetoleranzstörungen als in Schwangerschaften mit gesunden Kindern.⁵ Dieser Einfluss des kindlichen Genoms ließ sich später auch für HLA-Polymorphismen und das Geschlecht des Kindes nachweisen, wobei in den vorliegenden Studien insbesondere ein Effekt auf Parameter des mütterlichen Glukosestoffwechsels festgestellt werden konnte.^{6,7} Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das aus der Bakteriologie und Virologie stammende Konzept, dass Gene eines Organismus die Physiologie eines anderen Organismus beeinflussen können,^{8,9} während der Schwangerschaft auch für den Menschen Gültigkeit besitzen könnte. Als Schnittstelle zwischen den beiden beteiligten Individuen dient dabei die Plazenta, welche durch den Nährstofftransport zum Feten, den Abtransport fetaler Stoffwechselprodukte und die Freisetzung plazentarer Hormone in den mütterlichen Kreislauf eine essentielle Funktion während der Schwangerschaft einnimmt.¹⁰

Verschiedene genetische Varianten konnten reproduzierbar mit der Auftrittswahrscheinlichkeit von Diabetes mellitus Typ 2 und erhöhter Insulinresistenz bei Erwachsenen in Verbindung gebracht werden. Dazu zählen der Pro12Ala-Polymorphismus im Gen des Proteins *Peroxisome Proliferator activated Receptor gamma 2* (PPAR γ 2)¹¹⁻¹³ und der Insertions-/Deletions-Polymorphismus im Gen des *Angiotensin Converting Enzymes* (ACE).¹⁴ PPAR γ 2 ist ein Mitglied der nuklearen Hormonrezeptorfamilie, die an der Regulation von Genexpression und der Differenzierung von Adipozyten beteiligt ist. Funktionelle Analysen haben gezeigt, dass die Substitution C \rightarrow G in Codon 12 des Exons B (Pro12Ala) zu einer reduzierten transkriptionellen Aktivität von PPAR γ 2 führt.¹¹ Die Beziehung zwischen dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), in das ACE funktionell eingebunden ist, und Insulinresistenz ist gut charakterisiert.¹⁴ Der ACE-I/D-Polymorphismus ist mit einer klinisch relevanten Erhöhung des ACE-Plasmaspiegels assoziiert,¹⁵ und Patienten unter antihypertensiver Therapie mit ACE-Inhibitoren oder AT1-Rezeptor-Blockern zeigen verbesserte Insulinsensitivität, sowie eine geringere Inzidenz von neu auftretendem Diabetes mellitus.¹⁶⁻¹⁸ Der PROGINS Progesteronrezeptor-Polymorphismus verursacht eine verminderte Aktivität des Progesteronrezeptors.¹⁹ Weibliche, nicht jedoch männliche Progesteronrezeptor-Knock-Out-Mäuse zeigen verstärkte Proliferation von Beta-Zellen des Pankreas, erniedrigte Nüchternglukosewerte und erhöhte Insulinspiegel nach Glukoseinjektion.²⁰

Das Y-Chromosom enthält ca. 300 Gene und reguliert die Expression vieler weiterer Gene. Wir untersuchten in bisher drei Studien die Frage, ob das Geschlecht des Kindes den Glukosemetabolismus der Mutter beeinflusst und ob dabei eine Interaktion mit maternalen Suszeptibilitätsgenen von Bedeutung ist.

1.3 Methodik

Studienpopulation

Alle Frauen europäischer Abstammung ohne vorbestehenden Diabetes oder Bluthochdruck mit Einlingsschwangerschaften, die im Zeitraum von September 2000 bis September 2002 in der Abteilung für Geburtshilfe der Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte entbanden, wurden eingeladen, an der Studie teilzunehmen. Ausgeschlossen wurden Mutter-Kind-Paare mit Hinweisen auf einen intersexuellen Phänotyp des Neugeborenen bei Geburt. Nach ausführlicher Aufklärung stimmten 95,1% der verbleibenden Frauen einer Teilnahme an unsere Studie schriftlich zu. Es konnten schließlich 2089 Mutter-Kind-Paare in unsere Studie eingeschlossen werden. Davon wurden alle für den PROGINS-Polymorphismus und 2014 für den PPAR γ 2-Polymorphismus genotypisiert. Für den ACE-I/D-Polymorphismus wurden anschließend aufgrund der höheren Allelfrequenz des selteneren Allels nach einer Poweranalyse (Effektgröße ρ : 0,5; Power (1 - β): 0,95, Fehler 1. Ordnung α : 0,05) nur die ersten 1332 Fälle genotypisiert. Mit Hilfe einer strukturierten Anamnese und Daten aus dem Mutterpass wurden folgende Informationen in unsere Datenbank übernommen: Alter, Körpergröße, Körpergewicht vor der Schwangerschaft; Gravität, Parität; Gestationsalter zum Zeitpunkt der Entbindung; Urinstreifentest-Ergebnisse, klinische Evaluation von Ödemen und Blutdruckmesswerte aller Untersuchungen während der Schwangerschaft. Anhand der Blutdruckmesswerte (6 – 23 Messwerte, je nach Anzahl der Untersuchungen) wurden der mittlere systolische und diastolische Blutdruck für jedes Trimester berechnet. Biometrische Daten der Neugeborenen wurden routinemäßig bei der Entbindung erhoben. Neu auftretende Proteinurie in der zweiten Schwangerschaftshälfte wurde definiert als mindestens zwei unabhängige für Protein positive Urinstreifentests ohne Anzeichen einer Infektion (Blut, Nitrat) während der zweiten Schwangerschaftshälfte bei mindestens zwei negativen Urinstreifentests in der ersten Schwangerschaftshälfte. Die Zustimmung der örtlichen Ethikkommission wurde eingeholt.

Genetische Analyse

Wir isolierten mütterliche DNA aus peripheren weißen Blutkörperchen wie in Vorarbeiten beschrieben.²¹ Anschließend wurde mit PCR und für die jeweiligen Polymorphismen spezifischen Primern die Genotypisierung vorgenommen. Bei der Genotypisierung bezüglich des PROGINS-Polymorphismus kamen der Sense-Primer 5'-GGC AGA AAG CAA AAT AAA AAG A-3' und der Antisense-Primer 5'-AAA GTA TTT TCT TGC TAA ATG TC-3' zum Einsatz. Die Bestimmung des Genotyps stützte sich hierbei auf den putativen 306bp-Insertions-Polymorphismus in Intron 7/G. Dies führte nach Visualisierung zu einem 149bp-Fragment für den Wildtyp und einem 455bp-Fragment bei der PROGINS-Variante. Die Genotypisierung des ACE-I/D-Polymorphismus erfolgte analog mit den Primern 5'-GCC CTG CAG GTG TCT GCA GCA TGT-3' und 5'-GGA TGG CTC TCC CCG CCT TGT CTC-3', was zu 319bp-Fragmenten für das D-Allel bzw. 597bp-Fragmenten für das I-Allel führte. Proben, bei deren Analyse ausschließlich Fragmente des D-Allels auftraten, wurden einer zweiten unabhängigen PCR mit den Primern 5'-TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC-3' und 5'-TCG CCA GCC CTC CCAT GCC CAT AA-3', unterzogen, die spezifisch für die Insertionssequenz im Intron 16 des I-Allels sind. Bei

dem Pro12Ala-Polymorphismus (PPAR γ 2) wurde zuerst mit mutagenen Primern eine Erkennungssequenz (*restriction site*) für die Restriktionsendonuklease BstUI in diejenigen PPAR γ 2-Gene eingebracht, die eine C→G Mutation aufwiesen (Primer: 5'-CAG CCA ATT CAA GCC CAG TC-3' und 5'-TCA GTG AAG GAA TCG CTT TCCG-3'). Die PCR-Produkte wurden anschließend mit BstUI (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) bei 60 °C 24 Stunden restringiert. In der anschließenden Gelelektrophorese stellte sich der Wildtyp Pro(C) durch eine 249bp-Bande dar, während beim mutierten Allel Ala(G) zwei Banden mit 227bp und 22bp beobachtet wurden.²² Die Identifikation der Amplifikationsprodukte erfolgte in allen drei Fällen nach Elektrophorese auf einem 1,5%-Agarosegel und Färbung mit Ethidium-Bromid durch Visualisierung unter UV-Licht. Wir verwendeten bei allen Analysen Positiv- und Negativkontrollen und akzeptierten die Ergebnisse nur, wenn sie in zwei unabhängigen Messungen übereinstimmten.

Totales glykiertes Hämoglobin (TGH)

Kindliches und mütterliches Blut wurde mit dem auf der Methode der *High-Performance-Liquid-Chromatography* (HPLC) basierenden System *Variant Total Glycated Hemoglobin Testing System* (Bio-Rad, Hercules, Calif, USA) untersucht. Dieses System arbeitet unabhängig vom Hämoglobintyp und ist daher in der Lage, Glykierung von fetalem und adultem Hämoglobin zu quantifizieren. Zuerst trennt das System glykiertes von nicht-glykiertem Hämoglobin an einer Agarosesäule mit boronsäurehaltigem Trägermaterial. Anschließend wird die Absorption der aufgetrennten Hämoglobinfraktionen in einem Filterphotometer bei 415 nm gemessen. Ein zweiter 690-nm-Filter korrigiert für Matrixeffekte, die durch das Mischen der Puffer unterschiedlicher Ionenstärke entstehen. Die Messwerte werden zusätzlich gegen einen mitgeführten Standard vom Hersteller kalibriert. Es wird keine Interferenz durch labile glykierte Hämoglobine, Blutfette, Bilirubin, Temperaturschwankungen oder altersbedingte Abbauprodukte beobachtet. Das System wurde durch das US National Glycohemoglobin Standardization Program zertifiziert.

Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der Daten wurde das Programm SPSS, Version 17 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) verwendet. Kontinuierliche Variablen werden als arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung und Proportionen als Prozentangaben \pm (Margin of Error), bestimmt mit einem adjustierten Wald-Test, dargestellt. Ungepaarte Student's t-Tests und Varianzanalyse wurden angewandt, um Mittelwerte kontinuierlicher Variablen zwischen zwei oder mehreren Gruppen zu vergleichen (Frauen mit entweder männlichen oder weiblichen Kindern, Frauen mit unterschiedlichen Varianten der untersuchten Polymorphismen). Die Hypothese einer Normalverteilung wurde mit dem nicht-parametrischen Test nach Kolmogorow und Smirnow überprüft. Pearson's χ^2 -Test kam bei der Überprüfung auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und dem Vergleich nominal skaliertter Variablen zum Einsatz. Es ist bekannt, dass das Rauchverhalten und Alter der Mutter sowie Body-Mass-Index (BMI) vor Beginn der Schwangerschaft und eine positive Anamnese für Hypertension Prädiktoren für das Auftreten von Bluthochdruck und gestörter Glukosehomöostase während der Schwangerschaft sind.^{23,24} Beim Vergleich der Variablen TGH, Bluthochdruck in der Schwangerschaft und neues Auftreten von Proteinurie oder Ödemen verwendeten wir daher zusätzlich die Methoden der

Kovarianzanalyse beziehentlich der binären logistischen Regression mit diesen Parametern als Kovariablen. Um die Interaktion zwischen dem Geschlecht des Neugeborenen und des untersuchten Genpolymorphismus bezüglich metrischer Variablen genauer zu untersuchen, verwendeten wir diese zwei Variablen als feste Parameter in einer Kovarianzanalyse und richteten das Augenmerk auf den resultierenden interaktiven Term. Bei kategorialen Variablen wurden eine binäre logistische Regression oder ein χ^2 -Test mit einer neuen, die jeweilige Interaktion reflektierenden Variable durchgeführt. Mittels der Holm-Bonferroni-Methode wurde für multiples Testen der jeweils untersuchten Genotypen separat korrigiert. Alle Tests wurden zweiseitig durchgeführt und ein korrigierter P-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

1.4 Ergebnisse

Deskriptive Daten der Studienpopulation

Die detaillierten deskriptiven Daten der eingeschlossenen Mutter-Kind-Paare sind in Teil A von ►Tabelle 1 dargestellt. Zwischen den Werten finden sich keine signifikanten Unterschiede. Die beobachtete Verteilung der verschiedenen Genotypen finden sich in Teil B von ►Tabelle 1. Es wird ersichtlich, dass sich die drei Verteilungen im Hardy-Weinberg-Equilibrium befinden ($P > 0,05$, berechnet nach Rodriguez ²⁵).

Tab. 1 Deskriptive Daten der Studienpopulation									
A Epidemiologische und physiologische Daten der Mutter-Kind-Paare									
	PROGINS, n=2089	PPARγ2, n= 2014	ACE I/D, n=1332						
Alter der Mutter (Jahre)	30,0 \pm 5,6	30,0 \pm 5,6	29,9 \pm 5,6						
BMI ^a vor der Schwangerschaft (kg/m ²)	22,7 \pm 4,1	22,8 \pm 4,1	22,4 \pm 3,9						
Rauchen vor / während der Schwangerschaft (%)	40,1 \pm 2,2 / 17,2 \pm 1,7	41,0 \pm 2,3 / 17,7 \pm 1,8	44,9 \pm 3,0 / 18,1 \pm 2,3						
Bei Raucherinnen: Anzahl an packyears ^b vor der Schwangerschaft	6,9 \pm 6,3	6,9 \pm 6,3	6,1 \pm 5,3						
Primigravida/Primipara (%)	44,2 \pm 2,2 / 55,5 \pm 2,2	43,8 \pm 2,2 / 55,3 \pm 2,2	42,7 \pm 2,8 / 53,0 \pm 2,8						
TGH ^c der Mutter (%)	6,34 \pm 0,73	6,34 \pm 0,73	6,34 \pm 0,73						
Neu aufgetretene Proteinurie in der 2. Schwangerschaftshälfte (%)	28,6 \pm 2,4	29,3 \pm 2,4	29,0 \pm 2,4						
Neu aufgetretene Ödeme in der 2. Schwangerschaftshälfte (%)	33,5 \pm 2,1	32,9 \pm 2,1	33,2 \pm 2,6						
Bluthochdruck vor/während der Schwangerschaft (%)	6,3 \pm 1,0 / 6,7 \pm 1,1	6,4 \pm 1,1 / 6,9 \pm 1,1	5,6 \pm 1,3 / 5,7 \pm 1,3						
Geschlecht des Kindes, männlich (%)	52,9 \pm 2,1	53,0 \pm 2,2	53,2 \pm 2,7						
Gestationsalter bei Entbindung (Wochen)	38,93 \pm 2,2	38,92 \pm 2,2	39,02 \pm 2,3						
Geburtsgewicht (g)	3369 \pm 617	3367 \pm 620	3359 \pm 615						
Ponderalindex ^d (kg/m ³)	25,5 \pm 3,2	25,5 \pm 3,3	25,5 \pm 3,5						
Länge des Kindes (cm)	50,9 \pm 3,0	50,9 \pm 3,0	50,9 \pm 3,1						
Kopfumfang (cm)	34,6 \pm 2,4	34,7 \pm 2,4	34,6 \pm 2,5						
TGH ^c des Neugeborenen (%)	4,64 \pm 0,52	4,63 \pm 0,52	4,63 \pm 0,52						
B Verteilung der untersuchten Genotypen									
	Progesteron PROGINS		PPARγ2 Pro12Ala		ACE I/D				
Häufigkeiten der Genotypen (absolut, %)	AA 47 (2,4)	BA 520 (24,9)	BB 1522 (72,9)	GG 41 (2,0)	CG 550 (27,3)	CC 1423 (70,7)	II 246 (18,5)	DI 687 (51,6)	DD 399 (30,0)
Allelfrequenzen (%)	A-Allel 14,7 \pm 1,1	B-Allel 85,3 \pm 1,1	G-Allel 15,7 \pm 1,1	C-Allel 84,3 \pm 1,1	I-Allel 44,3 \pm 1,2	D-Allel 55,7 \pm 1,2	:		
Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	χ^2 ^a 0,11	P ^b >0,5	χ^2 2,09	P >0,1	χ^2 2,74	P >0,1			

A Daten angezeigt als Mittelwert \pm Standardabweichung oder Prozent \pm (Margin of Error). ^aBMI: Body-Mass-Index (Körpergewicht geteilt durch Körpergröße zum Quadrat); ^b packyears: Durchschnittliche Anzahl Schachteln pro Tag multipliziert mit Anzahl der Jahre, während derer geraucht wurde; ^c TGH: Totales glykiertes Hämoglobin; ^d Ponderalindex: Gewicht geteilt durch Körpergröße hoch drei.

B ^a Pearson's Goodness-of-fit für Hardy-Weinberg-Gleichgewicht; ^b P-Wert größer als 0,05 impliziert Verteilung im Gleichgewicht.

Beziehung zwischen kindlichem Geschlecht und mütterlichem Genotyp und maternaler Physiologie

Für die untersuchten Genpolymorphismen mit einem deutlich häufigeren Allel wurde sowohl ein additives als auch ein für das seltenere Allel rezessive Modell untersucht, d.h. für den Progesteronrezeptor AA vs. AB vs. BB und AA vs. */B; für PPAR γ 2 GG vs. CG vs. CC und GG vs. */C. Für den ACE-Polymorphismus werden die Ergebnisse für alle naheliegenden Modelle (additiv, I-rezessiv, D-rezessiv, II vs. DD) dargestellt.

Das Geschlecht des Kindes allein hat in unserer Kohorte keinen Einfluss auf die untersuchten Parameter totales glykiertes Hämoglobin der Mutter, Bluthochdruck während der Schwangerschaft, und neu auftretende Proteinurie oder Ödeme in der zweiten Schwangerschaftshälfte. Ebenso wenig unterscheiden sich diese Parameter in Gruppen mit unterschiedlichen Varianten eines der untersuchten mütterlichen Polymorphismen (Daten nicht dargestellt, siehe Publikationen). Werden diese beiden Einflussfaktoren jedoch zusammen betrachtet, lässt sich eine signifikante Interaktion des Geschlechts des Neugeborenen mit den einzelnen Polymorphismen in Bezug auf das totale glykierte Hämoglobin der Mutter beobachten. Dies ist in ► Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 2 Statistische Signifikanz des interaktiven Terms (kindliches Geschlecht \times Genotyp)								
	PROGINS		Pro12Ala		Insertion/Deletion			
	Add. ^b	A-Rez. ^c	Add. ^b	G-Rez. ^c	Add. ^b	D-Rez. ^c	I-Rez. ^c	II vs. DD
TGH ^a der Mutter (%)	0,059	0,024	0,009	0,002	0,002	0,003	0,005	<0,001
Neu auftretende Proteinurie in der 2. Schwangerschaftshälfte (%)	0,528	0,275	0,377	0,444	0,147	0,260	0,249	0,213
Neu auftretende Ödeme in der 2. Schwangerschaftshälfte (%)	0,546	0,298	0,230	0,146	0,433	0,728	0,168	0,272
Bluthochdruck während der Schwangerschaft (%)	0,169	0,495	0,243	0,187	0,194	0,433	0,851	0,107

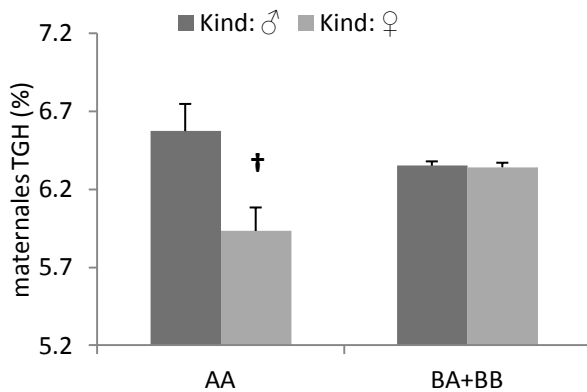
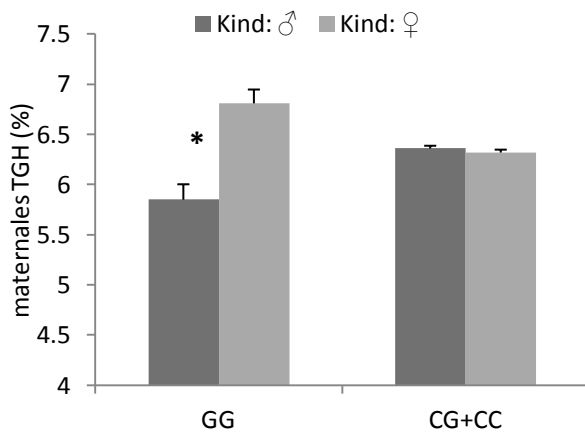
Geschlecht des Kindes und die dargestellten Polymorphismen zeigen eine signifikante Interaktion mit Bezug auf totales glykiertes Hämoglobin der Mutter. Dargestellt sind P-Werte des interaktiven Terms aus kindlichem Geschlecht und maternalem Genotyp in einer Kovarianzanalyse. Es wurde korrigiert für Alter und Body-Mass-Index der Mutter sowie für Bluthochdruck und Rauchen vor der Schwangerschaft (s. Methodik). ^aTGH: Totales glykiertes Hämoglobin; ^badditives Modell; ^crezessives Modell.

Liegt ein signifikanter interaktiver Term vor, können die restlichen Ergebnisse der Kovarianzanalyse nicht sinnvoll interpretiert werden.²⁶ Um die beobachtete Interaktion weiter zu untersuchen, analysierten wir daher für diejenigen Parameter, die eine signifikante Interaktion zeigten, den Effekt des Geschlechts des Kindes in Gruppen, die bezüglich des maternalen Genotyps homogen waren. Dann untersuchten wir, welchen Einfluss der maternale Genotyp bei Müttern von Söhnen bzw. Töchtern hat. Eine Übersicht der mütterlichen TGH-Werte in den verschiedenen Subgruppen einschließlich der adjustierten P-Werte ist in ► Tabelle 3.A und ► Tabelle 3.B dargestellt, die wichtigsten Ergebnisse sind in ► Abbildung 1 graphisch wiedergegeben.

PROGESTERONREZEPTOR PROGINS

Die Analyse des mütterlichen TGH zeigte, dass bei Frauen, die homozygot für das A-Allel waren und ein männliches Kind gebären, ein signifikant höherer Anteil des Hämoglobins glykiert ist als bei Frauen mit zwei A-Allelen und einem weiblichen Neugeborenen. ($6,6 \pm 0,7$ % vs. $5,9 \pm 0,6$ %; $P_{adj} < 0,005$, ► Abb. 1A). Kein solcher Einfluss des kindlichen

A Progesteronrezeptor PROGINS

B PPAR γ 2 Pro12Ala

C ACE I/D

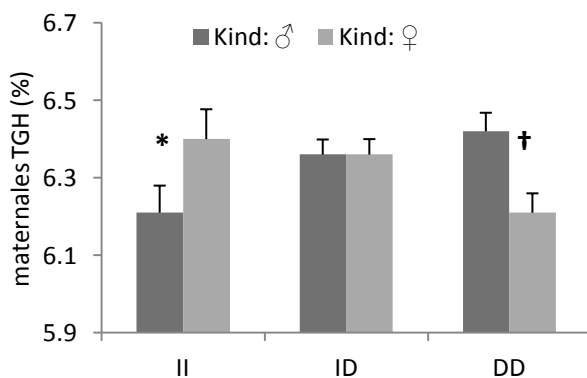


Abb. 1 A TGH in PROGINS-A-homozygoten Müttern hängt vom Geschlecht des Kindes ab. B In G-homozygoten Müttern beeinflusst das Geschlecht des Kindes das mütterliche TGH. C In I- und D-homozygoten Müttern hat das Geschlecht einen gegenläufigen Effekt auf das mütterliche TGH. In heterozygoten Müttern ist es ohne Einfluss. *: $P_{adj} < 0,05$, †: $P_{adj} < 0,005$. TGH: Totales glykiertes Hämoglobin.

Geschlechts wurde bei Frauen beobachtet, die mindestens ein B-Allel trugen. A-homozygote Frauen, die Mädchen gebären, hatten prozentual weniger TGH bei Entbindung als Mütter von Töchtern mit dem BA oder BB-Genotyp (AA: $5,9 \pm 0,68$ % vs. */B: $6,3 \pm 0,70$ %, $P_{adj} < 0,05$).

Eine Analyse der absoluten systolischen und diastolischen Blutdruckwerte ergab, dass Frauen mit zwei A-Allelen (A-homozygot, AA-Genotyp), die einen Sohn zur Welt brachten, im ersten Trimester einen signifikant niedrigeren systolischen und diastolischen Blutdruck aufwiesen als A-homozygote Mütter von neugeborenen Mädchen (Systolisch: $107,9 \pm 10,2$ mmHg vs. $116,6 \pm 15,1$ mmHg; diastolisch: $63,4 \pm 5,7$ mmHg vs. $68,2 \pm 10,9$ mmHg; $P_{adj} < 0,05$; Daten in dieser Zusammenfassung aus Platzgründen nicht dargestellt).

PPAR γ 2 PRO12ALA

Die Analyse der Interaktion zwischen dem Geschlecht des Kindes und dem mütterlichen PPAR γ 2 Pro12Ala-Polymorphismus zeigte, dass sich bei G-homozygoten Frauen ein etwa 16 % höheres TGH bei Geburt messen ließ, wenn sie ein Mädchen geboren hatten als bei Geburt eines Jungen ($6,81 \pm 0,50$ % vs. $5,85 \pm 0,58$ %; $P_{adj} < 0,05$, ► Abb. 1B). Mütter von Töchtern hatten ein signifikant höheres TGH, wenn sie G-homozygot waren, als wenn sie mindestens ein C-Allel trugen ($6,81 \pm 0,50$ % vs. $6,30 \pm 0,73$ %, $P_{adj} < 0,01$). Im additiven Modell zeigt sich ein ebenfalls signifikanter gleichsinniger Effekt.

ACE INSERTION/DELETION

Totales glykiertes Hämoglobin in D-homozygoten Müttern von Jungen betrug im Mittel $6,42 \pm 0,70$ % und $6,21 \pm 0,66$ % in

solchen, die Töchter zur Welt brachten ($P_{adj} < 0,005$). Bei I-homozygoten Müttern zeigte sich ein gegenläufiger Effekt (Jungen: $6,21 \pm 0,81$ %, Mädchen: $6,40 \pm 0,80$ %; $P_{adj} < 0,05$, ► Abb. 1C). Mütter von Jungen hatten einen geringeren Anteil TGH wenn sie I-homozygot als wenn sie D-homozygot waren (II: $6,21 \pm 0,81$ % vs. DD: $6,42 \pm 0,70$ %; $P_{adj} < 0,005$). Dieser Unterschied war signifikant in allen untersuchten Modellen. Für Mütter von Mädchen fand sich wiederum eine gegenläufige Beziehung, die im I-rezessiven und im II-vs.-DD-Modell Signifikanz erreichte.

Tab. 3 Art der Interaktion zwischen kindlichem Geschlecht und maternalen Polymorphismen mit Bezug auf maternales totales glykiertes Hämoglobin

A Homogene Gruppen bezüglich Genotyp										
Progesteronrezeptor PROGINS										
		AA			BA			BB		
n	♂	♀	P	♂	♀	P	♂	♀	P	
TGH ^a	22	25	-	284	235	-	799	724	-	
	6,57±0,67	5,93±0,64	0,002	6,32±0,73	6,28±0,72	0,575	6,36±0,73	6,36±0,74	0,588	
PPARγ2 Pro12Ala										
		GG			CG			CC		
n	♂	♀	P	♂	♀	P	♂	♀	P	
TGH	22	19	-	278	272	-	767	656	-	
	5,85±0,58	6,81±0,50	0,015	6,38±0,73	6,38±0,69	0,962	6,36±0,74	6,30±0,73	0,548	
ACE Insertion/Deletion										
		II			ID			DD		
n	♂	♀	P	♂	♀	P	♂	♀	P	
TGH	136	110	-	355	332	-	217	182	-	
	6,21±0,81	6,40±0,80	0,044	6,36±0,72	6,36±0,72	0,898	6,42±0,70	6,21±0,66	0,005	
B Homogene Gruppen bezüglich Geschlecht des Kindes										
Progesteronrezeptor PROGINS										
		♂			♀			♂		
n	AA	BA	BB	add. ^b	rez. ^c	AA	BA	BB	add. ^b	rez. ^c
TGH ^a	22	284	799	-	-	25	235	724	-	-
	6,62±0,73	6,33±0,73	6,36±0,74	0,535	0,294	5,9±0,68	6,29±0,72	6,36±0,72	0,023	0,026
PPARγ2 Pro12Ala										
		♂			♀			♂		
n	GG	CG	CC	add. ^b	rez. ^d	GG	CG	CC	add. ^b	rez. ^d
TGH	22	278	767	-	-	19	272	656	-	-
	5,85±0,58	6,38±0,73	6,36±0,74	0,197	0,078	6,81±0,50	6,38±0,69	6,30±0,73	0,024	0,009
ACE Insertion/Deletion										
		♂			♀			♂		
n	II	ID	DD	add. ^b	rez. ^e	II	ID	DD	add. ^b	rez. ^e
TGH	136	355	217	vs ^g	rez. ^f	110	332	182	vs ^g	rez. ^f
	6,21±0,81	6,36±0,72	6,42±0,70	-	-	6,40±0,80	6,36±0,72	6,21±0,66	-	-
				0,014	0,036				0,084	0,038
				0,004	0,009				0,030	0,168

A Vergleich des mütterlichen totalen glykierten Hämoglobins zwischen Gruppen mit männlichen und weiblichen Kindern unter Berücksichtigung des Genotyps.

B Vergleich des mütterlichen totalen glykierten Hämoglobins zwischen Gruppen mit unterschiedlichen Allelen eines Genpolymorphismus unter Berücksichtigung des Geschlechts des Kindes.

TGH-Werte angezeigt als Mittelwert±Standardabweichung. P-Werte wurden in einer Kovarianzanalyse korrigiert für Alter und Body-Mass-Index der Mutter sowie für Bluthochdruck und Rauchen vor der Schwangerschaft. ^aTGH: Totales glykiertes Hämoglobin (%); ^bP-Wert für ein additives Modell; ^cP-Wert für ein A-rezessives Modell; ^dP-Wert für ein G-rezessives Modell; ^eP-Wert für ein D-rezessives Modell; ^fP-Wert für ein I-rezessives Modell; ^gP-Wert für ein ,II vs. DD' Modell.

1.5 Diskussion

Interpretation und Einordnung der Ergebnisse

Unsere Studien in einer Kohorte europäisch-stämmiger Mutter-Kind-Paare konnten zeigen, dass das fetale Geschlecht einen Einfluss auf die mütterliche Physiologie während der Schwangerschaft in Form der Glykämiekontrolle haben kann. Diese Einflussnahme ist in seiner Ausprägung von definierten mütterlichen Genotypen abhängig, insofern, als sich für die untersuchten Genotypen ein Effekt nur in (rezessiv) homozygoten Müttern nachweisen lässt. Ein männliches Neugeborenes war in ACE I/D D-homozygoten und Progesteronrezeptor PROGINS A-homozygoten Müttern mit einem relativ erhöhten TGH, in ACE I/D I-homozygoten und PPAR γ 2 Pro12Ala G-homozygoten Müttern mit einem relativ erniedrigten TGH assoziiert. In A-homozygoten Frauen konnte weiterhin ein relativ erniedrigter systolischer und diastolischer Blutdruck während der Schwangerschaft beobachtet werden, wenn sie ein männliches Kind gebären, worauf hier jedoch aufgrund des begrenzten Umfangs dieser Zusammenfassung nicht weiter eingegangen werden kann. Die Allelhäufigkeiten der untersuchten Genpolymorphismen (► Tabelle 1.B) stimmen mit den Werten in der Literatur überein.^{13,27,28} Im Vergleich mit anderen größeren europäischen Studien zeigt unsere Studienpopulation ähnliche Mittelwerte der Parameter Body-Mass-Index, Alter, Anteil an Raucherinnen während der Schwangerschaft, und Gestationsalter bei Entbindung.^{29,30} Dies spricht dafür, dass die untersuchten Frauen in unsere Studie eine repräsentative europäische Kohorte darstellen. Bemerkenswert ist für die PPAR- und PROGINS-Polymorphismen auch die absolute Differenz der TGH Werte zwischen rezessiv-homozygoten Müttern, die entweder eine Tochter oder einen Sohn gebären, und vor der Schwangerschaft nicht an Diabetes mellitus litten. Diese Differenz liegt bei PPAR-GG bei 0,94 Prozentpunkten (relativer Unterschied: 16,0%) und bei PROGINS-AA bei 0,64 Prozentpunkten (relativer Unterschied: 9,7%) und damit im Bereich vieler oraler Antidiabetika, z.B. DPP4-Inhibitoren, bei der Diabetesbehandlung (HbA1c-Reduktion von ca. 0,5 - 1,0 Prozentpunkten).³¹

PROGESTERONREZEPTOR PROGINS

In der Schwangerschaft lässt sich eine progressive Glukoseintoleranz beobachten,^{32,33} die in 7% der Fälle durch mangelnde Anpassung der Insulinsekretion in den B-Zellen der pankreatischen Langerhans-Zellen zu Schwangerschaftsdiabetes führt. Die Veränderungen in der Glukosetoleranz und der glukoseinduzierten B-Zell-Antwort gehen einher mit erhöhten Progesteronspiegeln. In verschiedenen Knock-out-Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass Progesteron in weiblichen Tieren die Insulinsekretion negativ beeinflusst, und dass so beispielsweise Progesteronrezeptor-knock-out-Mäuse höhere Insulinspiegel nach Glukoseinjektion und niedrigere Nüchternglukosespiegel aufwiesen als Tiere mit dem Wildtyp.²⁰ In-vitro-Versuche mit unterschiedlichen Zelllinien deuten darauf hin, dass der PROGINS-Progesteronrezeptor-Polymorphismus die Aktivität des Rezeptors reduziert.¹⁹ Die klinische Bedeutung dieses Polymorphismus für verschiedene gynäkologische Malignome ist seit einiger Zeit bekannt.^{19,34} Schwangere Frauen mit dem PROGINS AA Genotyp haben eine verringerte Progesteronrezeptoraktivität. Diese Frauen wiesen, wenn sie einer Tochter gebären, in unserer Studie ein signifikant geringeres TGH (und somit einen putativ geringeren

Nüchternblutglukosespiegel) auf als Frauen mit dem BB-Genotyp. Diese Effekte könnten, auf Basis der Ergebnisse der Tierversuche, auf einer erhöhten Insulinsekretion in Folge verstärkter Proliferation und Aktivität der B-Zellen im Pankreas der A-homozygoten Frauen beruhen. Frauen, die einen Sohn zur Welt brachten, schienen jedoch von diesen glukosesenkenden Effekten der reduzierten Aktivität ihrer Progesteronrezeptoren nicht profitieren zu können. Für die Normalisierung der Glykämiekontrolle in PROGENS A-homozygoten Müttern von männlichen Neugeborenen könnten Androgene des Feten oder bisher unbekannte Mediatoren der „männlichen“ Plazenta verantwortlich sein. Beobachtungen von Müttern mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom bestätigen die Hypothese solcher fetalen, die maternale Physiologie beeinflussenden Faktoren grundsätzlich.⁵

PPAR γ 2 PRO12ALA

PPAR γ ist ein Transkriptionsfaktor, der u.a. von Fettsäuren, Prostanoiden und Thiazolidindionen aktiviert wird. Nach Aktivierung bildet er ein Heterodimer mit dem Retinoid-X-Rezeptor und bindet an spezifische PPAR γ -responsive Elemente der DNA, um die Transkription zahlreicher Zielgene zu fördern. Ein einzelnes Gen auf Chromosom 3p25 kodiert durch unterschiedliche Spleißstellen für die drei Isoformen PPAR γ 1-3. In-vitro-Studien haben gezeigt, dass die Ala12-Isoform von PPAR γ 2 eine reduzierte Fähigkeit zur Transkriptionsaktivierung und Adipogeneseinduktion aufweist.¹¹ PPAR γ 2 wird auch in der Plazenta exprimiert,³⁵ welche zu einem gewissen Anteil auch mütterlichen Ursprungs ist.³⁶ Zur Erklärung der Ergebnisse unserer Untersuchungen stellen wir die Hypothese auf, dass PPAR γ 2 im maternalen Teil der Plazenta an der Regulation der Synthese plazentarer Hormone beteiligt ist, welche auch die maternale Glykämiekontrolle in der Schwangerschaft beeinflussen. Die PPAR γ 2-Aktivität wird auch von Geschlechtshormonen moduliert.^{12,37} Insbesondere scheinen Mütter mit dem GG-Genotyp des PPAR γ 2 Pro12Ala-Polymorphismus anfällig zu sein für einen Effekt der fetalen Geschlechtshormone, welche über die Plazenta auch den mütterlichen Blutkreislauf erreichen. Diese Hypothese könnte die Beobachtungen eines maternalen PPAR γ 2-Pro12Ala-Polymorphismus-abhängigen Einflusses des kindlichen Geschlechts auf den mütterlichen Glukosestoffwechsel während der Schwangerschaft erklären.

ACE INSERTION/DELETION

Das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) ist eine Zink-Metalloproteinase, die sich auf der Oberfläche fast aller endo- und epithelialer Zellen findet. Seine Aufgabe ist einerseits die Umwandlung und Aktivierung von Angiotensin 1 zu Angiotensin 2, dem wichtigsten Effektor des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS); andererseits die Deaktivierung von Bradykinin. Für interindividuelle Unterschiede des ACE-Spiegels im Blut sind teilweise Variationen des ACE-Gens verantwortlich. Der Insertions-/Deletions-Polymorphismus in Intron 16 ist mit am besten charakterisiert und könnte für bis zu 50% der Variation in ACE-Spiegeln verantwortlich sein.³⁸ Wenn sich der Polymorphismus selbst auch in einer nicht-codierenden Region befindet, scheint er mit funktionellen, teilweise unbekanntem Polymorphismen in Zusammenhang zu stehen, was seine Untersuchung rechtfertigt.³⁹ Es wurde auf Basis mehrerer kleinerer Studien vorgeschlagen, dass die D-Variante des ACE-I/D-Polymorphismus mit einer erhöhten ACE-Aktivität und folglich höherem Strömungswiderstand in der Arteria uterina einhergeht und somit mit einem erhöhten Risiko für Bluthochdruck während der

Schwangerschaft assoziiert sein könnte.^{40,41} Diese Hypothese kann mit unseren Ergebnissen, ebenso wie mit den Ergebnissen einer neueren großen Studie, nicht gestützt werden.⁴² Obwohl die wichtige Rolle des RAAS für die Entwicklung von Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ 2 seit Langem bekannt ist,^{17,18} untersuchten wir als erste die Glykämiekontrolle während der Schwangerschaft in Relation zum ACE-I/D-Polymorphismus. Allein hatte der Polymorphismus keinen Effekt, allerdings zeigte sich, dass in D- und I-homozygoten Müttern das kindliche Geschlecht die Glykämiekontrolle beeinflusst. Ein geschlechtsabhängiger Effekt des ACE-I/D-Polymorphismus mit Bezug auf renale und kardiovaskuläre Krankheiten wurde bereits beschrieben.⁴³⁻⁴⁵ Wir postulieren daher, dass das fetale Geschlecht die Expression und Sezernierung für die Glykämiekontrolle relevanter Hormone in der Plazenta beeinflusst (z.B. humanes Choriongonadotropin, humanes Plazentalaktogen), die anschließend mit den maternalen Phänotypen interagieren. Diese Effekte könnten entweder (i) additiv sein, insofern als dass sowohl männliches Geschlecht (über plazentare Hormone) als auch die DD-Variante (über erhöhte ACE-Aktivität und verringerte Insulinsensitivität) unabhängig voneinander die maternale Glykämiekontrolle beeinflussen und zu erhöhten TGH-Werten in D-homozygoten Frauen mit Söhnen führen; oder sie könnten (ii) synergistisch ablaufen, wobei erhöhte ACE-Spiegel ebenfalls direkt auf die Plazenta und auf die Regulierung dort gebildeter Hormone einwirken.

Limitierungen

Obwohl unsere Untersuchung mehr als 1000 Frauen einschloss, die Ergebnisse sehr robust sind und sich in verschiedenen Modellen ähnelten, ist eine Bestätigung unserer Ergebnisse in einer unabhängigen Kohorte notwendig. Es ist auch nötig, Tiermodelle zu entwickeln, um die zu Grunde liegenden molekularen Mechanismen der beschriebenen feto-maternalen Interaktion aufzuklären. Hier könnten dann auch adäquat gestaltete Kausalexperimente durchgeführt werden. Obwohl wir bei der statistischen Analyse für bekannte *confounding factors* korrigiert haben, könnten unbekanntes oder weitere bekannte, wie die vom fetalen Geschlecht abhängige Energieaufnahme während der Schwangerschaft,⁴⁶ die nicht berücksichtigt wurden, die Interaktion beeinflussen. Langzeitbeobachtungen sind nötig, um die Frage zu beantworten, ob die Frauen mit beeinträchtigter Insulinsensitivität während der Schwangerschaft in unseren Studien später auch häufiger an Diabetes mellitus oder Herz-Kreislaufkrankungen leiden.

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass unsere Studien die Ergebnisse anderer Gruppen bestätigen, die zeigten, dass feto-maternale Interaktionen die mütterliche Physiologie während der Schwangerschaft prinzipiell beeinflussen können. Wir konnten zum ersten Mal in einer großen europäischen Studie zeigen, dass der kindliche Genotyp in Form des kindlichen Geschlechts einen ausgeprägten Effekt auf die Glykämiekontrolle während der Schwangerschaft bei durch bekannte, funktionell bedeutende Polymorphismen des Progesteron-, PPAR γ 2- oder ACE-Gens prädisponierten Frauen hat.

1.6 Abstracts weiterer, thematisch verwandter eigener Arbeiten

Die Promotionsarbeit umfasste neben dem auf den vorigen Seiten Dargestellten zwei weitere, thematisch verwandte Projekte. Im Rahmen eines dieser Projekte untersuchte der Autor den Effekt genetischer Polymorphismen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems im kindlichen Genom auf Geburtsgewicht und Glykämiekontrolle des Neugeborenen. Bei dem zweiten wurde der Zusammenhang zwischen kindlicher Glykämiekontrolle und sonographisch erhobenen Wachstumsdaten analysiert. Diese Projekte konnten aufgrund der Seitenbeschränkung leider nicht mit in der vorliegenden Zusammenfassung dargestellt werden, und sind daher im Folgenden in Form der dazugehörigen Abstracts in die Arbeit eingebunden.

Neuer Beleg für die fetale Insulin-Hypothese: fetaler Angiotensinogen M235T-Polymorphismus ist mit niedrigem Geburtsgewicht und erhöhtem totalen glykierten Hämoglobin bei Geburt assoziiert

Hintergrund/Ziel Niedriges Geburtsgewicht ist mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen im späteren Leben verbunden. Ein metabolisches Charakteristikum Erwachsener mit kardiovaskulären Erkrankungen ist Insulinresistenz. Da Insulin in utero als Wachstumsfaktor wirkt, könnte der neonatale Phänotyp von Insulinresistenz niedriges Geburtsgewicht sein. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen und Insulinresistenz relevant. Wir untersuchten, ob häufige Polymorphismen des fetalen Angiotensinogen- und Angiotensin-Converting-Enzyme-(ACE)-Gens das Geburtsgewicht und/oder fetales totales glykiertes Hämoglobin (TGH) als Surrogatmarker für Insulinresistenz beeinflussen.

METHODEN Von eintausendeinhundertzweiunddreißig (1132) Frauen europäischer Abstammung wurden klinische Daten der Schwangerschaft erhoben. Ihren Kindern wurde nach der Geburt Nabelschnurblut entnommen, und der Genotyp bezüglich des Angiotensinogen-M235T- und des ACE-Insertions/Deletions-(ACE-I/D)-Polymorphismus bestimmt. Bei der statistischen Auswertung kamen Verfahren zur Korrektur von Störfaktoren (*confounding factors*) zum Einsatz.

ERGEBNISSE Der AGT-M235T-Polymorphismus ist mit verringertem Geburtsgewicht assoziiert (TT: 3288 g vs. TM+MM: 3435 g; $P < 0,05$). Neugeborene mit Geburtsgewicht unter 2500g tragen fast doppelt so häufig den TT-Genotyp als solche mit einem Geburtsgewicht > 2500 g ($P < 0,01$). Neugeborene mit dem TT-Genotyp haben häufiger eine gestörte Glukosetoleranz (TGH $> 6,5\%$) als solche mit dem MT- oder MM-Genotyp (2,2% vs. 0,7%; $P < 0,05$). Kein solcher Zusammenhang besteht zwischen diesen Parametern und dem ACE-I/D-Polymorphismus.

ZUSAMMENFASSUNG Der fetale Angiotensinogen-M235T-Polymorphismus ist mit niedrigem Geburtsgewicht und erhöhtem TGH bei Geburt assoziiert. Frühere Ergebnisse zeigen, dass fetales TGH negativ mit dem Geburtsgewicht korreliert, sowie weiterhin, dass erhöhte RAAS-Aktivität ein unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von Diabetes mellitus und koronarer Herzkrankheit ist. Unsere Ergebnisse stützen damit die fetale Insulin-Hypothese.

Niedriges Geburtsgewicht und ein erhöhtes Verhältnis von Kopf- zu Bauchumfang – Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen im späteren Leben – sind mit erhöhten fetalen Konzentrationen von glykiertem Serum-Protein assoziiert.

Hintergrund/Ziel Beeinträchtigte kindliche Insulinwirkung in utero kann zu Wachstumsverzögerungen des Feten während der Schwangerschaft und niedrigem Geburtsgewicht führen. Wir untersuchten den Zusammenhang zwischen niedrigem Geburtsgewicht, dem Verhältnis von Kopf- zu Bauchumfang und Insulinresistenz im frühen Leben.

Methoden Zum Zeitpunkt der Entbindung wurden bei 612 chinesischen Mutter-Kind-Paaren die Konzentrationen von glykiertem Serum-Protein (GSP) bestimmt, die als Surrogatmarker für maternale und fetale Glykämie dienen. Durchschnittlich eine Woche vor Entbindung wurden sonographisch die fetalen anthropometrischen Maße Kopfumfang, biparietaler Durchmesser, pectoraler Durchmesser, Bauchumfang und Femurlänge gemessen.

Ergebnisse Multivariable Regressionsanalyse unter Beachtung von Gestationsalter, Geschlecht des Kindes, maternalem Body-Mass-Index, Alter und Körpergewicht der Mutter bei Entbindung sowie Schwangerschafts-induziertem Hypertonus zeigte eine inverse Assoziation zwischen fetalem GSP und Geburtsgewicht ($R^2=0,416$, $P<0,001$). Fetales GSP wies außerdem eine positive Assoziation mit dem Verhältnis von Kopf- zu Bauchumfang auf, wohingegen maternales GSP negativ mit diesem Wert korreliert war ($R^2=0,285$, $P=0,010$; bzw. $R^2=0,261$, $P=0,020$). Das erhöhte Verhältnis von Kopf- zu Bauchumfang bei Neugeborenen mit hohen GSP-Werten ist vor Allem auf einen im Vergleich zum Kopf- überproportional stark verringerten Bauchumfang zurückzuführen.

Zusammenfassung Das von uns beobachtete disproportionale Wachstum in utero steht im Einklang mit dem Konzept des sogenannten „brain-sparings“, bei dem das intrauterine Wachstum des Gehirns unter widrigen Umständen zu Lasten des restlichen Körpers aufrechterhalten wird. Unsere Daten lassen vermuten, dass niedriges Geburtsgewicht, welches einen Risikofaktor für spätere kardiovaskuläre Erkrankungen wie Bluthochdruck darstellt, und disproportionales Wachstum in utero mit gestörter fetaler Glukosetoleranz/Insulinresistenz assoziiert sind.

1.7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Hocher B, Slowinski T, Stolze T, Pleschka A, Neumayer HH, Halle H. Association of maternal G protein beta3 subunit 825T allele with low birthweight. *Lancet* 2000;355:1241-2.
2. Hocher B, Slowinski T, Bauer C, Halle H. The advanced fetal programming hypothesis. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1298-9.
3. Masuda K, Osada H, Iitsuka Y, Seki K, Sekiya S. Positive association of maternal G protein beta3 subunit 825T allele with reduced head circumference at birth. *Pediatr Res* 2002;52:687-91.
4. Wang X, Zuckerman B, Pearson C, et al. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* 2002;287:195-202.
5. Wangler MF, Chang AS, Moley KH, Feinberg AP, Debaun MR. Factors associated with preterm delivery in mothers of children with Beckwith-Wiedemann syndrome: a case cohort study from the BWS registry. *Am J Med Genet A* 2005;134A:187-91.
6. Mutze S, Rudnik-Schoneborn S, Zerres K, Rath W. Genes and the preeclampsia syndrome. *J Perinat Med* 2008;36:38-58.
7. Di Renzo GC, Rosati A, Sarti RD, Cruciani L, Cutuli AM. Does fetal sex affect pregnancy outcome? *Gend Med* 2007;4:19-30.
8. Petry CJ, Ong KK, Dunger DB. Does the fetal genotype affect maternal physiology during pregnancy? *Trends Mol Med* 2007;13:414-21.
9. Basoglu OK, Bacakoglu F, Cok G, Sayiner A, Ates M. The oral glucose tolerance test in patients with respiratory infections. *Monaldi Arch Chest Dis* 1999;54:307-10.
10. Cross JC. How to make a placenta: mechanisms of trophoblast cell differentiation in mice--a review. *Placenta* 2005;26 Suppl A:S3-9.
11. Stumvoll M, Haring H. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes* 2002;51:2341-7.
12. Ben Ali S, Ben Yahia F, Sediri Y, et al. Gender-specific effect of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 gene on obesity risk and leptin levels in a Tunisian population. *Clin Biochem* 2009;42:1642-7.
13. Gouda HN, Sagoo GS, Harding AH, Yates J, Sandhu MS, Higgins JP. The association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2010;171:645-55.
14. Muscogiuri G, Chavez AO, Gastaldelli A, et al. The crosstalk between insulin and renin-angiotensin-aldosterone signaling systems and its effect on glucose metabolism and diabetes prevention. *Curr Vasc Pharmacol* 2008;6:301-12.
15. Filler G, Yang F, Martin A, Stolpe J, Neumayer HH, Hocher B. Renin angiotensin system gene polymorphisms in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2001;5:166-73.
16. Alderman MH. New onset diabetes during antihypertensive therapy. *Am J Hypertens* 2008;21:493-9.
17. Ostergren J. Renin-angiotensin-system blockade in the prevention of diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;76 Suppl 1:S13-21.
18. McMurray JJ, Holman RR, Haffner SM, et al. Effect of valsartan on the incidence of diabetes and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2010;362:1477-90.
19. Romano A, Delvoux B, Fischer DC, Groothuis P. The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone. *J Mol Endocrinol* 2007;38:331-50.
20. Picard F, Wanatabe M, Schoonjans K, Lydon J, O'Malley BW, Auwerx J. Progesterone receptor knockout mice have an improved glucose homeostasis secondary to beta -cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:15644-8.
21. Pfab T, Stirnberg B, Sohn A, et al. Impact of maternal angiotensinogen M235T polymorphism and angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism on blood pressure, protein excretion and fetal outcome in pregnancy. *J Hypertens* 2007;25:1255-61.

22. Pfab T, Poralla C, Richter CM, et al. Fetal and maternal peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala does not influence birth weight. *Obesity* 2006;14:1880-5.
23. Rath W, Fischer T. The diagnosis and treatment of hypertensive disorders of pregnancy: new findings for antenatal and inpatient care. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106:733-8.
24. Reece EA. The fetal and maternal consequences of gestational diabetes mellitus. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23:199-203.
25. Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol* 2009;169:505-14.
26. Engqvist L. The mistreatment of covariate interaction terms in linear model analyses of behavioural and evolutionary ecology studies. *Animal Behaviour* 2005;70:967-71.
27. Ay C, Bencur P, Vormittag R, et al. The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and serum levels of angiotensin-converting enzyme in venous thromboembolism. Data from a case control study. *Thromb Haemost* 2007;98:777-82.
28. Diaz-Cueto L, Dominguez-Lopez P, Cantillo-Cabarcas J, Perez-Figueroa G, Arechavaleta-Velasco M, Arechavaleta-Velasco F. Progesterone receptor gene polymorphisms are not associated with preterm birth in a Hispanic population. *Int J Gynaecol Obstet* 2008;103:153-7.
29. Ricart W, Lopez J, Mozas J, et al. Body mass index has a greater impact on pregnancy outcomes than gestational hyperglycaemia. *Diabetologia* 2005;48:1736-42.
30. Cnattingius S, Bergstrom R, Lipworth L, Kramer MS. Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 1998;338:147-52.
31. Gadsby R. New treatments for type 2 diabetes--the DPP4 inhibitors. *Prim Care Diabetes* 2007;1:209-11.
32. Dekker G, Sibai B. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet* 2001;357:209-15.
33. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1256S-61S.
34. Leite DB, Junqueira MG, de Carvalho CV, et al. Progesterone receptor (PROGINS) polymorphism and the risk of ovarian cancer. *Steroids* 2008;73:676-80.
35. Fournier T, Therond P, Handschuh K, Tsatsaris V, Evain-Brion D. PPARgamma and early human placental development. *Curr Med Chem* 2008;15:3011-24.
36. Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. *J Clin Pathol* 2008;61:1296-302.
37. Morini E, Tassi V, Capponi D, et al. Interaction between PPARgamma2 variants and gender on the modulation of body weight. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1467-70.
38. Rudnicki M, Mayer G. Significance of genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular and renal disease. *Pharmacogenomics* 2009;10:463-76.
39. Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. *Circ Res* 2006;98:1123-33.
40. Shah DM. The role of RAS in the pathogenesis of preeclampsia. *Curr Hypertens Rep* 2006;8:144-52.
41. Mello G, Parretti E, Gensini F, et al. Maternal-fetal flow, negative events, and preeclampsia: role of ACE I/D polymorphism. *Hypertension* 2003;41:932-7.
42. Serrano NC, Diaz LA, Paez MC, et al. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and preeclampsia risk: evidence of small-study bias. *PLoS Med* 2006;3:e520.
43. Min SK, Takahashi K, Ishigami H, et al. Is there a gender difference between ACE gene and race distance? *Appl Physiol Nutr Metab* 2009;34:926-32.
44. Persu A, El-Khattabi O, Messiaen T, Pirson Y, Chauveau D, Devuyst O. Influence of ACE (I/D) and G460W polymorphism of alpha-adducin in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2032-8.
45. Fischer M, Baessler A, Schunkert H. Renin angiotensin system and gender differences in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2002;53:672-7.
46. Tamimi RM, Lagiou P, Mucci LA, Hsieh CC, Adami HO, Trichopoulos D. Average energy intake among pregnant women carrying a boy compared with a girl. *BMJ* 2003;326:1245-6.

2. ANTEILSERKLÄRUNG

Diese Anteilserklärung weist den Anteil des Promovenden an den Publikationen aus.

Low birth weight and elevated head-to-abdominal circumference ratio are associated with elevated fetal glycated serum protein concentrations.

*Li J, Wang ZN, **Schlemm L**, Pfab T, Xiao XM, Chen YP, Hocher B, J Hypertens, 2011*

Beitrag: 25%

Beitrag im Einzelnen:

- Studienkonzept, -vorbereitung: Mitarbeit
- Datenanalyse, Ergebnisausarbeitung: vollständig
- Manuskriptverfassung
 - o Methoden, Ergebnisse: federführend
 - o Abstract, Einleitung, Diskussion: Mitarbeit

Offspring sex determines the impact of the maternal ACE I/D polymorphism on maternal glycaemic control during the last weeks of pregnancy.

Hocher B, **Schlemm L***, Haumann H, Li J, Rahnenführer J, Guthmann F, Bamberg C, Kalk P, Pfab T, Chen YP, J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2011*

**"These authors contributed equally to this study"*

Beitrag: 40%

Beitrag im Einzelnen:

- Studienkonzept, -vorbereitung: Mitarbeit
- Probandenrekrutierung, Probengewinnung, Probenaufarbeitung, Probenanalyse (zeitlich versetztes System): Mitarbeit
- Datenanalyse, Ergebnisausarbeitung: vollständig
- Manuskriptverfassung
 - o Methoden, Ergebnisse: federführend
 - o Abstract, Einleitung, Diskussion: Mitarbeit

New evidence for the fetal insulin hypothesis: fetal angiotensinogen M235T polymorphism is associated with birth weight and elevated fetal total glycated hemoglobin at birth.

***Schlemm L**, Haumann HM, Ziegner M, Stirnberg B, Sohn A, Alter M, Pfab T, Kalache KD, Guthmann F, Hocher B, J Hypertens, 2010*

Beitrag: 80-90%

Beitrag im Einzelnen:

- Studienkonzept, -vorbereitung: Mitarbeit
- Probandenrekrutierung, Probengewinnung, Probenaufarbeitung, Probenanalyse (zeitlich versetztes System): Mitarbeit
- Datenanalyse, Ergebnisausarbeitung: vollständig
- Manuskriptverfassung
 - o Abstract, Einleitung, Methoden, Ergebnisse, Diskussion: federführend

Interaction of maternal peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala polymorphism with fetal sex affects maternal glycemic control during pregnancy.

Hocher B, **Schlemm L***, Haumann H, Poralla C, Chen YP, Li J, Guthmann F, Bamberg C, Kalache KD, Pfab T, Pharmacogenet Genomics, 2010*

*"Berthold Hocher and Ludwig Schlemm have contributed equally to this study"

Beitrag: 40%

Beitrag im Einzelnen:

- Studienkonzept, -vorbereitung: Mitarbeit
- Probandenrekrutierung, Probengewinnung, Probenaufarbeitung, Probenanalyse (zeitlich versetztes System): Mitarbeit
- Datenanalyse, Ergebnisausarbeitung: vollständig
- Manuskriptverfassung
 - o Methoden, Ergebnisse: federführend
 - o Abstract, Einleitung, Diskussion: Mitarbeit

—

Fetal sex determines the impact of maternal PROGINs progesterone receptor polymorphism on maternal physiology during pregnancy.

*Hocher B, Chen YP, **Schlemm L**, Burdack A, Li J, Halle H, Pfab T, Kalk P, Lang F, Godes M, Pharmacogenet Genomics, 2009*

Beitrag: 40%

Beitrag im Einzelnen:

- Studienkonzept, -vorbereitung: Mitarbeit
- Probandenrekrutierung, Probengewinnung, Probenaufarbeitung, Probenanalyse (zeitlich versetztes System): Mitarbeit
- Datenanalyse, Ergebnisausarbeitung: vollständig
- Manuskriptverfassung
 - o Methoden, Ergebnisse: federführend
 - o Abstract, Einleitung, Diskussion: Mitarbeit

Berlin, den 10.08.2011

3. DRUCKEXEMPLARE DER AUSGEWÄHLTEN PUBLIKATIONEN

Verweise zu den Originalarbeiten finden sich in der vollständigen Publikationsliste.

4. LEBENSLAUF

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

5. VOLLSTÄNDIGE PUBLIKATIONSLISTE

Originalarbeiten: Low birth weight and elevated head-to-abdominal circumference ratio are associated with elevated fetal glycated serum protein concentrations.

Li J, Wang ZN, Schlemm L, Pfab T, Xiao XM, Chen YP, Hocher B
J Hypertens. 2011 Sep;29(9):1712-8.
<http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0b013e328349a2e6>

Offspring sex determines the impact of the maternal ACE I/D polymorphism on maternal glycaemic control during the last weeks of pregnancy.

Hocher B, Schlemm L*, Haumann H, Li J, Rahnenführer J, Guthmann F, Bamberg C, Kalk P, Pfab T, Chen YP*
J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2011 Sep;12(3):254-61. Epub 2011 Mar 10.

*"These authors contributed equally to this study"

<http://dx.doi.org/10.1177/1470320310387843>

New evidence for the fetal insulin hypothesis: fetal angiotensinogen M235T polymorphism is associated with birth weight and elevated fetal total glycated hemoglobin at birth.

Schlemm L, Haumann HM, Ziegner M, Stirnberg B, Sohn A, Alter M, Pfab T, Kalache KD, Guthmann F, Hocher B
J Hypertens. 2010 Apr;28(4):732-9.

<http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0b013e328336a090>

Interaction of maternal peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala polymorphism with fetal sex affects maternal glycemic control during pregnancy.

Hocher B, Schlemm L*, Haumann H, Poralla C, Chen YP, Li J, Guthmann F, Bamberg C, Kalache KD, Pfab T*

Pharmacogenet Genomics. 2010 Feb;20(2):139-42.

*"Berthold Hocher and Ludwig Schlemm have contributed equally to this study"

<http://dx.doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283357337>

Fetal sex determines the impact of maternal PROGINS progesterone receptor polymorphism on maternal physiology during pregnancy.

Hocher B, Chen YP, Schlemm L, Burdack A, Li J, Halle H, Pfab T, Kalk P, Lang F, Godes M

Pharmacogenet Genomics. 2009 Sep;19(9):710-8.

<http://dx.doi.org/10.1097/FPC.0b013e328330bc7a>

Abstracts: -

Poster: CCR Evaluation 2010: "New Evidence for the fetal insulin hypothesis"

Buchbeiträge: Kompakttrainer Physiologie, Elsevier, 2011 (Kapitel: Herz, Atmung, Energie- und Wärmehaushalt; ISBN-10: 3437430122]

Vorträge: European Students Conference 2010, Berlin: "New Evidence for the fetal insulin hypothesis"

6. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

„Ich, Ludwig Schlemm, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Das fetale Geschlecht und häufige Polymorphismen maternaler kardiovaskulärer Suszeptibilitätsgene (Progesteronrezeptor PROGRINS, PPAR γ 2 Pro12Ala, ACE I/D) haben in Interaktion einen Einfluss auf die maternale Glykämiekontrolle während der Schwangerschaft“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 10.08.2011

7. DANKSAGUNG

Mein besondere Dank für vielfältige Unterstützung, ohne die die Vollendung dieser Arbeit in der vorliegenden Form nicht möglich gewesen wäre, gilt an dieser Stelle meinem Doktorvater Herrn Professor Berthold Hocher; meinem Ansprechpartner im Labor, Herrn Dipl.-Ing. Jan Rahnenführer; und dem Rest der Arbeitsgruppe, insbesondere Herrn Tim Andermann und Frau Hannah Haumann. Darüber hinaus danke ich den Frauen, die sich zu einer Teilnahme an den durchgeführten Untersuchungen bereit erklärt haben. Zu großem Dank bin ich meiner Familie verpflichtet.