

Medizinische Fakultät  
der  
Universität Duisburg-Essen

Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe

Evaluation des Serum-Afamin-Spiegels im ersten Trimenon als Prädiktor eines  
Gestationsdiabetes

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
durch die Medizinische Fakultät  
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von  
Nikolaos Koliastas  
aus Thessaloniki, Griechenland

2021

Diese Dissertation wird via DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

**DOI:** 10.17185/duepublico/74928

**URN:** urn:nbn:de:hbz:464-20211109-090640-3

Alle Rechte vorbehalten.

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer

1. Gutachter: Frau Prof. Dr. rer. nat. A. Gellhaus

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. M. Dzierko

Tag der mündlichen Prüfung: 28. September 2021

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 Gestationsdiabetes (GDM)</b> .....	<b>5</b>
<b>1.2 Pathophysiologie</b> .....	<b>5</b>
<b>1.3 Epidemiologie</b> .....	<b>6</b>
<b>1.4 Risikofaktoren</b> .....	<b>7</b>
<b>1.5 Diagnostik</b> .....	<b>8</b>
<b>1.5.1 Diagnostik eines GDM durch oralen Glukosetoleranztest</b> .....	<b>9</b>
<b>1.5.2 Screening nach Mutterschaftsrichtlinien: 50g-Screeningtest</b> ..	<b>9</b>
<b>1.5.3 Frühscreening bei Risikofaktoren</b> .....	<b>10</b>
<b>1.6 Afamin</b> .....	<b>10</b>
<b>1.7 Zielsetzung und Fragestellung dieser Arbeit</b> .....	<b>12</b>
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1 Studiendesign und allgemeiner Ablauf</b> .....	<b>13</b>
<b>2.2 Gewinnung und Bearbeitung der Blutproben</b> .....	<b>14</b>
<b>2.3 Bestimmung der Afamin-Konzentration im Serum</b> .....	<b>15</b>
<b>2.4 Statistische Methoden</b> .....	<b>18</b>
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1 Beschreibung der Studienpopulation</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2 Analyse der Afamin-Konzentration bei dGDM</b> .....	<b>23</b>
<b>3.3. Analyse der Afamin-Konzentration bei iGDM</b> .....	<b>26</b>
<b>3.4 Analyse der Afamin-Konzentration bei dGDM versus iGDM</b> .....	<b>29</b>
<b>3.5 Korrelation zwischen Afamin mit weiteren Parametern im Gesamtkollektiv</b> .....	<b>32</b>
<b>3.6 ROC Analyse und Hochrisikodiskriminierung zwischen Risikogruppe und Kontrollgruppe anhand der Afamin-Konzentration (mg/L)</b> .....	<b>34</b>

3.7 Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen GDM und BMI, Afamin-Konzentration, maternales Alter sowie Gestationsalter bei Blutabnahme.....	36
4. Diskussion.....	37
4.1 Diagnosestellung bei GDM .....	37
4.2 Mögliche maternale und kindliche Komplikationen bei GDM.....	38
4.3 Therapie des GDM.....	40
4.4 Screeningsverfahren in der Frühschwangerschaft für die Entwicklung eines GDM.....	40
4.4.1 Nüchternblutzucker.....	40
4.4.2 HbA1c.....	41
4.4.3 SHBG.....	43
4.5 Zusammenhang zwischen Afamin und Insulinresistenz.....	43
4.6 Ist Afamin ein geeigneter prädiktiver Biomarker im ersten Trimenon zur Detektion von GDM?.....	44
5. Zusammenfassung.....	48
6. Ausblick.....	49
7. Literaturverzeichnis.....	50
8. Anhang.....	61
8.1 Abkürzungsverzeichnis.....	61
8.2 Abbildungsverzeichnis.....	63
8.3 Tabellenverzeichnis.....	63
9. Danksagung.....	65
10. Lebenslauf.....	66

# 1. Einleitung

## 1.1 Gestationsdiabetes

Der Gestationsdiabetes mellitus (GDM) ist definiert als eine Glukosetoleranzstörung, die in einer Schwangerschaft erstmalig auftritt. Diese wird mit einem 75-g-oralen Glukosetoleranztest (75 g oGTT) unter standardisierten Bedingungen und qualitätsgesicherter Glukosemessung aus venösem Plasma diagnostiziert. Der manifeste Diabetes mellitus wird definiert als ein Diabetes, welcher außerhalb einer Schwangerschaft diagnostiziert auftritt. Er gehört nicht in die Kategorie des GDM.

## 1.2 Pathophysiologie

Die zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen sind bislang nicht vollständig geklärt (S3-Leitlinie 2018).

Eine genetische Prädisposition in Kombination mit maternalen Charakteristika, vor allem Übergewicht und ein negativer Lebensstil (unausgewogene Ernährung, mangelnde Bewegung), spielen eine große Rolle. Ab der 20. Schwangerschaftswoche nimmt die Insulinresistenz (IR) physiologisch zu. IR kann durch den HOMA-Index (Homeostasis-Model Assessment) bestimmt werden. Normalerweise erhöht sich die IR während der Schwangerschaft, um einen adäquaten fetomaternalen Glukosetransfer zu gewährleisten. Eine erhöhte IR in der Frühschwangerschaft erhöht die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines GDM stark (Catalano PM et al 1999).

Die erhöhte IR kann durch die endogen gesteigerte Insulinsekretion nur unzureichend kompensiert werden, so dass es zu einem relativen Insulinmangel kommt. Dieser kann in einer Gravidität zu einer Hyperglykämie führen (Claudi-Böhm S.; Böhm 2007).

Durch eine Erhöhung von Hormonen während der Schwangerschaft, vor allem von Progesteron (vor allem in der Plazenta produziert), Cortisol (in der Nebennierenrinde produziert), Prolaktin (in der Hypophyse produziert), humanes Plazentalaktogen (in der Plazenta produziert) und Östrogen (in Ovarien, in der Nebennierenrinde und in der Plazenta produziert) kommt es zu einer Veränderung der  $\beta$ -Zell-Funktion und der peripheren Insulinsensitivität (Claudi-Böhm S.; Böhm 2007, Kuhl 1998). Die Glukoseaufnahme in die Zellen wird durch eine verminderte Phosphorylierung des

intrazellulären Insulinrezeptor-Substrat-1 (IRS-1) reduziert (Kuhl 1998, Ryan; Enns 1988). Das placental growth hormone (GH-V) fördert die maternale IR, das humane Plazentalaktogen und das Prolaktin lösen eine zentrale Leptin-Resistenz aus und unterstützen die mütterliche  $\beta$ -Zell-Proliferation und somit die Insulinausschüttung (Newbern; Freemark 2011). Die veränderten Hormonspiegel während der Gravidität sind für die Entwicklung des Fetus sehr wichtig. Beeinträchtigungen des Hormonspiegels können zu Wachstums- und metabolischen Störungen führen (Newbern; Freemark 2011).

Zu der hormonellen Umstellung bei der physiologischen Insulinresistenz gesellen sich bei Schwangeren mit GDM häufig ein negativer Lebensstil (hochkalorische, fettreiche Ernährung, Adipositas, Bewegungsmangel) und Umweltfaktoren (S3-Leitlinie 2018).

Es gibt Hinweise für eine Korrelation zwischen dem GDM und dem Vitamin-D-Spiegel. Studien haben gezeigt, dass Schwangere mit einem GDM häufiger einen Vitamin-D-Mangel aufweisen (Alzaim; Wood 2013).

Darüber hinaus wird vermutet, dass bei der Pathophysiologie des GDM auch autoimmunologische Faktoren eine Rolle spielen. So werden die autoimmune Zerstörung von  $\beta$ -Zellen des Pankreas sowie der häufige Nachweis bestimmter HLA-Typen (HLA-DR2, DR3, und R4) bei GDM-Patienten beschrieben (Kuhl 1998).

Auch genetische Faktoren, wie die single nucleotide polymorphisms (SNPs), die eine wichtige Rolle in der Insulinsekretion spielen, korrelieren mit dem Auftreten eines GDM (Zhang et al. 2013). Zusätzlich wird die Erhöhung der soluble (pro)renin receptor (s(P)RR) Konzentration im ersten Trimester mit einer späteren Entwicklung eines GDM assoziiert (Watanabe et al. 2013).

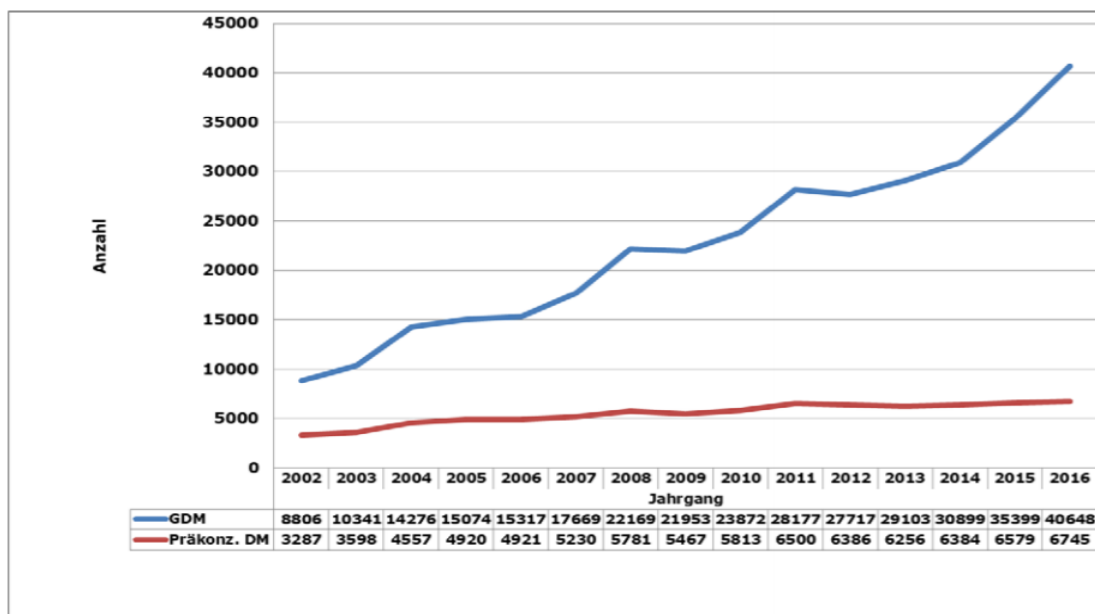
### **1.3 Epidemiologie**

In der Literatur sind Prävalenzen des GDM weltweit zwischen 1,9% und 25% beschrieben (Guariguata et al. 2014, Mwanri et al. 2015).

Die HAPO-Studie (*Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome*) ergab eine durchschnittliche Prävalenz von 17,8%, wenn man die aktuellen Kriterien der *International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG)

zugrunde legt. Diese haben sich in der HAPO-Studie etabliert (Sacks et al. 2012). An der HAPO-Studie haben sich 15 Zentren aus 9 Ländern beteiligt. Bei 25 505 schwangeren Frauen wurde zwischen der 24. und 32. Schwangerschaftswoche ein oraler Glukosetoleranztest mit 75g Glukose durchgeführt. Die HAPO-Studie untersuchte die Auswirkungen von erhöhten Blutzuckerwerten bei der Mutter auf das ungeborene Kind.

Das Institut für Qualität und Transparenz im Gesundheitswesen (IQTiG) hat im Jahr 2016 758.783 Geburten in Deutschland erfasst. Bei den Müttern lag in 40 648 Fällen (5,38%) ein GDM vor. In der Abbildung 1 sieht man, dass die GDM-Rate in den Jahren 2003 bis 2016 massiv gestiegen ist (Abbildung 1).



**Abbildung 1: GDM und präkonzeptioneller Diabetes mellitus – Absolute Häufigkeit 2002–2016 (Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG). (2018): Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Diagnostik, Therapie und Nachsorge, 2. Auflage. AWMF-Leitlinien-Register. Nr. 057/008 S. 10).**

## 1.4 Risikofaktoren

Als wichtigste Risikofaktoren für GDM zählen nach der S3 Leitlinie Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Diagnostik, Therapie und Nachsorge von 2018, familiäre Diabeteserkrankungen, die Ethnizität (Mittleren Osten, Süd- und Ostasien sowie Afrika), das mütterliche Alter > 45 Jahre, der mütterliche Body-Mass Index (BMI) >

30 kg/m<sup>2</sup> (präkonzeptionell), die Parität und das Auftreten den von GDM in früheren Schwangerschaften.

Andere Risikofaktoren sind die körperliche Inaktivität, die Geburt eines Kindes mit einem Geburtsgewicht >4500 g in einer vorherigen Schwangerschaft, eine arterielle Hypertonie, eine präkonzeptionelle Dyslipidämie, das polyzystische Ovarialsyndrom (PCOS), die KHK, die pAVK, eine zerebral-arterielle Durchblutungsstörung, die Einnahme kontrainsulinärer Medikation (z.B. Glukokortikoide) und die habituelle Abortneigung (≥3 Aborte).

## **1.5 Diagnostik**

### **1.5.1 Diagnostik eines GDM durch oralen Glukosetoleranztest**

In Deutschland entsprechen die Grenzwerte des 75 g oGTT den IADPSG-Kriterien (nüchtern: 92 mg/dl, nach einer Stunde 180 mg/dl, nach zwei Stunden 153 mg/dl). Ein auffälliger Wert reicht aus, um einen GDM zu diagnostizieren. Die Grenzwerte des 75 g oGTT gemäß IADPSG basieren auf dem 1,75-fachen Risiko (OR) für ein ungünstiges perinatales Outcome (Geburtsgewicht > 90. Perzentile, Sectiorate, neonatale Hypoglykämie, C-Peptid in Nabelschnurblut > 90%) in der HAPO-Studie (Metzger P.E. et al. 2008).

Der 75 g oGTT muss morgens nüchtern durchgeführt werden. Wenn das vorgesehene Zeitfenster von 24+0–28+0 Schwangerschaftswoche verpasst wird, kann der Test auch später durchgeführt werden. Bei unauffälligem Test im zweiten Trimenon kann dieser erneut im dritten Trimenon durchgeführt werden, wenn Hinweiszeichen für einen GDM vorliegen; dies sind vor allem sonographische Befunde, wie Polyhydramnion und *Large for gestational age* (LGA) mit Abdomenumfang > Kopfumfang oder massive Glukosurie.

Der 75 g oGTT ist zeitaufwendig (3 Stunden) und wird von vielen Frauen als unangenehm empfunden (lange Nüchternzeit, unverträgliche Glukoselösung). Zusätzlich darf der 75 g oGTT bei vielen Schwangeren aus verschiedenen Gründen, wie zum Beispiel bei akuter Erkrankung, Fieber, Hyperemesis, Einnahme oder parenteraler Applikation kontrainsulinärer Medikation am Morgen vor dem Test (z. B. Cortisol, L-Thyroxin, β-Sympathomimetika, Progesteron), Voroperation am oberen



Magen-Darm-Trakt oder außergewöhnliche körperliche Belastung, nicht durchgeführt werden.

### **1.5.2 Screening nach Mutterschaftsrichtlinien: 50-g-Screeningtest (*Glucose Challenge Test, GCT*)**

Seit 2012 ist das Blutzucker-Screening auf GDM Bestandteil der Mutterschaftsrichtlinien. Jeder Schwangeren zwischen 24+0 und 27+6 SSW muss ein GCT angeboten werden. Dieser Test wird unabhängig von der Nahrungsaufnahme und der Tageszeit im nicht-nüchternen Zustand durchgeführt. Ein Blutglukosewert von  $\geq 135$  mg/dl (7,5 mmol/l) eine Stunde nach Ende des Trinkens der Testlösung gilt als auffälliges Screening und erfordert einen diagnostischen 75 g oGTT. Wenn der Blutglukosewert nach dem GCT  $> 200$  mg/dl (11,1 mmol/l) beträgt, wird die Diagnose GDM direkt gestellt und ein 75 g oGTT ist nicht notwendig.

Vielen Schwangeren und Frauenärzten ist inzwischen bekannt, dass der GCT als Screening ungeeignet und nicht nach IADPSG/WHO-Kriterien validiert ist (siehe nächstes Kapitel). Daher wird von vielen informierten Patientinnen der 75 g oGTT primär gewünscht oder auch ärztlich primär empfohlen.

#### Schwachpunkte des GCT

Problematisch ist beim GCT die fehlende Validierung des Grenzwertes an perinatalen Endpunkten, wie es bei den diagnostischen IADPSG- Grenzwerten für den 75 g oGTT basierend auf der HAPO-Studie der Fall ist. Die Validierung erfolgte für die Sensitivität des GCT, mit der durch den GCT ein erhöhtes Risiko für GDM festgestellt werden kann. Eine große Schwäche der vorliegenden Studien bezüglich der Sensitivität des GCT ist, dass sie vor Evaluierung der IADPSG-Kriterien durchgeführt wurden. Diese sehen niedrigere Grenzwerte und die Stellung der Diagnose GDM bereits bei einem auffälligen Wert vor. Damit ist eine Übertragbarkeit der Sensitivitätsangaben auf die aktuellen diagnostischen Kriterien nicht berechtigt.

Laut einer Studie gibt es keine ausreichende Evidenz für den positiven Einfluss auf das Outcome von Mutter und Kind durch die Durchführung eines generelles Screenings mittels GCT in der Schwangerschaft (Tieu et al. 2014).

Eine weitere Einschränkung dieser Screeningmethode ist die fehlende Bestimmung des Nüchternglukosewertes. Bei der HAPO-Population wäre bei 33% der Patientinnen

die Diagnose GDM über die alleinige Erhöhung des Nüchternblutglukose ( $> 92$  mg/dl ( $5,1$  mmol/l)) gestellt worden. Diese werden im GCT nicht diagnostiziert (Metzger et al. 2014).

### **1.5.3 Frühscreening bei Risikofaktoren**

Beim Vorliegen von Risikofaktoren sollte eine frühzeitige Abklärung einer möglicherweise präexistenten Glukosestoffwechselstörung erfolgen. Es wurde gezeigt, dass Schwangerschaften mit einer Hyperglykämie vor der 24. SSW vergleichbare hohe Risiken wie Frauen mit präexistentem Diabetes (u. a. hinsichtlich perinataler Mortalität, neonataler Hypoglykämien) haben (Immanuel J.; Simmons D. 2017).

Darüber hinaus lassen sich bei Patientinnen mit Risikofaktoren für GDM die Wahrscheinlichkeit, im späteren Verlauf einen GDM zu entwickeln, beschränken und eventuell durch frühe Intervention das mütterliche und fetale Outcome verbessern.

Es ist bis heute unklar, welches Testverfahren und welche Grenzwerte in der Frühschwangerschaft am geeignetsten sind. Laut den amerikanischen Leitlinien und den IADPSG-Empfehlungen sollte eine Abnahme von Nüchternblutglukosewert und eventuell ein 75 g oGTT erfolgen, beides evaluiert nach den IADPSG-Kriterien. Die WHO empfiehlt die Anwendung der IADPSG-Kriterien des 75 g oGTT, unabhängig vom Gestationsalter.

Die IADPSG-Kriterien für den 75 g oGTT im Zeitraum 24+0–28+0 SSW sind für die Frühschwangerschaft jedoch nicht durch valide Studien evaluiert. Es liegen zurzeit auch noch keine randomisierten klinischen Studien (RCTs, *Randomized clinical trials*) vor, die das Verhältnis zwischen Benefit und zusätzlichen Kosten einer Intervention bei erhöhten Blutzuckerwerten oder Hämoglobin A1c (HbA1c) in der Frühschwangerschaft unterhalb der Kriterien für manifesten Diabetes untersuchen.

## **1.6 Afamin**

Afamin ist das vierte Mitglied der Familie der Albuminproteine und es wurde erstmalig 1994 beschrieben. Es ist ein Serumprotein mit einem Molekulargewicht von 75.000 Dalton und ist auf dem Chromosom 4 kodiert (Lichtenstein et al. 1994).

Afamin fungiert als spezifisches Bindeprotein für alpha-Tokopherol und gamma-Tokopherol. Es konnten 18 Bindestellen pro Afaminmolekül nachgewiesen werden. (Voegelé et al. 2002).

Afamin wurde als Vitamin E-bindendes Glykoprotein aus menschlichem Plasma beschrieben, das auch in extravaskulären Flüssigkeiten vorkommt (Voegelé et al. 2002). Vitamin E ist ein antioxidativer Nährstoff, der die Oxidation von Lipiden verhindert (Niki et al. 2012).

Die Konzentrationen von Afamin und Vitamin E korrelieren positiv in Follikelflüssigkeit sowie zerebrospinaler Flüssigkeit, nicht jedoch im Plasma (Jerkovic et al. 2005). Afamin konnte auch in Peritonealflüssigkeit und Samenflüssigkeit nachgewiesen werden (Voegelé et al. 2002).

Darüber hinaus wurde *in vitro* eine neuroprotektive, antioxidative Wirkung von Afamin gezeigt (Heiser et al. 2002).

Das Alter, das Geschlecht, die Zyklusphase sowie der Abstand zur letzten Mahlzeit beeinflussen die Höhe der Serumafaminwerte nicht (Dieplinger et al. 2015).

Seeber et al. konnten zeigen, dass Patientinnen mit Endometriose eine höhere Afamin-Konzentration in der peritonealen Flüssigkeit aufweisen, was ein Hinweis auf vermehrten oxidativen Stress bei Endometriose sein könnte (Seeber et al. 2010).

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass sowohl Afaminserumwerte bei Frauen mit Ovarialkarzinom signifikant niedriger waren als bei gesunden Patientinnen (Dieplinger et al. 2009), als auch dass Afamin als Parameter für das Ansprechen auf eine Chemotherapie dienen kann (Melmer et al. 2013).

Studien an unserer Klinik zeigten, dass Afaminserumwerte bei PCOS-Patientinnen erhöht sind (Königer et al. 2014). Das Ziel dieser Studie war die Serumkonzentration von Afamin bei Patientinnen mit PCOS zu untersuchen, da der oxidative Stress eine Rolle bei PCOS spielt und das Afaminprotein ein Bindungsprotein für das antioxidative Vitamin E ist.

Afamin korreliert ebenfalls mit Faktoren des metabolischen Syndroms wie zum Beispiel mit Adipositas, Hypertonie, Dyslipidämie und Hyperglykämie (Kronenberg et al. 2014), sowie mit Diabetes mellitus Typ 2 und IR (Kollerits et al. 2017).

Afamin ist bekannt als Indikator für oxidativen Stress (Kronenberg et al. 2014) und oxidativer Stress ist stark mit IR verbunden (González F et al. 2006).

In einer Studie an unserer Klinik konnte nachgewiesen werden, dass erhöhte Serumafaminwerte im ersten Trimenon, mit dem Auftreten einer Präeklampsie, besonders late-onset Präeklampsie (>34. SSW), signifikant korrelieren (Königer et al. 2018). In dieser Studie betrug die Erkennungsraten aller Präeklampsiefälle 36% bei einem Afamin-Grenzwert von 106,9 mg/l mit einem falsch positiven Wert von 10%. Im Bezug auf die late-onset Präeklampsiefälle betrug die Erkennungsrate 41,4% bei Verwendung derselben Afamin-Grenzwert mit einer falsch positivem Wert von 10%.

## **1.7 Zielsetzung und Fragestellung dieser Arbeit**

Der GDM ist eine der häufigsten Erkrankungen in der Schwangerschaft. Dieser kann in unterschiedlichen Schweregraden auftreten, die von einer gering eingeschränkten Glukosetoleranz bis zu einem manifesten Diabetes mellitus, der insulinpflichtig sein kann, reichen. Insulin ist indiziert, wenn das Blutglukose-Einstellungsziel (Blutglukosewerte nüchtern: 60-90 mg/dl, 1 Stunde postprandial:  $\leq$  140 mg/dl und 2 Stunden postprandial:  $\leq$  120 mg/dl) diätetisch nicht erreicht werden kann oder wenn eine fetale Makrosomie vorliegt.

Der Gestationsdiabetes ist eine Erkrankung, die durch den 75 g oGTT zwischen 24+0 und 28+0 SSW diagnostiziert wird. Es gibt jedoch Schwierigkeiten bezüglich der Durchführung dieses Tests wie zum Beispiel die Nüchternzeit, die Unverträglichkeit der Glukoselösung, die lange Wartezeit in der Praxis und die Glykolyse der Proben.

Bei Vorliegen von Risiken für das Auftreten eines GDM wird ein 75 g oGTT bereits im 1. Trimenon der Schwangerschaft empfohlen. Eine frühzeitige Diagnose und Behandlung eines GDM kann sehr wahrscheinlich maternale und kindliche Komplikationen reduzieren, besonders diejenigen, die vor der 24. SSW auftreten können, wie zum Beispiel die Frühgeburtlichkeit (Kleinwechter et al. 2011), das

Polyhydramnion (Vink et al. 2006), den intrauterinen Fruchttod (IUFT) (Mackin S.T. et al. 2018) und die häufigen Harnwegsinfekte (Kleinwechter H. et al. 2011). Es wäre daher sinnvoll, ein Screening zu entwickeln, welches die Hochrisikopatientinnen für GDM schon im ersten Trimenon identifizieren könnte.

Aktuell gibt es keine zuverlässigen Screeningverfahren, die schon im ersten Trimenon vorhersagen können, welche Schwangeren einen GDM entwickeln werden. Zu den bisherigen Frühscreenings für GDM gehören die Nüchternblutzucker-, die HbA1c- und die SHBG (sex hormone-binding protein) -Bestimmung.

Wie schon erwähnt, korrelieren erhöhte Afaminwerte mit dem Nachweis einer IR (Kollerits et al, 2017) sowie mit oxidativem Stress (Seeber et al. 2010, Köninger et al. 2018, Kronenberg et al. 2014). Eine erhöhte IR in der Frühschwangerschaft erhöht die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines GDM stark ( $p < 0,001$ ) (Catalano PM et al 1999).

Aufgrund dieser Korrelationen wurde in dieser Arbeit die Frage gestellt, ob das Protein Afamin ein neuer Biomarker für die frühzeitige Erkennung der Entwicklung eines GDM bereits im 1. Trimenon ist. Bei 105 Schwangeren wurde Afamin mit Hilfe einer ELISA-Bestimmung im ersten Schwangerschaftstrimenon bestimmt. Danach wurden die untersuchten Schwangeren in verschiedene Gruppen, im Bezug auf den weiteren Schwangerschaftsverlauf (ohne GDM versus mit GDM sowie versus diätetisch eingestellten (dGDM) und versus insulinpflichtigem (iGDM)), eingeteilt. Die Afamin-Konzentrationen dieser verschiedenen Gruppen wurden hinsichtlich der Fragestellung, ob die Afamin-Konzentration im ersten Trimenon im Zusammenhang mit der späteren Entwicklung eines GDM Verlauf der Schwangerschaft steht, untersucht.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign und Allgemeiner Ablauf**

Es wurden 105 Patientinnen im ersten Trimenon analysiert. In der Studie wurden alle Schwangeren eingeschlossen, welche in der Frauenklinik des Universitätsklinikums Essen im Zeitraum 2012 bis 2017 ein Ersttrimester-Screening durchführen ließen und anschließend auch dort entbunden haben. Ein schriftliches Einverständnis der

Patientinnen zur Studienteilnahme wurde eingeholt. Eine Genehmigung für diese Studie liegt bei der zuständigen Ethikkommission der Universität Duisburg-Essen vor (Nr. 12-5212-BO).

Von den insgesamt 105 Probandinnen entwickelten 34 Patientinnen im zweiten Trimenon einen GDM. Die restlichen 71 Patientinnen haben kein GDM entwickelt und wurden der Kontrollgruppe zugeteilt. Patientinnen mit endokrinen Störungen und Erkrankungen wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Die Patientinnen waren zwischen 19 und 44 Jahre alt (median 33 Jahre; Interquartilsabstand [IQR] 30–37 Jahre) und waren im Zeitraum zwischen dem 79. und 98. (Median 88. Schwangerschaftstag [IQR] 84–91) Schwangerschaftstag post menstruationem in unserer Klinik vorstellig.

Die Informationen über das Auftreten eines GDM wurden aus dem Krankenhausinformationssystem MEDICO® erhoben, wo die Akten und die kopierten Mutterpässe digital gespeichert sind. Bei fehlenden Eintragungen hinsichtlich eines 75 g oGTT im Mutterpass wurden die Ergebnisse von den Frauenärzten per Fax oder per Post angefordert. Der GDM wurde von den niedergelassenen Frauenärzten bei allen Patientinnen mittels 75 g oGTT diagnostiziert.

49 Patientinnen aus der Kontrollgruppe wurden von ihren niedergelassenen Frauenärzten nur mittels GCT gescreent. Dieser war jeweils unauffällig und es wurde kein 75 g oGTT durchgeführt. Bei den restlichen 22 Patientinnen aus der Kontrollgruppe war der GCT auffällig, aber der 75 g oGTT unauffällig (die Grenzwerte nicht überschritten) und deswegen wurden diese in die Kontrollgruppe (ohne GDM) eingeteilt.

## **2.2 Gewinnung und Bearbeitung der Blutproben**

Von jeder Patientin wurde 9 ml Blut mit der S-Monovette (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany) abgenommen. Die Blutproben wurden bei 4° C gelagert und innerhalb der nächsten vier Stunden aufbereitet. Die Weiterverarbeitung erfolgte im wissenschaftlichen Labor der Frauenklinik Essen. Anschließend erfolgte die Zentrifugation bei 2500 Umdrehungen pro Minute über 10 Minuten, um die zellulären Bestandteile des Blutes von dem Serum zu trennen. Am Ende wurden 3-4 ml der oberen

Phase abpipettiert und das gewonnene Serum auf  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Verwendung gelagert.

### 2.3 Bestimmung der Afamin-Konzentration im Serum

Die quantitative Bestimmung von Afamin erfolgte mittels Sandwich-ELISA wurde durch die technische Mitarbeiterin Gabriele Sehn im Labor der Frauenklinik durchgeführt. Die Abkürzung ELISA steht für *enzyme-linked immunosorbent assay* und bezeichnet ein immunologisches Verfahren zum Nachweis von Proteinen mittels Antikörper. Es ermöglicht quantitative Aussagen zur Konzentration oder Menge eines gesuchten Antigens. Für die Durchführung des Sandwich-ELISA benötigt man Mikrotiterplatten, die mit einem Antikörper gegen das zu bestimmende Antigen beschichtet sind. Nach Auftragen der Probe wird der sogenannte Detektionsantikörper hinzugefügt. Dieser bindet ebenfalls an das zu bestimmende Antigen. Entweder liegt dieser Antikörper direkt an ein Enzym gekoppelt vor, oder es erfolgt alternativ die Zugabe eines weiteren, diesmal enzymgekoppelten Antikörpers, der an den vorherigen Antikörper bindet. Nach Zugabe einer Substratlösung kann man eine Farbreaktion beobachten, da das gekoppelte Enzym das Substrat spaltet, aktiviert und detektierbar machen kann. Nach dem Farbwechsel wird die Reaktion mittels Fixierlösung gestoppt. Am Ende wird die Enzymaktivität photometrisch quantifiziert.

Die Bestimmung des Afamins in dieser Arbeit erfolgte mittels Sandwich-Human Afamin ELISA der Firma BioVendor Research and Diagnostic Products (Brno, Czech Republic) (Cat. No.: RD194428100R).

Die Mikroplatte mit Wells ist mit einem mononuklearen anti-humanen Afamin Antikörper beschichtet. Zudem benötigt man einen Waschpuffer, die Substratlösung und die Stopplösung, die im Kit enthalten sind.

<b>Kitbestandteile</b>	<b>Zustand</b>	<b>Quantität</b>
Mikroplatte mit Wells, mit mononuklearem anti-human Afamin Antikörper beschichtet	Einsatzbereit	96 wells
Konjugat-Lösung	Einsatzbereit	13 ml
Master Standard	Lyophilisiert	2 vials
Verdünnungspuffer	Einsatzbereit	50 ml

Waschpuffer	Konzentriert	100 ml
Substrat.Lösung	Einsatzbereit	13 ml
Stopp-Lösung	Einsatzbereit	13 ml

**Tabelle 1: Gelieferte Reagenzien**

Die Standardreihe wird folgendermaßen hergestellt: Zunächst wurde der lyophilisierte Master Standard mit der angegebenen Menge eines fertigen Verdünnungspuffers gelöst. Diese Ausgangslösung des Standards wurde über einen Zeitraum von 30 Minuten bei Raumtemperatur vorsichtig durch Schwenkbewegungen durchmischt. Die Konzentration der Ausgangslösung des Master-Standards betrug 1,6 µg/ml. Von dieser Ausgangslösung wurde eine Standardreihe mit folgenden Konzentrationen mit dem Verdünnungspuffer hergestellt:

1,0 µg/ml, 0,63 µg/ml, 0,39 µg/ml, 0,24 µg/ml und 0,15 µg/ml, siehe Verdünnungstabelle Tab. 2

Standardvolumen	Verdünnungspuffer	Konzentration
Stock	-	1.6 mg/ml
400 ml von 1.6 mg/ml	240 ml	1.0 mg/ml
400 ml von 1.0 mg/ml	240 ml	0.63 mg/ml
400 ml von 0.63 mg/ml	240 ml	0.39 mg/ml
400 ml von 0.39 mg/ml	240 ml	0.24 mg/ml
400 ml von 0.24 mg/ml	240 ml	0.15 mg/ml

**Tabelle 2: Verdünnungstabelle**

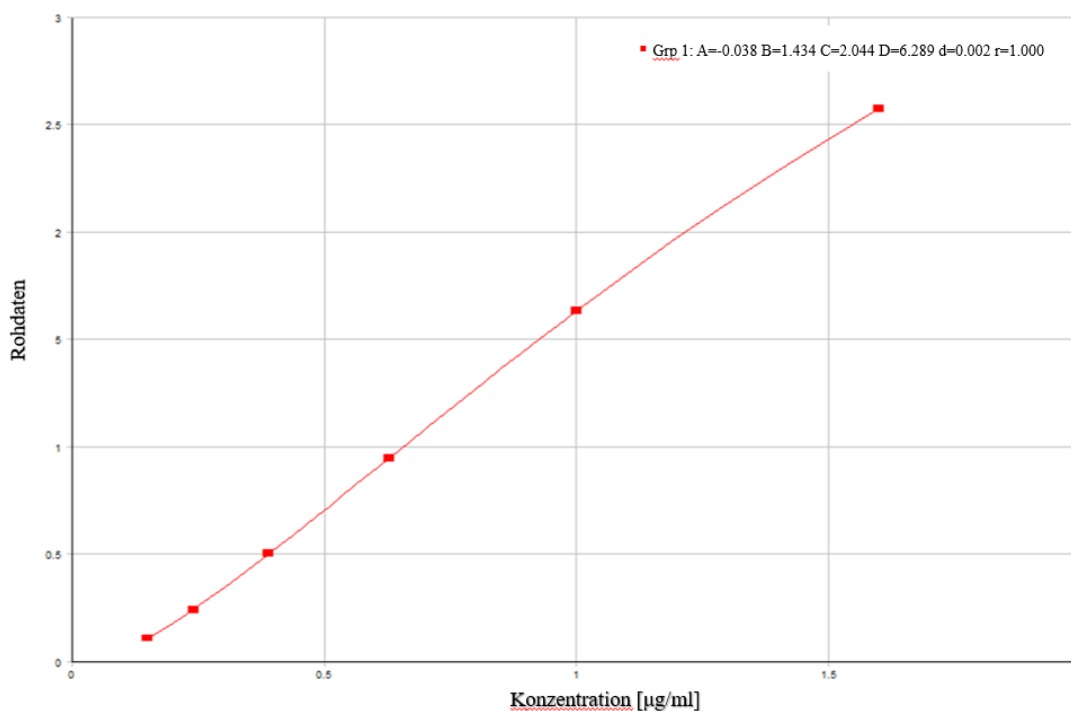
Anschließend wurde der Waschpuffer vorbereitet: Dazu wurden 100 ml des 10x Waschpuffers mit 900 ml destillierten Wasser gemischt. Das ergab eine 1x Waschlösung. Diese Menge ist für 96 Wells in der Titerplatte ausreichend.

Danach wurden 100 µl des verdünnten Standards, Verdünnungspuffer als Leerwert (*blank*) und verdünnte Serumprobe (1:100 – 1:200) in die Wells pipettiert. Es erfolgte eine einstündige Inkubation bei 37°C bei ca. 300 rpm (rounds per minute) auf einem Schüttler. Nach der Inkubation wurden die Wells mit der Waschlösung (0,35 ml pro Well) dreimal gewaschen und am Ende wurde die Platte, auf einem Papiertuch, umgekehrt gelegt und ausgeklopft, um die noch vorhandene Flüssigkeit zu entfernen.



Danach wurde 100 µl Konjugat-Lösung in jedes Well pipettiert. Daraufhin schloss sich erneut eine einstündige Inkubation bei 37°C an, bei ca. 300 rpm in einem Schüttler. Im nächsten Arbeitsschritt erfolgte die dreimalige Waschung (siehe oben), bevor die Platte wieder auf einem Papiertuch umgekehrt ausgeklopft wurde. 100 µl der Substratlösung wurden in jedes Well hinzugefügt. Danach wurde die Platte mit Alufolie abgedeckt und bei Raumtemperatur ohne Schütteln für 10 min inkubiert.

Nach deutlich erfolgter Farbreaktion (ggf. weitere 10 min inkubieren) wurde die Reaktion mittels Stopp-Lösung (50 µl) unterbrochen. Die direkt im Anschluss durchgeführte photometrische Konzentrationsbestimmung erfolgte bei einer Wellenlänge von 450 nm im Mikrotiterplatten Reader, mit einer Referenz von 630 nm. Die Software des Mikrotiterplatten-Readers berechnet automatisch die Konzentration des Afamins. Die Standardkurve wurde mittels des 4-Parameter Algorithmus erhoben, indem die mittlere Absorption des Standards (Y-Achse) gegen die bekannte Konzentration des Standards (X-Achse) logarithmisch aufgetragen wird. Die Ergebnisse der Serumproben werden als µg/ml Afamin angegeben. Es wurde nur die ELISA ausgewertet, deren r-Wert nahe 1,00 war (siehe Abb. 2).



**Abbildung 2: Afamin Standardkurve: Verdünnungen der Standardreihe von Afamin (Konzentrationen siehe Tabelle 2) aufgetragen gegen die Extinktion.**

Die verwendeten Geräte zur Versuchsdurchführung sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Geräte	Hersteller
Pipette für 0,5 - 10µl, 10-100 µl und 100-1000 µl Volumina	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Multipipette für 100µl Volumina	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
8-Kanal-Pipette für 350 µl Volumina	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Photometer für Mikrotiterplatten	Sunrise-ELISA Reader, Tecan, Männedorf, Schweiz
Schüttler GFL3006	Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel, Deutschland
Zentrifuge Mikro 200R	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
Vortex Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, USA
Pipetus	Hirschmann Laborgeräte Eberstadt, Deutschland

**Tabelle 3. Geräte und Hersteller**

## 2.4 Statistische Methoden

Eine deskriptive Statistik wurde bei der Studienpopulation durchgeführt mit Angabe von Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD), Median mit Interquartilsabstand (IQR) oder Anzahl (%). Es erfolgte ein Shapiro Wilk Test auf die Normalverteilung der Daten. Differenzen bei nicht normal verteilten Daten (Afamin, BMI, Gestationsalter bei Blutabnahme, Nüchtern glukose, 1 h Glukosewert, pH arteriell, pH venös, Basendefizit (*Base Excess*, BE), APGAR Score 1 min, APGAR Score 5 min, APGAR Score 10 min, Gestationsalter bei Geburt, Geburtsgewicht, Körperlänge, Kopfumfang) zwischen den beiden Gruppen wurden durch den Mann-Whitney Test analysiert und Differenzen bei normal verteilten Daten (maternales Alter bei Blutabnahme, Glukosewert bei dem GCT, zweiter Wert des 75 g oGTT) durch T-Test ermittelt. Die graphische Darstellung erfolgte als Box-Whisker-Plot. Die Spearman-Rang-Korrelation zwischen Afamin-Konzentration und anderen Parametern wurde durchgeführt, um monoton korrelierte Daten zu identifizieren. Bei einem p-Wert von  $\leq 0,05$  wurde die durchgeführte Analyse als statistisch signifikant gewertet. Die ROC- Kurve wurde genutzt, um zu überprüfen, ob die Afamin-Konzentration im ersten Trimenon die Patientinnen mit Gestationsdiabetes von denen ohne Gestationsdiabetes unterscheiden kann. Die Fläche

unter der Kurve (AUC) schätzt, wie wahrscheinlich es ist, richtig zwischen Hochrisikopatientinnen und Kontrollpatientinnen anhand der Afamin-Konzentration zu diskriminieren. Das Afaminprotein wurde am Ende durch binäre logistische Regression nach Gestationsalter bei Blutentnahme, nach BMI und nach mütterlichem Alter adjustiert. Der adjustierte Mittelwert ist mit 95% Konfidenzintervall (KI) angegeben. Die statistischen Auswertungen wurde durch Herrn PD Dr. Börge Schmidt aus dem Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie, Universität Duisburg-Essen, überprüft. Alle statistischen Analysen wurden mithilfe des Statistikprogramms SPSS Version 11.5 für Microsoft Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Beschreibung der Studienpopulation

Insgesamt haben 105 Patientinnen an der Studie teilgenommen. 71 Patientinnen entwickelten keinen GDM (unauffälliger 75 g oGTT oder unauffälliger GCT) und sie wurden in die Kontrollgruppe eingeteilt. Der Fallgruppe wurden 34 Patientinnen, bei denen im zweiten Trimenon ein GDM diagnostiziert wurde zugeordnet. Von diesen 34 Patientinnen mit GDM, hatten 19 einen dGDM und 15 einen iGDM. In der Kontrollgruppe wurde ein 75 g oGTT bei 22 Schwangeren vorgenommen. Die andere 49 Schwangeren absolvierten den GCT. Dieser war unauffällig und deswegen wurde kein 75 g oGTT durchgeführt. Bei allen Patientinnen der Fallgruppe wurden der 75 g oGTT durchgeführt und ein GDM diagnostiziert. In Tabelle 4 sind die klinischen und laborchemischen maternalen und neonatalen Parameter der Patientinnen, sowie die Glukosewerte und Afamin-Konzentration im mütterlichen Serum dargestellt.

<b>Parameter</b>	<b>Kontrollgruppe N=71</b>	<b>Fallgruppe mit GDM, N=34</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Afamin (mg/l)</b>			
Mittelwert (±SD)	112,46 (38,13)	128,58 (44,13)	0,03

<b>Parameter</b>	<b>Kontrollgruppe N=71</b>	<b>Fallgruppe mit GDM, N=34</b>	<b>p-Wert</b>
Medianwert (IQR)	102,54 (80,71-138,94)	122,89(104,34-144,94)	
<b>Maternales Alter bei Blutabnahme (Jahre)</b>			
Mittelwert (±SD)	33,37 (4,64)	32,94 (5,55)	0,68
Medianwert (IQR)	34,00 (31,00-36,00)	32,00 (29,00-38,00)	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
Mittelwert (±SD)	24,67 (4,44)	31,82 (8,05)	<0,001
Medianwert (IQR)	23,95 (21,97-26,12)	32,00 (24,27-38,21)	
<b>GA bei Blutabnahme (Tage)</b>			
Mittelwert (±SD)	87,70 (4,78)	86,38 (10,78)	0,96
Medianwert (IQR)	88,00 (84,00-91,00)	88,00 (83,75-91,25)	
<b>Nüchternglukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert (±SD)	79,95 (12,55) (N= 49)* <sup>1</sup>	96,06 (9,91)	<0,001
Medianwert (IQR)	80,50 (78,50-88,00) (N= 49) * <sup>1</sup>	95,50 (90,00-101,25)	
<b>1h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert(±SD)	132,09 (32,57) (N= 49) * <sup>1</sup>	170,61 (26,00) (N= 31)* <sup>2</sup>	<0,001
Medianwert (IQR)	133,50 (113,75-159,75) (N= 49) * <sup>1</sup>	180,00 (150,00-190,00) (N= 31)* <sup>2</sup>	
<b>2h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert(±SD)	99,95 (27,19) (N= 49) * <sup>1</sup>	142,33 (25,80) (N=30)* <sup>3</sup>	<0,001
Medianwert (IQR)	97,00 (81,50-125,00) (N= 49) * <sup>1</sup>	145,00 (126,50-158,00) (N=30)* <sup>3</sup>	
<b>Glukose bei dem GCT (mg/dl)</b>			
Mittelwert(±SD)	106,27 (15,37) (N= 49) * <sup>1</sup>	-	
Medianwert (IQR)	105,00 (71,50-121,50) (N= 49) * <sup>1</sup>	-	
<b>pH arteriell</b>			

<b>Parameter</b>	<b>Kontrollgruppe N=71</b>	<b>Fallgruppe GDM, N=34</b>	<b>mit p-Wert</b>
Mittelwert( $\pm$ SD)	7,28 (0,08)	7,27 (0,08)	0,69
Medianwert (IQR)	7,28 (7,25-7,32)	7,29 (7,22-7,31)	
<b>pH venös</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	7,34 (0,07)	7,35 (0,07)	0,81
Medianwert (IQR)	7,35 (7,31-7,38)	7,36 (7,31-7,39)	
<b>BE</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	-3,12 (3,76)	-3,53 (3,67)	0,59
Medianwert (IQR)	-3,00 (-4,8- 0,4)	-3,80 (-5,98-0,60)	
<b>Apgar Score 1 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	8,97 (1,08)	8,91 (0,90)	0,46
Medianwert (IQR)	9,00 (9,00-10,00)	9,00 (9,00-9,00)	
<b>Apgar Score 5 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	9,69 (0,77)	9,68 (0,68)	0,86
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (10,00-10,00)	
<b>Apgar Score 10 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	9,80 (0,62)	9,88 (0,33)	0,98
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (10,00-10,00)	
<b>GA bei der Geburt (Tage)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	272,65 (11,50)	262,59 ( 14,41)	<0,001
Medianwert (IQR)	274,00 (267,00-280,00)	265,00 (251,75-273,25)	
<b>Geburtsgewicht in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	46,30 (28,71)	48,50 (26,56)	0,68
Medianwert (IQR)	48,00 (23,00-72,00)	44,00 (30,00-69,75)	
<b>Länge in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	50,24 (28,70)	53,18 (28,08)	0,69
Medianwert (IQR)	52,00 (22,00-73,00)	55,50 (33,50-71,00)	
<b>Kopfumfang in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	52,14 (27,24)	51,50 (25,85)	0,85
Medianwert (IQR)	51,00 (32,00-72,00)	50,00 (30,25-69,25)	

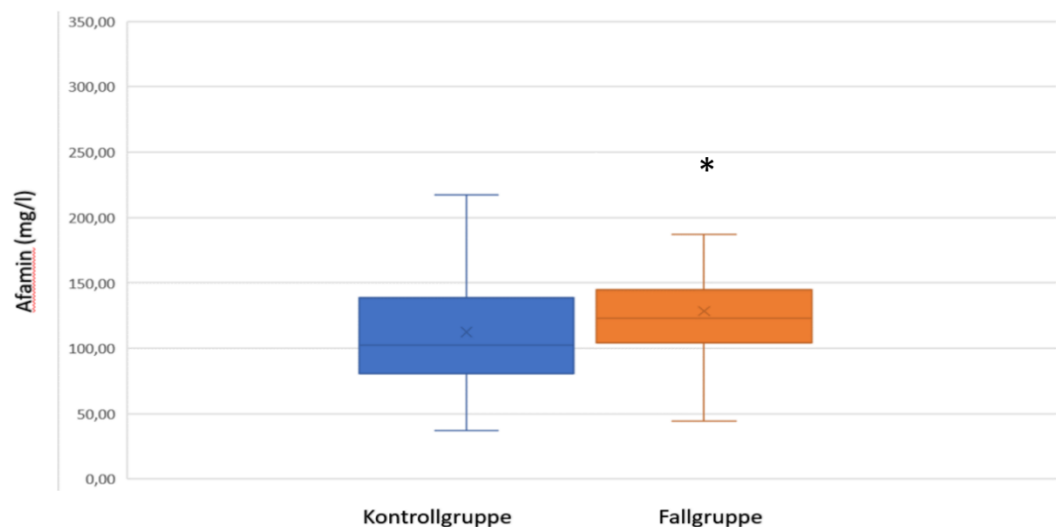
#### **Tabelle 4: Charakterisierung des Patientinnenkollektivs der Kontrollgruppe (ohne GDM) versus Fallgruppe (mit GDM).**

BMI= Body Mass Index,  $\text{kg/m}^2$  Körpergewicht dividiert durch das Quadrat der Körpergröße ( $\text{m}^2$ ), GA= Gestationsalter, 1h= eine Stunde nach Einnahme der Glukoselösung, 2h= zwei Stunden nach Einnahme der Glukoselösung, BE= Basendefizit (*Base Excess*).

\*<sup>1</sup> N=49, nur GCT durchgeführt, \*<sup>2</sup> N=31, bei 2 Patientinnen war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig, \*<sup>3</sup> N=30, bei 3 Patientinnen war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig.

Die mediane Afamin-Konzentration in der Fallgruppe beträgt 122,89 mg/l (IQR 104,34-144,94). Dieser Wert ist signifikant höher als die mediane Afamin-Konzentration bei der Kontrollgruppe (102,54 mg/l (IQR 80,71-138,94) ( $p=0,03$ )).

Die Verteilung der Afamin-Konzentration in beiden Gruppen, Kontroll- und Fallgruppe im ersten Trimenon ist in Abb. 3 graphisch schematisch dargestellt.



**Abbildung 3: Vergleich der Afamin-Konzentration mit Medianwert und IQR (in Perzentile) bei Patientinnen ohne GDM und mit GDM (\* $p=0,03$ ).**

Der mediane Glukosewert bei der Fallgruppe ist signifikant höher als der mediane Glukosewert bei der Kontrollgruppe ( $p<0,001$ ).

Der BMI beider Gruppen unterscheidet sich signifikant. Des Weiteren entbinden die Patientinnen mit GDM durchschnittlich 9 Tage früher als die Patientinnen ohne GDM. Hinsichtlich des Geburtsgewichtes und des kindlichen Outcomes (Apgar Score und pH-Werte) lässt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen.

### 3.2 Analyse der Afamin-Konzentration bei dGDM

In Tabelle 5 werden die gleichen Charakteristika zwischen Patientinnen mit dGDM (N=19) und Patientinnen ohne GDM (N=71) verglichen.

Parameter	Kontrollgruppe N=71	Fallgruppe mit dGDM N=19	p-Wert
<b>Afamin in mg/l</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	112,46 (38,13)	127, 86 (54,55)	0,18
Medianwert (IQR)	102,54 (80,71-138,94)	123,91 (98,62-144,01)	
<b>Maternales Alter bei Blutabnahme (Jahre)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	33,37 (4,64)	34,42 (5,25)	0,39
Medianwert (IQR)	34,00 (31,00-36,00)	34,00 (31,00-38,00)	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	24,67 (4,44)	31,18 (9,15)	<0,001
Medianwert (IQR)	23,95 (21,97-26,12)	30,12 (22,76-38,20)	
<b>GA bei Blutabnahme (Tage)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	87,70 (4,78)	88,32 (4,91)	0,57
Medianwert (IQR)	88,00 (84,00-91,00)	88,00 (84,00-91,00)	
<b>Nüchtern glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	79,95 (12,55) (N= 49) * <sup>1</sup>	92,84 (8,82)	<0,001
Medianwert (IQR)	80,50 (78,50-88,00) (N= 49) * <sup>1</sup>	94,00 (87,00-99,00)	

<b>Parameter</b>	<b>Kontrollgruppe N=71</b>	<b>Fallgruppe mit dGDM N=19</b>	<b>p-Wert</b>
<b>1h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	132,09 (32,57) (N= 49) * <sup>1</sup>	166,72 (26,51) (N= 18)* <sup>2</sup>	0,01
Medianwert (IQR)	133,50 (113,75-159,75) (N= 49) * <sup>1</sup>	172,50 (145,00-188,50) (N= 18)* <sup>2</sup>	
<b>2h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	99,95 (27,19) (N= 49) * <sup>1</sup>	141,11 (29,45) (N= 18)* <sup>2</sup>	<0,001
Medianwert (IQR)	97,00 (81,50-125,00) (N= 49) * <sup>1</sup>	131,50 (122,50-157,00) (N= 18) * <sup>2</sup>	
<b>pH arteriell</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	7,28 (0,08)	7,27 (0,05)	0,64
Medianwert (IQR)	7,28 (7,25-7,32)	7,27 (7,22-7,31)	
<b>pH venös</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	7,34 (0,07)	7,35 (0,058)	0,69
Medianwert (IQR)	7,35 (7,31-7,38)	7,36 (7,33-7,37)	
<b>BE</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	-3,12 (3,76)	-3,65 (3,29)	0,44
Medianwert (IQR)	-3,00 (-4,8- 0,4)	-4,10 (-6,20—0,70)	
<b>Apgar Score 1 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	8,97 (1,08)	8,95 (1,13)	0,97
Medianwert (IQR)	9,00 (9,00-10,00)	9,00 (9,00-10,00)	
<b>Apgar Score 5 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	9,69 (0,77)	9,79 (0,54)	0,70
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (9,00-10,00)	
<b>Apgar Score 10 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	9,80 (0,62)	9,89 (0,32)	0,87
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (10,00-10,00)	



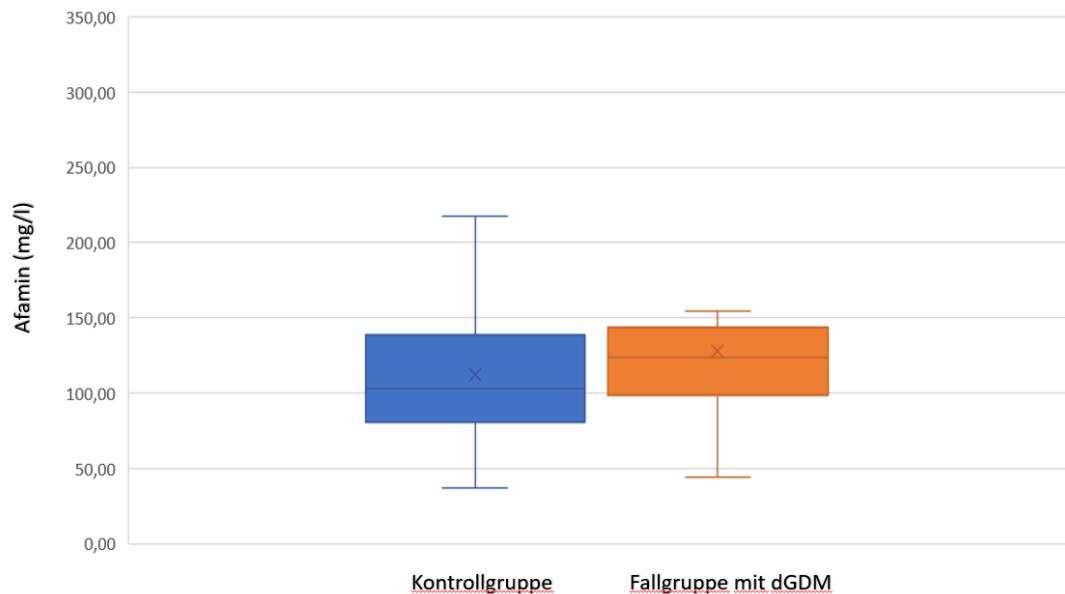
Parameter	Kontrollgruppe N=71	Fallgruppe mit dGDM N=19	p-Wert
<b>GA bei der Geburt (Tage)</b>			
Mittelwert(±SD)	272,65 (11,50)	265,84 (13,91)	<0,05
Medianwert (IQR)	274,00 (267,00-280,00)	265,84 (257,00-277,00)	
<b>Geburtsgewicht in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert(±SD)	46,30 (28,71)	42,21 (26,57)	0,59
Medianwert (IQR)	48,00 (23,00-72,00)	38,00 (23,00-66,00)	
<b>Länge in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert(±SD)	50,24 (28,70)	49,95 (26,63)	0,90
Medianwert (IQR)	52,00 (22,00-73,00)	52,00 (29,00-64,00)	
<b>Kopfumfang in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert(±SD)	52,14 (27,24)	50,68 (28,11)	0,78
Medianwert (IQR)	51,00 (32,00-72,00)	47,00 (28,00-69,00)	

**Tabelle 5: Vergleich Kontrollgruppe (ohne GDM) versus Fallgruppe (mit dGDM).**

BMI= Body Mass Index, kg/m<sup>2</sup>körpergewicht dividiert durch das Quadrat der Körpergröße (m<sup>2</sup>), GA= Gestationsalter, 1h= eine Stunde nach Einnahme der Glukoselösung, 2h= zwei Stunden nach Einnahme der Glukoselösung, BE= Basendefizit, (*Base Excess*).

\*<sup>1</sup> N=49, nur GCT durchgeführt, \*<sup>2</sup> N=18, bei 1 Patientin war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig.

Die mediane Afamin-Konzentration in der Fallgruppe mit dGDM beträgt 123,91 mg/l (IQR 98,62-144,01). Dieser Wert ist nicht signifikant höher als die mediane Afamin-Konzentration der Kontrollgruppe (102,54 mg/l (IQR 80,71-138,94) (p=0,18)). Die Afamin-Verteilung beider Gruppen ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.



**Abbildung 4: Vergleich der Afaminkonzentration mit Medianwert und IQR (in Perzentile) bei Patientinnen ohne GDM und mit dGDM (p=0,18).**

Der BMI unterscheidet sich bei diesen Gruppen signifikant. Zudem zeigt sich, dass Patientinnen mit dGDM ungefähr 9 Tage früher entbinden als diejenigen ohne GDM.

### 3.3 Analyse der Afamin-Konzentration bei iGDM

In Tabelle 6 werden Patientinnen mit iGDM (N=15) und Patientinnen ohne GDM (N=71) verglichen.

Parameter	Kontrollgruppe N=71	Fallgruppe mit iGDM N=15	p-Wert
<b>Afamin (mg/l)</b>			
Mittelwert (±SD)	112,46 (38,13)	129,50 (27,60)	0,04
Medianwert (IQR)	102,54 (80,71-138,94)	116,63 (110,57-147,72)	
<b>Maternales Alter bei Blutabnahme (Jahre)</b>			
Mittelwert (±SD)	33,37 (4,64)	31,07 (5,51)	0,10

<b>Parameter</b>	<b>Kontrollgruppe N=71</b>	<b>Fallgruppe mit iGDM N=15</b>	<b>p-Wert</b>
Medianwert (IQR)	34,00 (31,00-36,00)	29,00 (27,00-34,00)	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
Mittelwert (±SD)	24,67 (4,44)	32,64 (6,61)	<0,001
Medianwert (IQR)	23,95 (21,97-26,12)	35,25 (25,71-38,27)	
<b>GA bei Blutabnahme (Tage)</b>			
Mittelwert (±SD)	87,70 (4,78)	83,93 (15,22)	0,56
Medianwert (IQR)	88,00 (84,00-91,00)	87,00 (82,00-93,00)	
<b>Nüchterglukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert (±SD)	79,95 (12,55) (N= 49) * <sup>1</sup>	100,13 (9,97)	<0,001
Medianwert (IQR)	80,50 (78,50-88,00) (N= 49) * <sup>1</sup>	99,00 (91,00-107,00)	
<b>1h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert(±SD)	132,09 (32,57) (N= 49) * <sup>1</sup>	176,00 (25,30) (N= 13)* <sup>2</sup>	<0,001
Medianwert (IQR)	133,50 (113,75-159,75) (N= 49) * <sup>1</sup>	189,00 (167,50-190,00) (N= 13)* <sup>2</sup>	
<b>2h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert(±SD)	99,95 (27,19) (N= 49) * <sup>1</sup>	144,17 (20,23) (N= 12)* <sup>3</sup>	<0,001
Medianwert (IQR)	97,00 (81,50-125,00) (N= 49) * <sup>1</sup>	145,50 (133,75-158,00) (N= 12)* <sup>3</sup>	
<b>pH arteriell</b>			
Mittelwert(±SD)	7,28 (0,08)	7,26 (0,10)	0,90
Medianwert (IQR)	7,28 (7,25-7,32)	7,29 (7,19-7,35)	
<b>pH venös</b>			
Mittelwert(±SD)	7,34 (0,07)	7,34 (0,08)	0,95
Medianwert (IQR)	7,35 (7,31-7,38)	7,35 (7,30-7,39)	
<b>BE</b>			

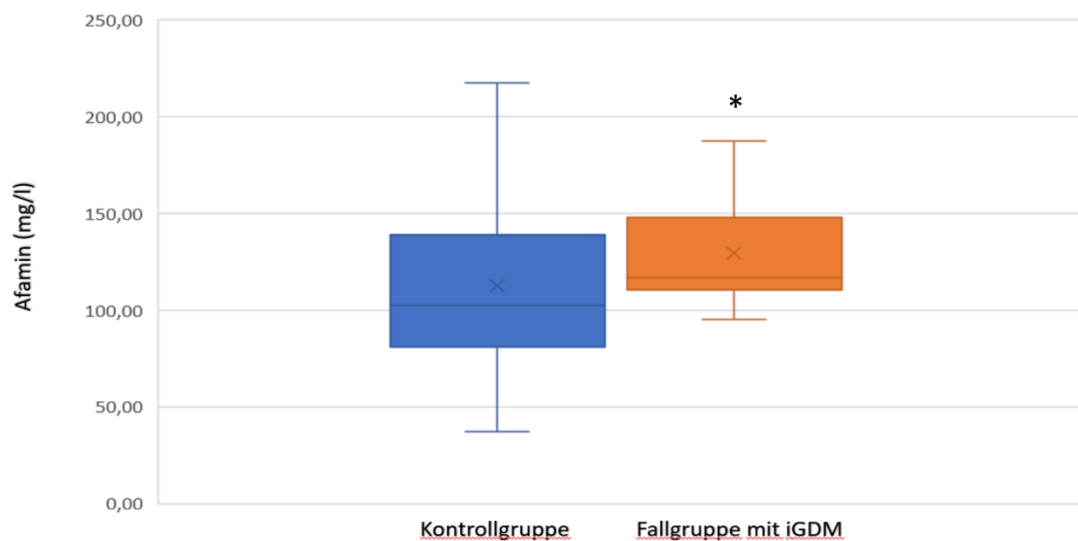
<b>Parameter</b>	<b>Kontrollgruppe N=71</b>	<b>Fallgruppe mit iGDM N=15</b>	<b>p-Wert</b>
Mittelwert(±SD)	-3,12 (3,76)	-3,37 (4,21)	0,99
Medianwert (IQR)	-3,00 (-4,8- 0,4)	-2,50 (-5,60—0,30)	
<b>Apgar Score 1 min</b>			
Mittelwert(±SD)	8,97 (1,08)	8,87 (0,52)	0,20
Medianwert (IQR)	9,00 (9,00-10,00)	9,00 (9,00-9,00)	
<b>Apgar Score 5 min</b>			
Mittelwert(±SD)	9,69 (0,77)	9,53 (0,83)	0,47
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (9,00-10,00)	
<b>Apgar Score 10 min</b>			
Mittelwert(±SD)	9,80 (0,62)	10,00 (0,35)	0,89
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (10,00-10,00)	
<b>GA bei der Geburt (Tage)</b>			
Mittelwert(±SD)	272,65 (11,50)	258,47 (14,43)	<0,001
Medianwert (IQR)	274,00 (267,00-280,00)	256,00 (251,00-271,00)	
<b>Geburtsgewicht in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert(±SD)	46,30 (28,71)	56,47 (25,16)	0,19
Medianwert (IQR)	48,00 (23,00-72,00)	58,00 ( 38,00-73,00)	
<b>Länge in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert(±SD)	50,24 (28,70)	57,27 (30,25)	0,42
Medianwert (IQR)	52,00 (22,00-73,00)	64,00 (38,00-81,00)	
<b>Kopfumfang in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert(±SD)	52,14 (27,24)	52,53 (23,60)	0,99
Medianwert (IQR)	51,00 (32,00-72,00)	52,00 (31,00-70,00)	

**Tabelle 6: Vergleich Kontrollgruppe (ohne GDM) versus Fallgruppe mit iGDM**

BMI= Body Mass Index, kg/m<sup>2</sup>körpergewicht dividiert durch das Quadrat der Körpergröße (m<sup>2</sup>), GA= Gestationsalter, 1h= eine Stunde nach Einnahme der Glukoselösung, 2h= zwei Stunden nach Einnahme der Glukoselösung, BE= Basendefizit, (*Base Excess*).

\*<sup>1</sup> N=49, nur GCT durchgeführt, \*<sup>2</sup> N=13, bei 2 Patientinnen war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig, \*<sup>3</sup> N=12, bei 3 Patientinnen war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig.

Die mediane Afamin-Konzentration in der Fallgruppe mit iGDM beträgt 116,63 mg/l (IQR 110,57-147,72) Dieser Wert ist signifikant höher als die mediane Afamin-Konzentration bei der Kontrollgruppe (102,54 mg/l (IQR 80,71-138,94) ( $p=0,04$ )) betrug. Die Afamin-Verteilung beider Gruppen wird in der Abbildung 5 schematisch dargestellt.



**Abbildung 5: Vergleich der Afamin-Konzentration mit Medianwert und IQR (in Perzentile) bei Patientinnen ohne GDM und mit iGDM (\* $p=0,04$ ).**

In diesem Vergleich gibt es weiterhin signifikante Unterschied sowohl im BMI, sowie im Zeitpunkt der Entbindung. Frauen mit iGDM entbinden ungefähr 18 Tage früher als diejenigen ohne GDM.

### 3.4 Analyse der Afamin-Konzentration bei dGDM versus iGDM

In Tabelle 7 werden Patientinnen mit dGDM (N=19) und Patientinnen mit iGDM (N=15) verglichen.

<b>Parameter</b>	<b>Fallgruppe mit dGDM N=19</b>	<b>Fallgruppe mit iGDM N=15</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Afamin (mg/l)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	127,86 (54,55)	129,50 (27,60)	0,78
Medianwert (IQR)	123,91 (98,62-144,01)	116,63 (110,57-147,72)	
<b>Maternales Alter bei Blutabnahme (Jahre)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	34,42 (5,25)	31,07 (5,51)	0,08
Medianwert (IQR)	34,00 (31,00-38,00)	29,00 (27,00-34,00)	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	31,18 (9,15)	32,64 (6,61)	0,37
Medianwert (IQR)	30,12 (22,76-38,20)	35,25 (25,71-38,27)	
<b>GA bei Blutabnahme (Tage)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	88,32 (4,91)	83,93 (15,22)	0,49
Medianwert (IQR)	88,00 (84,00-91,00)	87,00 (82,00-93,00)	
<b>Nüchterglukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert ( $\pm$ SD)	92,84 (8,82)	100,13 (9,97)	0,08
Medianwert (IQR)	94,00 (87,00-99,00)	99,00 (91,00-107,00)	
<b>1h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	166,72 (26,51) (N= 18)* <sup>1</sup>	176,00 (25,30) (N= 13)* <sup>2</sup>	0,28
Medianwert (IQR)	172,50 (145,00-188,50) (N= 18)* <sup>1</sup>	189,00 (167,50-190,00) (N= 13)* <sup>2</sup>	
<b>2h Glukose (mg/dl)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	141,11 (29,45) (N= 18)* <sup>1</sup>	144,17 (20,23) (N= 12)* <sup>3</sup>	0,76
Medianwert (IQR)	131,50 (122,50-157,00) (N= 18)* <sup>1</sup>	145,50 (133,75-158,00) (N= 12)* <sup>3</sup>	
<b>pH arteriell</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	7,27 (0,05)	7,26 (0,10)	0,95

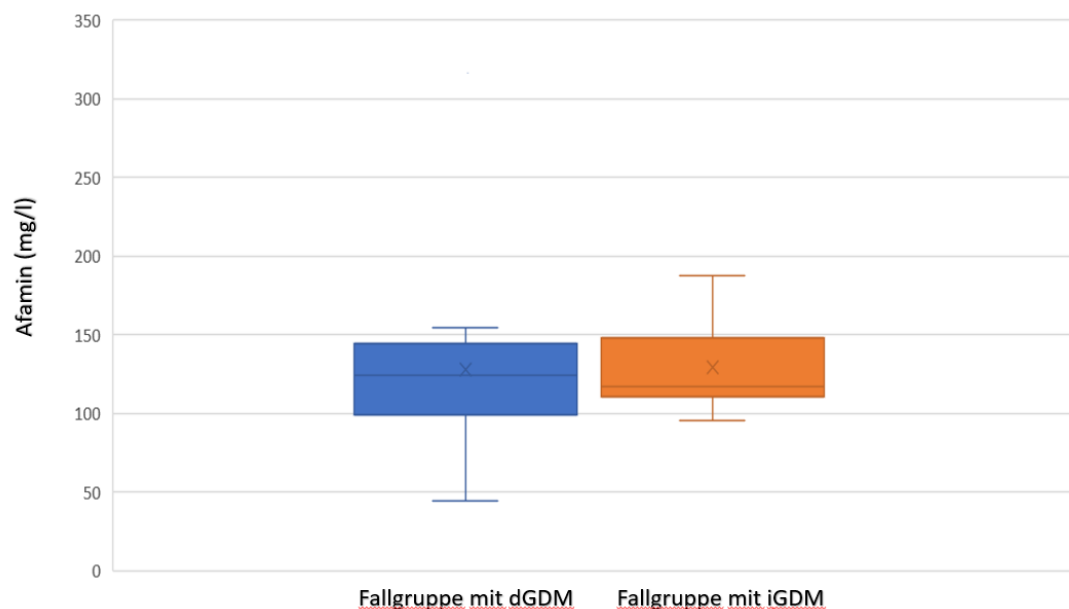
<b>Parameter</b>	<b>Fallgruppe mit dGDM N=19</b>	<b>Fallgruppe mit iGDM N=15</b>	<b>p-Wert</b>
Medianwert (IQR)	7,27 (7,22-7,31)	7,29 (7,19-7,35)	
<b>pH venös</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	7,35 (0,058)	7,34 (0,08)	0,98
Medianwert (IQR)	7,36 (7,33-7,37)	7,35 (7,30-7,39)	
<b>BE</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	-3,65 (3,29)	-3,37 (4,21)	0,56
Medianwert (IQR)	-4,10 (-6,20—0,70)	-2,50 (-5,60—0,30)	
<b>Apgar Score 1 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	8,95 (1,13)	8,87 (0,52)	0,37
Medianwert (IQR)	9,00 (9,00-10,00)	9,00 (9,00-9,00)	
<b>Apgar Score 5 min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	9,79 (0,54)	9,53 (0,83)	0,54
Medianwert (IQR)	10,00 (9,00-10,00)	10,00 (9,00-10,00)	
<b>Apgar Score 10min</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	9,89 (0,32)	10,00 (0,35)	0,89
Medianwert (IQR)	10,00 (10,00-10,00)	10,00 (10,00-10,00)	
<b>GA bei der Geburt (Tage)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	265,84 (13,91)	258,47 (14,43)	0,19
Medianwert (IQR)	265,84 (257,00-277,00)	256,00 (251,00-271,00)	
<b>Geburtsgewicht in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	42,21 (26,57)	56,47 (25,16)	0,15
Medianwert (IQR)	38,00 (23,00-66,00)	58,00 (38,00-73,00)	
<b>Länge in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	49,95 (26,63)	57,27 (30,25)	0,34
Medianwert (IQR)	52,00 (29,00-64,00)	64,00 (38,00-81,00)	
<b>Kopfumfang in Perzentile (nach Fenton)</b>			
Mittelwert( $\pm$ SD)	50,68 (28,11)	52,53 (23,60)	0,76
Medianwert (IQR)	47,00 (28,00-69,00)	52,00 (31,00-70,00)	

**Tabelle 7: Vergleich Fallgruppe (mit dGDM) versus Fallgruppe (mit iGDM)**

BMI= Body Mass Index,  $\text{kg/m}^2$  Körpergewicht dividiert durch das Quadrat der Körpergröße ( $\text{m}^2$ ), GA= Gestationsalter, 1h= eine Stunde nach Einnahme der Glukoselösung, 2h= zwei Stunden nach Einnahme der Glukoselösung, BE= Basendefizit, (*Base Excess*).

\*<sup>1</sup> N=18, bei einer Patientin war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig, \*<sup>2</sup> N=13, bei 2 Patientinnen war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig, \*<sup>3</sup> N=12, bei 3 Patientinnen war keine weitere 75 g oGTT Messung notwendig.

Die mediane Afamin-Konzentration bei der Fallgruppe mit dGDM (n=19) beträgt 123,91 mg/l (IQR 98,62-144,01). In der Fallgruppe mit iGDM (n=15) beträgt diese 116,63 mg/l (IQR 110,57-147,72). Es lässt sich bei einem p-Wert von 0,78 kein signifikanter Unterschied nachweisen. Die Afamin-Verteilung beider Gruppen wird schematisch dargestellt (Abbildung 6).



**Abbildung 6: Vergleich der Afaminkonzentration mit Medianwert und IQR (in Perzentile) bei Patientinnen mit dGDM und mit iGDM (p=0,78).**

### **3.5 Korrelation zwischen Afamin mit weiteren Parametern im Gesamtkollektiv**

Um herauszufinden, ob die Höhe der Afamin-Konzentration mit den fetomaternalen Parametern zusammenhängt, erfolgte eine Korrelationsanalyse zwischen der Afamin-Konzentration und allen erfassten Variablen unter Verwendung des Spearman-Rang-Korrelationstests (Tabelle 8). Die Afamin-Konzentration korreliert signifikant nur mit dem BMI.



<b>Parameter</b>		<b>Afamin (mg/l)</b>
<b>Maternales Alter bei Blutabnahme (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	0,01
	p-Wert	0,95
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>) (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	0,33
	p-Wert	<0,01**
<b>GA bei Blutabnahme (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,11
	p-Wert	0,25
<b>Nüchterglucose (mg/dl) (N=56)</b>	Korrelationskoeffizient	0,21
	p-Wert	0,12
<b>1h Glukose (mg/dl) (N= 53)</b>	Korrelationskoeffizient	0,14
	p-Wert	0,32
<b>2h Glukose (mg/dl) (N=51)</b>	Korrelationskoeffizient	0,25
	p-Wert	0,08
<b>pH arteriell (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,06
	p-Wert	0,52
<b>pH venös (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,02
	p-Wert	0,81
<b>BE (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	0,01
	p-Wert	0,98
<b>Apgar Score 1 min (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,16
	p-Wert	0,12
<b>Apgar Score 5 min (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,07
	p-Wert	0,51
<b>Apgar Score 10 min (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,15
	p-Wert	0,14
<b>GA bei der Geburt (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,08
	p-Wert	0,42
<b>Geburtsgewicht in Perzentile (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	-0,06
	p-Wert	0,52
<b>Länge in Perzentile (N=105)</b>	Korrelationskoeffizient	0,08
	p-Wert	0,44

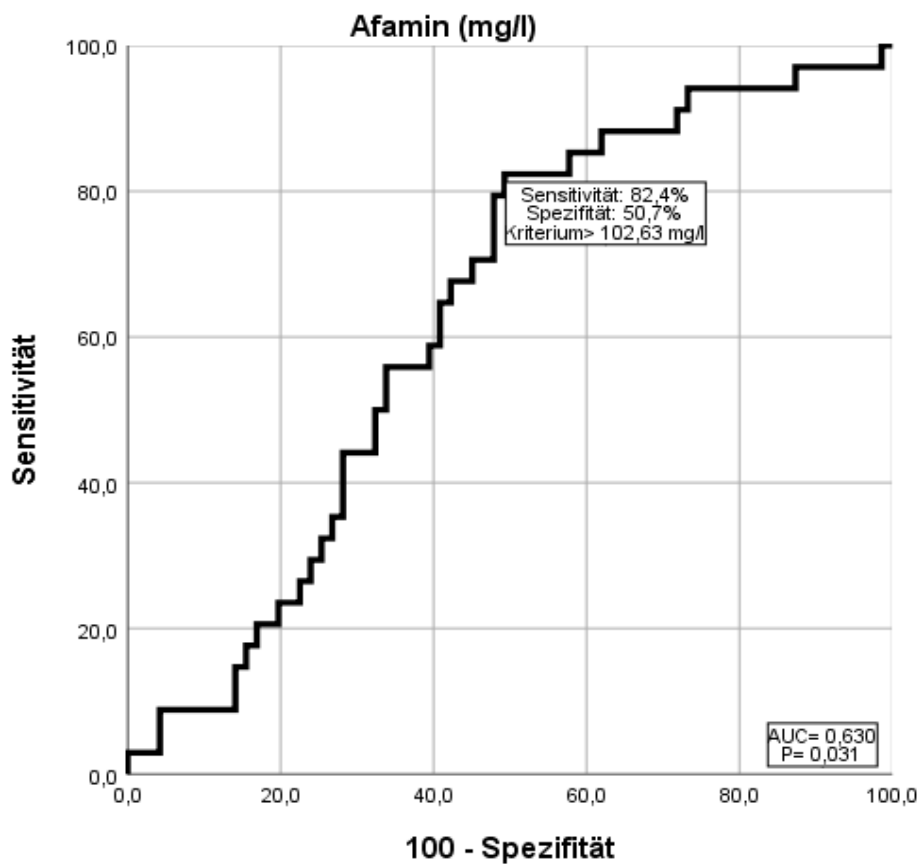
Parameter		Afamin (mg/l)
Kopfumfang in Perzentile (N=105)	Korrelationskoeffizient	-0,05
	p-Wert	0,63

**Tabelle 8. Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen Afamin-Konzentration und Patientinnen/Neugeborenen Parametern**

\*\* . $p \leq 0,01$

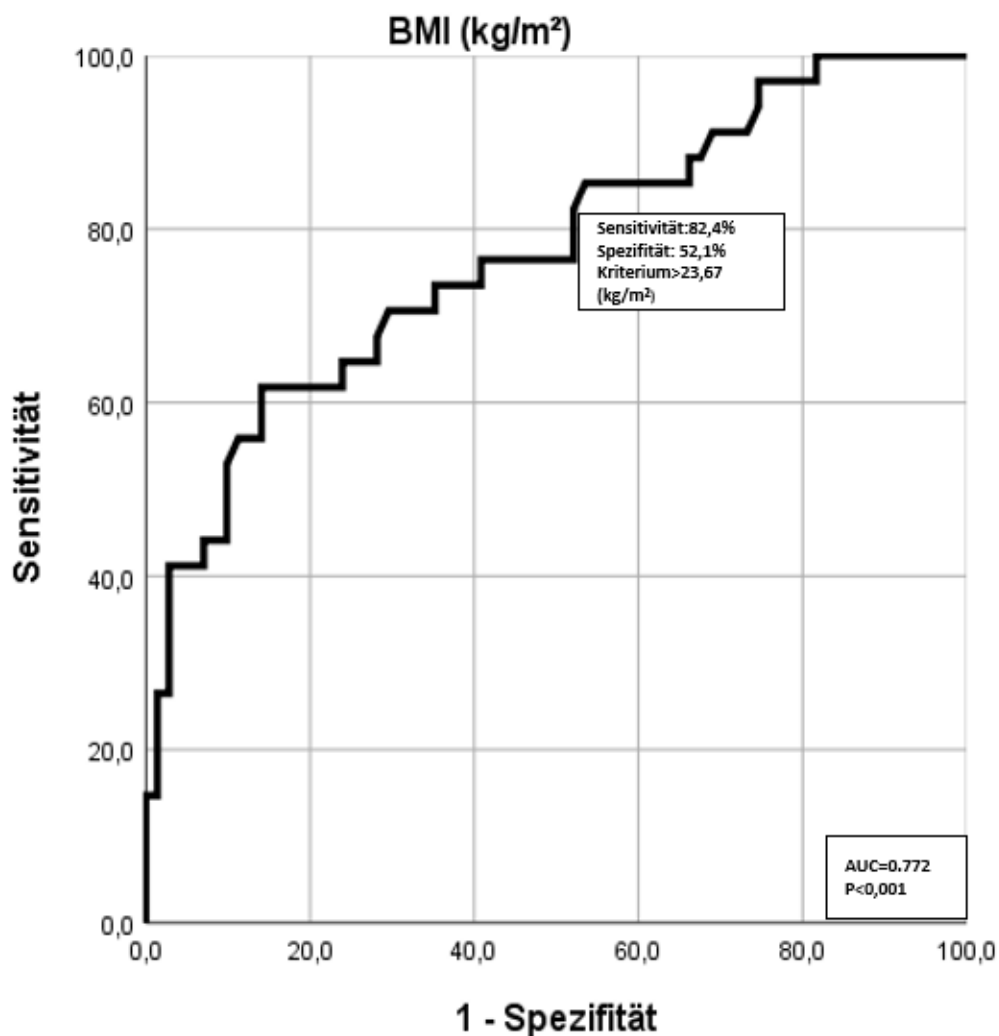
### 3.6 ROC Analyse und Hochrisikodiskriminierung zwischen Risikogruppe und Kontrollgruppe anhand der Afamin-Konzentration (mg/L)

Im Weiteren wurde eine ROC (receiver operating characteristic)-Analyse durchgeführt. Es wurde geprüft, inwiefern die Afamin-Konzentration die GDM- von der Kontrollgruppe diskriminieren kann. Die Analyse der ROC Kurve ergab eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0.63 ( $p$ -Wert=0,03) mit einer Sensitivität von 82,4% und einer Spezifität von 50,7%, wenn der Grenzwert bei 102,63 mg/l Afamin liegt.



**Abbildung 7: ROC-Kurve für die Diskriminierung zwischen Risikogruppe und Kontrollgruppe anhand der Afamin-Konzentration (mg/L).**

Bezüglich des BMI-Wertes wurde ebenfalls eine ROC-Analyse durchgeführt. Diese ergab eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0.77 (p-Wert < 0,001) mit einer Sensitivität von 82,4,8% und einer Spezifität von 52,1%, wenn der BMI-Grenzwert bei 23,67 liegt.



**Abbildung 8: ROC-Kurve für die Diskriminierung zwischen Risikogruppe und Kontrollgruppe anhand der BMI (kg/m²).**

### 3.7 Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen GDM und BMI, maternales Alter sowie Gestationsalter bei Blutabnahme

Bei einer Auswahl korrelierender Parameter wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse durchgeführt, um mögliche abhängige und unabhängige Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Parametern aufzuklären.

Es wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse zwischen dem GDM-Status als abhängige Variable und dem BMI, der Afamin-Konzentration, des maternalen Alters und des Gestationsalters bei Blutabnahme als unabhängige Variablen durchgeführt (Tabelle 9). Dabei zeigte sich eine signifikante Korrelation nur zwischen GDM und dem BMI (p-Wert<0,001) mit einem Effekt-Schätzer von 0,19.

Regressionsparameter	p-Wert	Beta-Schätzer	Odds Ratio
GA bei der Blutabnahme	0,36	-0,03	0,97
Maternales Alter	0,99	0,01	1,00
BMI	<0,001	0,19	1,203
Afamin	0,95	0,01	1,00

**Tabelle 9: Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen GDM als abhängige Variable und verschiedenen Parametern als unabhängige Variablen.**

Die gleiche Regressionsanalyse wurde sowohl mit dGDM Kollektiv (Tabelle 10) als auch mit iGDM Kollektiv (Tabelle 11) als abhängige Variable durchgeführt.

Regressionsparameter	p-Wert	Beta-Schätzer	Odds Ratio
GA bei der Blutabnahme	0,29	0,07	1,07
Maternales Alter	0,50	0,04	1,04

Regressionsparameter	p-Wert	Beta-Schätzer	Odds Ratio
BMI	0,002	0,16	1,17
Afamin	0,76	0,01	1,00

**Tabelle 10: Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen dGDM als abhängige Variable und verschiedenen Parametern als unabhängige Variablen.**

Regressionsparameter	p-Wert	Beta-Schätzer	Odds Ratio
GA bei der Blutabnahme	0,01	-0,07	0,94
Maternales Alter	0,57	-0,04	0,96
BMI	<0,001	0,25	1,28
Afamin	0,70	-0,01	1,00

**Tabelle 11: Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen iGDM als abhängige Variable und verschiedenen Parametern als unabhängige Variablen.**

Dabei zeigte sich nur zwischen dGDM und dem BMI (p-Wert: 0,002) mit einem Effekt-Schätzer von 0,16 sowie zwischen iGDM und dem BMI (p-Wert<0,001) mit einem Effekt-Schätzer von 0,25 eine signifikante Korrelation. Eine signifikante Korrelation zwischen GDM und Afamin-Konzentration, maternalem Alter sowie Gestationsalter bei der Blutabnahme konnte in keiner Regressionsanalyse beobachtet werden.

## 4. Diskussion

### 4.1 Diagnosestellung von GDM

Ziel dieser Arbeit ist zu untersuchen, ob das Protein Afamin ein neuer Biomarker für die frühzeitige Erkennung der Entwicklung eines GDM bereits im 1. Trimenon ist.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, wird GDM definiert als eine Glukosetoleranzstörung, die erstmals in der Schwangerschaft mit einem 75 g oGTT diagnostiziert wird. Die Diagnose wird bereits mit einem erhöhten Glukosewert gestellt (nüchtern: 92 mg/dl, nach einer Stunde 180 mg/dl, nach zwei Stunden 153 mg/dl) und

zeichnet sich vor allem dadurch aus, dass er nach der Schwangerschaft meist wieder verschwindet (Kleinwechter et al. 2011). Jedoch gibt es diverse Schwierigkeiten bezüglich der Durchführung des 75 g oGTT, wie zum Beispiel die Nüchternzeit und die Unverträglichkeit der Glukoselösung. Deswegen wurde im Jahr 2012 der GCT in den Mutterschaftsrichtlinien aufgenommen. Er soll allen Schwangeren zwischen 24+0 bis 28+0. SSW angeboten werden. Wird der vorgeschriebene Zeitpunkt verpasst, kann dieser Screeningtest auch noch bis zur 32+0. SSW durchgeführt werden. Bei auffälligem GCT ( $>135$  mg/dl), ist zur Diagnose eines GDM anschließend der 75 g oGTT durchzuführen. Zu den Vorteilen des GCT gehören der geringere Zeitaufwand, sowie die Tatsache, dass die Schwangere nicht nüchtern sein muss. Dies führt zu einer einfacheren Planung und dadurch u.a. dazu, dass das zweistufige Vorgehen als kostengünstiger eingeschätzt wird (Meltzer et al. 2010). Als Vorteil wird von einigen Experten (Ryan EA. 2011) auch eine höhere Zuverlässigkeit von zwei hintereinandergeschalteten Testungen statt einem Test gesehen.

Der GCT hat Sensitivität- und Spezifitätseinschränkungen. Mit dieser Untersuchung werden nur 82% der GDM-Fälle erkannt (Lewis GF et al. 1993, Sacks et al. 1989).

## **4.2 Mögliche maternale und kindliche Komplikationen bei GDM**

Es ist wichtig, frühzeitig GDM zu diagnostizieren, um maternale sowie kindliche Komplikationen zu verringern oder zu vermeiden.

Ein GDM kann sowohl bei der Mutter als auch bei dem Kind weitreichende Komplikationen verursachen.

Zu den akuten Komplikationen eines GDM gehören im Wesentlichen die erhöhte Anzahl an Harnwegsinfekten, die erhöhte Rate an Präeklampsie sowie das häufigere Auftreten einer schwangerschaftsinduzierten Hypertonie (Kleinwechter H. et al. 2011, Fadl et al. 2010). Auch Frühgeburtlichkeit, eine erhöhte Sectiorate, Dammrisse höheren Grades sowie postpartale Blutungen können zu den Komplikationen des GDM gezählt werden (Kleinwechter et al. 2011, Fadl et al. 2010). Einige Komplikationen resultieren sekundär aus einer möglichen primären Komplikation des GDM in Form einer höheren Anzahl an makrosomen Kindern (Kleinwechter et al. 2011, Schäfer-Graf et al. 2008). Als maternale Langzeitfolge ist besonders das deutlich erhöhte Diabetes-Risiko mit all

den damit verbundenen Folgeerkrankungen zu nennen (Kleinwechter et al. 2011, Löbner et al. 2006). Ebenfalls um 35-50% erhöht ist das Wiederholungsrisiko eines GDM in einer nachfolgenden Schwangerschaft (Kleinwechter et al. 2011). Dieses Risiko steigt bei einer höheren Anzahl an vorherigen GDM-Schwangerschaften weiter an (Getahun et al. 2010). Darüber hinaus steigen das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (Kessous et al. 2013), Depression (Kozhimannil et al. 2009) und metabolisches Syndrom (Akinci et al. 2010).

Eine der häufigsten und bedeutsamsten kindlichen Komplikationen ist die postnatale Hypoglykämie (Kleinwechter et al. 2011). Die akute Reaktion eines Fetus auf eine maternale Hyperglykämie in einer fortlaufenden Schwangerschaft besteht in der Steigerung der fetalen Insulinsekretion. Durch die gesteigerte Insulinsekretion kommt es zur vermehrten Einlagerung von Glykogen und einer erhöhten Adipogenese bis hin zur fetalen Makrosomie. Gleichzeitig erhöht sich durch die Makrosomie die Rate an Geburtskomplikationen, wie beispielsweise die Schulterdystokie (Kleinwechter et al. 2011). Zudem weisen die Kinder durch ihren erhöhten Körperrumfang häufig zusätzlich einen erhöhten Sauerstoffbedarf auf. Der erhöhte Sauerstoffbedarf kann postpartal häufiger zu Atemproblemen und zu einer Polyglobulie führen (Kleinwechter et al. 2011). Als weitere Folgen einer diabetischen Stoffwechsellage während einer Schwangerschaft werden von Cordero et al. kongenitale Malformationen, ein akutes Atemnotsyndrom (RDS), eine Hypokalzämie und eine Hyperbilirubinämie genannt (Cordero et al. 1998). Zudem werden in der Leitlinie eine erhöhte Rate an Frühgeburten, intrauterinem Fruchttod, als auch vermehrt Hypomagnesiämien als fetale Komplikationen genannt (Kleinwechter et al. 2011).

Zu den mit Diabetes assoziierten fetalen Embryopathien zählen Herzfehler, Neuralrohrdefekte, Omphalozele, Skelett- und Harnwegsanomalien sowie Gallengangsatresien mit Milzanomalien (Kleinwechter et al. 2018).

Für Kinder steigt mit erhöhten Glukosewerten der Mutter während der Schwangerschaft das Risiko für Adipositas, gestörter Glukosetoleranz, manifestem Diabetes, geringerer Insulinsensitivität und metabolischem Syndrom im späteren Lebensverlauf (Kleinwechter et al. 2011, Väärasmäki et al. 2009, Clausen et al. 2008, Zhu et al. 2016). Ebenso korrelieren ein erhöhter kindlicher BMI zum Zeitpunkt der

Geburt, als auch ein erhöhter maternaler und paternaler BMI, mit einem höheren Risiko für Übergewicht im weiteren Lebensverlauf des Kindes (Kleinwechter et al. 2011, Schäfer-Graf U., 2005).

### **4.3 Therapie des GDM**

Die richtige Therapie eines GDM kann die maternalen sowie die kindlichen Risiken deutlich reduzieren. Zu den Therapieoptionen, die das Outcome verbessern können gehören körperliche Bewegung (Bo 2014, Barakat et al. 2013, Padayachee 2015), medizinische Ernährungstherapie (Viana et al. 2014, Brown et al. 2017) und die Insulintherapie (Landon et al. 2009, Langer et al. 2005).

Bei Patientinnen mit GDM und Verdacht auf ausgeprägte Insulinresistenz mit sehr hohem Insulinbedarf sowie nach individueller Indikationsstellung kann die Gabe von Metformin nach therapeutischer Aufklärung als Off-Label-Use angeboten werden (National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) 2015).

### **4.4 Screeningverfahren in der Frühschwangerschaft für die Entwicklung eines GDM**

Aktuell gibt es keine zuverlässigen Screeningverfahren, die schon im ersten Trimenon vorhersagen können, welche Schwangere einen GDM entwickeln werden. Wie schon erwähnt, gehören die Nüchternblutzucker-, die HbA1c- und die SHBG -Bestimmung zu den bisherigen Frühscreenings für GDM.

#### **4.4.1 Nüchternblutzucker**

Eine Studie zeigte, dass ein Nüchternblutzucker  $> 92$  mg/dl (5,1 mmol/l) im ersten Trimester, unabhängig von anderen Risikofaktoren, hoch prädiktiv für einen späteren GDM ist (OR 8,2; 95%-KI 4,4–14,6) (Corrado et al. 2012).

In einer anderen Studie wurden der Nüchternblutzucker und der präkonzeptionelle BMI als Prädiktoren für späteren GDM untersucht. Hier zeigten sich beide als gleich gute unabhängige GDM-Prädiktoren. Der Nüchternblutzucker mit Cutoff-Werten von 80 und 85 mg/dl (4,4 und 4,7 mmol/l) zeigte dabei eine Sensitivität von 75 bzw. 55% und eine Spezifität von 52 bzw. 75% (Riskin-Mashiah et al. 2010).



In einer großen chinesischen Studie wurde in der Frühschwangerschaft von 17000 Frauen der Nüchternblutzucker bestimmt und zwischen 24+0 und 28+0 SSW ein 75 g oGTT durchgeführt. Der Median des Nüchternblutzuckers lag bei 82,8 (78,84–89,1) mg/dl (4,6 (4,38–4,95) mmol/l). Es erfolgte keine therapeutische Intervention aufgrund des Nüchternblutzuckers. Bei einem Nüchternblutzucker von 91,8 mg/dl (5,1 mmol/l) stieg die Rate an späteren GDM-Diagnosen deutlich an. Aber nur 1/3 der Schwangeren mit einem Nüchternwert zwischen 91,8–100,8 mg/dl (5,1–5,6 mmol/l) hatten einen Wert > 91,8 mg/dl (5,1 mmol/l) beim 75 g oGTT mit 24+0–28+0 SSW. Aus diesem Grund halten die Autoren diesen Cutoff für Intervention in der Frühschwangerschaft für zu niedrig und mit zu viel Belastung für die Frauen und das Gesundheitssystem. Sie empfehlen laut einer ROC Analyse (AUC 0,64) 100,8 mg/dl (5,6 mmol/l) als Cutoff mit einer Spezifität von 99%, PPV von 0,56 und NPV von 0,83 (Zhu et al. 2013).

#### **4.4.2 HbA1c**

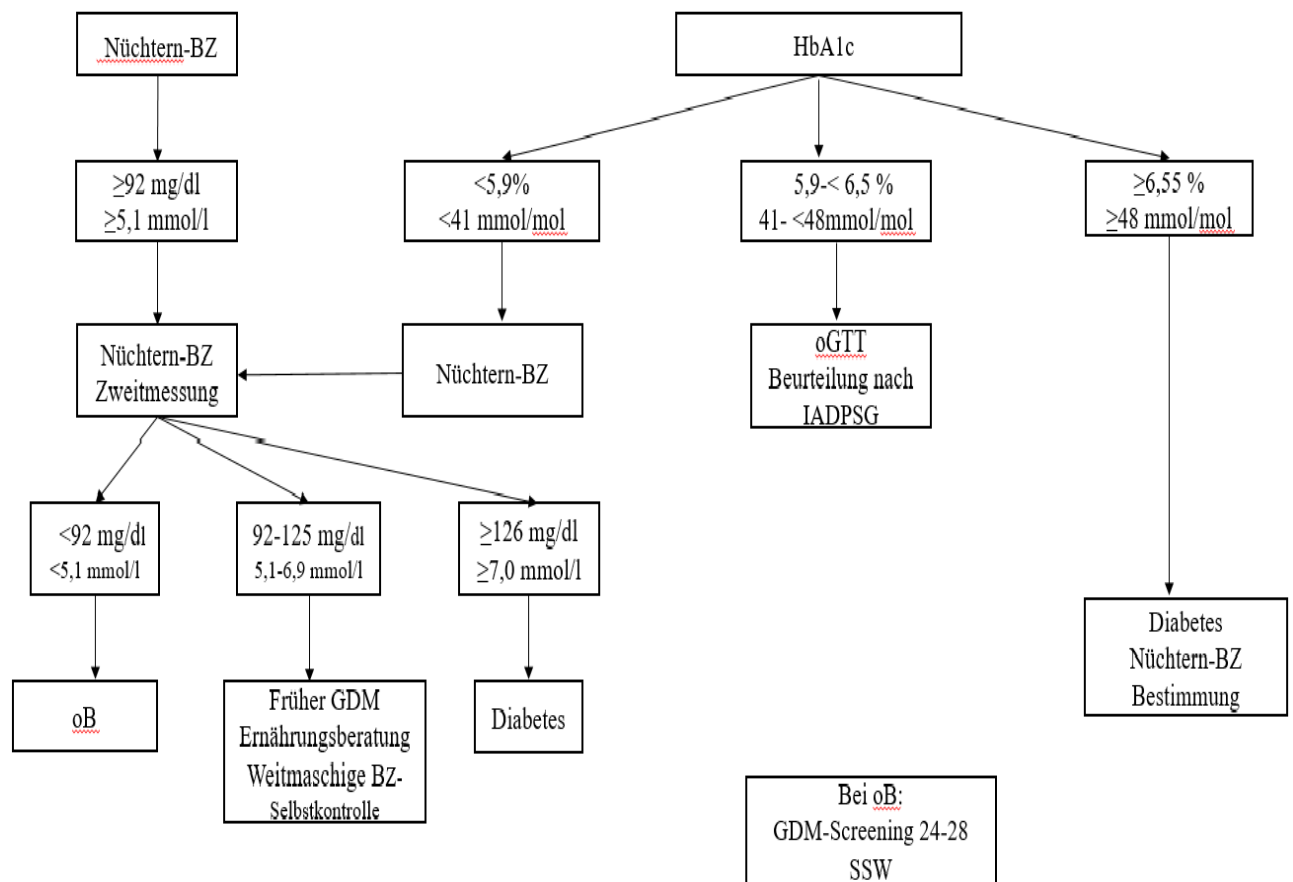
Der HbA1c wird am Anfang der Schwangerschaft reduziert. Die niedrigsten Werte werden im frühen 2. Trimenon beobachtet. Die HbA1c-Werte sind während der Schwangerschaft niedriger als bei Nichtschwangeren.

In einer Studie, in welcher HbA1c-Werte in der Frühschwangerschaft bestimmt wurden, wären durch einen HbA1c-Grenzwert von > 5,9% (41 mmol/l) alle Fälle von klinisch manifestem Diabetes erfasst worden. Bei 8197 Schwangeren, die in der Frühschwangerschaft einen HbA1c < 5,9% (41 mmol/l) hatten wurde bei keiner Patientin ein Diabetes im zweiten Trimenon festgestellt. Ein GDM wurde im weiteren Verlauf der Schwangerschaft bei 12% der Frauen mit HbA1c < 5,9% in der Frühschwangerschaft und bei 64% mit HbA1c 5,9–6,4% diagnostiziert (Hughes et al. 2016). Eine andere Studie hat gezeigt, dass ein HbA1c-Wert von über 5,9% prädiktiv für ein ungünstiges Schwangerschaftsoutcome und hochspezifisch (98%) für GDM in der späteren Schwangerschaft ist (Mañé et al. 2016). In einer Arbeit aus der Schweiz hatten alle Frauen mit HbA1c > 6,0% (42 mmol/mol) einen pathologischen 75 g oGTT (IADPSG) im Zeitraum 24+0–28+0 SSW (Amylidi et al. 2016).

Der HbA1c hängt vom Hb ab, was bei einer Anämie zu falsch niedrigen Werten führen kann. Es muss auch betont werden, dass die Verwendbarkeit des HbA1c als Frühscreening, aufgrund der zulässigen Abweichung von 18%, für die externe Qualitätskontrolle aktuell eingeschränkt ist. Deshalb sollte die

Nüchternblutzuckerbestimmung zum Screening in der Frühschwangerschaft bevorzugt werden.

Die S3-Leitlinien empfehlen die Durchführung einer Nüchternblutglukosebestimmung bei Vorliegen von Risikofaktoren. Wird alternativ ein HbA1c gemessen, soll bei einem Wert von 5,9–6,5% (40–48 mmol/mol) ein 75 g oGTT durchgeführt werden, sowie ab einem HbA1c von < 5,9% eine Nüchternblutglukosebestimmung. Bei einem durch Zweitmessung am folgenden Tag bestätigten Nüchternblutglukosewert von 92 mg/dl bis 126 mg/dl (5,1–7,0 mmol/mol) soll die Diagnose GDM in der Frühschwangerschaft gestellt werden und eine Ernährungsberatung und Blutzuckerselbstkontrollen stattfinden. Bei negativem Test in der Frühschwangerschaft soll lt. Mutterschaftsrichtlinien in der 24+0–28+0 SSW ein GDM-Screening erfolgen, bevorzugt jedoch durch 75 g oGTT.



## **Abbildung 9: Diabetes-Screening in der Frühschwangerschaft bei Risiko für Diabetes oder GDM (S3 Leitlinien 2018).**

BZ= Blutzucker, oGTT= oraler Glukosetoleranztest, GDM= Gestationsdiabetes, oB= ohne Befunde, IADPSG= International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups

### **4.4.3 SHBG**

Ein anderer Marker, der im ersten Trimenon mit der Entwicklung eines GDM zu korrelieren scheint, ist das SHBG. Das Insulin reguliert die Ausscheidung des SHBG in der Leber (Plymate et al. 1988), dabei haben niedrige SHBG-Konzentrationen in der Frühschwangerschaft wahrscheinlich einen Einfluss auf die Entwicklung eines GDM (Thériault S et al. 2016). In einer Metaanalyse war das SHBG bei Patientinnen mit GDM 41,5 nmol/l (95% CI: 23.9, 59.1,  $p < 0,01$ ) signifikant niedriger als bei Patientinnen ohne GDM. Jeder Anstieg des SHBG um 50 nmol/l korreliert signifikant mit einem Odds ratio von 0,85 (95% CI: 0.76-0,95,  $p = 0.01$ ) für GDM (Meng-Ying et al. 2020).

### **4.5 Zusammenhang zwischen Afamin und Insulinresistenz**

Das Afaminprotein ist ein Indikator für oxidativen Stress. Der Nachweis von oxidativem Stress korreliert stark mit IR und Adipositas (Gonzales et al. 2006). Andere Studien haben gezeigt, dass erhöhte Afamin-Konzentrationen mit IR und erhöhten Glukosewerten assoziiert sind (Kronenberg et al. 2014, Kollerits et al. 2017, Köninger et al. 2014). Zusätzlich erhöht eine erhöhte IR in der Frühschwangerschaft die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines GDM stark (Catalano PM et al. 1999).

Während der Schwangerschaft erhöht sich die IR mit dem Gestationsalter (Catalano et al. 1993). Die physiologische Abnahme der Insulinsensitivität in der Schwangerschaft scheint ein Mechanismus des fetomaternalen Glukosetransfers zu sein (Catalano et al. 2003). Interessanterweise erhöht sich die IR ähnlich bei jeder Frau, unabhängig von der präkonzeptionellen IR oder einer möglicherweise vorliegenden Adipositas. Das hat als Konsequenz, dass Frauen mit erhöhter IR vor der Konzeption einen auffälligen Glukosemetabolismus in der Schwangerschaft besitzen. Dies führt zu einem auffälligen fetomaternalen Glukosetransfer, gefolgt von ungünstigem Outcome während der Schwangerschaft. Mediatoren (Östrogene, Progesteron, HPL (*Human Placental Lactogen*), Cortisol) des zunehmenden Schweregrades einer IR werden von der Plazenta produziert (Yamashita et al. 2000). Der Tumornekrosefaktor alpha (TNF- $\alpha$ )

spielt eine wichtige Rolle in der Physiologie der IR (Kirwan et al. 2002). Viele Zytokinen, die in der Plazenta produziert werden sind nahezu identisch mit den Zytokinen (Adipozytokinen), die das Fettgewebe des Körpers produziert (Hauguel-de Mouzon; Guerre-Millo 2006). Das erklärt die Tatsache, dass übergewichtige Frauen ein höheres GDM-Risiko haben. Es ist jedoch auch bekannt, dass die Konzentrationen von IR-Mediatoren wie TNF- $\alpha$  unter oxidativen Stressbedingungen erhöht sind (Gonzales et al. 2012). TNF- $\alpha$  selbst hemmt die Insulinaktivität (Hotamisligil et al. 1994). Ein bekannter IR-Zustand, der mit dem Vorhandensein von Mediatoren für oxidativen Stress verbunden ist, ist das PCOS (Gonzales et al. 2012, Diamanti-Kandarakis et al. 2009). In Bezug auf den Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und Glukosestoffwechsel scheinen Afamin-Konzentrationen auf das Vorhandensein von IR bei PCOS-Patienten hinzuweisen, wie zuvor in unserer Klinik gezeigt wurde (Köninger et al. 2014).

In Übereinstimmung mit den Empfehlungen der IADPSG zur Entwicklung von einfacheren und kostengünstigeren Strategien, bei denen kein 75 g oGTT durchgeführt werden muss, könnte die Serum-Afaminkonzentrationen ein geeigneter und leicht anwendbarer Biomarker sein, mit dem die Entstehung eines GDM im zweiten Trimenon, schon im ersten Trimenon vorhergesagt werden kann.

#### **4.6 Ist Afamin ein geeigneter prädiktiver Biomarker im ersten Trimenon zur Detektion von GDM?**

Das Ziel dieser Studie war, das Afaminprotein im Blutserum als eine neue Screeningsmethode für einen GDM zu bewerten. Eine frühzeitige Erkennung von Schwangeren mit erhöhtem Risiko für einen GDM hätte als Folge die frühzeitige Durchführung eines 75 g oGTT und die rechtzeitige Einstellung der Glukose mit dem Ziel eines besseren Outcomes. Besonders die GDM-assozierten Risiken, die vor der 24. SSW auftreten, wie zum Beispiel die Frühgeburtslichkeit (Kleinwechter et al. 2011), das Polyhydramnion (Vink et al. 2006), der IUFT (Mackin S.T. et al. 2018) sowie häufige Harnwegsinfekte (Kleinwechter H. et al. 2011), könnten eventuell reduziert werden. Bei Nicht-Risikopatientinnen könnte vielleicht auf einen 75 g oGTT verzichtet werden, der aufwendiger als die Afaminbestimmung ist.

Da die Patientin bei der Bestimmung der Afamin-Konzentration nicht nüchtern sein muss (Dieplinger et al. 2013, Dieplinger H.; Dieplinger B. 2015), ist das Afaminprotein als Biomarker für GDM gut geeignet.

Die Verwendung von Serum-Afaminkonzentrationen weist jedoch auch Einschränkungen auf. Da hohe Afamin-Konzentrationen auf IR hinweisen, können die Ergebnisse beim Nachweis von GDM unspezifisch sein. Andere Erkrankungen wie Präeklampsie (Hubalek et al. 2014, Königer et al. 2018) oder Frühgeburten sind ebenfalls mit IR assoziiert (Amin-Nyame et al. 2004, Abhari et al. 2014).

In dieser Arbeit wurde die Afamin-Konzentration von 105 Schwangeren im ersten Trimenon untersucht. Es wurde versucht erhöhte Afamin-Konzentrationen mit der Entwicklung eines GDM zu korrelieren.

In unserer Analyse konnten wir zeigen, dass die Afamin-Konzentrationen bei Patientinnen mit GDM im Vergleich zu Patientinnen ohne GDM signifikant erhöht waren. Ebenfalls signifikant erhöht waren die Afamin-Konzentrationen von Patientinnen mit iGDM im Vergleich zu denen ohne GDM. Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Afamin-Konzentration zwischen Schwangeren mit dGDM und Schwangeren ohne GDM, sowie zwischen Patientinnen mit dGDM und Schwangeren mit iGDM, wurde nicht beobachtet.

Der BMI im ersten Trimenon war signifikant höher bei Patientinnen mit GDM verglichen zu Patientinnen ohne GDM, was zu erwarten war, da die Adipositas als Risikofaktor für GDM zählt (Torloni et al. 2009).

Ein signifikanter Unterschied zwischen Schwangeren mit dGDM und Schwangeren mit iGDM wurde nicht beobachtet.

Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Patientinnen mit GDM früher entbunden haben, besonders im Falle eines iGDM. Dies ist insofern nachvollziehbar, da eine frühzeitige Geburtseinleitung bei iGDM sehr oft indiziert ist.

Interessanterweise wurde in unserer Arbeit kein signifikanter Unterschied sowohl hinsichtlich Geburtsgewicht als auch kindlicher Körpermaße beobachtet, obwohl bekannt ist, dass GDM in fetaler Makrosomie resultieren kann (Kleinwechter et al. 2011, Schäfer-Graf; Kleinwechter 2008).

In unserem Patientenkollektiv konnten wir nicht nachweisen, dass GDM mit dem maternalen Alter korreliert. Dies steht im Gegensatz zu einer Studie, die gezeigt hat, dass mit zunehmendem Alter das Risiko, einen GDM zu entwickeln, stetig ansteigt (Teede et al. 2011). Dies könnte durch unser kleines Kollektiv erklärt werden.

Beim neonatalen Outcome gab es keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen.

Es ist bekannt, dass Afamin mit dem maternalem BMI korreliert (Kronenberg et al. 2014). Diese Korrelation konnten wir in unserer Studie bestätigen.

In einer Studie unserer Klinik (Königer et al. 2018) konnte nachgewiesen werden, dass das Afaminprotein im Serum, unabhängig vom BMI, bei Frauen mit GDM signifikant höher ist, als bei den Frauen ohne GDM. Die Afaminwerte im ersten Trimenon bei Patientinnen, die im zweiten Trimenon einen auffälligen 75 g oGTT hatten, waren signifikant höher (Mittelwert (MW) 113.4 mg/l; 95% CI, 106.4–120.5 mg/l) im Vergleich zu den Frauen die keinen GDM entwickelten (MW 87.2 mg/l; 95% CI, 79.7–94.7 mg/l;  $p < 0.0001$ ). Patientinnen mit iGDM (MW 132.8 mg/l; 95% CI, 124.6–141.0 mg/l) hatten signifikant höhere Afaminwerte im Vergleich zu den Schwangeren mit dGDM (MWt, 91.2 mg/l; 95% CI, 82.4–100.0 mg/l;  $p < 0.0001$ ), sowie zu den Frauen ohne GDM (MW 84.7 mg/l; 95% CI, 78.4–91.1 mg/l;  $p < 0.0001$ ). Ein signifikanter Unterschied bezüglich der Afamin-Konzentration zwischen Frauen mit dGDM und Frauen ohne GDM wurde nicht beobachtet ( $p = 0,23$ ).

In der durchgeführten binären logistischen Regressionsanalyse mit dem GDM als abhängige Variable wurde gezeigt, dass die Afamin-Konzentration nicht mit der Diagnose GDM (weder mit dem dGDM noch mit dem iGDM) allein signifikant korreliert.

Die Diskrepanz zwischen dieser Arbeit und der Arbeit von Königer et al. 2018 lässt sich auf 4 Tatsachen zurückführen. Königer et al. untersuchten Frauen in dem Zeitraum vom 2003 bis 2014. Vor 2011 waren die Grenzwerte des 75 g oGTT (Nüchtern glukose: 95 mg/dl, 1h Glukose: 180 mg/dl und 2h Glukose: 155 mg/dl) anders definiert als heute. In unserer Arbeit haben wir nur Schwangere aus dem Zeitraum 2012 bis 2017 untersucht. Ein anderer Grund für die Diskrepanz zwischen beiden Studien ist die Aufnahme des GCT in die Mutterschaftsrichtlinien im Jahr 2012. Die Mehrheit der Patientinnen, die von Königer et al. untersucht wurden, sind im Gegensatz zu unserem Kollektiv mittels 75 g oGTT gescreent worden. Zusätzlich wurden von unserer Arbeit

Frauen mit endokrinen Störungen ausgeschlossen. In der Studie von Köninger hatten 8 von 59 Frauen mit GDM, ein bekanntes PCOS. Letztlich haben wir in unserer Arbeit die Medianwerte von allen Parametern korreliert, im Gegensatz zu Köninger et al., in der die Mittelwerte in den statistischen Analysen verwendet wurden.

Eine signifikante Korrelation mit dem GDM in der binären logistischen Regressionsanalyse konnte nur mit dem BMI gezeigt werden. Der signifikante Zusammenhang zwischen BMI im ersten Trimenon konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden (Bouthoorn et al. 2015, Kun et al. 2011, Teede et al. 2011, Torloni et al. 2009).

Des Weiteren wurde die Diskriminationsfähigkeit der Afamin-Konzentration und des BMI überprüft, das heißt die Fähigkeit zwischen Patientinnen mit GDM und Patientinnen ohne GDM zu unterscheiden. Die durchgeführte ROC Kurve Analyse für das Afamin mit einem Cut off von 102,63 mg/l ergab eine AUC von 0,63 mit einer Sensitivität von 82,4% und einer Spezifität von 50,7%. Dies bedeutet, dass 82,4% der Patientinnen mit GDM erkannt werden würden, wenn das Afaminprotein im ersten Trimenon mehr als 102,63 mg/l beträgt. Bei diesem Cut-off Wert würden 50,7% ohne GDM richtig erkannt. Der Rest aber wäre falsch positiv getestet.

Die ROC Kurve Analyse für den BMI mit einem Cut-off von 23,67 kg/m<sup>2</sup> zeigte eine AUC von 0,772 mit einer Sensitivität von 82,4% und einer Spezifität von 52,1%.

Schlussendlich konnte in unserer Studie nicht nachgewiesen werden, dass das Afaminprotein ein besserer Frühprädiktor für einen GDM im ersten Trimenon ist, im Vergleich zu der Nüchtern glukose und dem HbA1c.

## 5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, ob das Protein Afamin ein neuer Biomarker für die frühzeitige Erkennung der Entwicklung eines Gestationsdiabetes (GDM) bereits im 1. Trimenon ist. Untersucht wurden die Afamin-Konzentrationen von schwangeren Patientinnen im ersten Trimenon (n=105). Davon haben 34 Frauen einen GDM im Verlauf der Schwangerschaft entwickelt.

Diese Studie zeigte erhöhte Serumafaminwerte im ersten Trimenon bei Schwangeren, die im Verlauf der Schwangerschaft einen GDM entwickelten im Vergleich zu Patientinnen ohne GDM. Die Serumafaminwerte bei Schwangeren mit insulinpflichtigem GDM (iGDM) waren signifikant höher als bei Schwangeren ohne GDM. Ein signifikanter Unterschied in der Afamin-Konzentration zwischen Patientinnen mit diätetisch eingestelltem GDM (dGDM) und Patientinnen mit iGDM, konnte nicht beobachtet werden. Kein Unterschied wurde auch zwischen Probandinnen mit dGDM und gesunden Probandinnen beobachtet. Allerdings wurde nach einer binären logistischen Regressionsanalyse mit dem GDM als abhängige Variable gezeigt, dass die Afamin-Konzentration allein nicht mit dem GDM (weder mit dem dGDM noch mit dem iGDM) signifikant korreliert.

In dieser Studie konnte jedoch dargelegt werden, dass der BMI ein guter Marker für die Entwicklung eines GDM ist. Wichtig ist auch, dass die BMI-Bestimmung zeit- und kostengünstiger ist als die Afaminbestimmung. Von daher erscheint es sinnvoll, übergewichtige Frauen frühzeitig auf GDM zu testen. Diese Empfehlung ist schon ein Bestandteil der Leitlinien der deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG).

Afamin korreliert stark mit der IR, dem pathophysiologischen Mechanismus, der dem GDM zugrunde liegt, und mit oxidativem Stress. Die Ergebnisse dieser Studie deuten auf eine vielversprechende Rolle eines neuartigen Biomarkers für den pathologischen Glukosestoffwechsel in der Schwangerschaft hin. Das Ergebnis unserer Studie, dass das Afaminprotein als alleiniger Biomarker mit der Entwicklung eines GDM nicht korreliert, könnte an der Tatsache liegen, dass das verwendete Kollektiv zu klein war und dass bei vielen Patientinnen der Kontrollgruppe nur ein *Glucose Challenge Test* (GCT) vorgenommen wurde und nicht ein 75 g oraler Glukosetoleranztest (oGTT).



## 6. Ausblick

Weitere Studien könnten folgen, um Serumafaminwerte prospektiv während des ersten Trimesters der Schwangerschaft in einem größeren Kollektiv zu bestimmen und sie mit den Ergebnissen eines 75 g oGTT während des zweiten Trimesters zu korrelieren. Darüber hinaus werden Studien mit größeren Populationen benötigt, um die Bedeutung der Afamin-Konzentrationen als Screening-Test für ein erhöhtes GDM-Risiko im Vergleich zum Nüchternblutglukosewert, dem SHBG sowie dem HbA1c zu bewerten.

Es wurde schon erwähnt, dass erhöhte Afaminwerte auch mit der Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer Präeklampsie korrelieren. Der GDM und die Präeklampsie sind zwei der häufigsten schwangerschaftsassozierten Erkrankungen. Beide sind verbunden mit oxidativem Stress, dessen Indikator in der Frühschwangerschaft das Afaminprotein zu sein scheint. Erhöhte Afamin-Konzentrationen im ersten Trimenon könnten als Indikator für die Notwendigkeit einer engmaschigen Schwangerschaftsüberwachung sein, mit dem Ziel Risiken für GDM und Präeklampsie zu reduzieren. Es stellt sich zudem die Frage, ob Afamin nicht vielleicht ein Marker für Schwangere, bei denen der oxidative Stress stark erhöht ist und die durch andere Marker nicht frühzeitig detektiert werden, darstellen könnte. Zukünftige Forschung in diesem Bereich wäre wünschenswert und könnte sich direkt auf die frühzeitige Diagnose von GDM sowie Präeklampsie in Hochrisiko-Schwangerschaften auswirken.

## 7. Literaturverzeichnis

1. (AWMF-) S3-Leitlinie (Registernummer 057 – 008) zur Diagnostik, Therapie u. Nachsorge des Gestationsdiabetes mellitus unter Mitarbeit der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG), der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) und der Deutschen Gesellschaft Kinder- und Jugendmedizin e.V. (DGKJ) (2018).
2. Abhari F.R., Ghanbari Andarieh M., Farokhfar A., Ahmady S. (2014): Estimating rate of insulin resistance in patients with preeclampsia using HOMA-IR index and comparison with nonpreeclampsia pregnant women. *Biomed Res Int.* 2014, Article ID 140851.
3. Akinci B., Celtik A., Yener S., et. al. (2010): Prediction of developing metabolic syndrome after gestational diabetes mellitus. *Fertil Steril.* 93(4), 1248–54.
4. Alzaim M., Wood, R. J. (2013): Vitamin D and gestational diabetes mellitus. *Nutr Rev.* 71(3), 158–167.
5. Amylidi S., Mosimann B., Stettler C. (2016). First-trimester glycosylated hemoglobin in women at high risk for gestational diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 95(1):93–7.
6. Anim-Nyame N., Sooranna S.R., Jones J., Alagband-Zadeh J., Steer P.J., Johnson M.R. (2004). Insulin resistance and pre-eclampsia: a role for tumor necrosis factor-alpha? *Gynecol Endocrinol.* 18(3), 117–123.
7. Barakat R., Pelaez M., Lopez C., et. al. (2013): Exercise during pregnancy and gestational diabetes-related adverse effects: a randomised controlled trial. *Br J Sports Med.* 47(10), 630–6.
8. Bouthoorn S.H., Silva L.M., Murray S.E., et. al. (2015): Low-educated women have an increased risk of gestational diabetes mellitus: the Generation R Study. *Acta Diabetol.* 52(3),445–52.
9. Brown J., Alwan N.A., West J., et. al. (2017): Lifestyle interventions for the treatment of women with gestational diabetes. *Cochrane Database Syst Rev.* Article ID: 011970.
10. Burris H. H., Rifas-Shiman S.L., Kleinman K., Litonjua A.A., Huh S.Y., Rich-Edwards J.W. et al. (2012): Vitamin D deficiency in pregnancy and gestational diabetes mellitus. In: *Am J Obstet Gynecol.* 207 (3), 182-8.

11. Catalano P.M., Huston L., Amini S.B., Kalhan S.C. (1999): Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 180(4), 903–16.
12. Catalano P.M., Tyzbir E.D., Wolfe R.R., Calles J., Roman N.M., Amini S.B., Sims E.A. (1993): Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am J Phys.* 264(1 Pt 1), 60–67.
13. Catalano P.M., Kirwan J.P., Haugel-se Mouzon S., King J. (2003): Gestational diabetes and insulin resistance: Role in short and long-term implications for mother and fetus. *The journal of nutrition.* 133(5), 1674-1683.
14. Chan A.Y., Swaminathan R., Cockram C.S. (1989): Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. *Clin Chem.* 35(2), 315–7.
15. Chavarro J. E., Hu F. B., Langhoff-Roos J., Damm P., Zhang C. (2016): Growth and obesity through the first 7 y of life in association with levels of maternal glycemia during pregnancy: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr.* 103(3), 794– 800.
16. Claudi-Böhm S., Böhm B. (2007): *Diabetes und Schwangerschaft. Prävention, Beratung, Betreuung vor, während und nach der Schwangerschaft: Springer-Verlag; s. bes. S. 13.*
17. Clausen T.D., Mathiesen E.R., Hansen T., et. al. (2008): High prevalence of type 2 diabetes and pre-diabetes in adult offspring of women with gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes: the role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes Care.* 31(2), 340–6.
18. Colagiuri S., Sandbaek A., Carstensen B., et. al. (2003): Comparability of venous and capillary glucose measurements in blood. *Diabet Med.* 20(11), 953–6.
19. Cordero L., Treuer S., Landon M., Gabbe S. (1998): Management of infants of diabetic mothers. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 152(3), 249-254.
20. Corrado F., D'Anna R., Cannata M.L., et. al. (2012): Correspondence between first-trimester fasting glycaemia, and oral glucose tolerance test in gestational diabetes diagnosis. *Diabetes Metab.* 38(5), 458–61.

21. Diamanti-Kandarakis E., Piouka A., Livadas S., Piperi C., Katsikis I., Papavassiliou A.G., Panidis D. (2009): Anti-mullerian hormone is associated with advanced glycosylated end products in lean women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 160, 847–853.
22. Dieplinger B., Egger M., Gabriel C., Poelz W., Morandell E., Seeber B., Kronenberg F., Haltmayer M., Mueller T. & Dieplinger H. (2013): Analytical characterization and clinical evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of afamin in human plasma. *Clinica Chimica Acta.* 425, 236-241.
23. Dieplinger H., Ankerst D.P., Burges A., Lenhard M., Lingenhel A., Fineder L., Buchner H., Stieber P. (2009): Afamin and apolipoprotein A-IV: novel protein markers for ovarian cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 18, 1127–1133.
24. Dieplinger H., Dieplinger B. (2015) Afamin-a pleiotropic glycoprotein involved in various disease states. *Clin Chim Acta.* 446, 105–110.
25. D'Orazio P., Burnett R.W., Fogh-Andersen N., et. al. (2005): Approved IFCC recommendation on reporting results for blood glucose (abbreviated). *Clin Chem.* 51(9), 1573–6.
26. Fadl H.E., Ostlund I.K.M., Magnuson A.F.K., et. al. (2010): Maternal and neonatal outcomes and time trends of gestational diabetes mellitus in Sweden from 1991 to 2003. *Diabet Med.* 27(4), 436–41.
27. Gambino R., Piscitelli J., Ackattupathil T.A., et. al. (2009): Acidification of blood is superior to sodium fluoride alone as an inhibitor of glycolysis. *Clin Chem.* 55(5), 1019–21.
28. Getahun D., Fassett M.J., Jacobsen S.J. (2010): Gestational diabetes: risk of recurrence in subsequent pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 203(5), 467.
29. González F., Rote N.S., Minium J., Kirwan J.P. (2006): Increased activation of nuclear factor kappaB triggers inflammation and insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 1508–1512.
30. González F., Rote N.S., Minium J., Kirwan J.P. (2006): Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 91, 336–340.

31. González F., Sia C.L., Shepard M.K., Rote N.S., Minium J. (2012): Inflammation in response to glucose ingestion is independent of excess abdominal adiposity in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 97(11), 4071–4079.
32. Guariguata L., Linnenkamp U., Beagley J., et. al. (2014): Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract.* 103(2), 176–85.
33. Haeckel R., Brinck U., Colic D., et. al. (2002): Comparability of blood glucose concentrations measured in different sample systems for detecting glucose intolerance. *Clin Chem.* 48(6), 936–9.
34. Hartikainen A.L., McCarthy M., Järvelin M.-R. (2009): Adolescent manifestations of metabolic syndrome among children born to women with gestational diabetes in a general-population birth cohort. *Am J Epidemiol.* 169(10), 1209–15.
35. Hartikainen A.-L., McCarthy M., Järvelin M.-R. (2009): Adolescent manifestations of metabolic syndrome among children born to women with gestational diabetes in a general-population birth cohort. *Am J Epidemiol.* 169(10), 1209–15.
36. Hauguel-de Mouzon S., Guerre-Millo M. (2006) The placenta cytokine network and inflammatory signals. *Placenta.* 27(8), 794–798.
37. Heiser M., Hutter-Paier B., Jerkovic L., Pfragner R., Windisch M., Becker-André M., Dieplinger H. (2002). Vitamin E binding protein afamin protects neuronal cells in vitro. *J Neural Transm Suppl.* 337-345.
38. Hotamisligil G.S., Murray D.L., Choy L.N. (1994): Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 91(11), 4854–4858.
39. Hubalek M., Buchner H., Mörtl M.G., Schlembach D., Huppertz B., Firulovic B., Köhler W., Hafner E., Dieplinger B., Wildt L., Dieplinger H. (2014): The vitamin E-binding protein afamin increases in maternal serum during pregnancy. *Clin Chim Acta.* 434, 41–47.
40. Hughes R.C.E., Rowan J., Florkowski C.M. (2016): Is There a Role for HbA1c in Pregnancy? *Curr Diab Rep.* 16(1), 676.

41. Immanuel J., Simmons D. (2017): Screening and Treatment for Early-Onset Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Diab Rep.* 17(11), 115.
42. Jerkovic L., Voegelé A.F., Chwatal S., Kronenberg F., Radcliffe C.M., Wormald M.R., Lobentanz E.M., Ezech B., Eller P., Dejori N. et al. (2005): Afamin is a novel human vitamin E-binding glycoprotein characterization and in vitro expression. *Journal of Proteome Research.* 4, 889–899.
43. Kessous R., Shoham-Vardi I., Pariente G., et. al. (2013): An association between gestational diabetes mellitus and longterm maternal cardiovascular morbidity. *Heart.* 99(15), 1118–21.
44. Kirwan J.P., Hauguel-De Mouzon S., Lepercq J., Challier J.C., Huston-Presley L., Friedman J.E., Kalhan S.C., Catalano P.M. (2002): TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes.* 51(7), 2207–2213.
45. Kleinwechter H., Bühner C., Hunger-Battefeld W., Kainer F., Kautzky-Willer A., Pawlowski B., Reiher H., Schäfer-Graf U., Sorger M., Hösli I., Schunk K., Somville T. Diabetes mellitus- Diabetes und Schwangerschaft: Praxisempfehlungen 2018. *Diabetol.* 13(2), 166-173.
46. Kleinwechter H., Schäfer-Graf U., Bühner C., Hoesli I., Kainer F., Kautzky-Willer A., Pawlowski B., Schunk K., Somville T., Sorger M. (2011): Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Evidenzbasierte Leitlinie zu Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), S. 9-13.
47. Kollerits B., Lamina C., Huth C., Marques-Vidal P., Kiechl S., Seppälä I., Cooper J., Hunt S.C., Meisinger C., Herder C., Kedenko L., Willeit J., Thorand B., Dähnhardt D., Stöckl D., Willeit K., Roden M., Rathmann W., Paulweber B., Peters A., Kähönen M., Lehtimäki T., Raitakari O.T., Humphries S.E., Vollenweider P., Dieplinger H., Kronenberg F. (2017): Plasma concentrations of afamin are associated with prevalent and incident type 2 diabetes: a pooled analysis in more than 20,000 individuals. *Diabetes Care.* 40(10), 1386–93.
48. Königer A., Mathan A., Mach P., Frank M., Schmidt B., Schleussner E., Kimmig R., Gellhaus A., Dieplinger H. (2018) Is afamin a novel biomarker

- for gestational diabetes mellitus? A pilot study, *Reproductive Biology and Endocrinology*. 16, 30.
49. Königer A., Edimiris P., Koch L., Enekwe A., Lamina C., Kasimir-Bauer S., Kimmig R., Dieplinger H. (2014): Serum concentrations of afamin are elevated in patients with polycystic ovary syndrome., *Endocr Connect*. 3, 120-6.
  50. Königer, A., Enekwe, A., Mach, P., Andrikos, D., Schmidt, B., Frank, M., Birdir, C., Kimmig, R., Gellhaus, A., Dieplinger, H. (2018): Afamin – an early predictor of preeclampsia. *Arch. Gynecol. Obstet*. 298, 1009-1015.
  51. Kozhimannil K.B., Pereira M.A., Harlow B.L. (2009): Association between diabetes and perinatal depression among lowincome mothers. *JAMA*. 301(8), 842–7.
  52. Kronenberg F., Kollerits B., Kiechl S., Lamina C., Kedenko L., Meisinger C., Willeit J., Huth C., Wietzorrek G., Altmann M.E., Thorand B., Melmer A., Dähnhardt D., Santer P., Rathmann W., Paulweber B., Koenig W., Peters A., Adham I.M., Dieplinger H. (2014): Plasma concentrations of afamin are associated with the prevalence and development of metabolic syndrome., *Circ Cardiovasc Genet*. 7, 822-9.
  53. Kuhl C. (1998): Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care* 21(2), 19-26.
  54. Kun A., Tornoczky J., Tabak A.G. (2011): The prevalence and predictors of gestational diabetes mellitus in Hungary. *Horm Metab Res*. 43(11), 788–93.
  55. Landon M.B., Spong C.Y., Thom E., et. al. (2009): A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *N Engl J Med*. 361(14), 1339–48.
  56. Langer O., Yogev Y., Xenakis E.M.J., et. al. (2005). Overweight and obese in gestational diabetes: the impact on pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 192(6), 1768–76.
  57. Lewis G.F., McNally C., Blackman J.D., et. al. (1993): Prior feeding alters the response to the 50-g glucose challenge test in pregnancy. The Staub-Traugott effect revisited: The Staub-Traugott Effect revisited. *Diabetes Care*. 16(12), 1551–6.
  58. Lichenstein H.S., Lyons D.E., Wurfel M.M., Johnson D.A., McGinley M.D., Leidli J.C., Trollinger D.B., Mayer J.P., Wright S.D., Zukowski

- M.M. Afamin is a new member of the albumin, alpha-fetoprotein, and vitamin D-binding protein gene family.
59. Liss E., Bechtel S. (1990): Improvement of glucose preservation in blood samples. *J Clin Chem Clin Biochem.* 28(10), 689–90.
  60. Löbner K., Knopff A., Baumgarten A., Mollenhauer U., Marienfeld S., Garrido-Franco M., Bonifacio E., Ziegler A. (2006): Predictors of postpartum diabetes in women with gestational diabetes mellitus *Diabetes.* 55, 792- 797.
  61. Mackin S.T, Nelson S.M. Kerssens J.J et al. (2018): Diabetes and pregnancy: national trends over a 15 year period. *Diabetologia.* 61(5), 1081-1088.
  62. Mañé L., Flores-Le Roux J.A., Benaiges D., (2016). Role of first trimester HbA1c as a predictor of adverse obstetric outcomes in a multi-ethnic cohort. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* jc.2016-2581.
  63. Melmer A., Fineder L., Lamina C., Kollerits B., Dieplinger B., Braicu I., Sehouli J., Cadron I., Vergote I., Mahner S., Zeimet A.G., Castillo-Tong D.C., Ebenbichler C.F., Zeillinger R., Dieplinger H. (2013): Plasma concentrations of the vitamin E-binding protein afamin are associated with overall and progression-free survival and platinum sensitivity in serous ovarian cancer--a study by the OVCAD consortium., *Gynecol Oncol.* 128, 38-43
  64. Meng-Ying L., Shristi R., Stefanie N. H., Ye-Yi Z., Fasil T. A., Michael Y. T., Si-Min L., Cui-Lin Z. (2020): Sex hormone-binding globulin, cardiometabolic biomarkers and gestational diabetes: a longitudinal study and meta-analysis. *Matern Fetal Med* 24;2(1), 2-9
  65. Meltzer S.J., Snyder J., Penrod J.R., Nudi M., Morin L. (2010): Gestational diabetes mellitus screening and diagnosis: a prospective randomised controlled trial comparing costs of one-step and two-step methods. *BJOG.* 117, 407-15
  66. Metzger B.E., Dyer A.R. (2014): Comment on d'Emden. Do the new threshold levels for the diagnosis of gestational diabetes mellitus correctly identify women at risk? *Diabetes Care.* 37(2), 43-4.
  67. Metzger B.E., Lowe L.P., Dyer A.R., Trimble E.R., Chaovarindr U., Coustan D.R., Hadden D.R., McCance D.R., Hod M., McIntyre H.D., Oats



- J.J., Persson B., Rogers M.S., Sacks D.A. (2008): Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes (HAPO), *N Engl J Med.* 358(19):1991–2002.
68. Mwanri A.W., Kinabo J., Ramaiya K., et. al. (2015): Gestational diabetes mellitus in sub-Saharan Africa: Systematic review and metaregression on prevalence and risk factors. *Trop Med Int Health.* 20(8), 983–1002.
69. Nauck M., Petermann A., Müller-Wieland D., et. al. (2017): Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie und Stoffwechsel.* 12(2), 94-100.
70. Newbern D., Freemark M. (2011): Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth. In: *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 18(6), 409–416.
71. Niki E., Traber MG. (2012): A history of vitamin E. *ANN Nutr Metab* 61:207-212.
72. Oztas E, Ozler S, Tokmak A, Erel O, Ergin M, Uygur D, Danisman N (2016): Oxidative stress markers in severe preeclampsia and preeclampsia-related perinatal morbidity—preliminary report. *Ginekol Pol* 87(2), 436–441.
73. Padayachee C. (2015): Exercise guidelines for gestational diabetes mellitus. *WJD.* 6(8), 1033.
74. Plymate S.R., Matej L.A., Jones R.E., Friedl K.E. (1988): Inhibition of sex hormone-binding globulin production in the human hepatoma (Hep G2) cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab.* 67(3), 460–4.
75. Poel Y. H. M., Hummel P., Lips P., Stam F., van der Ploeg T., Simsek S. (2012): Vitamin D and gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. In: *Eur J Intern Med.* 23(5), 465– 469.
76. Purde, M.T., Baumann, M., Wiedemann, U., Nydegger, U.E., Risch, L., Surbek, D., Risch, M. (2015): Incidence of preeclampsia in pregnant Swiss women. *Swiss Med Wkly.* 145, w14175.
77. Riskin-Mashiah S., Damti A., Younes G., et. al. (2010): First trimester fasting hyperglycemia as a predictor for the development of gestational diabetes mellitus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 152(2), 163–7.
78. Rolnik, D. L., Wright, D., Poon, L. C. Y., Syngelaki, A., O’Gorman, N., de Paco Matallana, C., Akolekar, R., Cicero, S., Janga, D., Singh, M., Molina, F. S., Persico, N., Jani, J. C., Plasencia, W., Papaioannou, G., Tenenbaum-

- Gavish, K., Nicolaides, K. H. (2017): ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 50, 492–495.
79. Ryan E.A., Enns L. (1988): Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. In: *J Clin Endocrinol Metab.* 67(2), 341–347.
80. Ryan E.A. (2011): Diagnosing gestational diabetes. *Diabetologia.* 54, 480–486
81. Sacks D.A., Abu-Fadil S., Greenspoon J.S., et. al. (1989): How reliable is the fifty-gram, one-hour glucose screening test? *Am J Obstet Gynecol.* 161(3), 642–5.
82. Sacks D.A., Hadden D.R., Maresh M., et. al. (2012): Frequency of gestational diabetes mellitus at collaborating centers based on IADPSG consensus panel-recommended criteria: The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study. *Diabetes Care.* 35(3), 526–8.
83. Schäfer-Graf U., Kleinwechter H. (2008): HAPO-Studie liefert lange erwartete Daten zum Gestationsdiabetes: Zusammenhang zwischen ansteigenden Blutzuckerwerten im oGTT und geburtshilflichen Komplikationen. *Frauenarzt.* 49(10), 896–900.
84. Schäfer-Graf U.M., Pawliczak J., Passow D., et. al. (2005): Birth weight and parental BMI predict overweight in children from mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care.* 28(7), 1745–50.
85. Seeber B.E., Czech T., Buchner H., Barnhart K.T., Seger C., Daxenbichler G., Wildt L., Dieplinger H. (2010): The vitamin E-binding protein afamin is altered significantly in the peritoneal fluid of women with endometriosis., *Fertil Steril.* 94, 2923-6.
86. Teede H.J., Harrison C.L., Teh W.T., et. al. (2011): Gestational diabetes: Development of an early risk prediction tool to facilitate opportunities for prevention. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 51(6), 499–504.
87. Thériault S., Giguère Y., Massé J., Girouard J., Forest JC. (2016): Early prediction of gestational diabetes: a practical model combining clinical and biochemical markers. *Clin Chem Lab Med.* 54(3), 509–18.
88. Tieu J., McPhee A.J., Crowther C.A., et. al. (2014): Screening and subsequent management for gestational diabetes for improving maternal and infant health. *Cochrane Database Syst Rev.* Artikel ID: 007222.

89. Torloni M.R., Betrán A.P., Horta B.L., et. al. (2009): Prepregnancy BMI and the risk of gestational diabetes: A systematic review of the literature with meta-analysis. *Obesity Reviews*. 10(2), 194–203.
90. Turpin C.A., Sakyi S.A., Owiredu W.K., Ephraim R.K., Anto E.O. (2015): Association between adverse pregnancy outcome and imbalance in angiogenic regulators and oxidative stress biomarkers in gestational hypertension and preeclampsia. *BMC Pregnancy Childbirth* 15, 189
91. Viana L.V., Gross J.L., Azevedo M.J. (2014): Dietary intervention in patients with gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials on maternal and newborn outcomes. *Diabetes Care*. 37(12), 3345–55.
92. Voegelé A.F., Jerkovic L., Wellenzohn B., Eller P., Kronenberg F., Liedl K.R., Dieplinger H. (2002): Characterization of the vitamin E-binding properties of human plasma afamin. *Biochemistry*, 41, 14532–38.
93. Watanabe N., Morimoto S., Fujiwara T., Suzuki T., Taniguchi K., Mori F. et al. (2013): Prediction of gestational diabetes mellitus by soluble (pro)renin receptor during the first trimester. In: *J Clin Endocrinol Metab*. 98(6), 2528–35.
94. Weiss P.A., Haeusler M., Kainer F., et. al. (1998): Toward universal criteria for gestational diabetes: relationships between seventy-five and one hundred gram glucose loads and between capillary and venous glucose concentrations. *Am J Obstet Gynecol*. 178(4), 830–5.
95. Yamashita H., Shao J., Friedman J.E. (2000): Physiologic and molecular alterations in carbohydrate metabolism during pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Clin Obstet Gynecol*. 43(1), 87–98.
96. Zhang C., Bao W., Rong Y., Yang H., Bowers K., Yeung E., Kiely M. (2013): Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. In: *Hum Reprod Update*. 19(4), 376-90.
97. Zhu W-w., Yang H-x., Wei Y-m., et. al. (2013). Evaluation of the Value of Fasting Plasma Glucose in the First Prenatal Visit to Diagnose Gestational Diabetes Mellitus in China. *Diabetes Care*. 36(3), 586–90.
98. Zhu Y., Olsen S. F., Mendola P., Yeung E. H., Vaag A., Bowers K., Liu A., Bao W., Li S., Madsen C., Grunnet L. G., Granström C., Hansen S., Martin K., Chavarro J. E., Hu F. B., Langhoff-Roos J., Damm P., Zhang C. (2016):

Growth and obesity through the first 7 y of life in association with levels of maternal glycemia during pregnancy: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr.* 103(3), 794– 800.

99. Vink J. Y., Poggi S. H., Ghidini A. et al. (2006): Amniotic fluid index and birth weight: is there a relationship in diabetics with poor glycemic control? *Am J Obstet Gynecol.* 195, 848.

## 8. Anhang

### 8.1. Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Erläuterung</b>
AU	Abdomenumfang
AUC	Area Under the Curve
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften
BE	Base Excess
BMI	Body Mass Index
BZ	Blutzucker
DDG	Deutsche Diabetes Gesellschaft
dGDM	Diätetisch eingestellter Gestationsdiabetes
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
DM	Diabetes mellitus
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
GA	Gestationsalter
GCT	Glucose Challenge Test
GDM	Gestationsdiabetes
HAPO	Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Study
HOMA	Homeostasis-Model Assessment
HLA	Humane Leukozytenantigen
HPL	Human Placental Lactogen
IADPSG	International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry

iGDM	Insulinpflichtiger Gestationsdiabetes
IGEL-Leistungen	Individuellen Gesundheitsleistungen
IR	Insulinresistenz
IRS-1	Insulinrezeptor-Substrat-1
IQR	Interquartile range
IQTiG	Institut für Qualität und Transparenz im Gesundheitswesen
IUFT	Intrauteriner Fruchttod
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
KI	Konfidenzintervall
KU	Kopfumfang
LGA	Large for gestational age
NaF	Natriumfluorid
oGTT	Oraler Glukosetoleranztest
pAVK	Periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PCOS	Polyzystisches Ovarialsyndrom
PPV	Positive predictive value
RCTs	Randomized clinical trials
RDS	Respiratory distress syndrome
ROC	Receiver operating characteristic
SD	Standardabweichung
SGA	Small for gestational age
SHBG	Sex hormone-binding protein
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
s(P)RR	Soluble (pro)renin receptor
SSW	Schwangerschaftswoche
TNF-a	Tumor necrosis factor alpha
WHO	World Health Organisation

## 8.2. Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1** GDM und präkonzeptioneller Diabetes mellitus – Absolute Häufigkeit 2002–2016.

**Abbildung 2** Afamin Standardkurve.

**Abbildung 3** Vergleich der Afamin-Konzentration bei Patientinnen ohne GDM und mit GDM (Medianwert und IQR (in Perzentile)).

**Abbildung 4** Vergleich der Afamin-Konzentration bei Patientinnen ohne GDM und mit dGDM (Medianwert und IQR (in Perzentile)).

**Abbildung 5** Vergleich der Afamin-Konzentration bei Patientinnen ohne GDM und mit iGDM (Medianwert und IQR (in Perzentile)).

**Abbildung 6** Vergleich der Afamin-Konzentration bei Patientinnen mit dGDM und mit iGDM (Medianwert und IQR (in Perzentile)).

**Abbildung 7** ROC-Kurve für die Diskriminierung zwischen Risikogruppe und Kontrollgruppe anhand der Afamin-Konzentration (mg/L).

**Abbildung 8** ROC-Kurve für die Diskriminierung zwischen Risikogruppe und Kontrollgruppe anhand der BMI (kg/m<sup>2</sup>).

**Abbildung 9:** Diabetesscreening in der Frühschwangerschaft bei Risiko für Diabetes oder GDM.

## 8.3. Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1** Gelieferte Reagenzien

**Tabelle 2** Verdünnungstabelle des Afamin-ELISA's

**Tabelle 3** Geräte und Hersteller

**Tabelle 4** Vergleich Kontrollgruppe versus Fallgruppe mit GDM.

**Tabelle 5** Vergleich Kontrollgruppe versus Fallgruppe mit dGDM.

**Tabelle 6** Vergleich Kontrollgruppe versus Fallgruppe mit iGDM.

**Tabelle 7** Vergleich Fallgruppe mit dGDM versus Fallgruppe mit iGDM.

**Tabelle 8** Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen Afamin-Konzentration und allen Parametern.

**Tabelle 9** Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen GDM und verschiedenen Parametern.

**Tabelle 10** Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen dGDM und verschiedenen Parametern.

**Tabelle 11** Binäre logistische Regressionsanalyse zwischen iGDM und verschiedenen Parametern.



## **9. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei einigen Personen bedanken. Zunächst möchte ich mich bei meinen Doktormüttern Frau Prof. Dr. med. Angela Königer und Frau Prof. Dr. rer. nat. Alexandra Gellhaus für die hervorragende Betreuung bedanken. Frau Prof. Königer war immer hilfsbereit und stand jederzeit für Fragen zur Verfügung, trotz der Belastung in der Klinik. Bei Frau Prof. Dr. rer. nat. Gellhaus möchte ich mich auch ganz herzlich für die konstruktive Zusammenarbeit bedanken. Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Rainer Kimmig für die Möglichkeit zur Durchführung meiner Doktorarbeit in der Frauenklinik. Für die statistische Überprüfung meiner Daten danke ich Herrn PD Dr. Borge Schmidt aus dem Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie der Universität Duisburg-Essen. Bei den technischen Assistenten des Frauenklinik-Labors, die die Blutproben aufbereitet haben und besonders bei Frau Sehn, die die ELISA Bestimmungen durchgeführt hat, möchte ich mich sehr bedanken. Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, meiner Ehefrau Georgia und meiner Tochter Zoi, die mich auf meinem Weg begleitet haben und mir die Erstellung dieser Dissertation ermöglicht haben.

## **10. Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.