

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie
der Universität Tübingen

Einfluss der maternalen Insulinsensitivität
auf die fetale Hirnaktivität

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Kümmel, Stefanie Christine

2017

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter Professor Dr. H. Preissl
2. Berichterstatter Professor Dr. B. Derntl

Tag der Disputation: 19.06.2017

Meinen Eltern Doris und Wolfram,
meinem Bruder Florian und meinem Freund Ulrich.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
1.1	Periphere und zentrale Insulinwirkung	10
1.2	Insulin und Schwangerschaft.....	17
1.3	Fetale Programmierung.....	20
1.4	Fetale Magnetoenzephalographie (fMEG)	24
1.5	Hören im Mutterleib	28
1.6	Akustisch evozierte Reaktionen	30
1.7	Fetale Verhaltensstadien.....	33
1.8	Fragestellung und Hypothesen.....	35
2	Material und Methoden	37
2.1	Versuchsteilnehmerinnen	37
2.2	Überblick über Versuchsaufbau	37
2.2.1	Detaillierter Versuchsablauf	39
2.2.2	Akustische Stimulation der Probandin während der Messung / Stimulationsparadigma	42
2.3	Laborwerte und Berechnungen	43
2.4	Analyse.....	44
2.4.1	Datenanalyse	44
2.4.1.1	Analyse der fetalen Verhaltensstadien.....	44
2.4.1.2	Analyse der fetale AER auf den Standardton.....	47
2.4.2	Statistische Analyse.....	50
3	Ergebnisse	51
3.1	Teilnehmer.....	51
3.2	Mütterliche Blutwerte im Verlauf des OGTTs	54
3.2.1	Blutzucker-Messwerte.....	54
3.2.2	Insulin-Messwerte	55

3.2.3	Nicht veresterte freie Fettsäuren (= NEFA)	56
3.3	Latenz der akustisch evozierten Reaktionen (AER)	57
3.4	Zusammenhänge zwischen den einzelnen Messgrößen	60
3.4.1	Blutzucker, Insulin, Blutfette und AER Latenz der Föten	60
3.4.2	Zusammenhang zwischen Blutwerten der Mutter und Antwortlatenz der Föten	61
3.4.3	Zusammenhang zwischen Insulinsensitivität der Mutter und Antwortlatenz des Föten	62
3.4.3.1	Insulinsensitivitätsindex (ISI-3-Point)	62
3.4.3.2	HOMA-IR	63
3.5	Trennung am Median nach Insulinsensitivität (ISI-3-POINT)	64
3.5.1	Probandinnen im Gruppenvergleich	64
3.5.2	Blutwerte im Gruppenvergleich	65
3.5.2.1	Blutzuckerwerte	65
3.5.2.2	Insulin	65
3.5.2.3	NEFA	65
3.5.2.4	Latenz im Gruppenvergleich	65
3.5.3	Trennung am Median nach HOMA-IR	68
3.6	Fetale Stadien	69
3.6.1	Häufigkeiten der fetalen Stadien	69
3.6.2	Zusammenhang zwischen fetalem Stadium und Antwortlatenz	70
3.6.3	Fetale Stadien im Gruppenvergleich	70
4	Diskussion	72
5	Zusammenfassung	81
6	Verzeichnisse	83
6.1	Abbildungsverzeichnis	83
6.2	Tabellenverzeichnis	85

6.3	Literaturverzeichnis	86
7	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....	97
8	Veröffentlichungen	99
9	Anhang.....	100
9.1	Anamnesebogen	100
9.2	Einverständniserklärung.....	101
9.3	Ultraschall-Dokumentation	102
9.4	Messprotokoll	103
	Danksagung.....	109
	Lebenslauf	110

1 Einleitung

Weltweit leiden ungefähr eine Milliarde Menschen an Übergewicht und 285 Millionen Erwachsene an Diabetes (Haslam und James 2005, Shaw, Sicree et al. 2010). In Deutschland selbst ist jeder 13. an Diabetes erkrankt (Heidemann, Du et al. 2011) und jeder vierte adipös mit einem Body-Mass-Index von mehr als 30 kg/m^2 (Mensink, Schienkiewitz et al. 2013). Das Erkrankungsalter nimmt zudem immer weiter ab und immer mehr Menschen erkranken im Kindes- und frühen Erwachsenenalter (Schlack, Hölling et al. 2011). Der Prävention und somit dem Verständnis der Entstehung dieser Erkrankungen kommt deshalb eine enorme Bedeutung zu. Lange Zeit galten die Genetik und die Umwelteinflüsse wie beispielsweise Ernährung und mangelnde körperliche Bewegung als Hauptverursacher dieser Erkrankungen. In den letzten zwanzig Jahren ist zusätzlich noch die Wichtigkeit der Embryonal- und Fetalzeit ins Licht der Forschung gerückt (Nolan, Damm et al. 2011). Es konnte in zahlreichen Studien belegt werden, dass Einflüsse von Nährstoffen und Hormonen während kritischer Entwicklungsphasen im Mutterleib die Entstehung von Diabetes und Übergewicht maßgeblich beeinflussen können (Dabelea, Hanson et al. 2000, Sobngwi, Boudou et al. 2003, Catalano, McIntyre et al. 2012). Der generelle Prozess der Beeinflussung des Fötus im Mutterleib durch Nährstoffe und Hormone ging als „fetale Programmierung“ in die Forschung ein (Dorner 1977, Plagemann 2008).

Der genaue molekulare Mechanismus der fetalen Programmierung ist noch nicht abschließend geklärt. Forschungsuntersuchungen an Nagetieren gaben erste Hinweise, dass veränderte Konzentrationen des Hormons Insulin eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der fetalen Prägung von Diabetes im Mutterleib spielen könnten (Dorner und Plagemann 1994, Silverman, Metzger et al. 1995, Plagemann 2008, Gupta, Srinivasan et al. 2009, Vogt, Paeger et al. 2014). Bis heute existieren allerdings keine Studien, die den direkten Einfluss von Insulin bei menschlichen Föten im Mutterleib untersuchen. Es stellt sich die Frage, ob metabolische Veränderungen der Mutter einen direkten Einfluss auf die fetale Reaktion im Mutterleib ausüben.

Forschungen an Erwachsenen geben zudem Hinweise, dass eine veränderte Wirkung des Hormons Insulin im Gehirn wesentlich die Entstehung von Diabetes und Adipositas beeinflusst (Tschritter, Preiszl et al. 2006).

Kinder von übergewichtigen und diabetischen Müttern zeigten außerdem bei Geburt eine beeinträchtigte periphere Insulinwirkung (Catalano, Presley et al. 2009). Fraglich ist hierbei, ob auch schon zum Zeitpunkt der Geburt die Insulinwirkung im zentralen Nervensystem beeinträchtigt ist.

Die Universitätsklinik Tübingen besitzt eines von zwei fetalen Magnetoenzephalographiegeräten (fMEG) weltweit. Mit Hilfe des fMEG ist es möglich, die Gehirnaktivität der Föten ab der 28. Schwangerschaftswoche im Mutterleib nicht-invasiv zu untersuchen. Es kann sowohl die fetale Gehirnaktivität in Ruhe, als auch auf einen visuellen (Eswaran, Wilson et al. 2002, Eswaran, Lowery et al. 2004) oder akustischen Reiz (akustisch evozierte Reaktionen, AER) gemessen werden (Preiszl, Lowery et al. 2005). Zahlreiche Studien in gesunden Föten zeigten, dass die Verkürzung der Antwortlatenz auf einen akustischen Reiz mit der Gehirnreifung einhergeht (Schleussner und Schneider 2004, Holst, Eswaran et al. 2005).

Die folgende Arbeit soll deshalb mit Hilfe eines oralen Glukosetoleranztestes der Mutter und parallelen Messungen der Gehirnaktivität des Fötus im Mutterleib mit dem fMEG den direkten Einfluss des mütterlichen Metabolismus auf die fetale Gehirnentwicklung untersuchen.

1.1 Periphere und zentrale Insulinwirkung

Insulin ist ein Peptidhormon, das in den Beta-Zellen der Bauchspeicheldrüse synthetisiert wird. Im Jahre 1921 gelang es Frederic Banting und Charles Best erstmalig Insulin aus der Bauchspeicheldrüse von Hunden zu extrahieren. Für diese Entdeckung wurden sie 1923 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet (Karamitsos 2011). Insulin ist das Schlüsselhormon für die Blutzuckerregulation und es hat zusätzlich wichtige Funktionen im Stoffwechsel und Elektrolythaushalt. Es senkt den Blutzuckerspiegel durch Induktion der Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettzellen und fördert die Speicherung von energiereichen Substraten (Glukose, Fettsäuren, Aminosäuren) (Huppelsberg und Walter 2005).

Lange Zeit galt das Gehirn als insulin-unempfindlich. Erste Hinweise einer zentralen Insulinwirkung lieferte die Entdeckung weitverbreiteter Insulinrezeptoren im Gehirn (Havrankova, Roth et al. 1978). Hohe Konzentrationen der Insulinrezeptoren können hauptsächlich im Hypothalamus, sowie im Hippocampus mit den verknüpften limbischen Strukturen und in der Hirnrinde gefunden werden (Unger, Livingston et al. 1991, Folli, Bonfanti et al. 1994, Hopkins und Williams 1997, Schulingkamp, Pagano et al. 2000). Weiterhin wurde gezeigt, dass Insulin die Blut-Hirn-Schranke durch einen rezeptorvermittelten Transportmechanismus überwinden kann (Schwartz, Bergman et al. 1991, Banks 2004).

Einen weiteren Hinweis auf eine zentrale Insulinwirkung erbrachte Woods' Schlüsselexperiment Ende der 70er Jahre. Die Applikation einer intrazerebroventrikularen Insulin-Infusion führte bei Pavianen zu einer Abnahme der Nahrungsaufnahme und des Körpergewichtes (Woods, Lotter et al. 1979). Weitere Tierexperimente bestätigten diese Ergebnisse bei Mäusen (Brown, Clegg et al. 2006) und bei Ratten (Brief und Davis 1984, McGowan, Andrews et al. 1992, Chavez, Kaiyala et al. 1995).

Auch beim Menschen führte die Wirkung von intranasal appliziertem Insulin bei gesunden Männern zu einer Abnahme des Körpergewichtes und des Körperfetts, nicht aber bei Frauen (Hallschmid, Benedict et al. 2004).

Neben der Regulierung der Nahrungsaufnahme und Sättigung hat Insulin zudem Einfluss auf den peripheren Fettmetabolismus (Koch, Wunderlich et al. 2008, Scherer, O'Hare et al. 2011) und den Glukosestoffwechsel. Obici et al. zeigten 2002, dass die Insulinwirkung im Hypothalamus zur Unterdrückung der Glukoseproduktion der Leber führt (Obici, Zhang et al. 2002).

Insulin spielt eine wesentliche Rolle in der Energie-Homöostase. Insulin und Leptin, ein Peptidhormon, welches hauptsächlich von weißen Fettgewebszellen produziert wird, werden als sogenannte „Adipositas-Signale“ oder „Fettspeicher-Signale“ bezeichnet. Die beiden Hormone zirkulieren im Blut und ihre Konzentrationen sind proportional zum Körperfett. Dadurch können sie die Informationen der peripheren Energiereserven in das zentrale Nervensystem übermitteln (Seeley und Woods 2003, Schwartz und Porte 2005, Machleidt und Lehnert 2011). Der Hypothalamus, das Steuerzentrum für vegetative und endokrine Vorgänge, verarbeitet diese und weitere Informationen der Nahrung (einzelne Nährstoffe, z.B. Fettsäuren) und kann sich an die veränderten Verhältnisse bzw. Energiezustände anpassen. Bei Energieüberfluss wird die Energieaufnahme und endogene Glukoseproduktion gehemmt und gleichzeitig der Energieumsatz erhöht und die Fettspeicher mobilisiert. Bei Nährstoffmangel kehrt sich dieses Vorgehen um und es resultiert eine zunehmende Nahrungsaufnahme und ein abnehmender Energieumsatz (Schwartz und Porte 2005). Dieser Regulationsmechanismus wird in Abbildung 1 verdeutlicht.

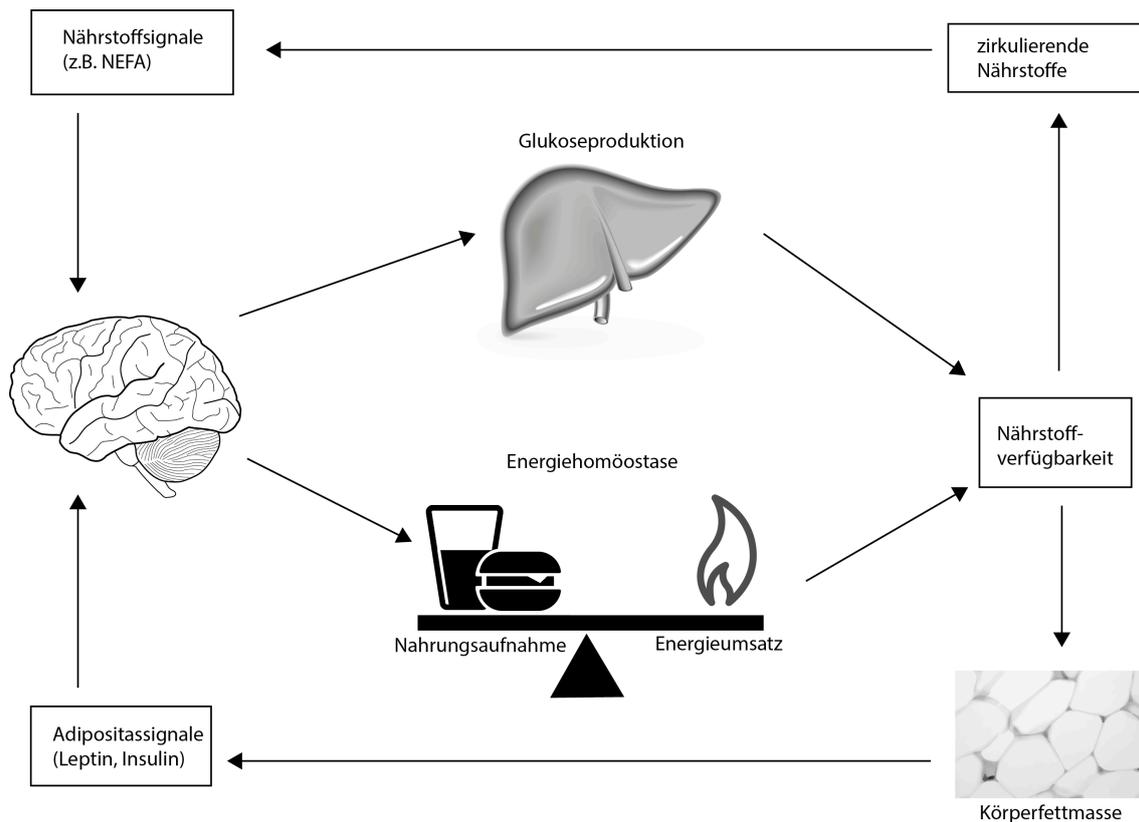


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Energie-Homöostase durch die Adipositassignale Leptin und Insulin.

Adaptiert nach (Schwartz und Porte 2005)

Insulin nimmt außerdem Einfluss auf neurokognitive Prozesse. In Tierexperimenten konnte eine verbesserte kognitive Leistung durch direkte Insulingabe in das zentrale Nervensystem (ZNS) von Nagetieren festgestellt werden (Biessels, Kamal et al. 1998, Park, Seeley et al. 2000).

Durch die nasale Applikation von Insulin kann die Blut-Hirn-Schranke umgangen werden und die selektive Wirkung von Insulin im Gehirn ohne relevante Insulineffekte im restlichen Körper auch beim Mensch untersucht werden (Born, Lange et al. 2002). Mit diesem Verfahren konnte auch bei gesunden Menschen eine Beeinflussung des deklarativen Gedächtnisses und der spontanen Gehirnaktivität durch Insulin beschrieben werden (Benedict, Hallschmid et al. 2004, Stingl, Kullmann et al. 2010).

Hassing zeigte, dass Typ-2-Diabetes bei älteren Probanden zu einer Verringerung der kognitiven Leistung beiträgt (Hassing, Grant et al. 2004).

Patienten mit Alzheimer Erkrankung zeigten nach Insulingabe verbesserte Lern- und Gedächtnisleistungen (Craft, Newcomer et al. 1996). Außerdem gibt es Hinweise auf eine Abnahme der zentralen Insulinwirkung bei der Entstehung der Alzheimer Erkrankung (Carro und Torres-Aleman 2004).

Zusätzlich lieferten Studien Hinweise auf eine Beeinflussung der peripheren Insulinsensitivität durch die Insulinwirkung im Gehirn. Die Insulinsensitivität beschreibt die Empfindlichkeit der Insulinrezeptoren. Es handelt sich bei der Insulinsensitivität also um ein Maß der Insulinwirksamkeit im Gewebe. In zwei Studien traten bei intranasaler Insulinapplikation nach einer Mahlzeit verringerte Blutzuckerwerte und ein verringertes Blutinsulin-zu-Blutglukoseverhältnis auf (Benedict, Brede et al. 2011, Heni, Kullmann et al. 2012). Heni et al. zeigten mit einer fMRI-Studie, dass nasal appliziertes Insulin die Insulinsensitivität des ganzen Körpers bei Normalgewichtigen, nicht aber bei übergewichtigen Probanden, erhöht. Die verbesserte periphere Insulinsensitivität korrelierte mit Veränderungen der Herzratenvariabilität und Veränderungen der Aktivität des Hypothalamus. Dies liefert Hinweise, dass das Gehirn die periphere Insulinsensitivität durch das autonome Nervensystem beeinflussen kann (Heni, Wagner et al. 2014).

Einen zusammenfassenden Überblick über die periphere und zentrale Wirkung des Insulins bietet Abbildung 2.

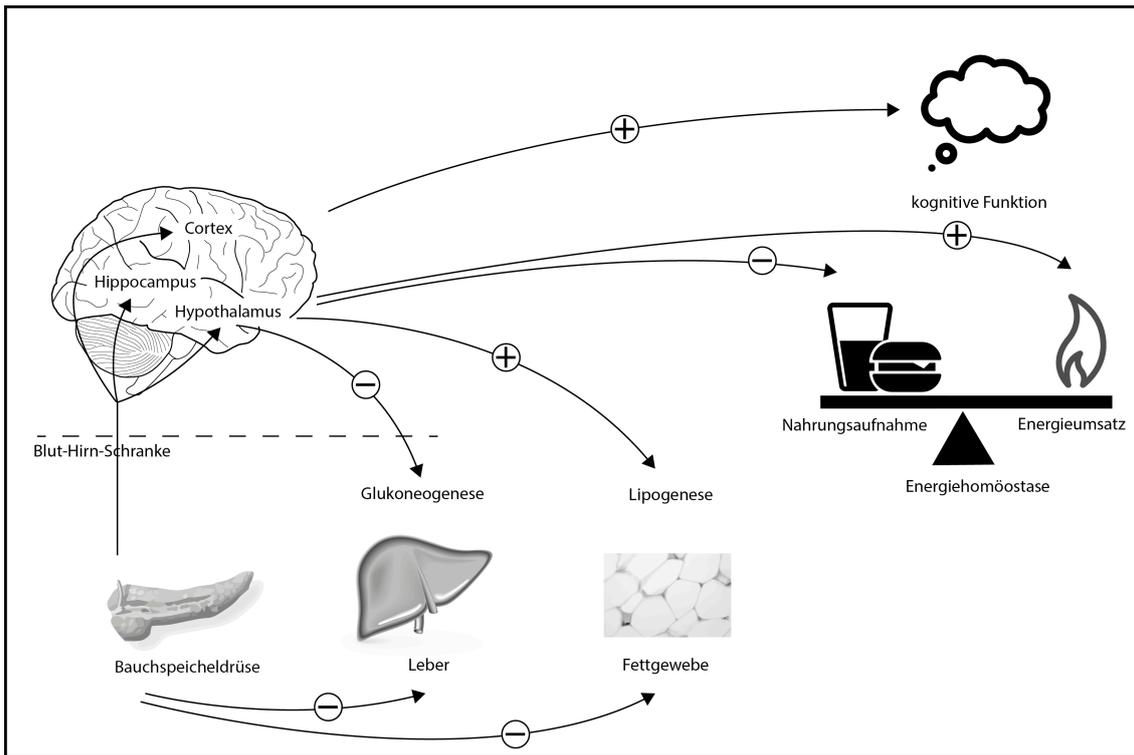


Abbildung 2: Übersicht über die periphere und zentrale Insulinwirkung
Adaptiert nach (Hallschmid und Schultes 2009)

Tierstudien bei Nagetieren zeigten, dass eine ausbleibende zentrale Insulinwirkung im Gehirn durch fehlende bzw. verminderte Insulinrezeptoren (z.B. durch einen Insulin-Rezeptor-Knockout) zu Hyperphagie, Übergewicht, Glukoseintoleranz und metabolischer Insulinresistenz führt (Bruning, Gautam et al. 2000, Obici, Feng et al. 2002).

Tschritter et al. wies 2006 mittels MEG-Messungen nach, dass intranasal appliziertes Insulin eine Verstärkung der zerebrokortikalen Aktivität, sowohl der spontanen Gehirnaktivität in einzelnen Frequenzbändern, als auch einer diskriminativen Hirnkomponente in Reaktion auf Veränderungen in akustischer Stimulation bei normalgewichtigen Menschen auslöst. Die induzierte zerebrokortikale Aktivität korrelierte mit der Ganzkörper-Insulinsensitivität und dem BMI der Probanden. Diese Modulation der induzierten Aktivität und der Spontanaktivität zeigte sich bei übergewichtigen Probanden nur abgeschwächt oder gar nicht. Dies ergab erste Hinweise auf eine zentrale Insulinresistenz im

Menschen. Ebenso wurde aus den MEG-Messungen eine reduzierte neuronale Insulinantwort bei genetisch bedingten Veränderungen des Insulinweges (Gly972Arg-Polymorphismus in IRS-1) deutlich, die als Risikofaktor für Typ 2 Diabetes gelten. Die MEG-Messungen lieferten somit nicht nur erste Hinweise auf eine zentrale Insulinresistenz, sondern ebenso einen ersten Zusammenhang zwischen zentraler Insulinresistenz und der Entstehung von Übergewicht und Diabetes Typ 2. Die beiden pathologischen Gruppen - übergewichtige Probanden zum einen und Probanden mit genetischer Prädisposition für die Entwicklung von Diabetes mellitus Typ 2 zum anderen - zeigten beide eine verringerte Antwort auf intranasal appliziertes Insulin. Jedoch wiesen sie unterschiedliche MEG Muster auf. Daraus folgt, dass unterschiedliche Mechanismen zu einer zerebralen Insulinresistenz führen können (Tschritter, Preissl et al. 2006).

In einer weiteren Studie untersuchten Tschritter et al. 2009 die Ursachen für eine zentrale Insulinresistenz. Sie zeigten, dass die verringerte zerebrokortikale Aktivität auf intranasales Insulin bei übergewichtigen Probanden mit erhöhten Spiegeln der gesättigten nicht-veresternden Fettsäuren (NEFA) assoziiert war. Dies deutet auf einen Zusammenhang zwischen erhöhten NEFAs und Insulinresistenz hin (Tschritter, Preissl et al. 2009).

Weiterhin hat die zentrale Insulinresistenz einen Einfluss auf Gewichts- und Körperfettverlust. So zeigten Tschritter et al. 2012, dass eine hohe Insulinsensitivität des Gehirnes den gezielten Verlust von Körpergewicht und Körperfett erleichtert (Tschritter, Preissl et al. 2012).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das Gehirn ein insulinsensitives Gewebe darstellt, das im Zusammenhang mit Adipositas und Nährstoffsignalen eine wesentliche Rolle bei der Regulation der Energie- und Glukosehomöostase spielt. Die zentrale Insulinresistenz, also eine Störung dieser Wahrnehmungsmechanismen im Gehirn, kann demzufolge zu Übergewicht und einer Fehlregulation der Blutzuckerwerte führen. Die

Ernährung spielt in Zusammenhang mit Übergewicht eine wesentliche Rolle bei der Entstehung der Insulinresistenz des Gehirnes. In Folge der Blutzuckerfehlregulation kann sich das Übergewicht und der hyperinsulinämische Zustand verschlechtern und zu einer offenen Hyperglykämie führen. Dies führt im Körper zu peripherer Insulinresistenz und kann in Kombination mit einer nicht mehr kompensierbaren Insulinsekretion der Bauchspeicheldrüse zu Diabetes mellitus Typ 2 fortschreiten. Zerebrale Insulinresistenz könnte also nicht nur eine Konsequenz, sondern auch den Beginn von Übergewicht und Diabetes Typ 2 darstellen (Pagotto 2009).

1.2 Insulin und Schwangerschaft

Um eine optimale Versorgung des Fötus zu gewährleisten, passt sich der mütterliche Organismus mit verschiedenen Organsystemen an die veränderten Verhältnisse während der Schwangerschaft an. Neben Adaptionen des Herz- und Kreislaufsystems, des Körpergewichtes, der Lunge und Atmung und des Skelett- und Bindegewebes, kommt es auch zu Veränderungen des Stoffwechsels (Weyerstahl und Stauber 2013). In der ersten Schwangerschaftshälfte zeigen Frauen typischerweise eine erhöhte Insulinsensitivität, wohingegen ab der zweiten Schwangerschaftshälfte eine zunehmende Resistenz gegenüber Insulin durch eine erhöhte Bildung von Insulinantagonisten wie Östrogen, Humanes Plazentalacton, Kortisol, Prolactin und Progesteron auftritt (Catalano, Tyzbit et al. 1991, Tamas und Kerenyi 2001). Die Insulinsensitivität nimmt in der zweiten Schwangerschaftshälfte um ca. 50-70% ab (Catalano, Tyzbit et al. 1991, Kuhl 1998). Nach der „Accelerated Starvation“- Theorie wird angenommen, dass die herabgesetzte Insulinsensitivität der Mutter die Versorgung des Fötus mit Nährstoffen (Glukose und Aminosäuren) sicherstellen soll, indem postprandial durch längere Hyperglykämien die Glukoseaufnahme des Fötus erleichtert wird und die Mutter ihre Energie vermehrt aus Energiespeichern des Hungerstoffwechsels (Lipolyse und Ketogenese) zieht (Freinkel 1980, Herrera, Lasuncion et al. 1991).

Eine zunehmende Insulinresistenz führt zu einem Anstieg des Glukosespiegels der Schwangeren und als Gegenkompensation zu einer erhöhten Insulinproduktion. In einer normalen Schwangerschaft kann sich die Insulinproduktion der Bauchspeicheldrüse um das ca. 200- bis 250- fache erhöhen, um eine Euglykämie zu erreichen (Catalano, Tyzbit et al. 1993, Kuhl 1998). Falls keine ausreichende Steigerung der Insulinproduktion möglich ist, entsteht das Krankheitsbild des Schwangerschaftsdiabetes.

Schwangerschaftsdiabetes ist definiert als „eine Glukosetoleranzstörung, die erstmals in der Schwangerschaft mit einem 75 Gramm oralen Glukosetoleranztest (oGTT) [...] diagnostiziert wird (Kleinwechter, Schäfer-Graf et al. 2011). Der Goldstandard in der Diagnostik einer Glukosetoleranzstörung

ist ein 75 Gramm oraler Glukosetoleranztest: Bei diesem Test wird die Blutzuckerreaktion der nüchternen Schwangeren auf eine oral zugeführte 75 Gramm Glukoselösung untersucht. Die Blutzuckerwerte werden im nüchternen Zustand sowie nach einer und zwei Stunden gemessen. Überschreitet einer dieser drei Blutzuckermesswerte die festgelegten Grenzwerte (siehe Tabelle 1), wird ein Schwangerschaftsdiabetes diagnostiziert (Kleinwechter, Schäfer-Graf et al. 2011).

Zeitpunkt	Blutglukose [mg/dl]	Blutglukose [mmol/l]
Nüchtern-Wert	< 92	5,1
1h-Wert	< 180	10,0
2h-Wert	< 153	8,5

Tabelle 1: Grenzwerte des OGTTs

Die Anzahl der Schwangeren, die während der Schwangerschaft einen Schwangerschaftsdiabetes entwickelten, lag laut Studien 2010 bei ca. 4% (mit einem Anstieg um das 2,5- fache seit 2002) (Kleinwechter, Schäfer-Graf et al. 2011). Im Jahr 2012 wurde in Deutschland ein Schwangerschaftsdiabetesscreening als Kassenleistung für alle Schwangeren zwischen der 24. und 28. Schwangerschaftswoche eingeführt (Hess 2011).

Glukose ist der Hauptenergielieferant des Fötus (Hay 2006, Hadden und McLaughlin 2009). Mütterliche Glukose wird über die Plazenta zum Fötus transportiert – wohingegen mütterliches Insulin die Plazenta nicht passieren kann (Freinkel 1980, Beardsall, Diderholm et al. 2008).

Föten von Müttern mit Schwangerschaftsdiabetes sind mit chronisch erhöhten Blutzuckerwerten konfrontiert. Chronische mütterliche und folglich fetale Hyperglykämien führen reaktiv zu erhöhter intrauteriner fetaler Insulinsekretion („Pederson Hypothese“ (Pedersen 1952)). So wiesen Studien erhöhte Insulin- bzw. C-Peptidwerte im Nabelschurblut der Föten zum Zeitpunkt der Geburt bei Müttern mit erhöhten Glukosewerten im Rahmen eines oGTTs nach (Group, Metzger et al. 2008).

Erhöhte Glukose- und Insulinwerte während der Schwangerschaft können akute Auswirkungen für den Fötus bedeuten. Akute Folgen können für das Kind zum einen die Makrosomie bei Geburt (Geburtsgewicht oberhalb der 95. Perzentile) auf Grund erhöhter Glykogeneinlagerungen und Adipogenese darstellen (Group, Metzger et al. 2008). Zudem zeigen betroffene Kinder bei Geburt vermehrt Atemstörungen durch eine beeinträchtigte Surfactant-Bildung (Gewolb 1996) und Polyglobulien durch erhöhten Sauerstoffbedarf mit folglich erhöhter Erythropoetin-Bildung. Außerdem ist die Frühgeburts- und Kaiserschnitt-Rate erhöht (Fadl, Ostlund et al. 2010). Die häufigste Komplikation stellen allerdings Hypoglykämien in den ersten Lebensstunden dar, die als Folge erhöhter Insulinspiegel des Fötus und abruptem Abfall der Zuckernahrung nach der Geburt auftreten. Bei postnataler Überwachung sind diese allerdings gut zu erkennen und zu behandeln (Cordero, Treuer et al. 1998, Kleinwechter, Schäfer-Graf et al. 2011).

Die Fragestellung, welche Auswirkungen Blutzucker- und Insulinspiegelveränderungen der Mutter auf die Gehirnentwicklung und die Reaktion des Fötus im Mutterleib aufweisen, konnte mit den bisherigen Methoden nicht untersucht werden. Neueste Studien geben darüber hinaus Hinweise, dass ein diabetogenes Milieu der Mutter zusätzlich zu den akuten, auch langfristige Folgen für das Kind bedeuten könnte (siehe Kapitel 1.3).

1.3 Fetale Programmierung

Über eine Zeitspanne von ca. 38 Wochen, zwischen der Befruchtung der Eizelle und der Geburt eines komplexen Organismus, entwickelt sich und wächst der Embryo (\leq 8. Entwicklungswoche) bzw. Fötus (\geq 9. Entwicklungswoche) im Mutterleib heran (Bommas-Ebert, Teubner et al. 2006). Die Versorgung des Fötus während dieser Zeit ist durch den Mutterkuchen (Plazenta) gewährleistet, durch den er mit der Mutter verbunden ist. Die Nährstoffe, die durch die Plazenta gelangen, bestimmen das metabolische Milieu in dem der Fötus sich entwickelt und reift. Dörner et al. postulierten in den 70er Jahren, dass Veränderungen dieses metabolischen Milieus nicht nur akute Erkrankungen beeinflussen, sondern auch zu dauerhaften Langzeiteffekten in späteren Lebensphasen führen können (Dörner 1977). So könnten spezifische Hormone und Nährstoffe in bestimmten Konzentrationen eine Anpassung des Fötus auf diese Reize hervorrufen. Dieser Prozess der Anpassung wurde als „fetale Programmierung“ bezeichnet.

Plagemann et al. beschreiben die fetale Programmierung als „einen Prozess, bei dem während besonders kritischer Entwicklungsphasen (pränatal/neonatal) durch Einwirkung von Faktoren wie Ernährung oder Hormonen die künftige Funktionsweise von Organen bzw. Organsystemen dauerhaft geprägt wird, so dass im Falle einer Störung dieser „Programmierung“ daraus im späteren Leben chronische Erkrankungen wie etwa Übergewicht und Diabetes mellitus entstehen können“ (Plagemann, Harder et al. 2008).

Eine Hypothese der fetalen Programmierung besteht darin, dass die Anpassung als Vorbereitung auf zu erwartende Verhältnisse nach der Geburt geschieht. Die Mutter passt den Fötus durch ihre Ernährung und folglich das dem Fötus zur Verfügung stehende Nährstoffangebot an die Umweltverhältnisse an. Nährstoffknappheit der Mutter beispielsweise, resultiere deshalb in geringem Körpergewicht des Fötus und solle ihm helfen, sich nach seiner Geburt einen Überlebensvorteil zu sichern (Bateson 2007).

Verschiedene epidemiologische Studien der letzten Jahre bestärken das Konzept der fetalen Programmierung. Einige Studien (Ravelli, Stein et al. 1976, Barker, Osmond et al. 1993) befassen sich mit den Auswirkungen der mütterlichen Ernährung und in diesem Zusammenhang mit dem Geburtsgewicht des Kindes und der Auftrittswahrscheinlichkeit von Herz-Kreislauf- und Stoffwechselerkrankungen der Kinder im späteren Leben.

So geben mehrere Studien (Harder, Rodekamp et al. 2007) Hinweise darauf, dass sowohl mütterliche Unterernährung, als auch mütterliche Überernährung, während der Schwangerschaft das Diabetesrisiko und kardiovaskuläre Risiko erhöhen könnten.

Barker et al. beschrieben einen Zusammenhang zwischen reduziertem fetalem Wachstum und erhöhter Mortalität an kardiovaskulären Erkrankungen im Erwachsenenalter (Barker, Osmond et al. 1993). Ravelli et al. zeigten, dass eine Mangelernährung der Mütter im zweiten Weltkrieg während des ersten und zweiten Schwangerschaftstrimesters zu einer Zunahme des Übergewichtsrisiko der Nachkommen führte (Ravelli, Stein et al. 1976). In einer Meta-Analyse untersuchten Harder et al. die Daten von ca. 130.000 Personen aus 16 Studien in Bezug auf den Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht des Kindes und dem Risiko im späteren Leben an Diabetes zu erkranken. Die Studie ergab einen U-förmigen Zusammenhang. Sowohl ein niedriges Geburtsgewicht (<2.500g), als auch ein hohes Geburtsgewicht (>4.000g) waren mit einem erhöhten Diabetesrisiko assoziiert (Harder, Rodekamp et al. 2007).

Es wurde zudem untersucht, ob es eine Assoziation von bestimmten Nahrungsmitteln bzw. Elektrolyten und dem Geburtsgewicht bzw. Erkrankungen im späteren Leben gibt. So zeigte sich zum Beispiel, dass ein erhöhter Verzehr von Milch, grünem Gemüse und Früchten bei indischen Müttern zu einem erhöhten Geburtsgewicht ihres Neugeborenen führt (Rao, Yajnik et al. 2001) und eine vermehrte mütterliche Zufuhr von Kalzium während des zweiten Trimesters der Schwangerschaft in Zusammenhang mit einem erniedrigten Blutdruck bei 6 Monate alten Säuglingen steht (Gillman, Rifas-Shiman et al. 2004).

Zusätzlich zur Ernährung konnte auch in verschiedenen Veröffentlichungen (Dabelea, Hanson et al. 2000, Sobngwi, Boudou et al. 2003) die Wichtigkeit des Hormonhaushaltes der Mutter während der Schwangerschaft für die Entstehung von Erkrankungen wie Diabetes und Übergewicht beschrieben werden. Die intrauterine Exposition gegenüber dem diabetischen Milieu erhöht auch unabhängig des genetischen Hintergrundes das Diabetesrisiko der Kinder. Schon vor über 40 Jahren ergab eine Kohortenstudie von Dörner et al., dass Diabetes Typ 2 deutlich häufiger über die mütterliche als über die väterliche Seite vererbt wurde (Dörner und Mohnike 1976). Sobogni et al. zeigten ebenfalls, dass Nachkommen von Müttern, die während der Schwangerschaft einen Diabetes mellitus Typ 1 aufwiesen, häufiger einen beeinträchtigten Glukosemetabolismus aufzeigten, als Nachkommen von Vätern mit Diabetes mellitus Typ 1 (Sobngwi, Boudou et al. 2003). In einer Geschwisterstudie von Dabelea et al. bei Pima Indianern wurden die Risiken von Geschwistern verglichen, die vor bzw. nach der Diabetesdiagnose der Mutter geboren wurden. Trotz des ähnlichen genetischen Hintergrundes entwickelten Kinder, die nach der Entwicklung der Diabeteserkrankung ihrer Mutter geboren wurden, signifikant häufiger Diabetes als ihre Geschwister, die vor der Diabetesdiagnose geboren wurden (Dabelea, Hanson et al. 2000).

Der zugrundeliegende epigenetische Mechanismus und die Ursache der fetalen Programmierung sind noch weitgehend unbekannt und immer noch Gegenstand aktueller Forschung. In Bezug auf die Entwicklung von Diabetes wurden der Einfluss verschiedener Nährstoffe und Hormone während der Schwangerschaft untersucht. Mehrere Tierstudien deuteten eine wesentliche Rolle des Insulinspiegels während spezifischer embryonaler und fetaler Zeitfenster für die Entwicklung von Diabetes im späteren Leben an (Dörner und Plagemann 1994, Silverman, Metzger et al. 1995).

Kinder von übergewichtigen und diabetischen Müttern zeigten bereits bei Geburt eine beeinträchtigte Insulinwirkung. Catalano et al. wiesen 2009 eine periphere Insulinresistenz des Fötus zum Zeitpunkt der Geburt bei adipösen Müttern nach (Catalano, Presley et al. 2009). Zusätzlich zur Beeinflussung der

peripheren Insulinwirkung zeigten neueste Tierstudien, dass erhöhte Insulinwerte während der Fetalzeit auch Einflüsse auf die fetale Gehirnentwicklung ausüben. So konnten einige Studien eine Fehlentwicklung spezifischer Strukturen im Hypothalamus bei erhöhten Insulinkonzentrationen während der Gehirnentwicklung nachweisen (Plagemann, Harder et al. 1999, Gupta, Srinivasan et al. 2009, Vogt, Paeger et al. 2014).

In menschlichen Föten wurden die Auswirkungen von fetaler Hyperinsulinämie auf das fetale Gehirn im Mutterleib und seine Entwicklung bisher nicht untersucht. Mit Hilfe der fetalen Magnetoenzephalographie soll dieser Fragestellung im Folgenden auf den Grund gegangen werden.

1.4 Fetale Magnetoenzephalographie (fMEG)

Durch die fetale Magnetoenzephalographie (fMEG) ist es möglich, nicht invasiv und passiv die fetale Hirnaktivität im Mutterleib (=intrauterin) zu untersuchen. Zudem können die Herztätigkeit, die Kindsbewegungen und die mütterliche Wehentätigkeit registriert werden. Das fMEG stellte einen großen Fortschritt in der Erforschung der neurologischen Entwicklung des Fötus dar. Vor der Entwicklung des fMEGs war die Untersuchung der funktionellen Gehirnprozesse auf Grund der Lage und der damit verbundenen erschwerten Zugänglichkeit des kindlichen Kopfes im graviden Bauch der Mutter auf das postnatale Stadium des Lebens beschränkt (Preissl, Lowery et al. 2004, Preissl, Lowery et al. 2005).

Das fMEG beruht auf dem gängigen Prinzip der MEG Messung: Bei Aktivität des Gehirnes generieren elektrische Ströme von tausenden Neuronen der Hirnrinde ein magnetisches Feld (Malmivuo und Plonsey 1995). 1968 detektierte Cohen erstmalig magnetische Felder des erwachsenen menschlichen Gehirnes (Cohen 1968). Blum et al. gelang es 1984 erstmalig erfolgreich mit einem 1 Kanal Gerät MEG Gehirnsignale der Föten im Mutterleib aufzuzeichnen (Blum, Saling et al. 1985).

Bei einer fMEG Messung werden hochempfindliche Sensoren, sogenannte SQUIDs (Superconducting Quantum Interference Devices), benötigt, um die fetalen Magnetfelder über der mütterlichen Bauchoberfläche aufzuzeichnen, da die Magnetfelder nur eine Stärke im Bereich von Femtotesla (10^{-15} Tesla) aufweisen (Schleussner, Schneider et al. 2001). (Im Vergleich: Erdmagnetfeld = 10^{-4} Tesla) (Andrä und Nowak 2007). Um diese höchste Sensibilität zu gewährleisten, werden die SQUIDs in einem Dewar mit Hilfe von flüssigem Helium auf -273°C abgekühlt.

Abbildung 3 demonstriert die schematische Darstellung einer fMEG Messung.

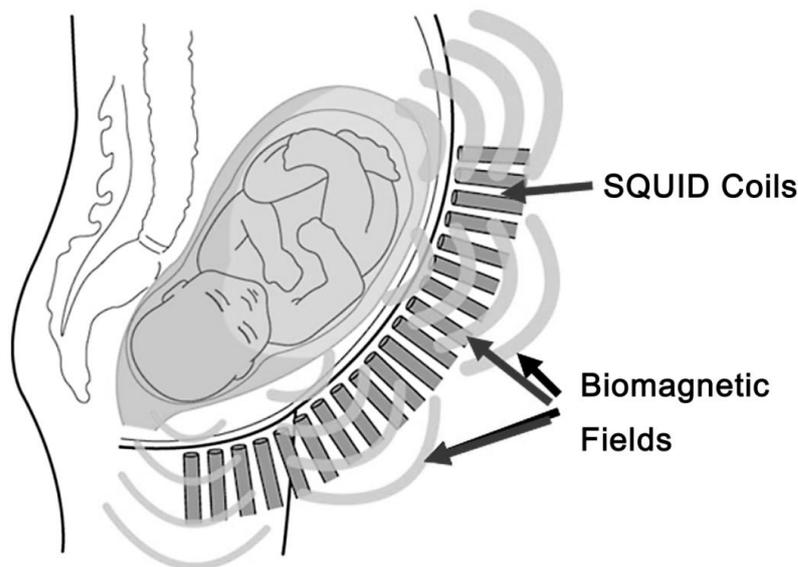


Abbildung 3: Schematische Darstellung einer fMEG Messung.

Akustisch evozierte magnetische Felder, die vom fetalen Gehirn generiert werden, können von SQUID Sensoren des fMEG Gerätes detektiert werden. Mit freundlicher Genehmigung des fMEG-Zentrums Tübingen

Um die magnetischen Einflüsse der Umgebung abzuschirmen, befindet sich das fMEG in einer magnetisch abgeschirmten Kammer (Vakuumschmelze, Germany). Die Kommunikation mit der Probandin während den Messungen wird durch eine integrierte Gegensprechanlage und Kamera gewährleistet.

Ein Vorteil des fMEG besteht darin, dass keine Verzerrung der magnetischen Felder auf Grund von Gewebeschichten (z.B. Käseschmiere oder mütterliche Haut- und Muskelschichten) entstehen (Malmivuo und Plonsey 1995). Es kommt somit zu keiner Minderung der Signalqualität, wie bei der direkten Messung von elektrischen Strömen mit Elektroden an der Kopfoberfläche. Zusätzlich stellt das fMEG keine Risiken für Mutter und Kind dar, da es lediglich passiv das kindliche Magnetfeld registriert und nicht selbst Strahlung aussendet.

Im Jahr 2000 wurde das SARA-System (VSM Med Tech, Coquitlam, BC Canada), das weltweit erste dezidierte fMEG Modell in Little Rock (USA) in Kooperation der Universität Tübingen und der University for Medical Sciences of

Arkansas in Betrieb genommen (Eswaran, Preissl et al. 2002, Eswaran, Wilson et al. 2002, Vrba, Robinson et al. 2004, Holst, Eswaran et al. 2005). 2008 wurde SARA II (VSM Med Tech, Ltd, Port Coquitlam, Canada), eine weiterentwickelte Version, in Tübingen errichtet. SARA II ist mit 156 Einzelsensoren ausgestattet. Die Sensoren werden für die Aufzeichnungen der fetalen Magnetfelder benötigt und sind gleichmäßig in der konkaven Sensorfläche verteilt. Zusätzlich sind 29 Referenzsensoren und vier Lokalisations-Drahtspulen (Coils) vorhanden. Die Referenzsensoren können externe Störsignale detektieren und es kann deren Einfluss abgeschwächt werden. Die Coils dienen der Lokalisation der mütterlichen Körperposition gegenüber der Sensoranordnung. Die Probandin sitzt mit nach vorne gebeugtem Oberkörper und legt ihr Abdomen in die gerundete Sensorfläche, die das Abdomen der Probandin vom Perineum bis zum höchsten Punkt des Uterus bedecken (Preissl, Lowery et al. 2005). Diese Lage bietet den Vorteil, dass es nicht wie in Rückenlage zu einer Einklemmung der Unteren Hohlvene durch das Gewicht der Gebärmutter führen kann (Vena-cava-Kompressionssyndrom). Der Gerätesitz kann zusätzlich an die Körpergröße der Probandin individuell angepasst werden und bietet so einen erhöhten Sitzkomfort. Abbildung 4 zeigt das fetale Magnetoenzephalographiegerät des Universitätsklinikums Tübingen.

Für Stimulationsstudien werden die Daten kontinuierlich mit einer Abtastrate (Sampling Rate) von 610.352 Hz aufgezeichnet.



Abbildung 4: Fetales Magnetoenzephalographiegerät des Universitätsklinikums Tübingen

Mit freundlicher Genehmigung des fMEG Zentrums Tübingen.

Mit dem SARA System kann sowohl die spontane fetale Gehirnaktivität (Preissl, Lowery et al. 2004, Eswaran, Haddad et al. 2007), als auch die hervorgerufene Reaktionen des Fötus auf einen externen visuellen (Eswaran, Wilson et al. 2002, Eswaran, Lowery et al. 2004) oder akustischen (Schneider, Schleussner et al. 2001, Zappasodi, Tecchio et al. 2001, Eswaran, Preissl et al. 2002) Stimulus untersucht werden. Die akustische Stimulation ist hierbei von großer Bedeutung, da das fetale auditorische System schon früh funktionsfähig ist (siehe Kapitel 1.5.)

1.5 Hören im Mutterleib

Für eine Wahrnehmung von Geräuschen durch den Fötus bedarf es eines funktionierenden Gehörsystems, beginnend vom äußerem Ohr (Ohrmuschel und äußerer Gehörgang), Weiterleitung durch das Mittelohr (Trommelfell und Gehörknöchelchen) und einer Geräuschwahrnehmung im Innenohr, von wo aus die Informationen über den Hörnerv und den Thalamus bis zur Großhirnrinde weitergeleitet werden (Schmidt 2010).

Die Entwicklung dieser anatomischen Strukturen beginnt mit der Entstehung der Ohrplakode schon in der fünften Schwangerschaftswoche (SSW) post menstruationem (p.m.) und wird mit der vollständigen Myelinisierung der Hörbahn nach der Geburt (um das vierte Lebensjahr) abgeschlossen (Querleu, Renard et al. 1989, Peck 1994). Ab der 20. Schwangerschaftswoche ist die Morphologie der Hörschnecke (Cochlea) größtenteils entwickelt und das auditorische System des Föten zeigt erste grundlegende sensorische Verarbeitungskapazitäten (Pujol, Lavigne-Rebillard et al. 1991).

Die Hörfunktion des Fötus im Mutterleib wurde mit Verhaltensänderungen des Fötus in Form von Bewegungs- und Herzfrequenzveränderungen auf einen akustischen Stimulus untersucht (Lecanuet und Schaal 1996, Preissl, Lowery et al. 2005). Birnholz et al. beobachteten mittels Ultraschall erste Reaktionen einzelner Föten nach akustischer Stimulation in Form von Blinzel-Schreck-Reaktionen („blink startle reaction“) zwischen der 24. und 25. Schwangerschaftswoche (Birnholz und Benacerraf 1983). Mehrere Studien zeigten, dass sichere Reaktionen des Fötus auf akustische Stimulation ab der 28. Schwangerschaftswoche erwartet werden können (Birnholz und Benacerraf 1983, Hepper und Shahidullah 1994, Lecanuet und Schaal 1996).

Der Fötus ist von einem konstanten und vielfältigen Geräuschlevel umgeben. Dieses besteht zum größten Teil aus kontinuierlichen Kardiovaskulären, Atmungs- und Intestinalgeräuschen (Gerhardt und Abrams 1996). Zudem kann der Fötus kurze Geräuschimpulse durch die Bewegungen und die Stimme der Mutter wahrnehmen. Die akustische Umgebung des Fötus im Uterus ist

charakterisiert durch Geräusche niedriger Frequenz (Gerhardt und Abrams 1996, Abrams und Gerhardt 2000). Auch externe Geräusche können den Fötus erreichen. Diese Geräusche erreichen den Fötus aber nicht direkt, sondern werden abgeschwächt und modifiziert, da der Fötus von Fruchtwasser und mütterlichen Gewebeschichten umgeben ist. In den 60er Jahren untersuchten mehrere Forschungsgruppen das Ausmaß der Abschwächung externer Geräusche durch die mütterlichen Gewebeschichten (Hepper und Shahidullah 1994). Tierstudien an Schafen und Modellstudien ergaben, dass Frequenzen über 1000 Hz sehr stark durch das Abdomen gedämpft werden. Geräusche unter dieser Frequenz werden mit einer Dämpfung von ca. 30 dB Lautstärke übermittelt (Walker, Grimwade et al. 1971, Armitage, Baldwin et al. 1980, Lecanuet, Gautheron et al. 1998).

Die Tatsache, dass der Fötus intrauterin hören kann und auf akustische Stimuli reagiert, führte zu der Hypothese, dass diese als Indikator für den Fortschritt der funktionellen Gehirnentwicklung des Fötus genutzt werden könnten (Preissl, Lowery et al. 2005).

1.6 Akustisch evozierte Reaktionen

Die ersten erfolgreichen Aufzeichnungen elektrischer Aktivität im menschlichen Gehirn mit einem Elektroenzephalogramm (EEG) gelangen Hans Berger im Jahre 1924 (Jung und Berger 1979). In den darauffolgenden Jahren wurde untersucht, ob sich Tätigkeiten spezifischer Sinnesorgane wie z.B. des Gehöres in den EEG-Kurven widerspiegeln. 1933 beobachtete Kornmüller et al. und 1939 Davis et al. nach akustischer Stimulation spezifische Potentialänderungen im EEG der Probanden, die an der Kopfhaut abgeleitet wurden - die akustisch evozierten Potentiale (AEP) (Kornmüller 1933, Davis 1939). Da die hervorgerufenen Reizantworten sehr geringe Amplituden aufweisen und in einem Spontan-EEG nicht zu erkennen sind, wird der akustische Stimulus wiederholt dargeboten und die einzelnen Abschnitte anschließend gemittelt (Picton, Hillyard et al. 1974).

Bei den gemittelten akustisch evozierten Potentialen können einzelne Komponenten je nach Latenzzeit (Zeit zwischen Stimulusonset und Maximum bzw. Minimum der Antwortwellen des Großhirnes) beschrieben werden. Diese können spezifischen anatomischen Strukturen der auditorischen Bahn zugeordnet werden. Man unterscheidet zwischen frühen AEP nach ca. 8 ms als Antwort der Cochlea und Nuclei des Hirnstammes, mittlere AEP nach ca. 8-50 ms als Antwort des Thalamus und Cortex und spätere AEP nach 50-300 ms als Antwort des Subcortex und Cortex (Picton, Hillyard et al. 1974). Die prominenteste Antwort wird als N1 in der EEG Literatur beschrieben. Diese Komponente tritt ca. 100 ms nach Stimulus auf (Naatanen und Picton 1987).

In den 60er Jahren wurden viele Untersuchungen von EEG Aufzeichnungen und auditorisch evozierte Antworten an Frühgeborenen und reifen Neugeborenen durchgeführt (Weitzman, Graziani et al. 1967). Weitzmann et al. untersuchten die Entwicklung der auditorisch evozierten Potentiale im EEG der Neugeborenen als Indikator für die funktionelle Reifung des menschlichen Gehirns anhand der Detektionsrate und der Latenzzeit. Sie konnten in ihren

Untersuchungen eine Abnahme der Antwortlatenz mit zunehmender Reifung des Kindes beobachten (Weitzman, Graziani et al. 1967).

In den 70er Jahren wurden akustisch evozierte Felder (AEF) bei Erwachsenen auch mit Hilfe der Magnetoenzephalographie (MEG) gemessen (Reite, Edrich et al. 1978, Hari, Aittoniemi et al. 1980).

Blum et al. gelangen 1984 die ersten erfolgreichen MEG Aufzeichnungen der akustisch evozierten Felder des Fötus im Mutterleib. Blum benutzte einen Ein-Kanal-Neuromagnetometer, welchen er über das mütterliche Abdomen über der Position des zuvor mit einem Ultraschall Gerätes ermittelten Position des fetalen Köpfchens platzierte. Postnatale Aufzeichnungen des AEFs bei Neugeborenen zeigten ähnliche Gehirnsignale verglichen mit diesen pränatalen Beobachtungen (Blum, Saling et al. 1985). Die gefunden Komponenten wurden als Pendant zu dem N1 des AEFs des primären auditorischen Cortex des Temporallappens interpretiert (Naatanen und Picton 1987). Seit diesem Zeitpunkt haben einige Wissenschaftler MEG angewendet um fetale Gehirnantworten zu untersuchen (z.B. Wakai et al. 1996 mit einem 7 Kanal SQUID Gradiometer (Wakai, Leuthold et al. 1996) und Schleussner et al. mit einem 31 Kanal SQUID Gradiometer (Schleussner, Schneider et al. 2001)).

Durch die Entwicklung des fetalen MEG Gerätes, das speziell für fetale Messungen konzipiert wurde (fMEG siehe 1.4), konnte das Signal-zu-Rausch-Verhältnis und die Detektionsrate verbessert werden und es war möglich AEFs der Föten ab der 28. Schwangerschaftswoche zu messen (Schleussner und Schneider 2004, Eswaran, Lowery et al. 2005). Auch die Verbesserungen der Rohdatenverarbeitung durch Artefaktreduktion führte zu einer Erhöhung der Detektionsrate (Schneider, Schleussner et al. 2001). Eswaran et al. konnten durch wiederholte Aufzeichnungen während einer kurzen Zeit die Detektionsrate der AER auf ca. 80% erhöhen (Eswaran, Preissl et al. 2002). Durch sowohl visuelle, als auch akustische Stimuli in aufeinander folgenden Messungen, konnte die Detektionsrate auf ca. 90% verbessert werden (Eswaran, Lowery et al. 2005)

Fetale MEG Antworten gesunder Föten auf akustische Stimuli wurden in vielen Studien erfolgreich untersucht (Preissl, Lowery et al. 2004).

In diesen fetalen Studien wurden AER Amplituden zwischen ca. 30 und 175 fT und Latenzen im Rahmen von 120-200ms gemessen. Es wird angenommen, dass diese Komponente dem Erwachsenen N1 entspricht, aber mit längerer Latenz (Naatanen und Picton 1987, Preissl, Lowery et al. 2004).

Weitere Forschungsgruppen (Schleussner und Schneider 2004, Holst, Eswaran et al. 2005) zeigten eine Verringerung der Antwortlatenz der fetalen AEFs mit zunehmendem Schwangerschaftsalter. Dies kann als Marker der funktionellen Gehirnentwicklung dienen. Eine kürzere Latenz wird als Indiz für reifere Gehirnantworten angesehen (Schleussner und Schneider 2004, Holst, Eswaran et al. 2005)

Erste klinische Studien offenbarten, dass AERs unter bestimmten klinischen Bedingungen verändert sind (Kiefer, Siegel et al. 2008, Schneider, Arnscheidt et al. 2011, Morin, Schleger et al. 2015). Kiefer et al verglichen die Latenz von wachstumsretardierten (intrauterine growth restriction, IUGR) Föten mit normal entwickelten Föten. Die IUGR Föten zeigten eine verzögerte Abnahme der AER-Latenz im Schwangerschaftsverlauf. Die IUGR Föten sind auf Grund von einer Plazentainsuffizienz teilweise mit Sauerstoff unterversorgt. Dies deutet ebenfalls auf eine verzögerte Hirnreifung hin (Kiefer, Siegel et al. 2008).

1.7 Fetale Verhaltensstadien

Zusätzlich zu den fetalen Hirnreaktionen auf einen akustischen Stimulus geben auch die sogenannten fetalen Verhaltensstadien wichtige Hinweise über den Zustand des Fötus im Mutterleib.

Seit die Existenz von Verhaltensstadien bei Neugeborenen in den 1960er-Jahren anhand definierter Kriterien (Augenbewegungen, Herzfrequenz, Atmung, EEG) beschrieben wurde (Prechtl 1974, Martin 1981), rückte nunmehr die Erforschung der Verhaltensstadien des Fötus im Mutterleib ins Interesse. Im Jahr 1982 beschrieben Nijhuis et al. auf den Neugeborenen-Studien aufbauend, vier verschiedene Verhaltensstadien für Föten ab der 36. Schwangerschaftswoche und benannten sie „quiet sleep (1F)“, „active sleep 2F“, „quiet awake 3F“ und „active awake (4F)“. Die Einteilung der fetalen Verhaltensstadien erfolgte mit Hilfe eines Ultraschallgerätes und anhand Kombinationen klar definierter Kriterien der fetalen Herzfrequenz, fetaler Augenbewegungen und fetaler Körperbewegungen (Nijhuis, Prechtl et al. 1982).

Erste passive, nicht stimulierte Bewegungen des Fötus beginnen schon in der 7. Schwangerschaftswoche (Vindla und James 1995). Ab der 23. Schwangerschaftswoche werden die allgemeinen Körperbewegungen organisierter und der Fötus zeigt Zyklen mit Stadien der Aktivität und Ruhe (Sorokin, Dierker et al. 1982, Pillai und James 1990). Mit fortschreitendem Schwangerschaftsalter werden die fetalen Verhaltensstadien immer stärker ausgebildet, was durch eine Synchronisation der fetalen Bewegungen und der fetalen Herzfrequenzmuster zum Ausdruck kommt. Dies ist als Zeichen der fortschreitenden Entwicklung des autonomen Nervensystems zu werten und entspricht der weiteren Regulierung des Herz-Kreislauf-Systems (Brandle, Preissl et al. 2015). Ab der 32. Schwangerschaftswoche können die vier fetalen Verhaltensstadien sicher festgestellt werden (Schneider, Frank et al. 2008).

Die Existenz des Stadiums 3F wurde auf Grund seines seltenen Auftretens von mehreren Autoren bezweifelt (Pillai und James 1990, DiPietro, Hodgson et al. 1996, Schneider, Frank et al. 2008).

Maeda et al zeigten, dass die von Nijhuis et al. definierten fetalen Stadien durch ein Aktokardiogramm - auch ohne Augenbewegungen - allein durch Herzratenvariabilität und Körperbewegungen klassifiziert werden können (Arabin, Riedewald et al. 1987). Ein Aktogramm wird benutzt, um fetale Bewegungen zu überwachen, wohingegen ein Kardiogramm die fetale Herzratenvariabilität registriert. Die gleichzeitige Aufzeichnung von fetalen Bewegungen und fetaler Herzratenvariabilität ist ein Aktokardiogramm (Maeda, Tatsumura et al. 1999, Maeda 2005, Maeda, Morokuma et al. 2006).

Auch aus den Rohdaten der fMEG Aufzeichnungen kann ein Aktokardiogramm erstellt werden. In fMEG Studien werden die fetalen Herzsignale als Nebenprodukt ermittelt. Es wurde gezeigt, dass das fetale Magnetocardiogramm (MCG) fähig ist den Herzrhythmus akkurat und verlässlich zu detektieren (Leuthold, Wakai et al. 1999, Stinstra, Golbach et al. 2002, Lowery, Campbell et al. 2003). Im Allgemeinen wird der QRS Ausschlag detektiert, um die RR Intervalle zu bestimmen und die Herzfrequenz zu berechnen (Van Leeuwen, Lange et al. 1999, Lowery, Campbell et al. 2003). Simultan kann durch eine Berechnung der Veränderung des Herzvektors bei Bewegungen des Fötus ein Rückschluss auf die fetalen Bewegungen im Mutterleib gezogen werden (Zhao und Wakai 2002).

Kiefer-Schmidt et al. untersuchten den Einfluss des fetalen Stadiums auf die akustisch evozierten Potentiale. Die Forschungsgruppe beobachtete eine schnellere fetale Latenz auf akustische Stimuli bei Föten in den aktiveren Stadien im Vergleich zu Föten in passiveren Stadien (Kiefer-Schmidt, Raufer et al. 2013).

In der aktuellen Studie dient die Analyse der fetalen Verhaltensstadien als Kontrollvariable um zu überprüfen, ob Veränderungen der akustisch evozierten Potentiale auf unterschiedlichen Verhaltensstadien beruhen.

1.8 Fragestellung und Hypothesen

Das Ziel der vorliegenden Studie ist es, einen Beitrag zur Untersuchung der fetalen Programmierung im menschlichen Mutterleib zu leisten und somit eine der möglichen Ursachen für die Entstehung von Diabetes mellitus weiter zu erforschen. Diese Zielstellung soll mit den folgenden zentralen Fragestellungen und Hypothesen untersucht werden.

In der vorliegenden Studie wird untersucht, ob es eine direkte Auswirkung des mütterlichen Organismus auf den Fötus gibt und ob unterschiedliche metabolische Zustände der Mutter zu einer veränderten Gehirnreaktion des Fötus führen. Diese Arbeit erforscht demzufolge, ob eine Glukoseeinnahme der Mutter Auswirkungen auf die Reaktion des Fötus im Mutterleib ausübt. Es werden dabei die AER der Föten sowie die Blutwerte der Mütter zu jeweils drei Zeitpunkten gemessen (siehe Abbildung 5). Die aktuelle Studie untersucht die Hypothese, ob sich die Antwortlatenz der Gehirnreaktionen der Föten im Verlauf der Messung verändern.

Die Studie erforscht außerdem, welche mütterlichen Blutwerte mit Veränderungen der fetalen Gehirnreaktionen zusammenhängen.

Es sollen deshalb Zusammenhänge zwischen den gemessenen Blutzucker-, Insulin- und NEFA-Werten der Mütter und den Reaktionen der Föten gesucht werden. Die Studie überprüft die Hypothese, ob das Hormon Insulin hierbei eine wesentliche Rolle spielt.

Zudem soll die Studie weitere Hinweise geben, ob unterschiedliche uterine Milieus schon im Mutterleib die Reaktion des Kindes beeinflussen. Das metabolische Milieu soll in dieser Studie anhand der Insulinsensitivität der Mütter (Insulinsensitivitäts-Index bzw. HOMA-IR) untersucht werden. Kinder, deren Mütter eine geringere Insulinsensitivität aufweisen, sind länger mit hohen Glukosewerten konfrontiert und produzieren selbst mehr Insulin (Pederson-Hypothese, siehe auch Kapitel 1.2 dieser Arbeit). Die Studie untersucht daher

die Hypothese, ob es Unterschiede in der Reaktion der Kinder von insulinresistenteren Müttern und insulinsensitiveren Müttern gibt.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsteilnehmerinnen

Im Rahmen der Studie wurden insgesamt 48 gesunde Schwangere untersucht. Die Rekrutierung erfolgte zum einen durch ärztliche Mitarbeiter der Medizinischen Klinik IV im Rahmen der „Schwangerschaftsdiabetes Spezialsprechstunde“. Des Weiteren wurden Schwangere über Informationsveranstaltungen, Flyer und durch Mitarbeiter der Frauenklinik auf die Studie aufmerksam gemacht. Ab der 27. Schwangerschaftswoche konnten Schwangere an der Studie teilnehmen, da ab dieser Schwangerschaftswoche sicher fetale Gehirnsignale detektiert werden können (siehe Kapitel 1.6). Bei der Studie handelte es sich ausschließlich um Einzelschwangerschaften mit sicherem Schwangerschaftsalter. Mehrlingsschwangerschaften wurden von der Studie ausgeschlossen. Die folgenden klinischen Charakteristika der Probandinnen wurden in der Studie erfasst: Alter, Vorerkrankungen, Gewicht und BMI vor der Schwangerschaft und zum Zeitpunkt der Messung.

Sämtliche eingeschlossenen Schwangerschaften verliefen komplikationslos. Eine Probandin musste auf Grund eines bei Geburt festgestellten schweren Herzfehlers des Kindes ausgeschlossen werden. Alle restlichen Schwangerschaften führten zur Geburt eines gesunden Kindes. Alle Probandinnen nahmen freiwillig an den Untersuchungen teil und füllten nach ausführlicher Aufklärung über Risiken der Messung und den genauen Versuchsablauf eine schriftliche Einverständniserklärung aus. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Tübingen genehmigt (Projektnummer: 339/2010B01).

2.2 Überblick über Versuchsaufbau

Jede Probandin nahm an einem oralen Glukosetoleranztest (OGTT= Zuckerbelastungstest) und parallel an drei Messungen mit dem fMEG Gerät der Universität Tübingen teil. Der orale Glukosetoleranztest diente dem Nachweis einer gestörten Glukoseverwertung und ist der Goldstandard in der Diagnose eines Schwangerschaftsdiabetes. Es wurde die Reaktion der nüchternen Probandin auf eine Glukoselösung (75g Glukose) anhand drei Blutentnahmen

untersucht. Die erste Blutabnahme erfolgte bei nüchterner Probandin, die zweite 60 Minuten nach Glukoseaufnahme und die dritte 120 Minuten nach Glukoseaufnahme. Die fMEG Messungen fanden unmittelbar vor den jeweiligen Blutabnahmen statt. Fetale Gehirnantworten wurden anhand akustisch evozierter Reaktionen beurteilt.

Die Auswirkungen des mütterlichen Metabolismus (Blutwerte im Rahmen des OGTT) auf die Gehirnantworten des Fötus (AERs im Rahmen der fMEG Messung) wurden untersucht. Einen Überblick über den Versuchsablauf liefert Abbildung 5.

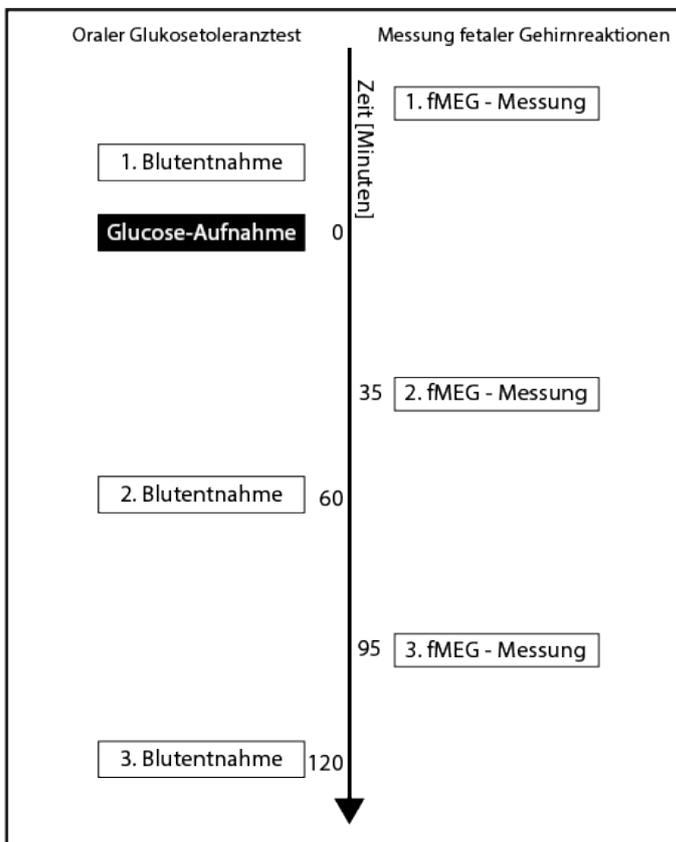


Abbildung 5: Überblick über Versuchsablauf

2.2.1 Detaillierter Versuchsablauf

Vorbereitung der Probandin

Der Messablauf begann jeweils um 8.00 Uhr morgens um zirkadiane Schwankungen zu kontrollieren. Nach der Begrüßung der Patientin wurde ein ausführliches Anamnesegespräch geführt, in dem folgende Daten der Probandin erfasst wurden: Alter, aktueller Gesundheitszustand und Vorerkrankungen, Gravidität und Parität, Schwangerschaftsverlauf, Gewicht vor der Schwangerschaft und zum Zeitpunkt der Messung, Nikotin- und Alkoholkonsum, Sozialstatus (siehe Anamnesebogen Kapitel 9.1). Alle Schwangeren waren zu diesem Zeitpunkt seit mindestens fünf Stunden nüchtern. Es folgte eine detaillierte Aufklärung über die Studienziele und den genauen Ablauf der Messung. Es wurde auf die Freiwilligkeit der Messung hingewiesen und betont, dass eine Beendigung der Messung jederzeit möglich ist. Im Anschluss an die Aufklärung wurde die Einwilligungserklärung von der Probandin unterschrieben (siehe Einwilligungserklärung Kapitel 9.2). Es folgte ein abdominaler Ultraschall (Logiq 500Md, General Electrics, UK) um die genaue Position des Kindes im Mutterleib zu bestimmen (siehe Ultraschall-Dokumentation Kapitel 9.3). Diese Erfassung ist für die folgende Auswertung der kindlichen Gehirnantworten bedeutsam. Nach dem Ultraschall zog die Probandin metallfreie Kleidung an und alle metallischen Gegenstände wurden abgelegt, da diese die fMEG Aufzeichnung stören würden.

Positionierung der Probandin auf dem Messgerät

Die Probandin nahm auf dem sattelförmigen Sitz des fMEGs (SARA-II-System, VSM Med Tech, Ltd, Port Coquitlam, Canada, siehe Kapitel 1.4) Platz und legte ihren Oberkörper in die konkave Sensorfläche des Messgerätes (siehe Abbildung 6). Ein Köpfsensor wurde am Abdomen der Schwangeren an der vorher im Ultraschall ermittelten Position des kindlichen Kopfes angebracht. Drei weitere Coils wurden jeweils an den beiden Seiten der Probandin und an ihrem Rücken befestigt. Diese Sensoren dienen der Registrierung der Position der Schwangeren gegenüber den Messsensoren und detektieren die Position der Schwangeren zu Beginn und Ende jeder Teilmessung. Ein

Stimulationsballon wurde zwischen der Sensorfläche und dem Abdomen der Schwangeren fixiert. Durch diesen Ballon wurden im späteren Verlauf die Töne, die außerhalb erzeugt wurden, während der Messung vorgespielt. Die Schwangere wurde nun durch Kissen, Polster und Gurte so bequem wie möglich positioniert. Die Höhe der Supportplattform, auf der sich die Unterschenkel der Probandin befanden, konnte je nach Größe der Probandin individuell verstellt werden, um einen bestmöglichen Sitzkomfort zu gewährleisten.



Abbildung 6: Probandin auf dem fMEG Messgerät

Mit freundlicher Genehmigung des Universitätsklinikums Tübingen

fMEG Messungen

Insgesamt wurden drei fMEG Messungen durchgeführt. Eine Messung mit nüchterner Probandin zu Beginn und daraufhin zwei Messungen im Abstand von 35 Minuten und 95 Minuten nach Glukoseaufnahme. Jede der drei Messungen bestand aus zwei Teilen: Einem 15-minütigen ersten Teil, der die spontane Hirnaktivität des Fötus aufzeichnete (SPONT, diese Messung wird in der vorliegenden Dissertation nicht weiter berücksichtigt) und im Anschluss

einem 6-minütigen Teil, in dem der Fötus durch Töne stimuliert wurde (AUDIO, (siehe Kapitel 2.2.2)). Zu jedem Zeitpunkt konnte durch die installierte Gegensprechanlage und Kamera Kontakt zur Schwangeren aufgenommen werden. Ein Überblick über die Messräumlichkeiten gibt Abbildung 7.

Starke Bewegungen, Oberschenkelmuskelaktivitäten oder sonstige Auffälligkeiten wurden im Messprotokoll dokumentiert (siehe Messprotokoll Kapitel 9.4). Am Ende jeder Messung wurde erneut die Kopfposition des Fötus ermittelt.



Abbildung 7: Überblick über den Aufbau der fMEG Messung im fMEG Zentrum der Universitätsklinik Tübingen

Mit freundlicher Genehmigung des Universitätsklinikums Tübingen

Oraler Glukose Toleranz Test (OGTT)

Jeder Probandin wurde eine Venenverweilkanüle (Abvocath 20 G) von einem Arzt der Medizinischen Klinik IV gelegt. Durch diesen Zugang erfolgten die drei Blutabnahmen. Bei jeder Blutentnahme erfolgte die Bestimmung der Blutzuckerwerte, Insulinwerte und nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA). Im Anschluss an die erste Blutentnahme bekam die Probandin eine

Glukoselösung (75 Gramm Glukose, Accu-Chek Dextrose O.G-T, Roche Diagnostics, Germany) zu trinken, die sie innerhalb von 5 Minuten zu sich nehmen durfte. Dieser Zeitpunkt wird als Nullpunkt der späteren Zeitrechnung bestimmt. Im Anschluss daran erfolgten zwei weitere Blutabnahmen nach 60 Minuten und 120 Minuten (siehe Abbildung 5).

Messabschluss

Nach Abschluss der Messungen und Blutentnahmen wurde ein erneuter Ultraschall durchgeführt, um die kindliche Position zum Ende der Messung zu überprüfen und Veränderungen der fetalen Lage zu detektieren. Danach durfte die Probandin frühstücken. Während der Vorbereitungen, der gesamten Messsitzungen, sowie der Nachbesprechung war jederzeit die Betreuung durch eine Ärztin der Universitätsklinik Tübingen oder durch eine erfahrene Hebamme gewährleistet.

2.2.2 Akustische Stimulation der Probandin während der Messung / Stimulationsparadigma

Während der akustischen Messung wurde der Fötus im Mutterleib mit Tönen stimuliert. Diese Töne wurden mit einem Lautsprecher außerhalb der Messkammer erzeugt und über ein Schlauchsystem und einen mit Luft gefüllten Plastikballon bis zum Abdomen der Schwangeren weitergeleitet. Zur Stimulation wurde ein Oddball-Paradigma verwendet. Das Oddball-Paradigma ist ein von der Forschungsgruppe in Little Rock auch für fetale Messungen etabliertes Verfahren der auditorischen Stimulation (Draganova, Eswaran et al. 2005), bei dem in einer zufälligen Reihenfolge neben dem Standardton ein zweiter Ton (devianter Ton) in einem konstanten Verhältnis abgespielt wird, um eine Habituation des Fötus auf den Standardton zu vermeiden. In der aktuellen Studie wurden tieffrequente Tonsignale von 500 Hz für den Standard und 750 Hz für den devianten Ton verwendet. Das Verhältnis zwischen dem Standard und devianten Ton betrug 75% zu 25%. Die Töne wurden mit einem Schalldruckpegel von 95dB abgespielt. Die Tondauer betrug 500ms und das Interstimulusinterval 1,5 Sekunden. Die auditorische Stimulation wurde durch

eine Präsentations-Software kontrolliert (presentation Version 12.2, www.neurobs.com). In dieser Studie wurden die fetalen Reaktionen auf den Standardton analysiert.

2.3 Laborwerte und Berechnungen

Insgesamt wurden jeder Probandin an drei Zeitpunkten Blutproben abgenommen. Die entnommenen Blutproben wurden sofort gekühlt und im Zentrallabor der Universität Tübingen weiter verarbeitet.

1. Bestimmung der Blutzuckerkonzentration

Die Blutzuckerkonzentration wurde durch das Gerät YSI 2300 STAT plus (Yellow Springs Instruments aus Yellow Springs, CO, USA) gemessen. Dieses Gerät beruht auf dem Prinzip der Glukose-Oxidase-Methode.

2. Bestimmung der Insulinkonzentration

Mit Hilfe des ADVIA Centaur XP Immunoassay System wurde die Insulinkonzentration des Probandenblutes ermittelt. Dieser Test arbeitet als Sandwich-Immunoassay und benutzt des Weiteren das Prinzip der Chemilumineszenz (Hersteller: Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Deutschland).

3. Bestimmung der NEFA-Konzentration

Die nicht veresterten freien Fettsäuren wurden durch eine enzymatische Methode (WAKO Chemicals, Neuss, Deutschland) mit Hilfe des ADVIA 1800 Analyzer (Hersteller: Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Deutschland) gemessen.

4. Berechnung der Insulinsensitivität / Insulinresistenz

Es wurden zwei verschiedenen Maße für die Insulinsensitivität verwendet.

Zum einen wurde der HOMA-IR (= Homeostasis model assessment-insulin resistance) berechnet. Der HOMA-IR ist ein Index, der 1985 von Matthews et al. entwickelt wurde (Matthews, Hosker et al. 1985). In diesem Modell wird die

Insulinresistenz bei nüchterner Probandin anhand der Nüchtern-Plasmainulin und Nüchtern-Blutzuckerwerte berechnet:

$$\text{HOMA-IR} = \text{Insulin nüchtern [pmol/l]} \times \text{Glukose nüchtern [mmol/l]} \times 0.139 / 22.5$$

Zum anderen wurde die postprandiale Insulinsensitivität der Probandinnen anhand des Insulinsensitivitätsindex berechnet (Stumvoll, Van Haeften et al. 2001). Hierbei wird die Insulinsensitivität mit Hilfe der Blutwerte während des oralen Glukosetoleranztestes berechnet und somit die metabolische Reaktion der Probandin auf eine definierte Glukosemenge analysiert.

In dieser Studie wurde folgende von Stumvoll et al. empfohlene Formel verwendet :

$$\text{Insulinsensitivitätsindex (ISI-3-Point) } [\mu\text{mol kg}^{-1} \text{ min}^{-1} \text{ pmol/l}] = 0,156 - 0,0000459 \times \text{Ins}_{120\text{min}} - 0,000321 \times \text{Ins}_{0\text{min}} - 0,00541 \times \text{Gluc}_{120\text{min}}$$

2.4 Analyse

2.4.1 Datenanalyse

2.4.1.1 Analyse der fetalen Verhaltensstadien

Für die Analyse der fetalen Verhaltensstadien während der Messungen mit akustischer Stimulation wurde ein Aktokardiogramm (fetale Herzfrequenz und fetale Bewegungen über die Zeit) aus den Rohdaten erstellt. Dieses wurde visuell ausgewertet und den einzelnen Verhaltensstadien zugeordnet (Kiefer-Schmidt, Raufer et al. 2013, Sonanini, Stingl et al. 2014, Brandle, Preissl et al. 2015).

Die Rohdaten wurden mit einem Hochpassfilter von 1Hz und einem Tiefpassfilter von 100Hz gefiltert. Mütterliche und fetale kardiale Signale wurden mit standardisierten Algorithmen detektiert und die mütterlichen kardialen

Signale entfernt (Vrba, Robinson et al. 2004, McCubbin, Robinson et al. 2006, Wilson, Govindan et al. 2008).

Aus diesem reduzierten Datensatz wurde nun automatisiert mit einem Algorithmus in MATLAB (The MathWorks, Inc. Version 7.7.R2008b) das Aktokardiogramm generiert. Das Kardiogramm gibt den fetalen Herzratenverlauf über die Zeit wieder. Es wurde anhand der RR-Abstände der fetalen Herzsignale berechnet. Das Aktogramm stellt ausgeprägte fetale Bewegungen als Abweichungen von der Basislinie über die Zeit dar. Es basiert auf Berechnung der Amplitudenänderungen der R-Zacke des fetalen Herzvektors in Relation zu den Sensoren über die Zeit (Govindan, Vairavan et al. 2011). Abbildung 8 zeigt beispielhafte Aktokardiogramme zweier Föten im Stadium „quiet“ und im Stadium „active“.

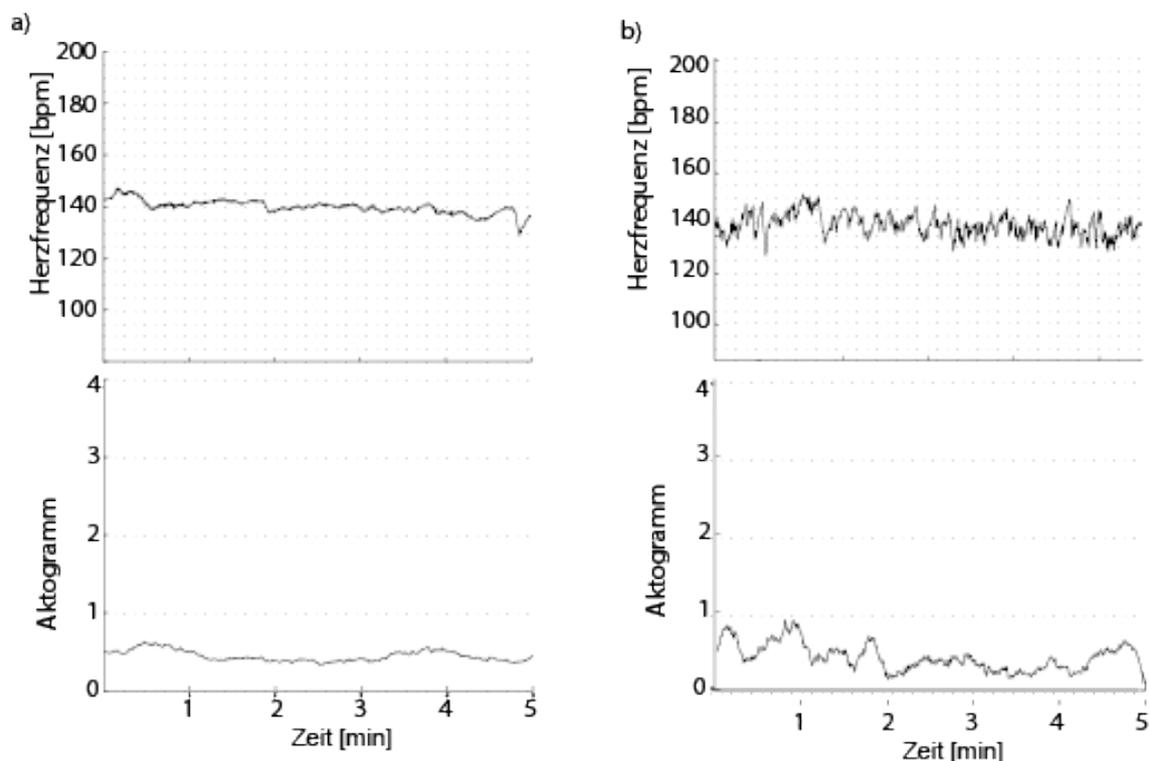


Abbildung 8: Beispielhafte Darstellungen eines Aktokardiogrammes eines Fötus in dem Stadium „quiet“ (a) und Stadium „active“ (b)

Die Abbildung zeigt das Aktokardiogramm zweier Föten von in der aktuellen Studie gemessenen Probandinnen in der 31.SSW (a) und 32. SSW (b).

Die Einordnung der Aktokardiogramme zu den einzelnen fetalen Stadien erfolgte danach visuell anhand bestimmter Kriterien der Herzratenvariabilität und der fetalen Bewegungen. In Abhängigkeit des Schwangerschaftsalters (< bzw. > 32 SSW) wurden die Föten in zwei bzw. vier Stadien eingeteilt (Siehe: Kapitel 1.7). Tabelle 2 fasst diese Einteilung zusammen.

		Ruhestadium	Aktivitätsstadium
SSW 25-32	Oszillationsbreite	eng: < +/- 5 bpm	breiter: > +/- 5 bpm
	Basislinie	stabile Basislinie <10bpm/3 min	instabile Basislinie mit Abweichungen >10bpm/3 min
	Akzelerationen > 15 bpm > 15 sec	selten, isoliert	Häufig
	Bewegung	sporadisch, Startles (kurze Reflexbewegungen)	regelmäßig, häufig

		Stadium 1F Passiv schlafend	Stadium 2F Aktiv schlafend	Stadium 3F Passiv wach	Stadium 4F Aktiv wach
SSW 33-40	Oszillationsbreite	< +/- 5 bpm	> +/- 5 bpm	> +/- 5 bpm	> +/- 10 bpm
	Basislinie	stabil, < 160 bpm	variabel, <160 bpm	stabil, < 160 bpm	kann 160 bpm überschreiten
	Akzelerationen > 15 bpm >15 sec.	selten, isoliert	regelmäßig, häufig, kann 160 bpm überschreiten	keine	Kontinuierlich, groß, verlängert, >30 bpm, kann 160 bpm überschreiten
	Bewegung	sporadisch, Startles	regelmäßig, häufig	keine	heftig und fortwährend

Tabelle 2: Klassifikationsschema der fetalen Stadien der fMEG Arbeitsgruppe (Sonanini, Stingl et al. 2014, Brandle, Preissl et al. 2015) auf der Basis von (Nijhuis, Prechtel et al. 1982, Frank, Pompe et al. 2006, Schneider, Frank et al. 2008)

Diese Definitionskriterien basieren auf den Nijhuis-Kriterien aus dem Jahre 1982 (Nijhuis, Prechtel et al. 1982) und wurden durch Schneider et al. (Schneider, Frank et al. 2008) und Frank et al. (Frank, Pompe et al. 2006) modifiziert und sind heute allgemein etabliert und werden auch in fMEG Studien angewandt (Sonanini, Stingl et al. 2014, Brandle, Preissl et al. 2015). Eine wesentliche Rolle spielt bei der Einteilung die Oszillationsbreite der Herzfrequenz, die Stabilität der Basislinie, die Häufigkeit von Akzeleratoren und das Ausmaß der fetalen Bewegungen. Die Kriterien müssen mindestens über

eine Zeitspanne von 3 Minuten konstant bleiben, um sie einem Stadium zuordnen zu können (Prechtl 1974, Govindan, Vairavan et al. 2011, Sonanini, Stingl et al. 2014). Auf Grund der geringen Anzahl der Probandinnen (7 Probandinnen), die nach der 32. SSW Woche untersucht wurden, wurden in der Auswertung alle Probandinnen in ein Ruhestadium und ein Aktivitätsstadium eingeteilt.

2.4.1.2 Analyse der fetale AER auf den Standardton

Mütterliche und fetale Herzsignale wurden mit Standardalgorithmen aus den Rohdaten entfernt (siehe oben). Mütterliche und fetale Magnetkardiogramme können Größen von 10-100 pT (10^{-12} Tesla) erreichen. Da die mütterlichen und fetalen Herzsignale ca. 100-1000 fach stärker sind als die fetale Hirnaktivität (typische Stärke zwischen 10 und 80 fT, 10^{-15} Tesla), ist es wichtig, diese Artefakte so gut wie möglich zu eliminieren (Preissl, Lowery et al. 2004).

Die kardialen Signale wurden anhand der R-Peaks detektiert (sowohl durch Template matching im CTF Data Editor (VSM Med Tech, BC, Canada), als auch durch das automatisierte Programm Hilbert Transform (Wilson, Govindan et al. 2008)) und anschließend mit orthogonaler Signalvektorprojektion (McCubbin, Robinson et al. 2006) aus den Daten herausgerechnet. Die Ergebnisse dieser beiden Verfahren wurden verglichen und der Datensatz mit dem besseren Ergebnis hinsichtlich der Anzahl der erfassten Signale und der zurückgebliebenen Artefakte für die weitere Analyse verwendet. Ein Bandpassfilter zwischen 0,5 Hz (=Hochpassfilter) und 10Hz (=Tiefpassfilter) wurde angewendet. Anschließend wurden die Datensätze in Abhängigkeit des Stimulustyps (Standardton bzw. devianter Ton) in einzelne Abschnitte (Trials) geteilt, basierend auf Markern, die den Beginn der akustischen Stimulation im Datensatz markieren. Jeder einzelne Abschnitt beinhaltet die Zeit 200ms vor bis 1000ms nach dem akustischem Stimulus. Alle Trials, die Artefakte mit Amplituden über 2,0 pT (10^{-12} Tesla) aufwiesen, wurden entfernt und von der anschließenden Analyse ausgeschlossen. Im Anschluss wurden die Trials je nach Stimulustyp (Standardton bzw. devianten Ton) gemittelt.

Im Anschluss erfolgte die visuelle Auswertung der evozierten Reaktion auf den Standardton. Die evozierte Reaktion des Fötus spiegelt sich als prominenter Ausschlag (Peak) der Magnetfelder von der Basislinie, entweder in positiver oder negativer Richtung in den Daten wider. Die fünf Kanäle mit der größten Amplitude der AERs wurden ausgewählt. Die AER musste im Bereich des Köpfchensensors liegen und in einer Latenzzeit zwischen 100 und 700ms nach Stimulusonset auftreten. Der quadratische Mittelwert dieser fünf Kanäle wurde bestimmt und der Zeitpunkt des höchsten Wertes als Latenzzeit (Zeit zwischen Stimulusonset und AER-Peak) des AER-Peaks festgelegt (Kiefer-Schmidt, Rauffer et al. 2013, Linder, Schleger et al. 2014). Der AER-Peak musste oberhalb des Rauschens liegen, das anhand des Plus-Minus-Mittelwertes bestimmt wurde (Schimmel 1967). Abbildung 9 zeigt beispielhaft die AER eines Fötus in der 33+2 SSW der aktuellen Studie auf den Standardton.

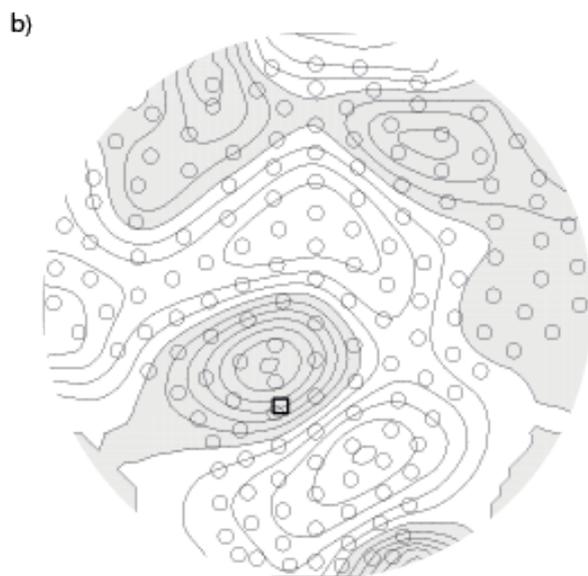
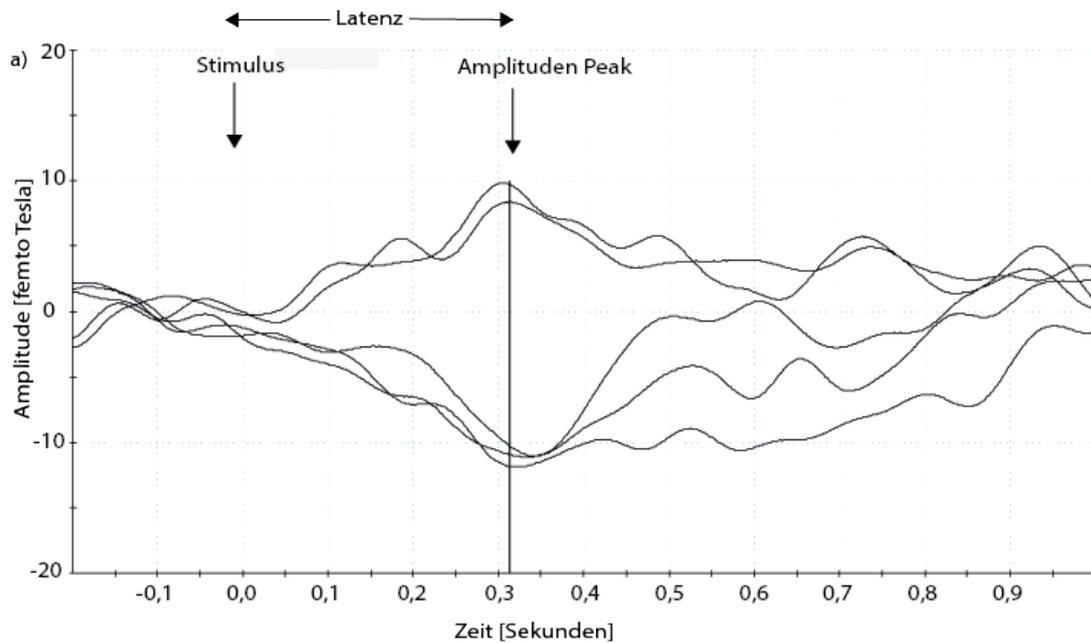


Abbildung 9: AER auf den Standardton eines in der Studie gemessenen Fötus in der 33+2 SSW.

a) Dieses Diagramm zeigt die fünf Kanäle mit der größten AER Amplitude. Zeitpunkt 0 zeigt den Stimulus Beginn an und eine evozierte Antwort ist mit einer Latenz von ca. 310ms zu sehen.

b) Diese Abbildung zeigt eine Darstellung der Magnetfeldtopographie zum Zeitpunkt der größten AER Amplitude. Das schwarze Quadrat zeigt die Köpfchenposition des Fötus an, welches vor der Messung mithilfe des Ultraschalls bestimmt wurde.

2.4.2 Statistische Analyse

Für die statistische Auswertung dieser Studie wurde SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0, Armonk, NY, US) benutzt. Ergebnisse mit $p < 0,10$ wurden als statistisch marginal signifikant und mit $p < 0,05$ als statistisch signifikant betrachtet. Fehlende Werte wurden durch den Zeitreihen-Mittelwert ersetzt. Der Verlauf der mütterlichen Blutwerte und der Latenz der fetalen AER über die drei Messzeitpunkte wurde mit Hilfe deskriptiver statistischer Methoden untersucht und in Form von Boxplots veranschaulicht. Der Zusammenhang zwischen diesen einzelnen Messgrößen wurde mit einer MANOVA (Multivariante Varianzanalyse) mit Messwiederholungen weiter untersucht. Dabei wurde der Effekt der oral zugeführten Glukose (Messzeitpunkt) auf die mütterlichen Blutwerte und die fetale Antwortlatenz analysiert. Anschließend wurden Post-hoc t-Tests verwendet um die Variablen zwischen den verschiedenen Zeitpunkten weiter zu vergleichen. Für die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der fetalen Antwortlatenz und den mütterlichen Blutwerten (Plasmaglukosewerte, Plasmainsulinwerten und NEFA-Werte) wurden multiple lineare Regressionsanalysen verwendet. Mit Hilfe der Pearson-Korrelation wurde zudem der Zusammenhang zwischen der mütterlichen Insulinsensitivität bzw. dem HOMA-IR und der fetalen Antwortlatenz untersucht. Die Probandinnen wurden am Median des Insulinsensitivitäts-Index in zwei Subgruppen geteilt. Die fetale Antwortlatenz dieser beiden Subgruppen wurde an Hand von t-Tests verglichen und bezüglich der fetalen Stadien mit dem Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test) kontrolliert.

Die Abbildungen dieser Arbeit wurden mit dem Programm Adobe Illustrator (Adobe Systems, USA, Version CS5) erstellt.

3 Ergebnisse

Teile dieser Ergebnisse wurden in dem Paper „Gestational Diabetes Impairs Human Fetal Postprandial Brain Activity“ (Linder, Schleger et al. 2015) veröffentlicht.

3.1 Teilnehmer

Insgesamt wurden 48 gesunde Schwangere mit Einzelschwangerschaften gemessen. Messergebnisse von 28 Probanden konnten in die Auswertungen eingeschlossen werden, wohingegen 20 ausgeschlossen werden mussten. Die Gründe für den Ausschluss werden im Folgenden erläutert: In vier Fällen wurde die fMEG Messung frühzeitig beendet, da die Probandin über Schwindel oder Übelkeit während der Messung klagte. In einem Fall musste die Messung auf Grund von beginnender Wehentätigkeit abgebrochen werden. Die häufigste Ursache, die zum Ausschluss der Probandin führte, waren Störungen der fMEG Auswertung. Auf Grund von zu starken Muskel- und Atmungsartefakten war eine Bestimmung der fetalen Antwortlatenz nicht möglich. In einigen Fällen konnten keine akustisch evozierten Felder detektiert werden. In zwei Fällen traten Störungen während der fMEG Aufzeichnung auf. Bei einer Probandin zeigten sich trotz metallfreier Wäsche Metall-Artefakte. Während einer anderen Messung trat ein technischer Fehler auf und es wurde ein falsches Messparadigma ausgewählt. Zwei weitere Probandinnen mussten auf Grund von fehlenden Blutwerten von der Studie ausgeschlossen werden. In zwei Fällen drehte sich der Fötus zwischen den Messungen, so dass keine aussagekräftige Auswertung der fetalen Hirnsignale möglich war. Bei einem Kind wurde nach der Geburt ein schwerer Herzfehler diagnostiziert und der Fall wurde aus diesem Grund ausgeschlossen. Einen zusammenfassenden Überblick verschafft Tabelle 3.

Art der Störung	Grund	Anzahl der Probanden
Frühzeitige Beendigung der fMEG Messung	Schwindel / Übelkeit / Wehentätigkeit der Probandin	5
Störung der fMEG Messung	Metallartefakte / ungeklärte Artefakten, technischer Fehler während fMEG Messung (falsches Messparadigma)	2
Störung der fMEG Auswertung	zu starke Muskel- und Atmungsartefakte / zu schwache fetale Hirnsignale	8
Laborfehler	fehlende Blutwerte	2
Kind	Kind gedreht, schwerer Herzfehler des Kindes bei Geburt festgestellt	3

Tabelle 3: Zusammenfassender Überblick über die Ausschlusskriterien der Probandinnen

Das Alter der eingeschlossenen Probandinnen lag zwischen 24 und 44 Jahren (Mittelwert 32,1 Jahre mit Standardabweichung 5,0). Die Probandinnen befanden sich zwischen der 28. und 36. Schwangerschaftswoche (Mittelwert 30,9 Schwangerschaftswochen mit Standardabweichung 2,7). Der Body-Mass-Index (BMI) der Schwangeren lag vor der Schwangerschaft zwischen 18 und 34 (Mittelwert 23,5 mit Standardabweichung 3,9) und zum Zeitpunkt der Messung zwischen 22 und 35 (Mittelwert 26,7 und Standardabweichung 3,5). Die Probandinnen nahmen zwischen 30g und 470g pro Woche zu (Mittelwert 290g und 110g Standardabweichung). Die Kinder wogen bei Geburt zwischen 2.340g und 4.160g (Mittelwert 2.283,9g und Standardabweichung 450,9g). Bei keinem Kind lag zum Zeitpunkt der Geburt eine Makrosomie vor. Tabelle 4 veranschaulicht die klinischen Charakteristika der Probandinnen.

	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Probandin:				
Alter [Jahre]	24	44	32,1	5,0
Schwangerschaftsalter [Wochen]	28	36	30,9	2,7
Gewicht vor SS [Kilogramm]	44	103	66,35	14,09
Gewicht während SS [Kilogramm]	57,8	109,0	75,27	12,96
relative Gewichtszunahme [kg/Woche]	,03	,47	,29	,11
BMI vor SS [kg/m ²]	18	34	23,5	3,9
BMI während SS [kg/m ²]	22	35	26,7	3,5
Insulin Sensitivitäts Index [$\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{pmol/l}$]	,0278	,1117	,0716	,0229
HOMA-IR	,708	3,595	1,807	,765
Foetus:				
Geburtsgewicht [Gramm]	2340,0	4160,0	3383,9	450,9

Tabelle 4: Klinische Charakteristika der Probandinnen

3.2 Mütterliche Blutwerte im Verlauf des OGTTs

3.2.1 Blutzucker-Messwerte

Im durchgeführten OGTT Test wurden die folgenden Blutzucker-Werte gemessen. Zum Zeitpunkt 0 Minuten (nüchterne Probandin) lag der Blutzucker Mittelwert bei 4,47mmol/L (Standardabweichung 0,20mmol/L) und stieg dann 60 Minuten nach Glukoseaufnahme auf 7,36mmol/L (Standardabweichung 1,14mmol/L). 120 Minuten nach der Glukoseaufnahme fiel der Mittelwert wieder ab auf 6,28mmol/L (Standardabweichung 1,14mmol/L). Wie in einem Zuckerbelastungstest zu erwarten ist, stiegen die Blutzuckerwerte von einem Nüchternwert nach 60 Minuten an und fielen bei 120 Minuten wieder ab. Veranschaulicht werden diese Werte in Abbildung 10 und Tabelle 5. Die Probandinnen überschritten zu keinem Messzeitpunkt die für die Feststellung eines Schwangerschaftsdiabetes geltenden Grenzwerte (siehe Tabelle 1: Grenzwerte des OGTTs)

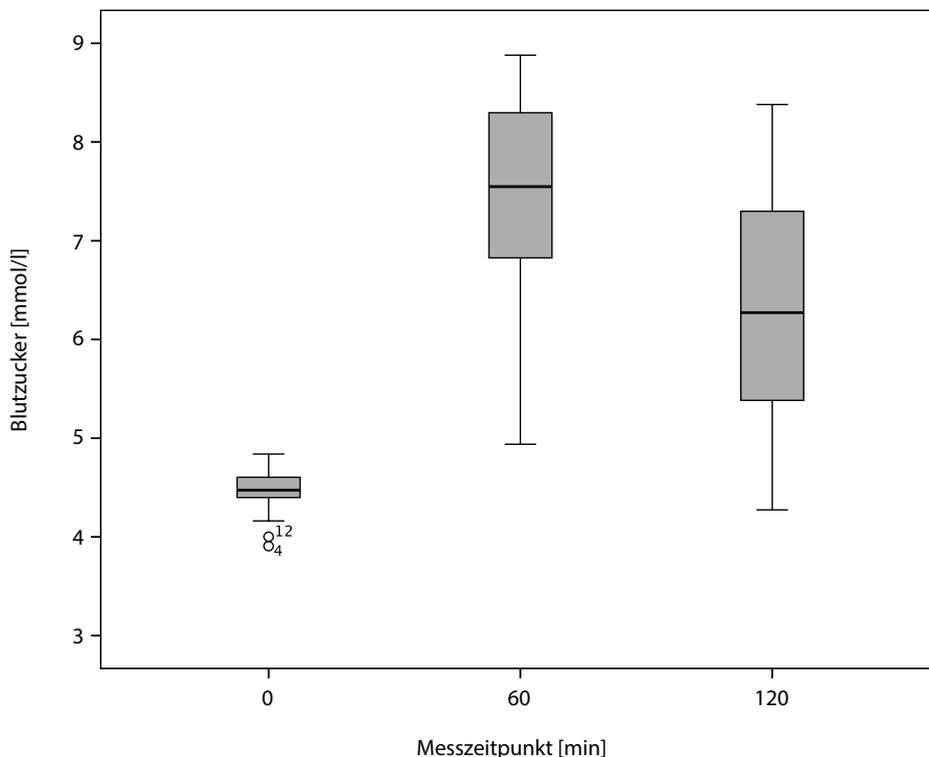


Abbildung 10: Boxplot Blutzucker zu den drei Messzeitpunkten

Blutzucker [mmol/l]	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
0 Minuten	3,91	4,84	4,47	0,20
60 Minuten	4,94	8,88	7,36	1,14
120 Minuten	4,27	8,38	6,28	1,14

Tabelle 5: Blutzuckerverlauf

3.2.2 Insulin-Messwerte

Der Mittelwert der Insulinwerte der Probandinnen stieg von 63,25pmol/l (Standardabweichung 26,99pmol/l) zum Zeitpunkt 0 Minuten (nüchterne Probandin) auf 876,31pmol/l (Standardabweichung 499,01pmol/l) nach 60 Minuten und fiel dann wieder auf 657,64pmol/l (Standardabweichung 321,36pmol/l) nach 120 Minuten. Veranschaulicht werden diese Werte in Abbildung 11 und Tabelle 6.

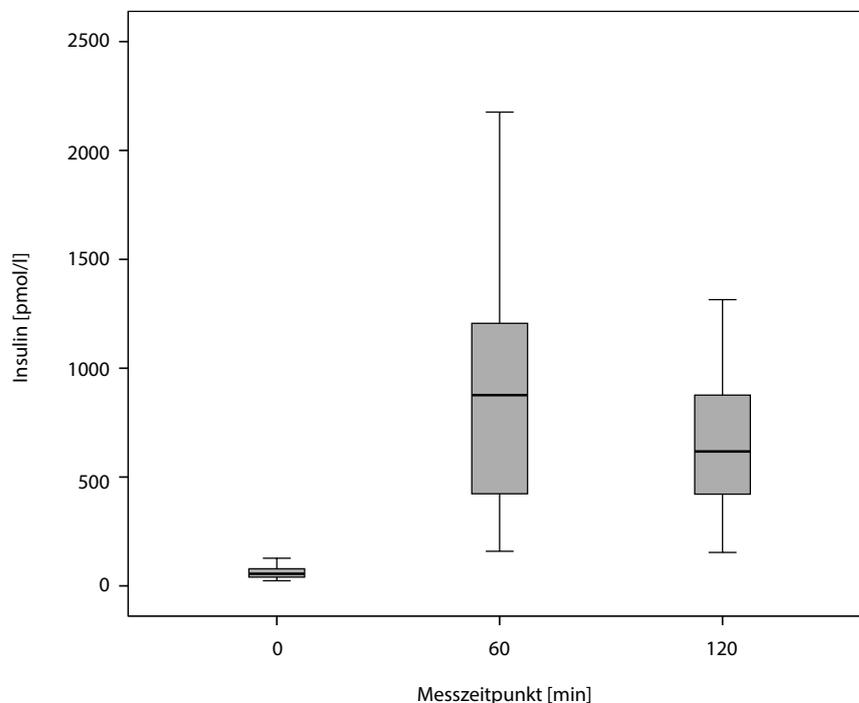


Abbildung 11: Boxplot Insulinverlauf

Insulin [pmol/l]	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
0 Minuten	24	127	63,25	26,99
60 Minuten	159	2176	876,31	499,01
120 Minuten	154	1315	657,64	321,36

Tabelle 6: Insulinverlauf

3.2.3 Nicht veresterte freie Fettsäuren (= NEFA)

Die freien Fettsäuren der Probandinnen fielen von einem Mittelwert von 366,9 $\mu\text{mol/l}$ (Standardabweichung 179,4 $\mu\text{mol/l}$) in nüchternem Zustand zum Messzeitpunkt 0 Minuten auf einen Mittelwert von 206,8 $\mu\text{mol/l}$

(Standardabweichung 104,9 $\mu\text{mol/l}$) nach Glukoseaufnahme zum Zeitpunkt 60 Minuten. Die Fettsäuren fielen zum dritten Messzeitpunkt gering ab auf einen Mittelwert von 177,0 $\mu\text{mol/l}$ (Standardabweichung 109,5 $\mu\text{mol/l}$).

Veranschaulicht werden diese Werte in Abbildung 12 und Tabelle 7.

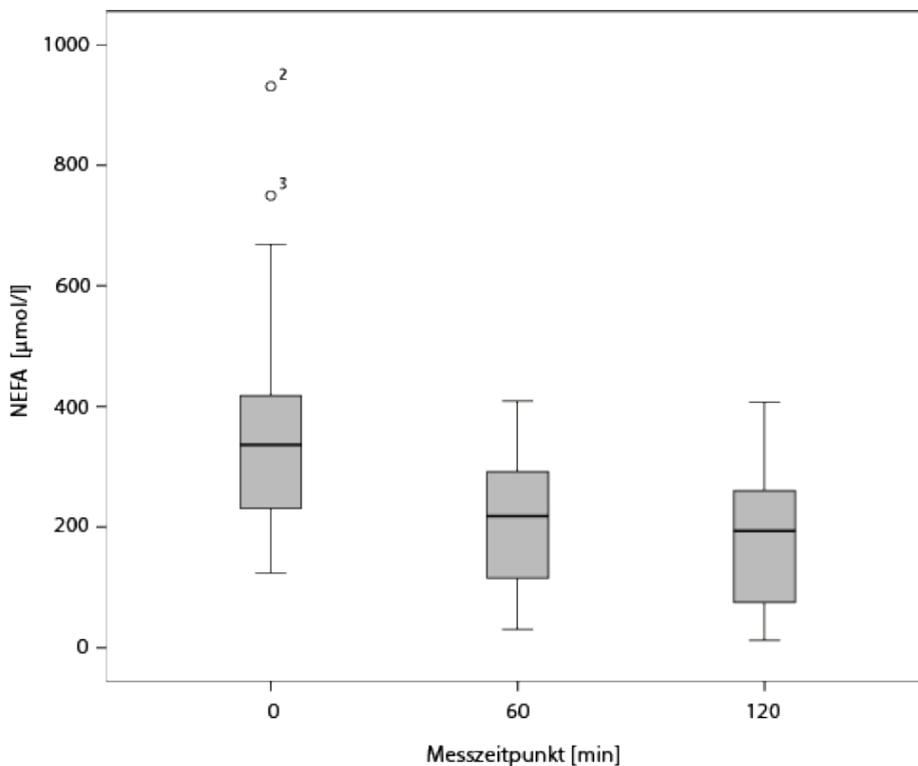


Abbildung 12: Boxplot NEFA

NEFA [$\mu\text{mol/l}$]	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
0 Minuten	124	931	366,9	179,4
60 Minuten	30	409	206,8	104,9
120 Minuten	12	407	177,0	109,5

Tabelle 7: NEFA Verlauf

3.3 Latenz der akustisch evozierten Reaktionen (AER)

Von den 28 eingeschlossenen Probandinnen konnten bei 20 Probandinnen evozierte Potentiale zu allen drei Messzeitpunkten registriert werden. Bei acht Probandinnen konnten evozierte Potentiale an jeweils zwei Messzeitpunkten registriert werden. (Vier fehlende Werte beim 1. Messzeitpunkt, drei fehlende Werte zum 2. Messzeitpunkt und ein fehlender Wert zum 3. Messzeitpunkt). Die fehlenden Werte wurden durch den Zeitreihen-Mittelwert ersetzt.

Die Auswertung ergab eine Veränderung der AER der Föten im Verlauf des oralen Glukosetoleranz-Testes: Zum Zeitpunkt der ersten Messung ergab die Latenz der Föten auf den Tonimpuls einen Mittelwert von 260 ms (Standardabweichung 83 ms). Zum zweiten Messzeitpunkt verringerte sich der Mittelwert der Latenz auf 206 ms (Standardabweichung 70 ms) und stieg dann wieder auf 231 ms (Standardabweichung: 78 ms) zum dritten Messzeitpunkt an. Veranschaulicht wird der Verlauf in Abbildung 13 und Tabelle 8.

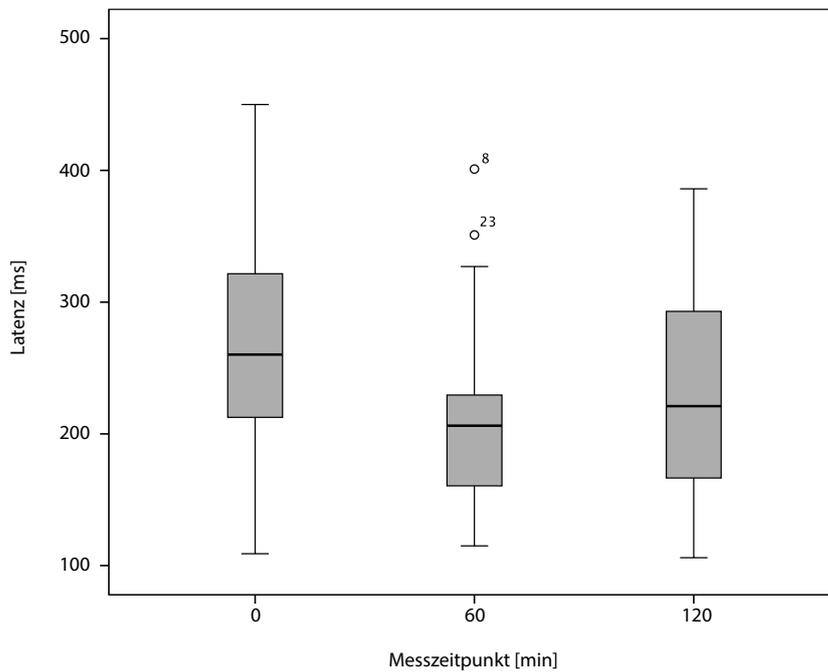


Abbildung 13: Boxplot Antwortlatenz

Latenz [ms]	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
0 Minuten	109	450	260	83
60 Minuten	115	401	206	70
120 Minuten	106	386	231	78

Tabelle 8: Antwortlatenz

Einen zusammenfassenden Überblick über den Verlauf der mütterlichen Blutwerte (Blutzuckerwerte, Insulinwerte und NEFA-Werte) und der fetalen Antwortlatenz über die drei Messzeitpunkte liefert Abbildung 14.

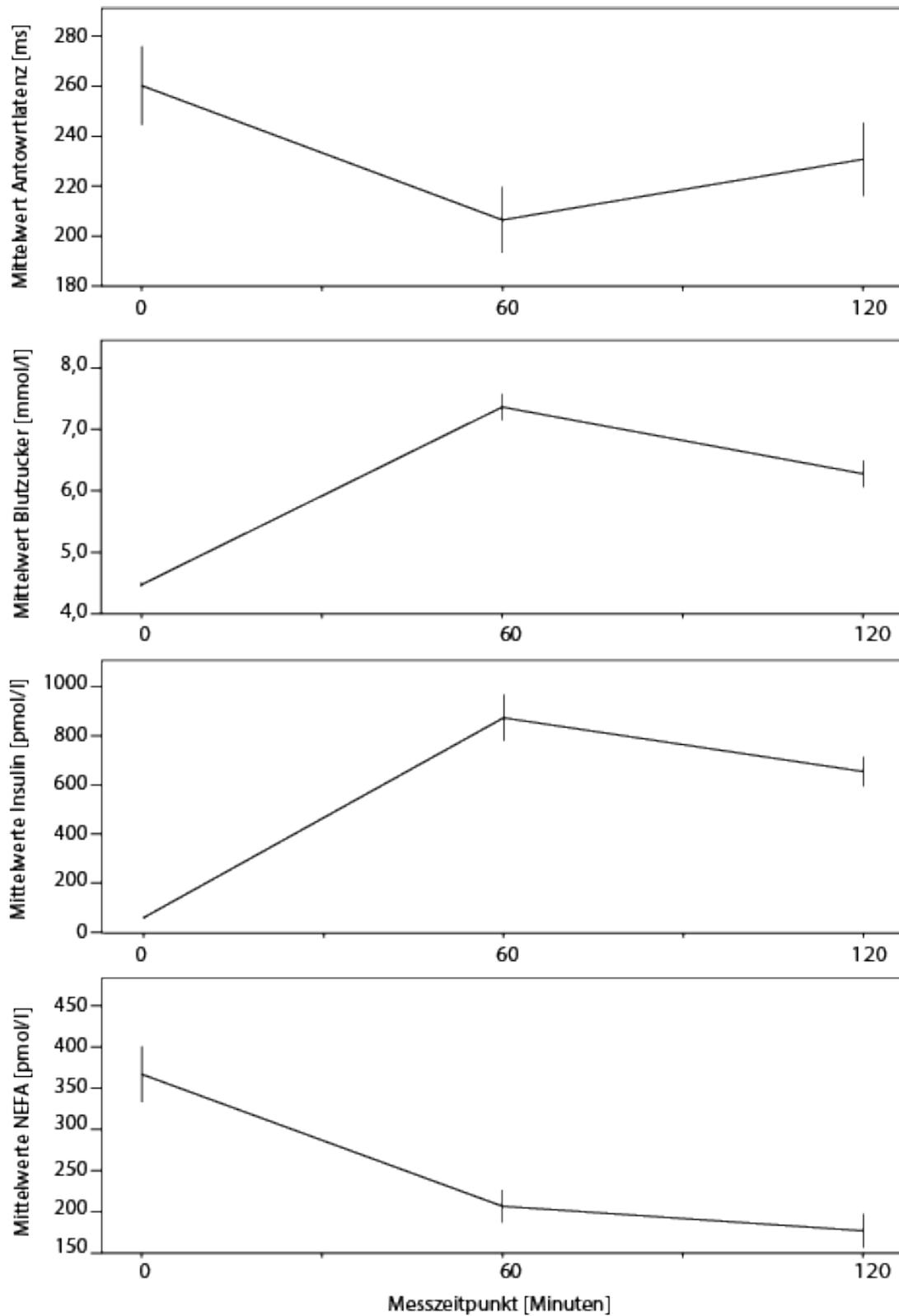


Abbildung 14: Zusammenfassender Überblick über den Verlauf der fetalen Antwortlatenz, Blutzucker, Insulin und NEFA Mittelwerte

3.4 Zusammenhänge zwischen den einzelnen Messgrößen

3.4.1 Blutzucker, Insulin, Blutfette und AER Latenz der Föten

Eine multivariante ANOVA mit Messwiederholungen und den abhängigen Variablen Blutzucker, Insulin, NEFA und AER Latenz erbrachte einen signifikanten Haupteffekt des Messzeitpunkts (Effekt der oral zugeführten Glucose, $F(8)=29,1$, $p=0,0$). Der orale Glukosetoleranztest zeigte univariat signifikante Effekte auf den Blutzuckerlevel ($F(2)=68,9$, $p=0,0$), den Insulinlevel ($F(1,65)=28,8$, $p=0,0$) und die NEFA-Werte ($F(1,47)=25,0$, $p=0,0$) der Schwangeren. Zusätzlich zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt des oralen Glukosetoleranztests auf die AER Latenz der Föten ($F(2)=4,8$, $p=0,012$).

Der Haupteffekt der oral zugeführten Glucose auf die Antwortlatenz der Föten wurde in einem gepaarten Post-hoc t-Test weiter analysiert. Dieser ergab eine signifikante Abnahme der Antwortlatenz der Föten zwischen den Zeitpunkten 0 und 60 Minuten nach oraler Glukoseaufnahme. Die Antwortlatenz verringerte sich von 260,2ms auf 206,5ms ($t(27)=2,9$, $p=0,008$). Der Unterschied zwischen der Antwortlatenz der Föten zwischen den Zeitpunkten 60 und 120 Minuten nach oraler Glukoseaufnahme (206,5ms vs. 230,8ms, $t(27)=1,7$, $p=0,11$) wurde nicht signifikant.

Im Folgenden wurde anhand von Regressionsanalysen untersucht welche mütterlichen Blutwerte mit der Veränderung der Antwortlatenz zum postprandialen Zeitpunkt im Zusammenhang stehen.

3.4.2 Zusammenhang zwischen Blutwerten der Mutter und Antwortlatenz der Föten

Eine multiple lineare Regression der maternalen Blutwerte auf die fetalen Antwortlatenz zum Zeitpunkt 60 Minuten ergab einen marginal signifikanten Effekt ($r=0,475$, $F(3)=2,337$, $p=0,099$). Der Insulinwert der Mutter zeigte einen signifikanten Einfluss auf die fetale Antwortlatenz ($r=0,412$, $p=0,041$).

Je höher der Insulinwert der Probandin zum Zeitpunkt 60 Minuten, desto langsamer die Antwort des Föten auf den Tonimpuls. Veranschaulicht wird dieser Zusammenhang in Abbildung 15.

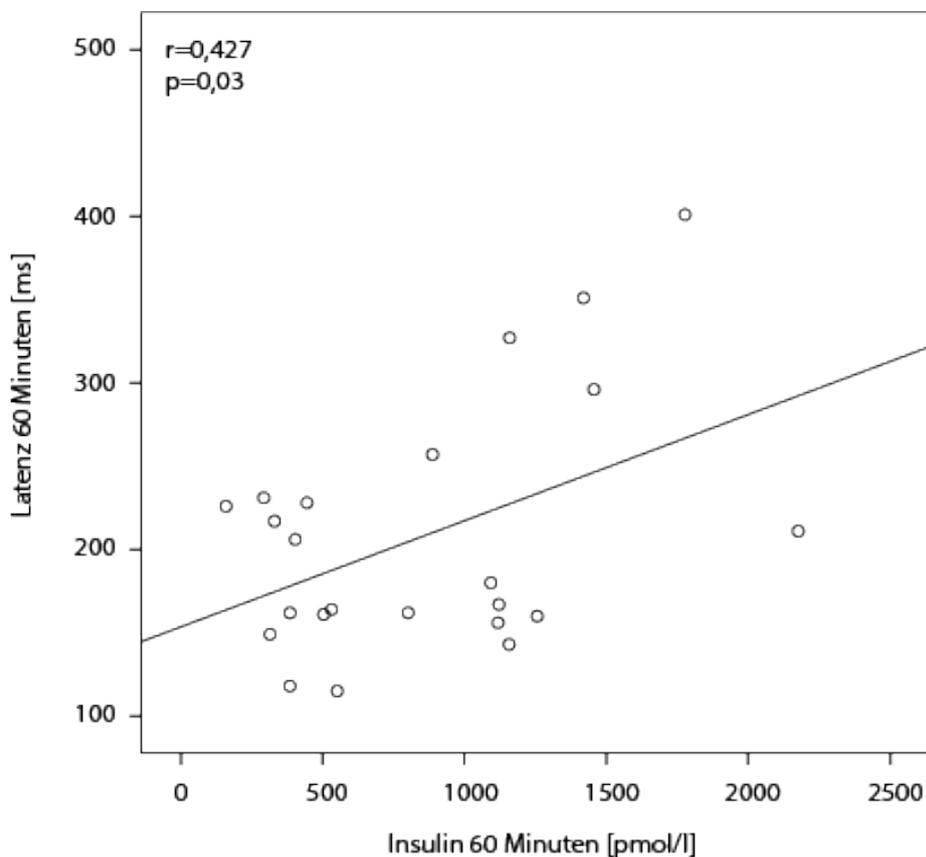


Abbildung 15: Regressionsanalyse von Insulin (60) auf Antwortlatenz (60)

Weder mütterliche Blutzucker ($r=0,157$, $p=0,88$), noch mütterliche NEFA-Werte ($r=0,215$, $p=0,26$) zeigten einen signifikanten Einfluss. Multiple lineare Regressionen der mütterlichen Blutwerte auf die fetale Antwortlatenz zu den Zeitpunkten 0 Minuten ($r=0,119$, $p=0,95$) und 120 Minuten ($r=0,217$, $p=0,78$) zeigten keine signifikanten Effekte.

3.4.3 Zusammenhang zwischen Insulinsensitivität der Mutter und Antwortlatenz des Föten

3.4.3.1 Insulinsensitivitätsindex (ISI-3-Point)

Die individuelle Insulinsensitivität der Probandin korrelierte signifikant mit der Antwortlatenz der Föten 60 Minuten nach Glukoseaufnahme ($r=-0,466$, $p=0,012$). Je höher die mütterliche Insulinsensitivität, desto kürzer die Reaktionszeit des Föten. Dieser Zusammenhang blieb auch signifikant ($r = -0,501$, $p=0,015$) nach Korrektur des Schwangerschaftsalters, mütterlichen Alters, mütterlichen BMIs vor und während der Schwangerschaft und Geburtsgewicht des Föten. Veranschaulicht wird dieser Zusammenhang in Abbildung 16.

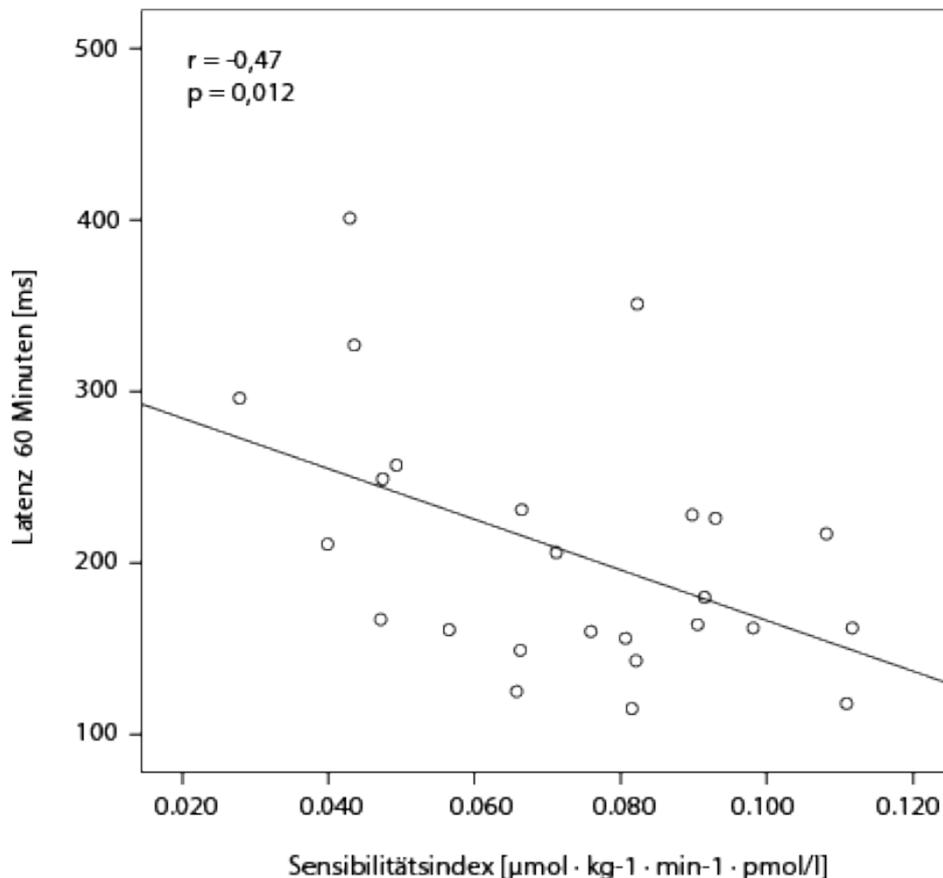


Abbildung 16: Regressionsanalyse von ISI-3-Point auf Latenz (60)

Es ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen der Insulinsensitivität und der Antwortlatenz bei 0 Minuten ($r=-0,011$, $p=0,96$) und 120 Minuten ($r=-0,197$, $p=0,32$) nach Glukoseaufnahme.

3.4.3.2 HOMA-IR

Auch die mütterlichen HOMA-IR-Werte der Probandinnen zeigten eine signifikante Korrelation mit der Antwortlatenz des Fötus 60 Minuten nach Glukosegabe ($r=0,388$, $p=0,04$). Je höher der mütterliche HOMA-IR, desto länger die Reaktionszeit des Fötus. Veranschaulicht wird dieser Zusammenhang in Abbildung 17. Dieser Zusammenhang blieb signifikant nach Korrektur für Schwangerschaftsalter, mütterliches Alter, mütterlicher BMI vor und während der Schwangerschaft und Geburtsgewicht des Fötus ($r=0,424$, $p=0,04$). Der HOMA-IR zeigte auch eine signifikante Korrelation mit der Antwortlatenz des Fötus nach 120 Minuten ($r=0,398$, $p=0,036$). Dieser wurde jedoch nach Korrektur für die konfundierenden Variablen nicht mehr signifikant ($r=-0,011$, $p=0,96$).

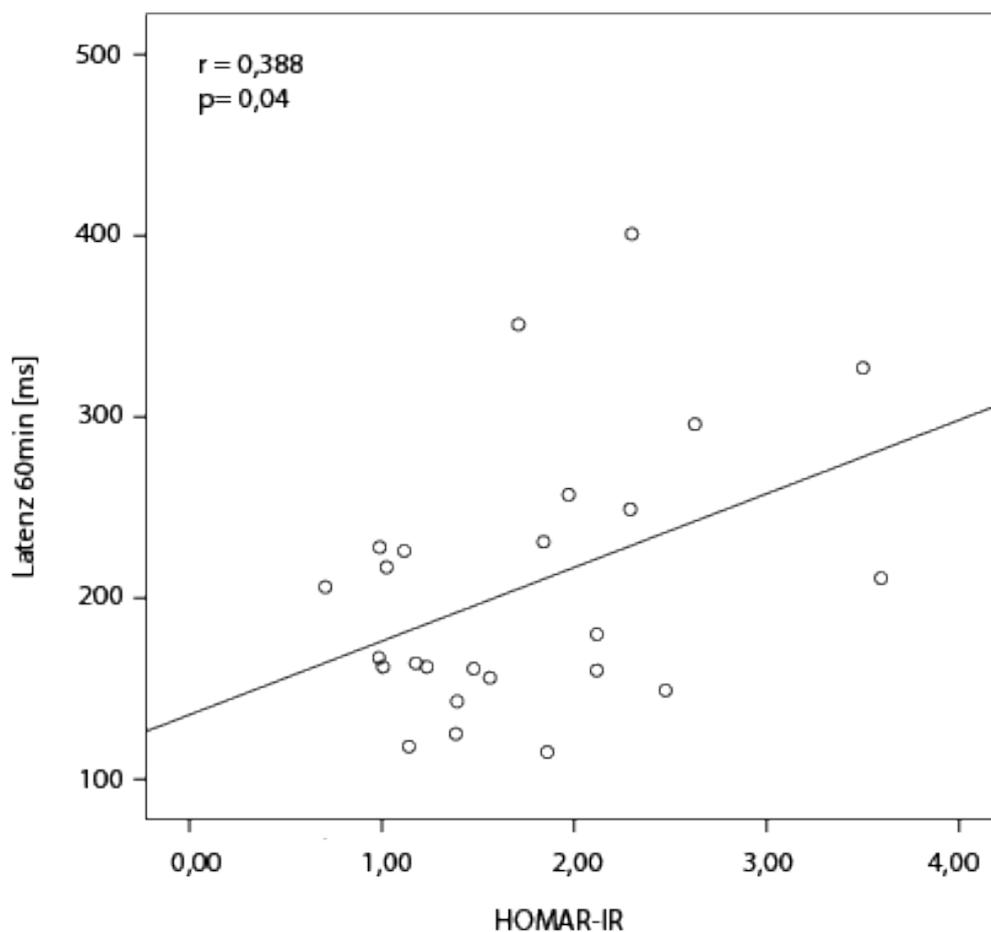


Abbildung 17: Pearson Korrelationsanalyse von HOMA-IR auf Latenz (60)

3.5 Trennung am Median nach Insulinsensitivität (ISI-3-POINT)

3.5.1 Probandinnen im Gruppenvergleich

In einem weiteren Schritt wurde die Gesamtstichprobe in zwei Gruppen, abhängig von ihrem Insulinsensitivitäts-Index, getrennt. Die beiden Gruppen wurden am Median des Insulinsensitivitäts-Index geteilt (Median 0,07009, Standardabweichung 0,00432). Die beiden Gruppen unterscheiden sich auch signifikant in ihrem HOMA-IR ($p=0,001$). Tabelle 9 veranschaulicht die klinischen Charakteristika der Probandinnen. Wie in Tabelle 9 zu sehen ist, unterschieden sich die beiden Gruppen nicht signifikant in ihrem Alter ($p=0,6$), ihrem Schwangerschaftsalter ($p=0,5$), ihrer relativen Gewichtszunahme ($p=0,5$) und dem Geburtsgewicht der Föten ($p=0,4$). Hingegen unterschieden sich die beiden Gruppen signifikant bezüglich ihres Gewichtes vor ($p=0,017$) und während ($p=0,016$) der Schwangerschaft und des BMIs vor ($p=0,02$) und während ($p=0,025$) der Schwangerschaft.

	Gruppe 1: Insulinsensitivere Mütter	Gruppe 2: Insulinresistentere Mütter	Gruppen Unterschied
Probandin:			
Alter [Jahren]	31,6 ± 5,9	32,6 ± 4,0	t(26)= -4,9 p=0,629
Schwangerschaftsalter [Wochen]	30,6 ± 2,7	31,3 ± 2,7	t(26)=-0,7 p=0,489
Gewicht vor SS [Kilogramm]	60,2 ± 9,6	72,5 ± 15,5	t(26)=-2,5 p=0,017
Gewicht während SS [Kilogramm]	69,5 ± 8,5	81,0 ± 14,3	t(26)=-2,6 p=0,016
relative Gewichtszunahme [kg/Woche]	0,302 ± 0,122	0,273 ± 0,104	t(26)=0,7 p=0,505
BMI vor SS [kg/m ²]	21,9 ± 2,7	25,2 ± 4,3	t(26)=-2,5 p=0,02
BMI während SS [kg/m ²]	25,2 ± 2,6	28,1 ± 3,8	t(26)=-2,4 p=0,025
HOMA-IR	1,3688 ± 0,4402	2,2452 ± 0,7794	t(26)=-3,7 p=0,001
Insulinsensitivitäts Index [μmol · kg ⁻¹ · min ⁻¹ · pmol/l]	0,0905 ± 0,128	0,0526 ± 0,0121	t(26)=8,0 p=0,000
Foetus:			
Geburtsgewicht [Gramm]	3315,4 ± 384,4	3452,5 ± 514,2	t(26)=-0,8 p=0,431

Tabelle 9: Klinische Charakteristika im Gruppenvergleich

3.5.2 Blutwerte im Gruppenvergleich

Im Folgenden wurden die beiden Gruppen der insulinresistenteren und insulinsensitiveren Schwangeren verglichen hinsichtlich ihrer Blutzuckerwerte, Insulinwerte, NEFA-Werte und der Antwortlatenz der Föten. Eine detaillierte Übersicht über den Gruppenvergleich liefert Tabelle 10. Im Folgenden werden signifikante Vergleiche herausgegriffen.

3.5.2.1 Blutzuckerwerte

Die Blutzuckerwerte der beiden Gruppen zeigten signifikante Unterschiede zum dritten Messzeitpunkt. Insulinsensitivere Mütter zeigten einen Blutzuckermittelwert von 5,7mmol/l im Vergleich zu einem Mittelwert von 6,9mmol/l bei insulinresistenteren Müttern ($p=0,003$). Zu den anderen Messzeitpunkten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Blutzuckerwerten der beiden Gruppen.

3.5.2.2 Insulin

Es stellte sich ein signifikanter Unterschied der Insulinwerte zwischen den beiden Gruppen zum Zeitpunkt 0 Minuten ($p=0,001$, 47,2pmol/l vs. 79,3pmol/l) und nach 120 Minuten heraus ($p=0,000$, 716,4pmol/l vs. 1036,3pmol/l). Zudem zeigte sich ein marginal signifikanter Unterschied nach 60 Minuten ($p=0,089$) zwischen den beiden Gruppen.

3.5.2.3 NEFA

Die freien Fettsäuren weichen zum ersten Messzeitpunkt signifikant von einander ab ($p=0,03$, Mittelwerte 293,3 μ mol/l vs. 440,5 μ mol/l). Zum zweiten und dritten Messzeitpunkt zeigen sich marginal signifikante Unterschiede zwischen den insulinsensitiveren und insulinresistenteren Müttern (zweiter Messzeitpunkt $p=0,1$, 173,8 μ mol/l vs. 239,8 μ mol/l, dritter Messzeitpunkt $p=0,08$, 140,2 μ mol/l vs. 213,8 μ mol/l).

3.5.2.4 Latenz im Gruppenvergleich

Die Antwortlatenz der Föten zum Zeitpunkt 60 Minuten von insulinresistenteren Müttern (Mittelwert 184,86ms) ist marginal verlangsamt im Vergleich zu Föten

von insulin sensitiven Müttern (Mittelwert 234ms, p=0,1). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zum Zeitpunkt 0 und 120 Minuten nach Glukosegabe. Eine Übersicht verschafft Tabelle 10 und

Abbildung 18:

	Messzeitpunkt [min]	Gruppe 1 : Insulinsensitivere Mütter		Gruppe 2: Insulinresistentere Mütter		Gruppenunterschied
Blutzucker [mmol/l]	0	4,5 ±	0,21	4,4 ±	0,19	t(26)=1,5 p=0,15
	60	7,1 ±	1,24	7,6 ±	1,02	t(26)=-1,0 p=0,31
	120	5,7 ±	0,97	6,9 ±	0,99	t(26)=-3,2 p=0,003
Insulin [pmol/l]	0	47,2 ±	14,85	79,3 ±	27,17	t(26)=-3,9 p=0,001
	60	716,4 ±	411,71	1036,3 ±	540,90	t(26)=-1,8 p=0,09
	120	426,9 ±	191,94	888,4 ±	250,85	t(26)=-5,5 p=0,000
NEFA [µmol/l]	0	293,3 ±	134,84	440,5 ±	192,32	t(26)=-2,3 p=0,03
	60	173,8 ±	111,38	239,8 ±	90,06	t(26)=-1,7 p=0,1
	120	140,2 ±	87,99	213,8 ±	119,37	t(26)=-1,9 p=0,08
Latenz [ms]	0	265,4 ±	72,92	255,0 ±	95,20	t(26)=0,3 p=0,75
	60	184,9 ±	59,93	228,1 ±	74,62	t(26)=-1,7 p=0,10
	120	226,4 ±	78,63	235,1 ±	79,47	t(26)=-2,92 p=0,77

Tabelle 10: Blutwerte und Antwortlatenz im Überblick

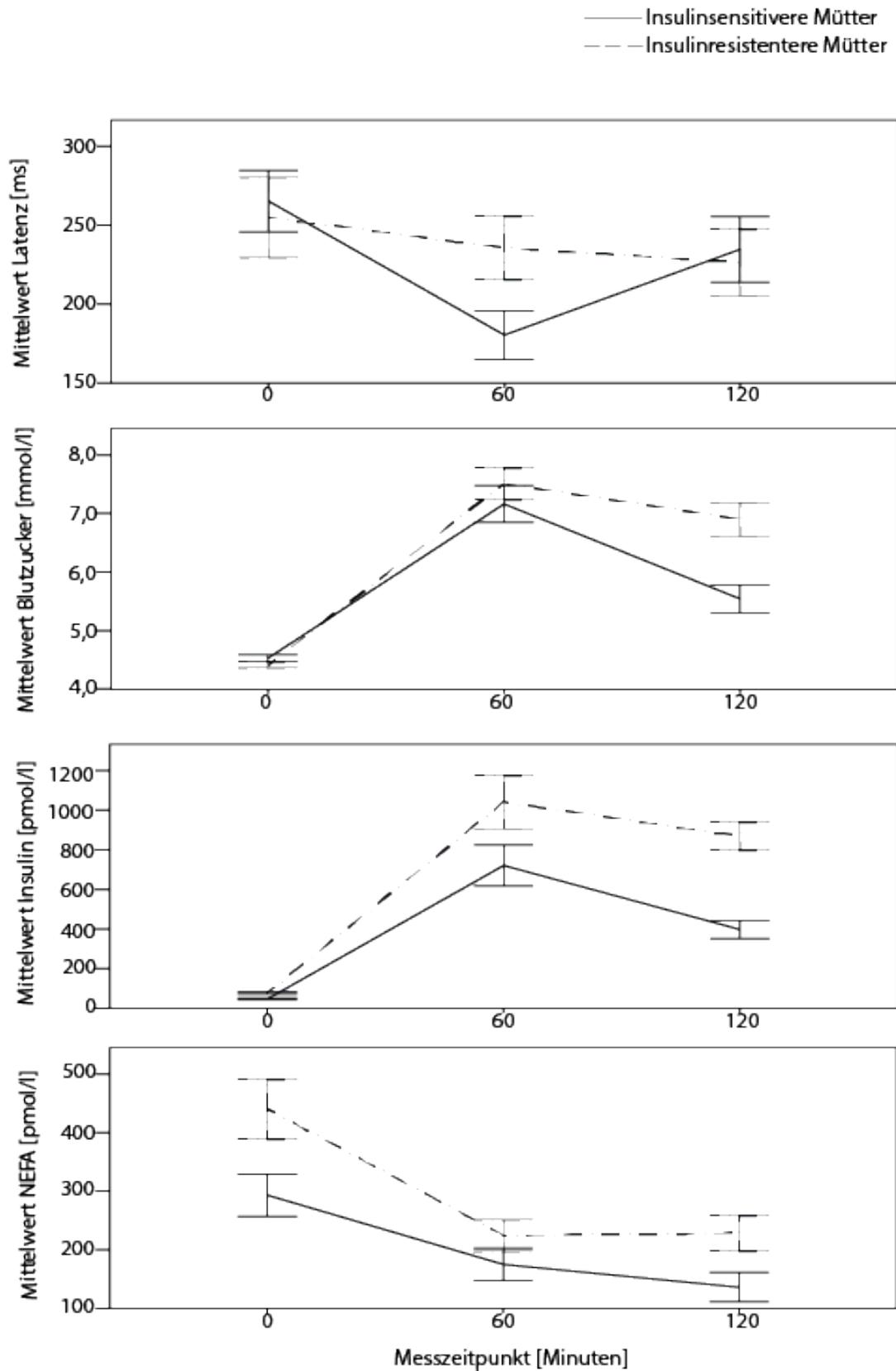


Abbildung 18: Verlauf der Antwortlatenz-, Blutzucker-, Insulin- und NEFA Mittelwerte im Gruppenvergleich

3.5.3 Trennung am Median nach HOMA-IR

Zur Überprüfung wurden die Gruppen auch am Median des HOMA-IR geteilt (Median=1,6508, Standardabweichung=0,7648). Vier Probandinnen, die im vorhergehenden Vergleich (Trennung nach Insulinsensitivitäts-Index) der insulinsensitiveren Gruppe zugeordnet waren, wurden nun der insulinresistenteren Gruppe zugeordnet und umgekehrt. Die Antwortlatenz der beiden Gruppen insulinsensitiverer und insulinresistenterer Mütter (mit Trennung am Median des HOMA-IR) unterschieden sich zum Zeitpunkt 0 Minuten ($t(26)=-1,9$ $p=0,07$) marginal signifikant und zu den Zeitpunkten 60 Minuten ($t(26)=-2,7$, $p=0,012$) und 120 Minuten ($t(26)=-2,6$ $p=0,015$) signifikant. Nach wie vor war jedoch der Effekt zum Zeitpunkt 60 Minuten am Größten (siehe Abbildung 19).

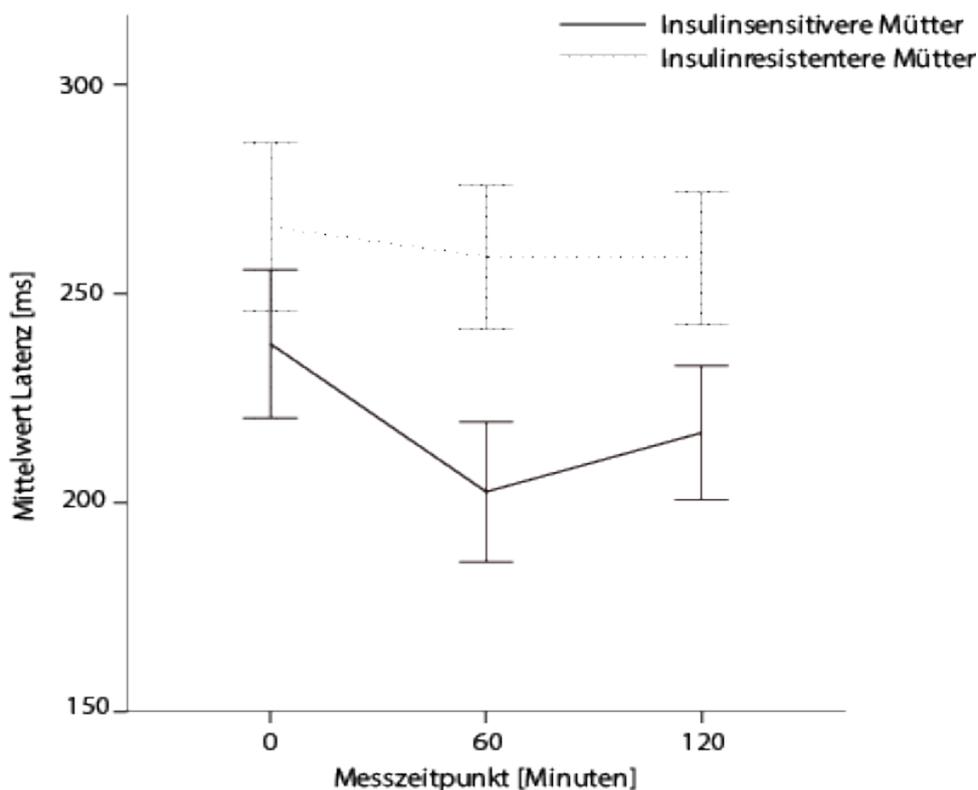


Abbildung 19: Verlauf der Mittelwerte der fetalen Antwortlatenz insulinsensitiverer und insulinresistenterer Mütter (Trennung am HOMA-IR)

Generell unterschieden sich die Verlaufsmuster der Gruppen zwischen der Trennung nach Insulinsensitivitäts-Index bzw. HOMA-IR nicht.

3.6 Fetale Stadien

3.6.1 Häufigkeiten der fetalen Stadien

Weiterhin wurden die fetalen Stadien der Föten als Kontrollvariable bestimmt. Insgesamt befanden sich von 28 Probandinnen 21 Probandinnen zeitlich zwischen der 28. und 32. Schwangerschaftswoche und sieben Probandinnen zwischen der 33. und 36. Schwangerschaftswoche. Auf Grund der sehr geringen Anzahl von Probandinnen, die sich über der 33. Schwangerschaftswoche befanden und der damit einhergehenden geringen Anzahl der fetalen Stadien 1F-4F, wurden in der statistischen Auswertung alle Probandinnen in die Stadien „active“ und „quiet“ eingeteilt.

Bei der ersten Messung konnten 27 Föten einem Schlafstadium zugeordnet werden. In einem Fall war keine Analyse möglich. Dies entspricht einer Detektionsrate von 96,4%. Bei sowohl der zweiten als auch der dritten Messung konnten die fetalen Schlafstadien von jeweils 26 Föten ermittelt werden. Dies ergibt eine Detektionsrate von 93%.

Abbildung 20 zeigt die Verteilung der fetalen Stadien während der Messungen.

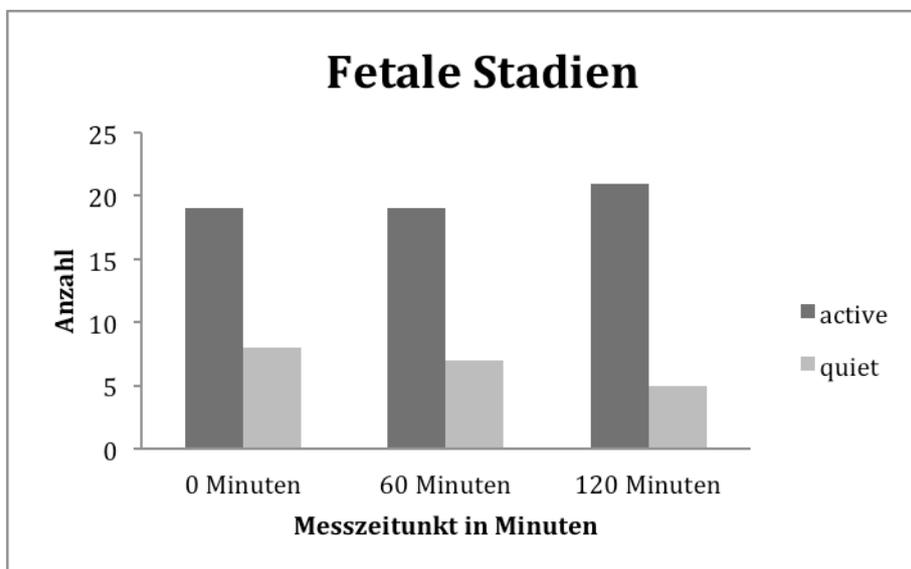


Abbildung 20: Fetale Stadien

Insgesamt lässt sich feststellen, dass der Anteil der aktiven Phase häufiger vorliegt (zwischen 70 % bei der ersten und 80 % bei der dritten Messung) als der Anteil der schlafenden Phase.

Dies entspricht nicht der normalen Verteilung der Schlafstadien (Schneider, Husslein et al. 2004). Die Föten befanden sich in der aktuellen Studie deutlich häufiger im aktiven Stadium. Bei den Messungen handelt es sich um Messungen mit auditorischer Stimulation.

3.6.2 Zusammenhang zwischen fetalem Stadium und Antwortlatenz

In einem t-Test wurde der Zusammenhang zwischen dem fetalem Stadium und der Antwortlatenz des Fötus untersucht. Der Mittelwert der Antwortlatenz bei Föten im aktiven Zustand betrug 223ms (Standardabweichung 82,1ms) und im schlafenden Zustand 255,4ms (Standardabweichung 75,1ms). Der t-Test ergab bei $t(77)=-1,5$ und $p=0,13$ keinen signifikanten Unterschied der Antwortlatenz zwischen dem aktiven und schlafenden fetalen Stadium.

3.6.3 Fetale Stadien im Gruppenvergleich

Der Chi-Quadrat-Test (X^2 Test) zeigte keine signifikanten Unterschiede der fetalen Stadien zwischen den Gruppen (resistent/sensitiv) während den Messungen.

Bei der ersten Messung: $X^2(1)=0,9$ $p=0,33$

Bei der zweiten Messung: $X^2(1)=1,8$ $p=0,19$

Bei der dritten Messung: $X^2(1)=0,2$ $p=0,62$

Abbildung 21 zeigt die Verteilung der fetalen Stadien im Gruppenvergleich während der Messungen.

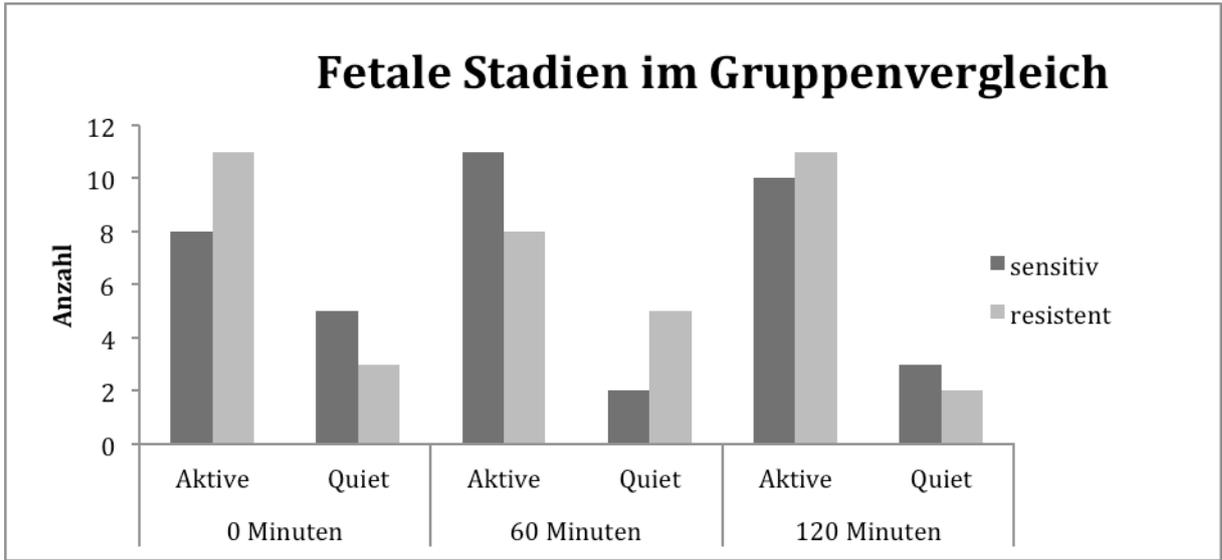


Abbildung 21: Fetale Stadien im Gruppenvergleich

4 Diskussion

Das Ziel der aktuellen Studie bestand darin herauszufinden, ob Veränderungen des mütterlichen Metabolismus, speziell des mütterlichen Blutzucker- und Insulinspiegels (ausgelöst durch einen oralen Zuckerbelastungstest), Auswirkungen auf die Reaktion des Fötus im Mutterleib haben. Es wurde die fetale Gehirnaktivität an Hand der Reaktionszeit auf einen akustischen Stimulus zu drei verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Zu jedem dieser Zeitpunkte bestanden veränderte Blutzucker-, Insulin- und NEFA-Werte der Mutter (nüchterne Mutter, 60 Minuten nach Glukoseaufnahme und 120 Minuten nach Glukoseaufnahme der Mutter). In einem weiteren Schritt wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen mütterlichen Blutzucker-, Insulin- und NEFA-Werten und der Gehirnaktivität der Föten gibt. Zudem wurde analysiert, ob es einen Zusammenhang zwischen der Insulinsensitivität der Mutter und den fetalen Gehirnantworten gibt und ob Unterschiede der fetalen Gehirnantworten zwischen insulinsensitiveren und insulinresistenteren Müttern auftreten. Die Arbeit soll somit Hinweise liefern, ob schon erste Veränderungen der fetalen Reaktionen im Mutterleib, abhängig von unterschiedlichen metabolischen Milieus (die durch die Insulinsensitivität der Mütter gebildet werden), zu erkennen sind.

Diese Arbeit zeigte erstmalig in einer großen Stichprobe, dass metabolische Veränderungen der Mutter während eines Zuckerbelastungstestes zu Veränderungen der fetalen Gehirnaktivität führen. Föten zeigten 60 Minuten nach Glukosegabe der Mutter eine signifikant kürzere Antwortlatenz als im nüchternen Zustand. Außerdem wurde gezeigt, dass die Insulinsensitivität der Mutter (sowohl durch Insulinsensitivitäts-Index, als auch HOMA-IR berechnet) 60 Minuten nach Glukosegabe mit der Antwortlatenz der Föten korrelierte. Je höher die Insulinsensitivität der Mutter, desto kürzer die Antwortlatenz des Föten. Das bedeutet im Umkehrschluss, je höher die Insulinresistenz der Mutter, desto länger die Antwortlatenz der Föten.

Dieser Unterschied konnte auch im Gruppenvergleich zwischen insulinsensitiveren Müttern und insulinresistenteren Müttern (geteilt am Median)

60 Minuten nach Glukosegabe festgestellt werden. Insulinsensitivere Mütter waren beim Mediansplit anhand des Insulinsensitivitäts-Index mit einer marginal signifikant kürzeren Latenz assoziiert als Föten insulinresistenterer Mütter. Beim Mediansplit anhand des HOMA-IR zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zum 60 Minuten Zeitpunkt. Die in der Pilotstudie unserer Arbeitsgruppe (Linder, Schleger et al. 2014) mit 13 gesunden Probanden gezeigten Ergebnisse konnten in der aktuellen Studie an einem vergrößerten Probandenkollektiv reproduziert werden.

Die Tatsache, dass eine orale Glukosegabe (und die daraus resultierenden erhöhten Blutzucker und Insulinspiegel der Mutter) zu einer Abnahme der fetalen Antwortlatenz führt, deutet einen direkten Einfluss des mütterlichen Metabolismus auf die fetale Gehirnaktivität an. Zwischen dem nüchternen Zustand und dem postprandialen Zustand eine Stunde nach oraler Glukosegabe stiegen die Mittelwerte der mütterlichen Blutzuckerwerte von 4,5mmol/l auf 7,4mmol/l und die mütterlichen Insulinwerte von 63,3pmol/l auf 876,3pmol/l. Parallel dazu verringerte sich der Mittelwert der Reaktionszeit der Föten von 260ms auf 206ms. Ein verändertes Nährstoff- und Hormonangebot des Fötus kann die fetale Gehirnaktivität verändern. Eine Studie von Kiefer et al. befasste sich mit den langfristigen Auswirkungen des Nährstoffangebotes des Fötus auf die fetale Gehirnaktivität. Kiefer et al. verglich die Antwortlatenz von wachstumsretardierten Föten (IUGR-) Föten mit normal entwickelten Föten. IUGR Föten, die vor allem auf Grund einer Plazentainsuffizienz mit unzureichendem Nährstoff- und Sauerstoff-Transport in ihrem Wachstum verzögert sind, zeigten eine verlängerte Antwortlatenz im Gegensatz zu normal entwickelten Föten (Kiefer, Siegel et al. 2008). In einer Studie von Morin et al. zeigten IUGR Föten ebenfalls verspätete evozierte Reaktionen auf einen visuellen Reiz im Vergleich zu gesunden Föten (Morin, Schleger et al. 2015). In der aktuellen Studie verkürzte sich die fetale Antwortlatenz postprandial (nach einer Mahlzeit).

Da eine Verringerung der fetalen Antwortlatenz als Marker für die funktionelle Gehirnentwicklung angesehen wird (Schleussner und Schneider 2004, Holst,

Eswaran et al. 2005), stellt sich die Frage, welcher Nährstoff beziehungsweise welches Hormon postprandial zu einer Änderung der fetalen Gehirnaktivität führen könnte. Da mütterliche Glukose die Plazenta passieren kann (Freinkel 1980, Beardsall, Diderholm et al. 2008), führt eine Erhöhung der mütterlichen Blutzuckerwerte folglich zu einer Erhöhung der fetalen Blutzuckerwerte. Auf diese reagiert der Fötus mit einer gesteigerten Insulinsekretion (Pedersen 1952). Wie in Kapitel 1.1 beschrieben, spielt das Hormon Insulin eine zentrale Rolle bei Veränderungen der Gehirnleistung. Tierstudien bei Ratten (Biessels, Kamal et al. 1998, Park, Seeley et al. 2000) und auch Studien bei Menschen (Benedict, Hallschmid et al. 2004, Stingl, Kullmann et al. 2010) wiesen eine Verbesserung der kognitiven Leistung durch eine kurzfristige Erhöhung der zerebralen Insulinkonzentrationen nach. Die kognitive Leistung wurde in diesen Versuchen allerdings nicht mittels akustischer Potentiale ermittelt, sondern durch Problemlösungsmaße (wie z.B. Wasserlabyrinth, „Passive-avoidance Task“, Gedächtnistests) untersucht.

Wie zuvor bereits dargestellt, konnte die aktuelle Studie ebenfalls feststellen, dass die mütterliche Insulinsensitivität 60 Minuten nach Glukoseaufnahme mit der fetalen Antwortlatenz korreliert. Je höher die mütterliche Insulinsensitivität, desto kürzer die Antwortlatenz der Föten. Dies bedeutet, dass das Ausmaß der mütterliche Insulinsensitivität postprandial die fetale Gehirnaktivität des Kindes im Mutterleib beeinflusst. Außerdem konnte in der aktuellen Studie festgestellt werden, dass Föten von Müttern mit niedriger Insulinsensitivität 60 Minuten nach Glukosegabe langsamere fetale Gehirnreaktionen zeigen als Föten von Müttern mit höherer Insulinsensitivität.

Es existieren Studien, die den Zusammenhang zwischen der Insulinsensitivität bei erwachsenen Probanden und ihren eigenen auditorisch evozierten Potentialen beschreiben. So konnten Tandon et al. bei Diabetikern mit Diabetes mellitus Typ 2 und einer verminderten Insulinsensitivität eine signifikant längere Antwortlatenz messen als bei gesunden Probanden (Tandon, Verma et al. 1999). Auch Tschritter et al zeigte 2006, dass die durch die zentrale Wirkung des Insulins ausgelöste zerebralkortikale Aktivität der

Probanden mit der Ganzkörper-Insulinsensitivität der Probanden korrelierte. Je höher die Insulinsensitivität des Probanden, desto größer der Insulineffekt auf die zerebralkortikale Gehirnaktivität (Tschritter, Preissl et al. 2006).

Föten von insulinresistenteren Müttern zeigen längere Reaktionszeiten postprandial als Föten von insulinsensitiveren Müttern. Es stellt sich die Frage, ob eine Verkürzung der fetalen Antwortlatenz eine generelle Beeinflussung der Kognition der Föten von Müttern mit erniedrigter Insulinsensitivität bedeutet. Mehrere Studien sprechen gegen diese These, da sie keine kognitive Verschlechterung der Kinder diabetischer Mütter, die während der Schwangerschaft eine Glukosetoleranzstörung aufwiesen, im späteren Leben feststellen konnten (Veena, Krishnaveni et al. 2010, Clausen, Mortensen et al. 2013). Da in der aktuellen Studie kein genereller Unterschied der fetalen Antwortlatenz zwischen insulinsensitiveren und insulinresistenteren Müttern gefunden wurde, sondern nur 60 Minuten nach Glukoseaufnahme, spricht dies zudem gegen die Annahme, dass diese Kinder eine generell schlechtere kognitive Leistung haben. Nur im postprandialen Zustand, also nach der Nahrungsaufnahme zeigten die Föten veränderte Werte.

Vielmehr können diese Ergebnisse im Sinne der fetalen Programmierung interpretiert werden. So könnte aus der aktuellen Studie abgeleitet werden, dass sich der Fötus im Mutterleib an das veränderte metabolische Milieu der Mutter anpasst und schon im Mutterleib ein veränderter Glukose- und Insulinmetabolismus beobachtet werden kann. Das metabolische Milieu wird hier durch die Insulinsensitivität der Mutter beschrieben. Die Insulinsensitivität der Mutter bestimmt über welche Zeiträume dem Fötus erhöhte Blutzuckerwerte dargeboten werden. Die Insulinsekretion des Fötus im Mutterleib wird dabei durch das zur Verfügung stehende Nährstoffangebot bestimmt. Mütter mit niedriger Insulinsensitivität haben chronisch vor allem nach dem Essen höhere Blutzuckerkonzentrationen als Mütter mit höherer Insulinsensitivität. Die höheren Blutzuckerkonzentrationen der Mutter gelangen durch die Plazenta

und Nabelschnur zum Fötus. Dies führt zu einer verstärkten Stimulation der fetalen Bauchspeicheldrüse und einer erhöhten fetalen Insulinsekretion.

Unsere Arbeitsgruppe (Linder, Schleger et al. 2014) stellt die Hypothese auf, dass chronisch erhöhte Insulinwerte die fetale Gehirnentwicklung beeinflussen und zu einer Fehleinstellung des Sollwertes für spätere Stoffwechselregulationen im Gehirn führen können. Es könnte somit eine verminderte Insulinempfindlichkeit der zerebralen Insulinrezeptoren, also eine fetale Insulinresistenz des Gehirns, resultieren. Föten von insulinresistenteren Müttern reagieren deshalb postprandial langsamer auf den akustischen Stimulus, da sie nicht mehr so sensibel auf das Insulin reagieren wie Föten von insulinresistenteren Müttern.

Der beschriebene Erklärungsmechanismus wurde bereits in unserer Pilotstudie (Linder, Schleger et al. 2014) und auch in mehreren Studien von Plagemann et al. diskutiert (Dorner und Plagemann 1994, Plagemann, Harder et al. 2008). Die Ergebnisse dieser Studie, die eine Verlängerung der Antwortlatenz zeigen, könnten somit als frühes Zeichen einer fetalen Programmierung, einer Prägung des Gehirnes des menschlichen Fötus im Mutterleib, angesehen werden. Eine verlängerte postprandiale Reaktionslatenz der Föten muss demzufolge nicht als Zeichen einer verschlechterten Hirnfunktion interpretiert werden, kann aber als eine Veränderung des Gehirnes in der Beeinflussung des peripheren Glukosestoffwechsels betrachtet werden.

Mehrere Tierstudien zeigten ebenfalls, dass erhöhte Insulinkonzentrationen während kritischer Entwicklungsphasen des Fötus die Gehirnentwicklung beeinflussen können. Diese Studien wiesen morphologische Veränderungen im Gehirn im Bereich des Hypothalamus bei fetaler Hyperinsulinämie während kritischer Entwicklungsphasen bei Nagetieren nach (Plagemann, Harder et al. 1999, Franke, Harder et al. 2005, Gupta, Srinivasan et al. 2009, Vogt, Paeger et al. 2014). So konnte z.B. Plagemann et al. bei fetaler Hyperinsulinämie in Nagetieren eine Hypoplasie und Hypotrophie des Nucleus ventromedialis hypothalami (VNM), einem spezifischen Kerngebiet des Hypothalamus, der

eine wesentliche Rolle bei der Regulierung der Nahrungsaufnahme und des Körpergewichtes spielt, entdecken (Dorner und Plagemann 1994).

Die zentrale Insulinresistenz mit der Beeinflussung des peripheren Stoffwechsels könnte Auswirkungen auf die spätere Entwicklung des Fötus beinhalten. Wie im Kapitel 1.1 dargelegt beeinflusst Insulin im Gehirn im späteren Leben zahlreiche Funktionen. Die Insulinwirkung im Gehirn spielt neben der Regulierung der Sättigung und des Energieumsatzes eine wesentliche Rolle in der Regulierung des peripheren Glukosemetabolismus. Eine zentrale Insulinresistenz könnte folglich zu einer Blutzucker-Fehlregulation führen. Diese Fehlregulation könnte die Entwicklung von Diabetes, Übergewicht und dem metabolischen Syndrom im späteren Leben fördern. Einen zusammenfassenden Überblick verschafft Abbildung 22.

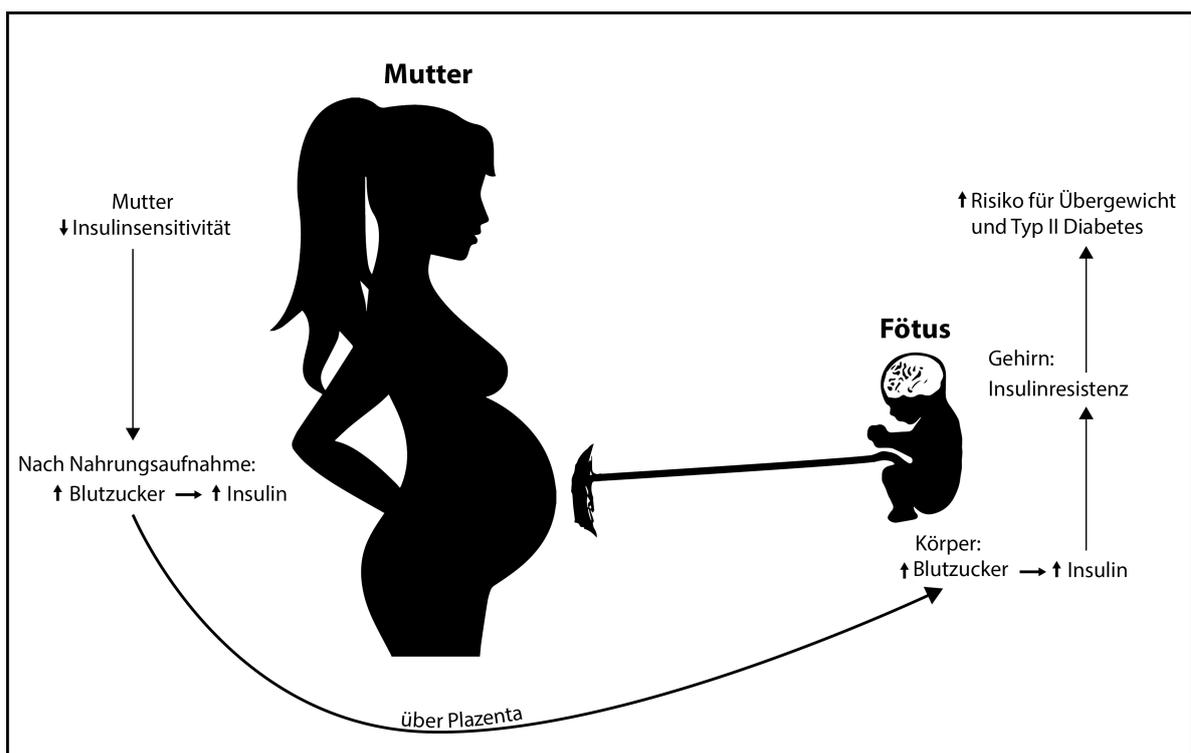


Abbildung 22: Erklärungsmechanismus der fetalen Programmierung im Mutterleib auf Basis (Linder, Schleger et al. 2014)

Diese Hypothese wird unterstützt durch einige Studien, die einen Zusammenhang zwischen erhöhten fetalen Insulinwerten und späterer

Entwicklung von Diabetes aufzeigen. Silverman et al. beobachteten bei Kindern von Müttern mit Diabetes und erhöhtem Fruchtwasserinsulinspiegel ein 3,5-fach erhöhtes Risiko eine gestörte Glukosetoleranz zu entwickeln, im Gegensatz zu Kindern ohne erhöhten Fruchtwasserinsulinspiegel (Silverman, Metzger et al. 1995). In einer Tierstudie von Dorner et al. entwickelten Nagetiere, denen über spezifische Implantate hohe Konzentrationen von Insulin während der Embryonalzeit im Mutterleib verabreicht wurde, im späteren Leben mit erhöhter Wahrscheinlichkeit einen Diabetes (Dorner und Plagemann 1994).

Mehrere epidemiologische Studien beim Menschen bestätigen außerdem, dass Nachkommen von Müttern mit Diabetes ein erhöhtes Risiko aufweisen im späteren Leben Diabetes und Adipositas zu entwickeln und zwar unabhängig von ihrem genetischen Hintergrund (Dabelea, Hanson et al. 2000, Dabelea und Pettitt 2001, Sobngwi, Boudou et al. 2003, Catalano, McIntyre et al. 2012). Eine intrauterine Prägung des Fötus während der Schwangerschaft auf Grund einer Anpassung an ein verändertes metabolisches Milieu ist hier eine wahrscheinliche Ursache (siehe Kapitel 1.3).

Es könnten allerdings auch andere Erklärungsmodelle für die signifikante Korrelation zwischen Insulinsensitivität und Antwortlatenz und die signifikante Erhöhung der Antwortlatenz der Föten von insulinresistenteren Müttern 60 Minuten nach Glukosegabe ursächlich sein: Die Insulinresistenz der Mutter könnte mit der Veränderung einer Reihe anderer hormonaler und metabolischer Nährstoffe assoziiert sein, deren Effekte ebenfalls einen Einfluss auf die Antwortlatenz ausüben könnten (Catalano und Hauguel-De Mouzon 2011, Linder, Schleger et al. 2014). So könnten neben dem Hormon Insulin auch weitere Hormone, wie das Fettgewebshormon Leptin oder Ghrelin eine wichtige Rolle spielen (Warchol, Krauss et al. 2014). Dies könnte eventuell in einer zukünftigen Studie untersucht werden. Veränderungen der AER könnten außerdem auf unterschiedlichen Verhaltensstadien beruhen (siehe Kapitel 1.7). In der vorliegenden Studie wurden deshalb die Verhaltensstadien der Föten analysiert und ausgewertet. Es ergab sich, dass die Verhaltensstadien in den

beiden Gruppen gleichermaßen verteilt sind. Es kann somit ausgeschlossen werden, dass die in dieser Studie ermittelten AER Unterschiede auf Verhaltensstadien beruhen.

Eine Limitation dieser Studie besteht zum einen in der hohen Ausschlussquote der Probandinnen. So mussten 20 von 48 Probandinnen von der Studie ausgeschlossen werden. Eine Hauptursache für den Ausschluss lag in der Störung der Auswertung der fMEG Daten. Eine Erklärung dieser großen Anzahl nicht auswertbarer Daten könnte in dem geringen Schwangerschaftsalter der Probandinnen gelegen haben. Der Mittelwert des Schwangerschaftsalters der Probandinnen lag in einem sehr frühen Schwangerschaftsalter (30,9 SSW), im Vergleich zu anderen Messungen mit dem fetalen Magnetograph, bei dem der Mittelwert bei ca. 33. - 35. SSW (siehe z.B. (Kiefer, Siegel et al. 2008, Kiefer-Schmidt, Raufer et al. 2013)) lag. In früheren Schwangerschaftswochen ist es deutlich schwieriger akustisch evozierte Potentiale zu messen. Die Stärke der Muskelaktivität der Mutter ist im Verhältnis zu den noch geringen Stärken der fetalen Gehirnsignale der noch kleineren Kinder und ihrer Gehirnmasse dazu deutlich erhöht. Zudem sind die schwächeren fetalen Herzsignale schwieriger zu entfernen. Das in der Schwangerschaft vorgesehene Schwangerschaftsdiabetes Screening sollte zwischen der 24+0 und der 27+6 Schwangerschaftswoche erfolgen (Kleinwechter, Schäfer-Graf et al. 2011). Um den Probandinnen die Mehrbelastung eines zweiten Zuckerbelastungstestes zu ersparen, führten viele deshalb den Zuckerbelastungstest im Rahmen der Studie in frühen Schwangerschaftswochen durch.

Eine weitere Limitation dieser Studie besteht darin, dass lediglich die Blutspiegel der Mutter gemessen wurden und keine Daten über fetale Hormonspiegel vorliegen. Wünschenswert wäre es vor allem Informationen über die Insulinspiegel der Föten zu erhalten z.B. über direkte Insulinmessungen im Fruchtwasser oder Nabelschnurblut der Föten. Aus ethischen Gründen wurde dies jedoch nicht durchgeführt.

Interessant wären zusätzlich noch Langzeit-Studien dieser Versuchsgruppe mit Daten von Messungen der akustisch evozierten Reaktion und der Körperfettmasse im Neugeborenen und im Erwachsenenalter. Momentan kann nur spekuliert werden, welche Langzeitauswirkungen diese veränderten Gehirnantworten der Föten auf den späteren Verlauf ausüben.

Eine weitere Einschränkung der Studie besteht darin, dass alle Probandinnen gesund waren und keine pathologischen Werte im oralen Glukose Toleranz Test zeigten. Zukünftige Studien auf diesem Gebiet werden deshalb die Unterschiede der fetalen Antwortlatenz zwischen gesunden Müttern und Müttern mit Schwangerschaftsdiabetes weiter untersuchen.

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss des mütterlichen Metabolismus auf den Fötus im Mutterleib, um eine der möglichen Ursachen für die Entstehung von Diabetes mellitus weiter zu erforschen und einen Beitrag zur Untersuchung der fetalen Programmierung zu leisten. Im Rahmen der vorliegenden Studie nahmen 48 gesunde Schwangere an einem oralen Glukosetoleranztest teil und es wurden zu drei definierten Zeitpunkten (Probandin nüchtern, 60 Minuten nach Glukosegabe und 120 Minuten nach Glukosegabe) Blutuntersuchungen (Blutzucker-, NEFA- und Insulinwerte) durchgeführt. Parallel dazu wurde die Gehirnaktivität der Föten im Mutterleib anhand der Reaktionszeit auf einen akustischen Stimulus mit Hilfe des fMEG gemessen. Zahlreiche Studien in gesunden Föten zeigten, dass die Verkürzung der Antwortlatenz auf einen akustischen Reiz mit Gehirnreifung einhergeht (Schleussner und Schneider 2004, Holst, Eswaran et al. 2005).

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass metabolische Veränderungen der Mutter während des oralen Glukosetoleranztests einen direkten Einfluss auf die fetale Gehirnaktivität ausüben. Der Mittelwert der fetalen Antwortlatenz verringerte sich von 260ms im nüchternen Zustand zu 206ms zum Zeitpunkt 60 Minuten nach Glukosegabe. So zeigten die Föten postprandial eine signifikant kürzere Antwortlatenz im Vergleich zum nüchternen Zustand. Bei der Analyse des Zusammenhangs zwischen mütterlichen Blutwerten und fetaler Antwortlatenz zeigte sich ein signifikanter Einfluss des mütterlichen Insulinwertes auf die fetale Antwortlatenz zum Zeitpunkt 60 Minuten nach Glukosegabe. Mütterliche Blutzucker- und NEFA-Werte zeigten hingegen keinen signifikanten Einfluss auf die fetale Antwortlatenz. Darauf aufbauend konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden, dass die mütterliche Insulinsensitivität 60 Minuten nach Glukosegabe mit der fetalen Antwortlatenz korreliert. Je höher die mütterliche Insulinsensitivität war, desto kürzer zeigte sich die Antwortlatenz des Fötus. Im Gruppenvergleich zwischen insulinsensitiveren und insulinresistenteren Müttern 60 Minuten nach Glukosegabe (Mediansplit, sowohl anhand des Insulinsensitivitätsindex, als auch anhand des HOMA-IR) konnte ebenfalls ein

marginal signifikanter Unterschied der fetalen Antwortlatenz festgestellt werden. So zeigten Föten von insulinresistenteren Müttern postprandial langsamere Hirnreaktionen als Föten von insulinsensitiveren Müttern. Die Studie konnte aufzeigen, dass Föten schon im Mutterleib verändert auf postprandiale Glukoseveränderungen reagieren. Die verlängerte Antwortlatenz der Föten insulinresistenterer Mütter könnte als Hinweis einer fetalen Programmierung gesehen werden, die sich als zentrale Insulinresistenz des Fötus widerspiegelt. Bereits im Mutterleib könnte somit der Grundbaustein einer unterschiedlichen Glukoseverarbeitung gelegt werden. Eine zentrale Insulinresistenz könnte im späteren Leben das Risiko erhöhen an Übergewicht und Diabetes mellitus zu erkranken. Mit zunehmender Prävalenz von Diabetes und Adipositas weltweit und immer stärker sinkendem Erkrankungsalter kommt der Prävention sowie der Diagnostik und Therapie des Schwangerschaftsdiabetes eine enorme Bedeutung zu. Eine chronische Hyperinsulinämie während der Fetal- und Neonatalzeit durch mütterlichen Diabetes sollte weltweit mit Hilfe von OGTTs der Schwangeren verhindert werden. Die Methode der Messung der AER der Föten auf eine Glukosegabe der Mutter könnte dabei in zukünftigen Studien als Marker für eine Veränderung der Gehirnentwicklung in Form der zentralen Insulinresistenz des Fötus verwendet werden. Weitere Forschung wird auf diesem Gebiet benötigt, um den genauen Entstehungsmechanismus weiter zu analysieren und auch die Unterschiede der akustisch evozierten Reaktionen von Kindern von Müttern mit Schwangerschaftsdiabetes zu untersuchen.

6 Verzeichnisse

6.1 *Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Energie-Homöostase durch die Adipositassignale Leptin und Insulin.	12
Abbildung 2: Übersicht über die periphere und zentrale Insulinwirkung.....	14
Abbildung 3: Schematische Darstellung einer fMEG Messung.	25
Abbildung 4: Fetales Magnetoenzephalographiegerät des Universitätsklinikums Tübingen.....	27
Abbildung 5: Überblick über Versuchsablauf.....	38
Abbildung 6: Probandin auf dem fMEG Messgerät	40
Abbildung 7: Überblick über den Aufbau der fMEG Messung im fMEG Zentrum der Universitätsklinik Tübingen.....	41
Abbildung 8: Beispielhafte Darstellungen eines Aktokardiogrammes eines Fötus in dem Stadium „quiet“ (a) und Stadium „active“ (b).....	45
Abbildung 9: AER auf den Standardton eines in der Studie gemessenen Fötus in der 33+2 SSW.	49
Abbildung 10: Boxplot Blutzucker zu den drei Messzeitpunkten	54
Abbildung 11: Boxplot Insulinverlauf.....	55
Abbildung 12: Boxplot NEFA	56
Abbildung 13: Boxplot Antwortlatenz.....	58
Abbildung 14: Zusammenfassender Überblick über den Verlauf der fetalen Antwortlatenz, Blutzucker, Insulin und NEFA Mittelwerte.....	59
Abbildung 15: Regressionsanalyse von Insulin (60) auf Antwortlatenz (60).....	61
Abbildung 16: Regressionsanalyse von ISI-3-Point auf Latenz (60)	62
Abbildung 17: Pearson Korrelationsanalyse von HOMA-IR auf Latenz (60)	63
Abbildung 18: Verlauf der Antwortlatenz-, Blutzucker-, Insulin- und NEFA Mittelwerte im Gruppenvergleich	67
Abbildung 19: Verlauf der Mittelwerte der fetalen Antwortlatenz insulinsensitiverer und insulinresistenterer Mütter (Trennung am HOMA-IR).....	68
Abbildung 20: Fetale Stadien.....	69

Abbildung 21: Fetale Stadien im Gruppenvergleich	71
Abbildung 22: Erklärungsmechanismus der fetalen Programmierung im Mutterleib auf Basis (Linder, Schleger et al. 2014).....	77

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Grenzwerte des OGTTs.....	18
Tabelle 2: Klassifikationsschema der fetalen Stadien der fMEG Arbeitsgruppe (Sonanini, Stingl et al. 2014, Brandle, Preissl et al. 2015) auf der Basis von (Nijhuis, Prechtel et al. 1982, Frank, Pompe et al. 2006, Schneider, Frank et al. 2008)	46
Tabelle 3: Zusammenfassender Überblick über die Ausschlusskriterien der Probandinnen	52
Tabelle 4: Klinische Charakteristika der Probandinnen	53
Tabelle 5: Blutzuckerverlauf	55
Tabelle 6: Insulinverlauf.....	56
Tabelle 7: NEFA Verlauf	57
Tabelle 8: Antwortlatenz	58
Tabelle 9: Klinische Charakteristika im Gruppenvergleich	64
Tabelle 10: Blutwerte und Antwortlatenz im Überblick	66

6.3 Literaturverzeichnis

- Abrams, R. M. and K. J. Gerhardt (2000). "The acoustic environment and physiological responses of the fetus." J Perinatol 20(8 Pt 2): S31-36.
- Andrä, W. and H. Nowak (2007). "Magnetism in Medicine." 103-109.
- Arabin, B., S. Riedewald, S. Reckel and E. Saling (1987). "[Actocardiograph--an instrument for the diagnosis of fetal behavioral stages?]." Z Geburtshilfe Perinatol 191(3): 99-101.
- Armitage, S. E., B. A. Baldwin and M. A. Vince (1980). "The fetal sound environment of sheep." Science 208(4448): 1173-1174.
- Banks, W. A. (2004). "The source of cerebral insulin." Eur J Pharmacol 490(1-3): 5-12.
- Barker, D. J., C. Osmond, S. J. Simmonds and G. A. Wield (1993). "The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life." BMJ 306(6875): 422-426.
- Bateson, P. (2007). "Developmental plasticity and evolutionary biology." J Nutr 137(4): 1060-1062.
- Beardsall, K., B. M. Diderholm and D. B. Dunger (2008). "Insulin and carbohydrate metabolism." Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 22(1): 41-55.
- Benedict, C., S. Brede, H. B. Schioth, H. Lehnert, B. Schultes, J. Born and M. Hallschmid (2011). "Intranasal insulin enhances postprandial thermogenesis and lowers postprandial serum insulin levels in healthy men." Diabetes 60(1): 114-118.
- Benedict, C., M. Hallschmid, A. Hatke, B. Schultes, H. L. Fehm, J. Born and W. Kern (2004). "Intranasal insulin improves memory in humans." Psychoneuroendocrinology 29(10): 1326-1334.
- Biessels, G. J., A. Kamal, I. J. Urban, B. M. Spruijt, D. W. Erkelens and W. H. Gispen (1998). "Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin treatment." Brain Res 800(1): 125-135.
- Birnholz, J. C. and B. R. Benacerraf (1983). "The development of human fetal hearing." Science 222(4623): 516-518.
- Blum, T., E. Saling and R. Bauer (1985). "First magnetoencephalographic recordings of the brain activity of a human fetus." Br J Obstet Gynaecol 92(12): 1224-1229.
- Bommas-Ebert, U., P. Teubner and R. Voß (2006). "Kurzlehrbuch - Anatomie und Embryologie." Georg Thieme Verlag: S.51.
- Born, J., T. Lange, W. Kern, G. P. McGregor, U. Bickel and H. L. Fehm (2002). "Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain." Nat Neurosci 5(6): 514-516.
- Brandle, J., H. Preissl, R. Draganova, E. Ortiz, K. O. Kagan, H. Abele, S. Y. Brucker and I. Kiefer-Schmidt (2015). "Heart rate variability parameters and fetal movement complement fetal behavioral states detection via magnetography to monitor neurovegetative development." Front Hum Neurosci 9: 147.

- Brief, D. J. and J. D. Davis (1984). "Reduction of food intake and body weight by chronic intraventricular insulin infusion." Brain Res Bull 12(5): 571-575.
- Brown, L. M., D. J. Clegg, S. C. Benoit and S. C. Woods (2006). "Intraventricular insulin and leptin reduce food intake and body weight in C57BL/6J mice." Physiol Behav 89(5): 687-691.
- Bruning, J. C., D. Gautam, D. J. Burks, J. Gillette, M. Schubert, P. C. Orban, R. Klein, W. Krone, D. Muller-Wieland and C. R. Kahn (2000). "Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction." Science 289(5487): 2122-2125.
- Carro, E. and I. Torres-Aleman (2004). "The role of insulin and insulin-like growth factor I in the molecular and cellular mechanisms underlying the pathology of Alzheimer's disease." Eur J Pharmacol 490(1-3): 127-133.
- Catalano, P. M. and S. Hauguel-De Mouzon (2011). "Is it time to revisit the Pedersen hypothesis in the face of the obesity epidemic?" Am J Obstet Gynecol 204(6): 479-487.
- Catalano, P. M., H. D. McIntyre, J. K. Cruickshank, D. R. McCance, A. R. Dyer, B. E. Metzger, L. P. Lowe, E. R. Trimble, D. R. Coustan, D. R. Hadden, B. Persson, M. Hod, J. J. Oats and H. S. C. R. Group (2012). "The hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study: associations of GDM and obesity with pregnancy outcomes." Diabetes Care 35(4): 780-786.
- Catalano, P. M., L. Presley, J. Minium and S. Hauguel-de Mouzon (2009). "Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero." Diabetes Care 32(6): 1076-1080.
- Catalano, P. M., E. D. Tyzbir, N. M. Roman, S. B. Amini and E. A. Sims (1991). "Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women." Am J Obstet Gynecol 165(6 Pt 1): 1667-1672.
- Catalano, P. M., E. D. Tyzbir, R. R. Wolfe, J. Calles, N. M. Roman, S. B. Amini and E. A. Sims (1993). "Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes." Am J Physiol 264(1 Pt 1): E60-67.
- Chavez, M., K. Kaiyala, L. J. Madden, M. W. Schwartz and S. C. Woods (1995). "Intraventricular insulin and the level of maintained body weight in rats." Behav Neurosci 109(3): 528-531.
- Clausen, T. D., E. L. Mortensen, L. Schmidt, E. R. Mathiesen, T. Hansen, D. M. Jensen and P. Damm (2013). "Cognitive function in adult offspring of women with gestational diabetes--the role of glucose and other factors." PLoS One 8(6): e67107.
- Cohen, D. (1968). "Magnetoencephalography: evidence of magnetic fields produced by alpha-rhythm currents." Science 161(3843): 784-786.
- Cordero, L., S. H. Treuer, M. B. Landon and S. G. Gabbe (1998). "Management of infants of diabetic mothers." Arch Pediatr Adolesc Med 152(3): 249-254.
- Craft, S., J. Newcomer, S. Kanne, S. Dagogo-Jack, P. Cryer, Y. Sheline, J. Luby, A. Dagogo-Jack and A. Alderson (1996). "Memory improvement

- following induced hyperinsulinemia in Alzheimer's disease." Neurobiol Aging 17(1): 123-130.
- Dabelea, D., R. L. Hanson, R. S. Lindsay, D. J. Pettitt, G. Imperatore, M. M. Gabir, J. Roumain, P. H. Bennett and W. C. Knowler (2000). "Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships." Diabetes 49(12): 2208-2211.
- Dabelea, D. and D. J. Pettitt (2001). "Intrauterine diabetic environment confers risks for type 2 diabetes mellitus and obesity in the offspring, in addition to genetic susceptibility." J Pediatr Endocrinol Metab 14(8): 1085-1091.
- Davis, P. (1939). "Effects of acoustic stimuli on the waking human brain." J Neurophysiol: 454-499.
- DiPietro, J. A., D. M. Hodgson, K. A. Costigan, S. C. Hilton and T. R. Johnson (1996). "Fetal neurobehavioral development." Child Dev 67(5): 2553-2567.
- Dorner, G. (1977). "Hormones, brain differentiation and fundamental processes of life." J Steroid Biochem 8(5): 531-536.
- Dorner, G. and A. Mohnike (1976). "Further evidence for a predominantly maternal transmission of maturity-onset type diabetes." Endokrinologie 68(1): 121-124.
- Dorner, G. and A. Plagemann (1994). "Perinatal hyperinsulinism as possible predisposing factor for diabetes mellitus, obesity and enhanced cardiovascular risk in later life." Horm Metab Res 26(5): 213-221.
- Draganova, R., H. Eswaran, P. Murphy, M. Huotilainen, C. Lowery and H. Preissl (2005). "Sound frequency change detection in fetuses and newborns, a magnetoencephalographic study." Neuroimage 28(2): 354-361.
- Eswaran, H., N. I. Haddad, B. S. Shihabuddin, H. Preissl, E. R. Siegel, P. Murphy and C. L. Lowery (2007). "Non-invasive detection and identification of brain activity patterns in the developing fetus." Clin Neurophysiol 118(9): 1940-1946.
- Eswaran, H., C. L. Lowery, J. D. Wilson, P. Murphy and H. Preissl (2004). "Functional development of the visual system in human fetus using magnetoencephalography." Exp Neurol 190 Suppl 1: S52-58.
- Eswaran, H., C. L. Lowery, J. D. Wilson, P. Murphy and H. Preissl (2005). "Fetal magnetoencephalography--a multimodal approach." Brain Res Dev Brain Res 154(1): 57-62.
- Eswaran, H., H. Preissl, J. D. Wilson, P. Murphy, S. E. Robinson, D. Rose, J. Vrba and C. L. Lowery (2002). "Short-term serial magnetoencephalography recordings of fetal auditory evoked responses." Neurosci Lett 331(2): 128-132.
- Eswaran, H., J. Wilson, H. Preissl, S. Robinson, J. Vrba, P. Murphy, D. Rose and C. Lowery (2002). "Magnetoencephalographic recordings of visual evoked brain activity in the human fetus." Lancet 360(9335): 779-780.
- Fadl, H. E., I. K. Ostlund, A. F. Magnuson and U. S. Hanson (2010). "Maternal and neonatal outcomes and time trends of gestational diabetes mellitus in Sweden from 1991 to 2003." Diabet Med 27(4): 436-441.

- Folli, F., L. Bonfanti, E. Renard, C. R. Kahn and A. Merighi (1994). "Insulin receptor substrate-1 (IRS-1) distribution in the rat central nervous system." *J Neurosci* 14(11 Pt 1): 6412-6422.
- Frank, B., B. Pompe, U. Schneider and D. Hoyer (2006). "Permutation entropy improves fetal behavioural state classification based on heart rate analysis from biomagnetic recordings in near term fetuses." *Med Biol Eng Comput* 44(3): 179-187.
- Franke, K., T. Harder, L. Aerts, K. Melchior, S. Fahrenkrog, E. Rodekamp, T. Ziska, F. A. Van Assche, J. W. Dudenhausen and A. Plagemann (2005). "'Programming' of orexigenic and anorexigenic hypothalamic neurons in offspring of treated and untreated diabetic mother rats." *Brain Res* 1031(2): 276-283.
- Freinkel, N. (1980). "Banting Lecture 1980. Of pregnancy and progeny." *Diabetes* 29(12): 1023-1035.
- Gerhardt, K. J. and R. M. Abrams (1996). "Fetal hearing: characterization of the stimulus and response." *Semin Perinatol* 20(1): 11-20.
- Gewolb, I. H. (1996). "Effect of high glucose on fetal lung maturation at different times in gestation." *Exp Lung Res* 22(2): 201-211.
- Gillman, M. W., S. L. Rifas-Shiman, K. P. Kleinman, J. W. Rich-Edwards and S. E. Lipshultz (2004). "Maternal calcium intake and offspring blood pressure." *Circulation* 110(14): 1990-1995.
- Govindan, R. B., S. Vairavan, U. D. Ulusar, J. D. Wilson, S. S. McKelvey, H. Preissl and H. Eswaran (2011). "A novel approach to track fetal movement using multi-sensor magnetocardiographic recordings." *Ann Biomed Eng* 39(3): 964-972.
- Group, H. S. C. R., B. E. Metzger, L. P. Lowe, A. R. Dyer, E. R. Trimble, U. Chaovarindr, D. R. Coustan, D. R. Hadden, D. R. McCance, M. Hod, H. D. McIntyre, J. J. Oats, B. Persson, M. S. Rogers and D. A. Sacks (2008). "Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes." *N Engl J Med* 358(19): 1991-2002.
- Gupta, A., M. Srinivasan, S. Thamadilok and M. S. Patel (2009). "Hypothalamic alterations in fetuses of high fat diet-fed obese female rats." *J Endocrinol* 200(3): 293-300.
- Hadden, D. R. and C. McLaughlin (2009). "Normal and abnormal maternal metabolism during pregnancy." *Semin Fetal Neonatal Med* 14(2): 66-71.
- Hallschmid, M., C. Benedict, B. Schultes, H. L. Fehm, J. Born and W. Kern (2004). "Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women." *Diabetes* 53(11): 3024-3029.
- Hallschmid, M. and B. Schultes (2009). "Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders?" *Diabetologia* 52(11): 2264-2269.
- Harder, T., E. Rodekamp, K. Schellong, J. W. Dudenhausen and A. Plagemann (2007). "Birth weight and subsequent risk of type 2 diabetes: a meta-analysis." *Am J Epidemiol* 165(8): 849-857.
- Hari, R., K. Aittoniemi, M. L. Jarvinen, T. Katila and T. Varpula (1980). "Auditory evoked transient and sustained magnetic fields of the human brain. Localization of neural generators." *Exp Brain Res* 40(2): 237-240.

- Haslam, D. W. and W. P. James (2005). "Obesity." Lancet 366(9492): 1197-1209.
- Hassing, L. B., M. D. Grant, S. M. Hofer, N. L. Pedersen, S. E. Nilsson, S. Berg, G. McClearn and B. Johansson (2004). "Type 2 diabetes mellitus contributes to cognitive decline in old age: a longitudinal population-based study." J Int Neuropsychol Soc 10(4): 599-607.
- Havrankova, J., J. Roth and M. Brownstein (1978). "Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat." Nature 272(5656): 827-829.
- Hay, W. W., Jr. (2006). "Placental-fetal glucose exchange and fetal glucose metabolism." Trans Am Clin Climatol Assoc 117: 321-339; discussion 339-340.
- Heidemann, C., Y. Du and C. Scheidt-Nave (2011). "Diabetes mellitus in Deutschland. GBE kompakt 2(3)." Robert Koch-Institut Berlin.
- Heni, M., S. Kullmann, C. Ketterer, M. Guthoff, K. Linder, R. Wagner, K. T. Stingl, R. Veit, H. Staiger, H. U. Haring, H. Preissl and A. Fritsche (2012). "Nasal insulin changes peripheral insulin sensitivity simultaneously with altered activity in homeostatic and reward-related human brain regions." Diabetologia 55(6): 1773-1782.
- Heni, M., R. Wagner, S. Kullmann, R. Veit, H. Mat Husin, K. Linder, C. Benkendorff, A. Peter, N. Stefan, H. U. Haring, H. Preissl and A. Fritsche (2014). "Central insulin administration improves whole-body insulin sensitivity via hypothalamus and parasympathetic outputs in men." Diabetes 63(12): 4083-4088.
- Hepper, P. G. and B. S. Shahidullah (1994). "Development of fetal hearing." Arch Dis Child 71(2): F81-87.
- Herrera, E., M. A. Lasuncion, M. Palacin, A. Zorzano and B. Bonet (1991). "Intermediary metabolism in pregnancy. First theme of the Freinkel era." Diabetes 40 Suppl 2: 83-88.
- Hess (2011). Bekanntmachung eines Beschlusses des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Richtlinien über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung (Mutterschafts-Richtlinien): Einführung eines Screenings auf Gestationsdiabetes, Bundesministerium für Gesundheit: BAnz. Nr. 36 (S. 914).
- Holst, M., H. Eswaran, C. Lowery, P. Murphy, J. Norton and H. Preissl (2005). "Development of auditory evoked fields in human fetuses and newborns: a longitudinal MEG study." Clin Neurophysiol 116(8): 1949-1955.
- Hopkins, D. F. and G. Williams (1997). "Insulin receptors are widely distributed in human brain and bind human and porcine insulin with equal affinity." Diabet Med 14(12): 1044-1050.
- Huppelsberg, J. and W. Walter (2005). Kurzlehrbuch Physiologie, Thieme.
- Jung, R. and W. Berger (1979). "[Fiftieth anniversary of Hans Berger's publication of the electroencephalogram. His first records in 1924--1931 (author's transl)]." Arch Psychiatr Nervenkr 227(4): 279-300.
- Karamitsos, D. T. (2011). "The story of insulin discovery." Diabetes Res Clin Pract 93 Suppl 1: S2-8.

- Kiefer, I., E. Siegel, H. Preissl, M. Ware, B. Schauf, C. Lowery and H. Eswaran (2008). "Delayed maturation of auditory-evoked responses in growth-restricted fetuses revealed by magnetoencephalographic recordings." Am J Obstet Gynecol 199(5): 503 e501-507.
- Kiefer-Schmidt, I., J. Raufer, J. Brandle, J. Munssinger, H. Abele, D. Wallwiener, H. Eswaran and H. Preissl (2013). "Is there a relationship between fetal brain function and the fetal behavioral state? A fetal MEG-study." J Perinat Med 41(5): 605-612.
- Kleinwechter, H., U. Schäfer-Graf, C. Bühner, I. Hoesli, F. Kainer, A. Kautzky-Willer, B. Pawlowski, K. Schunck, T. Somville and M. Sorger (2011). "Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Evidenzbasierte Leitlinie zu Diagnostik, Therapie u. Nachsorge " Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG).
- Koch, L., F. T. Wunderlich, J. Seibler, A. C. Konner, B. Hampel, S. Irlenbusch, G. Brabant, C. R. Kahn, F. Schwenk and J. C. Bruning (2008). "Central insulin action regulates peripheral glucose and fat metabolism in mice." J Clin Invest 118(6): 2132-2147.
- Kornmüller, A. E. (1933). "Bioelektrische Erscheinungen architektonischer Felder." Dtsch Z Nervenheilkd 44-60.
- Kuhl, C. (1998). "Etiology and pathogenesis of gestational diabetes." Diabetes Care 21 Suppl 2: B19-26.
- Lecanuet, J. P., B. Gautheron, A. Locatelli, B. Schaal, A. Y. Jacquet and M. C. Busnel (1998). "What sounds reach fetuses: biological and nonbiological modeling of the transmission of pure tones." Dev Psychobiol 33(3): 203-219.
- Lecanuet, J. P. and B. Schaal (1996). "Fetal sensory competencies." Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 68(1-2): 1-23.
- Leuthold, A., R. T. Wakai and C. B. Martin (1999). "Noninvasive in utero assessment of PR and QRS intervals from the fetal magnetocardiogram." Early Hum Dev 54(3): 235-243.
- Linder, K., F. Schleger, C. Ketterer, L. Fritsche, I. Kiefer-Schmidt, A. Hennige, H. U. Haring, H. Preissl and A. Fritsche (2014). "Maternal insulin sensitivity is associated with oral glucose-induced changes in fetal brain activity." Diabetologia 57(6): 1192-1198.
- Linder, K., F. Schleger, I. Kiefer-Schmidt, L. Fritsche, S. Kummel, M. Heni, M. Weiss, H. U. Haring, H. Preissl and A. Fritsche (2015). "Gestational Diabetes Impairs Human Fetal Postprandial Brain Activity." J Clin Endocrinol Metab 100(11): 4029-4036.
- Lowery, C. L., J. Q. Campbell, J. D. Wilson, P. Murphy, H. Preissl, S. F. Malak and H. Eswaran (2003). "Noninvasive antepartum recording of fetal S-T segment with a newly developed 151-channel magnetic sensor system." Am J Obstet Gynecol 188(6): 1491-1496; discussion 1496-1497.
- Machleidt, F. and H. Lehnert (2011). "[Central nervous system control of energy homeostasis]." Dtsch Med Wochenschr 136(11): 541-545.
- Maeda, K. (2005). "Quantitative studies on fetal actocardiogram." Croat Med J 46(5): 792-796.

- Maeda, K., S. Morokuma, S. Yoshida, T. Ito, R. K. Pooh and M. Serizawa (2006). "Fetal behavior analyzed by ultrasonic actocardiogram in cases with central nervous system lesions." *J Perinat Med* 34(5): 398-403.
- Maeda, K., M. Tatsumura and M. Utsu (1999). "Analysis of fetal movements by Doppler actocardiogram and fetal B-mode imaging." *Clin Perinatol* 26(4): 829-851.
- Malmivuo, J. and R. Plonsey (1995). *Bioelectromagnetism*, Oxford University Press, New York.
- Martin, C. B., Jr. (1981). "Behavioral states in the human fetus." *J Reprod Med* 26(8): 425-432.
- Matthews, D. R., J. P. Hosker, A. S. Rudenski, B. A. Naylor, D. F. Treacher and R. C. Turner (1985). "Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man." *Diabetologia* 28(7): 412-419.
- McCubbin, J., S. E. Robinson, R. Cropp, A. Moiseev, J. Vrba, P. Murphy, H. Preissl and H. Eswaran (2006). "Optimal reduction of MCG in fetal MEG recordings." *IEEE Trans Biomed Eng* 53(8): 1720-1724.
- McGowan, M. K., K. M. Andrews and S. P. Grossman (1992). "Chronic intrahypothalamic infusions of insulin or insulin antibodies alter body weight and food intake in the rat." *Physiol Behav* 51(4): 753-766.
- Mensink, G. B. M., A. Schienkiewitz, M. Haftenberger, T. Lampert, T. Ziese and C. Scheidt-Nave (2013). "Übergewicht und Adipositas in Deutschland, Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1)." *Robert Koch-Institut*.
- Morin, E. C., F. Schleger, H. Preissl, J. Braendle, H. Eswaran, H. Abele, S. Brucker and I. Kiefer-Schmidt (2015). "Functional brain development in growth-restricted and constitutionally small fetuses: a fetal magnetoencephalography case-control study." *BJOG* 122(9): 1184-1190.
- Naatanen, R. and T. Picton (1987). "The N1 wave of the human electric and magnetic response to sound: a review and an analysis of the component structure." *Psychophysiology* 24(4): 375-425.
- Nijhuis, J. G., H. F. Prechtel, C. B. Martin, Jr. and R. S. Bots (1982). "Are there behavioural states in the human fetus?" *Early Hum Dev* 6(2): 177-195.
- Nolan, C. J., P. Damm and M. Prentki (2011). "Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management." *Lancet* 378(9786): 169-181.
- Obici, S., Z. Feng, G. Karkaniyas, D. G. Baskin and L. Rossetti (2002). "Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats." *Nat Neurosci* 5(6): 566-572.
- Obici, S., B. B. Zhang, G. Karkaniyas and L. Rossetti (2002). "Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production." *Nat Med* 8(12): 1376-1382.
- Pagotto, U. (2009). "Where does insulin resistance start? The brain." *Diabetes Care* 32 Suppl 2: S174-177.
- Park, C. R., R. J. Seeley, S. Craft and S. C. Woods (2000). "Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task." *Physiol Behav* 68(4): 509-514.

- Peck, J. E. (1994). "Development of hearing. Part II. Embryology." J Am Acad Audiol 5(6): 359-365.
- Pedersen, J. (1952). "Diabetes and pregnancy; blood sugar of newborn infants during fasting and glucose administration." Nord Med 47(30): 1049.
- Picton, T. W., S. A. Hillyard, H. I. Krausz and R. Galambos (1974). "Human auditory evoked potentials. I. Evaluation of components." Electroencephalogr Clin Neurophysiol 36(2): 179-190.
- Pillai, M. and D. James (1990). "Behavioural states in normal mature human fetuses." Arch Dis Child 65(1 Spec No): 39-43.
- Pillai, M. and D. James (1990). "The development of fetal heart rate patterns during normal pregnancy." Obstet Gynecol 76(5 Pt 1): 812-816.
- Plagemann, A. (2008). "A matter of insulin: developmental programming of body weight regulation." J Matern Fetal Neonatal Med 21(3): 143-148.
- Plagemann, A., T. Harder, U. Janert, A. Rake, F. Rittel, W. Rohde and G. Dorner (1999). "Malformations of hypothalamic nuclei in hyperinsulinemic offspring of rats with gestational diabetes." Dev Neurosci 21(1): 58-67.
- Plagemann, A., T. Harder, K. Schellong, E. Rodekamp and J. W. Dudenhausen (2008). "[Fetal programming by disturbed intrauterine environment - fundamental mechanisms exemplified by the regulation of body weight and metabolism]." Gynakol Geburtshilfliche Rundsch 48(4): 215-224.
- Prechtl, H. F. (1974). "The behavioural states of the newborn infant (a review)." Brain Res 76(2): 185-212.
- Preissl, H., C. L. Lowery and H. Eswaran (2004). "Fetal magnetoencephalography: current progress and trends." Exp Neurol 190 Suppl 1: S28-36.
- Preissl, H., C. L. Lowery and H. Eswaran (2005). "Fetal magnetoencephalography: viewing the developing brain in utero." Int Rev Neurobiol 68: 1-23.
- Querleu, D., X. Renard, C. Boutteville and G. Crepin (1989). "Hearing by the human fetus?" Semin Perinatol 13(5): 409-420.
- Rao, S., C. S. Yajnik, A. Kanade, C. H. Fall, B. M. Margetts, A. A. Jackson, R. Shier, S. Joshi, S. Rege, H. Lubree and B. Desai (2001). "Intake of micronutrient-rich foods in rural Indian mothers is associated with the size of their babies at birth: Pune Maternal Nutrition Study." J Nutr 131(4): 1217-1224.
- Ravelli, G. P., Z. A. Stein and M. W. Susser (1976). "Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy." N Engl J Med 295(7): 349-353.
- Reite, M., J. Edrich, J. T. Zimmerman and J. E. Zimmerman (1978). "Human magnetic auditory evoked fields." Electroencephalogr Clin Neurophysiol 45(1): 114-117.
- Scherer, T., J. O'Hare, K. Diggs-Andrews, M. Schweiger, B. Cheng, C. Lindtner, E. Zielinski, P. Vempati, K. Su, S. Dighe, T. Milsom, M. Puchowicz, L. Scheja, R. Zechner, S. J. Fisher, S. F. Previs and C. Buettner (2011). "Brain insulin controls adipose tissue lipolysis and lipogenesis." Cell Metab 13(2): 183-194.
- Schimmel, H. (1967). "The (+) reference: accuracy of estimated mean components in average response studies." Science 157(3784): 92-94.

- Schlack, R., H. Hölling, B. Kurth, E. Bergmann, U. Ellert, J. Gutsche, U. Hapke, P. Kamtsiuris, T. Lampert, M. Lange, G. Mensink, H. Neuhauser, C. Poethko-Müller, P. Rattay, A. Rosario, P. Schmich and R. Schmitz (2011). "KiGGS – Kinder- und Jugendgesundheitsstudie." Robert Koch-Institut.
- Schleussner, E. and U. Schneider (2004). "Developmental changes of auditory-evoked fields in fetuses." Exp Neurol 190 Suppl 1: S59-64.
- Schleussner, E., U. Schneider, S. Kausch, C. Kahler, J. Haueisen and H. J. Seewald (2001). "Fetal magnetoencephalography: a non-invasive method for the assessment of fetal neuronal maturation." BJOG 108(12): 1291-1294.
- Schmidt, L., Heckmann (2010). Physiologie des Menschen, Springer Verlag.
- Schneider, H., P.-W. Husslein and K.-T. M. Schneider (2004). "Die Geburtshilfe." Heidelberg Springer: 553-555.
- Schneider, U., C. Arnscheidt, M. Schwab, J. Haueisen, H. J. Seewald and E. Schleussner (2011). "Steroids that induce lung maturation acutely affect higher cortical function: a fetal magnetoencephalography study." Reprod Sci 18(1): 99-106.
- Schneider, U., B. Frank, A. Fiedler, C. Kaehler, D. Hoyer, M. Liehr, J. Haueisen and E. Schleussner (2008). "Human fetal heart rate variability-characteristics of autonomic regulation in the third trimester of gestation." J Perinat Med 36(5): 433-441.
- Schneider, U., E. Schleussner, J. Haueisen, H. Nowak and H. J. Seewald (2001). "Signal analysis of auditory evoked cortical fields in fetal magnetoencephalography." Brain Topogr 14(1): 69-80.
- Schulingkamp, R. J., T. C. Pagano, D. Hung and R. B. Raffa (2000). "Insulin receptors and insulin action in the brain: review and clinical implications." Neurosci Biobehav Rev 24(8): 855-872.
- Schwartz, M. W., R. N. Bergman, S. E. Kahn, G. J. Taborsky, Jr., L. D. Fisher, A. J. Sipols, S. C. Woods, G. M. Steil and D. Porte, Jr. (1991). "Evidence for entry of plasma insulin into cerebrospinal fluid through an intermediate compartment in dogs. Quantitative aspects and implications for transport." J Clin Invest 88(4): 1272-1281.
- Schwartz, M. W. and D. Porte, Jr. (2005). "Diabetes, obesity, and the brain." Science 307(5708): 375-379.
- Seeley, R. J. and S. C. Woods (2003). "Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity." Nat Rev Neurosci 4(11): 901-909.
- Shaw, J. E., R. A. Sicree and P. Z. Zimmet (2010). "Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030." Diabetes Res Clin Pract 87(1): 4-14.
- Silverman, B. L., B. E. Metzger, N. H. Cho and C. A. Loeb (1995). "Impaired glucose tolerance in adolescent offspring of diabetic mothers. Relationship to fetal hyperinsulinism." Diabetes Care 18(5): 611-617.
- Sobngwi, E., P. Boudou, F. Mauvais-Jarvis, H. Leblanc, G. Velho, P. Vexiau, R. Porcher, S. Hadjadj, R. Pratley, P. A. Tataranni, F. Calvo and J. F. Gautier (2003). "Effect of a diabetic environment in utero on predisposition to type 2 diabetes." Lancet 361(9372): 1861-1865.

- Sonanini, A., K. Stingl, H. Preissl, J. Brandl, M. Hoopmann, O. Kagan, D. Wallwiener, H. Abele and I. Kiefer-Schmidt (2014). "Fetal behavioral states are stable over daytime - evidence by longitudinal and cross-sectional fetal biomagnetic recordings." J Perinat Med 42(3): 307-314.
- Sorokin, Y., L. J. Dierker, S. K. Pillay, I. E. Zador, M. L. Schreiner and M. G. Rosen (1982). "The association between fetal heart rate patterns and fetal movements in pregnancies between 20 and 30 weeks' gestation." Am J Obstet Gynecol 143(3): 243-249.
- Stingl, K. T., S. Kullmann, M. Guthoff, M. Heni, A. Fritsche and H. Preissl (2010). "Insulin modulation of magnetoencephalographic resting state dynamics in lean and obese subjects." Front Syst Neurosci 4: 157.
- Stinstra, J., E. Golbach, P. van Leeuwen, S. Lange, T. Menendez, W. Moshage, E. Schleussner, C. Kaehler, H. Horigome, S. Shigemitsu and M. J. Peters (2002). "Multicentre study of fetal cardiac time intervals using magnetocardiography." BJOG 109(11): 1235-1243.
- Stumvoll, M., T. Van Haefen, A. Fritsche and J. Gerich (2001). "Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times." Diabetes Care 24(4): 796-797.
- Tamas, G. and Z. Kerenyi (2001). "Gestational diabetes: current aspects on pathogenesis and treatment." Exp Clin Endocrinol Diabetes 109 Suppl 2: S400-411.
- Tandon, O. P., A. Verma and B. K. Ram (1999). "Cognitive dysfunction in NIDDM: P3 event related evoked potential study." Indian J Physiol Pharmacol 43(3): 383-388.
- Tschritter, O., H. Preissl, A. M. Hennige, T. Sartorius, Y. Grichisch, N. Stefan, M. Guthoff, S. Dusing, J. Machann, E. Schleicher, A. Cegan, N. Birbaumer, A. Fritsche and H. U. Haring (2009). "The insulin effect on cerebrocortical theta activity is associated with serum concentrations of saturated nonesterified Fatty acids." J Clin Endocrinol Metab 94(11): 4600-4607.
- Tschritter, O., H. Preissl, A. M. Hennige, T. Sartorius, K. T. Stingl, M. Heni, C. Ketterer, N. Stefan, J. Machann, E. Schleicher, A. Fritsche and H. U. Haring (2012). "High cerebral insulin sensitivity is associated with loss of body fat during lifestyle intervention." Diabetologia 55(1): 175-182.
- Tschritter, O., H. Preissl, A. M. Hennige, M. Stumvoll, K. Porubská, R. Frost, H. Marx, B. Klosel, W. Lutzenberger, N. Birbaumer, H. U. Haring and A. Fritsche (2006). "The cerebrocortical response to hyperinsulinemia is reduced in overweight humans: a magnetoencephalographic study." Proc Natl Acad Sci U S A 103(32): 12103-12108.
- Unger, J. W., J. N. Livingston and A. M. Moss (1991). "Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanisms and functional aspects." Prog Neurobiol 36(5): 343-362.
- Van Leeuwen, P., S. Lange, H. Bettermann, D. Gronemeyer and W. Hatzmann (1999). "Fetal heart rate variability and complexity in the course of pregnancy." Early Hum Dev 54(3): 259-269.
- Veena, S. R., G. V. Krishnaveni, K. Srinivasan, A. V. Kurpad, S. Muthayya, J. C. Hill, K. N. Kiran and C. H. Fall (2010). "Childhood cognitive ability:

- relationship to gestational diabetes mellitus in India." Diabetologia 53(10): 2134-2138.
- Vindla, S. and D. James (1995). "Fetal behaviour as a test of fetal wellbeing." Br J Obstet Gynaecol 102(8): 597-600.
- Vogt, M. C., L. Paeger, S. Hess, S. M. Steculorum, M. Awazawa, B. Hampel, S. Neupert, H. T. Nicholls, J. Mauer, A. C. Hausen, R. Predel, P. Kloppenburg, T. L. Horvath and J. C. Bruning (2014). "Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding." Cell 156(3): 495-509.
- Vrba, J., S. E. Robinson, J. McCubbin, P. Murphy, H. Eswaran, J. D. Wilson, H. Preissl and C. L. Lowery (2004). "Human fetal brain imaging by magnetoencephalography: verification of fetal brain signals by comparison with fetal brain models." Neuroimage 21(3): 1009-1020.
- Wakai, R. T., A. C. Leuthold and C. B. Martin (1996). "Fetal auditory evoked responses detected by magnetoencephalography." Am J Obstet Gynecol 174(5): 1484-1486.
- Walker, D., J. Grimwade and C. Wood (1971). "Intrauterine noise: a component of the fetal environment." Am J Obstet Gynecol 109(1): 91-95.
- Warchol, M., H. Krauss, M. Wojciechowska, T. Opala, B. Pieta, W. Zukiewicz-Sobczak, J. Kupsz and A. Grochowalska (2014). "The role of ghrelin, leptin and insulin in foetal development." Ann Agric Environ Med 21(2): 349-352.
- Weitzman, L., L. Graziani and L. Duhamel (1967). "Maturation and topography of the auditory evoked response of the prematurely born infant." Electroencephalogr Clin Neurophysiol 23(1): 82-83.
- Weyerstahl, T. and M. Stauber (2013). "Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe." Thieme: 451-457.
- Wilson, J. D., R. B. Govindan, J. O. Hatton, C. L. Lowery and H. Preissl (2008). "Integrated approach for fetal QRS detection." IEEE Trans Biomed Eng 55(9): 2190-2197.
- Woods, S. C., E. C. Lotter, L. D. McKay and D. Porte, Jr. (1979). "Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons." Nature 282(5738): 503-505.
- Zappasodi, F., F. Tecchio, V. Pizzella, E. Cassetta, G. V. Romano, G. Filligoi and P. M. Rossini (2001). "Detection of fetal auditory evoked responses by means of magnetoencephalography." Brain Res 917(2): 167-173.
- Zhao, H. and R. T. Wakai (2002). "Simultaneity of foetal heart rate acceleration and foetal trunk movement determined by foetal magnetocardiogram actocardiography." Phys Med Biol 47(5): 839-846.

7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde am fMEG Zentrum (Otfried-Müller-Straße 47, Tübingen) unter Betreuung von Prof. Dr. Hubert Preissl (Leiter des fMEG Zentrums, Universitätsklinikum Tübingen) und Dr. Franziska Schleger (fMEG Zentrum, Universitätsklinikum Tübingen) durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Andreas Fritsche (Lehrstuhl für Ernährungsmedizin und Prävention, Diabetologie, Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Tübingen).

Sämtliche fMEG Messungen der Probandinnen wurden nach Einarbeitung von Dr. Franziska Schleger von mir eigenständig durchgeführt.

Die Anamnese, das Unterschreiben der Einwilligungserklärung und die Ultraschalluntersuchungen wurde von unserer Studienhebamme Magdalene Weiss (fMEG Zentrum, Universitätsklinikums Tübingen) vorgenommen.

Das Legen der venösen Venenverweilkanüle und die Blutabnahmen wurden von Dr. med. Katarzyna Linder (Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Tübingen) vorgenommen. Die anschließenden Laboranalysen wurden durch Mitarbeiter des Zentrallabors des Universitätsklinikums Tübingen durchgeführt.

Die Datenanalyse (Analyse der AER und der fetalen Stadien) erfolgte nach Einarbeitung durch meine Betreuerin Dr. Franziska Schlegel von mir selbstständig.

Die statistische Auswertung wurde von mir in Zusammenarbeit mit meiner Betreuerin Dr. Franziska Schleger und der Studienärztin Dr. med. Katarzyna Linder durchgeführt.

Teile dieser Ergebnisse wurden in dem Paper „Gestational Diabetes Impairs Human Fetal Postprandial Brain Activity“ (Linder, Schleger et al. 2015) veröffentlicht.

Ich versichere, das Manuskript selbständig in Rücksprache mit meiner Betreuerin Dr. Franziska Schleger verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 12.01.2017

[Unterschrift]

8 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Linder, K., F. Schleger, I. Kiefer-Schmidt, L. Fritsche, S. Kummel, M. Heni, M. Weiss, H. U. Haring, H. Preissl and A. Fritsche (2015). "Gestational Diabetes Impairs Human Fetal Postprandial Brain Activity." *J Clin Endocrinol Metab* 100(11): 4029-4036.

9 Anhang

9.1 Anamnesebogen

Anamnese:

ET:		SSW:	
Wie oft waren sie bisher schwanger - diese SS mit einbezogen?			
Aborte: <i>Anzahl:</i> _____ <i>Wann:</i> _____ <i>SSW</i> _____ Abtreibungen: <i>Anzahl:</i> _____ <i>Wann:</i> _____ <i>SSW</i> _____ Geburten: <i>Anzahl:</i> _____ <i>Wann:</i> _____ <i>in welcher SSW</i> _____			
<i>Gab es damals Komplikationen, wenn ja welche:</i>			
Haben/Hatten Sie Probleme in dieser Schwangerschaft, welche und wann?			
Was ist das Geschlecht Ihres ungeborenen Kindes?			
Hat Ihr ungeborenes Kind Auffälligkeiten?			
Haben Sie Krankheiten, wenn ja welche:			
Haben Sie gelegentlich Schwindelanfälle oder Bewusstseinsverluste?			
Gibt es in Ihrer Familie Erkrankungen/ Behinderungen?			
Nehmen Sie Medikamente, wenn ja welche:			
Haben Sie eine Allergie:			
Rauchern Sie, wenn ja wieviel pro Tag?		Trinken Sie Alkohol, wieviel Gläser/ was?	
Wieviel wogen Sie am Anfang der SS kg	Wieviel wiegen Sie jetzt? kg	Wie groß sind Sie? cm	
Sind/ waren Sie berufstätig, wenn ja als was bis wann?		Welchen Schulabschluss haben Sie?	

9.2 Einverständniserklärung

Einwilligungserklärung

FMEG MESSUNG FETALER HERZ- UND HIRNAKTIVITÄT

Studienleiter:

Prof. Dr. med. Diethelm Wallwiener, Universitäts-Frauenklinik mit Poliklinik der
Universität Tübingen, Calwerstr. 7, 72076 Tübingen, Tel.: 07071/2982246

Prof. Dr. phil. Niels Birbaumer, Institut für medizinische Psychologie, Gartenstrasse 29,
72074 Tübingen, Tel. 07071/29-74219

Mit dieser Unterschrift bestätige ich,...

- ...dass ich über die Ziele, die Dauer, den Ablauf, den Nutzen der Studienteilnahme aufgeklärt wurde.
- ...dass ich darüber aufgeklärt wurde, dass die Untersuchung mit keinen Risiken oder Nebenwirkungen für mich und meinen Fetus verbunden ist.
- ...dass ich freiwillig an der Untersuchung teilnehme und darüber informiert wurde, dass ich meine Teilnahme jederzeit und ohne weitere Angabe von Gründen abbrechen kann und mir daraus keine Nachteile entstehen werden.
- ...dass ich über den Umgang mit personenbezogenen Daten aufgeklärt wurde.
- ...dass ich der Teilnahme an der Studie zustimme.
- ...dass ich damit einverstanden bin, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten ohne Namensnennung auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet werden.
- ...dass ich damit einverstanden bin, dass die Weitergabe der erhobenen Daten an Dritte (d.h. Personen, die mit der weiteren Bearbeitung der Daten betraut sind), die Auswertung sowie die Veröffentlichung der Daten ausschließlich in anonymisierter Form (d.h. ein Personenbezug kann anhand dieser Daten nicht hergestellt werden) erfolgt.
- ...dass ich damit einverstanden bin, dass ein autorisierter und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter der zuständigen Überwachungsbehörde oder der zuständigen Bundesoberbehörde in meine bei den Studienleiter vorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist.

(Name der Teilnehmerin / des Teilnehmers)

Tübingen,

(Ort)

(Datum)

(Unterschrift)

Studienleiterin

9.3 Ultraschall-Dokumentation

Pat.ID: _____ Operator: _____

Sitzung: _____ Datum: _____

1. CTG vor Messung: (20 min)

Baseline	Fluktuation	Oszillation	Fetale Bewegung	Score
spm		spm		
WT	Blutdruck	Puls	Besonderheit	
/30 min				

2. Messung der Spontanaktivität (20min):

Sequenz	Paradigma	Dauer der Messung:
MHR	Musik:	Van Nijhuis Score
/min	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	
Kopflokalisation		Sensorendifferenz während Lokalisierung: _____
Vorher: _____ / _____ / _____		Sensorendifferenz während Messung: _____
Nachher: _____ / _____ / _____		
Bewegt in Trial:		
Gesprochen in Trial:		
Bemerkungen:		
Sitzhöhe:		

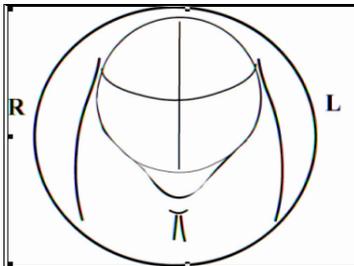
Vor Messung

Distanz zu Bauchwand in cm:
Herz:
Auge:
Ohr (li)
Ohr (re)
Falx cerebri (interthalamisch)
Mütterliche Gewebsschicht:
Bemerkungen:

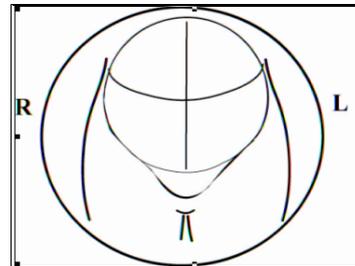
Nach Messung

Distanz zu Bauchwand in cm:
Herz:
Auge:
Ohr (li)
Ohr (re)
Falx cerebri (interthalamisch)
Mütterliche Gewebsschicht:
Bemerkungen:

Fetale Position:



Fetale Position



9.4 Messprotokoll

fMEG/ OGTT spontaneous					
Pt.ID:	Measurement #	Operator	Date	GA	
	1 / 3				
trial	Paradigm	resource file		MHR	FHR
1	OGTT	Spontan_15min.rp			
Fetal movement					
Remarks					
trial			MHR	FHR	
2					
Fetal movement					
Remarks					
trial			MHR	FHR	
3					
Fetal movement					
Remarks					

fMEG/ OGTT audio				
Pt.ID:	Measurement #	Operator	Date	GA
	1 / 3			
trial	Paradigm	resource file	MHR	FHR
1	OGTT	Audio_6min.rp		
Presentation: C:/Program Files/NeurobehavioralSystems/Presentation/CTF_Studies/Rossitza/experiment/AudioPresentation_GABA/AP_Stream.exp Editor: AP_Stream_Scenarios.pcl AP_Stream.sce (grüner Pfeil) → 8 → 360, 2000, 2000, 0.25 Lautstärke 6				
Fetal movement				
Remarks				

fMEG/ OGTT spontaneous					
Pt.ID:	Measurement #	Operator	Date	GA	
	2 / 3				
trial	Paradigm	resource file		MHR	FHR
1	OGTT	Spontan_15min.rp			
Fetal movement					
Remarks					
trial			MHR	FHR	
2					
Fetal movement					
Remarks					
trial			MHR	FHR	
3					
Fetal movement					
Remarks					

fMEG/ OGTT audio				
Pt.ID:	Measurement #	Operator	Date	GA
	2 / 3			
trial	Paradigm	resource file	MHR	FHR
1	OGTT	Audio_6min.rp		
Presentation: C:/Program Files/NeurobehavioralSystems/Presentation/CTF_Studies/Rossitza/experiment/AudioPresentation_GABA/AP_Stream.exp Editor: AP_Stream_Scenarios.pcl AP_Stream.sce (grüner Pfeil) → 8 → 360, 2000, 2000, 0.25 Lautstärke 6				
Fetal movement				
Remarks				

fMEG/ OGTT spontaneous					
Pt.ID:	Measurement #	Operator	Date	GA	
	3 / 3				
trial	Paradigm	resource file		MHR	FHR
1	OGTT	Spontan_15min.rp			
Fetal movement					
Remarks					
trial			MHR	FHR	
2					
Fetal movement					
Remarks					
trial			MHR	FHR	
3					
Fetal movement					
Remarks					

fMEG/ OGTT audio				
Pt.ID:	Measurement #	Operator	Date	GA
	3 / 3			
trial	Paradigm	resource file	MHR	FHR
1	OGTT	Audio_6min.rp		
Presentation: C:/Program Files/NeurobehavioralSystems/Presentation/CTF_Studies/Rossitza/experiment/AudioPresentation_GABA/AP_Stream.exp Editor: AP_Stream_Scenarios.pcl AP_Stream.sce (grüner Pfeil) → 8 → 360, 2000, 2000, 0.25 Lautstärke 6				
Fetal movement				
Remarks				

Danksagung

Ein großes Dankeschön möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Hubert Preissl aussprechen, der mir die Möglichkeit gegeben hat der fMEG Arbeitsgruppe beizutreten und dieses spannende Thema zu bearbeiten. Vielen lieben Dank dir Hubert für deine engagierte Betreuung in wissenschaftlichen und technischen Fragen und deine konstruktiven Ratschläge bei der Erstellung dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Betreuerin Dr. Franziska Schleger, die mich während der gesamten Zeit der Messungen, der Datenauswertung und Verfassen der Dissertation mit wertvollen methodischen und fachlichen Ratschlägen, Motivation und unermüdlicher Geduld unterstützt hat. Dein grenzenloser Einsatz für das Gelingen dieser Arbeit ist wirklich außergewöhnlich. Vielen herzlichen Dank liebe Franziska!

Zudem möchte ich noch ein großes Dankeschön an das ganze Team des fMEG Zentrums aussprechen, insbesondere an unsere Studienhebamme Magdalene Weiss und unsere Studienärztin Katarzyna Linder. Durch eure positive Art und eure Hilfsbereitschaft werde ich mich immer sehr gerne an unsere gemeinsamen Messungen zurückerinnern.

Danken möchte ich auch allen Probandinnen die an der Studie teilgenommen haben für ihre Zeit und Geduld, ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Mein tiefer Dank gilt meinen Eltern Doris und Wolfram, meinem Bruder Florian und meinem Freund Uli. Ihr habt mich nicht nur während der Zeit meiner Doktorarbeit, sondern während meines gesamten Lebens immer mit viel Liebe begleitet und habt mich stets motiviert meinen Weg zu gehen. Ihr seid für mich immer eine sehr große Unterstützung gewesen. Vielen Dank dafür!

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Stefanie Christine Kümmel
Geburtsdatum: 29.09.1989

AUSBILDUNG

Studium:	2010 – 2016	Studium der Humanmedizin (<i>Eberhard-Karls-Universität, Tübingen</i>) (Ärztliche Prüfung Gesamtnote: sehr gut (1,5))
	2016	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung: <i>08.-09.11.16 Note: sehr gut (1,0)</i>
	2015	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung <i>Note: gut (2,0)</i>
	2012	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung <i>Note: sehr gut (1,5)</i>
Promotion:	ab 2013	Promotion am fMEG Zentrum des Universitätsklinikums Tübingen, „Einfluss der maternalen Insulinsensitivität auf die fetale Hirnaktivität“
Praktisches Jahr:	2015 – 2016	Innere Medizin (<i>Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart</i>) Augenheilkunde (<i>Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen</i>) Chirurgie (<i>Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart</i>)
Famulaturen:	04/2015	Augenheilkunde (<i>Charlottenklinik, Stuttgart</i>)
	03/2015	Gynäkologie und Geburtshilfe (<i>Cebu Doctors' University Hospital, Philippinen</i>)
	08 – 09/2014	Kinderheilkunde (<i>Filderklinik, Stuttgart</i>)
	03 – 04/2014	Augenheilkunde (<i>Katharinenhospital, Stuttgart</i>)
	03/2014	Neurologie (<i>Marienhospital, Stuttgart</i>)
	08 – 09/2013	Gynäkologie und Geburtshilfe (<i>Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart</i>)
	09/2012	Kinderchirurgie (<i>Praxis: Hrivatakis / Dr.Heim, Stuttgart</i>)
Pflegepraktika:	01 – 02/2010	Gynäkologie und Geburtshilfe (<i>Marienhospital, Stuttgart</i>)
	11 – 12/2009	Herz-Thorax-Chirurgie (<i>Royal Adelaide Hospital, Adelaide, Australien</i>)
Schulbildung:	2009	Abitur (Abiturdurchschnitt 1,0)
	2000 – 2009	Klassensprecherin, Stufensprecherin
	2000 – 2009	Wilhelms-Gymnasium, Stuttgart
	1996 – 2000	Albschule, Stuttgart