

DIPLOMARBEIT

**TEDDY-Studie: Identifikation von Umwelt und
genetischen Faktoren und deren Interaktion in der
Entstehung der Autoimmunität des Typ 1 Diabetes –
was haben wir bereits gelernt?**

- eine Literaturrecherche -

eingereicht von
Sabina Maria Gorski

zur Erlangung des akademischen Grades
**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der
Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der
**Klinischen Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel
der Univ.-Klinik für Innere Medizin und an der
Klinischen Abteilung für Allgemeine Pädiatrie
der Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde**

unter der Anleitung von
Ass.-Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Gerlies Treiber und
Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Elke Fröhlich-Reiterer

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, im März 2017

Sabina Maria Gorski eh.

Für meine Familie

DANKSAGUNGEN

In erster Linie möchte ich mich bei Frau Ass.-Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Gerlies Treiber und Frau Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Elke Fröhlich-Reiterer für die Unterstützung in allen Phasen meiner Diplomarbeit bedanken! Ich lernte meine Betreuerinnen als fachlich kompetente Medizinerinnen kennen und habe Ihre Anregungen und Ratschläge immer sehr geschätzt. Es war stets eine sehr kollegiale und angenehme Zusammenarbeit mit vielen persönlichen Momenten.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner ganzen Familie - nicht nur für die finanzielle Unterstützung, sondern vielmehr für das große Vertrauen, die Ermutigung und den guten Zuspruch während des gesamten Studiums. Ohne euch wäre es nicht möglich gewesen, meinen Traum vom Medizinstudium zu verwirklichen!

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	I
ZUSAMMENFASSUNG.....	II
ABSTRACT.....	IV
1 EINLEITUNG	4
1.1 Was versteht man unter der Erkrankung Diabetes mellitus?	5
1.2 Klinik des T1D.....	8
1.3 Diagnostik.....	8
1.3.1 Labor	8
1.4 Epidemiologie des T1D	9
1.4.1 Weltweit	9
1.4.2 Österreich	10
1.4.3 Prognose.....	11
1.5 Ätiopathogenese des T1D	12
1.5.1 Genetik	13
1.5.2 Umwelteinflüsse.....	13
2 MATERIAL UND METHODEN	15
3 ERGEBNISSE.....	16
3.1 Publikationen zum Studiendesign und Rekrutment.....	16
3.1.1 Studienhypothesen	18
3.1.2 Studienendpunkte.....	19
3.1.3 Studienpopulation	19
3.1.4 Aufnahmekriterien in die TEDDY-Studie	19
3.1.5 Ausschlusskriterien der TEDDY-Studie	21
3.1.6 Analyse der Kinder	21
3.1.7 Analyse der Mütter.....	23
3.1.8 Psychosoziale Auswirkung	24
3.1.9 Qualitätskontrolle und Probenmanagement	24
3.1.10 Erfahrungen zur Rekrutierung und Studienteilnahme	24
3.2 Publikationen zur Genetik	26
3.2.1 HLA-Screening	26
3.2.2 Publikationen zu Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs)	29

3.3	Publikationen zu Infektionen.....	32
3.4	Publikationen zum Darmmikrobiom.....	34
3.4.1	Geographische Einflüsse.....	34
3.4.2	Lactobacillus.....	34
3.5	Publikationen zur Ernährung.....	37
3.5.1	Beikost.....	38
3.5.2	Muttermilch.....	40
3.5.3	Probiotikaeinnahme bei TEDDY Kindern.....	41
3.5.4	Nahrungsergänzungen während der Schwangerschaft.....	42
3.6	Publikationen zu Zöliakie.....	44
3.6.1	Diagnostik und Klinik der Zöliakie.....	49
3.6.2	Gluten.....	50
3.7	Publikationen zum Körpergewicht.....	53
3.8	Publikationen zu Psychosozialen Auswirkungen.....	60
3.8.1	Psychischer Stress.....	60
3.8.2	Präventives Verhalten.....	61
3.9	Publikationen zur Diagnostik des T1D.....	63
3.9.1	Diabetesbedingte Ketoacidose.....	63
3.9.2	Serokonversion.....	65
3.9.2.1	T1D Progression in Abhängigkeit der Autoantikörper.....	68
3.10	Publikationen zu den ersten T1D Diagnosen in TEDDY.....	73
4	DISKUSSION.....	77
4.1	Genetik.....	77
4.2	Infektionen.....	79
4.3	Darmmikrobiom.....	79
4.4	Ernährung.....	80
4.5	Psychosomatik.....	83
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	85
	TABELLENVERZEICHNIS.....	86
	LITERATURVERZEICHNIS.....	87

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAK	Autoantikörper
ADA	American Diabetes Association
BMI	Body Mass Index
CMV	Cytomegalie-Virus
DKA	Diabetische Ketoazidose
FDR	First degree relative
GADA	Glutaminsäuredecarboxylase-Antikörper
GP	General population
HLA	Human leukocyte antigen
IA	Autoimmunität
IAA	Insulinautoantikörper
IA-2A	Thyrosinphosphatase-Antikörper
ICA	Inselzellen-Antikörper
IOTF	International Obesity Task Force
ITGAM	Integrin alpha M
PAS	Polyglanduläres Autoimmunsyndrom
SNP	Single Nucleotide Polimorphismen
TEDDY	The Environmental Determinants of Diabetes in the Young –Studie
T1D	Diabetes mellitus Typ 1
tTGA	Gewebstransglutaminase-Antikörper
WHO	World Health Organization
ZnT8	Zinktransporter 8 – Antikörper

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund

Typ 1 Diabetes (T1D) ist eine der häufigsten pädiatrischen Stoffwechselerkrankungen und zeigt bei Kindern ≤ 5 Jahre eine starke Inzidenzzunahme von 3-5% jährlich. Die Studie ‚The Environmental Determinants of Diabetes in the Young‘ (TEDDY) untersucht den Einfluss von Umweltfaktoren auf die Ätiopathogenese des T1D bei genetisch prädisponierten Kindern. Zwischen 2004 und 2010 wurden 8.668 Kinder aus Deutschland, Finnland, Schweden und den USA in die Kohorte aufgenommen und bis zu ihrem 15. Lebensjahr regelmäßig untersucht. Es wurden über 2 Millionen Blutproben, 500.000 Fragebögen sowie 46.000 Harnproben gesammelt. Diese Diplomarbeit soll einen Überblick über die bereits publizierten Daten der Studie verschaffen.

Material und Methoden

Mithilfe der wissenschaftlichen Datenbank PubMed erfolgte eine Literaturrecherche. Berücksichtigt wurden nur Englisch verfasste, bis November 2016 veröffentlichte Publikationen. Dabei wurden 50 Papers in dieser Diplomarbeit bearbeitet und nach Studiendesign/Rekrutierung, Genetik, Infektionen, Darmmikrobiom, Ernährung, Diagnostik des T1D sowie Zöliakie gruppiert.

Ergebnisse

In der TEDDY-Studie wurden einerseits wertvolle Erfahrungen zur Rekrutierung und Studienabbrüchen im Rahmen von langen Observationsstudien gemacht und andererseits länderspezifische Unterschiede in der Genetik und Ernährungsgewohnheiten festgestellt. Die Serokonversion von Inselzellantikörpern zeigte in den ersten zwei Lebensjahren einen Gipfel und das Risiko für T1D steigt mit multiplen Autoantikörpern, wobei eine diabetische Ketoazidose bei T1D Manifestation unter Studienbedingungen geringer war.

Schlussfolgerungen

In der TEDDY-Studie wurde deutlich, dass nicht jedes Kind mit einer genetischen Prädisposition automatisch an einem T1D erkrankt und die Erforschung der Umweltfaktoren wichtig ist, um ein besseres Verständnis über die Ätiopathogenese des T1D zu erhalten. Mit diesen Forschungsergebnissen könnten dann neue Therapiemaßnahmen zur Prävention des T1D entwickelt werden.

ABSTRACT

Background

Type 1 diabetes (T1D) is one of the most common diseases affecting children. The incidence rate has been increasing 3-5% annually and it is particularly pronounced in children under the age of 5. ‘The Environmental Determinants of Diabetes in the Young’ or TEDDY study, is designed to investigate the environmental influences that cause T1D. From 2004 through 2010 the TEDDY study group has enrolled 8,668 children from Germany, Finland, Sweden and the USA and they will be followed prospectively until the age of 15 years. 2 Million blood samples, 500,000 questionnaires and 46,000 urine samples have already been collected in the TEDDY study. The goal of this thesis is to provide a comprehensive review of the published data.

Methods

A literature review was conducted using the Pubmed database. Only English papers from the beginning of the TEDDY study in 2010 to November 2016 were considered. That includes a total of 50 papers, which have been grouped according to recruitment, study design, genetics, infections, intestinal microbiome, the first introduction to complementary food, diagnostics of T1D and celiac disease.

Results

The TEDDY study offers a valuable experience about the recruitment and study withdrawal of a long-term observational study, as well as country specific differences in genetics and nutritional habits. The seroconversion to diabetes related islet-cell autoantibodies peaks within the first two years of life and the risk of progression to T1D increases with the appearance of multiple autoantibodies. Participation in the TEDDY study also resulted in a lower prevalence of diabetic ketoacidosis at the time of diagnosis of T1D.

Conclusion

The TEDDY study suggests that not every child with a genetic susceptibility to T1D will automatically develop the disease and that the investigation of environmental stimuli is important for understanding the pathophysiology of T1D. This insight can be utilized to develop new therapies in order to prevent the progression of T1D.

1 EINLEITUNG

Diabetes mellitus Typ 1 (T1D) zählt bei Kindern zu der häufigsten Stoffwechselerkrankung. Dabei zeigen insbesondere Kinder unter fünf Jahren bezüglich der Neuerkrankungsrate eine starke Zunahme. Weltweit steigt in dieser Gruppe die Inzidenz jährlich um 3 bis 5 % an.

Die Studie ‚The Environmental Determinants of Diabetes in the Young‘ (TEDDY) ist in der Diabetesforschung ein großes internationales Projekt, um Umweltfaktoren, die die Ätiopathogenese des T1D beeinflussen, aufzudecken. Mithilfe der gewonnenen Erkenntnisse soll die Entwicklung neuer, präventiver Therapien gefördert werden, um den Ausbruch der Erkrankung in Zukunft verhindern zu können.

Für die Studie wurden zwischen 2004 und 2010 in Deutschland, Finnland, Schweden und den USA 418.709 Neugeborene auf ihren humanen Leukozyten Antigen (HLA) Genotyp untersucht. 8.668 Kinder wurden in die Kohorte aufgenommen und werden bis zu ihrem 15. Lebensjahr regelmäßig auf verschiedene Umweltfaktoren untersucht.

Im Rahmen von TEDDY wurden mittlerweile über 2 Millionen Blutproben, 500.000 Fragebögen sowie 46.000 Harnproben gesammelt. 61 Papers wurden bereits veröffentlicht, weitere 100 befinden sich in der Pipeline. Im Zuge der Diplomarbeit erfolgt eine ausführliche Literaturrecherche, um die publizierten Daten zu sammeln, themenspezifisch zu sortieren und zusammenzufassen. Ziel der Diplomarbeit ist es, eine Übersicht über die bereits publizierten Daten der TEDDY-Studie zu erhalten und die Ergebnisse zu bewerten.

Allgemeine Grundlagen des Diabetes mellitus werden einleitend behandelt sowie die epidemiologische Verteilung des T1D aufgezeigt.

Das Studiendesign sowie die genauen Einschluss- und Ausschlusskriterien von TEDDY werden zu Beginn der Ergebnisse vorgestellt. Die publizierten Daten werden dann anschließend präsentiert und zum Abschluss diskutiert.

1.1 Was versteht man unter der Erkrankung Diabetes mellitus?

1.1.1 Definition und Klassifikation

Diabetes mellitus ist eine Stoffwechselerkrankung, die auf einer Sekretionsstörung des Insulins beziehungsweise auf einer gestörten Insulinwirkung beruht. Daraus resultiert eine nachfolgende Störung des Glukose- und Lipidstoffwechsels mit dem Leitsymptom einer chronischen Hyperglykämie. ^{[1][2]}

Die World Health Organization (WHO) und die American Diabetes Association (ADA) teilen den Diabetes mellitus auf Basis der Ätiologie in vier verschiedene Typen ein.

I. Diabetes mellitus Typ 1

Diese Diabetesform macht ca. 10-15% aller DiabetespatientInnen aus. Der T1D zählt unter Kindern und Jugendlichen zu der häufigsten Diabetesform und wird durch einen absoluten Insulinmangel charakterisiert, der durch eine Zerstörung der insulinsekretorischen β -Zellen des Pankreas resultiert. Bei den meisten PatientInnen handelt es sich dabei um eine autoimmunbedingte β -Zellzerstörung mit dem entsprechenden Nachweis von Autoantikörpern. In wenigen Fällen ist die Ursache der β -Zellzerstörung nicht bekannt, diese PatientInnen mit T1D idiopathischer Genese sind nicht HLA assoziiert im Gegensatz zu dem immun-medierten T1D. ^{[1][2][3]}

II. Diabetes mellitus Typ 2

Typ 2 Diabetes mellitus zählt im Erwachsenenalter zu der häufigsten Form. Diese Form basiert auf vier ätiologischen Faktoren mit unterschiedlichem Ausprägungsgrad:

- Insulinresistenz,
- Sekretionsdefekt der β -Zellen (relativer Insulinmangel),
- Sekretionsdefekt der α -Zellen (Hyperglukagonismus),
- zunehmende Apoptose der β -Zellen. ^{[1][2]}

III. Andere Diabetesformen

Hier wird eine große Gruppe von spezifischen Diabetesformen zusammengefasst.

Man unterscheidet dabei zwischen:

a.) Genetischer Defekt der β -Zellen (autosomal-dominanter Erbgang)

Zu den wichtigsten monogenetischen Diabetesformen zählen der Maturity-onset Diabetes of the Young (MODY) und der neonatale Diabetes.

Kennzeichnend für MODY sind: kein Autoantikörpernachweis, ohne Adipositas, Manifestation vor dem 25. Lebensjahr, ca. 1% aller Diabetiker. Bis heute hat man bereits 13 Gene an verschiedenen Chromosomen identifiziert. Zu den häufigsten Formen zählen:

- MODY 1 (3%): Chromosom 20q, HNF-4alpha
- MODY 2 (15 %): Chromosom 7p, Glukokinase
- MODY 3 (70%): Chromosom 12q, HNF-1-alpha
- MODY 5 (3%): Chromsom 17q, HNF-1beta ^{[1][2]}

Alle Kinder unter sechs Monaten mit einem Diabetes sollten genetisch auf einen neonatalen Diabetes abgeklärt werden. Auch hier gibt es bereits eine Reihe von beschriebenen Genmutationen. Eine korrekte Diagnose hat eine große Relevanz bezüglich der weiteren Therapie, denn KCNJ11 Mutationen im Kalium-Kanal der β -Zelle werden beispielsweise mit einem Sulfonylharnstoff behandelt, während Insulingenmutationen eine Insulintherapie erfordern. ^[4]

b.) Genetischer Defekt der Insulinwirkung

Zum Beispiel Typ A Insulinresistenz, Leprechaunismus-Syndrom, Mendenhall-Syndrom, Lipoatrophischer Diabetes. ^{[1][2]}

c.) Erkrankungen des exokrinen Pankreas

Im Rahmen von verschiedenen Erkrankungen des Pankreas kann es zur Verminderung der β -Zellen kommen. Dazu zählen zum Beispiel ausgeprägte chronische Pankreatitis, Trauma oder Neoplasien mit Pankreatektomie, Zystische Fibrose, Hämochromatose. ^{[1][2]}

d.) Endokrinopathien

Zum Beispiel Akromegalie, Cushing-Syndrom, Phäochromozytom, Hyperthyreose, Somatostatinom, Glucagonom, Aldosteronom. ^{[1][2]}

e.) Medikamenteninduziert

Zum Beispiel durch Glukokortikoide, Betaadrenergika, Thiazide, hormonelle Kontrazeptiva. ^{[1][2]}

f.) Infektionen

Zum Beispiel kongenitale Röteln, Cytomegalie-Virus (CMV). ^{[1][2]}

g.) selten immunologisch bedingte Formen

Zum Beispiel Anti-Insulin-Rezeptor-Antikörper, Stiff-Man-Syndrom. ^{[1][2]}

h.) andere mit Diabetes assoziierte genetische Erkrankungen

zum Beispiel Down-, Klinefelter-, Turner-Syndrom. ^{[1][2]}

IV. Gestationsdiabetes

Der Gestationsdiabetes (GDM) ist eine Diabetesform erstmalig diagnostiziert im zweiten oder dritten Trimenon der Schwangerschaft und ist kein präexistenter T1D oder T2D. Das Screening auf GDM erfolgt zwischen der 24. bis 28. Schwangerschaftswoche im Rahmen der Mutter-Kind-Pass Untersuchungen. ^{[1][2]}

1.2 Klinik des T1D

Die Erstmanifestation des T1D ist variabel, meist sind infolge der Hyperglykämie Polyurie, Polydipsie, Müdigkeit, Mattigkeit und Gewichtsverlust ein frühes Anzeichen der Erkrankung. Bei einem geringen Anteil der PatientInnen liegt zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme eine diabetesbedingte Ketoacidose (DKA) vor. Diese kann sich durch ein beeinträchtigt Bewusstsein, Acetongeruch, Kußmaul'sche Atmung, Dehydratation, Exsikkose sowie durch Erbrechen präsentieren. [5]

1.3 Diagnostik

Basis bildet in der Diagnose des T1D eine ausführliche Anamnese und Familienanamnese mit der dazu passenden Klinik.

1.3.1 Labor

Die Diagnose eines T1D erfolgt aufgrund einer Hyperglykämie anhand folgender Kriterien:

Stadium	Nüchtern-Plasma-Glucose venös	Gelegenheitsblutzucker	Oraler Glucose-Toleranz-Test (oGTT)
Diabetes	> 126 mg/dl (>7,0 mmol/l)	> 200 mg/dl (>11,1 mmol/l) und Symptome eines Diabetes	2h-Wert > 200mg/dl (> 11,1 mmol/l)
Abnorme Nüchtern-Glukose („impaired fasting glucose = IFG“)	100 – 125 mg/dl (5,6 – 6,9 mmol/l)		Gestörte Glucosetoleranz („impaired glucose tolerance = IGT) 2h-Wert 140– 199mg/dl (7,8 – 11,0 mmol/l)
Normal	< 100 mg/dl (< 5,6 mmol/l)		2h-Wert < 140mg/dl (<7,8mmol/l)

Tabelle 1: Richtwerte zur Feststellung eines Diabetes mellitus [1][3]

Für die Diabetestypisierung werden als serologische Marker die Autoantikörper IAA, ICA, GADA, IA-2A und ZnT8 sowie das C-Peptid bestimmt. C-Peptid wird im Rahmen der Insulinsynthese aus Proinsulin abgespalten. Es hat im Vergleich zu Insulin eine deutlich längere Halbwertszeit und dient als Maß für die eigene Insulinproduktion. Bei PatientInnen mit T1D finden sich trotz erhöhten Glukosewerten niedrige C-Peptidkonzentrationen im Blut. ^[6]

1.4 Epidemiologie des T1D

1.4.1 Weltweit

Weltweit ist eine deutliche Inzidenzzunahme des T1D zu beobachten und es zeigt sich ein deutliches Nord-Süd-Gefälle. Die höchste T1D Inzidenz findet sich in den skandinavischen Ländern, die niedrigste Rate zeigt sich in Mazedonien (Finnland 42/100.000/Jahr vs. Mazedonien 3/100.000/Jahr). Dabei ist anzumerken, dass in der Gruppe der Kinder unter 15 Jahren Sardinien neben Finnland die höchste Neuerkrankungsrate aufweist. ^{[7][8]}

Die EURODIAB Study Group verzeichnete im Zeitraum von 1989-2003 in der Altersgruppe der 0- bis 14-jährigen Kinder 29.311 neue T1D Fälle. Dies entspricht einer jährlichen Inzidenzsteigerung von 3,9%. Die höchste Zunahme findet sich dabei in der Gruppe der 0- bis 4-jährigen Kinder. Die Abbildung 1 demonstriert die Zunahme der Neuerkrankungsrate in der Gruppe der 0- bis 4-, 5- bis 9- sowie 10- bis 14- jährigen Kinder. ^[9]

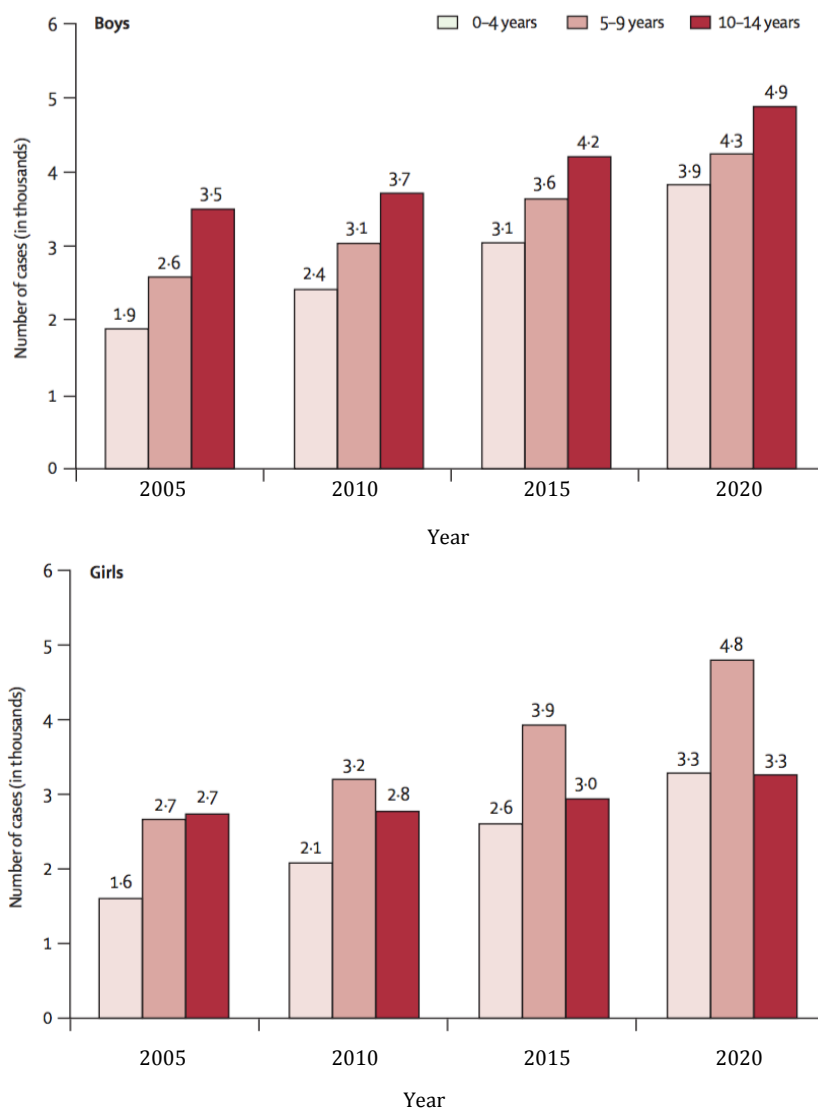


Abbildung 1: *Inzidenzzunahme des T1D bei Kindern < 15 Jahren.* ^[9]

1.4.2 Österreich

Laut dem österreichischen Bundesministerium für Gesundheit wurden 2007 „in der Altersgruppe der 0- bis 14-Jährigen 249 neu diagnostizierte Typ-1- sowie 5 Typ-2-Diabetes-Fälle dokumentiert“. ^[10] Dies entspricht einer T1D Neuerkrankungsrate von 18 Kindern pro 100.000 pro Jahr. ^[10] Das Bundesministerium für Gesundheit bezieht sich dabei auf die Daten des österreichischen Diabetes-Inzidenz-Registers. Die Abbildung 2 zeigt, dass in Österreich in einem Zeitraum von 1999 bis 2007 in der Altersgruppe der 0- bis 14-jährigen Kinder eine deutliche Neuerkrankungsrate verzeichnet werden konnte und

dass die Inzidenzzunahme insbesondere bei Kleinkindern im Alter von eins bis fünf Jahre am stärksten ausgeprägt ist. ^[11]

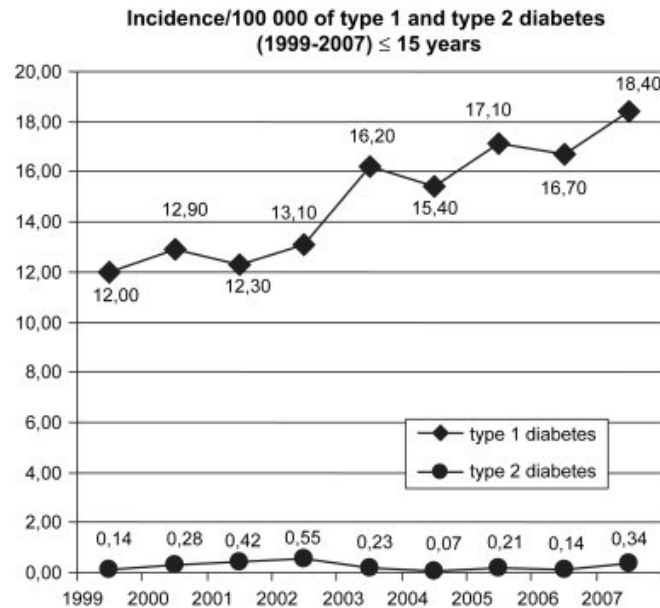


Abbildung 2: Inzidenz des Typ 1 und Typ 2 Diabetes mellitus in der Altersgruppe der 0- bis 14-jährigen Kinder in Österreich. ^[11]

1.4.3 Prognose

Die EURODIAB Study Group hat für die T1D Inzidenz eine Hochrechnung bis 2020 erstellt. Demnach werden bis zum Jahr 2020 24.400 neue T1D Diagnosen erwartet. Im Jahr 2005 lag die geschätzte Neuerkrankungsrate bei 15.000 Fällen. In der Gruppe der Kinder unter fünf Jahren rechnet man sogar von einer Inzidenzverdoppelung mit einer Verteilung von 29% innerhalb der Altersgruppe von null bis vier Jahren, 37% im Alter von fünf bis neun Jahren sowie 34% im Alter von zehn bis vierzehn Jahren. ^[9]

1.5 Ätiopathogenese des T1D

Nach der ‚Juvenile Diabetes Research Foundation‘ (JDRF), der ‚Endocrine Society‘ und der ADA wird die Ätiopathogenese des T1D in drei Phasen unterteilt, die in der Abbildung 3 dargestellt werden. ^[12]

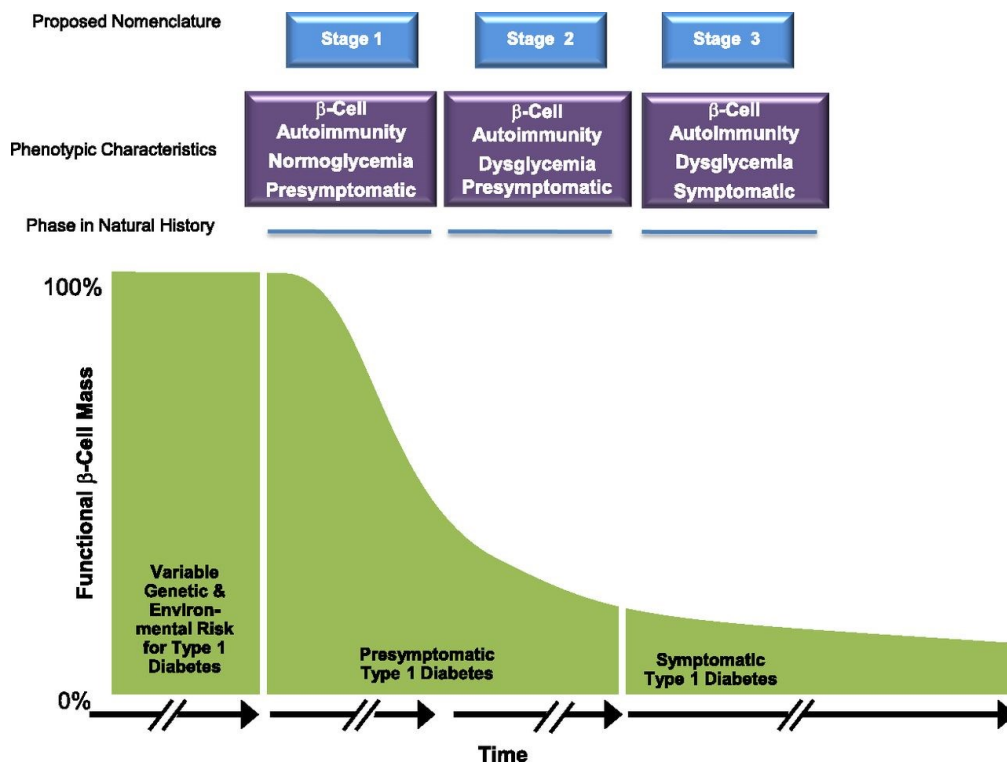


Abbildung 3: Stadieneinteilung des T1D. ^[12]

Das klinische Vollbild des T1D ist durch einen absoluten Insulinmangel charakterisiert und resultiert aus einer autoimmunbedingten Zerstörung der β-Zellen des Pankreas. Klinisch manifestiert sich die Erkrankung, wenn circa 80% der β-Zellen zerstört wurden. ^{[1][2]}

Bei der Entwicklung des T1D spielen in noch nicht vollständig geklärter Weise Genetik, autoimmunologische Faktoren sowie Umweltfaktoren eine Rolle. ^[13]

1.5.1 Genetik

Es sind über 50 prädisponierende Genloki identifiziert, die mit der Entwicklung des T1D assoziiert werden. Das HLA-System, welches auf dem Chromosom 6p21.3 lokalisiert ist, bedingt mit circa 50% das höchste genetische Risiko. ^[13] Die Proteine des HLA-Systems werden auch als MHC-Proteine bezeichnet und werden bezüglich der regulierenden Immunantwort in zwei Klassen unterteilt. ^[14]

- **MHC-Klasse-I-Proteine (HLA-A, HLA-B, HLA-C)**

Diese Proteine kontrollieren die Antigenpräsentation von Makrophagen an zytotoxischen Lymphozyten. Die HLA-B8 und HLA-B15 Genotypen sind mit einem erhöhten T1D Risiko assoziiert. ^{[13][15]}

- **MHC-Klasse-II-Proteine (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP)**

Diese Proteine werden von B-Lymphozyten und Phagozyten exprimiert und regulieren die Präsentation von Antigenen gegenüber den T-Helferzellen, welche in weiterer Folge eine Immunantwort auslösen.

Die HLA-DRB1, HLA-DQB1/DQA1 sowie das HLA-DR3 und HLA-DR4 weisen ein erhöhtes T1D Risiko auf. ^{[13][16]}

- **Protektive HLA-Regionen**

Der HLA-DR2 Haplotyp, welcher für DRB1*15:01, DQA1*01:02 sowie für DQB1*06:02 codiert, zeigt einen Schutzmechanismus in der Entwicklung eines T1D. Allerdings ist noch nicht genau geklärt, in welchem Stadium der HLA-DR2 Haplotyp protektiv wirken soll. ^[17]

1.5.2 Umwelteinflüsse

Neben der genetischen Prädisposition müssen Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle in der Entwicklung des T1D spielen. Dieser Hypothese liegen vier Beobachtungen zugrunde:

- Eineiige Zwillinge weisen eine Konkordanz von 35-50% auf.
- Populationen mit niedriger T1D Inzidenz zeigen nach Umzug in eine Region mit hoher Diabetesinzidenz, dass sich die Neuerkrankungsrate an die der neuen Umgebung adaptiert.
- Weltweit rasch steigende T1D Inzidenz.
- Das T1D Risiko zeigt geographische Unterschiede. [13]

Die Umweltfaktoren können die T1D Entwicklung als Risiko- aber auch als Schutzfaktor beeinflussen. Die Abbildung 4 fasst die Umweltfaktoren, welche mit der Ätiopathogenese des T1D diskutiert werden, zusammen. [18]

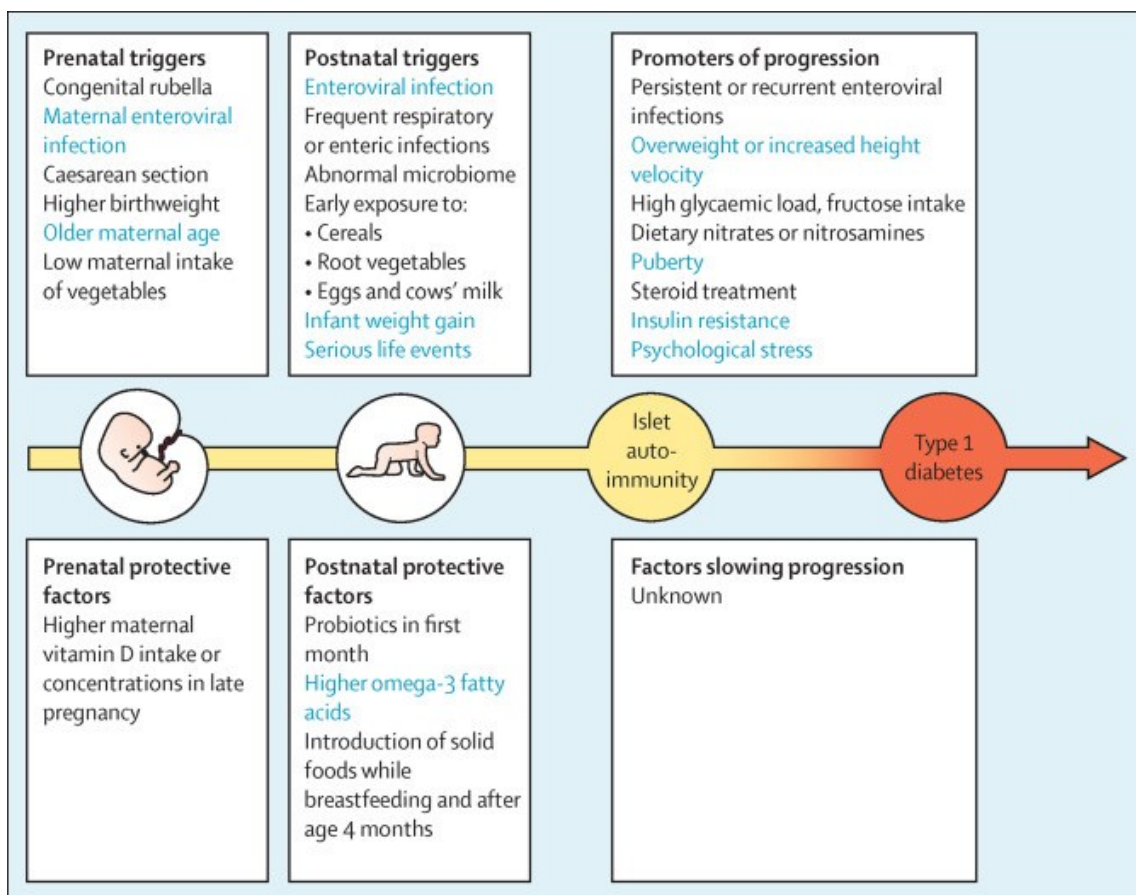


Abbildung 4: Umwelteinfluss in der Ätiopathogenese des T1D. [18]

Mithilfe der TEDDY-Studie wird nun versucht, die genaue Wirkweise der Umweltfaktoren auf die Entstehung des T1D zu analysieren. Die publizierten Daten werden in den Ergebnissen dieser Diplomarbeit vorgestellt sowie hinsichtlich des Einflusses auf die Ätiopathogenese des T1D beurteilt und diskutiert.

2 MATERIAL UND METHODEN

Auf der offiziellen Website der TEDDY-Studie: <http://teddy.epi.usf.edu> werden alle veröffentlichten Publikationen zur Studie laufend registriert. Insgesamt wurden bis November 2016 bereits 61 Papers publiziert.

Im Rahmen der Literaturrecherche wurde einerseits mit Hilfe der auf der Website veröffentlichten Aufzählung die wissenschaftliche Datenbank PubMed nach den Publikationen durchsucht, andererseits wurde mit Hilfe folgender Suchwörter „TEDDY Study“, und „TEDDY Study group“ gesucht. Ergänzend wurden auch die Datenbanken Ovid Technologies und CINAHL zur Literaturrecherche herangezogen.

Für die zugrunde liegenden Ergebnisse wurden nur Englisch verfasste Publikationen berücksichtigt. Insgesamt wurden 50 Papers in dieser Diplomarbeit eingeschlossen. Diese wurden themenspezifisch sortiert und daraus resultierte, dass die Ergebnisse einerseits das Studiendesign und Rekrutierung, inklusive der Ein- und Ausschlusskriterien und dem HLA-Screening der Studienpopulation, sowie auf der anderen Seite die Ätiopathogenese des T1D hinsichtlich Genetik, Infektionen, Darmmikrobiom, Ernährung und der psychosozialen Auswirkungen behandeln. Zudem wird auch die Assoziation zwischen T1D und Zöliakie thematisiert. Das Kapitel Ernährung berücksichtigt neben dem Stillen und der Beikosteneinführung auch den mütterlichen Ernährungsstatus und die Einnahme von Nahrungsergänzungen während der Schwangerschaft.

In den Ergebnissen findet sich einleitend zu jedem Themenbereich eine Tabelle mit den aufgelisteten Papers, auf deren Grundlage die Ergebnisse erfasst wurden.

3 ERGEBNISSE

3.1 Publikationen zum Studiendesign und Rekrutment

Paper	Author	Journal
TEDDY- The Environmental Determinants of Diabetes in the Young: an observational clinical trial.	Hagopian WA, Lernmark A, Rewers MJ, et al.	Annals of the New York Academy of Sciences, 2006.
The environmental determinants of diabetes in the young.	The TEDDY Study Group.	Annals of the New York Academy of Sciences, 2008.
The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study: study design.	The TEDDY Study Group.	Pediatric Diabetes, 2007.
Biomarker discovery study design for type 1 diabetes in The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study.	Lee HS, Burkhardt BR, McLeod W, Smith S, et al.	Diabetes/Metabolism Research and Reviews, 2014.
Methods, Quality Control and Specimen Management in an International Multi-Center Investigation of Type 1 Diabetes: TEDDY.	Vehik K, Fiske SW, Logan CA, Agardh D, et al.	Diabetes/Metabolism Research and Reviews, 2013.
Enrollment experiences in a pediatric longitudinal observational study: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study.	Lernmark B, Johnson SB, Vehik K., et al.	Contemporary clinical trials, 2011.
Effectiveness of an informational video method to improve enrollment and retention of a pediatric cohort.	Gesulaldo P, Ide L, Rewers M, et al.	Contemporary clinical trials, 2012.
Differences in Recruitment and Early Retention Among Ethnic Minority Participants in a Large Pediatric Cohort: The TEDDY Study.	Baxter J, Vehik K, Johnson SB, et al.	Contemporary clinical trials, 2012.

The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study: Predictors of Early Study Withdrawal Among Participants with No Family History of Type 1 Diabetes.	Johnson SB, Lee HS, Baxter J, et al.	Pediatric Diabetes, 2011.
Reasons for staying as a participant in The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) longitudinal study.	Lernmark B, Lynch K , Ballard L, et al.	Journal of Clinical Trials, 2012.
At high risk for early withdrawal: using a cumulative risk model to increase retention in the first year of the TEDDY study.	Johnson SB, Lynch KF, Lee HS, et al.	Journal of Clinical Epidemiology, 2014.
Participant Experiences in the Environmental Determinants of Diabetes in the Young Study: Common Reasons for Withdrawing	Lernmark B, Lynch K, Baxter J, et al.	Journal of Diabetes Research, 2016.
Predicting Later Study Withdrawal in Participants Active in a Longitudinal Birth Cohort Study for 1 Year: The TEDDY Study.	Johnson SB, Lynch KF, Baxter J, et al.	Journal of Pediatric Psychology, 2016
Factors associated with longitudinal food record compliance in a paediatric cohort study.	Yang J, Lynch K, Uusitalo U, et al.	Public Health Nutrition, 2016

Bei der TEDDY-Studie handelt es sich um ein internationales Forschungsprojekt des ‚National Institutes of Health‘, die unter der Studiennummer ‚NCT00279318‘ registriert ist.

Es nehmen drei Kliniken in den USA und drei europäische Kliniken teil. Lokalisiert sind die Zentren in Denver (Colorado), Augusta (Georgia), Seattle (Washington), Turku (Finnland), Malmö (Schweden) und in München (Deutschland).

Das Datenkoordinationszentrum der Studie befindet sich in Tampa, Florida. Die Bestimmung der Autoantikörper erfolgt in den USA im ‚Barbara Davis Center for Childhood Diabetes‘ der Universität in Denver. In Europa werden die Autoantikörper im Universitätsklinikum in Bristol, UK ausgewertet. Das genetische Referenzlabor ist in

Oakland, Kalifornien lokalisiert. Gewebeproben werden im ‚National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases‘ gesammelt. ^[19]

3.1.1 Studienhypothesen

In der Studie setzte man folgende vier Hypothesen voraus:

1.) Die Entwicklung persistierender Autoantikörper steigt mit

- Triggerfaktoren während der Schwangerschaft,
- der Anzahl an Infektionen,
- dem Zeitpunkt der Beikosteinführung, insbesondere von Milch- und Getreideprodukten,
- einem Mangel an 25-Hydroxyvitamin D, Vitamin E und Antioxidantien in der frühen Kindheit,
- einer niedrigen Zinkkonzentration, hohen Nitratkonzentration und einem niedrigen pH-Wert im Trinkwasser,
- dem Kontakt zu Haustieren und verschiedenen Allergenen,
- einer schnellen Gewichtszunahme des Kindes,
- gesteigerten psychischen Stress. ^[20]

2.) Die Kinder der Durchschnittsbevölkerung weisen im Vergleich zu den Kindern mit einer T1D Familienanamnese ein geringeres T1D Risiko auf. ^[20]

3.) Das T1D Risiko steigt durch Interaktion der spezifischen HLA-Risikogene mit verschiedenen Umweltfaktoren. ^[20]

4.) Die T1D Risikowahrnehmung führt zu einem veränderten Verhalten der StudienteilnehmerInnen. ^[20]

3.1.2 Studienendpunkte

Es wurden zwei Studienendpunkte definiert. Der primäre Endpunkt der Studie ist die Entwicklung persistierender Autoantikörper gegen Insulin (IAA), die Glutaminsäure-Decarboxylase (GADA) oder gegen die Thyrosinphosphatase (IA-2A).

Der sekundäre Endpunkt ist in weiterer Folge die Manifestation des klinischen T1D nach den Kriterien der ADA. [20]

3.1.3 Studienpopulation

Die Kohorte setzt sich aus zwei Gruppen zusammen. Die erste Gruppe umfasst Kinder mit einer negativen T1D Familienanamnese und repräsentiert die Durchschnittsbevölkerung. Die zweite Gruppe schließt Kinder mit einer positiven T1D Anamnese innerhalb der erstgradigen Familie ein. Die Rekrutierung für das HLA-Screening erfolgte in Deutschland und Schweden während der Schwangerschaft, in Finnland und den USA wurden die Eltern erst im Rahmen der Geburt über das Screening und die damit eventuell verbundene Teilnahme an der TEDDY-Studie aufgeklärt. [20][21]

Als Richtwert wurde ein Screening von insgesamt 220.800 Neugeborenen innerhalb von vier Jahren, beginnend mit dem 1. September 2004, festgelegt. Die erforderlichen Blutproben für das Screening wurden aus dem Nabelschnurblut oder aus der Ferse der Neugeborenen gewonnen. [20]

3.1.4 Aufnahmekriterien in die TEDDY-Studie

Für eine Aufnahme in die TEDDY-Studie müssen die Kinder aus der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung einen der folgenden HLA-Genotypen aufweisen:

- A HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR3-DQA1* 0501-DQB1*0201
- B HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR4-DQA1*030X-DQB1*0302
- C HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR8-DQA1* 0401-DQB1*0402
- D HLA-DR3-DQA1*0501-DQB1*0201/DR3-DQA1* 0501-DQB1*0201 [20]

Für die Kinder mit einer T1D Familienanamnese gelten neben den vier oben erwähnten HLA-Genotypen zusätzlich folgende Möglichkeiten:

- E HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR4-DQA1* 030X-DQB1*020X
- F HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR1-DQA1* 0101-DQB1*0501
- G HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR13-DQA1* 0102-DQB1*0604
- H HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR4-DQA1* 030X-DQB1*0304
- I HLA-DR4-DQA1*030X-DQB1*0302/DR9-DQA1* 030X-DQB1*0303
- J HLA-DR3-DQA1*0501-DQB1*0201/DR9-DQA1* 030X-DQB1*0303 ^[20]

Wenn ein Neugeborenes auf Basis des HLA-Genotyps für die Studie geeignet ist, muss die Aufnahme in die Studie vor dem vierten Lebensmonat des Kindes erfolgen.

Die Abbildung 5 zeigt die Verteilung von aufgenommenen und ausgeschlossenen Kindern sowie den Anteil an Studienverweigerungen. Die Ergebnisse beziehen sich auf einen Zeitraum vom 1. September 2004 bis einschließlich 31. Mai 2009. Insgesamt wurden in dieser Zeit 351.300 Neugeborene untersucht, davon hätten 16.435 Kinder auf Basis des HLA-Genotyps in die Studie aufgenommen werden können. ^[21]

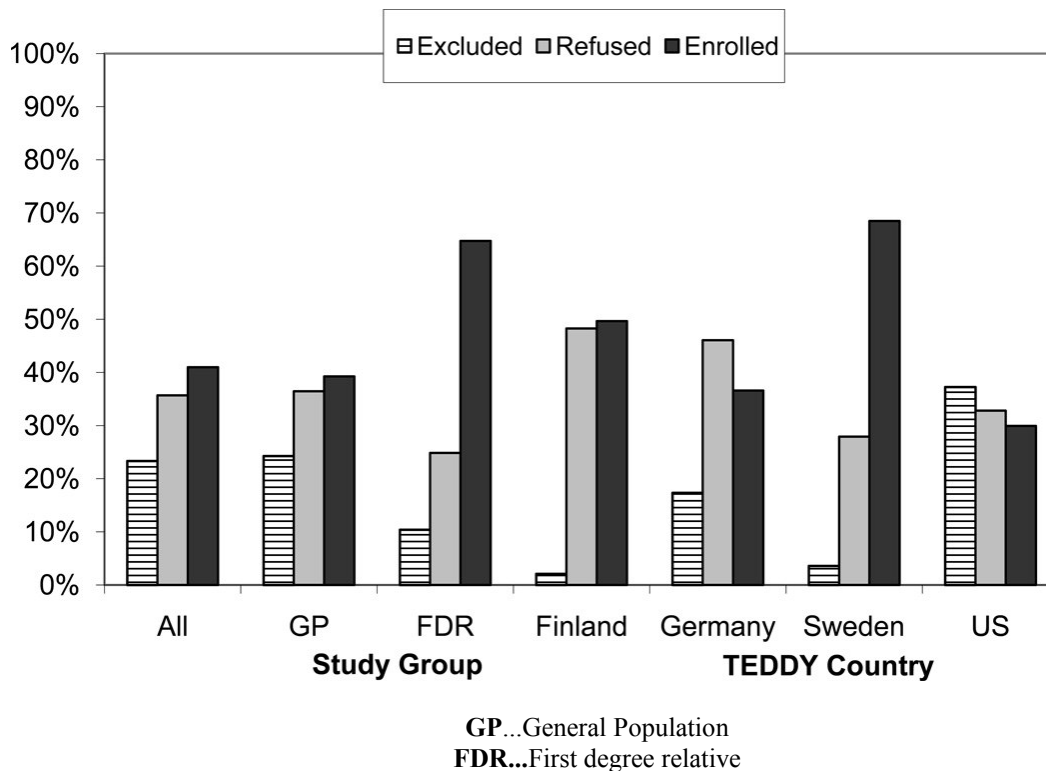


Abbildung 5: Überblick über die Studienaufnahme, Studienausschluss und Studienverweigerung. ^[21]

3.1.5 Ausschlusskriterien der TEDDY-Studie

Der häufigste Grund für einen Ausschluss aus der TEDDY-Studie war das nicht Erreichen der ausgewählten Familien. Dies traf insbesondere auf Kinder der Durchschnittsbevölkerung zu und konnte häufiger bei amerikanischen Familien beobachtet werden. Der zweithäufigste Grund war das bereits zu hohe Alter des Kindes von $\geq 4,5$ Monaten, sowie das Vorliegen einer anderen Erkrankung, da die erforderliche Therapieintervention die Ätiopathogenese des T1D verfälschen könnte. ^[21] Es war auch auffällig, dass in den amerikanischen Studienzentren ethnische Minderheiten häufiger aufgrund der oben genannten Gründe ausgeschlossen wurden. ^[22]

3.1.6 Analyse der Kinder

Die Untersuchung der in die Kohorte aufgenommenen Kinder erfolgt bis zum vierten Lebensjahr alle drei Monate, vom vierten bis maximal 15. Lebensjahr finden die Untersuchungen halbjährlich statt. Jedes Kind führt ein Dokumentationsbuch, in dem

Körpergröße und Gewicht, Ernährung, Medikamente, Impfungen, Krankheiten, inklusive Arztbesuchen und Klinikaufenthalten, aufgezeichnet werden. ^[20] Zusätzlich werden im Rahmen der Studie verschiedene Gewebeproben gesammelt. Dazu zählen:

a.) Venöses Blut

Die Blutproben werden in Plasma, Serum, Erythrozyten, Buffy-Coat und mRNA aufgespalten. Das Plasma, die Erythrozyten, der Buffy-Coat sowie die einkernigen Blutzellen werden auf Entero- und Rotaviren, Infektionserreger, Vitamin D, α - und γ -Tocopherol, Carotinoide, Ascorbinsäure sowie auf die Fettsäurebestandteile der Erythrozytenmembran untersucht. Die mRNA wird auf Genexpressions-, Entzündungs-, Infektions- und Immunmarker sowie auf neue Krankheitsmarker und auf mögliche Umwelttrigger analysiert. ^[20]

b.) Stuhlproben

Bis zu einem Alter von 48 Monaten werden jeden Monat 5g Faeces gesammelt. Nach Erreichen des 48. Monats erfolgt die Auswertung der Stuhlproben halbjährlich. ^[20]

c.) Zehnnagel-Proben

Im Alter von zwei Jahren werden Zehnnagel-Proben gesammelt und auf die Selenkonzentration untersucht. ^[20]

d.) Trinkwasser

In jedem teilnehmenden Haushalt erfolgt im Alter von neun Monaten der Kinder eine Trinkwasseranalyse. Nach Vollendung des dritten Jahres wird diese Analyse alle zwei Jahre wiederholt. ^[20]

e.) Ernährung

Zur Beurteilung der ernährungsspezifischen Einflussfaktoren werden die Dauer der Stillperiode, Säuglingsnahrung, der Einführungszeitpunkt verschiedener Nahrungsmittel innerhalb der ersten zwei Lebensjahre, die Trinkwasserquellen sowie die Einnahme von Nahrungsergänzungen analysiert. ^[20]

3.1.8 Psychosoziale Auswirkung

Die psychosozialen Auswirkungen infolge der Studienteilnahme werden im Alter von 3, 6, 15 und 27 Monaten der Kinder erfasst. Danach erfolgt die psychosoziale Beurteilung einmal pro Jahr. Ab einem Alter von zehn Jahren werden auch die psychosozialen Aspekte von Seiten der teilnehmenden Kinder berücksichtigt. ^[20]

3.1.9 Qualitätskontrolle und Probenmanagement

Die TEDDY Studie ist eine der größten Observationsstudien, die in vier verschiedenen Ländern und an zwölf klinischen Zentren stattfindet sowie eine 15 jährige Beobachtungszeit für die StudienteilnehmerInnen umfasst. Daraus resultieren große logistische Herausforderungen an Probengewinnung, -lagerung beziehungsweise -versand. Vehik K et al. haben die notwendigen Prozesse beschrieben, um die Probengewinnung zu standardisieren und die Qualität und Validität der gewonnenen Daten zu gewährleisten. Das Paper beschreibt das Qualitätsmanagement für akkurates HLA-Screening in allen klinischen Zentren, Harmonisierung der Autoantikörper Assays in den Zentrallabors, Stuhlsammlung, -versand und -lagerung, RNA Qualität, Biomarker-Stabilität, T-Zell Viabilität aus PBMCs und Datenqualität. ^[23] Das Design der TEDDY Biomarker Untersuchungen umfasst Biomarker zur Ernährung, Mikrobiom, virale Metagenomics, Epigenetik und Genexpression, welche in einem „nested case-control“ Design analysiert wurden. ^[24]

3.1.10 Erfahrungen zur Rekrutierung und Studienteilnahme

In der Publikation Lernmark et al. wurden die 16.435 gescreenten Babys mit genetischem Risiko für T1D in drei Gruppen (eingeschlossen, ausgeschlossen und abgelehnt) unterteilt und die Raten zwischen den Ländern verglichen (Abb. 5). Schweden hatte die höchste „Enrollment“-Rate und in den USA wurden die meisten StudienteilnehmerInnen ausgeschlossen. Finnland hatte die höchste Rate jener Eltern, die die Studienteilnahme ablehnten, wobei die häufigsten Gründe in den Blutabnahmen und der Zeitaufwand für die Studienvisiten angegeben wurden. ^{[21][25]}

Im Colorado TEDDY Studienzentrum erfolgte eine Evaluierung, ob ein informatives Video die Studienbeteiligung erhöhen kann. Es zeigte sich eine signifikant höhere „Enrollment“ Rate in der Videogruppe (56,9%). [26]

Innerhalb des ersten Studienjahres gab es die meisten Studienabbrüche (n=1220), wobei die Gründe dafür vor allem der Zeitaufwand sowie die Blutabnahmen waren. [27] Weiters wurden Prädiktoren für einen frühzeitigen Studienabbruch analysiert. Dabei waren das Risiko für einen Studienabbruch zum Beispiel bei jüngeren Müttern und jenen, die in der Schwangerschaft rauchten, erhöht, wohin gegen Mütter mit höherer Ausbildung häufiger die Studie fortsetzten. Basierend auf dieser Analyse erfolgte in TEDDY eine Adaptation des Studienprotokolls, sowie eine Anwendung eines Risiko-Scores. Bei erhöhtem Risiko für einen frühzeitigen Studienabbruch erfolgte ein individueller Betreuungsplan. [25][28][29]

Auch im Rahmen der Analyse von Prädiktoren für einen späteren Studienabbruch bei 432 Kindern, welche in den ersten drei Jahren die Studie abgebrochen hatten, zeigte sich, dass der mütterliche Lebensstil sowie häufige Erkrankungen des Kindes eine Rolle spielten. [30]

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Qualität der Auswertung von Ernährungsfaktoren ist die Compliance, die Ernährungstagebücher vollständig auszufüllen. Im Rahmen von TEDDY wurden im ersten Lebensjahr viermal ein 3-Tage Ernährungstagebuch geführt und danach erfolgte die Aufzeichnung zweimal jährlich. Eine hohe Compliance zeigte sich bei Familien mit nur einem Kind, älteren, gut ausgebildeten Müttern oder wenn der Vater die Fragebögen ausfüllte. Eine geringe Compliance beobachtete man häufiger in ethnischen Minderheiten, in Familien, die weiter entfernt vom Studienzentrum wohnten, in Familien mit vielen Personen in einem Haushalt, sowie bei Müttern mit postpartum Depression und unter rauchenden Müttern. [31]

3.2 Publikationen zur Genetik

Paper	Author	Journal
A High-Throughput Population Screening System for the Estimation of Genetic Risk for Type 1 Diabetes: An Application for the TEDDY (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young) Study.	Kiviniemi M, Hermann R, Nurmi J, et al.	Diabetes Technology & Therapeutics, 2007.
The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY): Genetic Criteria and International Diabetes Risk Screening of 421,000 infants.	Hagopian WA, Erlich H, Lernmark A, et al.	Pediatric Diabetes, 2011.
Country-specific birth weight and length in type 1 diabetes high-risk HLA genotypes in combination with prenatal characteristics.	Sterner Y, Törn C, Lee HS, et al.	Journal of Perinatology, 2011.
Proficiency Testing of Human Leukocyte Antigen-DR and Human Leukocyte Antigen-DQ Genetic Risk Assessment for Type 1 Diabetes Using Dried Blood Spots.	Dantonio P, Meredith-Molloy N, Hagopian WA, et al.	Journal of Diabetes Science and Technology, 2010.

3.2.1 HLA-Screening

Fünf HLA-Screening Labors wurden für TEDDY ausgewählt und diese hatten vier verschiedene Genotypisierungsstrategien. Die Genotypisierungsmethoden mussten mindestens eine 98% Genauigkeit (Accuracy) erreichen. Unter anderem erfolgte das HLA-Screening in TEDDY mithilfe eines circa vierstündigen Typisierungsverfahrens. Grundlage dieses Verfahrens bildete die Polymerasekettenreaktion und die DELFIA-Methode. Dabei zeigte sich auch, dass das „Dried blood spot“ für das HLA-Screening geeignet ist und mit einer 99% Genauigkeit relevante HLA-DR/HLA-DQ Allele identifiziert. ^[32] Alle TEDDY Labors waren in der Lage mit 94,7% relevante HLA-DR/HLA-DQ Allele zu identifizieren und mit 96,4% wurde richtig kategorisiert. ^[33]

Das HLA-Screening erfolgte im September 2004 bis einschließlich Februar 2010. Aus der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung wurden 414.714 Kinder untersucht. Schweden wies mit 7,4% die höchste Rate an teilnehmenden Kindern auf. Der HLA-DR3/4 Genotyp war in der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung mit 39,5% am stärksten vertreten. Die Tabelle 3 fasst die Screeningergebnisse dieser Gruppe zusammen. ^[34]

Clinical Center	Screened N	Eligible N	Eligible %	Percent of Screened GP				Percent of Eligible GP			
				A	B	C	D	A	B	C	D
COL	75213	4170	5.5%	2.0	1.4	1.2	1.0	35.2	24.6	21.3	18.9
GEO	85358	2995	3.5%	1.5	0.6	0.4	0.9	44.2	18.1	11.0	26.7
WAS	113056	4510	4.0%	1.6	0.7	0.6	1.0	41.0	18.0	14.7	26.3
FIN	59754	3370	5.6%	1.9	1.0	1.8	0.9	33.6	17.7	32.7	16.0
GER	34218	1353	4.0%	1.7	0.7	0.4	1.1	43.8	18.8	10.6	26.9
SWE	47115	3508	7.4%	3.2	1.6	1.0	1.7	42.5	21.7	13.6	22.2
TOTAL	414714	19906	4.8%	1.9	1.0	0.9	1.1	39.5	20.0	18.1	22.4

Tabelle 3: Screeningergebnis in der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung. ^[34]

Die Gruppe mit einer T1D Familienanamnese setzt sich neben den klassischen sechs TEDDY-Kliniken aus zwei kleineren Diabetes Centren zusammen. Es wurden zusätzlich 31 Kinder im ‚Naomi Berrie Diabetes Center‘ (NBD) und 25 Kinder in der Kinderklinik in Pittsburgh für die TEDDY-Studie gescreent. Insgesamt wurden in der Gruppe mit positiver T1D Familienanamnese 6.333 Kinder untersucht. Finnland wies mit 31,2% den höchsten Anteil an teilnehmenden Studienkindern auf. Die finnischen Kinder zeigten am häufigsten den HLA-DR4/1 Genotyp. ^[34]

Clinical Center	Screened N	Eligible N	Eligible %	Percent of Eligible FDR								
				A	B	C	D	E	F	G	H	I
COL	945	210	22.2%	29.5	17.1	9.5	15.7	0.5	17.1	6.2	0.5	3.8
GEO	973	186	19.1%	39.2	14.5	4.8	16.7	0.5	15.1	4.3	1.1	3.8
WAS	898	208	23.2%	37.0	16.3	5.8	15.9	1.4	14.9	5.3	1.9	1.4
FIN	924	288	31.2%	20.8	14.2	13.9	5.6	0.0	29.2	5.9	6.9	3.5
GER	1518	297	19.6%	31.6	15.2	6.7	12.8	0.3	22.6	7.1	1.3	2.4
SWE	1019	215	21.1%	33.5	20.5	7.9	11.6	0.5	16.7	7.0	1.4	0.9
NBD*	31	3	9.7%	33.3	33.3	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CHP*	25	8	32.0%	50.0	0.0	12.5	25.0	0.0	12.5	0.0	0.0	0.0
TOTAL	6333	1415	22.2%	31.5	15.6	8.5	12.7	0.5	20.1	6.0	2.4	2.6

NBD...Naomi Berrie Diabetes Center
 CHP...Children's Hospital of Pittsburgh

Tabelle 4: Screeningergebnis in der Gruppe mit T1D Familienanamnese. [34]

Die Publikation von Sterner et al. zeigt, dass sich das Geburtsgewicht der Neugeborenen mit den Hochrisiko HLA-Genotypen nicht unterscheidet und aus diesem Grund sind alle eingeschlossenen Babys in TEDDY vergleichbar bezüglich ihres Geburtsgewichtes. [35]

3.2.2 Publikationen zu Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs)

Paper	Author	Journal
Role of Type 1 Diabetes-Associated SNPs on Risk of Autoantibody Positivity in the TEDDY Study.	Törn C, Hadley D, Lee HS, et al.	Diabetes, 2015.
Complement gene variants in relation to autoantibodies to beta cell specific antigens and type 1 diabetes in the TEDDY Study.	Törn C, Liu X, Hagopian WA, et al.	Scientific Reports, 2016.

Neben dem HLA-System wirken sich auch die Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) auf die Pathogenese des T1D aus. Im Zuge der Studie wurden 5.164 Kinder aus der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung für einen Zeitraum von 57 Monaten hinsichtlich der SNPs untersucht. 328 Kinder entwickelten in diesem Zeitraum persistierende Autoantikörper. Im Rahmen der Serokonversion konnten acht SNPs identifiziert werden.

[36]

Chromosom	SNP	Gen	Minor Allel
1p13.2	rs2476601	PTPN22	A
1q31.2	rs2816316	RGS1	C
4p15.2	rs10517086	unbekannt	A
7p12.1	rs4948088	COBL	A
11p15.5	rs1004446	INS	A
12q13.2	rs2292239	ERBB3	T
12q24.12	rs3184504	SH2B3	T
16p13.13	rs12708716	CLEC16A	G

Tabelle 5: Überblick über die T1D assoziierten SNPs. Modifiziert nach Törn C, Hadley D, Lee HS, et al. [36]

Bei Vorliegen der fünf dick markierten SNPs konnte ein erhöhtes Risiko, die T1D spezifischen Autoantikörper zu entwickeln, nachgewiesen werden. Ein verringertes Autoimmunitätsrisiko wiesen dagegen die drei SNPs im COBL-, INS- beziehungsweise CLEC16A-Gen auf. [36]

Unter den Studienkindern mit dem HLA-DR3/3 Genotyp konnte ein weiteres SNP mit einem erhöhten Autoimmunitätsrisiko assoziiert werden:

Chromosom	SNP	Gen	Minor Allel
17q21.2	rs7221109	CCR7	T

Tabelle 6: T1D assoziiertes SNP bei Kindern mit dem HLA-DR3/3 Genotyp. Modifiziert nach Törn C, Hadley D, Lee HS, et al. [36]

Eine Ausnahme zeigte das SNP in Tabelle 7. Je nach HLA-Genotyp konnte dieses SNP mit einem unterschiedlichen Einfluss auf den Autoimmunitätsstatus assoziiert werden. Unter Kindern mit dem HLA-DR4/8 Genotyp zeigte es ein erhöhtes und unter den HLA-DR3/4-TrägerInnen ein niedrigeres Autoimmunitätsrisiko. [36]

Chromosom	SNP	Gen	Minor Allel
20p13	rs2281808	SIRPG	T

Tabelle 7: Eigenschaft des SNPs "rs2281808". Modifiziert nach Törn C, Hadley D, Lee HS, et al. [36]

Die Auswertung der Daten zeigte zusätzlich, welcher Autoantikörper am ehesten bei Vorliegen eines bestimmten SNPs gebildet wurde. [36]

Mit der Bildung der IAA konnten zwei SNPs in Verbindung gebracht werden:

Chromosom	SNP	Gen	Minor Allel
1p13.2	rs2476601	PTPN22	A
4p15.2	rs10517086	unbekannt	A

Tabelle 8: Einfluss der SNPs auf die Entwicklung der IAA. Modifiziert nach Törn C, Hadley D, Lee HS, et al. [36]

Mit dem erstmaligen Auftreten der Autoantikörper IAA oder GADA konnten folgende zwei SNPs assoziiert werden:

Chromosom	SNP	Gen	Minor Allel
12q13.2	rs2292239	ERBB3	T
12q24.12	rs3184504	SH2B3	T

Tabelle 9: Einfluss der SNPs auf die Bildung der IAA und GADA. Modifiziert nach Törn C, Hadley D, Lee HS, et al. [36]

In einer weiteren Publikation war das Ziel festzustellen, ob SNPs innerhalb von den Komplementfaktoren mit Autoimmunität, T1D oder beidem bei TEDDY Kindern assoziiert werden können. Dabei zeigte sich, dass nach Bonferroni Korrektur keiner der 15 SNPs innerhalb des Komplementsystems mit T1D assoziiert ist. Drei SNPs innerhalb von „integrin alpha M“ (ITGAM) waren nominell assoziiert mit IA (Abb.6). [37]

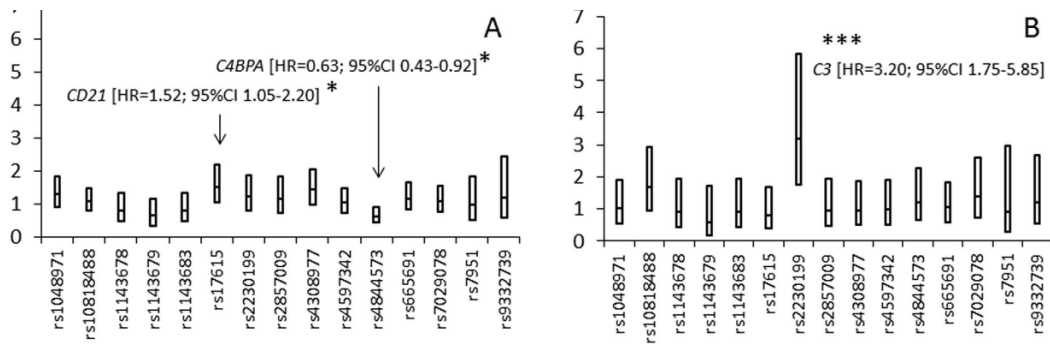


Abbildung 6: 15 SNPs von Genen des Komplementsystems wurden in 115 Kindern mit T1D in Vergleich zu den anderen TEDDY Kindern ($n=5359$) untersucht. 3 Hazard Ratios waren anders als 1, jedoch nur die HR in C3 unter DR4/4 Trägern blieb nach Korrektur signifikant; 95%CI und HR (Mitte der Box) ^[37]

Dieser genetische Hintergrund bildet die Basis für die angenommenen Studienhypothesen in TEDDY, welche einleitend im Studiendesign beschrieben wurden. Orientierend an diesen Studienhypothesen werden die publizierten Ergebnisse von TEDDY im weiteren Verlauf dieser Diplomarbeit vorgestellt.

3.3 Publikationen zu Infektionen

Paper	Author	Journal
A method for reporting and classifying acute infectious diseases in a prospective study of young children: TEDDY.	Lönnrot M, Lynch K, Larsson H, et al.	BMC pediatrics, 2015.
Next-generation sequencing for viruses in children with rapid-onset type 1 diabetes.	Lee HS, Briese T, Winkler C, et al.	Diabetologia, 2013.

In TEDDY differenzierte man zwischen vier möglichen Infektionsarten: respiratorisch, gastrointestinal, andere Infektionen, unbekannt febrile Infektionen. Es wurden bei 3.463 Kindern die Daten hinsichtlich der infektiösen Episoden ausgewertet. ^{[38][39]} Die Verteilung wird in der Abbildung 7 aufgezeigt.

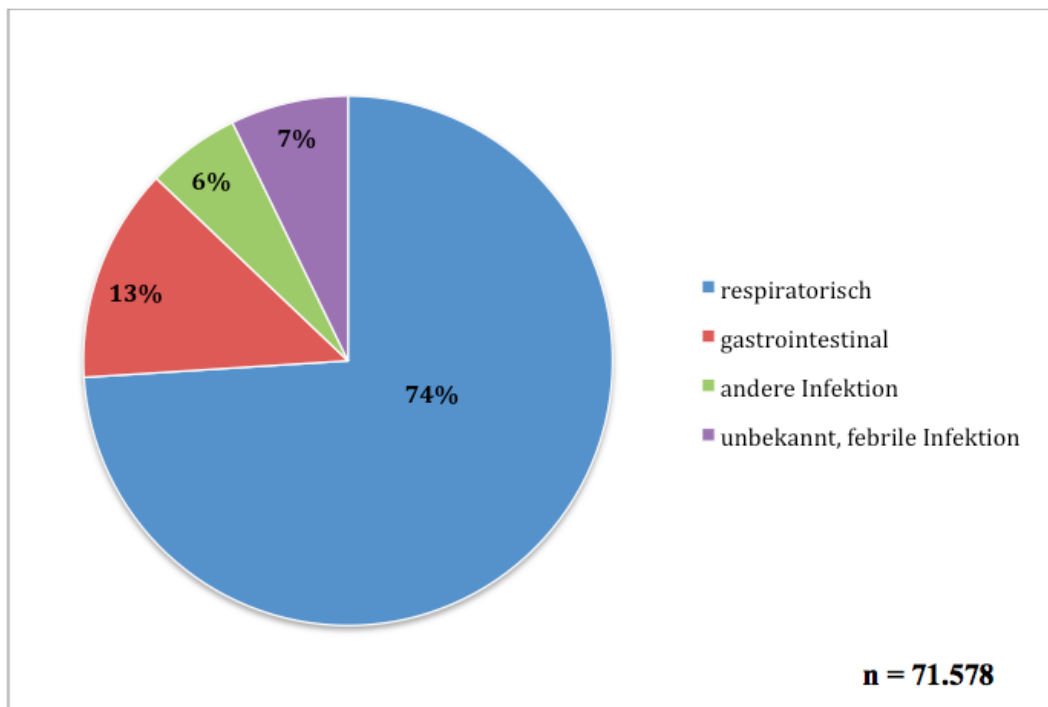


Abbildung 7: Übersicht über die Infektionsepisoden in TEDDY. Modifiziert nach Lönnrot M, Lynch K, Larsson H, et al. ^[38]

In der Pathogenese des T1D wird angenommen, dass die Autoimmunreaktion im Rahmen einer Virusinfektion ausgelöst wird und dass insbesondere bei Kindern mit einem plötzlichen Erkrankungsbeginn eine höhere Viruslast nachgewiesen werden kann. Unter

dem Begriff ‚plötzlicher Erkrankungsbeginn‘ definierte man in TEDDY alle Kinder, die ab dem Zeitpunkt der Serokonversion innerhalb von sechs Monaten in einen manifesten T1D übergehen. Nach dieser Definition wiesen 24 Kinder einen plötzlichen Erkrankungsbeginn auf und wurden zu zwei verschiedenen Zeitpunkten auf Infektionen und Fieber abgeklärt. Der erste Zeitpunkt entsprach der letzten Autoantikörper-negativen Plasmaprobe und der zweite Zeitpunkt entsprach der Serokonversion. [39]

14 Kinder mit einer raschen T1D Progression zeigten zu beiden Zeitpunkten eine positive Probe mit viralem Erbgut. Für diese 14 Kinder wurde zur weiteren Auswertung jeweils eine Kontrollperson zugeteilt und bei vier Kindern konnte ein Virus nachgewiesen werden. Eines dieser vier Kinder zählte in die Gruppe mit rascher T1D Progression und zeigte zum Zeitpunkt der letzten negativen Autoantikörper Plasmaprobe einen humanen Rhinovirus C aus der Gruppe der Picornaviridae. Bei den anderen drei Kindern konnte das humane Parvovirus B19, das humane Herpesvirus 6 sowie das GB-Virus C nachgewiesen werden. [39]

Bezüglich der febrilen Episoden ergab die Datenauswertung, dass bei Kindern mit einem plötzlichen Erkrankungsbeginn Fieberepisoden seltener beschrieben wurden im Vergleich zu Kindern ohne rasche T1D Progression. [39]

3.4 Publikationen zum Darmmikrobiom

Paper	Author	Journal
Early Childhood Gut Microbiomes Show Strong Geographic Differences Among Subjects at High Risk for Type 1 Diabetes.	Kemppainen KM, Ardisson AN, Davis-Richardson AG, et al.	Diabetes Care, 2015.
Detection of Lactobacilli in Monthly Mail-in Stool Samples From 3-18 Months Old Infants At Genetic Risk for Type 1 Diabetes.	Salami F, Abels M, Hyöty H, et al.	International Journal of Probiotics and Prebiotics, 2012.

Aus früheren Studien ging hervor, dass eine Dysbiose mit einem erhöhten Risiko verbunden ist, die spezifischen T1D Autoantikörper zu bilden. ^{[40][41][42][43]} Die Zusammensetzung der Darmflora wird durch externe Umweltfaktoren beeinflusst, welche durch TEDDY erstmals analysiert wurden. Es wurden insgesamt 1.129 Stuhlproben ausgewertet. ^[44]

3.4.1 Geographische Einflüsse

Die Analyse ergab, dass die Darmschleimhaut aller Kinder hauptsächlich durch Bacteroides besiedelt ist. Die Kolonisation durch das Bifidobacterium, Veillonella, Faecalibacterium, Streptococcus und Akkermansia unterschied sich je nach Herkunft der Studienkinder. Insbesondere wiesen Kinder aus Deutschland und Georgia ein vielfältigeres Darmmikrobiom auf, charakterisiert durch Veillonella, Bifidobacterium und Clostridium. Die Darmflora der Kinder aus Schweden und Washington State zeichnete sich durch einen hohen Anteil des Bifidobacteriums aus. ^[44]

3.4.2 Lactobacillus

Der Lactobacillus ist ein Bakterium aus der Familie der Lactobacillaceae - es handelt sich um ein Gram-positives, anaerobes und Laktat-produzierendes Bakterium. Lactobacillen kommen im Erwachsenenalter in der natürlichen Darmflora vor. Neugeborene können

Lactobacillen im Rahmen ihrer Entbindung durch Kontakt mit der vaginalen Schleimhaut oral aufnehmen. [45]

Nach der WHO zählen Lactobacillen zu der Gruppe der Probiotika, welche sich im Darm vermehren und sich offenbar positiv auf chronisch entzündliche Darmerkrankungen, T1D, Zöliakie sowie auf die Multiple Sklerose auswirken sollen. T1D und Zöliakie zeigen einen langen asymptomatischen präklinischen Verlauf. In TEDDY ging man davon aus, dass dies unter anderem durch den Einfluss der Lactobacilli begünstigt werden kann. [45]

In der Studie wurden 648 Stuhlproben aus Colorado, 624 aus Finnland sowie 685 Stuhlproben aus Schweden hinsichtlich der Lactobacillen, insbesondere den *Lactobacillus plantarum*, ausgewertet. Dazu wurde aus Stuhlproben die darin enthaltende DNA extrahiert und mittels PCR vervielfältigt. In vier Stuhlproben konnte keine DNA detektiert werden. [45]

Die Konzentration der Lactobacillen variierte zwischen 5 bis 16.800 ng/g Faeces. Die Abbildungen 8 und 9 stellen die Konzentration der nachgewiesenen DNA dar.

Die Auswertung zeigte, dass die Stuhlproben der finnischen Kinder in den Wintermonaten Januar, Februar sowie September bis einschließlich Dezember einen höheren DNA-Gehalt aufwiesen als in den Sommermonaten. Bezüglich des DNA-Gehalts des *Lactobacillus plantarum* ergab die Auswertung, dass die Konzentration zwischen 0,5 ng/g und 1000 ng/g Faeces variierte und dass in den Stuhlproben der schwedischen Kinder der höchste DNA-Gehalt nachgewiesen werden konnte. [45]

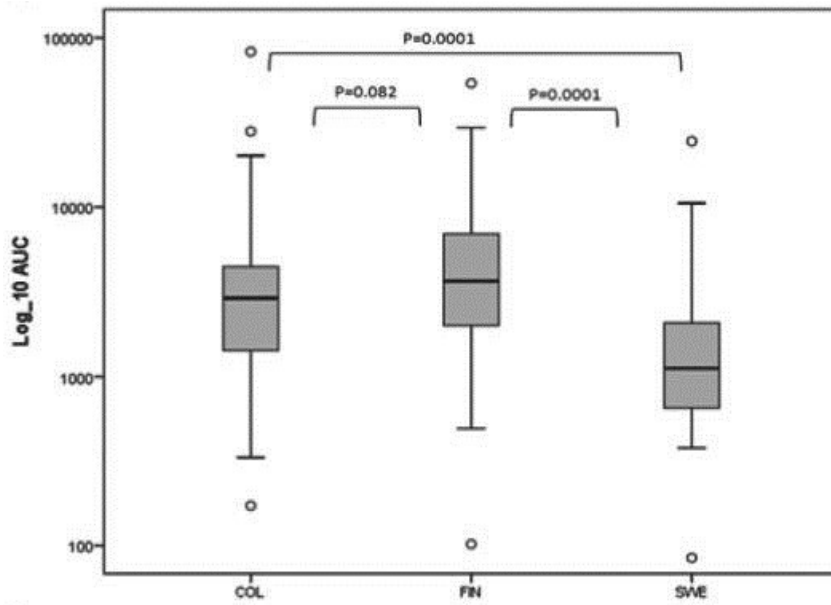


Abbildung 8: Vergleich des DNA-Gehalts in ng/g Faeces aus insgesamt 50 Stuhlproben aus Colorado, Finnland und Schweden im Alter der Kinder von 3 bis 18 Monaten. ^[45]

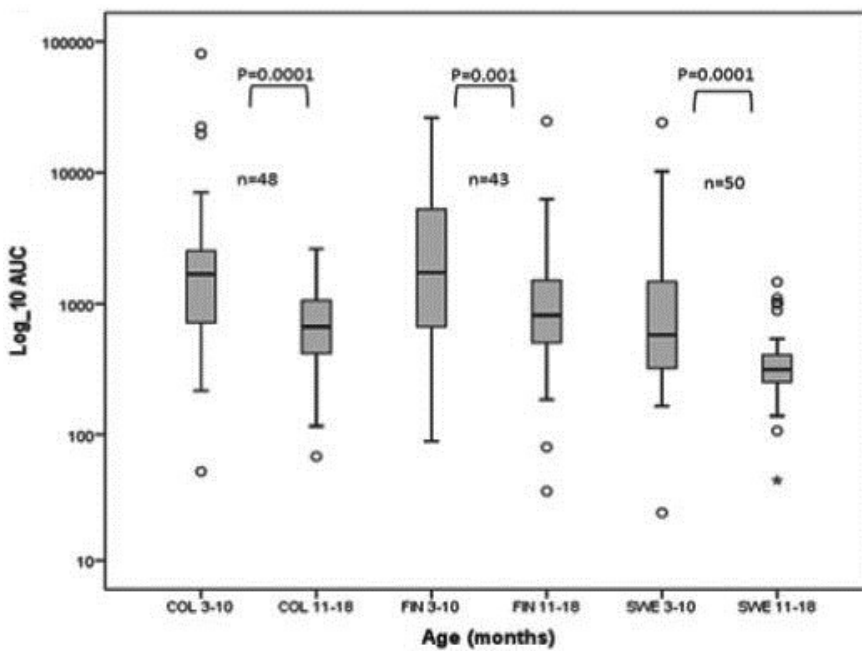


Abbildung 9: Vergleich des DNA-Gehalts unter den 3-10 und 11-18 Monate alten Kinder. ^[45]

3.5 Publikationen zur Ernährung

Paper	Author	Journal
Trans-Atlantic Data Harmonization in the Classification of Medicines and Dietary Supplements: A Challenge for Epidemiologic Study and Clinical Research.	Moyers S, Richesson R and Krischer J.	International Journal of Medical Informatics, 2008.
Food Composition Database Harmonization for Between Country Comparisons of Nutrient Data in the TEDDY Study.	Uusitalo U, Kronberg-Kippilä C, Aronsson CA, et al.	Journal of Food Composition and Analysis, 2011.
Age at first introduction to complementary foods is associated with sociodemographic factors in children with increased genetic risk of developing Type 1 Diabetes.	Aronsson CA, Uusitalo U, Vehik K, et al.	Maternal & Child Nutrition, 2013.
Infant feeding patterns in families with a diabetes history - observations from The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) birth cohort study.	Hummel S, Vehik K, Uusitalo U, et al.	Public Health Nutrition, 2014.
Use of dietary supplements in pregnant women in relation to sociodemographic factors – a report from The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study.	Aronsson CA, Vehik K, Yang J, et al.	Public Health Nutrition, 2013.
Dietary intake of soluble fiber and risk of islet autoimmunity by 5 y of age: results from the TEDDY study.	Beyerlein A, Liu X, Uusitalo U, et al.	The American Journal of Clinical Nutrition, 2015.
Association of Early Exposure of Probiotics and Islet Autoimmunity in the TEDDY Study.	Uusitalo U, Liu X, Yang J, et al.	JAMA Pediatrics, 2016.

Die TEDDY Studie untersucht den Einfluss der Ernährung auf die Inselzellautoimmunität. Um einen systematischen Vergleich (Definition, Einheiten, Messmethode von Energiegehalt, Protein, Fett, Kohlenhydrate, Cholesterin, Ballaststoffen, 13 Vitaminen und 8 Mineralstoffen) zu ermöglichen, mussten die nationalen Datenbanken (FINELI in

Finland, LEBTAB in Deutschland, NFA Food Composition Database in Schweden und NCC Food and Nutrient Database in den USA) angepasst werden. Stärke und Folsäure sind beispielsweise nicht vergleichbar zwischen den Ländern. In der Arbeit von Uusitalo et al. wird darauf im Detail eingegangen. ^[46]

In TEDDY wurden Nahrungsergänzungsmittel nach dem ‚Dietary Supplement Health and Education‘ Gesetz definiert. Nach dieser Definition sind Nahrungsergänzungsmittel gesundheitsfördernde Lebensmittel, die Vitamine, Mineralstoffe, Kräuter oder andere botanische und tierische Bestandteile, Aminosäuren, Proteine, Konzentrate und/oder Metaboliten enthalten. Subkutan oder intramuskulär initiierte Substanzen zählten in TEDDY in die Arzneimittelgruppe. ^[47]

Im Mai 2005 wurde für TEDDY eine eigene Datenbank erstellt. Die Grundlage bildet die RxNorm Terminologie. Die Datenbank umfasst über 1.200 Nahrungsergänzungsmittel und 650 verschiedene Arten an Säuglingsnahrung. Die Nahrungsergänzungen werden länderspezifisch aufgeführt, da die Produkte ähnliche Eigennamen aufweisen, sich jedoch im Wirkstoff und der Dosierung unterscheiden können. ^[47]

3.5.1 Beikost

In TEDDY analysierte man bei 6.404 Kindern die Einführung von Kuhmilch, Früchten, Kartoffeln, Wurzelgemüse und Getreideprodukten in die Ernährung. Bei der Auswertung der Kuhmilch wurde das Milchprotein in der Säuglingsnahrung eingeschlossen. Die Getreidegruppe umfasste Reis, Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Buchweizen und Hirse. ^[48]

Der Einführungszeitpunkt wurde in TEDDY nach dem ‚Ernährungskomitee der Europäischen Gesellschaft für pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung‘ in einen frühen und späten Einführungszeitpunkt unterschieden. Wurde ein Lebensmittel vor der 17. Lebenswoche eingeführt, so handelte es sich um einen frühen Einführungszeitpunkt. Nach der 26. Lebenswoche sprach man von einer späten Einführung. ^[48]

Die Ergebnisse hinsichtlich des Zeitpunkts der Beikosteinführung werden in der Tabelle 10 zusammengefasst.

	Insgesamt n = 6404	USA n = 2540	Schweden n = 2005	Finnland n = 1445	Deutschland n = 414
	Median (Q1,Q3)	Median (Q1,Q3)	Median (Q1,Q3)	Median (Q1,Q3)	Median (Q1,Q3)
Alter in Wochen zum Zeitpunkt der Einführung von					
Kuhmilch	3.0 (0.07, 13.0)	1.0 (0.07, 12.0)	4.0 (0.07, 17.4)	4.3 (1.0, 21.7)	6.0 (0.07, 26.1)
Kartoffeln und Wurzelgemüse	19.6 (17.4, 23.8)	23.8 (19.6, 26.1)	17.4 (17.4, 19.6)	17.4 (16.0, 21.7)	23.8 (19.6, 26.1)
Früchte	21.7 (17.4, 26.1)	21.7 (17.4, 26.1)	19.6 (17.4, 21.7)	19.6 (17.4, 23.8)	26.1 (21.7, 29.3)
Getreideprodukte	21.7 (17.4, 23.8)	19.6 (16.0, 23.8)	19.6 (17.4, 21.7)	21.7 (21.7, 26.1)	26.1 (21.7, 30.4)
Gluten	26.1 (21.7, 30.4)	30.4 (26.1, 34.8)	21.7 (17.4, 23.8)	26.1 (23.8, 30.4)	30.4 (26.1, 37.0)

Tabelle 10: Durchschnittliches Alter zum Zeitpunkt der Beikosteneinführung. Modifiziert nach Aronsson CA, Uusitalo U, Vehik K, et al. [48]

Weiters wurde auch der Einfluss von löslichen Ballaststoffen auf die Entwicklung von Autoantikörpern untersucht. Eine Ernährung mit geringem Anteil von Ballaststoffen ist möglicherweise mit einer Dysregulation der Immunantwort im Darm beziehungsweise mit einer veränderten Mikrobiomzusammensetzung verbunden. In einer Auswertung von 17.620 Ernährungstagebüchern von 3.358 Kindern aus den USA und Deutschland zeigte sich jedoch kein Einfluss der Ballaststoffzufuhr auf die Entwicklung einer Inselzellautoimmunität. [49]

3.5.2 Muttermilch

Muttermilch stellt für Neugeborene eine erste natürliche Nahrungsquelle dar. Die WHO empfiehlt eine volle, ausschließliche Stillperiode von sechs Monaten, danach sollen verschiedene Nahrungsmittel die Muttermilch zunehmend ersetzen. ^[50] Die Studie von Victora et al. zeigte, dass die empfohlene Stillzeit von sechs Monaten in der Praxis kaum noch umgesetzt wird. ^[51] Eine kürzere Stillzeit wurde auch mit einem mütterlichen T1D sowie mit einem Gestationsdiabetes assoziiert. ^{[52][53]}

In TEDDY wurde die Auswirkung eines mütterlichen Diabetes auf die Ernährung von 7.026 Kindern beurteilt. 292 Mütter wiesen einen T1D, 404 einen Gestationsdiabetes auf und bei 464 Kinder wurde ein T1D väterlicherseits beziehungsweise bei einem Geschwisterteil dokumentiert. ^[50]

Zur Beurteilung der Stillperiode wurde in TEDDY zwischen einer ausschließlichen und gelegentlichen Stillform unterschieden. Bei der ausschließlichen Form erfolgte die Ernährung hauptsächlich durch Muttermilch, es konnte aber zusätzlich kleine Mengen an Wasser, Tee, oralen Elektrolytlösungen sowie Nahrungsergänzungen umfassen. Bei der gelegentlichen Form erfolgte das Stillen in Kombination mit anderer Säuglingsnahrung. ^[50]

Die nachfolgende Tabelle 11 gibt mithilfe der Hazard Ratio (HR) einen Überblick über den Einfluss eines T1D auf die ausschließliche und gelegentliche Stillperiode.

	Maternaler T1D	Gestationsdiabetes	Vater/Geschwister mit T1D	Negative T1D Anamnese
	HR	HR	HR	HR
Alter bei Beendigung des ausschließlichen Stillens	1.18	1.13	0.82	1.0
Alter bei Beendigung des gelegentlichen Stillens	1.03	1.03	0.92	1.0

Tabelle 11: Dauer der Stillperiode in Abhängigkeit einer T1D Familienanamnese. Modifiziert nach Hummel S, Vehik K, Uusitalo U, et al. ^[50]

Die Tabelle 11 demonstriert, dass die ausschließliche Stillperiode bei Müttern mit einem T1D beziehungsweise Gestationsdiabetes kürzer ist, als im Vergleich zu gesunden Müttern. Kinder mit einem an T1D erkrankten Vater beziehungsweise Geschwisterteil wurden dagegen länger gestillt.

Zusätzlich wurde die Auswirkung eines T1D auf den Einführungszeitpunkt von Kuhmilch und Gluten untersucht. Die Ergebnisse werden in der Tabelle 12 in Form der HR veranschaulicht.

	Maternaler T1D	Gestationsdiabetes	Vater/ Geschwister mit T1D	Negative T1D Anamnese
	HR	HR	HR	HR
Alter zum Zeitpunkt der Kuhmilch-einführung	1.15	1.09	0.83	1.0
Alter zum Zeitpunkt der Gluten-einführung	0.59	0.99	0.66	1.0

Tabelle 12: Zeitpunkt der Beikosteinführung in Abhängigkeit der T1D Familienanamnese. Modifiziert nach Hummel S, Vehik K, Uusitalo U, et al. [50]

Bei einem maternalen T1D beziehungsweise Gestationsdiabetes wurde Kuhmilch früher in die Ernährung integriert als bei Kindern mit negativer T1D Familienanamnese. Bei Kindern mit einem an T1D diagnostizierten Vater oder Geschwisteranteil wurde Kuhmilch zu einem späteren Zeitpunkt eingeführt. Gluten wurde bei Kindern mit einer T1D Familienanamnese später in die Ernährung integriert im Vergleich zu Kindern mit negativer T1D Familienanamnese. [50]

3.5.3 Probiotikaeinnahme bei TEDDY Kindern

Die Einnahme von Probiotika in Form von Nahrungsergänzungsmitteln oder im Rahmen der Säuglingsmilchernährung unterschied sich zwischen den Ländern, wobei in Finnland (52,4%, n=869) und Deutschland (46,8%, n=237) die höchste Einnahme in den ersten zwölf Monaten erfolgte. Eine frühe Probiotikaeinnahme (0-27 Tage) war mit einem geringeren Risiko für Inselzell-Autoimmunität assoziiert (Hazard ratio [HR] 0.66; 95% CI, 0.46-0.94) im Vergleich zu späterer oder keiner Probiotikagabe (Tab. 13). Weiters zeigte die frühzeitige Probiotikagabe bei Kindern mit dem DR3/4 Genotyp eine Risikoreduktion für Inselzellautoimmunität von 60%. [54]

Variable	No. (%) of Infants		HR (95% CI) ^a
	Developed IA (n = 601)	Did Not Develop IA (n = 6872)	
Country			
United States	201 (33.4)	2845 (41.4)	... ^b
Finland	151 (25.1)	1507 (21.9)	...
Germany	46 (7.7)	460 (6.7)	...
Sweden	203 (33.8)	2060 (30.0)	...
Timing of first probiotic exposure, d			
0-27	34 (5.7)	506 (7.4)	0.66 (0.45-0.96)
28-90	41 (6.8)	515 (7.5)	0.85(0.61-1.19)
91-365	57 (9.5)	481 (7.0)	1.16 (0.86-1.57)
After 1 year or no exposure	469 (78.0)	5370 (78.1)	1 [Reference]
FDR with T1DM	126 (21.0)	716 (10.4)	2.30 (1.87-2.84)
High-risk HLA-DR- DR3/4	304 (50.6)	2629 (38.3)	1.76 (1.50-2.07)
Female sex	262 (43.6)	3397 (49.4)	0.79 (0.67-0.94)

Tabelle 13: Erste Probiotikaeinnahme mit der Säuglingsmilch oder als Supplement während des ersten Lebensjahres und das Risiko für die Entwicklung einer Inselzell-Autoimmunität.^[54]

3.5.4 Nahrungsergänzungen während der Schwangerschaft

Die Einnahme von Vitamin D und Omega-3-fettsäurehaltigen Nahrungsergänzungen während der Schwangerschaft wurde in TEDDY drei bis vier Monate postpartal bei 7.326 Müttern retrospektiv analysiert (Abb. 10).^[55]

Vitamin-D-haltige Nahrungsergänzungsmittel wurden von 65% der 7.326 Mütter eingenommen. Die höchste Rate zeigte sich in den USA mit 81%, gefolgt von Finnland mit 71%, Schweden mit 48% und Deutschland mit 33%.^[55]

Omega-3-haltige Nahrungsergänzungen wurden von 16% der 7.326 Mütter eingenommen. Der höchste Verbrauch wurde mit einem Anteil von 32% unter den deutschen Müttern aufgezeichnet, gefolgt von den USA mit 24%. In Finnland und Schweden lag der Verbrauch von Omega 3 Fettsäuren bei unter 10%.^[55]

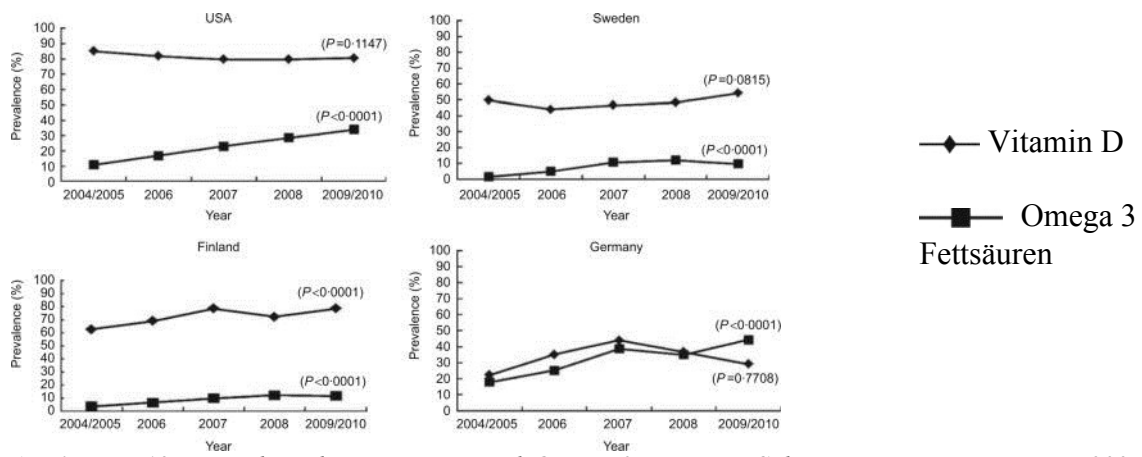


Abbildung 10: Prävalenz der Vitamin D und Omega 3 Fettsäure Substitution im Zeitraum von 2004 bis 2010. [55]

3.6 Publikationen zu Zöliakie

Paper	Author	Journal
Risk of Pediatric Celiac Disease According to HLA Haplotype and Country.	Liu E, Lee HS, Aronsson CA, et al.	The New England Journal of Medicine, 2014.
HLA-DPB1*04:01 Protects Genetically Susceptible Children from Celiac Disease Autoimmunity in the TEDDY Study.	Hadley D, Hagopian W, Liu E, et al.	The American Journal of Gastroenterology, 2015.
Clinical Features of Celiac Disease: A Prospective Birth Cohort.	Agardh D, Lee HS, Kurppa K, et al.	Pediatrics, 2015.
Age at Gluten Introduction and Risk of Celiac Disease.	Aronsson CA, Lee HS, Liu E, et al.	Pediatrics, 2015.
Effects of Gluten Intake on Risk of Celiac Disease: A Case-Control Study on a Swedish Birth Cohort.	Aronsson CA, Lee HS, Koletzko S, et al.	Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2016.
Gluten consumption during late pregnancy and risk of celiac disease in the offspring: the TEDDY birth cohort.	Uusitalo U, Lee HS, Aronsson CA, et al.	The American Journal of Clinical Nutrition, 2015.
Identification of Non-HLA Genes Associated with Celiac Disease and Country-Specific Differences in a Large, International Pediatric Cohort.	Sharma A, Liu X, Hadley D, et al.	PLOS ONE, 2016.

Die T1D Risikogene HLA-DR3-DQ2 und HLA-DR4-DQ8 stellen ebenfalls ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Zöliakie dar. In TEDDY wiesen 6.403 Kinder einen dieser HLA-Genotypen auf und wurden im Rahmen der Studie ab dem zweiten Lebensjahr jährlich auf Gewebstransglutaminase 2, ein Autoantigen der Zöliakie, untersucht. [56]

Als primäres Ziel dieser Untersuchung wurde die Entwicklung persistierender Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase 2, welche in zwei aufeinanderfolgenden Tests innerhalb von drei Monaten nachgewiesen werden konnten, definiert. Eine Probe wurde bei einem Antikörperriveau ≥ 1.3 U/ml Blut positiv gewertet. [56]

Unter dem sekundären Ziel definierte man die Entwicklung einer Zöliakie nach den Marsh-Kriterien von zwei beziehungsweise drei, die in Tabelle 14 veranschaulicht werden. Zusätzlich berücksichtigte man diejenigen Kinder, bei denen keine Duodenalbiopsie entnommen wurde, die aber in zwei aufeinanderfolgenden Kontrollen einen hohen Antikörperspiegel von ≥ 100 U/ml Blut aufzeigten. ^[56]

Marsh 1	Marsh 2	Marsh 3
>25 IEL/100 Enterozyten ohne Kryptenhyperplasie	>25 IEL/100 Enterozyten mit Kryptenhyperplasie	a) partielle b) subtotale c) totale Zottenatrophie mit Kryptenhyperplasie und IEL > 40/100 Enterozyten

Tabelle 14: Histologische Klassifikation der Zöliakie nach Marsh; IEL = intraepitheliale Lymphozyten. ^[57]

Die für die Zöliakie charakteristischen, aber nicht pathognomonischen histopathologischen Veränderungen beschrieb Marsh folgendermaßen: „Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue').“ ^[58] Marsh differenzierte die Entwicklung der Zöliakie in drei Stadien. Im ersten Stadium erfolgt eine intraepitheliale Vermehrung von Lymphozyten, die in weiterer Folge die intestinale Lamina propria infiltrieren. Daraus resultiert eine Kryptenhyperplasie (Stadium 2) gefolgt von einer Zottenatrophie (Stadium 3). ^{[57][58]}

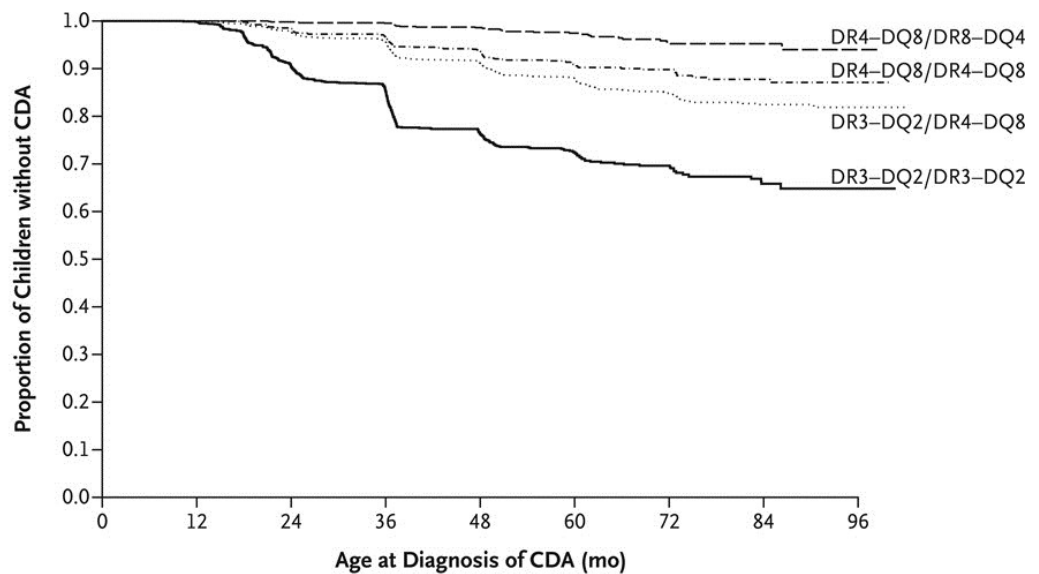
Insgesamt zeigten in TEDDY 1.026 Kinder mindestens einen positiven Gewebs-Transglutaminase-Antikörpernachweis. 786 Kinder hatten persistierende Autoantikörper gegen die Gewebstransglutaminase 2. ^[56]

Die Tabelle 15 zeigt die Verteilung der HLA-Genotypen der 6.403 Kinder in Abhängigkeit der T1D und Zöliakie Familienanamnese, dem Geschlecht sowie nach dem Herkunftsland.

	Insgesamt n (%)	DR3-DQ2/ DR3-DQ2	DR3-DQ2/ DR4-DQ8	DR4-DQ8/ DR4-DQ8	DR4-DQ8/ DR8-DQ4
Gesamtanzahl der Kinder	6403 (100)	1374 (21)	2612 (41)	1303 (20)	1114 (17)
Geschlecht					
Weiblich	3118 (49)	627 (20)	1289 (41)	661 (21)	541 (17)
Männlich	3285 (51)	747 (23)	1323 (40)	642 (20)	573 (17)
Zentrum					
USA	2562 (40)	626 (24)	1064 (42)	533 (21)	339 (13)
Finnland	1461 (23)	227 (16)	516 (35)	245 (17)	473 (32)
Deutschland	344 (5)	81 (25)	163 (47)	68 (20)	32 (9)
Schweden	2036 (32)	440 (22)	869 (43)	457 (22)	270 (13)
T1D Familienanamnese					
positiv	535 (8)	109 (20)	238 (44)	122 (23)	66 (12)
negativ	5868 (92)	1265 (22)	2374 (40)	1181 (20)	1048 (18)
Zöliakie Familienanamnese					
positiv	144 (2)	52 (36)	72 (50)	11 (8)	9 (6)
negativ	6259 (98)	1322 (21)	2540 (41)	1292 (21)	1105 (18)

Tabelle 15: Zöliakie: Verteilung der Studienkinder in Abhängigkeit des HLA-Genotyps, T1D und Zöliakie-Familienanamnese, Geschlecht und Herkunftsland. Modifiziert nach Liu E, Lee HS, Aronsson CA, et al. ^[56]

Die Ergebnisse der Genanalyse hinsichtlich der Bildung persistierender Autoantikörper gegen die Gewebstransglutaminase 2 werden in Abbildung 11 dargestellt.

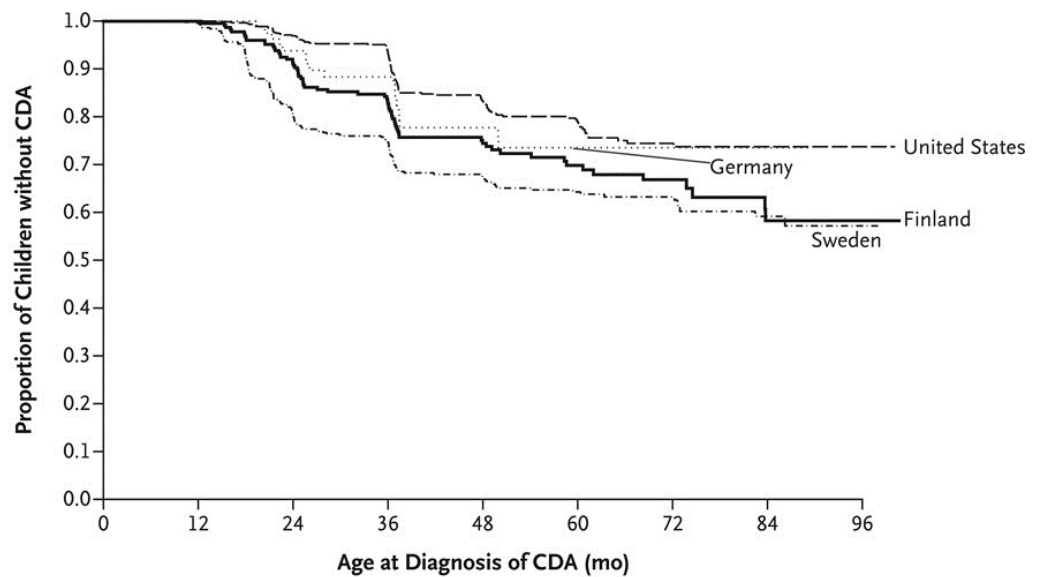


No. at Risk								
DR3-DQ2/DR3-DQ2	1372	1228	1029	704	463	271	115	24
DR3-DQ2/DR4-DQ8	2612	2509	2166	1625	1069	660	313	90
DR4-DQ8/DR4-DQ8	1303	1261	1100	823	574	341	167	52
DR4-DQ8/DR8-DQ4	1114	1096	976	752	490	300	146	42

Abbildung 11: Alter zum Zeitpunkt der Autoimmunität in Abhängigkeit des HLA-Genotyps. ^[56]

Eine Ausnahme bildete der HLA-Genotyp mit dem DPB1*04:01 Allel. Dieser zeigte in der Studie eine indirekte Assoziation in der Entwicklung persistierender Autoantikörper. ^[59]

Des Weiteren ergab die Auswertung, dass es länderspezifische Unterschiede in der Entwicklung persistierender Autoantikörper gibt (Abb. 12).



No. at Risk									
Finland	227	206	163	119	79	57	22	7	
Germany	81	75	61	40	26	14	8	8	
Sweden	438	350	294	206	147	95	49	12	
United States	626	597	511	337	211	105	36	5	

Abbildung 12: Alter zum Zeitpunkt der Autoimmunität in Abhängigkeit des Herkunftslandes. [56]

Bezüglich des Geschlechts ergab die Auswertung, dass weibliche Teilnehmerinnen einem höheren Autoimmunitätsrisiko ausgesetzt sind. [56]

Die Assoziation zwischen T1D und Zöliakie zeigte, dass ein diagnostizierter T1D in der erstgradigen Familie des Kindes keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer Zöliakie sensitiven Autoimmunität aufzeigt. Allerdings entwickelten neun der 786 Kinder mit persistierenden Autoantikörpern gegen Gewebstransglutaminase 2 zusätzlich einen T1D. Fünf von 312 Kindern mit diagnostizierter Zöliakie entwickelten ebenfalls einen T1D. [56]

In einer weiteren Analyse erfolgte die Genotypisierung von 195.806 SNPs in 6.010 TEDDY Kindern, um potentielle genetische Faktoren, welche zu einer frühen Entwicklung von tTGA und Zöliakie führen, zu identifizieren. Dabei wurden 54 SNPs in fünf Genen (TAGAP, IL18R1, RGS21, PLEK, CCR9) welche mit Zöliakie assoziiert sind, gefunden. Sechs weitere SNPs konnten in fünf Regionen, welche bis jetzt noch nicht mit Zöliakie assoziiert wurden, identifiziert werden. Somit sind auch Nicht-HLA Gene in der

Entwicklung von tTGA involviert. In den Daten von schwedischen TEDDY Kindern wurden zwei neue Regionen (Chromosom 8q21 und 10p15) gefunden. ^[60]

3.6.1 Diagnostik und Klinik der Zöliakie

Bei 180 Kindern wurde eine Doudenalbiopsie histologisch ausgewertet. Darunter konnte eine Probe nicht beurteilt werden. Die Auswertung ergab, dass der Antikörperspiegel mit der Schwere der Gewebläsion steigt. ^[61] Die Ergebnisse werden in der Tabelle 16 zusammengefasst.

Anzahl der Duodenalbiopsie n = 179	Marsh-Score	Durchschnittliches Antikörpersniveau in U/ml
24	0 – 1	27,3
8	2	84
43	3a	73,3
64	3b	82,1
40	3c	80,9

Tabelle 16: Histologische Beurteilung von 179 Duodenalproben. Modifiziert nach Agardh D, Lee HS, Kurppa K, et al. ^[61]

Klinisch kann sich die Zöliakie in unterschiedlichen Verlaufsformen manifestieren und stellt somit ein heterogenes Krankheitsbild dar. In der Tabelle 17 wird die Symptomatik mithilfe der Daten von 205 Kindern zwölf Monate vor Bildung der tTGA, zum Zeitpunkt der Serokonversion sowie bei persistierendem Antikörpersniveau zusammengefasst.

Klinik	12 Mo vor Serokonversion n (%)	Serokonversion n (%)	Autoimmune Phase n (%)
Bauchschmerzen	17 (8)	26 (12)	59 (29)
Anämie	1 (0,5)	2 (1)	1 (0,5)
Obstipation	12 (6)	14 (7)	22 (11)
Diarrhoe	12 (6)	6 (3)	23 (11)
Fatigue	4 (2)	3 (1)	8 (4)
Zahnschmelzdefekt	1 (0,5)	3 (1)	5 (2)
Reizdarmsyndrom	4 (2)	8 (4)	15 (7)
Neurologisch	2 (1)	1 (0,5)	1 (0,5)
Wachstumsverzögerung	1 (0,5)	2 (1)	3 (1)
Hautreizung	3 (1)	0 (0)	0 (0)
Emesis	3 (1)	3 (1)	3 (1)
Andere	1 (0,5)	0 (0)	1 (0,5)

Tabelle 17: Klinische Manifestation der Zöliakie. Modifiziert nach Agardh D, Lee HS, Kurppa K, et al. ^[61]

3.6.2 Gluten

In TEDDY wurde der Einfluss von Gluten in Abhängigkeit der Dauer der Stillperiode auf die Entwicklung persistierender Autoantikörper gegen die Gewebstransglutaminase 2 untersucht.

Die Einführung von Gluten erfolgte mit einem durchschnittlichen Alter von 26,1 Wochen (Tab. 18).^[62]

	USA n = 2542 (%)	Finnland n = 1472 (%)	Deutschland n = 380 (%)	Schweden n = 2042 (%)
Alter in Wochen zum Zeitpunkt der Gluteneinführung				
< 17. Wo	98 (4)	47 (3)	18 (5)	233 (11)
17. – 26. Wo	447 (18)	463 (32)	53 (14)	1330 (65)
> 26. Wo	1997 (78)	962 (65)	309 (81)	479 (24)

Tabelle 18: Zeitpunkt der Gluteneinführung in Abhängigkeit des Herkunftslandes. Modifiziert nach Aronsson CA, Lee HS, Liu E, et al.^[62]

Die Datenauswertung zeigte, dass die Gluteneinführung vor der 17. Woche beziehungsweise nach der 26. Woche keinen Einfluss auf die Entwicklung einer Autoimmunität hat (Tab. 19).^[62]

Alter zum Zeitpunkt der Gluteneinführung	Autoimmunität		Zöliakie	
	n (%)	HR	n (%)	HR
< 17. Wo	52 (13)	1,06	13 (3)	0,59
17. – 26. Wo	315 (14)	1	141 (6)	1
> 26. Wo	406 (11)	0,97	153 (4)	0,90

Tabelle 19: Autoimmunes Risiko in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Gluteneinführung. Modifiziert nach Aronsson CA, Lee HS, Liu E, et al.^[62]

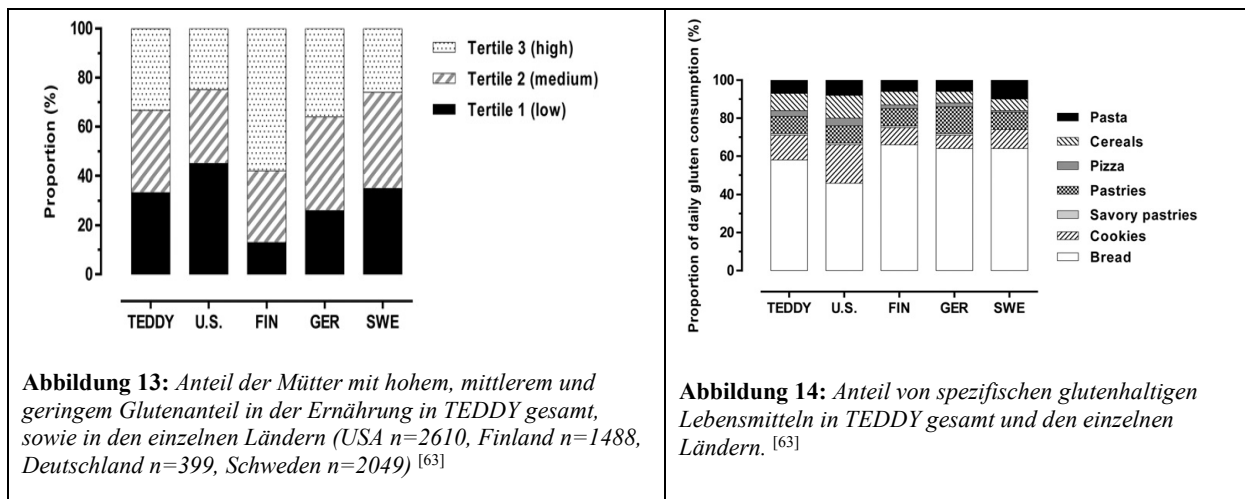
Die durchschnittliche Stillperiode betrug 34,7 Wochen. Bei der Auswertung zeigte sich, dass das Risiko der Serokonversion steigt, je länger die Kinder nach Einführung von Gluten gestillt wurden. Auf die Entwicklung der Zöliakie zeigte die Dauer der Stillperiode keinen Einfluss. Die schwedischen und finnischen Kinder wurden noch über einen Monat nach Einführung von Gluten gestillt und zeigten damit auch die längste Stillperiode im Vergleich zu den USA und Deutschland (Tab. 20).^[62]

Dauer der Stillperiode nach Gluteneinführung	Autoimmunität (n=773)		Zöliakie (n = 307)	
	n (%)	HR	n (%)	HR
Fortsetzung > 1 Mo	474 (13)	1,23	186 (5)	1,13
Fortsetzung < 1 Mo	62 (12)	1,08	25 (5)	1,07
Abbruch mit der Gluteneinführung	231 (10)	1	93 (4)	1

Tabelle 20: Autoimmunes Risiko in Abhängigkeit der Stillperiode. Modifiziert nach Aronsson CA, Lee HS, Liu E, et al. [62]

In TEDDY wurde weiters untersucht, ob Gluten in der Ernährung während des letzten Trimenons in der Schwangerschaft das Risiko für Zöliakie bei den TEDDY Kindern erhöht. Zum Zeitpunkt dieser Analyse hatten 5% (359 von 6546) der Kinder eine Zöliakie entwickelt. Die mediane Häufigkeit täglicher Einnahme von glutenhaltigen Lebensmitteln war höher ($P < 0.0001$) in Finland (5.3; IQR: 3.9–6.9), Deutschland (4.3; IQR: 3.1–5.5), und Schweden (3.7; IQR: 2.8–4.9) als in den USA (3.4; IQR: 2.3–4.9); (Abb.13, Abb. 14).

Im Vergleich zeigte sich jedoch kein Unterschied auf das Risiko für Zöliakie, ob wenig Gluten (HR: 0.87; 95% CI: 0.67, 1.13; $P = 0.296$) oder mehr Gluten (HR: 0.84; 95% CI: 0.65, 1.09; $P = 0.202$) konsumiert wurde. [63]



In einer weiteren Publikation wurde in den schwedischen TEDDY Kindern der Effekt der Gluteneinnahme auf das Risiko für Zöliakie analysiert. Dabei wurde eine 1 zu 3 “nested” Fall-Kontroll Studie von 146 Fällen mit genetischem Risiko für Zöliakie untersucht, was 436 Fall-Kontroll-Paare gematched für Geschlecht, Geburtsjahr und HLA Genotyp ergab. Die Dauer des Stillens (Median 32 Wochen) sowie das Alter bei Gluteneinführung (Median 22 Wochen) war nicht unterschiedlich zu tTGA negativen Kontrollen. Vor der

tTGA Serokonversion wurde eine vermehrte Gluteneinnahme beobachtet (OR, 1.28; 95% confidence interval [CI], 1.13-1.46; P = .0002). In jenem Drittel mit der höchsten Gluteneinnahme (>5g/Tag) war das Risiko für eine Serokonversion deutlich erhöht (OR 2.65; 95% CI, 1.70-4.13; P < .0001).^[64]

3.7 Publikationen zum Körpergewicht

Paper	Author	Journal
Prevalence of Obesity was Related to HLA-DQ in 2–4 Year Old Children at Genetic Risk for Type 1 Diabetes.	Yang J, Lernmark A, Uusitalo U, et al.	International Journal of Obesity, 2014.
Growth and Risk for Islet Autoimmunity and Progression to Type 1 Diabetes in Early Childhood: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young Study.	Larsson H, Vehik K, Haller MJ, et al.	Diabetes, 2016.

In TEDDY untersuchte man bei 5.969 Kindern im Alter zwischen zwei und vier Jahren die Auswirkung der T1D spezifischen HLA-Risikogene auf die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas. [65]

Grundlage für die Gewichtsklassifikation bildet generell der Body Mass Index (BMI). Übergewicht wird als BMI von $\geq 25\text{kg/m}^2$, Adipositas als BMI von $\geq 30\text{kg/m}^2$ definiert. Diese Werte sind für Kinder und Jugendliche nicht geeignet, da sich im Zuge des Heranwachsens das Verhältnis von Gewicht und Größe fortlaufend ändert. [66]

In TEDDY wurde zur Definition von Übergewicht beziehungsweise Adipositas die alters- und geschlechtsspezifischen Perzentilen nach den Kriterien der ‚International Obesity Task Force‘ (IOTF) verwendet. Mithilfe dieser Einteilung definiert man Übergewicht ab der 90. Perzentile sowie Adipositas ab der 97. Perzentile. [66]

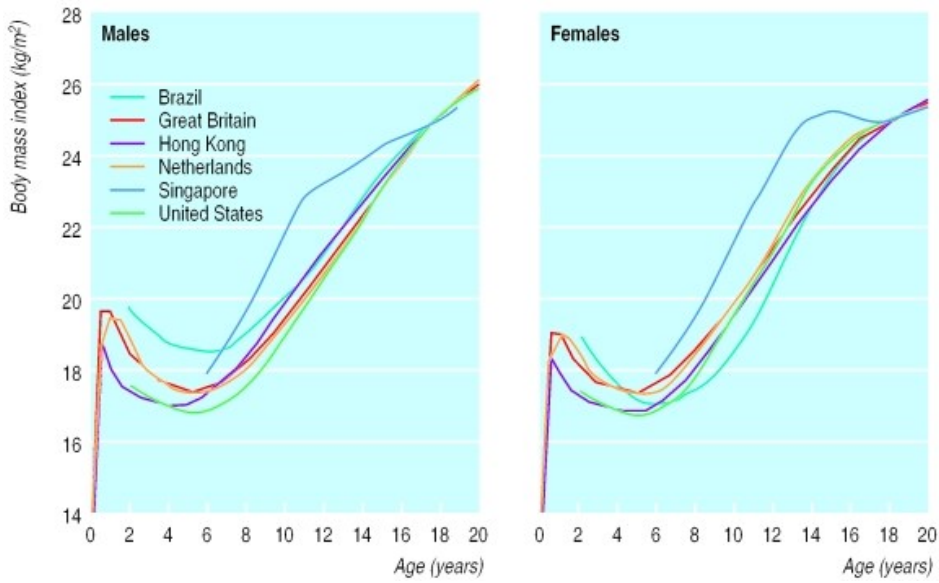


Abbildung 15: BMI-Perzentile für Übergewicht. ^[66]

	♂ Perzentile	♀ Perzentile
Brasilien	95,3	84,8
Großbritannien	90,4	88,3
Hong Kong	88,3	90,2
Niederlande	94,5	93,5
Singapur	89,5	93,0
USA	81,9	83,5

Tabelle 21: BMI-Perzentile für Übergewicht. Modifiziert nach Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, et al. ^[66]

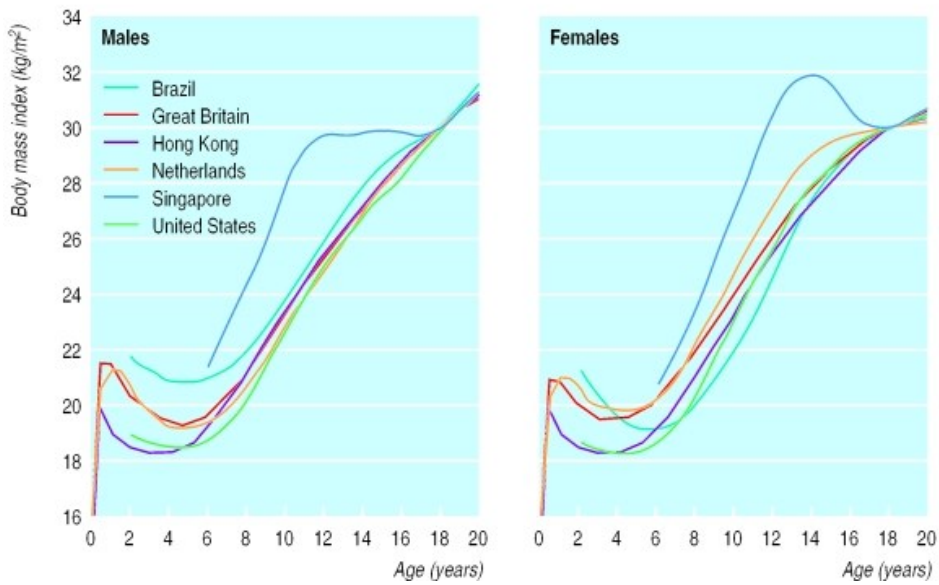


Abbildung 16: BMI-Perzentile für Adipositas. ^[66]

	♂ Perzentile	♀ Perzentile
Brasilien	99,9	98,0
Großbritannien	99,1	98,8
Hong Kong	96,9	98,2
Niederlande	99,7	99,7
Singapur	98,3	99,0
USA	96,7	96,0

Tabelle 22: BMI-Perzentile für Adipositas. Modifiziert nach Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, et al. ^[66]

Anhand dieser Perzentilen ergeben sich für Kinder und Jugendliche folgende abgewandelte BMI-Werte:

Alter in Jahren	Übergewicht		Adipositas	
	♂	♀	♂	♀
2	18,41	18,02	20,09	19,81
2,5	18,13	17,76	19,80	19,55
3	17,89	17,56	19,57	19,36
3,5	17,69	17,40	19,39	19,23
4	17,55	17,28	19,29	19,15
4,5	17,47	17,19	19,26	19,12
5	17,42	17,15	19,30	19,17
5,5	17,45	17,20	19,47	19,34
6	17,55	17,34	19,78	19,65
6,5	17,71	17,53	20,23	20,08
7	17,92	17,75	20,63	20,51
7,5	18,16	18,03	21,09	21,01
8	18,44	18,35	21,60	21,57
8,5	18,76	18,69	22,17	22,18
9	19,10	19,07	22,77	22,81
9,5	19,46	19,45	23,39	23,46
10	19,84	19,86	24,00	24,11
10,5	20,20	20,29	24,57	24,77
11	20,55	20,74	25,10	25,42
11,5	20,89	21,20	25,58	26,05
12	21,22	21,68	26,02	26,67
12,5	21,56	22,14	26,43	27,24
13	21,91	22,58	26,84	27,76
13,5	22,27	22,98	27,25	28,20
14	22,62	23,34	27,63	28,57
14,5	22,96	23,66	27,98	28,87
15	23,29	23,94	28,30	29,11
15,5	23,60	24,17	28,60	29,29
16	23,90	24,37	28,88	29,43
16,5	24,19	24,54	29,14	29,56
17	24,46	24,70	29,41	29,69
17,5	24,73	24,85	29,70	29,84
18	25	25	30	30

Tabelle 23: Adaptierte BMI-Werte nach den IOTF Kriterien für Kinder und Jugendliche. ^[66]

In TEDDY stellte sich heraus, dass sich das Geburtsgewicht der 5.969 Kinder trotz unterschiedlicher HLA-Genotypen nicht signifikant unterscheidet. ^[65]

Im Alter zwischen zwei und vier Jahren zeigte sich hinsichtlich der Prävalenz für Übergewicht nach den IOTF Kriterien die niedrigste Prävalenz mit 10,4% unter den

dreijährigen Kindern mit dem HLA-DQ8/X Genotyp. Die höchste Prävalenz für Übergewicht konnte man mit 13,3% unter den zweieinhalbjährigen Kindern mit dem HLA-DQ2/2 Genotyp nachweisen. [65]

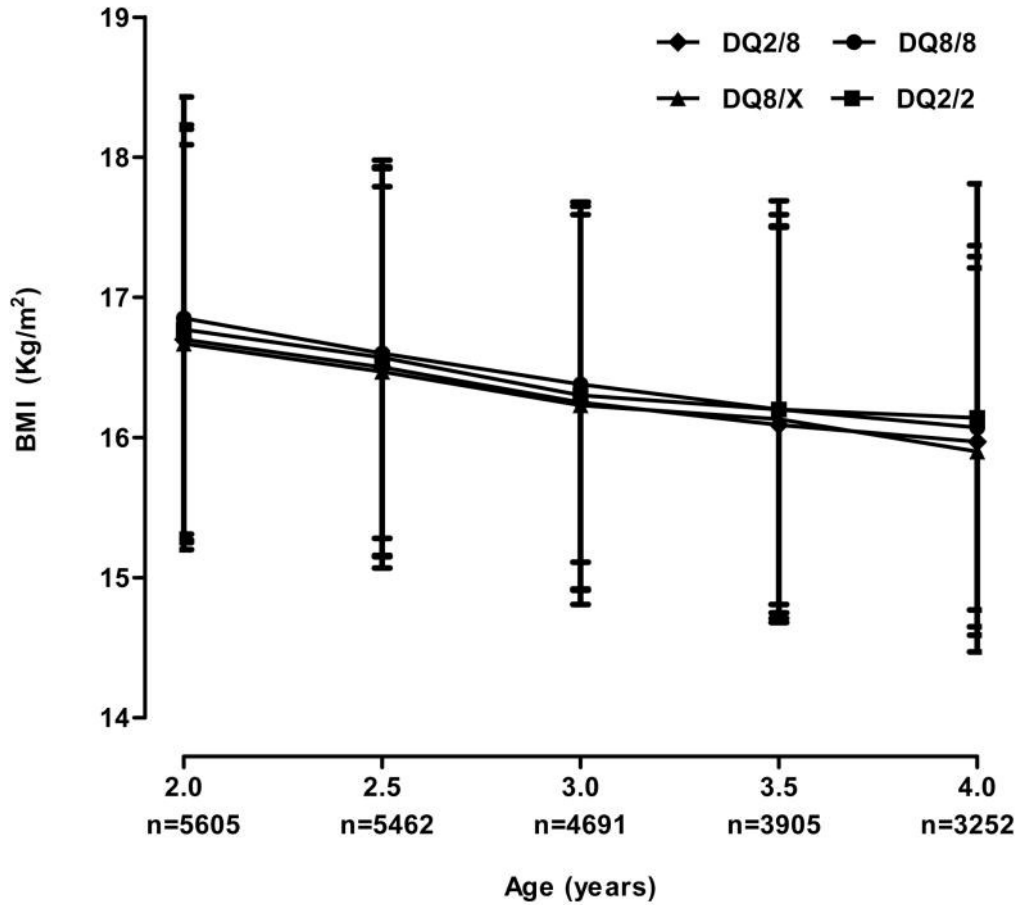
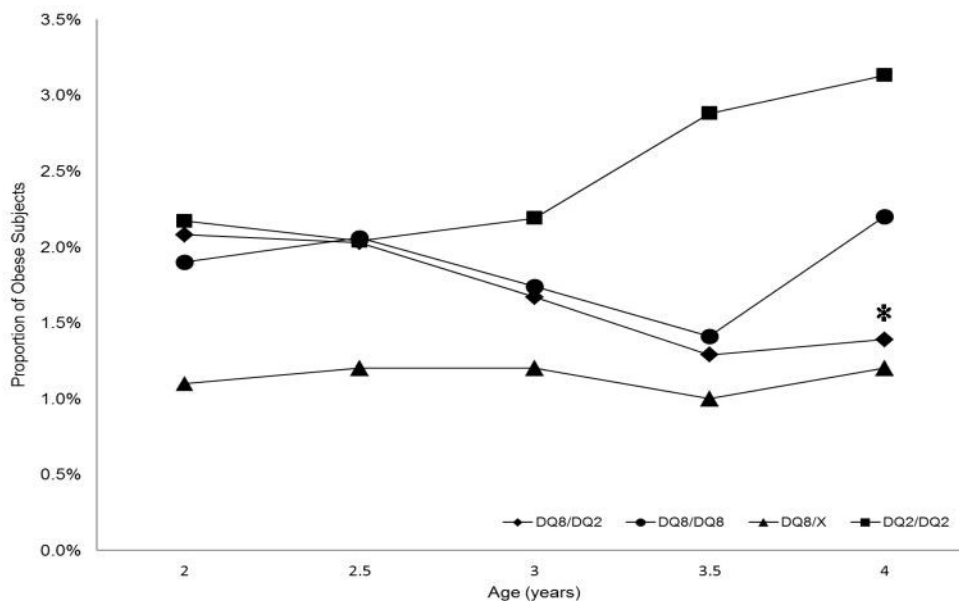


Abbildung 17: Übergewichtsprävalenz in Abhängigkeit des Alters und HLA-Genotyps. [65]

Bezüglich der Adipositasprävalenz zeigte die Auswertung folgende Assoziation zu den HLA-Risikogenen:



DQ2/8 (n)	2213	2165	1857	1547	1291
DQ8/8 (n)	1105	1067	918	782	636
DQ8/X (n)	1136	1100	956	776	655
DQ2/2 (n)	1151	1130	960	800	670
Total (n)	5605	5462	4691	3905	3252

Abbildung 18: Adipositasprävalenz in Abhängigkeit des Alters und HLA-Genotyps. ^[65]

Die Abbildung 18 zeigt, dass Kinder mit dem HLA-DQ2/8 Genotyp in TEDDY einen abfallenden Trend hinsichtlich der Adipositasprävalenz aufwiesen. Kinder mit dem HLA-DQ2/2 Genotyp unterlagen dagegen einem erhöhten Adipositasrisiko. ^[65]

In einer weiteren Publikation wurde die Hypothese getestet, ob ein höheres Gewicht oder Größe in den ersten vier Lebensjahren einen Einfluss auf die Entwicklung von Autoantikörpern beziehungsweise auf die Progression zum T1D hat. Von 7.468 Kindern mit Wachstumsdaten entwickelten 575 (7,7%) persistierende AAK (1 oder mehr), 351 (4,7%) multiple AAK (2 oder mehr) und 169 (2,3%) einen T1D. Das mittlere Alter bei Serokonversion zu persistierenden AAK betrug 31 Monate (SD21), zu multiplen AAK 34 Monate (SD 20) und 45 Monate (SD 23) bei T1D Manifestation. 109 (19%) der Kinder entwickelten AAK vor dem ersten Geburtstag und 265 (46%) vor dem zweiten Geburtstag. Fünf Kinder (3%) manifestierten mit T1D vor dem ersten Geburtstag und 44 Kinder (26%)

vor dem zweiten Geburtstag. In Cox-Regressionsanalysen zeigte sich ein geringer Anstieg des Risikos für persistierende AAK mit größerem Gewicht oder Größe. Nach Adjustierung für Geburtsgröße, HLA-Genotyp, Familienanamnese für T1D, Geschlecht und Herkunftsland hat das Gewicht (z score) mit 12 Monaten eine Vorhersage für AAK (Hazard ratio [HR] 1.16 per 1.14 vs. 1.02 kg for males vs. females, respectively; 95% CI 1.06–1.27; $P < 0.001$; FDR = 0.008). Das Wachstum über Zeit hatte keinen Effekt auf die Zeit zur T1D Manifestation in TEDDY Kindern mit multiplen AAK. ^[67]

3.8 Publikationen zu Psychosozialen Auswirkungen

Paper	Author	Journal
Maternal anxiety about a child's diabetes risk in the TEDDY study: The potential role of life stress, postpartum depression, and risk perception.	Roth R, Lynch K, Lernmark B, et al.	Pediatric Diabetes, 2015.
Factors Associated With Maternal-Reported Actions to Prevent Type 1 Diabetes in the First Year of the TEDDY Study.	Smith L, Lynch K, Baxter J, et al.	Diabetes Care, 2014.
Parental Estimation of Their Child's Increased Type 1 Diabetes Risk During the First 2 Years of Participation in an International Observational Study: Results From the TEDDY study.	Swartling U, Lynch K, Smith L, et al.	Journal of Empirical Research on Human Research Ethics, 2016.

3.8.1 Psychischer Stress

In TEDDY wurde angenommen, dass sich psychische Belastungen ebenfalls auf die Ätiopathogenese des T1D auswirken können. Bei 7.612 Familien wurden im Zuge der Studie negative Lebensereignisse analysiert. Unterteilt wurden diese Erfahrungen in Verlustereignisse und interpersonelle Konflikte (Tab. 24).^[68]

	USA n = 3.072	Finnland n = 1.626	Deutsch- land n = 519	Schweden n = 2.338	Gesamt n = 7.555
≥ 1 kritisches Lebensereignis n (%)	1.268 (42,2)	394 (24,5)	90 (18,2)	702 (30,2)	2.454 (33,0)
Verlustereignis					
a.) Krankheit, Verletzung, Klinikaufenthalt	453 (15,1)	144 (8,9)	36 (7,3)	321 (13,8)	954 (12,8)
b.) Todesfall	150 (5,0)	46 (2,9)	12 (2,4)	106 (4,6)	314 (4,2)
c.) Trennung	148 (4,9)	95 (5,9)	16 (3,2)	78 (3,4)	337 (4,5)
übergreifend (a.+b. oder c.)	690 (23,0)	260 (16,1)	59 (11,9)	448 (19,3)	1457(19,6)
interpersoneller Konflikt					
d.) beruflich	256 (8,5)	29 (1,8)	6 (1,2)	76 (3,3)	367 (4,9)
e.) finanziell	322 (10,7)	51 (3,2)	0 (0)	48 (2,0)	421 (5,7)
f.) rechtlich	229 (7,6)	66 (4,1)	11 (2,2)	145 (6,2)	451 (6,1)
g.) Umzug, veränderte Familienzusammensetzung übergreifend (d.+e.oder f.)	375 (12,5)	68 (4,2)	24 (4,9)	127 (5,5)	594 (8,0)
	885 (29,4)	188 (11,7)	39 (7,9)	341 (14,7)	1453(19,5)

Tabelle 24: Überblick über psychosoziale Belastungen. Modifiziert nach Roth R, Lynch K, Lernmark B, et al. [68]

3.8.2 Präventives Verhalten

Durch die Studienteilnahme neigten manche Eltern zu präventiven Verhaltensänderungen mit der Absicht der Entwicklung des T1D entgegen wirken zu können. In TEDDY analysierte man dieses präventive Verhaltensmuster bei 7.613 Familien im Alter der Kinder von sechs Monaten sowie bei 6.503 Familien der 15 Monate alten Kinder. Unterteilt wurden die Daten in acht verschiedene Maßnahmen, wobei man mehrere Kategorien auswählen konnte (Tab. 25). [69]

Präventive Maßnahmen	6 Monate n (%)	15 Monate n (%)
Keine Verhaltensänderung	5.337 (70,1)	3.720 (57,2)
Verändertes Verhalten gesamt	2.276 (29,9)	2.783 (42,8)
Verändertes Verhalten bezüglich		
• Stillen	486 (6,2)	286 (3,6)
• Ernährung	1.631 (20,9)	2.279 (29,2)
• Nahrungsergänzungen	102 (1,3)	167 (2,2)
• Krankheitsprävention	150 (1,8)	165 (2,1)
• Alternativmedizin	8 (0,1)	15 (0,2)
• körperliche Aktivität	102 (1,3)	349 (4,5)
• Stressreduktion	102 (1,3)	118 (1,5)
• andere	436 (5,5)	493 (6,3)

Tabelle 25: Maßnahmen zur Prävention des T1D. Modifiziert nach Smith L, Lynch K, Baxter J, et al. [69]

Am häufigsten wurde eine Ernährungsumstellung, meist in Form einer Reduktion von Kohlenhydraten und Süßigkeiten, angegeben. ^[69]

Zusätzlich untersuchte man, ob sich Eltern über das erhöhte T1D Risiko ihrer Kinder sorgen und wie sie dieses Risiko einschätzen. Dabei zeigte sich auch, dass Väter, Familien mit geringem Einkommen und mit fehlender T1D Familienanamnese, das Risiko für T1D bei ihrem Kind trotz Information unterschätzten (Tab. 26). ^[70]

	6 Monate n (%)	15 Monate n (%)
Sorge über T1D		
• Nie	1.174 (17,2)	1.163 (28,9)
• Selten	3.737 (27,7)	3.212 (40,5)
• gelegentlich – oft	2.667 (38,6)	1.969 (54,3)
Wahrnehmung T1D Risiko		
• unterschätzt	2.941 (24,3)	2.485 (37,3)
• akkurat	4.644 (33,2)	3.998 (46,0)

Tabelle 26: *Wahrnehmung des T1D Risikos. Modifiziert nach Smith L, Lynch K, Baxter J, et al. ^[69]*

3.9 Publikationen zur Diagnostik des T1D

3.9.1 Diabetesbedingte Ketoacidose

Paper	Author	Journal
Reduced Prevalence of Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes in Young Children Participating in Longitudinal Follow-Up.	Larsson H, Vehik K, Bell R, et al.	Diabetes Care, 2011.

In TEDDY wurde angenommen, dass durch die Teilnahme an der longitudinalen Studie das Auftreten einer diabetischen Ketoacidose (DKA) zum Zeitpunkt der T1D Diagnose reduziert werden kann. Dazu wurden Symptome und Laborparameter von Kindern im Alter von ≤ 5 Jahren, welche in TEDDY zwischen dem 1. Januar 2004 und dem 31. Dezember 2010 mit einem T1D diagnostiziert wurden, mit StudienteilnehmerInnen der SEARCH-Studie sowie mit den Daten der nationalen Register aus Schweden, Finnland und Deutschland verglichen. ^[71]

Es wurde eine enge Definition der DKA bei einem arteriellen pH-Wert von $\leq 7,3$ beziehungsweise bei einem venösen pH-Wert von $\leq 7,25$ oder bei einem standardisierten Bicarbonat von ≤ 15 mmol/L festgelegt. Wenn diese Parameter für den Vergleich nicht verfügbar waren, zählte alternativ für die Diagnose einer DKA das Betahydroxybutyrat mit $\geq 3,0$ mmol/L, eine Ketonkonzentration im Urin mit ≥ 40 mg/dl oder die ärztliche Diagnose. In diesem Fall handelte es sich um eine breiter gefächerte Definition.

Eine schwere DKA lag bei einem arteriellen pH-Wert von $\leq 7,10$ oder bei einem Bicarbonat von ≤ 5 mmol/L vor. ^[71]

Die Auswertung ergab, dass 80 Kinder in TEDDY bis zum 31. Dezember 2010 mit einem T1D diagnostiziert wurden. 40 Kinder wiesen ein Alter von \leq zwei Jahren auf. Insgesamt wiesen 28 Kinder in TEDDY eine DKA zum Zeitpunkt der Diagnosestellung auf. Die Tabelle 27 stellt die Ergebnisse bezüglich der DKA in TEDDY, SEARCH und der nationalen Register dar. ^[71]

	DKA gesamt		Milde DKA		Schwere DKA	
	< 2 Jahre	< 5 Jahre	< 2 Jahre	< 5 Jahre	< 2 Jahre	< 5 Jahre
TEDDY Enge Def.	5/31 16,1%	8/61 13,1%	2/31 6,5%	5/61 8,2%	3/31 9,7%	3/61 4,9%
TEDDY Breite Def.	6/40 15%	9/79 11,3%	3/40 7,5%	6/79 7,6%	3/40 7,5%	3/79 3,8%
SEARCH Breite Def.	29/58 50%	100/275 36,4%	Un- bekannt	Un- bekannt	Un- bekannt	Un- bekannt
Nationale Register						
• Schweden Enge Def.	51/129 39,5%	102/604 16,9%	39/129 30,2%	78/604 12,9%	12/129 9,3%	24/604 4%
• Finnland Breite Def.	82/183 44,8%	138/737 18,7%	64/183 35%	114/737 15,5%	18/183 9,8%	24/737 3,3%
• Deutschland Breite Def.	235/435 54%	583/1.812 32,2%	171/435 39,3%	458/1.812 25,3%	64/435 14,7%	125/1.812 6,9%

Tabelle 27: DKA zum Zeitpunkt der T1D Diagnose. Modifiziert nach Larsson H, Vehik K, Bell R, et al. ^[71]

3.9.2 Serokonversion

Paper	Author	Journal
The 6 year incidence of diabetes-associated autoantibodies in genetically at-risk children: the TEDDY study.	Krischer J., Lynch K, Schatz DA, et al.	Diabetologia, 2015.
Predictors of Progression From the Appearance of Islet Autoantibodies to Early Childhood Diabetes: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY).	Steck A, Vehik K, Bonifacio E, et al.	Diabetes Care, 2015.
Reversion of β -Cell Autoimmunity Changes Risk of Type 1 Diabetes: TEDDY Study.	Vehik K, Lynch K, Schatz DA, et al.	Diabetes Care, 2016.

In TEDDY wurden die Kinder erstmals im Alter von drei Monaten auf die Autoantikörper gegen Insulin (IAA), die Glutamatdecarboxylase (GADA), die Thyrosinphosphatase (IA-2A) sowie gegen den spezifischen Zinktransporter-8 getestet. Bis zum vierten Lebensjahr erfolgte diese Untersuchung alle drei Monate, danach alle sechs Monate. Eine Autoimmunität gegen Inselzellen lag in der Studie vor, wenn Autoantikörper in zwei aufeinanderfolgenden Blutproben bestätigt wurden. ^[72]

Von 8.503 Kindern wurden die Daten hinsichtlich der Serokonversion publiziert. Bei 549 Kindern konnten bis zum 30. April 2014 persistierende Autoantikörper nachgewiesen werden. ^[72] Die Verteilung der Autoantikörper zeigt die Abbildung 19.

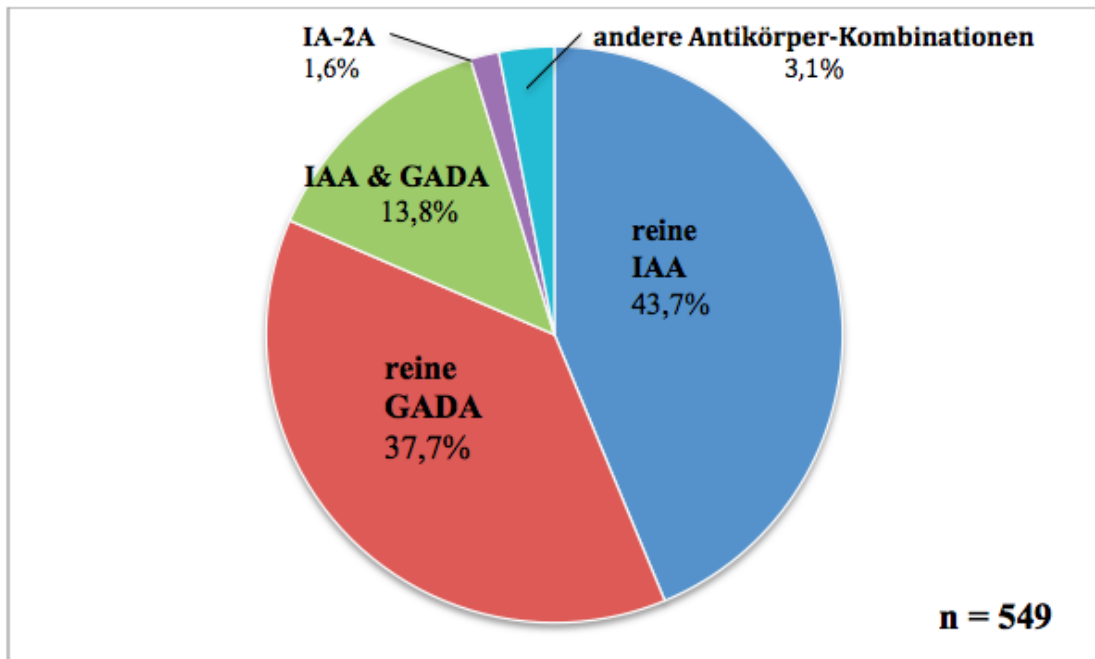


Abbildung 19: Überblick über die entwickelten Autoantikörper. Modifiziert nach Krischer J, Lynch K, Schatz DA., et al. [72]

Die Auswertung ergab, dass sich die verschiedenen Autoantikörper in ihren Inzidenzraten unterscheiden. Die Inzidenzrate der IAA war innerhalb des ersten Lebensjahres am höchsten. Die Inzidenz der GADA erreichte ihren Peak im Alter von zwei Jahren. [72]

Die Gruppe der Durchschnittsbevölkerung zeigte bezüglich aller Autoantikörpergruppen niedrigere Inzidenzraten im Vergleich zu der Gruppe mit einer T1D Familienanamnese. Das Alter der Kinder war zum Zeitpunkt der Serokonversion in beiden Gruppen ähnlich (Abb. 20). [72]

■ IAA • GADA △ IAA & GADA

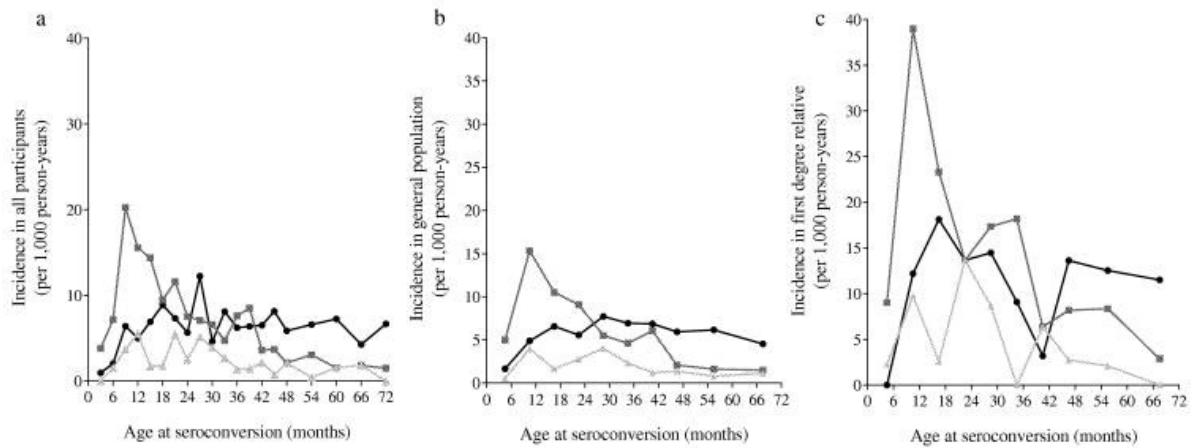


Abbildung 20: Inzidenzrate der T1D spezifischen Autoantikörper. [72]

Bei der Auswertung der Autoantikörper in Bezug auf den HLA-Genotyp zeigten Kinder mit einem HLA-DR3/4- und HLA-DR4/8 Genotyp ein zeitlich unterschiedliches Auftreten der IAA und GADA. Das durchschnittliche Alter betrug zum Zeitpunkt der IAA Serokonversion ≤ 13 Monate. GADA konnten erst ab einem Alter von ≥ 40 Monaten nachgewiesen werden. Bei Kindern mit dem HLA-DR3/3- und HLA-DR4/4 Genotyp konnte das verzögerte Auftreten der GADA nicht nachgewiesen werden. [72]

Ferner bildeten sich GADA insbesondere bei Kindern mit dem HLA-DR3 Genotyp aus. IAA zeigten sich eher bei Kindern mit dem HLA-DR4 Genotyp (Abb. 21). [72]

■ IAA • GADA △ IAA & GADA

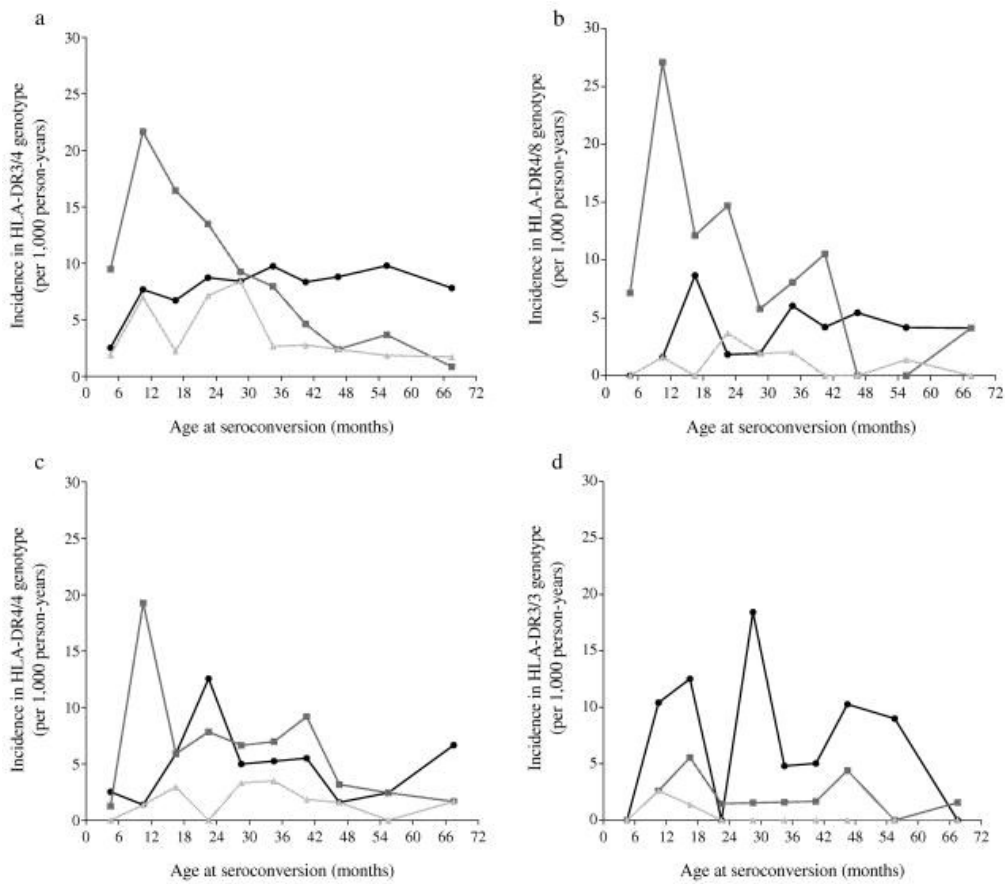


Abbildung 21: Inzidenz der Autoantikörper in Abhängigkeit des HLA-Genotyps. [72]

3.9.2.1 T1D Progression in Abhängigkeit der Autoantikörper

164 Kinder entwickelten innerhalb von fünf Jahren einen T1D. 145 Kinder zeigten dabei multiple Autoantikörper. [73] Die Abbildung 22 fasst die Verteilung der 164 Kinder hinsichtlich der Autoantikörper zusammen.

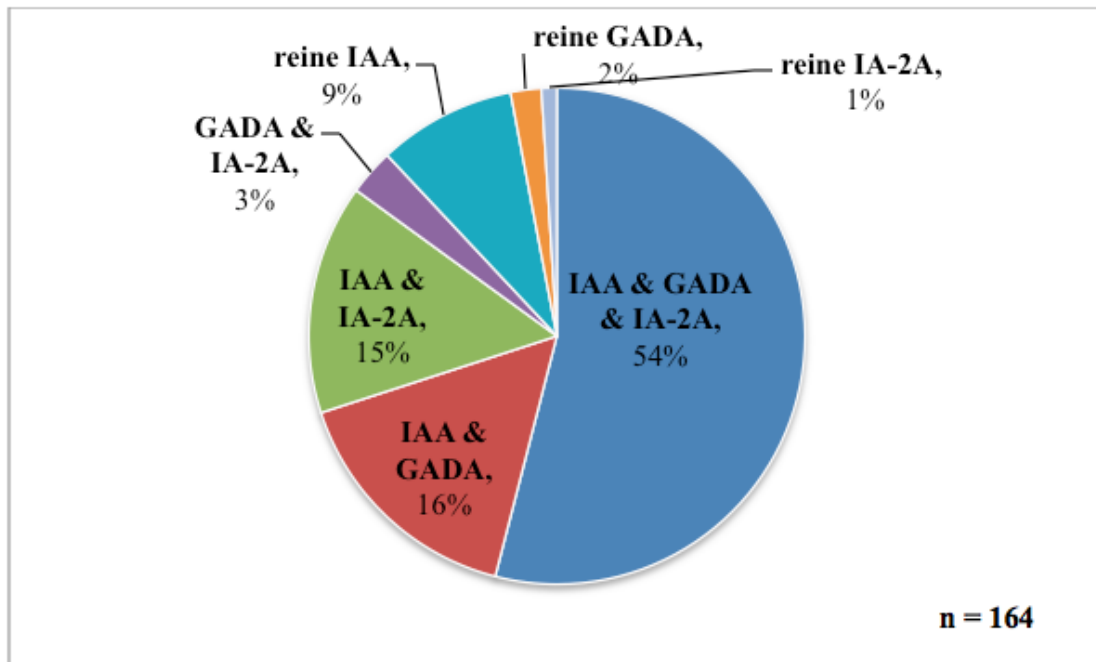


Abbildung 22: Verteilung der Autoantikörper zum Zeitpunkt des manifesten T1D. Modifiziert nach Steck AK, Vehik K, Bonifacio E, et al. [73]

Die Auswertung zeigte, dass die Inzidenz des T1D ab dem Zeitpunkt der Serokonversion innerhalb von fünf Jahren mit der Anzahl der vorliegenden Autoantikörpergruppen kumulativ steigt. Kinder mit einer T1D Familienanamnese wiesen bei einer und zwei nachweisbaren Autoantikörpern ein höheres Risiko auf, einen T1D innerhalb von fünf Jahren zu entwickeln, im Vergleich zu den Kindern aus der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung. Bei Bildung von drei unterschiedlichen Autoantikörpern konnte zwischen den zwei Gruppen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der T1D Progression nachgewiesen werden (Tab. 28). [73]

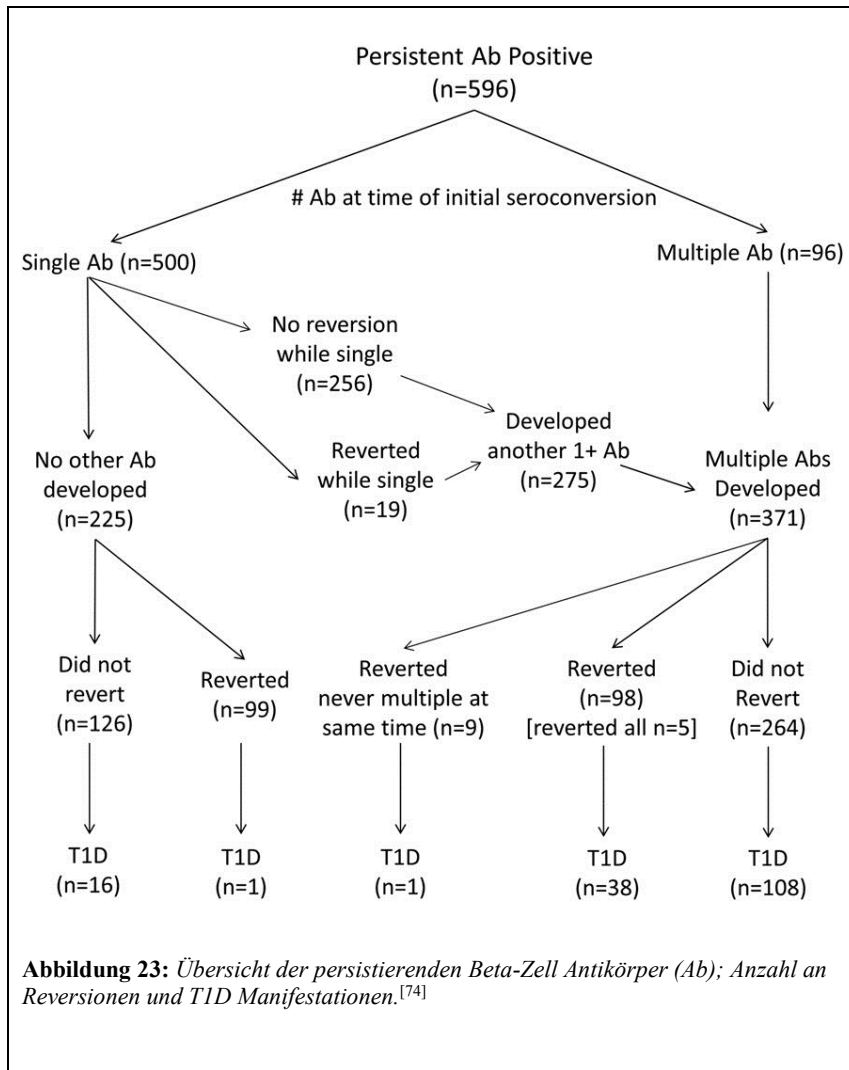
Inzidenz des T1D			
	1 Autoantikörper	2 verschiedene Autoantikörper	3 verschiedene Autoantikörper
T1D Familienanamnese			
negativ	9%	30%	45%
positiv	21%	54%	54%

Tabelle 28: Inzidenzrate des manifesten T1D in Abhängigkeit der T1D Familienanamnese. Modifiziert nach Steck AK, Vehik K, Bonifacio E, et al. [73]

Die HLA-Risikogene zeigten keinen Einfluss auf die T1D Progression, unabhängig von der Anzahl der verschiedenen Autoantikörper. [73]

Es zeigte sich aber ein Unterschied zwischen fluktuierenden und persistierenden Autoantikörpern. Kinder mit persistierenden IAA zeigten ein höheres Risiko für die Entwicklung eines T1D als Kinder mit fluktuierenden IAA. GADA sowie IA-2A zeigten keinen Unterschied in der T1D Progression, unabhängig davon ob es sich um einen persistierenden oder fluktuierenden Autoantikörper-Spiegel handelte. [73]

In einer weiteren Publikation von Vehik K et al. wurde analysiert, wie häufig eine Reversion von AAK auftritt und ob eine Reversion das Risiko für die Entwicklung multipler AAK sowie eines T1D beeinflusst. Reversion war wie folgt definiert: Zwei oder mehrere Visits mit negativen AAK nach persistierenden AAK. Kinder bis zu zehn Jahre wurden gescreent auf IAA, GADA und IA-2A. Die Reversion war häufiger für GADA (19%) und IAA (29%), jedoch vor allem bei jenen Kindern mit einem positiven AAK (24%) und sehr selten (<1%) bei Kindern mit multiplen AAK. In 85% trat die Reversion des AAK innerhalb von zwei Jahren nach Serokonversion auf und war assoziiert mit HLA Genotyp (IAA Reversion vor allem bei HLA-DR3/3-DQ2/2 Genotyp), Alter (vor allem bei GADA) und AAK Titer (vor allem bei IAA). [74]



Kinder mit Revision von einem AAK hatten ein Risiko für T1D von 0.14/100 Personen-Jahre, während Kinder, die keine AAK entwickelten, 0.06/100 Personen-Jahre und Kinder mit positiven AAK 1,8/100 Personen-Jahre. ^[74]

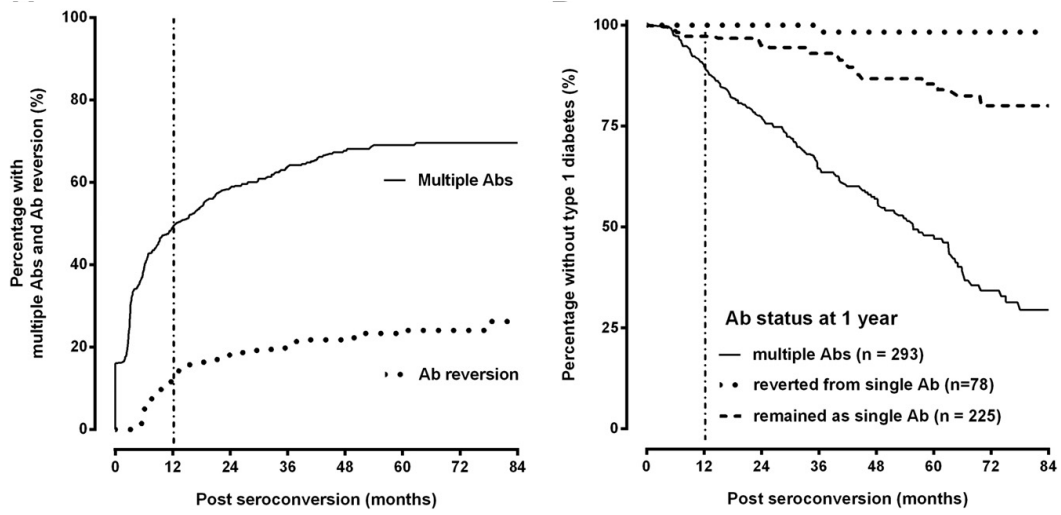


Abbildung 24: Kumulative Inzidenz von multiplen AAK (Ab) nach initialer Serokonversion und AAK – Revision (links). Risiko für Progression zu T1D mit persistierenden AAK und Revision (rechts).^[74]

3.10 Publikationen zu den ersten T1D Diagnosen in TEDDY

Paper	Author	Journal
Accelerated progression from islet autoimmunity to diabetes is causing the escalating incidence of type 1 diabetes in young children.	Ziegler AG, Pflueger M, Winkler C, et al.	J Autoimmun, 2011.
Reduced Prevalence of Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes in Young Children Participating in Longitudinal Follow-up.	Larsson H, Vehik K, Bell R, et al.	Diabetes Care, 2011.
Performance of HbA1c as an early diagnostic indicator of Type 1 Diabetes in children and youth.	Larsson H, Vehik K, Bell R, et al.	Diabetes Care, 2011.
Children followed in the TEDDY study are diagnosed with type 1 diabetes at an early stage of disease.	Larsson H, Vehik K, Gesualdo P, et al.	Pediatric Diabetes, 2014.

Der erste T1D wurde im September 2005, ein Jahr nach Studienbeginn, diagnostiziert. Bis zum 30. November 2011 wiesen 100 Kinder einen T1D auf. Das durchschnittliche Alter betrug zum Zeitpunkt der Diagnose 2,3 Jahre. ^[75] Die Tabelle 29 gibt einen Überblick über die ersten 100 diagnostizierten Kinder.

Eigenschaften	n
Geschlecht	
Weiblich	45
Männlich	55
T1D Familienanamnese	
Positiv	33
T1D betroffene Familienmitglieder	
• Mutter	4
• Vater	18
• Geschwister	9
• Mutter und Vater	2
Maternaler Diabetes	
Gestationsdiabetes	4
T1D	6
Kein Diabetes	86
Unbekannt	4
Anzahl und durchschnittliches Alter je nach Herkunftsland	
Colorado	n = 14 Alter = 1,76
Georgia	n = 4 Alter = 2,45
Washington	n = 7 Alter = 2,77
Finnland	n = 35 Alter = 2,05
Deutschland	n = 13 Alter = 1,96
Schweden	n = 27 Alter = 2,98

Tabelle 29: Überblick über die ersten T1D diagnostizierten Kinder in TEDDY. Modifiziert nach Larsson H, Vehik K, Gesualdo P, et al. [75]

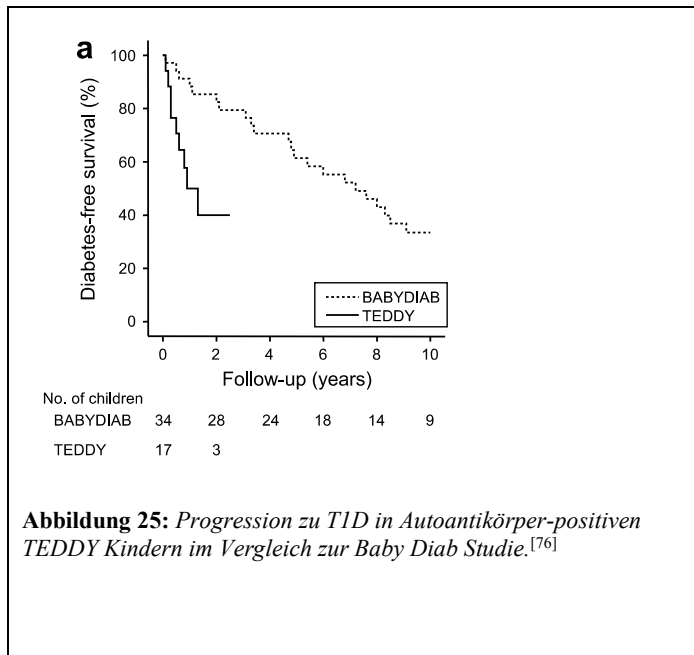
Zum Zeitpunkt der Diagnose waren 64 Kinder symptomatisch. Die Tabelle 30 gibt einen Überblick über das klinische Bild und zeigt den durchschnittlichen HbA1c in Abhängigkeit des Herkunftslandes.

Symptom	n
Polydipsie	53
Polyphagie	4
Polyurie	51
Durchschnittliches Körpergewicht zum Zeitpunkt der Diagnose in kg	13
Durchschnittliche Körpergröße zum Zeitpunkt der Diagnose in cm	90
Durchschnittlicher Gewichtsverlust bis zur Diagnose in kg	0,5
HbA1c in mmol/mol	
Gesamt (n = 98)	57
Colorado	54
Georgia	57
Washington	72
Finnland	60
Deutschland	68
Schweden	46

Tabelle 30: Symptome und HbA1c zum Zeitpunkt der T1D Diagnose. Modifiziert nach Larsson H, Vehik K, Gesualdo P, et al. [75]

Bereits eine vorläufige Auswertung im Jahr 2011 zeigte im Vergleich zur Baby Diab Studie (50% Progredienz innerhalb von 85.2 Monaten) eine raschere Progredienz von Autoantikörper-positiven TEDDY Kindern (9.6 Monaten) zu T1D (Abb. 25). [76]

Larson et al. berichten, dass man laut den ersten 79 Diabetesmanifestationen im Vergleich zu anderen T1D Registern, zum Beispiel DPV (25,3%), eine geringere Prävalenz für DKA bei Kindern unter fünf Jahren (13,1%) in der TEDDY Studie beobachten konnte. [71]



Weiters wurde in einer Untersuchung gemeinsam mit Daten aus den prospektiven DPT-1, Trial-Net und TRIGR gezeigt, dass das HbA1c $\geq 6,5\%$ nicht sensitiv genug ist als ein früher Marker für T1D Manifestation in Kinder oder Jugendlichen mit hohem T1D Risiko.
[77]

4 DISKUSSION

T1D zählt zu der häufigsten pädiatrischen Stoffwechselerkrankung und zeigt insbesondere bei Kindern im Alter von Null bis fünf Jahre eine extreme Inzidenzzunahme von 3-5% jährlich.

Die BABYDIAB-Studie, welche von 1989 bis 2000 unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Ziegler deutschlandweit durchgeführt wurde, zählt zu der ersten prospektiven Kohortenstudie auf dem Gebiet der Ätiopathogeneseforschung des T1D. Vergleicht man die BABYDIAB-Studie mit den Ergebnissen der TEDDY-Studie, so stellt man fest, dass man in TEDDY trotz ähnlich rekrutierter Kohorten, eine beschleunigte Entwicklung von der präklinischen, autoimmunen Phase zu einem T1D nachweisen kann. Die T1D Prävalenz liegt bei den TEDDY-Kindern innerhalb der ersten vier Lebensjahre bei 6,2%, während bei den gleichaltrigen Kindern aus der BABYDIAB-Studie die T1D Prävalenz noch 2,5% betrug. ^[76] Dieser Trend lässt sich nicht mehr allein durch die genetische Prädisposition erklären, sondern schließt vielmehr die verstärkte Exposition gegenüber aggressiven Umweltfaktoren ein.

In TEDDY wurde die genetische Veranlagung für einen T1D auf Basis des HLA-Systems vorausgesetzt und man ging gleichzeitig davon aus, dass sich der klinisch manifeste T1D ohne einen auslösenden Umweltfaktor nicht entwickeln wird. In den ersten Papers der Studie wurde vor allem das Zusammenspiel von Genetik, Infektionen, das Darmmikrobiom, die Ernährung, das Stillverhalten sowie der psychosoziale Einfluss auf die Ätiopathogenese des T1D erforscht.

4.1 Genetik

T1D stellt eine komplexe Erkrankung dar, bei der verschiedene Gene mit nichtgenetischen Faktoren interagieren müssen. Dabei trägt das HLA-System mit circa 50% zum genetischen Risiko bei. ^[13] Insbesondere werden die HLA-DR3- und HLA-DR4-Genotypen mit einem erhöhten Risiko assoziiert, die spezifischen Autoantikörper gegen die pankreatischen β -Zellen zu entwickeln. In TEDDY bildeten Kinder mit dem HLA-DR3-Genotyp bevorzugt Autoantikörper gegen die Glutamatdecarboxylase, während bei

Kindern mit einem HLA-DR4 Genotyp eher Autoantikörper gegen das Insulin nachgewiesen werden konnten. IAA zeigten im Vergleich zu GADA eine höhere T1D Progressionsrate. ^{[72][73]} Daraus kann man schließen, dass der HLA-DR4 Genotyp mit einer stärkeren diabetogenen Wirkung assoziiert werden kann.

Die HLA-DR3-DQ2- und HLA-DR4-DQ8-Genotypen stellen gleichzeitig eine genetische Prädisposition für andere assoziierte Autoimmunerkrankungen dar. Nach Hansen et al. tritt T1D vergesellschaftet mit einer Autoimmunthyreopathie (15-30%), einer Typ-A-Gastritis (15%), einer perniziösen Anämie (10%), einer Zöliakie (4-9%), einer Vitiligo (1-7%), einer rheumatoiden Arthritis (1,2%), einem systemischen Lupus erythematoses (1,15%), einem Morbus Addison (0,5%) oder mit einer Multiplen Sklerose (0,2%) auf. ^[78] Die HLA-DR3-DQ2- und HLA-DR4-DQ8-Genotypen begünstigen also die Bildung eines polyglandulären Autoimmunsyndroms (PAS). Zur Diagnose eines PAS müssen generell zwei autoimmunvermittelte Endokrinopathien vorliegen und man unterscheidet zwischen einer juvenilen (Typ I) und adulten (Typ II-IV) Form. ^[78]

In TEDDY erfolgte in diesem Zusammenhang neben dem Follow-Up des T1D ein Zöliakie-Screening, da Kinder mit persistierenden Autoantikörpern gegen die Gewebstransglutaminase 2 häufig zusätzlich einen T1D entwickeln.

In TEDDY wird deutlich, dass sich ein HLA-Screening nur in Kombination mit einer Autoantikörperbestimmung zur Früherkennung eines T1D eignen würde. Die spezifischen Autoantikörper können bereits Jahre vor der klinischen Manifestation des T1D als serologische Marker nachgewiesen werden. Kinder, die in der Studie zwei beziehungsweise drei verschiedene Autoantikörper entwickelten, zeigten ein erhöhtes T1D Risiko. Das HLA-Screening von Neugeborenen würde also die Identifikation einer Risikogruppe ermöglichen und diese betroffenen Kinder könnten in weiterer Folge regelmäßig auf den Autoantikörperstatus untersucht werden. Bei positivem Autoantikörperbefund müssten zur Abschätzung des T1D Risikos alle weiteren Autoantikörper getestet werden.

Diese Frühdiagnostik könnte zum einen Komplikationen des T1D wie beispielsweise eine DKA bei der Erstmanifestation reduzieren sowie zukünftig durch präventive Therapiemaßnahmen das Fortschreiten und den Ausbruch der Erkrankung verhindern.

4.2 Infektionen

Trotz genetischer Prädisposition haben die betroffenen Kinder zum Zeitpunkt der Geburt eine regelrechte β -Zellmasse, die aber infolge der Autoimmunreaktion zunehmend verloren geht. Bisher ging man davon aus, dass diese autoimmunvermittelte Zerstörung durch einen infektiösen Reiz in Gang gesetzt wird. Diskutiert werden vor allem kongenitale Röteln, Enteroviren und CMV-Infektionen. Im Rahmen der Infektion kommt es zu einem ersten Kontakt zwischen den β -zellassozierten Antigenen und T-Zellen, die bei einem wiederholten Kontakt mit dem Antigen eine Insulitis hervorrufen. Im Zuge dieses Entzündungsprozesses werden Th1-Zellen aktiviert, welche eine Inflammation im Pankreasgewebe und in weiterer Folge die Apoptose der β -Zellen auslösen. ^[13] Bei vollständigem Verlust der β -Zellen, klingt die Entzündung ab und damit verschwinden auch die immunologischen Marker. Der Zeitraum dieser β -Zell-Destruktion ist individuell und es können zwischen dem Zeitpunkt der Entzündung und dem manifesten T1D Monate bis Jahre vergehen. Aus diesem Grund gestaltet sich die Identifikation des auslösenden Faktors schwierig.

In TEDDY war es bisher nicht möglich einen Infektionserreger zu identifizieren. Als wichtige Erkenntnis zeigte sich aber in der Studie, dass Kinder mit einer raschen T1D Progression Fieberepisoden seltener aufwiesen als ihre entsprechenden Kontrollen. ^[39] Fieber könnte also ein schützender Marker in der Entwicklung des T1D darstellen.

4.3 Darmmikrobiom

Die Zusammensetzung der Darmflora wird durch externe Umweltbedingungen bestimmt und dies spiegelte sich in der Analyse des Darmmikrobioms in TEDDY durch die Variabilität in den einzelnen Herkunftsländern wieder. In der DIABIMMUNE - Studie wurde bei genetisch prädisponierten Kindern aus Finnland und Estland die Dynamik der Darmflora im Rahmen der T1D Entwicklung untersucht. In dieser Studie konnte man zum einen feststellen, dass trotz unterschiedlicher Zusammensetzung der Darmflora die individuelle Keimbepiedelung eines Kindes relativ konstant blieb und man somit annehmen kann, dass sich die Zusammensetzung der Darmflora insbesondere durch intrauterine und perinatale Einflussfaktoren geprägt wird. Des Weiteren zeigte sich im

Zeitraum der Serokonversion und dem klinisch manifesten T1D ein 25%iger Rückgang bezüglich der Diversität der Darmflora. ^[79] Diese Beobachtung konnte auch in TEDDY hinsichtlich der Konzentration des *Lactobacillus plantarum* erfasst werden. Die höchste Konzentration wurde bei Kindern unter zehn Monaten nachgewiesen und sank bei Kindern im Alter von über zehn Monaten ab. ^[45] Jedoch muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden, ob sich dieser Rückgang des *Lactobacillus plantarum* im Rahmen der Pathogenese des T1D einstellte oder sich beispielsweise infolge einer Antibiotikatherapie oder anderen Medikationen, die sich ebenfalls auf die Zusammensetzung der Darmflora auswirken können, verursacht wurde.

In der Studie von Kostic et al. konnte das humane β -Defensin 2 in den Stuhlproben der Kinder nachgewiesen werden. Dieses antimikrobielle Peptid ist Teil des angeborenen Immunsystems und wird wahrscheinlich im Rahmen der autoimmunbedingten Insulinitis durch die Epithelzellen des Darms als Signalmolekül exprimiert. ^[79] Welche Rolle das humane β -Defensin 2 im Autoimmunprozess des T1D exakt einnimmt, erfordert weitere Untersuchungen und könnte im Rahmen von TEDDY geklärt werden. In den nächsten Jahren sind noch weitere Auswertungen zu erwarten, da die TEDDY Studie das bis jetzt größte Mikrobiomprojekt zu T1D darstellt.

4.4 Ernährung

Als weiterer Umweltfaktor wurde in TEDDY die Rolle der frühkindlichen Ernährung untersucht. Dabei soll sich insbesondere die Stillperiode beziehungsweise der damit verbundene Einführungszeitpunkt des Kuhmilchproteins auf die Entwicklung eines T1D auswirken. Diese Hypothese stützt sich auf eine Untersuchung von Virtanen et al. aus dem Jahr 1994. In dieser Studie konnten bei neu diagnostizierten Typ 1 DiabetikerInnen erhöhte Titer von Kuhmilchprotein-Antikörper, welche sich gegen die intestinale Mukosa richten, nachgewiesen werden. ^[80] Muttermilch enthält im Gegensatz dazu Zytokine und Wachstumsfaktoren, die die Ausreifung der Mukosa als immunregulatorische Barriere fördern. ^[81]

Die WHO empfiehlt Kinder bis zu einem Alter von sechs Monaten ausschließlich zu stillen. In TEDDY erhielten 20% der Kinder bereits vor dem vierten Lebensmonat feste

Beikost und es zeigte sich eine starke Assoziation zwischen der Dauer der Stillperiode und der T1D Familienanamnese. Bei Müttern mit einem T1D oder Gestationsdiabetes konnte man eine kürzere Stillperiode beobachten im Vergleich zu gesunden Müttern. Kinder mit einem an T1D erkrankten Vater oder Geschwisterteil wurden dagegen länger gestillt und dementsprechend wurde bei ihnen Kuhmilch zu einem späteren Zeitpunkt eingeführt. ^[50] Warum Mütter mit einem T1D beziehungsweise Gestationsdiabetes ein kürzeres Stillverhalten aufzeigten, konnte in TEDDY nicht geklärt werden. Die Stlldauer war insbesondere durch die unterschiedlichen Stillgewohnheiten in den einzelnen Herkunftsländern bedingt. In den USA ist beispielsweise kein bezahlter Mutterschutz garantiert, was zur Folge haben könnte, dass ein hoher Anteil der Mütter nicht stillt. Da die USA in der TEDDY-Studie stark vertreten ist, könnte sich dieser Aspekt auf die Ergebnisse der Stlldauer auswirken.

Insgesamt scheint Muttermilch die Entwicklung des Kindes positiv zu beeinflussen und aus diesem Grund sollte das Stillen im Sinne einer T1D Primärprävention wie nach WHO Empfehlung eingehalten werden.

Neben dem Kuhmilchprotein wurde auch der Einfluss von Gluten analysiert. Zöliakie ist wie T1D eine Autoimmunerkrankung, die durch Zottenatrophie gekennzeichnet ist und mit einer konsekutiven Malabsorption einhergeht. Ursache der Zöliakie ist eine abnorme Reaktion der Dünndarmschleimhaut mit Gliadin, der alkohollöslichen Fraktion des Glutens. In der BABYDIAB-Studie sowie in der amerikanischen DAISY-Studie, die Kinder aus Familien mit einer positiven T1D Familienanamnese ab einem Alter von neun Monaten regelmäßig auf die β -Zell-Autoimmunität untersuchte, stellte sich heraus, dass die Kinder nicht nur ein erhöhtes Risiko für einen T1D, sondern auch für Zöliakie aufwiesen und dass eine sehr frühe Gabe von Gluten mit einer erhöhten Autoimmunität assoziiert werden konnte. ^{[82][83][84]} In der TEDDY-Studie integrierte Schweden glutenhaltige Kost mit einem durchschnittlichen Alter von 21,7 Wochen am schnellsten in die Ernährung und spiegelt damit auch die traditionelle schwedische Ernährung wieder, die durch einen hohen Glutenanteil charakterisiert ist. Schwedische Säuglingsnahrung basiert beispielsweise auf einer industriell mit glutenhaltigen Getreideflocken hergestellten Folgemilch. Entgegen dieser Annahme zeigte sich in der Studie von Aronsson et al., dass der Einführungszeitpunkt von Gluten weder einen Einfluss auf die Bildung persistierender Autoantikörper gegen die Gewebstransglutaminase 2 noch auf die Entwicklung der manifesten Zöliakie hat. Als prädiktiver Faktor könnte die Integration von Gluten und die

Dauer der Stillperiode eine entscheidende Rolle spielen. Kinder, die nach Einführung von Gluten noch über einen Monat gestillt wurden, zeigten in der Studie ein höheres Risiko Autoantikörper gegen die Gewebstransglutaminase 2 zu entwickeln. Schweden und Finnland zeigten den größten Anteil an Kinder, die nach Gluteneinführung weiter gestillt wurden und dies könnte wiederum die steigende Zöliakie-Inzidenz in den skandinavischen Ländern erklären. [62]

TEDDY ist die erste internationale Studie, welche den Verbrauch von Nahrungsergänzungen während der Schwangerschaft, insbesondere die Einnahme von Vitamin D und Omega-3-Fettsäuren, in vier verschiedenen Ländern vergleicht. Zahlreiche Studien zeigten eine Assoziation zwischen dem 25-Hydroxyvitamin-D-Spiegel und der Ätiopathogenese des T1D. Die Ergebnisse der EURODIAB-Studie zeigten beispielsweise, dass eine Vitamin D Substitution in der frühen Kindheit mit einem reduzierten T1D Risiko assoziiert werden kann. [85] Hyppönen griff in diesem Zusammenhang die UVB abhängige Vitamin-D-Synthese in der Haut auf und erklärte hinsichtlich der T1D Inzidenz das damit möglicherweise verbundene Nord-Süd-Gefälle einerseits und die saisonalen Unterschiede andererseits. [86]

Die Ergebnisse in TEDDY zeigten, dass die Frequenz der Vitamin D Substitution über den gesamten Beobachtungszeitraum in allen Zentren relativ konstant blieb. Die Einnahme von Omega-3-Fettsäuren stieg dagegen in allen Zentren an. [55]

Da der Einfluss eines zu geringen Vitamin D- beziehungsweise Omega-3-Fettsäure-Spiegels während der Schwangerschaft auf die Ätiopathogenese des T1D in TEDDY nicht ausgeschlossen werden konnte, sollten internationale Einnahmeempfehlungen für Nahrungsergänzungen diskutiert werden.

Der Einsatz von Probiotika steigt vor allem in Europa, auch in TEDDY wurde ein möglicher Einfluss auf die Entwicklung der Inselzellautoimmunität untersucht, wobei die frühzeitige Gabe im ersten Lebensmonat das Risiko für die Bildung von Autoantikörpern reduziert. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die T1D Inzidenz in Finnland abnimmt. Ob der steigende Gebrauch von Probiotika damit zusammenhängt, bleibt aber noch offen.

[87]

In den westlichen Ländern kann man generell eine steigende Prävalenz von Übergewicht und Adipositas beobachten und es wurde in TEDDY angenommen, dass die steigende T1D Inzidenz durch diese Lebensstiländerung ebenfalls beeinflusst wird. Die Auswertung

ergab, dass man bei Kindern mit einem HLA-DQ2/8 Genotyp eine sinkende Adipositas Prävalenzrate beobachten konnte, während bei Kindern mit einem HLA-DQ2/2 Genotyp ein erhöhtes Adipositasrisiko nachgewiesen werden konnte. In TEDDY zeigte sich aber diesbezüglich auch, dass der HLA-DQ2/8 Genotyp eine stärkere diabetogene Wirkung aufweist und dass die sinkende Adipositasprävalenz eine Folge des Gewichtsverlustes darstellen könnte, welcher sich üblicherweise im Rahmen der Pathogenese des T1D einstellt. [65]

4.5 Psychosomatik

Kritische Lebensereignisse in der frühen Kindheit können als ursächlicher Faktor für chronischen Stress angesehen werden. Langfristig wirkt sich chronischer Stress negativ auf den Hormonhaushalt aus und führt zu einer Hyperaktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse. Daraus resultiert ein Hyperkortisolismus, welcher in weiterer Folge eine verminderte Insulinwirkung nach sich zieht. Der Einfluss negativer Lebensereignisse kann sich also bei Kindern, bei denen sich bereits eine autoimmunologische β -Zell-Destruktion vollzieht, die Manifestation des klinischen T1D beschleunigen. Der T1D würde sich bei diesen Kindern aber auch ohne chronischen Stress entwickeln. [88]

In TEDDY wurde deutlich, dass nicht jedes Kind mit einer genetischen Prädisposition automatisch an einem T1D erkrankt und zur Manifestation der Erkrankung vielmehr die zusätzlichen Umwelteinflüsse entscheidend sind. Insgesamt gestaltet sich die Identifikation dieser Umweltfaktoren schwierig. Dennoch ist die Erforschung für ein besseres Krankheitsverständnis wichtig. Das Ziel solcher Studien wie TEDDY ist es, die Risikofaktoren zukünftig so beeinflussen zu können, dass einerseits der Ausbruch der Erkrankung verhindert beziehungsweise verzögert werden kann und andererseits eine frühe Diagnose eines klinischen T1D gewährleistet werden kann, um die DKA Prävalenz bei Erstmanifestation zu reduzieren und das klinische Outcome zu verbessern.

Die TEDDY Studie ist noch nicht abgeschlossen, da jedes Kind bis zum 15. Lebensjahr untersucht wird. Somit ist in den nächsten Jahren mit weiteren Analysen und Publikationen zu rechnen, die uns hoffentlich näher bringen, die Ursachen des T1D zu verstehen und dementsprechend kurative Therapieansätze entwickeln zu können.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Inzidenzzunahme des T1D bei Kindern < 15 Jahren	10
Abbildung 2: Inzidenz des Typ 1 und Typ 2 Diabetes mellitus in der Altersgruppe der 0- bis 14-jährigen Kinder in Österreich	11
Abbildung 3: Stadieneinteilung des T1D.....	12
Abbildung 4: Umwelteinfluss in der Ätiopathogenese des T1D.....	14
Abbildung 5: Überblick über die Studienaufnahme, Studienausschluss und Studienverweigerung.....	21
Abbildung 6: 15 SNPs in Genen des Komplementsystems	31
Abbildung 7: Übersicht über die Infektionsepisoden in TEDDY	32
Abbildung 8: Vergleich des DNA-Gehalts in ng/g Faeces	36
Abbildung 9: Vergleich des DNA-Gehalts unter den 3-10 und 11-18 Monate alten Kinder.....	36
Abbildung 10: Prävalenz der Vitamin D und Omega 3 Fettsäure Substitution.....	43
Abbildung 11: Alter zum Zeitpunkt der Autoimmunität in Abhängigkeit des HLA-Genotyps.....	47
Abbildung 12: Alter zum Zeitpunkt der Autoimmunität in Abhängigkeit des Herkunftslandes	48
Abbildung 13: Anteil der Mütter mit hohem, mittlerem und geringem Glutenanteil in der Ernährung	51
Abbildung 14: Anteil von spezifischen glutenhaltigen Lebensmitteln in TEDDY.....	51
Abbildung 15: BMI-Perzentile für Übergewicht.....	54
Abbildung 16: BMI-Perzentile für Adipositas	55
Abbildung 17: Übergewichtsprävalenz in Abhängigkeit des Alters und HLA-Genotyps.	57
Abbildung 18: Adipositasprävalenz in Abhängigkeit des Alters und HLA-Genotyps.	58
Abbildung 19: Überblick über die entwickelten Autoantikörper	66
Abbildung 20: Inzidenzrate der T1D spezifischen Autoantikörper	67
Abbildung 21: Inzidenz der Autoantikörper in Abhängigkeit des HLA-Genotyps	68
Abbildung 22: Verteilung der Autoantikörper zum Zeitpunkt des manifesten T1D.....	69
Abbildung 23: Übersicht der persistierenden Beta-Zell Antikörper, Anzahl an Reversionen und T1D Manifestationen.....	71
Abbildung 24: Kumulative Inzidenz von multiplen AAK	72
Abbildung 25: Progression zu T1D in Autoantikörper-positiven TEDDY Kindern im Vergleich zur Baby Diab Studie.....	76

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Richtwerte zur Feststellung eines Diabetes mellitus	8
Tabelle 2: Überblick über das Follow-Up in TEDDY	23
Tabelle 3: Screeningergebnis in der Gruppe der Durchschnittsbevölkerung	27
Tabelle 4: Screeningergebnis in der Gruppe mit T1D Familienanamnese.....	28
Tabelle 5: Überblick über die T1D assoziierten SNPs.....	29
Tabelle 6: T1D assoziiertes SNP bei Kindern mit dem HLA-DR3/3 Genotyp.....	30
Tabelle 7: Eigenschaft des SNPs "rs2281808".....	30
Tabelle 8: Einfluss der SNPs auf die Entwicklung der IAA	30
Tabelle 9: Einfluss der SNPs auf die Bildung der IAA und GADA	30
Tabelle 10: Durchschnittliches Alter zum Zeitpunkt der Beikosteinführung	39
Tabelle 11: Dauer der Stillperiode in Abhängigkeit einer T1D Familienanamnese	40
Tabelle 12: Zeitpunkt der Beikosteinführung in Abhängigkeit der T1D Familienanamnese	41
Tabelle 13: Erste Probiotikaeinnahme mit der Säuglingsmilch oder als Supplement während des ersten Lebensjahres und das Risiko für die Entwicklung einer Inselzell-Autoimmunität.....	42
Tabelle 14: Histologische Klassifikation der Zöliakie nach Marsh	45
Tabelle 15: Zöliakie: Verteilung der Studienkinder in Abhängigkeit des HLA-Genotyps, T1D und Zöliakie-Familienanamnese, Geschlecht und Herkunftsland	46
Tabelle 16: Histologische Beurteilung von 179 Duodenalproben	49
Tabelle 17: Klinische Manifestation der Zöliakie.....	49
Tabelle 18: Zeitpunkt der Gluteneinführung in Abhängigkeit des Herkunftslandes.....	50
Tabelle 19: Autoimmunes Risiko in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Gluteneinführung	50
Tabelle 20: Autoimmunes Risiko in Abhängigkeit der Stillperiode	51
Tabelle 21: BMI-Perzentile für Übergewicht.....	54
Tabelle 22: BMI-Perzentile für Adipositas	55
Tabelle 23: Adaptierte BMI-Werte nach den IOTF Kriterien für Kinder und Jugendliche	56
Tabelle 24: Überblick über psychosoziale Belastungen.....	61
Tabelle 25: Maßnahmen zur Prävention des T1D.....	61
Tabelle 26: Wahrnehmung des T1D Risikos	62
Tabelle 27: DKA zum Zeitpunkt der T1D Diagnose	64
Tabelle 28: Inzidenzrate des manifesten T1D in Abhängigkeit der T1D Familienanamnese.....	69
Tabelle 29: Überblick über die ersten T1D diagnostizierten Kinder in TEDDY	74
Tabelle 30: Symptome und HbA1c zum Zeitpunkt der T1D Diagnose	75

LITERATURVERZEICHNIS

1. Herold G. Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung; Unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung; Mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Köln: Eigenverl.; 2015: 719-728.
2. Böcker W, Denk H, Heitz U, Moch H. Pathologie; 4., vollständig überarbeitete Auflage. München: Elsevier GmbH; 2008: 1133-1137.
3. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2010 Jan; 33(Suppl 1): 62–69.
4. Carmody D, Støy J, Greeley SA, Bell GI, Philipson LH. A clinical guide to monogenic diabetes. In Genetic Diagnosis of Endocrine Disorders. 2nd edition. Philadelphia: Elsevier; 2016: 21-30.
5. Speer C, Gahr M. Pädiatrie. 3. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2001,2005, 2009: 773-778.
6. Ackermann H, Genzwürker H, Hinkelbein J, Keil J, Zimmer G. AllEx - Alles fürs Examen: Das Kompendium für die 2. ÄP; Band A; 322 Abbildungen. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2012: 331.
7. Mehnert H, Usadel K, Müller-Wieland D, Gallwitz B, Häring H. Diabetologie in Klinik und Praxis; 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2011: 62-63.
8. EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. The Lancet. 2000 Mar 11;355(9207):873-6.
9. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G and the EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. The Lancet. 2009 Jun 13;373(9680):2027-33.
10. Bundesministerium für Gesundheit. Zivilisationskrankheit Diabetes: Ausprägung - Lösungsansätze - Herausforderungen. Österreichischer Diabetesbericht 2013: 10-16.
11. Schober E, Waldhoer T, Rami B, Hofer S. Incidence and Time Trend of Type 1 and Type 2 Diabetes in Austrian Children 1999-2007. The Journal of Pediatrics. 2009 Aug;155(2):190-3.e1.
12. Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, Chiang JL, Dabelea D, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Herold KC, Krischer JP, Lernmark Å, Ratner RE, Rewers MJ, Schatz DA, Skyler JS, Sosenko JM, Ziegler AG. Staging presymptomatic type 1 diabetes: A scientific statement of JDFR, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. Diabetes Care. 2015 Oct;38(10):1964-74.
13. Hürter P, Kordonouri O, Lange K, Danne T. Kompendium pädiatrische Diabetologie; Mit 90 Abbildungen und 45 Tabellen. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007: 13-41.

14. Rassow J, Hauser K, Netzker R, Deutzmann R. Duale Reihe; Biochemie; 660 Abbildungen, 50 Tabellen; 2., aktualisierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2008: 711.
15. Mehnert H, Standl E, Usadel K, Häring H. Diabetologie in Klinik und Praxis; 5., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2003: 319.
16. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *The Lancet*. 2001 Jul 21;358(9277):221-9.
17. Pugliese A, Boulware D, Yu L, Babu S, Steck AK, Becker D, Rodriguez H, DiMeglio L, Evans-Molina C, Harrison LC, Schatz D, Palmer JP, Greenbaum C, Eisenbarth GS, Sosenko JM; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. HLA-DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02 Haplotype Protects Autoantibody-Positive Relatives From Type 1 Diabetes Throughout the Stages of Disease Progression. *Diabetes*. 2016 Apr;65(4):1109-19.
18. Rewers M, Ludvigsson J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. *The Lancet*. 2016 Jun 4;387(10035):2340-8.
19. The TEDDY Study Group. The environmental determinants of diabetes in the young. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008 Dec;1150:1-13.
20. The TEDDY Study Group. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study: study design. *Pediatric Diabetes*. 2007 Oct;8(5):286-98.
21. Lernmark B, Johnson SB, Vehik K, Smith L, Ballard L, Baxter J, McLeod W, Roth R, Simell T. Enrollment experiences in a pediatric longitudinal observational study: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study. *Contemporary Clinical Trials*. 2011 Jul;32(4):517-23.
22. Baxter J, Vehik K, Johnson SB, Lernmark B, Roth R, Simell T. Differences in recruitment and early retention among ethnic minority participants in a large pediatric cohort: the TEDDY Study. *Contemporary Clinical Trials*. 2012 Jul; 33(4): 633–640.
23. Vehik K, Fiske SW, Logan CA, Agardh D, Cilio CM, Hagopian WA, Simell O, Roivainen M, She JX, Briese T, Oikarinen S, Hyoty H, Ziegler AG, Rewers M, Lernmark A, Akolkar B, Krischer JP, Burkhardt BR, and the TEDDY Study Group. Methods, quality control and specimen management in an international multicentre investigation of type 1 diabetes: TEDDY. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2013 Oct; 29(7):557-67.
24. Lee HS, Burkhardt BR, McLeod W, Smith S, Eberhard C, Lynch K, Hadley D, Rewers M, Simell O, She JX, Hagopian B, Lernmark A, Akolkar B, Ziegler AG, Krischer JP; TEDDY study group. Biomarker discovery study design for type 1 diabetes in The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2014 Jul;30(5):424-34.

25. Lernmark B, Lynch K, Ballard L, Baxter J, Roth R, Simell T, Johnson SB. Reasons for Staying as a Participant in the Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Longitudinal Study. *Clinical Trials Journals*. 2012; 2(2): 1000114.
26. Gesulaldo P, Ide L, Rewers M, Baxter J. Effectiveness of an informational video method to improve enrollment and retention of a pediatric cohort. *Contemporary Clinical Trials*. 2012 March; 33(2): 273–278.
27. Lernmark B, Lynch K, Baxter J, Roth R, Simell T, Smith L, Swartling U, Johnson SB, Teddy Study Group. Participant Experiences in the Environmental Determinants of Diabetes in the Young Study: Common Reasons for Withdrawing. *Journal of Diabetes Research*. 2016;2016:2720650.
28. Johnson SB, Lynch KF, Lee HS, Smith L, Baxter J, Lernmark B, Roth R and The TEDDY Study Group. At high risk for early withdrawal: using a cumulative risk model to increase retention in the first year of the TEDDY study. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2014 Jun;67(6):609-11.
29. Johnson SB, Lee HS, Baxter J, Lernmark B, Roth R, Simell T; TEDDY Study Group. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study: Predictors of Early Study Withdrawal Among Participants with No Family History of Type 1 Diabetes. *Pediatric Diabetes*. 2011 May;12(3 Pt 1):165-71.
30. Johnson SB, Lynch KF, Baxter J, Lernmark B, Roth R, Simell T, Smith L, TEDDY Study Group. Predicting later study withdrawal in participants active in a longitudinal birth cohort study for 1 year: The TEDDY study. *Journal of Pediatric Psychology*. (2016) 41 (3): 373-383.
31. Yang J, Lynch KF, Uusitalo UM, Foterek K, Hummel S, Silvis K, Aronsson CA, Riikonen A, Rewers M, She JX, Ziegler AG, Simell OG, Toppari J, Hagopian WA, Lernmark A, Akolkar B, Krischer JP, Norris JM, Virtanen SM, Johnson SB; TEDDY Study Group. Factors associated with longitudinal food record compliance in a paediatric cohort study. *Public Health Nutrition*. 2016 Apr;19(5): 804-13.
32. Kiviniemi M, Hermann R, Nurmi J, Ziegler AG, Knip M, Simell O, Veijola R, Lövgren T, Ilonen J; TEDDY Study Group. A High-Throughput Population Screening System for the Estimation of Genetic Risk for Type 1 Diabetes: An Application for the TEDDY (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young) Study. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2007 Oct;9(5):460-72.
33. Dantonio P, Meredith-Molloy N, Hagopian WA, She JX, Akolkar B, Cordovado SK, Hendrix M, Henderson LO, Hannon WH, Vogt RF. Proficiency testing of human leukocyte antigen-DR and human leukocyte antigen-DQ genetic risk assessment for type 1 diabetes using dried blood spots. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 2010 Jul 1;4(4):929-41.
34. Hagopian WA, Erlich H, Lernmark A, Rewers M, Ziegler AG, Simell O, Akolkar B, Vogt R Jr, Blair A, Ilonen J, Krischer J, She J; TEDDY Study Group. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY): genetic criteria and international diabetes risk screening of 421 000 infants. *Pediatric Diabetes*. 2011 Dec;12(8):733-43.

35. Sterner Y, Törn C, Lee HS, Larsson H, Winkler C, McLeod W, Lynch K, Simell O, Ziegler A, Schatz D, Hagopian W, Rewers M, She JX, Krischer JP, Akolkar B, Lernmark A; TEDDY Study Group. Country-specific birth weight and length in type 1 diabetes high-risk HLA genotypes in combination with prenatal characteristics. *Journal of Perinatology*. 2011 Dec; 31(12): 764–769.
36. Törn C, Hadley D, Lee HS, Hagopian W, Lernmark Å, Simell O, Rewers M, Ziegler A, Schatz D, Akolkar B, Onengut-Gumuscu S, Chen WM, Toppari J, Mykkänen J, Ilonen J, Rich SS, She JX, Steck AK, Krischer J, TEDDY Study Group. Role of Type 1 Diabetes-Associated SNPs on Risk of Autoantibody Positivity in the TEDDY Study. *Diabetes*. 2015 May;64(5):1818-29.
37. Törn C, Liu X, Hagopian W, Lernmark Å, Simell O, Rewers M, Ziegler AG, Schatz D, Akolkar B, Onengut-Gumuscu S, Chen WM, Toppari J, Mykkänen J, Ilonen J, Rich SS, She JX, Sharma A, Steck A, Krischer J, TEDDY Study Group. Complement gene variants in relation to autoantibodies to beta cell specific antigens and type 1 diabetes in the TEDDY Study. *Scientific Reports*. 2016 Jun 16;6:27887.
38. Lönnrot M, Lynch K, Larsson HE, Lernmark Å, Rewers M, Hagopian W, She JX, Simell O, Ziegler AG, Akolkar B, Krischer J, Hyöty H; TEDDY Study Group. A method for reporting and classifying acute infectious diseases in a prospective study of young children: TEDDY. *BMC Pediatrics*. 2015 Mar 20;15:24.
39. Lee HS, Briese T, Winkler C, Rewers M, Bonifacio E, Hyoty H, Pflueger M, Simell O, She JX, Hagopian W, Lernmark A, Akolkar B, Krischer JP, Ziegler AG; TEDDY study group. Next-generation sequencing for viruses in children with rapid-onset type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2013 Aug;56(8):1705-11.
40. Endesfelder D, zu Castell W, Ardissonne A, Davis-Richardson AG, Achenbach P, Hagen M, Pflueger M, Gano KA, Fagen JR, Drew JC, Brown CT, Kolaczowski B, Atkinson M, Schatz D, Bonifacio E, Triplett EW, Ziegler AG. Compromised gut microbiota networks in children with anti-islet cell autoimmunity. *Diabetes*. 2014 Jun;63(6):2006-14.
41. Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Novelo LL, Casella G, Drew JC, Ilonen J, Knip M, Hyöty H, Veijola R, Simell T, Simell O, Neu J, Wasserfall CH, Schatz D, Atkinson MA, Triplett EW. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *The ISME Journal*. 2011 Jan;5(1):82-91.
42. Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, Queipo-Ortuño MI. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Medicine*. 2013 Feb 21;11:46.
43. Brown CT, Davis-Richardson AG, Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Casella G, Drew JC, Ilonen J, Knip M, Hyöty H, Veijola R, Simell T, Simell O, Neu J, Wasserfall CH, Schatz D, Atkinson MA, Triplett EW. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLOS ONE*. 2011;6(10):e25792.

44. Kempainen KM, Ardisson AN, Davis-Richardson AG, Fagen JR, Gano KA, León-Novelo LG, Vehik K, Casella G, Simell O, Ziegler AG, Rewers MJ, Lernmark Å, Hagopian W, She JX, Krischer JP, Akolkar B, Schatz DA, Atkinson MA, Triplett EW; TEDDY Study Group. Early Childhood Gut Microbiomes Show Strong Geographic Differences Among Subjects at High Risk for Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2015 Feb;38(2):329-32.
45. Salami F, Abels M, Hyöty H, Vaziri-Sani F, Aronsson C, Vehik K, Delli A, Hagopian W, Rewers M, Ziegler A, Simell O, Akolkar B, Krischer J, She J, Lernmark A; the TEDDY study group. Detection of Lactobacilli in Monthly Mail-in Stool Samples From 3-18 Months Old Infants At Genetic Risk for Type 1 Diabetes. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. 2012 Aug;7(3-4):135-144.
46. Uusitalo U, Kronberg-Kippila C, Aronsson CA, Schakel S, Schoen S, Mattisson I, Reinivuo H, Silvis K, Sichert-Hellert W, Stevens M, Norris JM, Virtanen SM; The TEDDY Study Group. Food composition database harmonization for between-country comparisons of nutrient data in the TEDDY Study. *Journal of food composition and analysis*. 2011 Jun;24(4-5):494-505.
47. Moyers S, Richesson R, Krischer J. Trans-atlantic data harmonization in the classification of medicines and dietary supplements: a challenge for epidemiologic study and clinical research. *International Journal of Medical Informatics*. 2008 Jan; 77(1): 58–67.
48. Aronsson CA, Uusitalo U, Vehik K, Yang J, Silvis K, Hummel S, Virtanen SM, Norris JM and the TEDDY Study Group. Age at first introduction to complementary foods is associated with sociodemographic factors in children with increased genetic risk of developing Type 1 Diabetes. *Maternal & Child Nutrition*. 2015 Oct;11(4):803-14.
49. Beyerlein A, Liu X, Uusitalo UM, Harsunen M, Norris JM, Foterek K, Virtanen SM, Rewers MJ, She JX, Simell O, Lernmark Å, Hagopian W, Akolkar B, Ziegler AG, Krischer JP, Hummel S; TEDDY study group. Dietary intake of soluble fiber and risk of islet autoimmunity by 5 years of age: Results from the TEDDY study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2015 Aug;102(2):345-52.
50. Hummel S, Vehik K, Uusitalo U, McLeod W, Aronsson CA, Frank N, Gesualdo P, Yang J, Norris JM, Virtanen SM; TEDDY Study Group. Infant feeding patterns in families with a diabetes history - observations from The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) birth cohort study. *Public Health Nutrition*. 2014 Dec;17(12):2853-62.
51. Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França GV, Horton S, Krasevec J, Murch S, Sankar MJ, Walker N, Rollins NC, for The Lancet Breastfeeding Series Group. Breastfeeding in the 21st century: Epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *The Lancet*. 2016 Jan 30;387(10017):475-90.
52. Sparud-Lundin C, Wennergren M, Elfvin A, Berg M. Breastfeeding in women with type 1 diabetes: Exploration of predictive factors. *Diabetes Care*. 2011 Feb;34(2):296-301.

53. Hummel S, Winkler C, Schoen S, Knopff A, Marienfeld S, Bonifacio E, Ziegler AG. Breastfeeding habits in families with type 1 diabetes. *Diabetic Medicine*. 2007 Jun;24(6):671-6.
54. Uusitalo U, Liu X, Yang J, Aronsson CA, Hummel S, Butterworth M, Lernmark Å, Rewers M, Hagopian W, She JX, Simell O, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B, Krischer J, Norris JM, Virtanen SM; TEDDY Study Group. Association of Early Exposure of Probiotics and Islet Autoimmunity in the TEDDY Study. *JAMA Pediatrics*. 2016 Jan 1; 170(1): 20–28.
55. Aronsson CA, Vehik K, Yang J, Uusitalo U, Hay K, Joslowski G, Riikonen A, Ballard L, Virtanen SM, Norris JM; TEDDY Study Group. Use of dietary supplements in pregnant women in relation to sociodemographic factors – a report from The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study. *Public Health Nutrition*. 2013 Aug;16(8):1390-402.
56. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, Hagopian WA, Koletzko S, Rewers MJ, Eisenbarth GS, Bingley PJ, Bonifacio E, Simell V, Agardh D; TEDDY Study Group. Risk of Pediatric Celiac Disease According to HLA Haplotype and Country. *The New England Journal of Medicine*. 2014 Jul 3;371(1):42-9.
57. Herold G. *Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung; Unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung; Mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. Köln: Eigenverl.; 2015: 471-472.
58. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*. 1992 Jan;102(1):330-54.
59. Hadley D, Hagopian W, Liu E, She JX, Simell O, Akolkar B, Ziegler AG, Rewers M, Krischer JP, Chen WM, Onengut-Gumuscu S, Bugawan TL, Rich SS, Erlich H, Agardh D; TEDDY Study Group. HLA-DPB1*04:01 Protects Genetically Susceptible Children from Celiac Disease Autoimmunity in the TEDDY Study. *The American Journal of Gastroenterology*. 2015 Jun;110(6):915-20.
60. Sharma A, Liu X, Hadley D, Hagopian W, Liu E, Chen WM, Onengut-Gumuscu S, Simell V, Rewers M, Ziegler AG, Lernmark Å, Simell O, Toppari J, Krischer JP, Akolkar B, Rich SS, Agardh D, She JX; TEDDY Study Group. Identification of Non-HLA Genes Associated with Celiac Disease and Country-Specific Differences in a Large, International Pediatric Cohort. *PLOS ONE*. 2016 Mar 25;11(3):e0152476.
61. Agardh D, Lee HS, Kurppa K, Simell V, Aronsson CA, Jörneus O, Hummel M, Liu E, Koletzko S; TEDDY Study Group. Clinical Features of Celiac Disease: A Prospective Birth Cohort. *Pediatrics*. 2015 Apr;135(4):627-34.
62. Aronsson CA, Lee HS, Liu E, Uusitalo U, Hummel S, Yang J, Hummel M, Rewers M, She JX, Simell O, Toppari J, Ziegler AG, Krischer J, Virtanen SM, Norris JM, Agardh D, Teddy Study Group. Age at Gluten Introduction and Risk of Celiac Disease. *Pediatrics*. 2015 Feb;135(2):239-45.

63. Uusitalo U, Lee HS, Aronsson CA, Yang J, Virtanen SM, Norris J, Agardh D; Environmental Determinants of the Diabetes in the Young (TEDDY) study group. Gluten consumption during late pregnancy and risk of celiac disease in the offspring: The TEDDY birth cohort. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2015 Nov;102(5):1216-21.
64. Aronsson CA, Lee HS, Koletzko S, Uusitalo U, Yang J, Virtanen SM, Liu E, Lernmark Å, Norris JM, Agardh D; TEDDY Study Group. Effects of Gluten Intake on Risk of Celiac Disease: A Case-Control Study on a Swedish Birth Cohort. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2016 Mar;14(3):403-409.e3.
65. Yang J, Lernmark Å, Uusitalo UM, Lynch KF, Veijola R, Winkler C, Larsson HE, Rewers M, She JX, Ziegler AG, Simell OG, Hagopian WA, Akolkar B, Krischer JP, Vehik K; TEDDY Study Group. Prevalence of Obesity was Related to HLA-DQ in 2–4 Year Old Children at Genetic Risk for Type 1 Diabetes. *International Journal of Obesity (Lond)*. 2014 Dec; 38(12): 1491–1496.
66. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ Journals*. 2000 May 6;320(7244):1240-3.
67. Larsson HE, Vehik K, Haller MJ, Liu X, Akolkar B, Hagopian W, Krischer J, Lernmark Å, She JX, Simell O, Toppari J, Ziegler AG, Rewers M; TEDDY Study Group. Growth and Risk for Islet Autoimmunity and Progression to Type 1 Diabetes in Early Childhood: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young Study. *Diabetes*. 2016 Jul;65(7):1988-95.
68. Roth R, Lynch K, Lernmark B, Baxter J, Simell T, Smith L, Swartling U, Ziegler AG, Johnson SB, TEDDY Study Group. Maternal anxiety about a child's diabetes risk in the TEDDY study: The potential role of life stress, postpartum depression, and risk perception. *Pediatric Diabetes*. 2015 Jun;16(4):287-98.
69. Smith LB, Lynch KF, Baxter J, Lernmark B, Roth R, Simell T, Johnson SB, TEDDY Study Group. Factors Associated With Maternal-Reported Actions to Prevent Type 1 Diabetes in the First Year of the TEDDY Study. *Diabetes Care*. 2014 Feb;37(2):325-31.
70. Swartling U, Lynch K, Smith L, Johnson SB, TEDDY Study Group. Parental Estimation of Their Child's Increased Type 1 Diabetes Risk During the First 2 Years of Participation in an International Observational Study: Results From the TEDDY study. *Journal of Empirical Research on Human Research Ethics*. 2016 Apr;11(2):106-14.
71. Larsson HE, Vehik K, Bell R, Dabelea D, Dolan L, Pihoker C, Knip M, Veijola R, Lindblad B, Samuelsson U, Holl R, Haller, on behalf of the TEDDY Study Group, SEARCH Study Group, Swediabkids Study Group, DPV Study Group, and Finnish Diabetes Registry Study Group. Reduced Prevalence of Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes in Young Children Participating in Longitudinal Follow-Up. *Diabetes Care*. 2011 Nov; 34(11): 2347–2352.

72. Krischer JP, Lynch KF, Schatz D a., Ilonen J, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She JX, Simell OG, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B, Bonifacio E, and the TEDDY Study Group. The 6 year incidence of diabetes-associated autoantibodies in genetically at-risk children: the TEDDY study. *Diabetologia*. 2015 May;58(5):980-7.
73. Steck AK, Vehik K, Bonifacio E, Lernmark A, Ziegler A-G, Hagopian WA, She JX, Simell OG, Akolkar B, Krischer J, Schatz D, Rewers MJ, and the TEDDY Study Group. Predictors of Progression From the Appearance of Islet Autoantibodies to Early Childhood Diabetes: The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY). *Diabetes Care*. 2015 May;38(5):808-13.
74. Vehik K, Lynch KF, Schatz DA, Akolkar B, Hagopian W, Rewers M, She JX, Simell O, Toppari J, Ziegler AG, Lernmark Å, Bonifacio E, Krischer JP; TEDDY Study Group. Reversion of β -Cell Autoimmunity Changes Risk of Type 1 Diabetes: TEDDY Study. *Diabetes Care*. 2016 Sep;39(9):1535-42.
75. Larsson HE, Vehik K, Gesualdo P, Akolkar B, Hagopian W, Krischer J, Lernmark Å, Rewers M, Simell O, She JX, Ziegler A, Haller MJ, TEDDY Study Group. Children followed in the TEDDY study are diagnosed with type 1 diabetes at an early stage of disease. *Pediatric Diabetes*. 2014 Mar;15(2):118-26.
76. Ziegler AG, Pflueger M, Winkler C, Achenbach P, Akolkar B, Krischer JP, Bonifacio E. Accelerated progression from islet autoimmunity to diabetes is causing the escalating incidence of type 1 diabetes in young children. *Journal of Autoimmunity*. 2011 Aug;37(1):3-7.
77. Vehik K, Cuthbertson D, Boulware D, Beam CA, Rodriguez H, Legault L, Hyytinen M, Rewers MJ, Schatz DA, Krischer JP; TEDDY, TRIGR, Diabetes Prevention Trial–Type 1, and Type 1 Diabetes TrialNet Natural History Study Groups. Performance of HbA1c as an Early Diagnostic Indicator of Type 1 Diabetes in Children and Youth. *Diabetes Care*. 2012 Sep;35(9):1821-5.
78. Hansen MP, Matheis N, Kahaly GJ. Type 1 diabetes and polyglandular autoimmune syndrome: A review. *World Journal of Diabetes*. 2015 Feb 15; 6(1): 67–79.
79. Kostic AD, Gevers D, Siljander H, Vatanen T, Hyötyläinen T, Hämäläinen AM, Peet A, Tillmann V, Pöhö P, Mattila I, Lähdesmäki H, Franzosa EA, Vaarala O, de Goffau M, Harmsen H, Ilonen J, Virtanen SM, Clish CB, Orešič M, Huttenhower C, Knip M; DIABIMMUNE Study Group, Xavier RJ. The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression toward Type 1 Diabetes. *Cell Host & Microbe*. 2015 Feb 11;17(2):260-73.
80. Virtanen SM, Saukkonen T, Savilahti E, Ylönen K, Räsänen L, Aro A, Knip M, Tuomilehto J, Akerblom HK. Diet, cow's milk protein antibodies and the risk of IDDM in Finnish children. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetologia*. 1994 Apr;37(4):381-7.
81. Harrison LC, Honeyman MC. Cow's milk and type 1 diabetes: the real debate is about mucosal immune function. *Diabetes*. 1999 Aug;48(8):1501-7.

82. Stene LC, Oikarinen S, Hyöty H, Barriga KJ, Norris JM, Klingensmith G, Hutton JC, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Enterovirus infection and progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes: The Diabetes and Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetes*. 2010 Dec;59(12):3174-80.
83. Ziegler AG, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. *The Journal of the American Medical Association*. 2003 Oct 1;290(13):1721-8.
84. Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, Emery LM, Sokol RJ, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *The Journal of the American Medical Association*. 2005 May 18;293(19):2343-51.
85. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia*. 1999 Jan;42(1):51-4.
86. Hypponen E. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association?. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2010 Sep;12(9):737-43.
87. Harjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop PH. Incidence of Type 1 Diabetes in Finland. *The Journal of the American Medical Association*. 2013 Jul 24;310(4):427-8.
88. Danne T, Kordonouri O, Lange K. *Kompendium pädiatrische Diabetologie; 2., vollständig überarbeitete Auflage; Mit 88 Abbildungen und 57 Tabellen.* Heidelberg: Springer Verlag GmbH Berlin Heidelberg 2007, 2016: 389-390.