

**Untersuchung von humanen circadianen
Merkmalssystemen und der Nachtschlafstruktur
unter Berücksichtigung von Alter und Schlafqualität**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel



vorgelegt von
Dipl.-Biol. Tina Hollerbuhl
Kiel
Oktober 2015

Referentin:..... Prof. Dr. M. Dittmar

Korreferent:..... Prof. Dr. T. Roeder

Tag der mündlichen Prüfung..... 19.11.2015

Zum Druck genehmigt: Kiel, den 19.11.2015

Der Dekan

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis.....	vi
Abbildungsverzeichnis	x
Tabellenverzeichnis	xv
1 Einleitung	1
1.1 Circadiane Rhythmik und Chronobiologie.....	1
1.1.1 Circadiane Rhythmik.....	1
1.1.2 Chronobiologie.....	3
1.2 Das circadiane System und circadiane Rhythmen beim Menschen	5
1.3 Schlaf und dessen Regulierung	9
1.4 Die Körpertemperatur.....	16
1.4.1 Die Körperkerntemperatur.....	16
1.4.2 Die periphere Hauttemperatur	17
1.5 Cortisol	20
1.6 Uhrengene	23
1.7 Zusammenhang zwischen circadianer Rhythmik, Schlaf und Altern.....	27
2 Fragestellungen.....	33
3 Probandinnen.....	36
3.1 Rekrutierung.....	36
3.2 Ein- und Ausschlusskriterien.....	36
4 Materialien	39
5 Methoden.....	42
5.1 Übersicht über den Studienverlauf	42
5.2 Fragebogenerhebungen.....	44
5.2.1 Allgemeiner Fragebogen	44
5.2.2 Pittsburgh-Sleep-Quality-Index.....	45
5.2.3 Morningness-Eveningness Questionnaire	45
5.2.4 Munich Chronotype Questionnaire	46
5.2.5 Freiburger Fragebogen	47
5.2.6 Eppworth Sleepiness Scale.....	48
5.2.7 Schlafstagebuch und Tagesprotokoll	49
5.3 Physiologische Methoden.....	50
5.3.1 Anthropometrie und Bioelektrische Impedanzanalyse	50

5.3.2	Aktigrafie.....	51
5.3.3	Elektroenzephalographie	58
5.3.4	Temperatursensoren	61
5.4	Hormonanalyse.....	64
5.4.1	Speichelprobensammlung zur Messung von Cortisol-Konzentrationen	64
5.4.2	Enzyme linked immunosorbent assay	66
5.5	Molekulargenetische Methoden	69
5.5.1	Sammeln von Mundschleimhautproben für molekulargenetische Analysen	69
5.5.2	Auswahl von Haushaltsgen, Zielgenen und Messzeitpunkten	70
5.5.3	Quantitative Echtzeit (Real Time)-PCR.....	71
5.5.4	RNA-Extraktion mit dem CRYSTAL RNA Mini Kit.....	73
5.5.5	RNA-Extraktion durch Phenol-Chloroform-Extraktion.....	73
5.5.6	Photometrische Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren	74
5.5.7	Enzymatischer Verdau mit dem DNaseI-Enzym.....	74
5.5.8	Synthese komplementärer DNA (cDNA).....	75
5.5.9	Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR).....	76
5.5.10	Die quantitative Real Time-PCR.....	80
5.6	Statistische Methoden.....	89
6	Ergebnisse	94
6.1	Zu methodischen Aspekten	94
6.1.1	Interassay-Vergleich der Cortisol-ELISAs.....	94
6.1.2	Etablierung des <i>hCRY1</i> -Assays	94
6.2	Deskriptive Kennzeichen der Probandinnen	100
6.2.1	Zusammensetzung und Altersverteilung des Kollektivs	100
6.2.2	Anthropometrische Merkmale und Körperzusammensetzung	100
6.2.3	Allgemeine Kennzeichen des Probandenkollektivs	101
6.2.4	Morgen- und Abendpräferenz	104
6.2.5	Schlafqualität und Tagesschläfrigkeit	105
6.2.6	Körperlicher Aktivitätsgrad.....	107
6.2.7	Zeitraum im Freien	110
6.2.8	Allgemeine und Lebensstil-bezogene Merkmale in der Untersuchungswoche.....	111
6.3	Gruppenvergleiche nach Uhrengen-Expression, Cortisol-Konzentration und peripherer Hauttemperatur.....	113
6.3.1	Expression von Uhrengenen.....	113
6.3.2	Distale und proximale periphere Hauttemperatur	126
6.3.3	Cortisol-Sekretion am Abend und am Morgen.....	144

6.4	Gruppenvergleiche nach Schlaf-Wach-Rhythmus und Nachtschlafstruktur.....	149
6.4.1	Der Schlaf-Wach-Rhythmus	149
6.4.2	Die Nachtschlafstruktur.....	156
6.5	Zusammenhänge zwischen Nachtschlafstruktur, Uhrengen-Expression, Rhythmik der peripheren Hauttemperaturen und Cortisol-Sekretion.....	160
6.5.1	Nachtschlafstruktur und abendlicher Verlauf der peripheren Hauttemperatur.....	160
6.5.2	Nachtschlafstruktur und Cortisol-Sekretion	163
6.5.3	Uhrengen-Expression und Akrophase des Hauttemperatur-Rhythmus.....	166
6.5.4	Uhrengen-Expression und Cortisol-Sekretion.....	167
6.6	Zusammenhänge zwischen circadianen Merkmalssystemen und Verhaltensmerkmalen ...	170
6.6.1	Cortisol-Sekretion, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität	170
6.6.2	Nachtschlaf, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität.....	171
7	Diskussion.....	172
7.1	Anmerkungen zum Studiendesign.....	172
7.2	Anatomische, physiologische, soziale und Lebensstil-bezogene Merkmale im Zusammenhang mit dem Altern sowie der Schlafqualität im Alter	174
7.3	Zu Gruppenvergleichen nach Uhrengen-Expression, Cortisol-Konzentration und peripherer Hauttemperatur.....	181
7.3.1	Circadiane Expression der Uhrengene <i>hBMAL1</i> , <i>hCRY1</i> und <i>hPER1</i> abhängig von Alter und Schlafqualität.....	181
7.3.2	Hauttemperatur-Rhythmen abhängig von Alter und Schlafqualität	186
7.3.3	Cortisol-Sekretion in Abhängigkeit von Alter und Schlafqualität	196
7.4	Zu Gruppenvergleichen nach Schlaf-Wach-Rhythmus und Nachtschlafstruktur.....	199
7.4.1	Schlaf-Wach-Rhythmik in Abhängigkeit von Alter und Schlafqualität.....	199
7.4.2	Unterschiedliche Nachtschlafstruktur zwischen den Probandengruppen.....	201
7.5	Zu Zusammenhängen zwischen Nachtschlafstruktur, Uhrengen-Expression, Rhythmik der peripheren Hauttemperaturen und Cortisol-Sekretion.....	203
7.5.1	Zusammenhang zwischen der Nachtschlafstruktur und dem Verlauf der peripheren Hauttemperatur.....	203
7.5.2	Zusammenhang zwischen der Nachtschlafstruktur und der Cortisol-Sekretion.....	206
7.5.3	Zusammenhang zwischen der Uhrengen-Expression und der Lage der peripheren Hauttemperatur (Akrophase)	209
7.5.4	Zusammenhang zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion	209
7.6	Zu Zusammenhängen zwischen circadianen Merkmalssystemen und Verhaltensmerkmalen	212
7.6.1	Cortisol-Sekretion, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität	212
7.6.2	Nachtschlaf, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität.....	213

7.7	Methodenkritik	215
7.8	Ausblick.....	218
8	Zusammenfassung.....	221
9	Summary	223
10	Literaturverzeichnis	225
11	Anhang	243
A1	Probandeninformation (verkleinert)	243
A2	Einverständniserklärung (verkleinert)	243
A3	Probandenanleitung (verkleinert)	243
A4	Allgemeiner Fragebogen (verkleinert)	243
A5	Pittsburgh-Sleep-Quality-Index (PSQI) (verkleinert)	243
A6	Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) (deutsche validierte Version, D-MEQ) (verkleinert).....	243
A7	Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ) (verkleinert)	243
A8	Freiburger Fragebogen (verkleinert)	243
A9	Eppworth Sleepiness Scale (ESS) (verkleinert)	243
A10	DGSM-Schlaftagebuch und Tagesprotokoll (verkleinert)	244
A11	Primerliste	244
A12	Genarbeitsblatt für <i>h36B4</i>	244
A13	Genarbeitsblatt für <i>hBMALI</i>	244
A14	Genarbeitsblatt für <i>hPER1</i>	244
A15	Genarbeitsblatt für <i>hCRY1</i>	244
A16	Tabellen zur Normalverteilung.....	244
A17	Mittelwerte und Standardabweichungen Rhythmus-Variablen der peripheren Hauttemperatur	245
A18	Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt	246
A19	Vergleich der Mittelwerte der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt	248
A20	Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil	250
A21	Vergleich der Mittelwerte der Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil.....	253
A22	Mittelwerte der in der sechsten Untersuchungsnacht mit dem EEG-Gerät (Quisi) gemessenen Nachtschlafvariablen.....	256
A23	Vergleich der Mittelwerte der mit dem EEG-Gerät (Quisi) aufgezeichneten Nachtschlafvariablen	258

A24	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und dem abendlichen Verlauf der Hauttemperatur	260
A25	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der abendlichen Cortisol-Konzentration.....	261
A26	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol-Konzentration nach Erwachen.....	262
A27	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol Awakening Response (CAR).....	263
A28	Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und Akrophase des distalen Hauttemperatur-Rhythmus.....	264
A29	Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion für die Altersgruppen	265
A30	Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion für die Schlafqualitätsgruppen	266
A31	Korrelationskoeffizienten zwischen Cortisol-Sekretion und Verhaltensaspekten der Probandinnen in der Untersuchungswoche	267
A32	Korrelationskoeffizienten zwischen Cortisol-Sekretion und Verhaltensaspekten der Probandinnen am sechsten Untersuchungstag.....	268
A33	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der jüngeren Probandinnen.....	269
A34	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren Probandinnen.....	270
A35	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren guten Schläferinnen	271
A36	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren schlechten Schläferinnen	272
A37	Korrelationskoeffizienten zwischen der subjektiven und objektiven Schlafeffizienz (%) und dem Body-Mass-Index (BMI) sowie dem Körperfettanteil der Probandinnen.....	273
Danksagung.....		274
Erklärung.....		275

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AGS	Ältere gute Schläferinnen
ASS	Ältere schlechte Schläferinnen
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Body-Mass-Index
bp	Basenpaare
C	Cytosin
CAR	Cortisol-Aufwachreaktion (Cortisol Awakening Response)
CAU	Christian-Albrechts-Universität
CCGs	Uhren-gen-kontrollierte Gene (<i>clock controlled genes</i>)
cDNA	komplementäre DNA
CO	Circadianer Oszillator
Cp	<i>Crossing point</i>
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
Ct	<i>Cycle Threshold</i>
CV	Variationskoeffizient
DGSM	Deutsche Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin
dl	Deziliter
D-MEQ	Deutsche Version des Morningness-Eveningness Questionnaire
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Deoxynukleotid-Triphosphat
DPG	Distal-proximaler Hauttemperaturgradient
E	Effizienz
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
ESS	Eppworth Sleepiness Scale
G	Guanin
g	Gramm
GC	Glucocorticoid

GR	Glucocorticoidrezeptor
GRE	<i>Glucocorticoid Responsive Element</i>
GSS	<i>Global Seasonal Score</i>
<i>hBMAL1</i> bzw. <i>hARNTL</i>	Humanes Brain and Muscle ARNT-like 1
<i>hBMAL2</i>	Humanes Brain and Muscle ARNT-like 2
<i>hCkl ε</i>	Humane Casein kinase 1, epsilon
<i>hCkl δ</i>	Humane Casein kinase 1, delta
<i>hCLOCK</i>	Humanes Circadian Locomotor Output Cycles Kaput
<i>hCRY1</i>	Humanes Cryptochrom Circadian Clock 1
<i>hCRY2</i>	Humanes Cryptochrom Circadian Clock 2
<i>hNR1D1</i>	Humane Nuclear Receptor subfamily, group D, member 1
<i>hRPLP0 (h36B4)</i>	Humanes Acidic Ribosomal Phosphoprotein P0
HPA-Achse	Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse
<i>hPER1</i>	Humanes Period circadian clock 1
<i>hPER2</i>	Humanes Period circadian clock 2
<i>hPER3</i>	Humanes Period circadian clock 3
<i>hRORα</i>	Humaner RAR-related Orphan Receptor A
HRP	Meerrettichperoxidase (<i>horse radish peroxidase</i>)
<i>hTIM</i>	Humanes Timeless circadian clock
Hz	Hertz (Einheit der Frequenz)
KKT	Körperkerntemperatur
LNA	Festgesetzte Nucleinsäuren (<i>locked nucleic acids</i>)
Max	Maximalwert
MCTQ	Munich Chronotype Questionnaire
MEMS	<i>Medication Event Monitoring Systems</i>
MEQ	Morningness-Eveningness Questionnaire
min	Minuten
Min	Minimalwert
mM	Millimol
MSH	Mundschleimhaut
mV	Millivolt
μA	Mikroampere
μl	Mikroliter
μM	Mikromol
NCBI	National Center for Biotechnology Information

nm	Nanometer
NNTA	Anzahl nächtlicher Aufwacher (<i>number of night-time awakenings</i>)
NREM	<i>non-rapid eye movement</i>
nt	Nukleotide
OS	Oberschenkel
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PBMCs	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (<i>peripheral blood mononuclear cells</i>)
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PHT	Periphere Hauttemperatur
Prozess C	Prozess "circadian"
Prozess S	Prozess "Schlafhomöostat" (<i>sleep homeostat</i>)
PSQI	Pittsburgh Sleep Quality Index
r	Korrelationskoeffizient
RCF	Relative Zentrifugalkraft (<i>relative centrifugal force</i>)
RefSeq	Reference Sequence
REM	<i>Rapid eye movement</i>
RHT	Retinohypothalamischer Trakt
rpm	<i>Revolutions per minute</i>
RT	Raumtemperatur
RT	Reverse Transkriptase
s	Sekunden
S1	Schlafstadium 1
S2	Schlafstadium 2
S3	Schlafstadium 3
S4	Schlafstadium 4
SCN	Suprachiasmatische Nuclei
SE	Schlafeffizienz (<i>sleep efficiency</i>)
SOD	<i>Slope of decline</i>
SOL	Einschlaflatenz (<i>sleep onset latency</i>)
SPAQ	Seasonal-Pattern-Assessment-Questionnaire
SPT	Gesamtschlafzeit (<i>sleep period time</i>)
SWA	<i>Slow wave activity</i>
SWS	<i>Slow wave sleep</i>
T	Thymin

Tab.	Tabelle
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
TIB	Zeit im Bett (<i>time in bed</i>)
TMB	Tetramethylbenzidin
TST	Effektive Schlafdauer (<i>total sleep time</i>)
WASO	Dauer der Wachphasen nach Einsetzen des Schlafes (<i>wake time after sleep onset</i>)
U/min	Umdrehungen pro Minute
V	Volt

Abbildungsverzeichnis

Nummer	Titel der Abbildung	Seite
Abb. 1	Modell einer rhythmischen Funktion mit den sie beschreibenden Parametern.	2
Abb. 2	Die Suprachiasmatischen Nuclei (grün) sind im menschlichen Gehirn im vorderen Hypothalamus direkt über der Kreuzung der Sehnerven (Chiasma opticum) lokalisiert.	5
Abb. 3	Kennzeichnende EEG-Muster für unterschiedliche Nachtschlafstadien.	10
Abb. 4	Der schematische Verlauf des normalen achtstündigen Nachtschlafes in Schlafzyklen (REM-NREM-Zyklen).	12
Abb. 5	Der Schlaf-Wach-Zyklus wird durch das Zusammenspiel externer Rhythmen (z. B. Licht-Dunkel-Zyklus oder soziale Rhythmen), des circadianen Oszillators (CO) in den SCN und des homöostatischen Oszillators (HO) reguliert.	13
Abb. 6	Das Zwei-Prozess-Modell der Schlafregulierung.	14
Abb. 7	Zeitlicher Verlauf der distalen und proximalen Hauttemperatur und Körperkerntemperatur mit und ohne Schlaf (grau hinterlegt).	19
Abb. 8	Darstellung der HPA-Achse und der Bildungsorgane der Hormone Corticotropin Releasing Hormon (CRH), adrenocorticotropes Hormon (ACTH) und Cortisol.	22
Abb. 9	Vereinfachte Darstellung der molekularen Mechanismen der circadianen inneren Uhr beim Menschen und anderen Säugetieren. Uhrengene interagieren in zwei ineinander greifenden autoregulatorischen Rückkopplungsschleifen.	25
Abb. 10	Verlauf der Expression der Gene <i>hBMAL1</i> , <i>hPER1</i> und <i>hCRY1</i> in menschlicher Mundschleimhaut nach Bjarnason <i>et al.</i> (2001).	27
Abb. 11	Schema zum Ablauf der Datenerhebung für eine Probandin.	43
Abb. 12	Schematische Darstellung der Datenerhebung.	44
Abb. 13	Die Actiwatch2 (Philips Respironics).	52
Abb. 14	Ein mit der Actiware-Software erstelltes Aktogramm, das die Bewegungsaktivität einer Probandin über sieben Tage hinweg zeigt.	55
Abb. 15	Schema, nach dem das Actiware-Programm ein Messintervall als „Wach“ oder „Schlaf“ definiert.	56
Abb. 16	Für die Auswertung der Aktogramme festgelegte Parameter für die Actiware-Software.	57

Abb. 17	A) Aufsicht auf den ambulanten QUISI-Schlafanalysator. B) Drei Klebeelektroden werden an der Stirn angebracht und über ein einzelnes Kabel mit dem QUISI-Schlafanalysator verbunden.	58
Abb. 18	1) Ein mit der QUISI® W 95-Software erstelltes Schlafprofil. 2) Unter dem Schlafprofil befindet sich eine Legende mit Statistikangaben.	60
Abb. 19	Der Thermochron iButton®: DS1921H.	62
Abb. 20	Positionen der iButton-Temperatursensoren an Hand, Fuß und Oberschenkel.	63
Abb. 21	A) MEMS-Schraubdeckel mit Zeitchip und Sammelbehälter, B) Watteröllchen aus den Salivetten im MEMS-Sammelbehälter, C) Salivette-Sammelgefäße zum Sammeln von Speichelproben für die Cortisolanalyse.	65
Abb. 22	Funktionsprinzip des verwendeten Cortisol-ELISAs.	67
Abb. 23	Schematische Darstellung einer 96-Kavitäten-Mikrotiterplatte mit Pipettierschema eines Cortisol-ELISAs.	68
Abb. 24	Flussdiagramm zum Arbeitsablauf von der RNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen bis zur Durchführung einer quantitativen Real Time-PCR zur relativen Quantifizierung der Genexpression.	72
Abb. 25	Typischer Verlauf einer PCR.	78
Abb. 26	Außenansicht des LightCycler-Geräts von Roche mit geöffnetem Deckel.	83
Abb. 27	Funktionsprinzip der Quantifizierung mit sequenzspezifischen Hydrolyse-Sonden.	84
Abb. 28	Mit der ProbeFinder-Software des Assay Design Centers von Roche erstelltes Assay für eine quantitative Real Time-PCR.	85
Abb. 29	Ausschnitt aus dem Gelbild zur Gradienten-PCR für das Uhrgen <i>hCRY1</i> .	95
Abb. 30	Fluoreszenzkurven einer <i>hCRY1</i> -Echtzeit-PCR auf dem LightCycler.	96
Abb. 31	Auflistung der Crossing Points einer 12 Ansätze umfassenden Real Time-PCR auf dem LightCycler-Gerät.	97
Abb. 32	Standardkurve für das Haushaltsgen (Referenzgen) <i>h36B4</i> .	98
Abb. 33	Standardkurve für das Uhrgen <i>hBMALI</i> .	98
Abb. 34	Standardkurve für das Uhrgen <i>hPER1</i> .	99
Abb. 35	Standardkurve für das Uhrgen <i>hCRY1</i> .	99
Abb. 36	D-MEQ-Punkte und Schlafmitte (MCTQ) von 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen sowie von neun älteren guten und 14 älteren schlechten Schläferinnen.	105
Abb. 37	Körperliche Aktivität der Probandinnen von 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen sowie von neun älteren guten und 14 älteren schlechten	108

	Schläferinnen bezogen auf eine Woche.	
Abb. 38	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMAL1</i> zu vier Messzeitpunkten bei acht jüngeren und 14 älteren Probandinnen.	116
Abb. 39	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMAL1</i> zu vier Messzeitpunkten bei fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.	117
Abb. 40	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMAL1</i> zu vier Messzeitpunkten bei 11 jüngeren und 16 älteren Probandinnen unter Einbeziehung von Extremwerten.	118
Abb. 41	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMAL1</i> zu vier Messzeitpunkten bei den fünf älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen mit für dieses Gen vollständigem Expressionsprofil.	120
Abb. 42	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hCRY1</i> zu vier Messzeitpunkten bei acht jüngeren und 14 älteren Probandinnen.	121
Abb. 43	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hCRY1</i> zu vier Messzeitpunkten bei fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.	122
Abb. 44	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hPER1</i> zu vier Messzeitpunkten bei acht jüngeren und 14 älteren Probandinnen.	123
Abb. 45	Vergleich der Expression des Uhrgens <i>hPER1</i> zu vier Messzeitpunkten bei fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.	124
Abb. 46	Verlauf der relativen Genexpression der drei Zielgene <i>hBMAL1</i> , <i>hCRY1</i> und <i>hPER1</i> bei A) acht jüngeren Probandinnen und B) 14 älteren Probandinnen.	125
Abb. 47	Verlauf der Genexpression der drei Zielgene <i>hBMAL1</i> , <i>hCRY1</i> und <i>hPER1</i> bei A) fünf älteren guten Schläferinnen und B) neun älteren schlechten Schläferinnen.	126
Abb. 48	Verlauf der peripheren Hauttemperaturen bei jüngeren und älteren Probandinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen.	131
Abb. 49	Verlauf der peripheren Hauttemperaturen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen.	132
Abb. 50	Verlauf des DPG bei jüngeren und älteren Probandinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen.	134
Abb. 51	Verlauf des DPG bei jüngeren und älteren Probandinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen.	135

Abb. 52	Verlauf der mittleren peripheren Hauttemperaturen bei jüngeren und älteren Probandinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr.	138
Abb. 53	Verlauf der peripheren Hauttemperaturen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr.	140
Abb. 54	Verlauf des DPG bei jüngeren und älteren Probandinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr.	142
Abb. 55	Verlauf des DPG bei älteren guten und schlechten Schläferinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr.	143
Abb. 56	Cortisol-Konzentrationen bei jüngeren und älteren Probandinnen.	146
Abb. 57	A) Vor dem abendlichen Zubettgehen (TAbend), beim Erwachen (T0) und während der CAR. B) Im Cortisol-Morgenprofil. C) Für den Slope of Decline.	148
Abb. 58	Signifikante Unterschiede zwischen den subjektiven Schlafparametern, die den Schlaf-Wach-Rhythmus beschreiben, zwischen jüngeren und älteren Probandinnen.	151
Abb. 59	Vergleich der aktmetrisch erfassten Variablen zum Schlaf-Wach-Rhythmus zwischen jüngeren und älteren Probandinnen.	153
Abb. 60	Signifikante Unterschiede zwischen den subjektiven Schlafparametern, die den Schlaf-Wach-Rhythmus beschreiben, zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen.	154
Abb. 61	Signifikante Unterschiede in der elektroenzephalografisch gemessenen Nachtschlafstruktur zwischen jüngeren und älteren Probandinnen.	158
Abb. 62	Signifikante Unterschiede in der elektroenzephalografisch gemessenen Nachtschlafstruktur zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen.	159
Abb. 63	Zusammenhang zwischen Schlafbeginn und A) der proximalen Hauttemperatur 30 min vor dem Zubettgehen ($r = -0,60$, $p = 0,029$) bzw. B) der proximalen Hauttemperatur 30 min nach dem Zubettgehen ($r = -0,56$, $p = 0,045$) bei 13 jüngeren Probandinnen.	161
Abb. 64	Zusammenhang zwischen Schlafbeginn und distal-proximalem Gradienten (DPG) 30 min nach dem Zubettgehen bei 15 älteren Probandinnen ($r = -0,58$, $p = 0,025$).	162
Abb. 65	Zusammenhang zwischen Einschlaf latenz und distaler Hauttemperatur am Fuß 30 min vor dem Zubettgehen bei 5 älteren guten Schläferinnen. ($r = 0,98$, $p = 0,005$).	163

Abb. 66	Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und A) dem prozentualen Anteil an S3-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = -0,73$, $p = 0,005$) bzw. B) dem prozentualen Anteil an S4-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = -0,62$, $p = 0,025$) bei 13 jüngeren Probandinnen.	164
Abb. 67	Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und dem prozentualen Anteil an S4-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = 0,53$, $p = 0,029$) bei 17 älteren Probandinnen.	165
Abb. 68	A) Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und dem prozentualen Anteil an S4-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = 0,83$, $p = 0,002$) bei 11 älteren schlechten Schläferinnen und B) zwischen der CAR und dem Schlafbeginn ($r = 0,69$, $p = 0,029$) bei 10 älteren schlechten Schläferinnen.	166
Abb. 69	Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der relativen Expression des Uhrengens <i>hCRY1</i> um 08:00 Uhr morgens bei 11 jüngeren Probandinnen ($r = 0,77$, $p = 0,006$).	168
Abb. 70	Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der relativen Expression des Uhrengens <i>hCRY1</i> um 08:00 Uhr morgens bei 16 älteren Probandinnen ($r = 0,51$, $p = 0,044$).	168
Abb. 71	Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der relativen Expression des Uhrengens <i>hCRY1</i> um 08:00 Uhr morgens bei 10 älteren schlechten Schläferinnen ($r = 0,65$, $p = 0,042$).	169

Tabellenverzeichnis

Tabellen im Fließtext

Nummer	Titel der Tabelle	Seite
Tab. 1	Eine Auswahl bekannter Uhrengene beim Menschen.	23
Tab. 2	25 µl-Ansatz für eine PCR.	79
Tab. 3	Thermocycler-Programm für PCRs (Hot Start- und Gradienten-PCR).	79
Tab. 4	Auf dem Thermocycler verwendete Anlagerungs-Temperaturen für PCR-Primer.	79
Tab. 5	Einfacher 20 µl-Ansatz für eine Real Time-PCR auf dem LightCycler.	87
Tab. 6	LightCycler-Programm für Real Time-PCRs.	88
Tab. 7	Die auf dem LightCycler verwendeten Anlagerungs-Temperaturen für PCR-Primer.	88
Tab. 8	Für das Erstellen von Standardkurven verwendete Verdünnungsstufen und die zugehörige Anzahl an auf den LightCycler geladenen Replikaten.	88
Tab. 9	Größe von Korrelationskoeffizienten und deren Bedeutung.	92
Tab. 10	Übersicht über die Interassay-Variationskoeffizienten für die Cortisol-ELISAs.	94
Tab. 11	Anzahl und mittleres Alter der Studienteilnehmerinnen.	100
Tab. 12	Körpermaße und Körperzusammensetzung der Probandinnen.	101
Tab. 13	Übersicht über den Familienstand der Probandengruppen.	102
Tab. 14	Wohnsituation der unterschiedlichen Probandengruppen.	102
Tab. 15	Berufliche Situation der verschiedenen Probandengruppen.	102
Tab. 16	Selbsteinschätzung des eigenen Gesundheitszustandes im Vergleich zu Altersgenossinnen.	103
Tab. 17	Konsum anregender Getränke und Alkohol.	103
Tab. 18	Kalte Extremitäten vor dem Schlafengehen.	104
Tab. 19	D-MEQ-Punktwert und Schlafmitte aus dem MCTQ als Indikatoren für Morgen- und Abendpräferenz (Morningness-Eveningness).	105
Tab. 20	Subjektive Schlafqualität und mit dem PSQI-Fragebogen ermittelte Schlafparameter der Probandinnen sowie die durch den ESS-Fragebogen ermittelte Tagesschläfrigkeit.	106
Tab. 21	Mittlere körperliche Aktivität der Probandinnen bezogen auf eine Woche (Freiburger Fragebogen).	107
Tab. 22	Mittelwerte der mit der Actiwatch2 gemessenen körperlichen Aktivität während der Untersuchungswoche.	109

Tab. 23	Mittelwerte der mit der Actiwatch2 gemessenen körperlichen Aktivität am sechsten Untersuchungstag.	110
Tab. 24	Im Mittel von Probandinnen während der Untersuchungswoche im Freien verbrachte Zeit.	110
Tab. 25	Wochenmittelwerte zum Befinden und Verhalten der Probandinnen während der Untersuchungswoche.	111
Tab. 26	Übersicht über die relative Expression der drei Uhrgene <i>hBMALI</i> , <i>hCRY1</i> und <i>hPER1</i> bei jüngeren und älteren Probandinnen.	113
Tab. 27	Übersicht über die relative Expression der drei Uhrgene <i>hBMALI</i> , <i>hCRY1</i> und <i>hPER1</i> bei älteren guten und schlechten Schläferinnen.	114
Tab. 28	Prüfung auf Genexpressionsschwankungen bei jüngeren und älteren Probandinnen mit dem Friedman-Test.	114
Tab. 29	Prüfung auf Genexpressionsschwankungen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen mit dem Friedman-Test.	115
Tab. 30	Gruppenvergleich der Expressionswerte des Uhrgens <i>hBMALI</i> von acht jüngeren Probandinnen und 14 älteren Probandinnen.	116
Tab. 31	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMALI</i> von fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.	117
Tab. 32	Relative Expression des Uhrgens <i>hBMALI</i> bei jüngeren und älteren Probandinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.	118
Tab. 33	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMALI</i> von 11 jüngeren Probandinnen und 16 älteren Probandinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.	119
Tab. 34	Relative Expression des Uhrgens <i>hBMALI</i> bei älteren guten und schlechten Schläferinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.	119
Tab. 35	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hBMALI</i> von 5 älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.	120
Tab. 36	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hCRY1</i> von acht jüngeren Probandinnen und 14 älteren Probandinnen.	121
Tab. 37	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hCRY1</i> von fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.	122
Tab. 38	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hPER1</i> von acht jüngeren Probandinnen und 14 älteren Probandinnen.	124
Tab. 39	Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens <i>hPER1</i> von fünf älteren	125

	guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.	
Tab. 40	Reproduzierbarkeit der Rhythmus-Kenngrößen von proximaler und distaler peripherer Hauttemperatur.	127
Tab. 41	Mittelwertsvergleiche von circadianen Kenngrößen der peripheren Hauttemperaturen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und älteren guten und schlechten Schläferinnen.	128
Tab. 42	Mittlere Cortisol-Konzentrationen und Standardabweichungen am Abend und im Morgenprofil für jüngere und ältere Probandinnen sowie ältere gute und schlechte Schläferinnen.	144
Tab. 43	Vergleich der mittleren Cortisol-Konzentrationen, der CAR und des Slope of Decline unter natürlichen Bedingungen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen.	147
Tab. 44	Einander entsprechende und miteinander vergleichbare Variablen zum Schlaf-Wach-Rhythmus in der Untersuchungswoche zwischen subjektiven Angaben aus dem DGSM-Schlafstagebuch und der objektiven Actiwatch2-Messung.	149
Tab. 45	Subjektive Angaben zum Schlaf-Wach-Rhythmus der Probandinnen während der Untersuchungswoche aus DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll.	150
Tab. 46	Vergleich der subjektiven Angaben aus DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche zwischen jüngeren und älteren Probandinnen.	152
Tab. 47	Deskriptive Statistik zum mittels Aktigrafie erfassten Schlaf-Wach-Rhythmus der Probandinnen während der Untersuchungswoche.	152
Tab. 48	Vergleich der Aktigrafie-Messparameter zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche zwischen jüngeren und älteren Probandinnen.	153
Tab. 49	Vergleich der subjektiven Angaben zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche aus DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen.	155
Tab. 50	Vergleich der Actiwatch2-Messparameter zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen.	156

Tabellen im Anhang

Nummer	Titel	Seite
A17	Mittelwerte und Standardabweichungen Rhythmus-Variablen der peripheren Hauttemperatur.	245
A18	Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt.	246
A19	Vergleich der Mittelwerte der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt.	248
A20	Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil.	250
A21	Vergleich der Mittelwerte der Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil.	253
A22	Mittelwerte der in der sechsten Untersuchungsnacht mit dem EEG-Gerät (Quisi) gemessenen Nachtschlafvariablen.	256
A23	Vergleich der Mittelwerte der mit dem EEG-Gerät (Quisi) aufgezeichneten Nachtschlafvariablen.	258
A24	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und dem abendlichen Verlauf der Hauttemperatur.	260
A25	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der abendlichen Cortisol-Konzentration.	261
A26	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol-Konzentration nach Erwachen.	262
A27	Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol Awakening Response (CAR).	263
A28	Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und Akrophase des distalen Hauttemperatur-Rhythmus.	264
A29	Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion für die Altersgruppen.	265
A30	Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion für die Schlafqualitätsgruppen.	266
A31	Korrelationskoeffizienten zwischen Cortisol-Sekretion und Verhaltensaspekten der Probandinnen in der Untersuchungswoche.	267
A32	Korrelationskoeffizienten zwischen Cortisol-Sekretion und Verhaltensaspekten der Probandinnen am sechsten Untersuchungstag.	268
A33	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der jüngeren Probandinnen.	269

A34	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren Probandinnen.	270
A35	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren guten Schläferinnen.	271
A36	Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren schlechten Schläferinnen.	272
A37	Korrelationskoeffizienten zwischen der subjektiven und objektiven Schlafeffizienz (%) und dem Body-Mass-Index (BMI) sowie dem Körperfettanteil der Probandinnen.	273

1 Einleitung

1.1 Circadiane Rhythmik und Chronobiologie

1.1.1 Circadiane Rhythmik

Die Umwelt und die in ihr lebenden Organismen sind in vielerlei Hinsicht rhythmisch organisiert. Die verschiedensten Lebensvorgänge zeigen rhythmische Schwankungen - sie oszillieren - in fast allen Zeitbereichen (Fleissner 1996). So wiederholen sich z. B. Entladungen erregbarer Zellen innerhalb weniger Millisekunden (Schandry 2003), während populationsdynamische Prozesse im Bereich von Jahrzehnten oszillieren (Fleissner 1996; Reppert & Weaver 2002).

Als Rhythmus wird die "identische Wiederholung der zeitlichen Abfolge von Änderungen einer Variablen" bezeichnet (Fleissner 1996). Rhythmen unterscheiden sich bezüglich der Zeit, in der die sich rhythmisch verändernde Variable einen kompletten Zyklus durchläuft (der Periode) (Abb. 1 C) und den Werten, die die Variable zu bestimmten Zeitpunkten annimmt (der Phase). Oszillierende Vorgänge mit einer Periodenlänge von etwa 24 Stunden (zwischen 16 und 32 Stunden), werden als circadiane Rhythmen (*circa* = lat. etwa, *dies* = lat. Tag) bezeichnet, Periodenlängen darunter als ultradian und darüber als infradian (Refinetti & Menaker 1992). Für die Beschreibung circadianer (und anderer) Rhythmen werden noch weitere Rhythmus-Parameter herangezogen, die sich aus der Anpassung einer Cosinus-Funktion (in einer sog. Cosinor-Analyse) an gemessene Daten ergeben (Refinetti & Menaker 1992). Diese Werte sind der Mesor, die Amplitude und die Akrophase. Der Mesor (*midline estimating statistic of rhythm*) beschreibt den mittleren Wert der angepassten rhythmischen Funktion (Abb. 1 A). Anders ausgedrückt ist der Mesor ein zentraler Wert, um den eine oszillierende Variable schwingt. Als Amplitude wird die Hälfte der Schwingungsbreite einer rhythmischen Funktion bezeichnet, d. h. die Hälfte der Distanz zwischen Maximum (Peak) und Minimum (Nadir) einer angepassten Funktion (Abb. 1 B). Die Akrophase schließlich beschreibt die zeitliche Lage des Maximums der angepassten Funktion bezogen auf einen Referenzpunkt (Abb. 1 D).

Einleitung

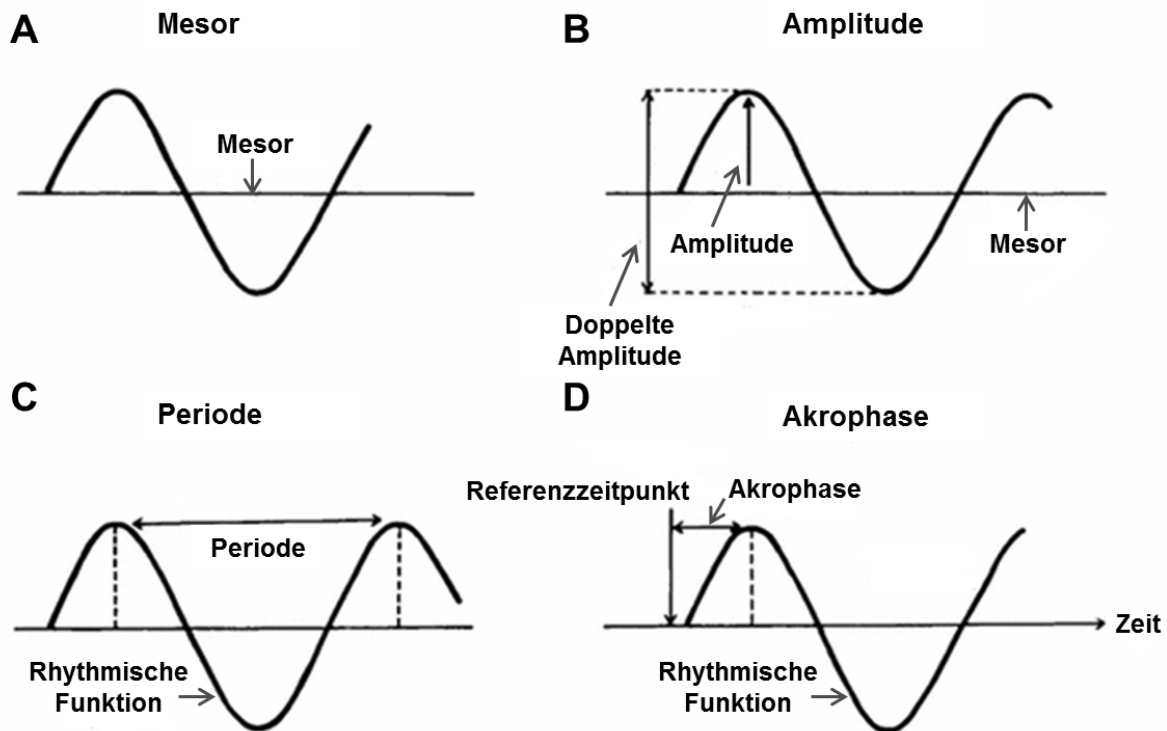


Abb. 1: Modell einer rhythmischen Funktion mit den sie beschreibenden Parametern (verändert nach: Haus & Touitou 1992).

Die beschriebenen Oszillationen werden vom Organismus selbst (endogen) generiert (Pittendrigh 1961) und besitzen eine eigene (freilaufende) Phase und Periodenlänge, die sich an äußere (exogene) Schwingungen anpassen lassen (*entrainment* oder Mitnahme). Exogene Reize, die zu einer Synchronisierung der endogenen Rhythmen mit der Umwelt führen, werden auch als *Zeitgeber* bezeichnet (Aschoff 1965). Für die meisten Tierarten einschließlich des Menschen ist der wohl stärkste und wichtigste Zeitgeber dabei der Hell-Dunkel-Wechsel (Aschoff 1973). Andere Zeitgeber können für den Menschen z. B. tägliche Schwankungen der Außentemperatur (Pittendrigh 1961), körperliche Aktivität, Nahrungsaufnahme oder soziale Interaktionen sein. Endogene Rhythmen sind dadurch gekennzeichnet, dass ihre Schwingung und Periodenlänge erhalten bleiben, auch wenn ein Organismus von zeitgebenden Umweltreizen isoliert ist (Aschoff 1965). Circadiane Rhythmen sind ubiquitär. Sie kommen sowohl bei Einzellern als auch bei Pflanzen und im gesamten Tierreich - einschließlich des Menschen - vor (Bünning 1963). Die endogene circadiane Rhythmik scheint also eine wichtige und phylogenetisch früh entwickelte Eigenschaft lebender Organismen zu sein. Es wird angenommen, dass sie sich als eine Anpassung an die 24 Stunden-Periodizität der Erdrotation und den dadurch entstehenden Hell-Dunkel-Wechsel entwickelte (Pittendrigh 1961). Der treibende Faktor könnte dabei die Meidung der schädlichen ultravioletten Strahlung des Sonnenlichts gewesen sein, die in den Anfängen der organismischen Evolution beträchtlich höher war als heute (Pittendrigh 1966). Dafür spricht, dass auch der Zellzyklus und verschiedenste Stoffwechselforgänge circadian reguliert

Einleitung

werden. Prozesse wie Geninduktion und DNA-Replikation laufen bevorzugt bei Dunkelheit ab, wodurch Schäden im Erbgut durch ultraviolettes Licht vermieden werden können (Okamura 2004).

Die Entwicklung unterschiedlicher circadianer Aktivitätsmuster ermöglichte Organismen zudem die Besetzung „zeitlicher Nischen“ (Panda & Hogenesch 2004), die Überlebensvorteile boten. Einen selektiven Druck können hier beispielsweise die Meidung von Fressfeinden oder auch die Anpassung an das Aktivitätsmuster von Beutetieren ausgeübt haben. So bedeutet eine Rhythmik mit Ruhephasen in der Nacht einen adaptiven Vorteil für Tiere, deren potenzielle Fressfeinde größtenteils nachtaktiv sind.

Das rhythmische Auftreten physiologischer Zustände und Verhaltensweisen ermöglicht es Organismen in jedem Fall, sich schnell und effizient auf periodisch wiederkehrende Umweltereignisse einzustellen (Antizipation) (Hofman & Swaab 2006). So steht z. B. der Photosyntheseapparat von Pflanzen unter circadianer Kontrolle (Harmer *et al.* 2000). Er wird bereits vor Sonnenaufgang aktiviert, sodass die Pflanze die gesamte Lichtperiode optimal nutzen kann. Da sie Vorteile für den Organismus mit sich bringen, muss auf solche antizipatorischen Fähigkeiten ein evolutiver Druck gewirkt haben, unter dem sich eine vererbte Rhythmizität herausbildete (Fleissner 1996).

Dass eine endogene Rhythmik tatsächlich angeboren ist und vererbt wird, zeigen verschiedene Studien. Hühner etwa, die vom Ei an unter konstanten Bedingungen - also bei Fehlen von Zeitgebern - aufgezogen wurden, haben dennoch eine circadiane Rhythmik (Aschoff & Meyer-Lohmann 1954), ebenso Mäuse, die über sechs Generationen unter konstanten Bedingungen gehalten wurden (Aschoff 1960). Die Bedeutung ungestörter und aufeinander abgestimmter circadianer Rhythmen für den Organismus zeigt eine Studie von Aschoff *et al.* (1971): Die mittlere Lebensdauer von Fliegen, deren circadiane Rhythmik wiederholt durch Umweltreize gestört wurde, verkürzte sich deutlich. Auch für den Menschen können dauerhafte Störungen physiologischer Rhythmen zu gesundheitlichen Beschwerden führen (Korf & Stehle 2005).

1.1.2 Chronobiologie

Das Forschungsgebiet, das sich mit der Untersuchung von zeitlichen Charakteristiken biologischer Phänomene befasst, ist die Chronobiologie. Ihr Ziel ist die objektive Beschreibung biologischer Zeitstrukturen (Halberg 1969). Meist liegt der Schwerpunkt der chronobiologischen Forschung dabei auf circadianen Rhythmen.

Der erste, der ein tagesrhythmisches Phänomen experimentell beschrieb, war vermutlich der französische Astronom Jean Jacques d'Ortous de Mairan im Jahr 1729. Er beobachtete die täglichen Blattbewegungen von Mimosen (*Mimosa*) und stellte fest, dass diese auch bei anhaltender Dunkelheit erhalten bleiben. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurde das von de Mairan beschriebene Phänomen auch bei Tieren bestätigt. Kiesel beschrieb 1894 die tägliche Bewegung retinalen Pigments bei Motten, Simpson und Galbraith 1905 den Körpertemperaturrhythmus bei Totenkopffäffchen (Daan

Einleitung

2010; Kiesel 1894; Simpson & Galbraith 1905). Zu den Begründern und Wegbereitern der chronobiologischen Forschung an Tier und Mensch im 20. Jahrhundert zählen unter anderem Erwin Bünning, Jürgen Aschoff und Colin Pittendrigh. Bünning wird oft als Entdecker der endogenen circadianen Rhythmik genannt. Er beschäftigte sich mit den tagesrhythmischen Blattbewegungen bei Bohnen und anderen Pflanzen. Bünning fasste seine Beobachtungen 1958 in dem Buch „Die Physiologische Uhr“ zusammen, das heute als erstes umfassendes Werk über die circadiane Rhythmik gilt. Der deutsche Wissenschaftler Jürgen Aschoff übertrug die systematische Erforschung der endogenen Rhythmik auf den Menschen, obwohl schon vorher tagesrhythmische Phänomene in der menschlichen Physiologie beschrieben wurden (siehe dazu: Aschoff 1955). Bekannt ist Aschoff vor allem durch seine in den 70er Jahren durchgeführten „Andechser Bunkerexperimente“. Hier wurden einzelne Individuen über mehrere Wochen in einem unterirdischen, schalldichten Bunker von allen Umweltfaktoren isoliert, die als Zeitgeber dienen könnten. Während Aschoffs Probanden in dieser zeitfreien Umgebung ein „normales“ Leben führten, wurden durchgehend ihre Körperkerntemperatur und ihr Schlaf-Wach-Rhythmus registriert. Eine endogene Rhythmik blieb unter diesen Umständen erhalten, verschob sich jedoch allmählich gegen den Tag-Nacht-Wechsel der Umwelt. Aschoff konnte in diesen Experimenten zeigen, dass die freilaufende Periode beim Menschen im Mittel ca. 25 Stunden beträgt (Aschoff 1965), neuere Studien (Czeisler *et al.* 1999) ergaben im Mittel 24,2 Stunden. 1971 näherten sich Konopka & Benzer zum ersten Mal genetisch der Funktionsweise der circadianen Periodizität. Sie isolierten bei *Drosophila* Mutationen in einem einzelnen Gen, die zu einer veränderten circadianen Periode oder zu einem kompletten Verlust der circadianen Rhythmik bei der Fliege führten (Takahashi 1995). Das betreffende Gen wurde entsprechend dieser Entdeckung als *period (per)* bezeichnet. Damit war der Grundstein gelegt für weitere intensive Forschung auf dem Gebiet der Genetik der circadianen Rhythmik. Mit der Entdeckung des *tau*-Gens beim Goldhamster (Ralph & Menaker 1988) und des *Clock*-Gens bei der Maus (Vitaterna *et al.* 1994) wurden erstmals Gene mit Einfluss auf die circadiane Rhythmik bei Säugetieren beschrieben.

Auf dem Gebiet der Humanforschung beschäftigen sich zahlreiche Gruppen - neben der fortlaufenden Grundlagenforschung - mit der Beschreibung von Rhythmusveränderungen bei verschiedenen Subpopulationen. Ein großes Forschungsgebiet befasst sich mit altersbedingten physiologischen und pathologischen Veränderungen der circadianen Rhythmik (Übersicht z. B. in Hastings *et al.* 2003). Auch der Einfluss besonderer Umweltbedingungen wie Schicht- und Nachtarbeit auf die innere Uhr (Übersicht z. B. in Knutsson 2003) und veränderte circadiane und ultradiane Rhythmen in bestimmten Patientenkollektiven (z. B. Alzheimer, Diabetes oder psychische Erkrankungen) (Übersichten z. B. in Bunney & Potkin 2008; McClung 2007; Ohdo *et al.* 2010) sind von Interesse. Dies zeigt, dass die chronobiologische Forschung auch für medizinische Fragen von Bedeutung ist. So konnte gezeigt werden, dass die Wirkung von Medikamenten und Behandlungsmaßnahmen aufgrund tagesperiodischer physiologischer und neuroendokriner Schwankungen stark von der Tageszeit

Einleitung

abhängig ist, zu der sie verabreicht werden (Ohdo *et al.* 2010; Straub & Cutolo 2007). Eine Konsequenz solcher Erkenntnisse kann die Umgestaltung von Arbeitszeiten und Arbeitsplätzen oder die zeitlich abgestimmte Medikamentengabe bei Therapien sein.

1.2 Das circadiane System und circadiane Rhythmen beim Menschen

Der circadianen Rhythmik liegt ein circadianes System im Organismus zu Grunde. Man spricht auch von einer „inneren Uhr“. Ein solches System besitzt ein zentrales Kontrollzentrum, das einen Grundrhythmus für das gesamte System vorgibt und damit als Schrittmacher fungiert. Ein Schrittmacher benötigt außerdem einen Weg zum Signalempfang (*Input*) durch äußere Zeitgeber und einen Weg zur Weitergabe von Signalen (*Output*) an Zielorte im Organismus (Takahashi 1995). Das Schrittmacherzentrum wird auch als physiologische oder „zentrale Uhr“ (*master clock*) bezeichnet. Bei Mollusken befindet sich die zentrale Uhr in Neuronen an der Basis der Retina (Block & Wallace 1982), bei Insekten und Krebstieren in den optischen Loben (Fleissner & Heinrichs 1982) und bei Vögeln (Takahashi 1995; Takahashi *et al.* 1989), Reptilien (Underwood 1990) und Fischen (Falcón *et al.* 1989) in der Zirbeldrüse (Epiphyse). Bei Säugetieren einschließlich des Menschen ist die zentrale Uhr in einer Gruppe von Neuronen im vorderen Hypothalamus lokalisiert, den Suprachiasmatischen Nuclei (SCN) (Moore & Eichler 1972; Reppert & Weaver 2001; Weaver 1998) (Abb. 2).

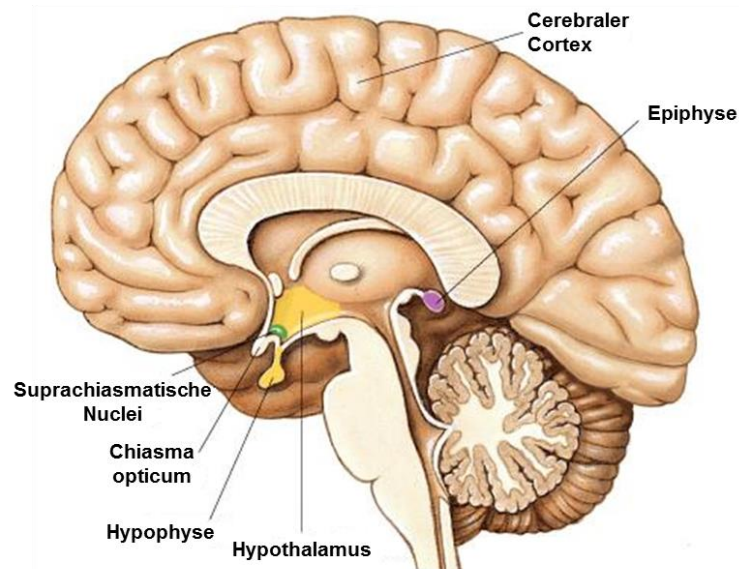


Abb. 2: Die Suprachiasmatischen Nuclei (grün) sind im menschlichen Gehirn im vorderen Hypothalamus direkt über der Kreuzung der Sehnerven (Chiasma opticum) lokalisiert. (verändert nach: URL1)

Einleitung

Die SCN sind paarig angelegt und ein einzelner Kern besteht aus etwa 10.000 Neuronen. Die SCN liegen direkt über der Kreuzung der Sehnerven (*Chiasma opticum*) (Reppert & Weaver 2001). Die Zellen in den SCN sind nicht homogen und können nach Art der von ihnen produzierten Neuropeptide vereinfacht in Kern (Vasoaktives intestinales Polypeptid, VIP) und Schale (Arginin Vasopressin, AVP) unterteilt werden (Cermakian & Boivin 2003; Hofman & Swaab 2006; Kryger *et al.* 2011; Panda & Hogenesch 2004).

Zusätzlich zu der zentralen Uhr oszillieren noch viele weitere, untergeordnete oder „periphere Uhren“ in vermutlich allen anderen Geweben und Zellen des Körpers. In Untersuchungen an Nagern konnten auf molekularer Ebene Oszillationen unter anderem in Gehirnregionen wie der Zirbeldrüse (Abe *et al.* 2002) sowie in Zellen aus Leber, Lunge und Herz (Storch *et al.* 2002; Yamazaki *et al.* 2002), dem Knochenmark (Chen *et al.* 2000) und der Nebenniere (Oster *et al.* 2006) dokumentiert werden (Hastings 2003, James 2007). Beim Menschen wurden solche peripheren Oszillatoren unter anderem in Herzmuskelzellen (Leibetseder *et al.* 2009), Blutzellen (Ando *et al.* 2010; James *et al.* 2007), Haut (Bjarnason *et al.* 2001; Brown *et al.* 2008) und Schleimhäuten (Bjarnason *et al.* 2001; Brown *et al.* 2008; Zieker *et al.* 2010) nachgewiesen. Periphere Uhren erzeugen zwar auch unabhängig vom zentralen Schrittmacher in den SCN rhythmische Schwankungen. Dieser scheint allerdings notwendig zu sein, um die peripheren Oszillatoren miteinander zu synchronisieren und ihre Periodenlänge an die Umwelt anzupassen (Balsalobre 2002; Reppert & Weaver 2002).

Um ihre Schwingung mit solchen äußeren Gegebenheiten zu synchronisieren, müssen die SCN zeitliche Informationen aus der Umwelt erhalten. Da nicht alle Zellen in den SCN mit der gleichen Phase oszillieren, müssen zudem auch sie miteinander synchronisiert werden, um einen gemeinsamen „Nettooutput“ an periphere Uhren erzeugen zu können (Hofman & Swaab 2006). Die Vermittlung von Informationen über den Licht-Dunkel-Wechsel als wichtigstem Zeitgeber erfolgt über eine Gruppe lichtempfindlicher retinaler Ganglionzellen, die das Photopigment Melanopsin enthalten (Hattar *et al.* 2002). Diese Nervenzellen werden als retinohypothalamischer Trakt (RHT) bezeichnet (Dijk & Lockley 2002). Die Axone des RHT kommunizieren mit den Neuronen im Kern der SCN, die dadurch photische Informationen empfangen (Hastings *et al.* 2003; Moore & Lenn 1972). In den SCN kommt es dadurch zur veränderten Induktion bestimmter Gene (Albrecht *et al.* 1997; Hastings *et al.* 2003; Rusak *et al.* 1990), die als Uhrengene bezeichnet werden und die die Grundlage der Rhythmusgenerierung in den SCN und anderen Geweben darstellen (s. Kapitel 1.6) (Hofman & Swaab 2006; Konopka & Benzer 1971; Ralph & Menaker 1988; Reppert & Weaver 2001). Oszillationen mit einer Periode von etwa 24 Stunden werden intrazellulär über transkriptional-translationale Rückkopplungsschleifen erzeugt, in denen Genprodukte ihre eigene Transkription unterdrücken und die anderer Genprodukte aktivieren (Buijs *et al.* 2003; Dunlap 1999; Fleissner 1996; Reppert & Weaver 2002; Sukumaran *et al.* 2011).

Einleitung

Die Vermittlung von zeitlichen Signalen von den SCN an andere Bereiche des Körpers erfolgt auf molekularer Ebene durch Aktivierung und Deaktivierung der Expression sogenannter „Uhrengene-kontrollierter Gene“ (*clock controlled genes*, CCGs) durch die oszillierend aktiven Uhrengene (Hastings *et al.* 2003; Hofman & Swaab 2006). Über die CCGs, die beispielsweise für Neurotransmitter und Hormone codieren (Hastings *et al.* 2003), wird eine Vielzahl physiologischer Prozesse reguliert, die wiederum in kontrollierten Veränderungen des Verhaltens resultieren (Khapre *et al.* 2010; Nader *et al.* 2010). Neuronen aus Kern und vor allem aus der Schale der SCN stehen über neuronale Verbindungen in Kontakt mit weiteren Kernen im Hypothalamus und anderen Regionen im Gehirn, die als Regelzentren für vegetative Größen wie Temperatur oder Blutdruck dienen und die Konzentration verschiedener Hormone regulieren (Hastings *et al.* 2003; Nader *et al.* 2010; Schandry 2003). Zudem werden über die Schale der SCN neuroendokrine Signale in den *Liquor cerebrospinalis* abgegeben (rev. in Hofman & Swaab 2006; Korf & Stehle 2005). Da das circadiane System über neuronale und humorale Signale agiert, kann es als neuroendokrines System bezeichnet werden.

Der zentrale Schrittmacher und die peripheren Uhren stehen in enger Wechselwirkung mit zahlreichen anderen Systemen und Regelkreisen des Organismus, die etwa den Schlaf, die Reaktion auf Stress und die Immunantwort regulieren. Nur ein ungestörtes Zusammenspiel dieser Systeme führt zu einem reibungslosen Ablauf physiologischer Vorgänge und zur Aufrechterhaltung eines Gleichgewichts im Körper (Nader *et al.* 2010). Es ist daher nicht verwunderlich, dass Störungen der circadianen Organisation einen negativen Einfluss auf die Gesundheit haben können und oft im Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen beobachtet werden (Hastings *et al.* 2003; Zieker *et al.* 2010).

Je nach Tageszeit beeinflusst der Zeitgeber Licht das circadiane System in unterschiedlichem Ausmaß und in unterschiedliche Richtungen. Je nach circadianer Phase wird der zentrale Oszillator durch Lichteinfluss beschleunigt, verzögert oder verändert sich gar nicht (Roenneberg *et al.* 2003). Zu welcher circadianen Phase der Oszillator in welcher Weise reagiert, ist ein stabiles Phänomen und kann als sog. Phasen-Antwort-Kurve (*phase response curve*) beschrieben werden.

Die circadiane Rhythmik beim Menschen (Chronotypen)

Eine circadiane Rhythmik findet sich im menschlichen Organismus auf allen Organisationsebenen: molekularbiologisch in Schwankungen in der Genexpression (s. Kapitel 1.6), endokrin bei der Konzentration von Hormonen wie Melatonin und Cortisol (s. Kapitel 1.5) und physiologisch bei vegetativen Größen wie der Körpertemperatur (s. Kapitel 1.4), der Verdauung, der Herzschlagfrequenz und dem Blutdruck. Schließlich äußert sich eine Rhythmik auch auf der Verhaltensebene, die sich am deutlichsten im Schlaf-Wach-Zyklus ausdrückt (s. Kapitel 1.3). Die Vielzahl an rhythmischen Phänomenen im menschlichen Organismus oszilliert in einer festen Phasenbeziehung zueinander (Aschoff 1965), d. h. die Minima und Maxima verschiedener Rhythmen treten innerhalb eines Individuums in einem relativ stabilen Verhältnis zueinander auf. So erreicht der Cortisolspiegel ein

Einleitung

Minimum gegen Mitternacht und das Nachthormon Melatonin erreicht seine maximale Konzentration in der zweiten Nachthälfte. Um diesen Zeitpunkt zeigen etwa die Körperkerntemperatur und der Blutdruck ein Minimum (Korf & Stehle 2005; Schultes & Fehm 2004).

Abhängig von der Phase ihres circadianen Systems, die sich in präferierten Schlaf- und Aktivitätszeiten relativ zum natürlichen Licht-Dunkel-Rhythmus ausdrückt (Übersicht z. B. in Dijk & Lockley 2002), können Menschen in verschiedene Chronotypen eingeteilt werden. Sogenannte „Lerchen“ oder Morgentypen haben eine frühe (vorverlagerte bzw. im Verhältnis zu Abendtypen beschleunigte) circadiane Phase, sie gehen früh zu Bett und wachen morgens früh auf. Abendtypen oder „Eulen“ hingegen haben eine nach hinten verlagerte (rückverlagerte bzw. im Verhältnis zu Morgentypen verzögerte) Phase, sie gehen spät zu Bett und stehen spät auf. Neutraltypen liegen zwischen diesen beiden Ausprägungen. Diese unterschiedlichen Ausprägungen bezüglich der circadianen Phase zeigen sich auch in Bezug auf andere circadiane Parameter. So liegen der Nadir der Körperkerntemperatur (Baehr *et al.* 2000; Duffy *et al.* 1999) und die Phase der Melatonin- (Duffy *et al.* 1999) und Cortisolsekretion (Bailey & Heitkemper 2001) bei Morgentypen zeitlich früher als bei Abendtypen und die Chronotypen zeigen eine unterschiedliche zeitliche Verteilung ihrer täglichen Leistungsfähigkeit (Carrier & Monk 2000; Fröberg 1977; Horne *et al.* 1980). Diese Unterschiede scheinen keine Folge des Schlaf-Wach-Zyklus zu sein, denn sie bleiben auch in Abwesenheit von Schlaf erhalten (Dijk & Lockley 2002). Der Chronotyp eines Menschen kann sich auf dessen alltägliches Leben auswirken. So „sammeln“ Abendtypen über eine Arbeitswoche infolge früher Aufstehzeiten mehr Schlafdefizit an als Morgentypen (Roenneberg *et al.* 2003a; Zavada *et al.* 2005). Morgentypen können sich hingegen weniger leicht an Schichtarbeit anpassen als Abendtypen (Östberg 1973).

Eine stabile Beziehung zwischen endogenen Rhythmen und äußeren Zeitgebern und ein geregelter Schlaf-Wach-Rhythmus spielen eine wichtige Rolle für die Gesundheit und das Wohlbefinden des Menschen (Dijk & Lockley 2002; Rajaratnam & Arendt 2001; Roenneberg *et al.* 2003b). In vielen Fällen sind bestimmte Krankheitsbilder mit Veränderungen der circadianen Zeitstruktur - d. h. der Lage endogener Rhythmen zueinander und zur Umwelt - assoziiert (Aschoff & Wever 1980). Die Störung und Desynchronisierung circadianer Rhythmen auf allen Ebenen des Organismus werden unter anderem mit kardiovaskulären und psychiatrischen Erkrankungen und der Entstehung bestimmter Krebsarten in Verbindung gebracht (Bunney & Potkin 2008; Hansen 2001; Hastings *et al.* 2003; McClung 2007; Reppert & Weaver 2002; Schernhammer *et al.* 2001). Eine häufige Ursache für Störungen des circadianen Systems ist die Schicht- und Nachtarbeit (Knutsson 2003; Rajaratnam & Arendt 2001). Wird die aktive Phase des Menschen auf die Nacht verlegt oder wechselt häufiger, können sich die inneren Rhythmen kaum daran anpassen (Czeisler *et al.* 1999). Der enge

Einleitung

Zusammenhang zwischen der circadianen Variation physiologischer Parameter und Krankheiten wird auch dadurch deutlich, dass sich Krankheitsbilder abhängig von der Tageszeit verschlechtern. So treten etwa Symptome entzündlicher Erkrankungen oft in den frühen Morgenstunden besonders ausgeprägt auf (Straub & Cutolo 2007) und die Wahrscheinlichkeit, einen Herzinfarkt (Cannon *et al.* 1997) oder einen Schlaganfall (Casetta *et al.* 2002) zu erleiden, ist am Morgen erhöht.

1.3 Schlaf und dessen Regulierung

Schlaf oder schlafähnliche Zustände finden sich bei allen Eukaryoten, von Arthropoden bis hin zu Säugetieren (Kryger *et al.* 2011). Schlaf ist eine reversible Periode der Inaktivität, die durch eine verminderte Wahrnehmungsfähigkeit gegenüber und Reaktionsfähigkeit auf Umweltreize gekennzeichnet ist (Crocker & Sehgal 2010; Siegel 2005). Gleichzeitig ist Schlaf ein durchaus dynamischer Vorgang, der beim Menschen wie bei anderen Wirbeltieren eine wichtige Funktion einzunehmen scheint. In Experimenten mit Nagern und Fliegen führt Schlafentzug schneller zum Tod als Nahrungsentzug (Siegel 2005). Bei Schlafdeprivationsuntersuchungen mit Menschen wurden solche fatalen Folgen nicht beobachtet. Allerdings konnte gezeigt werden, dass Schlafdeprivation und Deprivation selektiver Schlafstadien wie REM-Schlaf dazu führt, dass sich die Schlafstruktur verändert und Schlaf nachgeholt wird. Der Körper versucht, verlorenen Schlaf zu kompensieren (Siegel 2005). Beim Menschen wurden nach längerem akutem Schlafentzug unter anderem eine erhöhte Reizbarkeit, Konzentrationsschwierigkeiten, eine verzerrte Wahrnehmung, visuelle Halluzinationen und leichte somatische Störungen wie Kopf- und Rückenschmerzen beobachtet (Mullaney *et al.* 1983). Die genaue biologische Funktion des Schlafes ist bis heute nicht endgültig geklärt. Es gibt hierzu zahlreiche verschiedene Theorien, die sich nicht zwangsläufig gegenseitig ausschließen. Sie lassen sich in adaptive und restaurative Theorien unterteilen (Fleissner 1996).

Adaptive Theorien sehen die Entwicklung von Schlaf als einen evolutiven Schritt zur Optimierung der Überlebenschancen an (Fleissner 1996). Während der inaktiven Schlafepisoden könnten Fressfeinde gemieden oder Energieressourcen gespart werden (Siegel 2005). Die Fressfeind-Hypothese ist umstritten, da der Organismus durch die stark verminderte Wahrnehmungsfähigkeit während des Schlafens leichte Beute für ein Raubtier wäre (Kavanau 1997). Für die Hypothese des Energiesparens spricht, dass während des Schlafens zahlreiche physiologische Prozesse und Körperfunktionen wie Körpertemperatur, Blutdruck und Herzfrequenz herunterreguliert werden und dass viele Tierarten Winterschlaf halten. Restaurative Theorien besagen prinzipiell, dass das körperliche Gleichgewicht während des Wachzustands gestört wird und Schlaf daher die körperliche Regeneration fördert (Pinel 1997). Es wurde u. a. postuliert, dass Schlaf der Beseitigung reaktiver Sauerstoffspezies, dem Auffüllen zellulärer Energiereserven und der Festigung von Gedächtnisinhalten dient (Born *et al.* 2006; Crocker & Sehgal 2010).

Einleitung

Schlafstruktur und Schlafarchitektur

Der normale Nachtschlaf lässt sich in zwei unterschiedliche Stadien einteilen: den *rapid eye movement* (REM)-Schlaf und den *non-rapid eye movement* (NREM)-Schlaf. Nach dem klassischen Schema von Dement and Kleitman (1957) lassen sich im NREM-Schlaf wiederum vier Schlafstadien - Stadium 1, 2, 3 und 4 - unterscheiden. Die Weckschwelle und damit die Schlaftiefe nehmen von Stadium 1 zum Stadium 4 hin zu. REM- und NREM-Schlafphasen sowie die vier NREM-Stadien sind vor allem durch charakteristische elektrische Gehirnaktivität im Elektroenzephalogramm (EEG) gekennzeichnet, außerdem durch veränderte Augenbewegung im Elektrookulogramm (EOG) und Muskelspannung im Elektromyogramm (EMG). Diese Messwerte werden während der Polysomnographie (Schlafmessung) im Schlaflabor erhoben, die als „Goldstandard“ für Messmethoden in der Schlafforschung gilt.

Generell kann gesagt werden, dass die EEG-Muster mit zunehmender Schlaftiefe eine immer niedrigere Frequenz und eine immer größere Amplitude zeigen (Pinel 1997). In Abb. 3 sind typische Schlaf-EEG-Muster dargestellt, die die nächtlichen Schlafstadien definieren.

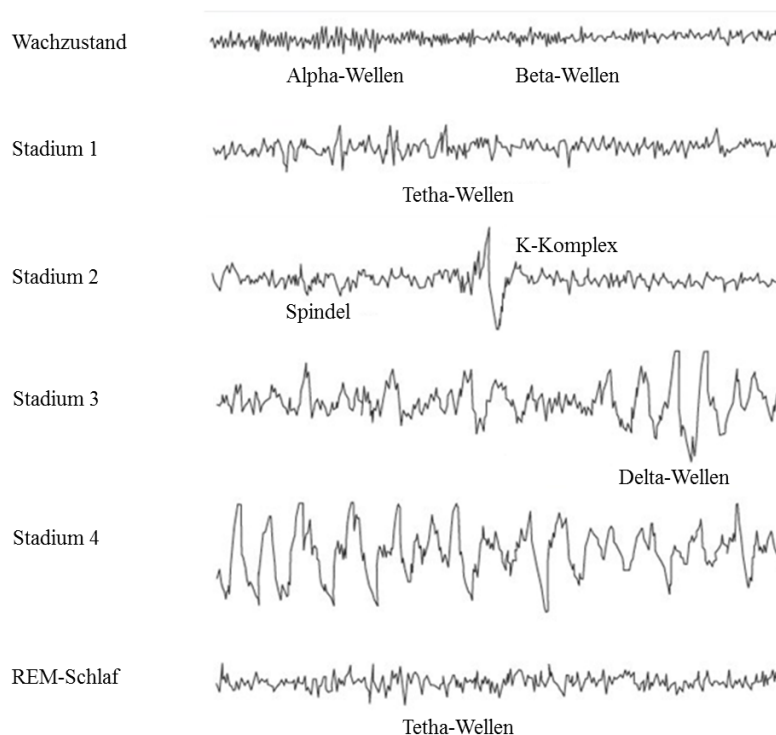


Abb. 3: Kennzeichnende EEG-Muster für unterschiedliche Nachtschlafstadien. Jede Aufzeichnung ist etwa 20 Sekunden lang (verändert nach: Schandry 1989).

Schlaf wird dem entspannten Wachzustand kurz vor dem Einschlafen gegenübergestellt. Im entspannten Wachzustand herrschen höherfrequente Wellen mit kleiner Amplitude (Beta-Wellen) vor, die gelegentlich von Alpha-Wellen mit etwas höherer Amplitude und niedrigerer Frequenz

Einleitung

unterbrochen werden. Kurze Wachphasen treten während der Schlafepisode immer wieder auf. Ca. 5 % der Nacht verbringt der Mensch im wachen Zustand (Kryger *et al.* 2011). Im NREM-Stadium 1 zeigen sich im EEG langsamere, höhere Theta-Wellen. Etwa 2 % bis 5 % des Nachtschlafes entsprechen dem Schlafstadium 1 (Kryger *et al.* 2011). Im Schlafstadium 2 treten typische Ausschläge im EEG auf, die Schlafspindeln und K-Komplexe genannt werden. Das Stadium entspricht dem leichten Schlaf und wird häufig als der eigentliche Schlafbeginn angesehen. Das Schlafstadium 2 nimmt etwa 45 bis 55 % der gesamten Schlafzeit ein (Kryger *et al.* 2011). Die Stadien 3 und 4 werden zusammen auch Tiefschlaf oder Delta-Schlaf genannt und zeigen im EEG Delta-Wellen mit hoher Amplitude und niedriger Frequenz. Wegen der Delta-Wellen werden diese Stadien auch als „langsam-welliger Schlaf“ (*slow wave sleep*, SWS) bezeichnet. Die beiden Stadien grenzen sich hauptsächlich durch den Anteil an Delta-Wellen im EEG-Bild voneinander ab. Bei einem Anteil zwischen 20 % und 50 % spricht man von Stadium 3 (Kryger *et al.* 2011), bei über 50 % von Stadium 4 (Birbaumer & Schmidt 1999). Etwa 20 % des Nachtschlafes werden im Tiefschlaf verbracht (Kryger *et al.* 2011). Je mehr Schlafzeit im Delta-Schlaf verbracht wird, desto höher ist die Intensität und damit die Erholbarkeit des Schlafes (Achermann 2004). Neben einem EEG mit niedriger Amplitude und gemischten Frequenzen, das dem des Wachzustandes ähnelt, sind die kennzeichnenden Merkmale für den REM-Schlaf das Auftreten rascher Augenbewegungen (den *rapid eye movements*) und der beinahe vollständige Verlust der Muskelspannung. Im REM-Schlaf scheinen besonders häufig Traumphasen durchlebt zu werden, weshalb dieses Schlafstadium auch Traumschlaf genannt wird. Der erwachsene Mensch verbringt circa 20 % bis 25 % seiner Schlafzeit im REM-Schlafstadium (Kryger *et al.* 2011). Die angegebenen Anteile der Schlafstadien am Gesamtschlaf sind inter- und intraindividuell sehr variabel.

Im Laufe der Nacht kommt es zu einer sich wiederholenden, rhythmischen Abfolge von REM- und NREM-Schlaf, den Schlafzyklen oder REM-NREM-Zyklen. Ein einzelner REM-NREM-Zyklus dauert im Mittel 90 min und während des Nachtschlafes werden etwa fünf solcher Zyklen durchlaufen (Waterhouse *et al.* 2012). Die Aufzeichnung der nächtlichen Abfolge der verschiedenen Schlafstadien in einem EEG wird als Schlafprofil (Hypnogramm) bezeichnet. In Abb. 4 ist das schematische Schlafprofil eines gesunden, erwachsenen Menschen mit regelmäßigem Schlaf-Wach-Zyklus und acht Stunden Nachtschlaf dargestellt.

Einleitung

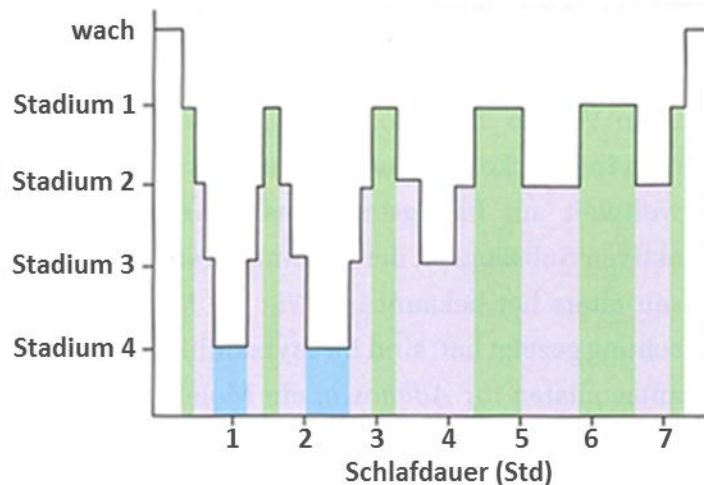


Abb. 4: Der schematische Verlauf des normalen achtstündigen Nachtschlafes in Schlafzyklen (REM-NREM-Zyklen). Weiß = Wachphasen, grün = REM-Schlaf-Phasen, grau = Schlafstadien 2 und 3, blau = Schlafstadium 4 (Quelle: Silverthorn 2009).

Der nächtliche Schlaf beginnt üblicherweise mit einem NREM-Schlafstadium (Kryger *et al.* 2011). In einem Schlafzyklus werden zunächst die einzelnen NREM-Stadien nach zu- und wieder abnehmender Schlaftiefe und anschließend eine REM-Phase durchlaufen. Ein neuer Zyklus beginnt mit dem erneuten Übergang in den NREM-Schlaf. Im Laufe der Nacht verändert sich die Verteilung der Schlafstadien. In der ersten Nachthälfte bzw. in den ersten Schlafzyklen kommt es vermehrt zu Tiefschlaf und es gibt nur kurze REM-Phasen. Während der zweiten Nachthälfte nimmt die Tiefe des NREM-Schlafes ab und Schlafstadium 2 überwiegt, während die REM-Phasen länger werden.

Regulierung des Schlaf-Wach-Zyklus

Die zeitliche Lage des Schlafes innerhalb eines 24 Stunden-Tages (*sleep timing*), die Schlafdauer, Schlafstruktur und Schlaftiefe werden nach dem „Zwei-Prozess-Modell der Schlafregulierung“ (*two process model of sleep regulation*) (Borbély 1982) durch die Interaktion des circadianen hypothalamischen Oszillators (CO) und eines homöostatischen Oszillators (HO) reguliert (Crowley 2011; Dijk & Lockley 2002). Der Einfluss des CO auf den Schlaf wird auch als Prozess C (circadian) bezeichnet, der Einfluss des HO als Prozess S (*sleep homeostat*). Während der CO in den SCN beheimatet ist, lässt sich der HO keiner anatomisch begrenzten Region im Körper zuordnen. Er ist besser als Prozess vorstellbar, der ein homöostatisches Gleichgewicht im Körper aufrechterhält. Weicht das Milieu im Körper zu stark von diesem Gleichgewicht ab, schwingt der HO ähnlich einem Uhrglas um (Dijk & von Schantz 2005). Als Korrelate des HO werden Substanzen angesehen, die sich im Wachzustand im Körper ansammeln, z. B. Adenosin (Basheer *et al.* 2000).

Unter synchronisierenden Umwelteinflüssen (d. h. bei Vorhandensein eines Licht-Dunkel-Zyklus und sozialer Rhythmen) bestimmen einander entgegengesetzte Veränderungen des circadianen und des

Einleitung

homöostatischen Schlafbedürfnisses Beginn und Ende des Schlafes und viele damit zusammenhängende Variablen (z. B: Schlafdauer, -struktur und -tiefe) (Abb. 5) (Dijk & von Schantz 2005). Welcher der Oszillatoren Einfluss auf welchen Aspekt des Schlafes hat, kann durch Untersuchungen bestimmt werden, in denen der Einfluss des jeweils anderen Oszillators beseitigt oder konstant gehalten wird. Die meisten Aspekte des Schlafs bzw. des Schlaf-Wach-Zyklus werden durch **beide** Oszillatoren beeinflusst, das Ausmaß dieses Einflusses unterscheidet sich jedoch in vielen Fällen. Bestimmte Variablen gelten daher als Marker für die Aktivität und Phase eines der beiden Schrittmacher.

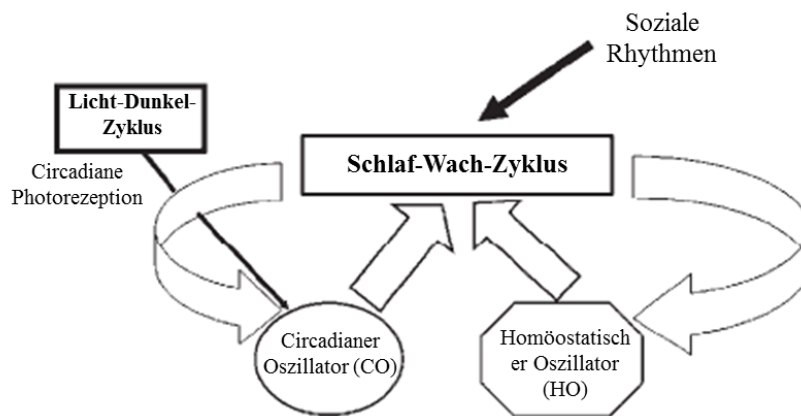


Abb. 5: Der Schlaf-Wach-Zyklus wird durch das Zusammenspiel externer Rhythmen (z. B. Licht-Dunkel-Zyklus oder soziale Rhythmen), des circadianen Oszillators (CO) in den SCN und des homöostatischen Oszillators (HO) reguliert. Unter dem Einfluss externer Rhythmen sind die Phasen des CO und des HO miteinander synchronisiert. Die Rückkopplung vom Schlaf-Wach-Zyklus selbst beeinflusst wiederum beide Oszillatoren (verändert nach: Dijk & von Schantz 2005).

Die Schlafbereitschaft oder das Schlafbedürfnis (*sleep propensity*) hängt sowohl von der im Wachzustand verbrachten Zeit als auch der circadianen Phase ab (Abb. 6) (Dijk & von Schantz 2005).

Einleitung

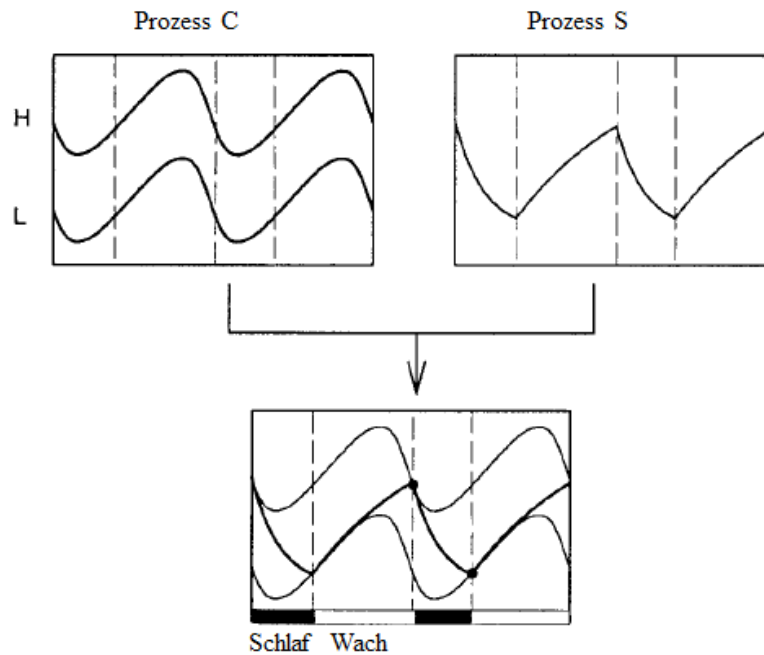


Abb. 6: Das Zwei-Prozess-Modell der Schlafregulierung. Prozess S (das homöostatische Schlafbedürfnis) steigt während des Wachzustandes an und sinkt während des Schlafens. Die circadiane Schwingung von Prozess C erzeugt zwei Schwellen H und L. Durch das Zusammenspiel der beiden Prozesse werden Schlafbeginn und Schlafende bestimmt (verändert nach: Achermann 2004).

Während eines im Wachzustand verbrachten Tages steigt das homöostatische Schlafbedürfnis an. Diesem Anstieg wirkt eine Art circadianes Wachsignal oder „Wachbedürfnis“ (*wake propensity*) entgegen (Dijk & Czeisler 1994). Dieses Wachsignal bildet zwei Schwellen L und H (Achermann 2004; Daan *et al.* 1984). Das Wachsignal steigt bis zu einem Maximum am Ende des biologischen Tages, kurz vor Beginn der nächtlichen Melatoninsekretion (einem circadianen Signal zum Einsetzen des Schlafes). Das homöostatische Schlafbedürfnis ist in dieser circadianen Phase hoch (Dijk & von Schantz 2005). Wenn es die Schwelle H erreicht, führt die Kombination mit dem gleichzeitig abfallenden Wachsignal zu einem deutlichen Anstieg des Schlafbedürfnisses. Ein „Fenster zum Schlaf“ wird geöffnet und der Schlaf setzt ein (Achermann 2004; Daan *et al.* 1984; Dijk & von Schantz 2005).

Das homöostatische Schlafbedürfnis nimmt nach Schlafbeginn ab. Gleichzeitig sinkt das circadiane Wachsignal (damit steigt das circadiane Schlafbedürfnis) bis zu einem Minimum am Ende der biologischen Nacht etwa um den Tiefpunkt der Körperkerntemperatur (Dijk & Czeisler 1994), woraufhin es wieder ansteigt. Anders ausgedrückt wirkt während einer nächtlichen Schlafepisode der schlafbedingten Abnahme des homöostatischen Schlafbedürfnisses eine Zunahme des circadianen Schlafbedürfnisses entgegen, was die Aufrechterhaltung des Schlafzustandes bis zum Ende der gewöhnlichen Schlafepisode erleichtert (Dijk & von Schantz 2005). Wenn das homöostatische

Einleitung

Schlafbedürfnis die durch das circadiane Signal gestellte Schwelle L erreicht, öffnet sich ein „Tor zum Erwachen“ und der Schlaf wird beendet (Daan *et al.* 1984; Dijk & von Schantz 2005).

Die Länge und die zeitliche Lage des Schlafes innerhalb der Tagesperiodik (das *sleep timing*) sind von der circadianen Phase abhängig (Crocker & Sehgal 2010; Czeisler *et al.* 1999; Kryger *et al.* 2011). Die Tiefe des Schlafes und z. T. auch die Dauer werden als Ausdruck des homöostatischen Oszillators, also des durch längere Wachheit entstehenden Schlafbedürfnisses, gesehen (Crocker & Sehgal 2010). Korrelate des HO sind der Anteil von SWS am Gesamtschlaf und die „*slow wave activity*“ (SWA, auch *delta power*), zwei Faktoren, die die Tiefe des Schlafes beschreiben (Achermann 2004; Crocker & Sehgal 2010; Crowley 2011). Der Begriff SWA bezieht sich auf die Frequenz und Amplitude der Delta-Wellen. Je höher (Amplitude) und langsamer (geringere Frequenz) diese Delta-Wellen sind, desto höher ist die SWA, desto größer das Schlafbedürfnis. Kommt es nach längeren Phasen der Schlafdeprivation zu Erholungsschlaf, ist dieser nicht länger, sondern effizienter. Das bedeutet, der Anteil an Tiefschlaf an der Gesamtschlafdauer ist höher. Tageszeitliche Schlafepisoden schwächen den homöostatischen Schlafdruck ab und können somit die Struktur des Nachtschlafes verändern.

Die circadiane Phase, in der der Schlaf stattfindet, beeinflusst die Verteilung der Schlafstadien (Kryger *et al.* 2011). REM-Schlaf findet vermehrt in den frühen Morgenstunden statt, um den Zeitraum, in dem auch der circadiane Rhythmus der Körperkerntemperatur ein Minimum erreicht (Czeisler *et al.* 1980b; Kryger *et al.* 2011). Dagegen liegen Tiefschlaf-Phasen bevorzugt in der ersten Hälfte des normalen Nachtschlafes. Wird der Zeitpunkt des Einschlafens in die frühen Morgenstunden verschoben, herrscht im EEG REM-Schlaf vor und kann sogar zu Schlafbeginn auftreten (Kryger *et al.* 2011).

Schlafqualität

Der Begriff „Schlafqualität“ umfasst quantitative Aspekte des Schlafs, wie die Schlafdauer, die Einschlaf latenz, die Schlafeffizienz und die Häufigkeit und Dauer nächtlichen Erwachens. Nicht weniger wichtig ist hier das subjektive Empfinden über Tiefe und Erholbarkeit des Schlafes (Buysse *et al.* 1989; Pilcher *et al.* 1997). Menschen scheinen eine klare Vorstellung davon haben, ob sie gute oder schlechte Schläfer sind (Monroe 1967). Es gibt allerdings nur wenige Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen subjektiver Schlafqualität und objektiven Schlafparametern (Åkerstedt *et al.* 2008) und subjektive Schätzungen des eigenen Schlafes weichen häufig von objektiven polysomnographischen Messungen ab (Baker *et al.* 1999). Einheitliche Grenzen in absoluten Werten für eine Einteilung in gute und schlechte Schläfer sind nicht gesetzt. Als Marker für eine gute Schlafqualität werden am häufigsten eine lange Schlafdauer, eine hohe Schlafeffizienz und ein hoher Anteil an SWS am Nachtschlaf herangezogen (Åkerstedt *et al.* 2008). Die Schlafeffizienz beschreibt

Einleitung

das Verhältnis von im Bett verbrachter Zeit zu tatsächlich schlafend verbrachter Zeit. Auch eine kurze Einschlaf latenz scheint wichtig für einen als gut empfundenen Schlaf zu sein (Baker *et al.* 1999; Monroe 1967).

1.4 Die Körpertemperatur

1.4.1 Die Körperkerntemperatur

Auch die Körperkerntemperatur (KKT) folgt beim Menschen wie bei anderen Säugern einem 24 Stunden-Rhythmus. Ihr Tagesgang ist bereits bei Säuglingen ab dem 5. bis 10. Lebenstag nachweisbar (Aschoff 1955), die vollständige Ausprägung des Rhythmus erfolgt jedoch erst innerhalb der ersten zwei Lebensjahre (Kleitman *et al.* 1937). Als endogen generierter Rhythmus bleibt eine Temperaturperiodik auch bei völliger Bettruhe und fehlenden äußeren Zeitgebersignalen erhalten (Aschoff 1955).

Aschoff *et al.* (1967) beschrieben den Verlauf der Körperkerntemperatur eines erwachsenen Menschen mit einer Zubettgehzeit von 23:00 Uhr und einer Aufwachzeit von 07:00 Uhr in einer Umgebung mit natürlichem Zeitgeber-Einfluss. Hier hat die Körperkerntemperatur gegen 04:00 Uhr morgens ihr Minimum von 36,5 °C, steigt dann bis um 09:00 Uhr auf circa 37,2 °C und weiter bis zu einem Maximum von 37,4 °C um 20:00 Uhr an. Ab dann sinkt die Temperatur, bis sie etwa drei Stunden vor dem morgendlichen Erwachen wieder ihr Minimum von 36,5°C erreicht. Kräuchi and Wirz-Justice (1994) beobachteten den Verlauf der Körperkerntemperatur über 24 Stunden bei acht gesunden jungen Männern unter konstanten Laborbedingungen, d. h. bei möglichst völligem Fehlen von Zeitgeber-Einflüssen (*constant routine, CR*). Hier erreichte die rektal gemessene Körperkerntemperatur ihr Maximum zwischen 21:00 und 22:00 Uhr, ihr Minimum zwischen 05:00 und 06:00 Uhr morgens. Die Schwankungsbreite der KKT lag in dieser Studie bei 0,44 °C.

Die KKT wird häufig als Referenzrhythmus für die Bestimmung der circadianen Phasenlage genutzt (z. B. Dawson *et al.* 1992; Kräuchi & Wirz-Justice 1994). Die genaueste Messung der KKT erfolgt rektal. Häufig ist für Fragestellungen jedoch nicht der absolute Wert der KKT von Interesse, sondern deren Veränderungen über den Tag hinweg. Es gilt dabei als ausreichend, diesen Verlauf an einer repräsentativen Stelle zu messen (Refinetti & Menaker 1992). Da die orale Temperatur zuverlässig den Verlauf der Körperkerntemperatur widerspiegelt, wird meist die Mundhöhle als alternativer Messort gewählt.

Die Kontrolle der KKT ist eng mit der Kontrolle des Schlafes verknüpft und wird ebenfalls auf zwei verschiedene Weisen reguliert. Zum einen durch das circadiane System, zum anderen durch Homöostase, d. h. die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtszustandes in einem offenen dynamischen System. Der circadiane Rhythmus der KKT wird durch ein periodisch variierendes

Einleitung

Wechselspiel von Wärmeproduktion und -abgabe generiert (Kräuchi & Deboer 2011; Kräuchi & Wirz-Justice 1994). Durch den Hypothalamus wird ein Sollwert für die KKT vorgegeben. Melden temperaturempfindliche Neurone im Hypothalamus eine Abweichung von diesem Sollwert, gibt dieser das Signal zur Ausschüttung verschiedener Hormone - darunter Melatonin - die die Wärmeproduktion und Wärmeabgabe in der Peripherie über die Erweiterung der Blutgefäße (Vasodilatation) in der Haut regulieren (Kräuchi 2002; Kräuchi *et al.* 1997a; Weinert 2010). Die Verringerung der KKT wird in hohem Maße durch einen gesteigerten Blutfluss in der Haut verursacht, der zum Wärmeverlust und einer begleitenden Hauterwärmung führt (Raymann *et al.* 2007).

1.4.2 Die periphere Hauttemperatur

Bedingt durch den Regulationsmechanismus der KKT ist der Verlauf der Hauttemperatur funktional eng mit dem Verlauf der KKT verknüpft. Bei der Regulierung der KKT scheint die Wärmeproduktion eine untergeordnete Rolle zu spielen. Bei einem Körper in Ruhe können ca. 75 % der Variation der Körperkerntemperatur allein durch Veränderungen bei der Wärmeabgabe erklärt werden (Aschoff & Heise 1972). Wärme wird vor allem über die distalen Regionen des Körpers abgegeben. Darunter fallen die Hände (bzw. Finger) und die Füße (Zehen) (Kräuchi & Deboer 2011). Die Temperatur an rumpfnahen Hautstellen (z.B. Stirn und Oberschenkel) wird als proximale periphere Hauttemperatur (proximale PHT), die der äußeren Extremitäten als distale periphere Hauttemperatur (distale PHT) bezeichnet.

Im Gegensatz zu Blutgefäßen in den proximalen Hautregionen befinden sich an Kapillaren in den distalen Hautregionen (Finger und Zehen) sogenannte arteriovenöse Anastomosen (AVAs) (Kräuchi & Deboer 2011). Dies sind Verbindungen zwischen den Kapillaren und den angrenzenden Venen. Öffnen sie sich, so sinkt der Gefäßdruck in den äußersten Bereichen des Gefäßnetzes. Das führt dazu, dass Blut aus den inneren Körperregionen leichter nach außen transportiert werden kann und somit die Wärmeabgabe erleichtert wird. Der Blutstrom vom Kern in die distalen Regionen steigt, was zu einem Verlust von Körperwärme und damit zum Absinken der Körperkerntemperatur führt (Hales 1985; Kräuchi 2007).

Als Indikator für die Effizienz der Wärmeabgabe kann der Gradient „distale minus proximale Hauttemperatur“ oder distal-proximaler Hauttemperaturgradient (DPG) gebildet werden (Kräuchi *et al.* 2000; Kräuchi & Deboer 2011). Der DPG hat sich als Indikator für den distalen Blutfluss und damit die Effizienz der Wärmeabgabe etabliert (Gompper *et al.* 2010) und ist vielleicht eines der besten Korrelate des Schlafbedürfnisses (Hasselberg *et al.* 2013; Kräuchi *et al.* 2000).

Unter konstanten Laborbedingungen verläuft die proximale Hauttemperatur an Kopf, Rumpf und Oberschenkel weitgehend parallel zur Körperkerntemperatur (Abb. 7) und hat eine ähnliche Amplitude (Aschoff 1955; Aschoff & Heise 1972; Kräuchi & Wirz-Justice 1994).

Einleitung

Im Gegensatz dazu verläuft die distale Hauttemperatur antiphasisch zur KKT (Abb. 7) und hat eine größere Amplitude (Kräuchi & Wirz-Justice 1994) und ist im Vergleich zum KKT-Rhythmus phasenbeschleunigt, d.h. sie geht diesem voraus. In Feldstudien, bei denen Probanden während ihres normalen Alltagslebens (mit Schlafepisoden) untersucht werden sowie in Laborstudien, in denen schlafen erlaubt ist, folgt die proximale Hauttemperatur eher dem Verlauf der distalen PKT (Gompper *et al.* 2010; Kräuchi & Wirz-Justice 2001) (Abb. 7). Bei Gompper *et al.* (2010) zeigen proximale wie distale Hauttemperaturen ihr Maximum in der Nacht und Minima während des Tages, mit einem zusätzlichen Peak gegen 16:00 Uhr. Bei Kräuchi and Wirz-Justice (1994) liegt das Minimum der am Fuß gemessenen distalen Hauttemperatur zwischen 15:00 und 16:00 Uhr (33,39 °C) und das Maximum zwischen 06:00 und 07:00 Uhr morgens (34,38 °C). Die Hauttemperatur an der Hand erreicht zwischen 14:00 und 15:00 Uhr ihr Minimum (31,21 °C) und das Maximum zwischen 00:00 und 01:00 Uhr nachts (32,13 °C). Die am Oberschenkel gemessene proximale Hauttemperatur schließlich hat ein Minimum zwischen 01:00 und 02:00 Uhr nachts (33,47 °C) und ein Maximum zwischen 12:00 und 13:00 Uhr (34,31 °C).

Da die Haut die Grenzlinie zwischen Körper und Außenwelt bildet, ist die PHT stärker äußeren Einflüssen ausgesetzt als die KKT. Die Amplitude der distalen Hauttemperatur ist etwa dreimal größer als die der KKT. Im Gegensatz dazu haben Schwankungen der proximalen Hauttemperatur eine ähnliche Schwankungsbreite wie die KKT (Kräuchi *et al.* 2006; Kräuchi & Wirz-Justice 1994). Der Verlauf der Hauttemperaturen variiert zwischen Personen, aber auch von Tag zu Tag, stärker als der der Körperkerntemperatur und ist so schwerer auf eine bestimmte Form festzulegen (Aschoff 1955). Allerdings gibt es bis heute noch keine genaue und gleichzeitig nicht-invasive Methode zur Messung der Körperkerntemperatur über einen längeren Zeitraum (Hasselberg *et al.* 2013). Als Marker-Rhythmus (d. h. als Rhythmus, anhand dessen Phasenlage die zeitliche Lage der inneren Rhythmik eingeschätzt werden kann) über einen längeren Zeitraum wird deshalb auch die periphere Hauttemperatur vorgeschlagen.

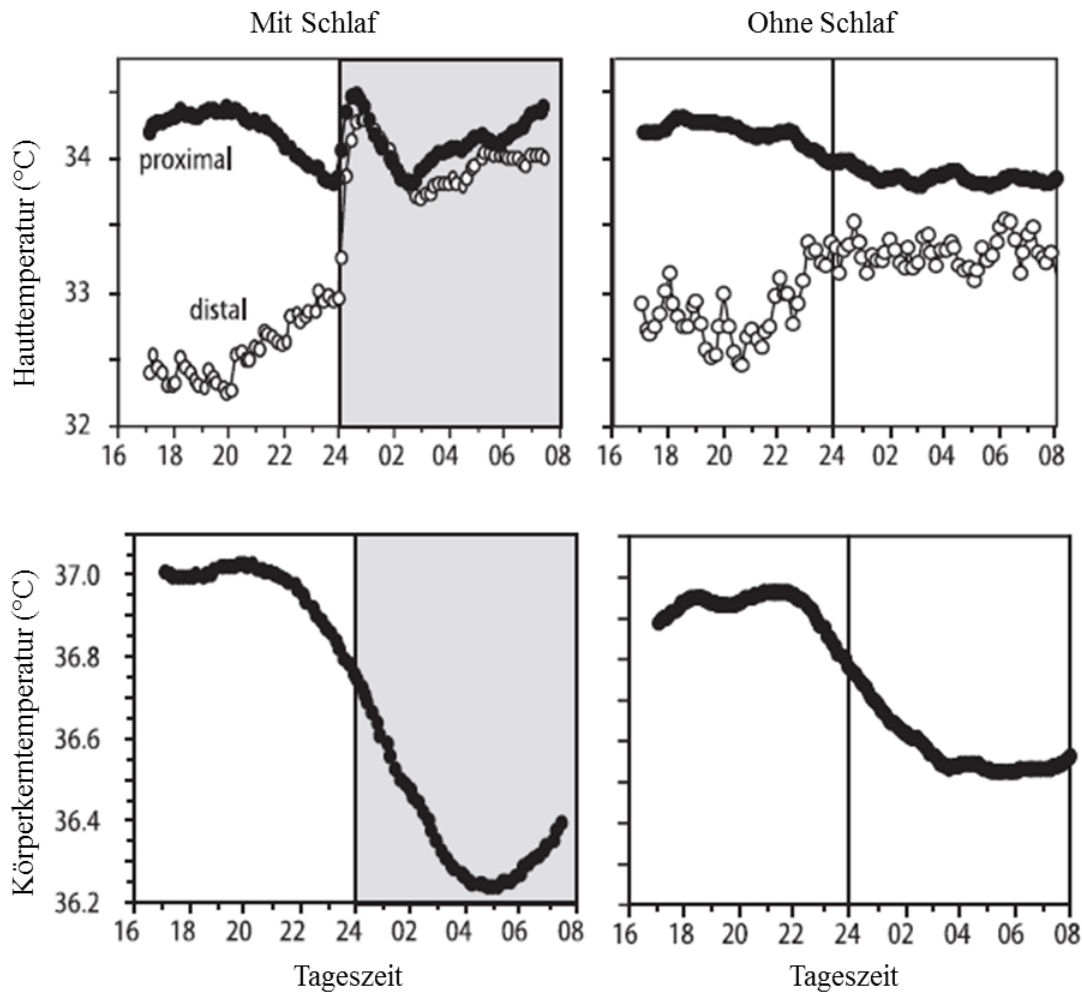


Abb. 7: Zeitlicher Verlauf der distalen und proximalen Hauttemperatur und Körperkerntemperatur mit und ohne Schlaf (grau hinterlegt). Distale und proximale Hauttemperatur zeigen nach dem Löschen des Lichts (Schlaf) einen parallelen Anstieg, während die Körperkerntemperatur abfällt. Ohne Schlaf folgt die proximale Hauttemperatur der Körperkerntemperatur, die einen weniger starken Abfall zeigt (verändert nach: Kräuchi 2002).

Die periphere Hauttemperatur im Zusammenhang mit Schlaf und Körperkerntemperatur

Sowohl die Einleitung des Schlafes als auch dessen Aufrechterhaltung und Ende sind zeitlich eng verbunden mit den circadianen Rhythmen der KKT und der distalen PHT (Kräuchi *et al.* 1999, 2000; Raymann *et al.* 2007). Am leichtesten fällt das Einschlafen am Abend und in der Nacht, wenn die KKT fällt bzw. niedrig ist. Am schwierigsten ist es am Morgen oder Nachmittag, wenn die KKT steigt bzw. hoch ist (Waterhouse *et al.* 2012). Unter natürlichen Bedingungen (unter Zeitgebereinfluss) wird der nächtliche Schlaf typischerweise fünf bis sechs Stunden vor dem Nadir der KKT eingeleitet (Czeisler *et al.* 1980a; Zully *et al.* 1981) und kurz nach Erreichen des Nadirs (Kräuchi & Wirz-Justice 1994).

Einleitung

Die maximale Rate des Abfalls der KKT, in die normalerweise der Schlafbeginn fällt, hängt wiederum in hohem Maße von einem Anstieg der distalen Hauttemperatur im Zuge der Wärmeabgabe ab (Kräuchi & Wirz-Justice 1994; Raymann *et al.* 2007). Es wird vermutet, dass es weniger der steile Abfall der KKT ist, sondern die zugrunde liegende Steigerung des Blutflusses bzw. der Wärmeabgabe über die Haut, die ursächlich der Zunahme des Schlafbedürfnisses und der Fähigkeit zur Einleitung und Aufrechterhaltung von Schlaf zugrunde liegt (Raymann *et al.* 2007; Van Someren 2000a). In einer Reihe von Laborstudien unter kontrollierten Bedingungen konnten Kräuchi und Kollegen (Kräuchi *et al.* 1999, 2000) zeigen, dass sowohl ein stärkerer Anstieg der distalen Hauttemperaturen als auch ein höherer DPG (Grad des Wärmeverlusts an Händen und Füßen relativ zum proximalen Teil des Körpers) stark mit einer darauf folgenden kürzeren Einschlaf latenz korrelieren.

Der Anstieg der Hauttemperatur der distalen Körperbereiche geschieht bereits vor dem Einschlafen und ist auch ohne Schlaf präsent und mit einer erhöhten Schläfrigkeit verbunden. Verstärkt wird er jedoch durch das Verhalten bei der Vorbereitung auf den Schlaf. Dies beinhaltet einen Positionswechsel von aufrecht stehend zu liegend, das Schaffen eines warmen Mikroklimas durch Zudecken und das Löschen des Lichts als Signal für Entspannung (Kräuchi *et al.* 1999). Verschiedene Studien beobachteten die Auswirkungen von experimenteller Erwärmung des Körpers bzw. der distalen Hautregionen auf den Schlaf. So konnten Sung and Tochiara (2000) zeigen, dass das künstliche Erwärmen des ganzen Körpers oder des unteren Teils der Beine vor der Zubettgehzeit zwar die KKT nur geringfügig veränderte, jedoch eine erhöhte Hauttemperatur in der ersten Nachthälfte und damit verbunden eine kürzere Einschlaf latenz bewirkte. In einer Studie von Raymann *et al.* (2008) unterdrückte die thermale Stimulation der Peripherie nächtliches Erwachen und verschob den Schlaf in tiefere Stadien. Dieser schlaffördernde Aspekt scheint durch die Stimulation wärmesensitiver, den Erregungszustand des Körpers beeinflussender Neurone im präoptischen anterioren Hypothalamus (POAH) durch Informationen zur Hauttemperatur über afferente Nervenbahnen ausgelöst zu werden (Alam *et al.* 1995; McGinty & Szymusiak 2001).

1.5 Cortisol

Cortisol ist eines der wichtigsten Glucocorticoide (GCs) und eines der einflussreichsten Hormone im menschlichen Körper (Clow *et al.* 2010; Fries *et al.* 2009). Das Hormon wird in der *Zona fasciculata* der Nebennierenrinde gebildet und von dort kontinuierlich pulsatil und circadian fluktuierend abgegeben (Silverthorn 2009). Bei einem typischen tagesrhythmischen Verlauf der Cortisol-Konzentration zeigen sich die höchsten Werte 30 bis 60 min nach dem Aufwachen. Es folgt über den Tag hinweg ein zunehmend flacher werdendes Absinken bis die Cortisol-Konzentration etwa um Mitternacht ein Tief erreicht (Clow *et al.* 2004; Persson *et al.* 2008; Schultes & Fehm 2004; Weitzman *et al.* 1971; Wilhelm *et al.* 2007). Etwa 60-70 % der Variation der Cortisolwerte über einen Tag hinweg können allein durch die Tageszeit erklärt werden (Clow *et al.* 2004).

Einleitung

Cortisol wird über die Zwischenstufen Pregnenolon und Progesteron aus Cholesterin gebildet (Silverthorn 2009). Das Hormon hat eine Vielzahl von Wirkungen auf den Stoffwechsel, die hauptsächlich das Ziel haben, den Blutzuckerspiegel zu steigern und damit eine Unterzuckerung zu verhindern. So fördert Cortisol die Glukoneogenese in der Leber, verursacht den Abbau von Proteinen in der Skelettmuskulatur und fördert den Abbau von Fetten. Cortisol hat zudem eine immunsuppressive Wirkung, beeinflusst die Durchblutung des Gehirns und übt generell Einfluss auf vaskuläre Funktionen aus (Fries *et al.* 2009; Silverthorn 2009).

Cortisol gelangt nach der Synthese über Diffusion in das Blutplasma (Silverthorn 2009). Dort liegen nur 10 % des Hormons frei vor, 75% sind an ein Corticosteroid-bindendes Globulin gebunden, 15% an Albumin (URL2). In seiner gebundenen Form ist Cortisol inaktiv, nur nicht-gebundenes Hormon kann in die Zielzellen diffundieren und dort seine Wirkung entfalten (Silverthorn 2009). Cortisol bindet in seinen Zielzellen an Glucocorticoidrezeptoren (GRs) im Cytoplasma, die in nahezu allen Körperzellen zu finden sind. Der Cortisol-GR-Komplex transloziert dann in den Zellkern, wo er an Glucocorticoid-Response-Elemente (*Glucocorticoid Responsive Elements*, GREs) im Promotor seiner Zielgene bindet und so deren Genexpression verändert (Nader *et al.* 2010).

Die Regulation der Cortisolausschüttung erfolgt über die Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse (*hypothalamus-pituitary-adrenal axis*, HPA-Achse) (Abb. 8). Diese unterliegt zum einen der circadianen Regulation (Weitzman *et al.* 1971), zum anderen ist sie ein essentieller Teil des Stress-Systems im menschlichen Körper. Ihre Endeffektoren sind Glucocorticoide, vor allem Cortisol (z. B. Chrousos 2009). Die HPA-Achse beginnt mit der Ausschüttung des Corticotropin Releasing Hormons (CRH) im Hypothalamus, das die Ausschüttung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen stimuliert. ACTH führt in der Nebennierenrinde zur Bildung und Ausschüttung von Cortisol. Cortisol hemmt schließlich die Ausschüttung von CRH und ACTH und somit am Ende seine eigene Synthese (Silverthorn 2009).

Einleitung

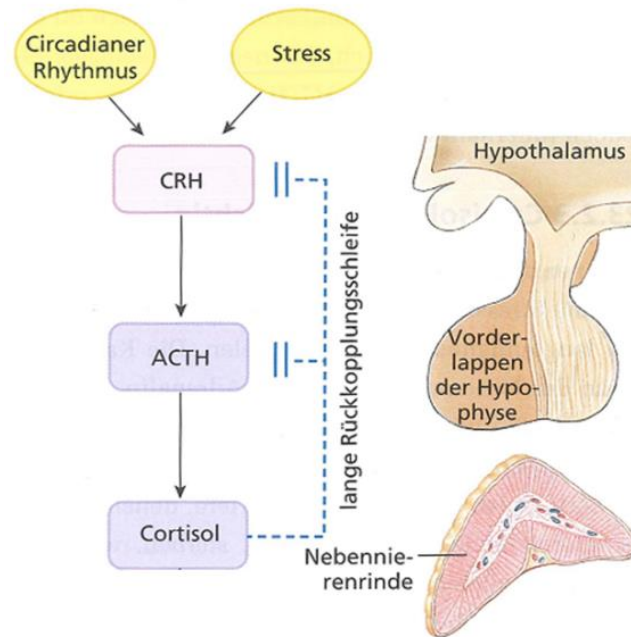


Abb. 8: Darstellung der HPA-Achse und der Bildungsorgane der Hormone Corticotropin Releasing Hormon (CRH), adrenocorticotropes Hormon (ACTH) und Cortisol. Cortisol hemmt durch negative Rückkopplung (Feedback) die Produktion der Hormone CRH und ACTH und damit seine eigene Produktion (verändert nach: Silverthorn 2009).

Anders als z. B. Katecholamine reagiert das HPA- bzw. Cortisolsystem träger und über längere Zeiträume hinweg, da es über die Genexpression wirkt. Die Hormone der Nebennierenrinde und besonders Cortisol spielen dadurch eine Rolle bei lang anhaltendem Stress (Silverthorn 2009).

Da die HPA-Achse sensitiv auf Stressoren reagiert, kann die Cortisol-Konzentration ein wichtiger Hinweis darauf sein, wie gut sich ein Individuum an physische und psychische Anforderungen der Umgebung anpassen kann (Persson *et al.* 2008). Die Konzentration von Cortisol im Speichel als Endprodukt der HPA-Achse wird daher als Indikator für deren Funktion und Aktivität angesehen (Persson *et al.* 2008; Theorell 2003). Eine chronische Aktivierung der HPA-Achse (und damit eine lang anhaltend hohe Cortisol-Konzentration) kann zu gesundheitlichen Problemen führen, wie z. B. viszeraler Adipositas und Insulinresistenz (Chrousos 2009; Chrousos & Kino 2007).

Pruessner *et al.* (1997) beschrieben einen Anstieg der Cortisol-Konzentration im Speichel um 50 bis 100 % in den ersten 30 bis 45 min nach dem morgendlichen Erwachen (Clow *et al.* 2004; Pruessner *et al.* 1997). Dieses Phänomen wird als Cortisol-Aufwachreaktion (*Cortisol Awakening Response*, CAR) bezeichnet und scheint ein eigenständiger Vorgang zu sein, der zwar durch circadiane Einflüsse moduliert wird, den circadianen Cortisol-Rhythmus jedoch überlagert (Fries *et al.* 2009; Wilhelm *et al.* 2007). Die CAR wird bei circa 75 % der gesunden Erwachsenen beobachtet (Fries *et al.* 2009) und

Einleitung

ist ein intra-individuell stabiles (Wüst *et al.* 2000b), erblich beeinflusstes Phänomen (Wüst *et al.* 2000a). Die CAR wird als ein verlässliches Maß für die akute Reaktivität der HPA-Achse bzw. für Veränderungen in deren Regulation angesehen (Dockray *et al.* 2008; Fries *et al.* 2009; Riva *et al.* 2012). Zu der Frage, in welcher Weise die CAR durch individuelle Merkmale und krankheits- und verhaltensbedingte Faktoren beeinflusst wird, existieren zahlreiche Studien, deren Ergebnisse divers und teilweise widersprüchlich sind (Übersichten z. B. in Clow *et al.* 2004; Fries *et al.* 2009).

Oft werden der Cortisol-Morgenwert (d. h. die Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen), die Steigung der Cortisol-Konzentration über den Tag hinweg (der *slope of decline*) und die CAR als Kenngrößen herangezogen, um das tägliche Cortisol-Profil zu definieren (Adam *et al.* 2006; Clow *et al.* 2004).

1.6 Uhrengene

Ein Gen ist ein Abschnitt auf der DNA, der die Information zur Bildung einer biologisch aktiven RNA enthält. Uhrengene sind Gene, die durch ihre Interaktion miteinander eine autoregulatorische Rückkopplungsschleife bilden, in der der Aktivierungs- und Repressionszyklus etwa 24 Stunden dauert (Albrecht & Ripperger 2008).

Es wird angenommen, dass etwa 10 % der Gene im menschlichen Genom unter circadianer Kontrolle stehen, also oszillieren (Panda *et al.* 2002). In Tab. 1 ist eine Auswahl von wichtigen für den Menschen bekannten Uhrengenen aufgeführt. Uhrengene wurden beim Menschen unter anderem in Mundschleimhaut (z. B. Bjarnason *et al.* 2001), Blutzellen (z. B. James *et al.* 2007), Zellen des Knochenmarks (Tsinkalovsky *et al.* 2007), Skelettmuskel (Zambon *et al.* 2003), Adipocyten (Gómez-Abellán *et al.* 2008) und Krebszellen (z. B. Chen *et al.* 2005) untersucht und beschrieben.

Tab. 1: Eine Auswahl bekannter Uhrengene beim Menschen. Angegeben sind jeweils der Name des Gens und die gebräuchliche Abkürzung.

Name des Gens	Abkürzung
Humanes Brain and Muscle ARNT-like 1	<i>hBMAL1</i> bzw. <i>hARNTL</i>
Humanes Brain and Muscle ARNT-like 2	<i>hBMAL2</i>
Humanes Circadian Locomotor Output Cycles Kaput	<i>hCLOCK</i>
Humanes Cryptochrom circadian clock 1	<i>hCRY1</i>
Humanes Cryptochrom circadian clock 2	<i>hCRY2</i>
Humanes Period circadian clock 1	<i>hPER1</i>
Humanes Period circadian clock 2	<i>hPER2</i>
Humanes Period circadian clock 3	<i>hPER3</i>
Humanes Timeless circadian clock	<i>hTIM</i>
Humane Casein kinase 1, epsilon	<i>hCkl ε</i>
Humane Casein kinase 1, delta	<i>hCkl δ</i>
Humaner RAR-related orphan receptor A	<i>hRORα</i>
Humane Nuclear receptor subfamily, group D, member 1	<i>hNR1D1 (hREV-ERBα)</i>

Einleitung

Uhrengene interagieren in transkriptional-translationalen Rückkopplungsschleifen miteinander. Das Prinzip dabei ist, dass positive Elemente die Expression negativer Elemente aktivieren, die wiederum die Aktivität positiver Elemente stoppen. Durch die zeitliche Verzögerung von Aktivierung und Repression entfernt sich dieses System von einem Äquilibrium, bevor es dorthin zurückkehrt, was zu einer Oszillation führt (Albrecht & Ripperger 2008; Bunney & Bunney 2000). Bei Säugetieren inklusive des Menschen besteht der Uhrenmechanismus vereinfacht aus zwei ineinander greifenden Rückkopplungsschleifen: einer Kern- und einer Nebenschleife (Abb. 9) (Landgraf *et al.* 2011).

Die **positiven** Elemente der Kernschleife sind die Gene *Bmal1* und *Clock*. **Negative** Elemente sind die Gene *Cry1* und *Cry2* sowie *Per1*, *Per2* und *Per3*. Im Cytoplasma bilden die CLOCK- und BMAL1-Proteine Heterodimere. Diese wandern in den Nukleus und binden dort an E-Box-Sequenzen (Bindestellen für Transkriptionsfaktoren) in den Promotoren der *Per*- und *Cry*-Gene, deren Transkription dadurch aktiviert wird. Wenn die PER- und CRY-Proteine im Cytoplasma eine kritische Konzentration erreichen, bilden sie verschiedene Komplexe. Diese werden durch die Casein Kinase Iε und δ (CKIε, CKIδ) (z. B. Albrecht & Ripperger 2008; Dardente & Cermakian 2007; Landgraf *et al.* 2011; Nader *et al.* 2010) phosphoryliert. Die PER/CRY-Komplexe translozieren in den Kern, wo sie die Aktivität der CLOCK/BMAL1-Heterodimere hemmen und so ihre eigene Transkription inhibieren. Ohne die Aktivierung der *Per*-/*Cry*-Expression nimmt auch die Anzahl der PER-/CRY-Proteine ab. Durch diese fortschreitende Degradierung der negativen Regulatoren und die dadurch bedingte erneute Aktivierung der *Per*-/*Cry*-Expression durch CLOCK/BMAL1 beginnt ein neuer Zyklus (Gallego & Virshup 2007; Landgraf *et al.* 2011). Eine zweite (Neben-)Schleife reguliert die *Bmal1*-Expression. Im Nukleus binden CLOCK/BMAL1-Heterodimere an E-Box-Elemente in den Promotoren der Gene *Rev-Erba* und *Rora*. *Rora* wirkt als Aktivator für die *Bmal1*-Expression, *Rev-Erba* als Repressor. Durch diese Regulation von BMAL1 werden die Oszillationen der Kernschleife stabilisiert und verstärkt (Albrecht & Ripperger 2008; Gallego & Virshup 2007). Im Gegensatz zu seinem Interaktionspartner *hBMAL1* oszilliert *hCLOCK* nicht (Balsalobre *et al.* 2000; Bjarnason *et al.* 2001).

Einleitung

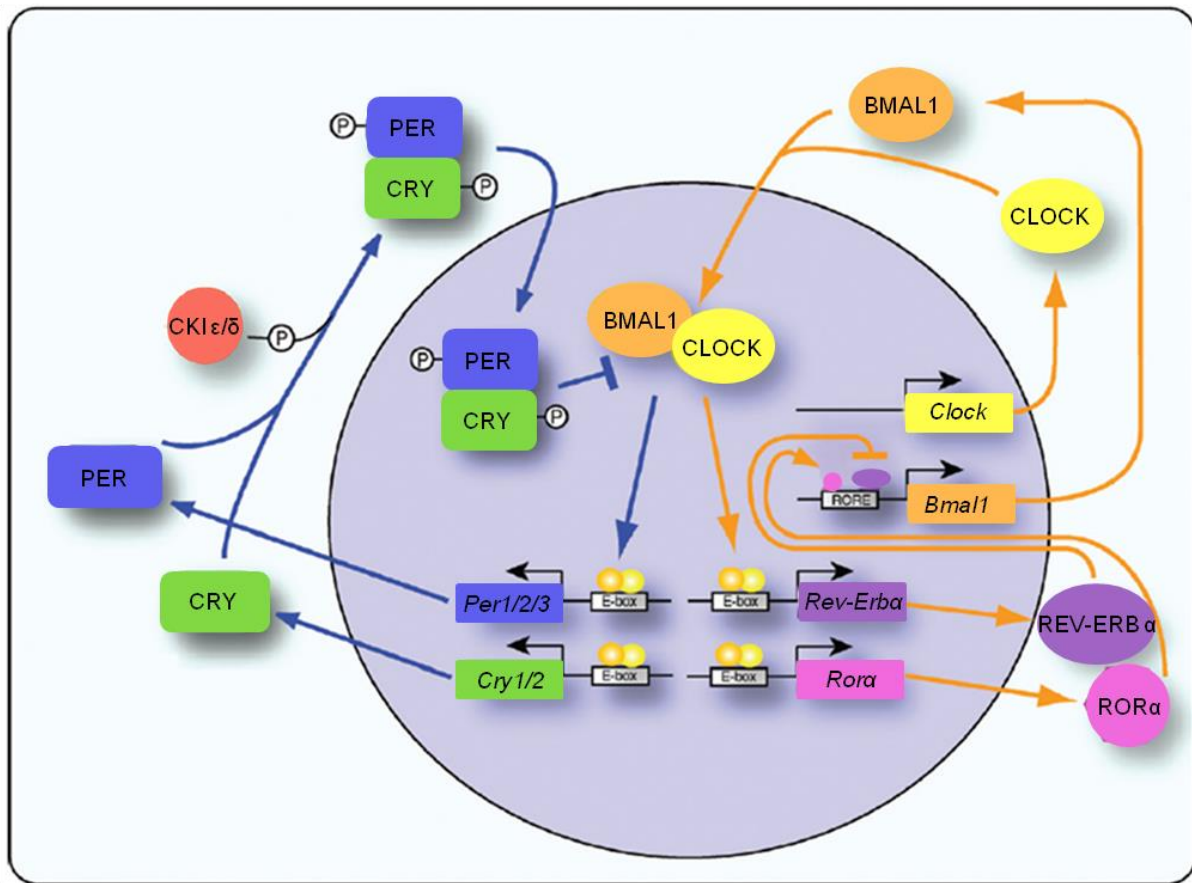


Abb. 9: Vereinfachte Darstellung der molekularen Mechanismen der circadianen inneren Uhr beim Menschen und anderen Säugetieren. Uhrengene interagieren in zwei ineinander greifenden autoregulatorischen Rückkopplungsschleifen. In der Kernschleife (blaue Pfeile) bilden die Proteine BMAL1 und CLOCK im Cytoplasma Heterodimere, translozieren in den Kern und aktivieren dort als Transkriptionsfaktor durch Bindung an E-Box-Sequenzen die Transkription der Per- und Cry-Gene. Im Cytoplasma multimerisieren PER- und CRY-Proteine in verschiedenen Kombinationen, werden durch die Casein Kinasen ϵ und δ phosphoryliert und translozieren in den Kern. Dort hemmen sie die Aktivität der BMAL1/CLOCK-Dimere und damit den Aktivator ihrer eigenen Transkription. Ohne die Aktivierung der Per-/Cry-Expression nimmt auch die Anzahl der PER-/CRY-Proteine ab. Am Ende eines circadianen Zyklus werden die PER- und CRY-Proteine CKI-abhängig abgebaut, wodurch die Repression der Expression aufgehoben wird und ein neuer Zyklus beginnen kann. Eine weitere stabilisierende Rückkopplungsschleife (orangene Pfeile) beinhaltet den Aktivator ROR α und den Inhibitor REV-ERB α , kontrolliert die Bmal1-Expression und verstärkt die Oszillation der Kernschleife. P = Phosphat. (verändert nach: Albrecht & Ripperger 2008).

Von großer Bedeutung für die Aufrechterhaltung einer 24 Stunden-Periode des Uhrenzyklus sind posttranslationale Modifikationen (Landgraf *et al.* 2011). So werden etwa der Eintritt in den Kern, die Degradierung und die Komplexbildung von Proteinen durch reversible Phosphorylierung reguliert,

Einleitung

wodurch die zeitliche Verzögerung zwischen Aktivierung und Repression der Transkription beeinflusst wird (Gallego & Virshup 2007). Abhängig vom Ort der Phosphorylierung kann diese die Periode verlängern oder verkürzen (Archer *et al.* 2008).

Im Folgenden sollen die drei in der vorliegenden Studie untersuchten menschlichen zentralen Uhrengene (*core clock genes*) *hBMAL1*, *hPER1* und *hCRY1* näher beschrieben werden. Die drei Gene werden in der Mundschleimhaut gesunder junger Männer nach dem gleichen circadianen Profil exprimiert wie in den SCN (Bjarnason *et al.* 2001).

Humanes Brain and Muscle ARNT-like 1 (*hBMAL1*)

Das Gen *hBMAL1* ist unter mehreren Namen bekannt. Die offizielle Bezeichnung lautet „aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like“ (*ARNTL*), in der Fachliteratur wird jedoch häufig die Bezeichnung Humanes Brain and Muscle ARNT-like 1 *hBMAL1* verwendet. So auch in dieser Arbeit. Das Gen ist auf Chromosom 11 an der Position 11p15 lokalisiert und hat 21 Exons. Das durch das Gen codierte Protein enthält ein Helix-loop-helix-Motiv und bildet ein Heterodimer mit dem Protein CLOCK. Dieses Heterodimer bindet an E-Box-Elemente stromaufwärts der *hPER*- und *hCRY*-Gene und aktiviert dadurch deren Transkription. Die Proteine BMAL1 und CLOCK sind somit die positiven Elemente der Uhrengen-Kernschleife.

Die Expression des *hBMAL1*-Gens ist tagsüber niedrig und steigt abends an. In der Mundschleimhaut, dem Gewebe, welches auch in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, erreicht die Genexpression zwischen 21:00 und 22:00 Uhr ein Maximum (bzw. die Akrophase) (Abb. 10) (Bjarnason *et al.* 2001).

Humanes Period circadian clock 1 (*hPER1*)

Das *hPER1*-Gen ist eines von drei Period-Genen (*hPER1*, 2 und 3). Es wird in den SCN und peripheren Geweben in circadianer Weise exprimiert. Das Gen ist auf Chromosom 17 an Position 17p13.1-p12 lokalisiert und hat 24 Exons. Die Gene der *PER*-Familie codieren Komponenten der circadianen Rhythmen für Bewegungsaktivität, Metabolismus und Verhalten. Die Transkription von *hPER1* wird durch CLOCK/BMAL1-Heterodimere aktiviert. Durch Komplexbildung mit CRY-Proteinen inhibieren PER-Proteine ihre eigene Transkription. Zusammen mit den CRY-Proteinen werden die PER-Proteine als negatives Element der Uhrengenschleife angesehen.

Die Expression des *hPER1*-Gens verläuft entgegengesetzt zu der Expression von *hBMAL1*, sie erreicht ein Maximum gegen 08:00 Uhr morgens und ein Minimum um Mitternacht (Bjarnason *et al.* 2001).

Humanes Cryptochrome circadian clock 1 (*hCRY1*)

Das Gen *hCRY1* ist auch unter dem Namen *PHLL1* (photolyase-like chrytochrome 1) bekannt. Es bildet zusammen mit *hCRY2* durch die Interaktion mit PER-Proteinen das negative Element der

Einleitung

Uhrengenschleife. Das Gen ist auf Chromosom 12 an Position 12q23-q24.1 lokalisiert und hat 14 Exons. In der Mundschleimhaut liegt der Peak von *hCRY1* am späten Nachmittag gegen 17:00 Uhr, der Tiefpunkt gegen 04:00 Uhr morgens (Bjarnason *et al.* 2001).

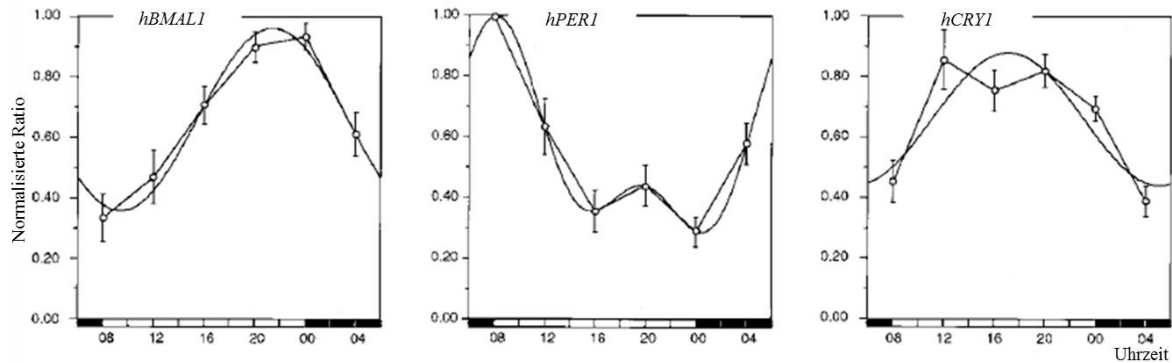


Abb. 10: Verlauf der Expression der Gene *hBMAL1*, *hPER1* und *hCRY1* in menschlicher Mundschleimhaut nach Bjarnason *et al.* (2001). In dieser Studie wurden Mundschleimhautproben in vierstündigen Intervallen von 04:00 bis 00:00 Uhr gesammelt. Abgebildet sind die mittlere relative Expression mit Standardabweichung und die durch eine Cosinor-Analyse berechneten Verlaufskurven. Der durch die Cosinor-Analyse kalkulierte Zeitpunkt des Maximums (Akrophase) liegt für *hBMAL1* um 21:40 Uhr (zwischen 21:00 und 22:20 Uhr), für *hPER1* um 08:29 Uhr (zwischen 07:16 und 09:40 Uhr) und für *hCRY1* um 17:04 (zwischen 15:36 und 18:36 Uhr). Schwarze Balken = Nacht (verändert nach: Bjarnason *et al.* 2001).

1.7 Zusammenhang zwischen circadianer Rhythmik, Schlaf und Altern

Unter Altern kann ein durch Genetik und Umwelt vorantriebener Abbau von Funktionen des Organismus verstanden werden (Khapre *et al.* 2010). Einflüsse des menschlichen Alterns auf die endogene Rhythmik, den Schlaf und den Zusammenhang zwischen beiden sind ein viel beforschtes Thema und aus einer großen Anzahl von Studien bekannt und beschrieben. Darunter fallen hormonelle Rhythmen, der Körperkerntemperatur-Rhythmus und der Schlaf-Wach-Rhythmus (Hofman & Swaab 2006). Als typische altersbedingte Veränderungen der circadianen Rhythmik werden häufig eine verringerte Amplitude und Periodenlänge, eine Phasenbeschleunigung von Rhythmen und eine schlechtere Anpassungsfähigkeit der inneren Rhythmik an plötzliche Veränderungen (z. B. durch Schichtarbeit) genannt. Es kommt vermehrt zur Desynchronisierung zwischen internen und externen Rhythmen sowie zwischen verschiedenen internen Rhythmen zueinander (Dijk & Lockley 2002; Hida *et al.* 2009; Hofman & Swaab 2006; Monk 2005; Münch *et al.* 2005a; Weitzman *et al.* 1982). Das bedeutet, dass sich die Phasen der einzelnen Rhythmen gegeneinander verschieben (ihre Phasenbeziehung ändert sich). Während Forschungsergebnisse zur Desynchronisierung von Rhythmen

Einleitung

und der schlechteren Anpassungsfähigkeit des circadianen Systems im Laufe des Alternsprozesses weitgehend konsistent sind, gibt es zu der verringerten Rhythmus-Amplitude und der verkürzten Periode kontroverse Beobachtungen (Cajochen *et al.* 2006; Monk 2005).

Höheres Alter ist durch die beschriebene Phasenbeschleunigung mit einer stärkeren Morgenpräferenz (*Morningness*) assoziiert (Carrier *et al.* 1997; Taillard *et al.* 1999). Das bedeutet, dass ältere Menschen eine stärkere Tendenz zu einer vorverlagerten circadianen Phase entwickeln. Bezogen auf ihren Schlaf-Wach-Rhythmus bedeutet das, dass sie zu einer früheren Uhrzeit zu Bett gehen und früher erwachen. Diese vorverlagerte Phase bei älteren Menschen ist nicht zwangsläufig mit einer kürzeren Periode verbunden (Duffy & Czeisler 2002; Duffy *et al.* 1999). Czeisler *et al.* (1999) zeigten, dass sich die intrinsische Periode bei Menschen in ihren 60ern und frühen 70ern nicht verändert, dass sie aber eine Phasenbeschleunigung ihres Schlaf-Wach-Rhythmus und eine Beeinträchtigung der Fähigkeit zur Aufrechterhaltung einer durchgängigen Schlafepisode zeigten.

Im Vergleich zu jüngeren Menschen erwachen ältere Menschen gewöhnlich nicht nur zu einer früheren Uhrzeit, sondern auch früher relativ zur Phase ihrer internen circadianen Rhythmen wie dem Körperkerntemperatur- und Melatoninrhythmus (Dijk & Lockley 2002; Duffy *et al.* 1998; Monk 2005). Variationen dieser internen und externen Phasenbeziehungen können zu gesundheitlichen Beschwerden führen, die oft im Zusammenhang mit höherem Alter zu beobachten sind. Dies sind z. B. Schlafbeschwerden (Dijk & Lockley 2002). Störungen des circadianen Systems durch das Altern manifestieren sich wahrscheinlich zuerst in Schlaf-Wach-Pathologien (Dijk *et al.* 2000; Turek *et al.* 1995; Van Someren 2000a).

Darüber, warum es zu den beschriebenen Veränderungen kommt, existieren verschiedene Theorien.

Manche Autoren beschreiben anatomische Veränderungen des zentralen Schrittmachers in den SCN (durch abnehmende Zellzahl) oder die nicht-synchrone Schwingung von Zellgruppen innerhalb der SCN, wodurch die Rhythmusgenerierung beeinflusst wird (Myers & Badia 1995). Aus *post-mortem*-Studien am Menschen geht hervor, dass es zu einer neuronalen Degenerierung der SCN während des Alterns kommt, was darauf hinweist, dass der circadiane Schrittmacher im menschlichen Gehirn zunehmend gestört wird (Cajochen *et al.* 2003; Hofman & Swaab 2006). Eine merkliche Verringerung der Zellzahl in den SCN scheint jedoch erst bei Menschen mit einem Alter von über 80 Jahren stattzufinden (Hofman *et al.* 1988; Swaab *et al.* 1985). Andere Autoren konnten keine Veränderung von Größe und Volumen der SCN im Laufe des Lebens beobachten (Bertini *et al.* 2010). „Alte“ SCN bei Nagern z. B. haben die gleiche Zellzahl und -größe wie „junge“ SCN, zeigen jedoch eine veränderte Expression bestimmter Peptide und eine reduzierte Amplitude circadianer elektrischer Aktivität (Signalstärke) (Satinoff *et al.* 1993; Watanabe *et al.* 1995).

Einleitung

Weiterhin könnte eine Ursache für Veränderungen in den *Output*-Wegen der SCN liegen. Das bedeutet, dass die Weitergabe von Signalen von den SCN an periphere Uhren über humorale Signale, CCGs und neuronale Signale beeinträchtigt sein könnte (Myers & Badia 1995).

Die dritte Möglichkeit ist eine Beeinträchtigung der *Input*-Wege in die SCN (Myers & Badia 1995). So kann es zu einer schwächeren Wirkung des Zeitgebers Licht durch Augenprobleme (z. B. Linsentrübung) im Alter kommen (Münch *et al.* 2005b), d. h. der Licht-Informationsfluss zu den SCN wird mit zunehmendem Alter durch altersabhängige Veränderungen der Linseneigenschaften des Auges abgeschwächt (Monk 2005). Auch die Sensitivität der SCN selbst für solche Signale kann abgeschwächt sein (Kolker *et al.* 2003; Zhang *et al.* 1998). Durch ein abgeschwächtes taktgebendes Signal aus der Umwelt wird die synchrone Signalabgabe der Neurone in den SCN erschwert und somit deren Rolle bei der Synchronisierung innerer Rhythmen und der Anpassung an die externe Rhythmik beeinflusst. Schließlich besteht noch die Möglichkeit, dass die Rhythmusgenerierung nicht in den SCN, sondern in den peripheren Uhren gestört ist (Myers & Badia 1995).

Altern und Schlaf

Ältere Menschen leiden mit einer höheren Wahrscheinlichkeit an Schlafstörungen als jüngere Menschen (Hofman & Swaab 2006) und ein höheres Lebensalter ist mit einer verschlechterten subjektiven Schlafqualität assoziiert (Buysse *et al.* 1989; Prinz 1995). Zudem scheint ein gestörter Schlaf im Alter häufiger bei Frauen aufzutreten als bei Männern (Happe 2011; Middelkoop *et al.* 1996; Zhang & Wing 2006).

Wesentliche Veränderungen des Schlafes mit dem Altern sind die Abnahme der Gesamtschlafdauer und eine verringerte Schlaffeffizienz, die Abnahme des REM-Schlafanteils und der REM-Latenz (die Zeit vom Einschlafen bis zum ersten Auftreten von REM-Schlaf), eine längere Einschlaf Latenz, die Zunahme des Leichtschlafanteils, ein verringerter prozentualer Anteil an SWS und das vermehrte Auftreten von nächtlichen Wachphasen und Tagschlaf (Crowley 2011; Happe 2011; Kahn *et al.* 1970; Kupfer *et al.* 1982; Münch *et al.* 2005b; Ohayon *et al.* 2004; Weitzman *et al.* 1982). Hinzu kommt das Erwachen am frühen Morgen (Weitzman *et al.* 1982). Es gibt Hinweise darauf, dass altersbedingte Veränderungen der Schlafstruktur und der Aufrechterhaltung des Schlafes durch eine schwächere circadiane Regulierung von Schlaf und Wachzustand verursacht werden (Cajochen *et al.* 2006; Münch *et al.* 2005a). Einige Wissenschaftler vermuten, dass altersabhängige Veränderungen der circadianen Schlafregulation auf die Abnahme der aktiven Schlafförderung am Morgen beschränkt sind (rev. in Dijk & Lockley 2002).

Viele der beschriebenen Veränderungen beginnen schon im jungen und mittleren Erwachsenenalter (Crowley 2011). In einer Studie von Webb and Agnew (1971) wird z. B. schon für 50 bis 59jährige ein deutlich geringerer Anteil an S4-Schlaf beschrieben. Der SWS-Anteil am Nachtschlaf verringert sich mit einer Rate von etwa 2 % pro Lebensjahrzent bis zum Alter von 60 Jahren. Für diese

Einleitung

Parameter zeigt sich innerhalb der 60 bis 90jährigen kaum ein Unterschied. Dagegen nimmt die Schlafeffizienz noch im Alter kontinuierlich ab (Ancoli-Israel *et al.* 2008; Ohayon *et al.* 2004).

Die Einflussfaktoren auf den Schlaf im Alter sind vielfältig (z. B. Crowley 2011). Darunter fallen körperliche Leiden, psychische Erkrankungen, abnehmende körperliche Aktivität, veränderte Lebensumstände (wie vermehrte freie Zeit durch Rentenantritt und ein dadurch entstehender veränderter Tagesverlauf oder Vereinsamung durch Partnerverlust) und Störungen der circadianen Organisation (Frey *et al.* 1999; Happe 2011). Einige der beschriebenen Veränderungen, wie etwa die vermehrten nächtlichen Wachphasen, werden jedoch auch bei sehr gesunden älteren Menschen beobachtet (Bliwise 1993). Das weist darauf hin, dass eine Beeinträchtigung beim Aufrechterhalten von Schlaf mit dem Alterungsprozess an sich zusammenhängt und nicht zwangsläufig mit sekundären Veränderungen im Alter (Cajochen *et al.* 2006). Es ist auch festzuhalten, dass nicht alle altersbedingten physiologischen Veränderungen der Schlafstruktur *per se* Grund für eine schlechte Schlafqualität sind, dass also nicht alle älteren Menschen ihren Schlaf als schlecht empfinden (Monk 2005; Myers & Badia 1995).

Altern und die Körpertemperatur

Für den Rhythmus der Körperkerntemperatur werden eine verringerte Amplitude (Monk 2005; Weitzman *et al.* 1982) und eine beschleunigte Phase angenommen, die sich vor allem durch einen vorverlagerten Zeitpunkt des nächtlichen Minimums ausdrückt (Duffy *et al.* 1998; Weitzman *et al.* 1982; Zepelin & McDonald 1987). In Abwesenheit externer Zeitgeber wird auch von einer kürzeren Freilaufperiode der KKT bei älteren Menschen berichtet (Refinetti & Menaker 1992; Weitzman *et al.* 1982). Der Basalwert der Körperkerntemperatur scheint sich bei gesunden älteren Menschen unter thermoneutralen Bedingungen nicht von dem jüngerer Menschen zu unterscheiden. Diesbezüglich beschriebene Unterschiede können wohl eher auf unterschiedliche Ernährung, Erkrankungen und Medikationseffekte zurückgeführt werden (Kenney & Munce 2003). In Vergleichsstudien konnten zwischen älteren und jüngeren Männern größere Unterschiede in der Körperkerntemperatur festgestellt werden als zwischen jüngeren und älteren Frauen. Diese scheinen sich in Bezug auf dieses Merkmal nicht wesentlich voneinander zu unterscheiden (Kenney & Munce 2003; Monk *et al.* 1995).

Auch die peripheren Hauttemperaturen sind bei älteren Menschen von Veränderungen betroffen. Sowohl bei Nagern als auch bei älteren Menschen zeigen sich Defizite in der Fähigkeit zur Thermoregulation (rev. in Refinetti & Menaker 1992). Altern ist mit einer schwächeren vasokonstriktorischen Reaktion auf Kälte sowohl in sog. acralen Regionen (wie Handflächen, Fußsohlen, Lippen und Ohren) als auch in nicht-acralen Regionen (Extremitäten, Torso) assoziiert (Falk *et al.* 1994; Kenney & Armstrong 1996; Kenney & Munce 2003). Außerdem zeigen sich für ältere Menschen eine verringerte Schweißdrüsenaktivität und ein verringerter Blutfluss in der Haut (Kenney & Munce 2003) was zu niedrigeren Hauttemperaturen führt. Aufgrund des funktionalen

Einleitung

Zusammenhangs der distalen Hauttemperatur mit der Körperkerntemperatur ist darauf zu schließen, dass auch für den Hauttemperatur-Rhythmus eine Phasenvorverlagerung im Alter stattfindet.

Altern und Cortisol

Auch für den Cortisol-Rhythmus sind altersbedingte Veränderungen beschrieben. So nimmt die Amplitude des Rhythmus ab (Monk 2005; Sharma *et al.* 1989; Van Cauter *et al.* 1996) und die Phase ist vorverlagert (Monk 2005). Generell kann gesagt werden, dass höheres Alter mit einem Anstieg der Cortisol-Sekretion über den Tag hinweg - insbesondere direkt nach dem Erwachen - assoziiert ist, dass es jedoch keinen bis negativen Zusammenhang mit der Cortisol-Sekretion im Verlauf der CAR gibt (Clow *et al.* 2004; Kudielka & Kirschbaum 2003). Alter wird zudem mit tendenziell flacheren Cortisol-Abfällen zum Abend hin (Adam *et al.* 2006) und einer höheren Konzentration um den nächtlichen Nadir herum in Verbindung gebracht (Prinz *et al.* 2000; Schultes & Fehm 2004).

Änderungen der basalen Cortisol-Konzentration und -Rhythmik bei älteren Menschen scheinen durch eine veränderte Reaktivität der HPA-Achse bedingt zu sein (Prinz *et al.* 2000; Sapolsky 1999). In verschiedenen Altersstudien konnte ein stärkeres Ansprechen der HPA-Achse auf Stress beobachtet werden. Damit einher geht ein länger anhaltender Anstieg der zirkulierenden Glucocorticoid (Cortisol)-Konzentration (Prinz *et al.* 2000; Sapolsky *et al.* 1986). Das bedeutet, dass die HPA-Achse sich schlechter von Reizen erholen kann und die Cortisol-Konzentration länger hoch bleibt.

Altern und Uhrengen-Expression

Zur Uhrengen-Expression bei älteren Menschen gibt es vergleichsweise wenig Literatur. Studien zum Thema Alternsprozesse und Uhrengen-Expression sind vor allem für kleinere Säuger (Mäuse, Hamster) zu finden. Durch Experimente mit Nagern kann gut gezeigt werden, welche Auswirkung Mutationen bestimmter Uhrengene auf die Rhythmik, den Stoffwechsel und das Verhalten des Organismus haben und ob sich bestimmte Erkrankungen oder der Alternsprozess auf Expressionsstärke und -muster von Uhrengenen auswirken. Es wird angenommen, dass Erkenntnisse aus Studien mit Nagern teilweise auch auf den Menschen übertragbar sind. Wenn Vergleiche auch unter Vorbehalt angestellt werden müssen (Schultes & Fehm 2004), wird aus der Forschung am Tiermodell doch ersichtlich, dass sich die Expressionsstärke und Rhythmik von Uhrengenen im Laufe des Alternsprozesses verändern, was sich sowohl direkt (über das circadiane System) als auch indirekt (über Funktionen der Uhrengene in anderen Körpersystemen) auf den Organismus auswirken kann.

Bei Hamstern ist Altern mit einer schwächer werdenden Expression verschiedener Uhrengene (u.a. *Clock* und *Bmal1*) assoziiert (Hofman und Swaab 2006). Kolker *et al.* (2003) beschrieben eine reduzierte Amplitude der *Bmal1*-Expression bei älteren Hamstern im Vergleich zu jungen Tieren.

Einleitung

Zhang *et al.* (1998) konnten an Hamstern zeigen, dass Altern bei konstanter Dunkelheit keine Auswirkung auf das tägliche Expressionsprofil von *Per1* oder *Per2* hatte. Gealterte Tiere waren jedoch deutlich weniger sensitiv gegenüber Entrainment durch Licht als junge Tiere, obwohl ihre Retina nicht verändert war. Die Transkription von *mPer1* wird schnell durch Licht induziert und wird für ein erfolgreiches Entrainment benötigt (Wakamatsu *et al.* 2001). Bei gealterten Tieren ist die *mPer1*-Expression nach einem Lichtstimulus merklich reduziert und braucht länger, um sich zu resynchronisieren. Das spricht dafür, dass die SCN altersbedingt eine reduzierte Sensitivität gegenüber retinalen Stimuli aufweisen (Gibson *et al.* 2009).

Neben den direkten Auswirkungen einer veränderten Uhrengen-Expression auf die Rhythmik des Organismus kann es auch durch den Verlust sekundärer Funktionen dieser Gene zu altersabhängigen Problemen kommen. *BMAL1*-defiziente Mäuse z. B. entwickeln schnell zahlreiche altersbedingte Krankheiten (rev. in Khapre *et al.* 2010). Das scheint damit zusammenzuhängen, dass *BMAL1* die Konzentration reaktiver Sauerstoffspezies in Zellen kontrolliert und eine *BMAL1*-Defizienz in chronischem oxidativen Stress resultiert. Das bedeutet, dass sich die reaktiven Sauerstoffspezies anhäufen und Schäden in der DNA verursachen, deren gehäuftes Vorkommen wiederum als Grund für viele altersbedingte Erkrankungen gesehen wird.

Untersuchungen zur Uhrengen-Expression speziell bei älteren Menschen wurden von Ando *et al.* (2006) und Hida *et al.* (2009) durchgeführt. Ando untersuchten die Expression der Uhrengene *hCLOCK*, *hBMAL1*, *hPER1* und *hPER3* um neun Uhr morgens bei 70 Frauen zwischen 20 und 79 Jahre. Sie fanden eine signifikant negative Korrelation der *hBMAL1*-Expression mit dem Alter. Die Gruppe schließt daraus, dass Altern die Expressionshöhe von *hBMAL1* an sich beeinflusst, nicht die Phase des Expressions-Rhythmus. Hida *et al.* (2009) fanden eine signifikante tägliche Rhythmik von *PER1-3* und Melatonin bei älteren Männern in peripheren Blutzellen (PBMCs). Es zeigte in dieser Studie keine signifikante mit dem Alter verbundene Phasenveränderung der *PER1*- und *PER2*-Rhythmen. Allerdings erreichte die *PER3*-Expression ihren Nadir früher und den Peak später als bei jungen Kontrollen. Obwohl ältere Männer in dieser Studie im Mittel ein bis zwei Stunden früher zu Bett gingen als jüngere Männer, wurde kein signifikanter altersabhängiger Unterschied der Phasenlage der *hPER*-Rhythmen zum Schlaf-Wach-Zyklus beobachtet. Die Gruppe fand keine veränderte Amplitude der *hPER*-Rhythmen bei älteren Männern im Vergleich zu jüngeren Männer. In keiner der beiden Studien wurde die *hCRY1*-Expression untersucht.

2 Fragestellungen

Hintergrund:

Circadiane Rhythmen werden durch die innere Uhr in den SCN miteinander und mit der Umwelt synchronisiert (Balsalobre 2002; Reppert & Weaver 2002). Sowohl die autonome Rhythmik der SCN als auch die rhythmische Aktivität in peripheren Organen und Zellen werden durch die oszillierenden Expressionszyklen von Uhrengenen generiert (Hofman & Swaab 2006; Konopka & Benzer 1971; Ralph & Menaker 1988; Reppert & Weaver 2001).

Bei älteren Menschen sind Veränderungen der Phasenlage und Amplitude für zahlreiche circadiane Rhythmen beschrieben - darunter der Rhythmus der Körperkerntemperatur, der Schlaf-Wach-Rhythmus und Hormonrhythmen (Übersichten in Hofman & Swaab 2006; Touitou & Haus 2000; Van Someren 2000b).

Daher liegt die Annahme nahe, dass diese altersbedingten Veränderungen schon auf molekularer Ebene in unterschiedlichen Expressionsstärken und -mustern der Uhrengene zu finden sind (Gibson *et al.* 2009). Bei Nagern konnte gezeigt werden, dass Altern mit einer schwächeren Expression und einem veränderten Expressionsmuster verschiedener zentraler Uhrengene - u. a. *Bmal1* - einhergeht (Asai *et al.* 2001; Kolker *et al.* 2003; Yamazaki *et al.* 2002). Solche altersabhängigen Veränderungen der Uhrengenerhythmen wurden vor allem an Nagermodellen beschrieben (Übersichten z. B. in Hofman & Swaab 2006; Yu & Weaver 2011). Dagegen gibt es nur wenige Studien, die sich mit der **Expression von Uhrengenen bei älteren Menschen** beschäftigen (Ando *et al.* 2010; Hida *et al.* 2009). Beim Menschen wurden Ausprägungen und Expressionsmuster dieser Gene vorwiegend an gesunden jungen Männern untersucht (z. B. Bjarnason *et al.* 2001; Zieker *et al.* 2010), um einen natürlichen Rhythmus des Gens zu definieren, zu dem veränderte Muster in Bezug gesetzt werden können.

In älteren humanen Kollektiven haben außerdem Schlafbeschwerden und eine **schlechte subjektive Schlafqualität** eine hohe Prävalenz (Buysse *et al.* 1989; Buysse *et al.* 1991; Foley *et al.* 1995; Kryger *et al.* 2004; Touitou & Haus 2000; Van Someren 2000b). Diesen Schlafbeschwerden können einerseits Erkrankungen, Medikation oder veränderte Verhaltens- und Lebensweisen im Alter zugrunde liegen (Ancoli-Israel *et al.* 2008; Foley *et al.* 1995). Andererseits können ein **veränderter Schlaf-Wach-Rhythmus** und eine verschlechterte Schlafqualität auch durch die altersbedingte Tendenz zur Desynchronisierung circadianer Rhythmen untereinander und zu externen Zeitgebern bedingt sein (Dijk *et al.* 2000; Hofman & Swaab 2006; Van Someren 2000b).

Schlafbeschwerden und eine als schlecht empfundene Schlafqualität sind eine belastende Erfahrung, die auf Dauer Stress für den Organismus bedeutet. Folgen sind oft Beeinträchtigungen der Lebensqualität (Dijk & Lockley 2002; Touitou & Haus 2000; Van Someren 2000b; Zammit *et al.* 1999). Solche schlafassoziierten Stressoren und ihre Folgen beeinflussen die HPA-Achse, das

Fragestellungen

Langzeitstresssystem des Körpers. Die circadiane **Cortisol-Sekretion** und Marker wie die CAR, die die Reaktivität der HPA-Achse repräsentieren, können dadurch verändert werden (Adam *et al.* 2006). Für Zusammenhänge von Cortisol-Konzentrationen und der CAR mit belastenden Zuständen (wie psychische Erkrankungen, Stress oder Schlafbeschwerden) oder dem Alter zeigen sich in der Fachliteratur uneinheitliche Befunde (Übersichten z. B. in Chida & Steptoe 2009; Clow *et al.* 2004; Dockray *et al.* 2008; Fries *et al.* 2009; Prinz *et al.* 2000).

Unter den am häufigsten genannten Kennzeichen für gestörten Schlaf und eine damit einhergehende schlechte Schlafqualität sind eine längere Einschlafzeit und vermehrte Wachphasen in der Nacht (Buysse *et al.* 1989). In mehreren Studien wurde ein enger Zusammenhang zwischen diesen Parametern und dem abendlichen **Verlauf der peripheren Hauttemperatur** bzw. dem **DPG** beschrieben (Fronczek *et al.* 2006; Gradisar & Lack 2004; Kräuchi *et al.* 1999, 2000; Kräuchi & Wirz-Justice 2001; Raymann *et al.* 2007). Kräuchi *et al.* (2000) konnten zeigen, dass unter kontrollierten Bedingungen der DPG stärker mit der durch die Länge der Einschlafzeit repräsentierten Bereitschaft zu schlafen korreliert war, als der abendliche Abfall der Körperkerntemperatur.

In einer Dissertation innerhalb der Arbeitsgruppe Humanbiologie wurden die Expression der Uhrengene *hBMAL1* und *hPER1*, die Sekretion der Hormone Melatonin und Cortisol und der abendliche Verlauf der Körperkerntemperatur für ältere Frauen und Männer beschrieben (Olbrich 2010). Dieser Ansatz wurde in der vorliegenden Studie erweitert und weitere circadiane Merkmalssysteme wurden einbezogen.

Nach Kenntnis der Autorin wurde die Expression der Uhrengenen *hBMAL1*, *hPER1* und *hCRY1* noch nicht gemeinsam bei gesunden älteren Frauen unter natürlichen Bedingungen beschrieben. Auch wurde noch nicht untersucht, ob sich gesunde ältere Frauen in ihrem natürlichen Umfeld abhängig von ihrer Schlafqualität bezüglich der Expression dieser drei Gene unterscheiden. Insbesondere das zentrale Uhrengene *hCRY1* wurde bei älteren Frauen noch nicht untersucht. Bisher liegen ebenfalls keine Untersuchungen zur gemeinsamen Veränderung der circadianen Merkmalssysteme Uhrengene-Expression, periphere Hauttemperatur und Cortisol-Konzentration und deren Zusammenhang abhängig von Alter und Schlafqualität vor. Der zentrale Aspekt dieser Arbeit befasst sich daher mit der gemeinsamen Untersuchung dieser Systeme in einem Kollektiv älterer gesunder, selbstständig lebender Frauen unter natürlichen Bedingungen. Olbrich and Dittmar (2012) beschrieben einen positiven Zusammenhang zwischen der morgendlichen Expression des Uhrengens *hPER1* und der CAR bei älteren Frauen. Das deutet auf ein verändertes Zusammenspiel zwischen der Uhrengene-Expression und der Cortisol-Sekretion hin. Bisher ist jedoch noch nicht bekannt, inwieweit es bei älteren Frauen unter natürlichen Bedingungen zu einem veränderten Zusammenspiel zwischen der Uhrengene-Expression, dem Verlauf der peripheren Hauttemperatur, der Cortisol-Sekretion und der

Fragestellungen

Nachtschlafstruktur kommt und ob dieses mit einer veränderten Schlafqualität zusammenhängt. Weiterhin soll beschrieben werden, wie sich die Faktoren Alter und Schlafqualität und eine damit verbundene mögliche Veränderung der genannten Merkmalssysteme unter natürlichen Bedingungen auf den Schlaf-Wach-Rhythmus und die Nachtschlafstruktur auswirken. Schließlich sollen mögliche Wechselwirkungen zwischen Verhaltensmerkmalen (z. B. körperliche Aktivität) der Probandinnen und den circadianen Merkmalssystemen und der Nachtschlafstruktur betrachtet werden.

Aus den obigen Überlegungen leiten sich folgende Fragestellungen für diese Arbeit ab:

Fragestellung 1:

Unterscheiden sich jüngere versus ältere Frauen und ältere gute versus schlechte Schläferinnen in Bezug auf die circadianen Merkmalssysteme Uhren-Expression, periphere Hauttemperatur und Cortisol-Sekretion?

Fragestellung 2:

Unterscheiden sich jüngere versus ältere Frauen und ältere gute versus schlechte Schläferinnen in Bezug auf ihren Schlaf-Wach-Rhythmus und die Nachtschlafstruktur?

Fragestellung 3:

In welchem Zusammenhang stehen Nachtschlafstruktur, Uhren-Expression, periphere Hauttemperatur und die Cortisol-Sekretion bei jüngeren und älteren Frauen sowie älteren guten und schlechten Schläferinnen?

Fragestellung 4:

Können alters- und schlafqualitätsabhängige Unterschiede der circadianen Merkmalssysteme mit Verhaltensmerkmalen der Probandinnen in Verbindung gebracht werden?

3 Probandinnen

3.1 Rekrutierung

Das Studiendesign erhielt von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität (CAU) zu Kiel ein positives Votum. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von April bis November 2012, sodass die Wintermonate nicht mit einbezogen wurden.

Die Rekrutierung von jüngeren Frauen erfolgte über die Vorstellung der Studie in Vorlesungen und studentischen Kursen, einen Probandenaufruf auf der Homepage der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, das Aushängen von Flyern sowie über Mundpropaganda. Für die Rekrutierung von älteren Probandinnen wurde die Studie in Sport- und Freizeitvereinen sowie in der Seniorenvorlesung „Alter, Gesundheit und aktiver Lebensstil“ vorgestellt. Es wurden Flyer an Kieler Apotheken verteilt und ein Probandenaufruf über die lokale Zeitung „Kieler Express“ geschaltet.

Zunächst wurde telefonisch Kontakt zu Personen aufgenommen, die sich in eine entsprechende Interessentenliste eingetragen hatten. In einem Telefonscreening wurde geprüft, ob Interessenten als Teilnehmer für die Untersuchung in Frage kamen. Nach einer nochmaligen Erklärung des Studienverlaufs und bestätigtem Interesse seitens der betreffenden Person wurde der Proband nach einer vorgefertigten Maske bezüglich anthropometrischer Maße (wie Alter und BMI), Erkrankungen und Medikamenteneinnahme befragt. War die Person als Probandin geeignet, wurde ein Termin für den Studienbeginn festgelegt.

Jede Probandin wurde vor Studienbeginn zunächst im Telefonscreening, danach in einer schriftlichen Probandeninformation (Anhang 11) und abschließend in einem persönlichen Gespräch über Inhalte und Abläufe der Studie unterrichtet. Alle Probandinnen unterzeichneten vor der Teilnahme eine Einverständniserklärung (Anhang A2). Die Probandinnen wurden in allen Aufgaben von der Studienleiterin genau instruiert und erhielten schriftliche Unterlagen mit Anweisungen über die Durchführung der Datenerhebung (Anhang A3). Jeder Probandin wurden am Ende der Studie ihre persönlichen Ergebnisse per Post oder per Email zugesandt: anthropometrische Daten, Informationen zu Chronotyp, Schlafqualität und Tagesschläfrigkeit, Cortisol-Konzentrationen, Hauttemperaturprofil und ein einwöchiger Aktigrafiebericht zum Ruhe-Aktivitäts-Rhythmus. Die Probandinnen erhielten keine finanzielle Aufwandsentschädigung.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien

Um Einflüsse des Alterns und der Schlafqualität auf circadiane Rhythmen erfassen zu können, wurden in der vorliegenden Studie junge Frauen mit guter Schlafqualität und ältere Frauen mit guter und schlechter Schlafqualität verglichen. Junge Probandinnen sollten zwischen 18 und 35 Jahren alt und gesund sein und eine über das Telefonscreening und einen Fragebogen bestimmte subjektiv gute

Probandinnen

Schlafqualität aufweisen. Die Probandinnen mussten volljährig sein, um ihr Einverständnis zur Studienteilnahme geben zu können. Für die Gruppe der älteren Probandinnen wurden gesunde, selbstständig in eigenen Haushalten lebende Frauen über 60 Jahre gesucht. Ältere Probandinnen durften sowohl eine subjektiv gute als auch eine subjektiv schlechte Schlafqualität aufweisen, schlechte Schläfer durften jedoch nicht unter einer diagnostizierten Schlafstörung leiden.

Die Untersuchung erstreckte sich über acht Tage. In diesen acht Tagen sollten die Probandinnen einen „normalen“ Schlaf-Wach-Rhythmus haben, d. h. sie sollten eine für sie „alltägliche“ Woche verbringen und nicht auf Schlaf verzichten

Ausschlusskriterien

In der Studie wurden molekulargenetische, endokrinologische und physiologische Rhythmen untersucht. Es war daher erforderlich, der Probandenrekrutierung umfassende Ausschlusskriterien zugrunde zu legen. Diese betrafen Erkrankungen, Medikation, Verhaltensmuster und körperliche Merkmale, von denen in der Literatur ein Einfluss auf die erwähnten Rhythmen oder auf den Schlaf beschrieben ist und die in anderen Studien als gängige Ausschlusskriterien aufgeführt werden.

Die Probandinnen durften nicht unter akuten oder chronischen psychischen Erkrankungen (Adam *et al.* 2006; Buysse *et al.* 1989; Gompfer *et al.* 2010; Kunz-Ebrecht *et al.* 2004; Monroe 1967; Refinetti & Menaker 1992) oder akuten oder chronischen ernsthaften physischen Erkrankungen leiden (Dockray *et al.* 2008; Fries *et al.* 2009; Kraemer *et al.* 2006). Speziell ausgeschlossen wurden: Diagnostizierte Schlafpathologien, die die Bewegungsaktivität verfälschen (Sarabia *et al.* 2008) und den Nachschlaf und damit die Schlafqualität negativ beeinflussen. Akute oder chronische entzündliche Erkrankung wie akute Entzündungen, starke Allergien, Autoimmunerkrankungen, entzündlich-rheumatische Erkrankungen, Arthrose, starkes Asthma oder chronische Bronchitis. Neuroendokrine Störungen (wie Diabetes), die den Schlaf, die Cortisolproduktion (Champaneri *et al.* 2011) und die Durchblutung in den Extremitäten (Rutkove *et al.* 2009) verändern können. Krebserkrankungen, die weniger als fünf Jahre zurückliegen, da sie den Hormonhaushalt beeinflussen können, Störungen der circadianen Rhythmik zeigen können (Sukumaran *et al.* 2011; Zieker *et al.* 2010) und Zellpathologien mit veränderten Rhythmen von Uhrengenen in Verbindung gebracht werden (Khapre *et al.* 2010; Sukumaran *et al.* 2011). Chronische Schmerzerkrankungen oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen waren ein weiteres Ausschlusskriterium (Kunz-Ebrecht *et al.* 2004; Riva *et al.* 2012). Ausgenommen wurden hierbei medikamentös eingestellte Schilddrüsenfunktionsstörungen und medikamentös behandelte Bluthochdrücke. Beide Erkrankungen liegen in einem älteren Probandenkollektiv sehr häufig vor und ein genügend großes Kollektiv für die Studie zu akkumulieren erwies sich bei Ausschluss dieser Erkrankungen als nicht möglich. Allerdings waren sowohl Probandinnen mit guter als auch mit schlechter Schlafqualität betroffen und nicht in allen Studien konnte eine Wechselwirkung zwischen

Probandinnen

Herz-Kreislauf-Medikamenten und Cortisolwerten beobachtet werden (Dockray et al. 2008). Wegen möglicher Komplikationen mit während der Studie durchgeführten Messungen und Geräten durften Probandinnen zudem keinen Herzschrittmacher und keine Stützstrümpfe tragen und durften nicht unter einer Nickelallergie leiden.

Probandinnen mit Zahnfleischbluten wurden von der Studie ausgeschlossen, da die Cortisol-Konzentration im Blut höher ist als im Speichel (Kirschbaum & Hellhammer 1994; Shirtcliff *et al.* 2001), was die im Speichel gemessenen Cortisol-Konzentrationen verfälschen würde. Wegen des veränderten Hormonhaushalts während der Schwangerschaft durften Probandinnen zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht schwanger sein.

Zum Ausschluss aus der Studie führte auch die regelmäßige Einnahme von Medikamenten (besonders Schmerzmittel, Schlafmittel oder Antidepressiva) oder Drogen in den letzten sechs Monaten vor Studienbeginn (Gompper et al. 2010). Speziell Steroidhormone und Medikamente auf Glucocorticoidbasis (z.B. Cortison) durften nicht eingenommen werden (Bakkeheim et al. 2010).

Der Body Mass Index (BMI) für jüngere Probandinnen sollte zwischen 18,5 und 25 kg/m², für ältere Probandinnen über 60 Jahren zwischen 18,5 und 27,5 kg/m² (Müller 2006) liegen. Ein BMI unter bzw. über diesen Grenzwerten gilt als Unter- oder Übergewicht, bei einem BMI von 30 kg/m² oder höher spricht man von „Fettleibigkeit“ (Adipositas). Starkes Unter- oder Übergewicht kann mit Störungen des Hormonhaushaltes oder der Körpertemperatur in Verbindung stehen. In einigen Fällen wurde bei der anthropometrischen Messung nach Studienbeginn ein höherer BMI festgestellt als beim Telefonscreening durch die Probandinnen angegeben. Da es sich hierbei um Frauen ohne Schlafprobleme und ohne weitere gesundheitliche Probleme handelte, wurden sie nicht aus der Studie ausgeschlossen.

Sowohl Rauchen (Badrick *et al.* 2007; Direk *et al.* 2011) als auch regelmäßiger Alkohol- (Adam *et al.* 2006; Badrick *et al.* 2008) und Koffeinkonsum (Wright Jr. *et al.* 1997) können die Cortisol-Konzentrationen im Körper und die Körpertemperatur beeinflussen. Der regelmäßige Konsum von vier oder mehr Tassen koffeinhaltiger Getränke oder zwei oder mehr Gläsern Alkohol am Tag waren daher ebenfalls ein Ausschlusskriterium. Probandinnen durften nicht in Schicht- oder Nachtarbeit tätig sein und in letzten drei Monaten vor der Untersuchung keine Reisen über Zeitzonen hinweg unternommen haben (Gompper *et al.* 2010; Refinetti & Menaker 1992), um einen natürlichen Schlaf-Wach-Rhythmus zu gewährleisten. Probandinnen durften nicht blutsverwandt sein, um genetisch bedingte Ähnlichkeiten auszuschließen, die die Studie verfälschen können.

4 Materialien

Im Folgenden sind die für den molekulargenetischen Teil der Arbeit verwendeten Geräte, Chemikalien und Softwareprogramme aufgeführt. Angegeben ist jeweils zunächst die Bezeichnung, dann Hersteller (Vertreiber) und Ort.

Chemikalien

2-Propanol (Isopropanol) Rotipuran $\geq 99,8\%$	Roth, Karlsruhe
Agarose Broad Range	Roth, Karlsruhe
Ethanol Rotipuran $\geq 99,8\%$	Roth, Karlsruhe
Ethidiumbromidlösung 1% (10mg/ml)	Roth, Karlsruhe
Chloroform minimum 99%	Sigma-Aldrich, Steinheim
Natriumchlorid $\geq 99\%$	Roth, Karlsruhe
TRI® Reagent BD	Sigma-Aldrich, Steinheim

Wasser

LiChrosolv® Wasser für die Chromatographie	Merck, Darmstadt
Wasser doppelt destilliert	Roth, Karlsruhe

Enzyme, Standards und dNTPs

6 x DNA Loading Dye	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
6 x Orange loading dye solution	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
DNase I, RNase-free	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
FastStart Taq DNA Polymerase	Roche, Mannheim
GeneRuler Low Range DNA Ladder	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
O'GeneRuler™ 50bp DNA Ladder, ready-to-use	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
O'GeneRuler™ 100bp DNA Ladder, ready-to-use	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
PCR Grade Nucleotide Mix	Roche, Mannheim
RiboLock RNase Inhibitor	Thermo Scientific (Fermentas), St. Leon-Rot
RNASE AWAY®	Roth, Karlsruhe
Roti®-Nukleinsäurefrei	Roth, Karlsruhe
TrackIt™ λ /Hind III Fragments	Invitrogen, Darmstadt

Puffer

PCR buffer (10 x conc.) with MgCl	Roche, Mannheim
Rotiphorese® 10 x TBE-Puffer	Roth, Karlsruhe

Oligonukleotide und Sonden

Alle verwendeten Oligonukleotide wurden von der Firma MWG Eurofins synthetisiert und HPLC-

Eurofins MWG Operon, Ebersberg

Materialien

gereinigt geliefert.

Universal ProbeLibrary Probe (Sonden-Nr. 5, 6, 11, 54, 62, 73, 86) Roche, Mannheim

Kits

Cortisol ELISA (Speichel) IBL International, Hamburg
Crystal RNA Mini Kit Biolab Products, Göttingen
LightCycler® TaqMan® Master Roche, Mannheim
Transcriptor First strand cDNA Synthesis Kit Roche, Mannheim

Cycler

LightCycler® 1.5 Roche, Mannheim
Personal Cycler Biometra, Göttingen
TGradient Biometra, Göttingen

Zentrifugen

Mikro 120 Hettich Zentrifugen, Tuttlingen
Rotina 38R Hettich Zentrifugen, Tuttlingen

Gelkammern und Powersupply

Consort EV231 Consort, Turnhout, Belgien
Horizon® 58R Whatman Biometra, Göttingen
Horizon®11·14 Whatman Biometra, Göttingen

Gel-Dokumentationsanlage

Gel Jet Imager 2005 INTAS, Göttingen

Reagenzglasschüttler

IKA MS3 digital IKA, Staufen
IKA VF2 IKA, Staufen
IKA®-Lab-Dancer IKA, Staufen

Photometer und Küvetten

Biophotometer Eppendorf, Hamburg
UVette® (50-2000 µl) Eppendorf, Hamburg

Gefrierschränke

Ultra Low Temperature Freezer U410 New Brunswick Scientific, Nürtingen
Premium NO FROST Liebherr, Ochsenhausen

Pipetten

Eppendorf Multipette® stream Eppendorf, Hamburg
Eppendorf Research® (2,5 µl; 10 µl; 100 µl, 1000 µl) Eppendorf, Hamburg
Eppendorf Research® pro 8-Kanal Eppendorf, Hamburg
StarPet® (10 µl, 1000 µl) STARLAB GmbH, Hamburg

Materialien

Einkanalpipette, mechanisch (1000 µl)

VWR, Hannover

Spitzen und Reaktionsgefäße

0,2 ml Thermo-Tube

ABgene, Epsom, Surrey, GB

Biosphere® –Qualitätsspitzen (2,5 µl; 10 µl; 100 µl, 1000 µl)

Sarstedt, Nümbrecht

Ep T.I.P.S 300 µl

Eppendorf, Hamburg

Eppendorf Combitips® plus 5 ml

Eppendorf, Hamburg

LightCycler® Capillaries (20 µl)

Roche, Mannheim

Multiply® -Pro 0.2ml Biosphere®

Sarstedt, Nümbrecht

Multi® -Reaktionsgefäße 1,7 ml

Roth, Karlsruhe

Multi® -Reaktionsgefäße 2 ml

Roth, Karlsruhe

Röhre 50ml, 114x28mm, PP

Sarstedt, Nümbrecht

Röhre 50ml, 115x28mm, PP

Sarstedt, Nümbrecht

Kanülen und Spritzen

Injekt® 5ml Luer

Roth, Karlsruhe

Sterican® Kanülen

Roth, Karlsruhe

Omnifix® Einmalspritzen mit Luer Anschluss

Roth, Karlsruhe

Mikrowelle und Heizblöcke

HLC Heizblock Thermostat HBT 130-2

Heap Labor Consult, Bovenden

Mikrowelle WP-100 P17

Hanseatic, Löhne

Handschuhe

Rotiprotect® -Latex (puderfreie Handschuhe)

Roth, Karlsruhe

Rotiprotect® -Nitril Einmalhandschuhe

Roth, Karlsruhe

Sonstiges

A. D. TOUCH ELISA Plate Analyzer

apDia n. v., Turnhout, Belgien

CertoClav Tisch-Autoclav

CertoClav, Traun, Österreich

Flockeneisbereiter AF 120

Scotsman, Ipswich, Suffolk, GB

Labortimer SKT338N

Roth, Karlsruhe

Luminometer PCE-172

PCE-Group, Meschede

LightCycler® Capping Tool

Roche, Mannheim

Präzisionswaage EMB 200-2

Kern & Sohn GmbH, Balingen

Salivette®

Sarstedt, Nümbrecht

Computerprogramme

INTAS GDS

INTAS, Göttingen

LightCycler Software Version 3.5

Roche, Mannheim

Oligo analyzer

<http://eu.idtdna.com/calc/analyzer>

5 Methoden

5.1 Übersicht über den Studienverlauf

Hier soll zunächst eine Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Untersuchung dargelegt werden. Details zu den verwendeten Geräten, den Messbedingungen und zum Ablauf der Messungen werden in nachstehenden Kapiteln behandelt. Die Untersuchung erfolgte jeweils in Teilen zu Hause im gewohnten Umfeld der Probandinnen und in separaten Untersuchungsräumen der AG Humanbiologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Die Datenerhebung erstreckte sich je Probandin über acht Tage (Abb. 11). Diese Dauer wurde gewählt, um durch das Schlaftagebuch und die Aktivitätsmessung (s. u.) einen Einblick in das gewöhnliche Schlafverhalten der Studienteilnehmerinnen zu bekommen. In der Literatur wird eine Mindestdauer von einer Woche für die Messung der Bewegungsaktivität empfohlen, um Aufschluss über das Schlaf-Wach-Muster von Probanden erhalten zu können (Martin & Hakim 2011). Am ersten Tag der Studie wurden die Probandinnen um 08:00 oder 09:00 Uhr morgens nüchtern in die AG Humanbiologie gebeten. Dort wurden sie zunächst nochmals über den Ablauf der Studie und ihre Rechte mündlich und schriftlich aufgeklärt und füllten eine Einverständniserklärung aus. Danach wurden anthropometrische Maße genommen (Körpergewicht, Körperhöhe, Taillen- und Hüftumfang) und die Körperzusammensetzung mittels Bioimpedanzanalyse bestimmt. Die Probandinnen wurden anschließend mit Getränken und Gebäck versorgt und füllten zunächst einen allgemeinen Fragebogen und den PSQI-Fragebogen zur Erfassung der Schlafqualität aus. Danach wurden den Studienteilnehmerinnen alle für die Untersuchung benötigten Geräte ausgehändigt bzw. angelegt und es erfolgte eine genaue Instruktion zur Datenerhebung über acht Tage. Bis zum letzten Studientag führten die Probandinnen ein Schlaftagebuch und ein Tagesprotokoll zur Aufzeichnung ihrer Aktivitäten. Sie trugen einen Aktigrafen am Handgelenk, der ihre Bewegungsaktivität aufzeichnete und drei Temperatursensoren an Hand, Fuß und Oberschenkel zur Messung ihrer peripheren Hauttemperaturen. Die Probandinnen wurden gebeten, einen möglichst regelmäßigen Schlaf-Wach-Rhythmus einzuhalten und ihre Woche so „normal“ wie möglich zu erleben.

Den Abend vor der sechsten Nacht der Untersuchungswoche (Abb. 12) sollten die Probandinnen ruhig zu Hause verbringen, um den Einfluss auf die Messung der peripheren Körpertemperatur so gering wie möglich zu halten. An diesem Abend sammelten die Probandinnen vor dem Zubettgehen eine Speichelprobe für die Cortisolanalyse und legten ein ambulantes EEG-Gerät an, das über Nacht ihre

Methoden

Hirnstromaktivitäten aufzeichnete. Am nächsten Morgen schalteten die Probandinnen unmittelbar nach dem Aufwachen das EEG-Gerät aus und sammelten eine weitere Speichelprobe. Weitere drei Speichelproben wurden 30, 45 und 60 min nach dem Aufwachen gesammelt und bis zur weiteren Bearbeitung kühl gelagert. Am Morgen des achten Tages fanden sich die Probandinnen um 07:30 Uhr in der Abteilung für Humanbiologie ein. Um 08:00 Uhr morgens fand die erste Mundschleimhaut-Probennahme durch die Studienleiterin statt. Die Probandinnen verbrachten den Vormittag nach ihren Wünschen außerhalb der Universität bis sie sich um 11:30 Uhr wieder in der AG Humanbiologie einfanden. Um 12:00 Uhr erfolgte die nächste Mundschleimhaut-Probennahme durch die Studienleiterin. Den Nachmittag verbrachten die Probandinnen nach ihren Wünschen außerhalb der Universität, sollten jedoch keinen intensiven Sport treiben. Von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr befanden sich die Probandinnen in einem Untersuchungsraum der AG Humanbiologie mit kontrollierter Beleuchtungsintensität (< 30 lux) und Raumtemperatur in sitzender Position. Um 18:00 Uhr wurde eine Abendmahlzeit gereicht. Um 20:00 und 24:00 Uhr erfolgten die nächsten Probennahmen durch die Studienleiterin. Die Probandinnen durften Getränke zu sich nehmen und mussten möglichst ihre sitzende Position beibehalten. Toilettengänge erfolgten mit einer Sonnenbrille, um die Augen vor hellem Licht im Flur zu schützen. Über den letzten Untersuchungstag hinweg füllten die Probandinnen weitere Fragebögen aus. Alle gesammelten Mundschleimhautproben wurden sofort von der Versuchsleiterin weiter verarbeitet. Der Tag wurde so gestaltet, dass er für alle Probandinnen möglichst einheitlich war. Die einheitlichen Bedingungen für Raumtemperatur, Beleuchtungsintensität und Körperposition am letzten Abend der Studie wurde in den Studienablauf mit einbezogen, um einen möglichst unverfälschter Verlauf der peripheren Hauttemperaturen zu erhalten.

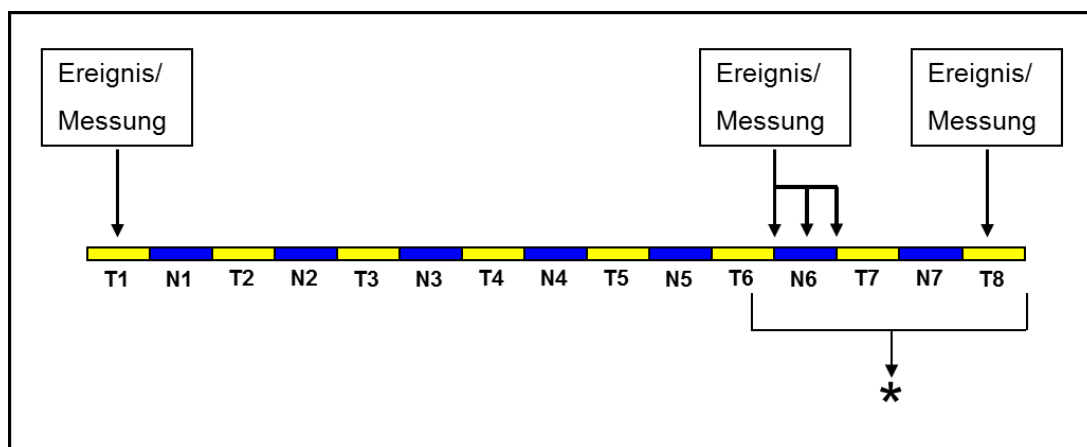


Abb. 11: Schema zum Ablauf der Datenerhebung für eine Probandin. T = Tag, N = Nacht.

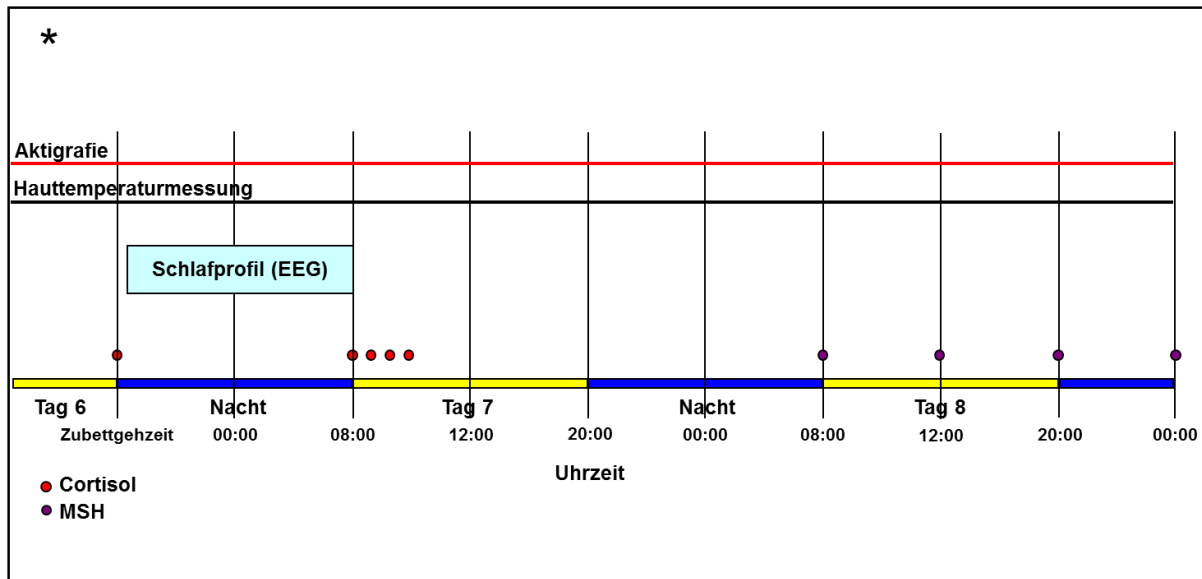


Abb. 12: Schematische Darstellung der Datenerhebung. Abgebildet sind die letzten drei Tage der Untersuchung. EEG = Elektroenzephalographie, MSH = Mundschleimhaut (Probensammlung).

5.2 Fragebogenerhebungen

5.2.1 Allgemeiner Fragebogen

Der Allgemeine Fragebogen (Anhang A4) wurde in der AG Humanbiologie des Zoologischen Instituts der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel erstellt und für die vorliegende Arbeit modifiziert. Er besteht aus 28 Fragen, die der Charakterisierung des Probandenkollektivs dienen. Im Fragebogen werden zunächst einige soziodemographische Daten des Probanden erfasst (Familienstand, Wohnsituation, Kinder, Beruf). Danach erfolgt die Einschätzung des eigenen Chronotyps und des Chronotyps des Partners. Der Proband gibt Auskunft über seinen Gesundheitszustand, akute oder chronische Erkrankungen und die Einnahme von Medikamenten (insbesondere Schlafmittel), die Einfluss auf den Schlaf und die untersuchten physiologischen, endokrinen und molekulargenetischen Rhythmen und Kenngrößen haben können. Ein weiterer Fragenkomplex des Fragebogens deckt Lebens- und Schlafgewohnheiten des Probanden ab. Darunter fallen der tägliche Aufenthalt im Freien (bei Tageslicht), das Rauchverhalten, der Konsum von anregenden Getränken und Alkohol, die Umgebung für den Nachtschlaf (z.B. Schlafen bei abgedunkeltem Zimmer) und Schlafen am Tag (Nickerchen). Probanden werden nach ihrer Händigkeit und der Temperatur der Hände und Füße kurz vor dem Zubettgehen gefragt. Abschließend wird nach der Einnahme von Hormonen und Kontrazeptiva und der Phase des Menstruationszyklus gefragt.

5.2.2 Pittsburgh-Sleep-Quality-Index

Der Pittsburgh-Sleep-Quality-Index (PSQI) (Anhang A5) wurde von Buysse *et al.* (1989) entwickelt und bewertet die subjektive Schlafqualität eines Probanden während der vorangegangenen vier Wochen. Der Fragebogen findet Anwendung in zahlreichen Studien (Doi *et al.* 2001; Fiorentini *et al.* 2007; Jafarpour & Sadeghniaat-Haghighi 2013; Owen *et al.* 1999) und ist international anerkannt. Der PSQI besteht aus 19 Fragen, die der Proband selbst beantwortet und fünf Fragen, die vom Partner beantwortet werden, und die nicht in die Auswertung mit einfließen. Neben der Zubettgeh- und Aufstehzeit, der Einschlafzeit und der nächtlichen Gesamtschlafdauer gibt der Proband Gründe für nächtliche Aufwach-Ereignisse sowie deren Häufigkeit an. Der PSQI erfasst sieben Komponenten, auf denen die Einschätzung der Schlafqualität beruht: subjektive Schlafqualität, Einschlafzeit, Schlafdauer, Schlaffeffizienz, Schlafstörungen, Gebrauch von Schlafmitteln sowie Tagesschläfrigkeit (Buysse *et al.* 1989). Jede Komponente kann einen Punktwert von 0 bis 3 Punkten annehmen, sodass insgesamt 21 Punkte erreicht werden können. Bei einem Punktwert von 0 bis 5 kann der Proband als „guter Schläfer“ eingeordnet werden, mit 6 bis 21 Punkten ist er ein „schlechter Schläfer“ (Buysse *et al.* 1989). Die Auswertung des Fragebogens erfolgte mit Hilfe einer Excel-Datei. Aus den Angaben im Fragebogen können die Zubettgehzeit, die Schlafdauer, die Zeit des Schlafbeginns, die Aufstehzeit, und die Schlafdauer in den letzten vier Wochen vor Ausfüllen des Fragebogens entnommen werden. Aus dem PSQI wurden die Liegedauer und daraus folgend die Schlaffeffizienz ermittelt. Die Liegedauer ist die Zeitdifferenz zwischen Zubettgehzeit und Aufstehzeit. Die Schlaffeffizienz wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Schlaffeffizienz (\%)} = \frac{\text{Gesamtschlafdauer (min)}}{\text{Liegedauer (min)}} \times 100$$

Weiterhin wurde aus den Angaben im Fragebogen die Schlafmitte der Probandinnen berechnet (s. Kapitel 5.2.4).

5.2.3 Morningness-Eveningness Questionnaire

Der Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) (Anhang A6) wurde von Horne & Östberg (1976) entwickelt und ist der international am häufigsten eingesetzte Fragebogen zur Bestimmung des Chronotyps (z. B. Baehr *et al.* 2000; Mongrain *et al.* 2004; Paine *et al.* 2006; Zavada *et al.* 2005). Griefahn *et al.* (2001) entwickelten eine für den deutschen Sprachraum validierte Version des ursprünglichen Fragebogens (D-MEQ), die auch in dieser Arbeit verwendet wurde. Der MEQ besteht aus 19 Fragen, anhand derer die circadiane Phasenlage (bevorzugte Wach- bzw. Schlafzeiten, Tageszeiten höchster Aktivität) eines Probanden ermittelt wird. Es können 16 bis 86 Punkte erreicht werden. Je größer die Gesamtpunktzahl, desto früher der Chronotyp, d. h. Morgentypen erreichen die

Methoden

höchsten Punktzahlen und Abendtypen die niedrigsten. Die Einteilung in Morgentypen, Neutral- oder Intermediärtypen und Abendtypen erfolgt nach folgendem Schema:

Definitiver Abendtyp: $\leq 30,9$ Punkte

Moderater Abendtyp: 31,0 bis 41,9 Punkte

Neutraltyp: 42,0 bis 58,9 Punkte

Moderater Morgentyp: 59,0 bis 69,9 Punkte

Definitiver Morgentyp: $\geq 70,0$ Punkte

Der Alternsprozess führt zu einer Phasenbeschleunigung der täglichen Schlafepisode relativ zur Uhrzeit und zu der Entscheidung, früher ins Bett zu gehen und früher aufzustehen (Weitzman *et al.* 1982). Höheres Alter ist daher mit einer Präferenz für frühe Tageszeiten (einer stärkeren Morgenpräferenz oder einem höheren *Morningness-Score*) verbunden (z. B. Åkerstedt & Torsvall 1981; Taillard *et al.* 2004). Eine Zubettgehzeit von 23:30 Uhr weist in einem Studentenkollektiv auf einen Morgentyp hin, kann aber in einer Population von 40-60jährigen für einen Abendtyp stehen (Horne & Östberg 1976). Taillard *et al.* (2004) entwickelten eine an Bevölkerungsschichten mittleren Alters (40 bis 60 Jahre) angepasste Auswertemaske für die Einordnung von Chronotypen, eine an Altersgruppen ab 60 Jahren angepasste Punktwertung gibt es nach Kenntnis der Autorin bisher nicht. Aus diesem Grund wurde für ältere Probandinnen eine Tendenz zu Morgen- und Abendpräferenz (*Morningness-Eveningness*) angegeben, sie wurden jedoch keinem Chronotypen zugeordnet.

5.2.4 Munich Chronotype Questionnaire

In dieser Studie wurde ein zweiter Fragebogen zur Bestimmung der circadianen Phasenlage der Probanden verwendet. Mit dem MEQ werden subjektive Angaben eines Probanden zum Chronotyp erfasst. Es wird erfragt, welche Präferenzen der Proband für seine Schlaf- und Aktivitätszeiten hat und dadurch eine qualitative Schätzung der tageszeitlichen Präferenz vorgenommen. Im Gegensatz dazu wird mit dem von Roenneberg *et al.* (2003a) entwickelten Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ) (Anhang A7) der Chronotyp sowohl auf *qualitative* als auch *quantitative* Weise bestimmt. Es wurde eine verkürzte Version des Fragebogens verwendet.

Bei der *qualitativen Komponente* des Fragebogens schätzt der Proband auf einer 7stufigen Skala seinen eigenen Chronotyp ein. Zudem soll er die Chronotypen seiner Eltern, Geschwister und des Partners / der Partnerin einschätzen sowie seinen eigenen Chronotyp in verschiedenen Altersstadien, was erlaubt, die Veränderung des Chronotyps mit dem Alter nachzuverfolgen. Für die *quantitative Komponente* des Fragebogens werden vom Probanden die tatsächlichen Zeiten für Schlaf und Aktivität für seine *gegenwärtige* Situation möglichst präzise angegeben. Dies ermöglicht z. B. auch die Untersuchung von saisonalem Schlafverhalten. Der MCTQ hat den Vorteil, dass er dabei zwischen

Methoden

freien Tagen und Arbeitstage differenziert, da sich das Schlaf- und Aktivitätsverhalten zwischen beiden unterscheidet (Zavada *et al.* 2005). Die Schlafdauer an freien Tagen ist generell länger als die an Arbeitstagen (Taillard *et al.* 1999), vermutlich, weil sich über die Woche ein Schlafdefizit akkumuliert, das an freien Tagen abgebaut wird. Die Fragen, die die Schlafgewohnheiten des Probanden charakterisieren sollen, umfassen unter anderem: Zubettgehzeit und Einschlafzeit, Aufstehzeit (an Arbeitstagen) bzw. Aufwachzeit (an freien Tagen), ob für das Erwachen an Arbeitstagen ein Wecksignal benötigt wird, ob der Proband an freien Tagen zu seiner normalen Weckzeit aufwacht und ob er danach weiterschläft, wie lange der Proband braucht, um völlig wach zu sein (*sleep inertia*), den Zeitpunkt der vollen Einsatzfähigkeit, tageszeitliche Nickerchen und das Leistungstief am Tag.

Aus den mit dem Fragebogen erfassten Daten lassen sich der Schlafbeginn und die Schlafdauer folgendermaßen berechnen:

$$\text{Schlafbeginn} = \text{Zubettgehzeit} + \text{Einschlafzeit in Minuten}$$

$$\text{Schlafdauer} = \text{Aufwachzeit} - \text{Schlafbeginn in Minuten}$$

Ein wichtiges Maß, welches aus dem MCTQ gewonnen wird, ist die Schlafmitte (*midsleep*) eines Individuums. Sie wird berechnet, indem die Schlafdauer halbiert wird. Sie stellt also die Uhrzeit dar, nach der die Hälfte des Nachtschlafes vorbei ist. Die Schlafmitte an freien Tagen eignet sich gut als Referenzpunkt für die Schlafphase (die zeitliche Lage der Schlafepisode) und damit als Indikator für den Chronotyp eines Menschen (Zavada *et al.* 2005). Liegt die Schlafmitte zu einer früheren Uhrzeit, spricht das für eine frühere („vorverlagerte“ oder „beschleunigte“) Schlafphase und damit für einen Morgentyp. Entsprechend steht eine spätere Schlafmitte für eine spätere („rückverlagerte“ oder „verzögerte“) Schlafphase und damit für einen Abendtyp. Die mit dem MCTQ ermittelte tatsächliche Schlafenszeit steht in enger Beziehung zu der MEQ-Punktzahl (Zavada *et al.* 2005).

5.2.5 Freiburger Fragebogen

Da in der Literatur häufig die These vertreten wird, dass körperliche Aktivität in bestimmtem Ausmaß die Qualität des Schlafes positiv beeinflusst (z. B. O'Connor & Youngstedt 1995; Ohayon *et al.* 2001; Sherrill *et al.* 1998), wurde mit Hilfe des Freiburger Fragebogens (Frey *et al.* 1999) (Anhang A8) der Grad der körperlichen Aktivität der Probandinnen bestimmt. Unter körperlicher Aktivität wird dabei jegliche durch Muskelkontraktion hervorgebrachte Bewegung verstanden (Caspersen *et al.* 1985). Der Fragebogen wurde entwickelt, um zielgruppenunabhängig gesundheitswirksame Aktivitäten zu erfassen. Da der Fragebogen einfach auszufüllen ist und zur Bewertung bereits niedrige bis moderate Aktivitäten heranzieht, lässt ihn das als geeignetes Instrument für den Vergleich verschiedener und speziell auch älterer Probandengruppen erscheinen. Die Gesamtaktivität nimmt mit zunehmendem

Methoden

Alter bei beiden Geschlechtern ab und sportliche Aktivitäten werden reduziert, während Aktivitäten mit leichten bis moderaten Belastungsintensitäten bevorzugt ausgeführt werden (Frey *et al.* 1999).

Die für diese Studie verwendete Version des Fragebogens besteht aus den ersten acht der zwölf Fragen der vollständigen Version. Diese acht Fragen decken die Aktivitätsbereiche „Basisaktivitäten“, „Freizeitaktivitäten“ und „Sportaktivitäten“ ab. Die im ursprünglichen Fragebogen enthaltenen Fragen nach dem Umfang der täglichen Entspannungs- und Schlafphasen fehlen, da diese Daten in der vorliegenden Studie bereits mit anderen Methoden erfasst wurden. Alltags- oder Basisaktivitäten ergeben sich aus dem unmittelbaren Tagesablauf und haben eine leichte bis moderate Belastungsintensität. Darunter fallen Wege, die Fuß oder mit dem Fahrrad zurückgelegt wurden, Gartenarbeit und Treppensteigen. Freizeitaktivitäten werden hauptsächlich wegen ihres Erlebnis- oder Erholungswertes ausgeführt und haben ebenfalls eher geringe Belastungsintensitäten. Zu den Freizeitaktivitäten zählen Spaziergänge und Radtouren sowie Tanzen und Kegeln. Sportaktivitäten schließlich umfassen alle sportlichen Aktivitäten, die regelmäßig zur Erhaltung und Verbesserung der persönlichen Fitness ausgeführt werden. Alle Fragen des Fragebogens beziehen sich auf einen relativ kurzen Zeitraum von einer bis maximal vier Wochen. Dadurch soll vermieden werden, dass es z. B. durch ungenaues Erinnern zu Falschangaben hinsichtlich der Alltagsaktivitäten kommt (Frey *et al.* 1999).

Die Gesamtaktivitätszeit eines Probanden in Stunden pro Woche ergibt sich aus der Summe der Zeiten der einzelnen Aktivitäten. Jeder Aktivität kann ein „Aktivitätswert“ zugeordnet werden, der in Metabolischen Äquivalenten (*metabolic equivalents*, METs) ausgedrückt wird. Ein MET ist definiert als Verbrauch von einer Kilokalorie pro Stunde und pro Kilogramm Körpergewicht (Ainsworth *et al.* 1993; Ainsworth *et al.* 2000). Die METs, die einer Aktivität entsprechen, wurden für die Auswertung des Fragebogens aus dem Ainsworths Compendium (Ainsworth *et al.* 2011) übernommen. Mittels der Formel $\text{MET} \times \text{kg (Körpergewicht)} \times \text{Std/Woche}$ kann schließlich der körpergewichtsbezogene Energieumsatz pro Woche berechnet werden (Frey *et al.* 1999). Je höher der Energieumsatz ist, desto größer die körperliche Aktivität des Probanden.

5.2.6 Eppworth Sleepiness Scale

Der Eppworth Sleepiness Scale (ESS) (Anhang A9) ist ein von Johns (1991) entwickelter Fragebogen zur Einschätzung der Tagesschläfrigkeit eines Probanden. Der Proband schätzt für acht verschiedene Alltagssituationen (z. B. „Beim Fernsehen“), wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist, dass er in den beschriebenen Situationen einschläft. Die Auswahlmöglichkeiten reichen dabei jeweils von „würde niemals einnicken“ (null Punkte) bis „hohe Wahrscheinlichkeit einzunicken“ (drei Punkte). Somit können im ESS null bis 24 Punkte erreicht werden. Ab einer Punktzahl von elf oder höher wird der

Methoden

Proband als „tagesschläfrig“ bewertet, darunter liegt keine Tagesschläfrigkeit vor. Die deutsche Version wurde von Bloch *et al.* (1999) validiert.

5.2.7 Schlaftagebuch und Tagesprotokoll

Um ihr Schlafverhalten über die acht Tage (bzw. sieben Nächte) des Studienverlaufs hinweg zu dokumentieren, führten die Probandinnen ein Schlafprotokoll oder Schlaftagebuch. Es handelt sich hierbei um die Kurzversion eines Abend/Morgen-Protokolls, das von der Deutschen Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin (DGSM) entwickelt wurde (Anhang A10). Das Tagebuch eignet sich gut, um ein umfassendes Bild über die Schlafgewohnheiten einer Probandin zu erhalten.

Das Abendprotokoll enthält insgesamt sieben Fragen: Die Probandin gibt auf Skalen von eins bis sechs ihr momentanes Befinden (1 = angespannt, 6 = entspannt) und den Grad ihrer Leistungsfähigkeit (1 = gut, 6 = schlecht) über den Tag hinweg an. Außerdem bewertet die Probandin den Grad der Erschöpfung an dem betreffenden Tag (Skala von 0 = nein bis 3 = sehr), die Anzahl und Dauer von Nickerchen, den Alkoholkonsum vor dem Schlafengehen sowie die Uhrzeit des Zubettgehens und die Uhrzeit, zu der das Licht ausgeschaltet wurde.

Am Morgen wurden in neun Fragen Angaben für die verbrachte Nacht erfragt: auf Punkteskalen gab die Probandin an, wie erholsam ihr Schlaf war (1 = sehr, 5 = gar nicht), ob sie sich eher bedrückt oder eher unbeschwert fühlt, wie lange es nach dem Lichtlöschen bis zum Einschlafen gedauert hat, wie oft und wie lange sie nachts wach war und wann sie endgültig aufgewacht und aufgestanden ist und das Licht angeschaltet hat. Zudem sollte die Probandin angeben, wie lange sie insgesamt geschlafen hat und ob sie Medikamente zum Schlafen eingenommen hat.

Die Probandinnen wurden gebeten, das Tagebuch vor dem abendlichen Zubettgehen und unmittelbar nach dem morgendlichen Aufstehen zu führen. Bis auf die abendliche Zubettgehzeit und die morgendliche Zeit des Aufwachens und Aufstehens - für die die Angabe genauer Uhrzeiten möglich sind - schätzte die Probandin alle Angaben subjektiv ein. Aus den Angaben im Schlaftagebuch wurden als zusätzliche Parameter die Liegezeit und die Schlafeffizienz für jeden einzelnen Tag und als Mittelwert über alle sieben Tage nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{Liegezeit (min)} = \text{Einschlafzeit (min) (Frage 10)} + \text{Schlafdauer (min) (Frage 13)} + \text{nächtliche Wachzeiten (min) (Frage 11)}$$

$$\text{Schlafeffizienz (\%)} = (\text{Schlafdauer (min) (Frage 13)} / \text{Liegezeit (min)}) \times 100$$

Dem Schlaftagebuch wurde ein Tagesprotokoll der AG Humanbiologie angefügt (Anhang A10), das aus neun Fragen besteht. In diesem Protokoll sollten die Probandinnen angeben, zu welchen Zeiten sie ihre Hauptmahlzeiten (Frühstück, Mittagessen und Abendessen) eingenommen haben, wie viel Zeit sie

Methoden

im Freien verbracht haben, ob und wann sie Sport getrieben haben, ob und wann sie tagsüber geschlafen haben und wann sie abends schläfrig geworden sind. Zudem trugen die Probandinnen hier die Zeiten ein, zu denen sie die Messgeräte Actiwatch2 und iButton (s. u.) abgenommen haben. Auch besondere Vorkommnisse, die Einfluss auf den Ablauf der Untersuchung haben könnten, wurden hier eingetragen.

5.3 Physiologische Methoden

5.3.1 Anthropometrie und Bioelektrische Impedanzanalyse

Zur Charakterisierung des Probandenkollektivs wurden zunächst einige anthropometrische Maße erfasst. Die Messung der Körperhöhe erfolgte mit einem Anthropometer mit einer Genauigkeit von 0,1 cm. Die Probandinnen stellten sich hierfür ohne Schuhe aufrecht mit geschlossenen Füßen vor eine Wand. Der Mittelholm des Anthropometers lag bei der Messung mittig am Kopf an. Das Körpergewicht wurde mit einer Personenwaage (Dirk Rossmann GmbH, Burgwedel) auf 0,1 kg genau gemessen. Vor der Messung wurden die Probandinnen gebeten, Schuhe und schwere Kleidung (wie Jacken) auszuziehen und Gegenstände wie Geldbörsen oder Schlüssel abzulegen. Für die verbliebene Kleidung wurden bei jeder Probandin 500 g vom ermittelten Körpergewicht abgezogen. Aus den erhobenen Maßen wurde der Body-Mass-Index (BMI) nach der Formel

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{(\text{Körperhöhe (m)})^2}$$

berechnet. Zudem wurden die Umfänge von Taille und Hüfte mit einem Bandmaß in Zentimetern gemessen. Der Taillenumfang ist der „kleinste Umfang des Rumpfes zwischen Brust und Hüfte bei ruhiger Atmung und nicht angespannten Bauchmuskeln“. Der Hüftumfang ist der „größte Umfang der Hüfte auf Höhe der stärksten Ausladung des Gesäßes bei geschlossenen Füßen und nicht angespannten Gesäßmuskeln“ (Knußmann 1988). Das Taille-Hüfte-Verhältnis errechnet, indem der Taillenumfang durch den Hüftumfang geteilt wurde.

Außerdem wurde eine bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) mit dem Gerät Nutriguard-M von Data Input (Darmstadt) durchgeführt. Die BIA ist eine nicht-invasive Methode zur Erfassung von Muskelmasse, Fettmasse und Körperwasser einer Person. Vereinfacht beruht sie auf folgendem Prinzip: Es wird ein schwacher, für den Menschen nicht spürbarer Wechselstrom mit bekannter Frequenz und Stromstärke (ca. 800 μA) durch den Körper geleitet. Der Körper bietet zwei Arten von Widerstand gegen diesen elektrischen Strom. Zum einen den kapazitiven Widerstand (Reaktanz) und zum anderen den resistiven Widerstand (Resistanz). Die Reaktanz ist dabei der Widerstand durch

Methoden

Kondensatoreigenschaften der Zellmembranen, die Resistanz der ohmsche Widerstand durch extrazelluläres, elektrolythaltiges Körperwasser (Kyle *et al.* 2004). Durch die Messung der Resistanz kann somit eine Aussage über den Anteil an extrazellulärer Flüssigkeit im Körper gemacht werden, während die Reaktanz Hinweise auf die Masse der Körperzellen gibt. Reaktanz und Resistanz zusammen bilden einen Gesamtwiderstand, die Impedanz (Kyle *et al.* 2004). Zudem kann das Verhältnis von Reaktanz zu Resistanz durch einen Phasenwinkel ausgedrückt werden. Je höher der Anteil der Reaktanz an der Impedanz, d. h. je höher der Anteil an Zellmembranen und damit Zellen, desto größer ist der Winkel. Der Phasenwinkel ist somit ein Maß für die Quantität und Qualität der zellulären Körpermasse. Die BIA erfasst durch die Resistanzmessung das Gesamtkörperwasser. Da sich dieses zum größten Teil in der fettfreien Masse (Muskelmasse) befindet, sind durch die Körperwassermessung Rückschlüsse auf die fettfreie Masse möglich. Körperfett leitet keinen Strom, somit wird der Anteil an Körperfett durch die BIA nicht direkt bestimmt. Auf den Anteil an Fettmasse kann über die fettfreie Masse und das Körpergewicht des Probanden geschlossen werden (Guo *et al.* 1987).

Die Messung der Körperzusammensetzung fand bei allen Probandinnen zwischen 08:00 und 10:00 Uhr morgens statt. Die Probandinnen sollten 12 Stunden vor der Messung nichts essen und trinken, 24 Stunden vorher keinen Alkohol trinken und 12 Stunden vorher keinen Sport treiben. Außerdem sollte die Blase direkt vor der Messung geleert und Hände und Füße vor dem Anlegen der Elektroden nicht eingecremt sein. Die Messung wurde nach der Messanleitung von Data Input durchgeführt:

Die Probandin lag entspannt in horizontaler Position mit leicht gespreizten, nicht am Körper anliegenden Extremitäten. An der dominanten Körperseite wurden jeweils zwei Klebeelektroden mit einer leitenden Gelschicht (BIANOSTIC-AT[®], Data Input GmbH, Darmstadt) an den freien Hand- und Fußrücken angebracht. An den Klebeelektroden wurden über Krokodilklemmen die Kabel des Nutriguard-M-Messgerätes befestigt (URL3). Es wurden direkt hintereinander drei Messungen bei den Frequenzen 5 kHz, 50 kHz und 100 kHz durchgeführt. Von dem Messgerät wurden Werte für Resistanz, Reaktanz und den Phasenwinkel ausgegeben. Mit Hilfe der Software Nutri Plus 5.1 (Data Input, Darmstadt) wurden nach der Messung Werte für das extra- und intrazelluläre Wasser, die Körperzellmasse und extrazelluläre Masse (fettfreie Masse) und die Fettmasse berechnet. Hierzu wurden neben den gemessenen Widerständen die Körperhöhe, das Körpergewicht, Alter und Geschlecht in die Software eingegeben.

5.3.2 Aktigrafie

Die Bewegungsintensität der Probandinnen wurde durch die Methode der Aktigrafie auf Basis der Akzelerometrie bestimmt. Bei der Akzelerometrie werden Bewegungen mit Hilfe von Beschleunigungssensoren (Akzelerometern) gemessen. Die Aktigrafie ist eine nicht-invasive Methode

Methoden

zur objektiven Erfassung des Schlafverhaltens und der täglichen Aktivität von Studienteilnehmern. Ausgehend von der Annahme, dass man sich während des Schlafens deutlich weniger bewegt als während des Wachzustandes, werden anhand gemessener Bewegungsintensitäten Phasen der Ruhe und der Aktivität bestimmt. Durch Aktigrafie können nur Schlaf- und Wachzustand unterschieden werden, nicht jedoch verschiedene Schlafphasen.

Geräte zur Aufzeichnung von Bewegung werden Aktigrafen genannt. Aktigrafen sind klein und können unauffällig am Körper getragen werden. Durch ihre geringe Größe beeinträchtigen sie Probanden nicht in ihrem täglichen Leben. Zudem ist die Aktigrafie eine relativ kostengünstige Methode, die es ermöglicht, größere Probandenkollektive über längere Zeiträume hinweg zu untersuchen (Ancoli-Israel *et al.* 2003). Die Schlafanalyse durch Aktigrafie wurde bereits mehrfach zufriedenstellend gegen polysomnographische Daten validiert (z. B. Cole *et al.* 1992; Kripke *et al.* 1978; Lichstein *et al.* 2006).

Der in der Studie verwendete Aktigraf ist die Actiwatch2 (Philips Respironics). Das Messgerät ähnelt in Dimension und Aussehen einer normalen Armbanduhr ohne Ziffernblatt (Abb. 13).

Die Actiwatch2 enthält ein piezoelektrisches Element, das eine gemessene Veränderung der Beschleunigung in eine definierte elektrische Spannung umwandelt (Murphy 2009; Actiware and Actiware CT Software and Hardware Manual). Diese wird in einem nicht-volatilen Speicher gespeichert und vom Gerät durch einen programmierten Algorithmus in Bewegungseinheiten (*activity counts*) übertragen. Durch das Auszählen dieser einheitslosen *activity counts* kann die Intensität und Dauer von Aktivität zwischen Probandinnen vergleichbar gemacht werden. Auf dem „Ziffernblatt“ der Actiwatch2 befindet sich ein Lichtsensor, der die Lichtintensität von einfallendem Weißlicht misst. Seitlich am Gerät befindet sich eine Markierungstaste, mit der von der Probandin gesetzte Markierungen in ein aufgezeichnetes Bewegungsprofil eingefügt werden können.



Abb. 13: Die Actiwatch2 (Philips Respironics) (Quelle: URL4) und eine schematische Aufsicht auf das Gerät. Auf der Vorderseite der Actiwatch2 befindet sich ein Lichtsensor, seitlich eine Markierungstaste (Quelle: Actiwatch Spectrum & Actiwatch2 Wearer Guide, Philips Respironics).

Methoden

Die Probandinnen trugen die Actiwatch2 am Handgelenk des nicht-dominanten Arms (z. B. Murphy 2009). Das Gerät wurde durchgehend über die gesamte Untersuchungszeit hinweg getragen und nur zum Duschen oder Schwimmen abgenommen. Dadurch wurden Bewegungsdaten über die gesamte Untersuchungswoche gesammelt. Dies ist der in der Literatur empfohlene Mindestzeitraum, um aussagekräftige Daten über den Schlaf-Wach-Rhythmus zu erhalten (Van Someren 2007). Die Probandinnen wurden instruiert, beim Zubettgehen (mit der Absicht, schlafen zu gehen) und beim Aufstehen sowie beim Ab- und Wiederanlegen der Actiwatch die Markierungstaste am Gerät zu drücken.

In der Zeit, in der die Probandinnen die Actiwatch trugen, führten sie ein Schlaftagebuch, wie in der Literatur empfohlen wird (Ancoli-Israel *et al.* 2003). Dadurch sind Sicherungsdaten zum Schlaf-Wach-Verhalten vorhanden, falls die Software des Aktigrafen Daten falsch interpretiert, die Probandin das Gerät falsch handhabt oder vergisst, die Markierungstaste zu drücken (Lauderdale *et al.* 2009; Lauderdale *et al.* 2006). Zudem neigen Aktigrafen dazu, die geschlafene Zeit zu überschätzen, da viele Menschen auch längere Phasen der Inaktivität ohne Schlaf verbringen. Durch Tagebucheinträge können Wachphasen ohne Bewegung von echten Schlafphasen abgegrenzt werden, sodass die Identifikation des Schlafbeginns potentiell verbessert wird (Martin & Hakim 2011). Auch Zeiten, in denen sich die Actiwatch nicht am Handgelenk befand, wurden protokolliert.

Als Messintervall für die Datensammlung wurde eine Minute gewählt. Ein Messintervall (oder eine Epoche) ist die Zeitspanne, in der die Actiwatch gemessene Bewegungseinheiten akkumuliert, bevor sie sie als Datenfile speichert. Vom Gerätehersteller wird für die Analyse des Schlafverhaltens eine Epochenlänge von einer Minute oder weniger empfohlen (Actiware and Actiware CT Software and Hardware Manual) und im überwiegenden Teil der gesichteten Literatur wird diese Einstellung verwendet (Ancoli-Israel *et al.* 2003; Cole *et al.* 1992; Dettoni *et al.* 2012; Gribbin *et al.* 2012; Lockley *et al.* 1999; Lötjönen *et al.* 2003; Meltzer *et al.* 2012; van de Wouw *et al.* 2013).

Die durch die Actiwatch2 gesammelten Daten wurden über eine spezielle Docking-Station auf einen PC überspielt und mit der Actiware-Software (Version 6.0.1, Philips Respironics) ausgewertet. Mit der Software wurden Aktogramme (Abb. 14) mit den dazugehörigen Statistiken erstellt. Ein Aktogramm ist die graphische Darstellung der Verteilung von Ruhe- und Aktivitätsperioden eines Probanden über einen 24 Stunden-Tag hinweg. Hierbei können mehrere Tage in einer Grafik dargestellt werden (Abb. 14).

Bei der Auswertung der Messdaten wurden sieben volle Tage von 17:00 bis 17:00 Uhr betrachtet, wodurch jeder Untersuchungstag eine vollständige Nacht umfasst. Im Aktogramm können zeitliche Intervalle (z. B. Ruheintervalle, Schlafintervalle, Aktivitätsintervalle) entweder automatisch durch die

Methoden

Software oder manuell definiert werden. Für diese Intervalle wird durch das Programm eine separate Statistik berechnet.

Ruheintervalle wurden mit Hilfe der im Aktogramm gesetzten Markierungen und der Angaben im Schlaftagebuch (z. B. Nickerchen, Zubettgehzeiten, Aufstehzeiten) manuell festgelegt. Standen für den Anfang und das Ende eines Ruheintervalls sowohl Schlaftagebucheintrag als auch eine Markierung im Aktogramm zur Verfügung, wurde die Markierung zur Festlegung gewählt. Wenn die im DGSM vermerkten Zeiten nicht in einem Bereich von zehn Minuten um die Markierung herum lagen, wurde ebenfalls die Markierungszeit bevorzugt (Hastings *et al.* 2006; Pesonen *et al.* 2009; Pesonen *et al.* 2011). Ausnahmen von diesem Vorgehen gab es nur, wenn aus dem Aktogramm selbst oder durch einen Vermerk der Probandin deutlich ersichtlich war, dass die Markierungstaste zu einem falschen Zeitpunkt gedrückt wurde.

Methoden

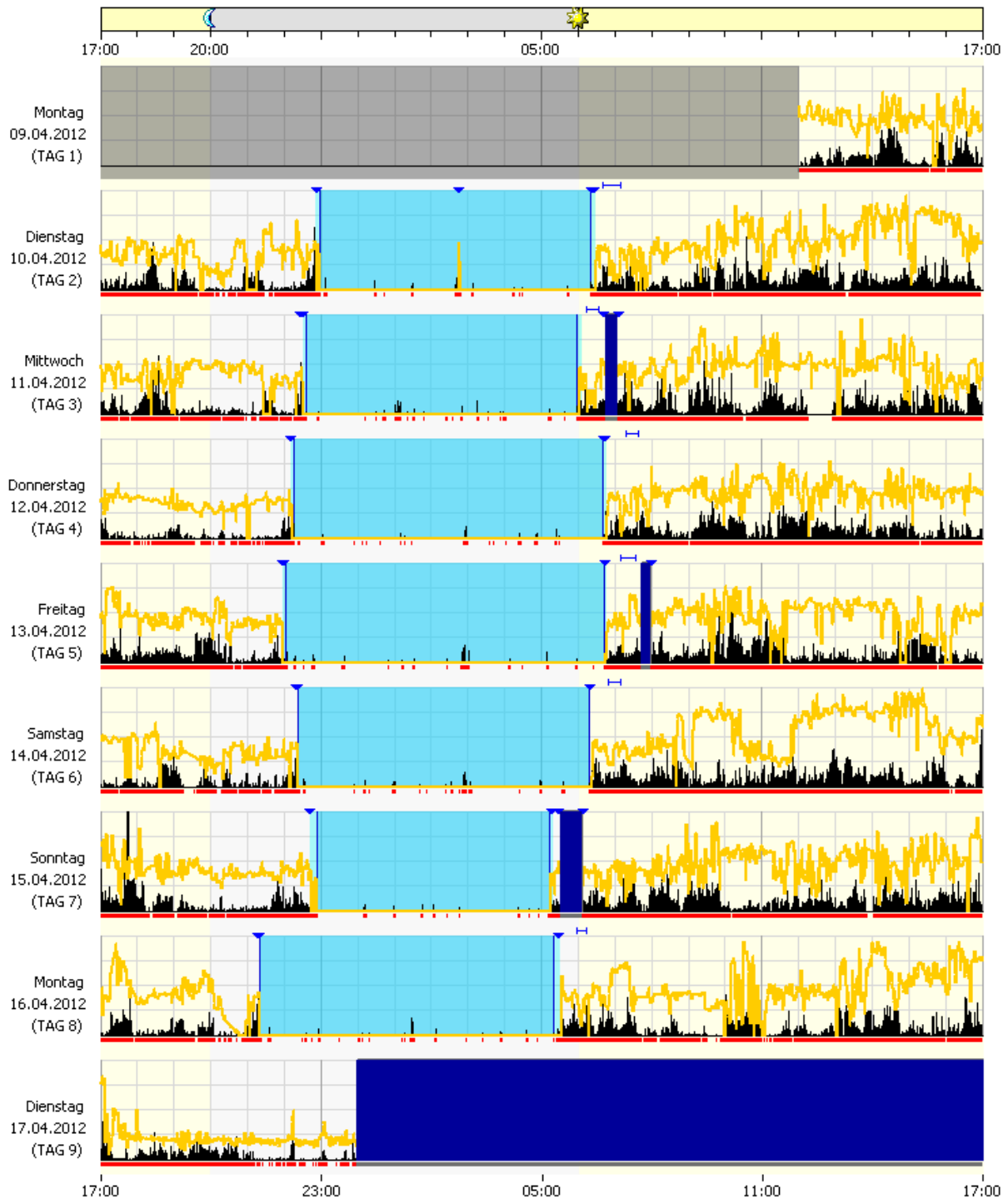


Abb. 14: Ein mit der Actiware-Software erstelltes Aktogramm, das die Bewegungsaktivität einer Probandin über sieben Tage hinweg zeigt. 24 Stunden-Tage werden übereinander angeordnet. Am oberen und unteren Rand des Aktogramms wird die Uhrzeit angezeigt. Hellblau unterlegte Bereiche = Ruheintervalle (manuell erstellt), mittelblau unterlegte Bereiche = Schlafintervalle (automatisch festgelegt), dunkelblaue Bereiche = ausgeschlossene Intervalle (manuell erstellt), schwarze Bereiche = Bewegungseinheiten/Aktivität, gelb = Intensität des Weißlichteinfalls, rot = als wach definierte Bereiche (automatisch festgelegt), blaue Pfeile = Markierungstaste, blaue Klammern = benutzerdefinierte Intervalle.

Methoden

Die Actiware-Software bewertet durch einen vordefinierten Algorithmus automatisch jedes aufgenommene Messintervall als Wachzustand oder Schlaf. Das geschieht, indem aus den Bewegungseinheiten des zu bewertenden Messintervalls und der vier umgebenden Messintervalle ein gewichteter Mittelwert gebildet wird (Abb. 15). Dieser Mittelwert wird mit einem manuell einstellbaren Grenzwert (*wake threshold*) verglichen. Ist der Mittelwert kleiner oder gleich diesem Grenzwert, wird die Epoche als „Schlaf“ definiert, ansonsten als „Wach“. Für diese Studie wurde ein niedriger Grenzwert (20 Bewegungseinheiten) eingestellt (Abb. 16). Weitere Optionen für diese Einstellung sind ein mittlerer (40 Bewegungseinheiten) und ein hoher (80 Bewegungseinheiten) Grenzwert. Je niedriger dieser Grenzwert gesetzt wird, desto empfindlicher ist die Software bei der Erkennung von Schlaf. In verschiedenen Studien wurde dieser niedrige Schwellenwert als der optimalste für die korrekte Erkennung von Ruhe bzw. Schlaf herausgestellt. Algorithmen mit einem niedrigen Schwellenwert zeigten die größte Genauigkeit und die meisten mit der PSG übereinstimmenden Epochen (Kushida *et al.* 2001; van de Wouw *et al.* 2013).

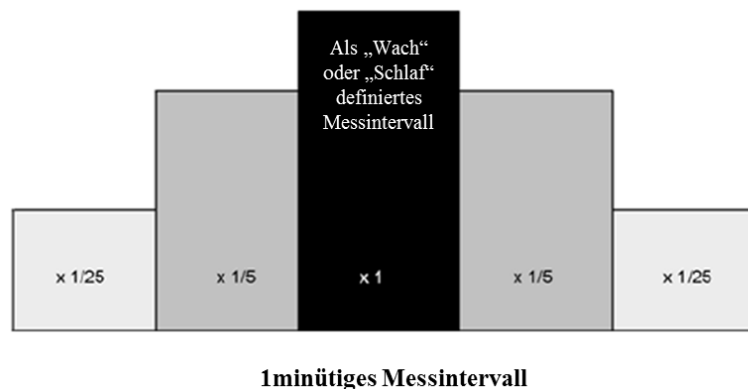


Abb. 15: Schema, nach dem das Actiware-Programm ein Messintervall als „Wach“ oder „Schlaf“ definiert (verändert nach: Actiware and Actiware CT Software and Hardware Manual, Philips Respironics).

Beginn und Ende des Schlafes innerhalb eines Ruheintervalls werden von der Software ebenfalls durch einen Algorithmus bestimmt. Dieser basiert entweder auf dem Zählen der „Minuten ohne Bewegung“ (als „Schlaf“ gewertete Minuten) oder der „Epochen ohne Bewegung“. Da in dieser Studie ein Messintervall einer Minute entspricht, können Minuten mit Epochen gleichgesetzt werden. Die Anzahl der in die Auswertung einfließenden Minuten kann manuell eingestellt werden. Sie wurde für diese Studie auf fünf Minuten festgelegt (Abb. 16). Innerhalb eines Ruheintervalls wurden daraus folgend Beginn und Ende des Schlafes folgendermaßen bestimmt: Die erste der ersten mindestens vier von fünf aufeinanderfolgenden als inaktiv („Schlaf“) gewerteten Minuten wird als Schlafbeginn

Methoden

festgelegt. Die letzte der letzten mindestens vier von fünf aufeinanderfolgenden als inaktiv („Schlaf“) gewerteten Minuten wird als Schlafende festgelegt.

The image shows a screenshot of the Actiware software interface for parameter configuration. It is divided into two main sections: 'Parameter' and 'Aktive Analyse'. The 'Parameter' section includes settings for 'Grenzwertauswahl für Wachphase' (set to 'Niedrig'), 'Grenzwert für Wachphasen' (20,00), 'Erkennungsalgorithmus für Schlafintervalle' (Minuten ohne Aktivität), 'Inaktive Minuten für Schlafbeginn' (5), 'Inaktive Minuten für Schlaf-Ende' (5), 'Epochen für Schlafbeginn' (5), 'Epochen für Schlaf-Ende' (5), 'Aktogramm-Startstunde' (17:00), and 'Licht-Grenzwert (weiß)' (0,0). The 'Aktive Analyse' section contains a dropdown menu for 'Aktive Analyse' set to 'Niedrig', and several numeric input fields for 'Grenzwert für Wachphasen', 'Erkennungsalgorithmus für Schlafintervalle', 'Inaktive Minuten für Schlafbeginn', 'Inaktive Minuten für Schlaf-Ende', 'Epochen für Schlafbeginn', and 'Epochen für Schlaf-Ende', all set to 5. The 'Aktogramm-Startstunde' is set to 17:00 and the 'Licht-Grenzwert (weiß)' is set to 0,0.

Abb. 16: Für die Auswertung der Aktogramme festgelegte Parameter für die Actiware-Software. Die Parameter wurden anhand von Literaturempfehlungen ausgewählt.

Getrennt für Ruheintervalle und Aktivitätsintervalle wurden mit der Actiware-Software erfasst:

- Gesamtaktivitätswert (absoluter Zählwert an Bewegungseinheiten in einem definierten Intervall)
- durchschnittliche Aktivität pro Minute (Bewegungseinheiten pro Minute)
- prozentualer Anteil an Bewegung (bezogen auf die Dauer eines Intervalls)

Für die Ruheintervalle, die die Schlafintervalle umfassen, wurden folgende Parameter erfasst:

- Zubettgehzeit (*bedtime*)
- Aufstehzeit (*waketime*)
- Zeit im Bett (*time in bed*, TIB)
- effektive Schlafdauer (*total sleep time*, TST)
- Einschlaf latenz (*sleep onset latency*, SOL)
- Schlaffeffizienz (*sleep efficiency*, SE)
- Dauer der Wachphasen nach Einsetzen des Schlafes (*wake after sleep onset*, WASO)
- Anzahl der nächtlichen Wachphasen (*number of night-time awakenings*, NNTA).

Als Schlafbeginn wurde die Zubettgehzeit zuzüglich der Einschlaf latenz definiert (Archer 2008).

Alle Parameter wurden als Mittelwert für alle sieben Untersuchungstage und zusätzlich separat für den sechsten Untersuchungstag erfasst. An diesem Tag bzw. in der davon umfassten Nacht, wurden von den Probandinnen Speichelproben für die Cortisolanalyse gesammelt und ein nächtliches Schlafprofil

Methoden

durch den QUISI-Schlafanalysator aufgezeichnet. Alle erhobenen Daten wurden für eine statistische Auswertung in das Statistikprogramm SPSS eingegeben.

5.3.3 Elektroenzephalographie

In der sechsten Nacht der Studie legten Probandinnen den QUISI[®]-Schlafanalysator (AXON GmbH, Schmalkalden) an. Der QUISI-Schlafanalysator ist ein ambulant anzuwendendes, einkanaliges Aufzeichnungsgerät, das Hirnströme misst. Mit Hilfe der zugehörigen Software wird daraus später automatisch ein Schlafprofil (Hypnogramm) erstellt.

Das QUISI[®]-Gerät hat etwa Westentaschenformat (Abb. 17 A). Die Datenerfassung erfolgt in einer frontalen Ableitung über drei Klebeelektroden (SKINTACT[®], Leonhard Lang GmbH, Innsbruck) an der Stirn (Abb. 17 B), die durch ein einzelnes Kabel (Aktivelektrode) mit dem Messgerät verbunden sind. Das QUISI[®]-Gerät arbeitet in einem Messbereich von 250 mV und mit einer Abtastfrequenz von 128 Hz (URL5).

Wegen seiner geringen Größe und einfachen Bedienung kann das QUISI[®]-Gerät von den Probandinnen selbstständig zu Hause genutzt werden. Die Messung ist dadurch mit weniger Aufwand verbunden als eine polysomnographische Untersuchung im Schlaflabor und das natürliche Schlafverhalten der Studienteilnehmerinnen in vertrauter Umgebung kann erfasst werden.

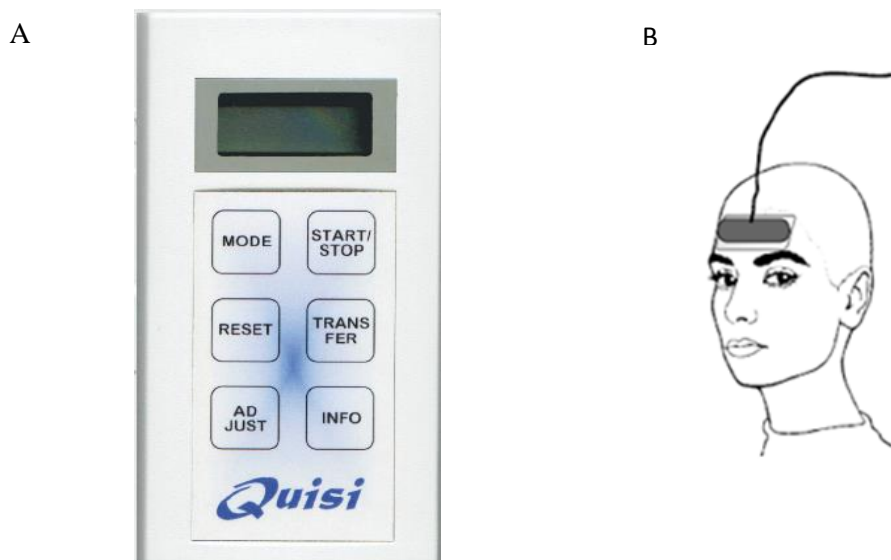


Abb. 17: A) Aufsicht auf den ambulanten QUISI-Schlafanalysator (Quelle: URL6). B) Drei Klebeelektroden werden an der Stirn angebracht und über ein einzelnes Kabel mit dem QUISI-Schlafanalysator verbunden (Quelle: Handbuch QUISI[®] Recorder und Software Version 2.0).

Methoden

Das QUISI-Gerät wurde nach einer mündlichen und schriftlichen Anleitung von den Probandinnen zu Hause selbstständig angelegt und aktiviert. Vor Beginn der Messung wurden die Klebeelektroden über Druckknöpfe mit dem Elektrodenkabel verbunden, die Elektroden auf die gereinigte Stirn geklebt und das Kabel mit der Aktivelektrode mit dem QUISI-Gerät verbunden. Um die Verwertbarkeit der Daten sicherzustellen, wurden die Probandinnen instruiert, das Gerät erst zu aktivieren, wenn sie zu Bett gehen mit der Absicht, einzuschlafen (der Zeitpunkt, zu dem auch die Actiwatch-Markierungstaste gedrückt wurde). Würde die Messung schon vorher gestartet, würde eine stark nach oben verfälschte Einschlaf latenz ermittelt werden. Die Messung wurde durch Knopfdruck gestartet und das Gerät über Nacht unter dem Kopfkissen platziert. Am nächsten Morgen sollte die Messung sofort nach dem Erwachen durch Knopfdruck beendet werden.

In Abb. 18 ist ein durch ein QUISI[®]-Gerät aufgezeichnetes und die Software QUISI[®] W 95 (Version 2.0, AXON GmbH) erstelltes Hypnogramm dargestellt. Horizontal befindet sich die Zeitachse, vertikal sind die verschiedenen Schlafstadien angegeben. Erläuterungen zum Aufbau eines Hypnogramms und zur Bedeutung dieser Stadien finden sich in Kapitel 1.3. Die aufgenommenen Daten werden von der verwendeten Software mit Hilfe eines nicht veröffentlichten Algorithmus in 30 s-Epochen automatisch ausgewertet (URL5). Es wird ein Hypnogramm erstellt, welches nicht manuell modifizierbar ist (Gfüllner et al. 2000).

Methoden

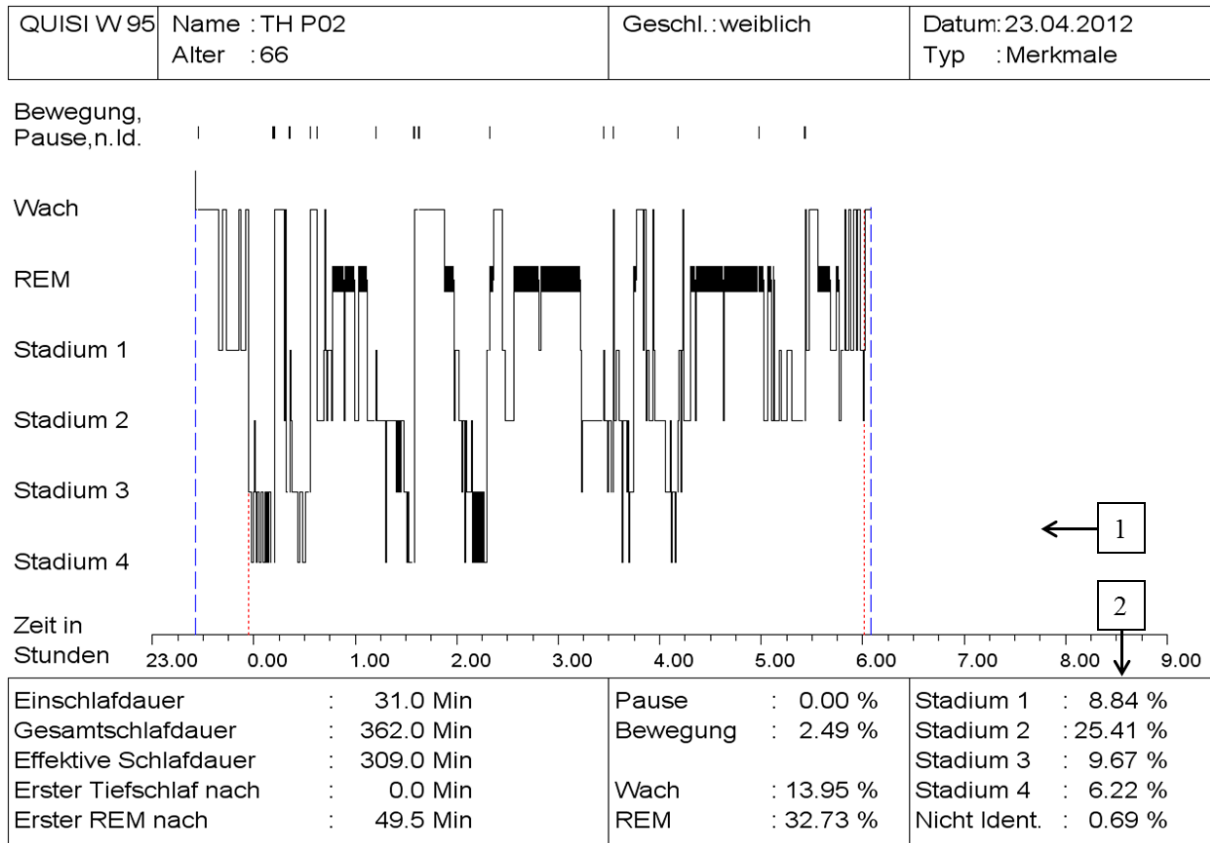


Abb. 18: 1) Ein mit der QUISI® W 95-Software erstelltes Schlafprofil. Horizontal verläuft eine Zeitleiste, vertikal sind die Schlafstadien angezeigt. Der QUISI-Schlafanalysator registriert anhand hoher Signalausschläge im EEG auch Bewegungen, welche als schwarze Balken in der obersten Reihe des Hypnogramms angezeigt werden. Blau gestrichelte Linie = Ein- und Ausschaltzeitpunkt des Geräts, rot gestrichelte Linie = Schlafbeginn und Schlafende. 2) Unter dem Schlafprofil befindet sich eine Legende mit Statistikangaben (Erläuterung im Text).

Parameter, die durch die Software ermittelt und in der Legende unter dem Hypnogramm aufgeführt werden, sind folgende:

- Einschlafdauer (*sleep onset latency, SOL*): Zeit vom Einschalten des Gerätes bis zum Einschlafen
- Gesamtschlafdauer (*sleep period time, SPT*): Zeit vom Einschlafen bis zum Aufwachen
- Effektive Schlafdauer (*total sleep time, TST*): SPT abzüglich der nächtlichen Wachzeiten und der nicht-identifizierten Epochen
- Erster Tiefschlaf nach (*SWS latency time, S3-Latenz, S4-Latenz*): Zeit vom Einschlafen bis zur ersten Epoche S3 oder S4
- Erster REM nach (*REM latency time, REM-Latenz*): Zeit vom Einschlafen bis zur ersten Epoche REM
- Pause: Prozentualer Pausenanteil während SPT
- Bewegung: Prozentualer Bewegungsanteil während SPT

Methoden

- Wach: Prozentualer Wachanteil während SPT
- Stadium 1, Stadium 2, Stadium 3, Stadium 4, REM: Prozentualer S1-, S2-, S3-, S4- oder REM-Schlaf-Anteil während SPT
- Nicht ident.: Prozentualer nicht-identifizierter Anteil während SPT

Der Einschlafzeitpunkt wird von QUISI[®] als Eintreten des S2-Stadiums definiert. Die Software berechnet zudem noch eine separat aufzurufende Statistik. Hier werden Minuten und Anteile der Schlafstadien bezogen auf die im Bett verbrachte Zeit, auf SPT und auf TST angegeben und zusätzlich nach Nachtdritteln unterteilt. Außerdem werden S1- und S2-Latenzen (Zeit vom Einschlafen bis zur ersten Epoche S1 oder S2), Beginn und Ende der Aufzeichnung sowie der Einschlafzeitpunkt (Uhrzeit) angegeben. All diese Parameter wurden in das SPSS-Statistikprogramm übertragen (für die einzelnen Anteile wurde der Bezug auf TST verwendet). Aus den Daten wurde die *Schlafmitte* für die betreffende Untersuchungsnacht berechnet.

Durch das mit dem QUISI-Schlafanalysator erstellte Schlafprofil sollten Rückschlüsse auf die Schlafstruktur, -qualität und -effizienz der Probandinnen gezogen werden. Die Schlafstruktur in dieser Nacht sollte u. a. zu den in der gleichen Nacht gesammelten Cortisolwerten und der parallel gemessenen peripheren Hauttemperatur in Verbindung gesetzt werden.

5.3.4 Temperatursensoren

Zur Messung der proximalen und distalen peripheren Hauttemperatur wurde der ThermoChron iButton[®]: DS1921H (Maxim/Dallas Semiconductor Corp., USA) verwendet (Abb. 19). iButtons sind kleine Halbleiter-Temperatursensoren von 16 x 6 mm² Durchmesser, in denen ein Computerchip mit 1-Wire-Transmitter/Receiver in einen Stahlzylinder eingebettet ist. Die iButtons erfassen Temperaturen zwischen +15 bis +46 °C, haben eine Messgenauigkeit von +/- 1 °C und eine Auflösung von 0,125 °C (rev. in Hasselberg et al. 2013; Sarabia et al. 2008). Die Hautverträglichkeit und Unauffälligkeit der iButtons wurde in mehreren Studien bestätigt und durch ihre wenig aufwendige Handhabung sind sie gut geeignet für unzureichend mitarbeitende Probandenpopulationen (z. B. bei Vergesslichkeit im Alter) (Hasselberg et al. 2013). Da die iButtons über die Dauer einer Woche getragen wurden, sollten sie die Probandinnen so wenig wie möglich stören, was die Zumutbarkeit und damit die Wahrscheinlichkeit für das Einhalten der Studienbedingungen erhöht. Der iButton arbeitet zuverlässig und ist tolerierbar, wenn er an der Haut befestigt ist (Sarabia et al. 2008). Durch die Verwendung der iButtons können genaue, kontinuierliche Messdaten der Körpertemperatur über längere Zeiträume erfasst werden, ohne dass Probanden damit in ihrem Alltag beeinflusst werden (Hasselberg et al. 2013).

Methoden



Abb. 19: Der Thermochron iButton[®]: DS1921H (Maxim/Dallas Semiconductor Corp., USA). Die iButtons sind Temperaturchips, die zur Messung der peripheren Hauttemperaturen an die Haut angebracht wurden (Quelle: URL7).

Auswahl des Zeitraums und der Messorte am Körper, Probandeninstruktion

Die Probandinnen wurden genau über das Anlegen der Temperaturchips instruiert, damit sie sie während der Untersuchungswoche selbst an- und ablegen konnten. Die Temperatursensoren sollten zum Duschen und Schwimmen abgenommen werden, sollten ansonsten jedoch durchgängig getragen werden. Damit die iButtons beim Wiederanlegen nicht verwechselt wurden, wurden sie mit einem Ethanol-löslichen Marker gekennzeichnet (auf der Fläche und am Rand), bevor sie den Probandinnen gegeben wurden. Die Temperaturchips wurden mit Hilfe von hautverträglichem Rollenklebepflaster (Leukosilk[®] S, BSN medical GmbH, Hamburg) an drei Messpunkten am Körper fixiert. Dabei lag die Seite mit dem kleineren Durchmesser auf der Haut auf, da der Chip hier eine höhere Messempfindlichkeit hat und dadurch genauer misst (van Marken Lichtenbelt *et al.* 2006).

Der erste Messort lag auf der Innenseite (palmar) des Handgelenks der nicht-dominanten Hand (Gompper *et al.* 2010; Sarabia *et al.* 2008) (Abb. 20). Abweichend zu Angaben aus anderen Studien wurde der iButton in dieser Untersuchung nicht direkt über der Radialarterie angelegt, sondern ca. 0,5 cm zur Mitte der Handgelenkinnenseite und ca. 1,5 cm nach proximal versetzt. Dies hatte zum einen den Grund, dass ein Schweißband über den iButton gezogen wurde, um diese Hautstelle vor Temperaturschwankungen (Wind, direkte Sonneneinstrahlung etc.) von außen zu schützen. Durch den Druck des Schweißbandes auf den iButton war die Position auf der Radialarterie nicht mit dem Tragekomfort der Probandinnen zu vereinbaren. Zum anderen trugen die Probandinnen ein Akzelerometer (s. o.) am gleichen Handgelenk distal vor dem iButton, sodass der Messpunkt leicht nach proximal verlegt werden musste. Als zweiter Messort wurde die Innenseite der Ferse (medial-lateral) gewählt (Gompper *et al.* 2010). Der iButton wurde in der Vertiefung unter dem Knöchel angebracht. Dieser Messpunkt wurde Positionen aus anderen Studien vorgezogen, da er nur dort über acht Tage ohne Beeinträchtigung im Schuh getragen werden konnte. Die Messpunkte an Hand und Fuß repräsentieren die distale periphere Hauttemperatur. Der dritte Messort lag mittig auf dem Oberschenkel, auf dem *Musculus rectus femoris*. Dieser Messpunkt wurde aus der Studie von Kräuchi and Wirz-Justice (1994) übernommen und repräsentiert die proximale periphere Hauttemperatur. Die Datenerfassung erfolgte über sieben Tage unter natürlichen Bedingungen. Während des Abendprofils

Methoden

am letzten Untersuchungstag erfassten die iButtons den Verlauf der proximalen und distalen Hauttemperatur unter für Licht, Bewegung und Raumtemperatur konstanten Bedingungen.

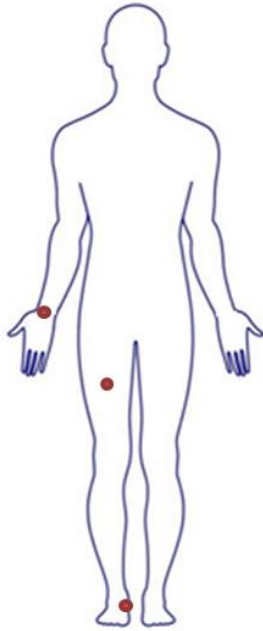


Abb. 20: Positionen der iButton-Temperatursensoren an Hand, Fuß und Oberschenkel. (verändert nach: URL8).

Die Auswertung der erhobenen circadianen Daten (Cosinor-Analyse)

Die über eine Woche aufgezeichneten Daten wurden mit Hilfe des Programms „One Wire Viewer“ (Version 0.3.15.50) in einen Computer eingelesen. Das gespeicherte File wurde in einer Excel-Datei so umformatiert, dass die Daten mit dem frei verfügbaren Programm „Chronos-Fit“ (Version 1.05) für eine Cosinor-Analyse ausgelesen werden konnten. Dafür wurden die über eine Woche aufgezeichneten Daten in sieben einzelne Files unterteilt, die einen 24 Stunden-Tag von 17:00 bis 17:00 Uhr umspannen. Bei der Cosinor-Analyse werden Daten durch eine Cosinus-Kurve beschrieben. So können verschiedene Variablen bestimmt werden, die einen circadianen Rhythmus beschreiben (s. Kapitel 1.1). Dies sind Mesor, Amplitude und Akrophase. Zusätzlich wurde in die Datenanalyse die mittlere Nachttemperatur mit aufgenommen, da sie durch Umwelteinflüsse am Tag weniger beeinflusst wird als der Mesor. Messwerte wurden als Artefakte gewertet und manuell aus der Analyse ausgeschlossen, wenn sie spontan (in einem Zeitraum von 10 min) um 10 °C oder mehr von den umliegenden Messwerten abwichen. Der in Chronos-Fit als Nacht gewertete Zeitabschnitt wurde für jede Probandin individuell an seine Zubettgeh- und Aufstehzeit angepasst. Die durch die Cosinor-Analyse erhaltenen Rhythmus-Variablen wurden in das SPSS-Statistikprogramm übertragen. Für die Auswertung der Daten wurden Rhythmus-Variablen der distalen Hauttemperatur getrennt für Hand und Fuß betrachtet.

Neben den Rhythmus-Variablen wurden die Hauttemperaturen am Abend des sechsten Untersuchungstages um den Zubettgehzeitpunkt sowie in einem Abendprofil am letzten

Methoden

Untersuchungstag betrachtet, um deren abendlichen Verlauf zu erfassen. Als Indikator für die Effizienz der Wärmeabgabe in diesen Zeiträumen wurde der distal-proximale Hauttemperaturgradient (DPG) nach folgender Formel gebildet:

$$\text{DPG (}^{\circ}\text{C)} = \text{Hauttemperatur distal (}^{\circ}\text{C)} - \text{Hauttemperatur proximal (}^{\circ}\text{C)}$$

Der DPG wurde sowohl zwischen Hand- und Oberschenkeltemperatur als auch zwischen Fuß- und Oberschenkeltemperatur gebildet.

5.4 Hormonanalyse

5.4.1 Speichelprobensammlung zur Messung von Cortisol-Konzentrationen

Für die Messung der Konzentration von Cortisol am Abend und im Morgenprofil wurde Speichel als Messflüssigkeit gewählt. Da die Studienleiterin als Biologin nicht zur Blutabnahme berechtigt ist, stellte die Speichelsammlung als nicht-invasive Methode eine gute Alternative zum Erhalt von Probenmaterial dar (Kirschbaum & Hellhammer 1989). Speichel wurde außerdem Blut als Probenmaterial vorgezogen, da die Blutabnahme einen zusätzlichen Stressor für die Probandinnen dargestellt hätte, der selbst die Cortisol-Konzentration in die Höhe treiben könnte (Prinz *et al.* 2001; Vitiello *et al.* 1996). Zudem entspricht die Cortisol-Konzentration im Speichel der Konzentration der freien, physiologisch aktiven Form von Cortisol im Blut (Kirschbaum & Hellhammer 1989; Shirtcliff *et al.* 2001).

Speichelproben für die Cortisol-Analyse wurden von den Probandinnen zu Hause gesammelt. Insgesamt wurde die Cortisol-Konzentration zu fünf Zeitpunkten untersucht. Der Sammelzeitpunkt der ersten Probe war der Abend des sechsten Untersuchungstags vor dem Zubettgehen. Vier weitere Speichelproben wurden am Morgen des siebten Untersuchungstags zum Zeitpunkt des Aufwachens (T0) sowie 30 min (T30), 45 min (T45) und 60 min (T60) später gesammelt. Die Probandinnen wurden instruiert, mindestens 30 min vor jeder Speichelsammlung nichts zu essen, zu trinken, nicht die Zähne zu putzen, nicht zu Rauchen und kein Kaugummi zu kauen. Speichelproben wurden in speziellen Salivetten (Salivette®, Sarstedt, Nümbrecht) (Abb. 21 C) gesammelt. Das mit einem Stopfen verschlossene äußere Sammelgefäß der Salivette enthält ein Einhängegefäß mit einem Watteröllchen. Die Probandinnen notierten die genauen Zeitpunkte der Probensammlung in einem vorgefertigten Protokoll (Anhang A3). In dieser Studie wurden die Zeitpunkte der Probennahme zusätzlich elektronisch und damit objektiv überprüft, worüber auch die Probandinnen informiert wurden. Hierfür wurden Sammelbehälter (100 cc HDPE Behälter, AARDEX Group Ltd., Sion) mit *Medication Event Monitoring Systems* (MEMS)-Schraubdeckeln (MEMS 6 TrackCap 38 mm, AARDEX Group Ltd., Sion) verwendet (Abb. 21 A). In den MEMS-Schraubdeckeln ist ein Mikrochip

Methoden

enthalten, der Öffnungsereignisse elektronisch speichert. Die Watteröllchen aus den Salivetten wurden den Probandinnen getrennt von den Salivette-Gefäßen in den MEMS-Behältern mitgegeben (Abb. 21 B). Zu jedem Sammelzeitpunkt öffnete die Probandin den MEMS-Behälter, entnahm ein Watteröllchen und schraubte den Monitor wieder auf den Behälter. Das Watteröllchen wurde leicht gekaut, bis es nach ca. einer Minute mit Speichel vollgesogen war. Die Probandin spuckte das Watteröllchen in das entsprechend nummerierte Salivetten-Gefäß, verschloss dieses und lagerte es im Kühlschrank. Für die weitere Bearbeitung der Proben brachte die Probandin alle Sammelgefäße in die AG Humanbiologie.



Abb. 21: A) MEMS-Schraubdeckel mit Zeitchip und Sammelbehälter, B) Watteröllchen aus den Salivetten im MEMS-Sammelbehälter, C) Salivette-Sammelgefäße zum Sammeln von Speichelproben für die Cortisolanalyse (B): verändert nach: URL9; C): verändert nach: Salivette® Manual).

Die in einem MEMS-Schraubdeckel gespeicherten Öffnungsereignisse wurden mit Hilfe eines Kommunikators (MEMS-Reader USB, AARDEX Group Ltd., Sion) auf einen PC überspielt und in das Analyseprogramm PowerView (PowerView Version 3 - Standard, AARDEX Group Ltd., Sion) übertragen. Die Daten werden vom Programm in Datenbanken gespeichert und in Form eines Kalenderblattes mit genauen Angaben zu den Uhrzeiten der Öffnungsereignisse dargestellt.

Die gesammelten Proben wurden innerhalb von drei Tagen nach Sammlung in der AG Humanbiologie weiter bearbeitet. Die Salivetten wurden in einer Kühlzentrifuge (Rotina 38R Hettich Zentrifugen, Tuttlingen) bei 4 °C und 1000 RCF 5 min zentrifugiert. Der dadurch im äußeren Sammelgefäß gesammelte Speichel wurde zunächst durch Sichtkontrolle auf Kontaminationen durch Blut überprüft,

Methoden

anschließend in SaliCaps (RE69995, IBL International, Hamburg) pipettiert und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C gelagert. Das Einfrieren des Speichels diente nicht nur zur Haltbarmachung der Proben. Durch das Einfrieren werden außerdem muköse Bestandteile des Speichels zerstört, die die Weiterbearbeitung der Proben erschweren würden. Zwischen der Speichelprobensammlung und der Analyse der Speichelproben mit dem ELISA (s. u.) lagen in keinem Fall mehr als 12 Monate. Laut Garde & Hansen (2005) können zentrifugierte Speichelproben für die Cortisolanalyse bei -20 oder -80 °C für mindestens ein Jahr gelagert werden, ohne dass die Cortisol-Konzentration verfälscht wird.

5.4.2 Enzyme linked immunosorbent assay

Die Konzentration des Hormons Cortisol in den wie in Kapitel 5.4.1 beschrieben gesammelten und gelagerten Speichelproben wurde mit einem *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) bestimmt. Ein ELISA ist eine Methode, mit der die Konzentration eines Analyten - wie z. B. eines Hormons - in Körperflüssigkeiten wie Blut oder Speichel bis in den Picogramm-Bereich hinein nachgewiesen werden kann. Es existieren verschiedene Varianten dieser Methode, im Rahmen dieser Arbeit soll nur das Prinzip des hier verwendeten ELISAs beschrieben werden. Die Cortisol-Konzentrationen im Speichel wurden mit einem kommerziellen ELISA-Kit (RE52611, IBL International, Hamburg) gemessen. Das Assay folgt dem Prinzip eines kompetitiven ELISAs:

Am Boden einer Kavität sind für das nachzuweisende Antigen (hier Cortisol) spezifische Antikörper gebunden (Abb. 22 A). Zu den Antikörpern werden sowohl der Speichel mit einer unbekanntem Konzentration des Antigens als auch eine bekannte Menge enzymmarkiertes Antigen gegeben. Nicht-markierte und markierte Antigene konkurrieren nun um Bindungsstellen an den Cortisol-Antikörpern (Abb. 22 B). Nicht-gebundene Antigene werden durch einen Waschschrift aus der Kavität entfernt (Abb. 22 C). Anschließend wird Substrat für das an die markierten Antigene gebundene Enzym in die Kavität gegeben und es kommt zu einer Reaktion mit Farbumschlag (Abb. 22 D). Nach einer definierten Zeit wird die Reaktion durch Zugabe einer Stopplösung abgestoppt und es kommt zu einem erneuten Farbumschlag (Abb. 22 E). Je höher die Konzentration des Antigens in der Speichelprobe, desto weniger enzymmarkiertes Antigen konnte an die Antikörpern binden, desto weniger Substrat wurde umgesetzt und desto schwächer ist die Färbung der Flüssigkeit in der Kavität. Die Intensität der bei der Substratreaktion gebildeten Farbe ist somit umgekehrt proportional zu der Antigenkonzentration in den Speichelproben. Durch die photometrische Messung der Absorption und den Vergleich mit einer Standardkurve kann die Konzentration des Antigens im Speichel bestimmt werden.

Methoden

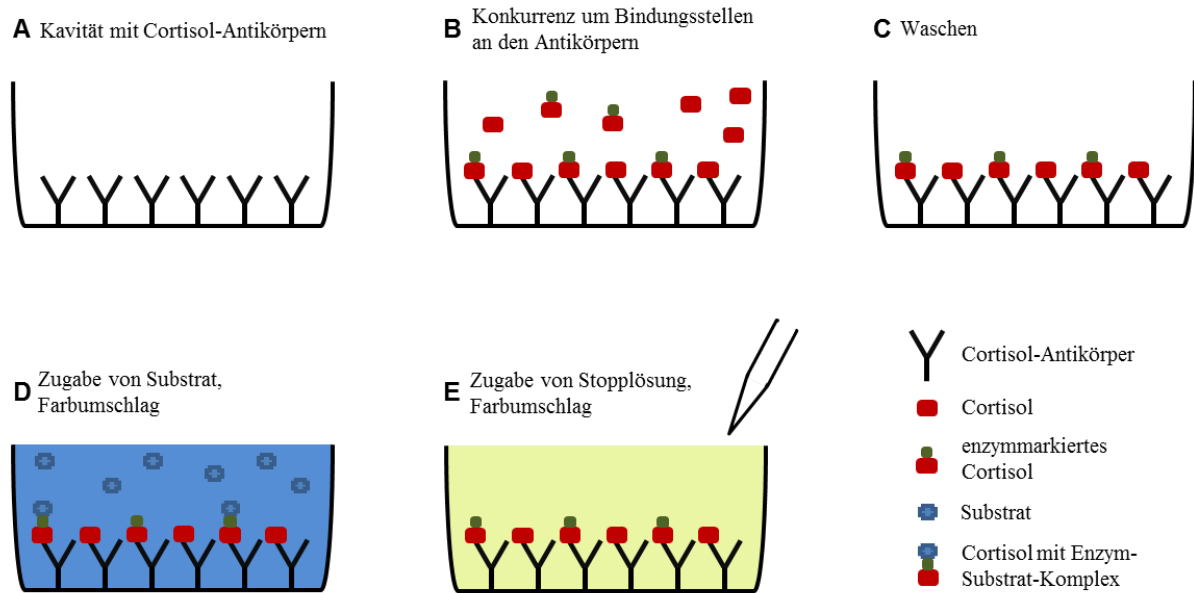


Abb. 22: Funktionsprinzip des verwendeten Cortisol-ELISAs.

Vor dem Auftrag auf den ELISA wurden die Speichelproben in den SaliCaps bei Raumtemperatur aufgetaut, mit einem Vortexer durchmischt und 10 min bei 3000 RCF und 4 °C zentrifugiert. Der ELISA wurde nach der im Kit enthaltenen Anleitung durchgeführt. Jeweils 50 µl vom klaren Überstand der Speichelproben und von den im Kit enthaltenen Standards und Kontrollen wurden einem Pipettierschema (Abb. 23) entsprechend in die Kavitäten mit gebundenen Anti-Cortisol-Antikörpern der 96-Kavitäten-Mikrotiterplatte gegeben. Alle Proben wurden in Duplikat untersucht und alle Proben einer Probandin im selben Lauf gemessen.

Methoden

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CAL A	CAL E	C 2	Prob A T1	Prob A T2	Prob A T3	Prob A T4	Prob A T5	Frei	Frei	Frei	Frei
B	CAL A	CAL E	C 2	Prob A T1	Prob A T2	Prob A T3	Prob A T4	Prob A T5	Frei	Frei	Frei	Frei
C	CAL B	CAL F	Prob B T1	Prob B T2	Prob B T3	Prob B T4	Prob B T5	Prob C T1	Prob C T2	Prob C T3	Prob C T4	Prob C T5
D	CAL B	CAL F	Prob B T1	Prob B T2	Prob B T3	Prob B T4	Prob B T5	Prob C T1	Prob C T2	Prob C T3	Prob C T4	Prob C T5
E	CAL C	CAL G	Prob D T1	Prob D T2	Prob D T3	Prob D T4	Prob D T5	Prob E T1	Prob E T2	Prob E T3	Prob E T4	Prob E T5
F	CAL C	CAL G	Prob D T1	Prob D T2	Prob D T3	Prob D T4	Prob D T5	Prob E T1	Prob E T2	Prob E T3	Prob E T4	Prob E T5
G	CAL D	C 1	Prob F T1	Prob F T2	Prob F T3	Prob F T4	Prob F T5	Prob G T1	Prob G T2	Prob G T3	Prob G T4	Prob G T5
H	CAL D	C 1	Prob F T1	Prob F T2	Prob F T3	Prob F T4	Prob F T5	Prob G T1	Prob G T2	Prob G T3	Prob G T4	Prob G T5

Abb. 23: Schematische Darstellung einer 96-Kavitäten-Mikrotiterplatte mit Pipettierschema eines Cortisol-ELISAs. CAL = Kalibrator; C = Kontrolle; Prob = Proband; T = Probennummer

Anschließend wurden je 100 µl Enzymkonjugat (enzymmarkiertes Antigen) in jede Kavität pipettiert. Das im Kit verwendete Enzym ist eine Meerrettichperoxidase (*horse radish peroxidase*, HRP). Die Platte wurde mit Haftklebefolie abgedeckt und auf einem Orbitalschüttler (IKA MS3 digital, IKA, Staufen) bei 500 U/min für 2 Stunden bei RT inkubiert. Nach Entfernen der Folie wurde die Inkubationslösung verworfen und die Platte mit Hilfe einer 8-Kanal-Pipette (Eppendorf, Hamburg) viermal mit je 250 µl Waschpuffer gewaschen, um überschüssiges Antigen zu entfernen. Um Flüssigkeitsrückstände in den Kavitäten zu entfernen wurde die Platte nach jedem Waschschriff auf Zellstofftüchern ausgeklopft. Nach dem Waschschriff wurden je 100 µl Tetramethylbenzidin (TMB) Substratlösung in jede Kavität pipettiert. Die Platte wurde 30 min auf einem Orbitalschüttler bei 500 U/min und RT inkubiert. Anschließend wurde die Substratreaktion durch Zugabe von je 100 µl TMB Stopplösung gestoppt. Die Stopplösung besteht aus einmolarer Schwefelsäure (H₂SO₄), die durch eine Veränderung des pH-Wertes zudem einen Farbumschlag von blau nach gelb bewirkt. Innerhalb von 15 min nach Zugabe der Stopplösung wurde die optische Dichte der Proben im ELISA Plate Analyzer (apDia n. v., Turnhout) bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 620 nm photometrisch gemessen. Anhand der Absorptionswerte der aufgetragenen Standards wurde von dem Gerät eine Standardkurve erstellt, anhand derer die Cortisol-Konzentration in den Speichelproben und den Kontrollen bestimmt wurde. Das Assay wurde nur als gültig angesehen, wenn die Cortisol-Konzentrationen in den Kontrollen innerhalb der auf den Etiketten angegebenen Akzeptanzbereiche lagen.

Als zusätzliche Kenngrößen neben den Cortisol-Konzentrationen zu den einzelnen Messzeitpunkten wurden die CAR und die Steigung der diurnalen Cortisolkurve (*Slope of decline*, SOD) nach folgenden Formeln berechnet:

Methoden

$$\text{CAR } (\mu\text{g/dl}) = \text{Cortisol T30 } (\mu\text{g/dl}) - \text{Cortisol T0 } (\mu\text{g/dl})$$

$$\text{SOD } (\mu\text{g/dl} \times \text{min}) = \frac{\text{Cortisol T0 } (\mu\text{g/dl}) - \text{Cortisol TAbend } (\mu\text{g/dl})}{\text{Obj. Zeitpunkt Cortisol T0 (min)} - \text{Obj. Zeitpunkt Cortisol TAbend (min)}}$$

Wobei:

Cortisol T0 ($\mu\text{g/dl}$) = Cortisol-Konzentration beim Aufwachen

Cortisol T30 ($\mu\text{g/dl}$) = Cortisol-Konzentration 30 min nach dem Aufwachen

Cortisol TAbend ($\mu\text{g/dl}$) = Cortisol-Konzentration am Abend (vor dem Zubettgehen)

Obj. Zeitpunkt = mit einem MEMS-Monitor gemessener Zeitpunkt der Probensammlung

5.5 Molekulargenetische Methoden

5.5.1 Sammeln von Mundschleimhautproben für molekulargenetische Analysen

Für molekulargenetische Untersuchungen wurde die Gesamt-RNA wurde aus Mundschleimhautzellen extrahiert. Ebenso wie Speichel können Mundschleimhautzellen durch eine nicht-invasive Methode gesammelt werden, die kaum mit Unannehmlichkeiten für Probanden verknüpft ist. Zudem konnte für dieses Gewebe, wie für fast alle Geweben des Körpers, eine tagesrhythmische Expression von Uhrengenen gezeigt werden (Bjarnason *et al.* 2001). Um die Mundschleimhautzellen zu sammeln spülten Studienteilnehmer ihren Mund zweimal je 30 Sekunden mit 20 ml physiologischer Natriumchlorid-Lösung aus. Mundschleimhautzellen wurden unter Aufsicht der Studienbetreuerin um 08:00 Uhr (T8), 12:00 Uhr (T12), 20:00 Uhr (T20) und 24:00 Uhr (T24) in 50 ml-Zentrifugenröhrchen (Sarstedt) gesammelt. Die Zellen wurden durch 5minütiges Zentrifugieren bei 4 °C und 450 bis 750 RCF pelletiert. Das Pellet wurde mit der Pipette in 2 ml-Reaktionsgefäße überführt und nochmals bei 4 °C und 1200 RCF 2 min zentrifugiert. Der Flüssigkeitsüberstand wurde mit der Pipette entfernt.

Zu jedem Zeitpunkt wurde die oben beschriebene Prozedur zweimal durchgeführt, sodass von jeder Probandin je zwei Proben zu einem Zeitpunkt vorlagen. Aus einer der Proben wurde Gesamt-RNA mit einem Kit extrahiert. Lieferte die Extraktion mit dem Kit nicht genug RNA-Ausbeute, wurde die zweite Probe für eine Phenol-Chloroform-Extraktion verwendet. Das Pellet für die anschließende Weiterbearbeitung mit einem Extraktions-Kit wurde für mindestens 30 min bei -20 °C eingefroren, um muköse Bestandteile im Speichel zu zerstören. Das Reserve-Pellet für eine mögliche Phenol-Chloroform-Extraktion wurde für eine längere Lagerung bei -80 °C eingefroren.

5.5.2 Auswahl von Haushaltsgen, Zielgenen und Messzeitpunkten

Als Zielgene für diese Studie wurden drei Uhrengene der zentralen Schleife ausgewählt. Das Gen *hBMAL1* ist dabei Teil der positiven, die Gene *hPER1* und *hCRY1* Teil der negativen Rückkopplungsschleife. *hPER1* und *hCRY1* sollten in Antiphasse zu *hBMAL1* oszillieren. Jedes der Gene ist essentiell für die Generierung und Aufrechterhaltung einer zirkadianen Rhythmik im zentralen Oszillator und peripheren Oszillatoren (s. Kapitel 1.6).

In dieser Studie wurde die Expression der Uhrengene *hBMAL1*, *hPER1* und *hCRY1* zu vier Zeitpunkten innerhalb von 24 Stunden untersucht. Das Expressionsmuster dieser Uhrengene wurde bereits in verschiedenen Studien beschrieben und für alle drei wurde eine klar ausgeprägte Rhythmik in Mundschleimhaut und anderen Geweben gezeigt (s. Kapitel 1.6). Veränderungen der Genexpression von *bmal1* wurden in Untersuchungen an Tieren in Zusammenhang mit dem Alternsprozess gebracht (Kolker *et al.* 2003). *HPER1* und *hCRY1* sind miteinander interagierende Bestandteile der zentralen Rückkopplungsschleife und sind an der Regulation der Expression von *hBMAL1* beteiligt. Speziell Expressionsstärke und -verlauf des Gens *hCRY1* wurden bei älteren Frauen oder im Zusammenhang mit der Schlafqualität nach Kenntnis der Autorin noch nicht untersucht.

Ziel in der vorliegenden Studie war die Messung der Genexpression alle vier Stunden über den 24 Stunden-Tag hinweg. Aus Kosten- und Zeitgründen und Gründen der Zumutbarkeit für die Probandinnen wurde die Anzahl der Messzeitpunkt auf vier beschränkt. Anhand der Informationen über die rhythmische Expression in Mundschleimhaut (Bjarnason *et al.* 2001) wurde eine Auswahl an Messzeitpunkten getroffen, die sich den erwarteten Akrophasen und Minima der drei Zielgene am besten annähern.

Das Haushaltsgen:

Um die Expressionsstärke eines Zielgens qualitativ messen zu können, wird die Expressionsstärke des Zielgens mit der Expressionsstärke eines Referenzgens verglichen. Als Referenz werden sog. Haushaltsgene genutzt. Ein Haushaltsgen ist ein Abschnitt auf der DNA, dessen Produkt für die Aufrechterhaltung der grundlegenden Zellfunktionen benötigt wird (Alberts *et al.* 2004). Ein Haushaltsgen als Referenzgen sollte im untersuchten Gewebe nicht reguliert werden, d. h. eine konstante und stabile Expression aufweisen. Zudem sollte es auf einem ähnlichen Level wie die zu vergleichenden Zielgene exprimiert werden (URL10). Als Haushaltsgen für diese Arbeit wurde das Gen *h36B4* verwendet, welches bereits abteilungsintern etabliert wurde. *H36B4* oder „Humanes Acidic Ribosomal Phosphoprotein P0“ (*hRPLP0*) ist auf dem Chromosom 12 an Position 12q24.2 lokalisiert und codiert für ein ribosomales Protein der 60S-Untereinheit von Ribosomen. Die Expression von *h36B4* wird in Mundschleimhaut weder altersabhängig reguliert, noch weist sie tageszyklische Schwankungen auf.

5.5.3 Quantitative Echtzeit (Real Time)-PCR

Um die Expressionsstärke von Uhrengenen zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu bestimmen, wurde mittels quantitativer Echtzeit (Real Time)-PCR eine relative Quantifizierung durchgeführt. Eine Übersicht über den Arbeitsablauf ist in Abb. 24 dargestellt.

Für die Analyse wurde zunächst Gesamt-RNA aus Mundschleimhautzellen extrahiert (s. Kapitel 5.5.4). Die darin enthaltene mRNA diente dann als Template für die Synthese von cDNA durch eine Reverse Transkriptase (RT)-PCR (s. Kapitel 5.5.8). Die cDNA diente als Matrize für die Real Time-PCR. Da mRNA in der Zelle als Transkript für die Synthese eines physiologisch aktiven Proteins dient, kann über die Bestimmung der mRNA-Menge bzw. der cDNA-Menge auf die Expressionsstärke eines Gens geschlossen werden. Die Kombination aus der cDNA-Synthese und der anschließenden Real Time-PCR wird auch als Echtzeit (Real Time)-Reverse Transkriptase (RT)-PCR bezeichnet.

Alle Real Time-Analysen wurden mit dem LightCycler®-Gerät (1.5) von Roche und der zugehörigen LightCycler Software (Version 3.5) durchgeführt. Dazu wurden im Vorfeld mit Hilfe des „Assay Design Centers“ (Roche, URL11) Assays mit Primern und Universal ProbeLibrary (UPL)-Sonden generiert (s. Kapitel 5.5.10.2) und eine Zielgen-PCR für das Uhrengen *hCRY1* etabliert. Für alle Real Time-PCR-Ansätze wurde das LightCycler TaqMan Master-Kit (Roche) verwendet. Mit Hilfe der LightCycler Relative Quantification (RelQuant)-Software (Version 1.01) wurden vor der Durchführung von Real Time-PCRs mit Probandenproben zunächst Standardkurven und Coefficient-Files für die Analyse der Zielsequenzen erstellt (s. Kapitel 5.5.10.7). Die abschließende relative Quantifizierung der Genexpression zu ausgewählten Zeitpunkten erfolgte ebenfalls mit der RelQuant-Software.

Methoden

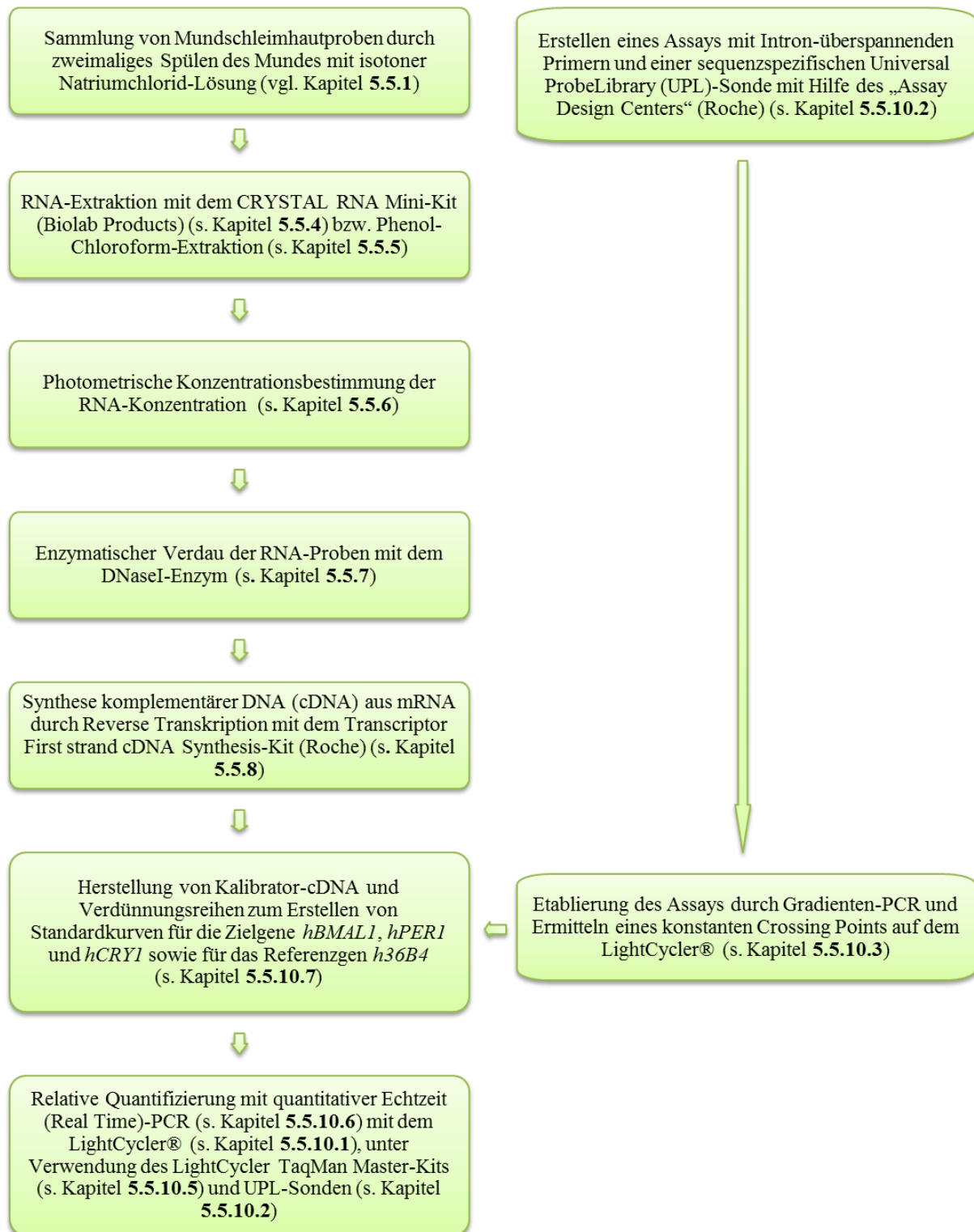


Abb. 24: Flussdiagramm zum Arbeitsablauf von der RNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen bis zur Durchführung einer quantitativen Real Time-PCR zur relativen Quantifizierung der Genexpression.

5.5.4 RNA-Extraktion mit dem CRYSTAL RNA Mini Kit

Die RNA aus den gesammelten Mundschleimhautproben (s. Kapitel 5.5.1) wurde mit dem CRYSTAL RNA Mini Kit (Biolab Products, Göttingen) extrahiert. Da alle Zentrifugierschritte im Kit in rpm (*revolutions per minute*) angegeben sind, werden sie auch hier auf diese Weise aufgeführt. Das Zellpellet wurde für die RNA-Extraktion aufgetaut, mit der Pipette in 600 µl Lysepuffer gelöst und für 2 Min bei Raumtemperatur (RT) inkubiert, um die Zellmembranen aufzubrechen. Für einen effektiveren Zellaufbruch wurde die Lösung anschließend fünfmal mit einer 5 ml-Spritze (Roth, Karlsruhe) durch eine Einwegkanüle (Roth, Karlsruhe) auf und ab gezogen. Hierbei wurde darauf geachtet, dass möglichst wenige Schaumblasen entstanden, deren Oberflächenspannung zu einem Scheren der RNA-Moleküle führen könnte.

Nach 3 min Inkubation bei RT wurde die Zelldebris durch Zentrifugation bei 4 °C und 1200 RCF für 2 min entfernt. 600 µl Überstand wurden in die Säule D überführt und bei RT und 12000 rpm 2 min in einer Mikrozentrifuge (Mikro 120, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen) zentrifugiert. Die Säule wurde verworfen und zu dem Durchfluss wurden 900 µl Ethanol (70 %) gegeben. In zwei Schritten wurde das gesamte Gemisch auf Säule R pipettiert, bei je 12000 rpm (RT) 2 min zentrifugiert und der Durchfluss verworfen. Säule R wurde in ein neues Auffanggefäß überführt und die RNA in der Säule anschließend durch Zugabe von 500 µl Waschpuffer HS (mit hoher Salzkonzentration) und Zentrifugieren für 1 min bei 12000 rpm gewaschen. Nachdem der Durchfluss verworfen und die Säule in ein neues Auffanggefäß überführt wurde, erfolgte ein zweiter Waschschrift durch Zugabe von 700 µl Waschpuffer LS (mit niedriger Salzkonzentration) und Zentrifugieren für 1 min bei 12000 rpm. Wieder wurde der Durchfluss verworfen und die Säule in ein neues Auffanggefäß gegeben. Um Pufferreste zu entfernen wurde die Säule noch einmal bei RT für 2 min und 12000 rpm zentrifugiert. Die Säule mit der RNA wurde in ein 1,5 ml-Reaktionsgefäß überführt. Schließlich wurden 40 µl RNase-freies Wasser auf die in der Säule befindliche RNA pipettiert und 1 min bei RT einwirken lassen. Durch 1minütige Zentrifugation bei 8000 rpm (RT) wurde die RNA in das Gefäß eluiert. Die RNA-Konzentration im Eluat wurde photometrisch bestimmt. Um ein Degradieren der RNA zu verhindern, wurden dem Eluat 1 µl RiboLock RNase Inhibitor (Fermentas, St. Leon-Rot) hinzugefügt und das Eluat sofort auf Eis gelagert.

5.5.5 RNA-Extraktion durch Phenol-Chloroform-Extraktion

In Fällen, in denen mit dem CRYSTAL RNA Mini Kit keine oder nicht genug RNA aus den Mundschleimhautzellen extrahiert werden konnte, wurde eine RNA-Extraktion mit Phenol-Chloroform vorgenommen. Durch diese Methode können gemeinhin höhere Ausbeuten erzielt werden, die Reinheit der extrahierten RNA ist jedoch geringer als bei Extraktionen mit kommerziellen Kits. Für diese Art der Extraktion wurde das Zellpellet verwendet, das wie in Kapitel 5.5.1 beschrieben gewonnen wurde.

Methoden

Zunächst erfolgte die Lyse der Zellen durch Zugabe von 1 ml phenolhaltigem TRI® Reagent BD zu dem Zellpellet. Das Gemisch wurde auf einem Vortexer durchmischt, bis keine Zellklümpchen mehr in der Suspension zu sehen waren. Es folgte eine 5minütige Inkubation bei Raumtemperatur, nach der 200 µl Chloroform zugegeben wurden. Die Flüssigkeiten wurden durch mehrmaliges Wenden des Reaktionsgefäßes durchmischt, um das Phenol aus dem TRI® Reagent BD zu entfernen. Es schloss sich eine weitere Inkubation für 5 Min bei Raumtemperatur an. Das Gemisch wurde danach 15 Min bei 4 °C und 12.000 RCF zentrifugiert, um eine Phasentrennung in eine untere, organische Phase, eine Interphase und eine obere, wässrige Phase zu erreichen, in der sich die RNA befindet. Die wässrige Phase wurde mit einer Pipette in ein neues Gefäß überführt und die RNA durch Zugabe von 667 µl Isopropanol (100 %) und anschließendes Durchmischen gefällt. Das Gemisch wurde für 10 Min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde die RNA durch eine 10minütige Zentrifugation bei 4°C und 12.000 RCF sedimentiert. Der Überstand wurde verworfen und das RNA-Pellet in 1 ml Ethanol (75%) gewaschen. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt für 5 Min bei 7.500 RCF und 4°C wurde der Überstand entfernt und das Sediment an der Luft getrocknet. Abschließend wurde das Pellet mit der Gesamt-RNA in 40 µl H₂O für HPLC resuspendiert. Es folgte eine photometrische Konzentrationsmessung.

5.5.6 Photometrische Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren

Um die Konzentration an Gesamt-RNA in den Eluaten aus beiden Extraktionsmethoden zu bestimmen, wurde eine photometrische Konzentrationsbestimmung durchgeführt. Hierfür wurde ein Biophotometer von Eppendorf (Hamburg) verwendet und die Konzentrationsmessung wurde nach Herstellerangaben durchgeführt. Die Proben wurden in einer Verdünnung von 1:60 (ein Teil RNA-Eluat und 59 Teile HPLC-Wasser) gemessen. Zur Bestimmung der RNA-Konzentration wurde die Extinktion bei 260 nm (Absorptionswellenlänge von Nucleinsäuren) gemessen. Als Anhaltspunkt für die Reinheit der RNA-Proben wird vom Gerät zusätzlich die Extinktion bei den Wellenlängen 230 nm (Absorptionswellenlänge von Polysacchariden), 280 nm (Absorptionswellenlänge von Proteinen) und 320 nm gemessen sowie das Extinktionsverhältnis 260 nm zu 280 nm (260/280-Ratio) gebildet. Die Messung bei 320 nm zeigt Trübungen in der Lösung an und dient als Korrekturfaktor. Die Extinktion sollte hier bei reinen Proben nahe Null liegen. Die 260/280-Ratio sollte zwischen 1,8 bis 2,0 liegen, damit die Proben als rein genug für eine Weiterbearbeitung angesehen werden können.

5.5.7 Enzymatischer Verdau mit dem DNaseI-Enzym

Mit allen RNA-Proben wurde nach der photometrischen Messung ein Verdau mit dem Enzym Deoxyribonuclease I (DNaseI) (Thermo Scientific) durchgeführt, um Verunreinigungen der RNA durch genomische DNA zu entfernen. Dazu wurden 28 µl des RNA-Eluats mit 1 µl RiboLock RNase

Methoden

Inhibitor (Thermo Scientific), 4 µl 10x Reaction Buffer (Thermo Scientific) und 4 µl DNaseI versetzt. Das Gesamtvolumen von 37 µl wurde auf einem Heizblock 30 min bei 37 °C inkubiert. Danach wurden 4 µl EDTA (25 mM) zugegeben und für 10 min bei 65 °C inkubiert. Die Proben mit einem Gesamtvolumen von 41 µl wurden anschließend sofort auf Eis gestellt.

5.5.8 Synthese komplementärer DNA (cDNA)

Anhand der extrahierten mRNA wurde durch reverse Transkription komplementäre DNA (cDNA) hergestellt. Mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase wird dabei cDNA mit mRNA als Matrize synthetisiert. Die cDNA diente anschließend als Template für die Real Time-PCR, durch die die Expressionsstärke von Zielgenen ermittelt wurde (s. Kapitel 5.5.10). Da mRNA wie bereits erwähnt in der Zelle als Transkript für die Synthese eines physiologisch aktiven Proteins dient, kann über die Bestimmung der mRNA-Menge bzw. der cDNA-Menge ein Rückschluss auf die Expressionsstärke eines Gens erfolgen.

Für die cDNA-Synthese wurde das Transcriptor First strand cDNA Synthesis Kit von Roche verwendet. Das Kit bietet alle benötigten Reagenzien und wurde bereits abteilungsintern etabliert. Die im Kit enthaltene Reverse Transkriptase verfügt über eine RNase H-Aktivität, wodurch die als Matrize verwendeten mRNA-Stränge nach der cDNA-Synthese zerschnitten werden und somit keinen störenden Einfluss auf die nachfolgende PCR haben. Ein anschließender separater Verdau mit einer RNase H wird somit überflüssig und die cDNA kann direkt als Template in einer Real Time-PCR eingesetzt werden. Die Reverse Transkriptase akzeptiert sowohl Random-Hexamer-Primer als auch Anchored-oligo(dT)₁₈-Primer für die cDNA-Synthese. Beide Arten von Primern sind im Kit enthalten und können parallel in einem Ansatz verwendet werden. Anchored-oligo(dT)₁₈-Primer sind aus zwei zufälligen Nukleotiden und nachfolgend 16 Thymidinen aufgebaut. Sie binden am Poly-A-Schwanz der mRNA und ermöglichen so eine cDNA-Synthese über ihre volle Länge. Random-Hexamer-Primer bestehen aus sechs zufällig angeordneten Nukleotiden und können dadurch willkürlich über die gesamte Sequenz der RNA-Moleküle binden (Transcriptor First strand cDNA Synthesis Kit Manual). Durch die gleichzeitige Verwendung beider Primer in einem Ansatz sollte die Effizienz der cDNA-Synthese erhöht werden.

Nach Herstellerangaben hat ein Reaktionsansatz für die cDNA-Synthese ein Volumen von 20 µl. Für einen Reaktionsansatz wurden zunächst 10 µl der verdauten Gesamt-RNA mit 1 µl Anchored-oligo(dT)₁₈-Primer (50 µM) und 2 µl Random-Hexamer-Primer (600 µM) vermischt, auf einem Heizblock 10 Min bei 65 °C inkubiert (Denaturierung von Sekundärstrukturen der RNA) und danach sofort auf Eis gestellt. 4 µl Transcriptor RT Reaction Buffer (5x), 0,5 µl Protector RNase Inhibitor (40 U/µl), 2 µl dNTP-Mix (je 10 mM) und 0,5 µl Transcriptor-Reverse-Transcriptase (20 U/µl) wurden zu

Methoden

dem RNA-Primer-Gemisch gegeben. Der Ansatz mit einem Endvolumen von 20 µl wurde durchmischt, zentrifugiert und für die cDNA-Synthese mit folgenden Parametern in einen Thermocycler (Personal Cycler, Biometra) geladen: 10 min bei 25 °C (Anlagerung der Primer), 30 min bei 55 °C (Elongationsphase), 5 min bei 85 °C (Inaktivierung der Transcriptor-Reverse-Transcriptase) und anschließende Kühlung auf 4 °C. Die cDNA wurde bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C gelagert. Um genug Template für die nachfolgenden Real Time-PCRs zu haben, wurden in der Regel vierfach-Ansätze (80 µl) für Probandenproben hergestellt, in denen 40 µl der verdauten RNA-Proben in cDNA umgeschrieben wurden. In einem Reaktionsansatz kann eine Höchstmenge von 5 µg Gesamt-RNA in cDNA umgeschrieben werden, ohne dass die Effizienz der PCR beeinträchtigt wird. Da die photometrisch bestimmten RNA-Konzentrationen in den Probandenproben nach der Extraktion in keinem Bereich lagen, der diese Höchstmenge im späteren Ansatz zu überschreiten drohte, wurde jeweils das gesamte RNA-Eluat für die cDNA-Reaktionsansätze verwendet.

5.5.9 Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) ist ein 1987 von Mullis und Faloona (Mullis & Faloona 1987) entwickeltes Verfahren zur *in vitro*-Vervielfältigung (Amplifikation) von DNA-Abschnitten. Da das Verständnis der einzelnen Phasen einer PCR wichtig für die Erläuterung der Real Time-PCR ist und hier verschiedene Varianten dieser Methode angewandt wurden, soll zunächst näher auf das Funktionsprinzip dieser Methode eingegangen werden. Die Amplifikation eines gesuchten DNA-Abschnitts (Template oder Matrize) verläuft in der Regel in drei sich wiederholenden Schritten: der Denaturierung, der Primer-Anlagerung (Hybridisierung oder Annealing) und der DNA-Synthese (Elongation).

Im ersten Schritt wird der gesuchte doppelsträngige DNA-Abschnitt durch Temperaturerhöhung auf 90 bis 95 °C in Einzelstränge aufgespalten (denaturiert). Der zweite Schritt dient der Anlagerung (Annealing) von sequenzspezifischen Oligonukleotiden (Primern) an die DNA-Einzelstränge. Dazu wird der Reaktionsansatz auf eine Temperatur herunter gekühlt, die durch die Primer festgelegt ist. Sie sollte unter deren Schmelzpunkt liegen, der wiederum von der Nukleotidzusammensetzung, -sequenz und Länge der Primer abhängig ist. Durch die Anlagerung der Primer an bestimmte Sequenzen wird die Spezifität der PCR entscheidend bestimmt. Im dritten Schritt erfolgt eine Temperaturerhöhung auf 72 °C. Bei dieser Temperatur lagert sich ein thermostabiles DNA-Polymerase-Enzym (meist die Taq-Polymerase aus dem Organismus *Thermus aquaticus*) an die Primer an und synthetisiert aus einzelnen Nukleotiden (dNTPs) einen DNA-Strang entlang des Matrizen-DNA-Stranges (Elongation oder Polymerisation). So entsteht ein zur Matrize komplementärer DNA-Strang. Diese drei Schritte zusammen werden als ein PCR-Zyklus bezeichnet. Den PCR-Zyklen ist häufig ein initialer Denaturierungsschritt bei einer Temperatur von 94 bis 96 °C vorangestellt. Dieser Schritt dient der Aktivierung der DNA-Polymerase, falls bei geringeren Temperaturen inaktiviert vorliegt. Am Ende

Methoden

der Reaktion findet zudem eine finale Elongation (10 min bei 72 °C) statt, bei der die Polymerase alle noch nicht abgeschlossenen Elongationen beenden kann.

Theoretisch sollte sich die Menge an DNA-Produkt in einem PCR-Ansatz mit jedem durchlaufenen PCR-Zyklus verdoppeln und somit die Menge an Produkt exponentiell zunehmen. Dies kann mit der Gleichung

$$N = N_0 \times 2^n$$

ausgedrückt werden. N ist hierbei die Anzahl der amplifizierten Moleküle, N_0 die Molekülanzahl vor der Amplifikation und n die Zyklenzahl. Diese Gleichung setzt eine Reaktionsausbeute von 100 % pro PCR-Zyklus und damit eine Effizienz (E) der PCR von 1 voraus. Dies ist in der Praxis jedoch nicht der Fall, die Ausbeute pro Zyklus ist geringer als 100 %, die Effizienz kleiner als 1. Um dem Rechnung zu tragen gilt für die Entwicklung der Produktmenge daher eher die Gleichung

$$N = N_0 \times (1 + E)^n.$$

Zudem verändert sich die Effizienz der PCR im Laufe der Reaktion (Abb. 25) (Lottspeich & Engels 2006). Am Anfang der PCR liegt meist wenig Template vor, sodass die Bedingungen für das Zusammentreffen von Primern und Enzym nicht optimal sind. Die Menge an amplifizierter DNA ist daher in den ersten Zyklen noch gering. Mit fortschreitender Zyklenzahl beginnt die exponentielle Phase (Log-Phase) der Reaktion, während der eine Vermehrung des PCR-Produkts z. B. in einer Real Time-PCR messbar wird. Die nach jedem PCR-Zyklus entstandene Produktmenge wird mit steigender Zyklenzahl immer geringer, bis die PCR in eine Plateauphase übergeht. Dies geschieht unter anderem, weil mit Fortschreiten der PCR nicht mehr ausreichend Nukleotide und Primer für die Amplifikation vorhanden sind und weil es durch die zunehmend erhöhte Konzentration von Amplifikationsprodukten immer häufiger dazu kommt, dass diese miteinander statt mit Primern hybridisieren (Mülhardt 2009).

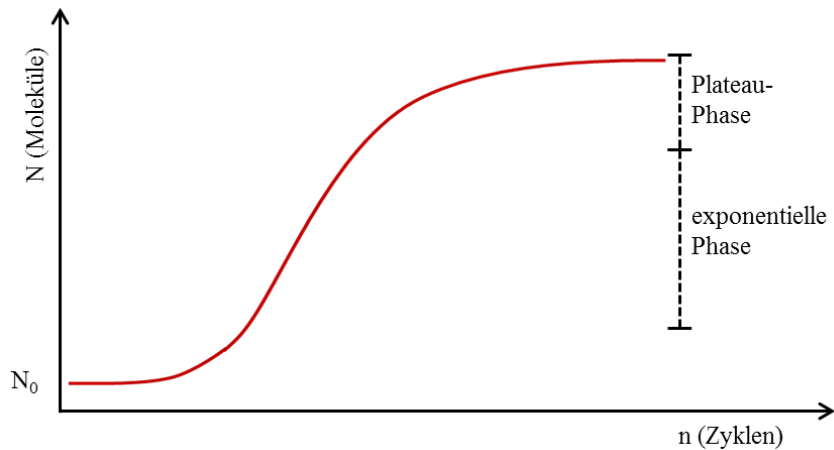


Abb. 25: Typischer Verlauf einer PCR. Die rote Kurve stellt die Menge an amplifiziertem Produkt in der Reaktion dar. Die Reaktion tritt nach einer gewissen Zeit in die exponentielle Phase ein. Mit fortschreitender Zyklenzahl geht die exponentielle Phase der Amplifikation durch zunehmende Akkumulierung der PCR-Produkte und die abnehmende Menge an Reaktions-Komponenten in eine Plateauphase über. N = Anzahl der amplifizierten Moleküle, N_0 = Molekülanzahl vor der Amplifikation, n = Zyklenzahl (verändert nach: Lottspeich & Engels 2006).

Heißstart (Hot Start)-PCR

Alle in dieser Arbeit durchgeführten PCRs waren Heißstart (*Hot Start*)-PCRs. In einem PCR-Reaktionsgemisch können sich schon bei Raumtemperatur nicht-spezifische Primer-Template-Verbindungen bilden. Zudem sind viele DNA-Polymerasen auch unterhalb ihrer optimalen Arbeitstemperatur bereits aktiv. So kann es schon vor der Elongationsphase zu unspezifischer Amplifikation kommen, was die Effizienz der PCR erheblich verringern kann (LightCycler Operator's Manual Version 3.5). Um das zu verhindern wurde in allen PCRs die thermostabile FastStart Taq DNA-Polymerase (Roche) verwendet. Das Enzym ist durch einen gebundenen Antikörper bei Raumtemperatur und darunter inaktiviert. Dadurch werden die oben genannten unspezifischen Primer-Template-Hybride nicht verlängert (FastStart Taq DNA Polymerase Manual). Der Antikörper wird in einem fünf- bis zehnminütigen initialen Denaturierungsschritt bei 95 °C (dem „Hot Start“) vom Enzym gelöst, bevor die PCR-Zyklen beginnen (LightCycler TaqMan Master Manual). „Standard“-Hot Start-PCRs wurden durchgeführt, um nach der cDNA-Synthese auf das Vorhandensein von cDNA zu prüfen.

Gradienten-PCR

Mit der Gradienten-PCR kann die optimale Annealing-Temperatur für Primer ermittelt werden. Während der Anlagerungsphase der Primer wird im Thermocycler (TGradient, Biometra, Göttingen) ein Temperatur-Gradient aufgebaut. Die Anlagerung der Primer findet während einer PCR in

Methoden

verschiedenen Ansätzen somit bei unterschiedlichen Temperaturen statt. Mit der Methode wurde die optimale Anlagerungs-Temperatur der Primer für das Uhrengen *hCRY1* ausgetestet (s. Kapitel 5.5.10.3).

Reagenzien und Mengen für einen PCR-Ansatz sind in Tab. 2 aufgeführt, das Thermocycler-Programm für Heißstart- und Gradienten-PCRs in Tab. 3. Verwendete Anlagerungs-Temperaturen der PCR-Primer sind in Tab. 4 zu finden.

Tab. 2: 25 µl-Ansatz für eine PCR.

Komponente	Menge (µl)
10 x PCR Puffer	2,50
dNTPs (c = 100 mM)	0,25
Vorwärtsprimer (c = 10 pmol/µl)	0,50
Rückwärtsprimer (c = 10 pmol/µl)	0,50
Taq-Polymerase	0,20
H ₂ O	20,05
Template/Matrize	1,00
Gesamtvolumen	25,00

Tab. 3: Thermocycler-Programm für PCRs (Hot Start- und Gradienten-PCR).

Schritt	Temperatur (°C)	Dauer
Initiale Denaturierung / Aktivierung der Taq-Polymerase	95	5 Minuten
Denaturierung	95	30 Sekunden
Annealing	Primer-abhängig*	30 Sekunden
Elongation	72	30 Sekunden
Finale Elongation	72	5 Minuten
Kühlung	4	∞
Anzahl Zyklen: 36		

*Temperaturbereich für Gradienten-PCR: 54 bis 62 °C

Tab. 4: Auf dem Thermocycler verwendete Anlagerungs-Temperaturen für PCR-Primer.

Gen	Anlagerungs-Temperatur der Primer (°C)
hBMAL1	54,4
hPER1	56,5
hCRY1	58,7
H36B4	56,5

Alle PCR-Produkte wurden zusammen mit einem Größenstandard (Low Range Ladder, Thermo Scientific) auf mit Ethidiumbromid versetzte 2 %ige Agarosegele aufgetragen. Anhand der Bandenstärke und Lage der Banden im Gel wurde geprüft, ob: a) die cDNA-Synthese erfolgreich war,

Methoden

und b) ob mit den für das *hCRY1*-Assay ausgewählten Primern Produkte der richtigen Größe amplifiziert werden und bei welcher Anlagerungs-Temperatur die Primer am besten binden. Zudem wurde darauf geachtet, dass keine deutlichen Primer-Dimer-Banden (Primer-Dimere werden von zwei Primern gebildet, die aufgrund komplementärer Basenabfolgen miteinander statt mit dem Template hybridisieren) erkennbar waren, die die PCR-Effizienz vermindern würden.

5.5.10 Die quantitative Real Time-PCR

Die Echtzeit (Real Time)-PCR ist ein Verfahren zur Vervielfältigung und gleichzeitigen Quantifizierung von DNA-Molekülen. Mit dieser Methode kann der Verlauf einer PCR in Echtzeit nachverfolgt werden, indem die Menge an Amplifikat in der exponentiellen Phase (Log-Phase) der Reaktion nach jedem PCR-Zyklus gemessen wird (Technical Note LightCycler). Aus der cDNA-Menge zu einem bestimmten Zeitpunkt kann rechnerisch auf die Ausgangsmenge an Template im Ansatz geschlossen werden, wenn die PCR-Effizienz (E) bekannt ist.

Diese Quantifizierung von Produkten kann nur in der exponentiellen Phase stattfinden, weil nur hier eine konstante Amplifikations-Effizienz erreicht wird und damit nur hier ein direkter Zusammenhang zwischen Anzahl der PCR-Zyklen und der Produktmenge besteht.

Durch die Verwendung von fluoreszierenden Farbstoffen, deren Signal nach jedem PCR-Zyklus freigesetzt wird, kann die Amplifikation der Produkte in einem PCR-Ansatz detektiert und damit messbar gemacht werden. Es gibt hierfür verschiedene Systeme. So interkalieren z. B. einige Fluoreszenzfarbstoffe wie SYBR Green I unspezifisch in doppelsträngige DNA. Eine andere Möglichkeit ist die Verwendung von sequenzspezifischen Sonden, deren Fluoreszenz durch Hydrolyse während des Elongationsschrittes freigesetzt wird und die auch in dieser Arbeit verwendet wurden (s. Kapitel 5.5.10.2). Der Vorteil der letzteren Methode ist, dass Fluoreszenz nur entsteht, wenn auch die richtige Sequenz amplifiziert wurde. Die Fluoreszenz nimmt im Laufe der PCR proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu. Wann die PCR in die exponentielle Phase eintritt, wird durch Ermittlung des sogenannten *Crossing Points* (Cp) oder „Schwellen-Zyklus“ (*Cycle Threshold*, Ct) bestimmt. Der *Crossing Point* ist der Zyklus, in dem die Fluoreszenz erstmals signifikant über eine von den fluoreszierenden Farbstoffen ausgehende Hintergrundfluoreszenz ansteigt. Je geringer die Ausgangsmenge des zu amplifizierenden Templates ist, desto mehr Zyklen werden benötigt, bis das Fluoreszenzsignal aus der Hintergrundfluoreszenz hervortritt. Die Bestimmung des *Crossing Points* ermöglicht den rechnerischen Rückschluss auf die Ausgangskonzentration an Template in der PCR nach folgender Formel:

$$\text{Konzentration} = E^{-\text{CP}}$$

Methoden

Es gibt bei der Real Time-PCR verschiedene Quantifizierungs-Prinzipien. Bei der absoluten Quantifizierung wird die absolute Ausgangskonzentration an Template im PCR-Ansatz bestimmt. Bei der häufiger angewandten relativen Quantifizierung ist das Wissen um die absolute Zahl an Kopien an der Detektionsschwelle dagegen nicht nötig. Die Menge an Zielgen in einer unbekannt Probe wird relativ zu einem Referenzgen angegeben, das im gleichen Probenmaterial gemessen wird und dort nicht reguliert wird. Das Ergebnis wird als Verhältnis von Zielgen zu Referenzgen (Haushaltsgen) (Zielgen/Referenzgen-Verhältnis oder Zielgen/Referenzgen-Ratio) ausgedrückt (Technical Note LightCycler).

In dieser Arbeit wurde eine relative Quantifizierung mit Kalibrator-Normalisierung und Effizienz-Korrektur durchgeführt, um die Expression von mRNA in Mundschleimhaut zu bestimmen. Bei dieser Art der relativen Quantifizierung werden die Zielgen/Referenzgen-Ratios der Proben in einer Real Time-PCR durch die Zielgen/Referenzgen-Ratio eines Kalibrators geteilt, der in der gleichen PCR mit amplifiziert wird. Dieses Verhältnis wird als *normalized ratio* bezeichnet:

$$\text{Normalized ratio} = \frac{\text{Konzentration Zielgen (Probe) : Konzentration Referenzgen (Probe)}}{\text{Konzentration Zielgen (Kalibrator) : Konzentration Referenzgen (Kalibrator)}}$$

Der Kalibrator ist eine größere Menge cDNA, die ein stabiles Ziel/Referenzgen-Verhältnis aufweist. Er läuft als Kontrolle in jeder Real Time-PCR mit. Die Quotientenbildung zwischen Probe und Kalibrator gleicht Lauf-zu-Lauf-Unterschiede zwischen den Real Time-PCRs aus, die z. B. durch unterschiedliche Anfangsmenge und Qualität der cDNA oder unterschiedliche Sensitivität der Sonden zwischen Zielgen- und Referenzgen-PCR entstehen können. Dadurch beeinflussen nur noch Unterschiede in der Effizienz der PCRs für Zielgen und Referenzgen die Genauigkeit der Ergebnisse. Mit der Relative Quantification (RelQuant)-Software (Version 1.01) können Unterschiede in der PCR-Effizienz durch die Nutzung sogenannter *Coefficient-Files* korrigiert werden. Dazu müssen vor der Durchführung der eigentlichen Real Time-PCRs mit Zielgenen und Referenzgen die Effizienzen dieser PCRs bestimmt werden.

Hierfür werden in separaten Real Time-PCRs für Zielgene und Referenzgen relative Standardkurven aus definierten Verdünnungen des Kalibrators erstellt. Aus der Steigung der Standardkurven werden die Effizienzen der Ziel- und Referenzgen-PCRs errechnet. Dies geschieht nach der Formel:

$$E = 10^{-1/\text{Steigung}}$$

Methoden

Die Standardkurven werden einmal erstellt und als txt-Files in die RelQuant-Software importiert. Die Software kann daraus automatisch *Coefficient-Files* (für jede Zielgen-Referenzgen-Kombination) berechnen. Diese können für jede nachfolgende quantitative Analyse genutzt werden.

Das abschließende Zielgen/Referenzgen-Verhältnis jeder untersuchten Probe wird unter Einbeziehung dieser Effizienzkorrektur berechnet (Technical Note LightCycler) und anschließend die *normalized ratio* gebildet. Diese normalisierten, Effizienz-korrigierten Verhältniswerte wurden für statistische Analysen verwendet.

5.5.10.1 Das LightCycler®-System und die Relative Quantification-Software

Alle quantitativen Real Time-PCRs wurden mit dem LightCycler® von Roche durchgeführt. Das LightCycler-Gerät besteht aus einer Cycler-Komponente und einer Fluorometer-Komponente, die miteinander verbunden sind.

Die Cycler-Komponente beinhaltet in einer zylindrischen Thermalkammer ein Probenkarussell mit Platz für 32 Glaskapillaren. Durch die Beschaffenheit der Kapillaren und das wärmeleitende Medium Luft in der zylindrischen Thermalkammer kann ein sehr schneller Thermaltransfer zwischen den einzelnen Zyklusschritten einer PCR stattfinden. Die Cycling-Geschwindigkeit kann dadurch stark erhöht werden. Die Thermalkammer ist direkt mit dem optischen System des Fluorometers verbunden. Dort werden die in den Glaskapillaren befindlichen Fluorophore (der Hydrolyse-Sonden) durch einen Lichtstrahl mit einer Wellenlänge von 450 nm zur Abgabe von Licht angeregt, das in einen von drei Detektionskanälen des Geräts geleitet wird. Das System kann mit verschiedenen Detektionsformaten wie SYBR Green I oder sequenzspezifischen Hydrolyse-Sonden arbeiten. Daten, die durch die Analyse durch die fluorometrische Analyse gewonnen werden, können direkt an einem Computerbildschirm mit der zugehörigen LightCycler-Software (Version 3.5) ausgewertet werden (LightCycler Operator's Manual Version 3.5). Die mit dem LightCycler-System erhobenen Daten wurden gespeichert und mit der RelQuant-Software weiterverarbeitet.



Abb. 26: Außenansicht des LightCycler-Geräts von Roche mit geöffnetem Deckel. Zu erkennen ist das Probenkarussell mit eingesetzten Kapillaren (verändert nach LightCycler Operator's Manual Version 3.5).

5.5.10.2 Erstellen eines Assays mit dem Universal ProbeLibrary (UPL)-Sondensystem

Für die Detektion der PCR-Produkte während der Real Time-PCR wurden Sonden des Universal ProbeLibrary (UPL)-Systems von Roche verwendet (URL11). Dieses Detektionsformat wurde 2004 von der dänischen Firma Exiqon entwickelt (Mauritz *et al.* 2005). Es nutzt das Prinzip von Hydrolyse- oder TaqMan®-Sonden (Holland *et al.* 1991; Lee *et al.* 1993).

Das TaqMan-Prinzip beruht auf sequenzspezifischen Oligonukleotide mit einem Donor-Fluoreszenzfarbstoff (Reporter) am 5'-Ende und einem Akzeptor-Fluoreszenzfarbstoff (Quencher) am 3'-Ende (Abb. 27). In nicht-hydrolysiertem Zustand befinden sich Reporter und Quencher in unmittelbarer Nähe zueinander, sodass ein Energietransfer zwischen beiden stattfindet und der Quencher die Fluoreszenz des Reporters unterdrückt. Während der PCR bindet die Hydrolyse-Sonde zwischen den Primern an die Zielsequenz. Die Taq-Polymerase verlängert nun den Primer und repliziert die Zielsequenz, an die die Sonde gebunden ist. Durch die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-Polymerase wird die gebundene Sonde dabei zerschnitten. Dadurch werden Reporter und

Methoden

Quencher voneinander getrennt. Die Fluoreszenz des Reporter-Farbstoffes steigt dadurch an und kann detektiert werden. Mit steigender Menge an Amplifikat während der PCR werden auch mehr Sonden geschnitten und das Fluoreszenzsignal des freigesetzten Reporter-Farbstoffs steigt (LightCycler TaqMan Master Manual). Durch ihre Sequenz-spezifische Detektion generieren Sonden-basierte Assays nur Signale, wenn das korrekte Amplikon amplifiziert wird (Mauritz et al. 2005). Unspezifische Produkte geben kein messbares Lichtsignal ab (LightCycler Operator's Manual Version 3.5).

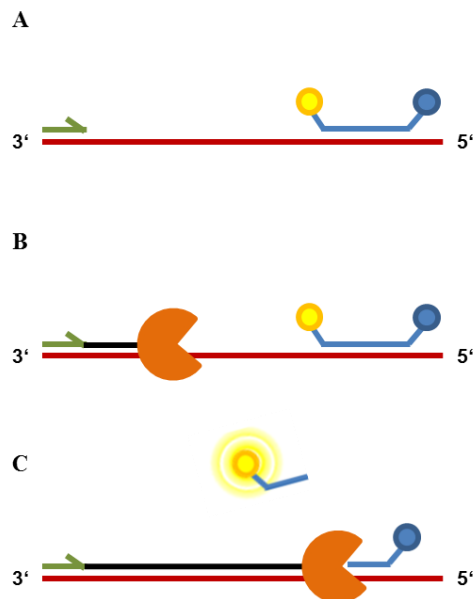


Abb. 27: Funktionsprinzip der Quantifizierung mit sequenzspezifischen Hydrolyse-Sonden. A) Die Sonde (hellblau) mit einem Donor-Fluoreszenzfarbstoff („Reporter“, gelb) und einem Akzeptor-Fluoreszenzfarbstoff („Quencher“, dunkelblau) bindet an eine Sequenz im zu amplifizierenden Fragment (rot). B) Die Taq-Polymerase (orange) beginnt an einem Primer (grün) mit der Synthese eines komplementären DNA-Strangs (schwarz) entlang des Matrizen-Strangs. C) Durch die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-Polymerase wird die gebundene Sonde zerschnitten. Dadurch wird die Fluoreszenz des Reporter-Farbstoffes freigesetzt und kann detektiert werden.

Die UPL-Sonden bestehen aus nur acht bis neun Nukleotiden. Um ihre Schmelztemperatur und die Bindungs-Affinität zum Template-Strang zu erhöhen, sind sie mit sogenannten *locked nucleic acids* („festgesetzte Nukleinsäuren, LNA) modifiziert (Mauritz et al. 2005; URL11). Die Sonden binden an Sequenzen, die besonders häufig im Genom zu finden sind. Dadurch sollen 98 % der menschlichen Gentranskripte mit 90 UPL-Sonden detektierbar sein (Mauritz et al. 2005). Eine mRNA bzw. ein Gentranskript enthält durchschnittlich 16 Bindestellen für UPL-Sonden, so kann eine Sonde genutzt

Methoden

werden, um eine Vielzahl verschiedener Transkripte zu detektieren und zu quantifizieren (Mauritz *et al.* 2005).

Mit Hilfe der frei zugänglichen Online-Software „Assay Design Center“ (URL11) von Roche kann für jede gewünschte Sequenz ein Assay mit Primern und Sonde erstellt werden. Auf der Internetseite wird zunächst der Organismus ausgewählt, aus dem die gesuchte Sequenz stammt. Danach können entweder der Name des Zielgens, die Sequenz-ID oder die Zielsequenz selbst eingelesen werden. Über eine Verbindung zur Reference Sequence (RefSeq)-Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI) sucht das Programm die entsprechende Sequenz und bietet passende Assays an, aus denen eines ausgewählt werden kann. Die Assays bestehen aus zwei Intron-überspannenden Primern und einer UPL-Sonde, die an die Sequenz zwischen den Primern bindet. Das Primerdesign soll gewährleisten, dass die Primer spezifisch für den Nachweis von mRNA sind und keine genomische DNA amplifiziert wird, die als Verunreinigung im RNA-Extrakt vorliegen kann (Mauritz *et al.* 2005). Das gewählte Assay kann als Pdf-Datei gespeichert werden (Abb. 28).

1. NM_004075.3

ProbeFinder has designed an optimal real-time PCR assay for:
NM_004075.3 Homo sapiens cryptochrome 1 (photolyase-like) (CRY1), mRNA

Assay rank 7
Use probe #54 (cat. no. 04688511001)

Primer	Length	Position	Tm	%GC	Sequence
Left	20	2499 - 2518	59	50	ctcacctgttgaagcaagga
Right	20	2545 - 2564	59	55	gactaggacgtttcccacca

Amplicon (66 nt)
ctcacctgttgaagcaaggaagaagctccatgggcactggctctcagtggtgggaaacgtcctagtc

The search was for intron spanning assays.
This assay has: **All criteria met.**

Length of intron(s) spanned by this assay: 71 nt

1 3273

54

ctcacctgttgaagcaagga ctggtctc accaccctttgcaggatcac

2489 2574

71

Abb. 28: Mit der ProbeFinder-Software des Assay Design Centers von Roche erstelltes Assay für eine quantitative Real Time-PCR. Angegeben werden die gesuchte Sequenz mit Sequenz-ID, darunter die empfohlene UPL-Sonde, die Sequenzen der Intron-überspannenden Primer und die Länge des Amplikons.

5.5.10.3 Etablierung des hCRY1-Assays

Mit dem „Assay Design Center“ wurden Primer und UPL-Sonde für die Zielsequenz *hCRY1* (NM_004075.3) designt. Zunächst wurden die empfohlenen Primer mit dem frei zugänglichen Online-Programm „OligoAnalyzer“ (Integrated DNA Technologies) auf Dimer-Bildung überprüft. Erschienen die Primer als geeignet, wurde nach Kontrolle der Schmelztemperaturen die Synthese in Auftrag gegeben (MWG Eurofins) und die UPL-Sonde (Roche) bestellt. Die optimale Anlagerungs-Temperatur für die *hCRY1*-Primer wurde durch eine Gradienten-PCR mit 36 Zyklen ermittelt. Es folgte ein Probedurchlauf mit Kalibrator-cDNA auf dem LightCycler, in dem geprüft wurde, ob die gewählte Primer-Sonden-Kombination konstante Ergebnisse für verschiedene Verdünnungen liefert. Für das Haushaltsgen *h36B4* und die beiden Zielgene *hBMAL1* und *hPER1* wurden abteilungsintern etablierte Assays, die auf gleichem Wege erstellt wurden, übernommen. Alle benötigten Daten zu den verwendeten Genen sind in den Anhängen A11 bis A15 zu finden.

5.5.10.4 Agarosegel-Elektrophorese

Um die erfolgreiche Amplifizierung eines Fragments der gewünschten Größe zu überprüfen, wurden die PCR-Produkte der Gradienten-PCR elektrophoretisch aufgetrennt. Dazu wurde ein 2 %iges Agarosegel aus 90 ml 1 x TBE -Puffer (Roth), 1,8 g Agarose (Agarose Broad Range, Roth) und 1,5 µl Ethidiumbromidlösung (Roth) hergestellt. Als Größenstandard wurde die GeneRuler Low Range DNA Ladder (Thermo Scientific) verwendet. Auf das Gel wurden 3 µl Größenstandard und jeweils 10 µl PCR-Produkt mit 2 µl 6 x DNA Loading Dye (Thermo Scientific) aufgetragen. Spannung und Laufzeit betragen 40 V für 15 min, danach 100 V für 45 min. Gelbilder wurden mit der Geldokumentations-Anlage Gel Jet Imager 2005 (INTAS, Göttingen) erstellt.

5.5.10.5 Das TaqMan Master Kit: Probenvorbereitung für den LightCycler

Alle Ansätze für die Real Time-PCRs auf dem LightCycler wurden mit dem LightCycler® TaqMan Master-Kit (Roche) hergestellt. Das Kit enthält eine FastStart Taq DNA-Polymerase, einen Reaktionsmix (Puffer, dNTPs), und Wasser (PCR-grade). Hinzugefügt werden müssen PCR-Primer, die sequenzspezifische Hydrolyse-Sonde und das cDNA-Template.

Alle Proben und Reagenzien wurden auf Eis gehalten und vor der Verwendung kurz anzentrifugiert. Zunächst wurden 10 µl Enzym (Reaktionsgefäß 1a) in den Reaktionsmix (Reaktionsgefäß 1b) gegeben und mit der Pipette vermischt. Reaktionsmix und Enzym ergeben zusammen den Mastermix. Alle folgenden Angaben zu den verwendeten Reagenzien-Mengen beziehen sich auf einen einzelnen Reaktionsansatz mit einem Endvolumen von 20 µl. Für eine bessere Übersicht ist der Reaktionsansatz noch einmal in Tab. 5 aufgeführt. Zunächst wurde die benötigte Gesamtmenge an Reaktionsansatz berechnet und die eingesetzten Mengen entsprechend angepasst. Vorwärts- und Rückwärts-Primer und

Methoden

eine Sonde wurden in einem 1,5 ml-Reaktionsgefäß zu einem Primer-Sonden-Mix vermischt. Der Primer-Sonden-Mix wurde mit Mastermix und Wasser mit der Pipette vorsichtig zu einem Master-Mastermix vermischt. Die gewünschte Anzahl Kapillaren wurde in gekühlte Zentrifugen-Adapter positioniert. In jede Kapillare wurden 15 µl des Master-Mastermixes pipettiert. Danach wurden in jede Kapillare entweder 5 µl Kalibrator-cDNA, Probanden-cDNA oder H₂O (PCR grade) pipettiert. Die Beladung der Kapillaren erfolgte nach einem vorgefertigten Schema: in jeder LightCycler-PCR diente die Kalibrator-cDNA in den ersten zwei Kapillaren als Positivkontrolle und Wasser in den letzten zwei Kapillaren als Negativkontrolle. Alle Proben, Positiv- sowie Negativkontrolle wurden in Duplikat aufgeladen. Die Kapillaren wurden nach dem Beladen mit einem Capping Tool verschlossen und 30 Sekunden bei 3000 rpm zentrifugiert, sodass die Flüssigkeit an den Boden der Kapillare gelangt. Danach konnten die Kapillaren für eine Real Time-PCR auf den LightCycler geladen werden.

Tab. 5: Einfacher 20 µl-Ansatz für eine Real Time-PCR auf dem LightCycler.

	Komponente	Menge (µl)
Primer-Sonden-Mix	Vorwärts-Primer	1,00
	Rückwärts-Prime	1,00
	UPL-Sonde	0,20
Gesamt		2,20
Master-Mastermix	Primer-Sonden-Mix	2,20
	H ₂ O (PCR grade)	8,80
	Mastermix (Enzym, dNTPs, Reaktionspuffer)	4,00
Gesamt		15,00
	Template	5,00
Gesamtvolumen		20,00

5.5.10.6 Programmierung des LightCyclers für die Real Time-PCRs

Für die Amplifizierung der cDNA wurde auf dem LightCycler das in Tab. 6 dargestellte Programm verwendet. Die initiale Inkubation bei 95 °C dient der Aktivierung der FastStart Taq DNA-Polymerase. Mit einer Zyklenzahl von 45 Zyklen wurde sichergestellt, dass alle PCRs ihre Plateau-Phase erreichen. Der Analysemodus „Quantifizierung“ bedeutet, dass die Detektion des Fluoreszenzsignals mit dem LightCycler nach jedem PCR-Zyklus stattfindet. Die verwendeten Anlagerungs-Temperaturen der Primer in den LightCycler-PCRs sind in Tab. 7 aufgeführt. Alle Anlagerungs-Temperaturen sind geradzahlig, da auf dem LightCycler keine Kommastellen einstellbar sind.

Tab. 6: LightCycler-Programm für Real Time-PCRs.

Zyklen	Analysemodus	Temperatur	Dauer
Präinkubation			
1	Keiner	95 °C	10 min
Amplifikation			
40	Quantifizierung	95 °C	10 s
		Primer-abhängig	20 s
		72 °C	10 s
Kühlung			
1	Keiner	20 °C	∞

Tab. 7: Die auf dem LightCycler verwendeten Anlagerungs-Temperaturen für PCR-Primer.

Gen	Anlagerungs-Temperatur der Primer (°C)
hBMAL1	55
hPER1	57
hCRY1	59
H36B4	57

5.5.10.7 Erstellen von Standardkurven und Coefficient-Files

Die Ergebnisse der relativen Quantifizierung wurden rechnerisch durch das Erstellen von sogenannten Coefficient-Files auf unterschiedliche PCR-Effizienzen von Zielgen und Haushaltsgen korrigiert. Um diese Coefficient-Files mit der RelQuant-Software im Vorfeld zu erstellen, wurden zunächst für das Haushaltsgen (Referenzgen) und alle Zielgene Standardkurven erstellt, aus deren Steigungen die PCR-Effizienz ermittelt werden kann.

Dazu wurde zunächst eine größere Menge Kalibrator-cDNA synthetisiert, die ausreicht, um Standardkurven zu erstellen und als Positivkontrolle in jeder späteren LightCycler-PCR mitzulaufen. Mit der Kalibrator-cDNA wurden für Referenzgen und Zielgene Verdünnungsreihen hergestellt (Tab. 8). Je höher die Verdünnung, desto mehr Replikate wurden angefertigt. Diese Replikate wurden auf den LightCycler geladen und Real Time-PCRs durchgeführt.

Tab. 8: Für das Erstellen von Standardkurven verwendete Verdünnungsstufen und die zugehörige Anzahl an auf den LightCycler geladenen Replikaten.

Verdünnung	Replikate
unverdünnt	2
1:2	2
1:5	3
1:10	3
1:20	4
1:50	5

Methoden

Die für die verschiedenen Verdünnungen ermittelten Cps wurden von der LightCycler-Software graphisch gegen die logarithmierten Konzentrationen aufgetragen. Die Gerade, die durch diese Punkte führt, ist die Standardkurve. Aus der Steigung der Standardkurve wurde über die Gleichung $E = 10^{-1/\text{Steigung}}$ die Effizienz der PCR ermittelt. Die Standardkurven wurden als .txt-Files in die RelQuant-Software importiert, mit der daraus für jede Zielgen-Referenzgen-Kombination ein Coefficient File berechnet wurde. Diese Coefficient Files wurden anschließend für die Effizienzkorrektur bei der Auswertung aller Real Time-PCRs mit Probandenproben verwendet.

5.6 Statistische Methoden

Alle erhobenen Daten wurden mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 21) ausgewertet.

Die Art der Daten und deren Verteilung bestimmen die Auswahl statistischer Tests maßgeblich. Zunächst werden daher einige Begriffe erklärt:

Skalenniveaus

- *Nominaldaten:* Geben Informationen über die Zugehörigkeit zu einer qualitativen Kategorie ohne natürliche Ordnung. Ein Beispiel für Nominaldaten ist das Geschlecht (Mann vs. Frau). Mit Nominaldaten lassen sich nur Angaben über Häufigkeiten und Anteile machen.
- *Ordinaldaten:* Geben eine Rangfolge nach einer gemeinsamen Eigenschaft an, die Ränge sagen jedoch nichts über das Verhältnis benachbarter Messungen zueinander aus. Es handelt sich hierbei also um qualitative Merkmalsausprägungen mit natürlicher Ordnung. Ein Beispiel für Ordinaldaten sind Platzierungen bei einem Rennen. Der Erstplatzierte liegt vor dem Zweitplatzierten und der Zweitplatzierte wiederum vor dem Drittplatzierten. Der zeitliche Abstand zwischen der Ziellinienüberschreitung zwischen Erst- und Zweitplatziertem muss aber nicht genauso groß sein wie der zwischen Zweit- und Drittplatziertem.
- *Intervalldaten:* Hier gibt es eine sinnvolle Anordnung von Messwerten auf einer gemeinsamen Skala. Im Gegensatz zu Ordinaldaten lassen sich die Abstände zwischen verschiedenen Merkmalsausprägungen exakt bestimmen. Ein Beispiel für Intervalldaten ist die Temperaturskala in Grad Celsius.
- *Verhältnisdaten:* Haben zusätzlich einen absoluten („wahren“) Nullpunkt. Messungen behalten unabhängig von der Skala dasselbe Verhältnis zueinander bei (z. B. Gramm und Kilogramm). Beispiele für Verhältnisdaten sind Gewicht, Alter und Temperatur in Kelvin.
- *Metrische Daten:* Sind numerische (in Zahlenwerten ausgedrückte) Werte, die mindestens intervallskaliert sind.

Normalverteilung

Methoden

Bei einer Normalverteilung sind Werte aus einer Grundgesamtheit ähnlich einer Gaußschen Glockenkurve verteilt, d. h. die meisten Werte liegen um einen Mittelwert herum, während die Häufigkeiten zu beiden Seiten hin gleichmäßig abfallen. Eine Normalverteilung von Daten ist Voraussetzung für die Verwendung sogenannter parametrischer Tests in der Statistik. Liegt keine Normalverteilung vor, müssen sog. nicht-parametrische Tests angewendet werden. Ob eine Normalverteilung für bestimmte Daten tatsächlich vorliegt, lässt sich mit Hilfe verschiedener Tests überprüfen.

Irrtumswahrscheinlichkeit

Mit einem statistischen Test wird z. B. geprüft, wie wahrscheinlich es ist, dass Unterschiede zwischen Mittelwerten zufällig zustande kommen oder nicht. Dafür werden zwei Hypothesen aufgestellt. Die Nullhypothese (H_0) besagt, dass zwei Stichproben einer gleichen Grundgesamtheit entstammen und ein Unterschied zwischen Mittelwerten damit zufällig zustande kommt. Die Gegenhypothese (H_1) besagt, dass zwei Stichproben verschiedenen Grundgesamtheiten entstammen und ein Unterschied zwischen Mittelwerten damit nicht zufällig ist. Die Irrtumswahrscheinlichkeit (p) ist die Wahrscheinlichkeit, mit der die Nullhypothese fälschlicherweise verworfen werden kann, obwohl sie eigentlich richtig ist (Fehler erster Art oder α -Fehler). Die Irrtumswahrscheinlichkeit p kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Ein p -Wert von $< 0,050$ bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit, dass die Nullhypothese fälschlicherweise verworfen wird, unter 5 % liegt bzw. dass die Wahrscheinlichkeit, dass die Mittelwertsunterschiede nicht zufällig zustande kommen, bei über 95 % liegt. Eine Teststatistik wird als genügend aussagekräftig angenommen und als „signifikant“ bezeichnet, wenn der p -Wert $< 0,050$ ist. Für p werden unterschiedliche Signifikanzniveaus angegeben:

nicht signifikant (n.s.):	$p \geq 0,050$
signifikant:	$p < 0,050$
sehr signifikant:	$p < 0,010$
hoch signifikant:	$p < 0,001$

Man unterscheidet zwischen einseitiger und zweiseitiger Fragestellung. Beschreibt die Gegenhypothese eine Abweichung von der Nullhypothese in nur eine Richtung, wird sie als gerichtete Hypothese bezeichnet (Bsp.: Männer sind größer als Frauen). Beschreibt sie eine Abweichung von der Nullhypothese in zwei Richtungen, wird sie als ungerichtete Hypothese bezeichnet (Bsp.: Männer und Frauen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Körperhöhe).

Bei einer gerichteten Hypothese prüft ein statistischer Test, wie wahrscheinlich es ist, dass Werte aus einer normalverteilten Grundgesamtheit in eine Richtung nicht vom statistischen Modell erklärt werden können (einseitige Signifikanz). Bei einer ungerichteten Hypothese prüft ein statistischer Test,

Methoden

wie wahrscheinlich es ist, dass Werte aus einer normalverteilten Grundgesamtheit in zwei Richtungen der Normalverteilung nicht vom statistischen Modell erklärt werden können (zweiseitige Signifikanz). In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich auf zweiseitige Signifikanz getestet.

Verwendete statistische Verfahren

Als Kennwerte der deskriptiven Statistik wurden Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Die Daten aller metrischen Variablen wurden zunächst mit dem **Kolmogorov-Smirnov-Test** auf Normalverteilung getestet. Dieser Test prüft, ob eine Verteilung von Werten von einer Normalverteilung abweicht. Ein signifikantes Testergebnis bedeutet eine Abweichung der Datenverteilung von einer Normalverteilung.

Um zu prüfen, ob innerhalb einer Probandengruppe mehrfach gemessene Hauttemperatur-Variablen reproduzierbar sind, wurde bei Normalverteilung der Daten und einer Gruppengröße ≥ 10 eine einfaktorielle Varianzanalyse (**analysis of variance, ANOVA**) **für Messwiederholungen** durchgeführt. Bei einer ANOVA für Messwiederholungen wird eine abhängige Variable (hier eine Variable des Hauttemperatur-Rhythmus) mehrfach bei derselben Gruppe getestet. Es wird untersucht, ob sich die Mittelwerte der Gruppe im Laufe der Zeit (hier sieben Tage) verändern. Die unabhängige Variable ist dabei nominal-skaliert (hier die Alters- und Schlafqualitätsgruppen). Sie wird in diesem Zusammenhang auch als Faktor bezeichnet und kann verschiedene Ausprägungen annehmen (z. B. gute oder schlechte Schlafqualität). Für jede Probandengruppe wurde eine ANOVA für Messwiederholungen durchgeführt. Eine Voraussetzung hierfür ist die sog. Sphärizität. Diese gibt an, ob Varianzen und Korrelationen homogen sind. Vor der ANOVA für Messwiederholungen wurde daher der **Mauchly-Test auf Sphärizität** durchgeführt. Bei einem signifikanten Ergebnis des Mauchly-Tests war keine Sphärizität gegeben und die **Greenhose-Geisser**-korrigierten Teststatistiken der ANOVA wurden weiter verwendet. Bei signifikanten Teststatistiken wurde *post hoc* eine Bonferroni-Korrektur (Irrtumswahrscheinlichkeit multipliziert mit der Anzahl der durchgeführten Tests) durchgeführt und korrigierte Werte als P_c (Bonferroni-korrigierte Irrtumswahrscheinlichkeit) angegeben.

Waren die Voraussetzungen für ein parametrisches Testverfahren nicht gegeben, wurde der nicht-parametrische **Friedman-Test** verwendet. Der Test prüft, ob sich die zentralen Tendenzen an mehr als zwei Messzeitpunkten voneinander unterscheiden. Der Friedman-Test ist ein Rangsummentest. Die Berechnung der Teststatistik basiert auf dem Vergleich von mehreren Rangreihen.

Um zu prüfen, ob sich eine Variable zwischen verschiedenen Probandengruppen unterscheidet, wurde bei Normalverteilung der Daten und einer Gruppengröße ≥ 10 der t-Test bei unabhängigen Stichproben (t-Test nach Student) verwendet. Der t-Test ist ein parametrischer Test, der zeigt, ob die Differenz

Methoden

zwischen zwei Mittelwerte aus unabhängigen Stichproben signifikant von Null abweicht. Dem t-Test vorgeschaltet wurde der **Levene-Test** auf Varianzgleichheit der verglichenen Gruppen. Je nachdem, ob die Gleichheit der Varianzen gegeben war (nicht-signifikantes Testergebnis beim Levene-Test) oder nicht (signifikantes Testergebnis beim Levene-Test), wurde ein t-Test bei angenommener Gleichheit der Varianzen bzw. bei nicht-angenommener Gleichheit der Varianzen als Teststatistik durchgeführt. Waren die Voraussetzungen für einen t-Test nicht erfüllt, wurde der nicht-parametrische **Mann-Whitney-u-Test** verwendet. Er vergleicht die Ränge metrischer Variablen ohne Normalverteilung und/oder einer Individuenzahl kleiner als 10.

Um auf einen Zusammenhang zwischen zwei Variablen zu prüfen, wurden **bivariate Korrelationsanalysen** durchgeführt. Für ordinalskalierte Daten (z. B. Punktwerte aus Fragebögen oder dem Schlaftagebuch), bei Probandenzahlen unter 10 oder nicht-normalverteilten Variablen wurde dazu der Korrelationskoeffizient (r) nach Spearman berechnet, ansonsten nach Pearson. Ein Korrelationskoeffizient r gibt die Stärke des Zusammenhangs zweier Variablen an. Er kann Werte zwischen -1 und +1 annehmen. Ein Korrelationskoeffizient von 0 bedeutet, dass es keinen Zusammenhang zwischen zwei Variablen gibt, ein Korrelationskoeffizient von -1 oder +1 beschreibt den stärkst möglichen negativen oder positiven Zusammenhang zwischen zwei Variablen. In Tab. 9 sind die gebräuchlichen Abstufungen der Stärke von positiven Zusammenhängen aufgeführt.

Tab. 9: Größe von Korrelationskoeffizienten und deren Bedeutung (nach Bühl 2008).

Wert	Bezeichnung
$\leq 0,2$	sehr geringe Korrelation
$\leq 0,5$	geringe Korrelation
$\leq 0,7$	mittlere Korrelation
$\leq 0,9$	hohe Korrelation
$> 0,9$	sehr hohe Korrelation

Für die grafische Darstellung von Mittelwertsunterschieden wurden Säulendiagramme oder Punktediagramme in Excel 2010 (Microsoft Office) erstellt. In den Säulendiagrammen sind die Standardabweichungen als Balken aufgeführt, in den Punktediagrammen sind sie der Übersichtlichkeit wegen nicht mit aufgeführt. Für die graphische Darstellung signifikanter Korrelationen wurden Streudiagramme mit einer Regressionsgeraden erstellt, die die Art des Zusammenhangs zwischen zwei Variablen verdeutlicht.

Umrechnung von Uhrzeiten

Für die Durchführung der statistischen Analysen wurden nach folgender Formel Uhrzeiten in Minuten umgewandelt: Uhrzeit x 60 min x 24 Std. Für die Rechnungen mit Minuten wurde berücksichtigt, in

Methoden

welchem Verhältnis Uhrzeiten auf einer Zeitachse zueinander stehen. Wird z. B. ein 24 Stunden-Tag von 17:00 bis 17:00 Uhr betrachtet, liegt 01:00 Uhr auf einer Zeitachse nach 24:00 Uhr. 24:00 Uhr entspricht daher $24:00 \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ Std} = 1440 \text{ Min}$, 01:00 Uhr entspricht $01:00 \text{ Uhr} \times 60 \text{ min} \times 24 \text{ Std} + 1440 \text{ min} (= 24 \text{ Std}) = 1500 \text{ min}$ (und nicht 60 min).

6 Ergebnisse

6.1 Zu methodischen Aspekten

6.1.1 Interassay-Vergleich der Cortisol-ELISAs

Für eine Auswahl von acht Probandinnen wurde eine Cortisol-Konzentrationsbestimmung in zwei separaten ELISAs durchgeführt. Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der Cortisol-ELISAs wurden für diese Doppelbestimmungen Interassay-Variationskoeffizienten nach folgender Formel berechnet:

$$CV = \frac{\text{Standardabweichung (SD)}}{\text{Mittelwert}} \times 100$$

Zunächst wurden für jeden Messzeitpunkt die mittlere Cortisol-Konzentration aus zwei ELISAs und die zugehörige Standardabweichung bestimmt. Aus Mittelwert und Standardabweichung wurde der Interassay-Variationskoeffizient für diesen Zeitpunkt nach obiger Formel gebildet. Aus den für einen Zeitpunkt vorliegenden acht Variationskoeffizienten wurde ein mittlerer Interassay-Variationskoeffizient berechnet. Die Interassay-Variationskoeffizienten sind in Tab. 10 aufgeführt.

Tab. 10: Übersicht über die Interassay-Variationskoeffizienten für die Cortisol-ELISAs.

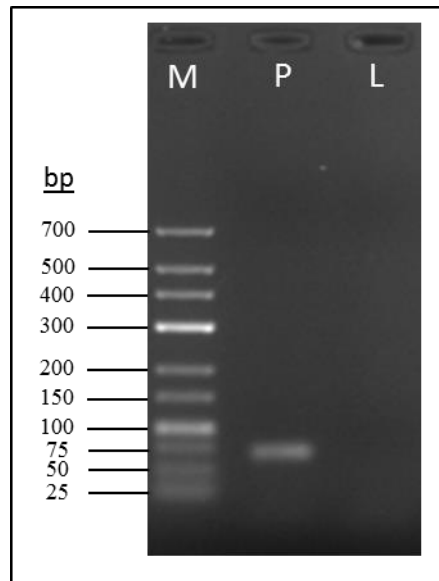
Sammelzeitpunkt	N	CV (%)
Zubettgehen	8	3,60
Aufwachen (T0)	8	2,02
30 min nach Erwachen (T30)	8	2,20
45 min nach Erwachen (T45)	8	1,79
60 min nach Erwachen (T60)	8	2,29

N = Probenzahl, CV = Variationskoeffizient, SD = Standardabweichung

6.1.2 Etablierung des *hCRY1*-Assays

Mit Hilfe einer Gradienten-PCR wurde zum einen die optimale Anlagerungs-Temperatur der erstellten Primer für das Gen *hCRY1* ermittelt. Zum anderen konnte geprüft werden, ob die Primer ein Fragment der erwarteten Größe amplifizieren und ob sich Primer-Dimere bilden. In Abb. 29 ist ein Ausschnitt aus dem Gelbild der Gradienten-PCR für *hCRY1* dargestellt.

Ergebnisse



*Abb. 29: Ausschnitt aus dem Gelbild zur Gradienten-PCR für das Uhren-gen *hCRY1*. Die erste Spur auf dem Gel zeigt den Größenstandard (M), die zweite Spur die Probe (P) und die dritte Spur die Leerkontrolle (L). Das auf das Gel geladene Fragment wurde bei einer Annealing-Temperatur von 58,7 °C amplifiziert. Die Bande liegt bei der erwarteten Fragmentlänge von 66 bp. Es gibt keinen Hinweis auf die Bildung von Primer-Dimeren oder auf eine Kontamination der PCR.*

Das Gelbild zeigt, dass bei der Amplifikation mit den im Assay Design Center erstellten Primern Produkte der erwarteten Fragmentlänge von 66 bp entstehen. In der Produktspur ist keine zusätzliche Bande zu erkennen, die auf das Vorliegen von Primer-Dimeren hinweisen würde. Auch in der Leerkontrolle liegt keine Bande vor. Somit kann die Entstehung der Produktbande durch eine Kontamination ausgeschlossen werden.

Nach der Block-Cycler-PCR wurden zwei Annealing-Temperaturen ausgewählt, bei denen deutliche Banden der richtigen Größe zu sehen waren, und die etwa 5 °C auseinander lagen (54,4 und 58,7 °C). Mit diesen Annealing-Temperaturen wurde nachfolgend in zwei Real Time-PCRs auf dem LightCycler getestet, ob bei der Bestimmung des Crossing Points konstante Zyklenzahlen erreicht werden und bei welcher Temperatur die Amplifikation effektiver ist (d. h. in welcher PCR bei gleichen cDNA-Konzentrationen ein niedrigerer Crossing Point vorliegt). Die Annealing-Temperaturen wurden für die Real Time-PCRs auf gerade Zahlen gerundet (55 °C und 59 °C), da auf dem LightCycler keine Kommazahlen einstellbar sind. Es zeigte sich, dass die Crossing Points in der Real Time-PCR mit einer Annealing-Temperatur von 59 °C konstant niedriger waren als bei 55 °C. Daher wurde 59 °C als Annealing-Temperatur für die *hCRY1*-Real Time-PCRs ausgewählt.

Ergebnisse

In Abb. 30 sind Fluoreszenz-Kurven für die *hCRY1*-Real Time-PCR bei 59 °C Annealing-Temperatur dargestellt. Die Fluoreszenz erreicht bei den meisten Proben zwischen 29 bis 31 Zyklen den Crossing Point, bei dem das Fluoreszenzsignal aus dem Hintergrundsignal hervortritt. Die hohen Zyklenzahlen weisen darauf hin, dass das Gen in den untersuchten Proben relativ schwach exprimiert wird. Bei zwei Replikaten einer 1:50 verdünnten Probe liegt der Crossing Point erst bei ca. 34 Zyklen. Die Crossing Points der Replikate weichen hier mehr als einen Zyklus voneinander ab. Das weist darauf hin, dass die Molekülmenge in den Ansätzen so gering ist, dass bei starken Verdünnungen keine reproduzierbaren Ergebnisse mehr erreicht werden, da hier schon statistische Effekte eine große Rolle spielen. Das Fluoreszenzsignal der zwei mitgeführten Negativkontrollen tritt nicht aus dem Hintergrundsignal hervor. Dies weist darauf hin, dass keine Kontamination vorlag.

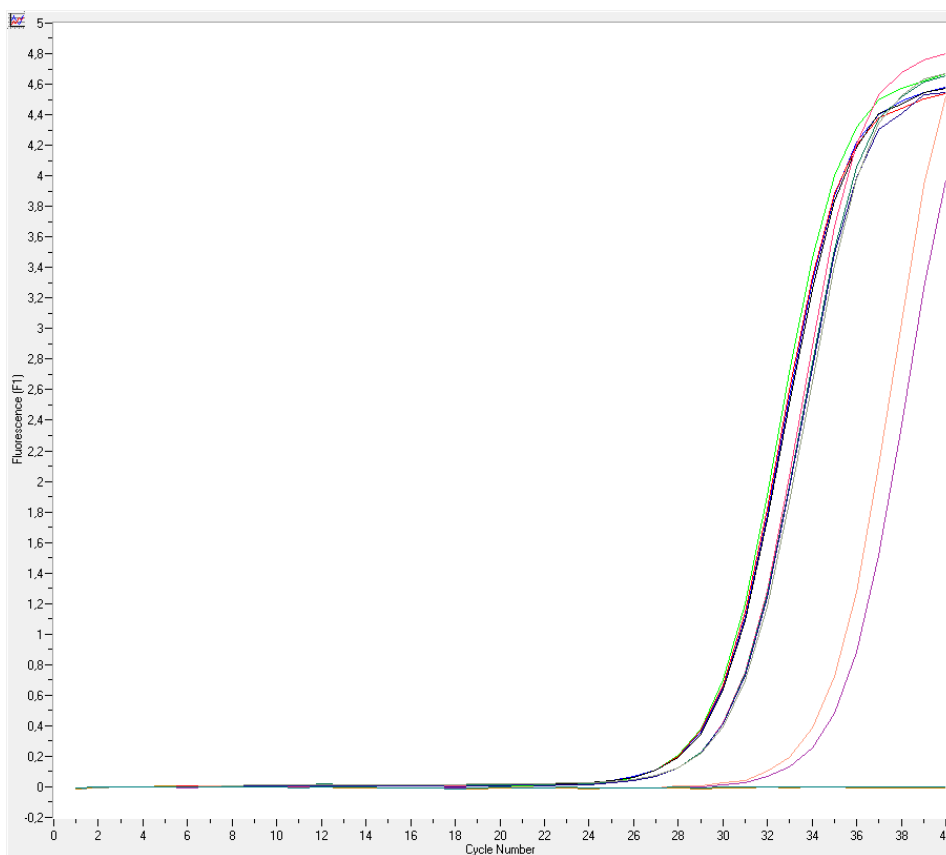


Abb. 30: Fluoreszenzkurven einer *hCRY1*-Echtzeit-PCR auf dem LightCycler. Auf der Abszisse sind die PCR-Zyklen angegeben, auf der Ordinate ist die Stärke des Fluoreszenz-Signals angegeben, das mit steigender Menge an PCR-Produkt zunimmt. Die Fluoreszenz erreicht bei den meisten Proben zwischen 29 bis 31 Zyklen den Crossing Point (C_p). Bei einer 1:50 verdünnten Probe wird der Crossing Point erst bei ca. 34 Zyklen und die Crossing Points der Replikate weichen mehr als einen Zyklus voneinander ab. Die Real Time-PCR liefert somit bei hohen Verdünnungen keine replizierbaren Ergebnisse. Die Fluoreszenz der Negativkontrollen tritt nicht aus dem Hintergrundsignal hervor.

Ergebnisse

In Abb. 31 sind weitere vom LightCycler-Programm angegebene Daten zu den oben dargestellten Fluoreszenzkurven abgebildet. In der rechten Spalte sind die vom Programm ermittelten Crossing Points für die einzelnen Proben angegeben. Da jede Probe in Duplikat auf den LightCycler geladen wurde, sollten sich die Crossing Points jeweils zweier Positionen (z. B. 1 und 2 oder 3 und 4) entsprechen. Unter *Grouped Means* wird der aus den Duplikaten einer Probe errechnete mittlere Crossing Point aufgeführt, die zugehörige Standardabweichung wird unter *Grouped SD* angegeben. Die errechnete Ausgangskonzentration der Proben (*Calculated Concentrations*) beträgt für die in der Arbeit durchgeführten Real Time-PCRs immer Null, da es sich um relative Quantifizierungen handelt. Für die Leerkontrollen ist kein Crossing Point angegeben. Das bedeutet, dass die Fluoreszenz hier nicht aus dem Hintergrund hervortritt und dass die PCR-Ansätze folglich nicht kontaminiert waren.

	Pos...	Name	Calculate...	Cros...
—	1	LC32_hCRY1 unverd.	0.000E+00	29.49
—	2	Repli. of LC32_hCRY1 unve	0.000E+00	29.28
—	3	LC32_hCRY1 unverd.	0.000E+00	29.41
—	4	Repli. of LC32_hCRY1 unve	0.000E+00	29.52
—	5	LC32_hCRY1 Cal DO	0.000E+00	30.24
—	6	Repli. of LC32_hCRY1 Cal	0.000E+00	30.22
—	7	LC32_hCRY1 Cal DO	0.000E+00	30.20
—	8	Repli. of LC32_hCRY1 Cal	0.000E+00	30.44
—	9	LC32_hCRY1_1:50	0.000E+00	33.83
—	10	Repli. of LC32_hCRY1_1:50	<0.000E+00	>36.00
—	11	H2O		
—	12	Repli. of H2O		
	1,2	Grouped Means	0.000E+00	29.38
		Grouped S.D.	0.000E+00	0.150
	3,4	Grouped Means	0.000E+00	29.46
		Grouped S.D.	0.000E+00	0.0725
	5,6	Grouped Means	0.000E+00	30.23
		Grouped S.D.	0.000E+00	0.0133
	7,8	Grouped Means	0.000E+00	30.32
		Grouped S.D.	0.000E+00	0.169
	9,10	Grouped Means	0.000E+00	33.83
		Grouped S.D.		
	11,12	Grouped Means		
		Grouped S.D.		

Abb. 31: Auflistung der Crossing Points einer 12 Ansätze umfassenden Real Time-PCR auf dem LightCycler-Gerät. Bei den ersten zehn Ansätzen handelt es sich um cDNA-Proben, bei den Ansätzen 11 und 12 um Negativkontrollen. Pos... = Position des PCR-Ansatzes auf dem Probenkarussell des LightCyclers, Name = Bezeichnung des Ansatzes, Calculate... = Calculated Concentration (Null, da es sich um eine relative Quantifizierung handelt), Cros... = Crossing Points, Grouped Means = Mittelwerte der Duplikate eines Ansatzes, Grouped SD = zugehörige Standardabweichung.

Ergebnisse

Standardkurven und PCR-Effizienz für das Haushaltsgen *h36B4* und die drei Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1*

Sowohl für das Gen *hCRY1* als auch die Gene *h36B4*, *hBMAL1* und *hPER1* wurden vor der Analyse der Probandenproben Standardkurven erstellt (Abb. 32, Abb. 33, Abb. 34, Abb. 35).

Auf der Abszisse sind die logarithmierten Werte der eingesetzten Konzentrationen angegeben. Die Ordinate zeigt die Crossing Points der Ansätze. Für höhere Verdünnungsstufen wurden mehr Replikate analysiert als für niedrigere. Es ist zu erkennen, dass auch bei höheren Verdünnungsstufen die Werte der Replikate dicht beieinander liegen. Eine Ausnahme bildet die höchste Verdünnungsstufe (1:50) bei *hCRY1*. Hier können nur bis zu einer Verdünnungsstufe von 1:20 (ca. 33,5 Zyklen) zuverlässige Ergebnisse erhalten werden.

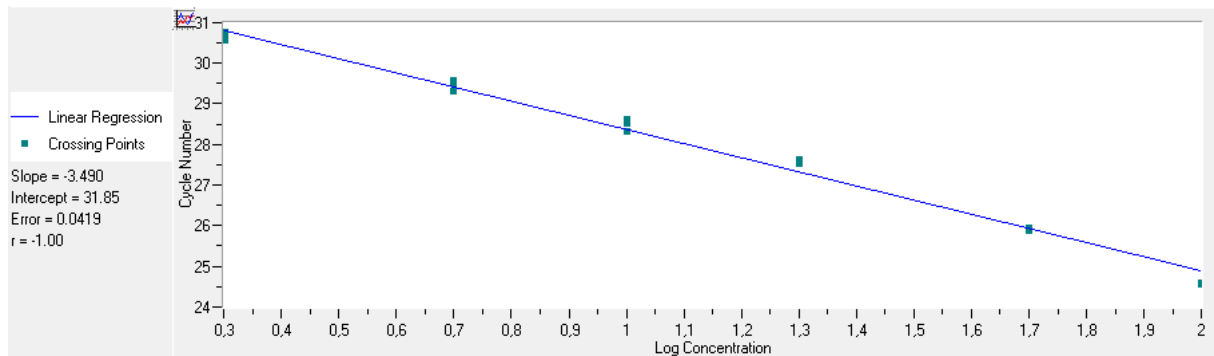


Abb. 32: Standardkurve für das Haushaltsgen (Referenzgen) *h36B4*. Als Matrize zur Erstellung der Standardkurve wurden sechs definierte Verdünnungen der Kalibrator-cDNA verwendet. Die abgebildeten Punkte geben die Crossing Points der verschiedenen Ansätze an. Aus der Steigung der Standardkurve wurde eine PCR-Effizienz $E = 1,93$ berechnet.

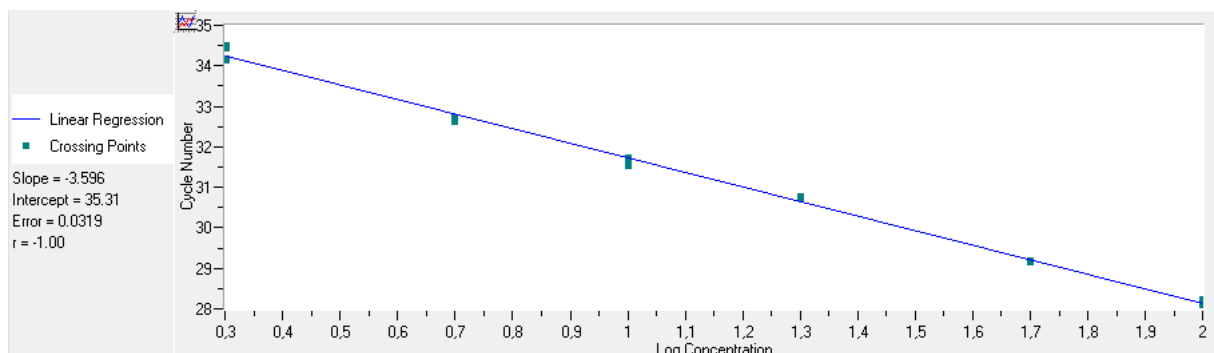


Abb. 33: Standardkurve für das Uhrengene *hBMAL1*. Als Matrize zur Erstellung der Standardkurve wurden sechs definierte Verdünnungen der Kalibrator-cDNA verwendet. Die abgebildeten Punkte geben die Crossing Points der verschiedenen Ansätze an. Aus der Steigung der Standardkurve wurde eine PCR-Effizienz $E = 1,90$ berechnet.

Ergebnisse

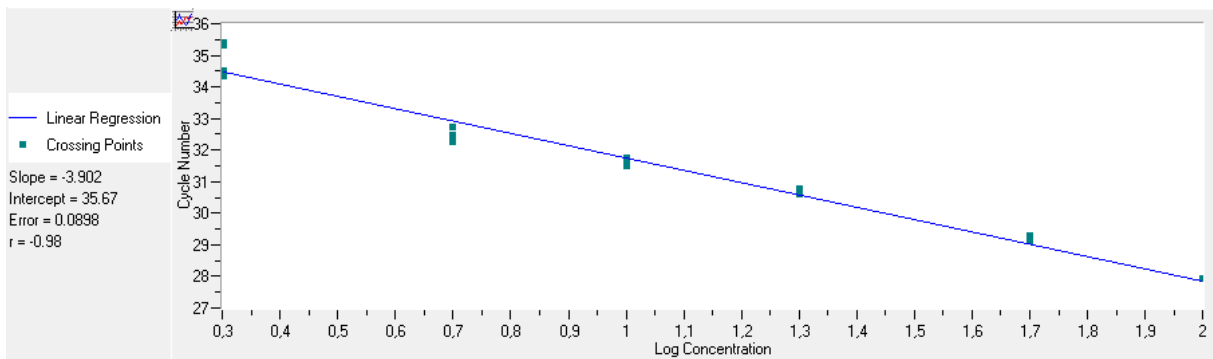


Abb. 34: Standardkurve für das Uhrgen *hPER1*. Als Matrize zur Erstellung der Standardkurve wurden sechs definierte Verdünnungen der Kalibrator-cDNA verwendet. Die abgebildeten Punkte geben die Crossing Points der verschiedenen Ansätze an. Aus der Steigung der Standardkurve wurde eine PCR-Effizienz $E = 1,80$ berechnet.

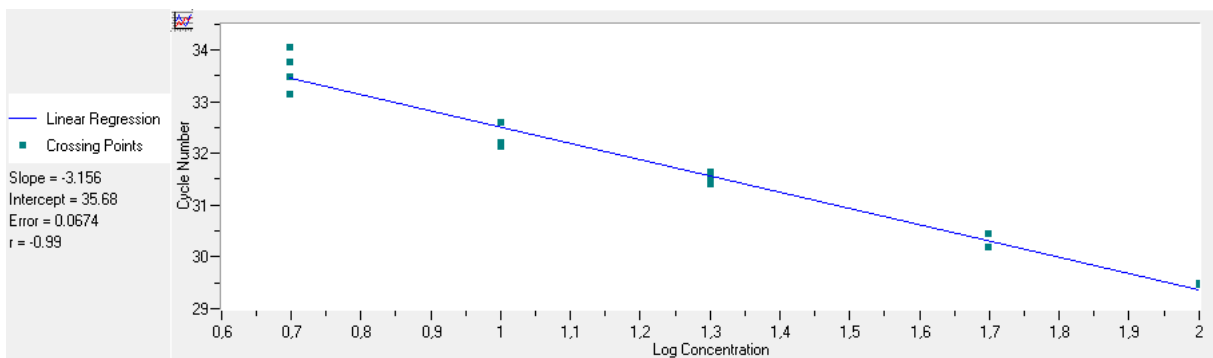


Abb. 35: Standardkurve für das Uhrgen *hCRY1*. Als Matrize zur Erstellung der Standardkurve wurden sechs definierte Verdünnungen der Kalibrator-cDNA verwendet. Die abgebildeten Punkte geben die Crossing Points der verschiedenen Ansätze an. Für die Erstellung dieser Standardkurve wurde die höchste Verdünnungsstufe nicht verwendet, da der Crossing Point in diesem Bereich ($> 33,5$ Zyklen) nicht mehr zuverlässig bestimmt werden kann. Aus der Steigung der Standardkurve wurde eine PCR-Effizienz $E = 2,07$ berechnet.

6.2 Deskriptive Kennzeichen der Probandinnen

6.2.1 Zusammensetzung und Altersverteilung des Kollektivs

In Tab. 11 sind die Zusammensetzung des Probandenkollektivs sowie mittleres Alter und Altersspanne angegeben. Das Kollektiv der Studie besteht aus 13 jüngeren Probandinnen und 23 älteren Probandinnen. Die jüngeren Probandinnen haben ein mittleres Alter von $26,77 \pm 4,05$ Jahren mit einer Altersspanne von 20 bis 34 Jahren. Die älteren Probandinnen sind im Mittel $68,43 \pm 5,21$ Jahre alt, die Altersspanne beträgt hier 60 bis 79 Jahre.

Abhängig von der Punktezahl, die im PSQI-Fragebogen erreicht wurde, wurden die älteren Probandinnen in ältere gute Schläferinnen (AGS) und ältere schlechte Schläferinnen (ASS) unterteilt. Neun ältere Probandinnen fielen dabei in die Gruppe der AGS. Das mittlere Alter für diese Gruppe liegt bei $67,22 \pm 5,56$ Jahren. In die Gruppe der ASS fielen 14 ältere Frauen mit einem mittleren Alter von $69,21 \pm 5,03$ Jahren.

Tab. 11: Anzahl und mittleres Alter der Studienteilnehmerinnen.

Gruppe	N	Alter (Jahre)			
		M	SD	Min	Max
Jüngere Frauen	13	26,77	4,05	20	34
Ältere Frauen	23	68,43	5,21	60	79
Ältere gute Schläferinnen (AGS)	9	67,22	5,56	61	79
Ältere schlechte Schläferinnen (ASS)	14	69,21	5,03	60	77

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert

6.2.2 Anthropometrische Merkmale und Körperzusammensetzung

Die älteren Frauen haben eine geringere Körperhöhe und ein höheres Gewicht als die jüngeren Frauen (Tab. 12). Das führt zu einem höheren mittleren BMI von $25,17 \text{ kg/m}^2$ bei den älteren Probandinnen im Vergleich zu den jüngeren Probandinnen mit einem mittleren BMI von $22,12 \text{ kg/m}^2$. Zudem haben die älteren Probandinnen mit einem Wert von 0,83 einen größeren Taillen-Hüft-Index als jüngere Probandinnen mit 0,71. Jüngere Frauen haben eine deutlich geringere Fettmasse als die älteren Frauen, wobei hier die Standardabweichung in beiden Gruppen sehr hoch ist. Beim Vergleich der älteren Frauen mit guter und schlechter Schlafqualität fällt auf, dass die AGS sowohl einen höheren BMI, als auch einen größeren Taille-Hüft-Index und mehr Fettmasse haben als die ASS.

Ergebnisse

Tab. 12: Körpermaße und Körperzusammensetzung der Probandinnen.

Variable		Jüngere Frauen (N = 13)	Ältere Frauen (N = 23)	Ältere gute Schläferinnen (N = 9)	Ältere schlechte Schläferinnen (N = 14)
Körperhöhe (cm)	M	170,25	162,87	163,63	162,39
	SD	4,67	4,14	4,92	3,66
Körpergewicht (kg)	M	64,11	66,60	69,78	64,56
	SD	7,34	6,93	5,24	7,27
BMI (kg/m ²)	M	22,12	25,17	26,22	24,49
	SD	2,51	2,96	3,24	2,66
Taillen-Hüft-Index	M	0,71	0,83	0,85	0,81
	SD	0,04	0,06	0,06	0,06
Fettmasse (kg)	M	19,97	22,42	25,33	20,54
	SD	4,82	5,75	4,88	5,63
Körperzellmasse (kg)	M	22,37	21,18	21,70	20,84
	SD	2,37	1,65	1,67	1,60
Extrazelluläre Masse/Körperzellmasse-Index	M	0,97	1,09	0,63	0,62
	SD	0,07	0,11	0,05	0,06
Grundumsatz (kcal/24 Std.)	M	1323,08	1284,78	1302,22	1273,57
	SD	72,85	52,13	53,33	50,02

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, BMI = Body Mass Index

6.2.3 Allgemeine Kennzeichen des Probandenkollektivs

Nachfolgend werden Angaben zu Charakterisierung, Lebens- und Verhaltensweise der Probandinnen aufgeführt, die mit dem allgemeinen Fragebogen erfasst wurden.

Familienstand und Wohnsituation

Der größte Teil der jüngeren Probandinnen ist ledig, während bei den älteren Probandinnen mehr Frauen verheiratet sind (Tab. 13). Keine der AGS lebt in Scheidung, bei den ASS sind es drei Frauen. Die Verteilung von ledigen, verheirateten und verwitweten Probandinnen ist bei AGS und ASS etwa gleich.

Ergebnisse

Tab. 13: Übersicht über den Familienstand der Probandengruppen.

Gruppe	N	ledig	verheiratet	geschieden/ getrennt	verwitwet
Jüngere Frauen	13	13	0	0	0
Ältere Frauen	23	2	12	3	6
Ältere gute Schläferinnen	9	1	5	0	3
Ältere schlechte Schläferinnen	14	1	7	3	3

N = Probandenzahl

Sowohl bei den jüngeren als auch bei den älteren Frauen leben etwa gleiche Anteile allein oder mit einem Partner (Tab. 14). Auch bei den AGS und ASS sind die Anteile etwa ausgeglichen.

Tab. 14: Wohnsituation der unterschiedlichen Probandengruppen.

Gruppe	N	Alleine lebend	Zusammen lebend
Jüngere Frauen	13	7	6
Ältere Frauen	23	12	11
Ältere gute Schläferinnen	9	5	4
Ältere schlechte Schläferinnen	14	7	7

N = Probandenzahl

Berufliche Situation

Von den älteren Probandinnen, die bei der Frage nach der beruflichen Situation „Hausfrau“ angaben, waren alle im Ruhestand (Tab. 15). D. h. die Gruppe der älteren Frauen bestand aus 21 Ruheständlerinnen und zwei Berufstätigen. Alle jüngeren Studienteilnehmerinnen waren Studentinnen, drei von ihnen hatten eine zusätzliche Anstellung. Unter den Berufstätigen war keiner in Schicht- oder Nachtarbeit tätig.

Tab. 15: Berufliche Situation der verschiedenen Probandengruppen.

Gruppe	N	Studentin	Berufstätig	Hausfrau	Ruheständlerin
Jüngere Frauen	13	13	3	0	0
Ältere Frauen	23	0	2	4	17
Ältere gute Schläferinnen	9	0	0	2	7
Ältere schlechte Schläferinnen	14	0	2	2	10

N = Probandenzahl

Ergebnisse

Selbsteinschätzung des Gesundheitszustands

Die Probandinnen schätzten ihren eigenen Gesundheitszustand im Vergleich zu ihren Altersgenossinnen auf einer fünfstufigen Skala von „sehr schlecht“ bis „sehr gut“ ein. Die Ergebnisse dieser Einschätzung sind in Tab. 16 dargestellt. Die Mehrheit der Probandinnen bezeichnet ihren Gesundheitszustand als gut bis sehr gut. Dies gilt bei den älteren Probandinnen sowohl für Frauen mit guter als auch mit schlechter Schlafqualität. Vier der jüngeren Probandinnen gaben „mittel“ als Wertung an, womit die Gruppe der jüngeren Frauen ihren Gesundheitszustand insgesamt schlechter einschätzte als die älteren Probandinnen.

Tab. 16: Selbsteinschätzung des eigenen Gesundheitszustandes im Vergleich zu Altersgenossinnen.

Gruppe	N	sehr schlecht	schlecht	mittel	gut	sehr gut
Jüngere Frauen	13	0	0	4	6	3
Ältere Frauen	23	0	0	0	13	10
Ältere gute Schläferinnen	9	0	0	0	4	5
Ältere schlechte Schläferinnen	14	0	0	0	9	5

N = Probandenzahl

Konsum anregender Getränke und Alkohol

In Tab. 17 ist eine Übersicht zum Konsum aufputschender Getränke und zum Alkoholkonsum der Probandinnen gegeben. Es fällt auf, dass ältere Probandinnen deutlich mehr Kaffee oder Tein-haltigen Tee konsumieren als die jüngeren Probandinnen. Die AGS konsumieren im Mittel etwa zwei Tassen mehr Kaffee pro Woche als die ASS. Energy-Drinks werden in keiner der Probandengruppen regelmäßig konsumiert. Die älteren Frauen mit guter Schlafqualität trinken mit 4,5 Gläsern pro Woche mehr Alkohol als jüngere Probandinnen und ältere schlechte Schläferinnen. Die Menge des Kaffee- und Alkoholkonsums unterschied sich deutlich zwischen einzelnen Probandinnen, was an den hohen Standardabweichungen zu erkennen ist.

Tab. 17: Konsum anregender Getränke und Alkohol.

Gruppe	N	Kaffee/Tee mit Tein (Tassen/Woche)		Energy-Drinks (Anzahl/Woche)		Alkohol (Gläser/Woche)	
		M	SD	M	SD	M	SD
Jüngere Frauen	13	5,00	4,64	0,08	0,28	1,50	1,37
Ältere Frauen	23	22,94	13,55	0	0	2,59	2,84
Ältere gute Schläferinnen	9	24,06	7,31	0	0	4,50	3,34
Ältere schlechte Schläferinnen	14	22,21	16,62	0	0	1,36	1,61

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Ergebnisse

Kalte Hände und Füße vor dem Schlafengehen

Die Probandinnen sollten angeben, ob sie vor dem Schlafengehen oft kalte Hände, Füße oder beides haben, um Hinweise auf Probleme bei der Vasodilatation zu erhalten, die mit längeren Einschlafzeiten in Verbindung gebracht wird. Ein Anteil von 46 % der jüngeren Probandinnen hat oft kalte Füße, der Rest hat keine Beschwerden (Tab. 18). Von den älteren Probandinnen haben 57 % kalte Füße oder kalte Hände und Füße vor dem Schlafengehen. Bei den AGS haben 44 % kalte Füße vor dem Zubettgehen, bei den ASS haben mit 64 % anteilig mehr Frauen kalte Füße oder kalte Hände und Füße als bei den AGS.

Tab. 18: Kalte Extremitäten vor dem Schlafengehen.

Gruppe	N	nein	kalte Hände	kalte Füße	kalte Hände und Füße
Jüngere Frauen	13	7	0	6	0
Ältere Frauen	23	10	0	11	2
Ältere gute Schläferinnen	9	5	0	4	0
Ältere schlechte Schläferinnen	14	5	0	7	2

N = Probandenzahl

6.2.4 Morgen- und Abendpräferenz

Wie bereits in Kapitel 5.2.3 erwähnt, wird inzwischen in Frage gestellt, ob der Chronotyp von jüngeren und älteren Menschen nach den gleichen Kriterien beurteilt und direkt miteinander verglichen werden kann. Aus diesem Grunde werden den Probandinnen in dieser Studie keine Chronotypen zugeordnet, sondern die im D-MEQ erreichten Punktezahlen und die aus dem MCTQ errechnete Schlafmitte angegeben. Je höhere Punktezahlen im D-MEQ erreicht wurden und je früher die Schlafmitte lag, desto mehr tendierte eine Probandin in Richtung Morgenpräferenz (*Morningness*). Nebeneinander gestellt werden für alle Probandengruppen der Punktwert für Morgen- und Abendpräferenz (*Morningness-Eveningness-Score*) aus dem D-MEQ und die Schlafmitte aus dem MCTQ, um eine Neigung in Richtung Morgen- oder Abendpräferenz erkennen zu können (Tab. 19, Abb. 36).

Ergebnisse

Tab. 19: D-MEQ-Punktwert und Schlafmitte aus dem MCTQ als Indikatoren für Morgen- und Abendpräferenz (Morningness-Eveningness).

Gruppe	N	D-MEQ-Punkte		Schlafmitte an freien Tagen (MCTQ) (Uhrzeit)	
		M	SD	M	SD
Jüngere Frauen	13	48,61	7,28	04:28	44,78
Ältere Frauen	23	61,12	9,48	03:05	35,00
Ältere gute Schläferinnen	9	59,52	9,98	03:09	34,94
Ältere schlechte Schläferinnen	14	62,23	9,36	03:02	36,06

D-MEQ = Deutsche Version des Morningness-Eveningness Questionnaire; MCTQ = Munich Chronotype Questionnaire

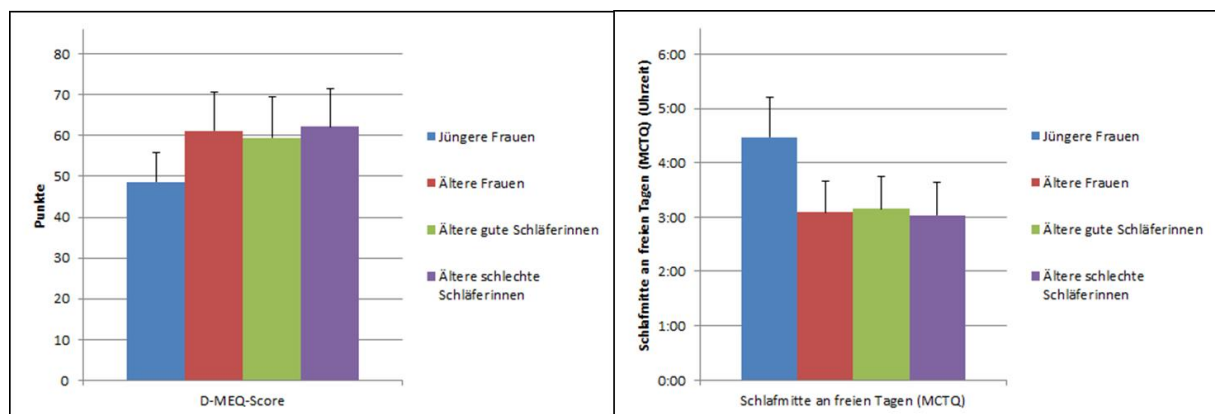


Abb. 36: D-MEQ-Punkte und Schlafmitte (MCTQ) von 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen sowie von neun älteren guten und 14 älteren schlechten Schläferinnen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Ältere Probandinnen erreichen beim D-MEQ einen höheren Punktwert als die jüngeren Frauen und tendieren damit mehr in Richtung Morgenpräferenz als diese. Die älteren Probandinnen haben im Vergleich mit den jüngeren Probandinnen außerdem eine frühere Schlafmitte an freien Tagen. Zwischen den AGS und ASS gibt es nur geringe Unterschiede bei D-MEQ-Punktzahl und Schlafmitte. Dabei haben die AGS mit 59,52 im Mittel eine etwas geringere Punktzahl als die ASS mit 62,23 Punkten. Die Schlafmitte der AGS liegt dagegen etwas später als die der ASS.

6.2.5 Schlafqualität und Tagesschläfrigkeit

Die subjektive Schlafqualität der Probandinnen wurde mit dem PSQI-Fragebogen ermittelt. Ältere Probandinnen wurden nach diesem Kriterium ausgewählt mit dem Ziel, dass gute und schlechte Schläferinnen in etwa gleicher Häufigkeit vorliegen. In Tab. 20 sind die Unterschiede zwischen den Probandengruppen dargestellt.

Ergebnisse

Tab. 20: Subjektive Schlafqualität und mit dem PSQI-Fragebogen ermittelte Schlafparameter der Probandinnen sowie die durch den ESS-Fragebogen ermittelte Tagesschläfrigkeit.

Variable	Jüngere Probandinnen (N = 13)		Ältere Probandinnen (N = 23)		Ältere gute Schläferinnen (N = 9)		Ältere schlechte Schläferinnen (N = 14)	
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
Schlafqualität (Punkte)	3,31	1,11	6,17	3,06	3,22	1,56	8,07	2,09
Subjektive Schlafqualität (Punkte)	0,85	0,38	1,22	0,74	0,78	0,44	1,5	0,76
Zubettgehzeit (Uhrzeit)	23:15	56,13	23:04	36,22	22:54	35,50	23:10	36,47
Einschlafdauer (min)	17,62	19,79	20,54	17,71	13,28	7,61	25,21	20,86
Schlafbeginn (Uhrzeit)	23:32	54,35	23:24	40,84	23:07	31,96	23:35	43,04
Aufstehzeit (Uhrzeit)	07:59	49,45	06:59	63,94	07:28	29,48	06:40	73,55
Schlafdauer (min)	475,62	46,87	376,04	72,84	444,33	41,85	332,14	50,96
Schlafmitte (Uhrzeit)	03:45	42,21	03:11	40,39	03:17	24,01	03:08	48,64
Schlafeffizienz (%)	96,53	3,78	94,69	4,73	97,12	1,61	93,12	5,43
Tagesschläfrigkeit (Punkte)	5,77	3,68	7,04	3,95	6,56	3,81	7,36	4,14

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Die älteren Probandinnen erreichten mit 6,17 Punkten eine höhere Punktzahl beim PSQI-Fragebogen und weisen damit eine schlechtere Schlafqualität auf als die jüngeren Probandinnen. Die mittlere Punktzahl bei den älteren Frauen liegt nur geringfügig oberhalb der Grenze zwischen guter und schlechter Schlafqualität. Die als schlechte Schläferinnen eingestuften älteren Probandinnen hatten eine signifikant höhere PSQI-Punktzahl als die jüngeren Probandinnen ($t = -7,303$, $p < 0,001$) und die AGS ($u = 0,000$, $p < 0,001$), d. h. eine signifikant schlechtere subjektive Schlafqualität als die beiden anderen Gruppen.

Im PSQI-Fragebogen sollten die Probandinnen die Qualität ihres Schlafes in den letzten vier Wochen vor Studienbeginn beurteilen. Ein Punktwert von 1 entspricht einer als „sehr gut“ eingeschätzten Schlafqualität. Im Mittel lagen die jüngeren Frauen hier bei $0,85 \pm 0,38$ Punkten, die älteren Probandinnen bei $1,22 \pm 0,74$ Punkten, die AGS bei $0,78 \pm 0,44$ Punkten und die ASS bei $1,5 \pm 0,76$ Punkten. Demnach schätzten die AGS ihren Schlaf als am besten ein, noch vor den jüngeren Probandinnen mit guter Schlafqualität. Die ASS schätzen ihren Schlaf schlechter ein als die AGS, mit einem mittleren Punktwert von $1,5 \pm 0,76$ Punkten liegt ihre Bewertung jedoch noch zwischen „sehr gut“ und „ziemlich gut“.

Laut PSQI gehen ältere Frauen früher zu Bett als jüngere Frauen und die AGS früher als die ASS. Die Unterschiede sind mit einer Größenordnung von 20 min jedoch gering. Von allen Gruppen haben die AGS die kürzeste Einschlafzeit, am längsten brauchen die ASS zum Einschlafen. Die AGS haben den frühesten Schlafbeginn, die ASS den spätesten. Die Unterschiede bewegen sich in einem Bereich

Ergebnisse

von nur etwa 30 min. Ältere Probandinnen geben an, früher aufzustehen und kürzer zu schlafen als jüngere Probandinnen. ASS stehen wiederum früher auf und schlafen weniger als die AGS. Wird aus den mit dem PSQI erhobenen Werten die Schlafmitte berechnet, liegt diese bei den jüngeren Probandinnen am spätesten und bei den ASS am frühesten. Bezüglich der Schlafeffizienz gibt es nur minimale Unterschiede zwischen den Probandengruppen. In jeder Gruppe wird ein mittlerer Wert von über 93 % erreicht.

Mit im Mittel 7,04 Punkten im ESS-Fragebogen weisen die älteren Probandinnen eine höhere Tagesschläfrigkeit auf als die jüngeren Probandinnen mit 5,77 Punkten (Tab. 20). Beim Vergleich zwischen AGS und ASS zeigen die ASS eine höhere Tagesschläfrigkeit.

6.2.6 Körperlicher Aktivitätsgrad

Der mit dem Freiburger Fragebogen erfasste und in metabolischen Äquivalenten (METs) ausgedrückte körperliche Aktivitätsgrad zeigt größere Unterschiede zwischen den Probandengruppen, jedoch auch hohe Standardabweichungen (Tab. 21, Abb. 37). Mit 64,35 METs/Woche waren die jüngeren Probandinnen in der Untersuchungswoche am wenigsten aktiv. In dieser Gruppe findet sich auch die höchste Standardabweichung, was auf sehr heterogene Angaben zur wöchentlichen Aktivität hindeutet. Mit 95,94 METs/Woche weisen die älteren Frauen einen höheren Aktivitätswert auf. In der Gruppe der älteren Probandinnen haben die AGS einen deutlich niedrigeren Aktivitätswert als die ASS.

Tab. 21: Mittlere körperliche Aktivität der Probandinnen bezogen auf eine Woche (Freiburger Fragebogen).

Gruppe	N	Körperliche Aktivität (METs)	
		M	SD
Jüngere Frauen	13	64,35	60,54
Ältere Frauen	20	95,94	49,55
Ältere gute Schläfer	8	76,93	40,49
Ältere schlechte Schläfer	12	108,62	52,53

N = Probandenzahl; METs = Metabolische Äquivalente (*metabolic equivalents*)

Ergebnisse

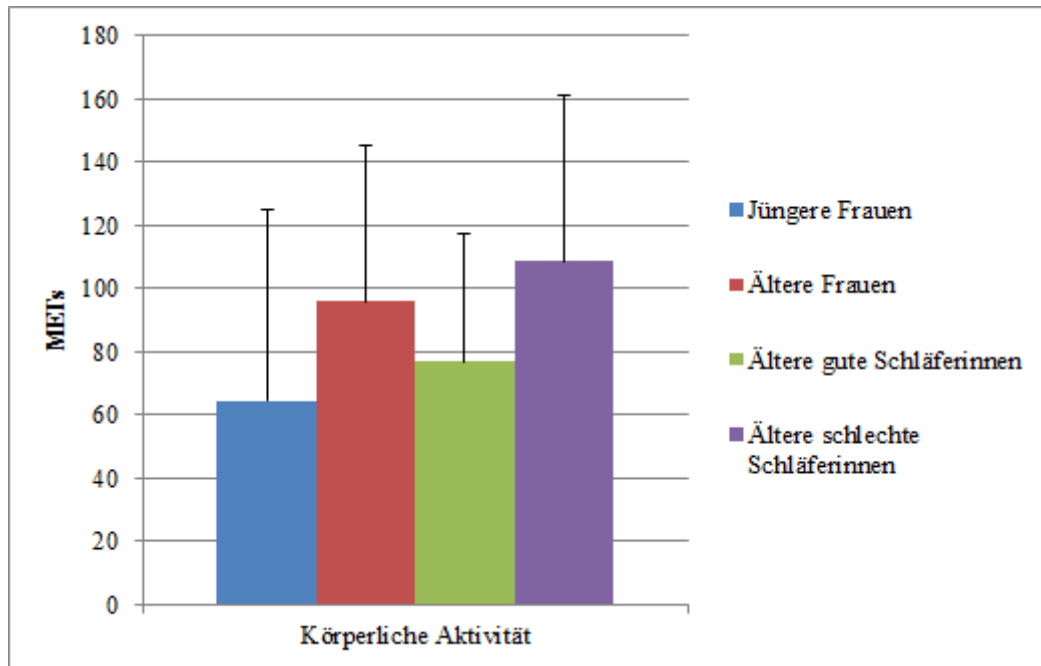


Abb. 37: Körperliche Aktivität der Probandinnen von 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen sowie von neun älteren guten und 14 älteren schlechten Schläferinnen bezogen auf eine Woche. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Während der Untersuchungswoche wurde die körperliche Aktivität der Probandinnen objektiv durch die Actiwatch2 gemessen. Die Aktivität wird in Bewegungseinheiten angegeben.

In Tab. 22 sind die gemittelten Aktivitätswerte der vier Probandengruppen über die gesamte Untersuchungswoche unterteilt nach aktiven Phasen und Ruhephasen (Nachtschlaf) angegeben. Die jüngeren Probandinnen haben während der Untersuchungswoche durchgehend niedrigere Aktivitätswerte als die älteren Probandinnen. Sie zeigen für ihre aktiven Phasen und die Ruhephasen einen geringeren Gesamtaktivitätswert, eine geringere durchschnittliche Aktivität und einen geringeren prozentualen Bewegungsanteil. Vergleicht man die Schlafqualitätsgruppen der älteren Probandinnen, so stellt man fest, dass hier die AGS durchgehend höhere Aktivitätswerte aufweisen als die ASS. Auch die ASS haben jedoch tendenziell höhere Werte als die jüngere Probandengruppe (Tab. 22).

Ergebnisse

Tab. 22: Mittelwerte der mit der Actiwatch2 gemessenen körperlichen Aktivität während der Untersuchungswoche.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
AW2 RI Gesamtakt. Woche	13	10936	4474	23	11610	4772	9	13479	6230	14	10409	3268
AW2 RI durchschn. Akt. Woche	13	21	8	23	24	9	9	27	10	14	22	7
AW2 RI % Bewegung Woche	13	15	4	23	18	6	9	19	6	14	17	5
AW2 AI Gesamtakt. Woche	13	243661	62894	23	268083	98904	9	297924	116480	14	248900	8481
AW2 AI durchschn. Akt. Woche	13	316	41	23	352	91	9	393	93	14	326	82
AW2 AI % Bewegung Woche	13	91	3	23	92	5	9	94	3	14	91	5

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, AI = Aktivitätsintervall, RI = Ruheintervall, Akt. = Aktivität, AW2 = Actiwatch2

Die körperliche Aktivität wurde noch einmal gesondert für den sechsten Untersuchungstag analysiert. Dies hatte den Grund, dass am Abend dieses Tages die Cortisol-Konzentration gemessen wurde, auf die die körperliche Aktivität Einfluss haben könnte. In der betreffenden Untersuchungsnacht wurde auch die Nachtschlafstruktur mittels EEG aufgezeichnet. Auch auf den Nachtschlaf kann die körperliche Aktivität am Tag einen Einfluss ausüben. Am sechsten Untersuchungstag zeigt sich das gleiche Muster wie in der Untersuchungswoche (Tab. 23). Die jüngeren Probandinnen haben niedrigere Werte für die Gesamtaktivität, die durchschnittliche Aktivität und den prozentualen Bewegungsanteil als die älteren Frauen. Beim Vergleich der Schlafqualitätsgruppen zeigen wiederum die AGS höhere Werte als die ASS.

Ergebnisse

Tab. 23: Mittelwerte der mit der Actiwatch2 gemessenen körperlichen Aktivität am sechsten Untersuchungstag.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
AW2 RI Gesamtakt. Tag 6	13	11531	5627	12	13088	3898	5	14110	3596	7	12358	4212
AW2 RI durchschn. Akt. Tag 6	13	23	8	12	28	7	5	30	5	7	26	8
AW2 RI % Bewegung Tag 6	13	16	6	12	19	5	5	18	4	7	19	5
AW2 AI Gesamtakt. Tag 6	13	147507	36436	12	185479	67715	5	194431	82293	7	179086	61458
AW2 AI durchschn. Akt. Tag 6	13	328	49	12	408	106	5	456	119	7	373	88
AW2 AI % Bewegung Tag 6	13	91	5	12	94	4	5	97	3	7	93	5

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, AI = Aktivitätsintervall, RI = Ruheintervall, Akt. = Aktivität, AW2 = Actiwatch2

6.2.7 Zeitraum im Freien

In einem Tagesprotokoll gaben die Probandinnen Auskunft über die täglich im Freien (bei Tageslicht) verbrachte Zeit während der Untersuchungswoche (Tab. 24). Ältere Probandinnen verbrachten mit im Mittel 99,2 min fast doppelt so viel Zeit im Freien wie die jüngeren Probandinnen mit 165,8 min. Zwischen den AGS und ASS gibt es kaum einen Unterschied bezüglich des Mittelwerts dieser Variable. AGS zeigen jedoch eine etwa doppelt so hohe Standardabweichung wie die ASS.

Tab. 24: Im Mittel von Probandinnen während der Untersuchungswoche im Freien verbrachte Zeit.

Gruppe	Zeitraum im Freien (min)		
	N	M	SD
Jüngere Probandinnen	13	99,2	61,0
Ältere Probandinnen	23	165,8	78,5
Ältere gute Schläferinnen	9	167,0	108,3
Ältere schlechte Schläferinnen	14	165,1	56,6

N = Probandenanzahl

6.2.8 Allgemeine und Lebensstil-bezogene Merkmale in der Untersuchungswoche

Im DGSM-Schlaftagebuch und im Tagesprotokoll machten die Studienteilnehmerinnen Angaben zu ihrem Befinden am Abend und am Morgen und bestimmten Verhaltensweisen während der Untersuchungswoche. Eine Übersicht zu diesen Angaben ist in Tab. 25 gegeben.

Tab. 25: Wochenmittelwerte zum Befinden und Verhalten der Probandinnen während der Untersuchungswoche.

Variable	Jüngere Frauen (N = 13)		Ältere Frauen (N = 23) ^a		Ältere gute Schläfer (N = 9)		Ältere schlechte Schläfer (N = 14) ^b	
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
Befinden am Morgen (Punkte)	4,43	0,82	4,20	0,72	4,67	0,54	3,91	0,68
Befinden am Abend (Punkte)	4,84	0,50	4,60	0,67	5,03	0,37	4,32	0,67
Erholsamkeit des Schlafes (Punkte)	2,49	0,40	2,48	0,51	2,11	0,39	2,72	0,44
Leistungsfähigkeit am Tag (Punkte)	2,75	0,66	2,25	0,67	1,89	0,64	2,49	0,60
Erschöpft am Tag (Punkte)	0,87	0,39	0,52	0,42	0,29	0,29	0,66	0,43
Nickerchen (min) (Tagesprotokoll)	12,55	22,22	9,53	11,24	8,31	10,26	10,38	12,21
Alkoholkonsum in letzten vier Stunden vor Zubettgehenzeit (Gläser)	0,16	0,14	0,24	0,30	0,41	0,42	0,12	0,11

a. Nickerchen (min) (Tagesprotokoll) (N = 22); Sport (min) (N = 21); Schläfrig geworden (min) (N = 20)

b. Nickerchen (min) (Tagesprotokoll) (N = 13); Sport (min) (N = 12); Schläfrig geworden (min) (N = 11)

Abendliches und morgendliches Befinden wurden auf Skalen von 1 bis 6 bewertet. Für den Morgen bedeutet eine Wertung von 1 „bedrückt“ und von 6 „unbeschwert“. Für den Abend bedeutet eine Punktezahl von 1 „angespannt“ und von 6 „entspannt“. Jüngere Frauen gaben für den Morgen an, sich weniger bedrückt zu fühlen als die älteren Probandinnen. Abends fühlten sie sich entspannter. Die ASS fühlten sich morgens bedrückter und abends angespannter als AGS.

Die Erholsamkeit des Schlafes wurde auf einer fünfstufigen Skala bewertet, von 1 für „sehr erholsam“ bis 5 für „gar nicht erholsam“. Die Leistungsfähigkeit über den Tag hinweg wurde auf einer sechsstufigen Skala geschätzt, auf der 1 „gut“ bedeutet, 6 hingegen „schlecht“. Auf einer vierstufigen Skala wurde zudem bewertet, ob sich die Probandinnen abends erschöpft fühlten und wenn ja, wie erschöpft. Hier steht eine Punktezahl von 0 für „nein“, von 3 für „sehr“. Jüngere Frauen empfanden ihren Schlaf mit 2,49 Punkten als genauso erholsam wie die älteren Probandinnen (2,48 Punkte). Sie fühlten sich allerdings weniger leistungsfähig und abends erschöpfter als die älteren Probandinnen.

Ergebnisse

Ältere Frauen mit guter Schlafqualität empfanden ihren Schlaf als erholsamer, fühlten sich leistungsfähiger und abends weniger erschöpft als solche mit schlechter Schlafqualität.

Während der Untersuchungswoche hielten die jüngeren Frauen mehr bzw. längere Nickerchen als die älteren. Die ASS schliefen tagsüber geringfügig länger als die AGS. Die Unterschiede zwischen allen Gruppen bewegen sich jedoch in einem Bereich von unter 10 min und die Standardabweichungen sind für alle Gruppen sehr hoch.

Während der Untersuchungswoche konsumierten die älteren Probandinnen vor dem Zubettgehen im Mittel mit 0,24 Gläsern mehr Alkohol als die jüngeren Probandinnen und die AGS mit 0,41 Gläsern mehr als ASS mit 0,12 Gläsern. In keiner der Gruppen wurde in den letzten vier Stunden vor dem Zubettgehen mehr als ein Glas Alkohol konsumiert.

6.3 Gruppenvergleiche nach Uhrengen-Expression, Cortisol-Konzentration und peripherer Hauttemperatur

6.3.1 Expression von Uhrengen

Ein vollständiges Expressionsprofil für alle untersuchten Uhrengene konnte für acht jüngere Probandinnen und 14 ältere Probandinnen erstellt werden. Im Folgenden wird die ermittelte relative Expression der drei untersuchten Zielgene angegeben. Dabei fließen nur solche Probandinnen in die Analyse mit ein, für die für jedes Gen ein vollständiges Profil vorlag, sodass zu allen vier Messzeitpunkten die gleiche Anzahl an Probandinnen analysiert wurde. Zunächst soll ermittelt werden, ob die gemessene Expression signifikant über den Tag variiert, was auf eine Schwankung der Uhrengen-Expression innerhalb von 24 Stunden und damit auf eine circadiane Rhythmik hindeuten würde. Daraufhin wird die Expression der drei Zielgene zwischen jüngeren und älteren Probandinnen verglichen und mögliche Unterschiede auf Signifikanz geprüft.

Abschließend werden die Expressionswerte der Uhrengene innerhalb der einzelnen Gruppen zu den vier Messzeitpunkten verglichen, um die Hoch- und Herunterregulierung der Uhrengen-Expression zu bestimmten Tageszeiten zu erkennen.

In Tab. 26 findet sich eine Übersicht zu den relativen Expressionswerten der drei untersuchten Uhrengene bei jüngeren und älteren Probandinnen zu den vier Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr.

Tab. 26: Übersicht über die relative Expression der drei Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* bei jüngeren und älteren Probandinnen.

Ratio	Uhrzeit	Jüngere Probandinnen (N = 8)		Ältere Probandinnen (N = 14)	
		M	SD	M	SD
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	0,71	0,35	1,05	0,70
	12:00	1,61	0,71	1,96	1,03
	20:00	2,33	1,00	2,15	1,20
	24:00	1,32	0,58	1,41	0,64
<i>hCRY1/h36B4</i>	08:00	0,92	0,67	0,99	0,63
	12:00	0,81	0,37	0,74	0,24
	20:00	0,69	0,21	0,66	0,41
	24:00	0,62	0,17	0,96	1,37
<i>hPER1/h36B4</i>	08:00	0,80	0,28	1,71	1,02
	12:00	1,09	0,36	1,42	0,64
	20:00	1,23	0,50	1,42	0,75
	24:00	1,30	0,40	1,80	0,89

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Ergebnisse

Tab. 27 gibt eine Übersicht zu den relativen Expressionswerten der drei untersuchten Uhrengene bei AGS und ASS zu den vier Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr.

Tab. 27: Übersicht über die relative Expression der drei Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* bei älteren guten und schlechten Schläferinnen.

Ratio	Uhrzeit	Ältere gute Schläferinnen (N = 5)		Ältere schlechte Schläferinnen (N = 9)	
		M	SD	M	SD
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	1,29	0,89	0,91	0,58
	12:00	1,63	0,83	2,15	1,13
	20:00	2,08	1,46	2,18	1,12
	24:00	1,30	0,60	1,48	0,69
<i>hCRY1/h36B4</i>	08:00	0,83	0,42	1,08	0,72
	12:00	0,73	0,19	0,74	0,28
	20:00	0,69	0,54	0,65	0,36
	24:00	0,63	0,17	1,14	1,72
<i>hPER1/h36B4</i>	08:00	1,47	1,44	1,85	0,76
	12:00	1,29	0,62	1,48	0,67
	20:00	1,28	0,95	1,49	0,66
	24:00	1,52	0,26	1,96	1,08

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Prüfung auf Schwankungen der Genexpression innerhalb eines Tages

Die mittlere Expression mit Standardabweichung zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr wurde mit dem Friedman-Test separat für jüngere und ältere Probandinnen auf Unterschiede überprüft (Tab. 28). Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,050$ bedeutet, dass mindestens einer der vier über den Tag gemessenen Werte signifikant von einer Linie abweicht. Das bedeutet, dass die Uhrengen-Expression sich mindestens zwischen zwei Messpunkten signifikant unterscheidet und deshalb angenommen werden kann, dass es Expressionsschwankungen gibt.

Tab. 28: Prüfung auf Genexpressionsschwankungen bei jüngeren und älteren Probandinnen mit dem Friedman-Test.

Uhrengen	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen		
	N	χ^2	p	N	χ^2	p
<i>hBMAL1</i>	8	19,63	< 0,001	14	19,49	< 0,001
<i>hCRY1</i>	8	1,35	0,717	14	5,40	0,145
<i>hPER1</i>	8	10,95	0,012	14	3,17	0,366

N = Probandenzahl; χ^2 = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

Ergebnisse

Für das Gen *hBMAL1* gibt es in beiden Probandengruppen signifikante Unterschiede (jüngere Frauen: $p < 0,001$; ältere Frauen: $p = < 0,001$). Die Expression für *hCRY1* zeigt keine signifikanten Unterschiede, für *hPER1* sind diese nur bei der Gruppe der jüngeren Probandinnen signifikant ($p = 0,012$).

Auch für die Gruppen der **älteren guten Schläferinnen (AGS) und schlechten Schläferinnen (ASS)** wurde ein Friedman-Test durchgeführt, um zu prüfen, ob signifikante Unterschiede zwischen der Expression zu den vier Messzeitpunkten vorliegen. Hierbei gab es nur in der Gruppe der ASS für *hBMAL1* einen signifikanten Unterschied ($p = 0,001$) (Tab. 29).

Tab. 29: Prüfung auf Genexpressionsschwankungen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen mit dem Friedman-Test.

Uhrenge	Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	χ^2	p	N	χ^2	p
<i>hBMAL1</i>	5	3,74	0,292	9	16,73	0,001
<i>hCRY1</i>	5	1,56	0,668	9	5,40	0,145
<i>hPER1</i>	5	2,28	0,516	9	2,47	0,481

N = Probandenzahl; χ^2 = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

Vergleich der Genexpression um 08:00, 12:00, 20:00 und 24:00 Uhr zwischen den Probandengruppen *Expression des Uhrengens hBMAL1*

Bei beiden Altersgruppen liegt das Expressionsminimum um 08:00 Uhr morgens, die maximale Expression um 20:00 Uhr abends (Tab. 26, Abb. 38). Die gemessene Zielgenexpression ist am Tag und gegen Abend höher als am Morgen und in der Nacht.

Die *hBMAL1*-Expression ist bei den jüngeren Frauen um 08:00 Uhr morgens am niedrigsten, steigt dann bis 12:00 Uhr an und erreicht um 20:00 Uhr ein Maximum, um zu 24:00 Uhr hin wieder abzufallen. Bei den älteren Probandinnen zeigt sich der gleiche Verlauf über die vier Messzeitpunkte hinweg. Um 08:00 Uhr, 12:00 Uhr und 24:00 Uhr zeigen die älteren Probandinnen eine etwas höhere Expression als die jüngeren Probandinnen, um 20:00 Uhr ist das Verhältnis umgekehrt.

Ergebnisse

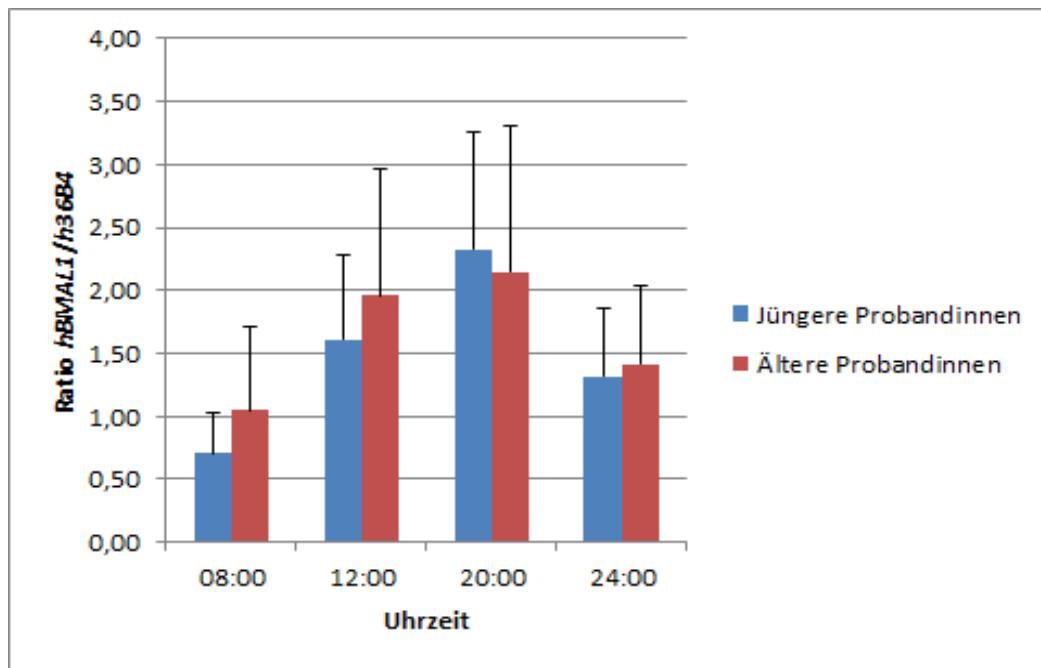


Abb. 38: Vergleich der Expression des Uhrgens *hBMAL1* zu vier Messzeitpunkten bei acht jüngeren und 14 älteren Probandinnen. Dargestellt ist die relative Expression von *hBMAL1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Die beobachteten Unterschiede zwischen den Expressionswerten der beiden Gruppen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant (Abb. 38, Tab. 30).

Tab. 30: Gruppenvergleich der Expressionswerte des Uhrgens *hBMAL1* von acht jüngeren Probandinnen und 14 älteren Probandinnen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	35,00	0,152
	12:00	47,00	0,539
	20:00	49,00	0,633
	24:00	54,00	0,891

u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Die maximale *hBMAL1*-Expression liegt bei den älteren guten und schlechten Schläferinnen um 20:00 Uhr abends und die niedrigste um 08:00 Uhr morgens. Bei beiden Gruppen finden sich für die Genexpression um 12:00 Uhr und 20:00 Uhr höhere Werte als um 8 und 24:00 Uhr (Tab. 27, Abb. 39).

Ergebnisse

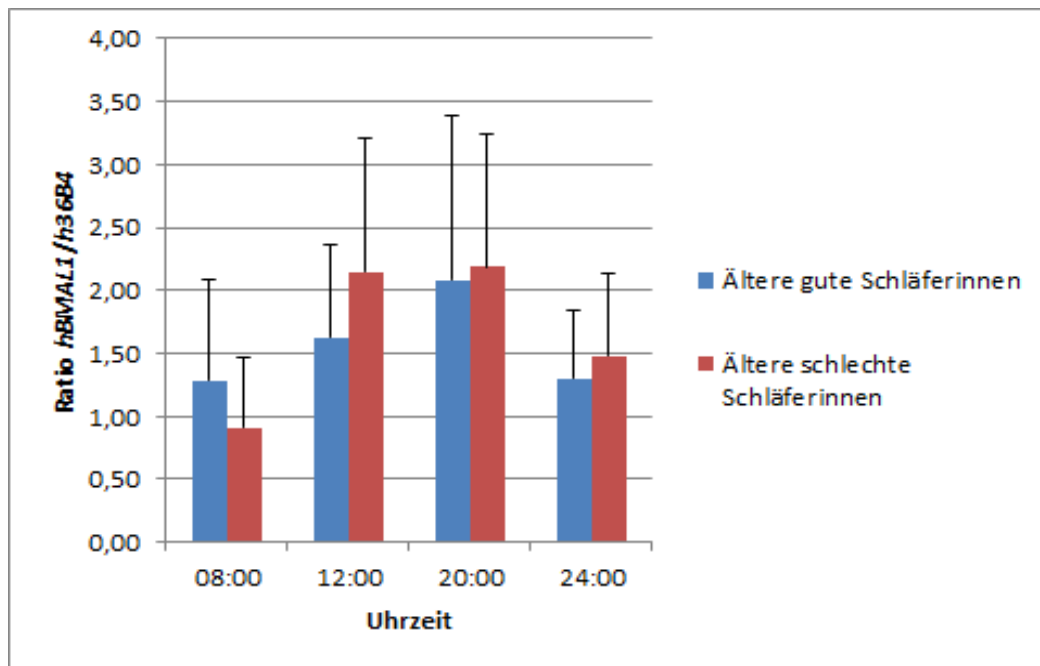


Abb. 39: Vergleich der Expression des Uhrengens *hBMAL1* zu vier Messzeitpunkten bei fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen. Dargestellt ist die mittlere relative Expression von *hBMAL1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Die beobachteten Unterschiede zwischen der Expression der AGS und ASS sind zu keinem Zeitpunkt signifikant (Tab. 31).

Tab. 31: Gruppenvergleich der Expression des Uhrengens *hBMAL1* von fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	15,00	0,317
	12:00	15,00	0,317
	20:00	21,00	0,841
	24:00	18,00	0,549

u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Gesonderte Betrachtung zu *hBMAL1*

Um den Verlauf der Uhrengen-Expression für alle drei Gene vergleichen zu können, flossen nur Probandinnen in die Auswertung mit ein, für die zu jedem Messzeitpunkt ein Expressionswert ermittelt werden konnte, sodass für jeden Zeitpunkt die gleiche Anzahl an Werten vorlag.

Wird das Uhrengen *hBMAL1* getrennt von den beiden anderen untersuchten Genen betrachtet, fließen einige Probandinnen mehr in die Auswertung mit ein, da der Erfolg der Expressionsanalyse für

Ergebnisse

hBMAL1 höher war als bei *hCRY1* und *hPER1*. Dieses Gen wird deshalb noch einmal gesondert, unter Einbeziehung dieser weiteren Probandinnen, betrachtet. Die daraus resultierenden Expressionswerte sind in Tab. 32 sowie der zugehörigen Abb. 40 dargestellt.

Tab. 32: Relative Expression des Uhrengens *hBMAL1* bei jüngeren und älteren Probandinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.

Ratio	Uhrzeit	Jüngere Probandinnen (N = 11)		Ältere Probandinnen (N = 16)	
		M	SD	M	SD
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	0,66	0,38	1,00	0,66
	12:00	1,68	0,77	1,87	1,04
	20:00	2,39	1,11	2,15	1,14
	24:00	1,29	0,60	2,07	2,81

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

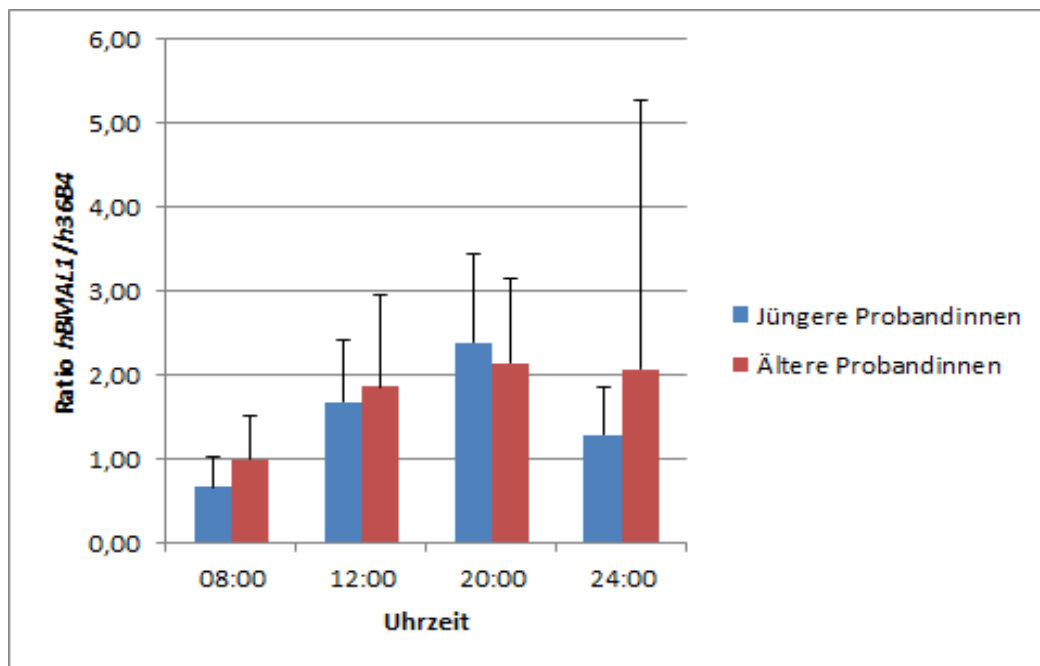


Abb. 40: Vergleich der Expression des Uhrengens *hBMAL1* zu vier Messzeitpunkten bei 11 jüngeren und 16 älteren Probandinnen unter Einbeziehung von Extremwerten. Dargestellt ist die mittlere relative Expression von *hBMAL1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Mit den zusätzlich eingeflossenen Probandinnen verändert sich das Bild der Uhrengen-Expression nur leicht. Der Verlauf der Uhrengen-Expression und die Lage des kleinsten und des größten Wertes bleiben die gleichen wie bei der Gruppe mit geringerer Probandenanzahl. Eine Veränderung ist um 24:00 Uhr zu beobachten. Hier kommt es zu einem starken Anstieg der Genexpression bei den älteren Probandinnen verglichen mit den ursprünglichen Werten für *hBMAL1*. Die Standardabweichung ist

Ergebnisse

mit 2,81 sehr hoch. Die hohe Genexpression sowie die hohe Standardabweichung werden vor allem durch einen einzelnen Extremwert verursacht. Hierbei handelt es sich um eine relative Expression von 12,37 bei einer älteren schlechten Schläferin. Für diesen Wert wurde geprüft, ob er durch einen Mess- oder Rechenfehler entstanden ist. Dies war nicht der Fall, sodass er als Extremwert in die Auswertung der Daten mit einfließt.

Beim Vergleich der *hBMAL1*-Expression von jüngeren und älteren Probandinnen mit dem t-Test für unabhängige Stichproben ergaben sich für keinen der vier Messzeitpunkte signifikante Unterschiede ($p > 0,050$) (Tab. 33).

Tab. 33: Gruppenvergleich der Expression des Uhrengens *hBMAL1* von 11 jüngeren Probandinnen und 16 älteren Probandinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.

Ratio	Uhrzeit	t-Test	
		t	p
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	1,48	0,150
	12:00	0,50	0,625
	20:00	-0,54	0,592
	24:00	0,91	0,372

t = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Bei den AGS und ASS verändern sich der Verlauf der Genexpression und das Verhältnis der Expressionswerte zwischen den Gruppen zu den Zeitpunkten 8 Uhr, 12:00 Uhr und 20:00 Uhr nicht (Tab. 34, Abb. 41). Um 24:00 Uhr ist ein starker Anstieg der *hBMAL1*-Expression bei den älteren schlechten Schläferinnen mit sehr hoher Standardabweichung zu beobachten, der auch den Anstieg dieses Wertes für die Gruppe der älteren Probandinnen als Ganzes begründet. Die höchste *hBMAL1*-Expression liegt bei den älteren schlechten Schläferinnen nun nicht mehr bei 20:00 Uhr, sondern bei 24:00 Uhr.

Tab. 34: Relative Expression des Uhrengens *hBMAL1* bei älteren guten und schlechten Schläferinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.

Ratio	Uhrzeit	Ältere gute Schläferinnen (N = 5)		Ältere schlechte Schläferinnen (N = 11)	
		M	SD	M	SD
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	1,29	0,89	0,86	0,54
	12:00	1,63	0,83	1,98	1,14
	20:00	2,08	1,46	2,18	1,05
	24:00	1,30	0,60	2,43	3,36

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Ergebnisse

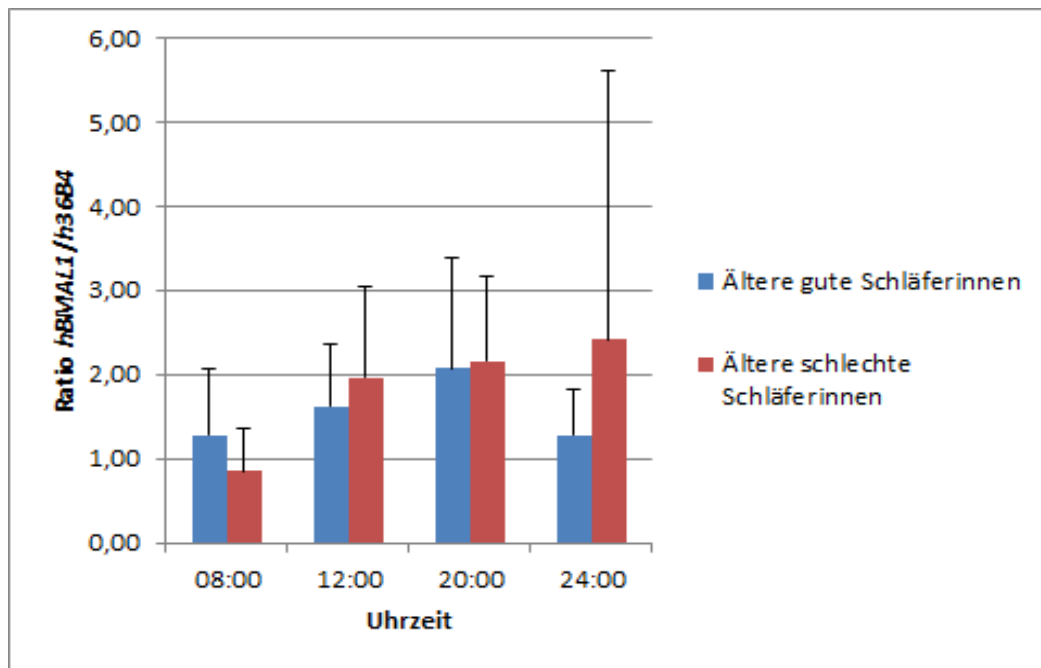


Abb. 41: Vergleich der Expression des Uhrgens *hBMAL1* zu vier Messzeitpunkten bei den fünf älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen mit für dieses Gen vollständigem Expressionsprofil. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Beim Vergleich der Genexpression zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede ($p > 0,050$) (Tab. 35).

Tab. 35: Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens *hBMAL1* von 5 älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen mit vollständigem Expressionsprofil für dieses Gen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hBMAL1/h36B4</i>	08:00	17,00	0,234
	12:00	22,00	0,533
	20:00	26,00	0,865
	24:00	21,00	0,462

u = Prüfgröße, p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Expression des Uhrgens *hCRY1*

Bei den jüngeren Probandinnen ist die *hCRY1*-Expression um 08:00 Uhr morgens am höchsten und nimmt dann bis 24:00 Uhr kontinuierlich ab (Tab. 26, Abb. 42). Bei den älteren Probandinnen ist die Expression ebenfalls zum Zeitpunkt 08:00 Uhr am höchsten, fällt dann zu 20:00 Uhr hin ab und steigt bis 24:00 Uhr wieder an. Beide Gruppen zeigen somit einen Abfall der Genexpression vom Morgen bis zum Abend (20 Uhr) hin. Dieser Abfall setzt sich bei den jüngeren Probandinnen bis 24:00 Uhr fort, während die Expression bei den älteren Probandinnen zur Nacht hin wieder ansteigt, bis sie fast

Ergebnisse

die gleiche Höhe wie um 08:00 Uhr morgens erreicht hat. Die *hCRY1*-Expression um 24:00 Uhr zeigt bei älteren Probandinnen eine sehr hohe Standardabweichung.

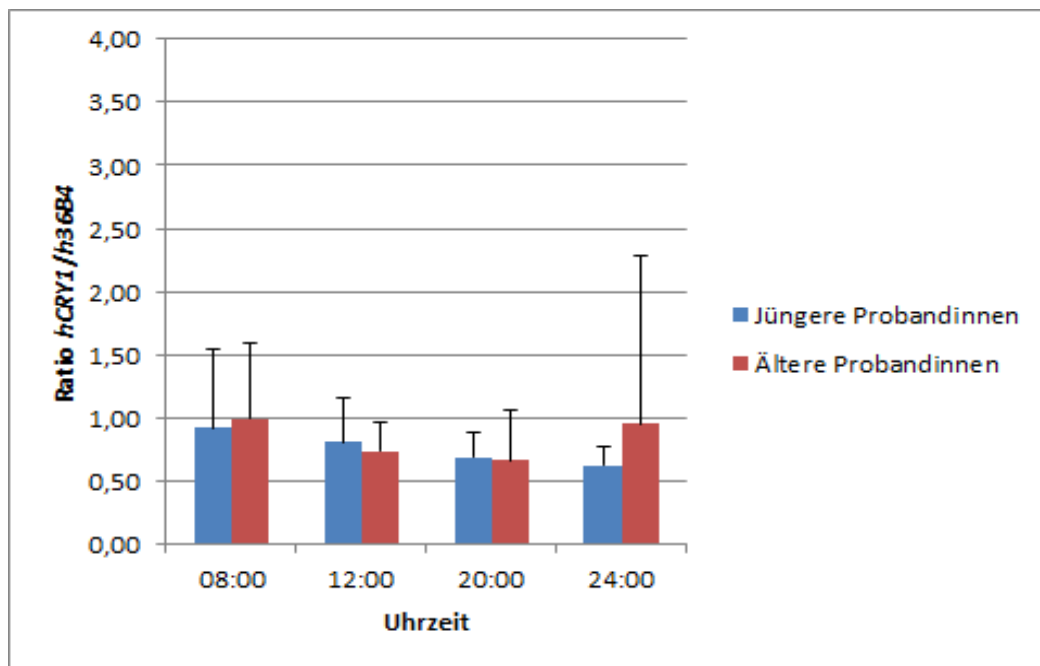


Abb. 42: Vergleich der Expression des Uhrengens *hCRY1* zu vier Messzeitpunkten bei acht jüngeren und 14 älteren Probandinnen. Dargestellt ist die mittlere relative Expression von *hCRY1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Die beobachteten Unterschiede zwischen der Genexpression von jüngeren und älteren Probandinnen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant (Tab. 36).

Tab. 36: Gruppenvergleich der Expression des Uhrengens *hCRY1* von acht jüngeren Probandinnen und 14 älteren Probandinnen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hCRY1/h36B4</i>	08:00	49,00	0,633
	12:00	53,00	0,838
	20:00	40,50	0,289
	24:00	50,00	0,682

u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Beim Vergleich der älteren guten und schlechten Schläferinnen wird deutlich, dass der starke Anstieg der *hCRY1*-Expression zur Nacht hin bei der Gruppe der älteren Probandinnen vor allem durch die älteren schlechten Schläferinnen verursacht wird (Tab. 27, Abb. 43). Dagegen ähnelt der Verlauf der

Ergebnisse

Expression bei den älteren guten Schläferinnen eher dem der jüngeren Probandinnen, mit dem höchsten Wert um 08:00 Uhr und einer kontinuierlichen Abnahme der Genexpression zu 24:00 Uhr hin.

Das Expressionsmaximum der älteren schlechten Schläferinnen liegt im Gegensatz zu den anderen Gruppen um 24:00 Uhr. Der Verlauf der *hCRY1*-Expression weicht bei älteren schlechten Schläfern somit von dem der jüngeren und älteren guten Schläferinnen ab.

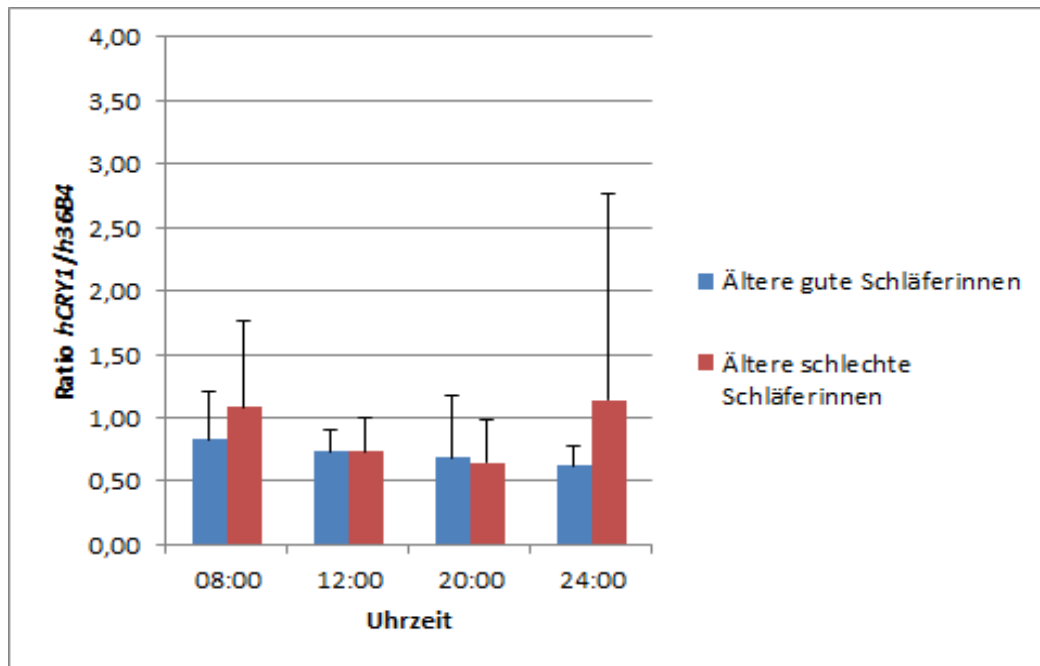


Abb. 43: Vergleich der Expression des Uhrgens *hCRY1* zu vier Messzeitpunkten bei fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen. Dargestellt ist die mittlere relative Expression von *hCRY1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Keiner der beobachteten Unterschiede erreicht statistische Signifikanz (Tab. 37). Diese müssen daher als zufällig angesehen werden.

Tab. 37: Gruppenvergleich der Expression des Uhrgens *hCRY1* von fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hCRY1/h36B4</i>	08:00	19,50	0,689
	12:00	20,50	0,789
	20:00	20,50	0,789
	24:00	21,50	0,894

u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Ergebnisse

Expression des Uhrgens hPER1

Bei den jüngeren Probandinnen steigt die *hPER1*-Expression von 08:00 Uhr morgens bis 24:00 Uhr nachts kontinuierlich an, das Expressionsmaximum wird um 24:00 Uhr erreicht (Tab. 26, Abb. 44). Bei den älteren Frauen ist die Expression um 08:00 Uhr hoch, fällt dann zu 12:00 Uhr hin ab, bleibt um 20:00 Uhr auf etwa dem gleichen Niveau und steigt dann zu 24:00 Uhr hin wieder an, wo sie ein Maximum erreicht, das sich nur knapp über der Expression um 08:00 Uhr morgens befindet.

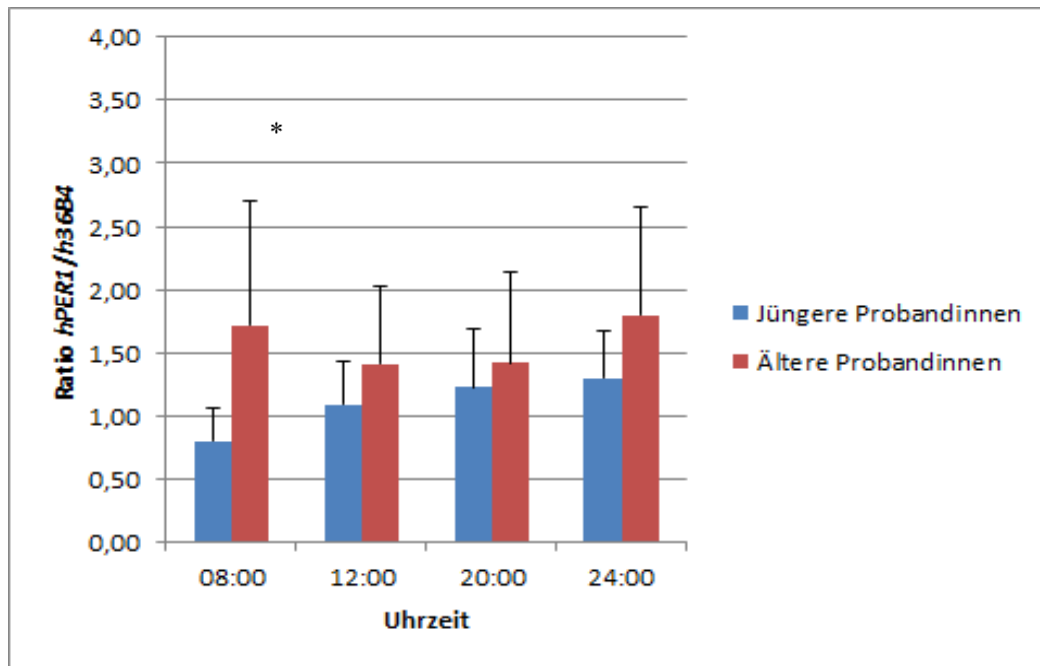


Abb. 44: Vergleich der Expression des Uhrgens *hPER1* zu vier Messzeitpunkten bei acht jüngeren und 14 älteren Probandinnen. Dargestellt ist die mittlere relative Expression von *hPER1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Der Unterschied zwischen den Expressionswerten um 08:00 Uhr ist statistisch signifikant ($p = 0,009$). (* $p < 0,050$)

Morgens um 08:00 Uhr findet sich der einzige signifikante Unterschied zwischen den Probandengruppen ($p = 0,009$), die älteren Probandinnen zeigen hier eine deutlich höhere Genexpression (Tab. 38, Abb. 44).

Ergebnisse

Tab. 38: Gruppenvergleich der Expression des Uhrengens *hPER1* von acht jüngeren Probandinnen und 14 älteren Probandinnen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hPER1/h36B4</i>	08:00	18,00	0,009
	12:00	37,00	0,195
	20:00	50,00	0,682
	24:00	37,00	0,195

u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit, signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

Sowohl bei den AGS als auch bei den ASS zeigt sich der gleiche Verlauf der *hPER1*-Expression (Tab. 27, Abb. 45). Die Expression fällt von 08:00 Uhr morgens zu 12:00 Uhr hin ab und erreicht um 20:00 Uhr fast die gleiche Höhe wie um 12:00 Uhr, um dann zu 24:00 Uhr hin auf ein Maximum anzusteigen. Die älteren Frauen mit schlechterer Schlafqualität zeigen durchgehend niedrigere Expressionswerte als die guten Schläferinnen.

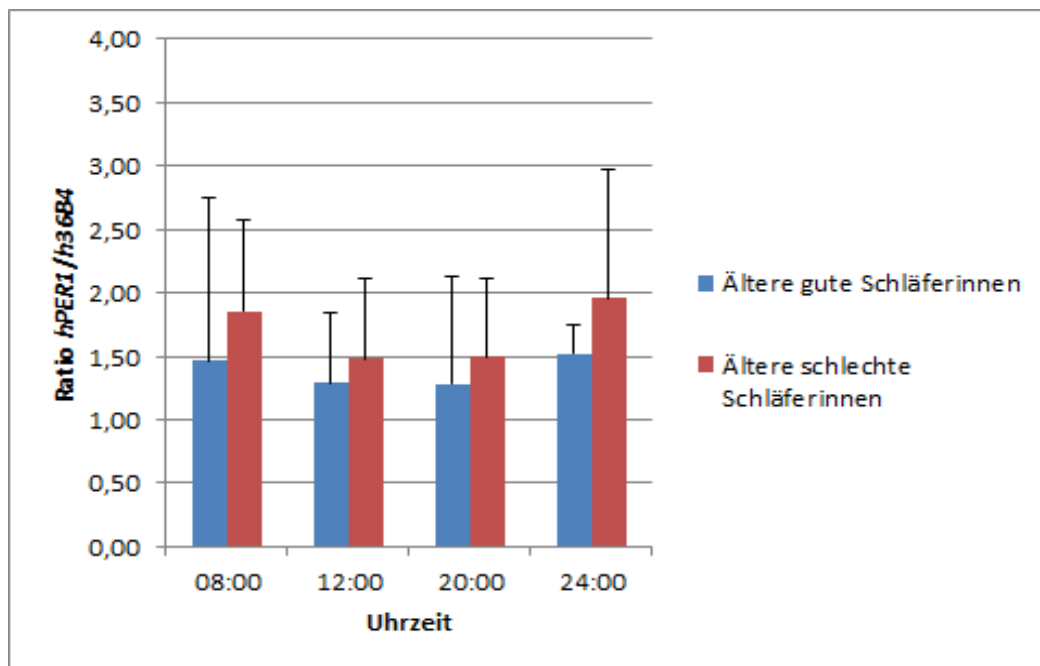


Abb. 45: Vergleich der Expression des Uhrengens *hPER1* zu vier Messzeitpunkten bei fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen. Dargestellt ist die mittlere relative Expression von *hPER1* zum Haushaltsgen *h36B4* zu den Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr mit Standardabweichung. Zu keinem der Zeitpunkte sind Unterschiede in der Expression statistisch signifikant ($p > 0,050$).

Anders als zwischen jüngeren und älteren Probandinnen erreicht der Expressionsunterschied um 08:00 Uhr keine statistische Signifikanz (Tab. 39). Auch die Werte zu den anderen Messzeitpunkten unterscheiden sich nicht signifikant.

Ergebnisse

Tab. 39: Gruppenvergleich der Expression des Uhrengens *hPER1* von fünf älteren guten und neun älteren schlechten Schläferinnen.

Ratio	Uhrzeit	Mann-Whitney-u-Test	
		u	p
<i>hPER1/h36B4</i>	08:00	11,50	0,142
	12:00	18,00	0,549
	20:00	17,00	0,463
	24:00	18,00	0,549

u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Vergleich der Expression dreier Uhrengene innerhalb einzelner Probandengruppen

Die zu den vier gewählten Zeitpunkten gemessene Expression von *hCRY1* ist fast durchgehend niedriger als die der beiden anderen Gene. *hBMALI* zeigt in allen Gruppen zu fast jedem Zeitpunkt die höchste Expression. Eine Ausnahme bildet der Zeitpunkt 08:00 Uhr bei den älteren Probandinnen und den ASS. Es deutet sich an, dass die *hBMALI*-Expression entgegengesetzt zu *hCRY1* und *hPER1* verläuft, während *hCRY1* und *hPER1* einen ähnlichen Verlauf zeigen. So wird *hPER1* um 08:00 Uhr und 24:00 Uhr auf hohem Niveau exprimiert, während die Expression von *hBMALI* zu diesen Zeiten niedriger ist. Für *hCRY1* ist kein eindeutiges Muster zu erkennen.

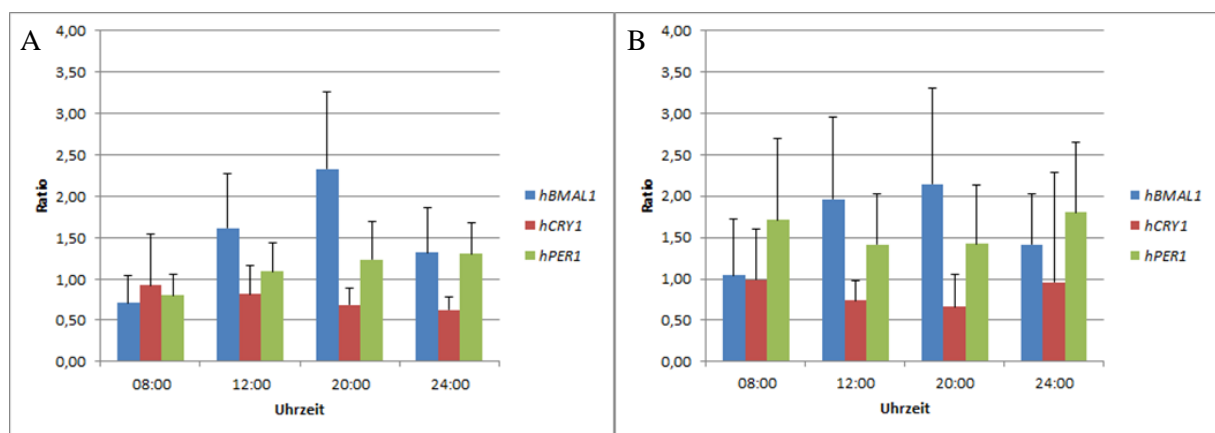


Abb. 46: Verlauf der relativen Genexpression der drei Zielgene *hBMALI*, *hCRY1* und *hPER1* bei A) acht jüngeren Probandinnen und B) 14 älteren Probandinnen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Ergebnisse

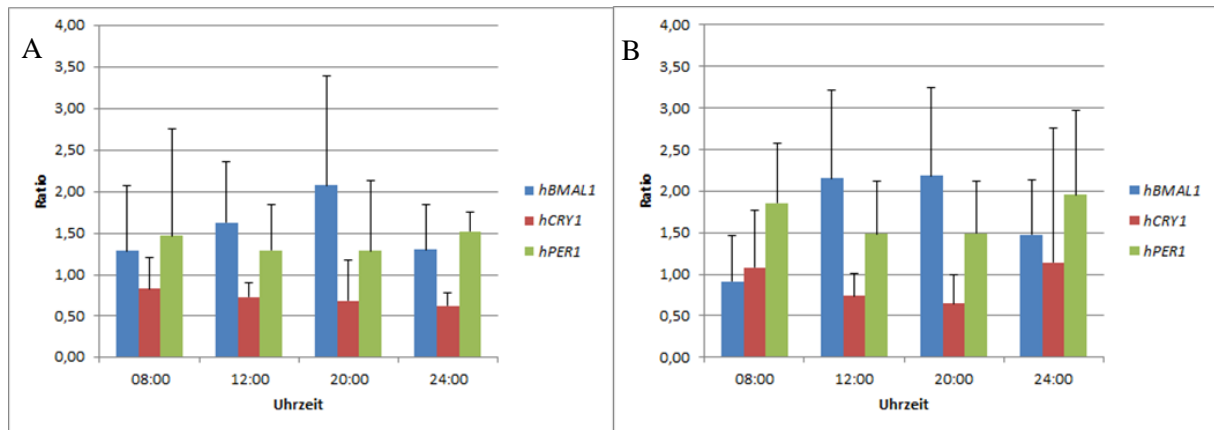


Abb. 47: Verlauf der Genexpression der drei Zielgene hBMAL1, hCRY1 und hPER1 bei A) fünf älteren guten Schläferinnen und B) neun älteren schlechten Schläferinnen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

6.3.2 Distale und proximale periphere Hauttemperatur

6.3.2.1 Reproduzierbarkeit des Hauttemperatur-Rhythmus unter natürlichen Bedingungen

Mit den iButton-Temperaturchips wurde die periphere Hauttemperatur an den drei Messorten Hand, Fuß und Oberschenkel gemessen. Mit Hilfe der Cosinor-Analyse wurden zu den gemessenen Daten Kenngrößen ermittelt, die eine circadiane Rhythmik beschreiben. Die Bedeutung dieser Kenngrößen ist in den Kapiteln 1.1 und 5.3.4 erläutert. In Anhang A17 ist ein Überblick über Mittelwerte und Standardabweichungen aller getesteten Rhythmus-Kenngrößen gegeben.

Je nach Anzahl der Probandinnen und der Normalverteilung der Variablen wurde mit der ANOVA für Messwiederholungen oder dem Friedman-Test geprüft, ob die Varianzen der untersuchten Rhythmus-Parameter der Hauttemperatur innerhalb der Untersuchungswoche gleich sind. Sind sie gleich, d. h. liegen keine signifikanten Unterschiede vor, sind diese Parameter reproduzierbar. Gibt es signifikante Unterschiede, sind die Messparameter nicht reproduzierbar, d. h. an mindestens einem der sieben Untersuchungstage weicht ein Wert stärker von den anderen ab.

Alle Rhythmus-Parameter der jüngeren und älteren Probandinnen sowie der älteren schlechten Schläferinnen sind nach Bonferroni-Korrektur für multiples Testen reproduzierbar (Tab. 40). Die mittlere Tagestemperatur an der Hand älterer guter Schläferinnen ist die einzige nicht-reproduzierbare Variable. Somit zeigen die Rhythmus-Parameter für alle drei Messorte eine hohe Reproduzierbarkeit und damit Reliabilität.

Ergebnisse

Tab. 40: Reproduzierbarkeit der Rhythmus-Kenngrößen von proximaler und distaler peripherer Hauttemperatur.

Gruppe	Messort	Hand				Fuß				Oberschenkel			
	Variable	N	F (χ^2)	p	pc	N	F (χ^2)	p	pc	N	F (χ^2)	p	pc
Jüngere Probandinnen	Tagesmittel (°C)	12	0,56	0,760	---	13	1,50	0,231	---	13	0,78	0,451	---
	Nachtmittel (°C)	12	0,76	0,606	---	13	1,32	0,259	---	13	0,90	0,446	---
	Mesor (°C)	12	0,84	0,457	---	13	1,47	0,234	---	13	1,05	0,357	---
	Amplitude (°C)	12	0,81	0,490	---	13	2,06	0,121	---	13	4,50	0,609	---
	Akrophase (min)	12	3,13	0,009	---	13	1,20	0,317	---	13	3,46	0,005	n.s.
Ältere Probandinnen	Tagesmittel (°C)	19	2,23	0,089	---	22	1,48	0,191	---	21	2,01	0,129	---
	Nachtmittel (°C)	19	3,59	0,003	n.s.	22	12,36	0,054	---	21	11,31	0,079	---
	Mesor (°C)	19	3,60	0,013	n.s.	22	2,33	0,071	---	21	3,40	0,026	n.s.
	Amplitude (°C)	19	0,25	0,956	---	22	1,23	0,293	---	21	1,27	0,277	---
	Akrophase (min)	19	2,00	0,129	---	22	1,44	0,236	---	21	2,33	0,085	---
Ältere gute Schläferinnen	Tagesmittel (°C)	9	13,82	0,032	---	9	2,33	0,887	---	7	4,32	0,634	---
	Nachtmittel (°C)	9	5,38	0,496	---	9	9,36	0,154	---	7	2,90	0,821	---
	Mesor (°C)	9	9,30	0,157	---	9	4,43	0,619	---	7	6,49	0,371	---
	Amplitude (°C)	8	6,81	0,339	---	9	2,23	0,897	---	7	8,21	0,223	---
	Akrophase (min)	8	5,52	0,479	---	9	4,86	0,562	---	7	9,71	0,137	---
Ältere schlechte Schläferinnen	Tagesmittel (°C)	11	2,44	0,088	---	13	2,16	0,057	---	14	1,57	0,221	---
	Nachtmittel (°C)	11	3,26	0,008	n.s.	13	7,47	0,280	---	14	3,61	0,036	n.s.
	Mesor (°C)	11	3,39	0,006	n.s.	13	2,16	0,057	---	14	2,41	0,102	---
	Amplitude (°C)	11	0,76	0,601	---	13	1,90	0,093	---	14	1,27	0,281	---
	Akrophase (min)	11	1,30	0,295	---	13	2,36	0,083	---	14	1,94	0,150	---

N = Probandenanzahl, F = Prüfgröße ANOVA für Messwiederholungen, χ^2 = Prüfgröße Friedman-Test, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, p_c = Bonferroni-korrigierte Irrtumswahrscheinlichkeit; die Prüfgröße χ^2 ist in der Tabelle kursiv angegeben, signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

6.3.2.2 Vergleich der Rhythmus-Parameter über eine Woche

Für einen Überblick über Mittelwerte und Standardabweichungen der Rhythmus-Kenngrößen der peripheren distalen und proximalen Hauttemperaturen sei nochmals auf Anhang A17 verwiesen. Zunächst wird die distale periphere Hauttemperatur an Hand und Fuß zwischen jüngeren und älteren Probandinnen verglichen, danach folgt ein Vergleich der proximalen Hauttemperatur am Oberschenkel zwischen diesen Gruppen. Anschließend erfolgt die Besprechung in gleicher Reihenfolge für die AGS und ASS.

In Tab. 41 sind die Vergleiche der circadianen Kenngrößen mit dem t-Test für unverbundene Stichproben bzw. dem Mann-Whitney-u-Test für alle vier Probandengruppen aufgeführt.

Ergebnisse

Tab. 41: Mittelwertsvergleiche von circadianen Kenngrößen der peripheren Hauttemperaturen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und älteren guten und schlechten Schläferinnen.

Messort	Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen		
		RU	t	p	RU	u	p
Hand	Tagesmittel (°C)	JP↓	0,28	0,781	AGS↑	53,00	0,713
	Nachtmittel (°C)	JP↑	-3,22	0,003	AGS↓	53,00	0,713
	Mittelwert (Mesor) (°C)	JP↑	-0,92	0,367	AGS↑	50,00	0,570
	Amplitude bei 24 Std (°C)	JP↑	-1,65	0,108	AGS↓	46,50	0,423
	Akrophase (24 Std.) (min)	JP↑	-2,33	0,026	AGS↓	53,50	0,738
Fuß	Tagesmittel (°C)	JP↓	0,85	0,405	AGS↓	49,00	0,378
	Nachtmittel (°C)	JP↑	-3,68	0,001	AGS↑	59,00	0,801
	Mittelwert (Mesor) (°C)	JP↑	-0,16	0,875	AGS↓	58,00	0,753
	Amplitude (24 Std) (°C)	JP↑	-2,13	0,049	AGS↑	50,50	0,431
	Akrophase (24 Std.) (min)	JP↑	-2,53	0,016	AGS↓	55,00	0,614
Oberschenkel	Tagesmittel (°C)	JP↑	-0,32	0,753	AGS↓	47,00	0,313
	Nachtmittel (°C)	JP↑	-2,65	0,012	AGS↓	43,00	0,208
	Mittelwert (Mesor) (°C)	JP↑	-1,31	0,199	AGS↓	47,50	0,329
	Amplitude (24 Std) (°C)	JP↑	-1,34	0,189	AGS↑	56,50	0,682
	Akrophase (24 Std.) (min)	JP↑	-1,03	0,310	AGS↑	58,00	0,753

t und u = Prüfgröße, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, RU = Richtung des Unterschieds; JP↑ = höherer bzw. späterer Wert bei jüngeren Probandinnen; AGS↑ = höherer bzw. späterer Wert bei älteren guten Schläferinnen. In den Vergleich der Variablen am Messort Hand flossen 12 jüngere und 22 ältere Probandinnen mit ein, bei Fuß und Oberschenkel 13 jüngere und 23 ältere Probandinnen. Bei den Schlafqualitätsgruppen flossen in den Vergleich am Messort Hand 9 ältere gute und 13 ältere schlechte Schläferinnen mit ein, bei Fuß und Oberschenkel 9 ältere gute und 14 ältere schlechte Schläferinnen.

Distale PHT an Hand und Fuß:

Die mittlere nächtliche Temperatur liegt bei den jüngeren Frauen höher als bei den älteren Frauen ($p = 0,003$, $p = 0,001$) (Tab. 41). Zudem wird die Akrophase des PHT-Rhythmus bei der jüngeren Probandengruppe um 03:07 Uhr etwa 56 min später erreicht ($p = 0,026$). Jüngere Frauen tendieren zu einer höheren Amplitude der Handtemperatur (innerhalb von 24 Stunden) als die ältere Vergleichsgruppe. Dieser Unterschied erreicht jedoch keine statistische Signifikanz.

Bezüglich der am Fuß gemessenen distalen PHT liegt die mittlere Nachttemperatur bei den jüngeren Probandinnen ebenfalls signifikant über der der älteren Probandinnen ($p = 0,001$). Außerdem liegt hier die Amplitude der Hauttemperatur signifikant höher ($p = 0,049$), was sich bei der Handtemperatur nur andeutet. Die Akrophase wird bei den jüngeren Frauen um 04:03 Uhr etwa 75 min später erreicht als bei den älteren Frauen. Auch dieser Unterschied erreicht statistische Signifikanz ($p = 0,016$).

Ergebnisse

Proximale PHT am Oberschenkel:

Hinsichtlich der proximalen Hauttemperatur am Oberschenkel werden bei den älteren Probandinnen für Nachtmittel, Mesor, Amplitude und Akrophase kleinere bzw. frühere Werte erreicht als bei den jüngeren Probandinnen. Dabei unterscheidet sich zwischen jüngeren und älteren Probandinnen nur die mittlere Nachttemperatur ($p = 0,012$) signifikant.

Distale PHT an Hand und Fuß:

Zwischen den Schlafqualitätsgruppen ist bezüglich der Unterschiede zwischen Hand- und Fußtemperatur kein Muster zu erkennen. Bei keinem der Rhythmusparameter der distalen PHT zeigen sich zwischen *älteren Probandinnen mit unterschiedlicher Schlafqualität* signifikante Unterschiede.

Proximale PHT am Oberschenkel:

Dasselbe gilt für die proximale PHT.

6.3.2.3 Vergleich des abendlichen Verlaufs der Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt unter natürlichen Bedingungen

Für den Abend am sechsten Untersuchungstag, an dem auch eine Speichelprobe für die Cortisol-Analyse gesammelt und die Aufnahme des EEG-Schlafprofils gestartet wurde, werden die Hauttemperaturprofile und der DPG für einen Zeitraum von anderthalb Stunden (60 min vor bis 30 min nach) um den Zubettgehzeitpunkt herum betrachtet. Dieser Zeitraum wurde betrachtet, weil gerade die Höhe und der Verlauf der Hauttemperaturen um den Zubettgehzeitpunkt herum mit der Einschlaf latenz in Verbindung gebracht werden (Kräuchi *et al.* 2000).

Aufgrund des Umfangs der Tabellen finden sich sowohl Mittelwerte und Standardabweichungen als auch statistische Kenngrößen im Anhang.

Die proximale und distale periphere Hauttemperatur

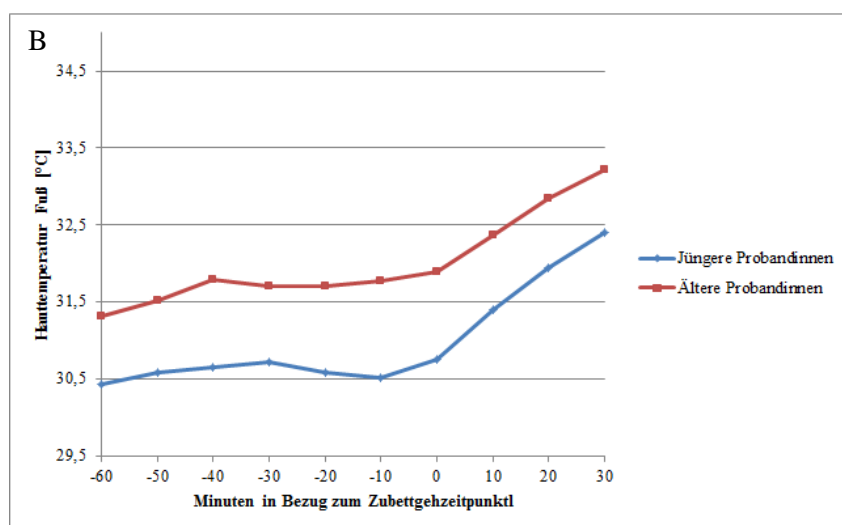
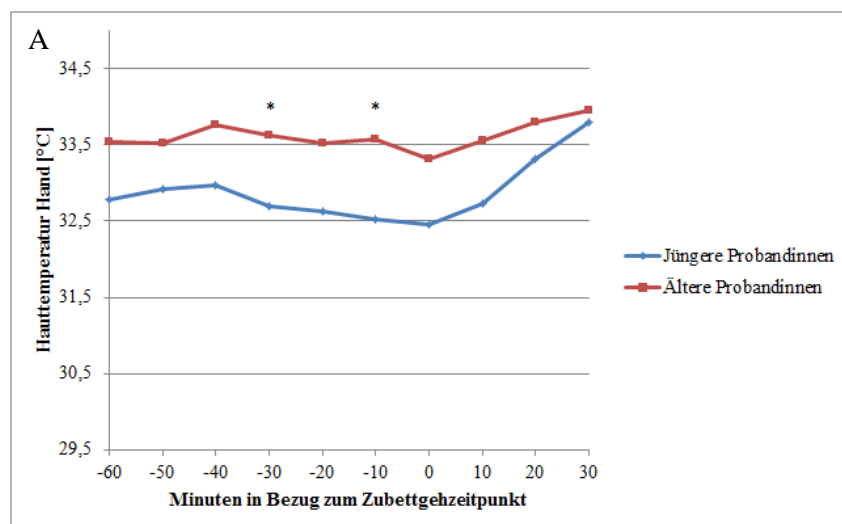
Jüngere und ältere Probandinnen:

Die proximale und die distalen PHTs liegen bei den jüngeren Probandinnen von 60 min vor bis 30 min nach dem Zubettgehzeitpunkt kontinuierlich unter denen der älteren Probandinnen (Anhang A18 und Abb. 48). Im Mittel beträgt der Temperaturunterschied über den gesamten Verlauf $0,74\text{ °C}$. Bei beiden Gruppen steigt die Handtemperatur von 60 bis 40 min vor Zubettgehen leicht an, um danach bis zum Zubettgehzeitpunkt abzufallen und anschließend wieder anzusteigen. Nach dem Zubettgehen steigt die Temperatur bei beiden Gruppen stärker an als vorher. Dieser Temperaturanstieg ist bei den jüngeren Probandinnen etwas stärker ausgeprägt als bei den älteren Probandinnen. Signifikant unterschiedliche Hauttemperaturen an der Hand liegen 30 min ($p < 0,050$) und 10 min ($p < 0,050$) vor dem Zubettgehen vor (Anhang A19). Der Verlauf der Fußtemperatur bei jüngeren und älteren Probandinnen entspricht

Ergebnisse

dem Temperaturverlauf an der Hand, mit der Ausnahme, dass die Fußtemperatur bei den jüngeren Probandinnen noch bis 30 min vor dem Zubettgehen ansteigt und erst dann abfällt. Der Anstieg nach dem Zubettgehen ist bei beiden Altersgruppen etwa gleich. Im Mittel über alle Messzeitpunkte zeigen die jüngeren Probandinnen eine um 1,01 °C tiefere Fußtemperatur. Keiner der beobachteten Unterschiede ist statistisch signifikant (Anhang A19). Die Oberschenkeltemperatur fällt bei den jüngeren Probandinnen etwa 20 min vor dem Zubettgehen leicht ab. Bei den älteren Probandinnen steigt die Temperatur bis zum Zubettgehenzeitpunkt stetig an. Wiederum erfolgt bei beiden Gruppen nach dem Zubettgehen ein steilerer Temperaturanstieg, der bei den jüngeren Probandinnen ausgeprägter ist. Für die proximale Hauttemperatur zeigen sich die deutlichsten Unterschiede zwischen den Gruppen. Hier liegen die Temperaturen bei den jüngeren Frauen von 50 min vor dem Zubettgehen bis 30 min danach signifikant unter denen der älteren Frauen. Der mittlere Unterschied über alle Messzeitpunkte beträgt 1,58 °C.

Keine der beiden Gruppen zeigt einen deutlichen Anstieg der PHT vor dem Zubettgehen. Bei beiden Gruppen steigen sowohl proximale als auch distale PHT nach dem Zubettgehen an.



Ergebnisse

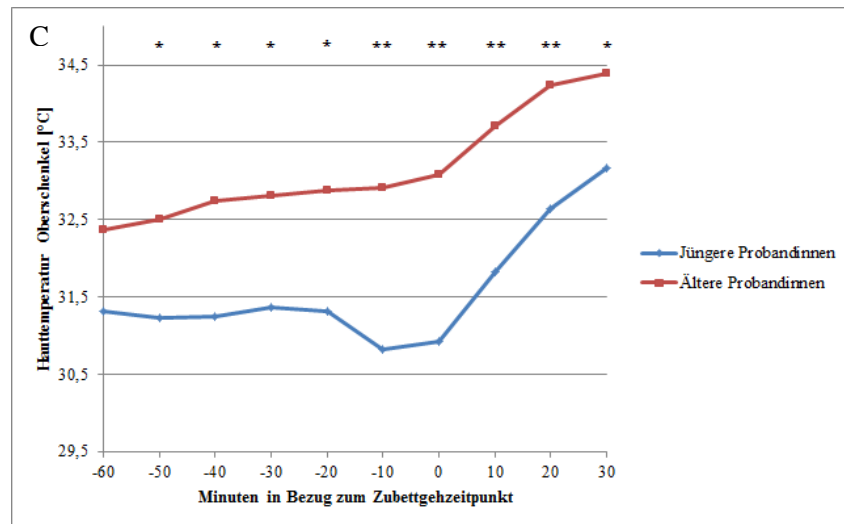


Abb. 48: Verlauf der peripheren Hauttemperaturen bei jüngeren und älteren Probandinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen. Dargestellt sind A) der Verlauf der Handtemperatur bei 12 jüngeren und 16 älteren Probandinnen, B) der Verlauf der Fußtemperatur bei 13 jüngeren und 17 älteren Probandinnen und C) der Verlauf der Oberschenkeltemperatur bei 13 jüngeren und 17 älteren Probandinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A18 zu finden. (* $p < 0,050$, ** $p < 0,010$)

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Bei den AGS und ASS zeigt sich ein unregelmäßiger Verlauf der Hauttemperaturen vor und nach dem Zubettgehen (Anhang A18 und Abb. 49). Bezüglich der PHT an der Hand zeigen die AGS bis 20 min vor Zubettgehen niedrigere Temperaturen als die ASS, danach höhere. Bei keiner der Gruppen ist ein klarer Anstieg der PHT an der Hand vor dem Zubettgehen zu erkennen. Bei den ASS zeigt sich in diesem Zeitraum sogar ein leichter Abfall der Temperatur. Nach dem Zubettgehen steigt die Handtemperatur bei beiden Gruppen in etwa gleichem Maße an. Keiner der gemessenen Temperaturunterschiede ist statistisch signifikant (Anhang A19).

Anders als bei der Handtemperatur liegt die Fußtemperatur der AGS ab 50 min vor Zubettgehen kontinuierlich unter der der ASS. Vor dem Zubettgehen ist weder bei AGS noch bei ASS eine klare Tendenz zum Anstieg oder Abfall der Hauttemperatur zu erkennen. Die Temperaturen sind 60 min vor dem Zubettgehen jedoch niedriger als 10 min davor. Nach dem Zubettgehen steigt die PHT wiederum bei beiden Gruppen in etwa gleichem Maße an. Bei den ASS verringert sich der Anstieg von 20 bis 30 min nach dem Zubettgehen leicht. Keiner der Temperaturunterschiede zwischen den Gruppen ist statistisch signifikant (Anhang A19). Am Oberschenkel zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der Fußtemperatur. Die PHT schwankt vor dem Zubettgehen, steigt insgesamt jedoch eher an (Anhang A18 und Abb. 49). Nach dem Zubettgehen steigt die PHT in beiden Gruppen an. Bei den ASS flacht der Anstieg von 20 bis 30 min nach dem Zubettgehen etwas ab. Ab 10 min vor dem Zubettgehen liegt die proximale PHT - anders als die Fußtemperatur - bei den AGS kontinuierlich über der der ASS. Keiner der Temperaturunterschiede zwischen den Gruppen ist statistisch signifikant (Anhang A19).

Ergebnisse

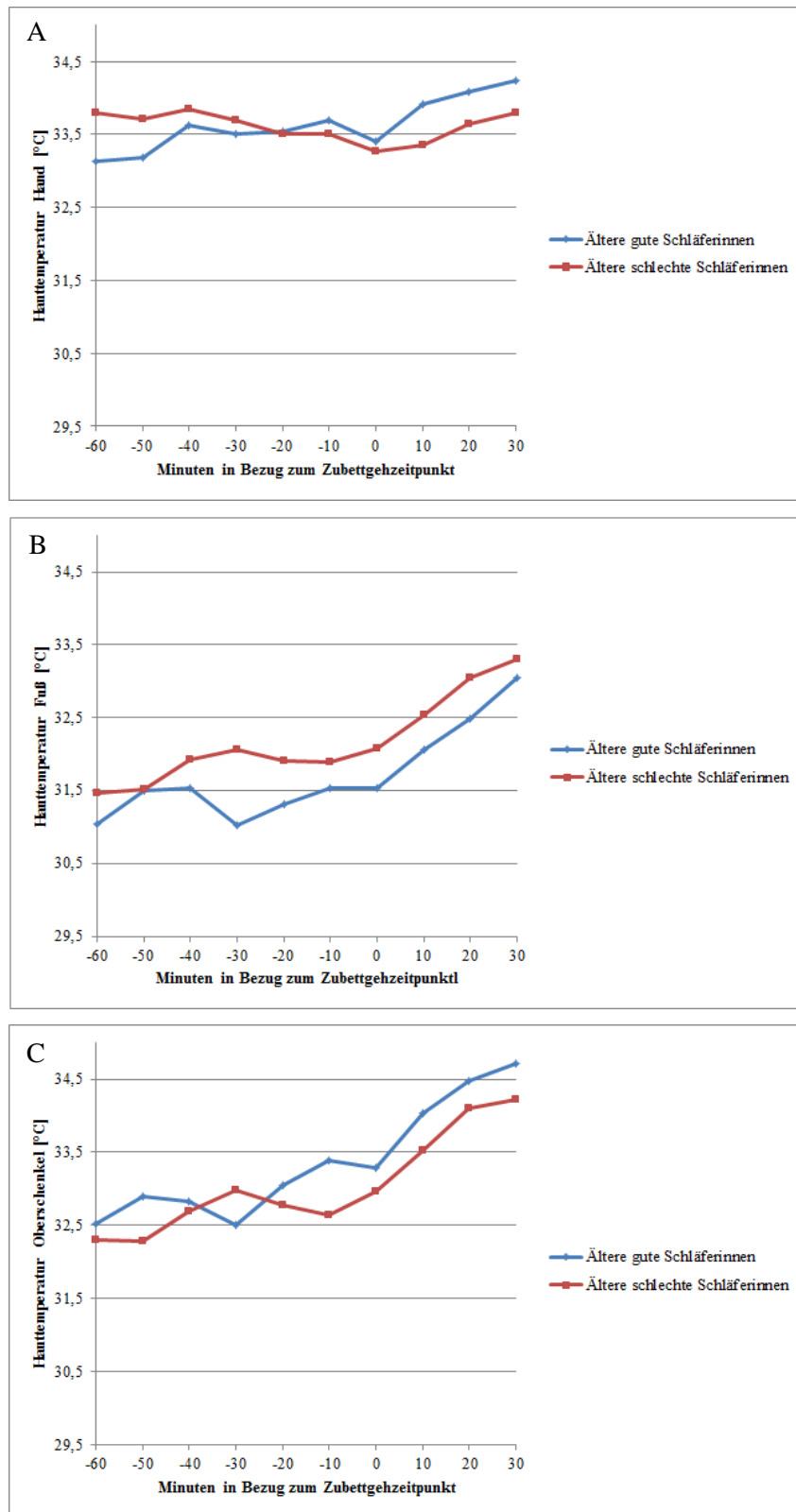


Abb. 49: Verlauf der peripheren Hauttemperaturen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen. Dargestellt sind A) der Verlauf der Handtemperatur bei 6 älteren guten und 10 älteren schlechten Schläferinnen, B) der Verlauf der Fußtemperatur bei 6 älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen und C) der Verlauf der Oberschenkeltemperatur bei 6 älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die

Ergebnisse

Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A18 zu finden.

Der distal-proximale Gradient (DPG)

Der DPG als Maß für die Effektivität der Wärmeabgabe wurde zum einen aus Hand- abzüglich Oberschenkeltemperatur gebildet, zum anderen aus Fuß- abzüglich Oberschenkeltemperatur. Dabei ist zu beachten, dass die Rhythmik der Fußtemperatur in der Untersuchungswoche die höchste Reliabilität aufwies.

Jüngere und ältere Probandinnen:

Der DPG zwischen Oberschenkel und Hand liegt bei jüngeren Probandinnen fast durchgehend im positiven Bereich (Anhang A18 und Abb. 50). Hier ist die proximale PHT damit niedriger als die distale PHT. Der DPG schwankt vor dem Zubettgehen und fällt nach dem Zubettgehzeitpunkt kontinuierlich ab. D. h. nach dem Zubettgehen wird die Differenz zwischen proximaler und distaler PHT kleiner, die proximale PHT wird im Verhältnis zur distalen PHT höher. Der DPG der älteren Frauen tendiert zur Abnahme, besonders nach dem Zubettgehen, wo er ab 10 min nach dem Zubettgehzeitpunkt in den negativen Bereich fällt (Abb. 50). Ab diesem Zeitpunkt ist die proximale PHT bei den älteren Probandinnen höher als die distale PHT an der Hand. Jüngere Probandinnen haben durchgehend einen positiveren DPG als ältere Probandinnen. Der Abstand wird mit fortschreitender Zeit größer. Bei 20 und 30 min nach dem Zubettgehen erreicht die Differenz statistische Signifikanz ($p < 0,050$) (Anhang A19).

Der DPG zwischen Oberschenkel und Fuß bei jüngeren Probandinnen liegt durchgehend im negativen Bereich (Anhang A18 und Abb. 50). Die proximale PHT am Oberschenkel ist bei dieser Gruppe somit durchgehend höher als die distale PHT am Fuß. Von 60 bis 20 min vor dem Zubettgehzeitpunkt bleibt der DPG auf einem relativ konstanten Level und steigt dann bis zum Zubettgehzeitpunkt an. Nach diesem Zeitpunkt sinkt der DPG wieder ab, die proximale PHT wird also im Verhältnis zur distalen PHT immer höher. Bei älteren Frauen liegt der DPG ebenfalls durchgehend im negativen Bereich. Die Werte sinken ab 40 min vor bis 20 min nach dem Zubettgehen leicht ab, um in den folgenden 10 min wieder in geringem Maße anzusteigen. Das Verhältnis des DPG zwischen den beiden Gruppen bleibt wie zwischen Hand und Oberschenkel bestehen, der DPG der jüngeren Probandinnen liegt also auch hier durchgängig über dem der älteren Probandinnen. In keinem der Mittelwerte unterscheiden sich die beiden Altersgruppen signifikant (Anhang A19).

Ergebnisse

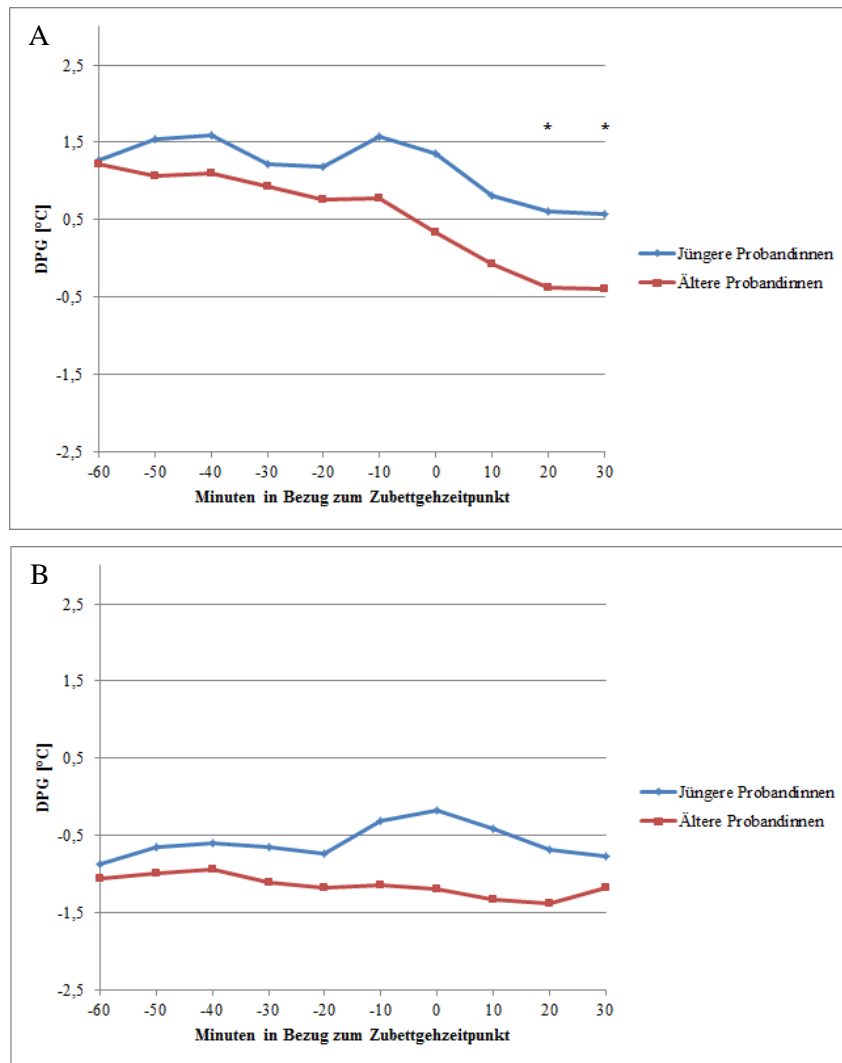


Abb. 50: Verlauf des DPG bei jüngeren und älteren Probandinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen. Dargestellt sind A) der Verlauf des DPG zwischen der Handtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 12 jüngeren und 16 älteren Probandinnen und B) der Verlauf des DPG zwischen der Fußtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 13 jüngeren und 17 älteren Probandinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A18 zu finden. (* $p < 0,050$)

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

In Abb. 51 ist der Verlauf des DPG bei älteren guten und schlechten Schläferinnen dargestellt. Zugehörige Mittelwerte mit Standardabweichungen sowie statistische Tests finden sich in Anhang A18 und Anhang A19. Der DPG zwischen Oberschenkel und Hand schwankt bei den AGS vor dem Zubettgehen, sinkt jedoch ab 30 min vor bis 30 min nach dem Zubettgehzeitpunkt ab. Ab 10 min nach dem Zubettgehen werden die Werte negativ. Die proximale PHT ist ab diesem Zeitpunkt höher als die distale an der Hand. Bei den ASS zeigt der DPG zwischen 60 und 10 min vor dem Zubettgehen ebenfalls Schwankungen und sinkt dann bis 20 min nach dem Zubettgehen kontinuierlich ab. Zwischen 20 und 30 min nach dem Zubettgehen steigen die Mittelwerte für die Gruppe der ASS

Ergebnisse

wieder leicht an. Bis auf 30 min vor dem Zubettgehen haben die AGS zu allen Zeitpunkten einen niedrigeren DPG zwischen Oberschenkel und Hand als die ASS.

Bei der Betrachtung des DPG zwischen Oberschenkel und Fuß fällt auf, dass die Werte beider Gruppen durchgehend im negativen Bereich liegen. Das bedeutet, dass die proximale PHT durchgehend über der distalen PHT liegt. Bei beiden Gruppen tendiert der DPG von 60 min vor bis 20 min nach dem Zubettgehen zu Absinken und steigt zwischen 20 und 30 min nach dem Zubettgehen wieder leicht an. Der DPG der AGS liegt an allen Messzeitpunkten unter dem der ASS. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind weder für den DPG zwischen Oberschenkel und Hand noch für den DPG zwischen Oberschenkel und Fuß statistisch signifikant.

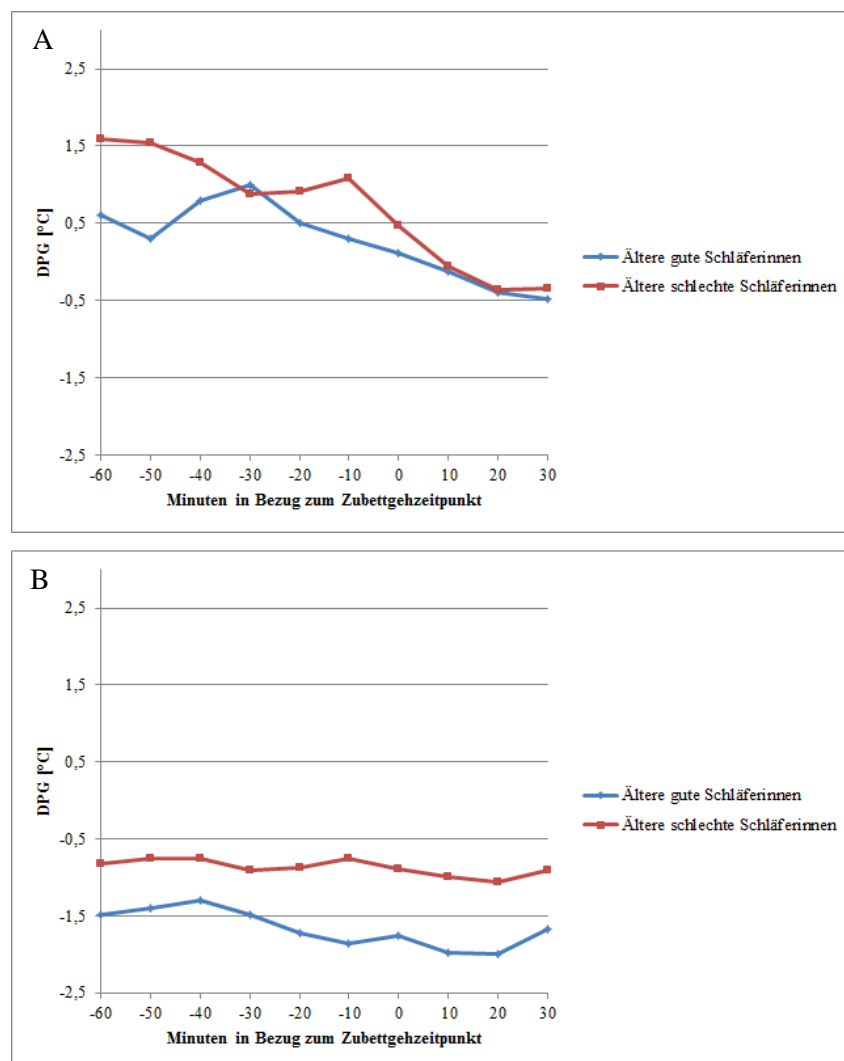


Abb. 51: Verlauf des DPG bei jüngeren und älteren Probandinnen unter natürlichen Bedingungen in einem Zeitraum zwischen 60 min vor und 30 min nach dem abendlichen Zubettgehen. Dargestellt sind A) der Verlauf des DPG zwischen der Handtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 6 älteren guten und 10 älteren schlechten Schläferinnen und B) der Verlauf des DPG zwischen der Fußtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 6 älteren guten und 11 älteren schlechten Schläferinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A18 zu finden.

6.3.2.4 Kontrollierte Bedingungen im Abendprofil: proximale und distale PHT und DPG

Im Abendprofil von 17:00 bis 24:00 Uhr wurden die Hauttemperaturen unter für Licht, Temperatur und Körperposition kontrollierten Bedingungen gemessen. Die Probandenzahlen unterscheiden sich zwischen verschiedenen Messzeiten, da in einigen Fällen Daten aufgrund defekter Temperatursensoren fehlten. Zudem wurden zu verschiedenen Zeitpunkten einzelne Messwerte manuell aus der Analyse ausgeschlossen, wenn diese einen plötzlichen starken Abfall um mehrere Grad zeigten, der nicht physiologisch bedingt sein kann.

Aufgrund des Umfangs der Tabellen finden sich sowohl Mittelwerte und Standardabweichungen als auch statistische Kenngrößen im Anhang.

Jüngere und ältere Probandinnen:

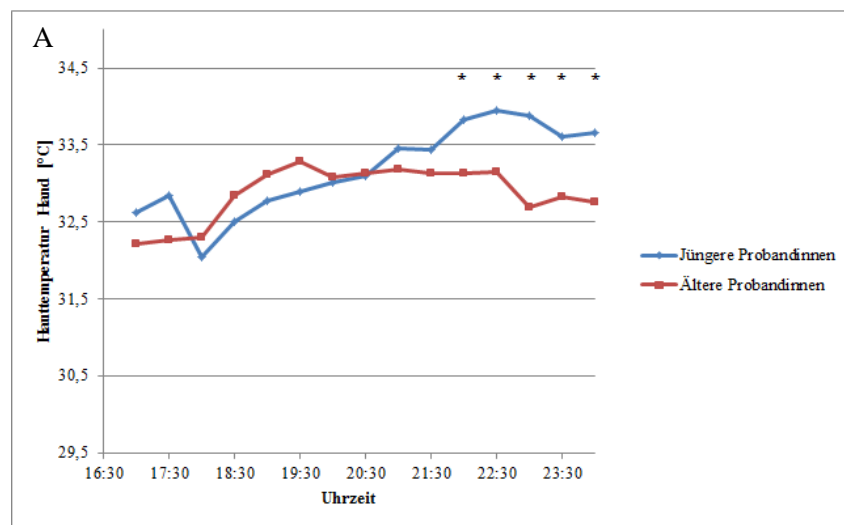
Der Verlauf der mittleren Hauttemperatur an der Hand im Abendprofil für jüngere und ältere Probandinnen ist in Abb. 52 dargestellt. Zugehörige Mittelwerte und statistische Tests finden sich in Anhang A20 und A21. Die mittlere Handtemperatur der jüngeren Probandinnen steigt zunächst von 17:00 Uhr bis 17:30 Uhr von 32,63 auf 32,84 °C an und zeigt dann zu 18:00 Uhr hin einen stärkeren Abfall auf 32,04 °C. Sie steigt danach kontinuierlich bis zu einem Höchstwert um 22:30 Uhr an, fällt anschließend bis um 23:30 Uhr wieder leicht ab und zeigt einen erneuten Anstieg bis 24:00 Uhr hin. Die Handtemperatur der älteren Probandinnen beginnt ab 18:00 Uhr deutlich anzusteigen, bis sie um 19:30 Uhr einen Höchstwert erreicht. Nach einem leichten Absinken bis um 20:00 Uhr bleibt die Handtemperatur bis 22:30 Uhr etwa auf dem gleichen Niveau. Hiernach gibt es einen erneuten Abfall von 32,85 °C auf 32,13 °C um 23:00 Uhr, woraufhin die Temperatur bis 24:00 Uhr wieder auf etwa einem Niveau liegt. Beim Vergleich der mittleren Handtemperatur der beiden Gruppen zeigt sich, dass bis 17:30 Uhr die Werte der älteren Probandinnen unter denen der jüngeren Frauen liegen. Ab 18:00 Uhr dreht sich dieses Verhältnis um. Ab 20:30 Uhr sind die Temperaturwerte der älteren Probandinnen wieder niedriger als die der jüngeren Probandinnen. Die Temperaturunterschiede zwischen den Gruppen sind von 22:30 Uhr bis 24:00 Uhr statistisch signifikant (Anhang A21). Unter natürlichen Bedingungen lagen die Hauttemperaturwerte an der Hand bei den jüngeren Frauen konstant unter denen der älteren Frauen (vgl. Abb. 48). Die Handtemperaturen am Ende des Abendprofils um 24:00 Uhr liegen bei beiden Gruppen über den Anfangstemperaturen.

Der Verlauf der mittleren Hauttemperatur am Fuß zeigt weniger deutliche Schwankungen als die Handtemperatur (Abb. 52). Auch hier liegen die Temperaturwerte der jüngeren Probandinnen außer um 20:00 Uhr und 20:30 Uhr über denen der älteren Probandinnen. Bei den jüngeren Probandinnen fällt die Temperatur bis 20:30 Uhr tendenziell ab und steigt dann bis 24:00 Uhr an. Bei den älteren Probandinnen steigt die Temperatur von 17:30 Uhr bis 18:30 Uhr leicht an, bleibt bis um 20:30 Uhr auf etwa einem Niveau und beginnt dann abzusinken. Die mittleren Fußtemperaturen bei beiden

Ergebnisse

Gruppen sind niedriger als die an der Hand. Die Fußtemperaturen am Ende des Abendprofils um 24:00 Uhr liegen bei beiden Gruppen auf etwa demselben Niveau wie am Anfang. Keiner der beschriebenen Unterschiede für die Hauttemperatur am Fuß ist statistisch signifikant (Anhang A21).

Die mittlere Hauttemperatur am Oberschenkel zeigt um 18:00 Uhr bei beiden Altersgruppen einen abrupten Abfall (Abb. 52). Hiernach beginnt in beiden Gruppen ein Temperaturanstieg, der bei den jüngeren Probandinnen bis 20:00 Uhr andauert, bei den älteren Probandinnen bis um 19:30 Uhr. Der Temperaturabfall und der darauf folgende Anstieg sind bei den jüngeren Frauen stärker ausgeprägt als bei den älteren Frauen. Ab 19:30 Uhr bzw. 20:00 Uhr sinkt die Temperatur bei beiden Gruppen bis zum Ende des Abendprofils leicht ab. Ab 18:30 Uhr liegt die PHT am Oberschenkel bei jüngeren Probandinnen deutlich höher als bei den älteren Probandinnen. Von 18 bis 24:00 Uhr sind alle Unterschiede zwischen den Gruppen statistisch signifikant (Anhang A21). Die mittlere Oberschenkeltemperatur ist niedriger als die mittlere Hand- und höher als die mittlere Fußtemperatur. Die Oberschenkeltemperaturen am Ende des Abendprofils liegen bei den jüngeren Probandinnen deutlich höher als am Anfang, bei den älteren Probandinnen nur leicht höher.



Ergebnisse

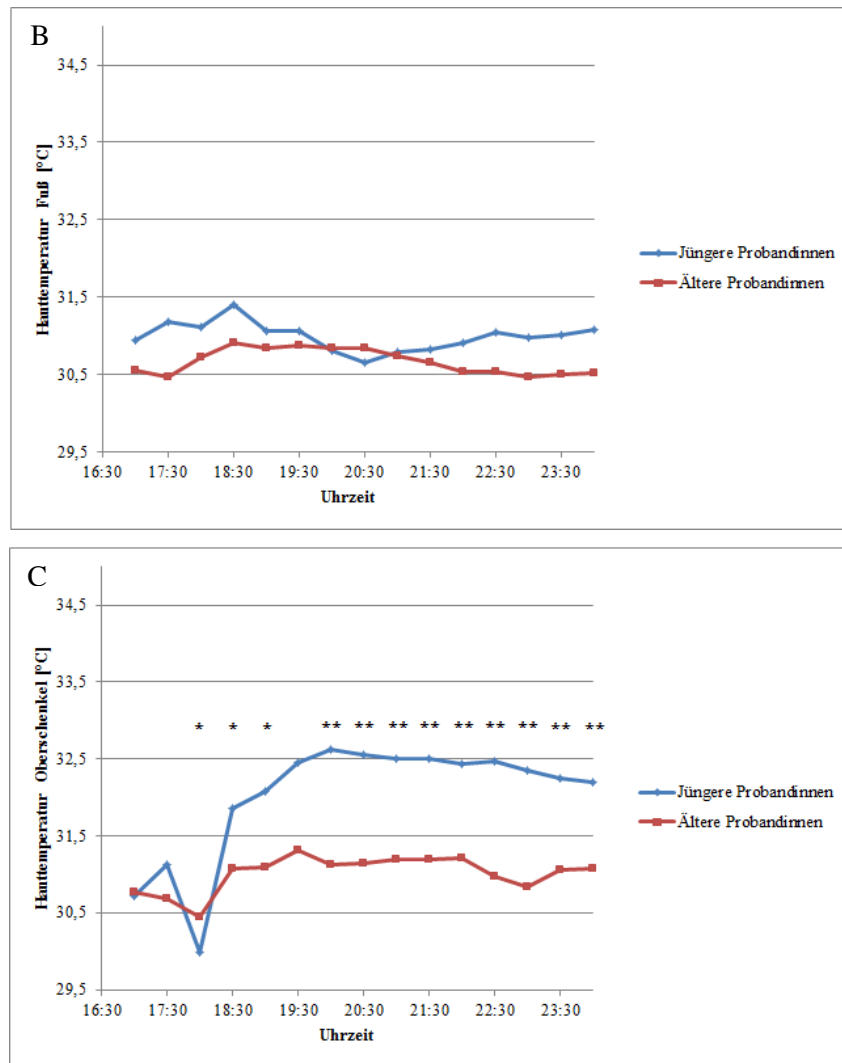


Abb. 52: Verlauf der mittleren peripheren Hauttemperaturen bei jüngeren und älteren Probandinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr. Dargestellt sind A) der Verlauf der Handtemperatur bei 12 jüngeren und 22 älteren Probandinnen, B) der Verlauf der Fußtemperatur bei 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen und C) der Verlauf der Oberschenkeltemperatur bei 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A20 zu finden. Ggf. abweichende Probandenzahlen zu einzelnen Messzeitpunkten sind ebenfalls in Anhang A20 zu finden. (* $p < 0,050$, ** $p < 0,010$)

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

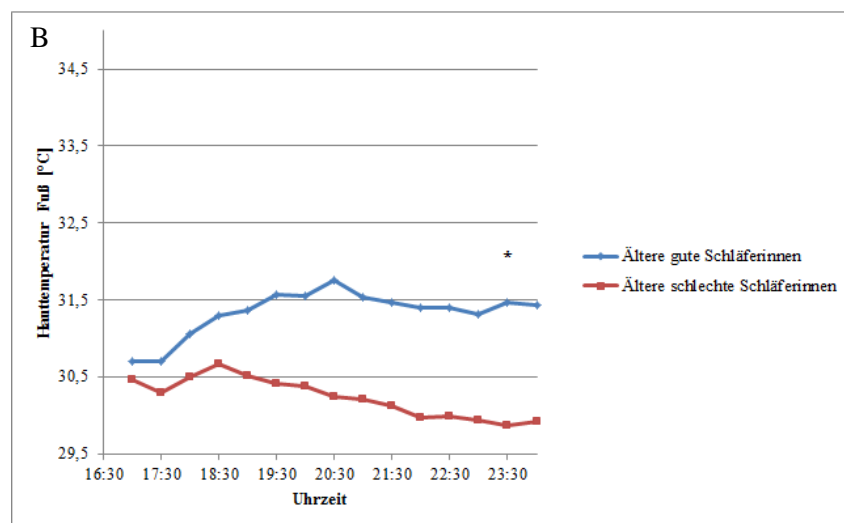
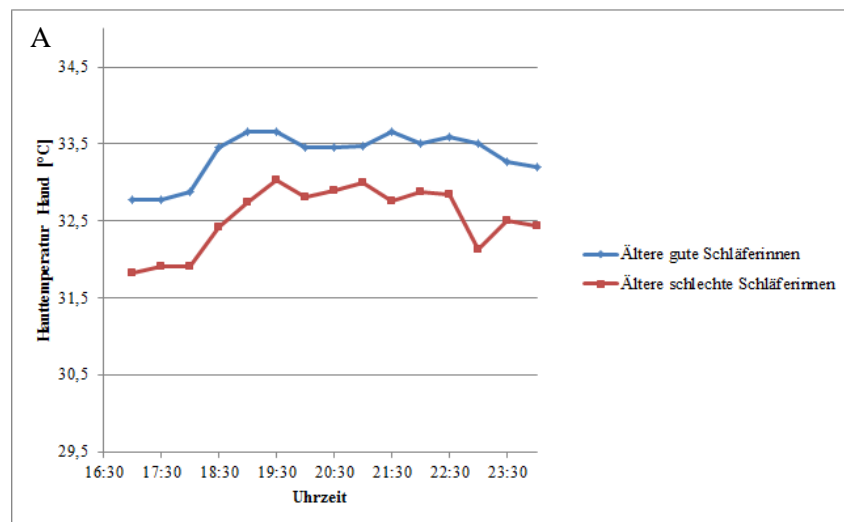
Abb. 53 zeigt den Verlauf der distalen und proximalen PHT bei älteren guten und schlechten Schläferinnen. Mittlere Temperaturwerte sind in Anhang A20 zu finden, statistische Tests in Anhang A21. Auch bei diesen Gruppen ist das Verhältnis der Temperaturwerte zwischen den Gruppen umgekehrt wie unter natürlichen Bedingungen, d. h. hier liegen die Temperaturwerte der AGS über denen der ASS.

Der Verlauf der mittleren Hauttemperatur an der Hand ist bei AGS und ASS ähnlich. Bis 19:00 Uhr bzw. 19:30 Uhr steigt die Temperatur an. Ab diesen Zeitpunkten zeigt der Temperaturverlauf leichte

Ergebnisse

Schwankungen, die Temperatur fällt jedoch bei beiden Gruppen tendenziell bis zum Ende des Abendprofils ab. Die Handtemperatur ist bei den AGS durchgehend höher als bei den ASS. Keiner dieser Unterschiede ist allerdings statistisch signifikant (Anhang A21). Die Temperaturen liegen trotz des Abfalls zu 24:00 Uhr hin über denen um 17:00 Uhr.

Die mittleren Hauttemperaturen am Fuß bei AGS und ASS entwickeln sich im Laufe des Abends zunehmend auseinander. Bei den AGS steigt die Temperatur am Fuß bis um 20:30 Uhr an und sinkt dann zu 24:00 Uhr hin tendenziell ab. Bei den ASS steigt die Fußtemperatur bis um 18:30 Uhr leicht an und beginnt dann bis zum Ende des Abendprofils kontinuierlich abzusinken. Die Fußtemperatur der AGS liegt zu jedem Zeitpunkt über der der ASS. Am Ende des Abendprofils beträgt der Temperaturunterschied zwischen den Gruppen über 1 °C. Um 23:30 Uhr ist der Temperaturunterschied zwischen den Schlafqualitätsgruppen signifikant (Anhang A21). Bei den ASS fallen die Temperaturen bis 24:00 Uhr unter das Niveau von 17:00 Uhr. Bei den AGS sind sie am Ende des Abendprofils deutlich höher als am Anfang.



Ergebnisse

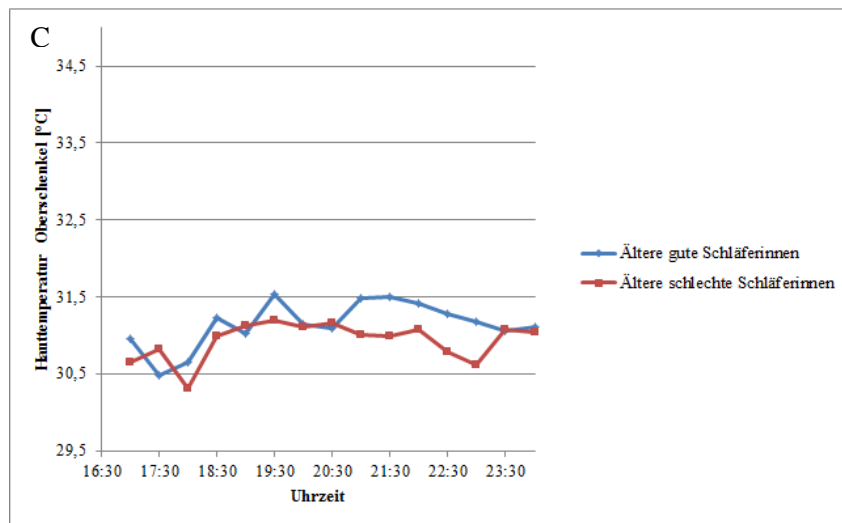


Abb. 53: Verlauf der peripheren Hauttemperaturen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr. Dargestellt sind A) der Verlauf der Handtemperatur bei 9 älteren guten und 13 älteren schlechten Schläferinnen, B) der Verlauf der Fußtemperatur bei 9 älteren guten und 14 älteren schlechten Schläferinnen und C) der Verlauf der Oberschenkeltemperatur bei 9 älteren guten und 14 älteren schlechten Schläferinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A20 zu finden. Ggf. abweichende Probandenzahlen zu einzelnen Messzeitpunkten sind ebenfalls in Anhang A20 zu finden. (* $p < 0,050$)

Bei der mittleren proximalen Hauttemperatur am Oberschenkel gibt es weniger deutliche Verläufe und Unterschiede zwischen den Gruppen der älteren Probandinnen. Besonders die AGS zeigen zwischen 17:00 und 21:00 Uhr Schwankungen im Bereich von ca. 0,5 bis 1,0 °C. Ab 21:00 Uhr beginnt die proximale PHT kontinuierlich abzusinken. Bei den ASS gibt es um 18:00 Uhr ebenfalls einen „Knick“ nach unten. Es folgt ein Temperaturanstieg bis 19:30 Uhr. Danach fällt die Temperatur tendenziell bis 23:00 Uhr ab, um bis 23:30 wieder um ca. 0,5 °C anzusteigen. Die Oberschenkeltemperaturen der beiden Probandengruppen befinden sich - von den Temperaturschwankungen abgesehen - bis um 20:30 Uhr auf etwa einem Niveau. Danach liegt die PHT der AGS wieder über der der ASS. Die Temperaturen gleichen sich ab 23:30 Uhr wieder an. Keiner der Temperaturunterschiede zwischen den Gruppen erreicht statistische Signifikanz (Anhang A21). Das Temperaturniveau am Oberschenkel liegt am Ende des Abendprofils etwas über den anfänglichen Temperaturen.

Der distal-proximale Gradient (DPG) im Abendprofil

Auch für das Abendprofil wurde der DPG jeweils zwischen Hand und Oberschenkel bzw. Fuß und Oberschenkel gebildet.

Ergebnisse

Jüngere und ältere Probandinnen:

Der mittlere DPG zu von jüngeren und älteren Probandinnen zu jedem Messzeitpunkt ist in Anhang A20 im Anhang zu finden, statistische Tests in Anhang A21. Der Verlauf des DPG für beide Gruppen ist in Abb. 54 dargestellt. Bei den jüngeren Probandinnen fällt der mittlere DPG zwischen Hand und Oberschenkel von 18:00 Uhr bis 18:30 Uhr stark ab. Das bedeutet, dass sich die proximale PHT im Verhältnis zur distalen PHT stark erhöht. Tendenziell setzt sich dieser Temperaturabfall bis 20:00 Uhr fort. Danach steigt der DPG bis 22:00 Uhr wieder deutlich an und bleibt bis zum Ende des Abendprofils - abgesehen von leichten Schwankungen - auf etwa einem Niveau. Der DPG der älteren Probandinnen verändert sich während des Abendprofils nur in geringem Maße. Er wird bis um 19:00 Uhr tendenziell größer, bleibt dann bis 22:00 Uhr auf etwa einem Niveau und sinkt nach einem Anstieg zu 22:30 Uhr hin bis zum Ende des Abendprofils wieder ab. Bei beiden Probandengruppen liegt der DPG während des gesamten Abendprofils im positiven Bereich. Die proximale PHT überschreitet somit zu keinem Zeitpunkt die distale PHT. Gegen 24:00 Uhr liegt der DPG bei beiden Gruppen auf dem gleichen Niveau wie um 17:00 Uhr. Die jüngeren Probandinnen haben ab 18:00 Uhr durchgehend einen niedrigeren DPG als die älteren Probandinnen. Von 18:00 bis 20:30 Uhr liegen die DPGs der beiden Gruppen signifikant auseinander (Anhang A21).

Der Verlauf des mittleren DPG zwischen Fuß und Oberschenkel unterscheidet sich von dem zwischen Hand und Oberschenkel. Bei den jüngeren Probandinnen steigt der DPG von 17:30 zu 18:00 Uhr hin abrupt an und fällt dann bis um 20:30 Uhr deutlich in den negativen Bereich ab. Bis zum Ende des Abendprofils ist dann wieder ein Anstieg zu beobachten, die Werte bleiben jedoch im negativen Bereich. Somit ist die proximale Temperatur ab 18:30 Uhr zunehmend höher als die distale Hauttemperatur am Fuß. Auch bei den älteren Probandinnen nimmt der DPG ab 18:30 Uhr negative Werte an. Entsprechend der Gruppe der jüngeren Frauen gibt es auch bei den älteren Frauen einen Temperaturanstieg von 17:00 zu 18:00 Uhr hin. Der folgende Abfall ist allerdings weniger deutlich ausgeprägt. Bis zum Ende des Abendprofils gibt es bei den älteren Probandinnen keine eindeutige Tendenz zum Abfall oder Anstieg des DPG. Die Werte liegen jedoch durchgehend im negativen Bereich. Der DPG der jüngeren Probandinnen liegt am 18:30 Uhr durchgängig unter dem der älteren Probandinnen. Um 20:00 Uhr und 20:30 sind die DPGs zwischen den Probandengruppen signifikant unterschiedlich (Anhang A21).

Ergebnisse

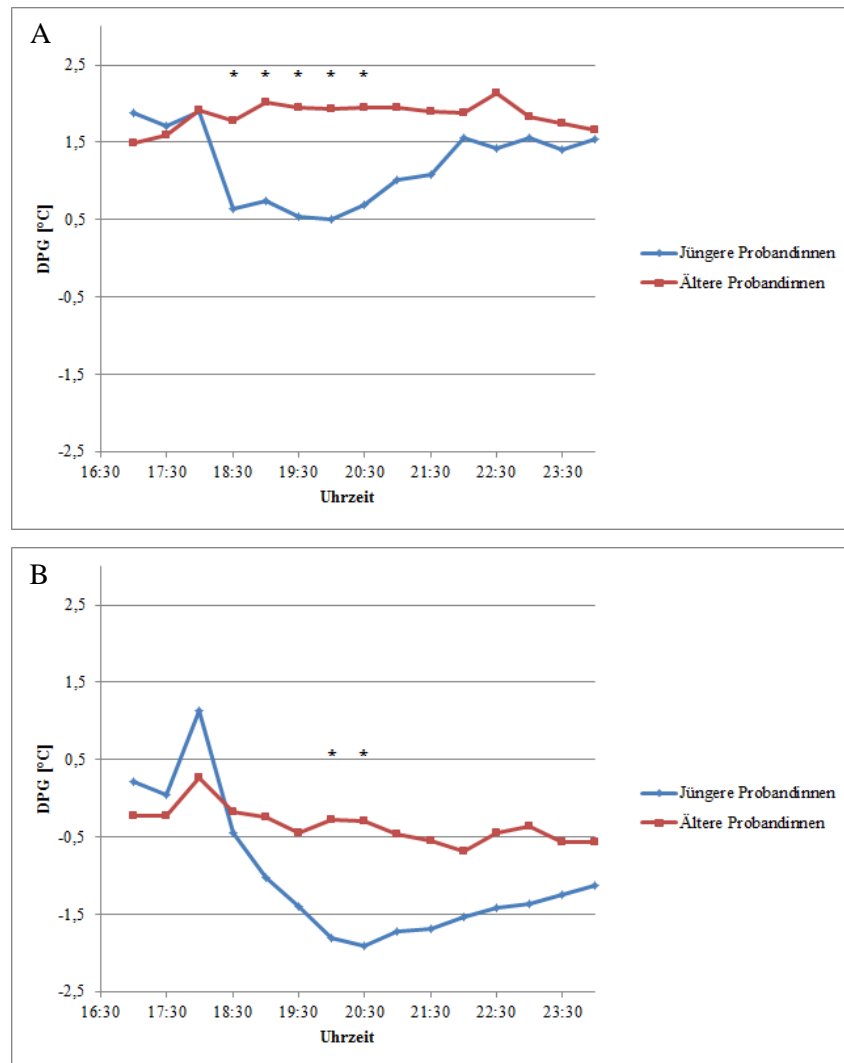


Abb. 54: Verlauf des DPG bei jüngeren und älteren Probandinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr. Dargestellt sind A) der Verlauf des DPG zwischen der Handtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 12 jüngeren und 22 älteren Probandinnen und B) der Verlauf des DPG zwischen der Fußtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 13 jüngeren und 23 älteren Probandinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle Standardabweichungen sind in Anhang A20 zu finden. Ggf. abweichende Probandenzahlen zu einzelnen Messzeitpunkten sind ebenfalls in Anhang A20 zu finden. (* $p < 0,050$)

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Auch der mittlere DPG zu allen Messzeitpunkten für die Schlafqualitätsgruppen ist in Anhang A20 angegeben, die statistischen Vergleiche in Anhang A21. Der mittlere DPG zwischen Hand und Oberschenkel bei AGS und ASS zeigt häufige Schwankungen während des Abendprofils. Am Ende des Abendprofils liegen die Werte des DPG auf etwa dem gleichen Niveau wie am Anfang. Bei beiden Gruppen liegt der mittlere DPG durchgehend im positiven Bereich. Die Werte der AGS liegen zu fast allen Messzeitpunkten über denen der ASS. Zu keinem Zeitpunkt unterscheidet sich der DPG zwischen Hand und Oberschenkel zwischen den AGS und ASS signifikant (Anhang A21).

Ergebnisse

Für den Verlauf des mittleren DPG zwischen Fuß und Oberschenkel ist bei den AGS ebenfalls keine klare Tendenz zu erkennen. Auch hier gibt es - besonders zwischen 17:00 und 21:00 Uhr - Schwankungen. Der DPG steigt dann bis 24:00 Uhr tendenziell an. Bei den ASS ist trotz der Temperaturschwankungen ein tendenzieller Abfall des DPG bis zum Ende des Abendprofils zu erkennen. Der DPG der AGS liegt fast durchgehend im positiven, der der ASS ab 18:30 Uhr im negativen Bereich. Um 24:00 Uhr ist der DPG bei den AGS positiver als am Anfang, bei den ASS hingegen negativer. Der DPG der AGS ist ab 17:30 Uhr zu allen Messzeitpunkten höher als der der ASS. Um 23:30 und 24:00 Uhr unterscheidet sich der DPG zwischen den Gruppen signifikant (Anhang A21).

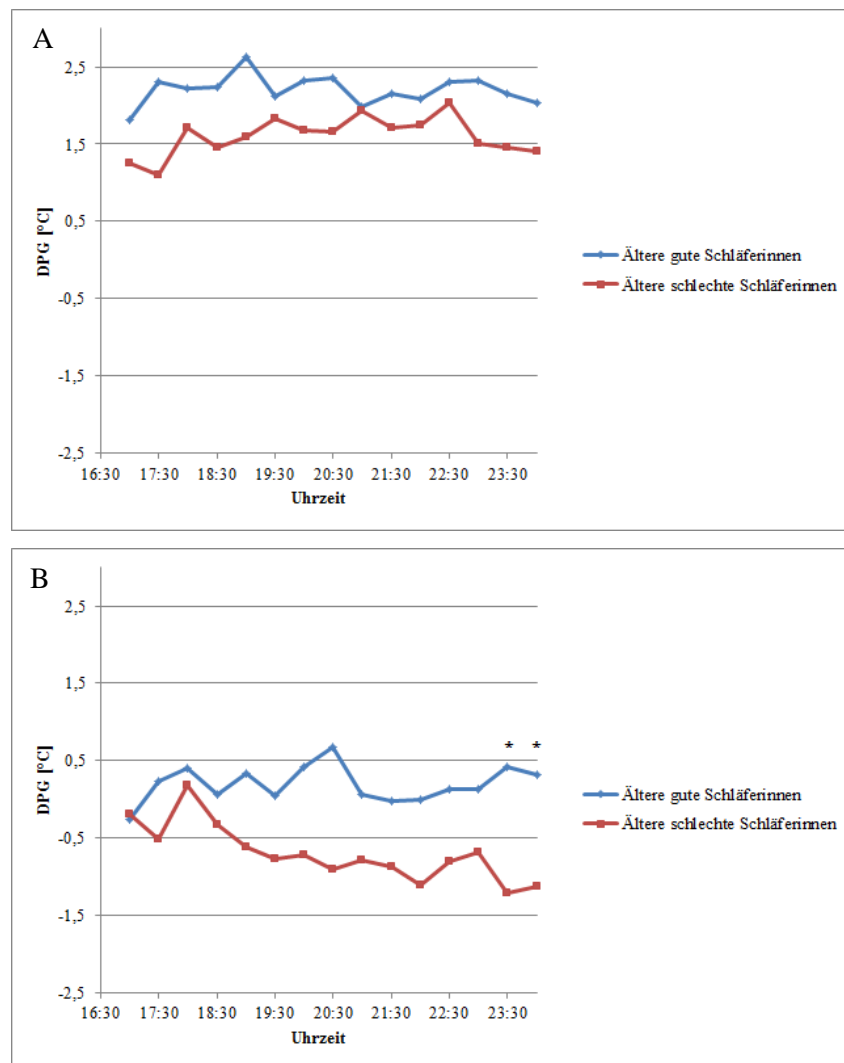


Abb. 55: Verlauf des DPG bei älteren guten und schlechten Schläferinnen unter kontrollierten Bedingungen von 17:00 Uhr bis 24:00 Uhr. Dargestellt sind A) der Verlauf des DPG zwischen der Handtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 9 älteren guten und 13 älteren schlechten Schläferinnen und B) der Verlauf des DPG zwischen der Fußtemperatur und der Oberschenkeltemperatur bei 9 älteren guten und 14 älteren schlechten Schläferinnen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Standardabweichungen nicht grafisch dargestellt. Alle

Ergebnisse

Standardabweichungen sind in Anhang A20 zu finden. Ggf. abweichende Probandenzahlen zu einzelnen Messzeitpunkten sind ebenfalls in Anhang A20 zu finden. (* $p < 0,050$)

6.3.3 Cortisol-Sekretion am Abend und am Morgen

Bei der Untersuchung der Cortisol-Konzentrationen zu verschiedenen Zeitpunkten mussten je nach Variable einige Probandinnen von der Analyse ausgeschlossen werden, da sie beispielsweise die Speichelprobe beim Aufwachen zu spät gesammelt hatten, einige der anderen Speichelproben in falschen Zeitabständen gesammelt hatten oder Proben durch Blut verunreinigt waren. So kommen bei unterschiedlichen Vergleichen unterschiedliche Probandenzahlen zustande.

Tab. 42 gibt eine Übersicht über die mittleren Cortisol-Konzentrationen für alle vier Probandengruppen vor dem Zubettgehen, beim Aufwachen (T0), 30 min (T30), 45 min (T45) und 60 min (T60) später sowie die CAR und den *Slope of Decline*.

Tab. 42: Mittlere Cortisol-Konzentrationen und Standardabweichungen am Abend und im Morgenprofil für jüngere und ältere Probandinnen sowie ältere gute und schlechte Schläferinnen.

Zeitpunkt der Probenahme / Variable	Cortisol-Konzentration ($\mu\text{g}/\text{dl}$)											
	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Vor Zubettgehen	13	0,087	0,074	23	0,104	0,123	9	0,064	0,029	14	0,130	0,153
0 min nach Erwachen	13	0,393	0,186	22	0,598	0,280	8	0,660	0,289	14	0,562	0,279
30 min nach Erwachen	13	0,660	0,243	21	1,044	0,432	8	1,213	0,401	13	0,940	0,431
45 min nach Erwachen	12	0,754	0,260	22	0,954	0,372	8	1,105	0,380	14	0,867	0,352
60 min nach Erwachen	13	0,747	0,249	21	0,788	0,316	7	0,765	0,218	14	0,800	0,363
CAR	13	0,267	0,247	20	0,452	0,437	8	0,554	0,435	12	0,384	0,443
Slope of Decline ^a	13	0,020	0,013	22	0,031	0,017	8	0,039	0,019	14	0,027	0,015

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, CAR = *Cortisol Awakening Response*, ^a ($\mu\text{g}/\text{dl}$) x min

Jüngere und ältere Probandinnen:

Am Abend des sechsten Untersuchungstages, vor der ambulanten Messung der Schlafparameter mit einem mobilen EEG-Gerät, wurde von den Probandinnen eine Speichelprobe zur Bestimmung der abendlichen Cortisol-Konzentration gesammelt. Bei jüngeren und älteren Probandinnen ist die mittlere Cortisol-Konzentration am Abend mit 0,087 $\mu\text{g}/\text{dl}$ bzw. 0,104 $\mu\text{g}/\text{dl}$ deutlich niedriger als die Konzentrationen am Morgen (Tab. 42, Abb. 56 A). Jüngere Probandinnen haben vor dem Zubettgehen eine niedrigere Cortisol-Konzentration als ältere Probandinnen. Dieser Unterschied ist statistisch nicht

Ergebnisse

signifikant (Tab. 43). Bei den jüngeren Probandinnen steigt die mittlere Cortisol-Konzentration vom Zeitpunkt des Erwachens bis 45 min später an. Zwischen den Zeitpunkten T45 und T60 gibt es nur einen minimalen Konzentrationsunterschied von $0,007 \mu\text{g/dl}$ (Abb. 56 B). Bei den älteren Probandinnen steigt die mittlere Cortisol-Konzentration von T0 bis T30 an. Danach fällt sie bis T60 wieder ab. Die Cortisol-Konzentration der jüngeren Probandinnen ist nach dem Erwachen und 30 min später signifikant niedriger als die der älteren Probandinnen ($p < 0,050$) (Tab. 43). Jüngere Probandinnen zeigen auch zu den Zeitpunkten T45 und T60 niedrigere Cortisol-Konzentrationen als die älteren Frauen, jedoch sind die beobachteten Unterschiede hier nicht signifikant (Tab. 43). Die CAR, also die Differenz zwischen der Cortisol-Konzentration 30 min nach dem Erwachen und der Cortisol-Aufwachkonzentration (T0), erreicht bei den jüngeren Probandinnen einen Wert von $0,267 \mu\text{g/dl}$ und ist damit niedriger als die CAR der älteren Probandinnen mit $0,452 \mu\text{g/dl}$. Der Unterschied zwischen den Gruppen ist nicht statistisch signifikant (Tab. 43).

Als weiteres Maß wurde der *Slope of Decline* (SOD) der Probandengruppen bestimmt. Er gibt an, wie stark sich die Cortisol-Konzentration über eine ausgewählte Zeitspanne vom Morgen zum Abend hin verändert. Sowohl bei jüngeren als auch bei älteren Probandinnen ist der mittlere SOD positiv, d. h. die Cortisol-Konzentrationen sinken zum Abend hin ab (Abb. 56 C). Jüngere Probandinnen haben einen signifikant kleineren SOD als die älteren Frauen ($p < 0,050$) (Tab. 43), bei ihnen sinkt die Cortisol-Konzentration über den Tag hinweg somit weniger stark ab als bei den älteren Probandinnen.

Ergebnisse

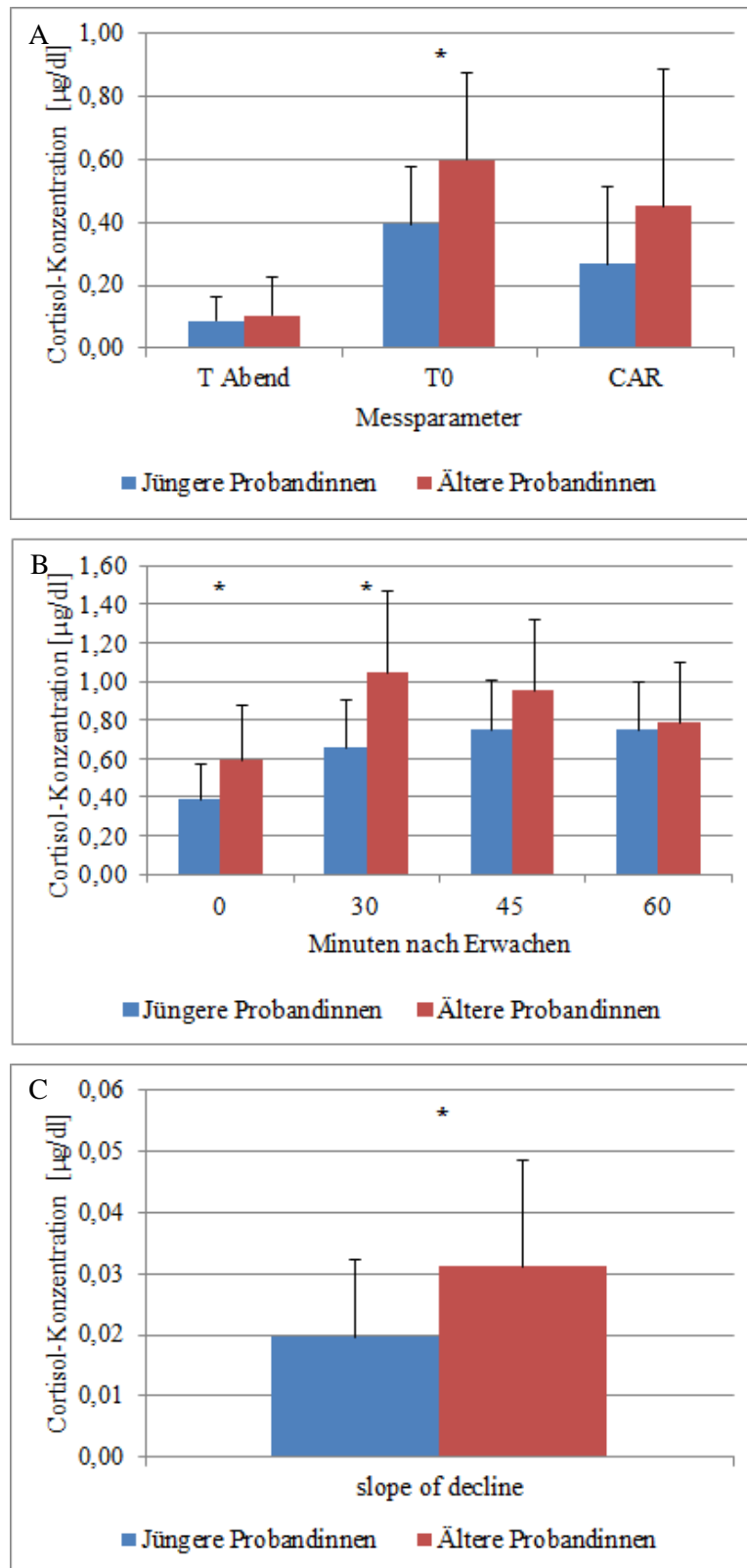


Abb. 56: Cortisol-Konzentrationen bei jüngeren und älteren Probandinnen. A) Vor dem abendlichen Zubettgehen (TAbend), beim Erwachen (T0) und während der CAR. B) Im Cortisol-Morgenprofil. C) Für den Slope of Decline. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. (* $p < 0,050$)

Ergebnisse

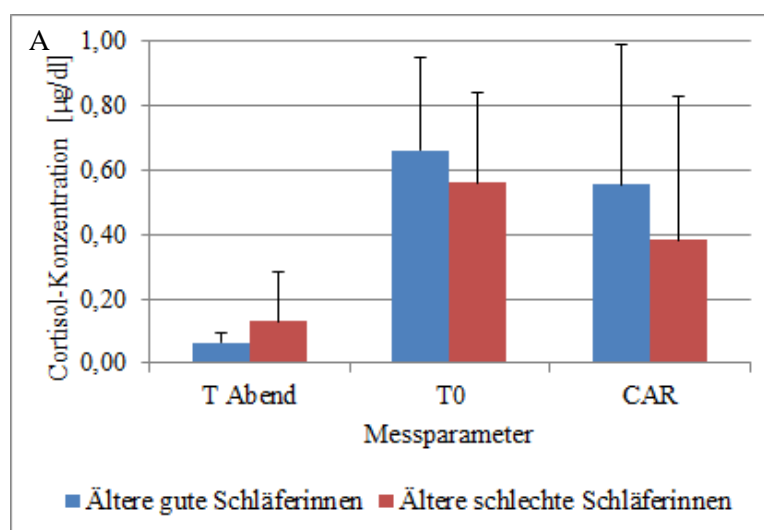
Tab. 43: Vergleich der mittleren Cortisol-Konzentrationen, der CAR und des Slope of Decline unter natürlichen Bedingungen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. Für die in die Tests eingeflossenen Individuenzahlen vgl. Tab. 42.

Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen		Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen	
	t	p	u	p
Cortisol Abendwert (µg/dl)	0,46	0,651	39,50	0,139
Cortisol T0: Konzentration (µg/dl)	2,34	0,026	45,00	0,453
Cortisol T30: Konzentration (µg/dl)	3,31	0,002	32,00	0,148
Cortisol T45: Konzentration (µg/dl)	1,65	0,109	39,00	0,246
Cortisol T60: Konzentration (µg/dl)	0,40	0,690	46,00	0,823
CAR (T30-T0) (µg/dl)	1,39	0,176	37,00	0,396
Slope of Decline	2,10	0,044	33,00	0,116

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt, ^a (µg/dl) x min

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Auch bei den AGS und ASS ist der mittlere Cortisol-Abendwert niedriger als die Konzentration beim Erwachen (Abb. 57 A). Die abendliche Cortisol-Konzentration ist bei den ASS höher als bei den AGS. Im Morgenprofil steigt die Cortisol-Konzentration bei den AGS von T0 zu T30 hin an und fällt dann bis T60 ab (Abb. 57 B). Genauso verhält es sich bei den ASS, allerdings ist der Abfall nicht so stark ausgeprägt wie bei den AGS. Die Cortisol-Konzentrationen im gesamten Morgenprofil sind bei den AGS höher als bei den ASS. Die AGS haben eine größere mittlere CAR und einen höheren mittleren SOD als die ASS. Das bedeutet, dass die Cortisol-Konzentration bei den AGS am Morgen stärker ansteigt und über den Tag hinweg stärker sinkt als bei den ASS. Keiner der beschriebenen Unterschiede zwischen den Schlafqualitätsgruppen ist statistisch signifikant (Tab. 43).



Ergebnisse

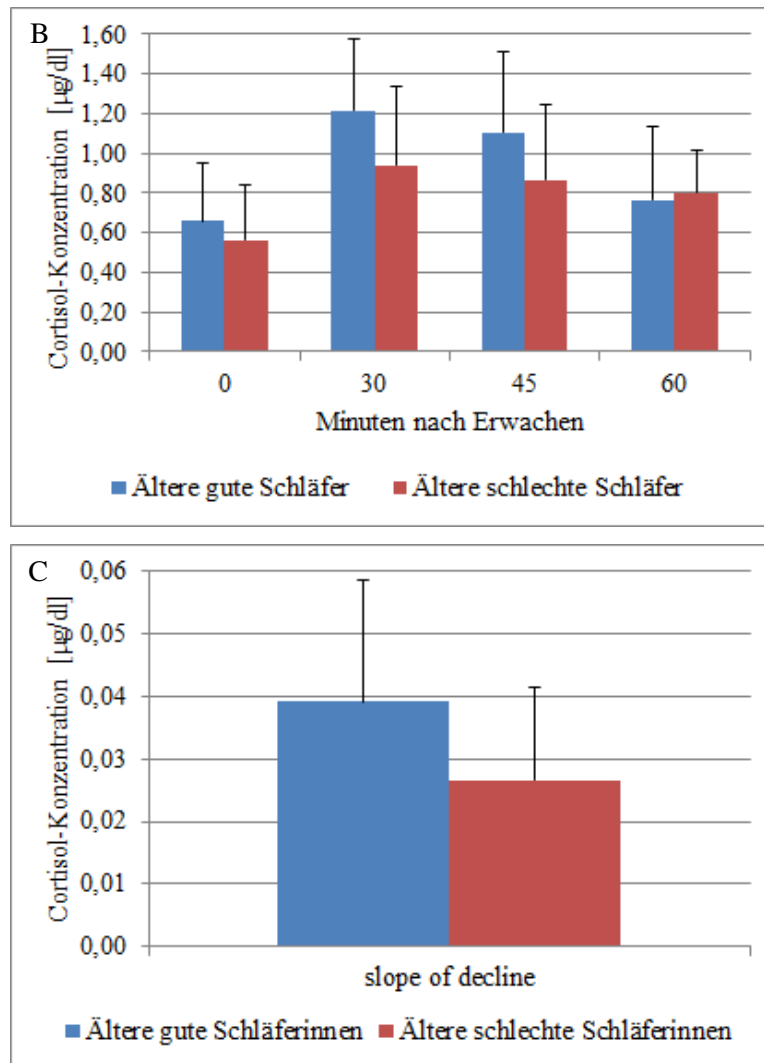


Abb. 57: Cortisol-Konzentrationen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen. A) Vor dem abendlichen Zubettgehen (TAbend), beim Erwachen (T0) und während der CAR. B) Im Cortisol-Morgenprofil. C) Für den Slope of Decline. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. (* $p < 0,050$)

Vergleicht man die SOD-Werte der beiden älteren Gruppen mit dem der jüngeren Probandinnen, so sieht man, dass die ASS einen weniger starken Konzentrationsabfall haben als die jüngeren Frauen, die AGS dagegen einen stärkeren Abfall.

6.4 Gruppenvergleiche nach Schlaf-Wach-Rhythmus und Nachtschlafstruktur

In der zweiten Fragestellung sollte untersucht werden, ob sich Probandinnen abhängig vom Alter oder der Schlafqualität im Alter in Bezug auf ihren Schlaf-Wach-Rhythmus, die Nachtschlafstruktur und die körperliche Aktivität unterscheiden.

6.4.1 Der Schlaf-Wach-Rhythmus

Der Schlaf-Wach-Rhythmus der Probandinnen wurde subjektiv und objektiv untersucht. Die Probandinnen führten während der Untersuchungswoche ein Schlaftagebuch und ein Tagesprotokoll, in denen sie ihre Zubettgeh- und Aufstehzeiten sowie einige der ihren Schlaf beschreibenden Merkmale notierten. Gleichzeitig trugen sie während der gesamten Untersuchungszeit einen Aktigrafen (Actiwatch2) an ihrem Handgelenk, der ihr Schlafverhalten über die Messung der Bewegungsaktivität aufzeichnete.

Verschiedene Variablen wurden mit beiden Methoden ermittelt und sind somit miteinander vergleichbar. In Tab. 44 sind Variablen aus dem DGSM-Schlaftagebuch und aus der Aktigrafie-Messung aufgeführt, die einander entsprechen.

Tab. 44: Einander entsprechende und miteinander vergleichbare Variablen zum Schlaf-Wach-Rhythmus in der Untersuchungswoche zwischen subjektiven Angaben aus dem DGSM-Schlaftagebuch und der objektiven Actiwatch2-Messung.

DGSM (subjektive Methode)	AW2 (objektive Methode)
Einschlaflatenz (min)	AW2 Einschlaflatenz (min)
Schlafeffizienz (%)	AW2 Schlafeffizienz (%)
Wachzeiten in Nacht (min)	AW2 Wachzeiten in der Nacht (min)
Anzahl nächtlicher Aufwacher (Arousals)	AW2 Anzahl nächtlicher Aufwacher (Arousals)

AW2 = Actiwatch2

Zubettgehzeit und Aufstehzeit werden für die aktimetrische Messung nicht separat angegeben, da diese Werte bei der Datenanalyse teilweise den Angaben aus dem DGSM-Schlaftagebuch angepasst wurden (vgl. Kapitel 5.3.2). Somit wäre eine weitere Aussage über diese Messwerte redundant und ein Vergleich zwischen beiden Messmethoden verfälscht. Das Gleiche gilt für die Liegezeit und die Schlafdauer, die durch die Zubettgeh- und Aufstehzeit definiert werden.

Jüngere und ältere Probandinnen:

In Tab. 45 sind Angaben zum Schlaf-Wach-Rhythmus der jüngeren und älteren Probandinnen aus dem DGSM-Schlaftagebuch und dem Tagesprotokoll aufgeführt. In Tab. 47 sind die durch die AW2 gemessenen Daten zum Schlaf-Wach-Verhalten der beiden Gruppen zu finden.

Ergebnisse

Tab. 45: Subjektive Angaben zum Schlaf-Wach-Rhythmus der Probandinnen während der Untersuchungswoche aus DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Zubettgehzeit (Uhrzeit)	13	23:35	43,0 ^a	23	22:56	43,6 ^a	9	22:50	49,9 ^a	14	23:00	40,4 ^a
Einschlafzeit (Schlaflatenz) (min)	13	19,0	18,9	23	22,0	14,4	9	18,0	7,5	14	24,5	17,2
Anzahl nächtlicher Aufwacher	13	1,3	0,9	23	1,8	0,9	9	1,8	0,8	14	1,7	1,0
Wachzeiten in Nacht (min)	13	24,3	18,4	20	35,1	38,9	9	17,0	9,4	11	49,9	47,6
Aufwachzeit (Uhrzeit)	13	07:33	45,2 ^a	23	06:31	45,7 ^a	9	06:42	33,8 ^a	14	06:24	51,9 ^a
Schlafdauer (min)	13	484,1	58,4	23	433,0	57,7	9	475,6	49,5	14	405,6	45,4
Liegezeit (min)	13	527,4	46,0	20	491,0	58,1	9	510,6	52,2	11	475,0	60,0
Schlafeffizienz (%)	13	91,7	6,9	20	88,4	7,6	9	93,2	2,7	11	84,5	8,1
Aufstehzeit (Uhrzeit)	13	07:28	62,3 ^a	23	06:50	50,2 ^a	9	07:03	41,4 ^a	14	06:42	55,0 ^a
Schläfrig geworden (Uhrzeit)	13	22:46	60,8 ^a	20	22:01	50,4 ^a	9	22:21	33,3 ^a	11	21:45	57,7 ^a

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, ^aSD in Minuten

Jüngere Probandinnen gingen im Mittel um 23:35 Uhr zu Bett (Tab. 45). Damit liegt die Zubettgehzeit der jüngeren Frauen ca. 40 min später als die der älteren. Außerdem wurden die jüngeren Probandinnen abends später schläfrig als die ältere Probandengruppe. Mit im Mittel 19 min brauchten jüngere Probandinnen weniger lange zum Einschlafen als die älteren Probandinnen, der Unterschied beträgt hier jedoch nur drei Minuten. Nach eigenen Angaben wachten die jüngeren Probandinnen nachts weniger häufig auf und waren in der Nacht insgesamt weniger lange wach als die Gruppe der älteren Frauen. Zudem wachten sie im Mittel ca. 62 min später auf, hatten eine um ca. 51 min längere Schlafdauer und eine längere Liegezeit als die älteren Frauen. Mit 91,7 % wiesen die jüngeren Probandinnen eine höhere Schlafeffizienz auf als die älteren Probandinnen mit 88,4 %. In Abb. 58 ist eine Auswahl an subjektiven Schlafparametern für jüngere und ältere Probandinnen dargestellt.

Ergebnisse

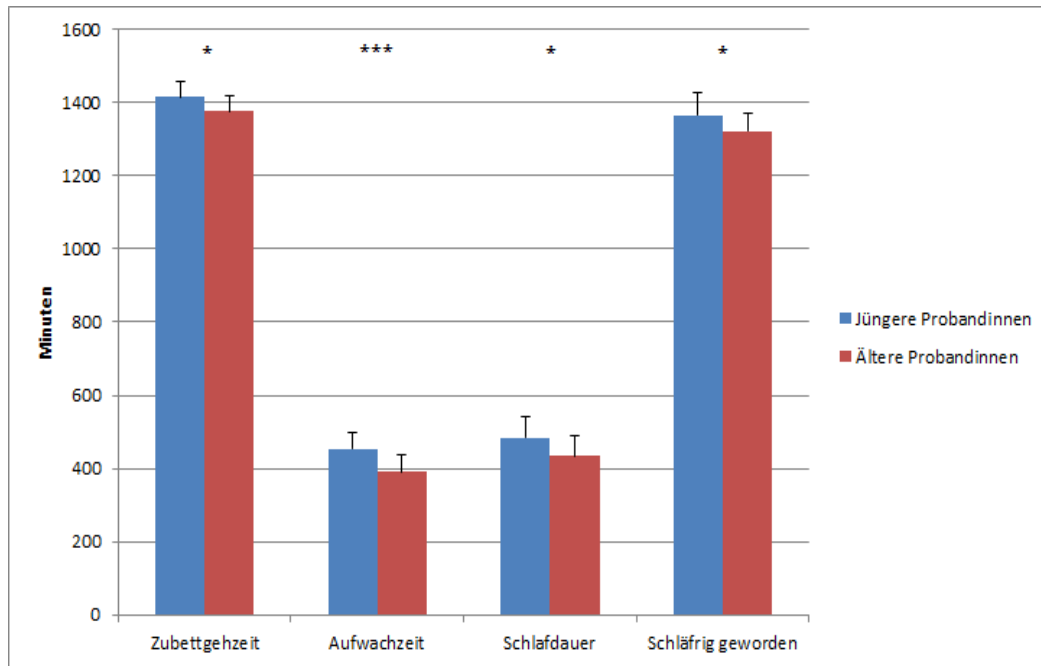


Abb. 58: Signifikante Unterschiede zwischen den subjektiven Schlafparametern, die den Schlaf-Wach-Rhythmus beschreiben, zwischen jüngeren und älteren Probandinnen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Für die in die Vergleiche eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 45. (* $p < 0,050$, ** $p < 0,010$, *** $p < 0,001$)

Ein Vergleich mit dem t-Test für unverbundene Stichproben bzw. dem Mann-Whitney-u-Test (Tab. 46) ergab für die in Abb. 58 dargestellten Variablen signifikante Unterschiede. Die Zubettgeh- und Aufwachzeit lagen bei den jüngeren Probandinnen signifikant später als bei den älteren. Die jüngeren Frauen werden signifikant später schläfrig und haben eine signifikant längere Schlafdauer und Liegezeit als die älteren Probandinnen.

Ergebnisse

Tab. 46: Vergleich der subjektiven Angaben aus DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche zwischen jüngeren und älteren Probandinnen. Für die in den Vergleich eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 45.

Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen	
	t	p
Zubettgehzeit (min)	-2,58	0,015
Einschlafzeit (Schlaflatenz) (min)	0,53	0,597
Anzahl nächtlicher Aufwacher	1,42	0,165
Wachzeiten in Nacht (min)	0,93	0,360
Aufwachzeit (min)	-3,90	< 0,001
Schlafdauer (min)	-2,54	0,016
Liegezeit (min)	-1,90	0,067
Schlafeffizienz (%)	-1,27	0,214
Aufstehzeit (min)	-2,01	0,052
Schläfrig geworden (min)	-2,30	0,028

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

Aktimetrie

Eine Übersicht über die mit dem Aktigrafen erfassten Variablen zum Schlaf-Wach-Rhythmus der jüngeren und älteren Probandinnen ist in Tab. 47 aufgeführt. Durch die Aktigrafie wurden eine kürzere Einschlafzeit sowie häufigeres nächtliches Erwachen und längere nächtliche Wachzeiten der jüngeren Probandinnen im Vergleich zu den älteren Frauen aufgezeichnet. Zudem haben die jüngeren Probandinnen mit 80,4 % eine etwas höhere Schlafeffizienz als die älteren Probandinnen mit 78,8 %. Die Richtung der Unterschiede zwischen den beiden Gruppen stimmt zwischen den DGSM-Angaben und der Aktigrafie-Messung bis auf zwei Ausnahmen überein. Dies sind die Anzahl der nächtlichen Aufwacher und die Dauer der nächtlichen Wachzeiten. Eine Auswahl der durch Aktigrafie erfassten Schlafparameter für jüngere und ältere Probandinnen ist in Abb. 59 dargestellt.

Tab. 47: Deskriptive Statistik zum mittels Aktigrafie erfassten Schlaf-Wach-Rhythmus der Probandinnen während der Untersuchungswoche.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
AW2 Einschlafzeit (min)	13	10,0	6,3	23	20,6	17,8	9	25,9	21,4	14	17,1	14,8
AW2 Schlafeffizienz (%)	13	80,4	5,3	23	78,8	6,4	9	77,5	7,2	14	79,6	6,0
AW2 Wachzeiten in der Nacht (min)	13	81,4	26,4	23	72,8	22,7	9	78,0	22,9	14	69,5	22,8
AW2 Anzahl nächtlicher Aufwacher (Arousals)	13	30,6	6,4	23	25,7	6,7	9	27,5	5,5	14	24,5	7,4

N = Probandenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, AW2 = Actiwatch2

Ergebnisse

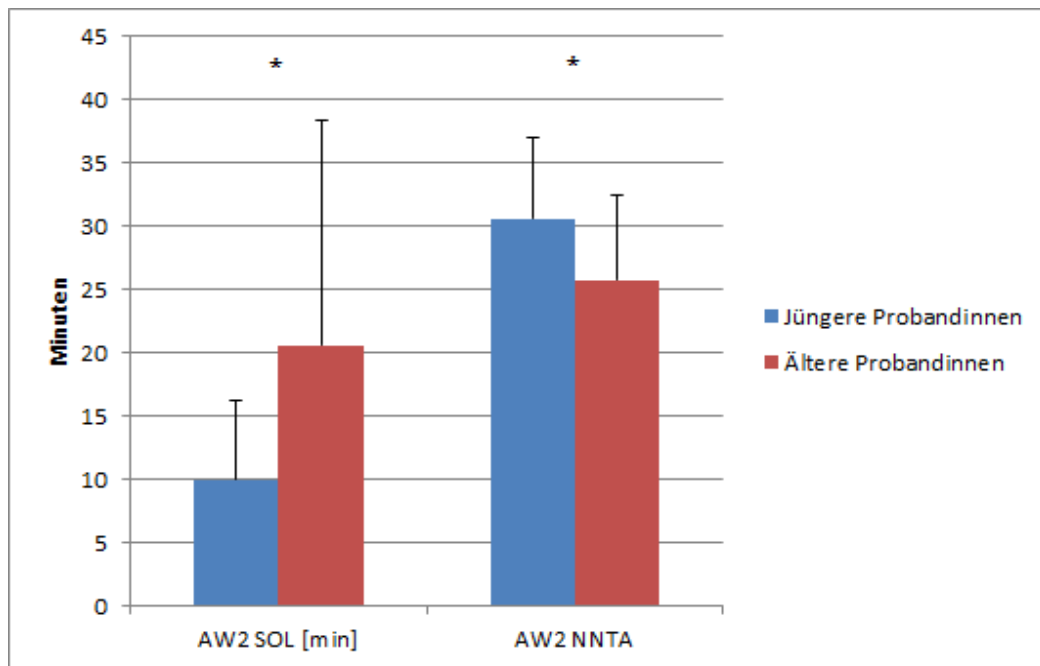


Abb. 59: Vergleich der aktimetrisch erfassten Variablen zum Schlaf-Wach-Rhythmus zwischen jüngeren und älteren Probandinnen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Für die in die Vergleiche eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 47. SOL = Einschlaf latenz (sleep onset latency), NNTA = Anzahl nächtlicher Aufwacher (number of night-time awakenings) (* $p < 0,050$)

Signifikant unterscheiden sich die Gruppen der jüngeren und älteren Probandinnen bezüglich der aktimetrisch erfassten Einschlaf latenz ($p = 0,015$) und der Anzahl der nächtlichen Aufwacher ($p = 0,041$) (Tab. 48). Alle anderen Unterschiede erreichen keine statistische Signifikanz und müssen daher als zufällig angesehen werden.

Tab. 48: Vergleich der Aktigrafie-Messparameter zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche zwischen jüngeren und älteren Probandinnen. Für die in den Vergleich eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 47.

Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen	
	t	p
AW2 Einschlaf latenz (min)	2,59	0,015
AW2 Schlafeffizienz (%)	-0,76	0,454
AW2 Wachzeiten in der Nacht (min)	-1,03	0,309
AW2 Anzahl nächtlicher Aufwacher (Arousals)	-2,12	0,041

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, AW2 = Actiwatch2; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Die mittleren Werte und Standardabweichungen der DGSM-Variablen für ältere gute und schlechte Schläferinnen finden sich in Tab. 45 (S. 150). AGS gingen während der Untersuchungswoche etwas

Ergebnisse

früher zu Bett als ASS. Zudem wurden die AGS abends etwa 35 min später schläfrig als die ASS. AGS brauchten nach eigenen Angaben weniger lange zum Einschlafen und wachten nachts geringfügig häufiger auf, waren jedoch in der Nacht insgesamt weniger lang wach als die ASS. Die AGS wachten ca. 19 min später auf, schliefen ca. 70 min länger und hatten eine längere Liegezeit als die Gruppe der ASS. Auch die aus dem DGSM-Schlafstagebuch errechnete Schlafeffizienz liegt bei den AGS mit 93,2 % deutlich höher als die der ASS mit 84,5 %. In nachfolgender Abb. 60 ist eine Auswahl an subjektiven Schlafparametern für AGS und ASS dargestellt, in Tab. 49 sind die statistischen Vergleiche zwischen den subjektiven Angaben der AGS und ASS zu finden. Die Schlafqualitätsgruppen unterscheiden sich in nur zwei Variablen signifikant. Dies sind die mittlere Schlafdauer ($p < 0,010$) und die Schlafeffizienz ($p < 0,010$).

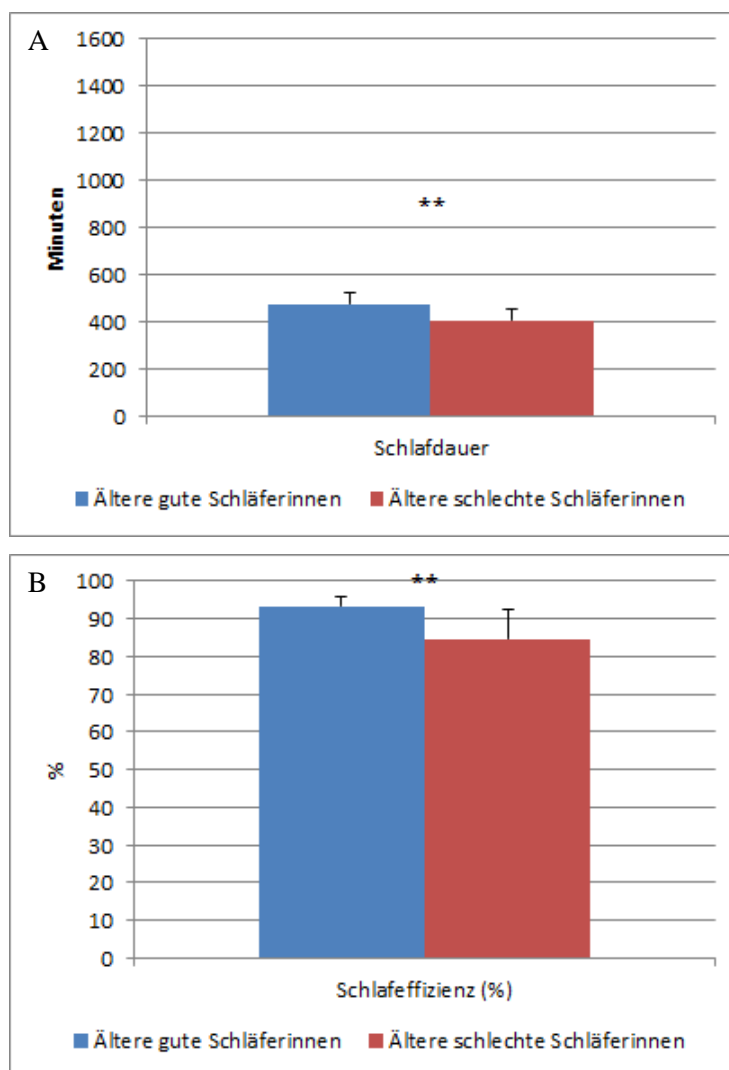


Abb. 60: Signifikante Unterschiede zwischen den subjektiven Schlafparametern, die den Schlaf-Wach-Rhythmus beschreiben, zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. A) Schlafdauer, B) Schlafeffizienz. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Für die in die Vergleiche eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 45. (** $p < 0,010$)

Ergebnisse

Tab. 49: Vergleich der subjektiven Angaben zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche aus DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. Für die in den Vergleich eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 45.

Variable	Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen	
	u	p
Zubettgehzeit (min)	52,00	0,488
Einschlafzeit (Schlaflatenz) (min)	51,00	0,450
Anzahl nächtlicher Aufwacher	57,50	0,728
Wachzeiten in Nacht (min)	25,00	0,063
Aufwachzeit (min)	50,00	0,413
Schlafdauer (min)	16,00	0,003
Liegezeit (min)	32,00	0,184
Schlafeffizienz (%)	15,00	0,009
Aufstehzeit (min)	52,00	0,488
Schläfrig geworden (min)	30,50	0,149

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

Aktimetrie

Die mit dem Aktigrafen erfassten Variablen zum Schlaf-Wach-Rhythmus für die Gruppen der AGS und ASS sind in Tab. 47 (S. 152) aufgeführt. Sowohl die mittlere Anzahl an nächtlichen Aufwachern als auch die nächtliche Wachzeit liegen bei den AGS höher als bei den ASS. Beim Vergleich der Variablen mit den Angaben aus dem DGSM-Schlafstagebuch fallen Unterschiede bei der Einschlaflatenz, der Schlafeffizienz und der Anzahl an nächtlichen Aufwachern ins Auge. Die Schlafeffizienz der AGS ist nach subjektiven Angaben höher als die der ASS, nach objektiver Messung jedoch etwas geringer. Bei der Einschlaflatenz und der Anzahl der nächtlichen Aufwacher haben die AGS nach eigenen Angaben geringere Werte als die ASS, nach der objektiven Messung jedoch höhere.

In Tab. 50 sind die statistischen Vergleiche zwischen AGS und ASS aufgeführt. Die beiden Probandengruppen unterscheiden sich in keiner der mit dem Aktigrafen erfassten Variablen signifikant. Insgesamt gibt es mehr signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen als zwischen den Gruppen unterschiedlicher Schlafqualität.

Ergebnisse

Tab. 50: Vergleich der Actiwatch2-Messparameter zum Schlaf-Wach-Rhythmus während der Untersuchungswoche zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. Für die in den Vergleich eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Tab. 47.

Variable	Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen	
	u	p
AW2 Einschlafzeit (min)	48,50	0,361
AW2 Schlafeffizienz (%)	53,50	0,549
AW2 Wachzeiten in der Nacht (min)	57,00	0,705
AW2 Anzahl nächtlicher Aufwacher (Arousals)	43,00	0,208

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, AW2 = Actiwatch2; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

6.4.2 Die Nachtschlafstruktur

Die durch das ambulante EEG-Gerät Quisi® in der sechsten Untersuchungsnacht erfassten Variablen zum Nachtschlaf aller Probandengruppen sind in Anhang A22 aufgeführt, die dazugehörige Statistik in Anhang A23. Die Gruppenvergleiche erfolgen zunächst für jüngere und ältere Probandinnen, anschließend für ältere gute und schlechte Schläferinnen.

Jüngere und ältere Probandinnen:

Jüngere Probandinnen haben eine höhere mittlere effektive Schlafdauer als ältere Probandinnen (Anhang A22). Das bedeutet, dass sie mehr Zeit im Bett tatsächlich schlafend verbracht haben. Die folgend beschriebenen Variablen beziehen sich auf die effektive Schlafdauer (*total sleep time*, TST). Der mittlere REM-Schlaf-Anteil an der tatsächlich geschlafenen Zeit ist bei den jüngeren Probandinnen niedriger als bei den älteren Probandinnen. Ebenso verhält es sich mit Leichtschlafstadium S1. Im Gegensatz dazu zeigen die jüngeren im Vergleich zu den älteren Probandinnen mehr Leichtschlafstadium S2, insgesamt mehr Leichtschlaf (S1 + S2) und Anteile der Tiefschlafstadien S3 und S4 sowie dem gesamten Tiefschlaf (S3 + S4). Keiner der beschriebenen Unterschiede ist statistisch signifikant.

Im Folgenden sollen die Nachtschlafvariablen bezogen auf Nachtdrittel zwischen den Gruppen verglichen werden. In den einzelnen Nachtdritteln werden die Variablen auf die Schlafzeit (*sleep period time*, SPT) bezogen, d. h. auf die geschlafene Zeit ohne Abzug der innerhalb dieser Zeitspanne wach verbrachten Zeit. Im ersten Nachtdrittel verbrachten die jüngeren Probandinnen einen geringeren Anteil der Schlafzeit im REM-Schlaf und im Schlafstadium S1 als die älteren Probandinnen. Für S2 und die Tiefschlafstadien S3 und S4 zeigten sie höhere Anteile als die älteren Frauen. Jüngere Probandinnen verbrachten innerhalb des ersten Drittels der Nacht anteilig weniger Zeit wach als die

Ergebnisse

ältere Probandengruppe. Die Unterschiede in den Anteil an Schlafstadium S1 und S4 zwischen den Gruppen sind statistisch signifikant ($p = 0,027$; $p = 0,009$).

Im zweiten Nachtdrittel verbrachten die jüngeren Probandinnen anteilig mehr Zeit im Leichtschlafstadium S2 als die Gruppe der älteren Probandinnen ($p = 0,008$), hatten jedoch für die restlichen Schlafstadien (S1, S3, S4 und REM) niedrigere Werte. Auch im zweiten Nachtdrittel waren die jüngeren Probandinnen anteilig weniger lange wach als die älteren. Im dritten Nachtdrittel verbrachten die jüngeren Probandinnen anteilig mehr Zeit in den Schlafstadien S2 und S4 als die älteren Probandinnen und einen geringeren Anteil der Zeit wach als diese. Diese Unterschiede erreichen keine statistische Signifikanz.

Bezogen auf die gesamte Nacht zeigt sich folgendes Bild: Aufzeichnungsbeginn (d. h. Zubettgehzeit), Schlafbeginn, Schlafmitte und Aufwachzeit liegen bei den jüngeren Probandinnen später als bei den älteren Probandinnen. Außerdem haben die jüngeren Probandinnen eine kürzere Einschlaf Latenz, weniger wach verbrachte Zeit und eine höhere Gesamtschlafdauer (SPT) und Schlafeffizienz. Mit Ausnahme der Schlafstadien S3 und REM erreichen die jüngeren Frauen nach Schlafbeginn alle Schlafstadien früher (kürzere Latenzen) als die älteren Frauen. Statistische Signifikanz erreicht bezogen auf die gesamte Nacht nur der Unterschied zwischen der Schlafmitte der Altersgruppen ($p = 0,032$). In Abb. 61 sind die Variablen aufgeführt, die sich zwischen den Probandengruppen signifikant unterscheiden.

Ergebnisse

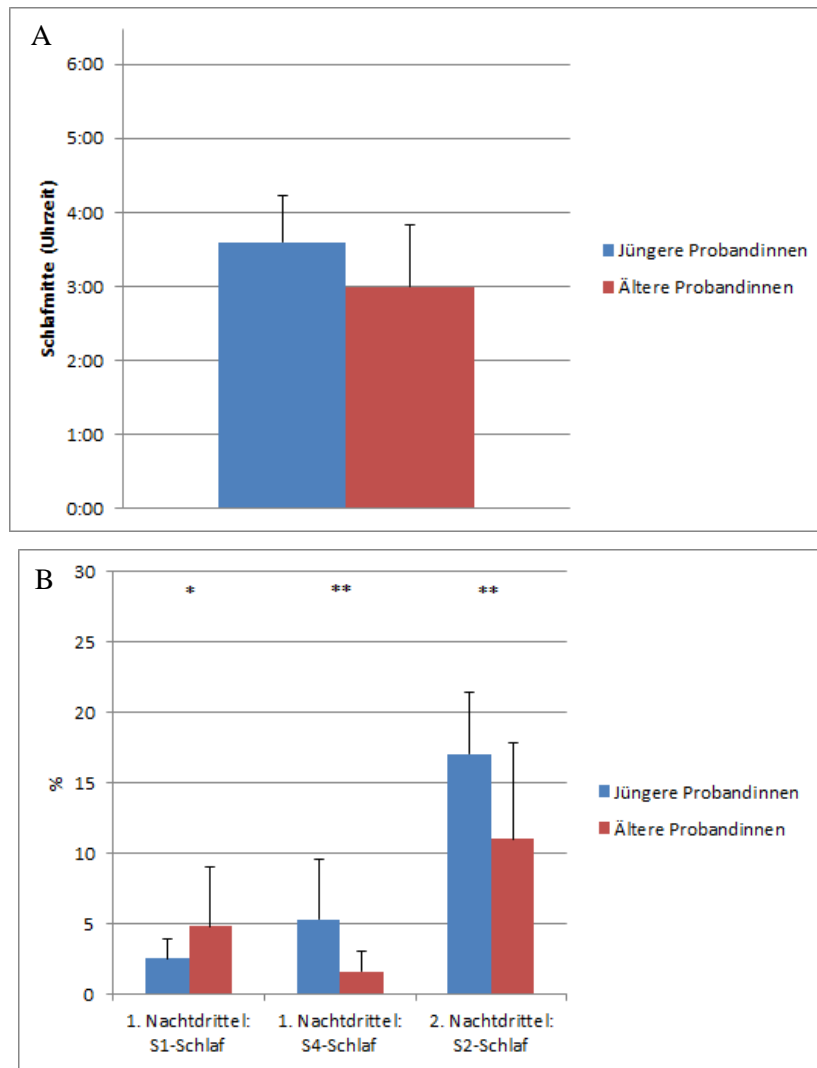


Abb. 61: Signifikante Unterschiede in der elektroenzephalografisch gemessenen Nachtschlafstruktur zwischen jüngeren und älteren Probandinnen. A) Vergleichene Variablen in Minuten, B) verglichene Variablen in Prozent. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Für die eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Anhang A22.

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

AGS haben eine höhere mittlere effektive Schlafdauer als ASS (Anhang A22). Der prozentuale Anteil für die Schlafstadien REM, S1 und S2 an der effektiven Schlafdauer ist bei den AGS höher als bei den ASS. Der gesamte Leichtschlafanteil (S1 + S2) ist bei den AGS höher als bei den ASS. AGS verbrachten prozentual weniger Zeit im Tiefschlaf als ASS.

Im ersten Nachtdrittel verbringen die AGS anteilig mehr Zeit im REM- und S4-Schlaf als die ASS. Die wach verbrachte Zeit im ersten Nachtdrittel unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht. Im zweiten Nachtdrittel zeigen die AGS höhere REM- und Leichtschlaf-Anteile und weniger Tiefschlaf als die ASS. Außerdem verbringen sie anteilig weniger Zeit wach. Im dritten Nachtdrittel haben AGS

Ergebnisse

anteilig ebenfalls mehr REM- und S1-Schlaf als die ASS. Die AGS zeigen im letzten Nachtdrittel prozentual weniger Tiefschlaf und sind geringfügig länger wach als die ASS.

Wird die gesamte Messnacht betrachtet, so haben die AGS einen geringfügig späteren Aufzeichnungs- und Schlafbeginn, eine spätere Schlafmitte und Aufwachzeit als die ASS. Zudem zeigen die AGS eine längere Einschlaf latenz, etwas mehr wach verbrachte Zeit und eine höhere Gesamtschlafdauer (SPT). Die AGS haben mit 79,88 % einen leicht effizienteren Schlaf als die ASS mit 76,71 %. Alle Schlaflatenzen bis auf die REM- und S2-Latenz sind bei den AGS länger als bei den ASS.

Zwischen den Gruppen der AGS und ASS ist nur der prozentuale Anteil an REM-Schlaf im ersten Nachtdrittel signifikant unterschiedlich (Anhang A23). In Abb. 62 sind die Variablen aufgeführt, die sich zwischen den Schlafqualitätsgruppen signifikant unterscheiden.

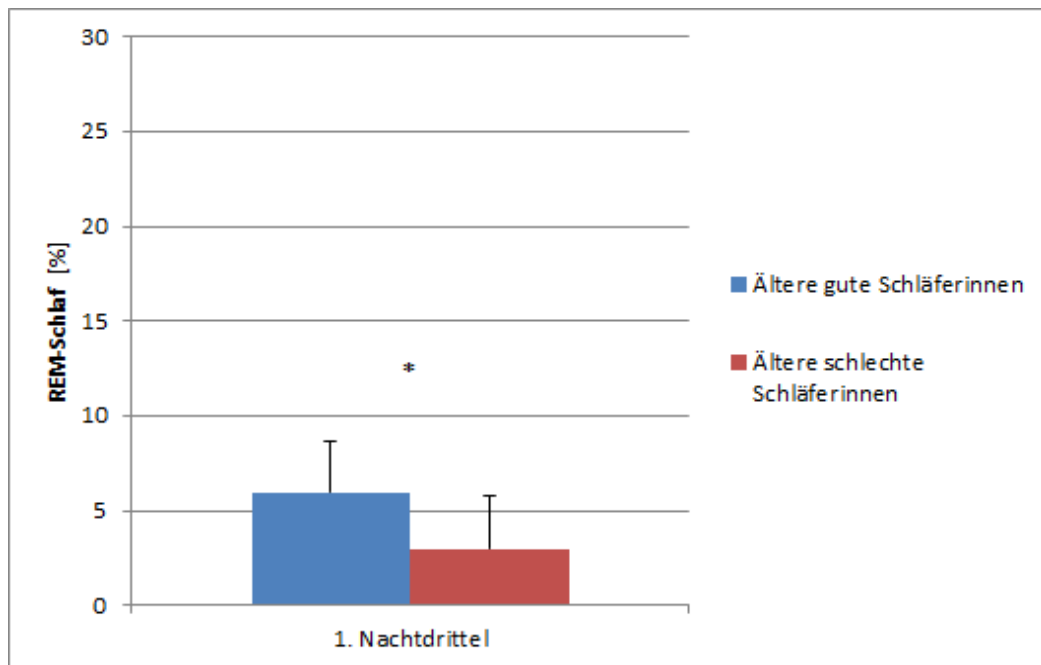


Abb. 62: Signifikante Unterschiede in der elektroenzephalografisch gemessenen Nachtschlafstruktur zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. dargestellt ist der prozentuale Anteil an REM-Schlaf am ersten Nachtdrittel. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Für die eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Anhang A22.

6.5 Zusammenhänge zwischen Nachtschlafstruktur, Uhrengen-Expression, Rhythmik der peripheren Hauttemperaturen und Cortisol-Sekretion

In der dritten Fragestellung sollen Zusammenhänge zwischen untersuchten Variablen betrachtet werden. Dies erfolgte mittels Korrelationsanalysen. Aufgrund der Vielzahl an Variablen und möglichen Zusammenhängen wurde für die Auswertung eine Auswahl getroffen. Diese richtete sich vorrangig nach der inhaltlichen Relevanz und Sinnhaftigkeit der Zusammenhänge. Gründe für die Auswahl verschiedener Variablen werden jeweils direkt in den betreffenden Kapiteln angesprochen. Für Abbildungen wurden aussagekräftige und besonders interessante Zusammenhänge ausgewählt.

In allen Korrelationsanalysen, in die Variablen der peripheren Hauttemperatur mit einfließen, wurde die Hauttemperatur am Fuß als repräsentativ für die distale Hauttemperatur einbezogen. Dies ist darin begründet, dass die Rhythmik der Fußtemperatur in der Untersuchungswoche reproduzierbarer war als die der Handtemperatur. Außerdem wurde davon ausgegangen, dass sich Oberschenkel und Fuß nachts mit höherer Wahrscheinlichkeit im gleichen Milieu (unter der Bettdecke) befanden als Oberschenkel und Hand, und dass der Fuß auch tagsüber weniger Einflüssen von außen ausgesetzt ist als das Handgelenk. Schließlich werden kalte Füße häufig mit Problemen beim Einschlafen in Verbindung gebracht, was diese Temperatur besonders für einen Vergleich zwischen den Schlafqualitätsgruppen interessant macht.

6.5.1 Nachtschlafstruktur und abendlicher Verlauf der peripheren Hauttemperatur

Es sollte mittels Korrelationsanalyse geprüft werden, ob in dem vorliegenden Probandenkollektiv unter natürlichen Bedingungen zum einen ein Zusammenhang zwischen der Höhe der abendlichen Hauttemperaturen und der Einschlafzeit und zum anderen zwischen dem abendlichen DPG und der Einschlafzeit besteht, die ein wesentliches Merkmal der Schlafqualität darstellt. Zudem wurden die einzelnen Variablen zum Verlauf der Hauttemperaturen mit dem Zeitpunkt des Schlafbeginns korreliert. Die Korrelationskoeffizienten zwischen den Variablen für alle vier Probandengruppen finden sich in Anhang A24.

Jüngere und ältere Probandinnen

In der Gruppe der jüngeren Probandinnen besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Einschlafzeit und dem Verlauf der Hauttemperaturen an Fuß und Oberschenkel (Anhang A24).

Zudem zeigt sich ein negativer Zusammenhang zwischen der Einschlafzeit und dem DPG ($r = -0,54$), der an der Signifikanzgrenze liegt ($p = 0,058$). Sowohl die Oberschenkeltemperatur 30 min vor als auch 30 min nach dem Zubettgehen sind bei den jüngeren Frauen signifikant negativ mit der Zeit des Schlafbeginns korreliert ($r = -0,60$, $p = 0,029$; $r = -0,56$, $p = 0,045$). Bei den älteren Probandinnen zeigt sich ein negativer Zusammenhang zwischen dem DPG nach dem Zubettgehen und dem Schlafbeginn. Der DPG nach dem Zubettgehen ist umso niedriger, je später der Schlafbeginn eintritt (r

Ergebnisse

= -0,576, $p = 0,025$). Zwischen der Einschlaflatenz und dem Hauttemperaturverlauf zeigen sich bei den älteren Probandinnen keine signifikanten Zusammenhänge.

Abb. 63 und Abb. 64 veranschaulichen die signifikanten Zusammenhänge bei jüngeren und älteren Probandinnen. Wie zu erkennen ist, fließen in einige Korrelationsanalysen extreme Werte mit ein, ohne die die entsprechenden Korrelationen keine statistische Signifikanz mehr erreichen würden. Da es sich um Extremwerte handelt, nicht um Ausreißer, gibt es keine Begründung für einen Ausschluss der betreffenden Probanden. Zudem kann durch die geringe Größe des untersuchten Kollektivs das Phänomen auftreten, dass Messwerte, die die „Lücke“ zwischen den Extremwerten und den restlichen Werten schließen würden, fehlen. Aus diesem Grund werden diese Zusammenhänge unter Vorbehalt als zutreffend angenommen. Sie wurden gegebenenfalls noch einmal unter Ausschluss von extremen Einzelwerten berechnet und im Einzelfall separat diskutiert.

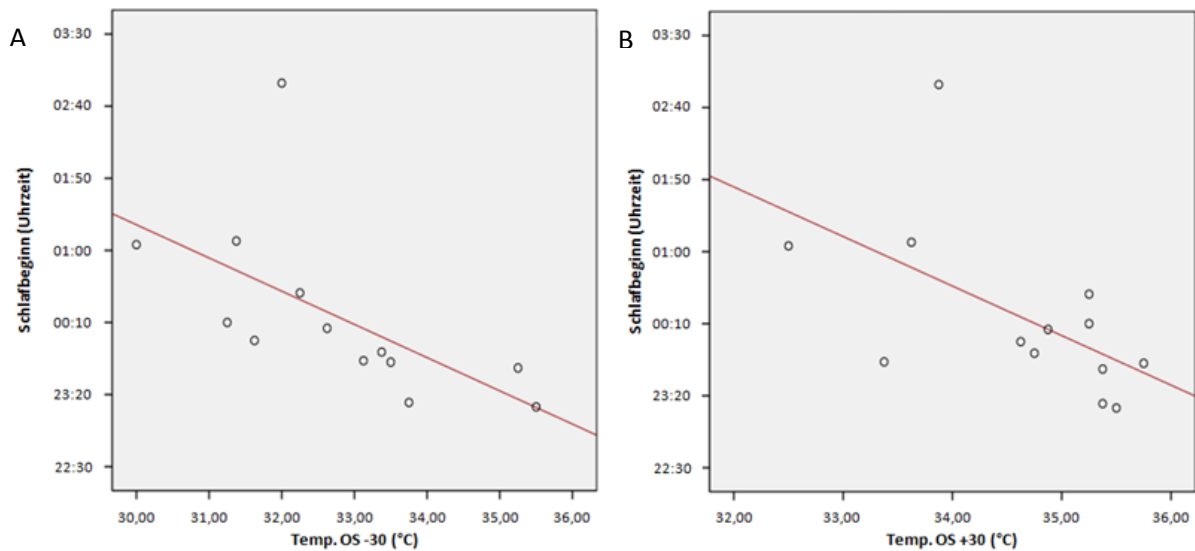


Abb. 63: Zusammenhang zwischen Schlafbeginn und A) der proximalen Hauttemperatur 30 min vor dem Zubettgehen ($r = -0,60$, $p = 0,029$) bzw. B) der proximalen Hauttemperatur 30 min nach dem Zubettgehen ($r = -0,56$, $p = 0,045$) bei 13 jüngeren Probandinnen.

Ergebnisse

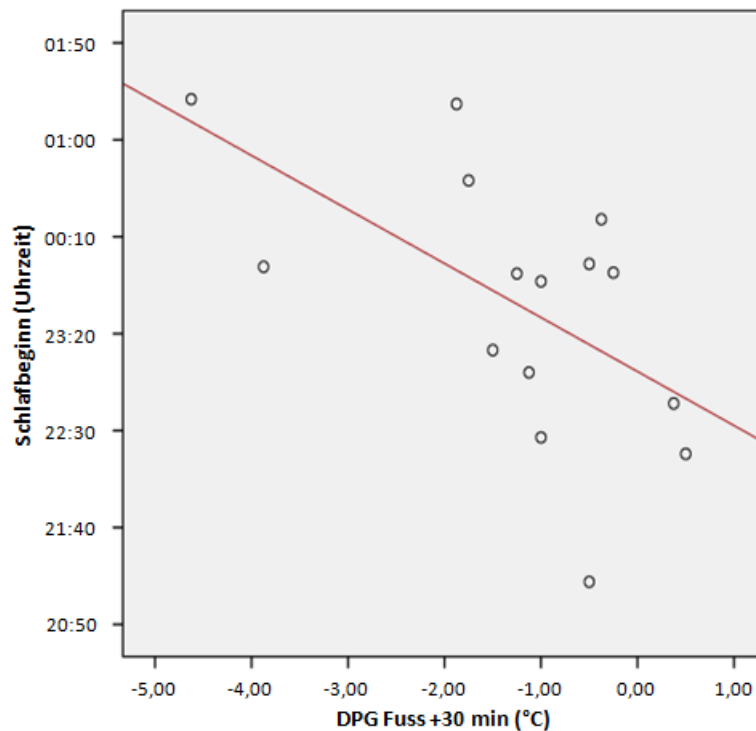


Abb. 64: Zusammenhang zwischen Schlafbeginn und distal-proximalem Gradienten (DPG) 30 min nach dem Zubettgehen bei 15 älteren Probandinnen ($r = -0,58$, $p = 0,025$).

Ältere gute und schlechte Schläferinnen

Die AGS zeigen einen positiven Zusammenhang zwischen der Fußtemperatur vor dem Zubettgehen und der Einschlafzeit ($r = 0,975$, $p = 0,005$) (Abb. 65). Der Schlafbeginn ist in dieser Gruppe mit keiner der Hauttemperatur-Variablen signifikant korreliert (Anhang A24).

Bei den ASS bestehen keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den Hauttemperaturen und der Einschlafzeit bzw. dem Schlafbeginn. Es sind in keiner der beiden Schlafqualitätsgruppen tendenzielle oder signifikante Zusammenhänge zwischen dem DPG und den schlafbezogenen Variablen zu beobachten.

Ergebnisse

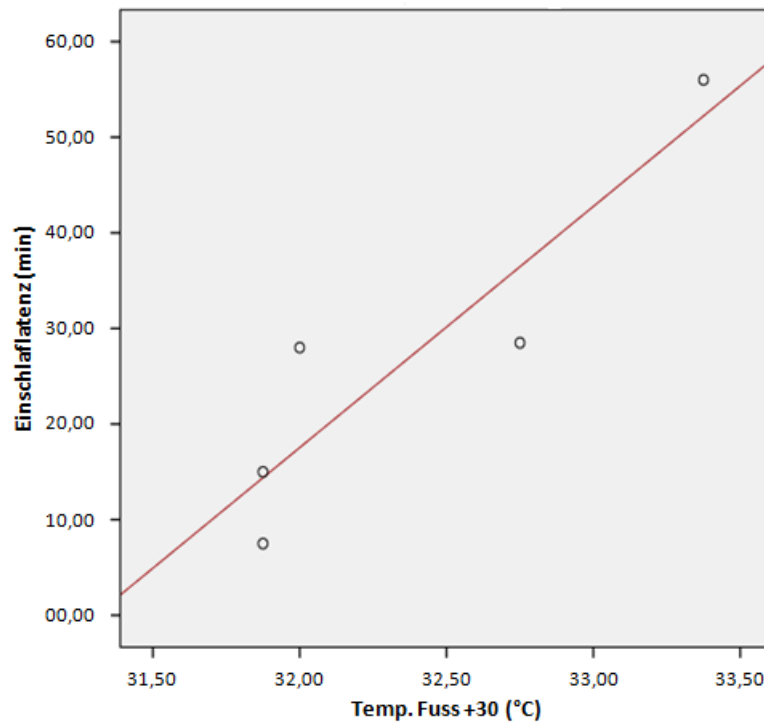


Abb. 65: Zusammenhang zwischen Einschlaf latenz und distaler Hauttemperatur am Fuß 30 min vor dem Zubettgehen bei 5 älteren guten Schläferinnen. ($r = 0,98$, $p = 0,005$).

6.5.2 Nachtschlafstruktur und Cortisol-Sekretion

Hier ist die Frage von Interesse, ob unterschiedliche Nachtschlafstrukturen und die zeitliche Lage des Schlafes mit den Cortisol-Konzentrationen und der Cortisol-Aufwachreaktion (CAR) als Marker der HPA-Achsen-Aktivität zusammenhängen und ob diese Zusammenhänge in unterschiedlichen Altersstadien oder bei unterschiedlicher subjektiver Schlafqualität verschieden sind. Je nach Cortisol-Variable wurden die jeweils am sinnvollsten erscheinenden Nachtschlafvariablen für eine Korrelationsanalyse ausgewählt. So fließen für die morgendliche Cortisol-Konzentration und die CAR auch nach Nachtdritteln unterteilte Nachtschlaf-Variablen in die Analysen mit ein, da hier die Schlafstadien vor dem Erwachen von Interesse sind.

Eine Übersicht über die Zusammenhänge zwischen der abendlichen Cortisol-Konzentration und Variablen zu Lage und Struktur des Nachtschlafes ist für alle vier Probandengruppen in Anhang A25 zu finden. In Anhang A26 sind die Korrelationskoeffizienten zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und den Nachtschlaf-Variablen zu finden, in Anhang A27 die Korrelationskoeffizienten zwischen der CAR und den Nachtschlaf-Variablen für alle vier Probandengruppen.

Ergebnisse

Jüngere und ältere Probandinnen:

Für die Gruppen der jüngeren und älteren Probandinnen sind keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Cortisol-Abendwert und Nachtschlaf-Variablen zu erkennen (Anhang A25).

Bei den jüngeren Probandinnen hängt eine höhere Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen mit niedrigeren Tiefschlafanteilen (S3 und S4) im letzten Nachtdrittel zusammen ($p = 0,005$; $p = 0,025$) (Anhang A26 und Abb. 66). Ein negativer Zusammenhang besteht hier auch zwischen der CAR und dem REM-Anteil im zweiten Nachtdrittel ($p = 0,028$) (Anhang A27). Für die älteren Probandinnen ist nur ein positiver Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration am Morgen und dem S4-Schlaf-Anteil am letzten Nachtdrittel zu erkennen ($p = 0,029$) (Anhang A26 und Abb. 67). Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen der CAR und dem Nachtschlaf.

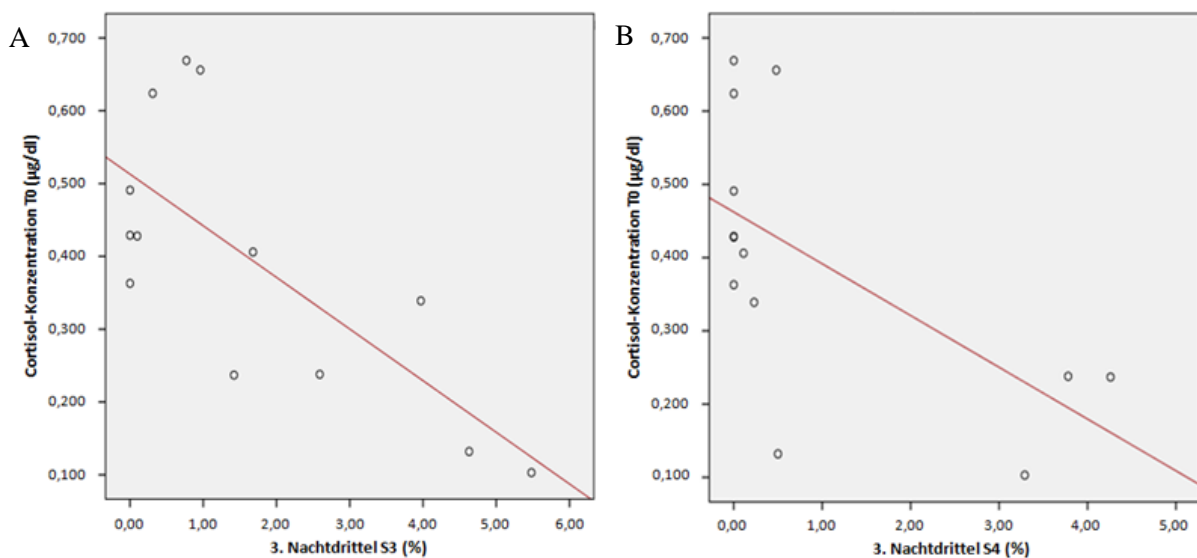


Abb. 66: Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und A) dem prozentualen Anteil an S3-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = -0,73$, $p = 0,005$) bzw. B) dem prozentualen Anteil an S4-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = -0,62$, $p = 0,025$) bei 13 jüngeren Probandinnen.

Ergebnisse

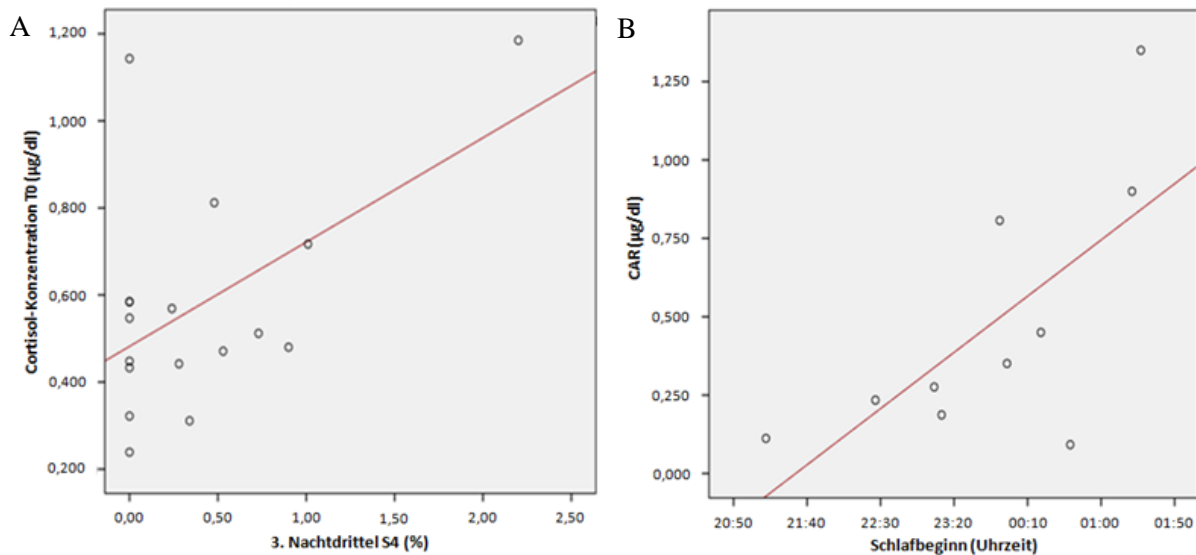


Abb. 68: A) Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und dem prozentualen Anteil an S4-Schlaf im dritten Nachtdrittel ($r = 0,83$, $p = 0,002$) bei 11 älteren schlechten Schläferinnen und B) zwischen der CAR und dem Schlafbeginn ($r = 0,69$, $p = 0,029$) bei 10 älteren schlechten Schläferinnen.

6.5.3 Uhrengen-Expression und Akrophase des Hauttemperatur-Rhythmus

Die Expressionsstärke der drei untersuchten Uhrengene zu vier Zeitpunkten am Tag wurde mit der Akrophase der distalen Hauttemperatur am entsprechenden Untersuchungstag korreliert. Der Zusammenhang zwischen den Merkmalssystemen Uhrengen-Expression und periphere Hauttemperatur wurde bisher nicht untersucht, speziell nicht bei älteren Menschen. Er erschien für diese Arbeit interessant, weil die Veränderung der distalen peripheren Hauttemperatur eine treibende Kraft des Körperkerntemperatur-Rhythmus und maßgeblich an der Regulierung des Schlaf-Wach-Zyklus beteiligt ist. Beides kann sich mit dem Alter und abhängig von der Schlafqualität verändern. Da der Output der SCN, die die Rhythmik der Körperkern- bzw. Hauttemperatur vorgeben, zu einem großen Teil über die Regulierung von Uhrengen-kontrollierten Genen (CCGs) durch den Uhrengen-Rhythmus funktioniert, ist die Frage von Interesse, ob unterschiedliche Korrelationen zwischen Genexpression und Kennzeichen der Hauttemperatur-Rhythmik zwischen den Probandengruppen auf ein unterschiedliches Zusammenspiel der Systeme abhängig von Alter und Schlafqualität hindeuten.

Wieder wurde der Fuß als repräsentativ für die distale Hauttemperatur für die Korrelationsanalyse ausgewählt. Die Korrelationskoeffizienten zwischen der Akrophase und der Uhrengen-Expression sind für alle Probandengruppen in Anhang A28 zu finden.

Ergebnisse

Jüngere und ältere Probandinnen:

Weder für die jüngeren noch für die älteren Probandinnen finden sich signifikante Korrelationen zwischen der Expression der drei Uhrengene und der Akrophase der distalen Hauttemperatur (Anhang A28).

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Für die AGS und ASS zeigt sich das gleiche Bild. Die Uhrengen-Expression ist bei keiner der beiden Gruppen signifikant mit der Lage der Akrophase korreliert (Anhang A28).

6.5.4 Uhrengen-Expression und Cortisol-Sekretion

Da das Hormon Cortisol als Transkriptionsfaktor die Expression des Gens *hPER1* reguliert, sollte geprüft werden, ob dieser Zusammenhang auch in diesem Kollektiv beobachtet werden kann und ob auch die Expression der Uhrengene *hBMAL1* und *hCRY1* in den unterschiedlichen Probandengruppen mit der Cortisol-Konzentration zusammenhängt. In die Korrelationsanalysen wurde die Genexpression um 08:00 Uhr und 24:00 Uhr mit einbezogen, da die Expression zu diesen Zeitpunkten am ehesten einen direkten Zusammenhang mit der morgens und abends gemessenen Cortisol-Konzentration zeigen dürfte.

Jüngere und ältere Probandinnen:

Die Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression um 08:00 und 24:00 Uhr und der Cortisol-Konzentration am Abend, nach dem Erwachen, 30 min später sowie der CAR bei den Altersgruppen sind in Anhang A29 aufgeführt. Jüngere Probandinnen zeigen positive Korrelationen zwischen der abendlichen Cortisol-Konzentration, der Cortisol-Konzentration nach dem morgendlichen Erwachen (Abb. 69) und der *hCRY1*-Expression um 08:00 Uhr morgens ($r = 0,75$, $p = 0,009$; $r = 0,77$, $p = 0,006$). Die Cortisol-Konzentration 30 min nach dem Erwachen korreliert positiv mit der *hBMAL1*-Expression um 08:00 Uhr morgens. Zwischen der CAR und den Uhrengen-Expressionswerten findet sich kein signifikanter Zusammenhang. Bei den älteren Probandinnen ist die Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen umso höher, je höher die *hCRY1*-Expression um 08:00 Uhr ist ($r = 0,51$, $p = 0,044$) (Abb. 70). Zwischen den restlichen Variablen bestehen keine signifikanten Korrelationen.

Ergebnisse

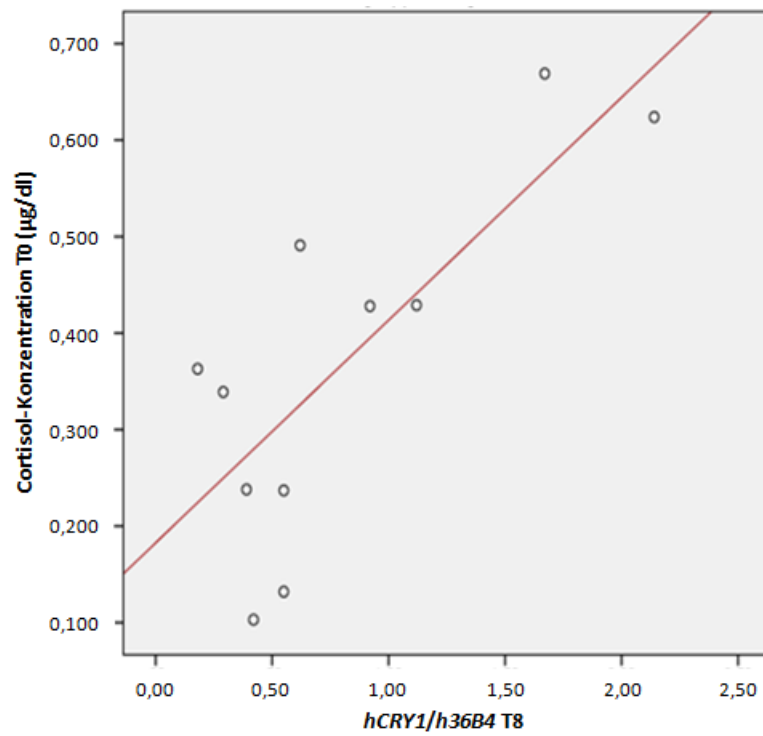


Abb. 69: Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der relativen Expression des Uhrengens hCRY1 um 08:00 Uhr morgens bei 11 jüngeren Probandinnen ($r = 0,77$, $p = 0,006$).

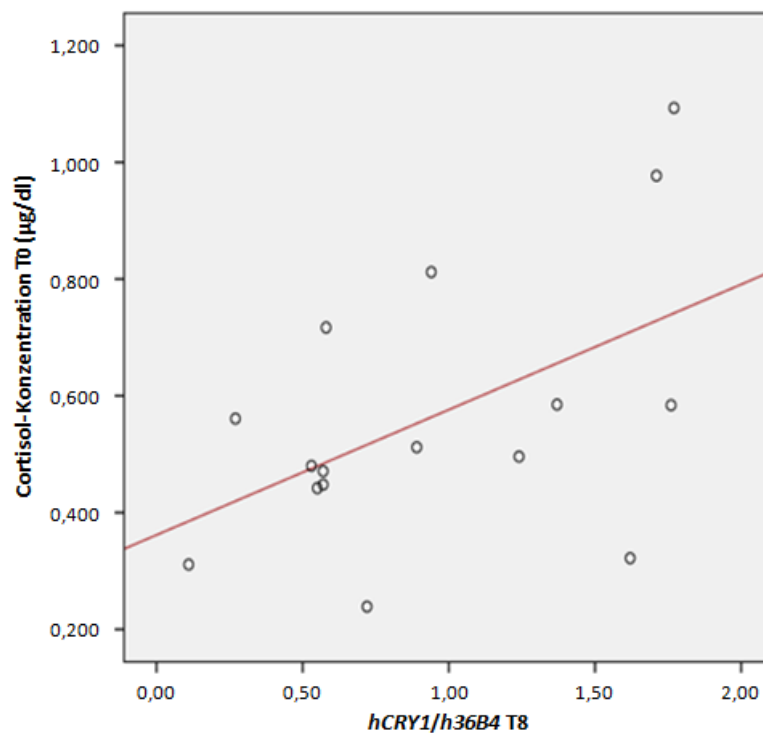


Abb. 70: Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der relativen Expression des Uhrengens hCRY1 um 08:00 Uhr morgens bei 16 älteren Probandinnen ($r = 0,51$, $p = 0,044$).

Ergebnisse

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Für die AGS zeigt sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Uhrengens-Expression und den Cortisol-Variablen (Anhang A30). Bei den ASS ist die Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen umso höher, je höher die *hCRY1*-Expression um 08:00 Uhr morgens ist ($r = 0,65$, $p = 0,042$) (Abb. 71).

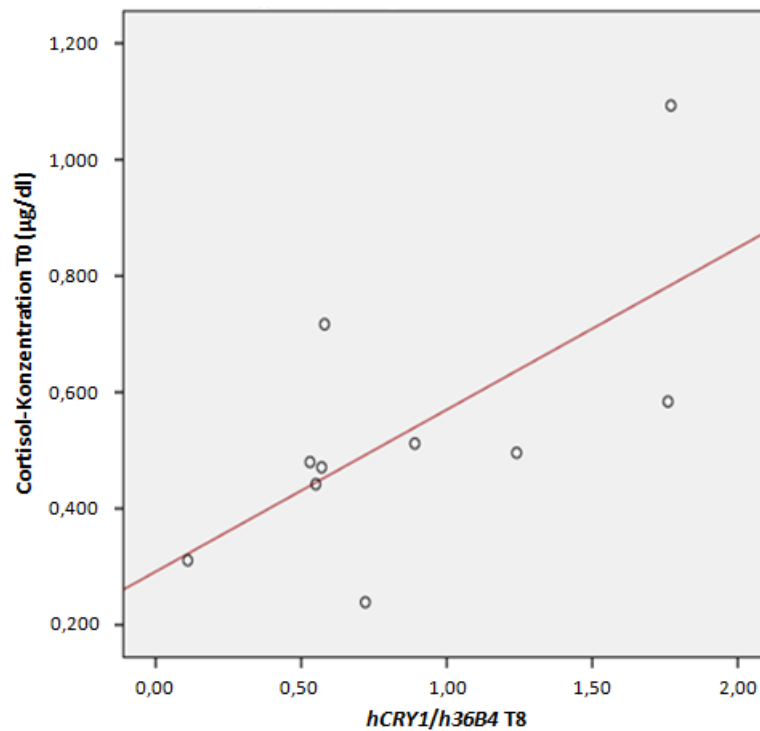


Abb. 71: Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der relativen Expression des Uhrengens *hCRY1* um 08:00 Uhr morgens bei 10 älteren schlechten Schläferinnen ($r = 0,65$, $p = 0,042$).

6.6 Zusammenhänge zwischen circadianen Merkmalsystemen und Verhaltensmerkmalen

6.6.1 Cortisol-Sekretion, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität

In der Literatur wird immer wieder der Zusammenhang zwischen Sport und Stressabbau thematisiert. Aus diesem Grunde wurde in dieser Studie untersucht, ob im Freien verbrachte Zeit und Sport bzw. körperliche Aktivität am Untersuchungstag die abendliche Cortisol-Konzentration, die Aufwachkonzentration und die CAR beeinflussen. Verglichen wurden die Cortisol-Konzentrationen am Abend und am Morgen und die CAR mit den von den Probandinnen im Tagesprotokoll angegebenen Zeiträumen im Freien und der sportlichen Aktivität sowie mit der durch Aktigrafie gemessenen körperlichen Aktivität am betreffenden Untersuchungstag. In Anhang A31 sind die Korrelationskoeffizienten zwischen der abendlichen Cortisol-Konzentration und den Aktivitäts-Variablen für alle vier Probandengruppen aufgeführt. Die Korrelationskoeffizienten zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der CAR und den Aktivitätsvariablen für alle vier Probandengruppen sind in Anhang A32 zu finden.

Jüngere und ältere Probandinnen:

Für die Gruppen der jüngeren und älteren Probandinnen gibt es keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Cortisol-Konzentration am Abend und der im Freien verbrachten Zeit am betreffenden Tag sowie der körperlichen Aktivität an diesem Tag bzw. in der gesamten Untersuchungswoche.

Jüngere Probandinnen mit einer höheren gemessenen Gesamtaktivität am Vortag zeigen eine größere CAR am nächsten Morgen ($r = 0,58$, $p = 0,038$) (Anhang A32). Bei den älteren Probandinnen besteht dieser Zusammenhang nicht.

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Auch für die Schlafqualitätsgruppen gibt es keine signifikanten Korrelationen zwischen der Cortisol-Konzentration am Abend, Zeitraum im Freien und körperlicher Aktivität.

Je mehr Sport die AGS nach eigenen Angaben am Vortag betrieben, desto kleiner ist ihre CAR am nächsten Morgen ($r = -0,76$, $p = 0,049$) (Anhang A32). Zwischen der gemessenen Aktivität und der CAR besteht in dieser Gruppe jedoch kein signifikanter Zusammenhang. Die ASS zeigen keine signifikanten Korrelationen zwischen den untersuchten Variablen.

6.6.2 Nachtschlaf, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität

Ebenso wie auf die Cortisol-Konzentration kann sich körperliche Aktivität auf den Nachtschlaf von Menschen auswirken. Es ist möglich, dass solche Einflüsse bei älteren Menschen stärker sind als bei jüngeren Menschen. Deshalb wurden diese Variablen miteinander korreliert. Genauer umfassen die Variablen für den Nachtschlaf die prozentualen Anteile an S3- und S4-Schlaf und Wachphasen am gesamten Schlaf sowie Schlafeffizienz und Schlaflatenz. Wie in Kapitel 6.6.1 umfassen die korrelierten Variablen den subjektiv angegebenen Zeitraum im Freien und die sportliche Aktivität am Tag bevor das Schlafprofil aufgezeichnet wurde sowie die durch Aktigrafie gemessene durchschnittliche Aktivität und Gesamtaktivität am betreffenden Untersuchungstag und in der Untersuchungswoche. Außerdem wurde die aktigrafisch erfasste durchschnittliche und gesamte körperliche Aktivität während der betreffenden Schlafepisode mit den Nachtschlafvariablen korreliert. Alle Korrelationskoeffizienten finden sich im Anhang. Für die jüngeren Probandinnen in Anhang A33, für die älteren Probandinnen in Anhang A34, für die AGS in Anhang A35 und für die ASS in Anhang A36.

Jüngere und ältere Probandinnen:

Bei den jüngeren Probandinnen korreliert die durchschnittliche Aktivität während der Untersuchungswoche negativ mit dem S3-Schlaf-Anteil in der EEG-Nacht ($r = -0,81$, $p = 0,001$) (Anhang A33). Zwischen den restlichen Variablen ist kein signifikanter Zusammenhang festzustellen. Bei den älteren Probandinnen korreliert der S4-Schlaf-Anteil am gesamten Schlaf positiv mit der am Vortag im Freien verbrachten Zeit ($r = 0,59$, $p = 0,022$) und der angegebenen sportlichen Aktivität ($r = 0,70$, $p = 0,005$) und negativ mit der durch Aktigrafie aufgezeichneten Gesamtaktivität am Vortag ($r = -0,75$, $p = 0,003$) (Anhang A34).

Ältere gute und schlechte Schläferinnen:

Die AGS zeigen keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Zeitraum im Freien, der körperlichen Aktivität und den Nachtschlaf-Variablen (Anhang A35). Bei den ASS hingegen ist der S4-Schlaf-Anteil positiv mit der aktimetrisch erfassten Gesamtaktivität während der Untersuchungswoche korreliert ($r = 0,84$, $p = 0,005$) und negativ mit der durchschnittlichen und gesamten Aktivität während des Ruheintervalls (d. h. während der Schlafphase, in der auch das EEG-Profil aufgezeichnet wurde) ($r = -0,86$, $p = 0,007$; $r = -0,76$, $p = 0,028$) (Anhang A36).

7 Diskussion

Der zentrale Aspekt der vorliegenden Arbeit war es, neue Erkenntnisse über die möglichen Veränderungen der circadianen Merkmalssysteme Uhrengen-Expression (*hBMALI*, *hPER1*, *hCRY1*), periphere Hauttemperatur und Cortisol-Sekretion sowie der Nachtschlafstruktur abhängig vom Alternsprozess und der Schlafqualität bei älteren gesunden Frauen zu gewinnen. Zudem sollten Zusammenhänge zwischen den circadianen Merkmalssystemen untereinander und mit der Nachtschlafstruktur ebenfalls abhängig von den beiden Gruppenkriterien untersucht werden. Im Folgenden sollen die Ergebnisse diskutiert und mit bereits vorhandenen Literaturbefunden verglichen werden.

7.1 Anmerkungen zum Studiendesign

In dieser Studie wurden ausschließlich Frauen untersucht. Dies hatte mehrere Gründe. Es schränkt die Einflussfaktoren auf die untersuchten circadianen Rhythmen ein, da für diese auch Geschlechtsunterschiede bekannt sind (Adan & Natale 2009; Campbell *et al.* 1989; Van Cauter *et al.* 1996). Das Untersuchungskriterium Schlafqualität ist ein weiterer Grund für die Wahl von weiblichen Probanden. Ältere Frauen berichten häufiger über eine subjektiv schlechte Schlafqualität als ältere Männer (Happe 2011; Middelkoop *et al.* 1996; Zhang *et al.* 2006). Zudem scheinen Frauen häufiger unter kalten Händen und Füßen zu leiden, bis hin zu pathologischen Erscheinungen wie dem vasospastischen Syndrom (Kräuchi 2007; Kräuchi *et al.* 2007). Dieses Phänomen wird wiederum mit Problemen beim Einschlafen in Verbindung gebracht (Kräuchi 2007; Kräuchi *et al.* 2007). Es schien daher besonders interessant, den Zusammenhang zwischen der peripheren Hauttemperatur und der Nachtschlafstruktur bei Frauen zu untersuchen. Eine weitere Überlegung war schließlich das Vorhandensein begrenzter finanzieller und zeitlicher Ressourcen. Das untersuchte Kollektiv um männliche Probanden zu erweitern und dabei Gruppen einer statistisch verwertbaren Größe beizubehalten, war im Rahmen dieser Untersuchung nicht möglich. Da Geschlechtsunterschiede in der circadianen Rhythmik existieren, wäre es jedoch sicher sinnvoll, eine ergänzende Studie wie die vorliegende mit jüngeren und älteren Männer durchzuführen.

Eine Besonderheit der vorliegenden Arbeit ist das *Studiendesign*. Es wurden mehrere circadiane Merkmalssysteme parallel untersucht. Dadurch beinhaltet die Studie zum einen mehrere direkte Vergleiche zwischen verschiedenen Merkmalen, sodass mögliche gemeinsame Veränderungen beobachtet werden können. Zudem konnte durch die Analyse der Nachtschlafstruktur und die Beobachtung des Schlaf-Wach-Rhythmus über eine Woche sowohl durch subjektive (DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll) als auch objektive Methoden (Aktigrafie) festgestellt werden, ob zwischen den Alters- und Schlafqualitätsgruppen tatsächlich Unterschiede bezüglich der untersuchten Kenngrößen bestehen. Anders ausgedrückt konnte so geklärt werden, ob es sich bei der

Diskussion

unterschiedlichen Schlafqualität (in diesem Kollektiv) um ein objektiv „messbares“ Phänomen handelt oder ob diese vorwiegend in der unterschiedlichen subjektiven Beurteilung durch die Probandinnen begründet liegt. Nach Kenntnis der Autorin werden die hier betrachteten Systeme - speziell die Uhrengen-Expression und die periphere Hauttemperatur - erstmals gemeinsam an einem Kollektiv gesunder älterer Frauen untersucht und in direktem Zusammenhang mit der Nachtschlafstruktur und dem Schlaf-Wach-Rhythmus beschrieben. Weiterhin wurden für die Auswahl der Probandinnen im Vergleich zu einer großen Anzahl anderer Studien strenge Kriterien angesetzt. Es sollten nur gesunde, selbständig lebende Frauen in die Studie eingeschlossen werden. Dadurch sollte ausgeschlossen werden, dass mögliche beobachtete Veränderungen für ältere Frauen auf Alterserscheinungen wie Krankheit oder inaktiver Lebensstil zurückzuführen sind. Ein Nachteil des Studiendesigns ist, dass das Probandenkollektiv aus Kosten- und Zeitgründen und aufgrund der aufwändigen Rekrutierung von Probandinnen auf eine relativ kleine Anzahl beschränkt bleibt.

Ältere Probandinnen wurden vor allem aus Sportvereinen rekrutiert, da dort die Wahrscheinlichkeit größer war, aktive und gesunde ältere Frauen für die Studie zu gewinnen. In diesem Sinne ist die hier untersuchte Stichprobe selektiv. Eine Voraussetzung für die Rekrutierung war, dass weder ältere gute noch ältere schlechte Schläferinnen unter ernsten psychischen und physischen Erkrankungen leiden durften und dass sie einen aktiven Lebensstil haben sollten. Dadurch sollte vermieden werden, dass eventuell beobachtbare Veränderungen auf sekundären Einflüssen (Medikamenteneinnahme, passiver Lebensstil etc.) beruhen (Frey *et al.* 1999; Happe 2011). Besonders bei den Frauen, die eine subjektiv schlechte Schlafqualität angaben, sollten Erkrankungen oder ein physisch oder sozial besonders inaktiver Lebensstil nicht Grund für die schlechte Schlafqualität sein. So sollten möglichst viele Einflussfaktoren kontrolliert werden, die die mit schlechter Schlafqualität und dem biologischen Alter zusammenhängenden Veränderungen circadianer Merkmale überdecken.

Bei der Auswahl des Probandenkollektivs für die vorliegende Studie wurde nach Schlafqualität selektiert. Ziel war es, etwa gleich viele ältere gute und schlechte Schläferinnen für die Teilnahme zu gewinnen, sodass ein Vergleich zwischen den Schlafqualitätsgruppen möglich wird. Hierbei werden für einen Altersvergleich mit den jüngeren Probandinnen die beiden Untergruppen zur größeren Gruppe der älteren Probandinnen zusammengefasst, da die Prävalenz von Ein- oder Durchschlafstörungen und damit einer schlechten Schlafqualität bei älteren Menschen auf etwa 50 % geschätzt wird (Crowley 2011; Kryger *et al.* 2004) und beide Gruppen in allen weiteren Kriterien übereinstimmen. Bei der Ergebnisinterpretation wurde darauf geachtet, dass ein Unterschied zwischen zwei Systemen nur dann in erster Linie dem Alter oder der Schlafqualität zugeschrieben wird, wenn dieser Unterschied nicht zwischen allen Probandengruppen vorliegt. An einem Beispiel ist dies leichter zu verdeutlichen: Gesetzt den Fall, zwischen jüngeren und älteren Frauen zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied bei der Schlaffeffizienz. Hier würde der Rückschluss, dass es sich

Diskussion

dabei um eine in erster Linie altersbedingte Veränderung handelt, nur gelten, wenn sich gleichzeitig die älteren guten und schlechten Schläferinnen hinsichtlich dieses Merkmals nicht unterscheiden. Sollte auch zwischen diesen Gruppen ein Unterschied bestehen, muss davon ausgegangen werden, dass auch andere Einflüsse, die sich negativ auf die Schlafqualität einer Gruppe auswirken, mit dem beobachteten Unterschied zusammenhängen, nicht nur der Alternsprozess. Gleiches gilt für die umgekehrte Aussage: Ein Unterschied zwischen den Schlafqualitätsgruppen kann nur dann als vorrangig mit der Schlafqualität zusammenhängende Veränderung interpretiert werden, wenn gleichzeitig kein signifikanter Unterschied zwischen den jüngeren und älteren Probandinnen besteht.

7.2 Anatomische, physiologische, soziale und Lebensstil-bezogene Merkmale im Zusammenhang mit dem Altern sowie der Schlafqualität im Alter

Vor der Diskussion der einzelnen Fragestellungen sollen zunächst einige deskriptive Merkmale der Probandinnen aufgeführt und diskutiert werden, die sich auf die untersuchten Merkmale auswirken können. Das mittlere *Alter* der jüngeren Probandinnen lag bei knapp 27 Jahren, das der älteren bei knapp 68 Jahren. Das höchste Alter bei den jüngeren Frauen war 34 Jahre, das niedrigste Alter bei den älteren Frauen 60 Jahre. Daraus ergibt sich ein minimaler Unterschied von 26 Jahren bzw. ein mittlerer Unterschied von 42 Jahren zwischen den Probandengruppen. Da einige für den Alternsprozess typische Veränderungen bereits im mittleren Lebensalter zwischen 50 und 60 Jahren stattfinden (Ohayon *et al.* 2004; Webb & Agnew 1971), sollte dieser Altersunterschied ausreichend sein, um eine zulässige Aussage über eventuell auftretende Veränderungen im Alter zu machen. Andererseits sind einige altersbedingte Veränderungen der Nachtschlafstruktur erst für Menschen ab einem sehr hohen Alter (über 80 Jahre) beschrieben (Ancoli-Israel *et al.* 2008; Ohayon *et al.* 2004), das in diesem Kollektiv nicht mit erfasst wird. Ältere gute und schlechte Schläferinnen haben fast das gleiche mittlere Alter und die gleiche Altersspanne, sodass biologische Unterschiede, die zwischen diesen Gruppen auftreten, nicht auf Unterschiede im chronologischen Alter zurückgeführt werden können.

In der Fachliteratur wird starkes *Übergewicht* bzw. ein hoher BMI mit Schlafproblemen (Gupta *et al.* 2002; Resta *et al.* 2003) und gesundheitlichen Problemen in Verbindung gebracht. So sind Übergewicht und Adipositas z. B. bekannte Risikofaktoren für eine obstruktive Schlafapnoe (Liu *et al.* 2012) und bei Diabetes und Übergewicht können veränderte Cortisol-Konzentrationen beobachtet werden (z. B. Björntorp & Rosmond 2000; Epel *et al.* 2000).

Bezüglich des BMI bzw. der absoluten Fettmasse unterscheiden sich die Probandinnen in dieser Studie kaum voneinander. Die älteren guten Schläferinnen haben sogar einen höheren mittleren BMI und mehr Fettmasse als die schlechten Schläferinnen, sodass ein negativer Einfluss von Übergewicht auf die Schlafqualität in diesem Kollektiv nicht bestätigt wird.

Diskussion

Die Probandinnen wurden zu ihrer *Wohnsituation* befragt, da auch soziale Faktoren wie Partnerverlust im Alter zu Schlafproblemen beitragen können (Happe 2011). Im vorliegenden Kollektiv lebt knapp die Hälfte der jüngeren Probandinnen mit guter Schlafqualität in einer Partnerschaft. Das Gleiche gilt auch für die älteren Probandinnen. Anteilig gesehen leben sogar mehr ältere Frauen mit schlechter Schlafqualität in einer Partnerschaft als solche mit guter Schlafqualität. Daraus könnte geschlossen werden, dass dieses Merkmal keine oder nur eine untergeordnete Rolle in Bezug auf die Qualität des Schlafes spielt. Zu beachten ist dabei, dass nicht erfragt wurde, wie zufrieden die Probandinnen mit ihrer Partnerschaft sind. Auch ein schlechtes Verhältnis zum Partner kann die Schlafqualität negativ beeinflussen (Troxel *et al.* 2007).

Die Studienteilnehmerinnen wurden gebeten, ihren eigenen *Gesundheitszustand* im Vergleich zu Frauen gleichen Alters einzuschätzen. In keiner der Gruppen empfindet jemand seinen Gesundheitszustand als schlechter als der Durchschnitt. Tatsächlich schätzen die jüngeren Frauen ihre Gesundheit im Vergleich zu anderen als etwas schlechter ein als die älteren Frauen. Überraschend ist, dass die älteren Frauen mit einer schlechteren subjektiven Schlafqualität etwas positivere Wertungen als ältere gute Schläferinnen angeben. Dies könnte zum einen ein Hinweis darauf sein, dass sie ihre schlechte Schlafqualität nicht als gesundheitliches Problem ansehen. Es könnte aber auch sein, dass manche Probandinnen sich bei der Gesundheitseinschätzung ausschließlich auf pathologische Merkmale beziehen und den Schlaf in ihre Überlegungen nicht mit einbeziehen.

Auch der Konsum von *Alkohol* und *anregenden Getränken wie Kaffee* oder schwarzer und grüner Tee kann möglicherweise Einfluss auf die Schlafqualität haben (Březinová 1976; Palmer & Harrison 1980). So scheint der Genuss von Alkohol vor dem Schlafengehen zwar die Einschlafzeit zu verkürzen (weshalb Alkoholkonsum bei Älteren häufig als „Einschlafhilfe“ genutzt wird), allerdings erhöht sich das Risiko für einen gestörten Schlaf deutlich (Sherrill *et al.* 1998). Die älteren guten Schläferinnen gaben im Fragebogen einen höheren Alkoholkonsum an als die anderen Probandengruppen. Den niedrigsten Alkoholkonsum haben die älteren schlechten Schläferinnen. Die Differenz zwischen jüngeren und älteren Probandinnen im vorliegenden Kollektiv liegt nur bei etwa einem Glas pro Woche. Zwischen den Schlafqualitätsgruppen ist der Unterschied größer, jedoch trinken die älteren Frauen mit schlechter Schlafqualität weniger Alkohol als solche mit guter Schlafqualität. Eine Erklärung für diesen Umstand könnte sein, dass der Alkoholkonsum bei allen Gruppen zu gering ist, um überhaupt eine Auswirkung auf die Schlafqualität zu haben. Anscheinend nutzen die älteren schlechten Schläferinnen Alkohol nicht als vordergründig schlafförderndes Mittel. In einem Tagesprotokoll wurde auch der Alkoholkonsum vor dem Zubettgehen während der Untersuchungswoche erfragt. Während dieser Zeit tranken die älteren Frauen nur geringfügig mehr Alkohol als die jüngeren Frauen und die älteren guten Schläferinnen mehr als die älteren schlechten Schläferinnen. Da jedoch in keiner der Gruppen vor dem Schlafengehen im Mittel mehr als ein Glas

Diskussion

Alkohol getrunken wurde, dürfte dieser Einflussfaktor vernachlässigbar sein. Vor der Aufnahme eines EEG-Schlafprofils tranken drei der Probandinnen eine geringe Menge Alkohol, davon zwei ältere gute und eine ältere schlechte Schläferin. Das Verhältnis des Alkoholkonsums zwischen den Probandengruppen bleibt das gleiche wie beim „gewöhnheitsmäßigen“ Konsum.

Beim Vergleich des Konsums anregender Getränke ist auffällig, dass die älteren Probandinnen im Mittel fast fünfmal mehr Tassen Kaffee oder Tee pro Woche zu sich nehmen als die jüngeren Probandinnen, während sich die Menge zwischen den Schlafqualitätsgruppen nur minimal unterscheidet. Man kann vermuten, dass ältere Menschen generell mehr auf solche Getränke zurückgreifen, um einem möglichen niedrigeren Energieniveau im Vergleich zu jüngeren Menschen entgegen zu wirken. Die stimulierende Wirkung von Kaffee oder Tee als Ursache für einen schlechteren Schlaf kann in diesem Kollektiv nicht bestätigt werden. Im Gegenteil ist die Standardabweichung bei den älteren guten Schläferinnen geringer als bei den schlechten Schläferinnen. Daraus kann geschlossen werden, dass in der ersten Gruppe mehr Frauen regelmäßig viel Kaffee trinken, während sich bei den älteren schlechten Schläferinnen starke Unterschiede zeigen. Das deutet sogar einen schlaffördernden Aspekt eines hohen Kaffeekonsums an. Möglicherweise liegt dies daran, dass die Koffeinzufuhr die älteren Frauen tagsüber zu mehr Aktivität antreibt und sie dadurch abends müder und besser auf Schlaf eingestellt sind als sie es ohne Kaffeekonsum wären. Dafür spricht auch, dass die objektive durch Aktigrafie gemessene körperliche Aktivität der älteren Probandinnen in dieser Studie höher ist als bei den jüngeren Probandinnen.

In einem Fragebogen sollten die Probandinnen angeben, wie häufig sie unter **kalten Extremitäten** vor dem Schlafengehen leiden. Diese Frage ist von Interesse mit Hinblick auf den mehrfach erwähnten Zusammenhang zwischen niedrigen distalen Hauttemperaturen und Problemen beim Ein- bzw. Durchschlafen (Kistler *et al.* 1998; Kräuchi *et al.* 2007; Sung & Tochihara 2000). Zusammen mit der Information, dass ältere Frauen häufig unter kalten Händen und Füßen leiden (Kräuchi *et al.* 2008; Vollenweider *et al.* 2008), führt das zu der Erwartung, dass auch in dieser Studie ältere Probandinnen - insbesondere schlechte Schläferinnen - häufiger zu kalten Händen oder Füßen oder beidem neigen als die jüngere Vergleichsgruppe. Obwohl tatsächlich mehr ältere Frauen angeben, kalte Extremitäten vor dem Schlafengehen zu haben, als jüngere Frauen, ist der Unterschied doch relativ gering. Bei den jüngeren Frauen ist es knapp die Hälfte, bei den älteren Frauen etwas über die Hälfte. Ein deutlicherer Unterschied ist zwischen den älteren Frauen mit guter und schlechter Schlafqualität erkennbar. Bei den guten Schläferinnen berichten 44 % der Probandinnen über kalte Extremitäten, bei den schlechten Schläferinnen 64 %. Dies kann so gedeutet werden, dass kalte Füße vor dem Schlafengehen tatsächlich einen negativen Einfluss auf die Schlafqualität haben, allerdings nicht von physiologischen Veränderungen im Alter abhängig sind. Es fällt außerdem auf, dass keine der Probandinnen ausschließlich kalte Hände vor dem Schlafengehen hat. Entweder wird nur an den Füßen oder an Füßen und Händen kombiniert Kälte empfunden. Das deutet darauf hin, dass vor allem die Temperatur

Diskussion

am Fuß Einfluss auf die Schlafqualität hat. In einer Studie von Sung and Tochihara (2000) wurden Hautregionen bei älteren Menschen experimentell erwärmt und der Effekt auf den Schlaf beobachtet. Es zeigte sich, dass das Erwärmen des ganzen Körpers oder des unteren Teils der Beine vor der Zubettgehzeit die Körperkerntemperatur nur geringfügig veränderte, jedoch eine erhöhte Hauttemperatur in der ersten Nachthälfte und damit verbunden eine kürzere Einschlafzeit bewirkte. Eine kurze Einschlafzeit ist ein Kennzeichen guter Schlafqualität.

Der Alternsprozess geht mit einer zunehmenden Tendenz zur **Morgenpräferenz** einher (Åkerstedt & Torsvall 1981; Carrier *et al.* 1997; Taillard *et al.* 1999; Taillard *et al.* 2004). Diese Aussage kann für das vorliegende Kollektiv bestätigt werden. Die älteren Probandinnen tendieren mehr in Richtung Morgenpräferenz als die jüngeren Frauen, was an der signifikant höheren Punktezahl im D-MEQ ($t = 4,09$, $p < 0,001$) und der signifikant früheren Schlafmitte ($t = -6,185$, $p < 0,001$) erkennbar ist. Unterschiede zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen sind ebenfalls vorhanden. Die älteren schlechten Schläferinnen haben eine etwas frühere Schlafmitte und etwas mehr Punkte im D-MEQ, d. h. sie tendieren noch etwas stärker in Richtung Morgenpräferenz als die Vergleichsgruppe. Allerdings sind die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sehr gering, sodass ein Einfluss der tageszeitlichen Präferenz auf die Schlafqualität nicht wahrscheinlich scheint.

Aus dem PSQI-Fragebogen zur Bestimmung der **Schlafqualität** können weitere Daten zu Schlafgewohnheiten und subjektiver Empfindung des Schlafes entnommen werden. Diese subjektiven Daten beziehen sich auf die vier Wochen vor Studienbeginn. Sie können so einen guten Einblick geben, wie konsistent die subjektiven Erfahrungen der Probandinnen vor der Studie und die subjektiven Angaben und objektiven Messungen während der Untersuchungswoche sind. Zunächst ist zu erkennen, dass die älteren Probandinnen als Gruppe im Mittel einen PSQI-Punktwert erreichen, der nur leicht über der Grenze zu guter Schlafqualität liegt. Ältere gute Schläferinnen zeigen dabei eine etwas bessere mittlere Schlafqualität als jüngere Frauen. Mit mittleren 8,07 Punkten liegen die älteren schlechten Schläferinnen im mittleren Punktebereich für schlechte Schlafqualität.

Laut Fragebogen gehen die älteren Frauen nicht nur früher zu Bett, brauchen länger zum Einschlafen, haben einen früheren Schlafbeginn, stehen früher auf und schlafen kürzer. Auch ihre errechnete Schlafmitte liegt früher und die errechnete Schlafeffizienz ist geringfügig niedriger als die der jüngeren Frauen. Besonders stark unterscheiden sich die beiden Gruppen bezüglich der Schlafdauer und der Aufstehzeit. Dies steht im Einklang mit Literaturbefunden (z. B. Crowley 2011; Happe 2011; Kahn *et al.* 1970; Kupfer *et al.* 1982; Münch *et al.* 2005b; Ohayon *et al.* 2004; Weitzman *et al.* 1982). Auch in der Fachliteratur wurde wiederholt berichtet, dass besonders früheres Erwachen bzw. die Aufrechterhaltung von Schlaf am Morgen ein Problem für ältere Menschen darstellt (rev. in Dijk & Lockley 2002). Auch bei den älteren guten Schläferinnen liegen Aufstehzeit und Schlafdauer deutlich später als bei den schlechten Schläferinnen.

Diskussion

Bei einigen Angaben erreichen die älteren guten Schläferinnen sogar Mittelwerte, die deutlicher von den für das Altern beschriebenen Veränderungen abweichen als die Mittelwerte der jüngeren Probandinnen. So haben die älteren Frauen mit guter Schlafqualität beispielsweise die kürzeste Einschlafzeit von allen Gruppen. Dies steht in Einklang mit Aussagen von Myers & Badia (1995) und Monk (2005), dass eine Verschlechterung des Schlafes nicht vom Alternsprozess *per se* abhängt. Menschen, die schlechter schlafen, empfinden ihren Schlaf als wenig erholsam (Alapin *et al.* 2000). Sie haben häufig einen geringeren Tiefschlafanteil und sind nachts häufiger wach als gute Schläfer, was sich in einer gesteigerten Tagesschläfrigkeit zeigen kann (Carskadon *et al.* 1980; Janson *et al.* 1990). Dieser Zusammenhang ist im vorliegenden Kollektiv jedoch nicht zu beobachten. In der Tagesschläfrigkeit unterscheiden sich die Gruppen kaum. Zwar haben ältere Probandinnen eine etwas stärkere Tendenz zur Tagesschläfrigkeit als jüngere Probandinnen und ältere schlechte Schläferinnen eine etwas stärkere Tendenz zur Tagesschläfrigkeit als die älteren guten Schläferinnen. Bei allen Gruppen liegt die Punktezahl jedoch deutlich unter der Grenze zur Tagesschläfrigkeit (11 Punkte) und insgesamt erreichten nur sechs Probandinnen aus unterschiedlichen Probandengruppen Punktezahlen oberhalb des Grenzwertes zur Tagesschläfrigkeit. Dies ist ein so niedriger Anteil in den einzelnen Gruppen, dass ein statistischer Vergleich keinen Sinn ergibt.

Auch ausreichende **körperliche Aktivität** kann die Schlafqualität fördern (Benloucif *et al.* 2004; Fox 1999; Ohayon *et al.* 2001; Sherrill *et al.* 1998; Singh *et al.* 1997). Daher wurde für die vorliegende Studie erwartet, dass ältere schlechte Schläferinnen eine geringere Bewegungsaktivität haben als ältere gute Schläferinnen. Die laut Freiburger Fragebogen in der Untersuchungswoche am wenigsten aktive Probandengruppe waren die jüngeren Frauen. Zwar haben beide Gruppen der älteren Frauen einen höheren Aktivitätswert als die jüngeren Frauen. Vergleicht man jedoch die Schlafqualitätsgruppen, so zeigen die älteren guten Schläferinnen deutlich weniger Bewegungsaktivität als die älteren schlechten Schläferinnen. Dieses Ergebnis entspricht nicht den erwarteten Verhältnissen.

Für diesen Befund sind mehrere Gründe denkbar. Jüngere Probandinnen waren ausschließlich Studentinnen und Angestellte, was mit einem hohen Anteil an sitzender Tätigkeit in Verbindung steht. Ältere Frauen haben vermutlich mehr Freizeit und können daher mehr körperlichen Aktivitäten nachgehen als die jüngeren Probandinnen. Wieder muss hier angeführt werden, dass gezielt gesunde, selbstständig lebende ältere Frauen für die Teilnahme an der Studie gesucht und hierbei u. a. auch aus Sportgruppen für Senioren rekrutiert wurden. Dieser Umstand kann den Unterschied zwischen Jung und Alt begründen. Die älteren guten Schläferinnen allerdings wurden wie die älteren schlechten Schläferinnen aus Sportvereinen rekrutiert, unterschiedliche Aktivität zwischen den Schlafqualitätsgruppen sollte somit nicht in einem unterschiedlichen Milieu begründet liegen. Die höhere Aktivität scheint bei den älteren Probandinnen keinen fördernden Einfluss auf die Schlafqualität zu haben. Bei dieser Interpretation muss beachtet werden, dass die Standardabweichungen für die Aktivitätsangaben bei allen Probandengruppen sehr hoch sind. Das

Diskussion

bedeutet, dass die Aktivität auch innerhalb der einzelnen Gruppen stark variiert. Dadurch ist eine Interpretation, besonders in Anbetracht der kleinen Gruppengröße, nur unter Vorbehalt möglich. Schließlich spielt auch der Zeitpunkt der Ausübung körperlicher bzw. sportlicher Aktivitäten eine Rolle für deren Auswirkungen auf die Schlafqualität. Wenn Probandinnen abends Sport getrieben haben, ist ihr Organismus vor dem Schlafengehen noch hochgefahren und kann sich nicht richtig auf Schlaf einstellen (Garde *et al.* 2009). Deshalb dürften sie in der Nacht schlechter schlafen.

Die Aktivität der Probandinnen wurde in dieser Studie nicht nur durch den Freiburger Fragebogen ermittelt, sondern auch aktigrafisch mit einem Bewegungssensor erfasst. Die jüngeren Frauen haben am Tag (also während ihres „Aktivitätsintervalls“) für die in der Woche gemessene Gesamtaktivität und die mittlere Aktivität niedrigere Werte als die älteren Frauen und auch der prozentuale Bewegungsanteil ist niedriger. Beim Vergleich zwischen den älteren guten Schläferinnen und älteren schlechten Schläferinnen zeigt sich jedoch ein von den Angaben im Freiburger Fragebogen abweichender Befund. Die älteren guten Schläferinnen haben in allen drei Variablen höhere Werte als die älteren schlechten Schläferinnen, waren also aktiver als diese. Möglicherweise kann die Abweichung von den subjektiven Angaben der Probandinnen dadurch begründet werden, dass ältere schlechte Schläferinnen mehr und andere Tätigkeiten als körperliche Aktivität wahrnehmen und angeben. Dies kann z. B. die Fortbewegung durch Fahrradfahren betreffen. Zu beachten ist außerdem, dass der Aktigraf im Wasser abgenommen werden sollte und Schwimmen als Sport daher nicht vom Gerät erfasst wurde. Dieser Umstand betrifft insgesamt sieben Probandinnen, vier davon sind ältere gute Schläferinnen und drei ältere schlechte Schläferinnen. Da die Gruppe der älteren guten Schläferinnen aus insgesamt neun Probandinnen besteht, fehlen in dieser Gruppe anteilig mehr gemessene Aktivitätswerte als bei den älteren schlechten Schläferinnen. Außerdem sind die älteren guten Schläferinnen häufiger geschwommen als die älteren schlechten Schläferinnen. Es ist somit davon auszugehen, dass der Aktivitätswert der älteren guten Schläferinnen in der Untersuchungswoche im Vergleich zu den älteren schlechten Schläferinnen noch einmal nach oben korrigiert werden könnte. Durch die Aktigrafie wurde auch die Bewegungsaktivität während der nächtlichen Schlafphasen in der Untersuchungswoche erfasst. Hier haben die älteren Probandinnen etwas höhere Werte (also einen unruhigeren Schlaf) als die jüngeren. Überraschend ist, dass die älteren guten Schläferinnen während der Schlafphase höhere Bewegungswerte haben als die älteren schlechten Schläferinnen. Möglicherweise wachen die älteren guten Schläferinnen trotz mehr Bewegung während der Schlafepisoden weniger häufig auf als die älteren schlechten Schläferinnen (weil sie weniger empfindlich auf Störungen reagieren). Verschiedenen Quellen ist zu entnehmen, dass die Aktigrafie dazu neigt, Phasen stillen Liegens als Schlaf fehlzuinterpretieren (Blood *et al.* 1997; Martin & Hakim 2011; Reid & Dawson 1999). Es könnte somit sein, dass sich die älteren schlechten Schläferinnen während ihrer nächtlichen Wachphasen oder vor dem Einschlafen und nach

Diskussion

dem Erwachen ruhiger verhalten als die älteren guten Schläferinnen, in der Erwartung, dadurch wieder einzuschlafen. Insgesamt sind jedoch alle Unterschiede relativ gering.

Wie die körperliche Aktivität wird auch der *im Freien bei Tageslicht verbrachte Zeitraum* als ein positiver Einflussfaktor auf den Schlaf bzw. die Schlafqualität gesehen. Dies liegt darin begründet, dass Licht ein starker Zeitgeber ist und so den circadianen Rhythmus (dessen Phase und Amplitude) stabilisiert (Fleissner 1996; Münch *et al.* 2005b). D. h. je mehr Zeit die Probandin am Tag zu angemessenen Zeiten unter Lichteinfluss verbringt, desto besser die nächtliche Schlafqualität, da endogene und exogene Rhythmen durch Entrainment in einer geregelten Phasenbeziehung zueinander stehen. Dem liegt die Annahme zugrunde, dass die Synchronisierung verschiedener molekularer und physiologischer Rhythmen miteinander eine Voraussetzung für ungestörten Schlaf ist. Während der Untersuchungswoche verbrachten die älteren Probandinnen fast doppelt so viel Zeit im Freien wie die jüngeren Probandinnen. Zwischen den älteren guten und schlechten Schläferinnen besteht kein Unterschied bezüglich der im Mittel draußen verbrachten Zeit. Eine deutlich höhere Standardabweichung bei den guten Schläferinnen weist aber darauf hin, dass das Verhalten innerhalb der Gruppe diverser ist als bei den schlechten Schläferinnen. Die Vermutung, dass weniger Input durch Lichtreize generell zu einer schlechteren Schlafqualität führt (Fox 1999), kann in dieser Studie somit nicht bestätigt werden. Ein Grund für die längere Zeit im Freien bei älteren Probandinnen im Vergleich zu jüngeren Frauen könnte sein, dass die älteren Frauen mehr Freizeit haben, in der sie nach draußen gehen können.

Schließlich machten die Probandinnen noch Angaben zu ihrem *täglichen Befinden* während der Untersuchungswoche. Soziale und psychische Stressoren können Auswirkungen auf die HPA-Achse als wichtiges Stress-System des Körpers haben. Erhöhte Cortisol-Konzentrationen können wiederum mit gesundheitlichen Problemen in Verbindung gebracht werden, die auch einen schlechteren Schlaf umfassen (Chrousos 2009). Jüngere und ältere Frauen empfanden ihren Schlaf als gleich erholsam. Die jüngeren Frauen fühlten sich jedoch weniger leistungsfähig und abends erschöpfter als die älteren Probandinnen. Diese Beobachtung könnte damit zusammenhängen, dass die jüngeren Frauen durch ihre täglichen Aufgaben im Berufs- und Studentenleben stärker beansprucht sind als die älteren Frauen im Ruhestand. Interessant ist, dass die älteren guten Schläferinnen ihren Schlaf als erholsamer empfanden und sich leistungsfähiger und abends weniger erschöpft fühlten als ältere schlechte Schläferinnen. Eine veränderte Empfindung der Erholsamkeit des eigenen Schlafes scheint somit eher innerhalb der Gruppe der älteren Frauen aufzutreten und nicht mit dem Alternsprozess an sich zusammenzuhängen. Dieser Umstand könnte physiologisch oder psychologisch begründet sein.

7.3 Zu Gruppenvergleichen nach Uhrengen-Expression, Cortisol-Konzentration und peripherer Hauttemperatur

7.3.1 Circadiane Expression der Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* abhängig von Alter und Schlafqualität

Ausgehend von der Annahme, dass Veränderungen der circadianen Rhythmik im Alter durch ihre Vielfalt auf einen Ursprung im molekularen System hinweisen, das diesen Rhythmen zugrunde liegt, wurde in der vorliegenden Studie die Expression der drei zentralen Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* zu verschiedenen Tageszeiten untersucht. Bisher liegen nur wenige Studien zur Genexpression bei älteren Menschen vor (Ando *et al.* 2010; Hida *et al.* 2009; Olbrich 2010). Speziell die Expression des Uhrengens *hCRY1* wurde noch nicht im Zusammenhang mit Alter und Schlafqualität untersucht.

In der vorliegenden Studie wurde zunächst geprüft, ob zwischen den gemessenen Expressionswerten eines einzelnen Gens eine tageszeitliche Schwankung zu erkennen ist. Sowohl bei den jüngeren als auch bei den älteren Probandinnen weicht für *hBMAL1* mindestens ein Expressionswert signifikant von den anderen Werten ab. Für *hCRY1* zeigen sich in keiner der Altersgruppen signifikante Ergebnisse, für *hPER1* gibt es kein signifikantes Ergebnis bei den älteren Probandinnen. Dies entspricht nicht den Erwartungen, da bereits für männliche Probanden gezeigt werden konnte, dass diese Gene in Mundschleimhaut bzw. Schleimhaut beim Menschen circadian oszillieren (Bjarnason *et al.* 2001; Zieker *et al.* 2010). Bjarnason *et al.* (2001) waren die Ersten, die die Uhrengen-Expression in Mundschleimhaut über 24 Stunden hinweg beim Menschen beschrieben. Sie sammelten zu den Zeitpunkten 04:00, 08:00, 12:00, 16:00, 20:00 und 24:00 Uhr Mundschleimhaut von acht gesunden, „tagaktiven“ jungen Männern zwischen 22 und 33 Jahren und erstellten Expressionsprofile für die Gene *hPER1*, *hCRY1*, *hBMAL1*, *hCLOCK* und *hTIM*. Die Gene *hPER1*, *hCRY1* und *hBMAL1* zeigten dabei eine rhythmische Expression in Mundschleimhaut.

Die fehlenden signifikanten Ergebnisse in der vorliegenden Studie könnten ein Hinweis auf im Verhältnis schwächere Schwankungen der Expression von *hCRY1* unabhängig vom Alter bzw. für *hPER1* bei älteren Frauen sein. Die Messzeitpunkte wurden auf Zeiten gelegt, für die in anderen Studien Expressionsmaxima und -minima der untersuchten Gene beschrieben wurden (Bjarnason *et al.* 2001; Zieker *et al.* 2010), doch ist durch den relativ geringen Anteil an Messzeitpunkten (vier innerhalb von 24 Stunden) in der vorliegenden Studie anzunehmen, dass die Minima und Maxima der Uhrengen-Expression nicht genau erfasst wurden. Ein weiterer Anstieg oder Abfall der Genexpression, der zu einer signifikanten Abweichung der Werte voneinander führen würde, ist somit nicht auszuschließen. Die Wahrscheinlichkeit für diesen Umstand ist bei *hCRY1* höher als bei *hPER1* und *hBMAL1*, deren Maxima und Minima in Mundschleimhaut etwa zur Zeit der Messzeitpunkte 08:00 und 24:00 Uhr bzw. 20:00 und 08:00 Uhr erwartet werden (Bjarnason *et al.* 2001). Dass die Genexpression von *hPER1* nur bei den jüngeren Probandinnen messbaren tageszeitlichen

Diskussion

Schwankungen unterliegt, nicht aber bei den älteren Frauen, kann darauf hindeuten, dass die Expression bei ersterer Gruppe stärker schwankt als bei den älteren Frauen. Dieser Befund könnte auf eine kleinere Amplitude und damit auf ein abgeschwächtes circadianes Signal zur Rhythmusgenerierung auf molekularer Ebene bei älteren Menschen hindeuten, wie es auch bei physiologischen Rhythmen zu finden ist. In Einklang hiermit berichteten Kolker *et al.* (2003) über eine Abnahme der Amplitude der *bmali*-Expression mit steigendem Alter bei Hamstern. Im Gegensatz dazu zeigten Hida *et al.* (2009), dass sich die Amplitude des Expressionsrhythmus der *hPER1*-Gens bei Männern nicht zwischen Jüngeren und Älteren unterschied. Die Arbeitsgruppe untersuchte bei sechs gesunden älteren Männern mit einem mittleren Alter von 62 Jahren und acht jungen gesunden Männern mit einem mittleren Alter von 21 Jahre die Expressionsprofile der Gene *hPER1*, *hPER2* und *hPER3* in mononukleären Blutzellen im 2-Stunden-Intervall unter semi-kontrollierten Bedingungen.

Werden die Gruppen der älteren guten und schlechten Schläferinnen betrachtet, so findet sich nur für das Gen *hBMALI* in der Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen eine tageszeitliche Variation, nicht jedoch bei den älteren guten Schläferinnen. Wird das Ergebnis dahingehend gedeutet, dass die *hBMALI*-Expression bei älteren guten Schläferinnen eine geringere Amplitude hat als bei der Gruppe der schlechten Schläferinnen, widerspricht das Literaturbefunden (Hofman & Swaab 2006; Kolker *et al.* 2003). Es hätte erwartet werden können, dass eine geringere Schwankung bei den schlechten Schläferinnen auftritt, da die altersbedingte Beeinflussung der Rhythmik - unter die bei verschiedenen Quellen die Abnahme der Amplitude fällt - auch den Schlaf bzw. die Schlafqualität negativ beeinflusst. Eine Abschwächung des Signals von den SCN (Satinoff *et al.* 1993; Watanabe *et al.* 1995) und der peripheren Oszillatoren erschwert eine Synchronisation zwischen circadianen Vorgängen, sodass für Einleitung und Aufrechterhaltung des Schlafes keine optimalen internen Bedingungen herrschen (Dijk & Lockley 2002; Hida *et al.* 2009; Hofman & Swaab 2006; Monk 2005; Münch *et al.* 2005a; Weitzman *et al.* 1982). Wenn dieses Ergebnis nicht allein durch die unterschiedliche Erfassung der Minima und Maxima zustande kommt, könnte vermutet werden, dass zumindest in diesem Kollektiv eine abgeschwächte Amplitude der *hBMALI*-Expression nicht mit altersbedingten Beeinträchtigungen der circadianen Organisation zusammenhängt, die zu einer Beeinträchtigung des Schlafes führen. Über *hPER1* und *hCRY1* können keine Aussagen bezüglich einer möglichen veränderten Amplitude bei den Schlafqualitätsgruppen gemacht werden, da hier für keine der Gruppen signifikante Ergebnisse vorliegen.

Im Folgenden soll die relative Expression der drei untersuchten zentralen Uhrengene zu den vier Messzeitpunkten 08:00 Uhr, 12:00 Uhr, 20:00 Uhr und 24:00 Uhr erörtert werden. Das sich dabei abzeichnende Expressionsmuster wird in der Diskussion mit dem Verlauf der Genexpression aus einer Studie von Bjarnason *et al.* (2001) mit jungen männlichen Probanden verglichen. Die Studie eignet

Diskussion

sich gut für einen direkten Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, weil das untersuchte Gewebe ebenfalls Mundschleimhaut ist. Dies ist wichtig, da die Phase der Genexpression nicht in allen Geweben gleich ist. So liegt die Akrophase von *hPER1* in menschlichen Hautzellen um etwa 15:00 Uhr (Bjarnason *et al.* 2001), in menschlichen Myokardzellen wiederum um etwa 08:00 Uhr morgens (Leibetseder *et al.* 2009). Das Uhrengen *hBMALI* hatte in Bjarnasons Studie einen maximalen Expressionswert (die Akrophase) zwischen 21:00 und 22:00 Uhr und ein Minimum gegen 09:00 Uhr morgens. Für *hPER1* lag die Akrophase gegen 08:30 Uhr und das Minimum gegen 24:00 Uhr. Die Akrophase des *hCRY1*-Rhythmus lag gegen 17:00 Uhr und das Minimum gegen 04:00 Uhr morgens.

Beim Vergleich der Expression der **drei Uhrengene** zeigten sich bis auf eine Ausnahme an keinem der vier Messzeitpunkte signifikante Unterschiede zwischen den Alters- bzw. Schlafqualitätsgruppen. Die Ausnahme bildet die Expression des Gens *hPER1* zwischen jüngeren und älteren Probandinnen um 08:00 Uhr morgens. Hier zeigen die älteren Frauen einen deutlich höheren Wert als die jüngeren. Für die restlichen Zeitpunkte und Gene heißt das, dass es für die Uhrengene *hCRY1* und *hBMALI* keine Unterschiede bezüglich der Expressionsstärke und keine Hinweise auf eine andere Phase bei älteren Probandinnen gibt. Auch scheint es zwischen den älteren guten und schlechten Schläferinnen keine Unterschiede in der relativen Expression der drei Gene zu geben. Eine schlechte Schlafqualität kann in diesem Kollektiv somit nicht mit einer Veränderung der inneren Uhr auf transkriptionaler Ebene in Verbindung gebracht werden.

Die Expression des Uhrengens *hBMALI* zeigt bei allen Probandengruppen einen ähnlichen Verlauf. Die niedrigste Genexpression findet sich um 08:00 Uhr morgens und die maximale Expression um 20:00 Uhr. Die Genexpression für *hBMALI* scheint am Tag und gegen Abend hochreguliert zu sein, am Morgen und in der Nacht herunterreguliert. Dieses Muster bei Frauen ist vergleichbar mit dem bei Bjarnason *et al.* (2001) für *hBMALI* beschriebenen Expressionsverlauf in Mundschleimhaut bei jungen Männern. Für die älteren Probandinnen deutet sich ein etwas höherer Expressionswert um 08:00 Uhr morgens an als für die jüngeren Probandinnen. Höhere Werte um den Nadir der *hBMALI*-Expression bei älteren Menschen wurden auch von Ando *et al.* (2010) beschrieben. In dieser Studie wurden 70 gesunde Frauen zwischen 20 und 79 Jahren untersucht. Die Gruppe konnte beobachten, dass mit steigendem Alter die mRNA-Konzentration von *hBMALI* um 09:00 Uhr anstieg. Sie schlossen aus dieser Beobachtung, dass Altern die *hBMALI*-Konzentration an sich beeinflusst und nicht die Phase des Expressions-Rhythmus.

Aus Gründen der Vergleichbarkeit zwischen der Expression der verschiedenen Gene mussten bei deren Analyse einige Probandinnen ausgeschlossen werden. Diese Probandinnen können jedoch in

Diskussion

eine Datenanalyse mit einfließen, wenn der Verlauf der *hBMALI*-Expression gesondert betrachtet wird. Eine dadurch mit aufgenommene Probandin aus der Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen zeigt für die *hBMALI*-Expression um 24:00 Uhr einen etwa um das Fünffache höheren Expressionswert als die restlichen Probandinnen. Aufgrund der geringen Probandenzahl ist der Einfluss dieses Wertes am *hBMALI*-Profil deutlich zu erkennen. Zwar bleibt das generelle Expressionsmuster bei der Gruppe der älteren Probandinnen erhalten. Betrachtet man jedoch die Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen einzeln, so verschiebt sich der Maximalwert der *hBMALI*-Expression von 20:00 auf 24:00 Uhr. Da die betreffende Probandin während der Untersuchungswoche über keine besonderen Vorkommnisse berichtete und auch am Untersuchungstag selbst keinen anderen Einflüssen ausgesetzt war als die anderen Probandinnen, muss dieser Extremwert als intrinsische Besonderheit angesehen werden. Dies würde auf eine Phasenverzögerung der Expression des *hBMALI*-Gens bei dieser Probandin hindeuten, da der maximale Expressionswert später liegt. Dies widerspricht der in der Fachliteratur thematisierten Phasenbeschleunigung im Alter. Dieser Einzelfall könnte ein Hinweis auf eine hohe interindividuelle Variation in der Uhrengen-Expression sein, die in dem hier vorliegenden kleinen Kollektiv ins Gewicht fällt.

Bei Betrachtung der Expressionswerte des Uhrengens *hCRY1* fällt auf, dass sich für jüngere und ältere Probandinnen unterschiedliche Expressionsverläufe zeigen. Während die Genexpression bei den jüngeren Frauen von 08:00 Uhr bis 24:00 Uhr hin kontinuierlich abnimmt, steigt sie bei den älteren Frauen zur Nacht hin wieder an. Beide Profile allerdings stimmen nicht mit dem von Bjarnason *et al.* (2001) bei jungen Männern ermittelten Expressions-Profil überein. Laut Bjarnason und Kollegen liegen Akrophase und Minimum von *hCRY1* gegen 17:00 Uhr und 4:00 Uhr morgens. Beide Zeitpunkte wurden in der vorliegenden Studie nicht erfasst. Läge jedoch das Maximum der *hCRY1*-Expression der hier betrachteten Expressionsprofile der jüngeren Probandinnen ebenfalls am späten Nachmittag und das Minimum am frühen Morgen, so dürfte die Expression um 08:00 Uhr nicht höher sein als um 12:00 Uhr, da sie von 04:00 bis 16:00 Uhr wieder im Steigen begriffen sein müsste. Bei den älteren Probandinnen dürfte die Genexpression um 24:00 Uhr nicht höher sein als um 20:00 Uhr, da sie im Sinken begriffen sein müsste. Das vorliegende Expressionsprofil spricht somit dafür, dass sowohl bei jüngeren als auch bei älteren Frauen *hCRY1* morgens und nachts stärker exprimiert wird als tagsüber, es sei denn, für das Gen gibt es mehrere Peaks die auch durch die Messzeitpunkte in Bjarnasons Studie nicht erfasst werden. Da diese Diskrepanz zu der beobachteten Expression bei jüngeren Männern bei beiden hier untersuchten weiblichen Probandengruppen besteht, würde das eher für einen Geschlechtsunterschied sprechen als für eine Veränderung mit dem Alter. Ando *et al.* (2010) berichten von solchen geschlechtsbezogenen Unterschieden der Uhrengen-Expression in peripheren Blutzellen (unpublished data). Auch Zieker *et al.* (2010) beschrieben für *hCRY1* in der Darmschleimhaut von acht gesunden Männern mittleren Alters eine Hochregulierung der

Diskussion

Genexpression in der Wachphase. Die höhere Genexpression der älteren Frauen im Vergleich zu den jüngeren Frauen um 24:00 Uhr scheint zunächst für verschiedene Expressionsprofile zu sprechen. Jedoch ist die Standardabweichung der älteren Frauen um 24:00 Uhr sehr hoch. Das spricht ebenfalls für eine bereits erwähnte höhere Variabilität der *hCRY1*-Expression bei älteren Probandinnen im Vergleich zu jüngeren Probandinnen. Betrachtet man die Schlafqualitätsgruppen, so wird deutlich, dass es vor allem die älteren schlechten Schläferinnen sind, bei denen die *hCRY1*-Expression um 24 Uhr stark variiert, während das Expressionsprofil der älteren guten Schläferinnen dem der jüngeren Probandinnen entspricht. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass eine höhere Variation in der *hCRY1*-Expression mit einem gestörten Schlaf im Alter zusammenhängt. Da jedoch keiner der Unterschiede signifikant ist, wird diese Vermutung unter Vorbehalt angestellt.

Der Peak der *hPER1*-Expression liegt in der vorliegenden Studie sowohl bei den Alters- als auch bei den Schlafqualitätsgruppen um 24:00 Uhr. Die Expressionsprofile der älteren guten Schläferinnen und älteren schlechten Schläferinnen zeigen den gleichen Verlauf, mit niedrigeren Werten um 12 und 20:00 Uhr, die fast auf gleicher Höhe sind. Damit zeigen auch die älteren Probandinnen als Gruppe diesen Verlauf. Eine Diskrepanz ergibt sich jedoch zwischen jüngeren und älteren Probandinnen. Bei den älteren Probandinnen ist die *hPER1*-Expression um 08:00 Uhr morgens hoch, während bei den jüngeren Probandinnen hier der Nadir liegt. Somit verlaufen die Genexpressionsprofile insgesamt anders als bei Bjarnason *et al.* (2001). Dort liegt der Nadir der *hPER1*-Expression gegen 0 Uhr, während die Expression bei den älteren Frauen hier wieder etwas ansteigt. Das Expressionsprofil der jüngeren Probandinnen weicht deutlicher von dem von Bjarnason *et al.* (2001) bei jungen Männern beschriebenen Profil ab als das der älteren Probandinnen. Der Grund, warum gerade das *hPER1*-Expressionsprofil der jüngeren Frauen diese starke Abweichung zeigt, ist nicht klar. Denkbar ist, dass hier Umwelteinflüsse eine Rolle spielen, die zu einer höheren Expression oder einer Phasenverschiebung bei dieser Gruppe führen. Darunter fallen der Einfluss von sportlicher Aktivität am Abend oder der Phasen-verschiebende Effekt von abendlichem Einfall von Blaulicht in die Netzhaut, wie er durch Bildschirmarbeit verursacht werden kann. Festzuhalten ist, dass die *hPER1*-Expressionsprofile sich zwischen jüngeren und älteren Frauen unterscheiden, aber nicht zwischen den Schlafqualitätsgruppen. Da gerade für die jüngeren gesunden Probandinnen mit guter Schlafqualität ein von Literaturbefunden abweichendes Expressionsmuster von *hPER1* vorliegt, muss von exogenen Einflüssen wie Lichteinfall ausgegangen werden, die hier die *hPER1*-Expression beeinflussen. Dieser Unterschied kann daher nicht als typische altersbedingte Veränderung der Uhrengen-Expression interpretiert werden. Somit sind unter natürlichen Bedingungen weder für Frauen unterschiedlichen Alters noch für ältere Frauen unterschiedlicher Schlafqualität verschiedene *hPER1*-Expressionsprofile zu beobachten. Weder das Alter noch die Schlafqualität scheinen damit in diesem Kollektiv mit einer veränderten *hPER1*-Expression zusammenzuhängen.

Diskussion

Ein weiterer interessanter Punkt ist der Vergleich des Expressionsniveaus zwischen den drei zentralen Uhrengenen. Die zu den vier gewählten Zeitpunkten gemessene Genexpression von *hCRY1* ist fast durchgehend niedriger als die der beiden anderen Gene. *hBMAL1* zeigt in allen Gruppen zu fast jedem Zeitpunkt die höchste Expression. Eine Ausnahme bildet der Zeitpunkt 08:00 Uhr bei den älteren Probandinnen und den älteren schlechten Schläferinnen. Es deutet sich an, dass die *hBMAL1*-Expression entgegengesetzt zu *hCRY1* und *hPER1* verläuft, während *hCRY1* und *hPER1* einen ähnlichen Verlauf zeigen. So wird *hPER1* um 08:00 Uhr und 24:00 Uhr auf hohem Niveau exprimiert, während die Expression von *hBMAL1* zu diesen Zeiten niedriger ist. Für *hCRY1* deutet sich eine erhöhte Expression um 08:00 und 24:00 Uhr an. In anderen Studien wird für *hCRY1* ein Expressionsmuster beschrieben, das eher dem Expressionsverlauf von *hBMAL1* folgt (Reddy *et al.* 2007). Möglicherweise liegen dieser Diskrepanz Einflüsse durch Entrainment bspw. durch Nahrungsaufnahme oder körperliche Aktivität und deren Auswirkungen auf die Glucocorticoid-Konzentration im Körper zugrunde.

Ziel war es, mögliche Unterschiede in der Expression dreier zentraler Uhrengene zwischen jüngeren und älteren gesunden Frauen und älteren gesunden Frauen unterschiedlicher Schlafqualität zu beobachten. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass unter natürlichen Bedingungen für die Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* weder alternsbedingt noch zwischen älteren Frauen unterschiedlicher Schlafqualität deutliche Unterschiede bezüglich der Expressionsstärke oder einer Phasenverschiebung zu erkennen sind. Es deutet sich jedoch an, dass das Uhrengen *hPER1* stärker durch Umweltbedingungen beeinflusst wird als die anderen Uhrengene. Speziell bei älteren schlechten Schläferinnen scheint eine hohe Variabilität in der Genexpression, insbesondere für das Gen *hCRY1*, vorzuliegen, die die Festlegung auf ein einheitliches Profil erschwert. Es kann daher vermutet werden, dass es eine hohe Variabilität in der Uhrengen-Expression gibt, die mit unterschiedlicher Schlafqualität im Alter zusammenhängt. Die *hCRY1*-Expression scheint unabhängig von Alter oder Schlafqualität geringer zu sein als die Expression von *hBMAL1* und *hPER1*.

7.3.2 Hauttemperatur-Rhythmen abhängig von Alter und Schlafqualität

Innerhalb dieser Arbeit sollte die Frage geklärt werden, wie sich der Hauttemperatur-Rhythmus unter natürlichen Bedingungen alters- und schlafqualitätsabhängig verändert. Von Interesse war dabei zum einen, ob die Hauttemperaturen als Marker-Rhythmen über die Untersuchungswoche hinweg reproduzierbar sind. Zum anderen, ob in der Fachliteratur beschriebene alternsbedingte Veränderungen der circadianen Rhythmik - wie eine vorverlagerte Akrophase oder niedrigere mittlere Hauttemperaturen - für ältere Menschen oder im Zusammenhang mit Schlafproblemen auch unter natürlichen Bedingungen stattfinden. Wegen des engen Zusammenhangs zwischen der

Diskussion

Schlafinitiierung und der peripheren Hauttemperatur am Abend sollte zudem der Verlauf der Hauttemperaturen und deren Verhältnis zueinander (der DPG) speziell für diesen Zeitraum betrachtet werden.

Zur Reproduzierbarkeit der Hauttemperatur-Rhythmik:

Bei drei der Probandengruppen sind alle Rhythmus-Parameter des proximalen und der distalen Hauttemperatur-Rhythmen reproduzierbar. Das bedeutet, dass sich die Phase und andere Variablen des Rhythmus innerhalb der Gruppen zumindest über die sieben Untersuchungstage nicht signifikant verändern. Nur die mittlere Tagestemperatur an der Hand ist bei den älteren guten Schläferinnen nicht reproduzierbar. Das Tagesmittel der Hauttemperatur wird stark von Temperaturschwankungen am Tag beeinflusst. Die Abweichung dieses Wertes an einigen Untersuchungstagen kann somit durch externe Einwirkungen - wie der Höhe der Umgebungstemperatur, Wind, Mahlzeiten, Aktivitäten oder Kleidung - begründet sein. Die Reproduzierbarkeit der Rhythmus-Variablen Mesor, Amplitude und Akrophase sowie des Nachtmittels ist ein Hinweis darauf, dass die Messwerte trotz natürlicher Bedingungen bzw. externer Einflüsse eine hohe endogene Stabilität aufweisen. Das macht den PHT-Rhythmus zu einem reliablen Marker-Rhythmus für den Vergleich mit weiteren Variablen an einem einzelnen Untersuchungstag. Dies stimmt mit Befunden von Sarabia *et al.* (2008) überein, die die Hauttemperaturen an Oberschenkel und Handgelenk in einem gemischtgeschlechtlichen Kollektiv von 99 Studenten unter natürlichen Bedingungen über eine Woche hinweg ermittelten.

Zum Vergleich der Rhythmusparameter der Hauttemperatur während der Untersuchungswoche:

Zunächst fällt beim Vergleich der Rhythmus-Variablen der Hauttemperatur auf, dass statistisch signifikante Unterschiede ausschließlich zwischen den beiden Altersgruppen auftreten, nicht jedoch zwischen den Gruppen älterer Probandinnen unterschiedlicher Schlafqualität.

Die Unterschiede zwischen den jüngeren und älteren Probandinnen - ob angedeutet oder signifikant - deuten an allen drei Messorten in die gleiche Richtung. Für beide distalen Hauttemperaturen und die proximale Hauttemperatur liegt die **Akrophase** der älteren Probandinnen früher als die der jüngeren Probandinnen, was für eine vorverlagerte Phase beider Hauttemperatur-Rhythmen mit steigendem Alter spricht. Am Oberschenkel deutet sich diese Verschiebung nur an, während sie für die distalen Hauttemperaturen an beiden Messorten signifikant ist. Diese Befunde stimmen mit Beobachtungen aus der Literatur überein, nach denen die aufsteigende Phase des rektalen Temperatur-Rhythmus bei älteren Menschen beschleunigt ist (z. B. Duffy *et al.* 1998; Monk & Kupfer 2000; Van Someren 2000a), was auf eine zeitlich vorverlagerten Phase des zentralen circadianen Schrittmachers zurückzuführen ist. Aufgrund des funktionalen Zusammenhangs zwischen Körperkerntemperatur und distaler peripherer Hauttemperatur sollte somit auch die Phase der distalen Hauttemperatur bei älteren Frauen vorverlagert sein. Die vorliegenden Ergebnisse belegen diese Vermutung.

Diskussion

Die Temperatur-**Amplitude** ist bei den älteren Probandinnen an allen Messorten niedriger als bei den jüngeren Probandinnen. Dieser Unterschied erreicht jedoch nur am Fuß statistische Signifikanz. Diese Beobachtung steht in Einklang mit Befunden aus anderen Studien, die für die Körperkerntemperatur über eine Abnahme der Amplitude bei älteren Menschen berichten (Richardson *et al.* 1982; Vitiello *et al.* 1986; Weitzman *et al.* 1982). Da die Körperkerntemperatur vorwiegend über die Abgabe von Wärme nach außen reguliert wird, kann auch eine kleinere Amplitude der distalen Hauttemperaturen erwartet werden.

Die mittlere **Nachttemperatur** an Hand und Fuß liegt bei den jüngeren Probandinnen signifikant höher als bei den älteren Frauen, ebenso die am Oberschenkel gemessene proximale Hauttemperatur in der Nacht. Für den **Mesor**, also den mittleren Wert, um den der Hauttemperatur-Rhythmus innerhalb von 24 Stunden schwankt, neigen die älteren Probandinnen ebenfalls zu niedrigeren Werten für distale und proximale Hauttemperatur als die jüngere Vergleichsgruppe. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Die niedrigeren mittleren nächtlichen Hauttemperaturen bei den älteren Probandinnen könnten durch eine ineffizientere Wärmeabgabe in der Nacht bedingt sein. Dies kann verschiedene Gründe haben. Zum einen wird durch eine verringerte Stoffwechselaktivität bei älteren Menschen (vor allem begründet durch den Verlust von Muskelmasse im Alter, der Sarkopenie) weniger Wärme produziert (Bernstein *et al.* 1956; Horvath *et al.* 1955; Kenney & Munce 2003). Die basale Wärmeproduktion nimmt vom 30. bis zum 70. Lebensjahr um 20 % ab (Poehlman 1994). Weniger Stoffwechselaktivität bzw. weniger Muskelmasse bei älteren Probandinnen können Grund für die niedrigeren nächtlichen Hauttemperaturen sein, da weniger Wärme aus dem Körperinneren abgeführt werden muss. Die mittels Bioimpedanzanalyse gemessene Körperzusammensetzung in der vorliegenden Studie zeigt bei älteren Probandinnen dementsprechend eine etwas niedrigere Muskelmasse und einen geringeren Grundumsatz als bei jüngeren Frauen. Diese Unterschiede sind nicht signifikant, jedoch als Trend vorhanden ($t = -1,83, p = 0,076$; $t = -1,77, p = 0,085$). Eine weitere Erklärung für die beobachtete verringerte distale Hauttemperatur bei älteren Menschen ist die im Alter verringerte vasokonstriktorische Fähigkeit (Falk *et al.* 1994; Kenney & Armstrong 1996; Kenney & Munce 2003). Dies deutet auf eine verringerte Dynamik des Wärmeregulationssystems (Regulierung der Weite von Blutgefäßen in peripheren Hautregionen) hin, was wiederum zu einer weniger effizienten Wärmeabgabe bei älteren Frauen und damit zu niedrigeren Hauttemperaturen führen könnte.

Während die mittlere Hauttemperatur in der Nacht bei den älteren Probandinnen signifikant niedriger ist als bei den jüngeren Frauen, deutet sich dieser Unterschied für den Mesor der Hauttemperaturen nur an. Somit scheinen die Temperaturunterschiede zwischen den Altersgruppen am Tag (d. h. während der aktiven Phase) weniger ausgeprägt zu sein. Dies könnte durch exogene Einflüsse erklärt werden. Z. B. könnte die Hauttemperatur unter natürlichen Bedingungen durch mehr körperliche Aktivität bei älteren im Vergleich zu jüngeren Frauen erhöht sein. Dies wird durch die in dieser Arbeit

Diskussion

ermittelte höhere körperliche Aktivität der älteren Probandinnen bestätigt. Zwischen den Probandengruppen unterschiedlichen Alters konnten mehr signifikante Unterschiede zwischen den distalen Hauttemperaturen festgestellt werden als zwischen der proximalen Hauttemperatur. Dies lässt sich dadurch erklären, dass distale im Gegensatz zu proximalen Hautstellen aktiv an der Thermoregulation der Körperkerntemperatur beteiligt sind (Kräuchi & Wirz-Justice 1994; Hales 1985). Unter der Annahme der beeinträchtigten Fähigkeit zur Regulierung der Wärmeabgabe bei älteren Frauen würde man für die distalen Hauttemperaturen somit eher Unterschiede zwischen den Altersgruppen erwarten als für die proximalen, was aus den Ergebnissen auch hervorgeht.

Für *alle Probandengruppen* konnte in der vorliegenden Studie beobachtet werden, dass die proximale Hauttemperatur am Oberschenkel in ihrem Verlauf dem der distalen Hauttemperaturen an Hand und Fuß mit einer Akrophase des Rhythmus während der Nacht gleicht. Diese Beobachtung steht im Einklang mit Befunden aus Studien von van Marken Lichtenbelt *et al.* (2006) und Gompper *et al.* (2010), in denen ebenfalls ein ähnlicher Verlauf von proximaler und distaler Hauttemperatur unter natürlichen Bedingungen beobachtet wurde. Dagegen folgt die proximale Hauttemperatur unter kontrollierten Laborbedingungen der Körperkerntemperatur (Kräuchi & Wirz-Justice 1994).

Es zeichnen sich keine eindeutigen Tendenzen für eine unterschiedliche Akrophase der proximalen oder distalen Hauttemperatur zwischen *älteren guten und schlechten Schläferinnen* ab. Es wurde erwartet, dass die Phase der PHT-Rhythmen bei älteren schlechten Schläferinnen zeitlich noch weiter vorverlagert ist. Das wäre ein Hinweis auf eine deutlicher ausgeprägte altersbedingte Veränderung der Rhythmik bei dieser Gruppe, was wiederum Ursache oder Folge der schlechteren Schlafqualität sein könnte. Eine niedrigere Amplitude bei älteren Probandinnen mit schlechterer Schlafqualität hätte auf eine geringere Funktionalität des circadianen Systems hinweisen können. Die Amplitude eines Rhythmus bestimmt dessen "Stärke", d. h. wie resistent dieser Rhythmus gegen Veränderungen von außen ist. Daraus folgt, dass eine geringere Amplitude bei älteren Menschen mit einer Abschwächung ihrer inneren Rhythmik gleichgesetzt werden kann (Myers & Badia 1995). Eine größere Amplitude ist mit einer geringeren Variabilität des Rhythmus assoziiert (Myers & Badia 1995), was wiederum förderlich für die Aufrechterhaltung des Schlafes sein kann. Diese Theorie wird durch die vorliegenden Ergebnisse nicht gestützt.

Die Schlafqualitätsgruppen unterscheiden sich unter natürlichen Bedingungen nicht signifikant bezüglich der mittleren nächtlichen Hauttemperaturen. Niedrigere Hauttemperaturen in der Nacht (vor allem in den distalen Bereichen) hätten mit schlechter Schlafqualität in Zusammenhang stehen können, da bekannt ist, dass niedrigere distale Hauttemperaturen hinderlich bei der Schlafinitiierung sind (Kräuchi 2007; Kräuchi *et al.* 2007). Auch dies wird durch die vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt.

Diskussion

Festzuhalten ist, dass es für die Schlafqualitätsgruppen in dieser Studie keine Unterschiede bezüglich der Hauttemperatur-Rhythmen gibt. Angedeutete Unterschiede sind uneinheitlich und weisen nicht auf Veränderungen in eine bestimmte Richtung bei einer der beiden Gruppen hin. Die Schlafqualität der älteren Frauen scheint unter natürlichen Bedingungen somit nicht mit Veränderungen der Phase, Amplitude und Höhe der peripheren Hauttemperaturen zusammenzuhängen. Unterschiede sind hier eher zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und damit abhängig vom Alter zu finden. Dabei zeigen die älteren Probandinnen typische für ältere Menschen beschriebene Veränderungen der Rhythmik, die in einer kleineren Amplitude, niedrigeren mittleren Temperaturen und einer früheren Akrophase besonders des distalen Hauttemperatur-Rhythmus bestehen.

Zum abendlichen Verlauf der Hauttemperaturen und des DPG unter natürlichen und kontrollierten Bedingungen:

Wegen des engen Zusammenhangs zwischen Aspekten der Schlafqualität, dem Alter, dem abendlichen Verlauf der Hauttemperaturen und dem Schlaf wurde der Verlauf der distalen und proximalen Hauttemperaturen in der vorliegenden Studie untersucht. Die Verläufe wurden sowohl unter natürlichen Bedingungen um den abendlichen Zubettgehzeitpunkt untersucht, als auch in einem Abendprofil unter für Temperatur, Licht und Körperposition kontrollierten Bedingungen. Ziel war dabei, zu sehen, ob die für Laborbedingungen beschriebenen Zusammenhänge auch unter natürlichen Bedingungen beobachtbar sind und ob sich diese abhängig von den hier untersuchten Kriterien unterscheiden. Ein weiteres Ziel war, die exogenen Einflüsse von Verhalten und Umgebung auf den Temperaturverlauf unter natürlichen Bedingungen besser einschätzen zu können.

Es zeigt sich, dass die **distale und proximale Hauttemperatur der älteren Probandinnen** am Abend unter natürlichen Bedingungen von 60 min vor bis 30 min nach dem Zubettgehen durchgehend höher ist als die der jüngeren Vergleichsgruppe. Vor allem am Oberschenkel sind die Gruppenunterschiede statistisch signifikant. In der Literatur werden wiederholt eine verminderte Fähigkeit zur Thermoregulation bei älteren Menschen (Refinetti & Menaker 1992) und niedrigere distale Hauttemperaturen speziell bei älteren Frauen (Kräuchi 2007; Kräuchi *et al.* 2007) erwähnt. Daher wurde erwartet, dass die älteren Probandinnen in dieser Studie niedrigere Hauttemperaturen bzw. einen weniger deutlichen Anstieg der distalen peripheren Hauttemperatur vor dem Zubettgehen zeigen als jüngere Probandinnen. Die vorliegenden Ergebnisse widersprechen dieser Erwartung. Einen Erklärungsansatz liefern Einflüsse aus der Umgebung im natürlichen Umfeld der Probandinnen oder deren Verhalten. Es ist anzunehmen, dass ältere Probandinnen aufgrund von weniger wärmeproduzierender Muskelmasse (Kenney & Munce 2003) leichter frieren als jüngere Probandinnen und deshalb eine höhere Umgebungstemperatur durch stärkeres Heizen, weniger Lüften oder Zudecken bevorzugen. Infolge solch einer Erhöhung der Raumtemperatur können auch die

Diskussion

gemessenen Hauttemperaturen steigen. Zu beachten ist in diesem Zusammenhang, dass sowohl ältere gute als auch ältere schlechte Schläferinnen höhere proximale und distale Hauttemperaturen zeigen als die jüngeren Frauen. Sung and Tochihara (2000) konnten zeigen, dass eine unselektive Erwärmung des ganzen Körpers zu verbessertem Schlaf führt. Wenn diese unselektive Erwärmung durch Erhöhung der Raumtemperatur in der vorliegenden Studie bei beiden Schlafqualitätsgruppen stattfindet, kann diese Beobachtung in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden.

Wie schon bei den Variablen des Hauttemperatur-Rhythmus ist auch beim abendlichen Verlauf der Hauttemperaturen unter natürlichen Bedingungen kein Unterschied zwischen **älteren guten und schlechten Schläferinnen** erkennbar. Die Temperaturen verlaufen bei beiden Gruppen ähnlich, d. h. sie zeigen eine Tendenz zum Anstieg vor dem Schlafengehen und steigen danach deutlicher an. Nur für den Messort Fuß deutet sich an, dass die schlechten Schläferinnen etwas höhere Temperaturen aufweisen als die guten Schläferinnen. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass weder ein unterschiedlicher Verlauf noch eine unterschiedliche Höhe der Hauttemperaturen darauf hinweisen, dass eine Phasenverlagerung oder unterschiedliche Temperaturen mit einer veränderten Schlafqualität im Alter zusammenhängen. Dies steht im Widerspruch zu Befunden aus der Literatur. Hier wurde sowohl unter Laborbedingungen als auch unter natürlichen Bedingungen der Zusammenhang zwischen höheren distalen Hauttemperaturen und einer verkürzten Einschlafzeit bei älteren Menschen beschrieben (Sung & Tochihara 2000; van Marken Lichtenbelt *et al.* 2006). Eine geringere Effizienz der Wärmeabgabe über die Hautregionen, wie sie bei älteren Menschen zu finden ist, sollte sich zudem negativ auf die Schlafinitiierung auswirken, was wiederum die Schlafqualität beeinträchtigen kann.

Eine gemeinsame Beobachtung sowohl für Alters- als auch Schlafqualitätsgruppen ist, dass die Hauttemperaturen nach dem Zubettgehen ansteigen. Dieser Anstieg der Hauttemperaturen nach dem Zubettgehen dürfte die Folge der veränderten Körperposition sein, was auch als „Lying down“-Effekt bezeichnet wird (Kräuchi *et al.* 1997a; Kräuchi & Deboer 2011). Der Wechsel von einer stehenden zu einer liegenden Position verursacht eine Umverteilung von Wärme vom Kern zur Peripherie und erhöht dadurch die Hauttemperaturen, indem das Füllen der distalen Blutgefäße erleichtert wird. Das verringert die Körperkerntemperatur und steigert dadurch parallel dazu die Schläfrigkeit (Kräuchi *et al.* 1997a; Kräuchi & Deboer 2011). Zudem können sich die untersuchten Hautstellen nach dem Zubettgehen unter der Bettdecke befinden haben, was wiederum die gemessene Hauttemperatur erhöht.

Diskussion

Hauttemperaturen im Abendprofil

Bei der Betrachtung der Hauttemperaturen unter kontrollierten Bedingungen im Abendprofil fällt auf, dass die Hauttemperaturen der jüngeren Probandinnen im Gegensatz zu den unkontrollierten natürlichen Bedingungen meist über denen der älteren Probandinnen liegen. Dieses Verhältnis der Hauttemperaturen entspricht der Erwartung. Besonders auffällig ist dieser Unterschied bei der proximalen Hauttemperatur. Genauso findet sich für ältere gute und schlechte Schläferinnen ein im Vergleich zu natürlichen Bedingungen angedeutetes umgekehrtes Verhältnis der Hauttemperaturen zwischen den Gruppen. Die „Umkehrung“ der Hauttemperaturverhältnisse deutet deutlich auf exogene Einflüsse am nicht-kontrollierten Untersuchungsabend hin, die wie oben beschrieben verhaltensbedingt sein können. Es gibt einen weiteren Hinweis darauf, dass es gerade bei den älteren Frauen das Verhalten ist, welches die Temperatur beeinflusst. Vergleicht man die Oberschenkeltemperatur der jüngeren Probandinnen zwischen natürlichen und kontrollierten Bedingungen, so liegen die Temperaturen etwa im gleichen Bereich (um 31 bis 33 °C herum). Die Oberschenkeltemperatur der älteren Frauen dagegen ist unter natürlichen Bedingungen höher (32,5 bis 34,5 °C), im Abendprofil dagegen viel niedriger (unter 31,5 °C). Ähnliches gilt für die distale Hauttemperatur am Fuß. Hier haben jüngere Probandinnen für das Abendprofil und unter natürlichen Bedingungen etwa das gleiche Hauttemperaturniveau, ältere Probandinnen unter natürlichen Bedingungen dagegen eine um gut 1 °C höhere Fußtemperatur als im Abendprofil. Für die Hauttemperatur an der Hand zeigen sich kaum Unterschiede. Das könnte ein Hinweis auf ein bewusst oder unbewusst gezieltes Warmhalten der unteren Extremitäten bei den älteren Probandinnen sein. Es könnte außerdem sein, dass die älteren Probandinnen besonders auf die Umlagerung des Körpers angewiesen sind, um den Blutfluss am Abend umzuverteilen, was durch eine sitzende Position im Abendprofil erschwert wird. Sollte dies zutreffen, betont das die Wichtigkeit einer guten Schlafhygiene (förderliches Verhalten am Abend) besonders für ältere Menschen, da ihr eigenes System zur Temperaturregulierung weniger effizient und reaktionsfähig ist.

Ein ähnliches Phänomen wie bei jüngeren und älteren Probandinnen ist auch bei älteren guten und schlechten Schläferinnen zu beobachten. Die distale Hauttemperatur an Fuß und Hand ist bei den älteren guten Schläferinnen unter natürlichen Bedingungen etwa auf demselben Niveau oder nur geringfügig höher als unter kontrollierten Bedingungen. Bei den älteren schlechten Schläferinnen dagegen sind die distalen Temperaturen im Abendprofil deutlich niedriger. Am Oberschenkel zeigen beide Gruppen niedrigere Temperaturen als unter natürlichen Bedingungen. Unterschiede zwischen der Hauttemperaturhöhe der Schlafqualitätsgruppen sind somit unter Einfluss exogener Faktoren kaum zu erkennen bzw. ausgeglichen. Ohne exogene Einflüsse im Abendprofil tendieren die älteren schlechten Schläferinnen zu niedrigeren distalen Hauttemperaturen als die älteren guten Schläferinnen. Besonders die Hauttemperatur am Fuß divergiert zwischen den Gruppen zur Nacht hin auseinander

Diskussion

(und bei den schlechten Schläferinnen sogar eher abfällt), bis zu einem signifikanten Unterschied um 23:30 Uhr. Unter kontrollierten Bedingungen zeigen ältere schlechte Schläferinnen somit andeutungsweise die Unterschiede zu guten Schläferinnen, die man erwarten würde. Bis auf die erwähnte Ausnahme sind diese Unterschiede jedoch nicht signifikant.

Wie erwartet zeigen die Temperaturen bei allen Gruppen im Abendprofil durch den fehlenden „Lying down“-Effekt (Kräuchi *et al.* 1997a; Kräuchi & Deboer 2011) keinen so deutlichen Anstieg wie beim Zubettgehen. Unerwartet ist jedoch, dass bei keiner der Gruppen und keiner der Hauttemperaturen eine deutliche Tendenz zum Ansteigen zu späteren Uhrzeiten zu erkennen ist. Möglicherweise kann das durch eine unbewusste Anspannung der Probandinnen während des Abendprofils erklärt werden, die durch die ungewohnte Situation entsteht. Die Auswirkungen von geistiger Ent- bzw. Anspannung auf physiologische Merkmale sind bekannt. So können z. B. Yoga und Meditation die gleichen thermophysiologischen Veränderungen hervorrufen wie sie vor der Schlafinitiierung stattfinden (Kräuchi & Deboer 2011). Diese Techniken verursachen eine Senkung der muskulären und der die Haut betreffenden sympathischen Nervenaktivität, was zu einer Erhöhung der distalen Hauttemperatur und zu einer Verringerung der Körperkerntemperatur führt (Gilbert *et al.* 2004; Recordati 2003). Die Vasodilatation mit folgendem Abfall der Körperkerntemperatur scheint also ein thermophysiologisches Ereignis zu sein, das in erster Linie mit der Entspannung vor Schlafbeginn verbunden ist (Kräuchi *et al.* 1999). Wenn die Probandinnen durch die ungewohnte Situation während des Abendprofils nicht entspannt waren, kann das den effektiven Anstieg der Hauttemperaturen verhindert haben.

Auch die Oberschenkeltemperatur verhält sich im Abendprofil weiterhin eher wie die distalen Hauttemperaturen, was vermutlich ebenfalls durch den fehlenden Positionswechsel in die Vertikale und die dadurch unterstützte Umverteilung des Blutflusses zu erklären ist.

Ungewöhnlich ist der „Knick“ bei allen Messorten und allen Probandinnen kurz vor dem Abendessen um 18:00 Uhr. Der nachfolgende Anstieg aller Temperaturen wird evtl. durch nahrungsinduzierte Thermogenese mit bedingt, obwohl in anderen Studien nur eine sehr geringe Auswirkung dieses Phänomens auf die Hauttemperaturen beobachtet wurde (Sarabia *et al.* 2008). Schließlich sind stärkere Schwankungen bei der Oberschenkeltemperatur als bei den anderen Hauttemperaturen zu beobachten. Eine Erklärung hierfür könnte das Überschlagen der Beine sein.

Der distal-proximale Gradient (DPG)

Betrachtet man den *distal-proximalen Gradienten (DPG)* bei den *Altersgruppen* unter natürlichen Bedingungen sowohl zwischen Oberschenkel und Hand als auch zwischen Oberschenkel und Fuß fällt auf, dass er bei den älteren Frauen durchgehend niedriger ist als bei den jüngeren. Das bedeutet, dass bei den älteren Probandinnen die distale Hauttemperatur im Verhältnis zur proximalen Hauttemperatur

Diskussion

niedriger ist als bei den jüngeren Probandinnen. Ein DPG von 0 °C würde bedeuten, dass proximale und distale Temperatur gleich sind und somit die Temperaturschale um den Körperkern aufgelöst wird (Kräuchi *et al.* 2008, Vollenweider *et al.* 2008). Das alles deutet trotz höherer absoluter Hauttemperaturen bei den älteren Probandinnen auf eine stärkere Erwärmung der distalen Hautstellen im Vergleich zu körpernahen Hautstellen und damit eine effizientere Wärmeabgabe bei den jüngeren Frauen hin. Dies steht im Einklang mit Literaturbefunden, die zeigen, dass der DPG und damit der circadiane Verlauf der peripheren Hauttemperatur auch durch Verhaltensweisen (also die Schlafhygiene) beeinflusst werden kann. So fördern mit einem Wasserbad erwärmte Füße vor dem Schlafengehen das schnelle Einschlafen (Liao *et al.* 2005; Sung & Tochihara 2000). Der DPG der jüngeren Probandinnen im vorliegenden Kollektiv liegt, wenn er zwischen Hand und Oberschenkel gebildet wird, durchgehend im positiven Bereich, wenn er zwischen Fuß und Oberschenkel gebildet wird, durchgehend im negativen Bereich. D. h. die distale Hauttemperatur an der Hand ist im Vergleich zur Oberschenkeltemperatur höher (bzw. liegt über dieser) als es die distale Hauttemperatur am Fuß im Vergleich zur Oberschenkeltemperatur ist (diese liegt durchgehend etwas tiefer als die Oberschenkeltemperatur). Die zwischen verschiedenen Hautregionen gebildeten DPGs unterscheiden sich somit deutlich. Möglicherweise ist dieser Unterschied dadurch zu begründen, dass die Hand aktiver genutzt und dadurch besser durchblutet wird bzw. wärmer ist als der Fuß.

Der enge Zusammenhang zwischen einem kleineren bzw. positiven DPG und der Einschlafzeit ist aus kontrollierten Laborstudien bekannt (Kräuchi *et al.* 1999, 2000; Kräuchi & Wirz-Justice 2001; Rayman *et al.* 2007). Dort folgte die proximale Hauttemperatur dem Verlauf der Körperkerntemperatur, d. h. sie fiel zur Nacht hin ab. In der vorliegenden Studie verläuft die proximale Hauttemperatur am Oberschenkel jedoch ähnlich den distalen Hauttemperaturen. Dadurch verringert sich der DPG nicht mit fortschreitender Zeit, da sich proximale und distale Hauttemperatur nicht aneinander annähern. Eine so deutliche Veränderung des Verhältnisses zwischen distaler und proximaler Hauttemperatur kann hier also nicht beobachtet werden. Der DPG zeigt bei allen Gruppen die Tendenz zum Abnehmen nach dem Schlafengehen. Das liegt hauptsächlich daran, dass die Oberschenkeltemperatur nach dem Zubettgehen in noch stärkerem Maße ansteigt als die distalen Hauttemperaturen. Im Abendprofil haben die älteren Probandinnen ab 18:00 Uhr einen deutlich höheren DPG als die jüngeren, zeitweise auch signifikant. Das widerspricht den Erwartungen. Es fällt auf, dass sich der DPG der jüngeren Probandinnen zwischen natürlichen und kontrollierten Bedingungen kaum unterscheidet. Die Umkehrung im Verhältnis der DPGs zwischen den Altersgruppen wird durch die älteren Probandinnen hervorgerufen, deren Oberschenkeltemperatur im Abendprofil viel niedriger ist als unter natürlichen Bedingungen. Dadurch werden die distalen Temperaturen im Verhältnis zur proximalen Temperatur höher, obwohl sie selbst nur in geringem Maße steigen.

Diskussion

Bei älteren guten und schlechten Schläferinnen sinkt der DPG unter natürlichen Bedingungen kurz vor und auch nach dem Zubettgehen. Dieses Phänomen ist bei den älteren schlechten Schläferinnen nicht stärker ausgeprägt als bei den älteren guten Schläferinnen, hat also keinen Einfluss auf die Schlafqualität. Auch in den Schlafqualitätsgruppen ist zu erkennen, dass die Fußtemperatur im Verhältnis zur Oberschenkeltemperatur kleiner ist als die Handtemperatur im Verhältnis zur Oberschenkeltemperatur. Das Zubettgehen scheint keinen Einfluss auf den DPG zu haben. Der DPG der älteren schlechten Schläferinnen ist unter natürlichen Bedingungen positiver als der der guten Schläferinnen. Das könnte bedeuten, dass die schlechten Schläferinnen eine tendenziell effizientere Wärmeabgabe zeigen als die guten Schläferinnen. Unter kontrollierten Bedingungen kehrt sich dieses Verhältnis jedoch um. Nun haben die älteren schlechten Schläferinnen sowohl zwischen Hand und Oberschenkel als auch zwischen Fuß und Oberschenkel einen negativeren DPG als die älteren guten Schläferinnen. Zwar sind alle peripheren Hauttemperaturen bei beiden Gruppen niedriger als unter natürlichen Bedingungen, dieser Unterschied ist jedoch bei den schlechten Schläferinnen bei der Oberschenkeltemperatur am größten. Das lässt einen starken Einfluss von Umgebungsfaktoren gerade auf die Oberschenkeltemperatur vermuten. Festzuhalten ist, dass ältere schlechte Schläferinnen unter kontrollierten Bedingungen einen geringeren DPG und damit eine weniger effiziente Wärmeabgabe haben als ältere gute Schläferinnen, dass dieser Unterschied jedoch unter natürlichen Bedingungen nicht vorhanden ist. Dies scheint vor allem durch den Einfluss der proximalen Hauttemperatur begründet, die vor allem bei den älteren schlechten Schläferinnen unter kontrollierten Bedingungen deutlich niedriger ist als unter natürlichen Bedingungen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass exogene Einflüsse und Schlafhygiene im natürlichen Umfeld die Höhe der Hauttemperaturen älterer Probandinnen stärker zu beeinflussen scheinen als die der jüngeren Probandinnen. Dies gilt insbesondere für die proximale Hauttemperatur und für ältere schlechte Schläferinnen. Dies geht aus den deutlichen Unterschieden der Hauttemperaturen bei den älteren Probandinnen bzw. den älteren schlechten Schläferinnen zwischen natürlichen und kontrollierten Bedingungen hervor. Ältere Probandinnen haben unter natürlichen Bedingungen teils signifikant höhere Hauttemperaturen als die jüngeren Probandinnen, allerdings einen angedeutet niedrigeren DPG (und damit eine weniger effiziente Wärmeabgabe). Unter kontrollierten Bedingungen drehen sich die Temperaturverhältnisse und das Verhältnis der DPGs zwischen diesen Gruppen um. Für die Schlafqualitätsgruppen zeigen sich weniger deutliche Unterschiede zwischen den Bedingungen und zwischen den Gruppen. Einzig bei den älteren schlechten Schläferinnen zeigt sich unter kontrollierten Bedingungen gegen Mitternacht eine signifikant niedrigere Fußtemperatur und dadurch ein signifikant niedrigerer DPG als bei den älteren guten Schläferinnen. Unter natürlichen

Diskussion

Bedingungen sind somit weder zwischen den Altersgruppen noch zwischen den Schlafqualitätsgruppen typische Unterschiede der Hauttemperatur-Verläufe zu beobachten, die sich unter kontrollierten Bedingungen andeuten oder sogar signifikant sind. Dieser Befund betont die Wichtigkeit von Studien unter natürlichen Bedingungen. Nach Kenntnis der Autorin wurde der abendliche Verlauf der Hauttemperaturen und des DPG noch nicht für ältere gesunde Frauen unter natürlichen Bedingungen in direktem Vergleich mit dem Verlauf unter kontrollierten Bedingungen beschrieben.

7.3.3 Cortisol-Sekretion in Abhängigkeit von Alter und Schlafqualität

Die HPA-Achse stellt die Verbindung zwischen dem circadianen System und dem Stress-System des Körpers dar. Sowohl der circadiane Cortisol-Rhythmus, als auch die Cortisol-Sekretion als Antwort auf Stress beeinflussen den nächtlichen Schlaf und unterliegen altersbedingten Veränderungen.

In der vorliegenden Studie ist die Cortisol-Konzentration am Abend bei beiden Altersgruppen deutlich niedriger als die Konzentrationen am Morgen. Diese Beobachtung entspricht den Erwartungen, da die Cortisol-Konzentration nach bekanntem circadianem Muster am Morgen ihre höchsten Werte erreicht und über den Tag hinweg abnimmt, um in der Nacht auf ein Minimum zu fallen (Kirschbaum & Hellhammer 1989; Pruessner *et al.* 1997).

Es gibt keine signifikanten Unterschiede bezüglich der abendlichen Cortisol-Konzentration zwischen den Altersgruppen, auch wenn die älteren Probandinnen abends höhere Cortisol-Konzentrationen haben als jüngere Probandinnen. Dieser Befund steht im Einklang mit Befunden anderer Studien, dass die basale Cortisol-Konzentration von älteren Menschen höher ist als die von jüngeren Menschen (Deuschle *et al.* 1997; Prinz 1995; Sapolsky 1999; Van Cauter *et al.* 1996). Hierzu lassen sich auch gegenteilige Ergebnisse finden (Brandstädter *et al.* 1991). Generell wird jedoch angenommen, dass die Cortisol-Konzentration im Alter besonders in solchen Phasen erhöht ist, in denen sie normalerweise niedrig ist, also um den Zeitpunkt des nächtlichen Nadirs herum (Prinz *et al.* 2000; Schultes & Fehm 2004).

Ältere Frauen aus dem vorliegenden Kollektiv haben eine signifikant höhere Cortisol-Konzentration direkt nach dem Erwachen als die jüngere Vergleichsgruppe. Dieser Umstand könnte sowohl durch generell höhere Cortisol-Konzentrationen bei älteren Frauen bedingt sein als auch durch ein altersbedingt früheres Einsetzen der circadianen Phase ansteigender Cortisol-Sekretion in der Nacht (Ferrari *et al.* 2001), wodurch beim Erwachen bereits eine höhere Cortisol-Konzentration bei den älteren Frauen erreicht sein könnte. Die vorliegende Beobachtung steht im Einklang mit Ergebnissen von Pruessner *et al.* (1997), die ebenfalls erhöhte Cortisol-Konzentrationen nach dem Erwachen bei älteren Menschen beobachten konnten. Heaney *et al.* (2010) dagegen berichten von niedrigeren Cortisol-Konzentrationen nach dem Erwachen bei älteren im Vergleich zu jüngeren Frauen.

Diskussion

Dass sowohl die Cortisol-Konzentration am Abend als auch nach dem Erwachen bei den älteren Frauen höher ist als bei den jüngeren Frauen, kann durch Erkenntnissen aus der Literatur erklärt werden. Aus verschiedenen Studien geht hervor, dass die HPA-Achse mit steigendem Alter eine veränderte Stressreaktion zeigt und „weniger gut funktioniert“ als bei jüngeren Menschen (z. B. Prinz *et al.* 2000; Sapolsky 1999). Dieser Umstand wird auf eine verringerte Sensitivität von Glucocorticoid-Rezeptoren (GRs) in verschiedenen Bereichen des Gehirns (Hypothalamus, Hypophyse und Hippocampus) bei älteren Menschen zurückgeführt (De Kloet 2004; Ice *et al.* 2004; McEwen 1988; Nader *et al.* 2010; Sapolsky *et al.* 1986). Die Glucocorticoid-Ausschüttung wird über eine negative Rückkopplung reguliert (Nader *et al.* 2010), bei der Glucocorticoide die Aktivität der HPA-Achse (und damit ihre eigene Sekretion aus der Nebennierenrinde) durch Bindung an die GRs in den entsprechenden Gehirnregionen inhibieren. Sind diese GRs weniger sensitiv, spricht die HPA-Achse schlechter auf diese Rückkopplung an und die Glucocorticoid-Konzentrationen im Körper bleiben höher.

Entgegen den Erwartungen ist der Abfall der Cortisol-Konzentration vom Morgen zum Abend hin (der SOD) in der vorliegenden Studie bei den älteren Probandinnen signifikant stärker ausgeprägt als bei der jüngeren Vergleichsgruppe. Aus der Literatur ist bekannt, dass der Cortisol-Abfall über den Tag hinweg bei älteren Menschen tendenziell flacher wird (Adam *et al.* 2006; Cohen *et al.* 2006). Dass dies hier nicht der Fall ist, ist dadurch bedingt, dass die älteren Probandinnen eine signifikant höhere Cortisol-Konzentration direkt nach dem Erwachen haben als die jüngeren Frauen.

Trotz dieses stärkeren Abfalls der Cortisol-Konzentration erreichen die älteren Probandinnen nicht die niedrige abendliche Cortisol-Konzentration der jüngeren Probandinnen. Mit dem Alter wird neben dem höheren Nadir auch eine flachere Amplitude des Cortisol-Rhythmus in Verbindung gebracht (Lupien *et al.* 1996; Van Cauter *et al.* 1996). Das vorliegende Ergebnis kann dahingehend gedeutet werden, dass höheres Alter zwar den Beobachtungen aus der Literatur entsprechend mit einem höheren basalen Cortisol-Wert (am Abend und am Morgen) verknüpft ist, die Rhythmik jedoch ohne eine Abflachung der Amplitude erhalten bleibt. Dieser Befund steht somit im Widerspruch zu Studien, die eine flachere Amplitude der Cortisol-Sekretion im Alter beobachten. Bei Betrachtung sowohl der Alters- als auch der Schlafqualitätsgruppen fällt auf, dass die älteren Probandinnen als Gesamtgruppe einen steileren SOD haben als die jüngeren Probandinnen, die älteren guten Schläferinnen aber wiederum einen steileren SOD als die älteren schlechten Schläferinnen. Hier deutet sich an, dass zwar Alter *per se* in diesem Kollektiv nicht mit einer niedrigeren Amplitude des Cortisol-Rhythmus verknüpft ist, sich eine ausgeprägte Amplitude im Alter aber positiv auf die Schlafqualität auswirkt. Diese Interpretation widerspricht damit der Vermutung, dass die Amplitude des diurnalen Cortisol-Rhythmus mit steigendem Alter sinkt.

Aus den vorliegenden Ergebnissen deutet sich ebenfalls an, dass höheres Alter bei Frauen mit einem größeren Anstieg der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen (CAR) verknüpft ist. In der

Diskussion

Literatur wurde wiederholt berichtet, dass die HPA-Achse bei älteren Menschen stärker (d. h. mit einer höheren Cortisol-Sekretion) auf Stresssituationen anspricht und dass die Konzentration an fluktuierendem Cortisol danach länger hoch bleibt (Ice *et al.* 2004; McEwen 1988; Prinz *et al.* 2000; Sapolsky *et al.* 1986). Dieser Umstand kann ebenfalls durch die bereits erwähnte veränderte Reaktivität der HPA-Achse im Alter begründet werden. Auch in der vorliegenden Studie bleiben die Cortisol-Konzentrationen der älteren Frauen über das gesamte Morgenprofil (d. h. 30 min, 45 min und 60 min nach dem Erwachen) höher als bei der jüngeren Vergleichsgruppe. Die vorliegenden Ergebnisse widersprechen der aus Studien wiederholt hervorgegangenen Beobachtung, dass Alter keinen oder einen negativen Einfluss auf den morgendlichen Cortisol-Anstieg hat (Clow *et al.* 2004; Kudielka & Kirschbaum 2003; Van Cauter *et al.* 1996). Da das vorliegende Kollektiv jedoch viele der alterstypischen Veränderungen wie eine erhöhte Morbidität und einen weniger aktiven Lebensstil nicht zeigt, können auch Lebensstil-bezogene Faktoren den dem Altern zugesprochenen Veränderungen der Cortisol-Synthese entgegen wirken.

Auch bei den Schlafqualitätsgruppen ist die Cortisol-Konzentration am Abend niedriger als die Konzentrationen am Morgen. Zwischen diesen Gruppen finden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Cortisol-Konzentrationen, was darauf schließen lässt, dass eine veränderte Schlafqualität bei älteren Frauen nicht mit Veränderungen der Cortisol-Sekretion zusammenhängt und solche Veränderungen in erster Linie auf den Alternsprozess beschränkt bleiben. Dennoch deuten sich zwischen den Schlafqualitätsgruppen Unterschiede an, die nachfolgend diskutiert werden sollen.

Ältere gute Schläferinnen haben eine niedrigere Speichel-Cortisol-Konzentration vor dem Zubettgehen als die älteren schlechten Schläferinnen. Das könnte bedeuten, dass der Körper der älteren Frauen mit guter Schlafqualität besser auf den Schlaf eingestellt ist. Es ist zu vermuten, dass ältere gute Schläferinnen auch im Laufe der Nacht und zum Zeitpunkt des Nadirs des Cortisol-Rhythmus geringere Cortisol-Konzentrationen zeigen als die Vergleichsgruppe. Für diese Annahme spricht auch, dass der SOD bei den guten Schläferinnen größer ist (die Cortisol-Konzentration über den Tag hinweg also stärker absinkt) als bei den schlechten Schläferinnen. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Befunde von Prinz *et al.* (2000), dass höhere Cortisol-Konzentrationen signifikant mit beeinträchtigtem Schlaf bei älteren Menschen assoziiert sind. Zwar haben auch die älteren Probandinnen als Gesamtgruppe sowie die beiden Schlafqualitätsgruppen separat einen höheren SOD als die jüngeren Frauen. Jedoch erreicht die Cortisol-Konzentration am Abend bei den älteren guten Schläferinnen sogar noch geringere Werte als bei den jüngeren Probandinnen, während die ASS nur einen weitaus höheren Wert erreichen.

Für ältere gute Schläferinnen deuten sich in der vorliegenden Studie eine höhere Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und eine größere CAR an als bei älteren Frauen mit schlechter Schlafqualität. 30 und 45 min nach dem Erwachen liegen die Cortisol-Konzentrationen bei den älteren

Diskussion

guten Schläferinnen noch immer über denen der schlechten Schläferinnen, fallen dann aber 60 min nach dem Erwachen unter die der schlechten Schläferinnen. Geht man von der Annahme aus, dass die Sensitivität der GRs im Alter tatsächlich vermindert ist, könnte die hohe Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und die größere CAR bei den älteren guten Schläferinnen ein adäquateres „Aufwachsignal“ für diese Gruppe bedeuten als die niedrigeren bzw. kleineren Werte der schlechten Schläferinnen. Das Erwachen wird durch das stärkere Glucocorticoid-Signal erleichtert und der Körper wird besser auf den „Wachmodus“ eingestellt. Trotz ihrer höheren Cortisol-Werte in den ersten 45 min nach dem Erwachen zeigen die älteren guten Schläferinnen einen Abfall der Cortisol-Konzentration bis 60 min nach dem Erwachen, der diese unter die der älteren schlechten Schläferinnen fallen lässt. Die CAR kann als Reaktion auf den „stressigen“ Vorgang des Erwachens gesehen werden. Dass hier die Cortisol-Konzentration bei den älteren guten Schläferinnen früher wieder sinken, könnte ein Hinweis darauf sein, dass deren HPA-Achse sich schneller wieder von diesem Ereignis erholt und somit reaktiver ist als die der älteren schlechten Schläferinnen. Diese Annahme steht in Einklang mit Befunden von Prinz *et al.* (2000), dass die HPA-Achse bei älteren Menschen empfindlicher und stärker auf Stressoren reagiert und dass die folgenden erhöhten Konzentrationen an zirkulierendem Cortisol länger hoch bleiben, die HPA-Achse also eine verminderte Reaktivität im Alter zeigt. Eine solche verminderte Reaktivität der HPA-Achse deutet sich hier für die älteren schlechten Schläferinnen an.

Zusammenfassend sprechen die vorliegenden Befunde dafür, dass höheres Alter in natürlicher Umgebung zwar den Beobachtungen aus der Literatur entsprechend mit höheren basalen Cortisol-Konzentrationen verknüpft ist, die Cortisol-Rhythmik jedoch ohne eine Abflachung der Amplitude erhalten bleibt. Die Befunde für die Schlafqualitätsgruppen deuten auf eine verminderte Reaktivität der HPA-Achse bei älteren Frauen mit schlechter Schlafqualität hin. Da keiner der Unterschiede zwischen den Schlafqualitätsgruppen statistische Signifikanz erreicht, bleibt dies jedoch eine Vermutung.

7.4 Zu Gruppenvergleichen nach Schlaf-Wach-Rhythmus und Nachtschlafstruktur

7.4.1 Schlaf-Wach-Rhythmik in Abhängigkeit von Alter und Schlafqualität

Der Schlaf-Wach-Rhythmus der Probandinnen wurde einerseits mit dem Ziel untersucht, festzustellen, ob in der Literatur beschriebene typische Veränderungen bei älteren Menschen bzw. Frauen zu beobachten sind. Andererseits sollte geprüft werden, ob sich eine schlechtere Schlafqualität auch in einer veränderten Schlaf-Wach-Rhythmik widerspiegelt. Einige Daten wurden zusätzlich mit der objektiven Messmethode der Aktigrafie ermittelt, um mögliche Diskrepanzen zwischen subjektiver Beurteilung und objektiver Messung zu erkennen.

Diskussion

Beim Vergleich der Altersgruppen fällt auf, dass sich typische Veränderungen der Schlaf-Wach-Rhythmik bei den älteren Frauen im Vergleich zu den jüngeren Frauen zeigen, die auch in anderen Studien beschrieben wurden. Sie werden früher schläfrig, gehen früher zu Bett, wachen früher auf und haben eine kürzere Schlafdauer als die jüngeren Frauen (z. B. Happe 2011; Münch *et al.* 2005b; Weitzman *et al.* 1982). Ebenso zeigen sie eine längere Einschlaf latenz, mehr und längere Wachphasen in der Nacht und eine geringere Schlafeffizienz, auch wenn die Unterschiede hier keine Signifikanz erreichen.

Sieht man sich dagegen die Schlafqualitätsgruppen an, so geht aus dem Schlaftagebuch hervor, dass sich diese nur bezüglich der Schlafdauer und der Schlafeffizienz signifikant unterscheiden. Beide sind bei den älteren schlechten Schläferinnen geringer. Es ist interessant, dass sich die zwischen jüngeren und älteren Frauen beobachteten Unterschiede zwischen den Schlafqualitätsgruppen fortsetzen (in dem Sinne, dass die altersbedingten Veränderungen bei den schlechten Schläferinnen noch etwas ausgeprägter zu sein scheinen). Allerdings unterscheiden sich die Schlafqualitätsgruppen in keinem anderen Parameter signifikant. Diese Ergebnisse können dahingehend interpretiert werden, dass eine typische Verschiebung der Phase der Schlaf-Wach-Rhythmik zwar zu einer früheren Zeit hin mit höherem Alter zu sehen ist, dass diese Verschiebung *per se* jedoch keine Auswirkungen auf die Schlafqualität im Alter hat bzw. dass schlechtere Schlafqualität nicht mit einer deutlichen Phasenvorverlagerung (Phasenbeschleunigung) der Rhythmik einhergeht.

Während nach den subjektiven Angaben der jüngeren und älteren Probandinnen weder ein signifikanter Unterschied in der Einschlaf latenz noch in der Anzahl und Dauer nächtlicher Aufwacher besteht, wurden mit der objektiven Messmethode der Aktigrafie dagegen Unterschiede registriert. Danach brauchen die jüngeren Probandinnen länger zum Einschlafen als die älteren Probandinnen und sind in der Nacht häufiger wach. Trotzdem scheinen die jüngeren Probandinnen ihren Schlaf als besser und effizienter zu empfinden als die älteren Probandinnen.

Eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz zwischen subjektiven und den objektiven Befunden könnte sein, dass die kürzere gemessene Einschlaf latenz (SOL) von den älteren Probandinnen subjektiv als länger empfunden wird. Verschiedene Studien konnten bereits zeigen, dass speziell ältere Frauen empfindlicher auf Störungen ihres Schlafes reagieren bzw. dazu tendieren, den Schlaf subjektiv schlechter zu bewerten (Giron *et al.* 2002). Die gleiche Argumentation lässt sich auf das nächtliche Erwachen anwenden. Die häufigeren Aufwachereignisse werden von den jüngeren Probandinnen nicht als störend wahrgenommen, die weniger häufigen Aufwachereignisse von den älteren Probandinnen dagegen schon. Zu beachten ist auch, dass sich nur die Häufigkeit der nächtlichen Aufwacher signifikant zwischen den Gruppen unterscheidet, nicht aber die Dauer. Eine weitere Erklärung für das Zustandekommen der Ergebnisse liegt in der Messmethode der Aktigrafie

Diskussion

selbst begründet. Da die Actiwatch2 Schlaf- und Wachzustand anhand der gemessenen Bewegung definiert, ist die Methode anfällig dafür, unruhigen Schlaf als Wachzustand fehlzuinterpretieren (Blood *et al.* 1997; Martin & Harkim 2011). Wenn sich die jüngeren Probandinnen während ihrer Schlafepisode mehr bewegt haben, kann das zu verfälschten Ergebnissen führen.

Bei den Schlafqualitätsgruppen fallen zwei Dinge ins Auge. Zwar gibt es auch bei der aktimetrischen Messung keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen Gruppen, allerdings ist die Tendenz der Gruppenunterschiede zwischen subjektiven und objektiven Daten verschieden. So tendieren die älteren schlechten Schläferinnen dazu, ihre Einschlafzeit und die Gesamtdauer der nächtlichen Aufwacher als länger zu empfinden als die älteren guten Schläferinnen. Laut objektiver Messung neigen aber die älteren schlechten Schläferinnen sogar zu einer kürzeren Einschlafzeit und zu weniger Wachzeit in der Nacht als die älteren guten Schläferinnen. Diese Beobachtung spricht dafür, dass zumindest in diesem Kollektiv schlechte Schlafqualität im Alter nicht mit deutlichen Veränderungen der Schlaf-Wach-Rhythmik einhergeht, sondern dass eine Diskrepanz zwischen der empfundenen Schlafqualität eher auf die subjektiv unterschiedliche Wahrnehmung zurückzuführen ist.

7.4.2 Unterschiedliche Nachtschlafstruktur zwischen den Probandengruppen

Mit der elektroenzephalographischen Untersuchung der Nachtschlafstruktur sollte zum einen festgestellt werden, ob die in der Literatur für den Alternsprozess beschriebenen Veränderungen des Schlafes auch bei sehr gesunden älteren Frauen anzutreffen sind. Da die Schlafqualität im Alter ein Unterscheidungskriterium in dieser Studie ist, war ein weiteres Ziel, zu untersuchen, ob sich die empfundenen Unterschiede in der Schlafqualität auch in objektiven Messungen widerspiegeln. Schon Monroe (1967) betonte, dass bei der Untersuchung des Schlafes nicht nur die Schlafmenge betrachtet werden muss, sondern auch die Verteilung von Schlafstadien (die Schlafstruktur), da REM- und NREM-Schlaf verschiedenen physiologischen und psychologischen Funktionen dienen.

Im vorliegenden Kollektiv konnte für jüngere Frauen bezogen auf die gesamte Schlafepisode ein geringerer Anteil an Leichtschlaf und ein höherer Anteil an Tiefschlaf beobachtet werden als bei älteren Frauen. Diese Befunde sind nicht signifikant, für den unterschiedlichen S4-Schlaf-Anteil ist jedoch eine Tendenz zu erkennen ($p = 0,085$). Im ersten Nachtdrittel, in dem sich die Tiefschlafphasen konzentrieren sollten, zeigen die jüngeren Probandinnen einen signifikant höheren Anteil an Tiefschlafstadium S4 und signifikant weniger S1-Stadium als die älteren Frauen. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit Literaturbefunden, nach denen die Veränderung der Schlafstruktur im Alter unter anderem durch eine Zunahme des Leichtschlafanteils und einen verringerten prozentualen Anteil an SWS gekennzeichnet ist (Crowley 2011; Happe 2011; Kahn *et al.* 1970; Kupfer *et al.* 1982; Münch *et al.* 2005b; Ohayon *et al.* 2004; Weitzman *et al.* 1982). Åkerstedt *et al.* (2008) weist darauf hin, dass

Diskussion

es eine hohe intraindividuelle Nacht-zu-Nacht-Variabilität des Schlafes gibt, dass der Anteil an SWS am Schlaf innerhalb eines Individuums jedoch relativ konstant bleibt. Obwohl die EEG-Messung sich auf eine Nacht bezieht, kann daher angenommen werden, dass der Anteil an Tiefschlaf am Nachtschlaf bei jüngeren Probandinnen auch sonst höher ist.

Es konnte für die gesunden älteren Probandinnen in diesem Kollektiv eine längere Einschlaf latenz, eine kürzere Gesamtschlafdauer, mehr nächtliche Wachphasen, eine geringere Schlafeffizienz und früheres morgendliches Erwachen beobachtet werden. Diese Befunde sind statistisch nicht signifikant. Dennoch sollen sie erwähnt werden, da sie in ihrer Ausprägung den typischen in der Literatur für das Alter beschriebenen Veränderungen des Nachtschlafes entsprechen (Crowley 2011; Happe 2011; Kahn *et al.* 1970; Kupfer *et al.* 1982; Münch *et al.* 2005b; Ohayon *et al.* 2004; Weitzman *et al.* 1982). Die in der Literatur für ältere Menschen beschriebene Abnahme des REM-Schlafanteils und der REM-Latenz war im vorliegenden Kollektiv nicht zu beobachten. Es kann somit gesagt werden, dass altersbedingte Veränderungen der Nachtschlafstruktur bei den gesunden älteren Frauen unter natürlichen Schlafbedingungen andeutungsweise vorhanden, allerdings nur schwach ausgeprägt sind. Aus der Literatur ist bekannt, dass Schlafstruktur und -dauer nicht nur von der Lage des Schlafes innerhalb der circadianen Rhythmik beeinflusst werden, sondern auch vom homöostatischen Schlafbedürfnis (z. B. Borbély 1982; Crowley 2011; Dijk & Lockley 2002). Mehr Tagschlaf und weniger Bewegung könnten zu einem verminderten homöostatischen Schlafbedürfnis bei älteren Frauen führen, sodass die tieferen Schlafstadien während des Nachtschlafs nicht erreicht werden. Aus den Befunden der vorliegenden Studie ergibt sich jedoch ein anderes Bild. Ältere Frauen bewegen sich hier mehr und schlafen tagsüber weniger als jüngere Frauen. Möglicherweise sind die Unterschiede in der Nachtschlafstruktur dadurch weniger ausgeprägt. Das kann an der Lebensweise (viel schlaffördernde Bewegung) und am guten Gesundheitszustand (wenige sekundäre Veränderungen wie z. B. Erkrankungen, die den Schlaf ungünstig beeinflussen könnten) der älteren Probandinnen in diesem Kollektiv liegen. So beschrieben z. B. Landi *et al.* (2007), dass körperlich aktive ältere Menschen weniger altersbedingte gesundheitliche Beeinträchtigungen zeigten. Ein weiterer Grund könnte das Alter der älteren Probandengruppe sein. Die meisten der Probandinnen bewegen sich in einem Altersbereich von 60 bis 70 Jahren. Obwohl das Kollektiv nicht „zu jung“ ist, um altersbedingten Veränderungen des Schlafes zu zeigen, treten einige dieser Veränderungen erst im höheren Alter deutlicher hervor (Ancoli-Israel *et al.* 2008; Ohayon *et al.* 2004).

Zu beachten ist auch, dass die Aufnahme des Schlafprofils in natürlichem Umfeld stattfand. Auch die Umgebungstemperatur beim Schlafen beeinflusst die Schlafphasen (Muzet *et al.* 1984). Da die Verläufe der Hauttemperaturen auf deutlich unterschiedliche Umgebungstemperaturen bei älteren und jüngeren Frauen schließen lassen, ist nicht auszuschließen, dass diese Einfluss auf die Schlafstruktur hatten. Zu erwähnen ist noch die signifikant spätere Schlafmitte der jüngeren im Vergleich zu den

Diskussion

älteren Probandinnen. Diese deckt sich mit den späteren Schlafphasen bzw. der späteren Schlafmitte während der gesamten Untersuchungswoche (Schlafstagebuch, Aktigrafie) und bestätigt eine stärkere Morgenpräferenz bei älteren Frauen.

Zwischen den älteren guten und älteren schlechten Schläferinnen zeigen sich keine in eine klare Richtung weisenden Unterschiede bezüglich des Nachtschlafes. Das kann einerseits daran liegen, dass sich die Schlafstruktur zwischen den Schlafqualitätsgruppen nicht unterscheidet. Andererseits ist zu bedenken, dass nur eine EEG-Nacht untersucht wurde. Es ist möglich, dass Probandinnen aus der Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen besser mit dem EEG-Messgerät zurechtkamen als ältere gute Schläferinnen. Möglicherweise hatte die ungewohnte Erfahrung der Messung einen negativen Einfluss auf die Schlafqualität der guten Schläferinnen in der Untersuchungsnacht.

Mit der Einschränkung dieses möglichen Einflusses lassen die Ergebnisse jedoch darauf schließen, dass die älteren Probandinnen als Gruppe eine relativ homogene Schlafstruktur zeigen, die sie von den jüngeren Frauen absetzt. Das deutet wiederum darauf hin, dass die beobachteten Unterschiede eher mit dem Alternsprozess zusammenhängen und unter natürlichen Bedingungen nicht mit der Schlafqualität im Alter in Zusammenhang stehen. Dies kann dahingehend gedeutet werden, dass schlechte Schlafqualität bei gesunden älteren Frauen zu einem großen Teil durch subjektive Beurteilungen verursacht wird und sich nicht in messbaren Veränderungen der Schlafstruktur ausdrückt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich zwischen jüngeren und gesunden älteren Frauen unter natürlichen Bedingungen typische altersbedingte Veränderungen der Schlafstruktur - wie etwa ein geringerer Tiefschlaf-Anteil und häufigere nächtliche Aufwacher - andeuten, jedoch nur schwach ausgeprägt sind. Zwischen den Schlafqualitätsgruppen zeigen sich keine Unterschiede. Daraus ist zu schließen, dass eine Veränderung der Schlafstruktur eher mit dem Alter einhergeht und nicht mit der Schlafqualität im Alter zusammenhängt.

7.5 Zu Zusammenhängen zwischen Nachtschlafstruktur, Uhrengen-Expression, Rhythmik der peripheren Hauttemperaturen und Cortisol-Sekretion

7.5.1 Zusammenhang zwischen der Nachtschlafstruktur und dem Verlauf der peripheren Hauttemperatur

Von Interesse in der vorliegenden Studie war nicht nur, Aufschluss über mögliche Veränderungen circadianer Systeme und des Nachtschlafes mit dem Alter oder abhängig von der Schlafqualität im Alter zu erhalten. Es sollte auch geprüft werden, ob sich das Zusammenspiel zwischen circadianer Rhythmik, Stress-System (HPA-Achse) und der Schlafregulierung abhängig vom Alternsprozess oder im Zusammenhang mit unterschiedlicher Schlafqualität ändert. Hierzu wurden Korrelationsanalysen

Diskussion

durchgeführt. Von Interesse war hier besonders, ob ein möglicher veränderter Zusammenhang zwischen physiologischen, endokrinen und molekulargenetischen Merkmalen unter Einwirkung von alltäglichen Umwelteinflüssen und Verhaltensweisen zu beobachten ist.

Bei den jüngeren Probandinnen gab es einen signifikant negativen Zusammenhang zwischen der proximalen Hauttemperatur am Oberschenkel vor bzw. nach dem Zubettgehen mit dem Schlafbeginn. Das bedeutet, dass jüngere Frauen mit niedriger proximaler Hauttemperatur später einschliefen als solche mit hoher proximaler Hauttemperatur. Dieser negative Zusammenhang wurde auch bei der distalen Hauttemperatur beobachtet, war hier aber nicht statistisch signifikant. Unter der Annahme, dass die jüngeren Frauen, die später einschliefen, auch später müde wurden, unterstützt diese Beobachtung den in der Literatur dargelegten Zusammenhang zwischen Hauttemperatur und Schläfrigkeit (z. B. Kräuchi *et al.* 1997b). So konnte gezeigt werden, dass das Maß an abgegebener Wärme an der Haut von Händen und Füßen sowohl ein guter physiologischer Prädiktor für eine kurze Einschlafzeit ist, als auch mit der Schläfrigkeit vor dem Schlafbeginn assoziiert ist (Kräuchi *et al.* 1999, 2000; Kräuchi & Wirz-Justice 2001; van den Heuvel *et al.* 1998). Van Someren und Kollegen (2000) stellten hierzu die Hypothese auf, dass die Hauttemperatur ein schlafinduzierendes Signal an thermosensitive Neurone im präoptischen anterioren Hypothalamus (PAOH) gibt, die daraufhin ihre Signalfrequenz ändern und dadurch den Körper auf Schlaf einstellen (den *arousal state* verändern) (Raymann *et al.* 2005, 2008; Van Someren 2000a).

Ungewöhnlich erscheint bei der vorliegenden Arbeit zunächst, dass die proximale und nicht die distale Hauttemperatur signifikant mit dem Schlafbeginn zusammenhängt. In anderen Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass auch eine künstlich erhöhte proximale Hauttemperatur unter kontrollierten Laborbedingungen zu einer kürzeren Einschlafzeit führt (Rayman *et al.* 2005, 2008). Eine kürzere Einschlafzeit kann wiederum als Zeichen für eine bessere Einstellung des Körpers auf den Schlaf gesehen werden.

Ein Zusammenhang zwischen der proximalen Hauttemperatur und dem Schlafbeginn besteht nur bei den jüngeren Probandinnen, nicht aber bei den älteren Frauen. Jedoch ist auch bei der Gruppe der älteren Probandinnen ein angedeuteter negativer Zusammenhang der proximalen Hauttemperatur mit dem Schlafbeginn zu beobachten. Eine physiologische Begründung hierfür könnte sein, dass die wärmesensitiven Neurone im Hypothalamus der älteren Frauen weniger sensitiv auf Änderungen der Hauttemperatur reagieren. Diese Erklärung erscheint jedoch unwahrscheinlich, da auch in Studien mit älteren Probandinnen der positive Einfluss der Hauttemperaturen auf die Schläfrigkeit und die Schlafinitiierung gezeigt werden konnte (z. B. Liao *et al.* 2005). Eine wahrscheinlichere Erklärung für die fehlende Signifikanz bei den älteren Probandinnen ist daher die mögliche Beeinflussung der Messwerte durch verschiedene soziale und Umwelteinflüsse oder eine unterschiedliche Schlafhygiene

Diskussion

zwischen den Altersgruppen. Ein Hinweis darauf sind die verglichen mit kontrollierten Bedingungen unter natürlichen Bedingungen durchgehend deutlich höheren Hauttemperaturen am Oberschenkel bei älteren Frauen. Rayman *et al.* (2005) betonen die Bedeutung solcher natürlichen Einflüsse auf die Hauttemperaturen vor Schlafbeginn. Sie tragen im Alltag maßgeblich zur Ausprägung der Hauttemperatur-Rhythmik und zu einem harmonischen Zusammenspiel zwischen der Regulierung von peripherer Hauttemperatur und Schlaf bei. Während schon unter Laborbedingungen (in liegender Position bei thermoneutralen Bedingungen ohne Nahrungsaufnahme) die mittlere Hauttemperatur während der Nacht erhöht und am Tag niedrig ist, ist aus anderen Studien bekannt, dass dieser Rhythmus unter natürlichen Bedingungen noch deutlicher ausgeprägt ist. Dies ist durch das gemeinhin mit Schlaf assoziierte Verhalten begründet, das eine Veränderung der Körperposition von sitzend oder stehend zu liegend, die Nutzung von Bettwäsche zur Schaffung eines warmen Mikroklimas und die mit dem Signal des Lichtausschaltens verbundene Entspannung vor Schlafbeginn beinhaltet (Goldsmith & Hampton 1968; Kräuchi *et al.* 1997b; Kräuchi & Wirz-Justice 2001). Da die Erwärmung der Haut durch dieses Verhalten schon vor dem Schlafbeginn geschieht, beeinflusst es möglicherweise ursächlich den Vorgang des Einschlafens (Rayman *et al.* 2007), was den Stellenwert der Schlafhygiene für einen erleichterten Schlafbeginn unterstreicht. Zwischen den Schlafqualitätsgruppen in der vorliegenden Studie gibt es keine unterschiedlichen Zusammenhänge zwischen Hauttemperatur und Schlafbeginn. Daraus kann geschlossen werden, dass ein veränderter Zusammenhang von Hauttemperatur und Schlafbeginn unter natürlichen Bedingungen nicht mit der subjektiven Schlafqualität in Verbindung stehen dürfte.

Anders als bei den jüngeren Frauen besteht bei den älteren Frauen ein negativer Zusammenhang zwischen dem DPG und dem Schlafbeginn ($r = -0,58$). Ältere Frauen mit einem größeren DPG schlafen demnach früher ein als solche mit kleinem DPG. Ein größerer DPG spricht für eine effizientere Wärmeabgabe nach außen. Diese Beobachtung stimmt ebenfalls mit Literaturbefunden überein, dass ein hoher DPG unter Laborbedingungen einer der besten Prädiktoren für die Bereitschaft des Körpers, zu schlafen, ist (Hasselberg *et al.* 2013; Kräuchi *et al.* 2000). Bei den jüngeren Probandinnen ist der Zusammenhang nicht signifikant, deutet jedoch in die gleiche Richtung. Dies kann auf Zufallseffekten aufgrund der kleinen Gruppengröße und auf Einflüssen des sozialen Umfeldes und der Schlafhygiene beruhen. Die Schlafqualitätsgruppen zeigen keine - und aufgrund dessen auch keine unterschiedlichen - Zusammenhänge zwischen den Hauttemperaturen, dem DPG und dem Schlafbeginn.

Für keine der Probandengruppen zeigt sich ein aus anderen Studien beschriebener Zusammenhang zwischen den Hauttemperaturen, dem DPG und der Einschlafzeit. Bei den älteren guten Schläferinnen nimmt die Einschlafzeit bei höherer Hauttemperatur am Fuß vor dem Zubettgehen

Diskussion

sogar zu. Mit einem hohen Korrelationskoeffizienten ($r = -0,98$) und einer geringen Irrtumswahrscheinlichkeit ($p = 0,005$) erscheint dieser Zusammenhang stabil. Allerdings ist zu beachten, dass die Gruppe der älteren guten Schläferinnen aus nur fünf Individuen besteht, sodass schon ein einzelner abweichender Wert den Zusammenhang aufheben könnte. Die Autorin geht davon aus, dass es hier exogene Faktoren sind, die sich auf das Zusammenspiel zwischen Hauttemperatur und Schlaf auswirken. Es ist z. B. möglich, dass aufgrund von besonders warmer Umgebung nicht nur die Fußtemperaturen, sondern die gesamte Körpertemperatur bei den älteren guten Schläferinnen erhöht war. Bei besonders hohen Umgebungstemperaturen könnte eine effiziente Wärmeabgabe nach außen erschwert sein. Für diese Interpretation spricht auch, dass der DPG in dieser Gruppe nicht signifikant mit der Einschlafzeit korreliert. Es stellt sich die Frage, warum bei keiner der Probandengruppen eine kürzere Einschlafzeit bei erhöhten Hauttemperaturen oder einem höheren DPG vorliegt. In einer Studie von van Marken Lichtenbelt *et al.* (2006) unter natürlichen Bedingungen blieb der DPG ein zuverlässiger Prädiktor für eine kurze Einschlafzeit, obwohl auch hier sowohl die proximale als auch die distale periphere Hauttemperatur im Gegensatz zu Laborstudien einen Anstieg am Abend mit Maximum in der Nacht zeigten. Da eine in physiologisch begründete Veränderung für das gesamte untersuchte Kollektiv unwahrscheinlich erscheint, dürften am ehesten andere, hier nicht untersuchte Einflüsse eine Rolle spielen. Unterschiedliche Schlafbedingungen wurden bereits erwähnt. Für die Schlafinitiierung spielen zudem nicht nur physiologische Prozesse eine wichtige Rolle, sondern auch psychische Aspekte (wie Sorgen oder die Angst, nicht gut schlafen zu können) haben einen nicht zu unterschätzenden Einfluss.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass weder bei den Probandengruppen unterschiedlichen Alters, noch unterschiedlicher Schlafqualität der in der Literatur häufig beschriebene Zusammenhang zwischen erhöhten distalen und proximalen Hauttemperaturen bzw. einem hohen DPG und einer kürzeren Einschlafzeit besteht. Es ist somit kein Hinweis darauf zu finden, dass es altersbedingt ein verändertes Zusammenspiel zwischen Hauttemperatur-Rhythmus und Schlafinitiierung gibt oder dass der Schlaf unter natürlichen Bedingungen bei gesunden älteren Frauen und speziell bei älteren schlechten Schläferinnen durch Veränderungen der Hauttemperatur beeinträchtigt wird.

7.5.2 Zusammenhang zwischen der Nachtschlafstruktur und der Cortisol-Sekretion

Die Cortisol-Konzentration vor dem Zubettgehen am Abend:

Es gibt in dem vorliegenden Kollektiv keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Cortisol-Konzentration am Abend und der Nachtschlafstruktur. Es wurde erwartet, dass der Tiefschlafanteil am Gesamtschlaf niedriger und der Anteil an Wachphasen höher sind, je höher die Cortisol-Konzentration am Abend ist. Dieser Zusammenhang sollte besonders bei den älteren Probandinnen deutlich sein. Diese Erwartung beruht auf der Annahme, dass eine höhere Cortisol-Konzentration am Abend auch

Diskussion

auf einen höheren Cortisolspiegel während der Nacht hinweist. Höhere basale Cortisol-Konzentrationen in der Nacht und besonders um den Zeitpunkt des Cortisol-Nadirs wurden wiederum für ältere Menschen beschrieben (Kudielka *et al.* 2004; Prinz *et al.* 2000; Schultes & Fehm 2004; van Cauter *et al.* 1996) und wurden mit beeinträchtigtem Schlaf in Verbindung gebracht (z. B. Van Cauter *et al.* 2000, Prinz 2000). Dieser Zusammenhang wurde anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt. Dies kann bedeuten, dass solche Zusammenhänge nicht bei relativ gesunden älteren Probandinnen auftreten.

Cortisol-Konzentration nach dem morgendlichen Erwachen:

In der vorliegenden Studie ist die Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen bei jüngeren Probandinnen mit hohem Tiefschlaf-Anteil im letzten Nachtdrittel niedriger als bei solchen mit niedrigem Tiefschlaf-Anteil. Mit Hinblick auf eine Studie von Gronfier *et al.* (1999) kann diese Beobachtung in einen logischen Zusammenhang gestellt werden. In der ersten Nachthälfte liegt die circadiane Phase niedriger adrenocorticotroper Aktivität. Das bedeutet, dass aufgrund des circadianen Signals aus den SCN die Cortisol-Sekretion gering und die Reaktivität der HPA-Achse auf einen Stimulus zur Cortisol-Abgabe herabgesetzt ist (Gronfier *et al.* 1999). In dieser Zeit findet besonders viel Tiefschlaf (bzw. viel SWA) statt. Eine niedrige adrenocorticotrope Aktivität scheint somit eine Voraussetzung für das Auftreten von Tiefschlaf bzw. SWA zu sein. In der zweiten Nachthälfte liegt die circadiane Phase des Cortisol-Anstiegs (Phase der pulsatilen Sekretion), die Cortisol-Konzentrationen sind höher und die HPA-Achse wird zunehmend sensitiv für Signale zur Cortisol-Ausschüttung. In dieser Phase ist eine hohe SWA mit verringerter Cortisol-Sekretion gekoppelt und das Zusammenspiel zwischen Cortisol-Sekretion und Schlafstadien scheint deutlich enger zu sein als in der ersten Nachthälfte (Gronfier *et al.* 1999). Der Zusammenhang zwischen vermehrtem Tiefschlaf und niedrigen Cortisol-Konzentrationen wurde wiederholt bestätigt (Bierwolf *et al.* 1997; Dettenborn *et al.* 2007).

Die älteren Frauen in der vorliegenden Studie haben einen umso höheren Cortisol-Wert nach dem Erwachen, je höher ihr Tiefschlaf-Anteil am Ende der Nacht war. Dieser positive Zusammenhang wird allerdings durch einen einzelnen Extremwert in der Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen verursacht, ohne den keine signifikante Korrelation zwischen dem Tiefschlaf und der Cortisol-Konzentration besteht. Es ist nicht klar, ob die betreffende Probandin eine ungewöhnlich veränderte Physiologie zeigt oder ob aufgrund der geringen Probandenzahl Werte nicht auftreten, die diesen Zusammenhang verstärken würden. Bei den älteren guten Schläferinnen ist der Tiefschlaf-Anteil am Ende der Nacht nicht signifikant mit der morgendlichen Cortisol-Konzentration korreliert. Auch bei ihnen deutet sich jedoch ein positiver Zusammenhang an, im Gegensatz zum negativen Korrelationskoeffizienten bei den jüngeren Probandinnen.

Diskussion

Für ältere Menschen wurde eine veränderte Reaktivität der HPA-Achse beschrieben und generell höhere Cortisol-Konzentrationen in der Nacht (Prinz *et al.* 2000; Schultes & Fehm 2004). Eine etwas höhere Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen bei den älteren Frauen in dieser Studie kann ebenfalls als Hinweis darauf gedeutet werden, dass auch die Cortisol-Konzentrationen in der zweiten Nachthälfte bei älteren Probandinnen höher sind als bei jüngeren Frauen. Wenn nun vermehrte Tiefschlafphasen am Ende der Nacht bei den älteren Frauen nicht mit niedrigeren Cortisol-Konzentrationen zusammenhängen, kann dies durch eine beeinträchtigte Interaktion zwischen HPA-Achse und dem Schlafsystem bei älteren Frauen bedingt sein. Das wiederum spricht für eine gestörte Interaktion zwischen dem Cortisol-Rhythmus und dem Schlaf-Wach-Rhythmus. Es kann angenommen werden, dass diese Veränderung bei älteren Frauen mit schlechter Schlafqualität deutlicher ist als bei älteren guten Schläferinnen. Da die unterschiedlichen Korrelationskoeffizienten zwischen den Schlafqualitätsgruppen jedoch nur auf einem einzigen Extremwert beruhen, kann diese Aussage nicht getroffen werden. Auch ohne den Extremwert bleibt jedoch der Unterschied zwischen den Altersgruppen bestehen. Das spricht dafür, dass beschriebene Veränderungen zunächst altersabhängig stattfinden und unter natürlichen Bedingungen keine direkte Auswirkung auf die Qualität des Schlafes bei älteren Frauen haben.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Zusammenhang zwischen dem nächtlichen Tiefschlaf-Anteil und der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen zwischen den Altersgruppen nicht der gleiche ist. Dies kann als Hinweis auf altersbedingte Unterschiede im Zusammenspiel zwischen der Schlafstruktur und der HPA-Achse gedeutet werden. Ob zwischen den Schlafqualitätsgruppen ebenfalls ein Unterschied besteht, kann bei den älteren schlechten Schläferinnen nicht eindeutig geklärt werden.

Die Cortisol-Aufwachreaktion (CAR):

Im Gegensatz zur Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen, die als Marker des Cortisol-Rhythmus gilt, zeigt die CAR bei keiner der Probandengruppen einen Zusammenhang mit der Schlaftiefe im letzten Nachtdrittel. Bezüglich der CAR zeigen sich andere Zusammenhänge mit dem Nachtschlaf.

Je weniger REM-Schlaf jüngere Probandinnen im zweiten Nachtdrittel hatten, desto größer war ihre CAR am Morgen. Niedrige Cortisol-Konzentrationen werden in der Literatur nicht nur mit SWA in Verbindung gebracht, sondern auch mit REM-Schlaf-Phasen. Ein hoher REM-Schlaf-Anteil in der Nacht könnte daher zu niedrigeren Cortisol-Konzentration bei jüngeren Probandinnen mit mehr REM-Schlaf führen. Möglicherweise tendieren diese Frauen dann zu einer größeren CAR als angemessenes Aufwachsignal. Dass dieser Zusammenhang nur für die jüngere Probandengruppe zutrifft, würde wiederum auf ein verändertes Zusammenspiel zwischen HPA-Achse und Nachtschlaf bei den älteren Probandinnen hinweisen.

Diskussion

Je später der Schlafbeginn bei den älteren schlechten Schläferinnen lag, desto größer war ihre CAR am Morgen. Ein mögliche Erklärung kann folgende sein: Wenn ältere schlechte Schläfer später zu Bett gehen, haben sie ein größeres Schlafdefizit, da sie auch früher aufwachen als die anderen Probandengruppen. Dadurch benötigen sie eine größere CAR als stärkeres Wachsignal, um den Körper überhaupt erst auf den Wachmodus einzustellen. Dass dieser Zusammenhang nur bei den schlechten Schläferinnen auftritt, kann wiederum ein Hinweis darauf sein, dass die HPA-Achse bei ihnen empfindlicher auf „Stress“ (hier der Aufwachvorgang) reagiert als bei den älteren guten Schläferinnen. Dieser Erklärungsansatz führt den beobachteten Unterschied auf ein akut für diese Nacht vorliegendes Phänomen zurück. Daher können daraus nur unter Vorbehalt weitere Rückschlüsse auf eine generelle Veränderung des Zusammenspiels zwischen Cortisol-Sekretion und Nachtschlaf, abhängig von Alter oder Schlafqualität, gezogen werden.

Typische Veränderungen der CAR, die z. B. durch einen höheren Wachanteil in der Nacht oder mehr oder weniger Tiefschlaf entstehen, sind in diesem Kollektiv nicht zu finden.

7.5.3 Zusammenhang zwischen der Uhren-Expression und der Lage der peripheren Hauttemperatur (Akrophase)

Korreliert man die Uhren-Expression zu einem bestimmten Zeitpunkt mit der Lage der Akrophase des distalen Hauttemperatur-Rhythmus, so zeigen sich bei keiner der Probandengruppen signifikante Korrelationskoeffizienten. Die Akrophase der distalen Hauttemperatur unterscheidet sich zwischen den Altersgruppen. Wären verschieden große Korrelationskoeffizienten zwischen den Altersgruppen aufgetreten, hätte das ein Hinweis auf ein verändertes Zusammenspiel von circadianem System (Uhren-Expression) und der Regulierung der Hauttemperatur sein können. Es könnte auch sein, dass ein veränderter Rhythmus der peripheren Hauttemperaturen Auswirkungen auf die Uhren-Expression in peripheren Uhren hat, und dass diese Auswirkung sich aufgrund veränderter Output-Wege bei älteren Frauen verändert. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen diese Vermutungen nicht. Sie deuten vielmehr darauf hin, dass unterschiedliche Akrophasen des Hauttemperatur-Rhythmus zwischen den Altersgruppen mit einem veränderten Zusammenspiel zwischen der Rhythmus-Generierung durch Uhren-Zyklen und der Temperaturregulierung zustande kommen. Für die veränderte Akrophase bei älteren Probandinnen kommen somit eher exogene Einflüsse in Frage als interne Veränderungen. Diese Aussage sollte allerdings in weiterführenden Studien überprüft werden, denn es deuten sich Zusammenhänge an, die möglicherweise durch die kleine Probandenzahl keine statistische Signifikanz erreichen.

7.5.4 Zusammenhang zwischen der Uhren-Expression und der Cortisol-Sekretion

Für die neu etablierte Expressionsanalyse des Uhrens *hCRY1* zeigt sich bei beiden Altersgruppen ein Zusammenhang mit der Cortisol-Sekretion zum Zeitpunkt des Erwachens. Sowohl bei jüngeren als

Diskussion

auch bei älteren Probandinnen ist die *hCRY1*-Expression um 08:00 Uhr morgens positiv mit der Cortisol-Konzentration beim Aufwachen korreliert, bei jüngeren Frauen noch deutlicher ($r = 0,77$) als bei den älteren Probandinnen ($r = 0,51$). Die signifikante Korrelation bei den älteren Probandinnen als Gesamtgruppe ist durch die signifikante Korrelation bei den älteren schlechten Schläferinnen bedingt. Bei den älteren guten Schläferinnen gibt es keine signifikanten Korrelationskoeffizienten, jedoch ebenfalls einen angedeuteten positiven Zusammenhang. Das bedeutet, dass bei allen Probandengruppen eine höhere morgendliche Expression des Uhrengens *hCRY1* mit einer höheren morgendlichen Cortisol-Konzentration einhergeht.

Diese Befunde am humanen *CRY1*-Gen stehen in Einklang mit Laborbefunden aus Tierexperimenten, denen zufolge die Genexpression von *cry1* durch Gabe von Glucocorticoiden aktiviert wird. Reddy *et al.* (2007) beschreiben in einer Studie mit Mäusen die Erhöhung der Genexpression von *mcry1* durch Gabe des Glucocorticoid-Analogons Dexamethason. Die Antwort zentraler Uhrengene wie *cry1* auf Glucocorticoidsignale ist mit großer Wahrscheinlichkeit der grundlegende Mechanismus des Entrainments von peripheren Uhren durch Glucocorticoide. Ihre Synchronisierung wird wahrscheinlich über GREs (*Glucocorticoid Responsive Elements*) in den regulatorischen Regionen menschlicher Gene und Mausorthologe vermittelt (Reddy *et al.* 2007, Nader 2010). Reddy *et al.* (2007) beobachteten auch für die zentralen Uhrengene *mbmal1* und *mper1* die aktivierende Wirkung von Dexamethason, die durch Burioka *et al.* (2005) für *per1* auch für den Menschen bestätigt werden konnte. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die relative Expression von *hPER1* in Lungenepithelzellen *in vitro* und in peripheren Blutzellen *in vivo* durch die Gabe von Dexamethason stimuliert wird.

Wenn die Uhrengen-Expression in einem peripheren Gewebe wie der Schleimhaut verschoben ist, kann das ein Hinweis auf die Beeinflussung der Peripherie durch die veränderte circadiane Rhythmik in den SCN sein, deren Signal dem circadianen Rhythmus der Glucocorticoide zu Grunde liegt.

Für ältere Menschen wurde in einer Studie von Olbrich & Dittmar (2012) bereits ein Zusammenhang zwischen der *hPER1*-Expression und der CAR beschrieben. Die CAR ist bei älteren Frauen signifikant positiv mit der Expression des Uhrengens *hPER1* am Morgen korreliert, jedoch nicht signifikant bei jüngeren Frauen. Die Autorinnen begründen diese Beobachtung u. a. damit, dass *hPER1* nur bei niedrigen Cortisol-Konzentrationen sensitiv für die Regulierung durch das Glucocorticoidsignal ist. Da jüngere Frauen in der Studie höhere Cortisol-Konzentrationen hatten als die älteren Frauen, war der Zusammenhang bei ihnen schwächer ausgeprägt und nicht signifikant.

In der vorliegenden Studie ist die Cortisol-Konzentration bei den älteren Probandinnen höher als bei den jüngeren Probandinnen, ebenso die CAR. Möglicherweise begründet das den fehlenden Zusammenhang zwischen einer höheren Cortisol-Konzentration und der gemessenen relativen *hPER1*-Expression. Ein weiterer Grund könnte sein, dass die *hPER1*-Expression durch Licht stimuliert wird (Wakamatsu *et al.* 2001). Der Lichteinfall wurde hier nicht kontrolliert. *Cry1* dagegen scheint bei

Diskussion

Säugern (Nagern) nicht als Photorezeptor zu fungieren und die Expression somit nicht durch Licht induziert zu werden (Bunger *et al.* 2000; Griffin Jr. *et al.* 1999; Kume *et al.* 1999; Okamura *et al.* 1999; van der Horst *et al.* 1999; Vitaterna *et al.* 1999). Konsens in der Literatur ist, dass Lichteinfall auch keinen Einfluss auf die Cortisol-Konzentration direkt nach dem Erwachen hat (Clow *et al.* 2010). Dagegen reduziert das morgendliche Aufwachen bei Dunkelheit die CAR-Dynamik im Vergleich zum Aufwachen bei Licht (Scheer & Buijs 1999). Es kann also vermutet werden, dass sich Licht eher auf die *hPER1*-Expression bzw. die CAR auswirkt und dadurch mögliche Zusammenhänge durch diesen exogenen Einflussfaktoren überlagert werden, während dies für *hCRY1* und die Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen nicht der Fall ist. Der Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der *hCRY1*-Expression am Morgen bleibt auch bei hohen Glucocorticoid-Konzentrationen bestehen und scheint daher relativ stabil zu sein.

Beim Zusammenspiel der circadianen Systeme Hauttemperatur, Uhrengen-Expression und Cortisol-Sekretion mit dem Nachtschlaf werden unter natürlichen Bedingungen nur wenige Unterschiede zwischen jüngeren und älteren Frauen deutlich. Dies ist auch für ältere Frauen unterschiedlicher Schlafqualität zutreffend. Differenzielle Zusammenhänge zwischen älteren und jüngeren Frauen werden häufig in der Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen deutlich, während ältere gute Schläferinnen sich nicht oder nur tendenziell von den jüngeren Frauen unterscheiden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen teilweise aus der Literatur bekannte und beschriebene Veränderungen der circadianen Rhythmik und des Nachtschlafes bei älteren Menschen. Teilweise weichen die beobachteten Befunde jedoch auch von dem aus der Literatur erwarteten Muster ab. So sind z. B. für kontrollierte Laborbedingungen beschriebene Zusammenhänge zwischen dem Hauttemperaturverlauf und der Einschlafzeit unter natürlichen Bedingungen weder für jüngere noch für ältere Probandinnen zu beobachten. Auch der Einfluss von tiefen Schlafstadien auf Cortisol scheint so nicht vorzuliegen. Es stellt sich hier die Frage nach dem Grund. Sind altersbedingte Veränderungen in der untersuchten Altersgruppe noch nicht ausgeprägt? Oder haben die exogenen Einflüsse (wie Bewegung, Licht und Schlafhygiene) unter natürlichen Bedingungen einen fördernden bzw. abmildernden Einfluss auf solche Zusammenhänge und Veränderungen? Dass solche Unterschiede zu Laborstudien bestehen betont die Wichtigkeit von Studien unter natürlichen Bedingungen (Garde *et al.* 2009). Hier gibt es mehr exogene Einflussfaktoren, z. B. durch körperliche Aktivität, Mahlzeiten oder die Schlafhygiene (Umgebungstemperatur, Zudecken etc.). Da Menschen im Alter aber in ihrer natürlichen Umgebung über Schlafprobleme klagen, und nicht unter Laborbedingungen, ist es z. B. für chronopharmakologische Ansätze wichtig, den Einfluss des natürlichen Umfelds auf physiologische Systeme des Körpers zu kennen.

7.6 Zu Zusammenhängen zwischen circadianen Merkmalsystemen und Verhaltensmerkmalen

7.6.1 Cortisol-Sekretion, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität

In der vorliegenden Studie hängt die im Freien verbrachte Zeit bei Tageslicht mit keinem der gemessenen Cortisol-Werte zusammen. Außerdem kann bei keiner der Probandengruppen ein Zusammenhang zwischen der subjektiv oder objektiv gemessenen körperlichen Aktivität am Tag und der abendlichen Cortisol-Konzentration festgestellt werden. Garde *et al.* (2009) beobachteten in ihrer Studie dagegen einen Anstieg der Cortisol-Konzentration etwa 90 min nach einer abendlichen Sporeinheit bei gesunden Probanden verschiedenen Geschlechts und Alters. Dieser Effekt kann jedoch je nach Tageszeit, zu der die körperliche Aktivität stattfindet, variieren. So gaben drei der jüngeren Probandinnen in der vorliegenden Studie für den betreffenden Untersuchungstag sportliche Aktivität am Nachmittag oder gegen Abend an. Keine der älteren Probandinnen hat sich dagegen am Abend sportlich betätigt. Weiterhin ist zu überlegen, ob diese unterschiedlichen Beobachtungen mit der Intensität der Bewegung zu tun haben. So hätte eine auf den Tag verteilte körperliche Aktivität sicher einen anderen Einfluss auf die HPA-Achse (und damit die Cortisol-Ausschüttung) als intensive Aktivität innerhalb eines begrenzten Zeitraums.

Anders als mit der abendlichen Cortisol-Konzentration verhält es sich mit der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der CAR. Jüngere Probandinnen mit mehr körperlicher Aktivität während des Cortisol-Messtages hatten am nächsten Morgen eine größere CAR. In einer Studie von Garde *et al.* (2009) wurde die CAR dagegen am Folgemorgen nicht durch Sport am Vortag beeinflusst. Auch für die älteren Frauen in der vorliegenden Studie zeigt sich kein Zusammenhang zwischen sportlicher Aktivität und der CAR.

Bei den älteren guten Schläferinnen ist die subjektiv angegebene Menge an Sport am betreffenden Untersuchungstag signifikant negativ mit der CAR verknüpft. Dieser Zusammenhang ist jedoch kaum aussagekräftig, da nur zwei der älteren guten Schläferinnen angaben, an diesem Tag überhaupt sportlich aktiv gewesen zu sein. Zudem hängt die mittels Aktigrafie objektiv gemessene körperliche Aktivität nicht mit der CAR zusammen. Vom Versuch einer Interpretation auf physiologischer Grundlage wird daher abgesehen. Es lässt sich allerdings die Aussage treffen, dass der bei den jüngeren Probandinnen beobachtete positive Zusammenhang zwischen CAR und körperlicher Aktivität am Vortag bei den älteren Probandinnen - unabhängig von der Schlafqualität - nicht zu erkennen ist. Das könnte ein Hinweis auf eine veränderte Reaktivität der HPA-Achse bei älteren Probandinnen sein, da sich die sportliche Aktivität zwischen den Gruppen während des Untersuchungstages nicht signifikant unterscheidet. Tendenziell machen die älteren Probandinnen sogar mehr Sport, also sollte hier eher ein Zusammenhang zu erkennen sein als bei den jüngeren Frauen. Die Frage ist auch, wie aussagekräftig der beobachteten Zusammenhänge sind, denn die

Diskussion

körperliche Aktivität schwankt in allen Probandengruppen stark zwischen den einzelnen Probandinnen.

7.6.2 Nachtschlaf, Zeitraum im Freien und körperliche Aktivität

Bei den jüngeren Probandinnen zeigt sich weder ein Zusammenhang zwischen dem Zeitraum im Freien und Schlafparametern, noch zwischen körperlicher Aktivität am Tag oder in der Nacht und Schlafparametern. Bei älteren Probandinnen korreliert der Zeitraum im Freien bei Tageslicht signifikant positiv mit dem Tiefschlafanteil am Gesamtschlaf. Dieser Zusammenhang weist auf die Bedeutung von Licht als Zeitgeber hin. Aus verschiedenen Studien ist der positive Effekt von Sonnenlicht bzw. kurzweiligem Licht auf den Schlaf-Wach-Rhythmus bekannt (Ancoli-Israel *et al.* 2002; Morita & Tokura 1996). Sonnenlicht ist ein starker Zeitgeber und ein Lichteinfall zu angemessenen Tageszeiten führt zu einer Stabilisierung und Synchronisierung circadianer Rhythmen. Diese scheint besonders bei älteren Menschen, für die ein schwächeres circadianes Signal und eine Tendenz zur Desynchronisierung circadianer Rhythmen angenommen werden, eine positive Wirkung auf die Schlafqualität zu haben. Dass dieser Effekt nicht bei den jüngeren Probandinnen zu beobachten ist, kann damit zusammenhängen, dass diese insgesamt sehr viel weniger Zeit im Freien verbracht haben als ältere Frauen. Weitere signifikante Zusammenhänge, die bei den älteren Probandinnen zu beobachten sind, treten wiederum nur bei der Gruppe der älteren schlechten Schläferinnen auf, nicht jedoch bei den älteren guten Schläferinnen. So findet sich bei einer subjektiv angegebenen höheren sportlichen Aktivität auch ein höherer Tiefschlafanteil bei den älteren schlechten Schläferinnen. Interessant ist, dass hier der Gesamtaktivitätswert nach objektiver Messung nicht signifikant mit dem Schlaf korreliert. Da sich diese Angaben widersprechen, kann keine konkrete Aussage über den Zusammenhang zwischen Sport und Tiefschlaf-Anteil gemacht werden. Eine weitere interessante Beobachtung ist, dass bei den älteren schlechten Schläferinnen ein starker negativer Zusammenhang zwischen der Aktivität während der Nacht und dem Tiefschlaf-Anteil am Gesamtschlaf besteht, nicht jedoch bei den guten Schläferinnen. Das kann ein Hinweis darauf sein, dass der Nachtschlaf bei den älteren schlechten Schläferinnen empfindlicher auf Störungen von außen reagiert. Auch in einer Studie von Monroe (1967) haben schlechte Schläfer sich in allen Schlafphasen mehr bewegt als gute Schläfer. Das könnte eventuell durch höhere Cortisol-Werte in der Nacht begründet sein, die den Körper in einen Zustand höherer Aktivierung versetzt.

Erwartet wurde auch, dass vermehrte körperliche Aktivität am Tag zu einem höheren homöostatischen Schlafdruck und dadurch zu mehr Tiefschlaf führt. Dieser Zusammenhang ist jedoch bei keiner der Probandengruppen zu beobachten. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass das absolute Maß an körperlicher Aktivität nicht ausgereicht hat, um überhaupt einen Einfluss auf die Schlafhomöostase auszuüben.

Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die circadianen Merkmalssysteme Uhrengen-Expression, periphere Hauttemperatur und Cortisol-Sekretion, der Schlaf-Wach-Rhythmus und der Nachtschlaf sowie deren Zusammenspiel untersucht. Ziel war dabei, neue Erkenntnisse über mögliche Veränderungen dieser Systeme im Zusammenhang mit gesundem Altern und der Schlafqualität im Alter in einem natürlichen Umfeld zu gewinnen.

Unter natürlichen Bedingungen sind für die Uhrengene *hBMALI*, *hCRY1* und *hPER1* weder altersbedingt noch zwischen älteren Frauen unterschiedlicher Schlafqualität deutliche Unterschiede bezüglich der Expressionsstärke oder einer Phasenverschiebung zu erkennen. Die Befunde lassen darauf schließen, dass eine hohe Variabilität in der Uhrengen-Expression, speziell für das in dieser Arbeit neu etablierte Uhrengen *hCRY1*, mit einer schlechteren Schlafqualität im Alter zusammenhängt. Dieser Zusammenhang wird nach Kenntnis der Autorin hier erstmals beschrieben.

Unterschiede bezüglich der Phase, Amplitude und Höhe der peripheren Hauttemperaturen sind unter natürlichen Bedingungen eher zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und damit abhängig vom Alter zu finden. Die gesunden älteren Frauen zeigen dabei typische für ältere Menschen beschriebene Veränderungen der Rhythmik. Dies sind eine kleinere Amplitude, niedrigere mittlere Hauttemperaturen und eine frühere Akrophase besonders des distalen Hauttemperatur-Rhythmus. Die Schlafqualität der älteren Frauen scheint dagegen unter natürlichen Bedingungen nicht mit Veränderungen der Hauttemperatur-Rhythmik verbunden zu sein. Auch dies ist ein neuer Befund.

Für den abendlichen Verlauf der Hauttemperaturen um den Zubettgehzeitpunkt gilt, dass unter natürlichen Bedingungen weder zwischen den Altersgruppen noch zwischen den Schlafqualitätsgruppen typische Unterschiede der Hauttemperatur-Verläufe zu beobachten sind, die unter kontrollierten Bedingungen zu finden sind. Auch ist unter natürlichen Bedingungen kein Zusammenhang zwischen dem distal-proximalen Gradienten und der Schlafinitiierung zu beobachten. Dies betont die Wichtigkeit von Studien unter natürlichen Bedingungen. Nach Kenntnis der Autorin wurde der abendliche Verlauf der Hauttemperaturen und des DPG noch nicht für ältere gesunde Frauen unter natürlichen Bedingungen in direktem Vergleich mit dem Verlauf unter kontrollierten Bedingungen beschrieben.

Bezüglich der Cortisol-Sekretion ist festzuhalten, dass höheres Alter in natürlicher Umgebung zwar den Beobachtungen aus der Literatur entsprechend mit höheren basalen Cortisol-Konzentrationen verknüpft ist, die Cortisol-Rhythmik jedoch ohne eine Abflachung der Amplitude erhalten bleibt. Die Schlafqualität bei älteren Frauen in natürlicher Umgebung scheint dagegen nicht mit Veränderungen der Cortisol-Sekretion verbunden zu sein, obwohl Befunde auf eine verminderte Reaktivität der HPA-Achse vor allem bei älteren schlechten Schläferinnen hindeuten.

Eine typische Verschiebung der Schlaf-Wach-Rhythmik zu einer früheren Zeit hin mit höherem Alter ist unter natürlichen Bedingungen zu beobachten, diese Verschiebung *per se* scheint jedoch keine Auswirkungen auf die Schlafqualität im Alter zu haben. Zudem lassen die Befunde vermuten, dass

Diskussion

schlechte Schlafqualität im Alter in diesem Kollektiv nicht mit deutlichen Veränderungen der Schlaf-Wach-Rhythmik einhergeht, sondern dass eine Diskrepanz zwischen der empfundenen Schlafqualität eher durch eine unterschiedliche subjektive Wahrnehmung zurückzuführen ist. Für die Nachtschlafstruktur deuten sich zwischen jüngeren und gesunden älteren Frauen unter natürlichen Bedingungen typische altersbedingte Veränderungen - wie etwa ein geringerer Tiefschlaf-Anteil und ein höherer Anteil an wach verbrachter Zeit - an, die jedoch nur schwach ausgeprägt sind. Zwischen den Schlafqualitätsgruppen zeigen sich keine Unterschiede. Somit scheint eine schlechtere Schlafqualität bei älteren Frauen in ihrem natürlichen Umfeld nicht mit einer altersbedingt deutlicheren Veränderung der Schlafstruktur verknüpft zu sein, sondern eher mit einer subjektiv unterschiedlichen Wahrnehmung.

Die vorliegende Studie erbrachte keinen Hinweis darauf, dass es altersbedingt ein verändertes Zusammenspiel zwischen Hauttemperatur-Rhythmus und Schlafinitiierung gibt oder dass der Schlaf unter natürlichen Bedingungen bei gesunden älteren Frauen und speziell bei älteren schlechten Schläferinnen durch Veränderungen der Hauttemperatur beeinträchtigt wird.

Zwischen den Probandinnen unterschiedlichen Alters zeigt sich ein unterschiedlicher Zusammenhang zwischen dem nächtlichen Tiefschlaf-Anteil und der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen. Dies könnte auf altersbedingte Unterschiede im Zusammenspiel zwischen der Schlafstruktur und der HPA-Achse hinweisen. Für die Schlafqualitätsgruppen ist hier keine Aussage möglich. Schließlich konnte in der vorliegenden Studie erstmals beobachtet werden, dass unabhängig von Alter und Schlafqualität im Alter eine höhere morgendliche Expression des Uhrgens *hCRY1* mit einer höheren morgendlichen Cortisol-Konzentration einhergeht. Der Zusammenhang zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen und der *hCRY1*-Expression am Morgen bleibt auch bei hohen Glucocorticoid-Konzentrationen bestehen und scheint daher relativ stabil zu sein.

7.7 Methodenkritik

Probandenkollektiv und Studiendesign:

Ein zentraler Kritikpunkt an der vorliegenden Studie ist wohl die relativ geringe Probandenzahl (N = 36). Durch die Unterteilung des Kollektivs in Alters- und Schlafqualitätsgruppen nimmt die Anzahl der Probandinnen innerhalb der einzelnen Gruppen noch einmal ab. Dadurch kommt es gerade bezüglich der Schlafqualitätsgruppen zu einer geringen statistischen Power und viele angedeutete Unterschiede können nicht als statistisch signifikant abgesichert werden. Hinzu kommt, dass bei einer kleinen Probandenzahl Zufallseffekte - gerade bei einer Untersuchung unter natürlichen Bedingungen - eine größere Rolle spielen.

Diskussion

Zudem birgt das Studiendesign, in dessen paralleler Untersuchung verschiedener molekulargenetischer, endokriner und physiologischer Merkmale eine Stärke der vorliegenden Studie liegt, auch einen Nachteil in sich. Die Anwendung mehrerer Messmethoden über einen längeren Zeitraum und die Bedienung von Messgeräten durch Probandinnen zu Hause erhöhen das Risiko für eine verringerte Compliance. Zwar wurde auf die genaue Instruktion der Probandinnen durch die Autorin geachtet und Nachfragen konnten jederzeit telefonisch erfolgen. Zudem wurde die Sammlung der Speichelproben elektronisch überprüft und Besonderheiten im Studienverlauf sollten in einem Tagesprotokoll angegeben werden. Dennoch entstehen unter natürlichen Untersuchungsbedingungen mehr verhaltensbedingte Einflüsse, die bei der Auswertung der Daten nicht bekannt sind.

Im Rahmen der Studie wurden circadiane Systeme miteinander und mit dem Nachtschlaf korreliert. Hierbei ist anzumerken, dass die korrelierten Variablen meist auf in einer einzelnen Nacht erhobenen Messwerten beruhen. Dieser Umstand macht es schwieriger, beobachtete Korrelationen zu generalisieren, da vor allem für den Nachtschlaf eine Nacht-zu-Nacht-Variabilität vorliegt. Aussagen über unterschiedliche Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Probandengruppen sind somit nur unter Vorbehalt zu treffen.

Bestimmung der Uhrengen-Expression:

Am Untersuchungstag, an dem die relativen Expressionswerte der untersuchten Uhrengene bestimmt wurden, erfolgte bis um 17:00 Uhr keine Kontrolle des Lichteinfalls während des Tagesverlaufs. Bis auf die Vorgabe, dass kein Sport gemacht werden sollte, wurde auch nicht auf die körperliche Aktivität der Probandinnen an diesem Tag kontrolliert. Das gleiche gilt für die Einnahme von Mahlzeiten. Die Wirkung dieser Zeitgeber auf die Uhrengen-Expression könnte die Messergebnisse beeinflussen. Ein weiterer Kritikpunkt im Zusammenhang mit der Uhrengenanalyse ist, dass die Anzahl der Messpunkte aus finanziellen und zeittechnischen Gründen auf vier begrenzt werden musste. Die Messpunkte wurden so gelegt, dass sie Uhrzeiten abdecken, zu denen aus der Literatur charakteristische Kennwerte für die Expression der Gene *hBMAL1* und *hPER1* bekannt sind. Durch diese vier Messpunkte werden jedoch die Tiefst- und Höchstwerte der *hCRY1*-Expression nicht erfasst. Ideal wären weitere Messpunkte um 16:00 und 4:00 Uhr.

Aktivitätsmessung durch Aktigrafie:

Die körperliche Aktivität der Probandinnen wurde mit Hilfe eines Aktigrafen gemessen. Während diese Messmethode den Vorteil einer kontinuierlichen Datenerfassung bietet, die die Probandinnen nicht in ihrem Alltag behindert, können zwei Nachteile die erhaltenen Messdaten beeinflussen. Die Aktigrafie neigt dazu, bestimmte Nachtschlafvariablen wie Einschlaf latenz oder nächtliche Wachphasen zu unter- bzw. zu überschätzen. Das hängt mit der Art der Datenerfassung über einen Beschleunigungssensor zusammen. Eine Bewertung von Schlaf- und Wachzustand anhand von Bewegungseinheiten erschwert die Unterscheidung zwischen stillem Liegen im Wachzustand und

Diskussion

Schlaf. Liegen Probandinnen vor Schlafbeginn sehr ruhig, wird vom Messgerät aufgrund der fehlenden Bewegung möglicherweise schon Schlaf registriert, bevor dieser wirklich eingesetzt hat. Umgekehrt kann ein unruhiger Schlaf dazu führen, dass der Aktigraf zu viele Wachphasen registriert. Diese Phänomene können auftreten, obwohl bei der Konfiguration des Aktigrafen Einstellungen gewählt wurden, die das Risiko einer Fehlinterpretation der gemessenen Daten durch das Gerät minimieren und zumindest Zubettgeh- bzw. Aufstehzeiten durch Angaben in einem Schlaftagebuch kontrolliert wurden. Ein zweiter Kritikpunkt betrifft die Erfassung der körperlichen Aktivität während der Wachphase der Probandinnen. Der Aktigraf sollte bei intensivem Kontakt mit Wasser abgenommen werden. Schwimmen wurde deshalb im Tagesablauf der Probandinnen nicht als Sport erfasst. Das führt dazu, dass die Aktivitätswerte einiger Probandinnen zu gering ausfallen. Dies betrifft jedoch nicht die gemessene körperliche Aktivität am sechsten Untersuchungstag, da hier nur eine der älteren Probandinnen für 10 min geschwommen ist.

Cortisol:

Auch die in dieser Studie erhobenen Cortisol-Konzentrationen beruhen auf einer einmaligen Speichelprobensammlung. Dieser Umstand beeinflusst nicht die Reliabilität der Werte an sich. Es wird jedoch empfohlen, Cortisol-Konzentrationen über einen Zeitraum von mehreren Tagen zu messen (Kudielka *et al.* 2002), um so Schwankungen in den Cortisol-Konzentrationen von Tag zu Tag auszugleichen, die aufgrund verschiedener Anforderungen an den einzelnen Tagen entstehen können (Adam *et al.* 2006). Im Rahmen dieser Studie war aufgrund der Vielzahl der angewendeten Methoden eine Mehrbelastung der Probandinnen jedoch nicht möglich, weshalb die Messung auf einen Tag beschränkt wurde.

Von Vorteil wäre sicher auch eine Bestimmung der Cortisol-Konzentrationen in der Nacht gewesen, um so eine deutlichere Aussage über den Zusammenhang der Schlafstruktur und der Cortisol-Sekretion zu machen. Dieses Vorgehen war jedoch aus verschiedenen Gründen nicht möglich. Das Wecken der Probandinnen für eine nächtliche Speichelprobensammlung hätte zum einen den Nachtschlaf beeinflusst. Die kontinuierliche Sammlung von Blutproben zur Bestimmung der Plasma-Cortisol-Konzentration hätte als invasive Methode den Aufenthalt in einem Schlaflabor notwendig gemacht. In einer Studie von Vitiello *et al.* (2001) konnte außerdem gezeigt werden, dass eine intravenöse Sammlung einen zusätzlichen Stressfaktor für Probanden bedeutet, der wiederum den Nachtschlaf verfälscht.

Temperatursensoren:

Ein Kritikpunkt zur Hauttemperaturmessung ist, dass die Temperatursensoren nur auf einer Körperseite angelegt wurden. Einseitige Messungen sind stärker durch Umweltfaktoren beeinflussbar (z.B. Isolierung des Sensors durch die Körperposition) als zweiseitige. Eine Messung an beiden Körperseiten wäre optimaler gewesen, um mittlere Temperaturwerte bilden und Artefakte an einem

Diskussion

Messort besser erkennen zu können. Artefakte durch die Körperposition oder Umgebungstemperaturen dürften für die proximale Temperatur am Oberschenkel die größte Rolle gespielt haben (z. B. durch das Überschlagen der Beine oder das Tragen von kurzen oder langen Hosen). Der Messort Hand sollte durch das Tragen eines Schweißbandes vor zu starker Beeinflussung geschützt werden, der Messort Fuß wurde durch das Tragen von Schuhwerk geschützt.

Hauttemperaturen werden z. B. durch Veränderungen des täglichen Aktivitätslevels oder durch die Aufnahme von Nahrung und Getränken beeinflusst (rev. in Hasselberg *et al.* 2013). Das Augenmerk der vorliegenden Studie lag jedoch auf den Hauttemperaturen während der Nacht und auf deren Verlauf am Abend, wo diese Einflussfaktoren eine geringere Rolle spielen. Mesor und Amplitude des Hauttemperatur-Rhythmus werden stärker von Temperaturwerten am Tag beeinflusst. Offensichtliche Extremwerte wurden jedoch aus den Messdaten gelöscht. Außerdem war ein Ziel der Studie, die Hauttemperaturen unter natürlichen Bedingungen zu untersuchen, unter denen diese nun einmal zwingend von außen beeinflusst werden. Schon der Schlaf an sich und die damit zusammenhängende Schlafhygiene sind ein Einflussfaktor (Sarabia *et al.* 2008).

EEG-Messung:

Für die Messung der Schlafstruktur durch ein ambulantes EEG-Gerät gilt die gleiche Kritik wie für die Cortisol-Analyse. Auch hier wurde das Schlafprofil nur eine Nacht aufgezeichnet. Dies hat den Nachteil, dass Nacht-zu-Nacht-Unterschiede der Schlafstruktur nicht mit erfasst werden können. Allerdings zeigen Studien, dass zumindest der Anteil an Tiefschlaf eine hohe Stabilität zwischen verschiedenen Nächten aufweist (Åkerstedt *et al.* 2008). Ein weiterer Nachteil der einmaligen Messung mit dem EEG-Gerät könnte sein, dass ein Gewöhnungseffekt an die Messsituation nicht eintreten kann. Dadurch könnte es zu einer künstlichen Beeinflussung der Nachtschlafstruktur kommen. Vor allem die Schlaffeffizienz bzw. die Schlafqualität der guten Schläferinnen in dieser Studie könnte dadurch verschlechtert werden (ältere schlechte Schläferinnen sind ja schon an einen gestörten Schlaf „gewöhnt“), sodass mögliche Unterschiede zwischen guten und schlechten Schläferinnen weniger offensichtlich werden. Es stellt sich hier jedoch die Frage, ob ein Effekt des ambulanten Gerätes auf den Nachtschlaf nicht durch den positiven Effekt des Aufenthalts in der natürlichen Schlafumgebung abgemildert wird.

7.8 Ausblick

Die Bedeutung einer stabilen circadianen Rhythmik des menschlichen Körpers für die Bewältigung des Alltags und die Gesundheit des Menschen steht vor allem in jüngster Zeit zunehmend im Interesse der Forschung. Zahlreiche Studien beschäftigen sich mit den komplexen Zusammenhängen zwischen circadianem System, dem Stress-System und der Gesundheit. Aus der Chronomedizin und Chronopharmakologie ist bekannt, dass sich Symptome bestimmter Erkrankungen abhängig von der

Diskussion

Tageszeit verschlechtern und dass Medikamente je nach Tageszeit unterschiedlich gut wirken, da sich die Physiologie und die Reaktionsfähigkeit verschiedener Körpersysteme tageszeitlich ändern. Um beispielsweise Behandlungsmöglichkeiten zu optimieren ist die Grundlagenforschung zum circadianen System von großer Bedeutung. Durch sie kann ein Ist-Zustand ermittelt werden und so können möglicherweise neue Ansatzstellen für Therapien gefunden werden. Die Beschreibung circadianer Systeme in natürlicher Umgebung ist wichtig, weil die Rhythmik sich gerade unter Einfluss der Umwelt ausprägt und z. B. auch Medikamente im Alltag in diese Umgebung eingenommen werden.

Angesichts der aktuellen Bevölkerungsentwicklung wird der Anteil an älteren Menschen an der Gesamtbevölkerung in den nächsten Jahren bis Jahrzehnten voraussichtlich immer weiter zunehmen.

Gerade in der älteren Bevölkerung haben Schlafprobleme eine hohe Prävalenz und die Zufriedenheit mit der Qualität des Schlafes nimmt ab. Nicht selten führt das auch zu gesundheitlichen Problemen.

Die Beobachtung von Veränderungen einzelner Systeme oder eines veränderten Zusammenspiels solcher Systeme sind daher besonders für diese Altersgruppe interessant. Werden diese für gesunde ältere Menschen beschrieben, können möglicherweise durch gezieltes Arbeiten gegen solche Veränderungen (z. B. durch Lichttherapie) negative Auswirkungen auf die Gesundheit beschränkt werden. Es erscheint daher sinnvoll, die vorliegende Studie weiterzuführen und zu optimieren, um so weitere Erkenntnisse zu erhalten. Zentrale und neue Aspekte dieser Arbeit waren die Untersuchung der Uhren-Expression, der peripheren Hauttemperatur, der Cortisol-Sekretion und der Nachtschlafstruktur im direkten Vergleich zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und zwischen älteren Probandinnen verschiedener Schlafqualität. Um eine deutlichere Aussage über alters- und schlafqualitätsbedingte Veränderungen zu machen, wäre es sicher hilfreich, das Kollektiv zu vergrößern und zu erweitern. Ideal wäre es, eine Gruppe von jüngeren schlechten Schläferinnen einzuführen, um so die Unterscheidung zwischen altersbedingten Einflüssen und der Schlafqualität deutlicher differenzieren zu können. Da sich für manche circadianen Systeme und auch für den Nachtschlaf Geschlechtsunterschiede andeuten, sollte die Studie auch mit Männern unterschiedlichen Alters und unterschiedlicher Schlafqualität durchgeführt werden. Für eine weiterführende Studie ist auch zu überlegen, gezielt ältere schlechte Schläferinnen mit sehr hoher Punktezahl im PSQI auszuwählen, da hier eventuell schlafqualitätsbedingte Unterschiede deutlicher ausgeprägt sein können. Es wäre zudem interessant, noch weitere Korrelationen mit in dieser Studie bereits erhobenen Daten durchzuführen. So könnte der Zusammenhang zwischen dem Hauttemperaturverlauf und der Cortisol-Sekretion am Morgen untersucht werden. Wenn die Hauttemperatur als Einschlafsignal fungiert, müsste ihre Veränderung am Morgen auch ein wichtiges Aufwachsignal sein, dessen Stärke möglicherweise beeinflusst, als wie stressig der Körper das Aufwachen empfindet und wie groß damit die CAR ist.

Diskussion

Eine zusätzliche Untersuchung des Nachtschlafes im Schlaflabor mit Messung der Hauttemperaturen, Mundschleimhautsammlung für die Uhrengenanalyse und Speichelprobensammlung für die Cortisol-Analyse wäre ebenfalls sinnvoll. So könnte ein direkter Vergleich des Zusammenspiels dieser Systeme zwischen natürlichen und kontrollierten Bedingungen angestellt werden. Es wäre sicher gut, wenn auch die Schlafstruktur unter natürlichen Bedingungen in mehr als einer Nacht gemessen würde, damit ein Gewöhnungseffekt eintreten kann und ein repräsentativerer Einblick in den Nachtschlaf der Probandinnen entsteht.

Eine besonders interessante Beobachtung in dieser Studie war, dass die Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen nur mit Tiefschlaf am Morgen, aber nicht mit Tiefschlaf in der gesamten Nacht oder dem Wachanteil in der Nacht korrelieren. Gerade am Morgen werden für ältere Probanden Schlafprobleme (Aufrechterhaltung von Schlaf) beschrieben. Es wäre daher interessant, sich besonders auf diesen Aspekt der Studie zu fokussieren. Durch kontinuierliche Messpunkte für Cortisol und Uhrengene im Schlaflabor könnten auch Werte um den nächtlichen Cortisol-Nadir herum zwischen den Gruppen verglichen werden. Werte aus dem Labor könnte außerdem den Werten aus der natürlichen Umgebung gegenübergestellt werden, um so den Einfluss der Umwelt stärker zu differenzieren.

Auf verschiedene exogene Einflussfaktoren, die Einfluss auf die verschiedenen untersuchten Systeme haben können, wurde in dieser Studie nicht kontrolliert. Es könnte ein Lichtsensor im Schlafraum der Probandinnen angebracht werden, um den Einfluss dieses Zeitgebers besser bestimmen zu können. Eine gute Ergänzung wären auch Temperaturchips im Zimmer und unter der Decke der Probanden, um so das Mikroklima und die Raumtemperatur erfassen zu können. Die untersuchte Cortisol-Sekretion wird auch von psychischen Faktoren (psychischer Stress, Sorgen) beeinflusst. Es ist daher zu überlegen, bei einer Weiterführung der Untersuchung Fragebögen mit einzubeziehen, die nähere Auskunft über solche psychischen Aspekte geben.

Ins Auge zu fassen ist wäre schließlich die Einbeziehung weiterer Uhrengene wie *hPER2*, *hPER3* oder *RevErba*, um weiteren Aufschluss über das Zusammenspiel im molekularen Uhrwerk und dessen alternsbedingte Veränderung zu erhalten. Interessant wäre in diesem Zusammenhang auch die Einbeziehung der posttranslationalen Ebene, also z. B. die Untersuchung der Interaktionen zwischen Uhrengene-Produkten. Auch Proteinmodifikationen spielen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung von Phase und Periode der circadianen Rhythmik und beeinflussen wiederum die Expression der Uhrengene.

8 Zusammenfassung

Die Veränderung circadianer Rhythmen und Schlaf im Rahmen des Alternsprozesses sind vielfältig und gehen häufig mit gesundheitlichen Problemen und beeinträchtigtem Schlaf einher. Das primäre Ziel dieser Studie war die parallele Untersuchung der circadianen Merkmalssysteme Uhrengene-Expression, periphere Hauttemperatur und Cortisol-Sekretion, des Schlaf-Wach-Rhythmus und des Nachtschlafes unter natürlichen Bedingungen an einem Kollektiv gesunder Frauen unterschiedlichen Alters und unterschiedlicher Schlafqualität. Hierbei sollte die Frage beantwortet werden, ob mögliche Veränderungen dieser Systeme und des Schlafes eher zwischen den Altersgruppen oder zwischen den Schlafqualitätsgruppen anzutreffen sind. Von speziellem Interesse war dabei die Expression der drei zentralen Uhrengene *hBMAL1*, *hPER1* und *hCRY1*, für die mögliche Alters- oder Schlafqualitäts-abhängige Veränderungen noch nicht bekannt sind.

In dieser Querschnittsstudie wurden dafür 36 gesunde Probandinnen untersucht, davon 13 jüngere ($26,77 \pm 4,05$ Jahre) und 23 ältere Frauen ($68,43 \pm 5,21$ Jahre). Ältere Frauen wurden wiederum in 9 gute ($67,22 \pm 5,56$ Jahre) und 14 schlechte Schläferinnen ($69,21 \pm 5,03$ Jahre) unterteilt. Die Auswahl der Probandinnen unterlag strengen Ein- und Ausschlusskriterien, um sicherzustellen, dass Veränderungen in den beobachteten Systemen mit dem biologischen Altern und nicht mit sekundären Einflüssen wie Erkrankungen oder Medikamenteneinnahme zusammenhängen.

Mit Hilfe von Fragebögen wurden allgemeine Angaben, Schlafqualität (Pittsburgh Sleep Quality Index), tageszeitliche Präferenz (deutsche Version des Morningness-Eveningness Questionnaire und Munich Chronotype Questionnaire), Neigung zur Tagesschläfrigkeit (Eppworth Sleepiness Scale) und körperliche Aktivität (Freiburger Fragebogen) der Probandinnen erfragt. Probandinnen führten über einen Zeitraum von acht Tagen ein Tagebuch über ihr Schlafverhalten. Über diesen Zeitraum wurde ihre Bewegungsaktivität aktigrafisch (Actiwatch2) erfasst und ihre Hauttemperaturen mit am Körper getragenen Temperatursensoren (iButtons) gemessen. Durch ein ambulantes EEG-Messgerät wurde die Nachtschlafstruktur der Probandinnen in einer Nacht ermittelt. Zu festgelegten Zeitpunkten wurden Speichel- und Mundschleimhautproben gesammelt. Zum einen wurden daraus mittels Real Time-PCR auf dem LightCycler Expressionsprofile für die Uhrengene *hBMAL1*, *hPER1* und *hCRY1* erstellt. Die Expressionsanalyse für das Uhrengen *hCRY1* wurde dabei neu etabliert. Zum anderen wurde mit Hilfe von Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISAs) die Konzentration des Hormons Cortisol im Speichel bestimmt, woraus die Cortisol-Aufwachreaktion (CAR) und der *Slope of Decline* (SOD) berechnet wurden. Mit dem Statistikprogramm SPSS wurden die circadianen Merkmalssysteme und Nachtschlaf-Variablen zwischen Alters- und Schlafqualitätsgruppen verglichen und zueinander und zu exogenen Faktoren in Beziehung gesetzt.

Für die Uhrengene-Expression zeigten sich unter natürlichen Bedingungen keine deutlichen Unterschiede zwischen Alters- und Schlafqualitätsgruppen. Eine schlechtere Schlafqualität bei älteren Frauen könnte jedoch mit einer höheren Variabilität besonders der *hCRY1*-Expression verbunden sein.

Zusammenfassung

Bezüglich der Hauttemperatur-Rhythmik zeigten ältere im Vergleich zu jüngeren Frauen niedrigere Hauttemperaturen und eine frühere Akrophase der distalen Hauttemperaturen, während sich zwischen älteren Frauen unterschiedlicher Schlafqualität keine Unterschiede fanden. Für den abendlichen Verlauf der Hauttemperaturen um den Zubettgehzeitpunkt konnten unter natürlichen Bedingungen weder zwischen den Altersgruppen noch zwischen den Schlafqualitätsgruppen typische Unterschiede der Hauttemperatur-Verläufe beobachtet werden, die unter kontrollierten Bedingungen jedoch beobachtbar sind. Auch gab es unter natürlichen Bedingungen keinen Zusammenhang zwischen dem distal-proximalen Gradienten und der Schlafinitiierung. Ältere Frauen hatten höhere basale Cortisol-Konzentrationen als jüngere Frauen. Zwischen den Schlafqualitätsgruppen zeigten sich keine eindeutigen Unterschiede. Bezogen auf Schlaf-Wach-Rhythmus und Nachtschlafstruktur gab es bei älteren Frauen Hinweise auf eine vorverlagerte Phase der Rhythmik sowie niedrigere Tiefschlaf-Anteile und höhere Anteile an wach verbrachter Zeit. Für ältere gute und schlechte Schläferinnen zeigten sich hier wiederum keine Unterschiede. Es konnte kein verändertes Zusammenspiel zwischen dem Verlauf der Hauttemperaturen und der Schlafinitiierung zwischen Alters- oder Schlafqualitätsgruppen beobachtet werden. Allerdings gibt es Hinweise auf eine verminderte Reaktivität der Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren (HPA)-Achse im Alter. Unabhängig von Alter und Schlafqualität ging eine höhere morgendliche Expression des Uhrgens *hCRY1* mit einer höheren morgendlichen Cortisol-Konzentration einher.

Diese neuen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass sich die Merkmalssysteme Uhrgen-Expression, Hauttemperatur und Cortisol-Sekretion, der Schlaf-Wach-Rhythmus und die Nachtschlafstruktur vorwiegend im Rahmen des Alternsprozesses verändern und unter natürlichen Bedingungen keine auffälligen Zusammenhänge mit der Schlafqualität im Alter zeigen, auch wenn sich hier Unterschiede andeuten. Schlechte Schlafqualität scheint bei gesunden älteren Frauen somit eher durch eine veränderte subjektive Bewertung bedingt zu sein und nicht primär durch biologische Veränderungen des circadianen Systems.

9 Summary

Age-dependent changes in circadian rhythms and sleep are diverse and are often accompanied by health problems and impaired sleep. The objective of this study was to simultaneously examine circadian clock gene expression, peripheral skin temperature and cortisol secretion, as well as sleep-wake-rhythm and night-time sleep under natural conditions in a collective of healthy women of different age and sleep quality. The aim was to clarify whether possible alterations in these systems and sleep can primarily be found between age groups or between groups of different sleep quality. Of particular interest was the expression of the central clock genes *hBMAL1*, *hPER1* and *hCRY1*. Alterations in the expression of these genes with age or sleep quality are not yet known.

In this cross-sectional study 13 younger (26.77 ± 4.05 yrs) and 23 (68.43 ± 5.21 yrs) older healthy female subjects participated. Older women were divided into 9 good (67.22 ± 5.56 yrs) and 14 poor sleepers (69.21 ± 5.03 yrs). Recruitment of subjects was conducted under strict inclusion and exclusion criteria to ensure that observed differences are due to biological age and not to secondary influences such as disease or medication.

By means of questionnaires, subjects gave general information, information about their sleep quality (Pittsburgh Sleep Quality Index), daytime preference (Morningness Eveningness Questionnaire and Munich Chronotype Questionnaire), daytime sleepiness (Eppworth Sleepiness Scale) and physical activity (Freiburger Fragebogen). Subjects completed a diary (by DGSM) about their sleeping behavior for eight days. During this period, physical activity was recorded by means of actigraphy (Actiwatch2) and skin temperatures were recorded by temperature sensors (iButton). Sleep structure was recorded for one night with ambulant electroencephalography (EEG). Participants collected saliva samples and samples of oral mucosa cells at defined time points. On the one hand, samples were used to perform real time-polymerase chain reactions (PCRs) on the LightCycler® instrument to generate expression profiles of the clock genes *hBMAL1*, *hPER1* and *hCRY1*. Expression analysis of *hCRY1* was newly established. On the other hand, cortisol concentrations were analysed by Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISAs). Based on these values, the Cortisol Awakening Response (CAR) and the Slope of Decline (SOD) were calculated. Variables referring to circadian system and night-time sleep were compared between age groups and groups of different sleep quality using the statistical program SPSS (version 21.0). In addition, correlation analyses were performed.

Under natural conditions, there were no distinct differences in clock gene expression between age groups or sleep quality groups. However, poorer sleep quality in older women might be connected to higher variability especially of *hCRY1*-expression. Regarding the rhythm of skin temperatures, older women displayed lower skin temperatures and an earlier acrophase of distal skin temperature than younger women, while there were no differences between older women with different sleep quality. With respect to skin temperatures around bedtime, differences between subjects were not observed under natural conditions, but apparent under controlled conditions. Also, under natural conditions

Summary

there does not seem to be a connection between the distal-proximal gradient (DPG) between skin temperatures and sleep initiation. Older women showed higher basal cortisol levels than younger women. Again, there were no clear differences between sleep quality groups. Concerning sleep-wake-cycle and sleep structure, older women showed an incline towards an earlier phase of the rhythm as well as lower percentage of deep sleep and higher percentage of wake time during the night. Again, no differences between sleep quality groups could be observed. Relationships between skin temperatures and sleep initiation did neither differ between age groups nor between sleep quality groups. However, an impaired reactivity of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis in older age is indicated. Independent of age and sleep quality a higher *hCRY1*-expression in the morning was linked to higher cortisol-levels in the morning.

The new results of this study indicate that clock gene expression, skin temperature and cortisol secretion, sleep-wake-cycle and night-time sleep are mainly affected by aging. Under natural conditions, they do not show a clear relationship with sleep quality in older age, though differences were indicated. Poorer sleep quality in healthy older women seems to be due mainly to different perception rather than to biological changes in the circadian system.

10 Literaturverzeichnis

- Abe, M, Herzog, E D, Yamazaki, S, Straume, M, Tei, H, Sakaki, Y, Menaker, M, & Block, G D (2002). Circadian rhythms in isolated brain regions. *Journal of Neuroscience*, 22(1):350-356.
- Achermann, P (2004). The two-process model of sleep regulation revisited. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 75(3):A37-A43.
- Adam, E K, Hawkley, L C, Kudielka, B M, & Cacioppo, J T (2006). Day-to-day dynamics of experience-cortisol associations in a population-based sample of older adults. *PNAS*, 103(45):17058-17063.
- Adan, A, & Natale, V (2009). Gender differences in morningness-eveningness preference. *Chronobiology International*, 19(4):709-720.
- Ainsworth, B E, Haskell, W L, Herrmann, S D, Meckes, N, Bassett Jr., D R, Tudor-Locke, C, Greer, J L, Vezina, J, Whitt-Glover, M C, & Leon, A S (2011). 2011 Compendium of physical activities: a second update of codes and MET values. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43(8):1575-1581.
- Ainsworth, B E, Haskell, W L, Leon, A S, Jacobs Jr., D R, Montoye, H J, Sallis, J F, & Paffenbarger Jr., R S (1993). Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 25(1):71-80.
- Ainsworth, B E, Haskell, W L, Whitt, M C, Irwin, N L, Swartz, A M, Strath, S J, O'Brien, W L, Bassett Jr., D R, Schmitz, K H, Emplaincourt, P O, Jacobs Jr., D R, & Leon, A S (2000). Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(9):S498-504.
- Åkerstedt, T, Kecklund, G, & Axelsson, J (2008). Subjective and objective quality of sleep. *Somnologie*, 12(2):104-109.
- Åkerstedt, T, & Torsvall, L (1981). Shift work shift-dependent well-being and individual differences. *Ergonomics*, 24(4):265-273.
- Alam, M N, McGinty, D, & Szymusiak, R (1995). Neuronal discharge of preoptic / anterior hypothalamic thermosensitive neurons: relation to NREM sleep. *American Journal of Physiology*, 269:R1240-R1249.
- Alapin, I, Fichten, C S, Libman, E, Creti, L, Bailes, S, & Wright, J (2000). How is good and poor sleep in older adults and college students related to daytime sleepiness, fatigue, and ability to concentrate? *Journal of Psychosomatic Research*, 49:381-390.
- Alberts, B, Johnson, A, Lewis, J, Raff, M, Roberts, K, & Walter, P (2004). *Molekularbiologie der Zelle*, 4. Auflage. Weinheim: Wiley-VHC, 1800 S.
- Albrecht, U, & Ripperger, J A (2008). Clock Genes. <https://www.unifr.ch/biochem/assets/files/albrecht/publications/AlbrechtRipperger.pdf>.
- Albrecht, U, Sun, Z S, Eichele, G, & Lee, C C (1997). A differential response of two putative mammalian circadian receptors, mper1 and mper2 to light. *Cell*, 91:1055-1067.
- Ancoli-Israel, S, Ayalon, L, & Salzman, C (2008). Sleep in the elderly: normal variations and common sleep disorders. *Harvard Review of Psychiatry*.
- Ancoli-Israel, S, Cole, R, Alessi, C, Chambers, M, Moorcroft, W, & Pollak, C P (2003). The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms. *Sleep*, 26(3):342-392.
- Ancoli-Israel, S, Martin, J L, Kripke, D F, Marler, M, & Klauber, M (2002). Effects of light treatment on sleep and circadian rhythms in demented nursing home patients. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50(2):282-289.
- Ando, H, Ushijima, K, Kumazaki, M, Takamura, T, Yokota, N, Saito, T, Irie, S, Kaneko, S, & Fujimura, A (2010). Influence of age on clock gene expression in peripheral blood cells of healthy women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 65(1):9-13.
- Archer, S N, Viola, A U, Kyriakopoulou, V, von Schantz, M, & Dijk, D J (2008). Inter-individual differences in habitual sleep timing and entrained phase of endogenous circadian rhythms of BMAL1, PER2 and PER3 mRNA in human leukocytes. *Sleep*, 31(5):608-617.

Literaturverzeichnis

- Asai, M, Yoshinobu, Y, Kaneko, S, Mori, A, Nikaido, T, Moriya, T, Akiyama, M, & Shibata, S (2001). Circadian profile of *Per* gene mRNA expression in the suprachiasmatic nucleus, paraventricular nucleus, and pineal body of aged rats. *Journal of Neuroscience Research*, 66:1133-1139.
- Aschoff, J (1955). Der Tagesgang der Körpertemperatur beim Menschen. *Klinische Wochenschrift*, 33(23-24):545-551.
- Aschoff, J (1960). Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 25:11-28.
- Aschoff, J (1965). Circadian rhythms in man. *Science*, 148:1427-1432.
- Aschoff, J (1973). Das circadiane System. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin*, 79:19-31.
- Aschoff, J, Gerecke, U, & Wever, R (1967). Phasenbeziehungen zwischen den circadianen Perioden der Aktivität und der Körpertemperatur beim Menschen. *Pflügers Archiv*, 295:173-183.
- Aschoff, J, & Heise, A (1972). Thermal conductance in man: its dependence on time of day and of ambient temperature. In: S. Itoh, K. Ogata & H. Yoshimura (Eds.), *Advances in Climatic Physiology*. Tokyo: Igako Shoin, S. 334-348.
- Aschoff, J, & Meyer-Lohmann, J (1954). Angeborene 24-Stunden-Periodik beim Kücken. *Pflügers Archiv*, 260:170-176.
- Aschoff, J, Saint Paul, U v, & Wever, R (1971). Die Lebensdauer von Fliegen unter dem Einfluß von Zeit-Verschiebungen *Naturwissenschaften*, 58(11):574.
- Aschoff, J, & Wever, R (1980). Über Reproduzierbarkeit circadianer Rhythmen beim Menschen. *Klinische Wochenschrift*, 58:323-335.
- Badrick, E, Bobak, M, Britton, A, Kirschbaum, C, Marmot, M, & Kumari, M (2008). The relationship between alcohol consumption and cortisol secretion in an aging cohort. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(3):750-757.
- Badrick, E, Kirschbaum, C, & Kumari, M (2007). The relationship between smoking status and cortisol secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(3):819-824.
- Baehr, E K, Revelle, W, & Eastman, C I (2000). Individual differences in the phase and amplitude of the human circadian temperature rhythm: with an emphasis on morningness-eveningness. *Journal of Sleep Research*, 9:117-127.
- Bailey, S L, & Heitkemper, M M (2001). Circadian rhythmicity of cortisol and body temperature: morningness-eveningness effects. *Chronobiology International*, 18(2):249-261.
- Baker, F C, Maloney, S, & Driver, H S (1999). A comparison of subjective estimates of sleep with objective polysomnographic data in healthy men and women. *Journal of Psychosomatic Research*, 47:335-341.
- Bakkeheim, E, Mowinckel, P, Carlsen, K H, Burney, P, & Lødrup Carlsen, K C (2010). Reduced basal salivary cortisol in children with asthma and allergic rhinitis. *Acta Paediatrica*, 99(11):1705-1711.
- Balsalobre, A (2002). Clock genes in mammalian peripheral tissues. *Cell and Tissue Research*, 309:193-199.
- Balsalobre, A, Brown, S A, Marcacci, L, Tronche, F, Kellendonk, C, Reichardt, H M, Schütz, G, & Schibler, U (2000). Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*, 289:2344-2347.
- Basheer, R, Porkka-Heiskanen, T, Strecker, R E, Thakkar, M M, & McCarley, R W (2000). Adenosine as a biological signal mediating sleepiness following prolonged wakefulness. *Biological Signals and Receptors*, 9:319-327.
- Benloucif, S, Orbeta, L, Ortiz, R, Janssen, I, Finkel, S I, Bleiberg, J, & Zee, P C (2004). Morning or evening activity improves neuropsychological performance and subjective sleep quality in older adults. *Sleep*, 27(8):1542-1551.
- Bernstein, L M, Johnston, L C, Ryan, R, Inouye, T, & Hick, F K (1956). Body composition as related to heat regulation in women. *Journal of Applied Physiology*, 9:241-256.

Literaturverzeichnis

- Bertini, G, Colavito, V, Tognoli, C, Seke Etet, P F, & Bentivoglio, M (2010). The aging brain, neuroinflammatory signaling and sleep-wake regulation. *Italian Journal of Anatomy and Embryology*, 115(1/2):31-38.
- Bierwolf, C, Struve, K, Marshall, L, Born, J, & Fehm, H L (1997). Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans. *Journal of Neuroendocrinology*, 9(6):479-484.
- Birbaumer, N, & Schmidt, R F (1999). *Biologische Psychologie. 4. Auflage*: Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Bjarnason, G A, Jordan, R C K, Wood, P A, Li, Q, Lincoln, D W, Sothorn, R B, Hrushesky, W J M, & Ben-David, Y (2001). Circadian expression of clock genes in human oral mucosa and skin. *American Journal of Phathology*, 158(5):1793-1801.
- Björntorp, P, & Rosmond, R (2000). Obesity and cortisol. *Nutrition*, 16(10):924-936.
- Bliwise, D L (1993). Sleep in normal aging and dementia. *Sleep*, 16(1):40-81.
- Bloch, K E, Schoch, O D, Zhang, J N, & Russi, E W (1999). German version of the Epworth Sleepiness Scale. *Respiration*, 66:440-447.
- Block, G D, & Wallace, S F (1982). Localization of a circadian pacemaker in the eye of a mollusc, bulla. *Science*, 217(4555):155-157.
- Blood, M L, Sack, R L, Percy, D C, & Pen, J C (1997). A comparison of sleep detection by wrist actigraphy, behavioral response, and polysomnography. *Sleep*, 20(6):388-395.
- Borbély, A A (1982). A two process model of sleep regulation. *Human Neurobiology*, 1:195-204.
- Born, J, Rasch, B, & Gais, S (2006). Sleep to remember. *The Neuroscientist*, 12(5):410-424.
- Brandtstädter, J, Baltes-Götz, B, Kirschbaum, C, & Hellhammer, D (1991). Developmental and personality correlates of adrenocortical activity as indexed by cortisol: observations in the age range of 35 to 65 years. *Journal of Psychosomatic Research*, 35(2/3):173-185.
- Březinová, V (1976). Duration of EEG sleep stages in different types of disturbed night sleep. *Postgraduate Medical Journal*, 52(603):34-36.
- Brown, S A, Kunz, D, Dumas, A, Westermarck, P O, Vanselow, K, Tilmann-Wahnschaffe, A, Herzel, H, & Krame, A (2008). Molecular insights into human daily behavior. *PNAS*, 5:1602–1607.
- Buijs, R M, van Eden, C G, Goncharuk, V D, & Kalsbeek, A (2003). The biological clock tunes the organs of the body: timing by hormones and the autonomic nervous system. *Journal of Endocrinology*, 177:17-26.
- Bunger, M K, Wilsbacher, L D, Moran, S M, Clendenin, C, Radcliffe, L A, Hogenesch, J B, Simon, M C, Takahashi, J S, & Bradfield, C A (2000). Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*, 103:1009-1017.
- Bunney, J N, & Potkin, S G (2008). Circadian abnormalities, molecular clock genes and chronobiological treatments in depression. *British Medical Bulletin*, 86:23-32.
- Bunney, W E, & Bunney, B G (2000). Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression. *Neuropsychopharmacology*, 22(4):335-345.
- Bünning, E (1963). *Die physiologische Uhr: Zeitmessung in Organismen mit ungefähr tagesperiodischen Schwingungen. 2. verb. und erw. Auflage*. Berlin: Springer, 153 S.
- Buyse, D J, Reynolds, C F I, Monk, T H, Berman, S R, & Kupfer, D J (1989). The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research*, 28:193-213.
- Buyse, D J, Reynolds, C F I, Monk, T H, Hoch, C C, Yeager, A L, & Kupfer, D J (1991). Quantification of subjective sleep quality in healthy elderly men and women using the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). *Sleep*, 14(4):331-338.
- Cajochen, C, Kräuchi, K, & Wirz-Justice, A (2003). Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *Journal of Neuroendocrinology*, 15:432-437.
- Cajochen, C, Münch, M, Knoblauch, V, Blatter, K, & Wirz-Justice, A (2006). Age-related changes in the circadian and homeostatic regulation of human sleep. *Chronobiology International*, 23:461-474.

Literaturverzeichnis

- Campbell, S S, Gillin, C, Kripke, D F, Erikson, P, & Clopton, P (1989). Gender differences in the circadian temperature rhythms of healthy elderly subjects: relationships to sleep quality. *Sleep*, 12(6):529-536.
- Cannon, C P, McCabe, C H, Stone, P H, Schactman, M, hompson, B, Theroux, P, Gibson, R S, Feldman, T, Kleiman, N S, Tofler, G H, Muller, J E, Chaitman, B R, & Braunwald, E (1997). Circadian variation in the onset of unstable angina and non-Q-wave acute myocardial infarction (The TIMI III Registry and TIMI IIIB). *American Journal of Cardiology*, 79:253-258.
- Carrier, J, & Monk, T H (2000). Circadian rhythms of performance: new trends. *Chronobiology International*, 17(6):719-732.
- Carrier, J, Monk, T H, Buysse, D J, & Kupfer, D J (1997). Sleep and morningness-eveningness in the 'middle' years of life (20-59 y). *Journal of Sleep Research*, 6(4):230-237.
- Carskadon, M A, Van Den Hoed, J, & Dement, W C (1980). Insomnia and sleep disturbances in the aged. Sleep and daytime sleepiness in the elderly. *Journal of Geriatric Psychiatry*, 13:145-151.
- Casetta, I, Granieri, E, Portaluppi, F, & Manfredini, R (2002). Circadian variability in hemorrhagic stroke. *JAMA*, 287(10):1266-1267.
- Caspersen, C J, Powell, K E, & Christenson, G M (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Reports*, 100(2):126-131.
- Cermakian, N, & Boivin, D B (2003). A molecular perspective of human circadian rhythm disorders. *Brain Research Reviews*, 42:204-220.
- Champaneri, S, Xua, X, Carnethon, M R, Bertoni, A G, Seemane, T, Rouxf, A D, & Golden, S H (2011). Diurnal salivary cortisol and urinary catecholamines are associated with diabetes mellitus: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Metabolism*, Article in Press.
- Chen, S T, Choo, K B, Hou, M F, Yeh, K T, Kuo, S J, & Chang, J G (2005). Deregulated expression of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers. *Carcinogenesis*, 26:1241-1246.
- Chen, Y G, Mantalaris, A, Bourne, P, Keng, P, & Wu, J H (2000). Expression of mPer1 and mPer2, two mammalian clock genes, in murine bone marrow. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276:724-728.
- Chida, Y, & Steptoe, A (2009). Cortisol awakening response and psychosocial factors: a systematic review and meta-analysis. *Biological Psychology*, 80:265-278.
- Chrousos, G P (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology*, 5:374-381.
- Chrousos, G P, & Kino, T (2007). Glucocorticoid action networks and complex psychiatric and/or somatic disorders. *Stress*, 10:213-219.
- Clow, A, Hucklebridge, F, Stalder, T, Evans, P, & Thorn, L (2010). The cortisol awakening response: more than a measure of HPA axis function. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35:97-103.
- Clow, A, Thorn, L, Evans, P, & Hucklebridge, F (2004). The awakening cortisol response: methodological issues and significance. *Stress*, 7(1):29-37.
- Cohen, S, Doyle, W J, & Baum, A (2006). Socioeconomic status is associated with stress hormones. *Psychosomatic Medicine*, 68:414-420.
- Cole, R J, Kripke, D F, Gruen, W, Mullaney, D J, & Gillin, J C (1992). Automatic sleep/wake identification from wrist activity. *Sleep*, 15(5):461-469.
- Crocker, A, & Sehgal, A (2010). Genetic analysis of sleep. *Genes and Development*, 24:1220-1235.
- Crowley, K (2011). Sleep an sleep disorders in older adults. *Neuropsychology Review*, 21:41-53.
- Czeisler, C A, Duffy, J F, Shanahan, T L, Brown, E N, Mitchell, J F, Rimmer, D W, Ronda, J M, Silva, E J, Allan, J S, Emens, J S, Dijk, D J, & Kronauer, R E (1999). Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science*, 284(5423):2177-2181.
- Czeisler, C A, Weitzman, E D, Moore-Ede, M C, Zimmerman, J C, & Knauer, R S (1980a). Human sleep: its duration and organization depend on its circadian phase. *Science*, 210(12):1264-1267.

Literaturverzeichnis

- Czeisler, C A, Zimmerman, J C, Ronda, J M, Moore-Ede, M C, & Weitzman, E D (1980b). Timing of REM sleep is coupled to the circadian rhythm of body temperature in man. *Sleep*, 2:329-346.
- Daan, S (2010). A history of chronobiological concepts. In: U. Albrecht (Ed.), *The Circadian Clock*. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer, S. 1-35
- Daan, S, Beersma, D G M, & Borbély, A A (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *American Journal of Physiology*, 246:R161-R178.
- Dardente, H, & Cermakian, N (2007). Molecular circadian rhythms in central and peripheral clocks in mammals. *Chronobiology International*, 24(2):195-213.
- Dawson, D, Lushington, K, Lack, L, Campbell, S, & Matthews, C (1992). The variability in circadian phase and amplitude estimates derived from sequential constant routines. *Chronobiology International*, 9(5):362-370.
- De Kloet, E R (2004). Hormones and the stressed brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018(1):1-15.
- Dement, W C, & Kleitman, N (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 9(4):673-690.
- Dettenborn, L, Rosenlocher, F, & Kirschbaum, C (2007). No effects of repeated forced wakings during three consecutive nights on morning cortisol awakening response (CAR): a preliminary study. *Psychoneuroendocrinology*, 32:915-921.
- Dettoni, J L, Consolim-Colombo, F M, Drager, L F, Rubira, M C, Souza, S B, Irigoyen, M C, Mostarda, C, Borile, S, Krieger, E M, Moreno, H J, & Lorenzi-Filho, G (2012). Cardiovascular effects of partial sleep deprivation in healthy volunteers. *Journal of Applied Physiology*, 113(2):232-236.
- Deuschle, M, Gotthardt, U, Schweiger, U, Weber, B, Körner, A, Schmider, J, Standhardt, H, Lammers, C H, & Heuser, I (1997). With aging in humans the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal system increases and its diurnal amplitude flattens. *Life Sciences*, 61(22):2239-2246.
- Dijk, D J, & Czeisler, C A (1994). Paradoxical timing of the circadian rhythm of sleep propensity serves to consolidate sleep and wakefulness in humans. *Neuroscience Letters*, 166:63-68.
- Dijk, D J, Duffy, J F, & Czeisler, C A (2000). Contribution of circadian physiology and sleep homeostasis to age-related changes in human sleep. *Chronobiology International*, 17(3):285-311.
- Dijk, D J, & Lockley, S W (2002). Integration of human sleep-wake regulation and circadian rhythmicity. *Journal of Applied Physiology*, 92(2):852-862.
- Dijk, D J, & von Schantz, M (2005). Timing and consolidation of human sleep, wakefulness, and performance by a symphony of oscillators. *Journal of Biological Rhythms*, 20:279-290.
- Direk, N, Newson, R S, Hofman, A, Kirschbaum, C, & Tiemeier, H (2011). Short and long-term effects of smoking on cortisol in older adults. *International Journal of Psychophysiology*, 80:157-160.
- Dockray, S, Bhattacharyya, M R, Molloy, G J, & Steptoe, A (2008). The cortisol awakening response in relation to objective and subjective measures of waking in the morning. *Psychoneuroendocrinology*, 33(1):77-82.
- Doi, Y, Minowa, M, Uchiyama, M, & Okawa, M (2001). Subjective sleep quality and sleep problems in the general Japanese adult population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 55:213-215.
- Duffy, J F, & Czeisler, C A (2002). Age-related change in the relationship between circadian period, circadian phase, and diurnal preference in humans. *Neuroscience Letters*, 318:117-120.
- Duffy, J F, Dijk, D J, Hall, E F, & Czeisler, C A (1999). Relationship of endogenous circadian melatonin and temperature rhythms to self-reported preference for morning or evening activity in young and older people. *Journal of Investigative Medicine*, 47(3):141-150.
- Duffy, J F, Dijk, D J, Klerman, E B, & Czeisler, C A (1998). Later endogenous circadian temperature nadir relative to an earlier wake time in older people. *The American Physiological Society*, 275:R1478-R1487.
- Dunlap, J C (1999). Molecular Bases for Circadian Clocks. *Cell*, 96:271-290.

Literaturverzeichnis

- Epel, E S, McEwen, B, Seeman, T, Matthews, K, Castellazzo, G, Brownell, K D, Bell, J, & Ickovics, J R (2000). Stress and body shape: stress-induced cortisol secretion is consistently greater among women with central fat. *Psychosomatic Medicine*, 62:623-632.
- Falcón, J, Marmillon, J B, Claustrat, B, & Collin, J P (1989). Regulation of melatonin secretion in a photoreceptive pineal organ: an *in vitro* study in the pike. *The Journal of Neuroscience*, 9(6):1943-1950.
- Falk, B, Bar-Or, O, Smolander, J, & Frost, G (1994). Response to rest and exercise in the cold: effects of age and aerobic fitness. *Journal of Applied Physiology*, 76:72-78.
- Ferrari, E, Cravello, L, Muzzoni, B, Casarotti, D, Paltro, M, Solerte, S B, Fioravanti, M, Cuzzoni, G, Pontiggia, B, & Magri, F (2001). Age-related changes of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: pathophysiological correlates. *European Journal of Endocrinology*, 144:319-329.
- Fiorentini, A, Valente, R, Perciaccante, A, & Tubani, L (2007). Sleep's quality disorders in patients with hypertension and type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Cardiology*, 114:e50-e52.
- Fleissner, G (1996). Rhythmicität, zirkadiane Rhythmik und Schlaf. In: J. Dudel, R. Menzel & R. F. Schmidt (Eds.), *Neurowissenschaft*. Berlin: Springer-Verlag, S. 519-537.
- Fleissner, G, & Heinrichs, S (1982). Neurosecretory cells in the circadian-clock system of the scorpion, *Androctonus australis*. *Cell and Tissue Research*, 224(1):233-238.
- Foley, D J, Monjan, A A, Brown, S L, Simonsick, E M, Wallace, R B, & Blazer, D G (1995). Sleep complaints among elderly persons: an epidemiologic study of three communities. *Sleep*, 18(6):425-432.
- Fox, K R (1999). The influence of physical activity on mental well-being. *Public Health Nutrition*, 2(3a):411-418.
- Frey, I, Berg, A, Grathwohl, D, & Keul, J (1999). Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität - Entwicklung, Prüfung und Anwendung. *Sozial- und Präventivmedizin*, 44:55-64.
- Fries, E, Dettenborn, L, & Kirschbaum, C (2009). The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *International Journal of Psychophysiology*, 72:67-73.
- Fröberg, J E (1977). Twenty-four-hour patterns in human performance, subjective and physiological variables and differences between morning and evening active subjects. *Biological Psychology*, 5(2):119-134.
- Fronczek, R, Overeem, S, Lammers, G J, van Dijk, J G, & Van Someren, E J W (2006). Altered skin-temperature regulation in narcolepsy relates to sleep propensity. *Sleep*, 29(11):1444-1449.
- Gallego, M, & Virshup, D M (2007). Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(2):139-148.
- Garde, A H, & Hansen, Å M (2005). Long-term stability of salivary cortisol. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 65:433-436.
- Garde, A H, Persson, R, Hansen, Å M, Österberg, K, Ørbæk, P, Eek, F, & Karlson, B (2009). Effects of lifestyle factors on concentrations of salivary cortisol in healthy individuals. *The Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 69(2):242-250.
- Gilbert, S S, Van den Heuvel, C J, Fergusson, S A, & Dawson, D (2004). Thermoregulation as a sleep signalling system. *Physiological Review*, 8:81-93.
- Giron, M S T, Forsell, Y, Bernsten, C, Thorslund, M, Winblad, B, & Fastbom, J (2002). Sleep problems in a very old population: drug use and clinical correlates. *Journal of Gerontology*, 57A(4):M236-M240.
- Goldsmith, R, & Hampton, I F (1968). Nocturnal microclimate of man. *The Journal of Physiology*, 194:32P-33P.
- Goméz-Abellán, P, Hernandez-Morante, J J, Lujan, J A, Madrid, J A, & Garaulet, M (2008). Clock genes are implicated in the human metabolic syndrome. *International Journal of Obesity*, 32:121-128.
- Gompper, B, Bromundt, V, Orgül, S, Flammer, J, & Kräuchi, K (2010). Phase relationship between skin temperature and sleep-wake rhythms in women with vascular dysregulation and controls under real-life conditions. *Chronobiology International*, 27(9-10):1778-1796.

Literaturverzeichnis

- Gradisar, M, & Lack, L (2004). Relationships between the circadian rhythms of finger temperature, core temperature, sleep latency, and subjective sleepiness. *Journal of Biological Rhythms*, 19(2):157-163.
- Gribbin, C E, Watamura, S E, Cairns, A, Harsh, J R, & LeBourgeois, M K (2012). The cortisol awakening response (CAR) in 2- to 4-year old children: effects of acute nighttime sleep restriction, wake time, and daytime napping. *Developmental Psychobiology*, 54(4):412-422.
- Griefahn, B, Künemund, C, Bröde, P, & Mehnert, P (2001). Zur Validität der deutschen Übersetzung des Morningness-Eveningness-Questionnaires von Horne und Östberg. *Somnologie*, 5:71-80.
- Griffin Jr., E A, Staknis, D, & Weitz, C J (1999). Light-independent role of CRY1 and CRY2 in the mammalian circadian clock. *Science*, 286:768-771.
- Gronfier, C, Simon, C, Piquard, F, Ehrenhart, J, & Brandenberger, G (1999). Neuroendocrine processes underlying ultradian sleep regulation in man. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(8):2686-2690.
- Guo, S, Roche, A F, Chumlea, C W, Miles, D S, & Pohlman, R L (1987). Body composition predictions from bioelectric impedance. *Human Biology*, 59:221-233.
- Gupta, N K, Mueller, W H, Chan, W, & Meininger, J C (2002). Is obesity associated with poor sleep quality in adolescents? *American Journal of Human Biology*, 14:762-768.
- Halberg, F (1969). Chronobiology. *Annual Review of Physiology*, 31:675-725.
- Hales, J R S (1985). Skin arteriovenous anastomoses, their control and role in thermoregulation. In: K. Johansen & W. W. Burggren (Eds.), *Cardiovascular Shunts*. Alfred Benzon Symposium 21. Copenhagen, Munksgaard, S. 433-451.
- Hansen, J (2001). Increased breast cancer risk among women who work predominantly at night. *Epidemiology*, 12(1):74-77.
- Happe, S (2011). Schlaf und seine Störungen im Alter. *Bundesgesundheitsblatt* 2011, 54:1311-1318.
- Harmer, S L, Hogenesch, J B, Straume, M, Hur-Song Chang, H S, Han, B, Zhu, T, Wang, X, Kreps, J A, & Kay, S A (2000). Orchestrated transcription of key pathways in Arabidopsis by the circadian clock. *Science*, 290:2110-2113.
- Hasselberg, M J, McMahan, J, & Parker, K (2013). The validity, reliability, and utility of the iButton for measurement of body temperature circadian rhythms in sleep/wake research. *Sleep Medicine*, 14:5-11.
- Hastings, M H, Reddy, A B, & Maywood, E S (2003). A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 4:649-661.
- Hastings, P C, Vazir, A, O'Driscoll, D M, Morrell, M J, & Simonds, A K (2006). Symptom burden of sleep-disordered breathing in mild-to-moderate congestive heart failure patients. *European Respiratory Journal*, 27:748-755.
- Hattar, S, Liao, H W, Takao, M, Berson, D M, & Yau, K W (2002). Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*, 295:1065-1070.
- Haus, E, & Touitou, Y (1992). Principles of clinical chronobiology. In: Y. Touitou & E. Haus (Eds.), *Biological rhythms in clinical and laboratory medicine*. Berlin Heidelberg: Springer, S. 6-34.
- Heaney, J L J, Phillips, A C, & Carroll, D (2010). Ageing, depression, anxiety, social support and the diurnal rhythm and awakening response of salivary cortisol. *International Journal of Psychophysiology*, 78:201-208.
- Hida, A, Kusanagi, H, Satoh, K, Kato, T, Matsumoto, Y, Echizenya, M, Shimizu, T, Higuchi, S, & Mishima, K (2009). Expression profiles of PERIOD1, 2, and 3 in peripheral blood mononuclear cells from older subjects. *Life Sciences*, 84(1-2):33-37.
- Hofman, M A, Fliers, E, Goudsmit, E, & Swaab, D F (1988). Morphometric analysis of the suprachiasmatic and paraventricular nuclei in the human brain: sex differences and age-dependent changes. *Journal of Anatomy*, 160:127-143.
- Hofman, M A, & Swaab, D F (2006). Living by the clock: the circadian pacemaker in older people. *Ageing Research Reviews*, 5:33-51.

Literaturverzeichnis

- Holland, P M, Abramson, R D, Watson, R, & Gelfand, D H (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5' → 3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *PNAS*, 88:7276-7280.
- Horne, J A, Brass, C G, & Petitt, A N (1980). Circadian performance differences between morning and evening 'types'. *Ergonomics*, 23(1):29-36.
- Horne, J A, & Östberg, O (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology*, 4:97-110.
- Horvath, S M, Radcliffe, C E, Hutt, B K, & Spurr, G B (1955). Metabolic responses of older people to a cold environment. *Journal of Applied Physiology*, 8:145-148.
- Ice, G H, Katz-Stein, A, Himes, J, & Kane, R L (2004). Diurnal cycles of salivary cortisol in older adults. *Psychoneuroendocrinology*, 29:355-370.
- Jafarpour, S, & Sadeghniai-Haghighi, K (2013). Sleep quality and associated factors in residents of a major teaching hospital in Iran. *Sleep Medicine*, 14: e157–e158.
- James, F O, Boivin, D B, Charbonneau, S, Bélanger, V, & Cermakian, N (2007). Expression of clock genes in human peripheral blood mononuclear cells throughout the sleep/wake and circadian cycles. *Chronobiology International*, 24(6):1009-1034.
- Janson, C, Gislason, T, Boman, G, Hetta, J, & Roos, B E (1990). Sleep disturbances in patients with asthma. *Respiratory Medicine*, 84:37-42.
- Johns, M W (1991). A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep*, 14(6):540-545.
- Kahn, E, Fisher, C, & Lieberman, L (1970). Sleep characteristics of the human aged female. *Comprehensive Psychiatry*, 11:274-278.
- Kavanau, J L (1997). Memory, sleep and the evolution of mechanisms of synaptic efficacy maintenance. *Neuroscience*, 79(1):7-44.
- Kenney, W L, & Armstrong, C G (1996). Reflex peripheral vasoconstriction is diminished in older men. *Journal of Applied Physiology*, 80:512-515.
- Kenney, W L, & Munce, T A (2003). Invited review: aging and human temperature regulation. *Journal of Applied Physiology*, 95:2598-2603.
- Khapre, R V, Samsa, W E, & Kondratov, R V (2010). Circadian regulation of cell cycle: molecular connections between aging and the circadian clock. *Annals of Medicine*, 42:404-415.
- Kiesel, A (1894). Untersuchungen zur Physiologie des facettierten Auges. *Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften in Wien*, 103:97-139.
- Kirschbaum, C, & Hellhammer, D (1994). Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*, 19(4):313-333.
- Kirschbaum, C, & Hellhammer, D H (1989). Salivary cortisol in psychobiological research - an overview. *Neuropsychobiology*, 22(3):150-169.
- Kistler, A, Mariauzouls, C, & von Berlepsch, K (1998). Fingertip temperature as an indicator for sympathetic responses. *International Journal of Psychophysiology*, 29:35-41.
- Kleitman, N, Titelbaum, S, & Hoffmann, H (1937). The establishment of the diurnal temperature cycle. *American Journal of Physiology*, 119(1):48-54.
- Knußmann, R (1988). Somatometrie. In: R. Knußmann (Ed.), *Anthropologie. Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen. Band I: Wesen und Methoden der Anthropologie. 1. Teil: Wissenschaftstheorie, Geschichte, morphologische Methoden*. Stuttgart, New York: Fischer, S. 232-285.
- Knutsson, A (2003). Health disorders of shift workers. *Occupational Medicine*, 53:103-108.
- Kolker, D E, Fukuyama, H, Huang, D S, Takahashi, J S, Horton, T H, & Turek, F W (2003). Aging alters circadian and light-induced expression of clock genes in golden hamsters. *Journal of Biological Rhythms*, 18(2):159-169.
- Konopka, R J, & Benzer, S (1971). Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *PNAS*, 68(9):2112-2116.

Literaturverzeichnis

- Korf, H W, & Stehle, J H (2005). Das circadiane System der Säugetiere - integraler Bestandteil des neuroendokrinen Systems. In: E. Peschke (Ed.), *Endokrinologie II*: Verlag der Sächsischen Akademie der Wissenschaften zu Leipzig.
- Kraemer, H C, Giese-Davis, J, Yutsis, M, O'Hara, R, Neri, E, Gallagher-Thompson, D, Barr Taylor, C, & Spiegel, D (2006). Design decisions to optimize reliability of daytime cortisol slopes in an older population. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 14(4):325-333.
- Kräuchi, K (2002). How is the circadian rhythm of core body temperature regulated? *Clinical Autonomic Research*, 12:147-149.
- Kräuchi, K (2007). The thermophysiological cascade leading to sleep initiation in relation to phase of entrainment. *Sleep Medicine Reviews*, 11:439-451.
- Kräuchi, K, Cajochen, C, Möri, D, Graw, P, & Wirz-Justice, A (1997a). Early evening melatonin and S-20098 advance circadian phase and nocturnal regulation of core body temperature. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 272:R1178-R1188.
- Kräuchi, K, Cajochen, C, Werth, E, & Wirz-Justice, A (1999). Warm feet promote the rapid onset of sleep. *Nature*, 401:36-37.
- Kräuchi, K, Cajochen, C, Werth, E, & Wirz-Justice, A (2000). Functional link between distal vasodilation and sleep-onset latency? *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 278:R741-R748.
- Kräuchi, K, Cajochen, C, & Wirz-Justice, A (1997b). A relationship between heat loss and sleepiness: effects of postural change and melatonin administration. *Journal of Applied Physiology*, 83:134-139.
- Kräuchi, K, & Deboer, T (2011). Body temperatures, sleep, and hibernation. In: M. H. Kryger, T. Roth & W. C. Dement (Eds.), *Principles and Practice of Sleep Medicine. Fifth Edition*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, S. 323-334.
- Kräuchi, K, Fontana Gasio, P, Vollenweider, S, von Arb, M, Dubler, B, Orgül, S, Flammer, J, & Zemp Stutz, E (2008). Cold extremities and difficulties initiating sleep: evidence of co-morbidity from a random sample of a Swiss urban population. *Journal of Sleep Research*, 17:420-426.
- Kräuchi, K, Gompfer, B, Vollenweider, S, Flammer, J, & Orgül, S (2007). Women with vasospastic syndrome show a predisposition for evening chronotype and social jetlag. *Sleep*, 30:a%".
- Kräuchi, K, Knoblauch, V, Wirz-Justice, A, & Cajochen, C (2006). Challenging the sleep homeostat does not influence the thermoregulatory system in men: evidence from a nap vs. sleep-deprivation study. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 290:R1052-R1061.
- Kräuchi, K, & Wirz-Justice, A (1994). Circadian rhythm of heat production, heart rate, and skin and core temperature under unmasking conditions in men. *American Journal of Physiology*, 267:819-829.
- Kräuchi, K, & Wirz-Justice, A (2001). Circadian clues to sleep onset mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 25(S5):S92-S96.
- Kripke, D F, Mullaney, D J, Messin, S, & Wyborney, V G (1978). Wrist actigraphic measures of sleep and rhythms. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 44:674-676.
- Kryger, M, Monjan, A, Bliwise, D, & Ancoli-Israel, S (2004). Sleep, health, and aging. Bridging the gap between science and clinical practice. *Geriatrics*, 59(1):24-26, 29-30.
- Kryger, M H, Roth, T, & Dement, W C (2011). *Principles and Practice of Sleep Medicine. Fifth Edition*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 1766 S.
- Kudielka, B M, Broderick, J E, & Kirschbaum, C (2002). Compliance with saliva sampling protocols: electronic monitoring reveals invalid cortisol daytime profiles in noncompliant subjects. *Psychosomatic Medicine*, 65:313-319.
- Kudielka, B M, & Kirschbaum, C (2003). Awakening cortisol responses are influenced by health status and awakening time but not by menstrual cycle phase. *Psychoneuroendocrinology*, 28:35-47.

- Kume, K, Zylka, M J, Sriram, S, Shearman, L P, Weaver, D R, Jin, X, Maywood, E S, Hastings, M H, & Reppert, S M (1999). mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell*, 98:193-205.
- Kunz-Ebrecht, S R, Kirschbaum, C, Marmot, M, & Steptoe, A (2004). Differences in cortisol awakening response on work days and weekends in women and men from the Whitehall II cohort. *Psychoneuroendocrinology*, 29:516-528.
- Kupfer, D J, Reynolds, C F I, Ulrich, R F, Shaw, D H, & Coble, P A (1982). EEG sleep, depression, and aging. *Neurobiology of Aging*, 3:351-360.
- Kushida, C A, Chang, A M, Gadkary, C, Guilleminault, C, Carrillo, O, & Dement, W C (2001). Comparison of actigraphic, polysomnographic, and subjective assessment of sleep parameters in sleep-disordered patients. *Sleep Medicine*, 2:389-396.
- Kyle, U G, Bosaeus, I, De Lorenzo, A D, Deurenberg, P, Elia, M, Gómez, J M, Heitmann, B L, Kent-Smith, L, Melchior, J C, Pirlich, M, Scharfetter, H, Schols, A M W J, & Pichard, C (2004). Bioelectrical impedance analysis - part I: review of principles and methods. *Clinical Nutrition*, 23(5):1226-1243.
- Landgraf, D, Shostak, A, & Oster, H (2011). Clock genes and sleep. *Pflügers Archiv*.
- Landi, F, Onder, G, Carpenter, I, Cesari, M, Soldato, M, & Bernabei, R (2007). Physical activity prevented functional decline among frail community-living elderly subjects in an international observational study. *Journal of Clinical Epidemiology*, 60:518-524.
- Lauderdale, D S, Knutson, K L, Rathouz, P J, Yan, L L, Hulley, S B, & Liu, K (2009). Cross-sectional and longitudinal associations between objectively measured sleep duration and body mass index. The CARDIA sleep study. *American Journal of Epidemiology*, 170(7):805-813.
- Lauderdale, D S, Knutson, K L, Yan, L L, Rathouz, P J, Hulley, S B, Sidney, S, & Liu, K (2006). Objectively measured sleep characteristics among early-middle-aged adults. *American Journal of Epidemiology*, 164(1):5-16.
- Lee, L G, Connell, C R, & Bloch, W (1993). Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes. *Nucleic Acids Research*, 21(16):3761-3766.
- Leibetseder, V, Humpeler, S, Svoboda, M, Schmid, D, Thalhammer, T, Zuckermann, A, Marktl, W, & Ekmekcioglu, C (2009). Clock genes display rhythmic expression in human hearts. *Chronobiology International*, 26(4):621-636.
- Liao, W C, Landis, C A, Lentz, M J, & Chiu, M J (2005). Effect of foot bathing on distal-proximal skin temperature gradient in elders. *International Journal of Nursing Studies*, 42:717-722.
- Lichstein, K L, Stone, K C, Donaldson, J, Nau, S D, Soeffing, J P, Murray, D, Lester, K W, & Aguillard, R N (2006). Actigraphy validation with insomnia. *Sleep*, 29(2):232-239.
- Liu, A, Kushida, C A, & Reaven, G M (2012). Risk for obstructive sleep apnea in obese, nondiabetic adults varies with insulin resistance status. *Sleep Breath*, Published online!
- Lockley, S W, Skene, D J, & Arendt, J (1999). Comparison between subjective and actigraphic measurement of sleep and sleep rhythms. *Journal of Sleep Research*, 8:175-183.
- Lötjönen, J, Korhonen, I, Hirvonen, K, Eskelinen, S, Myllymäki, M, & Partinen, M (2003). Automatic sleep-wake and nap analysis with a new wrist worn online activity monitoring device Vivago WristCare. *Sleep*, 26(1):86-90.
- Lottspeich, F, & Engels, J W (2006). *Bioanalytik. 2. Auflage*. München: Elsevier GmbH, 1119 S.
- Lupien, S, Lecours, A R, Schwartz, G, Sharma, S, Hauger, R L, Meany, M J, & Nair, N P V (1996). Longitudinal study of basal cortisol levels in healthy elderly subjects: evidence for subgroups. *Neurobiology of Aging*, 17(1):95-105.
- Martin, J L, & Hakim, A D (2011). Wrist actigraphy. *Chest*, 139(6):1514-1527.
- Mauritz, R P, Mouritzen, P, Pfundheller, H M, Tolstrup, N, & Lomholt, C (2005). Universal ProbeLibrary Set: One Transcriptome - One Kit. *Biochemica*, 2:22-24.
- McClung, C A (2007). Circadian genes, rhythms and the biology of mood disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, 114:222-232.
- McEwen, B S (1988). Glucocorticoid receptors in the brain. *Hospital Practice*, 23:107-111.

- McGinty, D, & Szymusiak, R (2001). Brain structures and mechanisms involved in the generation of NREM sleep: focus on the preoptic hypothalamus. *Sleep Medicine Reviews*, 5(4):323-342.
- Meltzer, L J, Walsh, C M, Traylor, J, & Westin, A M L (2012). Direct comparison of two new actigraphs and polysomnography in children and adolescents. *Sleep*, 35(1):159-166.
- Middelkoop, H A M, Smilde-van den Doel, D A, Knuistingh Neven, A, Kamphuisen, H A C, & Springer, C P (1996). Subjective sleep characteristics of 1,485 males and females aged 50-93: effects of sex and age, and factors related to self-evaluated quality of sleep. *Journal of Pharmacological Sciences*, 103:144-149.
- Mongrain, V, Lavoie, S, Selmaoui, B, Paquet, J, & Dumont, M (2004). Phase relationships between sleep-wake cycle and underlying circadian rhythms in morningness-eveningness. *Journal of Biological Rhythms*, 19(3):248-257.
- Monk, T H (2005). Aging human circadian rhythms: conventional wisdom may not always be right. *Journal of Biological Rhythms*, 20(4):366-374.
- Monk, T H, Buysse, D J, Reynolds III, C F, Kupeer, J, & Houck, P R (1995). Circadian temperature rhythms of older people. *Experimental Gerontology*, 30(5):455-474.
- Monk, T H, & Kupfer, D J (2000). Circadian rhythms in healthy aging - effects downstream from the pacemaker. *Chronobiology International*, 17(3):355-368.
- Monroe, L J (1967). Psychological and physiological differences between good and poor sleepers. *Journal of Abnormal Psychology*, 72(3):255-264.
- Moore, R Y, & Eichler, V B (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42:201-206.
- Moore, R Y, & Lenn, N J (1972). A retinohypothalamic projection in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 146(1):1-14.
- Morita, T, & Tokura, H (1996). Effects of lights of different color temperature on the nocturnal changes in core temperature and melatonin in humans. *Applied Human Science*, 15(5):243-246.
- Mülhardt, C (2009). *Der Experimentator: Molekularbiologie/Genomics. 6. Auflage*. Heidelberg: Springer Akademischer Verlag, 316 S.
- Mullaney, D J, Kripke, D F, & Fleck, P A (1983). Sleep loss and nap effects on sustained continuous performance. *Psychophysiology*, 20(6):643-651.
- Müller, M J (2006). *Ernährungsmedizinische Praxis*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 453 S.
- Mullis, K B, & Faloona, F A (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155:335-350.
- Münch, M, Cajochen, C, & Wirz-Justice, A (2005b). Schlaf und zirkadiane Rhythmik im Alter. *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie*, 38(Suppl 1/21-1/23).
- Münch, M, Knoblauch, V, Blatter, K, Schröder, C, Schnitzler, C, Kräuchi, K, Wirz-Justice, A, & Cajochen, C (2005a). Age-related attenuation of the evening circadian arousal signal in humans. *Neurobiology of Aging*, 26:1307-1319.
- Murphy, S L (2009). Review of physical activity measurement using accelerometers in older adults: considerations for research design and conduct. *Preventive Medicine*, 48:108-114.
- Muzet, A, Libert, J P, & Candas, V (1984). Ambient temperature and human sleep. *Experientia*, 40:425-429.
- Myers, B L, & Badia, P (1995). Changes in circadian rhythms and sleep quality with aging: mechanisms and interventions. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 19(4):553-571.
- Nader, N, Chrousos, G P, & Kino, T (2010). Interactions of the circadian CLOCK system and the HPA axis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 21(5):277-286.
- O'Connor, P J, & Youngstedt, S D (1995). Influence of exercise on human sleep. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 23:105-134.
- Ohayon, M M, Carskadon, M A, Guilleminault, C, & Vitiello, M V (2004). Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*, 27(7):1255-1273.

Literaturverzeichnis

- Ohayon, M M, Zulley, J, Guilleminault, C, Smirne, S, & Priest, R G (2001). How age and daytime activities are related to insomnia in the general population: consequences for older people. *Journal of the American Geriatrics Society*, 49(4):360-366.
- Ohdo, S, Koyanagi, S, & Matsunaga, N (2010). Chronopharmacological strategies: Intra- and inter-individual variability of molecular clock. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62:885-897.
- Okamura, H (2004). Clock genes in cell clocks: roles, action, and mysteries. *Journal of Biological Rhythms*, 19(5):388-399.
- Okamura, H, Miyake, S, Sumi, Y, Yamaguchi, S, Yasui, A, Muijtjens, M, Hoeijmakers, J H J, & Van der Horst, G T J (1999). Photic induction of *mPer1* and *mPer2* in *Cry*-deficient mice lacking a biological clock. *Science*, 286:2531-2534.
- Olbrich, D (2010). *Chronobiologische Markersysteme im Rahmen menschlicher Alternsprozesse : Untersuchung zur Veränderung der circadianen Rhythmik von Uhrengen-Expression, Hormonsynthese und Körperkerntemperatur sowie deren Interaktionen*. Dissertation, Fachbereich Biologie, Christian-Albrechts-Universität, Kiel, 236 S.
- Olbrich, D, & Dittmar, M (2012). The cortisol awakening response is related with PERIOD1 clock gene expression in older women. *Experimental Gerontology*, 47:527-533.
- Östberg, O (1973). Interindividual differences in circadian fatigue patterns of shift workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 30:341-351.
- Oster, H, Damerow, S, Kiessling, S, Jakubcakova, V, Abraham, D, Tian, J, Hoffmann, M W, & Eichele, G (2006). The circadian rhythm of glucocorticoids is regulated by a gating mechanism residing in the adrenal cortical clock. *Cell Metabolism*, 4:163-173.
- Owen, D C, Parker, K P, & McGuire, D B (1999). Comparison of subjective sleep quality in patients with cancer and healthy subjects. *Oncology Nursing Forum*, 26(10):1649-1651.
- Paine, S J, Gander, P H, & Travier, N (2006). The Epidemiology of Morningness/Eveningness: Influence of Age, Gender, Ethnicity, and Socioeconomic Factors in Adults (30-49 Years). *Journal of Biological Rhythms*, 21(1):68-76.
- Palmer, C D, & Harrison, G A (1980). Association between smoking and drinking and sleep duration. *Annals of Human Biology*, 7(2):103-107.
- Panda, S, Antoch, M P, Miller, B H, Su, A I, Schook, A B, Straume, M, Schultz, P G, Kay, S A, Takahashi, J S, & Hogenesch, J B (2002). Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, 109:307-320.
- Panda, S, & Hogenesch, J B (2004). It's all in the timing: many clocks, many outputs. *Journal of Biological Rhythms*, 19(5):374-387.
- Persson, R, Garde, A H, Hansen, Å M, Österberg, K, Larsson, B, Ørbæk, P, & Karlson, B (2008). Seasonal variation in human salivary cortisol concentration. *Chronobiology International*, 25(6):923-937.
- Pesonen, A K, Räikkönen, K, Matthews, K, Heinonen, K, Paavonen, J E, Lahti, J, Komsu, N, Lemola, S, Järvenpää, A L, Kajantie, E, & Strandberg, T (2009). Prenatal origins of poor sleep in children. *Sleep*, 32(8):1086-1192.
- Pesonen, A K, Sjösten, N M, Matthews, K A, Heinonen, K, Martikainen, S, Kajantie, E, Tammelin, T, Eriksson, J G, Strandberg, T, & Räikkönen, K (2011). Temporal associations between daytime physical activity and sleep in children. *PLoS ONE*, 6(8):e22958.
- Pilcher, J J, Ginter, D R, & Sadowsky, B (1997). Sleep quality versus sleep quantity: relationships between sleep and measures of health, well-being and sleepiness in college students. *Journal of Psychosomatic Research*, 42(6):583-596.
- Pinel, J P J (1997). *Biopsychologie. Eine Einführung*. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag GmbH.
- Pittendrigh, C S (1961). On temporal organisation in living systems. *The Harvey Lectures*, 56:93-125.
- Pittendrigh, C S (1966). The circadian oscillation in *Drosophila pseudoobscura* pupae: A model for the photoperiodic clock. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 54:275-307.

Literaturverzeichnis

- Poehlman, E (1994). Endurance exercise in aging humans: effects on energy metabolism. In: J. O. Holloszy & M. D. Baltimore (Eds.), *Exercise and Sports Science Reviews*: Williams and Wilkins, S. 251-284.
- Prinz, P (1995). Sleep and sleep disorders in older adults. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 12(2):139-146.
- Prinz, P, Bailey, S, Moe, K, Wilkinson, C, & Scanlan, J (2001). Urinary free cortisol and sleep under baseline and stressed conditions in healthy senior women: effects of estrogen replacement therapy. *Journal of Sleep Research*, 10:19-26.
- Prinz, P N, Bailey, S L, & Woods, D L (2000). Sleep impairments in healthy seniors: roles of stress, cortisol, and interleukin-1 beta. *Chronobiology International*, 17(3):391-404.
- Pruessner, J C, Wolf, O T, Hellhammer, D H, Buske-Kirschbaum, A, von Auer, K, Jobst, S, Kaspers, F, & Kirschbaum, C (1997). Free cortisol levels after awakening: a reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. *Life Sciences*, 61:2539-2549.
- Rajaratnam, S M W, & Arendt, J (2001). Health in a 24-h society. *Lancet*, 358:999-1005.
- Ralph, M R, & Menaker, M (1988). A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science*, 241(4870):1225-1227.
- Raymann, R J E M, Swaab, D F, & Van Someren, E J W (2005). Cutaneous warming promotes sleep onset. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288:R1589-R1597.
- Raymann, R J E M, Swaab, D F, & Van Someren, E J W (2007). Skin temperature and sleep-onset latency: Changes with age and insomnia. *Physiology & Behavior*, 90:257-266.
- Raymann, R J E M, Swaab, D F, & Van Someren, E J W (2008). Skin deep: enhanced sleep depth by cutaneous temperature manipulation. *Brain*, 131:500-513.
- Recordati, G (2003). A thermodynamic model of the sympathetic and parasympathetic nervous system. *Autonomic Neuroscience*, 103:1-12.
- Reddy, A B, Maywood, E S, Karp, N A, King, V M, Inoue, Y, Gonzalez, F J, Lilley, K S, Kyriacou, C P, & Hastings, M H (2007). Glucocorticoid signaling synchronizes the liver circadian transcriptome. *Hepatology*, 45.
- Refinetti, R, & Menaker, M (1992). The circadian rhythm of body temperature. *Physiology & Behavior*, 51(3):613-637.
- Reid, K, & Dawson, D (1999). Correlation between wrist activity monitor and electrophysiological measures of sleep in a simulated shiftwork environment for younger and older subjects. *Sleep*, 52(2):157-159.
- Reppert, S M, & Weaver, D R (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annual Review of Physiology*, 63:647-676.
- Reppert, S M, & Weaver, D R (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418:935-941.
- Resta, O, Foschino Barbaro, M P, Bonfitto, P, Giliberti, T, Depalo, A, Pannacciulli, N, & De Pergola, G (2003). Low sleep quality and daytime sleepiness in obese patients without obstructive sleep apnoea syndrome. *Journal of Internal Medicine*, 253:536-543.
- Richardson, G S, Carskadon, M A, Orav, E J, & Dement, W C (1982). Circadian variation of sleep tendency in elderly and young subjects. *Sleep*, 5:S82-S94.
- Riva, R, Mork, P J, Westgaard, R H, & Lundberg, U (2012). Comparison of the cortisol awakening response in women with shoulder and neck pain and women with fibromyalgia. *Psychoneuroendocrinology*, 37(299-306).
- Roenneberg, T, Daan, S, & Mrosovsky, M (2003b). The art of entrainment. *Journal of Biological Rhythms*, 18:183-194.
- Roenneberg, T, Wirz-Justice, A, & Mrosovsky, M (2003a). Life between Clocks: Daily Temporal Patterns of Human Chronotypes. *Journal of Biological Rhythms*, 18(1):80-90.
- Rusak, B, Robertson, H A, Wisden, W, & Hunt, S P (1990). Light pulses that shift rhythms induce gene expression in the suprachiasmatic nucleus. *Science*, 248:1237-1240.

Literaturverzeichnis

- Rutkove, S B, Veves, A, Mitsa, T, Nie, R, Forgerson, P M, Garmirian, L P, & Nardin, R A (2009). Impaired distal thermoregulation in diabetes and diabetic polyneuropathy. *Diabetes Care*, 32(4):671–676.
- Sapolsky, R M (1999). Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging. *Experimental Gerontology*, 34:721-732.
- Sapolsky, R M, Krey, L C, & McEwen, B S (1986). The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocrine Reviews*, 7(3):284-301.
- Sarabia, J A, Rol, M A, Mendiola, P, & Madrid, J A (2008). Circadian rhythm of wrist temperature in normal-living subjects. A candidate of new index of the circadian system. *Physiology & Behavior*, 95:570-580.
- Satinoff, E, Li, H, Tchong, T K, Liu, C, McArthur, A J, Medanic, M, & Gillette, M U (1993). Do the suprachiasmatic nuclei oscillate in old rats as they do in young ones? *American Journal of Physiology*, 265:R1216-R1222.
- Schandry, R (1989). *Lehrbuch der Psychophysiologie. Körperliche Indikatoren psychischen Geschehens. 2. Auflage*. Weinheim: Psychologie Verlags Union München.
- Schandry, R (2003). *Biologische Psychologie*: Beltz Verlag, Weinheim, Basel, Berlin.
- Scheer, F, & Buijs, R M (1999). Light affects morning salivary cortisol in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84:3395-3398.
- Schernhammer, E S, Laden, F, Speizer, F E, Willett, W C, Hunter, D J, Kawachi, I, & Colditz, G A (2001). Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the Nurses' Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(20):1563-1568.
- Schultes, B, & Fehm, H L (2004). Zirkadiane Rhythmen in der Endokrinologie. *Internist*, 45:983-993.
- Sharma, M, Palacios-Bois, J, Schwartz, G, Iskandar, H, Thakur, M, Quirion, R, & Nair, N P V (1989). Circadian rhythms of melatonin and cortisol in aging. *Biological Psychiatry*, 25:305-319.
- Sherrill, D L, Kotchou, K, & Quan, S F (1998). Association of physical activity and human sleep disorders. *Archives of International Medicine*, 158(17):1894-1898.
- Shirtcliff, E A, Granger, D A, Schwartz, E, & Curran, M J (2001). Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology*, 26(2):165-173.
- Siegel, J M (2005). Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature*, 437:1264-1271.
- Silverthorn, D U (2009). *Physiologie. 4. Auflage*. München: Pearson Education Deutschland GmbH, 1357 S.
- Simpson, S, & Galbraith, J J (1905). An investigation into the diurnal variation of the body temperature of nocturnal and other birds and a few mammals. *The Journal of Physiology*, 33:225-238.
- Singh, N A, Clemens, K M, & Fiatarone, M A (1997). Sleep, sleep deprivation, and daytime activities. A randomized controlled trial of the effect of exercise on sleep. *Sleep*, 20(2):95-101.
- Storch, K F, Lipan, O, Leykin, I, Viswanathan, N, Davis, F C, Wong, W H, & Weitz, C J (2002). Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature*, 417:78-83.
- Straub, R H, & Cutolo, M (2007). Circadian rhythms in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 56(2):399-408.
- Sukumaran, S, Almon, R R, DuBois, D C, & Jusko, W J (2011). Circadian rhythms in gene expression: relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(9-10):904-917.
- Sung, E J, & Tochihara, Y (2000). Effects of bathing and hot footbath on sleep in winter. *Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science*, 19(1):21-27.
- Swaab, D F, Fliers, E, & Partiman, T S (1985). The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia *Brain Research*, 342:37-44.
- Taillard, J, Philip, P, & Bioulac, B (1999). Morningness/eveningness and the need for sleep. *Journal of Sleep Research*, 8:291-295.

- Taillard, J, Philip, P, Chastang, J F, & Bioulac, B (2004). Validation of Horne and Ostberg Morningness-Eveningness Questionnaire in a middle-aged population of french workers. *Journal of Biological Rhythms*, 19:76-86.
- Takahashi, J S (1995). Molecular neurobiology and genetics of circadian rhythms in mammals. *Annual Review of Neuroscience*, 18:531-553.
- Takahashi, J S, Murakami, N, Nikaido, S S, Pratt, B L, & Robertson, L M (1989). The avian pineal, a vertebrate model system of the circadian oscillator: cellular regulation of circadian rhythms by light, second messengers, and macromolecular synthesis. *Recent Progress in Hormone Research*, 45:279-352.
- Theorell, T (2003). Editorial: biological stress markers and misconceptions about them. *Stress and Health*, 19(59-60).
- Touitou, Y, & Haus, E (2000). Alterations with aging of the endocrine and neuroendocrine circadian system in humans. *Chronobiology International*, 17(3):369-390.
- Troxel, W M, Robles, T F, Hall, M, & Buysse, D J (2007). Marital quality and the marital bed: examining the covariation between relationship quality and sleep. *Sleep Medicine Reviews*, 11:389-404.
- Tsinkalovsky, O, Smaaland, R, Rosenlund, B, Sothorn, R B, Hirt, A, Steine, S, Badiie, A, Abrahamsen, J F, Eiken, H G, & Laerum, O D (2007). Circadian variations in clock gene expression of human bone marrow CD34+ cells. *Journal of Biological Rhythms*, 22:140-150.
- Turek, F W, Penev, P, Zhang, Y, van Reeth, O, & Zee, P (1995). Effects of age on the circadian system. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 19(1):53-58.
- Underwood, H (1990). The pineal and melatonin: regulators of circadian function in lower vertebrates *Experientia*, 46:120-128.
- Van Cauter, E, Leproult, R, & Kupfer, D J (1996). Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81(7):2468-2473.
- van de Wouw, E, Evenhuis, H M, & Echteld, M A (2013). Comparison of two types of Actiwatch with polysomnography in older adults with intellectual disability: a pilot study. *Journal of Intellectual and Developmental Disability*, 38(3):265-273.
- van den Heuvel, C J, Noone, J T, Lushington, K, & Dawson, D (1998). Changes in sleepiness and body temperature precede nocturnal sleep onset: evidence from a polysomnographic study in young men. *Journal of Sleep Research*, 7:159-166.
- van der Horst, G T J, Muijtjens, M, Kobayashi, K, Takano, R, Kanno, S, Takao, M, de Wit, J, Verkerk, A, Eker, A P M, van Leenen, D, Buijs, R, Bootsma, D, Hoeijmakers, J H J, & Yasui, A (1999). Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. *Nature*, 398:627-230.
- van Marken Lichtenbelt, W D, Daanen, H A M, Wouters, L, Fronczek, R, Raymann, R J E M, Severens, N M W, & Van Someren, E J W (2006). Evaluation of wireless determination of skin temperature using iButtons. *Physiology & Behavior*, 88:489-497.
- Van Someren, E J W (2000a). More than a marker: interaction between the circadian regulation of temperature and sleep, age-related changes and treatment possibilities. *Chronobiology International*, 17(3):313-354.
- Van Someren, E J W (2000b). Circadian rhythms and sleep in human aging. *Chronobiology International*, 17(3):233-243.
- Van Someren, E J W (2007). Improving actigraphic sleep estimates in insomnia and dementia: how many nights? *Journal of Sleep Research*, 16(269-275).
- Vitaterna, M H, King, D P, Chang, A M, Kornhauser, J M, Lowrey, P L, McDonald, J D, Dove, W F, Pinto, L H, Turek, F W, & Takahashi, J S (1994). Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science*, 264(5159):719-725.
- Vitaterna, M H, Selby, C P, Todo, T, Niwa, H, Thompson, C, Fruechte, E M, Hitomi, K, Thresher, R J, Ishikawa, T, Miyazaki, J, Takahashi, J S, & Sancar, A (1999). Differential regulation of

Literaturverzeichnis

- mammalian *Period* genes and circadian rhythmicity by cryptochromes 1 and 2. *PNAS*, 96(2):12114-12119.
- Vitiello, M V, Larsen, L H, Moe, K E, Borson, S, Schwartz, R S, & Prinz, P N (1996). Objective sleep quality of healthy older men and women is differentially disrupted by nighttime periodic blood sampling via indwelling catheter. *Sleep*, 19(4):304-311.
- Vitiello, M V, Smallwood, R G, Avery, D H, Pascualy, R A, Martin, D C, & Prinz, P A (1986). Circadian temperature rhythms in young adult and aged men. *Neurobiology of Aging*, 7:97-100.
- Vollenweider, S, Wirz-Justice, A, Flammer, J, Orgül, S, & Kräuchi, K (2008). Chronobiological characterization of women with primary vasospastic syndrome: body heat loss capacity in relation to sleep initiation and phase of entrainment. *American Journal of Physiology*, 294:R630-R638.
- Wakamatsu, H, Takahashi, S, Moriya, T, Inouye, S T, Okamura, H, Akiyama, M, & Shibata, S (2001). Additive effect of *mPer1* and *mPer2* antisense oligonucleotides on light-induced phase shift. *Neuroreport*, 12:127-131.
- Watanabe, A, Shibata, S, & Watanabe, S (1995). Circadian rhythm of spontaneous neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of old hamster in vitro. *Brain Research*, 695:237-239.
- Waterhouse, J, Fukuda, Y, & Morita, T (2012). Daily rhythms of the sleep-wake-cycle. *Journal of Physical Anthropology*, 31(5).
- Weaver, D R (1998). The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective. *Journal of Biological Rhythms*, 13(2):100-112.
- Webb, W B, & Agnew, J H W (1971). Stage 4 sleep: influence of time course variables. *Science*, 174:1354-1356.
- Weinert, D (2010). Circadian temperature variation and ageing. *Ageing Research Reviews*, 9:51-60.
- Weitzman, E D, Fukushima, D, Nogeire, C, Roffwarg, H, Gallaghe, T F, & Hellman, L (1971). 24 hour pattern of episodic secretion of cortisol in normal subjects. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 33(1):14-22.
- Weitzman, E D, Moline, M L, Czeisler, C A, & Zimmerman, J C (1982). Chronobiology of aging: temperature, sleep-wake rhythms and entrainment. *Neurobiology of Aging*, 3:299-309.
- Wilhelm, I, Born, J, Kudielka, B M, Schlotz, W, & Wüst, S (2007). Is the cortisol awakening rise a response to awakening? *Psychoneuroendocrinology*, 32:358-366.
- Wright Jr., K P, Badia, P, Myers, B L, Plenzler, S C, & Hakel, M (1997). Caffeine and light effects on nighttime melatonin and temperature levels in sleep-deprived humans. *Brain Research*, 747:78-84.
- Wüst, S, Federenko, I, Hellhammer, D H, & Kirschbaum, C (2000a). Genetic factors, perceived chronic stress, and the free cortisol response to awakening. *Psychoneuroendocrinology*, 25:707-720.
- Wüst, S, Wolf, J, Hellhammer, D H, Federenko, I, Schommer, N, & Kirschbaum, C (2000b). The cortisol awakening response - normal values and confounds. *Noise Health*, 7:77-85.
- Yamazaki, S, Straume, M, Tei, H, Sakaki, Y, Menaker, M, & Block, G D (2002). Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks. *PNAS*, 99(16):10801-10806.
- Yu, E A, & Weaver, D R (2011). Disrupting the circadian clock: gene-specific effects on aging, cancer, and other phenotypes. *Ageing*, 3(5):479-493.
- Zambon, A C, McDearmon, E L, Salomonis, N, Vranizan, K M, Johansen, K L, Adey, D, Takahashi, J S, Schambelan, M, & Conklin, B R (2003). Time- and exercise-dependent gene regulation in human skeletal muscle. *Genome Biology*, 4:R61.
- Zammit, G K, Weiner, J, Damato, N, Sillup, G P, & McMillan, C A (1999). Quality of life in people with insomnia. *Sleep*, 22(suppl):S343-S412.
- Zavada, A, Gordijn, M C M, Beersma, D G M, Daan, S, & Roenneberg, T (2005). Comparison of the Munich Chronotype Questionnaire with the Horne-Östberg's Morningness-Eveningness Score. *Chronobiology International*, 22(2):267-278.
- Zepelin, H, & McDonald, C S (1987). Age differences in autonomic variables during sleep. *Journal of Gerontology*, 42(2):142-146.

Literaturverzeichnis

- Zhang, B, & Wing, Y (2006). Sex differences in insomnia: a meta-analysis. *Sleep*, 29(1):85-93.
- Zhang, Y, Brainard, G C, Zee, P C, Pinto, L H, Takahashi, J S, & Turek, F W (1998). Effects of aging on lens transmittance and retinal input to the suprachiasmatic nucleus in golden hamsters. *Neuroscience Letters*, 258:167-170.
- Zieker, D, Jenne, I, Koenigsrainer, I, Zdichavsky, M, Nieselt, K, Buck, K, Zieker, J, Beckert, S, J., G, Spanagel, R, Koenigsrainer, A, Northoff, H, & Loeffler, M (2010). Circadian expression of clock- and tumor suppressor genes in human oral mucosa. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 26:155-166.
- Zulley, J, Wever, R, & Aschoff, J (1981). The dependence of onset and duration of sleep on the circadian rhythm of rectal temperature *Pflügers Archiv*, 391:314-318.

Bedienungsanleitungen/Manuals

Actiware and Actiware CT Software and Hardware Manual

Actiwatch Spectrum & Actiwatch2 Wearer Guide

FastStart Taq DNA Polymerase Manual

Handbuch QUISI® Recorder und Software Version 2.0

LightCycler Operator's Manual Version 3.5

LightCycler TaqMan Master Manual

Salivette® Hygienic saliva collection for diagnostics and monitoring (Manual)

Technical Note LightCycler

Transcriptor First strand cDNA Synthesis Kit Manual

Internet-Ressourcen/elektronische Quellen

URL1:

<http://humanityhealing.net/2010/09/pineal-gland-the-transcendental-gateway/>

URL2:

<http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/cortisol/15438>, Stand: 21.10.2014, 08:30 Uhr

URL3:

http://www.data-input.de/media/pdf-deutsch/Kompodium_III_Ausgabe_2009.pdf, Stand: 08.07.2012, 10:00 Uhr

URL4:

http://www.brainclinics.com/dynamic/media/1/images/producten/Actiwatch_fotos/actiwatch_resp.jpg, Stand: 20.06.2014, 08:00 Uhr

URL5:

www.axon-gmbh.de/q-techndaten.htm, Stand: 20.01.2015, 10:30 Uhr

URL6:

<http://www.axon-gmbh.de/files/Produkt%20Quisi.pdf>, Stand: 20.01.2015, 10:30 Uhr

Literaturverzeichnis

URL7:

<http://www.embeddeddatasystems.com/zoomify.asp?catalogid=5&image=assets/images/group-f5.jpg>,

Stand: 30.06.2014, 16:00 Uhr

URL8:

http://www.google.de/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fd2gg9evh47fn9z.cloudfront.net%2Fthumb_COLOURBOX6321879.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.colourbox.de%2Fvektor%2Fvektor6024813&h=295&w=320&tbnid=rPc87YdLNOIisM%3A&zoom=1&docid=cLixjCLDrVVPoM&ei=bg1vVYewHPcywONg4O4DA&tbnm=isch&iact=rc&uact=3&dur=1631&page=1&start=0&ndsp=33&ved=0CEEQrQMwBA

URL9:

<http://poolux.psychopool.tu-dresden.de/schlafstudie/untersu.htm>, Stand: 20.02.2012, 15:00 Uhr

URL10:

https://lifescience.roche.com/wcsstore/RASCatalogAssetStore/Articles/12115972001_10.11.pdf

URL11:

www.universalprobelibrary.com

11 Anhang

A1 Probandeninformation (verkleinert)

Der Anhang A1 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A2 Einverständniserklärung (verkleinert)

Der Anhang A2 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A3 Probandenanleitung (verkleinert)

Der Anhang A3 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A4 Allgemeiner Fragebogen (verkleinert)

Der Anhang A4 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A5 Pittsburgh-Sleep-Quality-Index (PSQI) (verkleinert)

Der Anhang A5 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A6 Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) (deutsche validierte Version, D-MEQ) (verkleinert)

Der Anhang A6 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A7 Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ) (verkleinert)

Der Anhang A7 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A8 Freiburger Fragebogen (verkleinert)

Der Anhang A8 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A9 Eppworth Sleepiness Scale (ESS) (verkleinert)

Der Anhang A9 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A10 DGSM-Schlafstagebuch und Tagesprotokoll (verkleinert)

Der Anhang A10 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A11 Primerliste

Der Anhang A11 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A12 Genarbeitsblatt für *h36B4*

Der Anhang A12 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A13 Genarbeitsblatt für *hBMALI*

Der Anhang A13 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A14 Genarbeitsblatt für *hPERI*

Der Anhang A14 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A15 Genarbeitsblatt für *hCRYI*

Der Anhang A15 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang (A1 bis A15).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A16 Tabellen zur Normalverteilung

Anhang A16 befindet sich in der Datei „Elektronischer Anhang A16.xlsx“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A17 Mittelwerte und Standardabweichungen Rhythmus-Variablen der peripheren Hauttemperatur

Mittelwerte und Standardabweichungen der Rhythmus-Variablen der peripheren Hauttemperatur über 7 Tage.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Nachtmittel Hand (°C)	12	34,58	0,41	22	34,08	0,44	9	34,04	0,34	13	34,12	0,50
Mesor Hand (°C)	12	33,33	0,41	22	33,17	0,54	9	33,23	0,57	13	33,13	0,54
Amplitude bei 24 Std. Hand (°C)	12	1,35	0,51	22	1,03	0,53	9	0,90	0,41	13	1,12	0,60
Akrophase bei 24 Std. Hand (Uhrzeit)	12	03:07	59,85 ^a	22	02:11	69,77 ^a	9	02:01	84,78 ^a	13	02:18	60,02 ^a
Nachtmittel Fuß (°C)	13	34,43	0,45	23	33,80	0,52	9	33,81	0,43	14	33,79	0,59
Mesor Fuß (°C)	13	32,14	0,98	23	32,10	0,61	9	31,96	0,81	14	32,19	0,45
Amplitude bei 24 Std. Fuß (°C)	13	2,41	1,17	23	1,67	0,62	9	1,80	0,66	14	1,58	0,60
Akrophase bei 24 Std. Fuß (Uhrzeit)	13	04:03	54,11 ^a	23	02:49	97,74 ^a	9	02:48	94,88 ^a	14	02:49	103,08 ^a
Nachtmittel OS (°C)	13	34,74	0,47	23	34,34	0,43	9	34,16	0,45	14	34,45	0,38
Mesor OS (°C)	13	32,44	0,66	23	32,14	0,65	9	31,96	0,53	14	32,26	0,71
Amplitude bei 24 Std. OS (°C)	13	2,44	0,91	23	2,11	0,59	9	2,13	0,41	14	2,10	0,70
Akrophase bei 24 Std. OS (Uhrzeit)	13	02:56	49,72 ^a	23	02:35	65,13 ^a	9	02:42	77,13 ^a	14	02:30	58,74 ^a

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, OS = Oberschenkel, ^aSD in Minuten

A18 Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt

Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt unter natürlichen Bedingungen.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Temp. Hand -60 min (°C)	12	32,78	1,20	16	33,54	0,85	6	33,13	0,59	10	33,79	0,91
Temp. Hand -50 min (°C)	12	32,92	1,39	16	33,52	0,90	6	33,19	0,80	10	33,71	0,94
Temp. Hand -40 min (°C)	12	32,98	1,37	16	33,77	0,95	6	33,63	0,83	10	33,85	1,05
Temp. Hand -30 min (°C)	12	32,70	1,19	16	33,63	1,12	6	33,50	0,93	10	33,70	1,27
Temp. Hand -20 min (°C)	12	32,63	1,25	16	33,52	1,11	6	33,54	0,85	10	33,51	1,28
Temp. Hand -10 min (°C)	12	32,52	1,22	16	33,57	0,95	6	33,69	0,78	10	33,50	1,08
Temp. Hand Zubettgehzeit (°C)	12	32,46	1,10	16	33,32	1,12	6	33,40	1,02	10	33,28	1,22
Temp. Hand +10 min (°C)	12	32,73	1,28	16	33,56	1,11	6	33,92	0,66	10	33,35	1,30
Temp. Hand +20 min (°C)	12	33,31	0,98	16	33,80	0,88	6	34,08	0,61	10	33,64	1,00
Temp. Hand +30 min (°C)	12	33,80	0,79	16	33,95	1,03	6	34,23	0,91	10	33,79	1,11
Temp. Fuß -60 min (°C)	13	30,43	1,84	17	31,32	2,05	6	31,04	0,72	11	31,47	2,53
Temp. Fuß -50 min (°C)	13	30,59	2,07	17	31,51	1,93	6	31,50	1,03	11	31,52	2,33
Temp. Fuß -40 min (°C)	13	30,65	2,03	17	31,79	1,54	6	31,54	0,64	11	31,93	1,88
Temp. Fuß -30 min (°C)	13	30,71	2,11	17	31,70	1,46	6	31,02	1,13	11	32,07	1,53
Temp. Fuß -20 min (°C)	13	30,58	2,02	17	31,70	1,68	6	31,31	1,13	11	31,91	1,94
Temp. Fuß -10 min (°C)	13	30,51	2,02	17	31,77	1,90	6	31,54	1,17	11	31,90	2,25
Temp. Fuß Zubettgehzeit (°C)	13	30,75	1,91	17	31,89	1,75	6	31,54	1,22	11	32,08	2,01
Temp. Fuß +10 min (°C)	13	31,40	2,10	17	32,37	1,77	6	32,06	1,51	11	32,53	1,94
Temp. Fuß +20 min (°C)	13	31,94	2,25	17	32,85	1,55	6	32,48	1,46	11	33,05	1,64
Temp. Fuß +30 min (°C)	13	32,40	2,11	17	33,21	1,44	6	33,04	1,36	11	33,31	1,54
Temp. OS -60 min (°C)	13	31,31	1,88	17	32,38	1,55	6	32,52	1,34	11	32,30	1,71
Temp. OS -50 min (°C)	13	31,23	1,92	17	32,50	1,41	6	32,90	0,95	11	32,28	1,61
Temp. OS -40 min (°C)	13	31,25	1,94	17	32,74	1,45	6	32,83	0,67	11	32,69	1,77

Anhang

Temp. OS -30 min (°C)	13	31,37	1,81	17	32,81	1,63	6	32,50	0,90	11	32,98	1,93
Temp. OS -20 min (°C)	13	31,32	1,98	17	32,88	1,78	6	33,04	0,72	11	32,78	2,18
Temp. OS -10 min (°C)	13	30,83	1,70	17	32,91	1,80	6	33,40	0,95	11	32,65	2,13
Temp. OS Zubettgezeit (°C)	13	30,92	1,70	17	33,08	1,64	6	33,29	1,43	11	32,97	1,81
Temp. OS +10 min (°C)	13	31,82	1,51	17	33,71	1,39	6	34,04	1,02	11	33,52	1,56
Temp. OS +20 min (°C)	13	32,64	1,64	17	34,24	1,03	6	34,48	0,77	11	34,10	1,17
Temp. OS +30 min (°C)	13	33,17	1,66	17	34,39	1,09	6	34,71	0,73	11	34,22	1,24
DPG Hand -60 min (°C)	12	1,26	1,55	16	1,22	1,70	6	0,60	1,45	10	1,59	1,80
DPG Hand -50 min (°C)	12	1,54	1,71	16	1,07	1,70	6	0,29	0,99	10	1,54	1,91
DPG Hand -40 min (°C)	12	1,58	1,46	16	1,10	1,71	6	0,79	1,11	10	1,29	2,02
DPG Hand -30 min (°C)	12	1,22	1,66	16	0,92	1,85	6	1,00	1,53	10	0,88	2,10
DPG Hand -20 min (°C)	12	1,19	1,83	16	0,76	1,87	6	0,50	1,40	10	0,91	2,16
DPG Hand -10 min (°C)	12	1,57	1,65	16	0,78	1,62	6	0,29	1,00	10	1,08	1,88
DPG Hand Zubettgezeit (°C)	12	1,35	1,41	16	0,34	1,34	6	0,10	1,37	10	0,48	1,37
DPG Hand +10 min (°C)	12	0,80	1,21	16	-0,08	1,14	6	-0,13	1,09	10	-0,05	1,23
DPG Hand +20 min (°C)	12	0,60	1,31	16	-0,38	1,04	6	-0,40	1,06	10	-0,36	1,09
DPG Hand +30 min (°C)	12	0,57	1,33	16	-0,40	1,12	6	-0,48	1,23	10	-0,35	1,11
DPG Fuß -60 min (°C)	13	-0,88	2,48	17	-1,06	2,45	6	-1,48	1,13	11	-0,83	2,97
DPG Fuß -50 min (°C)	13	-0,65	2,51	17	-0,99	2,29	6	-1,40	0,52	11	-0,76	2,84
DPG Fuß -40 min (°C)	13	-0,61	2,44	17	-0,95	2,01	6	-1,29	0,53	11	-0,76	2,49
DPG Fuß -30 min (°C)	13	-0,65	2,18	17	-1,11	2,01	6	-1,48	1,09	11	-0,91	2,39
DPG Fuß -20 min (°C)	13	-0,74	2,30	17	-1,18	1,88	6	-1,73	0,58	11	-0,88	2,29
DPG Fuß -10 min (°C)	13	-0,32	1,87	17	-1,14	1,76	6	-1,85	0,93	11	-0,75	2,02
DPG Fuß Zubettgezeit (°C)	13	-0,17	1,82	17	-1,19	1,77	6	-1,75	1,06	11	-0,89	2,04
DPG Fuß +10 min (°C)	13	-0,41	1,92	17	-1,34	1,74	6	-1,98	1,13	11	-0,99	1,96
DPG Fuß +20 min (°C)	13	-0,69	2,17	17	-1,39	1,64	6	-2,00	1,46	11	-1,06	1,70
DPG Fuß +30 min (°C)	13	-0,77	2,23	17	-1,18	1,49	6	-1,67	1,45	11	-0,91	1,51

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, DPG = distal-proximaler Gradient, OS = Oberschenkel, Temp. = Temperatur, -60 bis -10 = 60 min vor bis 10 min vor dem Zubettgehen, +10 bis +30 = 10 min nach bis 30 min nach dem Zubettgehen

A19 Vergleich der Mittelwerte der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt

Vergleich der Mittelwerte der peripheren Hauttemperaturen und des DPG um den Zubettgehzeitpunkt unter natürlichen Bedingungen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. Für die in die Tests eingeflossenen Individuenzahlen vgl. Anhang A18.

Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen		Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen	
	t	p	u	p
Temp. Hand -60 min (°C)	1,96	0,061	15,50	0,113
Temp. Hand -50 min (°C)	1,38	0,178	19,00	0,231
Temp. Hand -40 min (°C)	1,79	0,084	25,50	0,624
Temp. Hand -30 min (°C)	2,11	0,045	23,00	0,446
Temp. Hand -20 min (°C)	2,01	0,055	26,50	0,704
Temp. Hand -10 min (°C)	2,56	0,017	29,00	0,913
Temp. Hand Zubettgehzeit (°C)	2,03	0,053	29,00	0,913
Temp. Hand +10 min (°C)	1,83	0,078	21,00	0,328
Temp. Hand +20 min (°C)	1,40	0,174	20,00	0,277
Temp. Hand +30 min (°C)	0,42	0,677	26,50	0,704
Temp. Fuß -60 min (°C)	1,22	0,233	23,00	0,314
Temp. Fuß -50 min (°C)	1,26	0,217	29,00	0,687
Temp. Fuß -40 min (°C)	1,76	0,089	27,50	0,579
Temp. Fuß -30 min (°C)	1,51	0,142	20,50	0,208
Temp. Fuß -20 min (°C)	1,66	0,109	25,50	0,450
Temp. Fuß -10 min (°C)	1,76	0,090	21,50	0,247
Temp. Fuß Zubettgehzeit (°C)	1,70	0,100	23,00	0,312
Temp. Fuß +10 min (°C)	1,36	0,183	25,00	0,421
Temp. Fuß +20 min (°C)	1,30	0,205	22,50	0,289
Temp. Fuß +30 min (°C)	1,25	0,222	27,50	0,580
Temp. OS -60 min (°C)	1,71	0,099	29,50	0,725
Temp. OS -50 min (°C)	2,09	0,046	22,50	0,291
Temp. OS -40 min (°C)	2,41	0,023	32,00	0,920

Anhang

Temp. OS -30 min (°C)	2,29	0,029	26,00	0,482
Temp. OS -20 min (°C)	2,26	0,032	30,00	0,763
Temp. OS -10 min (°C)	3,22	0,003	27,00	0,546
Temp. OS Zubettgezeit (°C)	3,51	0,002	31,00	0,840
Temp. OS +10 min (°C)	3,56	0,001	27,00	0,546
Temp. OS +20 min (°C)	3,27	0,003	32,00	0,919
Temp. OS +30 min (°C)	2,43	0,022	27,50	0,577
DPG Hand -60 min (°C)	-0,07	0,947	20,50	0,302
DPG Hand -50 min (°C)	-0,72	0,477	18,00	0,192
DPG Hand -40 min (°C)	-0,78	0,440	26,50	0,703
DPG Hand -30 min (°C)	-0,44	0,665	25,00	0,586
DPG Hand -20 min (°C)	-0,61	0,549	26,00	0,664
DPG Hand -10 min (°C)	-1,27	0,215	23,50	0,480
DPG Hand Zubettgezeit (°C)	-1,95	0,062	24,50	0,550
DPG Hand +10 min (°C)	-1,96	0,060	29,50	0,957
DPG Hand +20 min (°C)	-2,21	0,036	29,00	0,913
DPG Hand +30 min (°C)	-2,10	0,046	28,50	0,870
DPG Fuß -60 min (°C)	-0,20	0,841	23,00	0,314
DPG Fuß -50 min (°C)	-0,39	0,702	21,00	0,228
DPG Fuß -40 min (°C)	-0,42	0,676	22,50	0,291
DPG Fuß -30 min (°C)	-0,59	0,557	26,00	0,481
DPG Fuß -20 min (°C)	-0,57	0,573	24,00	0,364
DPG Fuß -10 min (°C)	-1,23	0,228	20,00	0,191
DPG Fuß Zubettgezeit (°C)	-1,54	0,134	19,50	0,174
DPG Fuß +10 min (°C)	-1,38	0,179	17,00	0,107
DPG Fuß +20 min (°C)	-1,00	0,324	22,00	0,268
DPG Fuß +30 min (°C)	-0,60	0,554	20,50	0,208

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, DPG = distal-proximaler Gradient, OS = Oberschenkel, Temp. = Temperatur, -60 bis -10 = 60 min vor bis 10 min vor dem Zubettgehen, +10 bis +30 = 10 min nach bis 30 min nach dem Zubettgehen; signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt

A20 Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil

Mittelwerte und Standardabweichungen der peripheren Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil unter kontrollierten Bedingungen.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Abendprofil Temperatur Hand 17:00 Uhr (°C)	11	32,63	1,80	22	32,21	1,54	9	32,78	1,27	13	31,82	1,64
Abendprofil Temperatur Hand 17:30 Uhr (°C)	12	32,84	1,02	22	32,27	1,23	9	32,78	0,73	13	31,91	1,41
Abendprofil Temperatur Hand 18:00 Uhr (°C)	12	32,04	1,05	22	32,31	1,26	9	32,88	0,76	13	31,91	1,41
Abendprofil Temperatur Hand 18:30 Uhr (°C)	12	32,50	0,76	22	32,85	1,23	9	33,46	0,60	13	32,42	1,40
Abendprofil Temperatur Hand 19:00 Uhr (°C)	12	32,78	0,90	22	33,11	1,13	9	33,65	0,58	13	32,74	1,28
Abendprofil Temperatur Hand 19:30 Uhr (°C)	12	32,90	0,85	22	33,28	0,99	9	33,65	0,76	13	33,03	1,08
Abendprofil Temperatur Hand 20:00 Uhr (°C)	12	33,01	0,93	22	33,08	0,97	9	33,46	0,71	13	32,82	1,07
Abendprofil Temperatur Hand 20:30 Uhr (°C)	12	33,10	0,93	22	33,13	1,03	9	33,46	0,92	13	32,89	1,08
Abendprofil Temperatur Hand 21:00 Uhr (°C)	12	33,46	0,97	22	33,19	1,05	9	33,47	0,72	13	32,99	1,22
Abendprofil Temperatur Hand 21:30 Uhr (°C)	12	33,44	1,01	22	33,13	1,09	9	33,65	0,66	13	32,76	1,20
Abendprofil Temperatur Hand 22:00 Uhr (°C)	12	33,82	0,56	22	33,13	1,12	9	33,50	0,86	13	32,88	1,23
Abendprofil Temperatur Hand 22:30 Uhr (°C)	12	33,95	0,90	22	33,15	1,02	9	33,58	0,85	13	32,85	1,04
Abendprofil Temperatur Hand 23:00 Uhr (°C)	12	33,89	0,97	22	32,69	2,41	9	33,50	0,69	13	32,13	3,01
Abendprofil Temperatur Hand 23:30 Uhr (°C)	12	33,60	0,93	19	32,83	1,05	8	33,27	1,01	11	32,51	1,01
Abendprofil Temperatur Hand 24:00 Uhr (°C)	12	33,67	0,84	19	32,76	1,22	8	33,20	1,14	11	32,43	1,22
Abendprofil Temperatur Fuß 17:00 Uhr (°C)	12	30,94	1,91	23	30,55	1,68	9	30,69	1,55	14	30,46	1,81
Abendprofil Temperatur Fuß 17:30 Uhr (°C)	13	31,17	2,10	23	30,46	1,70	9	30,71	1,42	14	30,29	1,89
Abendprofil Temperatur Fuß 18:00 Uhr (°C)	13	31,12	2,24	23	30,72	1,69	9	31,06	1,63	14	30,50	1,75
Abendprofil Temperatur Fuß 18:30 Uhr (°C)	13	31,40	1,22	23	30,91	1,65	9	31,29	1,14	14	30,66	1,91
Abendprofil Temperatur Fuß 19:00 Uhr (°C)	13	31,06	1,03	23	30,84	1,70	9	31,36	0,97	14	30,51	2,01
Abendprofil Temperatur Fuß 19:30 Uhr (°C)	13	31,06	1,09	23	30,86	1,89	9	31,57	1,01	14	30,41	2,20
Abendprofil Temperatur Fuß 20:00 Uhr (°C)	13	30,81	1,05	23	30,84	1,88	9	31,56	0,87	14	30,38	2,23
Abendprofil Temperatur Fuß 20:30 Uhr (°C)	13	30,65	1,25	23	30,84	1,81	9	31,76	0,75	14	30,25	2,05

Anhang

Abendprofil Temperatur Fuß 21:00 Uhr (°C)	13	30,78	1,29	23	30,73	1,81	9	31,54	1,03	14	30,21	2,04
Abendprofil Temperatur Fuß 21:30 Uhr (°C)	13	30,83	1,46	23	30,65	1,86	9	31,47	1,34	14	30,12	1,99
Abendprofil Temperatur Fuß 22:00 Uhr (°C)	13	30,90	1,74	23	30,53	1,91	9	31,40	1,30	14	29,96	2,07
Abendprofil Temperatur Fuß 22:30 Uhr (°C)	13	31,05	1,63	23	30,54	1,87	9	31,40	1,42	14	29,98	1,96
Abendprofil Temperatur Fuß 23:00 Uhr (°C)	13	30,97	1,68	23	30,47	1,99	9	31,31	1,50	14	29,93	2,12
Abendprofil Temperatur Fuß 23:30 Uhr (°C)	13	31,00	1,62	23	30,49	1,87	9	31,47	1,15	14	29,87	2,01
Abendprofil Temperatur Fuß 24:00 Uhr (°C)	13	31,07	1,61	23	30,51	1,75	9	31,43	1,13	14	29,92	1,85
Abendprofil Temperatur OS 17:00 Uhr (°C)	12	30,72	1,18	23	30,77	1,46	9	30,96	0,86	14	30,65	1,76
Abendprofil Temperatur OS 17:30 Uhr (°C)	13	31,13	0,88	23	30,68	1,54	9	30,47	1,23	14	30,81	1,74
Abendprofil Temperatur OS 18:00 Uhr (°C)	13	29,98	2,07	23	30,45	1,91	9	30,65	1,60	14	30,31	2,14
Abendprofil Temperatur OS 18:30 Uhr (°C)	13	31,86	1,35	23	31,08	0,98	9	31,22	0,50	14	30,98	1,20
Abendprofil Temperatur OS 19:00 Uhr (°C)	13	32,09	1,37	23	31,09	1,05	9	31,03	0,51	14	31,13	1,30
Abendprofil Temperatur OS 19:30 Uhr (°C)	13	32,45	1,37	23	31,32	1,04	9	31,53	0,90	14	31,19	1,14
Abendprofil Temperatur OS 20:00 Uhr (°C)	13	32,62	1,25	23	31,12	1,08	9	31,14	0,61	14	31,11	1,32
Abendprofil Temperatur OS 20:30 Uhr (°C)	13	32,56	1,33	23	31,14	1,25	9	31,10	0,54	14	31,16	1,57
Abendprofil Temperatur OS 21:00 Uhr (°C)	13	32,50	1,24	23	31,19	1,31	9	31,49	1,09	14	31,00	1,44
Abendprofil Temperatur OS 21:30 Uhr (°C)	13	32,51	1,12	23	31,19	1,28	9	31,50	1,04	14	30,99	1,42
Abendprofil Temperatur OS 22:00 Uhr (°C)	13	32,43	0,98	23	31,21	1,40	9	31,42	1,03	14	31,07	1,62
Abendprofil Temperatur OS 22:30 Uhr (°C)	13	32,47	1,24	23	30,98	1,27	9	31,28	0,98	14	30,79	1,43
Abendprofil Temperatur OS 23:00 Uhr (°C)	13	32,35	1,25	23	30,84	1,14	9	31,18	0,91	14	30,62	1,24
Abendprofil Temperatur OS 23:30 Uhr (°C)	13	32,25	1,19	23	31,07	1,25	9	31,06	0,98	14	31,07	1,42
Abendprofil Temperatur OS 24:00 Uhr (°C)	13	32,19	1,12	23	31,07	1,10	9	31,11	0,77	14	31,04	1,30
Abendprofil DPG Hand 17:00 Uhr (°C)	11	1,88	1,34	22	1,49	1,62	9	1,82	1,23	13	1,26	1,86
Abendprofil DPG Hand 17:30 Uhr (°C)	12	1,71	0,99	22	1,59	1,98	9	2,31	0,88	13	1,10	2,39
Abendprofil DPG Hand 18:00 Uhr (°C)	12	1,90	1,97	22	1,92	1,81	9	2,22	1,33	13	1,71	2,10
Abendprofil DPG Hand 18:30 Uhr (°C)	12	0,64	1,42	22	1,77	1,37	9	2,24	0,57	13	1,45	1,67
Abendprofil DPG Hand 19:00 Uhr (°C)	12	0,74	1,59	22	2,01	1,61	9	2,63	0,42	13	1,59	1,98
Abendprofil DPG Hand 19:30 Uhr (°C)	12	0,53	1,81	22	1,95	1,50	9	2,13	1,22	13	1,83	1,70

Anhang

Abendprofil DPG Hand 20:00 Uhr (°C)	12	0,51	1,73	22	1,94	1,50	9	2,32	0,70	13	1,67	1,85
Abendprofil DPG Hand 20:30 Uhr (°C)	12	0,70	1,89	22	1,95	1,57	9	2,36	0,83	13	1,66	1,91
Abendprofil DPG Hand 21:00 Uhr (°C)	12	1,02	1,89	22	1,95	1,38	9	1,99	1,04	13	1,93	1,62
Abendprofil DPG Hand 21:30 Uhr (°C)	12	1,08	1,49	22	1,89	1,32	9	2,15	0,92	13	1,71	1,56
Abendprofil DPG Hand 22:00 Uhr (°C)	12	1,55	0,96	22	1,88	1,64	9	2,08	0,95	13	1,74	2,01
Abendprofil DPG Hand 22:30 Uhr (°C)	12	1,42	1,23	22	2,14	1,71	9	2,31	1,09	13	2,03	2,06
Abendprofil DPG Hand 23:00 Uhr (°C)	12	1,55	1,24	22	1,84	2,81	9	2,32	0,79	13	1,50	3,61
Abendprofil DPG Hand 23:30 Uhr (°C)	12	1,41	1,02	19	1,75	1,83	8	2,16	0,86	11	1,45	2,30
Abendprofil DPG Hand 24:00 Uhr (°C)	12	1,54	1,25	19	1,66	1,84	8	2,03	1,13	11	1,40	2,24
Abendprofil DPG Fuß 17:00 Uhr (°C)	12	0,22	1,97	23	-0,22	2,26	9	-0,26	1,65	14	-0,20	2,64
Abendprofil DPG Fuß 17:30 Uhr (°C)	13	0,04	2,12	23	-0,22	2,18	9	0,24	1,73	14	-0,52	2,44
Abendprofil DPG Fuß 18:00 Uhr (°C)	13	1,13	1,59	23	0,27	2,54	9	0,40	2,81	14	0,19	2,45
Abendprofil DPG Fuß 18:30 Uhr (°C)	13	-0,45	1,79	23	-0,17	1,93	9	0,07	1,38	14	-0,32	2,25
Abendprofil DPG Fuß 19:00 Uhr (°C)	13	-1,03	1,85	23	-0,25	2,20	9	0,33	1,14	14	-0,63	2,65
Abendprofil DPG Fuß 19:30 Uhr (°C)	13	-1,39	2,03	23	-0,46	2,31	9	0,04	1,70	14	-0,78	2,64
Abendprofil DPG Fuß 20:00 Uhr (°C)	13	-1,81	1,94	23	-0,28	2,25	9	0,42	1,23	14	-0,72	2,66
Abendprofil DPG Fuß 20:30 Uhr (°C)	13	-1,90	2,22	23	-0,29	2,20	9	0,67	1,03	14	-0,91	2,55
Abendprofil DPG Fuß 21:00 Uhr (°C)	13	-1,72	2,24	23	-0,46	2,19	9	0,06	1,77	14	-0,79	2,42
Abendprofil DPG Fuß 21:30 Uhr (°C)	13	-1,68	2,18	23	-0,54	2,27	9	-0,03	1,98	14	-0,88	2,44
Abendprofil DPG Fuß 22:00 Uhr (°C)	13	-1,53	2,32	23	-0,68	2,50	9	-0,01	1,92	14	-1,11	2,80
Abendprofil DPG Fuß 22:30 Uhr (°C)	13	-1,42	1,88	23	-0,44	2,07	9	0,13	1,55	14	-0,80	2,32
Abendprofil DPG Fuß 23:00 Uhr (°C)	13	-1,38	2,10	23	-0,37	2,02	9	0,13	1,49	14	-0,69	2,30
Abendprofil DPG Fuß 23:30 Uhr (°C)	13	-1,25	1,97	23	-0,57	2,24	9	0,42	1,28	14	-1,21	2,52
Abendprofil DPG Fuß 24:00 Uhr (°C)	13	-1,13	1,82	23	-0,56	1,90	9	0,32	0,93	14	-1,13	2,17

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, DPG = Distal-proximaler Gradient, OS = Oberschenkel

A21 Vergleich der Mittelwerte der Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil

Vergleich der Mittelwerte der Hauttemperaturen und des DPG im Abendprofil unter kontrollierten Bedingungen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und zwischen älteren guten und älteren schlechten Schläferinnen. Für eingeflossene Probandenzahlen vgl. Anhang A20.

Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen		Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen	
	t	p	u	p
Abendprofil Temperatur Hand 17:00 Uhr (°C)	-0,69	0,495	32,50	0,082
Abendprofil Temperatur Hand 17:30 Uhr (°C)	-1,38	0,178	36,00	0,132
Abendprofil Temperatur Hand 18:00 Uhr (°C)	0,62	0,539	30,50	0,061
Abendprofil Temperatur Hand 18:30 Uhr (°C)	0,88	0,384	34,50	0,108
Abendprofil Temperatur Hand 19:00 Uhr (°C)	0,88	0,386	36,00	0,132
Abendprofil Temperatur Hand 19:30 Uhr (°C)	1,15	0,261	36,50	0,139
Abendprofil Temperatur Hand 20:00 Uhr (°C)	0,20	0,842	34,50	0,107
Abendprofil Temperatur Hand 20:30 Uhr (°C)	0,06	0,954	33,00	0,087
Abendprofil Temperatur Hand 21:00 Uhr (°C)	-0,74	0,466	39,00	0,190
Abendprofil Temperatur Hand 21:30 Uhr (°C)	-0,82	0,419	31,00	0,065
Abendprofil Temperatur Hand 22:00 Uhr (°C)	-2,01	0,053	40,50	0,228
Abendprofil Temperatur Hand 22:30 Uhr (°C)	-2,28	0,029	32,50	0,081
Abendprofil Temperatur Hand 23:00 Uhr (°C)	72,00 ^a	0,030	34,50	0,108
Abendprofil Temperatur Hand 23:30 Uhr (°C)	-2,09	0,046	22,00	0,069
Abendprofil Temperatur Hand 23:50 Uhr (°C)	-2,26	0,031	25,00	0,116
Abendprofil Temperatur Fuß 17:00 Uhr (°C)	-0,62	0,540	57,50	0,729
Abendprofil Temperatur Fuß 17:30 Uhr (°C)	-1,12	0,272	51,50	0,468
Abendprofil Temperatur Fuß 18:00 Uhr (°C)	-0,60	0,550	48,00	0,344
Abendprofil Temperatur Fuß 18:30 Uhr (°C)	-0,94	0,352	43,00	0,207
Abendprofil Temperatur Fuß 19:00 Uhr (°C)	-0,41	0,682	42,00	0,185
Abendprofil Temperatur Fuß 19:30 Uhr (°C)	-0,39	0,699	42,00	0,185
Abendprofil Temperatur Fuß 20:00 Uhr (°C)	0,06	0,952	45,00	0,256

Anhang

Abendprofil Temperatur Fuß 20:30 Uhr (°C)	0,33	0,741	36,00	0,088
Abendprofil Temperatur Fuß 21:00 Uhr (°C)	-0,09	0,930	33,50	0,063
Abendprofil Temperatur Fuß 21:30 Uhr (°C)	-0,30	0,765	34,50	0,072
Abendprofil Temperatur Fuß 22:00 Uhr (°C)	-0,59	0,562	32,50	0,055
Abendprofil Temperatur Fuß 22:30 Uhr (°C)	-0,82	0,417	34,00	0,067
Abendprofil Temperatur Fuß 23:00 Uhr (°C)	-0,77	0,447	35,50	0,083
Abendprofil Temperatur Fuß 23:30 Uhr (°C)	-0,82	0,420	30,50	0,041
Abendprofil Temperatur Fuß 23:50 Uhr (°C)	-0,94	0,353	32,50	0,054
Abendprofil Temperatur OS 17:00 Uhr (°C)	0,11	0,914	62,50	0,975
Abendprofil Temperatur OS 17:30 Uhr (°C)	-0,98	0,335	54,00	0,570
Abendprofil Temperatur OS 18:00 Uhr (°C)	0,68	0,501	59,00	0,801
Abendprofil Temperatur OS 18:30 Uhr (°C)	-2,00	0,053	53,50	0,548
Abendprofil Temperatur OS 19:00 Uhr (°C)	-2,44	0,020	58,00	0,752
Abendprofil Temperatur OS 19:30 Uhr (°C)	-2,80	0,008	50,50	0,430
Abendprofil Temperatur OS 20:00 Uhr (°C)	-3,76	0,001	62,50	0,975
Abendprofil Temperatur OS 20:30 Uhr (°C)	-3,21	0,003	59,50	0,825
Abendprofil Temperatur OS 21:00 Uhr (°C)	-2,93	0,006	49,50	0,394
Abendprofil Temperatur OS 21:30 Uhr (°C)	-3,10	0,004	45,50	0,269
Abendprofil Temperatur OS 22:00 Uhr (°C)	-2,78	0,009	46,50	0,296
Abendprofil Temperatur OS 22:30 Uhr (°C)	-3,41	0,002	47,00	0,313
Abendprofil Temperatur OS 23:00 Uhr (°C)	-3,69	0,001	43,00	0,206
Abendprofil Temperatur OS 23:30 Uhr (°C)	-2,79	0,009	61,00	0,899
Abendprofil Temperatur OS 23:50 Uhr (°C)	-2,92	0,006	61,00	0,900
Abendprofil DPG Hand 17:00 Uhr (°C)	-0,68	0,501	43,50	0,316
Abendprofil DPG Hand 17:30 Uhr (°C)	-0,19	0,849	37,00	0,150
Abendprofil DPG Hand 18:00 Uhr (°C)	0,04	0,971	53,00	0,713
Abendprofil DPG Hand 18:30 Uhr (°C)	2,29	0,029	46,00	0,403
Abendprofil DPG Hand 19:00 Uhr (°C)	2,21	0,034	32,00	0,076

Anhang

Abendprofil DPG Hand 19:30 Uhr (°C)	2,45	0,020	56,50	0,894
Abendprofil DPG Hand 20:00 Uhr (°C)	2,51	0,017	55,00	0,815
Abendprofil DPG Hand 20:30 Uhr (°C)	2,07	0,047	50,00	0,568
Abendprofil DPG Hand 21:00 Uhr (°C)	1,65	0,108	55,50	0,841
Abendprofil DPG Hand 21:30 Uhr (°C)	1,63	0,113	50,00	0,569
Abendprofil DPG Hand 22:00 Uhr (°C)	0,64	0,530	57,50	0,947
Abendprofil DPG Hand 22:30 Uhr (°C)	1,30	0,204	58,00	0,973
Abendprofil DPG Hand 23:00 Uhr (°C)	0,33	0,743	56,50	0,893
Abendprofil DPG Hand 23:30 Uhr (°C)	0,59	0,558	34,00	0,408
Abendprofil DPG Hand 24:00 Uhr (°C)	0,20	0,841	37,50	0,591
Abendprofil DPG Fuß 17:00 Uhr (°C)	-0,57	0,571	59,00	0,801
Abendprofil DPG Fuß 17:30 Uhr (°C)	-0,35	0,729	50,50	0,431
Abendprofil DPG Fuß 18:00 Uhr (°C)	-1,11	0,276	61,00	0,900
Abendprofil DPG Fuß 18:30 Uhr (°C)	0,43	0,667	55,00	0,614
Abendprofil DPG Fuß 19:00 Uhr (°C)	1,08	0,289	48,50	0,360
Abendprofil DPG Fuß 19:30 Uhr (°C)	1,22	0,231	50,50	0,431
Abendprofil DPG Fuß 20:00 Uhr (°C)	2,06	0,047	46,00	0,284
Abendprofil DPG Fuß 20:30 Uhr (°C)	2,10	0,043	34,00	0,067
Abendprofil DPG Fuß 21:00 Uhr (°C)	1,65	0,109	40,50	0,156
Abendprofil DPG Fuß 21:30 Uhr (°C)	1,47	0,151	46,00	0,284
Abendprofil DPG Fuß 22:00 Uhr (°C)	1,00	0,323	40,50	0,156
Abendprofil DPG Fuß 22:30 Uhr (°C)	1,41	0,166	44,50	0,244
Abendprofil DPG Fuß 23:00 Uhr (°C)	1,41	0,167	46,50	0,298
Abendprofil DPG Fuß 23:30 Uhr (°C)	0,91	0,369	28,50	0,030
Abendprofil DPG Fuß 24:00 Uhr (°C)	0,87	0,391	23,50	0,013

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt, ^a Mann-Whitney-u-Test

A22 Mittelwerte der in der sechsten Untersuchungsnacht mit dem EEG-Gerät (Quisi) gemessenen Nachtschlafvariablen

Mittelwerte der in der sechsten Untersuchungsnacht mit dem EEG-Gerät (Quisi) gemessenen Nachtschlafvariablen.

Variable	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD	N	M	SD
Effektive Schlafdauer (TST) (min)	13	371,19	93,33	21	339,21	81,77	8	362,25	61,05	13	325,04	91,64
TST REM (%)	13	22,14	9,79	21	29,51	14,84	8	31,08	8,13	13	28,55	18,06
TST S1 (%)	13	8,43	8,52	21	14,11	11,80	8	14,70	17,68	13	13,75	7,04
TST S2 (%)	13	47,48	8,00	21	38,13	20,66	8	38,01	20,10	13	38,21	21,81
Leichtschlaf (S1+S2) %	13	55,91	8,75	21	52,25	16,72	8	52,71	11,91	13	51,96	19,56
TST S3 (%)	13	12,24	3,99	21	11,91	6,20	8	9,99	3,94	13	13,09	7,14
TST S4 (%)	13	8,34	6,69	21	4,63	3,70	8	3,98	2,91	13	5,03	4,17
Tiefschlaf (S3+S4) %	13	20,58	6,71	21	16,54	8,53	8	13,98	6,61	13	18,12	9,42
1. Nachtdrittel REM (%)	13	3,13	2,17	21	4,12	3,05	8	5,95	2,71	13	3,00	2,76
1. Nachtdrittel S1 (%)	13	2,50	1,43	21	4,83	4,16	8	3,80	4,04	13	5,46	4,26
1. Nachtdrittel S2 (%)	13	11,66	2,98	21	9,68	6,14	8	9,46	5,82	13	9,82	6,56
1. Nachtdrittel S3 (%)	13	5,59	2,66	21	4,18	2,64	8	3,64	1,65	13	4,51	3,12
1. Nachtdrittel S4 (%)	13	5,32	4,21	21	1,62	1,43	8	1,66	1,36	13	1,60	1,52
1. Nachtdrittel Wachzeit (%)	13	4,62	3,92	21	7,65	5,29	8	7,66	5,14	13	7,65	5,59
2. Nachtdrittel REM (%)	13	7,01	3,71	21	7,28	2,93	8	8,09	3,12	13	6,77	2,81
2. Nachtdrittel S1 (%)	13	2,07	2,02	21	4,05	3,58	8	4,21	4,94	13	3,95	2,67
2. Nachtdrittel S2 (%)	13	17,05	4,43	21	11,00	6,83	8	11,07	6,72	13	10,95	7,17
2. Nachtdrittel S3 (%)	13	3,39	1,56	21	3,60	2,81	8	3,24	1,67	13	3,82	3,37
2. Nachtdrittel S4 (%)	13	0,89	0,91	21	1,50	1,60	8	1,23	1,07	13	1,66	1,88
2. Nachtdrittel Wachzeit (%)	13	2,25	2,74	21	4,68	5,52	8	4,61	3,13	13	4,72	6,71
3. Nachtdrittel REM (%)	13	9,70	6,21	21	10,02	6,21	8	10,36	3,72	13	9,81	7,49
3. Nachtdrittel S1 (%)	13	3,55	3,48	21	4,21	3,56	8	4,48	4,88	13	4,04	2,68

Anhang

3. Nachtdrittel S2 (%)	13	13,07	5,77	21	11,30	7,16	8	11,21	6,88	13	11,35	7,60
3. Nachtdrittel S3 (%)	13	1,69	1,90	21	1,73	1,98	8	1,19	1,46	13	2,06	2,23
3. Nachtdrittel S4 (%)	13	0,97	1,62	21	0,48	0,63	8	0,34	0,64	13	0,56	0,63
3. Nachtdrittel Wachzeit (%)	13	3,61	5,52	21	4,55	4,45	8	4,78	4,23	13	4,40	4,74
Schlafeffizienz (%)	13	87,20	11,49	21	77,91	14,35	8	79,88	11,23	13	76,71	16,29
Aufzeichnungsbeginn (Uhrzeit)	13	23:49	68,93 ^a	21	23:06	60,90 ^a	8	23:07	60,21 ^a	13	23:04	63,73 ^a
Einschlaflatenz (min)	13	25,12	22,58	21	35,52	20,20	8	35,63	20,92	13	35,46	20,61
Schlafbeginn (Uhrzeit)	13	00:14	60,10 ^a	21	23:41	62,78 ^a	8	23:43	46,26 ^a	13	23:40	72,92 ^a
Gesamtschlafdauer (SPT) (min)	13	403,23	94,10	21	396,21	74,16	8	419,50	66,40	13	381,88	77,52
SPT % Wach	13	6,90	9,70	21	12,32	11,45	8	12,39	8,68	13	12,27	13,21
S1-Latenz	13	6,81	12,52	21	16,29	16,94	8	18,63	20,12	13	14,85	15,37
S2-Latenz	13	25,12	22,58	21	44,24	50,28	8	36,75	22,12	13	48,85	62,19
S3-Latenz (ab SOL)	13	11,58	5,04	21	8,43	7,52	8	8,75	8,00	13	8,23	7,53
S4-Latenz (ab SOL)	13	18,62	8,06	20	40,28	56,47	8	53,06	85,98	12	31,75	24,62
REM-Latenz (ab SOL)	13	65,50	22,81	21	64,36	23,98	8	61,31	32,13	13	66,23	18,61
Schlafmitte (EEG) (Uhrzeit)	13	03:36	38,05 ^a	21	02:59	50,72 ^a	8	03:13	34,99 ^a	13	02:51	58,09 ^a
Aufwachzeit (EEG) (Uhrzeit)	13	06:57	60,92 ^a	21	06:17	62,87 ^a	8	06:43	50,14 ^a	13	06:02	66,61 ^a

N = Probandenanzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, ^a SD in Minuten

A23 Vergleich der Mittelwerte der mit dem EEG-Gerät (Quisi) aufgezeichneten Nachtschlafvariablen

Vergleich der Mittelwerte der mit dem EEG-Gerät (Quisi) aufgezeichneten Nachtschlafvariablen zwischen jüngeren und älteren Probandinnen und zwischen älteren guten und schlechten Schläferinnen. Für die in den Vergleich eingeflossenen Probandenzahlen vgl. Anhang A22.

Variable	Jüngere Probandinnen vs. Ältere Probandinnen		Ältere gute Schläferinnen vs. ältere schlechte Schläferinnen	
	t	p	u	P
Effektive Schlafdauer (TST) (min)	-1,05	0,302	44,00	0,562
TST REM (%)	1,59	0,123	39,00	0,346
TST S1 (%)	1,51	0,142	40,00	0,385
TST S2 (%)	-1,86	0,073	51,00	0,942
Leichtschlaf (S1+S2) %	-0,84	0,409	51,00	0,942
TST S3 (%)	-0,17	0,865	31,00	0,128
TST S4 (%)	-1,83	0,085	46,00	0,664
Tiefschlaf (S3+S4) %	-1,45	0,157	35,00	0,218
1. Nachtdrittel REM (%)	1,02	0,313	24,00	0,043
1. Nachtdrittel S1 (%)	2,35	0,027	34,00	0,192
1. Nachtdrittel S2 (%)	-1,08	0,288	50,00	0,885
1. Nachtdrittel S3 (%)	-1,51	0,140	45,00	0,612
1. Nachtdrittel S4 (%)	-3,06	0,009	49,50	0,856
1. Nachtdrittel Wachzeit (%)	1,78	0,085	52,00	1,000
2. Nachtdrittel REM (%)	0,23	0,817	38,00	0,311
2. Nachtdrittel S1 (%)	1,82	0,078	47,50	0,744
2. Nachtdrittel S2 (%)	-2,84	0,008	50,00	0,885
2. Nachtdrittel S3 (%)	0,28	0,781	50,00	0,885
2. Nachtdrittel S4 (%)	1,23	0,227	51,00	0,942
2. Nachtdrittel Wachzeit (%)	1,71	0,098	37,00	0,277
3. Nachtdrittel REM (%)	0,15	0,885	47,00	0,717
3. Nachtdrittel S1 (%)	0,53	0,601	52,00	1,000

Anhang

3. Nachtdrittel S2 (%)	-0,75	0,456	52,00	1,000
3. Nachtdrittel S3 (%)	0,06	0,953	39,00	0,343
3. Nachtdrittel S4 (%)	135,50 ^a	0,970	36,00	0,228
3. Nachtdrittel Wachzeit (%)	0,54	0,590	45,00	0,612
Schlafeffizienz (%)	-1,97	0,057	49,50	0,856
Aufzeichnungsbeginn (min)	-1,92	0,063	49,00	0,828
Einschlaflatenz(min)	1,40	0,172	50,50	0,913
Schlafbeginn (min)	-1,52	0,139	47,00	0,717
Gesamtschlafdauer (SPT) (min)	-0,24	0,810	36,50	0,261
SPT % Wach	1,42	0,166	44,00	0,562
S1-Latenz	1,74	0,091	44,50	0,586
S2-Latenz	1,29	0,207	51,50	0,971
S3-Latenz (ab Schlafbeginn)	-1,33	0,192	49,50	0,855
S4-Latenz (ab Schlafbeginn)	93,00 ^a	0,181	45,00	0,817
REM-Latenz (ab Schlafbeginn)	-0,14	0,891	50,50	0,913
Schlafmitte (EEG) (min)	-2,24	0,032	41,00	0,426
Aufwachzeit (EEG) (min)	-1,83	0,077	31,00	0,128

t und u = Prüfgrößen, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, signifikante Unterschiede sind in Fettdruck dargestellt, ^a Mann-Whitney-u-Test

A24 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und dem abendlichen Verlauf der Hauttemperatur

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und dem abendlichen Verlauf der Hauttemperatur an Fuß und Oberschenkel sowie dem DPG zwischen Oberschenkel und Fuß unter natürlichen Bedingungen bei jüngeren und älteren Probandinnen sowie älteren guten und schlechten Schläferinnen.

	Jüngere Probandinnen						Ältere Probandinnen						Ältere gute Schläferinnen						Ältere schlechte Schläferinnen					
	Einschlaflatenz (min)			Schlafbeginn (min)			Einschlaflatenz (min)			Schlafbeginn (min)			Einschlaflatenz (min)			Schlafbeginn (min)			Einschlaflatenz (min)			Schlafbeginn (min)		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Temp. Fuß -30 min (°C)	0,16	0,596	13	-0,28	0,350	13	0,18	0,528	15	0,23	0,402	15	0,98	0,005	5	-0,46	0,434	5	0,22	0,542	10	0,35	0,323	10
Temp. Fuß +30 min (°C)	0,17	0,58	13	-0,04	0,891	13	-0,14	0,618	15	0,21	0,456	15	0,20	0,747	5	0,6	0,285	5	-0,20	0,584	10	0,19	0,604	10
Temp. OS -30 min (°C)	0,23	0,44	13	-0,60	0,029	13	0,34	0,211	15	-0,12	0,667	15	0,30	0,624	5	-0,10	0,873	5	0,37	0,300	10	-0,19	0,602	10
Temp. OS +30 min (°C)	0,20	0,516	13	-0,56	0,045	13	0,27	0,349	14	-0,36	0,205	14	0,60	0,285	5	-0,20	0,747	5	0,02	0,966	9	-0,35	0,354	9
DPG Fuß -30 min (°C)	-0,24	0,428	13	-0,29	0,332	13	-0,02	0,95	15	-0,02	0,944	15	0,30	0,624	5	-0,10	0,873	5	-0,15	0,687	10	-0,02	0,957	10
DPG Fuß +30 min (°C)	-0,54	0,058	13	-0,31	0,298	13	0,09	0,738	15	-0,58	0,025	15	0,40	0,505	5	-0,80	0,104	5	-0,14	0,69	10	-0,61	0,063	10

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, Temp. = Temperatur, DPG = distal-proximaler Gradient, -30 = 30 min vor dem Zubettgehen, +30 = 30 min nach dem Zubettgehen, OS = Oberschenkel; signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A25 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der abendlichen Cortisol-Konzentration

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der abendlichen Cortisol-Konzentration unter natürlichen Bedingungen bei jüngeren und älteren Probandinnen sowie älteren guten und schlechten Schläferinnen.

	Jüngere Probandinnen (N = 13)		Ältere Probandinnen (N = 18)		Ältere gute Schläferinnen (N = 7)		Ältere schlechte Schläferinnen (N = 11)	
	Cortisol Abendwert (µg/dl)							
	r	p	r	p	r	p	r	p
Effektive Schlafdauer (TST) (min)	0,19	0,533	-0,24	0,340	<i>-0,54</i>	<i>0,215</i>	-0,18	0,605
TST REM (%)	0,47	0,104	0,26	0,304	<i>0,39</i>	<i>0,383</i>	0,25	0,454
TST S3 (%)	0,01	0,983	-0,04	0,881	<i>-0,21</i>	<i>0,645</i>	0,04	0,899
TST S4 (%)	-0,18	0,562	-0,13	0,597	<i>-0,21</i>	<i>0,645</i>	-0,17	0,622
Schlafeffizienz (%)	0,26	0,399	-0,38	0,115	<i>-0,29</i>	<i>0,535</i>	-0,42	0,204
Einschlaflatenz (min)	-0,18	0,555	0,30	0,220	<i>0,43</i>	<i>0,337</i>	0,25	0,456
Schlafbeginn (min)	-0,25	0,415	-0,09	0,735	<i>0,18</i>	<i>0,702</i>	-0,15	0,669
SPT % Wach	-0,24	0,437	0,38	0,117	<i>0,36</i>	<i>0,432</i>	0,46	0,158

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, SPT = Gesamtschlafdauer (*sleep period time*); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A26 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol-Konzentration nach Erwachen

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen unter natürlichen Bedingungen bei jüngeren und älteren Probandinnen sowie älteren guten und schlechten Schläferinnen.

	Jüngere Probandinnen (N = 13)		Ältere Probandinnen (N = 17)		Ältere gute Schläferinnen (N = 6)		Ältere schlechte Schläferinnen (N = 11)	
	Cortisol T0 (µg/dl)							
	r	p	r	p	r	p	r	p
Effektive Schlafdauer (TST) (min)	0,36	0,227	-0,11	0,675	-0,37	0,468	-0,10	0,764
TST REM (%)	0,24	0,425	0,23	0,385	0,20	0,704	0,25	0,456
TST S3 (%)	-0,07	0,816	0,03	0,914	0,09	0,872	0,32	0,342
TST S4 (%)	-0,32	0,293	0,09	0,744	0,14	0,787	0,20	0,551
1. Nachtdrittel REM (%)	0,13	0,671	0,33	0,200	0,54	0,266	0,13	0,701
1. Nachtdrittel S3 (%)	0,12	0,692	-0,20	0,447	-0,60	0,208	-0,04	0,909
1. Nachtdrittel S4 (%)	-0,38	0,202	0,00	0,987	-0,12	0,827	0,06	0,864
1. Nachtdrittel Wach (%)	0,28	0,348	0,16	0,538	-0,31	0,544	0,40	0,227
2. Nachtdrittel REM (%)	0,11	0,728	0,34	0,188	0,31	0,544	0,38	0,250
2. Nachtdrittel S3 (%)	0,08	0,802	0,05	0,836	-0,03	0,957	0,23	0,495
2. Nachtdrittel S4 (%)	0,01	0,968	-0,02	0,925	-0,03	0,957	-0,04	0,910
2. Nachtdrittel Wach (%)	0,43	0,138	0,04	0,885	0,49	0,329	0,03	0,926
3. Nachtdrittel REM (%)	0,16	0,611	0,11	0,682	0,09	0,872	0,28	0,405
3. Nachtdrittel S3 (%)	-0,73	0,005	0,23	0,382	0,39	0,439	0,34	0,303
3. Nachtdrittel S4 (%)	-0,62	0,025	0,53	0,029	0,39	0,441	0,83	0,002
3. Nachtdrittel Wach (%)	0,44	0,136	-0,14	0,583	-0,03	0,957	-0,25	0,454
Schlafeffizienz (%)	-0,41	0,167	-0,05	0,847	-0,14	0,787	-0,04	0,913
Einschlaflatenz (min)	0,42	0,153	-0,07	0,801	0,31	0,544	-0,37	0,260
Schlafbeginn (min)	-0,23	0,458	0,02	0,936	0,31	0,544	-0,12	0,731
SPT % Wach	0,43	0,138	0,13	0,608	0,31	0,544	0,20	0,550

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, T0 = Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen, SPT = Gesamtschlafdauer (*sleep period time*); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A27 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol Awakening Response (CAR)

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Nachtschlaf-Variablen und der Cortisol Awakening Response (CAR) unter natürlichen Bedingungen bei jüngeren und älteren Probandinnen sowie älteren guten und schlechten Schläferinnen.

	Jüngere Probandinnen (N = 13)		Ältere Probandinnen (N = 16)		Ältere gute Schläferinnen (N = 6)		Ältere schlechte Schläferinnen (N = 10)	
	CAR (µg/dl)							
	r	p	r	p	r	p	r	p
Effektive Schlafdauer (TST) (min)	-0,30	0,315	-0,19	0,476	0,77	0,072	-0,61	0,061
TST REM (%)	-0,49	0,088	0,13	0,637	-0,43	0,397	0,37	0,294
TST S3 (%)	0,28	0,346	-0,34	0,201	-0,66	0,156	-0,42	0,231
TST S4 (%)	-0,10	0,741	-0,26	0,336	-0,54	0,266	-0,16	0,658
1. Nachtdrittel REM (%)	-0,29	0,336	-0,31	0,249	-0,60	0,208	-0,27	0,457
1. Nachtdrittel S3 (%)	0,29	0,343	-0,29	0,268	0,60	0,208	-0,62	0,054
1. Nachtdrittel S4 (%)	-0,02	0,941	-0,35	0,187	0,06	0,913	-0,42	0,222
1. Nachtdrittel Wach (%)	-0,26	0,395	0,14	0,596	0,20	0,704	0,31	0,383
2. Nachtdrittel REM (%)	-0,61	0,028	-0,28	0,296	-0,60	0,208	-0,32	0,369
2. Nachtdrittel S3 (%)	0,35	0,235	-0,17	0,537	-0,60	0,208	-0,07	0,838
2. Nachtdrittel S4 (%)	0,05	0,882	-0,22	0,420	-0,60	0,208	-0,03	0,924
2. Nachtdrittel Wach (%)	0,09	0,775	0,01	0,958	-0,43	0,397	0,18	0,613
3. Nachtdrittel REM (%)	-0,23	0,450	0,15	0,575	-0,26	0,623	0,24	0,505
3. Nachtdrittel S3 (%)	0,05	0,876	-0,25	0,356	-0,70	0,123	-0,16	0,659
3. Nachtdrittel S4 (%)	0,05	0,864	-0,17	0,532	-0,65	0,158	-0,06	0,868
3. Nachtdrittel Wach (%)	-0,17	0,587	0,07	0,799	0,03	0,957	0,21	0,566
Schlafeffizienz (%)	0,19	0,540	-0,27	0,305	0,09	0,872	-0,59	0,073
Einschlaflatenz (min)	-0,44	0,131	0,26	0,332	-0,03	0,957	0,63	0,050
Schlafbeginn (min)	0,32	0,283	0,38	0,146	-0,14	0,787	0,69	0,029
SPT % Wach	-0,10	0,749	0,08	0,770	-0,31	0,544	0,27	0,444

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, CAR = Cortisol Awakening Response, SPT = Gesamtschlafdauer (sleep period time); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A28 Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und Akrophase des distalen Hauttemperatur-Rhythmus

Korrelationskoeffizienten zwischen der Expression der Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* und der Akrophase des Rhythmus der distalen Hauttemperatur am Fuß unter natürlichen Bedingungen bei jüngeren und älteren Probandinnen sowie älteren guten und schlechten Schläferinnen.

	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	Akrophase bei 24 Std. Fuß Tag 7 (min)											
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
hBMAL1-Ratio - T08	0,37	0,242	12	-0,05	0,838	22	<i>-0,53</i>	<i>0,139</i>	9	0,41	0,159	13
hBMAL1-Ratio - T12	0,54	0,068	12	0,00	0,994	18	<i>-0,20</i>	<i>0,704</i>	6	0,19	0,546	12
hBMAL1-Ratio - T20	0,24	0,445	12	0,06	0,797	21	<i>-0,25</i>	<i>0,585</i>	7	0,15	0,606	14
hBMAL1-Ratio - T24	0,25	0,450	11	-0,05	0,842	21	<i>-0,07</i>	<i>0,867</i>	8	0,02	0,958	13
hCRY1-Ratio - T08	-0,11	0,744	11	0,22	0,341	21	<i>0,12</i>	<i>0,779</i>	8	0,01	0,976	13
hCRY1-Ratio - T12	0,05	0,889	11	0,09	0,744	17	<i>-0,80</i>	<i>0,104</i>	5	0,28	0,373	12
hCRY1-Ratio - T20	0,17	0,635	10	0,11	0,631	20	<i>0,23</i>	<i>0,613</i>	7	0,13	0,679	13
hCRY1-Ratio - T24	-0,06	0,869	11	-0,12	0,633	19	<i>-0,48</i>	<i>0,230</i>	8	-0,06	0,863	11
hPER1-Ratio - T08	-0,04	0,902	10	0,18	0,432	22	<i>-0,20</i>	<i>0,606</i>	9	0,19	0,537	13
hPER1-Ratio - T12	-0,15	0,648	12	0,05	0,849	18	<i>-0,37</i>	<i>0,468</i>	6	0,23	0,479	12
hPER1-Ratio - T20	-0,05	0,902	10	-0,02	0,939	20	<i>-0,54</i>	<i>0,215</i>	7	0,52	0,067	13
hPER1-Ratio - T24	-0,10	0,774	11	-0,03	0,888	20	<i>-0,36</i>	<i>0,385</i>	8	0,07	0,834	12

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, T08, T12, T20, T24 = Messung um 08:00, 12:00, 20:00 und 24:00 Uhr; Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A29 Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion für die Altersgruppen

Korrelationskoeffizienten zwischen der Expression der Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* und der Cortisol-Konzentration am Abend, nach dem Erwachen, 30 min später sowie der Cortisol Awakening Response (CAR) unter natürlichen Bedingungen bei jüngeren und älteren Probandinnen.

	Jüngere Probandinnen												Ältere Probandinnen											
	Cortisol Abendwert (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			Cortisol T30 (µg/dl)			CAR (µg/dl)			Cortisol Abendwert (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			Cortisol T30 (µg/dl)			CAR (µg/dl)		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
hBMAL1-Ratio - T08	-0,14	0,658	12	0,36	0,250	12	0,73	0,007	12	0,45	0,144	12	-0,14	0,587	17	-0,04	0,867	17	-0,18	0,495	16	-0,15	0,592	16
hBMAL1-Ratio - T24	0,05	0,887	11	-0,30	0,371	11	0,33	0,325	11	0,57	0,066	11	<i>0,10</i>	<i>0,713</i>	15	<i>0,21</i>	<i>0,459</i>	15	-0,20	0,503	14	-0,32	0,260	14
hCRY1-Ratio - T08	0,75	0,009	11	0,77	0,006	11	0,12	0,714	11	-0,47	0,142	11	0,36	0,176	16	0,51	0,044	16	0,30	0,269	15	-0,02	0,953	15
hCRY1-Ratio - T24	0,26	0,438	11	-0,21	0,527	11	0,00	0,993	11	0,18	0,591	11	<i>0,18</i>	<i>0,546</i>	13	-0,18	0,552	13	-0,32	0,318	12	-0,24	0,449	12
hPER1-Ratio - T08	-0,12	0,732	10	0,14	0,707	10	0,59	0,072	10	0,55	0,096	10	-0,10	0,693	17	0,41	0,100	17	0,38	0,144	16	0,11	0,692	16
hPER1-Ratio - T24	0,18	0,594	11	-0,13	0,696	11	0,197	0,562	11	0,30	0,364	11	-0,15	0,600	14	-0,30	0,290	14	0,01	0,974	13	0,23	0,454	13

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, T08, T24 = Messung um 08:00 und 24:00 Uhr; T0 = Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen, T30 = Cortisol-Konzentration 30 min nach dem Erwachen; CAR = *Cortisol Awakening Response*; signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A30 Korrelationskoeffizienten zwischen der Uhrengen-Expression und der Cortisol-Sekretion für die Schlafqualitätsgruppen

Korrelationskoeffizienten zwischen der Expression der Uhrengene *hBMAL1*, *hCRY1* und *hPER1* und der Cortisol-Konzentration am Abend, nach dem Erwachen, 30 min später sowie der Cortisol Awakening Response (CAR) unter natürlichen Bedingungen bei älteren guten und schlechten Schläferinnen.

	Ältere gute Schläferinnen												Ältere schlechte Schläferinnen											
	Cortisol Abendwert (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			Cortisol T30 (µg/dl)			CAR (µg/dl)			Cortisol Abendwert (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			Cortisol T30 (µg/dl)			CAR (µg/dl)		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
hBMAL1-Ratio - T08	0,07	0,879	7	0,14	0,760	7	0,04	0,939	7	0,00	1,000	7	-0,09	0,808	10	-0,28	0,437	10	-0,50	0,170	9	-0,60	0,088	9
hBMAL1-Ratio - T24	-0,20	0,704	6	0,31	0,544	6	0,09	0,872	6	-0,09	0,872	6	-0,13	0,732	9	0,35	0,356	9	-0,33	0,420	8	-0,57	0,139	8
hCRY1-Ratio - T08	0,20	0,704	6	0,31	0,544	6	0,60	0,208	6	0,54	0,266	6	0,54	0,109	10	0,65	0,042	10	-0,48	0,187	9	-0,62	0,077	9
hCRY1-Ratio - T24	0,60	0,208	6	-0,60	0,208	6	-0,31	0,544	6	-0,03	0,957	6	0,36	0,427	7	0,36	0,427	7	-0,31	0,544	6	-0,26	0,623	6
hPER1-Ratio - T08	0,39	0,383	7	0,39	0,383	7	0,43	0,337	7	0,18	0,702	7	-0,12	0,738	10	-0,19	0,608	10	-0,23	0,546	9	-0,27	0,488	9
hPER1-Ratio - T24	0,66	0,156	6	-0,09	0,872	6	0,20	0,704	6	0,20	0,704	6	-0,40	0,320	8	-0,05	0,911	8	0,11	0,819	7	0,32	0,482	7

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, T08, T24 = Messung um 08:00 und 24:00 Uhr; T0 = Cortisol-Konzentration nach dem Erwachen, T30 = Cortisol-Konzentration 30 min nach dem Erwachen; CAR = *Cortisol Awakening Response*; signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A31 Korrelationskoeffizienten zwischen Cortisol-Sekretion und Verhaltensaspekten der Probandinnen in der Untersuchungswoche

Korrelationskoeffizienten zwischen der Cortisol-Konzentration am Abend und der subjektiv verbrachten Zeit im Freien und sportlichen Aktivität am Untersuchungstag (Tagesprotokoll) sowie der objektiv bestimmten Aktivität am Untersuchungstag (AW2) bei allen vier Probandengruppen.

	Jüngere Probandinnen			Ältere Probandinnen			Ältere gute Schläferinnen			Ältere schlechte Schläferinnen		
	Cortisol Abendwert (µg/dl)											
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Zeitraum im Freien Tag 6 (min)	-0,19	0,578	11	-0,04	0,878	16	<i>0,23</i>	<i>0,613</i>	7	<i>-0,13</i>	<i>0,732</i>	9
Sport Tag 6 (min)	0,01	0,984	13	-0,13	0,641	16	<i>0,45</i>	<i>0,317</i>	7	<i>-0,15</i>	<i>0,708</i>	9
AW2 AI Gesamtakt. Tag 6	-0,32	0,290	13	-0,39	0,136	16	<i>0,07</i>	<i>0,879</i>	7	<i>0,20</i>	<i>0,606</i>	9
AW2 AI durchschn. Akt. Tag 6	-0,55	0,051	13	-0,40	0,122	16	<i>-0,11</i>	<i>0,819</i>	7	<i>-0,13</i>	<i>0,732</i>	9

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, AI = Aktivitätsintervall, Akt. = Aktivität, AW2 = Actiwatch2; signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A32 Korrelationskoeffizienten zwischen Cortisol-Sekretion und Verhaltensaspekten der Probandinnen am sechsten Untersuchungstag

Korrelationskoeffizienten zwischen der Cortisol-Konzentration nach dem morgendlichen Erwachen bzw. der CAR und der subjektiv verbrachten Zeit im Freien und sportlichen Aktivität am Untersuchungstag (Tagesprotokoll) sowie der objektiv bestimmten Aktivität am Untersuchungstag (AW2) bei allen vier Probandengruppen.

	Jüngere Probandinnen						Ältere Probandinnen						Ältere gute Schläferinnen						Ältere schlechte Schläferinnen					
	Cortisol T0 (µg/dl)			CAR (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			CAR (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			CAR (µg/dl)			Cortisol T0 (µg/dl)			CAR (µg/dl)		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Zeitraum im Freien Tag 6 (min)	-0,13	0,695	11	0,16	0,640	11	-0,01	0,974	16	-0,09	0,743	15	<i>-0,41</i>	<i>0,355</i>	7	<i>0,49</i>	<i>0,268</i>	7	<i>0,30</i>	<i>0,433</i>	9	<i>-0,26</i>	<i>0,531</i>	8
Sport Tag 6 (min)	0,13	0,674	13	0,10	0,744	13	-0,21	0,442	16	-0,11	0,695	15	<i>0,09</i>	<i>0,849</i>	7	<i>-0,76</i>	0,049	7	<i>-0,22</i>	<i>0,571</i>	9	<i>-0,05</i>	<i>0,898</i>	8
AW2 AI Gesamtakt. Tag 6	-0,48	0,095	13	0,58	0,038	13	-0,23	0,387	16	-0,20	0,482	15	<i>0,07</i>	<i>0,879</i>	7	<i>-0,75</i>	<i>0,052</i>	7	<i>-0,03</i>	<i>0,932</i>	9	<i>0,43</i>	<i>0,289</i>	8
AW2 AI durchschn. Akt. Tag 6	-0,21	0,482	13	0,23	0,458	13	-0,42	0,104	16	0,01	0,960	15	<i>-0,61</i>	<i>0,148</i>	7	<i>-0,07</i>	<i>0,879</i>	7	<i>-0,27</i>	<i>0,488</i>	9	<i>0,24</i>	<i>0,570</i>	8

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, AI = Aktivitätsintervall, Akt. = Aktivität, AW2 = Actiwatch2, CAR = Cortisol Awakening Response; signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A33 Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der jüngeren Probandinnen

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Variablen zur Struktur des Nachtschlafes und der im Freien verbrachten Zeit sowie der subjektiv und objektiv bestimmten körperlichen Aktivität am betreffenden Untersuchungstag bei jüngeren Probandinnen.

	Jüngere Probandinnen														
	TST S3 (%)			TST S4 (%)			Schlafeffizienz (%)			Einschlaflatenz (min)			SPT % Wach		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Zeitraum im Freien Tag 6 (min)	-0,23	0,505	11	0,36	0,280	11	0,28	0,397	11	-0,31	0,354	11	-0,21	0,543	11
Sport Tag 6 (min)	-0,05	0,883	13	0,27	0,369	13	0,13	0,674	13	-0,13	0,670	13	-0,09	0,763	13
AW2 Aktivitätsintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	-0,24	0,422	13	0,02	0,937	13	0,17	0,573	13	-0,28	0,358	13	-0,14	0,651	13
AW2 Aktivitätsintervall durchschn. Aktivität Tag 6	-0,20	0,520	13	0,06	0,857	13	-0,20	0,522	13	0,12	0,684	13	0,18	0,555	13
AW2 Ruheintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	0,13	0,669	13	-0,02	0,948	13	0,00	0,987	13	0,15	0,632	13	-0,01	0,985	13
AW2 Ruheintervall durchschn. Aktivität Tag 6	0,27	0,373	13	-0,09	0,767	13	0,00	0,997	13	0,07	0,831	13	-0,01	0,967	13

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, AW2 = Actiwatch2, TST = effektive Schlafdauer (*total sleep time*), SPT = Gesamtschlafdauer (*sleep period time*); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A34 Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren Probandinnen

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Variablen zur Struktur des Nachtschlafes und der im Freien verbrachten Zeit sowie der subjektiv und objektiv bestimmten körperlichen Aktivität am betreffenden Untersuchungstag bei älteren Probandinnen.

	Ältere Probandinnen														
	TST S3 (%)			TST S4 (%)			Schlaffeffizienz (%)			Einschlaflatenz (min)			SPT % Wach		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Zeitraum im Freien Tag 6 (min)	-0,03	0,916	15	0,59	0,022	15	-0,23	0,406	15	0,12	0,679	15	0,20	0,464	15
Sport Tag 6 (min)	-0,01	0,982	14	0,70	0,005	14	-0,30	0,301	14	0,29	0,315	14	0,34	0,237	14
AW2 Aktivitätsintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	0,36	0,224	13	-0,08	0,797	13	-0,22	0,468	13	0,40	0,177	13	0,20	0,505	13
AW2 Aktivitätsintervall durchschn. Aktivität Tag 6	0,02	0,958	13	-0,26	0,397	13	-0,16	0,595	13	0,38	0,195	13	0,18	0,550	13
AW2 Ruheintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	-0,47	0,106	13	-0,75	0,003	13	-0,36	0,234	13	0,16	0,601	13	0,43	0,144	13
AW2 Ruheintervall durchschn. Aktivität Tag 6	-0,45	0,124	13	-0,46	0,117	13	-0,27	0,379	13	-0,06	0,836	13	0,40	0,172	13

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, AW2 = Actiwatch2, TST = effektive Schlafdauer (*total sleep time*), SPT = Gesamtschlafdauer (*sleep period time*); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A35 Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren guten Schläferinnen

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Variablen zur Struktur des Nachtschlafes und der im Freien verbrachten Zeit sowie der subjektiv und objektiv bestimmten körperlichen Aktivität am betreffenden Untersuchungstag bei älteren guten Schläferinnen.

	Ältere gute Schläferinnen														
	TST S3 (%)			TST S4 (%)			Schlafeffizienz (%)			Einschlaflatenz (min)			SPT % Wach		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Zeitraum im Freien Tag 6 (min)	<i>-0,56</i>	<i>0,322</i>	5	<i>-0,67</i>	<i>0,219</i>	5	<i>0,56</i>	<i>0,322</i>	5	<i>-0,56</i>	<i>0,322</i>	5	<i>-0,72</i>	<i>0,172</i>	5
Sport Tag 6 (min)	<i>0,78</i>	<i>0,118</i>	5	<i>0,45</i>	<i>0,450</i>	5	<i>-0,22</i>	<i>0,718</i>	5	<i>0,22</i>	<i>0,718</i>	5	<i>0,45</i>	<i>0,450</i>	5
AW2 Aktivitätsintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	<i>0,80</i>	<i>0,104</i>	5	<i>0,50</i>	<i>0,391</i>	5	<i>-0,10</i>	<i>0,873</i>	5	<i>0,10</i>	<i>0,873</i>	5	<i>0,20</i>	<i>0,747</i>	5
AW2 Aktivitätsintervall durchschn. Aktivität Tag 6	<i>-0,10</i>	<i>0,873</i>	5	<i>-0,30</i>	<i>0,624</i>	5	<i>-0,70</i>	<i>0,188</i>	5	<i>0,70</i>	<i>0,188</i>	5	<i>0,40</i>	<i>0,505</i>	5
AW2 Ruheintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	<i>-0,10</i>	<i>0,873</i>	5	<i>-0,30</i>	<i>0,624</i>	5	<i>-0,70</i>	<i>0,188</i>	5	<i>0,70</i>	<i>0,188</i>	5	<i>0,40</i>	<i>0,505</i>	5
AW2 Ruheintervall durchschn. Aktivität Tag 6	<i>0,60</i>	<i>0,285</i>	5	<i>0,20</i>	<i>0,747</i>	5	<i>0,00</i>	<i>1,000</i>	5	<i>0,00</i>	<i>1,000</i>	5	<i>0,10</i>	<i>0,873</i>	5

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, AW2 = Actiwatch2, TST = effektive Schlafdauer (*total sleep time*), SPT = Gesamtschlafdauer (*sleep period time*); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A36 Korrelationskoeffizienten zwischen Nachtschlaf-Variablen und Verhaltensaspekten der älteren schlechten Schläferinnen

Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Variablen zur Struktur des Nachtschlafes und der im Freien verbrachten Zeit sowie der subjektiv und objektiv bestimmten körperlichen Aktivität am betreffenden Untersuchungstag bei älteren schlechten Schläferinnen.

	Ältere schlechte Schläferinnen														
	TST S3 (%)			TST S4 (%)			Schlafeffizienz (%)			Einschlaf latenz (min)			SPT % Wach		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Zeitraum im Freien Tag 6 (min)	-0,20	0,582	10	0,59	0,071	10	-0,24	0,497	10	0,04	0,906	10	0,28	0,427	10
Sport Tag 6 (min)	-0,09	0,815	9	0,84	0,005	9	-0,04	0,926	9	0,02	0,963	9	0,16	0,673	9
AW2 Aktivitätsintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	0,00	1,000	8	-0,19	0,651	8	0,14	0,736	8	0,17	0,693	8	-0,26	0,531	8
AW2 Aktivitätsintervall durchschn. Aktivität Tag 6	-0,19	0,651	8	0,02	0,955	8	0,26	0,531	8	0,21	0,610	8	-0,24	0,570	8
AW2 Ruheintervall Gesamtaktivitätswert Tag 6	-0,52	0,183	8	-0,86	0,007	8	0,07	0,867	8	-0,02	0,955	8	-0,02	0,955	8
AW2 Ruheintervall durchschn. Aktivität Tag 6	-0,62	0,102	8	-0,76	0,028	8	0,19	0,651	8	-0,17	0,693	8	-0,02	0,955	8

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl, AW2 = Actiwatch2, TST = effektive Schlafdauer (*total sleep time*), SPT = Gesamtschlafdauer (*sleep period time*); signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

A37 Korrelationskoeffizienten zwischen der subjektiven und objektiven Schlafeffizienz (%) und dem Body-Mass-Index (BMI) sowie dem Körperfettanteil der Probandinnen

Korrelationskoeffizienten zwischen der subjektiven Schlafeffizienz während der Untersuchungswoche bzw. der objektiven Schlafeffizienz am sechsten Untersuchungstag und der Fettmasse bzw. dem BMI bei allen vier Probandengruppen.

	Jüngere Probanden						Ältere Probanden						Ältere gute Schläferinnen						Ältere schlechte Schläferinnen					
	Schlafeffizienz (%) - DGSM			Schlafeffizienz (%)			Schlafeffizienz (%) - DGSM			Schlafeffizienz (%)			Schlafeffizienz (%) - DGSM			Schlafeffizienz (%)			Schlafeffizienz (%) - DGSM			Schlafeffizienz (%)		
	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N
Fettmasse (kg)	0,51	0,077	13	0,22	0,469	13	0,13	0,573	20	-0,03	0,893	23	<i>0,10</i>	<i>0,798</i>	9	<i>-0,53</i>	<i>0,139</i>	9	-0,24	0,475	11	-0,07	0,823	14
BMI (kg/m ²)	0,37	0,210	13	0,13	0,680	13	0,20	0,389	20	-0,04	0,850	23	<i>0,12</i>	<i>0,765</i>	9	<i>-0,45</i>	<i>0,224</i>	9	-0,03	0,927	11	-0,06	0,851	14

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson bzw. Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Probandenzahl; signifikante Korrelationen sind in Fettdruck dargestellt, Korrelationen nach Spearman sind kursiv dargestellt

Danksagung

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. M. Dittmar herzlich danken für die Bereitstellung des Themas, die Bereitstellung der benötigten Geräte und Materialien, die Unterstützung bei der Anwendung des Statistikprogramms SPSS und die gute Betreuung während der Entstehung dieser Arbeit.

Danke an Herrn Prof. Dr. Roeder für die Übernahme des Zweitgutachtens und die Bereitschaft, dieses in einem verkürzten Zeitraum zu erstellen.

Ein Dank geht auch an das Zentrum für Biochemie und Molekularbiologie der CAU Kiel für die Möglichkeit den LightCycler kostenlos nutzen zu können.

Bei meinen aktuellen und ehemaligen Kollegen Stefanie Anders, Denise Olbrich und Daniel Schütz möchte ich mich für die vielen netten Gespräche fachlicher und nicht-fachlicher Art, hilfreiche Ratschläge und ihre aufmunternden Worte zur richtigen Zeit bedanken.

Ein ganz großer Dank geht auch an Hanno Müller-Kalthoff, Matthias Burhenne und Sabine Smolorz, die schon wissen, wofür.

Mein besonderer Dank gilt den Probandinnen, die sich freiwillig und unentgeltlich für die Teilnahme an dieser Studie zur Verfügung gestellt haben.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und besonders meinen Eltern danken, die mich in jeder Lebenslage unterstützen und nie ihren Glauben an mich verlieren.

Erklärung

Erklärung

Ich versichere hiermit an Eides statt, dass die Abhandlung - abgesehen von der Beratung durch meine Betreuerin Frau Prof. Dr. M. Dittmar - nach Inhalt und Form meine eigene Arbeit ist. Diese Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden. Ich habe keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet. Wörtlich oder inhaltlich aus anderen Quellen entnommenen Stellen sind als solche gekennzeichnet.

Ich erkläre hiermit, dass ich bis zum heutigen Tage weder an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel noch an einer anderen Hochschule ein Promotionsverfahren endgültig nicht bestanden habe oder mich in einem entsprechenden Verfahren befinde oder befunden habe. Die Arbeit hat weder ganz noch in Teilen einer anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen.

Teile dieser Arbeit wurden bereits im Rahmen eines Kongresses veröffentlicht:

1) 10. Internationaler Kongress der Gesellschaft für Anthropologie (GfA), 2013, Bozen

Poster:

Tina Hollerbuhl und Manuela Dittmar: Young and older healthy women differ in their sleep timing and cortisol concentration after awakening, but not in their sleep structure

2) 12. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Gerontologie und Geriatrie, 2014, Halle

Poster:

Tina Hollerbuhl und Manuela Dittmar: On the relationship of nocturnal distal skin temperature with sleep quality in healthy older subjects

Tina Hollerbuhl

Kiel, den 19.11.2015