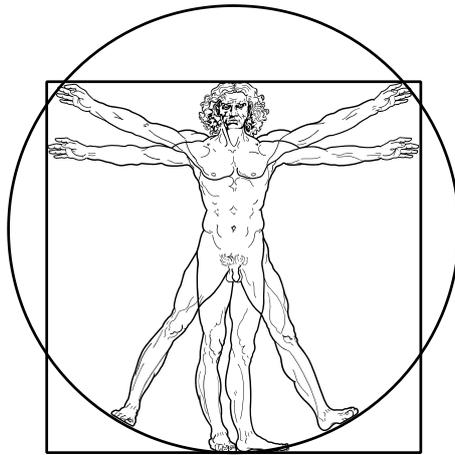


**Zum Zusammenhang zwischen Energiestoffwechsel,
Körperzusammensetzung, Cortisolkonzentration und
genetischen Varianten beim Menschen**



Dissertation

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

vorgelegt von
Jana Rathje, M. Sc.
Kiel
Januar 2020

Erste/r Gutachter/in:.....Prof. Dr. M. Dittmar

Zweite/r Gutachter/in:.....Prof. Dr. T. Roeder

Tag der mündlichen Prüfung:.....17. April 2020

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	v
Abbildungsverzeichnis	ix
Tabellenverzeichnis	xii
1 Einleitung	1
1.1 Energiestoffwechsel und Ernährung	1
1.1.1 Energiestoffwechsel	1
1.1.2 Ernährung	3
1.1.3 Körperzusammensetzung	5
1.2 Zentrale Steuerung des Stoffwechsels durch Hypothalamus und Hypophyse	5
1.3 Hormone und Hormonsystem	7
1.3.1 Hormone und Hormonrezeptoren.....	7
1.3.2 Glucocorticoide	8
1.3.3 Cortisol	10
1.3.4 Glucocorticoidrezeptor	13
1.4 Circadiane Rhythmik und Uhrengene	15
1.4.1 Circadiane Rhythmik.....	15
1.4.2 Uhrengene	15
2 Fragestellungen	19
3 Probandinnen	25
4 Materialien	28
5 Methoden	31
5.1 Studienablauf.....	31
5.2 Fragebogenerhebungen	33
5.2.1 Allgemeiner Fragebogen	33
5.2.2 Fragebogen zur Ernährung	33
5.2.3 „Morningness-Eveningness Questionnaire“	34

5.2.4 „Pittsburgh-Sleep-Quality-Index“	35
5.2.5 „Epworth Sleepiness Scale“	36
5.2.6 „Perceived Stress Scale“	36
5.2.7 Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität.....	37
5.3 Probandenprotokoll und Tagesstressfragen.....	37
5.4 Anthropometrie und physiologische Methoden	38
5.4.1 Anthropometrie und Bestimmung von Blutdruck und Herzfrequenz	38
5.4.2 Bioelektrische Impedanzanalyse zur Bestimmung der Körperzusammensetzung..	40
5.4.3 Aktigraphie zur Bestimmung des Energieverbrauchs	42
5.5 Erfassung der Umgebungslichtintensität.....	46
5.6 Konzentrationsbestimmung von Cortisol.....	47
5.6.1 Speichelprobensammlung zur Cortisolanalyse	47
5.6.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	50
5.7 Molekulargenetische Methoden	52
5.7.1 Gewinnung von Mundschleimhautzellen für molekulargenetische Analysen	52
5.7.2 Photometrische Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren.....	54
5.7.3 Polymerase-Kettenreaktion	55
5.7.4 Agarose Gelelektrophorese	57
5.7.5 Sanger-Sequenzierung.....	58
5.8 Statistische Methoden	59
6 Ergebnisse	61
6.1 Deskriptive Kennzeichen der Probandinnen	61
6.1.1 Soziodemografische Merkmale der Probandinnen.....	61
6.1.2 Allgemeine Kennzeichen der Probandinnen	62
6.1.3 Anthropometrische Merkmale und Körperzusammensetzung der Probandinnen...	63
6.1.4 Energiehaushalt der Probandinnen	63
6.1.5 Cortisolkonzentrationen der Probandinnen	66

6.1.6 Umgebungslichtintensität während der morgendlichen Speichelprobensammlung	67
6.1.7 Blutdruck und Herzfrequenz der Probandinnen	67
6.1.8 Ernährungsgewohnheiten der Probandinnen	68
6.1.9 Verteilung der Genotypen und Allelträgerinnen	68
6.2 Äußere Einflüsse auf die Cortisolkonzentration	71
6.2.1 Umgebungslicht und Cortisolkonzentration	71
6.2.2 Orale Kontrazeptiva und Cortisolkonzentration	72
6.3 Zusammenhänge zwischen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung, Cortisolkonzentration und weiteren physiologischen- sowie ernährungsbezogenen Aspekten	74
6.3.1 Energiehaushalt und Cortisolkonzentration	74
6.3.2 Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration	81
6.3.3 Blutdruck, Herzfrequenz und Cortisolkonzentration	84
6.3.4 Ernährung und Cortisolkonzentration	86
6.4 Gruppenvergleiche nach Energiehaushalt und Körperzusammensetzung	88
6.4.1 Gruppenunterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G im GR SNP rs41423247	88
6.4.2 Gruppenunterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des <i>CLOCK</i> SNP rs3749474	97
6.4.3 Gruppenunterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C des <i>CLOCK</i> SNP rs4580704	102
7 Diskussion	103
7.1 Zu allgemeinen und deskriptiven Merkmalen des Probandenkollektivs und der Bedeutung von äußeren Einflüssen auf die Cortisolkonzentration	103
7.2 Zu Zusammenhängen zwischen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung, Cortisolkonzentration und weiteren physiologischen- sowie ernährungsbezogenen Aspekten	106
7.2.1 Zusammenhang zwischen Energiehaushalt und Cortisolkonzentration	106
7.2.2 Zusammenhang zwischen Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration	108

7.2.3 Zusammenhang zwischen Blutdruck, Herzfrequenz und Cortisolkonzentration..	111
7.2.4 Zusammenhang zwischen Ernährung und Cortisolkonzentration.....	112
7.3 Zu Gruppenvergleichen nach Energiehaushalt und Körperzusammensetzung.....	114
7.3.1 Gruppenvergleich des Allel G des GR SNP rs41423247	114
7.3.2 Gruppenvergleich des Allel T des <i>CLOCK</i> SNP rs3749474.....	117
7.3.3 Gruppenvergleich des Allel C des <i>CLOCK</i> SNP rs4580704	120
7.4 Methodenkritik	121
7.5 Ausblick	124
8 Zusammenfassung.....	126
9 Summary	128
10 Literatur	130
11 Anhang	145
Danksagung.....	147
Erklärung.....	148

Abkürzungsverzeichnis

3 β -HSD	3-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase
11 β -HSD I	11-beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ I
11 β -HSD II	11-beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Typ II
α	Phasenwinkel
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
AEE	arbeitsinduzierte Thermogenese (<i>activity energy expenditure</i>)
AOK	Anwenderinnen oraler Kontrazeptiva
ASQ	<i>anticipatory stress questionnaire</i>
BCM	Körperzellmasse (<i>body cell mass</i>)
BF	Körperfett (<i>body fat</i>)
BIA	bioelektrische Impedanzanalyse
<i>BMAL1</i>	<i>brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like1</i>
BMI	<i>body mass index</i>
BMR	Grundumsatz (<i>basal metabolic rate</i>)
bpm	Schläge pro Minute (<i>beats per minute</i>)
CAR	Cortisol-Aufwachreaktion (<i>cortisol awakening response</i>)
CBG	Corticosteroid bindendes Globulin (<i>corticosteroid-binding globulin</i>)
<i>CLOCK</i>	<i>circadian locomotor output cycles kaput</i>
CRH	<i>corticotropin-releasing hormone</i>
<i>CRY</i>	<i>Cryptochrome</i>
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DIT	nahrungsinduzierte Thermogenese (<i>diet-induced thermogenesis</i>)
D-MEQ	deutsch-validierte Version des <i>morningness-eveningness questionnaire</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
ddNTP	Didesoxynukleosidtriphosphat
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat

ECM	extrazelluläre Masse (<i>extracellular mass</i>)
ECW	extrazelluläres Wasser (<i>extracellular water</i>)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EE	Energieverbrauch (<i>energy expenditure</i>)
ESS	<i>Epworth sleepiness scale</i>
FFM	fettfreie Masse (<i>fat-free mass</i>)
FMZ	Probandinnen mit freiem Menstruationszyklus
GC	Glucocorticoide
GR	Glucocorticoid-Rezeptor
GRE	<i>glucocorticoid-responsive element</i>
GU	Grundumsatz
HCL	Summenformel Salzsäure
HPA-Achse	Hypothalamisch-Hypophysär-Nebennierenrinden-Achse (<i>hypothalamic pituitary adrenocortical axis</i>)
HPG-Achse	Hypothalamisch-Hypophysär-Gonadale-Achse (<i>hypothalamic pituitary gonadal axis</i>)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (<i>high performance liquid chromatography</i>)
HSP	Hitzeschockproteine
ICW	intrazelluläres Wasser (<i>intracellular water</i>)
IKMB	Institut für klinische Molekularbiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
LBM	Magermasse (<i>lean body mass</i>)
MW	Mittelwert
MEMS	<i>medication event monitoring system</i>
MET	metabolisches Äquivalent (<i>metabolic equivalent of task</i>)
MSH	Mundschleimhautzellen
N	Individuenanzahl
NNR	Nebennierenrinde

OD	optische Dichte
PAL	physischer Aktivitätslevel
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (<i>polymerase chain reaction</i>)
<i>PER</i>	<i>Period</i>
PSQI	<i>Pittsburgh sleep quality index</i>
PSS	<i>perceived stress scale</i>
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren (<i>polyunsaturated fatty acids</i>)
R	Resistenz
rcf	relative Zentrifugalkraft (<i>relative centrifugal force</i>)
REE	Ruheenergieumsatz (<i>resting energy expenditure</i>)
<i>REV-ERBα/β</i>	<i>nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1</i>
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RHT	Retino-Hypothalamischer Trakt
RNA	Ribonukleinsäure (<i>ribonucleic acid</i>)
rpm	Umdrehungen pro Minute (<i>revolutions per minute</i>)
SCN	suprachiasmatischer Nucleus
SD	Standardabweichung
SEE	Schlafenergieverbrauch (<i>sleep energy expenditure</i>)
SNP	Einzel-Nukleotid Polymorphismus (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
SOD	<i>slope of decline</i>
StAR	<i>steroid acute regulator</i> –Protein
SWA	SenseWear-Armband
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE-Puffer	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
TBF	Gesamtkörperfett (<i>total body fat</i>)
TBW	Gesamtkörperwasser (<i>total body water</i>)
TEF	nahrungsinduzierte Thermogenese (<i>thermic effect of food</i>)

TE-Puffer	biochemischer Puffer (wässrige Lösung) aus TRIS und EDTA
TF	Transkriptionsfaktor
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
UTR	<i>untranslated region</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation (<i>World Health Organization</i>)
Xc	Reaktanz
Z	Impedanz
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Prozentuale Verteilung des täglichen Energieverbrauchs.	2
Abb. 2: Hormonelle Steuerung durch Hypothalamus und Hypophyse.	7
Abb. 3: Hypothalamisch-Hypophysär-Adrenale Achse (HPA-Achse).	11
Abb. 4: Intrazelluläre Zirkulation des Glucocorticoidrezeptors (GR).	13
Abb. 5: Schematischer Überblick über Glucocorticoidrezeptor-Gen und Lokalisation des Polymorphismus rs41423247.	14
Abb. 6: Überblick über die molekulare circadiane Uhr.	17
Abb. 7: Schematischer Überblick über das CLOCK Gen und Lokalisation der Polymorphismen rs3749474 und rs4580704.	18
Abb. 8: Studienablauf.	32
Abb. 9: Korrekte Körperhaltung zur Bestimmung von Herzfrequenz und Blutdruck.	40
Abb. 10: Schematische Abbildung des Messprinzips der Bioimpedanzanalyse (BIA).	41
Abb. 11: Ansicht SenseWear® Armband in Draufsicht und Überblick der verschiedenen Sensoren auf der Geräterückseite.	43
Abb. 12: Schematischer Überblick korrektes Anlegen des SenseWear® Armbands am dominanten Oberarm.	44
Abb. 13: Actiwatch 2 mit Lichtsensor.	47
Abb. 14: MEMS®-Schraubdeckel mit Sammelgefäß klein.	49
Abb. 15: Funktionsprinzip eines kompetitiven enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).	51
Abb. 16: Prozentuale Häufigkeit des Gesundheitsstatus.	62
Abb. 17: Cortisolkonzentrationen im Tagesverlauf für Tag 1 und Tag 2.	67
Abb. 18: Verteilung der Genotyphäufigkeiten.	69
Abb. 19: Allelträgerinnenhäufigkeiten CLOCK SNP rs374947.	69
Abb. 20: Allelträgerinnenhäufigkeiten CLOCK SNP rs4580704.	70
Abb. 21: Allelträgerinnenhäufigkeiten GR SNP rs41423247.	70
Abb. 22: Exemplarisches Gelbild für die drei analysierten Polymorphismen.	71
Abb. 23: Unterschied in der Cortisol-Konzentration beim Zubettgehen an Tag 0 zwischen Anwenderinnen und Nicht-Anwenderinnen von oralen Kontrazeptiva.	73
Abb. 24: Unterschied in der Cortisol-Konzentration 30 Min. nach dem Aufwachen an Tag 2 zwischen Anwenderinnen und Nicht-Anwenderinnen von oralen Kontrazeptiva.	74

Abb. 25: Zusammenhang zwischen dem Grundumsatz (nach WHO) und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.....	76
Abb. 26: Zusammenhang zwischen dem aus dem Schlafenergieverbrauch (SEE) berechnetem Grundumsatz und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.	76
Abb. 27: Zusammenhang zwischen dem 24-Std-Gesamtenergieverbrauch und der Cortisolkonzentration 30 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.....	77
Abb. 28: Zusammenhang zwischen der Magermasse und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.....	82
Abb. 29: Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.....	83
Abb. 30: Zusammenhang zwischen dem Hüftumfang und der Cortisolkonzentration 60 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.....	83
Abb. 31: Zusammenhang zwischen dem systolischen Blutdruck und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1.....	85
Abb. 32: Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz und der Cortisolkonzentration 60 Min. nach dem Aufwachen an Tag 2.	86
Abb. 33: Zusammenhang zwischen der aufgenommenen Wassermenge und der Cortisolkonzentration 45Minuten nach dem Erwachen an Tag 2.	87
Abb. 34: Unterschied im aktiven Energieverbrauch zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	91
Abb. 35: Unterschied in der Dauer der körperlichen Aktivität zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	91
Abb. 36: Unterschied in den durchschnittlichen METs zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	92
Abb. 37: Unterschied in den METs zum Schlafenergieverbrauch in Nacht 1 zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.....	92
Abb. 38: Unterschied im systolischen Blutdruck zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.....	93
Abb. 39: Unterschied im diastolischen Blutdruck zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.....	94
Abb. 40: Unterschied im Body Mass Index zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	96
Abb. 41: Unterschied im Taillenumfang zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	97

Abb. 42: Unterschied im Bauchumfang zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	97
Abb. 43: Unterschied im Grundumsatz zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474.	99
Abb. 44: Unterschied in der Magermasse zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474.	99
Abb. 45: Unterschied in der Körperzellmasse zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474.	100
Abb. 46: Unterschied im Körpergewicht zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474.	100
Abb. 47: Unterschied im BMI zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474.	101
Abb. 48: Unterschied im Taillenumfang zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474.	101

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht Literatur zu GR Polymorphismus rs41423247 in Hinblick auf anthropometrische Merkmale, Körperzusammensetzung und Blutdruck.	21
Tab. 2: Übersicht Literatur zu CLOCK rs3749474 in Hinblick auf anthropometrische Merkmale und Energieaufnahme.	23
Tab. 3: Übersicht über die mittels Aktigraphie bestimmten Variablen.	45
Tab. 4: Definition der verschiedenen Aktivitätsstufen laut Hersteller des Aktigraphiegeräts.	46
Tab. 5: 50µl-Ansatz für eine PCR.	56
Tab. 6: Thermocycler-Bedingungen für eine PCR.	57
Tab. 7: Annealing-Temperatur der verwendeten Primer.	57
Tab. 8: Übersicht über die verwendeten Primersequenzen.	57
Tab. 9: Körperlicher Aktivitätsgrad der Probandinnen während des Untersuchungszeitraums.	63
Tab. 10: Überblick über anthropometrische Merkmale sowie mittels BIA bestimmte Merkmale zur Körperzusammensetzung der Probandinnen.	63
Tab. 11: Überblick über Merkmale des Energiehaushalts der Probandinnen ermittelt mit Aktigraphie.	65
Tab. 12: Überblick über Cortisolkonzentrationen der Probandinnen.	66
Tab. 13: Umgebungslichtintensität während morgendlicher Speichelprobensammlung.	67
Tab. 14: Physiologische Merkmale der Probandinnen.	67
Tab. 15: Überblick über die Nährstoffaufnahme der Probandinnen/Tag.	68
Tab. 16: Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und Umgebungslichtintensität.	72
Tab. 17: Übersicht mittlere Cortisolkonzentration bei FMZ und AOK.	73
Tab. 18: Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und Parametern des Energieverbrauchs bei Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR-Polymorphismus rs41423247.	79
Tab. 19: Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und Schlafenergieverbrauch bei Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR-Polymorphismus rs41423247.	81
Tab. 20: Übersicht über Energiehaushalt und Vitalparameter bei Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.	90
Tab. 21: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des GR SNP rs41423247 hinsichtlich Energiehaushalt und Vitalparametern.	95
Tab. 22: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des GR SNP rs41423247 hinsichtlich anthropometrischer Merkmale und Körperzusammensetzung.	96

Tab. 23: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des CLOCK SNP rs3749474 hinsichtlich Körperzusammensetzung und anthropometrischer Merkmale.	98
Tab. 24: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des CLOCK SNP rs4580704 hinsichtlich Körperzusammensetzung und anthropometrischen Merkmalen.....	102

1 Einleitung

1.1 Energiestoffwechsel und Ernährung

In Zeiten eines überwiegend bewegungsarmen Lebensstils im beruflichen wie z.T. auch im privaten Kontext, bei einem gleichzeitig ubiquitären Angebot an Convenience-Food, stellen Übergewicht und Adipositas u.a. aktuell primäre Risikofaktoren für die allgemeine Gesundheit in der westlichen Wohlstandsgesellschaft dar (URL [1], Gallus *et al.* 2015). Es ist weithin bekannt, dass Übergewicht und Adipositas mit einer Vielzahl an gesundheitlichen Risiken wie bspw. Bluthochdruck, Arteriosklerose, kardiovaskuläre Erkrankungen und Diabetes einhergehen (OECD 2012; Gallus *et al.* 2015). In den letzten Jahrzehnten hat das Bewusstsein für diese potentiellen gesundheitlichen Risiken, die mit einem inaktiven Lebensstil sowie einer ungesunden Ernährung einhergehen, in der Bevölkerung stark zugenommen. Dementsprechend ist das Interesse der breiten Öffentlichkeit an gesundheitsorientierter Forschung in Bezug auf Energiestoffwechsel und Ernährung stark angestiegen.

1.1.1 Energiestoffwechsel

Jedes Individuum verbraucht Energie, um seine körpereigene Homöostase aufrechtzuerhalten. So wird Energie bspw. für die Aufrechterhaltung chemischer sowie elektrochemischer Gradienten, den Aufbau von Makromolekülen, Kreislauf, Atmung, Körpertemperatur und Muskelkontraktionen verbraucht (Müller *et al.* 2006). Der Energiebedarf von Individuen annähernd gleicher Statur und Körperhöhe kann beträchtlich variieren, wohingegen der individuelle Energieverbrauch sehr konstant ist, sofern Körpergewicht und körperliche Aktivität gleichbleibend sind (Astrup *et al.* 1992). Der tägliche Energiebedarf setzt sich aus drei verschiedenen Anteilen zusammen (Abb. 1). So macht der Ruheenergieverbrauch (REE = *Resting Energy Expenditure*) ca. zwei Drittel des täglichen Energieverbrauchs (EE = *Energy Expenditure*) aus (Astrup *et al.* 1992). Der REE liegt etwa 5 bis 10% über dem Grundumsatz (BMR = *basal metabolic rate*) und wird aktuell aufgrund von weniger strengen Messbedingungen dem BMR vorgezogen (Müller *et al.* 2006). Dementsprechend repräsentiert der REE die grundlegende Energiemenge, die zum Erhalt der wichtigsten Körperfunktionen (z.B. Stoffwechsel, Atmung) benötigt wird. Durch körperliche Aktivität entsteht die sogenannte arbeitsinduzierte Thermogenese (AEE = *Activity Energy Expenditure*), welche laut Müller *et al.* (2006) bei einem eher inaktiven Lebensstil ca. 20 bis 30 % des täglichen EE ausmacht. Weitere 5 bis 10 % des täglichen EE sind durch die nahrungsinduzierte Thermogenese (DIT = *diet-induced thermogenesis* oder TEF = *thermic effect of food*) bedingt

(Müller *et al.* 2006). Als DIT wird die zusätzlich zum REE benötigte Energiemenge bezeichnet, welche für die Aufnahme, Aufspaltung und Verwertung der Nahrungsbestandteile benötigt wird. Da der Großteil des täglichen EE durch den REE bestimmt wird, sind die eingangs erwähnten verschiedenen Energieumsätze bei annähernd gleicher Körperhöhe hauptsächlich durch Unterschiede im REE bedingt. Laut Bogardus *et al.* (1986) sind 82% der Abweichungen des REE auf Unterschiede in der Körperzusammensetzung, genauer gesagt auf den Anteil der Magermasse (LBM = *lean body mass*), zurückzuführen. Zu einem deutlich geringeren Anteil beeinflussen laut Bogardus *et al.* auch das Geschlecht, Alter sowie Familienzugehörigkeit die individuelle Höhe des REE. Weitere Determinanten des Energieverbrauchs stellen laut Müller *et al.* (2006) u.a. der Ernährungszustand, endokrine Faktoren, Krankheiten und der Genotyp dar. Der zweitgrößte Anteil am gesamten EE entfällt auf die AEE, die durch körperliche sowie sportliche Aktivitäten bedingt ist. Körperliche Aktivität bezeichnet laut Jordan *et al.* (2012) alle körperlichen Aktivitäten, die bedingt durch den Einsatz der Skelettmuskulatur den Energieumsatz im Vergleich zum REE erhöhen. Darunter fallen alle körperlichen Tätigkeiten im privaten und beruflichen Umfeld sowie diejenigen, die der Fortbewegung dienen. Dazu können auch sportliche Aktivitäten zählen, wobei bei sportlichen Aktivitäten der Leistungsaspekt im Vordergrund steht, wohingegen bei körperlichen Aktivitäten stets der positive Effekt auf die Gesundheit überwiegt (Jordan *et al.* 2012).

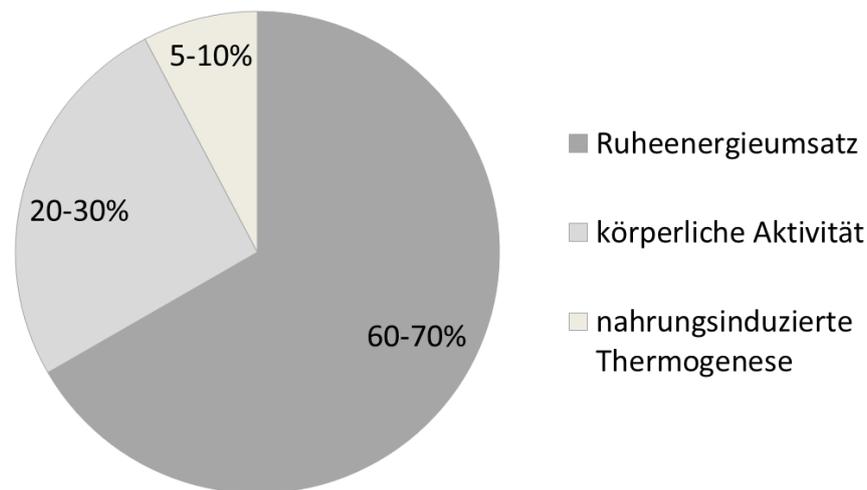


Abb. 1: Prozentuale Verteilung des täglichen Energieverbrauchs.

Der Energieverbrauch kann mittels direkter oder indirekter Kalorimetrie bestimmt werden. Dabei geht das Prinzip der Messung auf den ersten Hauptsatz der Thermodynamik zurück, wonach in einem geschlossenen System Energie weder erzeugt noch vernichtet werden kann (Müller *et al.* 2006). Stark vereinfacht stellt der Mensch hierbei das geschlossene System dar, welches über die Nahrung Energie aufnimmt und im Rahmen des Stoffwechsels ständig Energie verbraucht oder in Form von Speicherstoffen einlagert. Energie, welche nicht chemisch, thermisch oder in einer anderen Form gespeichert wird und keine Arbeit mehr verrichten kann, erscheint gemäß dem Energieerhaltungssatz als Wärme (Müller *et al.* 2006). Die direkte Kalorimetrie beruht auf der Messung der abgegebenen Körperwärme bei körperlicher Ruhe (Müller *et al.* 2006). Indirekt wird die Wärmeabgabe und damit der Energieverbrauch über den für die Verwertung der Nahrung benötigten Sauerstoffverbrauch und die dabei entstehende Kohlendioxidproduktion ermittelt (Müller *et al.* 2006; Schmidt & Lang 2007). Eine weitere Methode zur Bestimmung des Energieverbrauchs ist die Aktigraphie. Hierbei wird der Energieverbrauch durch die Aufzeichnung von Ruhe- und Aktivitätsphasen sowie durch die Bestimmung der Intensität der aktiven Phasen mit Hilfe von Beschleunigungssensoren ermittelt (Welk 2002; Crouter *et al.* 2006; Ndahimana & Kim 2017). Die Aktigraphie stellt in der Praxis eine einfache und nicht-invasive Methode dar, welche problemlos zum Monitoring eines gesamten Studienzeitraums verwendet werden kann.

1.1.2 Ernährung

Über die Nahrung muss dem Körper die benötigte Energie regelmäßig zugeführt werden. Ferner werden über die Nahrung auch lebenswichtige Nährstoffe und Mineralstoffe aufgenommen. Generell unterscheidet man zwischen Makro- und Mikronährstoffen. Zu den Makronährstoffen zählen Fette, Eiweiße und Kohlenhydrate (Bellissimo & Akhavan 2015), die als Energielieferanten oder Baustoffe dienen und von denen der Körper relativ große Mengen benötigt. Zu den Mikronährstoffen werden die Vitamine und Mineralstoffe gezählt, die z.B. Bestandteile von Enzymen sind. Diese benötigt der Körper in deutlich geringeren Mengen.

Makronährstoffe

Fette stellen eine sehr komplexe Stoffgruppe dar und beinhalten die Gruppen der Triglyceride, Phospholipide und Sterole (Bellissimo & Akhavan 2015). Laut diesen Autoren stellt die Gruppe der Triglyceride die im Körper und der Nahrung am häufigsten vorkommende Gruppe dar. Der Übersichtlichkeit halber werden hier nur zwei gängige Klassifizierungen von Fetten vorgestellt. Dies ist laut Bellissimo & Akhavan (2015) einerseits die Unterteilung anhand der Kettenlänge in kurz-, mittel- und langkettige Fettsäuren, andererseits unterteilen die Autoren anhand des Sättigungsgrads in gesättigte, einfach-ungesättigte und mehrfach-ungesättigte Fettsäuren. Fette

stellen den Hauptenergielieferanten für den Organismus sowie gleichzeitig eine langfristige Reserve desselbigen dar (Elmadfa & Leitzmann 2019). Neben diesem primären Beitrag für den Energiehaushalt haben Fette noch zahlreiche weitere wichtige Funktionen im menschlichen Körper. So sind sie ein wichtiger Bestandteil der Zellmembranen sowie der Membranen der Zellorganellen (Elmadfa & Leitzmann 2019). Weiterhin stellen sie eine wichtige Ausgangssubstanz für weitere biologische Verbindungen (bspw. Prostaglandine) dar (Elmadfa & Leitzmann 2019). Auch eine Schutzfunktion fällt in den Aufgabenbereich der Fette. So dienen sie einerseits als Wärmeschutz, da Fette eine Isolationsschicht bilden und somit dem Wärmeverlust des Körpers entgegen wirken (Elmadfa & Leitzmann 2019), andererseits dienen Fette auch dem Schutz der inneren Organe gegenüber mechanischen Einflüssen. So polstert das Eingeweidefett bspw. innere Organe wie Leber oder Nieren ab. Ferner dient Fett auch als Polster für bewegliche Organe, wie z.B. für den Augapfel (Elmadfa & Leitzmann 2019). Abschließend zählen Fette außerdem zu den Trägern der fettlöslichen Vitamine und sind damit essentiell für eine gesunde und ausgewogene Ernährung.

Kohlenhydrate stellen eine leicht verwertbare und dadurch bevorzugte Energiequelle mit einer hohen Verfügbarkeit dar (Elmadfa & Leitzmann 2019). Sie lassen sich in drei Hauptkategorien unterteilen: Ballaststoffe, Zucker und Stärke (Bellissimo & Akhavan 2015). Die Zucker werden anhand der Kettenlänge in Monosaccharide (Einfachzucker), Disaccharide (Zweifachzucker), Oligosaccharide (Mehrfachzucker) und Polysaccharide (Vielfachzucker) unterschieden. Zu den Monosacchariden zählen bspw. Glucose und Fructose, wohingegen Lactose und Maltose zu den Disacchariden gezählt werden (Bellissimo & Akhavan 2015). Das geläufigste Polysaccharid stellt die Stärke dar. Die mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate werden vom Körper entweder direkt zur Energiegewinnung im Rahmen der Glykolyse eingesetzt oder in Form von Glykogen gespeichert (Elmadfa & Leitzmann 2019).

Proteine sind komplexe Biomoleküle, die aus den Grundbausteinen, den Aminosäuren, aufgebaut sind. Im Gegensatz zu den Fetten und Kohlenhydraten stellen die Proteine eher eine untergeordnete Energiequelle dar (Elmadfa & Leitzmann 2019). Vielmehr dienen sie der Synthese von Körpermasse sowie der Erneuerung von Zell- und Gewebemasse aus dem katabolen Stoffwechsel (Elmadfa & Leitzmann 2019). Proteine finden sich weiterhin als wichtige Bestandteile u.a. in Hormonen, Enzymen, Transportproteinen und Immunglobulinen.

1.1.3 Körperzusammensetzung

Ernährung und Energiestoffwechsel beeinflussen die individuelle Körperzusammensetzung. Unter standardisierten Bedingungen ist die Zusammensetzung des menschlichen Körpers jedoch festgesetzt und unterscheidet sich bei gleichem Alter, Geschlecht und Ernährungsstatus nur unwesentlich (Elmadfa & Leitzmann 2019). Für die Beschreibung der Körperzusammensetzung existieren verschiedene Kompartiment-Modelle. Nach dem Zwei-Kompartiment-Modell setzt sich das Körpergewicht aus der Fettmasse (TBF, *total body fat*) und der fettfreien Masse (FFM, *fat-free mass*) zusammen. Das Drei-Kompartiment-Modell differenziert die FFM zusätzlich in extrazelluläre Masse (ECM, *extracellular mass*) und Körperzellmasse (BCM, *body cell mass*) (Elmadfa & Leitzmann 2019). Des Weiteren kann beim Drei-Kompartiment-Modell eine Ausweisung des Körperwassers erfolgen. Dieses wird in das intrazelluläre Wasser (ICW, *intracellular water*), welches zur BCM gehört und das extrazelluläre Wasser (ECW, *extracellular water*), welches zur ECM gehört, unterteilt. ICW plus ECW ergibt das Gesamtkörperwasser (TBW, *total body water*). Die Bestimmung der Körperzusammensetzung kann u.a. mittels Bioimpedanzanalyse (BIA) erfolgen. Diese stellt eine einfache und nicht-invasive Methode zur Bestimmung der einzelnen Körperkompartimente dar.

1.2 Zentrale Steuerung des Stoffwechsels durch Hypothalamus und Hypophyse

Der Hypothalamus ist ein Teilbereich des Gehirns, der zum Zwischenhirn, dem sog. Diencephalon, gezählt wird (Schmidt & Lang 2007). Er wird in verschiedene funktionelle Kerngebiete, sog. Nuclei, unterteilt. Der Hypothalamus ist reziprok mit fast allen Gebieten des zentralen Nervensystems (ZNS) verbunden und stellt das Integrationszentrum homöostatischer Regulationen dar (Kleine & Rossmanith 2014). So koordiniert er neuroendokrine und vegetative Regulationen (Spinas *et al.* 2011). Die Steuerung der homöostatischen Funktionen erfolgt über die Ausschüttung von Hormonen, welche in sog. neurosekretorischen Zellen des Hypothalamus gebildet werden (Kleine & Rossmanith 2014). Funktionen, die der Kontrolle des Hypothalamus unterliegen, sind laut (Schmidt & Lang 2007) u.a.:

- Thermoregulation
- Reproduktion, sexuelle Reifung
- Flüssigkeitshomöostase/Osmoregulation
- Regulation von Nahrungsaufnahme und Metabolismus
- Zeitorganisation von Körperfunktionen/circadiane und endogene Rhythmik
- Körperabwehr (z.B. bei Schmerz u. Stress)

- Immunabwehr

Die hypothalamischen Hormone zur regulativen Steuerung werden in sog. *releasing-* und *release-inhibiting-*Hormone (sekretionsfördernde oder sekretionshemmende Hormone) unterschieden (Spinas *et al.* 2011). Sie wirken auf spezifische Zellpopulationen in der Hypophyse und stimulieren respektive hemmen die Hormonbildung und Sekretion vor Ort (Abb. 2).

Die Hypophyse bildet eine funktionelle Einheit mit dem Hypothalamus und ist an der Basis des Gehirns lokalisiert (Spinas *et al.* 2011). Sie hat eine übergeordnete Rolle bei der Regulation der Hormonsysteme inne und ist über den Hypophysenstiel und die umliegenden Blutgefäße mit dem Hypothalamus verbunden (Kleine & Rossmann 2014). Die Hypophyse wird in zwei Regionen unterteilt, den vorderen Hypophysenlappen (Adenohypophyse) und den hinteren Hypophysenlappen (Neurohypophyse) (Spinas *et al.* 2011). Die beiden Hypophysenlappen entstammen entwicklungsgeschichtlich unterschiedlichen Regionen, diese Tatsache schlägt sich auch in ihrer Funktion nieder. So enthält die Adenohypophyse endokrines Drüsengewebe und kann unter der Kontrolle des Hypothalamus eigenständig Hormone produzieren (Spinas *et al.* 2011). Dahingegen stellt die Neurohypophyse eine Ausstülpung des Zwischenhirns dar, da dort die Axone der neurosekretorischen Zellen des Hypothalamus enden bzw. bis an die Blutkapillaren der Neurohypophyse reichen (Kleine & Rossmann 2014). Dementsprechend fungiert die Neurohypophyse als Speicher- und Sekretionsorgan der Hormone, die im Hypothalamus gebildet werden.

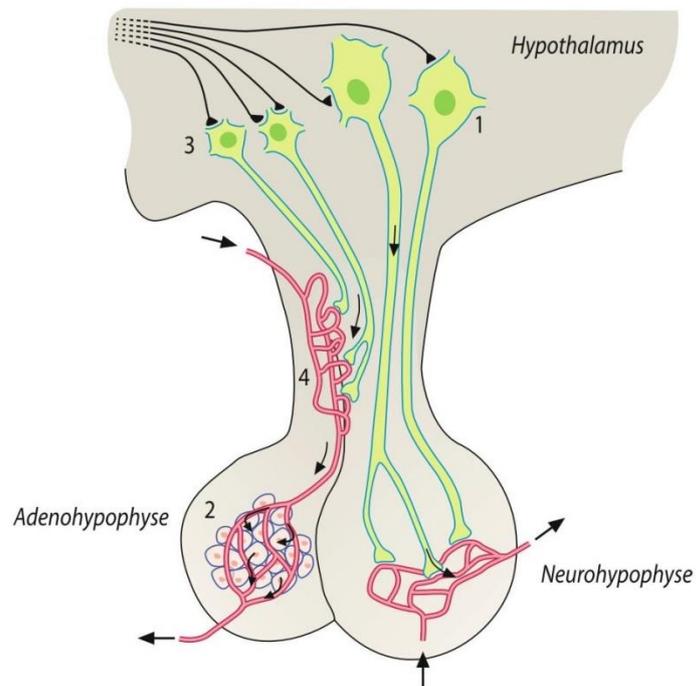


Abb. 2: Hormonelle Steuerung durch Hypothalamus und Hypophyse.

Die Hormone des Hypothalamus erreichen über die Axone der neurosekretorischen Zellen die Blutkapillaren der Neurohypophyse und werden dort abgegeben (1). In spezialisierten Zellen der Adenohypophyse werden glandotrope Hormone produziert und an das Blut abgegeben (2). Die Hormonproduktion der Adenohypophyse unterliegt dabei der Kontrolle der releasing- und release-inhibiting Hormone, welche von den neuroendokrinen Zellen des Hypothalamus (3) gebildet und in das Portalblut der Hypophyse abgegeben werden (4). Verändert nach Schmidt & Lang (2007).

1.3 Hormone und Hormonsystem

1.3.1 Hormone und Hormonrezeptoren

Hormone sind Botenstoffe welche von endokrinen Drüsen gebildet und ausgeschüttet werden sowie über die Blutbahn zu den Zielzellen gelangen (Kleine & Rossmannith 2014). Sie fungieren dementsprechend als Kommunikationsmittel zwischen entfernt gelegenen Organen oder Geweben, welche keine direkte Verbindung untereinander haben. Die Spezifität der Hormonwirkung wird über spezielle Rezeptoren erreicht. Nur die Zielzellen mit den für das entsprechende Hormon bestimmten Rezeptoren können auf das Hormon reagieren (Kleine & Rossmannith 2014). Einige Hormone benötigen für den Transport über die Blutbahn sog. Transportproteine, andere wiederum nicht. Der zuvor beschriebene Wirkmechanismus über eine weite Distanz – Bildung in einem Organ und Wirkung in einem weiter entfernten Organ – wird als endokrin bezeichnet. Zusätzlich wird bei der Hormonwirkung zwischen einer sog. parakrinen und auto-krinen Wirkung unterschieden (Kleine & Rossmannith 2014). Bei der parakrinen Wirkung wirkt das Hormon direkt auf die benachbarten bzw. umliegenden Zellen, dementsprechend kurz ist die Halbwertszeit dieser Hormone im Blut (Schmidt & Lang 2007; Kleine & Rossmannith 2014).

Eine autokrine Wirkung ist durch eine Einwirkung auf die hormonproduzierende Zelle selbst gekennzeichnet (Schmidt & Lang 2007). Neben diesen verschiedenen Wirkformen werden auch mehrere Stoffklassen von Hormonen unterschieden. Die beiden bekanntesten sind die Peptidhormone und die Steroidhormone. In dieser Arbeit soll im Folgenden jedoch nur auf die Steroidhormone näher eingegangen werden. Zu den Steroidhormonen zählen bspw. Östradiol und Testosteron oder die Gluco- und Mineralocorticoide Cortisol und Aldosteron (Kleine & Rossmannith 2014). Die hormonelle Steuerung des Organismus unterliegt der zentralen Kontrolle durch das Gehirn. So stellt der Hypothalamus die oberste Kontrollinstanz dar, aus dem Organismus kommende Reize werden dort verarbeitet und integriert (Kleine & Rossmannith 2014). Schlussfolglich produzieren die neurosekretorischen Zellen des Hypothalamus hormonelle Botenstoffe, welche in die Hypophyse gelangen und dort wiederum die Freisetzung weiterer Hormone bewirken. Diese gelangen über die Blutbahn in die Zielorgane wie z.B. die Nebennierenrinde (NNR).

Wie zuvor bereits beschrieben, entfalten Hormone ihre Wirkung in den Zielzellen über spezielle Rezeptoren. Dabei handelt es sich um Proteine, welche durch die Bindung des jeweils spezifischen Hormons ihre Struktur verändern (Schmidt & Lang 2007). Diese Strukturänderung bewirkt eine intrazelluläre Kaskade, auf welcher schlussendlich die Hormonwirkung beruht (Schmidt & Lang 2007). Man unterscheidet hauptsächlich in die G-Protein gekoppelten Membranrezeptoren und die intrazellulären Rezeptoren für Steroid- und Schilddrüsenhormone (Kleine & Rossmannith 2014). Im weiteren Verlauf dieser Arbeit soll lediglich auf die intrazellulären Rezeptoren der Steroidhormone näher eingegangen werden. Diese wirken nach Bindung des Hormons überwiegend auf die Transkription von Genen im Zellkern ein und regulieren dadurch die Synthese entsprechender Proteine (Schmidt & Lang 2007). Die Reaktionen auf die hormonvermittelten Veränderungen der Genaktivitäten bedürfen einer Antwortzeit im Bereich von vielen Minuten bis Stunden (Kleine & Rossmannith 2014).

1.3.2 Glucocorticoide

Als Glucocorticoide (GC) bezeichnet man eine Klasse von Steroidhormonen. Die Namensgebung erfolgte aufgrund ihrer Funktion im Glucose-Stoffwechsel. Die Hauptfunktion stellt dabei die Freisetzung von Glucose aus Glykogen im Rahmen der Gluconeogenese dar. GC werden wie alle Steroidhormone aus dem Membranlipid Cholesterin aufgebaut. Zellen, die Steroidhormone bilden, besitzen das sog. StAR-Protein (*steroid acute regulator*), mit dessen Hilfe das Cholesterin aus der Plasmamembran in die Mitochondrien verlagert wird (Kleine & Rossmannith 2014). Dort erfolgt der erste Schritt der Steroidsynthese, die Umwandlung von Cholesterin in

Pregnenolon. Ausgehend vom Pregnenolon werden alle humanen Steroidhormone über zahlreiche Umwandlungsschritte gebildet. Für diese diversen Umwandlungsschritte werden jeweils spezielle Enzyme benötigt. Dementsprechend entscheidet die jeweilige Enzymausstattung einer Zelle über die Entstehung des jeweiligen Steroidhormons (Kleine & Rossmann 2014). So ist für die Entstehung von Cortisol bspw. eine andere Enzymkombination vonnöten als für die Bildung von Testosteron.

GC werden in der NNR gebildet. Die natürlich vorkommenden GC sind Cortisol, Corticosteron und Cortison. Beim Menschen ist das wichtigste GC das Cortisol, wohingegen bei Nagetieren das Corticosteron überwiegt (Buckingham 2006). Cortison stellt die durch Oxidation inaktive Form von Cortisol dar. Neben den natürlichen Varianten existiert auch eine Vielzahl an synthetisch herstellbaren GC, die in Form von Medikamenten Anwendung finden, wie z.B. Prednisolon oder Dexamethason.

GC haben eine Vielzahl von Wirkungen auf den Organismus. Unter physiologischen Bedingungen zählt dazu primär die Energiebereitstellung im Rahmen der Gluconeogenese (Schmidt & Lang 2007). Dazu greifen GC u.a. in die Regulation von Lipogenese, Lipolyse und den Glucoseverbrauch ein (Buckingham 2006). GC hemmen die DNA-Synthese (Desoxyribonukleinsäure, *deoxyribonucleic acid*), die RNA (Ribonukleinsäure, *ribonucleic acid*)- sowie Proteinsynthese (Spinas *et al.* 2011) in den meisten Geweben. Sie stimulieren den Proteinkatabolismus und stellen durch all diese Eingriffe in den Metabolismus Substrate für den Intermediärstoffwechsel bereit (Spinas *et al.* 2011). Andererseits bewirken sie jedoch den Abbau von Knochen, Bindegewebe und Muskeln (Spinas *et al.* 2011). Weiterhin bestehen auch immunsuppressive und entzündungshemmende Wirkungen (Buckingham 2006).

Ein Mangel oder Überschuss an endogenen oder exogenen GC führt zu einer Fülle von unerwünschten Effekten. Der Überschuss an GC wird als Morbus Cushing bezeichnet und kann endogen oder exogen (haupts. langfristige Einnahme von GC) begründet sein. Hierbei kommt es u.a. zu einer nachteiligen Umverteilung von Fettgewebe mit der Ausprägung von zentralem Übergewicht (Stammfettsucht), charakteristischem Mondgesicht und Stiernacken, ferner kommt es zu einem Abbau von Proteinmasse einhergehend mit Muskelschwäche. Weiterhin kann es zu Hyperglykämie, Insulinresistenz, Diabetes, Bluthochdruck, erhöhten Cholesterinwerten, veränderten Serum-Lipidwerten, Immundefizienz sowie weiteren endokrinen und mentalen Störungen kommen (Buckingham 2006). Der Mangel an GC kann durch Morbus Addison (Autoimmunerkrankung, die GC-synthetisierendes Gewebe zerstört), das Androgenitale Syndrom (ererbte Stoffwechselerkrankung mit gestörter Hormonsynthese in NNR) oder

eine Hypophyseninsuffizienz verursacht werden (Buckingham 2006). Ein Mangel an GC ist gekennzeichnet durch eine verminderte Stresstoleranz, Überschuss an weißen Blutzellen, Hypertrophie von Lymphgewebe, Hypotonie, Stimmungsschwankungen, Schwachheit/Lethargie, Gewichtsverlust sowie Hypoglykämie (Buckingham 2006).

1.3.3 Cortisol

Wie im Abschnitt zuvor bereits beschrieben, stellt Cortisol das primäre GC beim Menschen dar (Buckingham 2006). Es wird in einer von drei verschiedenen funktionellen Zonen der NNR gebildet, welche aufgrund der unterschiedlichen Enzymmuster verschiedene Hormone produzieren (Kleine & Rossmanith 2014). Cortisol wird in der sog. *Zona fasciculata* gebildet (Buckingham 2006). Die Bildung unterliegt der zentralen Steuerung durch Hypothalamus und Hypophyse (Buckingham 2006). Dieser Steuerungsmechanismus wird auch als Hypothalamisch-Hypophysär-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) bezeichnet. Dabei stellt die HPA-Achse eine Hauptkomponente in der Stressantwort des Organismus dar (Adam *et al.* 2017). Der Hypothalamus veranlasst über die Sekretion eines *releasing*-Hormons, dem *corticotropin-releasing-hormon* (CRH) die Produktion und Sekretion des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) im Hypophysenvorderlappen (Buckingham 2006). Dieses wiederum bewirkt in der *Zona fasciculata* der NNR die Bildung von Cortisol. Der gesamte Mechanismus wird durch eine negative Rückkopplungsschleife gehemmt (Buckingham 2006). So bewirkt die Konzentration von Cortisol im Blut eine Hemmung der Sekretion von CRH und ACTH. Dementsprechend reguliert Cortisol seine eigene Synthese und Exkretion. Abb. 3 veranschaulicht den zuvor beschriebenen Mechanismus der HPA-Achse.

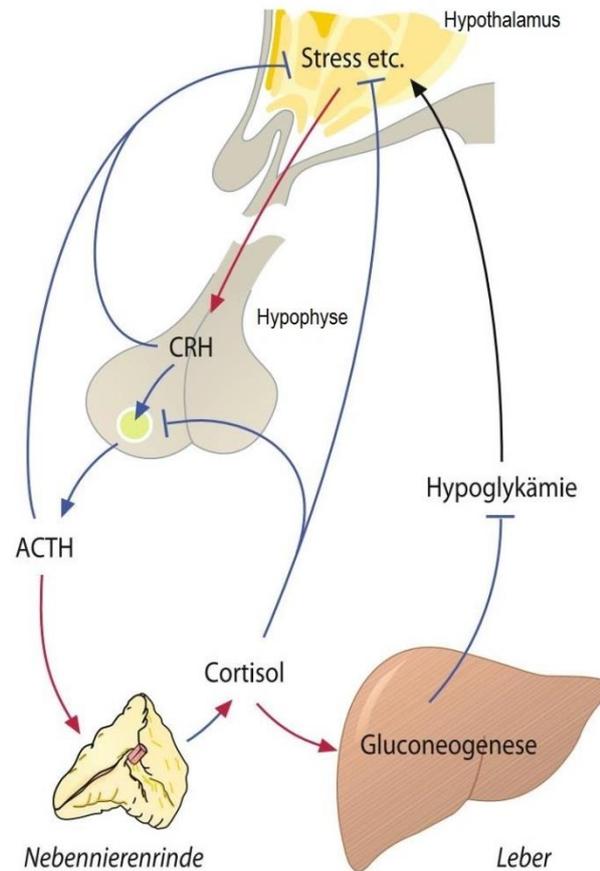


Abb. 3: Hypothalamisch-Hypophysär-Adrenale Achse (HPA-Achse).

Hemmungen sind blau dargestellt, Aktivierungen rot. Ausgehend vom Hypothalamus wird Corticotropin-releasing Hormon (CRH) ausgeschüttet, welches in der Hypophyse die Bildung und Exkretion des Adrenocorticotropen Hormons (ACTH) veranlasst. ACTH bewirkt in der Nebennierenrinde die Freisetzung von Cortisol. Sowohl CRH und ACTH als auch Cortisol selber bewirken eine negative Rückkopplung der eigenen Synthese. Cortisol fördert die Gluconeogenese und stellt damit eine Versorgung des Gehirns (und des gesamten Metabolismus) mit Energie in Zeiten erhöhter Anforderungen sicher. Verändert nach Schmidt & Lang (2007).

Der Cortisol-Metabolismus unterliegt jedoch nicht nur zentraler Kontrolle, sondern wird auch auf peripherer Ebene reguliert (van Rossum & Lamberts 2004). Das Enzym 11-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase II (11β -HSD II) inaktiviert hauptsächlich in der Niere Cortisol zur inaktiven Form Cortison (van Rossum & Lamberts 2004). Der umgekehrte Prozess, die Aktivierung von Cortisol aus Cortison, wird mit Hilfe des Enzyms 11-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase I (11β -HSD I) bewerkstelligt (van Rossum & Lamberts 2004). Dieses Enzym kommt u.a. im Fettgewebe und in der Leber vor (Rask *et al.* 2001).

Im Blut wird Cortisol zu 75% gebunden an das Corticosteroid-bindende Globulin (CBG, *corticosteroid-binding globulin*) und zu 15% gebunden an Albumin transportiert (Spinas *et al.* 2011). Lediglich 10% liegen frei gelöst vor, dabei ist zu beachten, dass nur das freie Cortisol biologisch aktiv ist (Spinas *et al.* 2011). Nur die Konzentration des ungebundenen

Cortisol ist maßgeblich für den Effekt auf die Zielgewebe (Kudielka *et al.* 2012). Das protein-gebundene Cortisol dient zur Aufrechterhaltung von konstanten Plasmakonzentrationen (Krumbholz 2017). Der Abbau von Cortisol erfolgt über Konjugation zu wasserlöslichen Metaboliten in der Leber und Exkretion über die Nieren.

Die Cortisolsekretion erfolgt pulsatil und einer circadianen Rhythmik folgend (Buckingham 2006). Die höchsten Konzentrationen sind typischerweise innerhalb von 30 bis 45 Minuten nach dem Aufwachen zu beobachten. Im weiteren Tagesverlauf ist eine kontinuierliche Abnahme der Konzentration zu beobachten, bis im ersten Nachtdrittel die geringste Konzentration erreicht ist (Davidson *et al.* 1991; Blagrove *et al.* 2012). Über den weiteren Verlauf der Nacht zum nächsten Morgen zeigt sich wieder ein kontinuierlicher Anstieg der Konzentration (Davidson *et al.* 1991). Der Anstieg innerhalb der ersten Stunde nach dem Erwachen ist typischerweise vergleichsweise steil und wird als sog. Cortisol-Aufwachreaktion (*cortisol awakening response*, CAR) bezeichnet (Clow *et al.* 2004). Die CAR wird üblicherweise neben der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt des Aufwachens und dem Abfall der Cortisolkonzentration über den Tagesverlauf (*slope of decline*, SOD) für die Darstellung des Cortisolprofils herangezogen.

Cortisol wird neben der circadianen Rhythmik auch als Antwort auf Stress gebildet, weswegen es landläufig auch als „Stresshormon“ bezeichnet wird (Buckingham 2006). Seine Hauptfunktion als GC ist die Anregung der Gluconeogenese in der Leber. Neben der Gluconeogenese wird durch Cortisol auch die Glykogensynthese aktiviert. Glucose wird in Glykogenspeicher eingebaut und die Aufnahme sowie Verwertung von Glucose in den Muskeln gehemmt (Kleine & Rossmannith 2014). Ferner werden Lipide unter der Kontrolle von Cortisol abgebaut, Lipidspeicher umgeschichtet und die Menge aller Lipoproteine im Blut gesteigert (Kleine & Rossmannith 2014). Das hat einen beschleunigten Lipidtransport zur Folge. Damit wirkt Cortisol bei Stress den Wirkungen von Adrenalin entgegen. Adrenalinausschüttung führt zur Leerung der Glykogenspeicher. Cortisol hilft diese Speicher auf Kosten von Proteinen und Lipiden wieder aufzufüllen (Kleine & Rossmannith 2014). Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass Cortisol als GC einer Mobilisierung von körpereigenen Reserven in Stresssituationen dient. Weiterhin hemmt Cortisol andere hormonelle Regelkreise, wie z.B. die HPA-Achse und die Hypothalamisch-hypophysäre-gonadale Achse (HPG-Achse) (Kleine & Rossmannith 2014).

1.3.4 Glucocorticoidrezeptor

Seine Wirkung erzielt Cortisol hauptsächlich über die Bindung an spezielle intrazelluläre Hormonrezeptoren der Zielzellen, die sog. Glucocorticoidrezeptoren (GR) (Buckingham 2006). Der GR ist ein Kernrezeptor im Zytosol reaktiver Zellen, wie bspw. Leber, Fettgewebe, Lunge und zentralem Nervensystem (Kleine & Rossmann 2014). Im inaktivierten Zustand liegt der GR assoziiert mit Begleitproteinen im Zytosol vor (Gehring 2004). Cortisol diffundiert passiv ins Zytosol und bildet dort mit dem GR einen Hormonrezeptorkomplex (Abb. 4). Durch die Bindung von Cortisol an den GR kommt es zur Abspaltung der Begleitproteine und damit zu einer Aktivierung des GR bzw. des Hormonrezeptorkomplexes (Gehring 2004). Dieser aktivierte Komplex transloziert wiederum in den Zellkern und bindet als Dimer an spezifische DNA-Sequenzen (*Glucocorticoid-responsive element*, GRE) (Wang & Harris 2015). Mit Hilfe von verschiedenen Koaktivatoren bzw. –repressoren führt dies zur Stimulation bzw. Hemmung der Transkription von Zielgenen (Gehring 2004). Aufgrund der Wirkung über intrazelluläre Rezeptoren (Einflussnahme auf Transkriptionsvorgänge) entfalten GC wie Cortisol ihre biologische Wirkung relativ langsam, diese hält wiederum eine gewisse Zeit an, nachdem die GC abgebaut wurden (Buckingham 2006). Das Gen für den menschlichen GR ist auf Chromosom 5 lokalisiert (Francke & Foellmer 1989) und wird in nahezu allen Geweben exprimiert (Gehring 2004). Die Zellantwort auf GC beruht jedoch nicht nur auf dem Vorhandensein von GR, sondern auch auf der Konzentration des GR in der Zielzelle (Buckingham 2006).

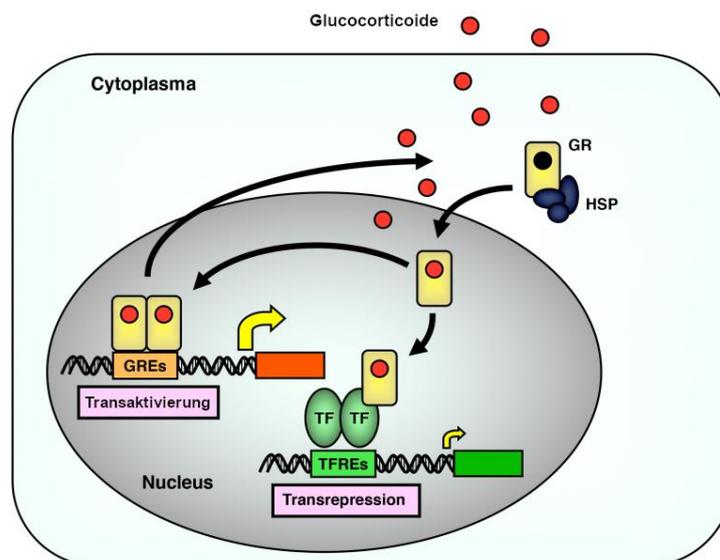


Abb. 4: Intrazelluläre Zirkulation des Glucocorticoidrezeptors (GR).

Im inaktivierten Zustand befindet sich der GR im Cytoplasma, assoziiert mit den Begleitproteinen (Hitzeschockproteine, HSP). Durch Bindung des Liganden (Glucocorticoid) dissoziieren die HSP ab, was zur Aktivierung des GR führt. Der aktivierte GR transloziert in den Zellkern und wirkt dort entweder in Form eines Homodimers als Transaktivator oder durch die Interaktion mit Transkriptionsfaktoren (TF) als Transrepressor. (Verändert nach [URL 2])

Die Reaktion auf GC variiert interindividuell stark. Diese Tatsache ist vermutlich teilweise auf genetische Varianten zurückzuführen (van Rossum & Lamberts 2004; Buckingham 2006). So werden z.B. Polymorphismen oder verschiedene Haplotypen von den Autoren als mögliche Einflussfaktoren in Betracht gezogen. Mit Hinblick auf genetische Variationen im GR werden zahlreiche physiologische Prozesse diskutiert wie z.B. die Entwicklung von Autoimmunerkrankungen, Einfluss auf die Körperzusammensetzung, Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen aber auch mentale Veränderungen wie Demenz und Depressionen (Koper *et al.* 2014).

Einer der bekanntesten Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (*single nucleotide polymorphism*, SNP) im GR-Gen ist der GR-Polymorphismus rs41423247. Dabei handelt es sich um einen C/G Austausch im Intron 2 des GR-Gens (van Rossum *et al.* 2003) (Abb. 5). Der Polymorphismus wurde ursprünglich mittels Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) entdeckt und nach dem verwendeten Restriktionsenzym BclI benannt (Murray *et al.* 1987; van Rossum *et al.* 2003). Das Allel G dieses speziellen Polymorphismus ist mit einer erhöhten Sensitivität für GC assoziiert und damit einhergehend mit nachteiligen metabolischen und vaskulären Effekten (Di Blasio *et al.* 2003; van Rossum *et al.* 2003; van Rossum & Lamberts 2004; Roerink *et al.* 2016). Durch welchen Mechanismus der Polymorphismus seine Effekte erzielt, ist bisher unklar (Koper *et al.* 2014).

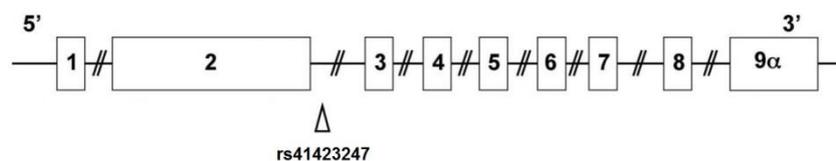


Abb. 5: Schematischer Überblick über Glucocorticoidrezeptor-Gen und Lokalisation des Polymorphismus rs41423247. (Verändert nach van Rossum *et al.* 2004)

1.4 Circadiane Rhythmik und Uhrengene

1.4.1 Circadiane Rhythmik

In der Natur unterliegen alle Prozesse einer gewissen zeitlichen Periodizität. So sind verschiedenste zeitliche Rhythmen bekannt, der Winterschlaf ist bspw. Teil von circaannualen Rhythmen, welche eine Periodenlänge von ungefähr einem Jahr aufweisen. Die Herzfrequenz zählt wiederum zu den ultradianen Rhythmen, welche eine Periodenlänge von weniger als 24 Stunden aufweisen. Eine Vielzahl physiologischer Prozesse unterliegt jedoch einer tageszeitlichen Schwankung mit einer Periode von annähernd 24 Stunden. Innerhalb dieser Zeitspanne erreicht der jeweilige Prozess sein Maximum und sein Minimum, wie es z.B. bei der tageszeitlichen Schwankung der Körperkerntemperatur zu beobachten ist (Aschoff 1965). Dieses Phänomen wird als circadiane Rhythmik bezeichnet – von *circa* = lat. etwa und *dies* = lat. Tag. Die Schwankungen der physiologischen Parameter durch die sog. innere Uhr haben das Ziel, den Organismus auf die Anforderungen im Tagesverlauf vorzubereiten (Albrecht & Eichele 2003; Sancar & Brunner 2014). So macht es bei Prädator-Spezies bspw. Sinn, dass der Peak der Leistungsfähigkeit für die energiebereitstellenden Organe und Muskeln auf den Zeitpunkt der Jagd fällt (Albrecht & Eichele 2003) und das Minimum auf die Erholungsphasen. Der wohl offenkundigste circadiane Rhythmus ist der Schlaf-Wach-Rhythmus. Weniger offensichtlich sind dahingegen die circadianen Rhythmen im Verlauf der Hauttemperatur, von Hormonkonzentrationen (wie bspw. ACTH und Cortisol) oder des Blutdrucks. All diese Rhythmen sind Ausdruck einer sog. physiologischen Uhr, welche die circadiane Rhythmik endogen generiert und durch sog. exogene Zeitgeber beeinflusst wird (Aschoff 1965; Roenneberg *et al.* 2007). Stärkster exogener Zeitgeber beim Menschen ist der Hell/Dunkel-Wechsel (Aschoff 1965). Weitere exogene Einflussfaktoren sind bspw. Nahrungsaufnahme, soziale Interaktionen oder körperliche Aktivität. Circadiane Rhythmen sind nicht nur auf den Menschen beschränkt, sondern vielmehr allgegenwärtig. Sie kommen bspw. bei Cyanobakterien, Pflanzen, Pilzen und im gesamten Tierreich vor (Sancar & Brunner 2014).

1.4.2 Uhrengene

Die endogen generierte Rhythmik beruht auf der Oszillation von sog. Uhrengenen. Diese bilden ein komplexes Netzwerk aus Rückkopplungsschleifen und bedingen durch ihr Zusammenspiel die circadiane Expression der Zielproteine (Reppert & Weaver 2002). Die zentrale Steuerung dieses Systems erfolgt über eine sog. Master-Uhr, welche im suprachiasmatischen Nuclei (SCN) des vorderen Hypothalamus lokalisiert ist (Reppert & Weaver 2001). Der SCN liegt direkt über der Kreuzung der Sehnerven (*Chiasma opticum*) und erhält über den retino-hypothalamischen Trakt (RHT) Lichtinformationen, um die Oszillation der inneren Uhr an den

24-Stunden-Tag anzupassen (entrainment) (Reppert & Weaver 2002). Neben der Master-Uhr existieren zahlreiche periphere Oszillatoren wie z.B. in Leber, Lunge, Nebennieren und anderen Geweben (Reppert & Weaver 2002; Valenzuela *et al.* 2008; Valenzuela *et al.* 2016). Zusammen mit verschiedenen Modulatoren hat das circadiane System einen Einfluss auf die Freisetzung von CRH und ACTH sowie u.a. auf steroidogene Enzyme wie das StAR-Protein oder 3 β -HSD (3-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase) (Torres-Farfan *et al.* 2009; Valenzuela *et al.* 2016) und bewirkt folglich eine circadiane Oszillation der Cortisol-Produktion (Buckingham 2006; Valenzuela *et al.* 2008; Torres-Farfan *et al.* 2009).

Die Steuerung der circadianen Rhythmik beruht auf einer autoregulatorischen transkriptionalen-translationalen Rückkopplungsschleife (Reppert & Weaver 2002; Lowrey & Takahashi 2004) (Abb. 6). Dabei kommt es zu einem komplexen Zusammenspiel von positiven und negativen Rückkopplungsschleifen, wodurch einige Genprodukte inaktiviert, andere hingegen aktiviert werden (Reppert & Weaver 2002; Buijs *et al.* 2003). Bestandteil der positiven Rückkopplungsschleife sind die Transkriptionsfaktoren BMAL1 (*brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1*) und CLOCK (*circadian locomotor output cycles kaput*) (Gekakis *et al.* 1998; Bunger *et al.* 2000). Zur negativen Rückkopplungsschleife werden *PER* (*Period*) und *CRY* (*Cryptochrome*) gezählt (Ando *et al.* 2010). Dabei bilden die Transkriptionsfaktoren BMAL1 und CLOCK Heterodimere aus und binden an die E-box Elemente in den regulatorischen Bereichen der Zielgene inklusive der zentralen Uhren-gene *PER* und *CRY* sowie *REV-ERBa*/ β (*nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1*) und *BMAL1* selbst (Albrecht & Eichele 2003; Sancar & Brunner 2014). Weiterhin bilden *CRY* und *PER* Proteine wiederum Oligomere aus, um vom Cytoplasma in den Nucleus transportiert zu werden. Im Nucleus unterdrücken *CRY* und *PER* ihre eigene Transkription, indem sie *CLOCK* und *BMAL1* inhibieren (negative Rückkopplungsschleife) (Albrecht & Eichele 2003). Zusätzlich sind die positive und negative Schleife miteinander verwoben. So bewirken die *BMAL1/CLOCK* Heterodimere zusätzlich die Expression des Orphan-Rezeptors *REV-ERBa*/ β (Albrecht & Eichele 2003). Dieser wiederum unterdrückt die Transkription von *BMAL1* durch Bindung an ein *REV-ERBa*/ β -response Element im *BMAL1* Promotor (Albrecht & Eichele 2003).

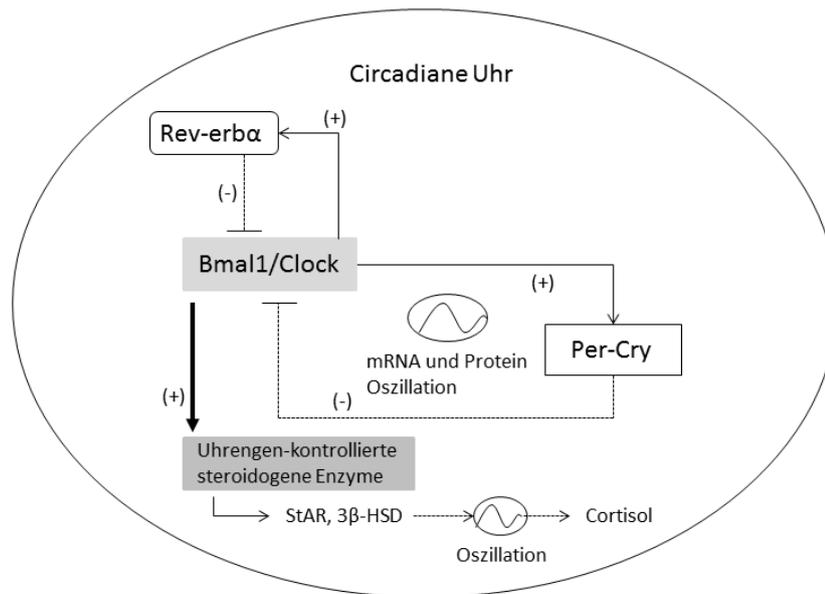


Abb. 6: Überblick über die molekulare circadiane Uhr.

Die molekulare Uhr besteht aus einer transkriptionalen/translationalen Rückkopplungsschleife. Der Komplex aus den Transkriptionsfaktoren *Bmal1/Clock* stimuliert die Expression der negativen Regulatoren *Per* und *Cry* und deren Protein inhibiert wiederum den heterodimeren Komplex aus *Bmal1/Clock*. *Rev-erba* fungiert als negativer Regulator der *BMAL1* Expression. Das molekulare System kontrolliert u.a. steroidogene Enzyme wie *StAR* und *3β-HSD* und generiert dadurch die circadiane Oszillation der Cortisol Sekretion. Verändert nach Valenzuela *et al.* (2016).

CLOCK als Transkriptionsfaktor ist nicht nur eine wichtige Komponente der molekularen circadianen Uhr, sondern das *CLOCK* Gen hat auch wichtige Funktionen bei der Regulation des Fett- und Glucosemetabolismus in peripheren Geweben, wie Fettgewebe, Muskeln und Leber (Yang *et al.* 2006). Ferner organisiert das circadiane System verschiedenste biologische Prozesse im 24-Stunden Rhythmus inkl. der Cortisolproduktion (Valenzuela *et al.* 2008). Studien zeigen Zusammenhänge zwischen uhren-gesteuerten Genen und nachgeschalteten intrazellulären Hormonrezeptoren, wie dem Glucocorticoidrezeptor (Yang *et al.* 2006). Zwei Polymorphismen im *CLOCK* Gen, welche mit Veränderungen hinsichtlich anthropometrischen und ernährungsbezogenen Aspekten in Verbindung gebracht worden sind, sind rs3749474 und rs4580704 (Sookoian *et al.* 2008; Garaulet *et al.* 2010a; Garaulet *et al.* 2010b; Valladares *et al.* 2015; Loria-Kohen *et al.* 2016). Abb. 7 zeigt einen schematischen Überblick über das *CLOCK* Gen, welches auf Chromosom 4 liegt. Der Polymorphismus rs3749474 ist in der 3' *untranslated region* (3' UTR) lokalisiert, hierbei handelt es sich um einen C > T Austausch. Dahingegen handelt es sich bei dem Polymorphismus rs4580704 um einen G > C Austausch in Intron 9.

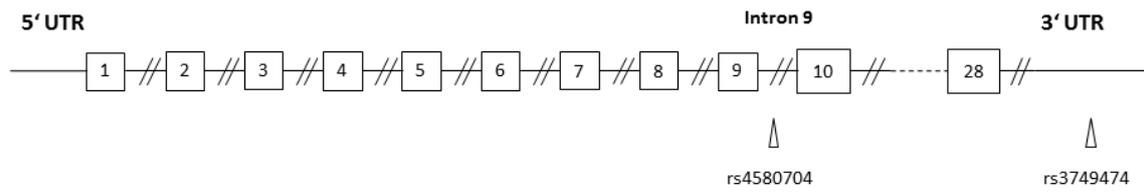


Abb. 7: Schematischer Überblick über das CLOCK Gen und Lokalisation der Polymorphismen rs3749474 und rs4580704. (Quelle: Autorin; Größe nicht maßstabsgetreu)

2 Fragestellungen

Uhrengene sind eng mit metabolischen Schaltkreisen verbunden (Sancar & Brunner 2014). Circadiane Uhren generieren rhythmisch die Expression und Aktivität von Schlüsselkomponenten des Metabolismus, welche ihrerseits auf translationaler sowie post-translationaler Ebene Einfluss auf das circadiane System nehmen (Sancar & Brunner 2014). So zeigen diverse Studien, dass die zentralen Uhrengene verstärkt in den Promotorregionen von Genen die am Metabolismus beteiligt sind auftreten, besonders bei Genen des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels (Feng *et al.* 2011; Rey *et al.* 2011; Bugge *et al.* 2012; Cho *et al.* 2012; Koike *et al.* 2012). Weiterhin koordiniert das circadiane System die Regulation des Energiehaushaltes, indem es Ruhe- und Aktivitätszyklen sowie den zeitlichen Ablauf der Nahrungsaufnahme über den Tagesverlauf steuert (Loria-Kohen *et al.* 2016). Mutationen der Uhrengene sind häufig mit metabolischen Defekten assoziiert bspw. im Fett- oder Glucose-Stoffwechsel (Sancar & Brunner 2014). Neben diesem Zusammenspiel zwischen circadianer Rhythmik und Metabolismus kann man ebenfalls eine enge Verbindung zwischen dem Hormonhaushalt und Uhrengenen beobachten. So unterliegt bspw. die Sekretion von Cortisol einer deutlichen circadianen Rhythmik (vergl. Abschnitt 1.3.3). Durch seine circadiane Sekretion stellt Cortisol in seiner Funktion als hormoneller Botenstoff einen Weg dar, über den zentrale circadiane Rhythmen an periphere biologische Systeme weitergeleitet werden (Bass & Lazar 2016; Man *et al.* 2016). Glucocorticoide wie Cortisol regulieren Energiehaushalt und Stoffwechsel sowohl beim Gesunden als auch bei krankhaften Veränderungen wie z.B. Morbus Cushing oder Morbus Addison (Arnaldi *et al.* 2003; Koper *et al.* 2014).

Es ist bekannt, dass die Cortisol-Sekretion und der Energieverbrauch beide zentral über den Hypothalamus gesteuert werden (Buckingham 2006; Hewagalamulage *et al.* 2016). Cortisol bewirkt generell die Bereitstellung von Energie in Form von Glucose, freien Fettsäuren und freien Aminosäuren. Studien zeigen, dass eine Aktivierung der HPA-Achse den Energieverbrauch erhöht (Tataranni *et al.* 1996), da zum einen vom Körper mehr Energie benötigt wird, zum anderen die körperlichen Anpassungsreaktionen selbst Energie benötigen. Weiterhin ist bekannt, dass Cortisol seine mannigfaltigen Wirkungen durch Einflussnahme in den Substratstoffwechsel vermittelt. So begünstigen bspw. dauerhaft erhöhte Konzentrationen von Glucocorticoiden eine Akkumulation von Fettgewebe, insbesondere viszerale und abdominale Fetteinlagerungen, bspw. bei der Einnahme von Cortison-Präparaten oder als Begleitsymptom bei Morbus Cushing (Buemann *et al.* 1997; van Rossum & Lamberts 2004; Buckingham 2006; Cellini *et al.* 2010). Andererseits stimulieren physiologische Dosen von Glucocorticoiden die

Lipolyse (Djurhuus *et al.* 2002). Genetische Varianten des GR-Gens sind mit verschiedenen metabolischen Parametern in Zusammenhang gebracht worden, ferner wird ein Zusammenhang bei der Entstehung von Übergewicht vermutet (Buemann *et al.* 1997; Di Blasio *et al.* 2003; Cellini *et al.* 2010; Koper *et al.* 2014).

Aufgrund der vorangehend erläuterten Assoziationen zwischen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung, Cortisol-Sekretion und dem circadianen System ist es interessant, zu verstehen, wie verschiedene genetische Komponenten sowie unterschiedliche Allel-Ausprägungen mit dem menschlichen Metabolismus in Zusammenhang stehen. Hauptaugenmerk liegt hierbei auf dem GR-Polymorphismus rs41423247. Das Allel G dieses speziellen Polymorphismus ist mit einer **erhöhten GC-Sensitivität** assoziiert (Kloet & Derijk 2004; van Rossum & Lamberts 2004; Koper *et al.* 2014; Porzezinska-Furtak *et al.* 2014). Studien beschreiben ferner einen Zusammenhang des GR-Polymorphismus rs41423247 mit verschiedenen **anthropometrischen Merkmalen** (bspw. Rosmond *et al.* 2000; Srivastava *et al.* 2011; Geelen *et al.* 2013; Taylor *et al.* 2014; Yan *et al.* 2014). Hinsichtlich des Einflusses des GR-Polymorphismus rs41423247 auf den **BMI** existieren jedoch widersprüchliche Literaturbefunde (Buemann *et al.* 1997; Rosmond *et al.* 2000; Di Blasio *et al.* 2003; van Rossum *et al.* 2003; Rutters *et al.* 2011; Geelen *et al.* 2013; Porzezinska-Furtak *et al.* 2014). In Hinblick auf die **Körperzusammensetzung** existieren wenige Literaturbefunde. Lediglich Magermasse und Körperfett sind bisher in einzelnen Stichproben analysiert worden (Buemann *et al.* 1997; Tremblay *et al.* 2003; van Rossum *et al.* 2003; Rutters *et al.* 2011). Die Zusammenhänge zwischen dem Polymorphismus und dem **Blutdruck** sind in der Literatur uneinheitlich beschrieben (Rosmond *et al.* 2000; Ukkola *et al.* 2001; Di Blasio *et al.* 2003; van Rossum *et al.* 2003; Srivastava *et al.* 2011; Taylor *et al.* 2014; Yan *et al.* 2014). Daten, die anhand eines homogenen, jungen, gesunden, europäischen sowie ausschließlich weiblichen Probandenkollektivs unter natürlichen Bedingungen („normaler“ Lebensstil während Datenerhebung - keine Laborstudie) erhoben wurden, liegen jedoch so gut wie nicht vor. Eine Übersicht über bisherige Literaturbefunde bietet Tab. 1. Ferner existiert mit Hinblick auf den Zusammenhang zwischen Cortisol-Sekretion und Energieverbrauch so gut wie keine Forschungsliteratur (Wright *et al.* 2015).

Tab. 1: Übersicht Literatur zu GR Polymorphismus rs41423247 in Hinblick auf anthropometrische Merkmale, Körperzusammensetzung und Blutdruck.

Merkmal	N	Geschlecht	Alter (Jahre)	Gesund/Krank	Besonderheit	Herkunft	GR rs41423247 Allel G	Referenz
BMI (kg/m ²)	1228	M + W	64,7	Erkrankungen ? → Medikamenteneinnahme	2 Kohorten Studien teilw. BMI ≥ 30 kg/m ²	Europäer ? (Niederlande)	↑ ^{VG}	Geelen <i>et al.</i> 2013
	130	W	20-40	N = 59 MONW + 71 Gesunde		Europäer	↓	Porzezinska-Furtak <i>et al.</i> 2014
	1963 ^a 370 ^b	M + W ^a M ^b	55-80 ^a 77,8±0,2 ^b	„Gesunde“ ältere Probanden	3 versch. Studiengruppen		↓ ^{a,b, VG}	van Rossum <i>et al.</i> 2003
	279	M + W	45,6±0,9	Adipös (BMI 36-85 kg/m ²)		Europäer (Italien)	—	DiBlasio <i>et al.</i> 2003
	284	M	mittleres Alter (~51)			Europäer (Schweden)	↑ ^{VG}	Rosmond <i>et al.</i> 2000
	152	M + W	39-70			Europäer (Kanadier)	— ^{VG}	Buemann <i>et al.</i> 1997
	194	M + W	18-55	G		Europäer ? (Niederlande)	—	Rutters <i>et al.</i> 2011
Blutdruck (mmHg)	1963	M + W	55-80	„Gesunde“ ältere Probanden	s.o.		— ^{a, VG}	van Rossum <i>et al.</i> 2003
	435	o.A.	o.A.		N = 237 BMI < 25; N = 198 ≥ 25	Inder	↑ ^o ↑ ^{nod}	Srivastava <i>et al.</i> 2011
	892	M + W	30-65		N = 431 MetS Patienten; N = 461 KG	Asiaten (China)	↑	Yan <i>et al.</i> 2014
	279	M + W	45,6±0,9	Adipös (BMI 36-85 kg/m ²)		Europäer (Italien)	—	DiBlasio <i>et al.</i> 2003
	24	M	21±2	BMI = 19,7 ± 2,0 kg/m ²	eineiige Zwillinge „Gewichtszunahme-Studie“	Europäer ? (Kanadier)	↓ ^{VG}	Ukkola <i>et al.</i> 2001
	284	M	mittleres Alter (~51)			Europäer (Schweden)	↑ (nur Trend f. syst. BD) ^{VG}	Rosmond <i>et al.</i> 2000
	144	M	25,2 ± 0,4	G	Militärangehörige/Überlebens-training	Europäer (66,9%)	↑(signifik. f. DBD, Trend f. SBD)	Taylor <i>et al.</i> 2014
Hüftumfang (cm)	1228	M + W	64,7	Erkrankungen ? → Medikamenteneinnahme	2 große Kohorten Studien teilw. BMI ≥ 30 kg/m ²	Europäer ? (Niederlande)	↑ ^{VG}	Geelen <i>et al.</i> 2013
Tailenumfang (cm)	1228	M + W	64,7	s.o.	s.o.	s.o.	↑	Geelen <i>et al.</i> 2013
	892	M + W	30-65		N = 431 MetS Patienten; N = 461 KG	Asiaten (China)	↑	Yan <i>et al.</i> 2014
	194	M + W	18-55	G		Europäer ? (Niederlande)	—	Rutters <i>et al.</i> 2011
Tailen-Hüft-Index	1228	M + W	64,7	s.o.	s.o.	s.o.	— ^{VG}	Geelen <i>et al.</i> 2013
	1963 ^a 370 ^b	M + W ^a M ^b	55-80 ^a 77,8±0,2 ^b	„Gesunde“ ältere Probanden	3 versch. Studiengruppen		↓ ^{a, VG} — ^{b, VG}	van Rossum <i>et al.</i> 2003
	435	o.A.	o.A.		N = 237 (BMI < 25; N = 198 ≥ 25)	Inder	↑ ^o	Srivastava <i>et al.</i> 2011
	279	M + W	45,6±0,9	Adipös (BMI 36-85 kg/m ²)		Europäer (Italien)	—	DiBlasio <i>et al.</i> 2003
	284	M	mittleres Alter (~51)	s.o.		Europäer (Schweden)	↑ ^{VG}	Rosmond <i>et al.</i> 2000
	152	M + W	39-70			Europäer (Kanadier)	— ^{VG}	Buemann <i>et al.</i> 1997
	194	M + W	18-55	G		Europäer ? (Niederlande)	—	Rutters <i>et al.</i> 2011

Merkmal	N	Geschlecht	Alter (Jahre)	Gesund/Krank	Besonderheit	Herkunft	GR rs41423247 Allel G	Referenz
Körpergewicht (kg) (Zunahme durch Überernährung)	24	M	21±2		12 eineiige Zwillingspaare „Gewichtszunahme-Studie“ BMI = 19,7 ± 2,0 kg/m ²	Europäer ? (Kanadier)	↓ ^{VG}	Ukkola <i>et al.</i> 2001
abdominales Fett (Zunahme durch Überernährung)	24	M	21±2		12 eineiige Zwillingspaare „Gewichtszunahme-Studie“ BMI = 19,7 ± 2,0 kg/m ²	Europäer ? (Kanadier)	↓	Ukkola <i>et al.</i> 2001
subkutanes Fett (Zunahme durch Wachstumsprozess)	173	M + W	~ 14 ^c ~ 26 ^d	G	Studie an Heranwachsenden → Folgeuntersuchung nach 12 Jahren	Europäer ? (Kanadier)	↓ ^{VG} (CG) signifik. bei W; Trend bei M	Tremblay <i>et al.</i> 2003
viszerales Fett (abdominal sagittaler Durchmesser)	284	M	mittleres Alter (~51)			Europäer (Schweden)	↑ ^{VG}	Rosmond <i>et al.</i> 2000
abdominales viszerales Fett	152	M + W	39-70			Europäer (Kanadier)	↑ ^{VG} (GG) signifik. bei M; Trend bei W	Buemann <i>et al.</i> 1997
%Fett	152	M + W	39-70			Europäer (Kanadier)	— ^{VG}	Buemann <i>et al.</i> 1997
	194	M + W	18-55	G		Europäer ? (Niederlande)	—	Rutters <i>et al.</i> 2011
Magermasse	370	M	77,8±0,2	s.o.	s.o.	s.o.	↓ ^{b, VG} Trend	van Rossum <i>et al.</i> 2003
Energieverbrauch (kcal/Tag)	279	M + W	45,6±0,9	Adipös (BMI 36-85 kg/m ²)		Europäer (Italien)	—	DiBlasio <i>et al.</i> 2003

M = Männer
W = Frauen
N = Individuenanzahl
G = Gesund
GR = Glucocorticoid Rezeptor
o.A. = ohne Angabe
MONW = metabolisch adipös aber normalgewichtig (*metabolic obese but normal weight*)
MetS = Metabolisches Syndrom
KG = Kontrollgruppe
↑ = assoziiert mit Erhöhung d. Merkmals
↓ = assoziiert mit Verminderung des Merkmals
— = kein Zusammenhang beobachtet
a = Studiengruppe 2
b = Studiengruppe 3
o = adipös
nod = nicht-adipös nur diastolischer BD
c = Studienphase 1
d = Studienphase 2
VG = Vergleich von Genotypen

Für das *CLOCK*-Gen wurden Zusammenhänge hinsichtlich kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Übergewicht und Fettstoffwechselstörungen beschrieben (Gomez-Delgado *et al.* 2015). Damit einhergehend zeigen Sookoian *et al.* (2008) signifikante Assoziationen zwischen diversen *CLOCK* Polymorphismen und Übergewicht sowie Adipositas. Ferner wurde eine Verbindung zwischen Polymorphismen im *CLOCK*-Gen und Ess- sowie Schlafgewohnheiten

berichtet (Garaulet *et al.* 2012), welche wiederum eine Prädisposition für Übergewicht darstellen können (Sookoian *et al.* 2008). Deng *et al.* (2002) zeigen eine mögliche Assoziation der *CLOCK* Gen Lokalisation (Chromosom 4q12) mit Übergewicht.

Die Uhrengenvariante *CLOCK* rs3749474 steht in engem Zusammenhang mit Unterschieden hinsichtlich **BMI, Körpergewicht, Taillenumfang** und **Energieaufnahme** (Garaulet *et al.* 2010a; Garaulet *et al.* 2010b; Valladares *et al.* 2015; Loria-Kohen *et al.* 2016). Dahingegen wurden für den *CLOCK* SNP rs4580704 **ernährungsbezogene Einflüsse** beschrieben (Gomez-Delgado *et al.* 2015) sowie ein Zusammenhang mit dem **BMI** (Sookoian *et al.* 2008; Garaulet *et al.* 2010a). Einen Überblick über den Stand der Literatur zum *CLOCK* SNP rs3749474 bietet Tab. 2.

Tab. 2: Übersicht Literatur zu *CLOCK* rs3749474 in Hinblick auf anthropometrische Merkmale und Energieaufnahme.

Merkmal	N	Geschlecht	Alter (Jahre)	Gesund/Krank	Besonderheit	Herkunft	<i>CLOCK</i> SNP rs3749474 Allel T	Referenz
BMI (kg/m ²)	454	M + W	20-65	ambulante Patienten v. Adipositas-Klinik (Abnehmprogramm)	Übergewichtige/ Adipöse (BMI >25 kg/m ² bis <40 kg/m ² -75% der Probanden unter „inaktiver Lebensstil“ eingestuft (<1Std. physische Aktivität/Woche)	Europäer	↑	Garaulet <i>et al.</i> 2010a
Körpergewicht (kg)	s.o.	s.o.	s.o.	s.o.	s.o.	s.o.	↑	Garaulet <i>et al.</i> 2010a
Taillenumfang (cm)	s.o.	s.o.	s.o.	s.o.	s.o.	s.o.	↑	Garaulet <i>et al.</i> 2010a
Energieaufnahme (kcal/Tag)	1100	M + W	48,5 ±16,3		BMI 28,3 ± 5,6 kg/m ²	Europäer (überwieg.)	↑	Garaulet <i>et al.</i> 2010b
					Review		↑	Valladares <i>et al.</i> 2015
	179	M + W	42,4 ± 0,8	Gewichtsreduktionsstudie	BMI 25 – 39,9 kg/m ²	Europäer ? (Spanien)	↑	Loria-Kohen <i>et al.</i> 2016

M = Männer

W = Frauen

N = Individuenanzahl

↑ = assoziiert mit Erhöhung d. Merkmals

↓ = assoziiert mit Verminderung des Merkmals

Nach Kenntnisstand der Autorin wurde der Zusammenhang zwischen Energiehaushalt und GR-Polymorphismus rs41423247 noch nicht bei jungen, gesunden Frauen untersucht. Auch der Zusammenhang zwischen Energieverbrauch und Cortisolkonzentration wurde für junge, gesunde, normalgewichtige Probandinnen unter natürlichen Bedingungen noch nicht beschrieben. Bisher liegen ebenfalls keine Untersuchungen zum Zusammenhang der Uhrengene

CLOCK rs3749474 und *CLOCK* rs4580704 und der Körperzusammensetzung vor. Die zentralen Aspekte dieser Arbeit sind daher die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Energiehaushalt und Körperzusammensetzung und einer Variante im GR-Gen sowie der Cortisolkonzentration. Ferner liegt ein Fokus dieser Arbeit auf der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen zwei Varianten im *CLOCK*-Gen und der Körperzusammensetzung.

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

Fragestellung 1:

Primär stellen sich die Fragen:

- Wie hängt der Energiehaushalt mit der Cortisolkonzentration zusammen?
- Wie hängt die Körperzusammensetzung mit der Cortisolkonzentration zusammen?

Sekundär ist zu untersuchen, wie die Cortisolkonzentration mit weiteren physiologischen sowie ernährungsbezogenen Merkmalen zusammenhängt.

Fragestellung 2:

- Können Parameter des Energiehaushalts mit einer genetischen Variante im GR-Gen in Verbindung gebracht werden?
- Kann die Körperzusammensetzung mit einer genetischen Variante im GR-Gen in Verbindung gebracht werden?

Fragestellung 3:

In welchem Zusammenhang stehen die Körperzusammensetzung und bestimmte genetische Varianten im Uhrengen *CLOCK*?

3 Probandinnen

Der Untersuchungszeitraum der Studie erstreckte sich von Dezember 2016 bis Juli 2018. Insgesamt wurden in diesem Zeitraum die Daten von 107 Probandinnen erfasst. Zusätzlich fließen bei einigen Methoden/Auswertungen die Daten von weiteren 42 Probandinnen aus der Studie zur Masterarbeit der Autorin, sowie die Daten von 7 Probandinnen einer Studie von Frau Isabel Schubert in der AG Humanbiologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel ein. Diese zusätzlich in die vorliegende Studie aufgenommenen Daten wurden in den vorangegangenen Studien unter abweichenden Fragestellungen im Vergleich zur vorliegenden Studie ausgewertet. Alle Probandinnen waren junge, gesunde, weibliche Erwachsene im Altersbereich zwischen 18 und 34 Jahren.

Rekrutierung und Aufklärung

Die Rekrutierung der Probandinnen erfolgte über Vorstellung der Studie in Vorlesungen und studentischen Kursen an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, einen Probandenaufruf in sozialen Netzwerken im Raum Kiel sowie über Mundpropaganda.

Zunächst wurde Kontakt via E-Mail mit denjenigen Probandinnen aufgenommen, die sich in eine entsprechende Interessentenliste eingetragen hatten. Inhalt dieser E-Mail-Nachricht war eine umfassende Aufklärung über den Studieninhalt sowie –ablauf. Des Weiteren war der E-Mail ein sogenanntes Prätest-Screening angehängt (Anhang A1), mit dessen Hilfe anthropometrische Daten (Alters- und BMI-Bereich, *body mass index*) sowie Erkrankungen, Medikamenteneinnahme, Daten zum Menstruationszyklus und Verhaltensparameter (wie Rauchverhalten, Diäten) erfragt wurden. War die Person laut Prätest-Screening als Probandin für die Studie geeignet und wenn sie erneut Interesse an der Teilnahme bestätigte, wurde ein Termin für die Datenerhebung festgelegt.

Jede Teilnehmerin wurde vor der Datenerhebung persönlich durch die Autorin und mit einer schriftlichen Probandeninformation über die Inhalte und Abläufe der Studie aufgeklärt. Alle Probandinnen unterzeichneten vor Studienbeginn eine Einverständniserklärung. Im weiteren Verlauf wurden alle Teilnehmerinnen von der Autorin genauestens instruiert und erhielten schriftliche Instruktionen zum Probensammeln und Anlegen von Messgeräten (Anhang A2). Hierbei wurden die Strategien zur Erhöhung der Einhaltung der Probensammlungsroutine durch die Probandinnen nach Stalder *et al.* (2016) berücksichtigt. Nach Ablauf der Datenerhebung wurden jeder Probandin ihre individuellen Ergebnisse per E-Mail zugesandt. Diese enthielten Informationen über folgende Daten: Nährstoffaufnahme, Körperzusammensetzung,

körperliche Aktivität, Chronotyp, Schlafqualität, Tagesschläfrigkeit, Stresslevel, Cortisolprofil sowie einen Aktigraphiebericht über drei Tage. Die Probandinnen erhielten für ihre Teilnahme keine finanzielle Aufwandsentschädigung.

Ein- und Ausschlusskriterien

Um Einflüsse des Energiehaushaltes auf die Cortisolkonzentration erfassen zu können und Störfaktoren auszuschließen, war es notwendig, bestimmte Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie zu definieren. So wurden in dieser Studie lediglich junge, gesunde erwachsene Probandinnen untersucht, damit wurden geschlechtsbezogene Unterschiede im Hinblick auf die untersuchten Variablen ausgeschlossen.

Einschlusskriterien

Die Probandinnen sollten dafür in einem Altersbereich von 18 bis 40 Jahren liegen, um eine Verfälschung der Daten durch altersbedingte Veränderungen bezüglich Stoffwechsel und Hormonlage auszuschließen. Die Volljährigkeit war Voraussetzung, um das Einverständnis zur Studienteilnahme geben zu können. Da bekannt ist, dass die Cortisolsekretion durch Nikotin beeinflusst wird, wurden des Weiteren nur Personen berücksichtigt, die Nichtraucherinnen waren. Ferner sollten die Probandinnen einen „normalen“ Tag-Nacht-Rhythmus haben, das heißt im Zeitraum der Datenerhebung sollten die Probandinnen ein alltägliches Leben führen und nicht auf Schlaf verzichten.

Ausschlusskriterien

Um die Einflüsse des weiblichen Menstruationszyklus auf die Cortisolanalyse zu minimieren, sollten die Probandinnen sich zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht im mittleren Bereich des Menstruationszyklus (Ovulationsbereich) befinden. Um auszuschließen, dass der Zeitpunkt der Datenerhebung mit dem Zeitraum um die Ovulation zusammenfällt, wurden mit Hilfe des Prätest-Fragebogens die mittlere Dauer des Menstruationszyklus sowie der aktuelle Tag des Menstruationszyklus erfasst. Um nun den Zeitpunkt der Ovulation abschätzen zu können, wurde die mittlere Dauer des Menstruationszyklus halbiert und \pm zwei Tage um diesen Zeitpunkt als möglicher Untersuchungszeitraum ausgeschlossen.

Um eine Verfälschung der Daten möglichst zu minimieren, war es zusätzlich notwendig, weitere Ausschlusskriterien bezüglich Erkrankungen, Lebensgewohnheiten und Medikamenteneinnahme bei der Auswahl der Probandinnen zu definieren. Generell sollten die Probandinnen weder an ernsthaften akuten oder chronischen physischen noch an akuten oder chronischen psychischen Erkrankungen wie Burnout, Fatigue-Syndrom oder Depression leiden. Explizit ausgeschlossen wurden akute oder chronische Erkrankungen, die mit einem entzündlichen Geschehen einhergehen, wie akute Infekte, endokrine Erkrankungen und neuroendokrine

Erkrankungen wie Morbus Cushing und Morbus Addison, Diabetes und Schilddrüsenerkrankungen. Aufgrund der hohen Prävalenz in der Bevölkerung waren hiervon jedoch ausgenommen medikamentös eingestellte Schilddrüsenunter-/überfunktionen. Erkrankungen, die den Stoffwechsel beeinflussen, wie Störungen der Thermoregulation, die Hypo-/Hyperthermie bedingen sowie Ketonurie, führten ebenfalls zum Ausschluss. Ferner stellten auch neurologische Erkrankungen, die sowohl Stoffwechsel als auch endokrine Stellmechanismen beeinflussen, wie ein Hippocampus-Schaden, ein Ausschlusskriterium dar. Herzerkrankungen und Krebserkrankungen – akut oder innerhalb der letzten drei Jahre – führten ebenfalls zu einem Ausschluss. Ebenso wurden Probandinnen mit Zahnfleischbluten von der Studie ausgeschlossen, da die Cortisolkonzentration im Blut um ein vielfaches höher ist als im Speichel und somit die Cortisolwerte verfälschen könnte.

Aufgrund der dadurch bedingten Veränderungen hinsichtlich Hormonhaushalt und Stoffwechsellage durften die Probandinnen keine Leistungssportlerinnen und zum Zeitpunkt der Studie nicht schwanger sein. Um eine familiäre Häufung bestimmter genetisch bedingter Merkmale auszuschließen, durften die Probandinnen weiterhin nicht blutsverwandt sein. Die Probandinnen durften in den drei Monaten vor Studienbeginn weder einen Jetlag erfahren haben noch im Schichtdienst gearbeitet haben, da diese Faktoren einem regelmäßigen Tag/Nacht-Rhythmus entgegenstehen. Einflüsse von Übergewicht auf den Hormonhaushalt wurden ausgeschlossen, indem für die Cortisolanalysen nur Probandinnen mit einem BMI < 28 kg/m² berücksichtigt wurden.

Ebenfalls zum Ausschluss führte die regelmäßige Einnahme von verschiedenen Medikamenten wie Betablocker oder Schlafmittel. Besonders glucocorticoidhaltige Medikamente wie Cortison durften nicht eingenommen werden.

Aufgrund der obengenannten Ausschlusskriterien wurde eine Probandin von der Cortisolanalyse ausgeschlossen. Zwei der Probandinnen waren miteinander verwandt, jedoch nicht direkt (ersten oder zweiten Grades) blutsverwandt miteinander, so dass dieses Verwandtschaftsverhältnis nicht zum Ausschluss aus der Studie führte. Eine weitere Probandin gab die Einnahme eines cortisonhaltigen Nasensprays (Antiallergikum) an, da dieses nur lokal und nicht systemisch wirkt, wurde die Probandin ebenfalls nicht von der Studie ausgeschlossen. Weiterhin gab eine Probandin eine Herzerkrankung an, da es sich dabei aber um einen bereits operativ korrigierten angeborenen Herzfehler handelte, wurde diese Probandin ebenfalls nicht von der Studie ausgeschlossen. Ferner litten sechs Probandinnen an einer Schilddrüsenerkrankung (Unter-/Überfunktion), was aber bei medikamentöser Behandlung, wie oben beschrieben, nicht zum Ausschluss aus der Studie führte.

4 Materialien

Im Folgenden sind die für die molekulargenetischen Analysen und Hormonanalysen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien, Gerätschaften und Verbrauchsmaterialien aufgelistet. Angegeben ist zunächst die Bezeichnung, gefolgt von Hersteller (Vertreiber) inkl. Ort.

<u>Chemikalien</u>	<u>Hersteller/Vertreiber, Ort</u>
2-Propanol (Isopropanol) Rotipuran $\geq 99,8\%$	Roth, Karlsruhe
Agarose Broad Range	Roth, Karlsruhe
EDTA Dinatriumsalz Dihydrat $\geq 99,9\%$	Roth, Karlsruhe
Ethanol Rotipuran $\geq 99,8\%$	Roth, Karlsruhe
Ethidiumbromidlösung 1% (10mg/ml)	Roth, Karlsruhe
Natriumchlorid $\geq 99,5\%$	Roth, Karlsruhe
Salzsäure	Roth, Karlsruhe
SDS Ultra pure $\geq 99\%$	Roth, Karlsruhe
Tris Pufferan® $\geq 99,9\%$	Roth, Karlsruhe
Wasser	
HPLC-Wasser	Merck, Darmstadt
Wasser, doppelt destilliert	Roth, Karlsruhe
Enzyme, dNTPs und Standards	
6 x Orange DNA Loading Dye	Thermo Scientific, Darmstadt
FastStart Taq DNA Polymerase	Roche, Mannheim
O'GeneRuler™ 50bp DNA Ladder, ready-to-use	Thermo Scientific, Darmstadt
PCR Grade Nucleotide Mix	Roche, Mannheim
Roti®-Nukleinsäurefrei	Roth, Karlsruhe
Primer	
PCR-Primer	Eurofins, Ebersberg
Puffer	
PCR buffer (10x conc.) with MgCl ₂	Roche, Mannheim
Rotiphorese® 10 x TBE-Puffer	Roth, Karlsruhe
Kits	
Cortisol ELISA (Speichel)	IBL International, Hamburg
Invisorb® Spin Swab Kit	Stratec Molecular, Berlin

Gerätschaften**Computerprogramme**

INTAS GDS	INTAS, Göttingen
Chromas (Version 2.5.1)	Technelysium, South Brisbane (Australien)

Cycler

Biometra Professional Standard Thermo-cycler	Biometra, Göttingen
Biometra TGradient Cycler	Biometra, Göttingen

Gelkammern und Powersupply

Horizon® 58 Horizontal Gel Gelkammer	Biometra, Göttingen
Horizon® 11.14 Gelkammer	Biometra, Göttingen
Consort EV231	VWR, Hannover

Gel-Dokumentationsanlage

Gel Jet Imager 2006	Intas, Göttingen
---------------------	------------------

Gefrier- und Kühlschränke

Premium NO FROST	Liebherr, Ochsenhausen
Liebherr Comfort	Liebherr, Ochsenhausen

Mikrowelle und Heizblöcke

Mikrowelle Hanseatic WP-700 P17	Hanseatic, Löhne
HLC Heizblock HBT 130-2	HLC Heap Labor Consult, Bovenden
Eppendorf ThermoMixer® C	Eppendorf, Hamburg

Photometer und Küvetten

Multiskan®FC	Thermo Scientific, Darmstadt
Biophotometer plus	Eppendorf, Hamburg
UVette® (50-2000 µl)	Eppendorf, Hamburg

Pipetten

Eppendorf Multipette® stream	Eppendorf, Hamburg
Eppendorf Research® (2,5 µl, 10 µl, 100µl, 1000µl)	Eppendorf, Hamburg
StarPet® (10µl, 1000µl)	Starlab International GmbH, Hamburg

Reagenzglasschüttler

Lab-Dancer	VWR, Hannover
I/F2	IKA®-Labortechnik, Staufen
IKA® MS 3 digital	IKA®-Labortechnik, Staufen

RS-VF10	Phoenix Instrument, Garbsen
Sonstiges	
HydroFlex™ (Mikrotiterplattenwaschgerät)	Tecan Austria GmbH, Grödig (Österreich)
pH-Meter Lab 850	Schott Instruments, Mainz
Labortimer SKT338N	Roth, Karlsruhe
BRAND® mini cooler – 20°C	Brand GmbH & Co. KG, Wertheim
Waagen	
Präzisionswaage EMB 200-2	Kern & Sohn GmbH, Balingen
Feinwaage TP-303	Denver Instrument, Göttingen
Zentrifugen	
Tischzentrifuge Rotina 38R	Andreas Hettich GmbH, Tuttlingen
Mikroliterzentrifuge Mikro 120	Andreas Hettich GmbH, Tuttlingen

Verbrauchsmaterialien

Spitzen und Reaktionsgefäße

Biosphere® Filter Tips (2,5 µl, 10 µl, 100µl, 1000µl)	Sarstedt, Nümbrecht
TipOne 1000 µl Filter Tips	Starlab GmbH, Ahrensburg
TipOne 10 µl Extended Length Filter Tips	Starlab GmbH, Ahrensburg
Eppendorf Combitips® plus 5ml	Eppendorf, Hamburg
Multiply®-µStrip 0,2 ml Kette 8er Deckelkette, flach	Sarstedt, Nümbrecht
Multiply®-Pro 0,2 ml Biosphere®	Sarstedt, Nümbrecht
Multi®-Reaktionsgefäße 1,7 ml	Roth, Karlsruhe
Multi®-Reaktionsgefäße 2 ml	Roth, Karlsruhe
SaliCaps	IBL International, Hamburg
Schraubröhre 50ml	Sarstedt, Nümbrecht
Schraubröhre 15ml	Sarstedt, Nümbrecht

Handschuhe

Rotiprotect®-Latex (puderfreie Handschuhe)	Roth, Karlsruhe
Rotiprotect®-Nitril Einmalhandschuhe	Roth, Karlsruhe

Sonstiges

Parafilm®	Roth, Karlsruhe
-----------	-----------------

5 Methoden

5.1 Studienablauf

Im nachfolgenden Abschnitt soll ein grundlegender Eindruck über den zeitlichen Studienablauf vermittelt werden. Details zu den genauen Messvorgängen sowie den verwendeten Geräten folgen in den nachstehenden Kapiteln. Die Datenerhebung erfolgte am ersten Tag der Studie in den Untersuchungsräumen der AG Humanbiologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Im Anschluss wurden alle weiteren Daten ambulant in der gewohnten Umgebung der Probandinnen erfasst.

Die Datenerhebung erstreckte sich über vier Tage, dabei wurde der erste Tag der Studie als „Tag 0“ bezeichnet und der letzte Tag als „Tag 3“. Zum Studienbeginn (Tag 0) wurden die Probandinnen morgens, zu einem vorher individuell vereinbarten Zeitpunkt, nüchtern in die AG Humanbiologie gebeten, um die Körperzusammensetzung zu bestimmen. Vorab füllten die Probandinnen den allgemeinen Fragebogen (Anhang A3) sowie den Fragebogen zu den Ernährungsgewohnheiten (Anhang A4) aus. Nachdem die Probandinnen nach ihrer Ankunft ca. 15 Minuten ruhig gesessen hatten, wurden die Herzfrequenz sowie der Blutdruck bestimmt. Danach wurden anthropometrische Daten wie Körperhöhe, -gewicht, Taillen-, Hüft- sowie Bauchumfang erfasst und die Körperzusammensetzung mit Hilfe der Bioimpedanzanalyse bestimmt. Darauf folgend wurden von den Probandinnen mit Hilfe einer Mundspüllösung sowie eines Wattestäbchens Mundschleimhautzellen (MSH) für die molekulargenetischen Analysen gesammelt. Den Probandinnen wurden im Anschluss die für die Datenerhebung benötigten Materialien und Geräte ausgehändigt bzw. angelegt. Ferner erfolgte eine detaillierte Einweisung in die Handhabung der Geräte und den Ablauf der Probensammlung durch die Autorin. Zusätzlich bekamen die Probandinnen eine schriftliche Instruktion (Anhang A2) mit nach Hause. Für die Dauer der Studie trugen die Probandinnen einen Aktigraphen, der Ruhe-/Aktivitätszeiträume sowie den Energieverbrauch erfasst. Weiterhin sammelten die Probandinnen am Abend des ersten Untersuchungstages (Tag 0) sowie am Morgen und Abend des folgenden Tages (Tag 1) und auch am darauffolgenden Morgen und Abend (Tag 2) Speichelproben für die Cortisolanalyse. Zur Erfassung der Lichtintensität in der häuslichen Umgebung trugen die Probandinnen am Morgen von Tag 1 und 2 einen weiteren Aktigraphen bei sich. Dieser diente jedoch lediglich der Aufzeichnung von einfallendem Weißlicht zum Zeitpunkt der morgendlichen Speichelprobensammlung. Der Studienablauf ist in Abb. 8 schematisch dargestellt. Die Probandinnen bekamen zudem noch den Fragebogen zur Bestimmung des Chronotyps (Anhang A5), der Schlafqualität (Anhang A6), der Tagesschläfrigkeit (Anhang

A7), zur Einschätzung von Stress (Anhang A8) sowie den Fragebogen zur Erfassung der körperlichen Aktivität (Anhang A9) ausgehändigt, um diese auszufüllen. Des Weiteren waren die Probandinnen angewiesen, über den gesamten Studienzeitraum ein Probandenprotokoll (Anhang A10) zur Erfassung von Aktivitäten und dem subjektiv empfundenen Stress zum Zeitpunkt der Studie zu führen. Für die Dauer der Datenerhebung waren die Probandinnen angehalten, einen für sie regelmäßigen Tag/Nacht-Rhythmus einzuhalten und so „gewöhnlich“ wie möglich ihren Alltag zu gestalten. Abschließend wurde mit den Probandinnen ein individueller Termin zur Abgabe der Geräte, Speichelproben und Fragebögen vereinbart.

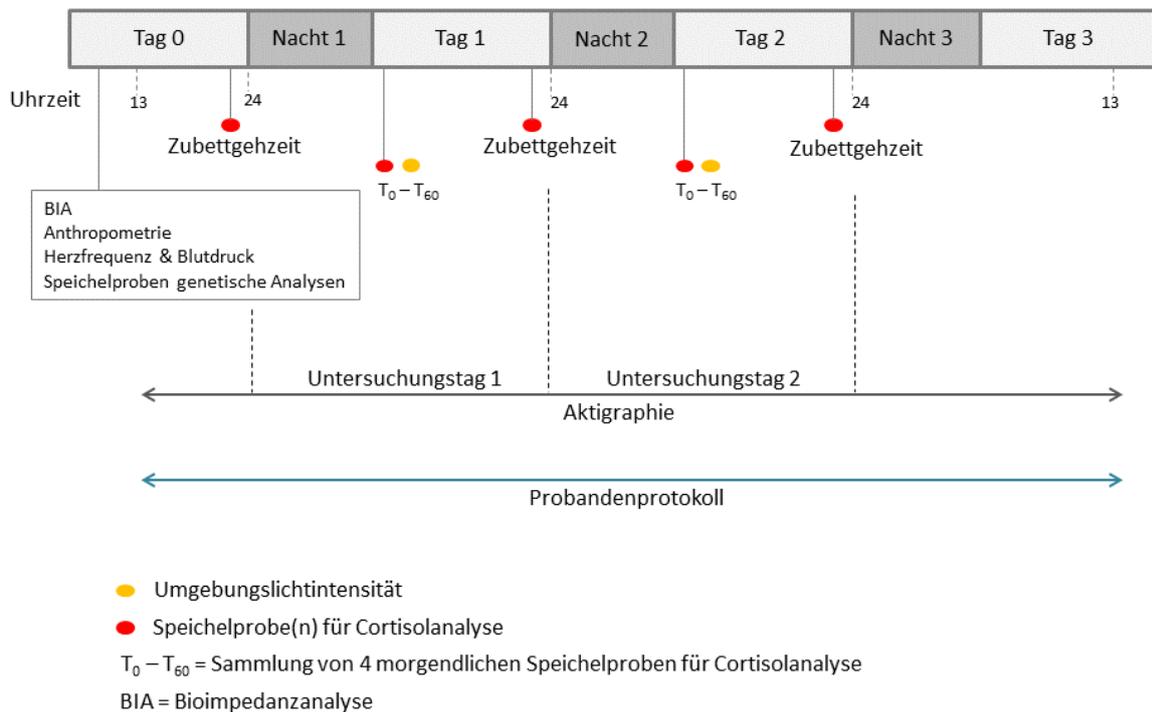


Abb. 8: Studienablauf.

Abgebildet ist der Ablauf der Datenerhebung für eine Probandin. Die ambulante Datenerhebung erstreckte sich von 13 Uhr an Tag 0 bis 13 Uhr an Tag 3, wobei einmalige Messdaten bereits am Morgen von Tag 0 aufgenommen wurden. Die Auswertung der Aktigraphie-Daten erfolgte über zwei aufeinanderfolgende 24-Stunden-Zeiträume (Untersuchungstag 1/Untersuchungstag 2), die Speichelprobensammlung für die Cortisolanalyse erfolgte an drei aufeinanderfolgenden Abenden zum Zeitpunkt des Zubettgehens sowie im Morgenprofil an den zwei aufeinanderfolgenden Untersuchungstagen.

Die zwei aufeinanderfolgenden 24-Stunden-Zeiträume von Nacht 1 und Tag 1 sowie von Nacht 2 und Tag 2 (jeweils von 24 Uhr bis 24 Uhr) sind als Untersuchungstag 1 und Untersuchungstag 2 definiert. An diesen beiden Untersuchungstagen erfolgten die Auswertung der Aktigraphie-daten sowie die Sammlung der Speichelproben für die Cortisolanalyse vor dem Zubettgehen und im Morgenprofil. Somit konnten die erhobenen Daten für Untersuchungstag 1 und 2 auf Reproduzierbarkeit geprüft werden. Ferner wurde am Abend von Tag 0 (kein kompletter Untersuchungstag) vor dem Zubettgehen ebenfalls eine Speichelprobe für die Cortisolanalyse

gesammelt, so dass die Auswertung der abendlichen Cortisolkonzentrationen an drei aufeinanderfolgenden Abenden stattfinden konnte.

5.2 Fragebogenerhebungen

5.2.1 Allgemeiner Fragebogen

Der allgemeine Fragebogen (Anhang A3) wurde in der AG Humanbiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel erstellt und für die vorliegende Arbeit modifiziert. Er dient zur Charakterisierung des Probandenkollektivs und besteht aus 36 Fragen. Zu Beginn werden soziodemografische Daten zu Familienstand, Wohnsituation, Kindern und Beruf erfragt. Weiterhin schätzt der Proband das Schlafbedürfnis an freien Tagen sowie an Arbeitstagen ein und informiert über das Rauchverhalten. Im weiteren Verlauf gibt der Proband Auskunft über Gesundheitszustand, akute oder chronische Erkrankungen sowie die Einnahme von Medikamenten. Ein weiterer Fragenkomplex ermittelt die Lebensgewohnheiten des Probanden. Darunter fallen der Konsum von anregenden Getränken wie Kaffee, Tee, Energydrinks sowie Alkohol, die Einhaltung von Diäten (aktuell oder in der Vergangenheit), schlafbezogene Gewohnheiten wie Schlafen bei offenem Fenster, in einem abgedunkelten Raum und Dauer von tageszeitlichen Nickerchen. Es wird von den Probanden erfragt, ob sie gewöhnlich vor dem Zubettgehen kalte Hände und/oder Füße haben. Abschließend folgt ein Abschnitt mit Fragen zum weiblichen Menstruationszyklus, Menopause und ggf. Postmenopause inkl. Fragen zur Einnahme von oralen Kontrazeptiva und Hormonersatztherapien.

5.2.2 Fragebogen zur Ernährung

Der Fragebogen zur Ernährung (Anhang A4) besteht aus zwei Teilen. Der erste Teil wurde in der AG Humanbiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel entwickelt und für die vorliegende Arbeit modifiziert. Er enthält Fragen zu grundlegenden Ernährungsgewohnheiten der Probanden. Darunter fallen Anzahl an täglichen Mahlzeiten, Zeitpunkte der drei Hauptmahlzeiten, Präferenzzeitpunkt der Hauptmahlzeit, Tageszeitpunkt der warmen Mahlzeit sowie des stärksten Hungers und der größten Nahrungsaufnahme. Ein weiterer Fragenkomplex befasst sich mit gesundheitsbezogenen Aspekten der Ernährung. So wird die Anzahl der bereits im Laufe des Lebens gemachten Diäten, die Verzehrhäufigkeit von Fastfood/Woche, Aufnahme von Flüssigkeit/Tag, Konsum von anregenden Getränken/Woche (Kaffee, schwarzer/grüner/Mate Tee, Energydrinks, Alkohol) sowie die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln erfragt. Abschließend werden die Probanden nach ihren Ernährungsgewohnheiten während stressiger Phasen ihres Lebens befragt.

Der zweite Teil des Fragebogens besteht aus einem Abschnitt zur Lebensmittelerfassung. Der Fragebogen ist eine modifizierte Form der Software zur Berechnung der Nährstoffaufnahme NutriSurvey (Copyright © 2007 Dr. Jürgen Erhardt). Für die Verwendung in der AG Humanbiologie wurde der sog. Food Frequency Record ins Deutsche übersetzt und um einige Lebensmittel ergänzt. Verschiedene Lebensmittel, sortiert in die Kategorien Frühstück, Mittagessen, Abendessen und Zwischendurch (Snack), werden aufgelistet und der Proband gebeten die wöchentliche Aufnahmemenge pro Lebensmittel anzugeben. Dafür ist jedes Lebensmittel mit einer Standardportion angegeben (z.B. 1 Tasse Tee = 250 ml, 1 Brötchen = 45g) und der Proband gibt an, wie häufig er diese pro Woche zu sich nimmt. Am Ende des Fragebogens hat der Proband die Möglichkeit, im Fragebogen fehlende Lebensmittel mit ihren wöchentlichen Verzehrmenen zu ergänzen. Für die Auswertung wurde das, oben bereits erwähnte, Software Programm NutriSurvey herangezogen. Mit Hilfe der Software lässt sich die wöchentliche Aufnahme der Makro- und Mikronährstoffe anhand der aufgenommenen Lebensmittelmengen berechnen. Es wurde die deutsche Lebensmitteldatenbank als Grundlage für die Auswertung herangezogen. Die Software ermöglicht in der Auswertung eine genaue Übersicht der aufgenommenen absoluten Häufigkeiten für die verschiedenen Makro- und Mikronährstoffe sowie der Gesamtenergieaufnahme. Für eine einfache Interpretation der Daten sind für jeden Nährstoff sowie die Gesamtenergiemenge ebenfalls die absolute sowie relative Häufigkeit der täglich empfohlenen Aufnahmemenge angegeben. Diese Empfehlungen beruhen auf den von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) ausgegebenen Werten (Stand 2000).

5.2.3 „Morningness-Eveningness Questionnaire“

Der Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) (Anhang A5) ist der international am häufigsten verwendete Fragebogen zur Erfassung des Chronotyps (Baehr *et al.* 2000; Mongrain *et al.* 2004; Paine *et al.* 2006) und wurde von Horne und Östberg (1976) entwickelt. Verwendet wurde die deutsch-validierte Version (D-MEQ) von Griefahn *et al.* (2001). Der D-MEQ enthält 19 Fragen bspw. zu bevorzugten Schlaf- und Wachzeiten oder Zeiten mentaler sowie physischer Leistungsfähigkeit, mit deren Hilfe die circadiane Phasenlage des Probanden bestimmt wird. Jeder Antwortmöglichkeit ist ein bestimmter Punktwert zugeordnet. Es können 16 bis 86,9 Punkte erreicht werden. Je höher die Gesamtpunktzahl ausfällt, desto früher der Chronotyp. Demzufolge erreichen Morgentypen die höchsten Punktwerte und Abendtypen die niedrigsten. Die Einteilung in die verschiedenen Chronotypen erfolgt nach folgendem Schema, wobei bei der vorliegenden Arbeit auf eine Unterteilung in definitive und moderate Typen

verzichtet wurde und lediglich drei Gruppen (Abend-, Neutral- und Morgentyp) unterschieden wurden:

- Definitiver Abendtyp: 16,0 bis 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: 70,0 bis 86,9 Punkte.

5.2.4 „Pittsburgh-Sleep-Quality-Index“

Zur Erfassung der subjektiven Schlafqualität wurde der von Buysse *et al.* (1989) eingeführte Pittsburgh-Sleep-Quality-Index (PSQI) (Anhang A6) verwendet. Der Fragebogen erfragt retrospektiv die subjektive Schlafqualität der vorangegangenen vier Wochen. Der PSQI ist ein standardisierter, international anerkannter und häufig verwendeter Fragebogen zur Erfassung der Schlafqualität (Carpenter & Andrykowski 1998). Er beinhaltet 19 Fragen, die vom Probanden selbst beantwortet werden. Dabei werden Fragen bezüglich Schlafqualität, Schlafdauer, Schlafzeiten, Einschlaf latenz, schlafstörenden Ereignissen, Einnahme von Schlafmitteln und Tagesschläfrigkeit gestellt. Ferner beinhaltet der PSQI fünf Fragen an einen Partner oder Mitbewohner, welche aber nicht in die Auswertung mit einfließen. Der PSQI erfasst sieben Komponenten, die zur Beurteilung der Schlafqualität herangezogen werden: subjektive Schlafqualität, Einschlaf latenz, Schlafdauer, Schlaffeffizienz, Schlafstörungen, Einnahme von Schlafmitteln sowie Tagesschläfrigkeit (Buysse *et al.* 1989). Jede Komponente kann einen Punktwert von 0 bis 3 Punkten annehmen, so dass eine Gesamtpunktzahl von maximal 21 Punkten möglich ist. Ein Punktwert von 0 bis 5 Punkten geht mit einer guten Schlafqualität einher und ein Punktwert von 6 bis 21 Punkten mit einer schlechten Schlafqualität (Buysse *et al.* 1989). Für die Auswertung wurde in dieser Arbeit eine Excel-Datei als Hilfe herangezogen. Aus den im Fragebogen gemachten Angaben kann die Zubettgehzeit, die Einschlafdauer und die Aufstehzeit in den letzten vier Wochen vor Ausfüllen des Fragebogens ermittelt werden. Aus der Differenz von Licht-aus-Zeit und Licht-an-Zeit lässt sich die Liegedauer berechnen. Mit deren Hilfe wiederum die Schlaffeffizienz nach folgender Formel berechnet werden kann:

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

In der vorliegenden Arbeit wurde der PSQI-Fragebogen um eine weitere Frage ergänzt. Es wurde zusätzlich nach der genuine Schlafdauer gefragt, also nach der Zeit, die der Proband nach eigenem Rhythmus braucht, um ausgeschlafen zu sein.

5.2.5 „Epworth Sleepiness Scale“

Die Epworth Sleepiness Scale (ESS) (Anhang A7) ist ein von Johns (1991) entwickelter Fragebogen zur Erfassung der Tagesschläfrigkeit eines Probanden. Die deutsch validierte Version wurde von Bloch *et al.* (1999) publiziert. Der Proband wird gebeten, für acht verschiedene Alltagssituationen die Wahrscheinlichkeit des Einnickens abzuschätzen. Dabei hat der Proband die Möglichkeit, aus den folgenden Abstufungen bei der Antwort auszuwählen: würde niemals einnicken, geringe Wahrscheinlichkeit, mittlere Wahrscheinlichkeit sowie hohe Wahrscheinlichkeit, einzunicken. Jeder der vier Antwortmöglichkeiten wird ein Punktwert von null (niemals einnicken) bis drei Punkten (hohe Wahrscheinlichkeit) zugeordnet. Insgesamt ist daher ein maximaler Punktwert von 24 Punkten möglich. Ab einem Punktwert von elf Punkten und höher gilt ein Proband als tagesschläfrig, bei Werten unter elf Punkten liegt dementsprechend keine Tagesschläfrigkeit vor.

5.2.6 „Perceived Stress Scale“

Da Stress einen maßgeblichen Einfluss auf die Cortisolsekretion hat, wurde zur Erfassung des subjektiv empfundenen Stresslevels die „Perceived Stress Scale“ (PSS) (Anhang A8) nach Cohen *et al.* (1983) in der deutsch validierten Version nach Klein *et al.* (2016) verwendet. Der Fragebogen besteht aus zehn Fragen mit deren Hilfe retrospektiv der Stresslevel in den vergangenen vier Wochen erfragt wird. Die Fragen bestehen aus vier positiv formulierten Items und sechs negativ formulierten Items. Die positiv formulierten Fragen erfassen die Häufigkeiten von Situationen, in denen der Proband sich in der Lage gesehen hat, persönliche Probleme zu lösen und angibt, sein Leben „im Griff zu haben“. Die negativ formulierten Items erfragen hingegen die Häufigkeiten von Situationen, in denen der Proband sich von unerwarteten Ereignissen überrascht und überfordert fühlte sowie ein Gefühl von Stress oder Ärger über Dinge außerhalb seiner Kontrolle empfand. Dem Probanden stehen für jede Frage fünf verschiedene Antwortmöglichkeiten von „nie“, „fast nie“, „manchmal“, „ziemlich oft“ bis „sehr oft“ zur Verfügung. Jeder Antwortmöglichkeit ist ein spezifischer Punktwert zugeordnet, wobei die positiv formulierten Fragen revers codiert sind. Durch Addition der Einzelwerte jeder Frage ergibt sich die Gesamtpunktzahl. Der mögliche Punktebereich reicht von null Punkten bis 40 Punkten. Da es sich beim PSS nicht um ein diagnostisches Instrument handelt, gibt es keine definierten Cut-Off-Werte. Im Mittel liegen die Werte um 13 Punkte. Studien bewerten Werte von 20 und mehr Punkten als hohen Stresslevel (Klein *et al.* 2016).

5.2.7 Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität

Da sich die körperliche Aktivität und Fitness maßgeblich auf den Energieverbrauch sowie die Körperzusammensetzung auswirkt, wurde zusätzlich zur Bestimmung der körperlichen Aktivität mittels Aktigraphie der Freiburger Fragebogen (Frey *et al.* 1999) herangezogen (Anhang A9). Der Fragebogen erfasst sowohl einfache Basisaktivitäten mit geringer Belastungsintensität wie Treppensteigen, zu Fuß oder per Fahrrad zurückgelegte Wegstrecken zur Arbeit oder zum Einkaufen und Gartenarbeit sowie grundlegende Freizeitaktivitäten, die vornehmlich aufgrund des Erholungs- und Erlebniswerts ausgeführt werden und ebenfalls eine eher moderate Belastungsintensität aufweisen, wie z.B. Spaziergänge, Tanzen oder Kegeln. Zusätzlich werden auch sportliche Aktivitäten erfragt, die mit höheren Belastungsintensitäten einhergehen, welche primär zur Erhaltung und Förderung des Gesundheitsstatus ausgeführt werden. Alle Fragen beziehen sich auf einen relativ kurzen retrospektiven Zeitraum von entweder einer oder vier Wochen. Durch dieses Vorgehen soll ein Verfälschen der Angaben durch ungenaues Erinnern weitestgehend verhindert werden (Frey *et al.* 1999). In der vorliegenden Arbeit wurde die Kurzform des Freiburger Fragebogens mit insgesamt acht Fragen im Vergleich zu 12 Fragen in der ursprünglichen Form verwendet.

Der Proband gibt für jede Aktivität eine Gesamtdauer in Stunden oder Minuten an. Je nach Fragestellung wird die Gesamtdauer für die letzte Woche oder die vergangenen vier Wochen vom Probanden angegeben. Zur Auswertung werden alle körperlichen Aktivitäten in Stunden pro Woche umgerechnet. Durch Summation der Dauer der einzelnen Aktivitäten ergibt sich die Gesamtdauer der körperlichen Aktivität pro Woche (Std./Woche). Jeder Aktivität kann ein bestimmter Aktivitätswert zugeordnet werden, der in metabolischen Äquivalenten (*metabolic equivalents of task*, METs) angegeben wird. Ein MET ist dabei als der Verbrauch von einer Kilokalorie pro Kilogramm Körpergewicht und Stunde definiert (Ainsworth *et al.* 1993). Für die Auswertung wurden die einer jeweiligen Aktivität entsprechenden METs dem Ainsworth Compendium (Ainsworth *et al.* 2011) entnommen. Durch Multiplikation von MET und Dauer (Std./Woche) ergibt sich der Aktivitätswert pro Woche für eine gewählte Aktivität. Durch Summation aller Aktivitätswerte ergibt sich schließlich die Gesamtaktivität pro Woche. Je höher der ermittelte METs Wert pro Woche, desto höher ist die körperliche Aktivität.

5.3 Probandenprotokoll und Tagesstressfragen

Den Probandinnen wurde ein Probandenprotokoll (Anhang A10) der AG Humanbiologie ausgehändigt. Das Protokoll enthält für jeden der vier Tage eine Tabelle mit einem Tagesprotokoll

sowie Tabellen zur Erfassung des Tages-Stresslevels. Zusätzlich werden auf dem Probandenprotokoll das Datum des Studienbeginns und des Studienendes sowie die Uhrzeiten von An- und Ablegen des Aktigraphen an Tag 0 und Tag 3 vermerkt. Im Tagesprotokoll werden die Uhrzeiten der drei Hauptmahlzeiten erfasst sowie die Uhrzeit der zuletzt eingenommenen Mahlzeit (falls nach dem Abendessen noch eine weitere Mahlzeit eingenommen wird). Ferner wird an Tag 0 der Studie der aktuelle Tag des Menstruationszyklus erfragt. Weiterhin werden die Zubettgeh- und Aufsteh- sowie die Einschlaf- und Aufwachzeiten festgehalten. Äußere Einflüsse wie der Aufenthalt im Freien sowie sportliche Aktivitäten werden ebenfalls vom Probanden notiert. Darüber hinaus werden die Zeiträume, in denen der Aktigraph nicht getragen wird, protokolliert.

Zur Erfassung des täglichen Stresslevels zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren die Probandinnen angehalten, vor dem Zubettgehen das Stresslevel des hinter ihnen liegenden Tages sowie das erwartete Stresslevel des vor ihnen liegenden Tages mit Hilfe einer Skala zu erfassen. Die Probanden können dabei auf einer fünfstufigen Skala angeben, wie gestresst sie sich fühlen bzw. angeben in welcher Höhe sie den Stresslevel erwarten. Die Skala reicht dabei von „kein Stress“, „geringer Stress“, „mittlerer Stress“, „starker Stress“ bis „sehr starker Stress“. Dieselbe Skala wird zur Beurteilung des Stresses am Morgen von Untersuchungstag 1 und 2 herangezogen. Dort wird das Stresslevel in dem Moment des Ausfüllens (45 Min nach dem Aufwachen) sowie das erwartete Stresslevel des vor ihnen liegenden Tages erfragt. Zusätzlich zu diesen selbst entwickelten Stressfragen werden am Morgen von Untersuchungstag 1 und 2 fünf weitere Fragen zur Einschätzung des momentanen Stresses in Anlehnung an den Anticipatory Stress Questionnaire (ASQ) von Powell & Schlotz (2012) gestellt. Drei der fünf Fragen sind positiv formuliert wie „Ich fühle mich auf den bevorstehenden Tag ausreichend vorbereitet“ und zwei der Fragen sind negativ formuliert wie „Ich erwarte, dass der bevorstehende Tag stressig wird“. Zur Beantwortung der Fragen haben die Probanden die Möglichkeit ihre Zustimmung zu diesen Aussagen auf einer 10er-Skala von 0% bis 100% anzugeben, wobei die positiv formulierten Items invers kodiert sind.

5.4 Anthropometrie und physiologische Methoden

5.4.1 Anthropometrie und Bestimmung von Blutdruck und Herzfrequenz

Zur Charakterisierung des Probandenkollektivs wurden bei jeder Probandin zu Beginn der Studie einige anthropometrische Daten sowie Vitalparameter erhoben. Die Körperhöhe wurde mit Hilfe des mechanischen Rollmessbands Seca 206 (Seca GmbH & Co. KG, Hamburg) auf 0,1 cm genau gemessen. Hierfür stellte sich die Probandin ohne Schuhe, aufrecht, mit den

Fersen vor die Wand mit dem Rollmessband. Der Kopfanschlag des Rollmessbands lag für die Messung mittig auf dem Scheitel der Probandin auf. Das Körpergewicht wurde mittels Personenwaage (Dirk Rossmann GmbH, Burgwedel) mit einer Genauigkeit von 0,1 kg bestimmt. Die Probandinnen wurden gebeten, vor der Messung Schuhe sowie schwere Kleidung (bspw. Jacken, dicke Pullover) auszuziehen. Auch schwere Gegenstände wie Schlüssel, Portemonnaie und Smartphone mussten für die Messung abgelegt werden. Anschließend wurden Körperumfänge mit Hilfe eines Bandmaßes auf 0,1 cm genau bestimmt. Dabei wurden die Maße für Taillen-, Hüft- und Bauchumfang ermittelt. Die Taille gilt als schmalste Stelle des Körpers zwischen Brust und Hüfte. Der Hüftumfang beschreibt den größten Umfang der Hüfte auf Höhe der stärksten Ausladung des Gesäßes. Für die Bestimmung des Bauchumfangs wurde das Maßband genau auf Höhe des Bauchnabels einmal um den Körper geführt. Alle Maße wurden bei ruhiger Atmung sowie entspannter Muskulatur ermittelt.

Zur Bestimmung der Vitalparameter wurde das elektronische Blutdruckmessgerät SBM 03 der Firma Sanitas (Hans Dinslage GmbH, Uttenweiler) verwendet. Die Messung von Blutdruck und Herzfrequenz erfolgte morgens nach ca. 15 Minuten ruhigen Sitzens in der AG Humanbiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Die Werte wurden in Dreifachbestimmung auf ganze Zahlenwerte genau ermittelt. Aus den gemessenen drei Einzelwerten wurde anschließend ein Mittelwert berechnet. Bei zu großer Abweichung (≥ 10 Schläge pro Minute, *beats per minute*, BPM bzw. ≥ 10 mmHg) einer Einzelmessung wurde der Mittelwert nur aus den verbliebenen zwei Einzelmessungen gebildet. Für die Messung wurde die Manschette des Blutdruckmessgeräts auf der Innenseite des linken Handgelenks angelegt. Für die Messgenauigkeit des Geräts ist es notwendig, dass die Probandinnen eine korrekte Körperhaltung während des Messvorganges einnehmen. Die Messung erfolgt im Sitzen, wobei der linke Arm auf dem Tisch abgestützt und angewinkelt wird, so dass die Manschette sich in etwa auf Herzhöhe befindet (Abb. 9). Während der Durchführung der Messung waren die Probandinnen angehalten, den Arm und die Handfläche zu entspannen sowie ruhig dazusitzen und nicht zu sprechen, um die Messergebnisse nicht durch körperliche Aktivität zu verfälschen.



Abb. 9: Korrekte Körperhaltung zur Bestimmung von Herzfrequenz und Blutdruck. [URL 3]

5.4.2 Bioelektrische Impedanzanalyse zur Bestimmung der Körperzusammensetzung

Die Bestimmung der Körperzusammensetzung mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) wurde mit dem Gerät Nutriguard-M von Data Input (Pöcking) durchgeführt. Die BIA ist eine einfache und nicht-invasive Methode zur Bestimmung von Muskelmasse, Fettmasse und des Körperwassers. Die Messung beruht dabei auf folgendem vereinfacht dargestellten Prinzip: an den Körper des Probanden wird mit Hilfe von Elektroden ein konstanter, für den Probanden nicht wahrnehmbarer, Wechselstrom mit bekannter Frequenz und Stromstärke angelegt. Der menschliche Körper bietet zwei Widerstände gegen diesen Stromfluss: die Resistanz (R) entspricht dabei dem ohmschen Widerstand des extrazellulären elektrolythaltigen Körperwassers und die Reaktanz (X_c) dem kapazitiven Widerstand, der durch die Kondensatoreigenschaften der Zellmembranen entsteht. Die Resistanz ermöglicht dementsprechend Rückschlüsse auf den Anteil an extrazellulärem Körperwasser einer Person. Die Reaktanz hingegen ermöglicht eine Aussage über den Anteil an Körperzellen. Das Verhältnis von Resistanz und Reaktanz beschreibt den sogenannten Phasenwinkel (α). Je größer der Anteil der Reaktanz, d.h. der Zellmembranen und damit der Zellen, desto größer der Phasenwinkel. Der Phasenwinkel ermöglicht somit eine qualitative sowie quantitative Einschätzung der Körperzellmasse (Indikator für Muskelmasse). Resistanz und Reaktanz bilden zusammen den Gesamtwiderstand des Körpers, die Impedanz (Z). Für die Bestimmung der Muskelmasse (fettfreie Masse) wird die Resistanz bzw. der darüber bestimmte Anteil des Gesamtkörperwassers herangezogen. Da das Körperwasser überwiegend in der fettfreien Masse gespeichert wird, ermöglicht die Bestimmung des Gesamtkörperwassers Rückschlüsse auf das Maß der fettfreien Masse. Der Anteil der Fettmasse wird über die fettfreie Masse und das Körpergewicht errechnet. Da Körperfett einen elektrischen Isolator darstellt und kaum Strom leitet, kann die Fettmasse nur indirekt bestimmt werden.

Für die BIA sind die Probandinnen vormittags zu einer Wunschzeit nüchtern in die AG Humanbiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel gekommen. Voraussetzung für die Messung ist, dass die Probanden vor der Messung 12 Stunden lang nichts gegessen und getrunken haben (Ausnahme Medikamenteneinnahme). Ferner sollten sie 24 Stunden vor der Messung keinen Alkohol trinken sowie 12 Stunden vorher keinen Sport treiben, um einen „normalen“ Hydrierungszustand zu gewährleisten. Am Tag der Messung sollte die Haut nicht eingecremt werden, um eine reibungsfreie Funktion der Messelektroden gewährleisten zu können. Direkt vor der Messung sollten die Probanden ihre Blase entleeren.

Während der Messung lag die Probandin entspannt auf dem Rücken mit leicht gespreizten Extremitäten, so dass diese nicht den Körper berührten. Jeweils zwei Elektroden (BIANOSTIC AT®, Data Input, Pöcking) wurden an Hand und Fuß der dominanten Körperseite angebracht. Die Elektroden wurden mit Hilfe von Krokodilklemmen und Kabeln mit dem Nutriguard-M Gerät verbunden (Abb. 10).

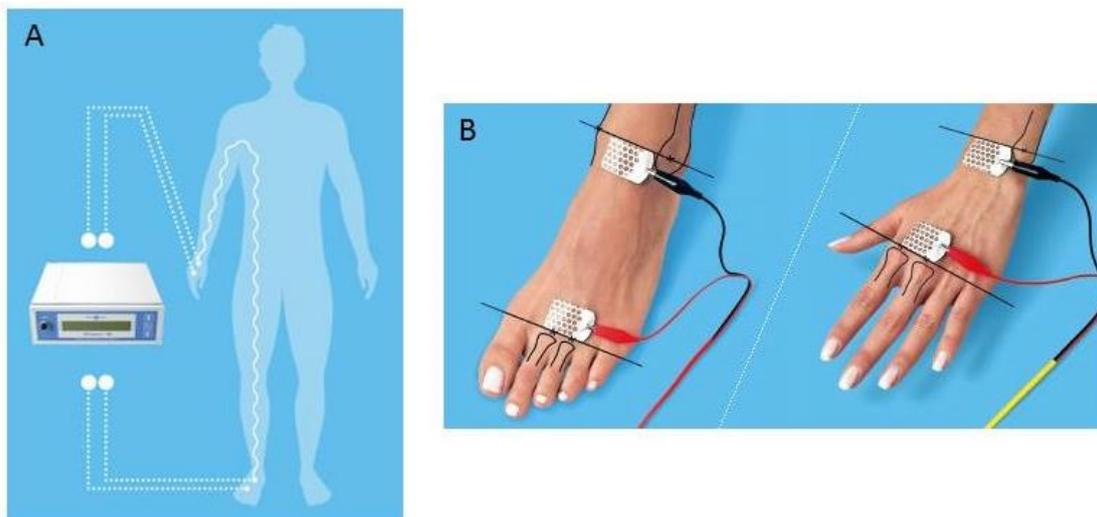


Abb. 10: A) Schematische Abbildung des Messprinzips der Bioimpedanzanalyse (BIA). B) Korrekter Sitz der Messelektroden für die BIA. (verändert nach [URL 4])

Die Messung erfolgt bei drei verschiedenen Frequenzen: 5 kHz, 50 kHz und 100 kHz. Während der Messung ist es notwendig, dass die Probandin völlig ruhig daliegt und nicht spricht. Das Nutriguard-M-Gerät gibt die Werte für Resistanz (R), Reaktanz (X_c) sowie den Phasenwinkel (α) an. Zusätzlich wird noch eine Prüfsumme (S) sowie bei der 50 kHz-Messung der Hand- und Fußwiderstand angegeben. Die vom Gerät angezeigten Werte werden für die Auswertung in das Softwareprogramm NutriPlus® (Data Input, Pöcking) zusammen mit Alter, Geschlecht, Körperhöhe und -gewicht eingegeben. Für die vorliegende Arbeit hat das Programm im Detail folgende Merkmale berechnet:

- Grundumsatz (BMR)
- BMI
- TBW
- Magermasse (LBM)
- ECM
- BCM
- ECM/BCM-Index
- %-Zellanteil
- Körperfett (BF, *body fat*)
- ECW
- ICW

5.4.3 Aktigraphie zur Bestimmung des Energieverbrauchs

Zur Bestimmung des Energieverbrauchs sowie der Zeiträume von Aktivität und Inaktivität wurde die Methode der Aktigraphie angewendet. Bei der Aktigraphie werden Bewegungsintensitäten mit Hilfe von Beschleunigungssensoren (sog. Akzelerometer) erfasst. Die Akzelerometrie ist eine häufig genutzte und gut validierte Methode zur Erfassung von Beschleunigungsintensitäten (Strath *et al.* 2013). Mit Hilfe der gemessenen Beschleunigungsintensitäten können die Dauer von leichten, moderaten und intensiven Aktivitäten sowie inaktive Zeiträume abgeschätzt werden. Aktigraphen sind kleine, tragbare Geräte, die häufig einem heutzutage kommerziell erhältlichen Fitnessarmband ähneln. Durch die geringe Größe sowie Gewicht stellen sie für den Probanden keine größere Einschränkung im Alltag dar und können problemlos auch für längere Zeiträume der Datenerhebung getragen werden. Die Aktigraphie stellt somit eine einfache, nicht-invasive und sichere Methode zur Bestimmung von körperlicher Aktivität und Inaktivität dar.

In der vorliegenden Arbeit wurde das SenseWear® Armband (SWA-Armband) Modell MF-SW der Firma BodyMedia® (Pittsburgh, USA) verwendet. Das Gerät besteht aus einem Gerätegehäuse sowie einem Gurt zur Befestigung (Abb. 11A). Dieses Modell verfügt im Geräteinneren über ein dreiaxiales Akzelerometer, zur Bestimmung von Beschleunigungsintensitäten und Körperposition, sowie einen zusätzlichen Sensor auf der Geräterückseite. Der Sensor ermöglicht die Bestimmung von Hauttemperatur, Wärmeabgabe des Körpers sowie Hautimpedanz (Abb. 11B) und ermöglicht dadurch, unter Verwendung von vorgegebenen Algorithmen, die zuverlässige Bestimmung des Energieverbrauchs (Andre *et al.* 2006). Auf der Geräteoberseite befindet sich weiterhin eine Markierungstaste, ersichtlich in Abb. 11A. Der

Marker ist ein Knopf, mit dem der Proband ein „besonderes“ Ereignis für die Auswertung kennzeichnen kann.

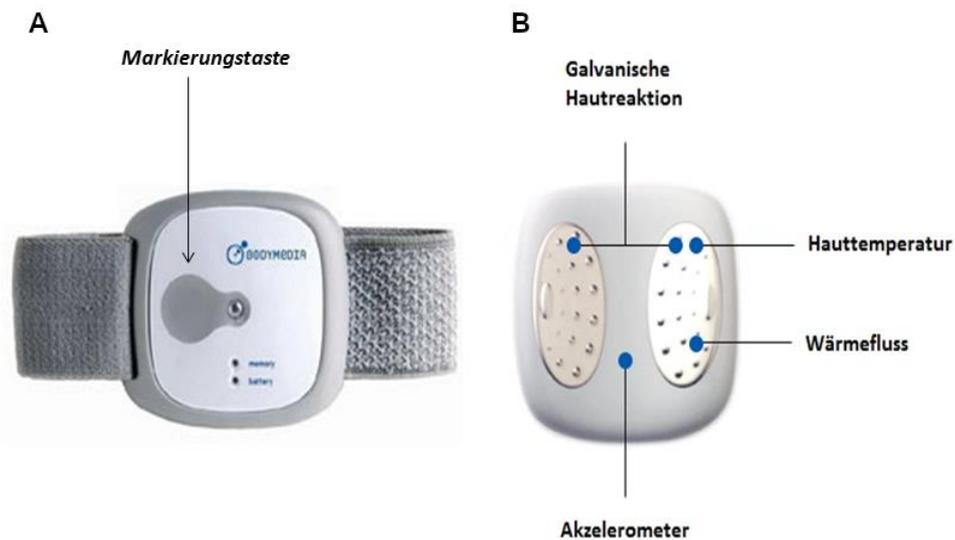


Abb. 11: Ansicht SenseWear® Armband in Draufsicht und Überblick der verschiedenen Sensoren auf der Geräterückseite. (Abb.4A verändert nach [URL 5] und Abb.4B verändert nach [URL 6])

Die Probandinnen trugen das SenseWear® Armband am Oberarm der dominanten Seite. Dabei wurde darauf geachtet, dass das Gerät mittig auf der Rückseite des Oberarms über dem Trizeps Muskel angebracht wurde. Ferner sollte das Gerätegehäuse nicht zwischen Oberarm und Körper liegen, sondern „frei“ auf der Rückseite des Oberarms anliegen (Abb. 12). Die Tragezeit für alle Probandinnen wurde von 13:00 Uhr an Tag 0 bis 13:00 Uhr an Tag 3 festgesetzt. Während dieses Zeitraums wurde das Gerät möglichst durchgängig von den Probandinnen getragen. Lediglich bei Kontakt mit fließendem Wasser (Duschen, Baden) wurde das Gerät kurzfristig abgelegt. Die Probandinnen wurden instruiert, die Markierungstaste beim Wunsch einzuschlafen (Zeitpunkt Licht-aus) sowie beim Aufwachen (Zeitpunkt Licht-an) zu drücken.

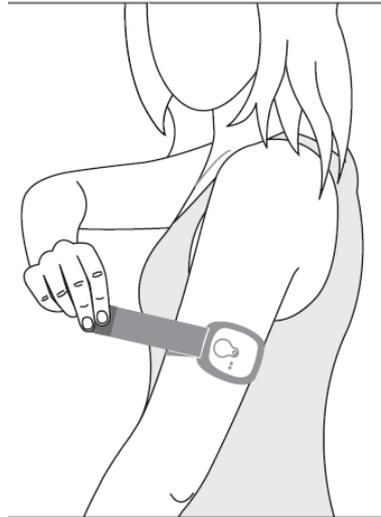


Abb. 12: Schematischer Überblick korrektes Anlegen des SenseWear® Armbands am dominanten Oberarm. (SenseWear®-Schnellstartanleitung, BODYMEDIA®, Pittsburgh, USA)

Mit Hilfe eines USB-Anschlusses und dem entsprechenden Kabel sowie der zugehörigen Software SenseWear® Professional 8.0 (Body Media, Pittsburgh, USA) lassen sich die Messdaten für die Auswertung auf den PC übertragen. Die Auswertung der Daten erfolgte über zwei Tage à 24 Stunden (Untersuchungstage 1 und 2), vergl. Abb. 8. Folgende Parameter gibt das Programm standardmäßig aus: gesamter Energieverbrauch, aktiver Energieverbrauch, Dauer der körperlichen Aktivität, METs (Tagesmittel), Anzahl Schritte und Gesamtstrecke (Tagesmittel in km). Ferner kann über eine grafische Darstellung in der Software zwischen Wach- und Schlafphasen unterschieden werden.

Zusätzlich zu den oben genannten Daten wurden mit Hilfe der Software in der vorliegenden Arbeit folgende Angaben ermittelt: Zeitpunkte von Licht anschalten (Aufwachen) und des Lichtlöschens (Zeitpunkt ab dem der Wunsch zu schlafen besteht), Einschlafdauer, sowie der Schlafenergieverbrauch (SEE). Die Zeitpunkte von Licht an und Licht aus wurden mit Hilfe des Markers bestimmt. Durch die Betätigung des Markers erscheint in der Software zur Auswertung zu dem entsprechenden Zeitpunkt ein Marker-Symbol mit Uhrzeit. Die Einschlafdauer wurde ebenfalls unter Zuhilfenahme des Markers ermittelt. Anhand der Grafik in der SenseWear® Software kann der zeitliche Abstand zwischen Marker (Zeitpunkt, ab dem Einschlafwunsch besteht) und dem tatsächlichen Zeitpunkt des Einschlafens bestimmt werden. Durch das Probandenprotokoll (Abschnitt 5.3) wurde sichergestellt, dass Sicherungsdaten für das Schlaf-/Wachverhalten vorhanden waren. Zur Plausibilitätskontrolle von Aktivitäts-/Inaktivitätszeiträumen des SenseWear® Armbandes oder dem Fall, dass die Probandin vergisst, den Marker-Knopf zu drücken oder es möglicherweise zu einer Fehlfunktion des Armbandes kommt, kann auf diese Daten zurückgegriffen werden. Für die Bestimmung des Schlafenergieverbrauchs einer Probandin wurde eine Stunde im ersten Nachtdrittel

ausgewählt, in der laut SenseWear® Software zu 100% Schlaf (keine Aktivität) vorlag. Für die gewählte Stunde kann der Energieverbrauch in kcal/Std. durch das Programm ermittelt werden. Dieser Wert wurde wiederum herangezogen, um den Grundumsatz einer Person nach folgender Formel zu berechnen:

$$\text{Grundumsatz (kcal/24Std.)} = \text{Schlafenergieverbrauch (kcal/Std.)} \times 24 \text{ Stunden}$$

Tab. 3 zeigt eine Übersicht der in dieser Arbeit verwendeten Variablen, welche mittels Aktigraphie erhoben wurden sowie eine kurze Definition der einzelnen Variablen.

Tab. 3: Übersicht über die mittels Aktigraphie bestimmten Variablen.

Variable	Definition
Grundumsatz (kcal/24 Std) nach WHO	Grundumsatz berechnet von SenseWear® Software aus Körperhöhe und -gewicht, nach WHO-Richtlinie
Gesamtenergieverbrauch(kcal/24 Std)	gesamter Energieverbrauch während 24 Stunden (Untersuchungstag 1/Untersuchungstag 2)
Aktiver Energieverbrauch (kcal)	durch körperliche Aktivität am Untersuchungstag umgesetzte Energie, unterteilt in verschiedene Aktivitätsstufen (Mets)
Dauer körperl. Aktivität (Min)	Dauer der körperlichen Aktivität am Untersuchungstag in Minuten, unterteilt in verschiedene Aktivitätsstufen (Mets)
Mets (Tagesmittel)	Metabolisches Äquivalent (Mittelwert für den Untersuchungstag)
Gesamtstrecke (km)	zurückgelegte Gesamtstrecke pro Untersuchungstag in Kilometern
Gesamtenergieverbrauch (kcal) – Tag	gesamter Energieverbrauch während Wachphase der Probandin
Gesamtenergieverbrauch (kcal) – Nacht	gesamter Energieverbrauch während Schlafphase der Probandin
Schlafenergieverbrauch (kcal/1 Std)	Energieverbrauch während 1 Stunde bei 100% Schlaf
Mets zu Schlafenergieverbrauch	metabolisches Äquivalent für die Stunde Schlaf, welche zur Bestimmung des SEE herangezogen wurde
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)	Grundumsatz berechnet aus SEE nach: $BMR = SEE \text{ (kcal/Std)} \times 24 \text{ Std}$

$$SEE = \text{Schlafenergieverbrauch}, BMR = \text{Grundumsatz}$$

Die Erfassung des aktiven Energieverbrauchs sowie der Dauer der körperlichen Aktivität erfolgte durch die SenseWear® Software in verschiedenen Aktivitätsabstufungen. Die vom Hersteller vorgegebene Klassifizierung der Aktivitätsstufen kann Tab. 4 entnommen werden.

Tab. 4: Definition der verschiedenen Aktivitätsstufen laut Hersteller des Aktigraphiegeräts.

Variable	Definition der Aktivitätsstufe laut Hersteller
Aktiver Energieverbrauch (kcal) bis 2,0 Mets	eingeschränkte Aktivität
Aktiver Energieverbrauch (kcal) bis 2,5 Mets	durchschnittliche Aktivität
Aktiver Energieverbrauch (kcal) bis 3,0 Mets	sportlich
Dauer körperl. Aktivität (Min) bis 3,0 Mets	niedrige körperliche Aktivität
Dauer körperl. Aktivität (Min) 3,0 – 6,0 Mets	mittlere körperliche Aktivität
Dauer körperl. Aktivität (Min) 6,0 – 9,0 Mets	hohe körperliche Aktivität
Dauer körperl. Aktivität (Min) über 9,0 Mets	sehr hohe körperliche Aktivität

Mets = Metabolisches Äquivalent

5.5 Erfassung der Umgebungslichtintensität

Da verschiedene Studien einen Einfluss des Umgebungslichts auf die CAR beschreiben (Scheer & Buijs 1999; Leproult *et al.* 2001; Jung *et al.* 2010; Figueiro & Rea 2012), wurde in der vorliegenden Arbeit die Umgebungslichtintensität zum Zeitpunkt der morgendlichen Speichelprobensammlung erfasst. Dafür wurde der Aktigraph Actiwatch 2 (Philips Respironics, Murrysville, USA) verwendet. In der vorliegenden Studie wurde dieser Aktigraph ausschließlich zur Bestimmung der Umgebungslichtintensität genutzt. Daher beschränken sich die folgenden Ausführungen lediglich auf diese Funktionalität des Geräts.

Bei der Actiwatch 2 handelt es sich um einen kleinen Aktigraphen, vergleichbar in Form und Größe mit einer Armbanduhr ohne Ziffernblatt. Das Gerät wird am Handgelenk getragen und besitzt neben den für einen Aktigraphen üblichen Eigenschaften (vergl. Abschnitt 5.4.3) einen Lichtsensor (Abb. 13). Dieser ermöglicht die Aufzeichnung der Lichtintensität von einfallendem Weißlicht über den gewählten Beobachtungszeitraum. Die erhobenen Daten der Actiwatch 2 können mit Hilfe der mitgelieferten Dockingstation und der Software Actiware (Version 6.0.1, Philips Respironics, Murrysville, USA) zur Auswertung auf einen PC übertragen werden. Die Probandinnen haben die Actiwatch 2 jeweils in der ersten Stunde nach dem Aufwachen von Untersuchungstag 1 und 2 bei sich getragen. In diesem Zeitraum fand jeweilig die Speichelprobensammlung für das Morgenprofil der Hormonanalyse statt. Dabei war den Probandinnen freigestellt, ob sie die Actiwatch 2 am Handgelenk (wie eine Armbanduhr) tragen oder diese lediglich in ihre unmittelbare Nähe legen.



Abb. 13: Actiwatch 2 mit Lichtsensor.[URL 7]

Für die Auswertung können mit Hilfe der Software manuell Zeitintervalle definiert werden. Für die Festlegung der Auswerteintervalle dieser Arbeit wurde der Aufstehzeitpunkt aus dem Probandenprotokoll herangezogen. Das Auswerteintervall für die jeweils vier morgendlichen Proben ergab sich dabei aus folgender Formel:

$$\text{Auswerteintervall (Zeitraum)} = \text{Aufstehzeit (Uhrzeit)} + 60 \text{ Minuten}$$

Nach Festlegung der manuellen Auswerteintervalle berechnet die Software automatisch eine separate Statistik. Aus dieser lassen sich die Parameter von Interesse ablesen. Für die vorliegende Arbeit wurde die mittlere Lichtintensität (Lux) für die erste Stunde nach dem Aufstehen bestimmt.

5.6 Konzentrationsbestimmung von Cortisol

5.6.1 Speichelprobensammlung zur Cortisolanalyse

Zur Analyse der Cortisolkonzentration am Abend vor dem Zubettgehen sowie im Morgenprofil wurden Speichelproben gesammelt. Speichel hat den Vorteil gegenüber einer Blutprobe, dass es sich um eine nicht invasive Methode zur Gewinnung von Probenmaterial handelt. Zum einen stellt eine Blutentnahme eine Stresssituation für die Probanden dar, welche unter Umständen die Cortisolkonzentration verfälscht, zum anderen ist der Autorin als Biologin ein invasiver Eingriff am Probanden und damit die Entnahme von Blut untersagt. Überdies stellt Speichel eine gute Alternative zur Gewinnung von Probenmaterial dar, da die Konzentration von Cortisol im Speichel der frei verfügbaren biologisch aktiven Form im Blut entspricht (Turpeinen & Hämäläinen 2013).

Die Speichelproben wurden von den Probandinnen zu insgesamt elf Zeitpunkten zu Hause in der gewohnten Umgebung gesammelt. Am Abend von Tag 0 wurde direkt vor dem

Zubettgehen die erste Probe (T_{Bett}) gesammelt. Am darauffolgenden Morgen (Tag 1) wurden insgesamt vier Proben gesammelt. Beginnend mit der ersten Probe direkt nach dem Aufwachen (T_0), sowie 30 Minuten (T_{30}), 45 Minuten (T_{45}) und 60 Minuten (T_{60}) später. Am Abend von Tag 1 wurde erneut direkt vor dem Zubettgehen eine Probe (T_{Bett}) gesammelt. Am darauffolgenden Tag 2 wiederholte sich die Sammlung zu den oben genannten morgendlichen Zeitpunkten (T_0 , T_{30} , T_{45} , T_{60}) und T_{Bett} .

Die Probandinnen waren angewiesen, die abendlichen Speichelproben unmittelbar vor dem Zubettgehen zu sammeln, sowie mit der morgendlichen Sammlung direkt nach dem Aufwachen zu beginnen. Die Zeitpunkte der Probensammlungen wurden von den Probandinnen im Probandenprotokoll (Anhang A10) festgehalten. Ferner wurden die Probandinnen instruiert, zwischen den morgendlichen Speichelproben die vorgegebenen Zeiträume (30 Min, 15 Min, 15 Min) exakt einzuhalten, so dass mit Hilfe der Zeitangaben aus dem Protokoll Rückschlüsse auf die Uhrzeiten der gesammelten Speichelproben gezogen werden konnten. Um diese genauen Vorgaben einzuhalten, wurden die Probandinnen sowohl mündlich als auch schriftlich (Anhang A2) angewiesen, sich einen Wecker zu den jeweils vier verschiedenen Zeitpunkten der Speichelsammlung an den beiden Morgen von Untersuchungstag 1 und 2 zu stellen. Die Programmierung von mehreren Alarmzeitpunkten gleichzeitig stellt bei der Verwendung von heutigen Smartphones i.d.R. kein Problem dar. Neben der Einhaltung der exakten Zeitvorgaben erleichtert die Nutzung der Weckfunktion das Prozedere der Speichelprobensammlung zusätzlich für die Probanden, da diese sich auf ihre Morgenroutinen konzentrieren können und nicht dauerhaft die Uhrzeit im Blick behalten müssen, was evtl. einen zusätzlichen Stressor darstellen würde.

Die Korrektheit der Angaben zur Sammlung der Speichelproben sowie die genauen Uhrzeiten wurden mit Hilfe einer objektiven Methode überprüft. Über diesen Sachverhalt wurden die Probandinnen im Vorfeld informiert. Hierfür kamen Sammelbehältnisse mit *medication event monitoring system* (MEMS[®])-Schraubdeckeln (AARDEX Group, Sion, Schweiz) zum Einsatz (Abb. 14A). Die Verwendung von MEMS[®]-Behältern ist inzwischen die Goldstandard-Methode zur objektiven Erfassung von Patientenadhärenz [URL 8]. In der vorliegenden Arbeit wurde das Modell MEMS[®] 6 verwendet. Im Deckel des MEMS[®]-Behälters befindet sich ein Mikrochip, welcher Datum und Uhrzeit eines Öffnungsereignisses registriert. Über die zugehörige Software PowerView (Version 3.5.1, AARDEX Group, Sion, Schweiz) und einen Kommunikator (MEMS-Reader USB, AARDEX Group, Sion, Schweiz) können die Daten auf einen PC übertragen werden (Abb. 14B). Die Software legt ein Datenbanksystem an und stellt

die Öffnungsereignisse in Form eines Kalenderblattes mit den genauen Uhrzeiten der Öffnung dar.

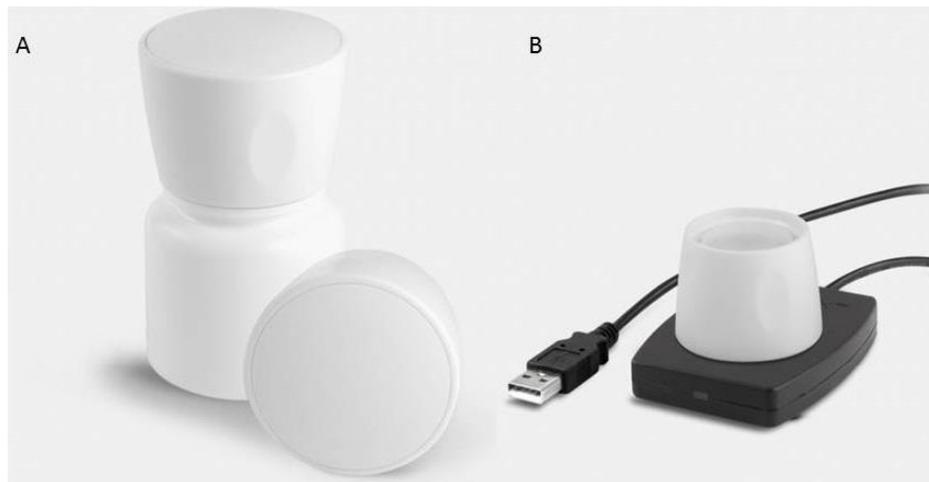


Abb. 14: A) MEMS®-Schraubdeckel mit Sammelgefäß klein.[URL 9] B) MEMS®-Reader mit Deckel.[URL 10]

Den Probandinnen wurden SaliCaps (IBL International, Hamburg) für die elf Speichelproben in einem MEMS®-Behälter sowie vorgefertigte Etiketten zur Beschriftung der einzelnen Proben mitgegeben. Für jede Speichelprobe wurde der MEMS®-Behälter von den Probandinnen geöffnet und nach Entnahme des SaliCaps sofort wieder verschlossen. Die Probandinnen wurden instruiert, jeweils 60 Minuten vor jeder Speichelprobe nichts zu essen, zu trinken, sich nicht die Zähne zu putzen und kein Kaugummi zu kauen. Die Speichelproben wurden direkt in die SaliCaps gesammelt. Dafür speichelten die Probandinnen solange in das Behältnis, bis die erforderliche Menge von ca. 1,0 bis 1,5 ml Speichel pro Probe vorhanden war. Jede Probe wurde direkt im Anschluss an die Speichelsammlung von der Probandin mit dem passenden vorgefertigten Etikett versehen. Jedes Etikett beinhaltete eine pseudonymisierte Information zur Probandin (Probandennummer) sowie den Untersuchungstag und die Uhrzeit (T_{Bett} , T_0 , T_{30} , T_{45} oder T_{60}) der Probe. Die gesammelten Speichelproben wurden von den Probandinnen in einem Thermobehälter (BRAND® mini cooler, Brand GmbH & Co. KG, Wertheim) im Gefrierschrank bei -20°C gelagert. Der Thermobehälter stellte sicher, dass die Proben bei dem Transport in die AG Humanbiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel nicht auftauten. Die Proben wurden nach Studienende bis zur weiteren Verarbeitung durch die Autorin in der AG Humanbiologie ebenfalls im Gefrierschrank bei -20°C gelagert. Das Einfrieren der Proben dient nicht nur der Konservierung der Speichelproben. Durch das Einfrieren werden die mukösen Bestandteile des Speichels zerstört, welche ansonsten u.U. zu Problemen bei der weiteren Bearbeitung der Proben führen könnten.

5.6.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Zur Bestimmung der Cortisolkonzentrationen in den gesammelten und gelagerten Speichelproben, wie in Abschnitt 5.6.1 beschrieben, wurde ein *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) verwendet. Ein Immunoassay ist eine Methode zur Konzentrationsbestimmung von Biomolekülen wie z.B. Hormonen bis in den Femtomolbereich. Dabei macht sich ein Immunoassay die Antigen-Antikörper-Reaktion zu Nutze. Hiernach bindet ein Antikörper an eine spezifische Oberflächenstruktur (Epitop) eines Antigens. Da zahlreiche verschiedene Varianten für einen Immunoassay existieren, soll im weiteren Verlauf nur auf die hier durchgeführte Methode eingegangen werden. Für die vorliegende Arbeit wurde das Cortisol Saliva ELISA Kit (RE52611) der Firma IBL (IBL International, Hamburg) verwendet. Der verwendete ELISA beruht auf dem Prinzip des kompetitiven Enzymimmunoassays:

Dabei konkurrieren eine unbekannte Menge Antigen (hier Cortisol) aus der Speichelprobe und eine bekannte Menge enzymmarkiertem Antigen (aus dem Kit) um die Bindungsstellen des Antikörpers (Abb. 15). Der Antikörper ist bei dem vorliegenden Kit an die Wells (Vertiefungen im Boden) der Mikrotiterstreifen gebunden. Nach einer gewissen Inkubationszeit erfolgt ein Waschschritt, bei dem nicht gebundenes Antigen entfernt wird. Durch Zugabe einer Substratlösung kommt es bei dem enzymmarkierten Antigen zu einer Farbreaktion. Nach einer weiteren Inkubationszeit wird die Reaktion mittels einer Stopplösung abgestoppt. Dadurch kommt es zu einem erneuten Farbumschlag. Die Konzentration des enzymmarkierten Antigens kann nun photometrisch erfasst werden und ist umgekehrt proportional zu der Antigen-Konzentration der Proben. D.h. je mehr Antigen aus der Speichelprobe an die Antikörper binden konnte, desto weniger enzymmarkiertes Antigen konnte binden. Dementsprechend weniger Substrat konnte umgesetzt werden, wodurch die Farbreaktion im Well schwächer ausfällt. Die Konzentrationen der Proben können dabei direkt anhand einer Standardkurve bestimmt werden.

Die Bearbeitung der Proben erfolgte mittels oben erwähnten Kits und laut Gebrauchsanweisung des Herstellers. Die zur Bestimmung der Cortisolkonzentration gesammelten Speichelproben wurden bis zur Bearbeitung bei -20°C gelagert. Nach dem Auftauen wurden die Speichelproben gevortext und im Anschluss für 10 Min. bei 3000 g und 4°C zentrifugiert (Tischzentrifuge Rotina 38R). Daraufhin wurden die Wells der Mikrotiterplatte mit jeweils $50\mu\text{l}$ der sechs Standards sowie zwei Kontrollen aus dem Kit und den Probandenproben befüllt. Anschließend wurde in jedes befüllte Well der Mikrotiterplatte $100\mu\text{l}$ des Enzymkonjugats zugegeben und die Mikrotiterplatte mit einer Abdeckfolie verschlossen. Die Mikrotiterplatte wurde nun für zwei Stunden bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln

(IKA® MS 3 digital) bei 500 rpm inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Abdeckfolie entfernt und die Inkubationslösung verworfen. Im Anschluss wurde die Mikrotiterplatte mit Hilfe des Mikrotiterplattenwaschgeräts (HydroFlex™) in vier aufeinanderfolgenden Waschschrritten mit jeweils 250µl Waschpuffer gewaschen. Danach wurde jedes Well mit 100µl der Substratlösung befüllt und für 30 Min. bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (IKA® MS 3 digital) bei 500 rpm inkubiert (unbedeckt). Daraufhin wurde jedem Well 100µl der Stopplösung zugegeben und innerhalb von 15 Min. nach Zugabe der Stopplösung die optische Dichte bei allen belegten Wells der Mikrotiterplatte mittels ELISA-Reader (Multiskan®FC) bei 450nm gemessen.

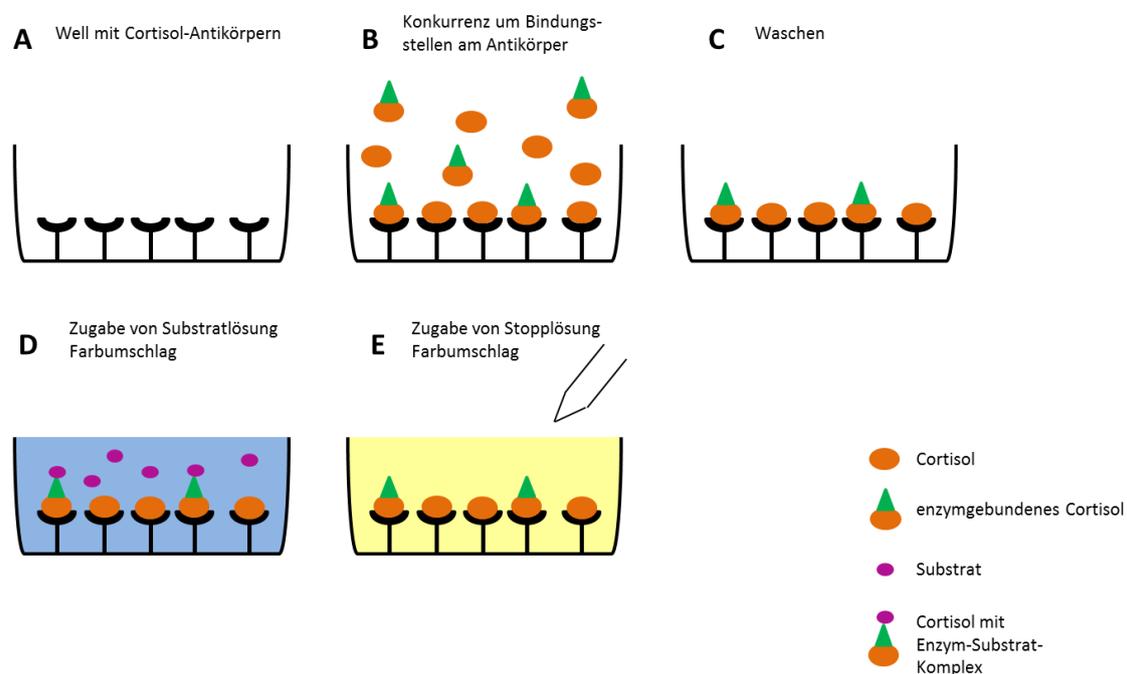


Abb. 15: Funktionsprinzip eines kompetitiven enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Eine bekannte Menge enzymmarkiertes Antigen (hier Cortisol) konkurriert mit einer unbekannt Menge Antigen (hier Cortisol aus Speichel) um die Bindungsstellen des Antikörpers. Ein Waschschrift entfernt die ungebundenen Antigene. Durch Zugabe einer Substratlösung kommt es beim enzymmarkierten Antigen zu einem Farbumschlag. Nach einer Inkubationszeit wird die Reaktion durch Zugabe einer Stopplösung abgestoppt.

Hierbei kommt es zu einem erneuten Farbumschlag. Die enzymmarkierte Menge an Antigen kann nun photometrisch bestimmt werden und ist umgekehrt proportional zu der Antigen-Konzentration der Proben.

(Quelle: Autorin)

Bemerkungen zur Cortisolanalyse

Bei einzelnen Proben, die aufgrund zähflüssigen Speichels nicht pipettierbar waren, wurden die betroffenen Proben vor der weiteren Verarbeitung im ELISA für 60 Min bei 60°C im Heizblock (HLC Heizblock HBT 130-2) erwärmt, um die mukösen Bestandteile des Speichels zu zerstören. Im Anschluss wurden die Proben zentrifugiert und nach dem Abkühlen laut Protokoll der

Fa. IBL weiterverarbeitet. Die Speichelproben wurden vor der Analyse visuell auf Verunreinigungen mit Blut überprüft und ggf. von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen.

Als gebräuchliche Marker der Cortisol-Sekretion wurden anhand nachfolgender Formeln zum einen der morgendliche Anstieg der Cortisolkonzentration in Form der CAR (Adam & Kumari 2009; Stalder *et al.* 2016), sowie der darauffolgende Abfall der Konzentration über den weiteren Tagesverlauf (SOD) bestimmt (Adam & Kumari 2009).

$$CAR \text{ (nmol/l)} = \text{Cortisolkonz. 45 Min nach dem Aufwachen (nmol/l)} - \text{Cortisolkonz. Aufwachzeitpkt. (nmol/l)}$$

$$SOD \text{ (nmol/l x min)} = \frac{\text{Cortisolkonz. Aufwachzeitpkt. (nmol/l)} - \text{Cortisolkonz. Zubettgehzeit (nmol/l)}}{\text{objekt. Aufwachzeitpunkt (Min)} - \text{objekt. Zubettgehzeit (Min)}}$$

5.7 Molekulargenetische Methoden

5.7.1 Gewinnung von Mundschleimhautzellen für molekulargenetische Analysen

Als eine einfache und nicht-invasive Methode zur Gewinnung von DNA für molekulargenetische Analysen haben sich Speichelproben bzw. Mundschleimhautproben etabliert. MSH schiefern sich, ihrem natürlichen Lebenszyklus folgend, stetig ab und werden durch nachwachsende Zellen ersetzt. Dementsprechend können durch die Entnahme einer Speichelprobe auf einfache Art und Weise MSH für die Gewinnung von DNA erhalten werden. Aus den Zellen der Mundschleimhaut lässt sich mit einfachen Labormethoden die Gesamt-DNA extrahieren. Für die Bestimmung der genetischen Polymorphismen wurden von jeder Probandin zum Studienbeginn zwei Speichelproben gesammelt. Die erste Speichelprobe wurde mit Hilfe einer Mundspüllösung gesammelt und diente zur Extraktion von DNA aus Mundschleimhautgewebe. Die zweite Speichelprobe wurde mit Hilfe eines Watteträgers aus dem Invisorb® Spin Swab Kit (Stratec Molecular, Berlin) gewonnen und diente als Sicherung, da DNA, welche mit dieser Methode gesammelt wird, längerfristig ohne weitere Bearbeitung gelagert werden kann. Sollte im Laufe der DNA-Analyse mehr Ausgangsmaterial benötigt werden, als mit Hilfe der ersten Speichelprobe gewonnen wurde, kann auf die zweite Probe zurückgegriffen werden. Die Probandinnen waren angewiesen, 60 Minuten vor der Speichelprobenentnahme weder zu essen noch zu trinken und auch keinen Kaugummi zu kauen oder Zähne zu putzen.

Für die Gewinnung von MSH mittels der Mundspüllösung waren die Probandinnen angewiesen, ihren Mundraum für eine Minute mit ca. 40 ml physiologischer Kochsalzlösung (0,9 %)

zu spülen. Für eine bessere Durchführbarkeit wurde die Menge in zwei Portionen unterteilt und mit jeder Portion für eine Minute der Mundraum gespült. Um einer Zersetzung der DNA durch die im Speichel vorhandenen Enzyme (bspw. Lysozym, Amylase) entgegenzuwirken, wurden die Proben direkt im Anschluss bei 450 rcf und 4°C für fünf Minuten zentrifugiert (Tischzentrifuge Rotina 38R). Das entstehende Pellet enthält die DNA und wurde vom Überstand getrennt und anschließend bei -20°C bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren. Für die Entnahme der Speichelprobe mit Hilfe des Watteträgers wurde dieser für ca. 30 Sekunden entlang jeder Wangeninnenseite der Probandin gestreift. Danach wurde der Watteträger so an der Luft getrocknet, dass eine Kontamination mit Fremd-DNA ausgeschlossen war. Im Anschluss wurde der Watteträger in seiner Umverpackung bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verwendung gelagert.

DNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen (Mundspülung)

Für die Extraktion der DNA aus den mit Hilfe der Mundspülung, wie im vorigen Abschnitt beschrieben, gesammelten Speichelproben, kamen selbst angesetzte Reagenzien, gemäß Protokoll der AG Humanbiologie, zum Einsatz. Das durch die Zentrifugation (vergl. 5.7.1) erhaltene Pellet wurde nach dem Auftauen in 400 µl Lysepuffer (50 mM Tris-HCL pH 8/ 10 mM EDTA/ 2 %-Vol. SDS) aufgenommen, kurz gevortext und in ein 2 ml Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurde die Probe für fünf Minuten bei 65°C im Heizblock (HLC Heizblock HBT 130-2) inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden 250 µl einer 4,5 molarer Natriumchlorid-Lösung zugegeben und die Probe zur Durchmischung gevortext. Darauffolgend wurde die Probe für vier Minuten bei 13.000 rpm zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge Mikro 120). Der erhaltene Überstand wurde in ein neues 2 ml Reaktionsgefäß überführt und mit dem gleichen Volumen (i.d.R. ca. 700 µl) Isopropanol ($\geq 99,8\%$) gefällt. Für eine ausreichende Fällungsreaktion wurde die Probe 10 – 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und im Anschluss für zehn Minuten bei 13.000 RPM zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge Mikro 120). Der entstehende Überstand wurde verworfen und die Probe im nächsten Schritt in 50 µl Ethanol (70%) gewaschen. Anschließend folgte erneut eine Zentrifugation für zehn Minuten bei 13.000 RPM (Mikroliterzentrifuge Mikro 120). Der entstehende Überstand wurde ebenfalls verworfen und das erhaltene Pellet für ca. 15 Minuten bei Raumtemperatur getrocknet. Nachfolgend wurde das Pellet in 100 µl TE-Puffer (10mM Tris-HCL pH 8/ 1mM EDTA) gelöst und dafür einige Tage im Kühlschrank gelagert. Abschließend wurde die extrahierte DNA bis zur weiteren Verwendung bei -20°C eingefroren.

DNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen mittels Invisorb® Spin Swab Kit

Für die Extraktion der DNA, die wie in Abschnitt 5.7.1 erläutert, mittels Watteträger gesammelt wurde, kamen Reagenzien und Verbrauchsmaterial aus dem Invisorb® Spin Swab Kit (Stratec Molecular, Berlin) zum Einsatz.

600 µl Lysepuffer wurden zusammen mit 20 µl Proteinase K-Lösung in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß vorgelegt. Die Wattespitze des Watteträgers wurde ca. 1 cm über der Watte abgeschnitten, so dass die verbleibende Wattespitze in das Reaktionsgefäß passte. Die Wattespitze in dem Reaktionsgefäß wurde kurz gevortext und anschließend bei 65°C unter ständigem Schütteln für 15 Minuten inkubiert (Eppendorf ThermoMixer® C). Danach wurde die Wattespitze aus der Lösung entfernt und 300 µl Bindepuffer zur Lösung zugegeben. Ein Filteraufsatz wurde auf ein 2 ml Reaktionsgefäß aufgesetzt und die Lösung vollständig auf diesen Filteraufsatz überführt. Anschließend wurde die Lösung für zwei Minuten bei 11.000 RPM zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge Mikro 120) und das Filtrat verworfen. Daraufhin wurde 700 µl Waschpuffer auf den Filteraufsatz aufgegeben und im Anschluss für eine Minute bei 11.000 RPM zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge Mikro 120). Das erhaltene Filtrat wurde verworfen. Dieser Waschschrift wurde einmal wiederholt und das aus der Zentrifugation erhaltene Filtrat ebenfalls verworfen. Im Anschluss folgte eine erneute Zentrifugation für vier Minuten bei maximaler Geschwindigkeit (13.000 RPM) (Mikroliterzentrifuge Mikro 120). Darauffolgend wurden das 2 ml Reaktionsgefäß sowie das darin enthaltene Filtrat verworfen und der Filteraufsatz auf ein neues 1,5 ml Reaktionsgefäß aufgesetzt. Nachfolgend wurden 55 µl des vorgewärmten Elutionspuffers auf den Filteraufsatz aufgegeben und die Probe für drei Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Dann wurde die Probe für eine Minute bei 11.000 RPM zentrifugiert (Mikroliterzentrifuge Mikro 120) und anschließend der Filteraufsatz verworfen. Das erhaltene Filtrat wurde bis zur weiteren Verwendung bei -20°C eingefroren.

5.7.2 Photometrische Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren

Zur Bestimmung des DNA-Gehaltes sowie der Verunreinigung der wie in Abschnitt 5.7.1 beschrieben extrahierten Proben wurde das Biophotometer plus (Eppendorf, Hamburg) verwendet. Die photometrische Konzentrationsbestimmung erfolgt über die Messung der optischen Dichte (OD) bei 260 nm. Dabei berechnet sich die Konzentration aus der OD bei 260 nm, der Verdünnung und einem für DNA typischen Multiplikationsfaktor. Ein Rückschluss auf die Verunreinigung mit Proteinen lässt sich durch das Verhältnis der OD bei 260 nm zu der OD bei 280 nm ziehen.

Am Photometer wurde das Programm zur Bestimmung von DNA-Konzentrationen ausgewählt und die gewählte Verdünnung (5 µl Probe + 55 µl Verdünnung) eingegeben. Als Verdünnung kam in der vorliegenden Arbeit HPLC-Wasser (Hochleistungsflüssigkeits-chromatographie-Wasser, *high performance liquid chromatography*) (Merck, Darmstadt) zum Einsatz. Anschließend wurde zur Bestimmung des Leerwerts (Referenzwert) eine Uvette® (Eppendorf, Hamburg) mit 60 µl HPLC-Wasser befüllt und die Uvette® in das Photometer eingesetzt. Der Referenzwert sollte nicht über 0,000 µg/ml liegen. Lag der Messwert über diesem Sollwert, wurde angenommen, dass entweder die Uvette® oder das HPLC-Wasser verunreinigt war und eine erneute Messung mit neuen Verbrauchsmaterialien durchgeführt. Im Anschluss wurden 55 µl HPLC-Wasser in eine Uvette® vorgelegt und 5 µl der zu messenden und zuvor durchmischten Probe zugegeben. Die Lösung wurde durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren innerhalb der Uvette® durchmischt. Nachfolgend wurde die Uvette® in das Photometer eingesetzt und die Konzentrationsbestimmung laut Protokoll durchgeführt. Die angezeigten Konzentrationen wurden notiert.

5.7.3 Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) ist eine gängige und gut etablierte Methode zur Vervielfältigung (Amplifizierung) gewünschter Genabschnitte. Für eine PCR benötigt man Ausgangs-DNA (*template*-DNA), die man amplifizieren möchte, sowie zwei für den gewünschten Genabschnitt passende Oligonukleotidprimer, freie Nukleotide (Desoxyribonukleosidtriphosphate, dNTPs), einen Puffer sowie eine thermostabile DNA-Polymerase. In der vorliegenden Arbeit kam die Taq-Polymerase (isoliert aus *Thermus aquaticus*) zum Einsatz.

Ein typischer PCR-Zyklus besteht aus drei Schritten: Denaturierung, Annealing und Elongation. Während der Denaturierung werden die beiden Stränge der *template*-DNA unter Hitzeeinwirkung aufgetrennt. Im zweiten Schritt, dem sogenannten Annealing, wird die Temperatur gesenkt, damit es zur Hybridisierung der im massiven Überschuss vorhandenen Oligonukleotidprimer an die einzelsträngige *template*-DNA kommt. Im letzten Schritt, der Elongation, wird die Temperatur auf das Temperaturoptimum der DNA-Polymerase erhöht. Diese verlängert nun komplementär ausgehend von den hybridisierten Oligonukleotidprimern die einzelsträngige *template*-DNA, bis wieder eine doppelsträngige DNA vorliegt. Diese entspricht exakt der *template*-DNA. Abschließend folgt noch ein finaler Elongationsschritt für fünf Minuten bei 72°C, damit die Taq-Polymerase alle angefangenen Elongationen zu Ende führen kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Methode der sogenannten Heiß-Start-PCR (*Hot Start-PCR*) verwendet. Dabei geht der eigentlichen Denaturierung ein einmaliger initialer Denaturierungsschritt für fünf Minuten bei 94°C voraus. Dieser Schritt ist notwendig, da sich in einem PCR-Ansatz schon bei Raumtemperatur nicht spezifische Primer-*Template* Hybridisierungen sowie Primer-Primer-Hybride bilden können. Ferner sind viele DNA-Polymerasen, darunter auch die verwendete Taq-Polymerase, schon unterhalb ihres Temperaturoptimums aktiv, so dass sich schon vor der eigentlichen Elongationsphase unspezifische Reaktionsprodukte bilden können, welche die Effizienz der PCR maßgeblich beeinflussen. Um dieses Problem zu umgehen, wird die Taq-Polymerase an einen Antikörper gebunden, welcher die Polymerase bei Raumtemperatur und darunter liegenden Temperaturen inaktiviert. Dadurch wird verhindert, dass das Enzym die unspezifischen Hybridisierungen verlängern kann. Durch den initialen Denaturierungsschritt wird der Antikörper von der Taq-Polymerase gelöst und diese kann in den darauffolgenden PCR-Zyklen den gewünschten Genabschnitt amplifizieren.

Alle in dieser Arbeit durchgeführten PCR-Ansätze haben einen ähnlichen Ansatz aus Reagenzien sowie die gleichen Thermocyclerbedingungen zu Grunde liegen. Lediglich die eingesetzte Menge DNA variiert teilweise zwischen den untersuchten Polymorphismen und damit einhergehend die eingesetzte Menge Wasser. Der PCR-Ansatz ist Tab. 5 zu entnehmen, die Thermocyclerbedingungen Tab. 6. Nur die Annealing-Temperatur ist Primer-abhängig und wird gesondert in Tab. 7 aufgelistet. Die verwendeten Primersequenzen für die analysierten Polymorphismen sind in Tab. 8 aufgeführt.

Tab. 5: 50µl-Ansatz für eine PCR.

Reagenz	Menge (µl)
H ₂ O	40,1
10x PCR Puffer	5,0
Vorwärtsprimer (10 µM) 1 : 10 verdünnt	1,0
Rückwärtsprimer (10 µM) 1 : 10 verdünnt	1,0
dNTP (unverdünnt)	0,5
Taq-Polymerase	0,4
<i>Template</i> -DNA	2,0
Gesamtvolumen	50,0

Tab. 6: Thermocycler-Bedingungen für eine PCR.

Schritt	Temperatur (°C)	Dauer	Anzahl Zyklen
Initiale Denaturierung	94	5 Minuten	-
Denaturierung	94	30 Sekunden	36
Annealing	Primer-spezifisch*	30 Sekunden	36
Elongation	72	30 Sekunden	36
Finale Elongation	72	5 Minuten	-
Kühlung	4	∞	-

* Primerspezifische Annealing-Temperaturen siehe Tab. 7.

Tab. 7: Annealing-Temperatur der verwendeten Primer.

Gen	Annealing-Temperatur der Primer (°C)
GR SNP rs41423247	59,0
CLOCK SNP rs3749474	55,0
CLOCK SNP rs4580704	58,5

Tab. 8: Übersicht über die verwendeten Primersequenzen.

Primersequenz	Polymorphismus	Quelle
F 5'-TGCATGGTCATTCAGCTGTT	rs41423247	Zobel <i>et al.</i> (2008)
R 5'-AAGCTTAACAATTTGGCCATC	rs41423247	Zobel <i>et al.</i> (2008)
F 5'-GGCTTGTTGAAAACCATTTACGC	rs3749474	AG Humanbiologie
R 5'-CACCATGTGCAAACCTGATCCA	rs3749474	AG Humanbiologie
F 5'-ATTTTCGGTTACCTAGATGCAAG	rs4580704	AG Humanbiologie
R 5'-TCCTAAATCTCTCTCCAACCTC	rs4580704	AG Humanbiologie

5.7.4 Agarose Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese ist eine einfache und kostengünstige Methode zur Überprüfung des Amplifikationsresultats einer PCR. Dabei wird das PCR-Produkt zusammen mit einer Trägersubstanz in ein Agarose-Gel eingebracht. An dieses Gel wird mit Hilfe von zwei Elektroden eine elektrische Spannung angelegt. Da die DNA-Moleküle negativ geladen sind, wandern sie ausgehend von der Kathode in Richtung der Anode. Dabei bewegen sich die großen DNA-Fragmente vergleichsweise langsamer durch die Poren des Agarose-Gels fort als kleinere Fragmente. Um eine Aussage über die Menge und Größe der amplifizierten DNA-Fragmente treffen zu können, wird eine sogenannte Basenpaarleiter mit auf das Gel aufgetragen. Dabei handelt es sich um einen Größenstandard, bei dem die verschiedenen Fragment-Größen bekannt sind, so dass ein Vergleich des amplifizierten Fragments mit den Fragmenten der Basenpaarleiter Rückschlüsse über die Größe der amplifizierten Fragmente zulässt.

Alle PCR-Produkte dieser Arbeit wurden auf 1%ige Agarose-Gele aufgetragen. Anhand der Lage und der Größe der Banden wurde entschieden, ob die DNA-Amplifikation erfolgreich

war. Die überwiegende Anzahl der Gele wurden in der Horizon® 11.14 (Biometra, Göttingen) Gelkammer gegossen, die Gele weisen dabei folgende Abmessungen auf: 11,0 x 14,0 cm (B x L). Pro Gel beträgt die maximale Probenanzahl 48 (mit zwei Kämmen). Bei geringeren Probenzahlen wurde die Horizon® 58 Gelkammer (Biometra, Göttingen) mit folgenden Gelabmessungen genutzt: 5,7 x 8,3 cm (B x L). Bei dieser Gelkammer beträgt die maximale Probenzahl 28 (mit zwei Kämmen). Für die Herstellung der Gele wurden 90 ml TBE-Puffer (TRIS-Borat-EDTA-Puffer, Roth, Karlsruhe) und 1,8 g Agarose (Roth, Karlsruhe) sowie 3,5 µl Ethidiumbromidlösung (Roth, Karlsruhe) verwendet. Als Größenstandard wurde die Basenpaarleiter „O‘Gene Ruler 50 bp DNA Ladder ready-to-use“ (Thermo Scientific, Darmstadt) genutzt. Auf das Gel wurden 5 µl des Größenstandards sowie je 10 µl PCR-Produkt mit 2 µl Orange DNA Loading Dye (Thermo Scientific, Darmstadt) aufgetragen. Die Spannung und Laufzeit betragen zu Beginn 40 Volt für fünf Minuten und anschließend 80 Volt für 55 Minuten. Abschließend wurden Gelbilder mit der Geldokumentationsanlage Gel Jet Imager (Intas, Göttingen) erstellt.

5.7.5 Sanger-Sequenzierung

Die klassische Methode zur DNA-Analyse stellt heutzutage die Sequenzierung dar. Sie ermöglicht die Bestimmung der genauen Basenabfolge eines spezifischen Genabschnitts oder gar eines ganzen Genoms. In der vorliegenden Arbeit kam die Methode der Sanger-Sequenzierung zum Einsatz. Das Prinzip beruht dabei auf dem der PCR (vergl. Abschnitt 5.7.3). Auch bei der Sanger-Sequenzierung wird der gewünschte Genabschnitt mit Hilfe der bereits im Kapitel 5.7.3 beschriebenen Schritte vervielfältigt: Denaturierung, Annealing und Elongation. Bei der Sanger-Sequenzierung werden grundsätzlich dieselben Reagenzien wie für eine PCR benötigt (Ausgangsmaterial = *template*-DNA, Oligonukleotidprimer, dNTPs, DNA-Polymerase). Zusätzlich wird jedoch ein Teil der Nukleotide in modifizierter Form zugegeben. Diesen Nukleotiden (Didesoxynukleosidtriphosphate, ddNTPs) fehlt die 3'-Hydroxygruppe zur Verknüpfung mit dem Phosphatrest des nächsten Nukleotids. Kommt es zum Einbau eines ddNTPs, kann die Polymerase den komplementären Strang nicht weiter verlängern und es kommt zum sogenannten Kettenabbruch. Weiterhin sind die vier verschiedenen ddNTPs jeweils mit einem unterschiedlichen Farbstoff markiert. Da in jedem Ansatz einer Sequenzierungsreaktion sowohl dNTPs als auch ddNTPs vorliegen und diese von der Polymerase nach dem Zufallsprinzip in den komplementären Strang eingebaut werden, entstehen im Laufe einer Sequenzierung DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge. Diese werden abschließend mittels Kapillarelektrophorese aufgetrennt und die farbmarkierten ddNTPs durch einen Laser zur Fluoreszenz angeregt. Die unterschiedlichen Fluoreszenzen der vier ddNTPs werden von einem

Detektor erfasst und in Form eines Elektropherogramms ausgegeben. Das Elektropherogramm gibt dabei die Abfolge der Farbsignale am Detektor wieder, welche der Nukleotid-Abfolge der sequenzierten DNA entspricht.

Alle Proben dieser Arbeit wurden von der Autorin wie folgt vorbereitet und durch das Institut für klinische Molekularbiologie (IKMB) der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel sequenziert. Jedes zu sequenzierende PCR-Produkt wurde, je nach Gesamtanzahl der Proben, mit einem Volumen von 25µl in 8er-Strips oder eine 96 Well-Platte pipettiert. Jeder Primer wurde in einem separaten 1,5ml Reaktionsgefäß mit einer Konzentration von 3,2 µM angesetzt, wobei pro sequenzierte Probe 5µl Primer benötigt wurden. Für die drei analysierten Polymorphismen wurde der jeweilige *Forward-Primer* (F') verwendet (vergl. Tab. 8). Die zuvor beschriebene Vorbereitung der Proben und Primer erfolgte auf Eis. Im Anschluss wurden die Proben und Primer, ebenfalls auf Eis, an das IKMB zur Sequenzierung übergeben. Die Auswertung der vom IKMB erhaltenen Elektropherogramme erfolgte durch die Autorin mit Hilfe der freiverfügbaren Software Chromas (Version 2.5.1; Technelysium, South Brisbane, Australien).

5.8 Statistische Methoden

Alle statistischen Verfahren wurden mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 22, IBM, Ehningen) durchgeführt. Für die Wahl der geeigneten statistischen Methoden ist die Qualität der Daten sowie deren Verteilung ausschlaggebend. Daher wurden die Daten mit Hilfe des *Shapiro-Wilk-Tests* auf Normalverteilung geprüft. Dieser Test prüft, ob die vorliegenden Daten von einer Normalverteilung abweichen. Ein signifikantes Testergebnis bedeutet hierbei, dass die Daten von der Normalverteilung abweichen.

Zur deskriptiven Analyse der Daten wurden Mittelwerte und Standardabweichungen sowie Häufigkeiten berechnet. Zur Überprüfung von linearen Zusammenhängen zwischen normalverteilten Daten wurde eine *Korrelationsanalyse nach Pearson* durchgeführt. Diese berechnet den ungerichteten linearen Zusammenhang zwischen zwei metrisch skalierten Variablen. Ungerichtet heißt dabei, dass nicht von einer abhängigen und einer unabhängigen Variable gesprochen wird. Folglich können durch eine Korrelationsanalyse keine kausalen Rückschlüsse gezogen werden. Die Größe des Zusammenhangs wird in Form des Korrelationskoeffizienten r angegeben. Waren die Voraussetzungen für eine Korrelation nach *Pearson* (r) nicht erfüllt, die Daten aber mindestens ordinalskaliert, wurde eine *Rangkorrelationsanalyse nach Spearman* (r_s) angewendet.

Ausgehend von Cohen (1992) wurde folgende Einteilung der Effektstärken angenommen:

$r = 0,10$ schwacher Effekt

$r = 0,30$ mittlerer Effekt

$r = 0,50$ starker Effekt.

Für den Vergleich von normalverteilten metrischen Variablen zwischen verschiedenen Probandengruppen wurde der *t-Test für unabhängige Stichproben* verwendet. Dieser überprüft, ob die Mittelwerte zweier unabhängiger Stichproben verschieden sind. Da der t-Test Varianzhomogenität voraussetzt, ist dem t-Test der *Levene-Test auf Varianzhomogenität* vorgeschaltet. Dabei testet der Levene-Test die Nullhypothese, dass sich die beiden Varianzen nicht unterscheiden. Das heißt, bei einem signifikanten Ergebnis kann von Varianzheterogenität ausgegangen werden und bei einem nicht signifikanten Ergebnis von Varianzhomogenität. Je nachdem ob Varianzhomogenität vorlag oder nicht, wurde der t-Test für angenommene Gleichheit oder bei nicht-angenommener Gleichheit als Teststatistik angewendet. Waren die Voraussetzungen der Normalverteilung für den t-Test nicht gegeben, wurde der *Mann-Whitney-U-Test* für unabhängige Stichproben verwendet. Dieser vergleicht die zentralen Tendenzen zweier unabhängiger Stichproben miteinander. Allen statistischen Testverfahren wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% zu Grunde gelegt.

Die in dieser Arbeit analysierten Cortisolkonzentrationen wurden log-transformiert, um eine Normalverteilung zu erreichen und den Einfluss von Ausreißern zu minimieren (Stalder *et al.* 2016). Weiterhin wurden bei der Cortisolanalyse nach Stalder *et al.* (2016) alle Ausreißer, die mehr als drei Standardabweichungen vom Mittelwert abweichen, von der Analyse ausgeschlossen.

Die grafischen Darstellungen in Form eines Box Plots sowie die Streudiagramme wurden ebenfalls mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 22, IBM, Ehningen) erstellt. Balkendiagramme wurden mit Hilfe der Software Microsoft Excel (Version 2010) erstellt.

6 Ergebnisse

6.1 Deskriptive Kennzeichen der Probandinnen

In den nachfolgenden Abschnitten erfolgt zunächst eine allgemeine Charakterisierung des untersuchten Probandenkollektivs. Dieses besteht aus insgesamt 156 jungen, gesunden weiblichen Erwachsenen mit einem mittleren Alter von $23,31 \pm 3,45$ Jahren. Im Laufe der Ergebnisdarstellung differiert die Anzahl der Probanden je nach dargestellter Variable. Diese Tatsache beruht auf den verschiedenen Ursprungsquellen der Daten, die in diese Arbeit einfließen (Vergl. Abschnitt 3):

– Studie von Isabel Schubert:	7 Probandinnen	}	N = 156	}	N = 149
– Masterarbeit der Autorin	42 Probandinnen				
– Promotion der Autorin:	107 Probandinnen				

Eine Probandin wurde aufgrund des BMI von $\geq 28 \text{ kg/m}^2$ von den Cortisolanalysen ausgeschlossen. Weiterhin wurden 9 Probandinnen aufgrund von Verunreinigungen der Speichelproben mit Blut von den Cortisolanalysen ausgeschlossen, so dass dort **N = 97** gilt. Zusätzlich zu den 107 Probandinnen aus der Promotion der Autorin wurde das Einverständnis zu weiteren genetischen Analysen von 31 Probandinnen aus der Masterarbeit der Autorin eingeholt. Dementsprechend ist **N = 138** bei den genetischen Analysen des SNP rs41423247.

6.1.1 Soziodemografische Merkmale der Probandinnen

Mit 96,2 % ist der Großteil der 156 Probandinnen ledig, 2,6 % der Probandinnen sind verheiratet und 1,3 % geschieden. Von den 107 Probandinnen der Dissertation nahmen im Erhebungszeitraum mit 54,7 % etwas mehr als die Hälfte orale Kontrazeptiva ein und 45,3 % nicht. Etwa ein Drittel (34 %) der 156 Probandinnen hat in ihrem Leben bereits eine Diät gemacht, der überwiegende Anteil von 66 % gab an, noch nie eine Diät gemacht zu haben. Laut Selbstbeurteilung schätzt der Großteil der 156 Probandinnen seinen Gesundheitszustand als „gut“ (69,2 %) oder „sehr gut“ (22,4 %) ein. Lediglich 7,1 % schätzen diesen als „mittel“ und 1,3 % als „sehr schlecht“ ein (Abb. 16).

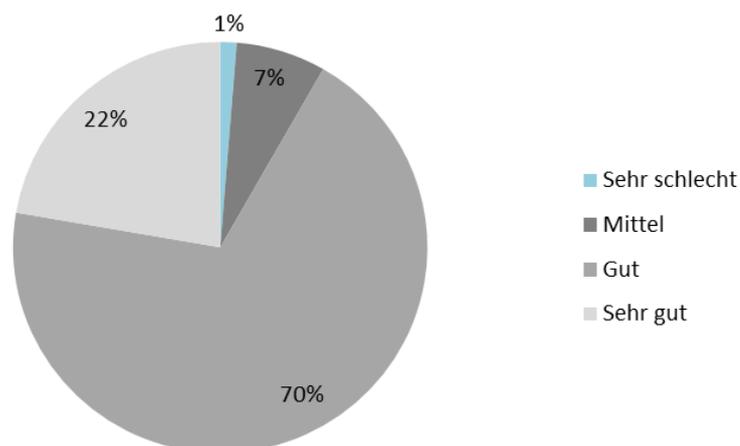


Abb. 16: Prozentuale Häufigkeit des Gesundheitsstatus. (Selbstbeurteilung $N = 156$)

6.1.2 Allgemeine Kennzeichen der Probandinnen

Mit 65,1 % sind über die Hälfte der 149 Probandinnen laut DMEQ-Fragebogen Neutraltyp. Dahingegen sind 20,8 % dem Morgentyp und 14,1 % dem Abendtyp zuzuordnen. Die Schlafqualität wurde mittels PSQI-Fragebogen erhoben. Etwas mehr als die Hälfte der Probandinnen (59,7 %) waren demzufolge gute Schläferinnen und 40,3 % schlechte Schläferinnen. Mit 79,9 % war laut ESS-Fragebogen ein Großteil der Probandinnen nicht von Tagesschläfrigkeit betroffen. Lediglich 20,1 % litten demzufolge unter Tagesschläfrigkeit. Die mittlere Gesamtpunktzahl des PSS-Fragebogens lag bei $17,39 \pm 5,78$ Punkten. Studien bewerten Gesamtpunktzahlen von 20 und mehr Punkten als erhöhten Stresslevel (vergl. Abschnitt 5.2.6).

Der körperliche Aktivitätsgrad/Woche der Probandinnen wurde retrospektiv über vier Wochen mit Hilfe des Freiburger Fragebogens zur körperlichen Aktivität erfasst und zeigt mit Hinblick auf Minimum und Maximum eine sehr große individuelle Streuung (Tab. 9), wobei die Standardabweichung in etwa die Hälfte des Mittelwerts beträgt. Die ebenfalls mit dem Freiburger Fragebogen erfasste mittlere Aktivitätsdauer/Woche lag bei $12,53 \pm 6,24$ Std./Woche. Der mittlere Aktivitätsgrad während des Untersuchungszeitraums wurde mittels SWA-Gerät erhoben. Wie aus Tab. 9 ersichtlich wird, zeigt der mittlere Aktivitätsgrad ähnliche Werte für Tag 1 und Tag 2.

Tab. 9: Körperlicher Aktivitätsgrad der Probandinnen während des Untersuchungszeitraums.

	N	Min	Max	M	SD
Körperl. Aktivitätsgrad (METs) - Woche	155	8,46	169,56	63,96	32,82
Mittlerer Aktivitätsgrad (METs) - Tag 1	156	1,10	2,60	1,57	0,24
Mittlerer Aktivitätsgrad (METs) - Tag 2	156	1,20	2,60	1,62	0,27

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, METs = *metabolic equivalents* (Metabolische Äquivalente)

6.1.3 Anthropometrische Merkmale und Körperzusammensetzung der Probandinnen

Tab. 10 fasst die Körpermaße sowie die Körperzusammensetzung der Probandinnen zusammen. Dabei ist zu beobachten, dass für alle aufgeführten Merkmale eine gewisse Spannweite zwischen Minimum und Maximum besteht. Jedoch wird anhand der Standardabweichungen deutlich, dass der Großteil der Daten um den Mittelwert verteilt ist.

Tab. 10: Überblick über anthropometrische Merkmale sowie mittels BIA bestimmte Merkmale zur Körperzusammensetzung der Probandinnen.

	N	Min	Max	M	SD
Körpergewicht (kg)	156	46,00	87,60	64,60	8,54
Körperhöhe (cm)	156	158,20	189,20	170,06	6,27
BMI (kg/m²)	156	17,40	29,76	22,33	2,68
Taillenumfang (cm)	156	57,00	89,00	69,91	5,89
Hüftumfang (cm)	156	77,50	113,00	95,10	7,08
Bauchumfang (cm)	156	60,00	100,50	78,28	8,09
Gesamtkörperwasser (L)	156	24,90	42,70	33,50	3,12
Magermasse (kg)	156	34,00	58,30	45,77	4,26
Extrazelluläre Masse (kg)	156	16,50	27,00	22,03	2,05
Körperzellmasse (kg)	156	17,30	31,30	23,75	2,89
Index ECM/BCM	156	0,69	1,31	0,94	0,11
Zellanteil (%)	156	43,20	59,20	51,79	2,82
Fettmasse (kg)	156	5,60	33,60	18,83	5,57
Fettmasse (%)	156	11,90	41,70	28,64	5,29
Intrazelluläres Wasser (L)	156	17,90	23,50	20,72	1,01
Extrazelluläres Wasser (L)	156	7,00	19,2	12,79	2,16
Index ECW/ICW	156	0,39	0,82	0,61	0,08
Grundumsatz (kcal/24Std.)	156	1160,00	1610,00	1366,47	92,02

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung,

BMI = Body Mass Index; ECM = Extrazelluläre Masse; BCM = Körperzellmasse;

ECW = Extrazelluläres Wasser; ICW = Intrazelluläres Wasser

6.1.4 Energiehaushalt der Probandinnen

Einen Überblick über die Merkmale des Energieverbrauchs der Probandinnen bietet Tab. 11. Der mittlere Gesamtenergieverbrauch über 24 Stunden liegt für Nacht1/Tag1 (Untersuchungstag 1) und Nacht2/Tag2 (Untersuchungstag 2) mit einer Abweichung von 74,33 kcal/24Std auf einem vergleichbaren Niveau. Der mittlere aktive Energieverbrauch der jeweiligen Aktivitätsstufen unterscheidet sich zwischen Tag 1 und Tag 2 ebenfalls gering, dabei liegt

die maximale Abweichung zwischen Tag 1 und Tag 2 bei 99,77 kcal (aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets). Die Dauer der körperlichen Aktivität unter den verschiedenen Belastungsintensitäten weicht, mit einer maximalen Abweichung von 20,37 Min, zwischen den beiden Untersuchungstagen im Mittel ebenfalls minimal ab. Dementsprechend befinden sich die mittleren Mets zwischen Tag 1 und Tag 2, mit einem Unterschied von 0,05 Mets, auch in einer vergleichbaren Größenordnung. In Hinblick auf den Gesamtenergieverbrauch zeigen sich ebenfalls nur minimale Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungstagen bzw. den drei Nächten. Auch der Schlafenergieverbrauch zeigt im Mittel, mit einer maximalen Abweichung von 0,11 kcal/1Std, sehr geringe Unterschiede zwischen den drei untersuchten Nächten. Dementsprechend zeigt auch der daraus berechnete Grundumsatz über die drei Untersuchungstage im Mittel nur minimale Unterschiede. Dahingegen sind bei den Mets zum Schlafenergieverbrauch der drei Nächte im Mittel keinerlei Abweichungen zu beobachten.

Tab. 11: Überblick über Merkmale des Energiehaushalts der Probandinnen ermittelt mit Aktigraphie.

	N	Min	Max	M	SD
Grundumsatz (kcal/24 Std) nach WHO	156	1178,50	1751,60	1449,42	121,68
Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht1/Tag1	156	1517,00	3590,00	2404,09	423,69
Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht2/Tag2	156	1651,00	3851,00	2478,42	431,49
Aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets (kcal) - Tag 1	156	62,00	2195,00	783,88	444,19
Aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets (kcal) - Tag 2	156	126,00	2515,00	883,65	482,10
Aktiver Energieverbrauch bis 2,5 Mets (kcal) - Tag 1	156	21,00	2029,00	702,58	419,64
Aktiver Energieverbrauch bis 2,5 Mets (kcal) - Tag 2	156	76,00	2323,00	799,33	461,01
Aktiver Energieverbrauch bis 3,0 Mets (kcal) - Tag 1	156	8,00	1919,00	631,60	399,19
Aktiver Energieverbrauch bis 3,0 Mets (kcal) - Tag 2	156	58,00	2119,00	721,29	439,36
Dauer körperl. Aktivität bis 3,0 Mets (Min) - Tag 1	156	1046,00	1420,00	1294,01	74,73
Dauer körperl. Aktivität bis 3,0 Mets (Min) - Tag 2	156	884,00	1425,00	1273,64	86,27
Dauer körperl. Aktivität 3,0-6,0 Mets (Min) - Tag 1	156	2,00	278,00	107,43	57,96
Dauer körperl. Aktivität 3,0-6,0 Mets (Min) - Tag 2	156	15,00	478,00	122,73	66,23
Dauer körperl. Aktivität 6,0-9,0 Mets (Min) - Tag 1	156	0,00	98,00	16,32	20,27
Dauer körperl. Aktivität 6,0-9,0 Mets (Min) - Tag 2	156	0,00	102,00	20,21	23,66
Dauer körperl. Aktivität über 9,0 Mets (Min) - Tag 1	156	0,00	116,00	3,31	12,39
Dauer körperl. Aktivität über 9,0 Mets (Min) - Tag 2	156	0,00	70,00	3,31	10,23
Durchschnittl. Mets (Tagesmittel) - Tag 1	156	1,10	2,60	1,57	0,24
Durchschnittl. Mets (Tagesmittel) - Tag 2	156	1,20	2,60	1,62	0,27
Gesamtstrecke (km) - Tag1	156	0,20	23,80	7,66	4,20
Gesamtstrecke (km) - Tag2	156	0,70	26,10	8,47	4,80
Gesamtenergieverbrauch (kcal) - Tag 1	156	1137,00	3649,00	1946,62	442,73
Gesamtenergieverbrauch (kcal) - Tag 2	155	1183,00	3273,00	2032,50	455,11
Gesamtenergieverbrauch (kcal) - Nacht 1	156	227,00	719,00	477,95	90,79
Gesamtenergieverbrauch (kcal) - Nacht 2	156	236,00	848,00	466,29	86,75
Gesamtenergieverbrauch (kcal) - Nacht 3	155	291,00	723,00	497,06	90,57
Schlafenergieverbrauch (kcal/1Std) - Nacht 1	156	50,00	71,00	59,94	4,46
Schlafenergieverbrauch (kcal/1Std) - Nacht 2	156	49,00	71,00	59,83	4,42
Schlafenergieverbrauch (kcal/1Std) - Nacht 3	155	50,00	70,00	59,78	4,26
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 1	156	0,70	1,10	0,94	0,09
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 2	156	0,70	1,10	0,94	0,09
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 3	155	0,70	1,10	0,94	0,09
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 1	156	1200,00	1704,00	1438,62	107,06
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 2	156	1176,00	1704,00	1436,00	106,07
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 3	155	1200,00	1680,00	1434,74	102,13

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

6.1.5 Cortisolkonzentrationen der Probandinnen

Die mittlere Cortisolkonzentration der Probandinnen zeigt den typischen Tagesverlauf (Tab. 12). Zum Zeitpunkt des Zubettgehens lassen sich die niedrigsten Konzentrationen beobachten. Im morgendlichen Verlauf zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg der Cortisolkonzentrationen bis zum Zeitpunkt 45 Minuten nach dem Aufwachen. Danach kommt es wieder zu einem Abfall der Konzentrationen. Diese Beobachtungen lassen sich für beide Untersuchungstage feststellen, wobei die jeweiligen Werte an beiden Untersuchungstagen kaum Unterschiede zeigen (Abb. 17). Die Standardabweichungen zwischen Tag 1 und Tag 2 weisen ebenfalls kaum Unterschiede auf, lediglich für den Zeitpunkt T_0 sowie T_{Bett} sind geringfügige Unterschiede erkennbar. Für die CAR sind deutliche Unterschiede zwischen Minimum und Maximum erkennbar, bei Betrachtung der Standardabweichung fällt auf, dass diese etwas größer ausfällt als der jeweilige Mittelwert, was auf eine große Streuung der Daten hindeutet. Diese Tatsache ist sowohl für Tag 1 als auch für Tag 2 zu beobachten. Die Daten für den SOD weisen dahingegen zwischen Tag 1 und Tag 2 kaum Unterschiede auf.

Tab. 12: Überblick über Cortisolkonzentrationen der Probandinnen.

	N	Min	Max	M	SD
Cortisolkonzentration (nmol/L) Bettzeit - Tag 0	106	0,19	22,54	2,56	2,54
Cortisolkonzentration (nmol/L) T0 - Tag 1	106	1,93	57,35	11,55	9,11
Cortisolkonzentration (nmol/L) T30 - Tag 1	106	2,96	67,54	19,71	10,40
Cortisolkonzentration (nmol/L) T45 - Tag 1	105	4,62	77,94	20,88	11,49
Cortisolkonzentration (nmol/L) T60 - Tag 1	106	3,69	59,12	19,80	9,56
Cortisolkonzentration (nmol/L) Bettzeit - Tag 1	106	0,28	13,98	2,77	2,32
Cortisolkonzentration (nmol/L) T0 - Tag 2	106	1,65	34,72	10,57	5,59
Cortisolkonzentration (nmol/L) T30 - Tag 2	106	4,09	73,11	19,62	10,46
Cortisolkonzentration (nmol/L) T45 - Tag 2	105	3,76	70,24	21,23	11,84
Cortisolkonzentration (nmol/L) T60 - Tag 2	106	3,90	68,09	20,24	11,72
Cortisolkonzentration (nmol/L) Bettzeit - Tag 2	106	0,30	56,36	3,21	5,94
CAR (nmol/L) Tag 1	104	-27,16	45,51	9,25	10,88
CAR (nmol/L) Tag 2	104	-9,38	64,78	10,63	11,78
Cortisol SOD (nmol/L x min) Tag1	106	-0,06	0,01	-0,01	0,01
Cortisol SOD (nmol/L x min) Tag2	104	-0,03	0,04	-0,01	0,01

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung,
CAR = Cortisolaufwachreaktion, SOD = Slope of decline

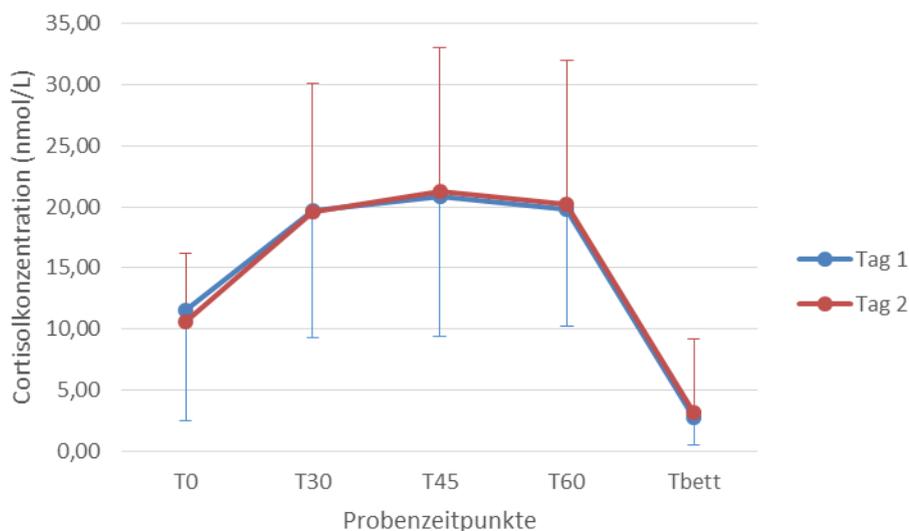


Abb. 17: Cortisolkonzentrationen im Tagesverlauf für Tag 1 und Tag 2. Dargestellt sind Mittelwerte \pm die halbe Standardabweichung.

6.1.6 Umgebungslichtintensität während der morgendlichen Speichelprobensammlung

Die Umgebungslichtintensität variiert bei Betrachtung von Minimum und Maximum zwischen den einzelnen Probandinnen stark (Tab. 13). Der Mittelwert für Tag 1 und Tag 2 ist jedoch ähnlich, allerdings ist hierbei eine relativ große Standardabweichung zu beobachten, was ebenfalls auf eine große Streubreite der Messwerte hindeutet.

Tab. 13: Umgebungslichtintensität während morgendlicher Speichelprobensammlung.

	N	Min.	Max.	M	SD
Umgebungslichtintensität (Lux) während 1. Stunde nach dem Aufwachen - Tag 1	83	0,64	427,53	46,16	72,94
Umgebungslichtintensität (Lux) während 1. Stunde nach dem Aufwachen - Tag 2	83	0,36	773,18	54,76	116,93

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

6.1.7 Blutdruck und Herzfrequenz der Probandinnen

Tab. 14 bietet einen Überblick über die physiologischen Merkmale des Probandenkollektivs. Mit Blick auf Minimum und Maximum ist zu erkennen, dass für alle Merkmale eine relativ große Spannweite besteht. Wenn jedoch die Standardabweichung betrachtet wird, zeigt sich, dass der Großteil der Daten um den Mittelwert verteilt ist.

Tab. 14: Physiologische Merkmale der Probandinnen.

	N	Min.	Max.	M	SD
Systolischer Blutdruck (mmHg)	149	91,33	176,00	122,96	16,60
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	149	51,67	113,00	73,55	11,32
Herzfrequenz (bpm)	149	44,33	149,67	70,51	13,18

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung
mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, bpm = *beats per minute*, Schläge pro Minute

6.1.8 Ernährungsgewohnheiten der Probandinnen

Die Hälfte der Probandinnen (50,3 %) nahm ihre Hauptmahlzeit mittags ein, ein etwas geringerer Anteil von 45,0 % nahm ihre Hauptmahlzeit abends ein und nur ein sehr geringer Anteil (4,7 %) morgens. Die warme Mahlzeit wurde etwa zu gleichen Teilen mittags (52,3 %) oder abends (47,7 %) eingenommen. Etwa ein Viertel (26,2 %) der Probandinnen nahm zum Zeitpunkt der Studie Nahrungsergänzungsmittel ein, der überwiegende Anteil von 73,8 % jedoch nicht. Etwa die Hälfte der Probandinnen (47,7 %) gab an, unter Stress mehr im Vergleich zu „normalen“ Situationen zu essen, 30,8 % gab an weniger und 21,5 % gleich viel zu essen.

Die aufgenommene Menge an Makronährstoffen sowie weitere ernährungsbezogene Merkmale wurden mit Hilfe des Fragebogens zur Ernährung sowie der zugehörigen Software erfasst. Die mittlere aufgenommene Energiemenge/Tag variiert individuell stark, die Standardabweichung zeigt jedoch, dass der Großteil der Daten um den Mittelwert verteilt ist (Tab. 15). Mit Hinblick auf die Makronährstoffe lässt sich beobachten, dass Kohlenhydrate im Mittel mit dem größten Anteil aufgenommen wurden, gefolgt von Fett und Proteinen. Im Mittel wurden pro Tag 2,9 Liter Wasser aufgenommen, hierbei ist jedoch die relativ hohe Standardabweichung von 1,3 Litern zu berücksichtigen. Alkohol wurde hingegen in relativ geringen Mengen konsumiert.

Tab. 15: Überblick über die Nährstoffaufnahme der Probandinnen/Tag.

	N	Min	Max	M	SD
Energie (kcal)	149	472,90	5757,00	1952,29	769,69
Wasser (ml)	149	822,90	7649,20	2905,60	1294,04
Protein (g)	149	23,10	263,60	74,64	37,71
Fett (g)	149	13,50	316,40	87,41	40,98
Kohlenhydrate (g)	149	56,50	477,80	207,27	77,71
Ballaststoffe (g)	149	5,00	68,80	27,97	12,92
Alkohol (ml)	149	0,00	17,50	2,23	2,84
PUFA (g)	149	2,20	54,80	14,73	7,98

N = Probandenanzahl, Min = Minimum, Max = Maximum, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung,
PUFA = mehrfach ungesättigte Fettsäuren (*polyunsaturated fatty acids*)

6.1.9 Verteilung der Genotypen und Allelträgerinnen

Für die Auswahl der Gruppen für die Untersuchung von Gruppenunterschieden wurde die Häufigkeit der Genotypen und Allelträgerinnen der drei untersuchten Polymorphismen berechnet. Wie Abb. 18 zeigt, sind die Genotypen aller untersuchten SNPs ungleichmäßig verteilt. Daher eignen sich die Genotypen nicht für einen Gruppenvergleich. Dementsprechend wurden zusätzlich die Allelträgerinnenhäufigkeiten berechnet. Beim SNP rs3749474 im *CLOCK*-Gen

sind lediglich die Häufigkeiten der Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen für das Allel T ausgewogen und werden im weiteren Verlauf für den Gruppenvergleich berücksichtigt (Abb. 19).

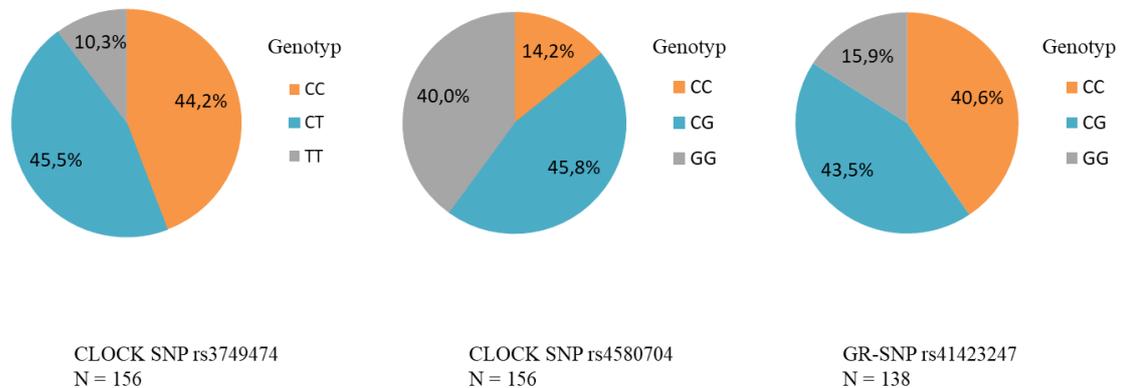


Abb. 18: Verteilung der Genotyphäufigkeiten.

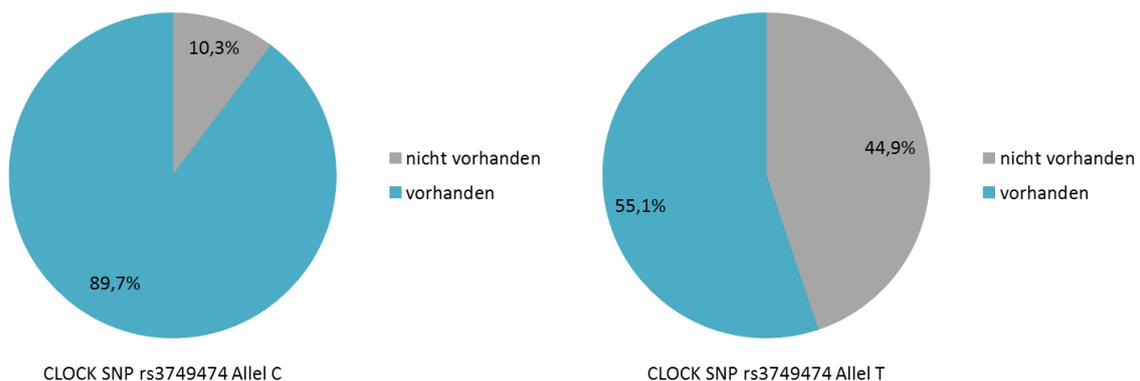


Abb. 19: Allelträgerinnenhäufigkeiten CLOCK SNP rs374947. (N = 156)

Beim CLOCK SNP rs4580704 sind die Allelträgerinnenhäufigkeiten lediglich für das Allel C in einem ausgewogenen Verhältnis (Abb. 20). Daher werden im weiteren Verlauf nur die Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C für den Gruppenvergleich berücksichtigt. In Abb. 21 sind die Allelträgerinnenhäufigkeiten für den GR SNP rs41423247 dargestellt. Es ist zu beobachten, dass lediglich bei Allel G das Verhältnis von Trägerinnen zu Nicht-Trägerinnen ausgewogen ist. Dementsprechend wird weiterhin nur das Allel G für den Gruppenvergleich herangezogen.

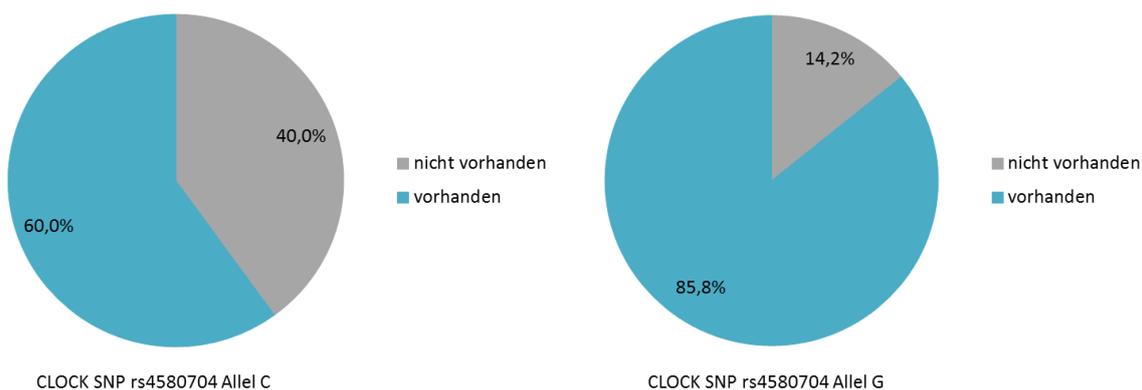


Abb. 20: Allelträgerinnenhäufigkeiten *CLOCK* SNP rs4580704. (N = 156)

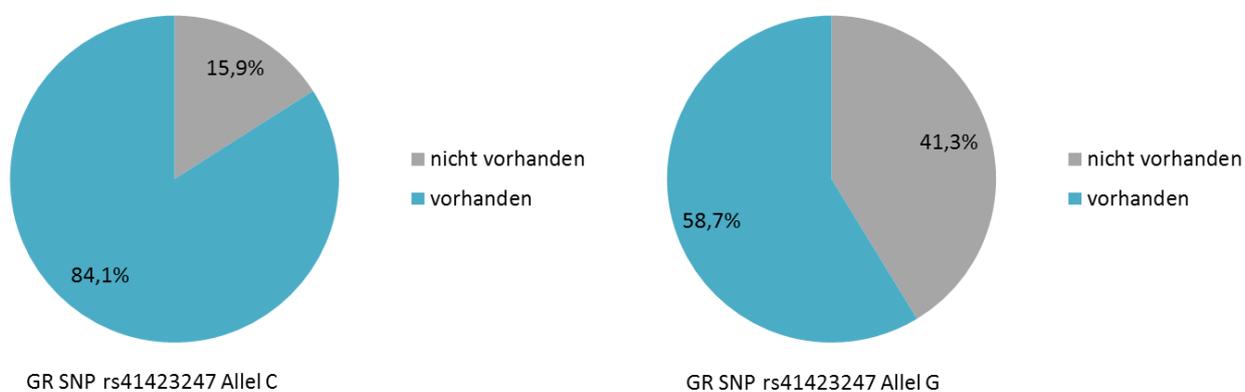


Abb. 21: Allelträgerinnenhäufigkeiten *GR* SNP rs41423247. (N = 138)

Abb. 22 zeigt exemplarisch ein Gelbild mit den Banden für alle drei analysierten Polymorphismen. Es ist zu erkennen, dass die drei untersuchten SNPs je nach Fragmentlänge des Amplifikationsprodukts eine unterschiedliche Bandenhöhe im Vergleich zur Basenpaarleiter erreichen. Zur Kontrolle wurde jedem PCR-Lauf eine Negativkontrolle beigelegt, bei der sich keine Bande im Gelbild zeigen sollte.



Abb. 22: Exemplarisches Gelbild für die drei analysierten Polymorphismen.

JSD + fortlaufende Nummer = internes Probandenkürzel; *Bcl1* = GR SNP rs41423247, *SNP4* = CLOCK SNP rs3749474, *SNP5* = CLOCK SNP rs4580704, *NK* = Negativkontrolle

6.2 Äußere Einflüsse auf die Cortisolkonzentration

Aus früheren Studien ist in Hinblick auf die Cortisolanalyse bekannt, dass verschiedene Umweltfaktoren einen Einfluss auf die Cortisolkonzentration bedingen (Stalder *et al.* 2016). Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit diese Einflussfaktoren erfasst und hinsichtlich eines etwaigen Einflusses auf die vorliegenden Daten untersucht.

6.2.1 Umgebungslicht und Cortisolkonzentration

Da bisherige Studien einen Einfluss zwischen der Umgebungslichtintensität und der CAR andeuten (Scheer & Buijs 1999; Leproult *et al.* 2001; Jung *et al.* 2010; Figueiro & Rea 2012), wurde in dieser Studie untersucht, ob dieser Einfluss auch unter natürlichen Bedingungen (keine standardisierten Laborbedingungen mit fester Beleuchtungsintensität) zu beobachten ist. Tab. 16 bietet einen Überblick über die Korrelationskoeffizienten zwischen dem Umgebungslicht und der Cortisolkonzentration während der morgendlichen Sammelperiode an Untersuchungstag 1 sowie 2. Für Untersuchungstag 1 zeigen sich bis auf eine Ausnahme einheitlich schwache negative Zusammenhänge zwischen Umgebungslichtintensität und Cortisolkonzentration. Lediglich zum Zeitpunkt T_0 ist ein schwach positiver Zusammenhang

mit der Umgebungslichtintensität zu beobachten. Für Untersuchungstag 2 zeigt sich für den Zeitpunkt T₀ ebenfalls ein schwach positiver Zusammenhang. Für die weiteren Zeitpunkte an Tag 2 lassen sich ebenfalls wie an Tag 1 schwache gegensinnige Zusammenhänge bzw. Korrelationen um Null beobachten. Hierbei sind alle vorgestellten Zusammenhänge nicht statistisch signifikant.

Tab. 16: Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und Umgebungslichtintensität.

	Umgebungslichtintensität (Lux) 1. Std nach Aufwachen- Tag 1			Umgebungslichtintensität (Lux) 1. Std nach Aufwachen - Tag 2		
	r _s	p	N	r _s	p	N
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T0 - Tag 1	0,12	0,280	83	-	-	-
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T30 - Tag 1	-0,10	0,382	83	-	-	-
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T45 - Tag 1	-0,08	0,498	82	-	-	-
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T60 - Tag 1	-0,01	0,940	83	-	-	-
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T0 - Tag 2	-	-	-	0,17	0,123	82
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T30 - Tag 2	-	-	-	0,07	0,527	82
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T45 - Tag 2	-	-	-	0,00	0,992	81
LogCortisolkonzentration (nmol/L) T60 - Tag 2	-	-	-	-0,04	0,748	82
CAR (nmol/L) Tag 1	-0,18	0,097	82	-	-	-
CAR (nmol/L) Tag 2	-	-	-	-0,14	0,217	81

r_s = Korrelationskoeffizient nach Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Individuenzahl,
CAR = Cortisolaufwachreaktion

6.2.2 Orale Kontrazeptiva und Cortisolkonzentration

Da bisherige Studien kontroverse Einflüsse zu der Einnahme von oralen Kontrazeptiva auf die Cortisolkonzentration berichten (Kirschbaum *et al.* 1999; Bouma *et al.* 2009; Pluchino *et al.* 2009; Winkler & Sudik 2009; Liening *et al.* 2010; Boisseau *et al.* 2013; Vibarel-Rebot *et al.* 2015), wurde dieser Aspekt als möglicher Einflussfaktor auf die untersuchten Cortisolkonzentrationen im Rahmen dieser Arbeit aufgegriffen.

Von den 96 Probandinnen, welche in die Cortisolanalyse eingeschlossen wurden, haben 52 orale Kontrazeptiva eingenommen und 44 nicht. Bei dem Vergleich dieser beiden Gruppen hinsichtlich der Cortisolkonzentration zeigen sich Unterschiede. Generell lässt sich in Tab. 17 ersehen, dass die Anwenderinnen der oralen Kontrazeptiva (AOK) im Mittel morgens meist niedrigere Cortisolkonzentrationen und abends durchweg höhere zeigen als Probandinnen mit freiem Menstruationszyklus (FMZ). So weisen die AOK im Vergleich zu den FMZ eine höhere Cortisolkonzentration vor dem Zubettgehen an Tag 0 auf (Abb. 23). Dieser Unterschied lässt sich auch zum Zeitpunkt Bettzeit Tag 1 und Tag 2 beobachten (Tab. 17). Jedoch zeigen die AOK die niedrigeren Werte 30 Min nach dem Aufstehen an Untersuchungstag 2 im Vergleich

zu den FMZ (Abb. 24). Die zuvor beschriebenen Unterschiede sind gering und nur zum Zeitpunkt Bettzeit Tag 0 als signifikant abgesichert. Die Unterschiede zum Zeitpunkt Bettzeit Tag 1 sowie T30 Tag 2 liegen jedoch an der Grenze zur statistischen Signifikanz.

Tab. 17: Übersicht mittlere Cortisolkonzentration bei FMZ und AOK.

Merkmal	FMZ N = 44		AOK N = 52		t-Test nach Student	
	M	SD	M	SD	t	p
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit Tag 0	0,17	0,30	0,34	0,23	-3,18	0,002
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 Tag 1	1,00	0,34	0,90	0,26	1,56	0,122
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 Tag 1	1,27	0,24	1,20	0,22	1,51	0,134
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 Tag 1	1,28 ^a	0,24 ^a	1,24 ^b	0,19 ^b	0,84	0,403
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 Tag 1	1,23	0,24	1,26	0,17	-0,71	0,481
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit Tag 1	0,26	0,31	0,39	0,31	-1,96	0,053
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 Tag 2	0,92 ^a	0,28 ^a	0,96	0,21	-0,87	0,385
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 Tag 2	1,27 ^a	0,26 ^a	1,19	0,14	1,93	0,056
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 Tag 2	1,30 ^a	0,28 ^a	1,23 ^b	0,14 ^b	1,50	0,136
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 Tag 2	1,26 ^a	0,28 ^a	1,22	0,17	0,88	0,379
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit Tag 2	0,27 ^c	0,31 ^c	0,30	0,27	-0,60	0,551

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, N = Individuenzahl, FMZ = Probandinnen mit freiem Menstruationszyklus, AOK = Anwenderinnen oraler Kontrazeptiva, t = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit; signifikante Unterschiede sind hervorgehoben

^aN = 43

^bN = 51

^cN = 42

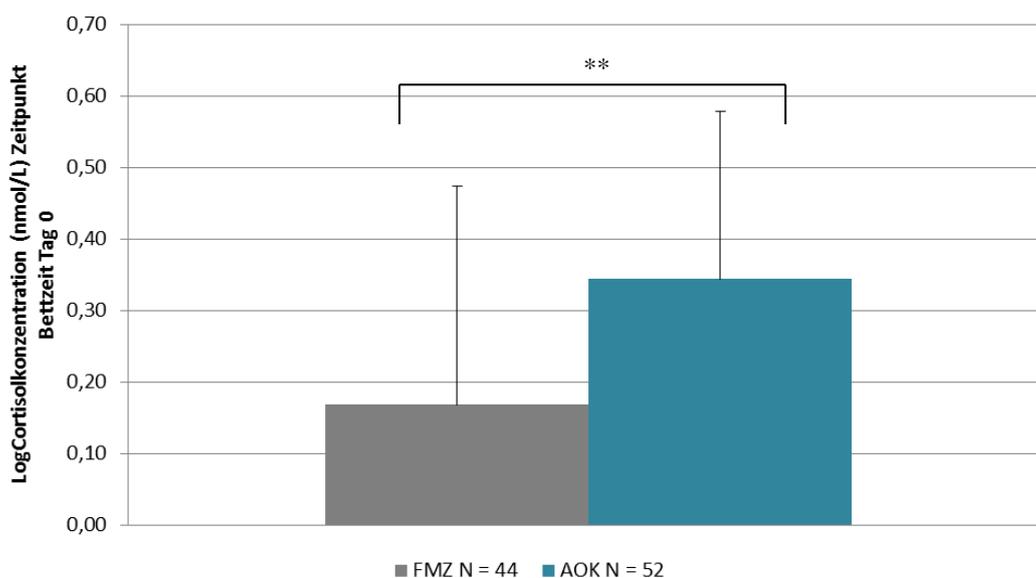


Abb. 23: Unterschied in der Cortisol-Konzentration beim Zubettgehen an Tag 0 zwischen Anwenderinnen und Nicht-Anwenderinnen von oralen Kontrazeptiva. ($p = 0,002$; $N = 96$)
FMZ = Probandinnen mit freiem Menstruationszyklus, AOK = Anwenderinnen oraler Kontrazeptiva

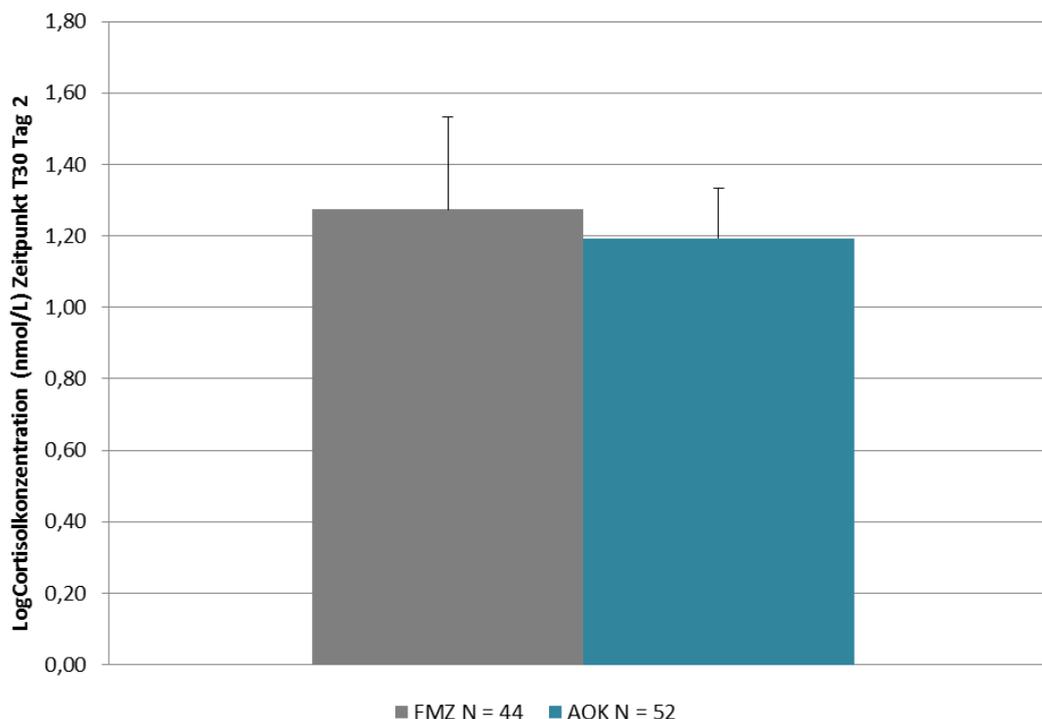


Abb. 24: Unterschied in der Cortisol-Konzentration 30 Min. nach dem Aufwachen an Tag 2 zwischen Anwenderinnen und Nicht-Anwenderinnen von oralen Kontrazeptiva. ($p = 0,056$; $N = 95$)
 FMZ = Probandinnen mit freiem Menstruationszyklus, AOK = Anwenderinnen oraler Kontrazeptiva

6.3 Zusammenhänge zwischen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung, Cortisolkonzentration und weiteren physiologischen- sowie ernährungsbezogenen Aspekten

Mit Hinblick auf die Fragestellung 1 sollen in diesem Abschnitt Zusammenhänge zwischen Energiehaushalt bzw. Körperzusammensetzung und der Cortisolkonzentration sowie der Cortisolkonzentration und weiteren physiologischen sowie ernährungsbezogenen Merkmalen dargestellt werden. Die Gründe für die Auswahl einzelner Variablen werden in den entsprechenden Abschnitten näher erläutert.

6.3.1 Energiehaushalt und Cortisolkonzentration

Es wurde untersucht, ob im vorliegenden Probandenkollektiv ein Zusammenhang zwischen dem Energiehaushalt und der Cortisolkonzentration beobachtet werden kann. Aufgrund von fehlenden Proben kommt es bei der Cortisolanalyse vereinzelt zu verringerten Individuenzahlen.

Eine Übersicht über die Korrelationskoeffizienten bietet Anhang A12. Der Grundumsatz für 24 Stunden (nach WHO berechnet) sowie der Schlafenergieverbrauch für die drei untersuchten

Nächte zeigen einheitlich einen negativen Zusammenhang (bzw. einen Korrelationskoeffizienten um Null) mit der Cortisolkonzentration für Untersuchungstag 1 sowie 2 (Anhang A12.1). Alle Zusammenhänge sind nach der Klassifizierung von Cohen (1992) als schwache Effekte anzusehen. Allerdings liegen einige der Zusammenhänge an der Grenze zum mittleren Effekt. Statistisch signifikante Zusammenhänge bestehen zwischen dem Grundumsatz (nach WHO) und der Cortisolkonzentration zu den Zeitpunkten T_{30} , T_{45} und T_{60} an Tag 1 ($r_s = -0,21$, $p = 0,040$; $r_s = -0,27$, $p = 0,009$; $r_s = -0,25$, $p = 0,015$) sowie zum Zeitpunkt T_0 an Tag 2 ($r_s = -0,22$, $p = 0,033$). Dies bedeutet, je höher der Grundumsatz, desto niedriger fällt die Cortisolkonzentration aus und *vice versa*. Abb. 25 zeigt den Zusammenhang zwischen der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_{45} an Tag 1 und dem Grundumsatz.

Zwischen den Schlaf-Mets der drei untersuchten Nächte und der Cortisolkonzentration an Untersuchungstag 1 sowie 2 kann dahingegen einheitlich ein positiver Zusammenhang (bzw. Korrelationskoeffizienten um Null) beobachtet werden (Anhang A12.2). Alle Zusammenhänge stellen hierbei schwache Effekte dar. Statistisch signifikante Zusammenhänge zeigen sich für die Schlaf-Mets in Nacht 2 und die Cortisolkonzentrationen zum Zeitpunkt T_{30} und T_{45} an Tag 2 ($r_s = 0,22$, $p = 0,031$; $r_s = 0,21$, $p = 0,044$).

Weiterhin können einheitlich wiederum schwache negative Korrelationen (oder Korrelationen um null) zwischen dem aus dem Schlafenergieverbrauch berechneten Grundumsatz für alle drei untersuchten Nächte und den Cortisolkonzentrationen für Untersuchungstag 1 sowie 2 gezeigt werden (Anhang A12.3). Statistisch signifikant ist hierbei der Zusammenhang zwischen der Cortisolkonzentration an Tag 1 zum Zeitpunkt T_{45} (Abb. 26) und dem Grundumsatz, der aus dem SEE für Nacht 1 berechnet wurde ($r_s = -0,21$, $p = 0,042$).

Für den Gesamtenergieverbrauch für die beiden 24-Stunden-Zeiträume Nacht1/Tag1 (Untersuchungstag 1), Nacht2/Tag2 (Untersuchungstag 2) sowie für Tag 1 und Tag 2 (Zeiträume von Licht an bis Licht aus) und die Cortisolkonzentrationen für Untersuchungstag 1 sowie 2 lassen sich einheitlich schwache negative Zusammenhänge oder Korrelationen um null beobachten (Anhang A12.4). Ausnahmen hiervon stellen der Zusammenhang zwischen dem Gesamtenergieverbrauch an Nacht2/Tag2 (Untersuchungstag 2) und der Cortisolkonzentration am Abend von Tag 2 dar sowie der Zusammenhang zwischen dem Gesamtenergieverbrauch an Tag 2 (Licht an bis Licht aus) und den Cortisolkonzentrationen zum Zeitpunkt T_{60} und am Abend von Tag 2. Hier zeigen sich schwach positive Zusammenhänge. Als statistisch signifikant abgesichert ist der Zusammenhang zwischen der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_{30}

an Untersuchungstag 1 und dem Gesamtenergieverbrauch für Nacht1/Tag1 (Untersuchungstag 1) sowie dem Gesamtenergieverbrauch an Tag1 ($r_s = -0,24$, $p = 0,017$; $r_s = -0,23$, $p = 0,026$).

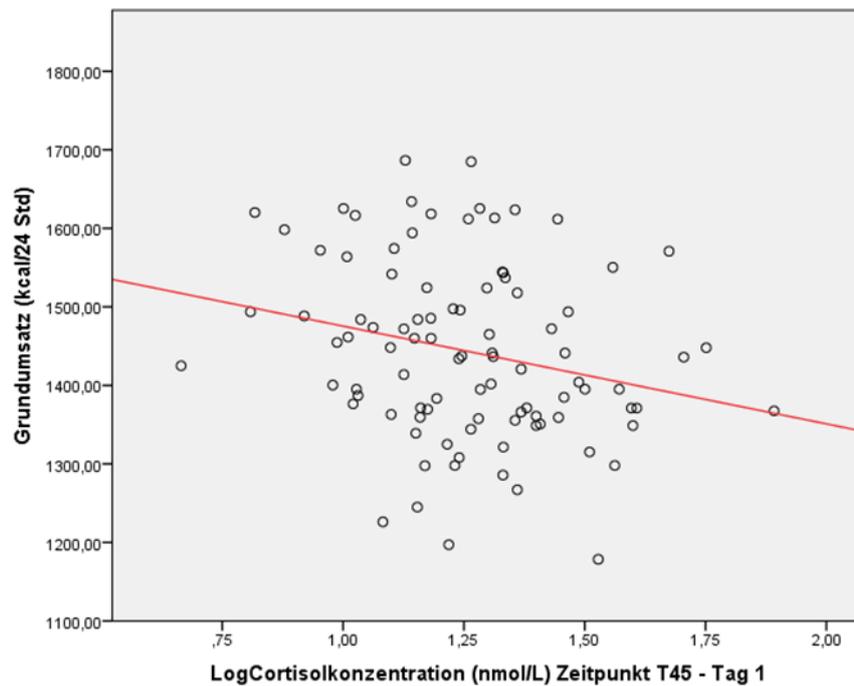


Abb. 25: Zusammenhang zwischen dem Grundumsatz (nach WHO) und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,27$, $p = 0,009$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 95$)

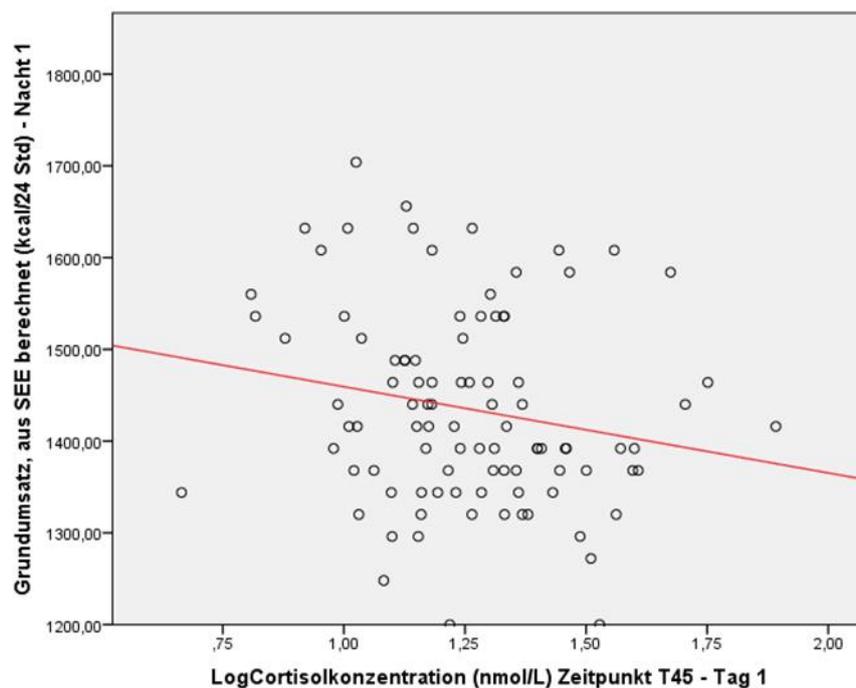


Abb. 26: Zusammenhang zwischen dem aus dem Schlafenergieverbrauch (SEE) berechnetem Grundumsatz und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,21$, $p = 0,042$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 95$)

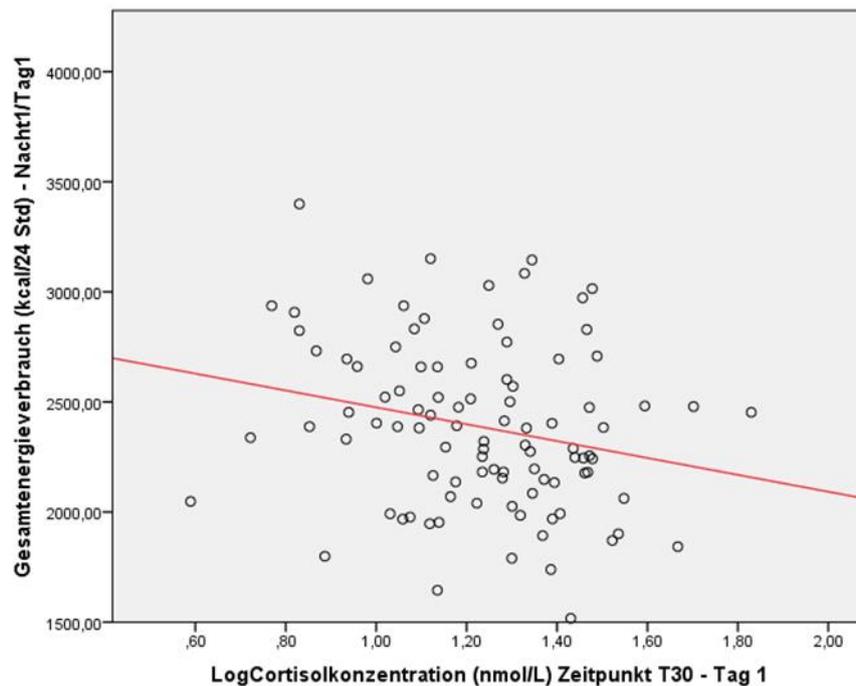


Abb. 27: Zusammenhang zwischen dem 24-Std-Gesamtenergieverbrauch und der Cortisolkonzentration 30 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,24$, $p = 0,017$; $N = 97$)

Abb. 27 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Gesamtenergieverbrauch für Nacht 1/Tag 1 und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T₃₀ an Tag 1. Der Grundumsatz bzw. REE macht den größten Anteil am Gesamtenergieverbrauch aus. Ferner spiegelt er den Energieverbrauch unabhängig von der körperlichen Aktivität wider. Dementsprechend sind Grundumsatz und Gesamtenergieverbrauch aussagekräftige Kenngrößen für den Energiehaushalt und wurden daher für diese Analyse ausgewählt.

Energiehaushalt und Cortisolkonzentration getrennt nach Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des GR SNP rs41423247

Im Hinblick auf Fragestellung 2 lag ein Augenmerk dieser Arbeit auf dem Zusammenhang des Polymorphismus rs41423247 im GR-Gen und Parametern des Energiehaushalts. Deswegen wurden die im Abschnitt zuvor erläuterten Korrelationsanalysen zusätzlich auch getrennt nach Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247 durchgeführt. Nachfolgend werden für eine bessere Vergleichbarkeit der Daten die Zusammenhänge zwischen den gleichen Merkmalen und den Cortisolkonzentrationen für Untersuchungstag 1 sowie 2, wie im vorangegangenen Abschnitt für die Gesamtgruppe gezeigt, getrennt für die Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen vorgestellt. Einen vollständigen Überblick über alle Korrelationskoeffizienten bieten Anhang A13 (Nicht-Allelträgerinnen) und A14 (Allelträgerinnen). Wie bereits im Abschnitt zuvor für die Gesamtgruppe dargestellt wurde,

lassen sich für den Grundumsatz (nach WHO) sowie den Gesamtenergieverbrauch an Nacht1/Tag1 (Untersuchungstag 1) und Nacht2/Tag2 (Untersuchungstag 2) und die Cortisolkonzentrationen an beiden Untersuchungstagen ebenfalls negative Korrelationen (oder Korrelationen um null) für die beiden Untergruppen (Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen) beobachten (Anhang A13.1 [Nicht-Allelträgerinnen] bzw. A14.1 [Allelträgerinnen]). Diese Zusammenhänge haben eine schwache bis z.T. mittlere Effektstärke. Eine Ausnahme von dem zuvor erwähnten negativen Zusammenhang stellt die Korrelation zwischen dem Gesamtenergieverbrauch an Nacht2/Tag2 und den Cortisolkonzentrationen zu den Zeitpunkten T_{45} und T_{60} an Tag 2 dar. Hier lassen sich für die Nicht-Allelträgerinnen schwache positive Zusammenhänge beobachten (Anhang A13.1). Ebenfalls schwach positive Zusammenhänge zeigen sich für den Gesamtenergieverbrauch an Nacht2/Tag2 bei den Allelträgerinnen und den Cortisolkonzentrationen zu dem Zeitpunkt T_{Bett} an Untersuchungstag 1 und 2 (Anhang A14.1). Tab. 18 zeigt den zuvor beschriebenen negativen Zusammenhang zwischen dem Grundumsatz und der Cortisolkonzentration an Untersuchungstag 1 getrennt für die Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G. Da die hier exemplarisch für Untersuchungstag 1 dargestellten Zusammenhänge vergleichbar sind mit den Befunden für Untersuchungstag 2, wurde auf die Darstellung beider Tage in Tab. 18 verzichtet. Eine vollständige Übersicht bietet jedoch Anhang A13.1 bzw. A14.1. Weiterhin zeigt Tab. 18 den überwiegend negativen Zusammenhang zwischen dem Gesamtenergieverbrauch und der Cortisolkonzentration für beide Untersuchungstage. Die negativen Zusammenhänge zwischen dem Grundumsatz (nach WHO) und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_0 an Tag 1 für die Nicht-Allelträgerinnen sowie die Zeitpunkte T_{Bett} an Tag 0 und T_{30} bis T_{60} an Tag 1 für die Allelträgerinnen sind statistisch signifikant. In Hinblick auf den Gesamtenergieverbrauch an Nacht1/Tag1 ist der Zusammenhang mit der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_{30} an Tag 1 für die Nicht-Allelträgerinnen statistisch signifikant. Die Zusammenhänge zwischen dem Gesamtenergieverbrauch an Nacht2/Tag2 und der Cortisolkonzentration an Untersuchungstag 2 sind bei keiner der beiden Untergruppen statistisch signifikant.

Tab. 18: Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und Parametern des Energieverbrauchs bei Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR-Polymorphismus rs41423247.

	Grundumsatz nach WHO (kcal/24 Std)					
	Allel nicht vorhanden			Allel vorhanden		
	r _s	p	N	r _s	p	N
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit - Tag 0	-0,12	0,475	38	-0,29	0,016	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 - Tag 1	-0,40	0,013	38	0,06	0,644	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 - Tag 1	-0,29	0,078	38	-0,26	0,034	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 - Tag 1	-0,14	0,420	37	-0,32	0,008	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 - Tag 1	-0,08	0,636	38	-0,36	0,003	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit – Tag 1	-0,10	0,546	38	0,00	0,978	68
	Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht1/Tag1					
	Allel nicht vorhanden			Allel vorhanden		
	r _s	p	N	r _s	p	N
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit - Tag 0	-0,06	0,725	38	-0,20	0,096	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 - Tag 1	-0,22	0,184	38	0,07	0,554	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 - Tag 1	-0,37	0,023	38	-0,20	0,095	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 - Tag 1	-0,12	0,484	37	-0,20	0,099	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 - Tag 1	0,01	0,945	38	-0,20	0,101	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit – Tag 1	-0,14	0,398	38	0,05	0,707	68
	Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht2/Tag2					
	Allel nicht vorhanden			Allel vorhanden		
	r _s	p	N	r _s	p	N
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit - Tag 1	-0,17	0,320	38	0,15	0,224	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 - Tag 2	-0,26	0,109	38	-0,05	0,672	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 - Tag 2	-0,11	0,523	38	-0,12	0,352	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 - Tag 2	0,15	0,388	37	-0,06	0,613	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 - Tag 2	0,21	0,215	38	-0,04	0,761	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt Bettzeit – Tag 2	-0,07	0,700	37	0,23	0,066	66

r_s = Korrelationskoeffizient nach Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Individuenzahl
 Signifikante Werte sind hervorgehoben; Befunde für Untersuchungstag 2 sind vergleichbar zu Untersuchungstag 1, so dass Tag 2 der Übersichtlichkeit halber weggelassen wurde. Eine vollständige Übersicht bietet Anhang A13.1 (Nicht-Allelträgerinnen) bzw. A14.1 (Allelträgerinnen).

Weiterhin lassen sich, wie schon zuvor für die Gesamtgruppe gezeigt wurde, ebenfalls für beide Untergruppen einheitlich schwache bis mittlere negative Zusammenhänge bezüglich SEE und den GU (Grundumsatz) der aus dem SEE berechnet wurde und den Cortisolkonzentrationen an beiden Untersuchungstagen beobachten (Anhang A13.2 und A13.3 [Nicht-Allelträgerinnen] bzw. Anhang A14.2 und A14.3 [Allelträgerinnen]). Lediglich zwischen dem SEE für Nacht 2 und 3 sowie dem GU der aus dem SEE berechnet wurde (ebenfalls für Nacht 2 und 3) und der

Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt des Zubettgehens an Tag 2 lässt sich durchweg ein schwach positiver, nicht signifikanter Zusammenhang beobachten. Dies trifft jedoch nur bei den Nicht-Alleträgerinnen zu (Anhang A13.2 und A13.3). Bei den Alleträgerinnen hingegen zeigt sich durchweg ein schwach positiver, nicht signifikanter Zusammenhang zwischen dem SEE (für Nacht 1) sowie dem GU der aus dem SEE berechnet wurde (ebenfalls für Nacht 1) und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_0 an Tag 1 (Anhang A14.2 und A14.3). Tab. 19 zeigt die oben verallgemeinernd beschriebenen Zusammenhänge zwischen Cortisolkonzentration und SEE für Nacht 1 und 2 im Detail. Die Zusammenhänge zwischen dem GU (berechnet aus SEE) für Nacht 1 und 2 sowie der Cortisolkonzentration sind identisch zu diesen Befunden und daher der Übersichtlichkeit halber in Tab. 19 weggelassen. Eine vollständige Übersicht bietet Anhang A13.2 und A13.3 (Nicht-Alleträgerinnen) bzw. Anhang A14.2 und A14.3 (Alleträgerinnen). Wie aus Tab. 19 ersichtlich wird, stellen die Zusammenhänge zwischen dem SEE für Nacht 1 und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_0 an Tag 1 für die Nicht-Alleträgerinnen und die Zeitpunkte T_{Bett} an Tag 0 sowie T_{30} bis T_{60} an Tag 1 für die Alleträgerinnen schwache Effekte an der Grenze zum mittleren Effekt oder einen mittleren Effekt dar. Diese Zusammenhänge sind zudem statistisch signifikant. Für den SEE in Nacht 2 lassen sich ebenfalls negative Zusammenhänge mit der Cortisolkonzentration beobachten, jedoch fallen diese Zusammenhänge schwächer aus. Lediglich der Zusammenhang zum Zeitpunkt T_0 an Tag 2 bei den Nicht-Alleträgerinnen erreicht eine mittlere Effektstärke sowie statistische Signifikanz.

Wie schon für die Gesamtgruppe gezeigt, lassen sich für die Untergruppen ebenfalls bis auf einzelne Ausnahmen positive Zusammenhänge zwischen den Schlaf-Mets und den Cortisolkonzentrationen an beiden Untersuchungstagen beobachten (Anhang A13.4 und A14.4). Hierbei handelt es sich um überwiegend schwache und z.T. mittlere Effekte. Statistisch signifikante Zusammenhänge bestehen zwischen den Mets zum SEE für Nacht 2 und den Cortisolkonzentrationen zu den Zeitpunkten T_{30} und T_{45} an Untersuchungstag 2 ($r = 0,35$, $p = 0,004$; $r = 0,28$, $p = 0,024$) bei den Alleträgerinnen (Anhang A14.4). Mit Hinblick auf den Gesamtenergieverbrauch für Tag 1 und Tag 2 zeigt sich wiederum ein einheitlich gegensinniger Zusammenhang mit den Cortisolkonzentrationen an beiden Untersuchungstagen (Anhang A13.5 und A14.5). Bei den Nicht-Alleträgerinnen stellen die Zusammenhänge für den Gesamtenergieverbrauch an Tag 2 und den Zeitpunkten T_{45} und T_{60} an Tag 2 mit positiven Korrelationskoeffizienten jedoch eine Ausnahme dar (Anhang A13.5). Bei den Alleträgerinnen stellen die Zusammenhänge zwischen dem Gesamtenergieverbrauch an Tag 2 und den Cortisolkonzentrationen zu den Zeitpunkten T_{Bett} an Tag 1 sowie Tag 2 ebenfalls eine Ausnahme dar (Anhang A14.5).

Tab. 19: Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und Schlafenergieverbrauch bei Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR-Polymorphismus rs41423247.

	Schlafenergieverbrauch (kcal/1Std.) – Nacht 1					
	Allel nicht vorhanden			Allel vorhanden		
	r _s	p	N	r _s	p	N
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt TBett - Tag 0	-0,25	0,136	38	-0,24	0,045	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 - Tag 1	-0,42	0,009	38	0,10	0,399	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 Tag 1	-0,28	0,087	38	-0,26	0,034	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 - Tag 1	-0,09	0,601	37	-0,28	0,021	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 - Tag 1	-0,01	0,934	38	-0,29	0,016	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt TBett - Tag 1	-0,19	0,262	38	0,05	0,662	68
	Schlafenergieverbrauch (kcal/1Std.) – Nacht 2					
	Allel nicht vorhanden			Allel vorhanden		
	r _s	p	N	r _s	p	N
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt TBett - Tag 1	-0,16	0,337	38	0,08	0,503	68
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T0 - Tag 2	-0,36	0,025	38	-0,04	0,740	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T30 Tag 2	-0,09	0,577	38	-0,03	0,835	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T45 - Tag 2	-0,08	0,646	37	-0,12	0,320	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt T60 - Tag 2	-0,06	0,738	38	-0,10	0,408	67
LogCortisolkonzentration (nmol/L) Zeitpunkt TBett - Tag 2	0,14	0,411	37	-0,08	0,501	66

r_s = Korrelationskoeffizient nach Spearman, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, N = Individuenzahl

Signifikante Werte sind hervorgehoben. Der Übersichtlichkeit halber sind exemplarisch lediglich die Zusammenhänge zwischen Schlafenergieverbrauch für Nacht 1 und Nacht 2 sowie der Cortisolkonzentration aufgeführt. Eine vollständige Übersicht bietet Anhang A13.2 und A13.3 (Nicht-Allelträgerinnen) bzw. Anhang A14.2 und A14.3 (Allelträgerinnen).

6.3.2 Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration

Da, wie in Abschnitt 6.3.1 beschrieben wurde, ein Zusammenhang zwischen dem Energiehaushalt und der Cortisolkonzentration beobachtet werden konnte, war nachfolgend zu untersuchen, ob ebenfalls ein Zusammenhang zwischen der Körperzusammensetzung und der Cortisolkonzentration im untersuchten Probandenkollektiv besteht. Einen vollständigen Überblick über die Korrelationskoeffizienten bietet Anhang A15. Für die anthropometrischen Merkmale Körperhöhe, -gewicht, Hüftumfang sowie für die Magermasse zeigen sich einheitlich negative Zusammenhänge (oder Korrelationskoeffizienten um null) mit den Cortisolkonzentrationen an Untersuchungstag 1 sowie 2 (Anhang A15.1). Diese weisen allesamt eine schwache Effektstärke auf.

Als statistisch signifikant abgesichert sind von den zuvor vorgestellten negativen Zusammenhängen zwischen Cortisolkonzentration und Magermasse die Zusammenhänge zum Zeitpunkt T₄₅ und T₆₀ an Untersuchungstag 1 (r_s = -0,26, p = 0,010; r_s = -0,21, p = 0,042). Der

Zusammenhang zum Zeitpunkt T₃₀ liegt an der Grenze zur statistischen Signifikanz und stellt damit einen statistischen Trend dar. Dies bedeutet, je höher die Cortisolkonzentration, desto niedriger fällt der Anteil der Magermasse aus und *vice versa* (Abb. 28). Dabei liegt der Zusammenhang zwischen der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T₄₅ und der Magermasse an der Grenze zum mittleren Effekt.

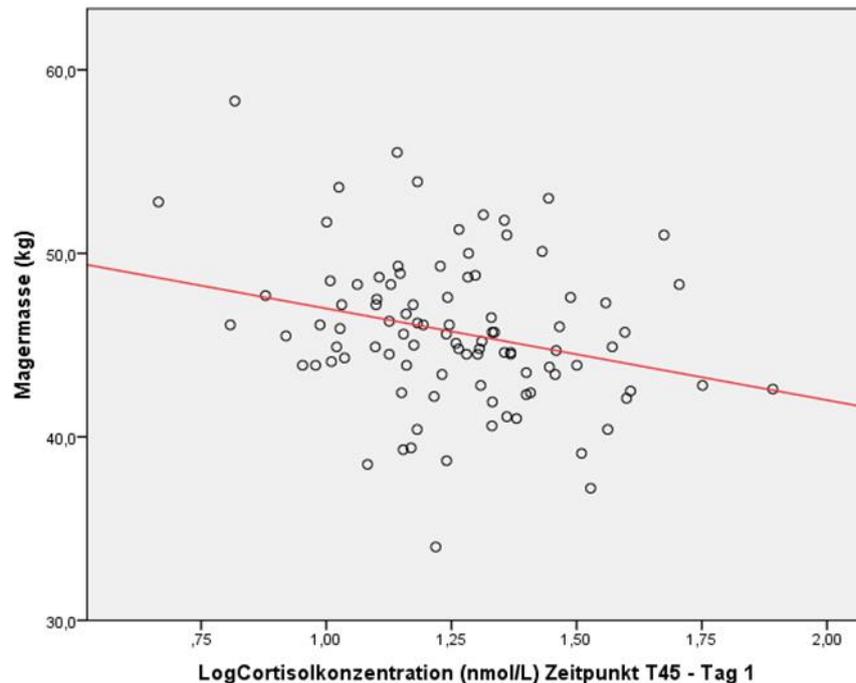


Abb. 28: Zusammenhang zwischen der Magermasse und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,26$, $p = 0,010$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 95$)

Ergänzend sind die schwach gegensätzlichen Zusammenhänge zwischen dem Körpergewicht und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T₄₅ und T₆₀ an Untersuchungstag 1 ($r_s = -0,27$, $p = 0,008$; $r_s = -0,26$, $p = 0,010$) statistisch signifikant, wobei der Zusammenhang zum Zeitpunkt T₃₀ wiederum an der Grenze zur statistischen Signifikanz liegt. Anders ausgedrückt bedeutet dieser Befund, dass je höher die Cortisolkonzentration ausfällt, desto niedriger ist das Körpergewicht oder *vice versa* (Abb. 29). Für die Zeitpunkte T₀ und T₄₅ an Untersuchungstag 2 zeigen sich ebenfalls statistisch signifikante negative Zusammenhänge im Hinblick auf das Körpergewicht ($r_s = -0,22$, $p = 0,033$; $r_s = -0,21$, $p = 0,040$). Weiterhin sind die negativen Zusammenhänge zwischen dem Hüftumfang und der Cortisolkonzentration zu den Zeitpunkten T₄₅ und T₆₀ an Untersuchungstag 1 ($r_s = -0,24$, $p = 0,021$; $r_s = -0,24$, $p = 0,017$) sowie an Untersuchungstag 2 zu den identischen Zeitpunkten ($r_s = -0,23$, $p = 0,023$; $r_s = -0,19$, $p = 0,065$) als statistisch signifikant abgesichert. Wobei der Zusammenhang zum Zeitpunkt T₆₀ an Untersuchungstag 2 lediglich an der Grenze zur statistischen Signifikanz liegt. Abb. 30 zeigt den

Zusammenhang zwischen dem Hüftumfang und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T₆₀ an Tag 1.

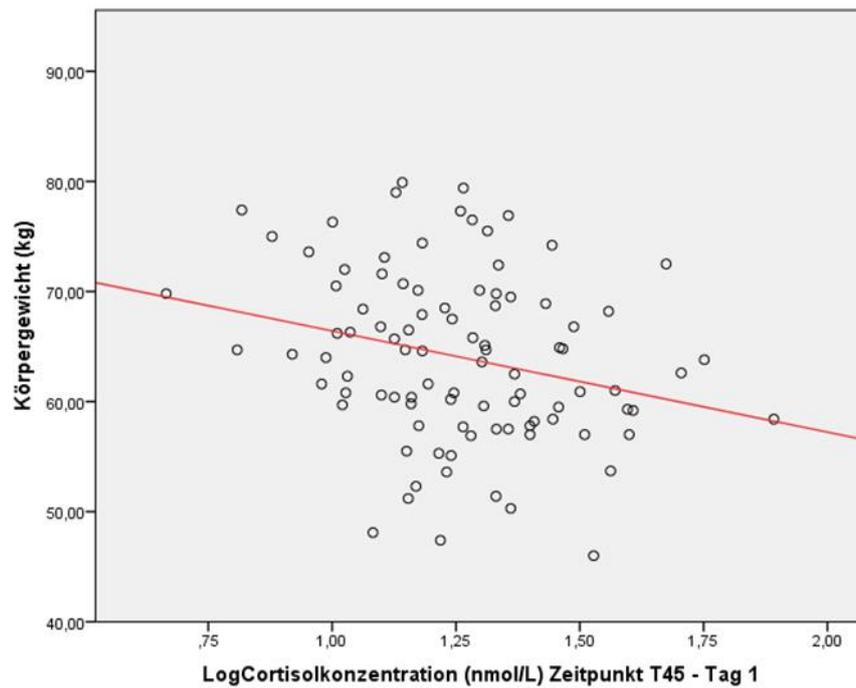


Abb. 29: Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,27$, $p = 0,008$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 95$)

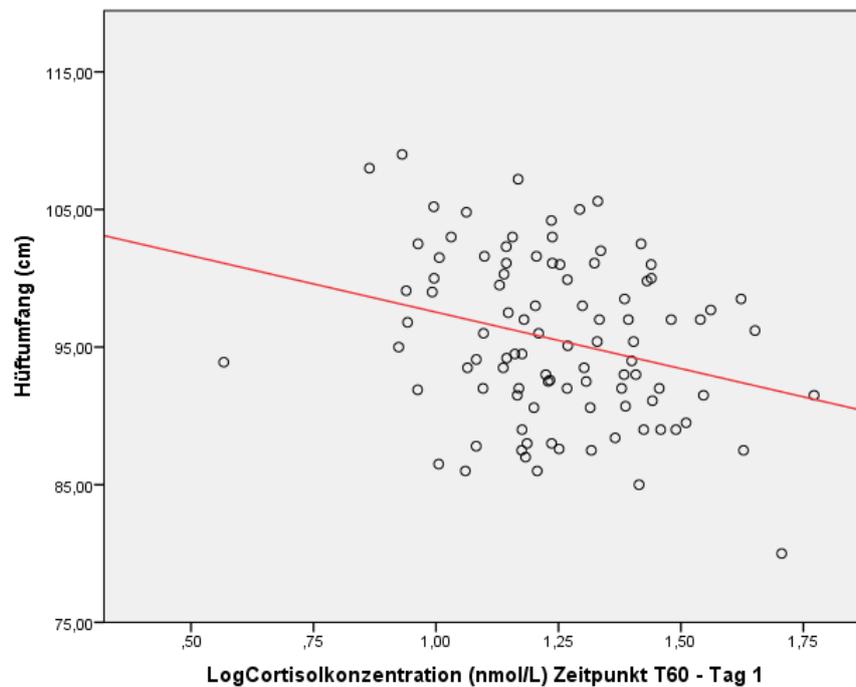


Abb. 30: Zusammenhang zwischen dem Hüftumfang und der Cortisolkonzentration 60 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,24$, $p = 0,017$; $N = 97$)

Weiterhin kann ebenfalls für die Merkmale Fettmasse, Körperzellmasse, Extrazelluläre Masse und Gesamtkörperwasser ein einheitlicher negativer Zusammenhang (oder Korrelationen um Null) mit den Cortisolkonzentrationen für Untersuchungstag 1 sowie 2 beobachtet werden (Anhang A15.2). Diese Zusammenhänge weisen allesamt schwache Effektstärken auf. Mit Hinblick auf das Merkmal Fettmasse sind die Zusammenhänge zu den Zeitpunkten T_{60} an Tag 1 und T_{45} an Tag 2 als statistisch signifikant abgesichert ($r_s = -0,20$, $p = 0,046$; $r_s = -0,22$, $p = 0,029$). Auch die Zusammenhänge das Merkmal Gesamtkörperwasser betreffend sind zu zwei Zeitpunkten an Tag 1 signifikant ($r_s = -0,27$, $p = 0,009$; $r_s = -0,21$, $p = 0,040$). Bei dem Merkmal Körperzellmasse sind die Zusammenhänge zu einem der untersuchten Zeitpunkte statistisch signifikant ($r_s = -0,21$, $p = 0,047$). Mit Hinblick auf das Merkmal extrazelluläre Masse zeigt sich ein identisches Bild. Zwei Zusammenhänge an Tag 1 sind als statistisch signifikant abgesichert ($r_s = -0,22$, $p = 0,032$; $r_s = -0,23$, $p = 0,025$).

Der Anteil der Magermasse am Gesamtgewicht stellt einen guten Marker für den GU dar, wobei das Verhältnis von Körperzellmasse zu Fettmasse einen Anhaltspunkt für den körperlichen Aktivitätsgrad bietet. Im Gegensatz dazu spiegelt der Hüftumfang eher das subkutane Fett wider. Die Menge an Gesamtkörperwasser ermöglicht wiederum einen Rückschluss auf die Magermasse. Anhand dieser Tatsachen wurden diese Merkmale für die Analyse des Zusammenhangs zwischen Energiehaushalt bzw. Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration ausgewählt.

6.3.3 Blutdruck, Herzfrequenz und Cortisolkonzentration

Aufgrund der Annahme, dass sich die in Abschnitt 6.3.1 und 6.3.2 vorgestellten Zusammenhänge bezüglich Energiehaushalt und Körperzusammensetzung sowie Cortisolkonzentration ebenfalls in den Vitalparametern des Probandenkollektivs widerspiegeln könnten, wurden weitere Korrelationsanalysen durchgeführt. Einen vollständigen Überblick über die Korrelationskoeffizienten bietet Anhang A16. Für den Blutdruck sowie die Herzfrequenzen zeigen sich ebenfalls einheitlich schwache negative Zusammenhänge mit den Cortisolkonzentrationen an Untersuchungstag 1 sowie 2 (Anhang A16). Hierbei sind die negativen Zusammenhänge zwischen dem systolischen Blutdruck und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_{45} und T_{60} an Untersuchungstag 1 ($r_s = -0,25$, $p = 0,015$; $r_s = -0,21$, $p = 0,039$) als statistisch signifikant abgesichert. Dies bedeutet, dass je höher die Cortisolkonzentration ist, desto niedriger ist der systolische Blutdruck (Abb. 31). Diese Beobachtung lässt sich ebenfalls zwischen dem systolischen Blutdruck und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_{30} an Untersuchungstag 2 reproduzieren ($r_s = -0,22$,

$p = 0,036$), ferner gehen die Befunde für den Zeitpunkt T_{60} an Tag 2 ebenfalls in die gleiche Richtung, liegen jedoch an der Grenze zur statistischen Signifikanz ($r_s = -0,19$, $p = 0,068$). Mit Hinblick auf den diastolischen Blutdruck lassen sich, wie bereits erwähnt, ebenfalls einheitlich gegensinnige Zusammenhänge mit den Cortisolkonzentrationen beobachten. Diese Befunde sind jedoch nicht statistisch signifikant, wobei der Zusammenhang zum Zeitpunkt T_{30} an Untersuchungstag 2 an der Grenze zur statistischen Signifikanz liegt. Die Zusammenhänge zwischen der Herzfrequenz und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T_{30} , T_{45} und T_{60} an Untersuchungstag 2 sind ebenfalls als signifikant abgesichert ($r_s = -0,25$, $p = 0,015$; $r_s = -0,25$, $p = 0,016$; $r_s = -0,25$, $p = 0,013$). Dies bedeutet, je höher die Cortisolkonzentration ist, desto niedriger fällt die Herzfrequenz aus und *vice versa* (Abb. 32). Der Zusammenhang zwischen Herzfrequenz und Cortisolkonzentration lässt sich auch an Untersuchungstag 1 zum Zeitpunkt T_0 , T_{30} und T_{60} beobachten ($r_s = -0,19$, $p = 0,056$; $r_s = -0,20$, $p = 0,054$; $r_s = -0,18$, $p = 0,086$). Allerdings liegen diese Zusammenhänge an der Grenze zur statistischen Signifikanz und stellen damit einen statistischen Trend dar.

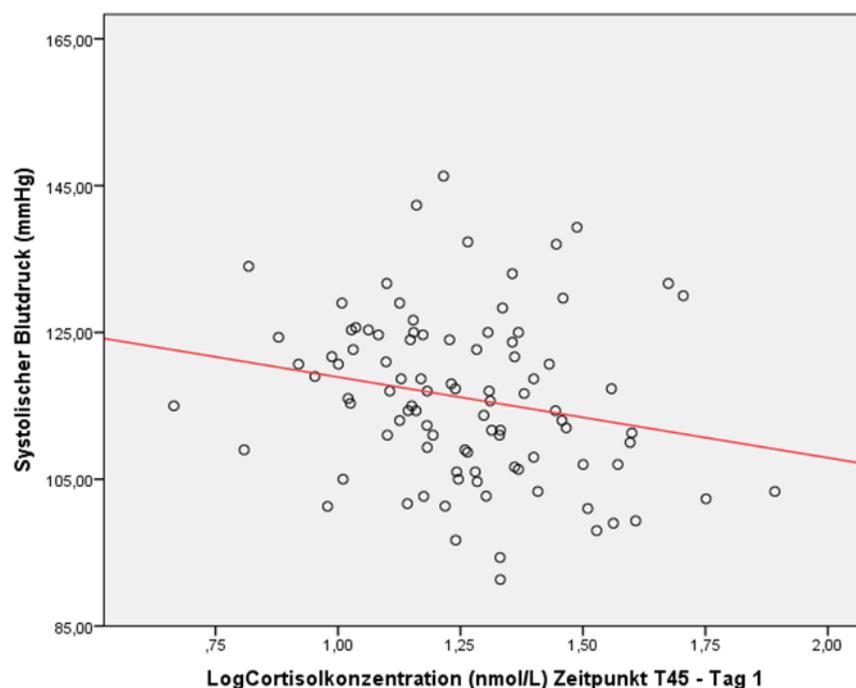


Abb. 31: Zusammenhang zwischen dem systolischen Blutdruck und der Cortisolkonzentration 45 Min. nach dem Erwachen an Tag 1. ($r_s = -0,25$, $p = 0,015$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 95$)

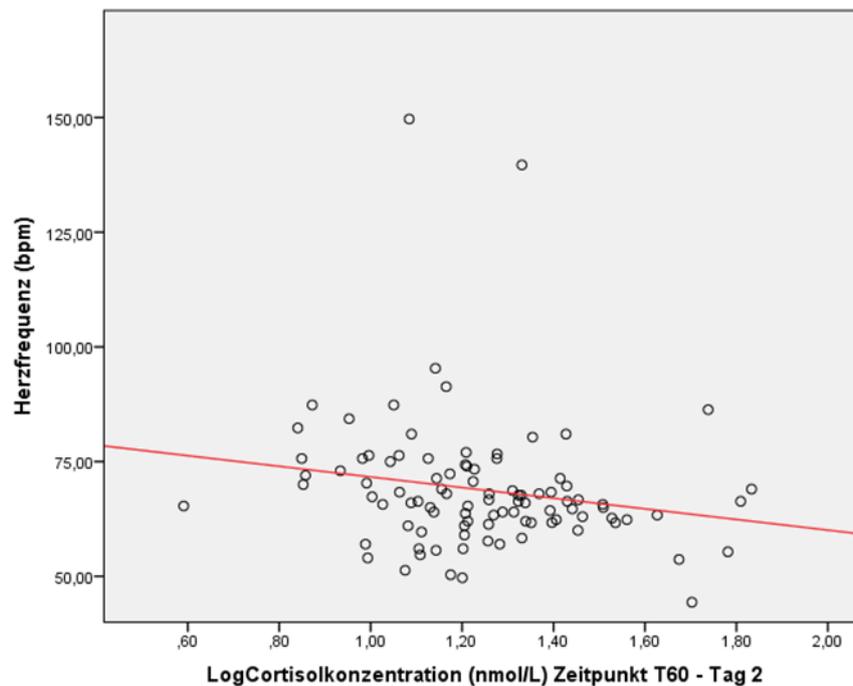


Abb. 32: Zusammenhang zwischen der Herzfrequenz und der Cortisolkonzentration 60 Min. nach dem Aufwachen an Tag 2. ($r_s = -0,25$, $p = 0,013$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 96$)

6.3.4 Ernährung und Cortisolkonzentration

Da die Ernährung einen indirekten Einfluss auf Energiestoffwechsel und Körperzusammensetzung vermittelt, wurden abschließend mögliche Zusammenhänge zwischen der Nahrungsaufnahme und der Cortisolkonzentration untersucht. Eine vollständige Übersicht über die Korrelationskoeffizienten bietet Anhang A17. Zwischen den untersuchten Merkmalen (Makronährstoffe) und den Cortisolkonzentrationen für Untersuchungstag 1 sowie 2 zeigen sich einheitlich schwache negative Zusammenhänge oder Korrelationen um Null. Eine Ausnahme hiervon stellen jedoch die Kohlenhydrate dar, diese weisen eine schwache positive Korrelation (oder Korrelationen um null) mit den Cortisolkonzentrationen von Untersuchungstag 1 sowie 2 auf (Anhang A17.1). Für das Merkmal Protein sind keine der zuvor erwähnten gegenseitigen Zusammenhänge statistisch signifikant, wobei jedoch der Zusammenhang mit den Cortisolkonzentrationen zu den Zeitpunkten T₃₀ und T₄₅ an Tag 2 an der Grenze zur statistischen Signifikanz liegt (Anhang A17.1). Für das Merkmal Fett sind die oben erwähnten negativen Zusammenhänge ebenfalls nicht statistisch signifikant (Anhang A17.1). Mit Hinblick auf den positiven Zusammenhang zwischen Kohlenhydraten und den Cortisolkonzentrationen an Tag 1 sowie 2 sind die beobachteten Korrelationen ebenfalls durchweg nicht statistisch signifikant. Der Zusammenhang zum Zeitpunkt T₃₀ an Tag 1 liegt jedoch an der Grenze zur statistischen Signifikanz (Anhang A17.1). Mit Hinblick auf das Merkmal Wasser sind die gegenseitigen Zusammenhänge zum Zeitpunkt T₃₀ und T₄₅ an

Untersuchungstag 2 als statistisch signifikant abgesichert ($r_s = -0,33$, $p = 0,001$; $r_s = -0,33$, $p = 0,001$), wobei es sich hierbei um mittlere Effekte handelt (Anhang A17.2). Dies bedeutet, dass je höher die Cortisolkonzentration, desto geringer die Aufnahme von Wasser (Abb. 33) oder *vice versa*.

Der negative Zusammenhang zwischen der Aufnahme von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (*polyunsaturated fatty acids*, PUFA) und der Cortisolkonzentration zum Zeitpunkt T₃₀, T₄₅ und T₆₀ an Untersuchungstag 2 liegt entweder an der Grenze zur statistischen Signifikanz oder ist als statistisch signifikant abgesichert ($r_s = -0,19$, $p = 0,060$; $r_s = -0,18$, $p = 0,079$; $r_s = -0,22$, $p = 0,034$). Alle Zusammenhänge zu den weiteren Messzeitpunkten sind statistisch nicht signifikant (Anhang A17.2). Dies bedeutet, dass je höher die Cortisolkonzentration ist, desto geringer fällt die Aufnahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren aus oder *vice versa*.

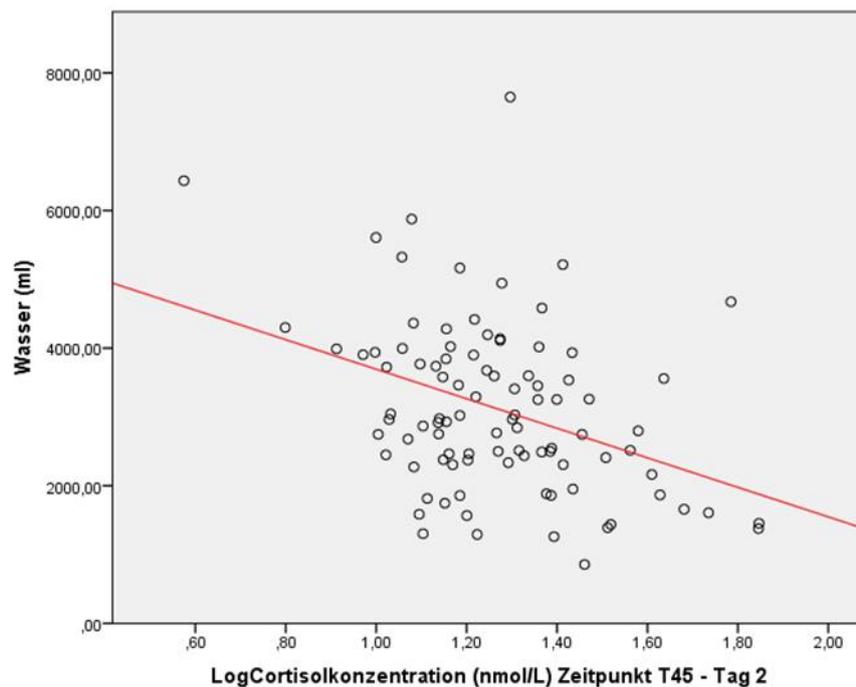


Abb. 33: Zusammenhang zwischen der aufgenommenen Wassermenge und der Cortisolkonzentration 45 Minuten nach dem Erwachen an Tag 2. ($r_s = -0,33$, $p = 0,001$; aufgrund fehlender Daten beträgt $N = 95$)

Für den gegensinnigen Zusammenhang zwischen aufgenommener Energiemenge und den Cortisolkonzentrationen an Untersuchungstag 1 sowie 2 erreichen keine der Befunde statistische Signifikanz (Anhang A17.2). Bei abschließender Betrachtung der das Merkmal Cholesterin betreffenden Zusammenhänge zeigt sich, dass der Zusammenhang zum Zeitpunkt T₀ an Tag 2 statistische Signifikanz erreicht. Ferner liegen die Zusammenhänge zum Zeitpunkt T₄₅ sowohl an Tag 1 als auch an Tag 2 an der Grenze zur statistischen Signifikanz (Anhang A17.3), die Zusammenhänge zu allen weiteren Zeitpunkten sind nicht statistisch signifikant.

6.4 Gruppenvergleiche nach Energiehaushalt und Körperzusammensetzung

Für den Vergleich genetischer Merkmale kommen aufgrund ungleichmäßiger Genotypenverteilungen lediglich Allelträgerinnenvergleiche in Frage. So werden nachfolgend die Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G im GR SNP rs41423247, des Allels T im *CLOCK* SNP rs3749474 bzw. des Allels C im *CLOCK* SNP rs4580704 mit einander verglichen (vergl. Abschnitt 6.1.9). Je nachdem, ob Normalverteilung bestand oder nicht (Anhang A11) werden die Ergebnisse entweder als Median und Spannweite oder Mittelwert plus Standardabweichung angegeben.

6.4.1 Gruppenunterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G im GR SNP rs41423247

Mit Hinblick auf Fragestellung 2 war zu prüfen, ob es eine Verbindung zwischen dem genetischen Polymorphismus im GR-Gen rs41423247 und dem Energiehaushalt sowie der Körperzusammensetzung gibt. Nachfolgend werden die mittleren Gruppenunterschiede für die Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247 angegeben. Zunächst werden die beiden Gruppen hinsichtlich der Parameter des Energiehaushalts und Vitalparametern verglichen und auf signifikante Unterschiede geprüft. Um zu verifizieren, ob Unterschiede bezüglich Energiehaushalt und Vitalparametern eine Verbindung zu dem untersuchten Polymorphismus darstellen oder eher auf verschiedenen Körperzusammensetzungen und anthropometrischen Merkmalen beruhen, werden im weiteren Verlauf die beiden Gruppen ebenfalls hinsichtlich möglicher Unterschiede in anthropometrischen Merkmalen und Merkmalen der Körperzusammensetzung verglichen und auf signifikante Unterschiede getestet.

Tab. 20 zeigt die deskriptiven Befunde der beiden Gruppen hinsichtlich Energiehaushalt und Vitalparametern. Es zeigt sich, dass die Allelträgerinnen für die Merkmale aktiver Energieverbrauch sowie Dauer der körperlichen Aktivität durchweg höhere Werte aufweisen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen. Diese Tatsache lässt sich über alle Aktivitätsstufen sowie beide Untersuchungstage beobachten. Lediglich bei dem Merkmal sehr hohe körperliche Aktivität (über 9,0 Mets) lassen sich zwischen den beiden Gruppen keine Unterschiede beobachten. Im Hinblick auf den Gesamtenergieverbrauch über beide 24-Stunden-Zeiträume (Nacht1/Tag1 bzw. Nacht2/Tag2) gibt es nur geringe Unterschiede, wobei für den Zeitraum bezüglich Tag 2 die Nicht-Allelträgerinnen einen geringfügig höheren Werte zeigen als die Allelträgerinnen. Hierbei ist allerdings die relativ große Spannweite bei den Allelträgerinnen zu berücksichtigen. Für die Merkmale Mets und PAL weisen die Gruppen für Tag 1 keine Unterschiede auf, an Tag

2 erreichen wiederum die Allelträgerinnen höhere Werte als die Nicht-Allelträgerinnen. Weiterhin zeigen die Allelträgerinnen für die Anzahl an zurückgelegten Schritten sowie die Gesamtstrecke ebenfalls an beiden Untersuchungstagen die höheren Werte im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen. Im Hinblick auf den Gesamtenergieverbrauch am Tag (Licht an bis Licht aus) weisen erneut die Allelträgerinnen an beiden Untersuchungstagen die höheren Werte auf, wobei dieser Unterschied gering ist. Dahingegen lässt sich für den Gesamtenergieverbrauch in allen drei Nächten beobachten, dass die Allelträgerinnen die geringeren Werte im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen aufweisen. Hierbei handelt es sich jedoch um geringe Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bezüglich des Schlafenergieverbrauchs in allen drei Nächten sowie dem daraus berechneten Grundumsatz für alle drei Nächte können keine Unterschiede zwischen den Gruppen gezeigt werden. Dahingegen weisen die Allelträgerinnen für die Mets zum Schlafenergieverbrauch wiederum erneut die höheren Werte im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen auf. Für den Blutdruck weisen die Allelträgerinnen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen durchgängig niedrigere Werte auf.

Tab. 20: Übersicht über Energiehaushalt und Vitalparameter bei Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247.

Merkmal	Allel nicht vorhanden N = 57		Allel vorhanden N = 81	
	Median	Spannweite	Median	Spannweite
Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht1/Tag1	2381,00	1789,00	2382,00	1793,00
Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht2/Tag2	2409,00	1833,00	2386,00	2157,00
Aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets (kcal) - Tag 1	694,00	2044,00	732,00	1581,00
Aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets (kcal) - Tag 2	612,00	1701,00	802,00	2384,00
Aktiver Energieverbrauch bis 2,5 Mets (kcal) - Tag 1	584,00	1973,00	628,00	1428,00
Aktiver Energieverbrauch bis 2,5 Mets(kcal) - Tag 2	552,00	1670,00	748,00	2247,00
Aktiver Energieverbrauch bis 3,0 Mets (kcal) - Tag 1	507,00	1883,00	558,00	1382,00
Aktiver Energieverbrauch bis 3,0 Mets (kcal) - Tag 2	503,00	1597,00	686,00	2061,00
Dauer körperl. Aktivität 3,0 Mets (Min) - Tag 1	108,00	353,00	126,00	264,00
Dauer körperl. Aktivität 3,0 Mets (Min) - Tag 2	108,00	295,00	142,00	489,00
Dauer körperl. Aktivität 3,0-6,0 Mets (Min) - Tag 1	96,00	267,00	111,00	230,00
Dauer körperl. Aktivität 3,0-6,0 Mets (Min) - Tag 2	93,00	275,00	115,00	463,00
Dauer körperl. Aktivität 6,0-9,0 Mets (Min) - Tag 1	5,00	98,00	11,00	85,00
Dauer körperl. Aktivität 6,0-9,0 Mets (Min) - Tag 2	5,00	70,00	16,00	102,00
Dauer körperl. Aktivität über 9,0 Mets (Min) - Tag 1	0,00	50,00	0,00	51,00
Dauer körperl. Aktivität über 9,0 Mets (Min) - Tag 2	0,00	70,00	0,00	52,00
Mets - Tag 1	1,50	1,10	1,50	1,00
Mets - Tag 2	1,50	1,20	1,60	1,30
Physisches Aktivitätsniveau (PAL) - Tag 1	1,60	1,00	1,60	0,90
Physisches Aktivitätsniveau (PAL) - Tag 2	1,60	1,00	1,70	1,20
Anzahl Schritte - Nacht1/Tag1	8281,00	13484,00	8350,00	18091,00
Anzahl Schritte - Nacht2/Tag2	7735,00	18585,00	9178,00	22425,00
Gesamtstrecke (km) - Tag1	6,70	17,60	6,90	15,40
Gesamtstrecke (km) - Tag2	6,40	18,70	8,30	21,70
Gesamtenergieverbrauch Licht an bis Licht aus (kcal) - Tag 1	1884,00	1790,00	1889,00	1675,00
Gesamtenergieverbrauch Licht an bis Licht aus (kcal) - Tag 2	1953,00 ^a	1727,00 ^a	2008,00	1910,00
Gesamtenergieverbrauch Licht aus bis Licht an (kcal) - Nacht 1	472,00	374,00	459,00	483,00
Gesamtenergieverbrauch Licht aus bis Licht an (kcal) - Nacht 2	470,00	362,00	448,00	472,00
Gesamtenergieverbrauch Licht aus bis Licht an (kcal) - Nacht 3	498,50 ^a	424,00 ^a	482,00	378,00
Schlafenergieverbrauch, SEE (kcal/1Std) - Nacht 1	59,00	18,00	59,00	21,00
Schlafenergieverbrauch, SEE (kcal/1Std) - Nacht 2	59,00	19,00	59,00	22,00
Schlafenergieverbrauch, SEE (kcal/1Std) - Nacht 3	59,00 ^a	17,00 ^a	59,00	20,00
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 1	0,90	0,40	1,00	0,30
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 2	0,90	0,40	1,00	0,30
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 3	0,90 ^a	0,40 ^a	1,00	0,30
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 1	1416,00	432,00	1416,00	504,00
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 2	1416,00	456,00	1416,00	528,00
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 3	1416,00 ^a	408,00 ^a	1416,00	480,00
systolischer Blutdruck (mmHg)	122,85 ^a	81,67 ^a	117,00 ^b	81,67 ^b
diastolischer Blutdruck (mmHg)	73,17 ^a	59,33 ^a	68,67 ^b	47,67 ^b

METs = Metabolisches Äquivalent (*metabolic equivalent of task*)

N = Individuenanzahl; ^aN = 56; ^bN = 79

Abb. 34 zeigt den Unterschied im aktiven Energieverbrauch (bis 3,0 METs) zwischen Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen. Dahingegen zeigt Abb. 35 den Unterschied zwischen Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen hinsichtlich der mittleren Dauer der körperlichen Aktivität im hohen Bereich (6,0 – 9,0 METs) an Untersuchungstag 2.

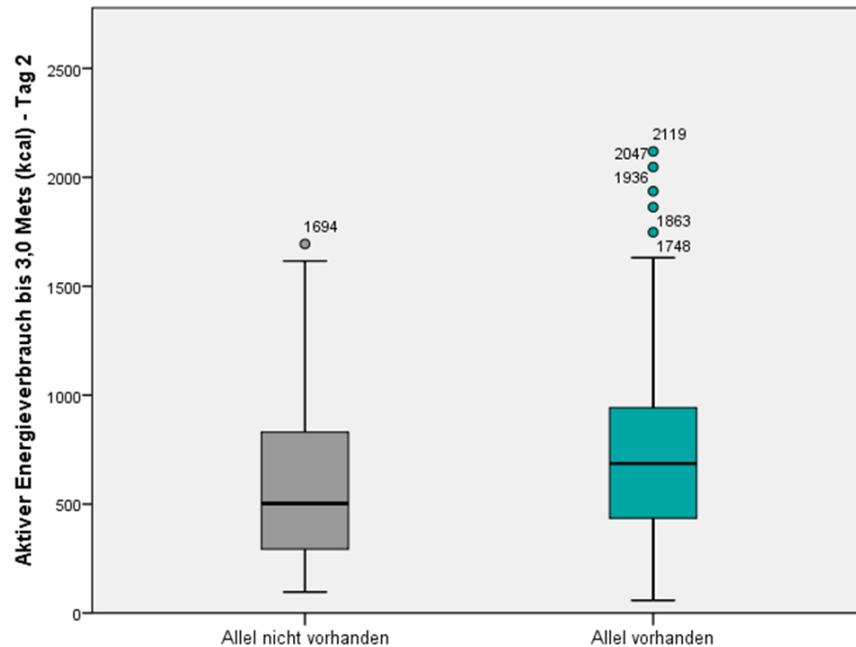


Abb. 34: Unterschied im aktiven Energieverbrauch zwischen Trägerinnen ($N = 81$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 57$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind Median und Spannweite ($p = 0,035$)

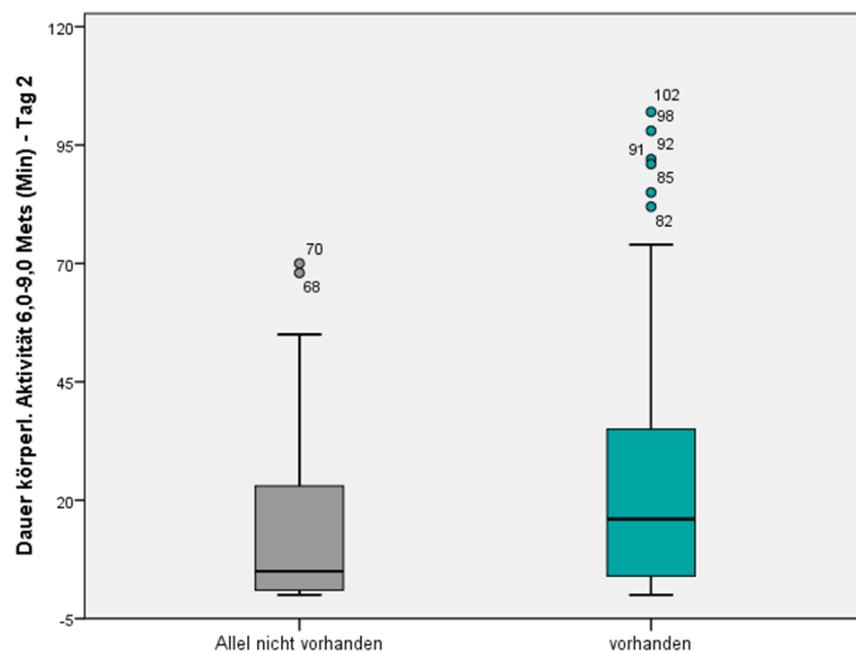


Abb. 35: Unterschied in der Dauer der körperlichen Aktivität zwischen Trägerinnen ($N = 81$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 57$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind Median und Spannweite. ($p = 0,013$)

Wie Abb. 36 zu entnehmen ist, zeigt sich für Untersuchungstag 2 ebenfalls ein Unterschied im Median zwischen den Gruppen im Hinblick auf die durchschnittlichen METs (Tagesmittel).

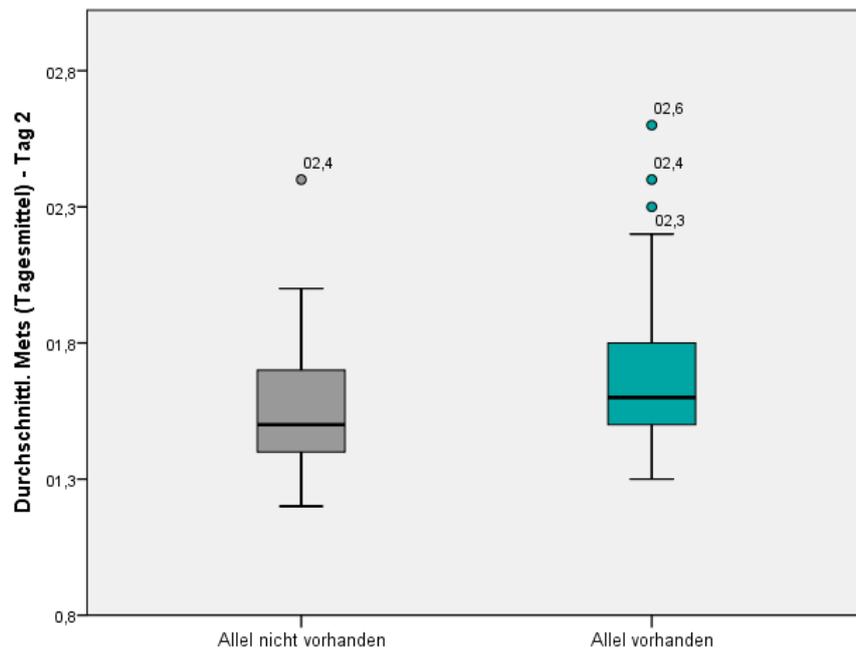


Abb. 36: Unterschied in den durchschnittlichen METs zwischen Trägerinnen ($N = 81$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 57$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind Median und Spannweite. ($p = 0,018$)

Abb. 37 zeigt den Unterschied in den METs zum Schlafenergieverbrauch (Nacht 1) zwischen Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen.

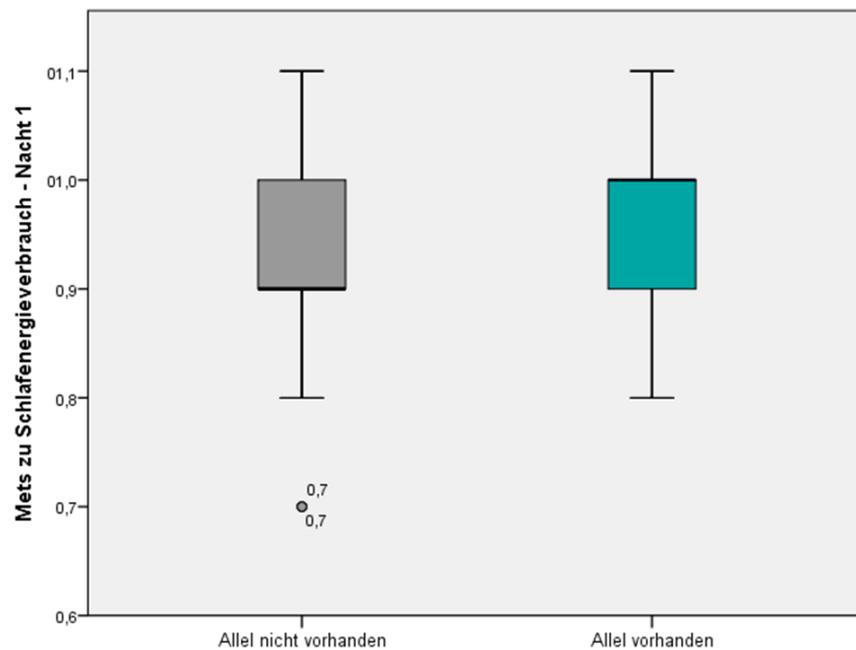


Abb. 37: Unterschied in den METs zum Schlafenergieverbrauch in Nacht 1 zwischen Trägerinnen ($N = 81$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 57$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind Median und Spannweite. ($p = 0,013$)

Abb. 38 und Abb. 39 zeigen den Unterschied hinsichtlich des Blutdrucks zwischen den beiden Gruppen. Hierbei weisen die Allelträgerinnen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen durchgängig niedrigere Werte auf.

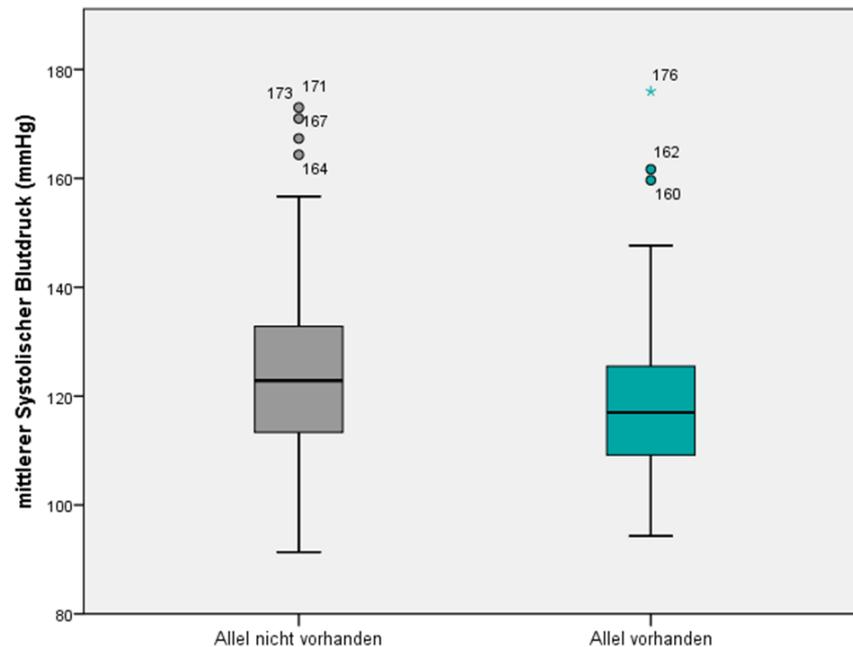


Abb. 38: Unterschied im systolischen Blutdruck zwischen Trägerinnen ($N = 79$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 56$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind Median und Spannweite. ($p = 0,038$)

Die hier vorgestellten Gruppenunterschiede sind für die Merkmale aktiver Energieverbrauch an Tag 2 bis 2,5 Mets sowie bis 3,0 Mets statistisch signifikant vergl. Tab. 21. Weiterhin sind die Gruppenunterschiede für das Merkmal Dauer der körperlichen Aktivität (3,0 Mets) an Tag 2 sowie 6,0 bis 9,0 Mets an beiden Untersuchungstagen statistisch signifikant. Die Mets an Tag 2 sowie die Mets zum Schlafenergieverbrauch in allen drei Nächten zeigen ebenfalls statistisch signifikante Gruppenunterschiede. Mit Hinblick auf den Blutdruck sind die Gruppenunterschiede im systolischen Blutdruck statistisch signifikant. Ferner stellen die Gruppenunterschiede in den Merkmalen aktiver Energieverbrauch bis 2,0 METs an Tag 2, PAL an Tag 2, Anzahl Schritte an Tag 2/Nacht2, zurückgelegte Gesamtstrecke an Tag 2, Gesamtenergieverbrauch in Nacht 2 sowie der diastolischer Blutdruck mit $p < 0,100$ einen statistischen Trend dar.

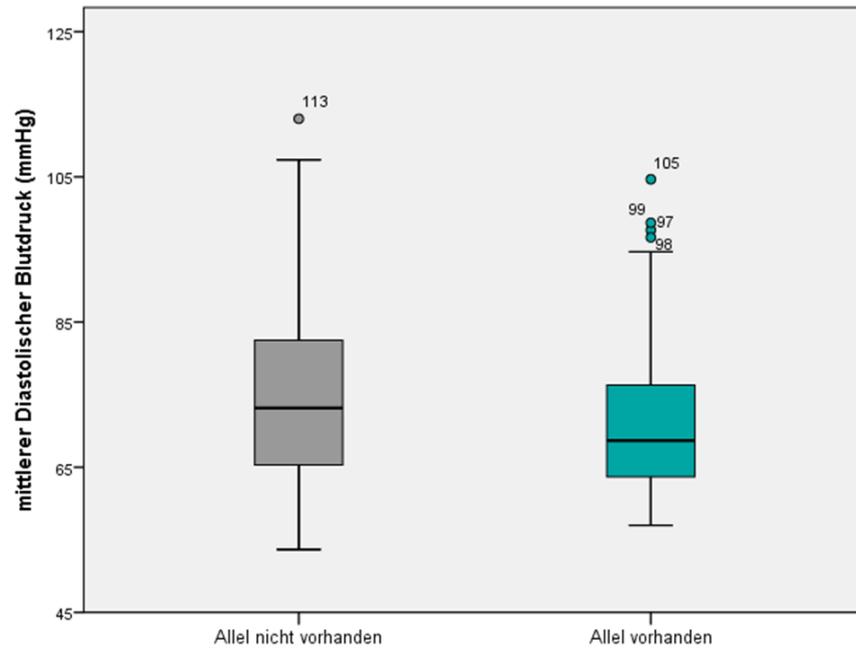


Abb. 39: Unterschied im diastolischen Blutdruck zwischen Trägerinnen ($N = 79$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 56$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind Median und Spannweite. ($p = 0,073$)

Tab. 21: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des GR SNP rs41423247 hinsichtlich Energiehaushalt und Vitalparametern.

Merkmal	Mann-Whitney-U-Test	
	u	p
Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht1/Tag1	-0,79	0,431
Gesamtenergieverbrauch (kcal/24 Std) - Nacht2/Tag2	-0,91	0,364
Aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets (kcal) - Tag 1	-0,04	0,971
Aktiver Energieverbrauch bis 2,0 Mets (kcal) - Tag 2	-1,92	0,055
Aktiver Energieverbrauch bis 2,5 Mets (kcal) - Tag 1	-0,09	0,929
Aktiver Energieverbrauch bis 2,5 Mets(kcal) - Tag 2	-2,01	0,044
Aktiver Energieverbrauch bis 3,0 Mets (kcal) - Tag 1	-0,34	0,731
Aktiver Energieverbrauch bis 3,0 Mets (kcal) - Tag 2	-2,11	0,035
Dauer körperl. Aktivität 3,0 Mets (Min) - Tag 1	-0,26	0,797
Dauer körperl. Aktivität 3,0 Mets (Min) - Tag 2	-2,02	0,043
Dauer körperl. Aktivität 3,0-6,0 Mets (Min) - Tag 1	-0,17	0,863
Dauer körperl. Aktivität 3,0-6,0 Mets (Min) - Tag 2	-1,49	0,136
Dauer körperl. Aktivität 6,0-9,0 Mets (Min) - Tag 1	-2,04	0,041
Dauer körperl. Aktivität 6,0-9,0 Mets (Min) - Tag 2	-2,49	0,013
Dauer körperl. Aktivität über 9,0 Mets (Min) - Tag 1	-0,70	0,484
Dauer körperl. Aktivität über 9,0 Mets (Min) - Tag 2	-0,82	0,411
Mets - Tag 1	-0,67	0,503
Mets - Tag 2	-2,37	0,018
Physisches Aktivitätsniveau (PAL) - Tag 1	-0,07	0,944
Physisches Aktivitätsniveau (PAL) - Tag 2	-1,76	0,078
Anzahl Schritte - Nacht1/Tag1	-0,09	0,929
Anzahl Schritte - Nacht2/Tag2	-1,76	0,078
Gesamtstrecke (km) - Tag1	-0,02	0,986
Gesamtstrecke (km) - Tag2	-1,95	0,051
Gesamtenergieverbrauch Licht an bis Licht aus (kcal) - Tag 1	-0,26	0,795
Gesamtenergieverbrauch Licht an bis Licht aus (kcal) - Tag 2	-0,99	0,323
Gesamtenergieverbrauch Licht aus bis Licht an (kcal) - Nacht 1	-1,35	0,176
Gesamtenergieverbrauch Licht aus bis Licht an (kcal) - Nacht 2	-1,86	0,063
Gesamtenergieverbrauch Licht aus bis Licht an (kcal) - Nacht 3	-0,63	0,526
Schlafenergieverbrauch, SEE (kcal/1Std) - Nacht 1	-0,30	0,766
Schlafenergieverbrauch, SEE (kcal/1Std) - Nacht 2	-0,20	0,840
Schlafenergieverbrauch, SEE (kcal/1Std) - Nacht 3	-0,14	0,885
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 1	-2,49	0,013
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 2	-2,45	0,014
Mets zu Schlafenergieverbrauch - Nacht 3	-2,45	0,014
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 1	-0,30	0,766
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 2	-0,20	0,840
Grundumsatz, aus SEE berechnet (kcal/24 Std)- Nacht 3	-0,14	0,885
systolischer Blutdruck (mmHg)	-2,07	0,038
diastolischer Blutdruck (mmHg)	-1,79	0,073

u = Prüfgröße, p = Irrtumswahrscheinlichkeit
signifikante Unterschiede sind hervorgehoben

Im weiteren Verlauf zeigt Tab. 22 den Gruppenvergleich hinsichtlich anthropometrischer Merkmale und Parametern der Körperzusammensetzung für die Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen. Bis auf die Merkmale Körperhöhe sowie ECM weisen erneut die Allelträgerinnen bei allen genannten Merkmalen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen die niedrigeren Werte auf (Abb. 40 bis Abb. 42).

Tab. 22: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des GR SNP rs41423247 hinsichtlich anthropometrischer Merkmale und Körperzusammensetzung.

Merkmal	Allel nicht vorhanden N = 57		Allel vorhanden N = 81		t-Test nach Student	
	M	SD	M	SD	t	p
Körpergewicht (kg)	65,92	9,41	63,56	7,79	1,60	0,111
Körperhöhe (cm)	169,29	6,23	170,46	6,52	-1,06	0,290
Body Mass Index (kg/m ²)	22,99	3,00	21,88	2,43	2,42	0,017
Taillenumfang (cm)	70,98	5,85	68,95	5,52	2,08	0,040
Hüftumfang (cm)	96,55	7,41	94,66	6,45	1,59	0,115
Bauchumfang (cm)	79,90	8,64	76,72	7,16	2,36	0,020
Körperzellmasse (kg)	24,14	3,06	23,48	2,76	1,33	0,187
Gesamtkörperwasser (L)	33,78	3,34	33,30	2,95	0,88	0,381
Magermasse (kg)	46,14	4,57	45,50	4,03	0,87	0,388
extrazelluläre Masse (kg)	22,00	2,11	22,02	1,99	-0,04	0,966
Fettmasse (%)	29,42	5,59	27,97	5,11	1,59	0,115

*N = Individuenzahl, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung
t = Prüfgröße, p = Irrtumswahrscheinlichkeit, signifikante Unterschiede sind hervorgehoben*

Die Unterschiede in BMI sowie Taillen- und Bauchumfang sind statistisch signifikant. Gleichzeitig liegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich Körperhöhe, -gewicht, Hüftumfang, Körperzellmasse (Maß für Muskelmasse), Magermasse sowie Fettmasse vor.

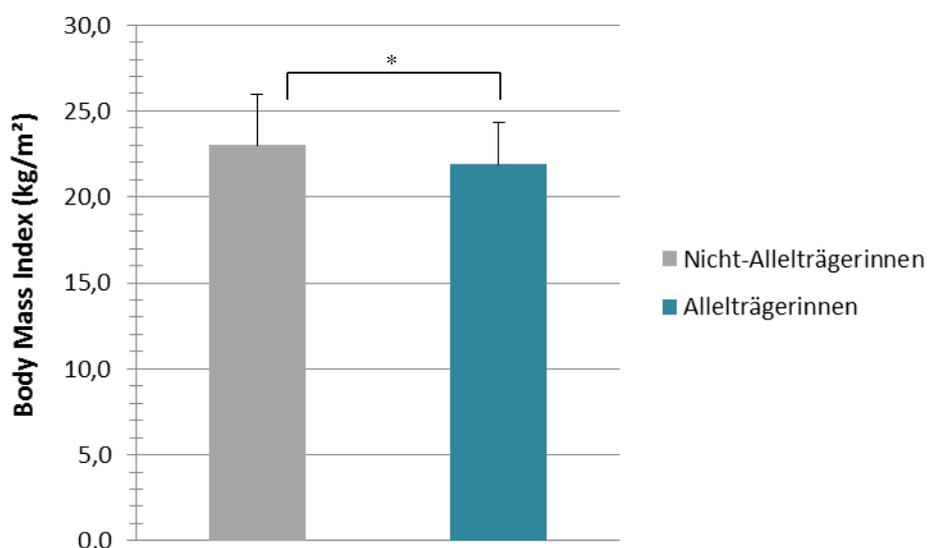


Abb. 40: Unterschied im Body Mass Index zwischen Trägerinnen (N = 81) und Nicht-Trägerinnen (N = 57) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind MW und SD. (p = 0,017)

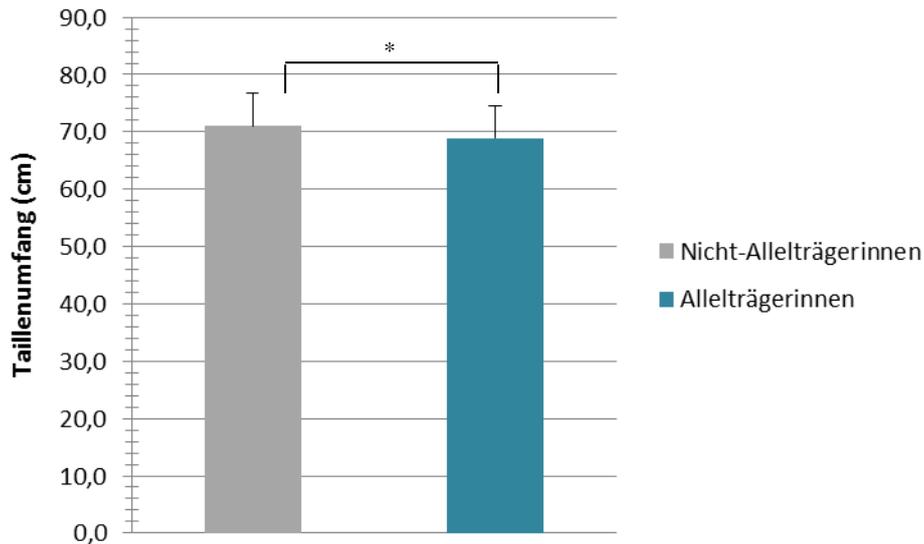


Abb. 41: Unterschied im Taillenumfang zwischen Trägerinnen ($N = 81$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 57$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind MW und SD. ($p = 0,040$)

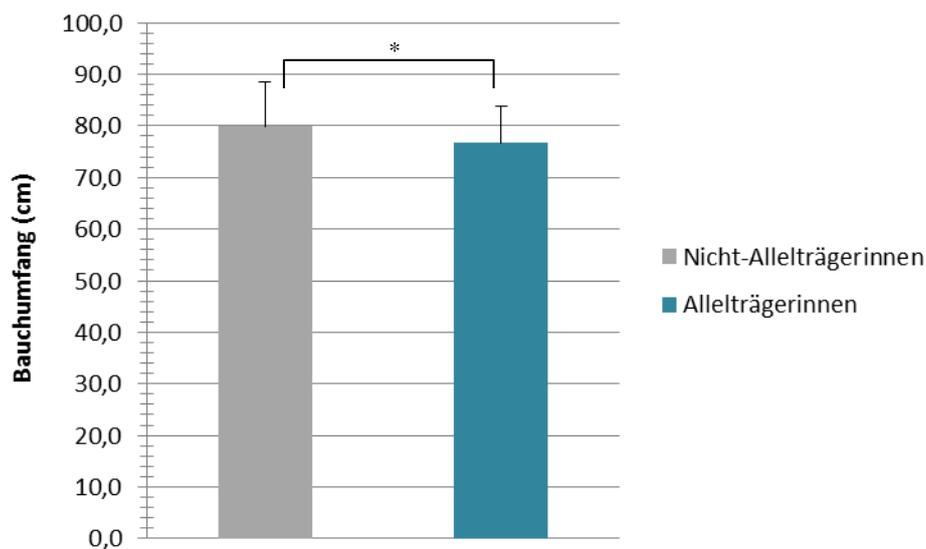


Abb. 42: Unterschied im Bauchumfang zwischen Trägerinnen ($N = 81$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 57$) des Allels G des GR SNP rs41423247. Angegeben sind MW und SD. ($p = 0,020$)

6.4.2 Gruppenunterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des CLOCK SNP rs3749474

Im Folgenden werden mit Hinblick auf Fragestellung 3 die Unterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des SNP rs3749474 im CLOCK Gen in Bezug auf anthropometrische Merkmale und Parameter der Körperzusammensetzung vorgestellt. Tab. 23 liefert einen Überblick über die mittleren Gruppenunterschiede hinsichtlich anthropometrischer Merkmale und Parametern der Körperzusammensetzung. Ferner wird auch der mittlere Grundumsatz (berechnet mit Hilfe der BIA) angegeben. Es ist zu beobachten, dass die

Allelträgerinnen durchweg niedrigere Mittelwerte im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen aufweisen. Diese Gruppenunterschiede sind, mit Ausnahme der Unterschiede bezüglich Körperhöhe sowie Hüftumfang, statistisch signifikant.

Ergänzend dazu zeigen sich weitere Unterschiede zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich anthropometrischer Merkmale und Parametern der Körperzusammensetzung. Diese werden, da keine Normalverteilung der Daten vorliegt, als Median und Spannweite angegeben (Tab. 23). Auch hierbei weisen die Allelträgerinnen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen durchweg niedrigere Werte auf. Für Körpergewicht und BMI sind die Gruppenunterschiede statistisch signifikant. Der Unterschied in der Fettmasse liegt mit $p = 0,070$ an der Grenze zur statistischen Signifikanz.

Tab. 23: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des CLOCK SNP rs3749474 hinsichtlich Körperzusammensetzung und anthropometrischer Merkmale.

Merkmal	Allel nicht vorhanden N = 70		Allel vorhanden N = 86		t-Test nach Student	
	M	SD	M	SD	t	p
Körperhöhe (cm)	170,62	6,10	169,61	6,41	1,01	0,316
Taillenumfang (cm)	71,31	5,74	68,78	5,79	2,73	0,007
Hüftumfang (cm)	96,15	7,50	94,24	6,64	1,69	0,093
Bauchumfang (cm)	79,97	8,06	76,89	7,89	2,40	0,017
Grundumsatz (kcal/24 Std.)	1385,86	92,15	1350,70	89,37	2,41	0,017
Gesamtkörperwasser (L)	34,29	3,12	32,86	2,99	2,92	0,004
Magermasse (kg)	46,85	4,26	44,90	4,08	2,91	0,004
Extrazelluläre Masse (kg)	22,50	2,10	21,65	1,94	2,63	0,009
Körperzellmasse (kg)	24,36	2,90	23,25	2,81	2,43	0,016
Intrazelluläres Wasser (L)	20,95	1,01	20,54	0,98	2,59	0,010
Extrazelluläres Wasser (L)	13,34	2,16	12,34	2,06	2,96	0,004
	Allel nicht vorhanden N = 70		Allel vorhanden N = 86		Mann-Whitney-U-Test	
	Median	SW	Median	SW	u	p
Körpergewicht (kg)	66,35	37,10	62,55	39,80	-2,58	0,010
Body Mass Index (kg/m ²)	22,49	12,13	21,63	12,36	-2,52	0,012
Fettmasse (kg)	18,95	22,80	17,40	27,60	-1,81	0,070

M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; SW = Spannweite; N = Individuenzahl
t = Prüfgröße; u = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit;
signifikante Unterschiede sind hervorgehoben

Die Abb. 43 bis Abb. 45 zeigen die Mittelwertsunterschiede für Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen hinsichtlich Grundumsatz, Magermasse und Körperzellmasse.

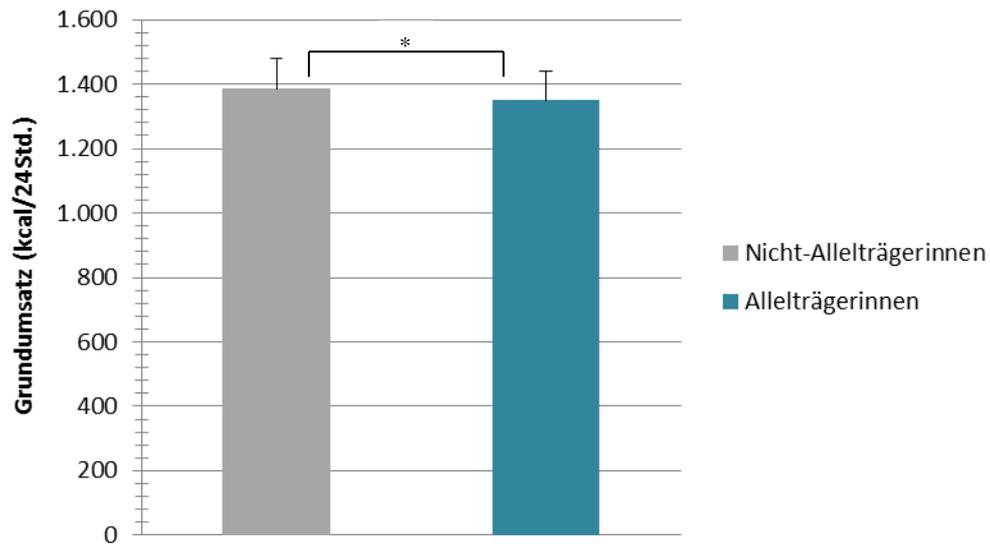


Abb. 43: Unterschied im Grundumsatz zwischen Trägerinnen ($N = 86$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 70$) des Allels T des CLOCK SNP rs3749474. Angegeben sind MW und SD. ($p = 0,017$)

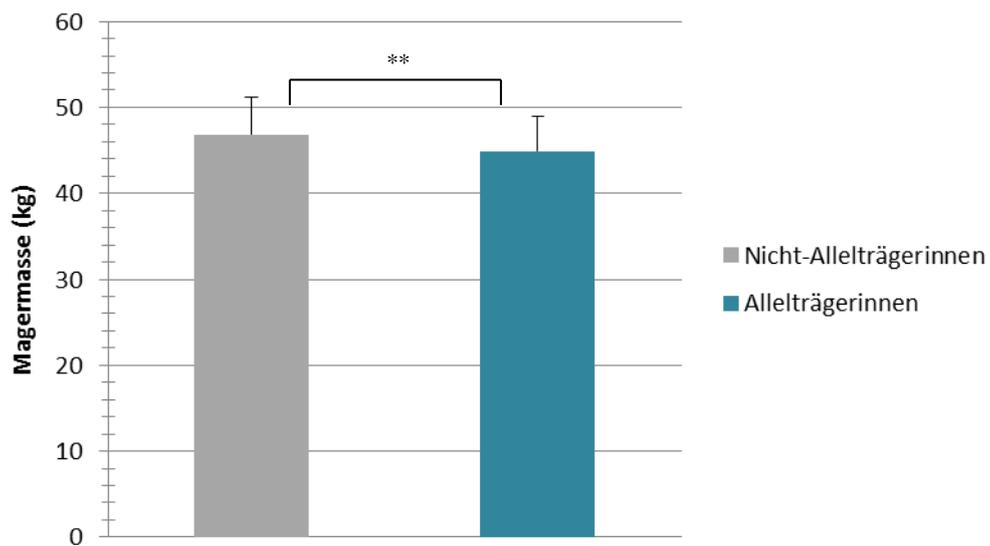


Abb. 44: Unterschied in der Magermasse zwischen Trägerinnen ($N = 86$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 70$) des Allels T des CLOCK SNP rs3749474. Angegeben sind MW und SD. ($p = 0,004$)

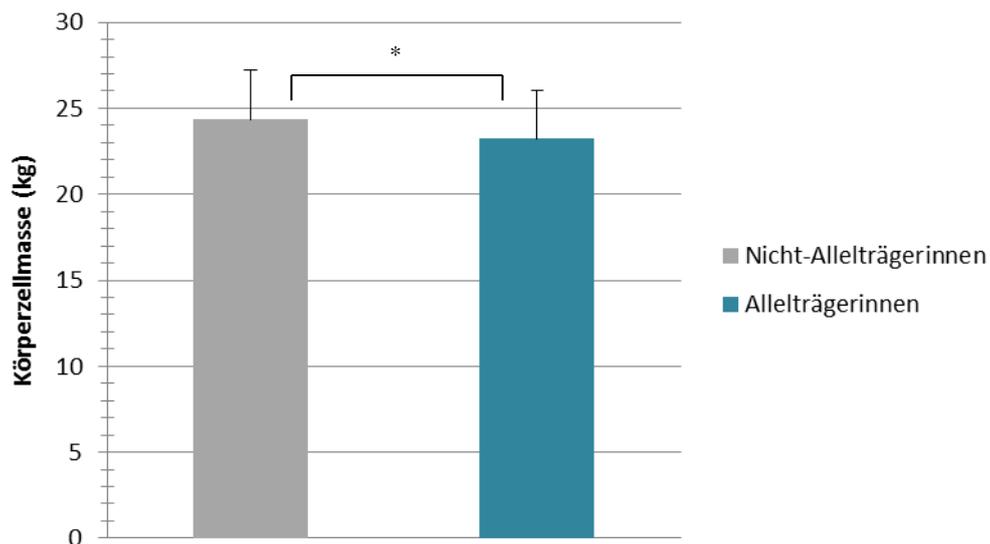


Abb. 45: Unterschied in der Körperzellmasse zwischen Trägerinnen ($N = 86$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 70$) des Allels T des CLOCK SNP rs3749474. Angegeben sind MW und SD. ($p = 0,016$)

Die Abb. 46 bis Abb. 48 zeigen die Gruppenunterschiede hinsichtlich Körpergewicht, BMI und Taillenumfang.

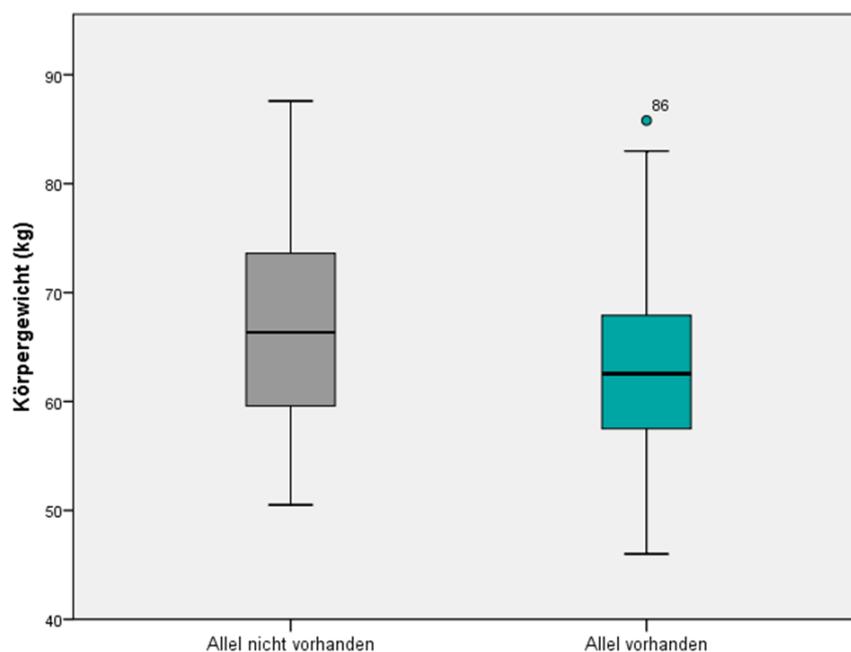


Abb. 46: Unterschied im Körpergewicht zwischen Trägerinnen ($N = 86$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 70$) des Allels T des CLOCK SNP rs3749474. Angegeben sind Median und Spannweite ($p = 0,010$)

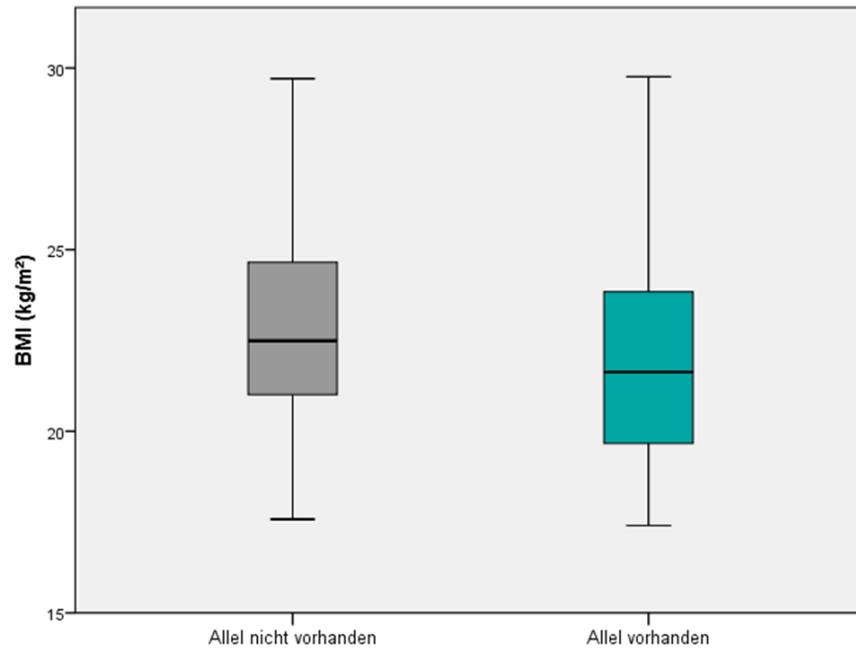


Abb. 47: Unterschied im BMI zwischen Trägerinnen ($N = 86$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 70$) des Allels T des CLOCK SNP rs3749474. Angegeben sind Median und Spannweite ($p = 0,012$)

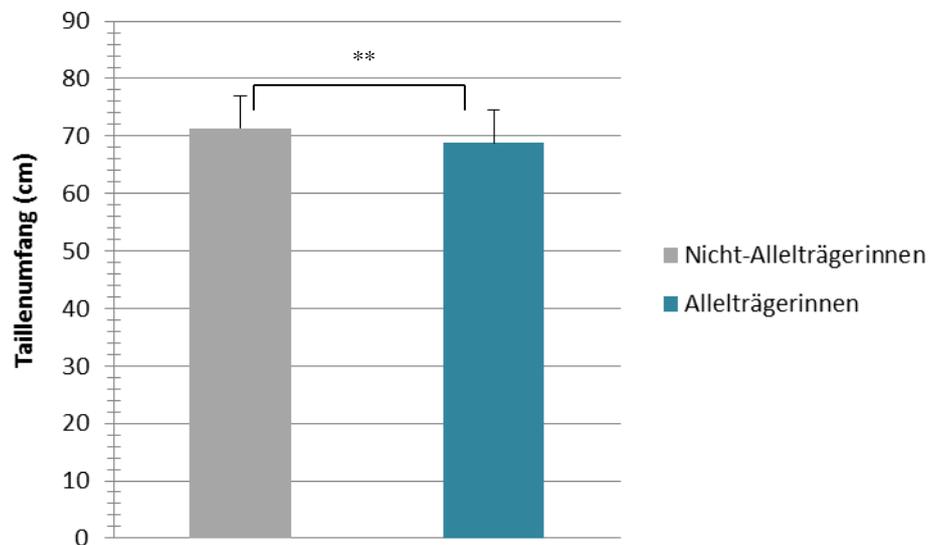


Abb. 48: Unterschied im Taillenumfang zwischen Trägerinnen ($N = 86$) und Nicht-Trägerinnen ($N = 70$) des Allels T des CLOCK SNP rs3749474. Angegeben sind MW und SD. ($p = 0,007$)

6.4.3 Gruppenunterschiede zwischen den Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C des *CLOCK* SNP rs4580704

Im Hinblick auf Fragestellung 3 wurden potentielle Gruppenunterschiede zwischen Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C des *CLOCK* SNP rs4580704 hinsichtlich anthropometrischer Merkmale und Parametern der Körperzusammensetzung untersucht. Nachfolgend werden die Gruppenunterschiede der Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C im *CLOCK* SNP rs4580704 vorgestellt.

Tab. 24 bietet eine Übersicht über anthropometrische Merkmale und Parameter der Körperzusammensetzung für Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C des *CLOCK* SNP rs4580704. Zusätzlich wird auch der Grundumsatz (berechnet mittels BIA) angegeben. Bis auf die Merkmale Körperhöhe und Fettmasse zeigen die Allelträgerinnen einheitlich geringfügig höhere Werte für alle anthropometrischen Merkmale, den Grundumsatz sowie die verschiedenen Merkmale der Körperzusammensetzung im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen. Diese Unterschiede sind nicht statistisch signifikant.

Tab. 24: Gruppenvergleich der Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des *CLOCK* SNP rs4580704 hinsichtlich Körperzusammensetzung und anthropometrischen Merkmalen.

Merkmal	Allel nicht vorhanden N = 62		Allel vorhanden N = 93		t-Test nach Student	
	M	SD	M	SD	t	p
Körperhöhe (cm)	170,39	6,86	169,75	5,84	0,61	0,540
Körpergewicht (kg)	64,53	8,84	64,65	8,44	-0,08	0,933
Body Mass Index (kg/m²)	22,22	2,84	22,42	2,59	-0,45	0,653
Tailenumfang (cm)	69,42	6,25	70,25	5,67	-0,85	0,395
Hüftumfang (cm)	94,86	7,16	95,23	7,09	-0,33	0,743
Bauchumfang (cm)	77,36	8,36	78,93	7,92	-1,19	0,237
Grundumsatz (kcal/24 Std.)	1360,48	94,43	1370,43	91,19	-0,66	0,513
Gesamtkörperwasser (L)	33,34	3,39	33,59	2,95	-0,48	0,629
Magermasse (kg)	45,56	4,63	45,88	4,03	-0,46	0,649
Extrazelluläre Masse (kg)	22,00	2,22	22,01	1,92	-0,05	0,962
Körperzellmasse (kg)	23,55	2,96	23,88	2,88	-0,69	0,488
Intrazelluläres Wasser (L)	20,64	1,10	20,77	1,00	-0,75	0,452
Extrazelluläres Wasser (L)	12,71	2,34	12,82	2,04	-0,32	0,749
Fettmasse (%)	28,86	5,89	28,53	4,89	0,38	0,705

M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; N = Individuenzahl
t = Prüfgröße; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

7 Diskussion

Vornehmliches Ziel dieser Arbeit war es, Parameter des Energiehaushalts, der Körperzusammensetzung sowie der Cortisolkonzentration auf Zusammenhänge zu analysieren. Ferner lag ein Hauptaugenmerk auf einer potentiellen Verbindung zwischen der genetischen Variante rs41423247 im GR-Gen und Parametern des Energiestoffwechsels sowie der Körperzusammensetzung. Zusätzlich im Fokus lag die Untersuchung möglicher Verbindungen zwischen zwei genetischen Varianten des *CLOCK*-Gens und der Körperzusammensetzung. Die in Abschnitt 6 vorgestellten Ergebnisse sollen hier diskutiert und in den Stand der aktuellen Forschung eingeordnet werden.

7.1 Zu allgemeinen und deskriptiven Merkmalen des Probandenkollektivs und der Bedeutung von äußeren Einflüssen auf die Cortisolkonzentration

Für die Studie wurden ausschließlich weibliche, junge, gesunde Erwachsene ausgewählt. Studien zeigen, dass sowohl Geschlecht, Alter als auch Vorerkrankungen einen Einfluss auf die untersuchten Variablen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration zeigen (Kirschbaum *et al.* 1999; Roberts & Rosenberg 2006; Ahn *et al.*; Stawski *et al.* 2013; Stalder *et al.* 2016; JafariNasabian *et al.* 2017). Mit einem mittleren BMI von 22,36 kg/m² liegt das untersuchte Probandenkollektiv im Bereich des Normalgewichts (Lim *et al.* 2017). Übergewicht, vor allem abdominale Fetteinlagerungen, beeinflussen nach Hewagalamulage *et al.* (2016) die Cortisolkonzentration sowie den Energieverbrauch (Astrup *et al.* 1992). Hinsichtlich des Einflusses von oralen Kontrazeptiva auf die Cortisolkonzentration gibt es widersprüchliche Literaturbefunde (Bouma *et al.* 2009; Vibarel-Rebot *et al.* 2015). Im vorliegenden Probandenkollektiv konnten mit Hinblick auf die verschiedenen Untersuchungszeitpunkte ebenfalls voneinander abweichende Zusammenhänge beobachtet werden. Diese werden in einem späteren Abschnitt separat diskutiert.

Stress stellt einen Einflussfaktor für die Cortisol-Sekretion dar (Stawski *et al.* 2013). Die mittlere Gesamtpunktzahl des PSS-Fragebogens liegt mit 17,39 Punkten im „normalen“ Bereich, so dass davon auszugehen ist, dass etwaige stressreiche Ereignisse die Daten lediglich in einem vernachlässigbaren Maße beeinflusst haben könnten. Die körperliche Aktivität stellt eine wichtige Determinante für den individuellen Energieverbrauch dar. Mit einem mittleren körperlichen Aktivitätsgrad von 1,57 METs (Untersuchungstag 1) bzw. 1,62 METs (Untersuchungstag 2) weist das untersuchte Probandenkollektiv im Mittel Werte an der Grenze zur leichten Intensität (1,6 – 2,9 METs) auf (Ainsworth *et al.* 2011), hierbei ist jedoch zu

berücksichtigen, dass die Daten lediglich auf der Auswertung von zwei aufeinanderfolgenden 24-Stunden-Zeiträumen beruhen. Alternativ kann für die Einschätzung der körperlichen Aktivität ebenfalls die mittlere Aktivitätsdauer (Std/Woche), ermittelt mit dem Freiburger Fragebogen, herangezogen werden. Diese beträgt für das vorliegende Probandenkollektiv 12,53 Std/Woche. Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO, *World Health Organization*) für Erwachsene bis zu einem Alter von 64 Jahren liegen bei mind. 2,5 Stunden mäßig anstrengender Aktivität pro Woche oder alternativ 1,25 Std/Woche sehr anstrengender körperlicher Aktivität (Jordan *et al.* 2012). Dementsprechend kann das vorliegende Probandenkollektiv als überdurchschnittlich körperlich aktiv eingestuft werden. Dabei ist jedoch zu beachten, dass die körperliche Aktivitätsdauer/Woche mit Hilfe des Freiburger Fragebogens erfasst wurde. Fragebogenerhebungen stellen immer eine subjektive Selbsteinschätzung der Probanden dar und sind dementsprechend oft von Verzerrungen und Falschangaben betroffen. Zusammenfassend kann jedoch festgehalten werden, dass mögliche Einflussfaktoren entweder, sofern durchführbar, von vorneherein minimiert wurden, oder ihr potentieller Einfluss auf die vorliegenden Daten nach bestem Kenntnisstand erfasst wurde. Somit wurde sichergestellt, dass ein großes und möglichst homogenes Probandenkollektiv analysiert wurde.

Zusammenhang zwischen Umgebungslichtintensität und Cortisolkonzentration

Zwischen der Umgebungslichtintensität und der Cortisolkonzentration konnten unter natürlichen Versuchsbedingungen keine signifikanten Zusammenhänge gezeigt werden. Es waren jedoch sowohl an Tag 1 als auch Tag 2 einheitlich schwache negative Zusammenhänge zu beobachten, der Zeitpunkt T0 stellt jedoch eine Ausnahme dar, hierbei war für beide Untersuchungstage ein schwacher positiver Zusammenhang zu beobachten. Bisherige Studien unter Laborbedingungen zeigen einen unmittelbaren Einfluss der Umgebungslichtintensität auf die morgendliche Cortisolkonzentration (Scheer & Buijs 1999; Leproult *et al.* 2001; Jung *et al.* 2010). So zeigten Scheer & Buijs (1999), dass eine Lichtexposition von 800 Lux im Vergleich zu einer Kontrollgruppe zu einem signifikanten Anstieg der morgendlichen Cortisolkonzentrationen führt, einen Einfluss auf die abendlichen Cortisolkonzentrationen konnten die Autoren dahingegen nicht zeigen. Übereinstimmend dazu zeigten Leproult *et al.* (2001), dass eine schrittweise Erhöhung der Lichtexposition direkt nach dem Aufwachen von 150 Lux (geringe Lichtintensität in geschlossenen Räumen) auf 4500 Lux (Lichtintensität im Freien an einem wolkigen Tag) zu einem schnellen Anstieg der morgendlichen Cortisolkonzentration führt. Die Autoren konnten ebenfalls keinen Einfluss der Lichtexposition auf die nachmittägliche Cortisolkonzentration zeigen. Weiterhin zeigten Figueiro & Rea (2012), dass die Exposition von kurzwelligem Licht (470 nm) die morgendlichen Cortisolkonzentrationen erhöht.

Konträr dazu konnten Jung *et al.* (2010) zeigen, dass Lichtexposition von 10.000 Lux (Lichtintensität im freien direkt nach Sonnenaufgang) zu einer signifikanten Verminderung der Cortisolkonzentration führt. Die bisherige Studienlage lässt vermuten, dass möglicherweise die Stärke, die Dauer sowie der Zeitpunkt der Lichtexposition verschiedene ausgeprägte Resultate auf die Cortisolkonzentration vermitteln. Die schwachen positiven Zusammenhänge zum Zeitpunkt T₀ der vorliegenden Arbeit könnten folglich unter Vorbehalt als übereinstimmend mit den Befunden von Scheer & Buijs (1999); Leproult *et al.* (2001) und Figueiro & Rea (2012) gewertet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde im Vergleich zu den Literaturbefunden jedoch der Effekt der Umgebungslichtintensität unter natürlichen Bedingungen analysiert, das heißt, dass jede Probandin individuellen Beleuchtungsverhältnissen ausgesetzt war. Ferner wurde für jede Probandin lediglich die mittlere Lichtintensität für die erste Stunde nach dem Aufwachen erfasst, was die Aussagekraft der vorliegenden Daten limitiert. Zukünftige Studien zum Einfluss der Umgebungslichtintensität auf die Cortisolkonzentration unter natürlichen Bedingungen sind notwendig, um aussagekräftige Daten zu erhalten. Ferner müssen zukünftige Studien den Trade-off zwischen natürlichen Untersuchungsbedingungen und einer Vergleichbarkeit der Daten zur Umgebungslichtintensität im Studiendesign berücksichtigen.

Gruppenvergleich zwischen Anwenderinnen und Nicht-Anwenderinnen von oralen Kontrazeptiva hinsichtlich Cortisolkonzentration

In den vorliegenden Daten konnten im Hinblick auf die Einnahme von oralen Kontrazeptiva zwei gegensätzliche Beobachtungen gemacht werden. Generell lässt sich beobachten, dass die AOK niedrigere Cortisolkonzentrationen am Morgen und höhere am Abend im Vergleich zu den FMZ zeigen. Diese Unterschiede sind bis auf den Zeitpunkt T_{Bett} an Tag 0 nicht signifikant, wobei die Unterschiede zum Zeitpunkt T_{Bett} an Tag 1 sowie T₃₀ an Tag 2 an der Grenze zur statistischen Signifikanz liegen. Diese Befunde lassen auf einen langsameren Anstieg der Cortisolkonzentration bei den AOK am Morgen und einen darauffolgenden ebenfalls langsameren Abfall der Konzentration über den Tagesverlauf im Vergleich zu den FMZ schließen. Die bereits bestehenden Literaturbefunde sind kontrovers. So zeigen bspw. Pluchino *et al.* (2009), Liening *et al.* (2010) und Vibarel-Rebot *et al.* (2015) keine Veränderungen in der Cortisolkonzentration zwischen AOK und einer Kontrollgruppe. Dahingegen beschreiben Winkler & Sudik (2009) sowie Boisseau *et al.* (2013) einen Anstieg der Cortisolkonzentration durch die Einnahme von oralen Kontrazeptiva. Im Widerspruch dazu stehen wiederum die Ergebnisse von Kirschbaum *et al.* (1999) und Bouma *et al.* (2009), wonach bei AOK eine verminderte Konzentration an freiem Cortisol bzw. eine abgeschwächte CAR beobachtet

werden konnte. Ethynilöstradiol (Hauptöstrogen in oralen Kontrazeptiva) hat laut Kirschbaum *et al.* (1999) einen gut dokumentierten verstärkenden Effekt auf das CBG, so dass eine Zunahme des CBG durch die Einnahme von oralen Kontrazeptiva eine verminderte freiverfügbare Cortisolkonzentration zur Folge hätte. Weiterhin konnten Bouma *et al.* (2009) Hinweise auf einen durch orale Kontrazeptiva induzierten langsameren Anstieg und Abfall der Cortisolkonzentration nach dem Aufwachen feststellen. Damit können die Ergebnisse dieser Arbeit als Bestätigung der Befunde von Bouma *et al.* gewertet werden.

7.2 Zu Zusammenhängen zwischen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung, Cortisolkonzentration und weiteren physiologischen- sowie ernährungsbezogenen Aspekten

7.2.1 Zusammenhang zwischen Energiehaushalt und Cortisolkonzentration

An dem vorliegenden Probandenkollektiv können sowohl in der Gesamtgruppe als auch für die Untergruppen hinsichtlich des GR-Polymorphismus rs41423247 (Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G) signifikante negative Zusammenhänge zwischen dem Grundumsatz sowie weiteren Komponenten des Energiehaushalts (bspw. TEE, SEE, GU aus SEE berechnet) und der Cortisolkonzentration beobachtet werden. Wie einleitend bereits beschrieben wurde, vermitteln Glucocorticoide je nach Konzentration (physiologisch vs. therapeutisch) und Grundvoraussetzungen vielfältigste metabolische Phänomene. Allerdings dienen sie primär der Energiebereitstellung. Der in diesem jungen, gesunden Probandenkollektiv beobachtete negative Zusammenhang kann vereinfacht folgendermaßen formuliert werden: je höher der Grundumsatz ausfällt, desto niedriger fällt die Cortisolkonzentration aus und *vice versa*.

Hewagalamulage *et al.* (2016) zeigten mittels einer Studie an Schafen, dass eine langfristige Erhöhung von endogenem Cortisol zu einer Gewichtszunahme führt. Diese Gewichtszunahme könnte laut Hewagalamulage *et al.* u.a. auf einem erniedrigten Grundumsatz, bedingt durch eine glucocorticoid-induziert verminderte Thermogenese, beruhen. Also vereinfacht ausgedrückt könnten die langanhaltend (zu) hohen Cortisolkonzentrationen zu einer Verminderung des Grundumsatzes durch eine verminderte Thermogenese führen. Der gegensinnige Zusammenhang zwischen Grundumsatz und Cortisolkonzentration, der in dieser Arbeit beobachtet werden konnte, könnte als Bekräftigung dieser Vermutung gedeutet werden. Weiterhin zeigten vergleichende Studien an Übergewichtigen und Normalgewichtigen Unterschiede hinsichtlich der Cortisolkonzentrationen. So zeigten bspw. Astrup *et al.* (1992), dass Übergewichtige im Vergleich zu einer normalgewichtigen Kontrollgruppe niedrigere Cortisolkonzentrationen aufweisen. Bei Übergewichtigen kann i.d.R. davon ausgegangen werden, dass sie bedingt durch

die höhere körperliche Masse im Vergleich zu Normalgewichtigen i.d.R. einen höheren Grundumsatz aufweisen, um die körpereigene Homöostase aufrechtzuerhalten (Welle *et al.* 1992). Im Umkehrschluss könnte dementsprechend bei Normalgewichtigen ein niedriger Grundumsatz einhergehend mit höheren Cortisolkonzentrationen im Vergleich zu Übergewichtigen erwartet werden. Aus den Befunden von Astrup *et al.* (1992) könnte daher ein gegensinniger Zusammenhang zwischen Grundumsatz und Cortisolkonzentration gefolgert werden. Dementsprechend sind die gegensinnigen Zusammenhänge bei Normalgewichtigen zwischen Grundumsatz und Cortisolkonzentration der vorliegenden Arbeit in Einklang mit den Befunden von Astrup *et al.* (1992).

Sowohl Cortisol-Sekretion als Energieverbrauch werden zentral über den Hypothalamus gesteuert (Buckingham 2006; Hewagalamulage *et al.* 2016). Cortisol dient in Zeiten erhöhter Anforderungen zur Bereitstellung von Substraten. Studien zeigten, dass eine Aktivierung der HPA-Achse den Energieverbrauch erhöht. So zeigten Tataranni *et al.* (1996), dass eine Aktivierung der HPA-Achse in Form einer physiologischen Antwortreaktion und einer damit einhergehenden Erhöhung der Plasmakonzentration von Cortisol u.a. eine Erhöhung des Energieverbrauchs (REE, SEE, respiratorischer Quotient) bewirkt. Ferner berichten Tataranni *et al.* (1996), dass die therapeutische Gabe von Glucocorticoiden bei jungen gesunden Männern den Energieverbrauch geringfügig erhöht und eine deutliche Steigerung der Nahrungsaufnahme bewirkt. Hinsichtlich des Einflusses zwischen Energiehaushalt und Cortisolkonzentration gibt es nach Kenntnisstand der Autorin bisher nur sehr wenige Studien. Bessey *et al.* (1984) entdeckten zufällig durch die Gabe von synthetischen Glucocorticoiden eine Erhöhung der basalen Stoffwechselrate (bestimmt mittels indirekter Kalorimetrie), wobei eine weitere Studie diesen Zusammenhang nicht bestätigen konnte (Horber *et al.* 1991). Brillon *et al.* (1995) berichten ebenfalls über eine Erhöhung des Ruheenergieverbrauchs durch die intravenöse Gabe von Cortisol. Allen diesen Studien ist jedoch gemein, dass die untersuchten Zusammenhänge durch die Gabe von (synthetischen) Glucocorticoiden an sehr kleinen Probandenkollektiven ($N = < 10$) gezeigt wurden. In der vorliegenden Arbeit konnte abweichend zu den Studien von Tataranni *et al.*, Bessey *et al.* und Brillon *et al.* ein gegensinniger Zusammenhang zwischen dem Energiehaushalt und der Cortisolkonzentration bei einem gesunden, jungen Probandenkollektiv ohne äußere Stimulation gezeigt werden. Hauptgrund für diese unterschiedlichen Beobachtungen sind vermutlich die verschiedenen Studiendesigns: Beobachtungsstudie vs. Interventionsstudie. Es ist davon auszugehen, dass durch die Gabe der synthetischen Glucocorticoide in den Interventionsstudien eine Stress-Situation im Organismus simuliert wurde, durch welche der Stoffwechsel inkl. des Energieverbrauchs stimuliert wurde.

Dieser Zustand wird unter den vorherrschenden physiologischen Konzentrationen der Beobachtungsstudie nicht erreicht. Ferner wurden in den zuvor aufgeführten Studien abweichende Merkmale hinsichtlich des Energieverbrauchs im Vergleich zur vorliegenden Arbeit analysiert, was eine Vergleichbarkeit der Daten ebenfalls erschwert.

Weiterhin ist bekannt, dass Cortisol zum Teil scheinbar gegensätzliche physiologische Antwortreaktionen vermittelt (Ottosson 2000). So begünstigen bspw. dauerhaft erhöhte Cortisolkonzentrationen eine Akkumulation von Fettgewebe, insbesondere viszerale und abdominale Fetteinlagerungen, wie sie bspw. bei der Einnahme von Cortison-Präparaten oder als Begleitsymptom bei Morbus Cushing auftreten (Buemann *et al.* 1997; van Rossum & Lamberts 2004; Buckingham 2006; Cellini *et al.* 2010). Diese Zunahme an körpereigenen (Fett-)Reserven könnte durch eine Verminderung des Energieverbrauchs und/oder Steigerung der Nahrungsaufnahme erreicht werden (Tataranni *et al.* 1996). Geht man von der Vermutung aus, dass die Zunahme von Fettmasse, bei erhöhten Cortisolkonzentrationen, auf eine Verminderung des Energieverbrauchs zurückzuführen ist, wäre der gegensinnige Zusammenhang zwischen Energieumsatz (GU, SEE, TEE) und Cortisolkonzentration, der in dieser Arbeit beobachtet werden konnte, zu erwarten. Andererseits stimulieren Glucocorticoide in physiologischen Dosen die Lipolyse (Djurhuus *et al.* 2002). Zusätzlich ist hinreichend bekannt, dass Glucocorticoide einen katabolen Effekt auf die Skelettmuskulatur zu Gunsten von Fettdepots vermitteln. So wird unter Glucocorticoid-Einfluss Skelettmuskulatur abgebaut, um aus den frei verfügbaren Aminosäuren Energie zu gewinnen und diese in Form von Fettdepots einzulagern (Hewagalamulage *et al.* 2016). Da die Muskelmasse die Hauptquelle für den Energieverbrauch ist, geht ein Abbau von Muskelmasse (unter Cortisol-Kontrolle) folglich mit einem verringerten Grundumsatz einher. Daher ist der in dieser Arbeit beobachtete negative Zusammenhang zwischen Grundumsatz und Cortisolkonzentration nicht unerwartet.

7.2.2 Zusammenhang zwischen Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration

In den vorliegenden Daten konnten weiterhin signifikante negative Zusammenhänge zwischen der Magermasse, der Körperzellmasse, dem Körpergewicht sowie dem Hüftumfang und der Cortisolkonzentration beobachtet werden. Diese Befunde stehen im Einklang mit den im vorangegangenen Abschnitt diskutierten Ergebnissen. Wenn Grundumsatz und Cortisolkonzentration negativ korreliert sind, ist folglich auch eine negative Korrelation zwischen anthropometrischen Merkmalen sowie Parametern der Körperzusammensetzung und der Cortisolkonzentration zu erwarten. Diese Annahme liegt darin begründet, dass davon auszugehen ist, dass je geringer der Anteil an Magermasse/Körperzellmasse bzw. Körpergewicht ist, desto geringer

auch der Grundumsatz eines Individuums ausfällt und *vice versa*. Eine mögliche Erklärung wäre, dass sich bei dem vorliegenden Probandenkollektiv der körperliche Aktivitätsgrad (überwieg. sportlich aktive junge Erwachsene) positiv auf die Muskelmasse und damit einhergehend positiv auf die Magermasse, die Körperzellmasse, den Hüftumfang und den Grundumsatz ausgewirkt hat. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, dass das individuelle Maß der Magermasse/Körperzellmasse auch durch genetische Faktoren und nicht durch körperliche Aktivität allein bestimmt wird. Alle zuletzt genannten Parameter weisen in den vorliegenden Daten eine negative – und damit einheitliche – Assoziation mit der Cortisolkonzentration auf. Der Hüftumfang gilt als Marker für subkutanes Fett. Die in dieser Arbeit beobachteten signifikanten negativen Korrelationen mit der Cortisolkonzentration stehen im Einklang mit den bereits erwähnten Literaturbefunden von Astrup *et al.* (1992). Demnach weisen Übergewichtige niedrigere Cortisolkonzentrationen im Vergleich zu Normalgewichtigen auf. Übergewicht geht mit einer Zunahme von subkutanem Fett, sprich mit einer Zunahme des Hüftumfangs, einher. GC sind generell für die Wirkung auf abdominales Fett bekannt. Eine Studie von Djurhuus *et al.* (2002) zeigte jedoch, dass GC das subkutane Fettgewebe gleichermaßen in Unter- und Oberkörper beeinflussen.

Ragnarsson *et al.* (2016) zeigten jedoch einen positiven Zusammenhang zwischen freier Cortisolkonzentration im Urin und der fettfreien Masse bei Männern und Frauen mittleren und höheren Alters. Je höher die Cortisolkonzentration, desto höher ist demzufolge der Anteil an fettfreier Masse. Ausgehend von diesem Literaturbefund würde man ebenfalls einen positiven Zusammenhang zwischen GU und Cortisolkonzentration erwarten. Denn je höher der Anteil an fettfreier Masse (\approx Magermasse) ist, desto höher sollte der Grundumsatz sein. Somit stehen die in dieser Arbeit gezeigten negativen Zusammenhänge zwischen Cortisolkonzentration und Magermasse bzw. Körperzellmasse in Kontrast zu den Befunden von Ragnarsson *et al.* (2016). Gründe für die unterschiedlichen Befunde können zum einen in den unterschiedlichen Probandenkollektiven liegen. Ragnarsson *et al.* haben Männer und Frauen mittleren und höheren Alters untersucht. Das heißt, es könnten ein unterschiedlicher Einfluss der Sexualhormone in den verschiedenen Altersgruppen (prämenopausal vs. postmenopausal) sowie Alternsprozesse generell eine Rolle spielen. Geschlecht und Alter stellen ferner starke Einflussfaktoren auf die Körperzusammensetzung und somit die untersuchte fettfreie Masse dar (Horber *et al.* 1997), so dass die abweichenden Zusammenhänge auch auf diese Aspekte zurückgeführt werden könnten. Außerdem wurde bei Ragnarsson *et al.* Urin als Untersuchungssubstanz gewählt, wohingegen in der vorliegenden Arbeit Speichelproben analysiert wurden. Cortisol wird über den Urin hauptsächlich in Form von Metaboliten ausgeschieden und nur etwa 3% entsprechen

dem ursprünglichen Hormon (Turpeinen & Hämäläinen 2013). Weiterhin korreliert die Exkretion von Cortisol nur mäßig mit der Serumkonzentration (Turpeinen & Hämäläinen 2013). Laut Turpeinen & Hämäläinen führen Immunnachweismethoden in Urinproben häufig zu falsch-hohen Konzentrationen aufgrund von zahlreichen Kreuzreaktionen von Metaboliten oder weiteren unbekanntem Stoffen. Dementsprechend sind unterschiedliche Beobachtungen aufgrund verschiedener Analysesubstanzen ein durchaus realistisches Szenario.

Der in dieser Arbeit beobachtete negative Zusammenhang scheint insofern plausibel, als dass bekannt ist, dass langfristig erhöhte Cortisolkonzentrationen zu einem Abbau von Körpermasse – hauptsächlich Magermasse führt. Dabei werden Muskeln abgebaut, um freie Aminosäuren als Energiequelle zur Verfügung zu stellen (Buckingham 2006). Die Förderung des Proteinabbaus besteht auch bei physiologischen Konzentrationen von endogenen GC und wird bei langfristigen Erhöhungen endogener oder exogener GC verstärkt (Buckingham 2006). Dementsprechend erscheinen die allesamt schwachen negativen Zusammenhänge, welche in dieser Arbeit an einer gesunden Population mit „normalen“ Stresswerten beobachtet wurden, als plausibel. Bei einer langfristigen Erhöhung endogener oder exogener GC (wie z.B. bei Erkrankung oder erhöhtem Stresslevel) würde man dementsprechend einen stärkeren negativen Zusammenhang zwischen BCM bzw. LBM und Cortisolkonzentration erwarten.

Travison *et al.* (2007) beschrieben an Männern mittleren und höheren Alters ebenfalls eine schwache negative Korrelation zwischen der Cortisolkonzentration und dem BMI, dem Körpergewicht sowie weiteren anthropometrischen Merkmalen. Ausgehend von einer negativen Korrelation zwischen Körpergewicht und Cortisolkonzentration ist eine ebenfalls negative Korrelation zwischen BMI und Cortisolkonzentration zu erwarten, da bekanntermaßen ein niedriges Körpergewicht, einhergehend mit einer niedrigen Magermasse/Körperzellmasse, schlussendlich zu einem niedrigen BMI führt. Die in dieser Arbeit gezeigten gegensätzlichen Zusammenhänge zwischen Körpergewicht sowie Magermasse/Körperzellmasse und Cortisolkonzentration unterstützen die Befunde von Travison *et al.* (2007). Ferner zeigen Studien, dass Übergewichtige/Adipöse niedrigere Cortisolkonzentrationen im Vergleich zu Normalgewichtigen haben (Walker *et al.* 2000; Rask *et al.* 2001; Travison *et al.* 2007). Das würde im Umkehrschluss bedeuten, dass je höher das Körpergewicht ist, desto niedriger ist die erwartete Cortisolkonzentration, was wiederum der hier gezeigten negativen Korrelation zwischen Körpergewicht und Cortisolkonzentration entspricht. Für die niedrigeren Cortisolkonzentrationen, welche bei Übergewichtigen im Vergleich zu Normalgewichtigen beobachtet wurden, existieren verschiedene Erklärungsansätze. So werden bei Übergewichtigen bspw. ein veränderter metabolischer Abbau sowie eine abweichende Ausscheidung von Cortisol (und

Metaboliten) vermutet (Mårin *et al.* 1992; Lottenberg *et al.* 1998; Westerbacka *et al.* 2003; Trivison *et al.* 2007).

Obleich es zahlreiche Studien zum Zusammenhang zwischen Cortisol und Übergewicht sowie zwischen Cortisol und dem Substratstoffwechsel gibt, fehlen nach Kenntnisstand der Autorin grundlegende Kenntnisse zum Zusammenhang zwischen Energiehaushalt, Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration bei jungen, gesunden Erwachsenen. Die hier diskutierten Ergebnisse stellen somit einen weiteren Baustein im Verständnis des Stoffwechsels bei jungen, gesunden, weiblichen Individuen unter natürlichen Bedingungen dar. Mit Hinblick auf die primäre Fragestellung 1 bleibt abschließend festzuhalten, dass in der vorliegenden Arbeit nach Kenntnisstand der Autorin erstmalig ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen dem Energiehaushalt und der Cortisolkonzentration sowie der Körperzusammensetzung und der Cortisolkonzentration an einem jungen, gesunden, homogenen, weiblichen Probandenkollektiv unter natürlichen Bedingungen beobachtet werden konnte. Da Korrelationsanalysen keine Aussage über jegliche Kausalität erlauben, können keinerlei Rückschlüsse auf eine gegenseitige Beeinflussung zwischen Energiehaushalt bzw. Körperzusammensetzung und Cortisolkonzentration gezogen werden.

7.2.3 Zusammenhang zwischen Blutdruck, Herzfrequenz und Cortisolkonzentration

Ausgehend von den Zusammenhängen zwischen Energiehaushalt bzw. Körperzusammensetzung und der Cortisolkonzentration wurde ebenfalls ein Zusammenhang zwischen dem Blutdruck sowie der Herzfrequenz und der Cortisolkonzentration erwartet, da Blutdruck und Herzfrequenz maßgeblich durch Parameter des Energiehaushalts sowie der Körperzusammensetzung beeinflusst werden (Wareham *et al.* 2000; Sriram *et al.* 2014; Strandheim *et al.* 2015; Ye *et al.* 2018). In der Tat konnten in den vorliegenden Daten signifikante schwache negative Korrelationen zwischen dem systolischen Blutdruck sowie der Herzfrequenz und der Cortisolkonzentration beobachtet werden.

Sport führt zum Aufbau von Muskelmasse, was wiederum den Grundumsatz erhöhen kann. Diese Stimulierung durch körperliche Aktivität führt folglich zu einem positiven Einfluss auf Blutdruck und Herzfrequenz, was sich i.d.R. durch niedrige Werte hinsichtlich Blutdruck und Herzfrequenz bei Sportlern äußert. Dementsprechend wäre zu erwarten, dass bei einem gegenseitigen Zusammenhang zwischen Grundumsatz und Cortisolkonzentration sowie zwischen Muskelmasse/Körperzellmasse und Cortisolkonzentration der Zusammenhang zwischen Vitalparametern und Cortisolkonzentration gleichsinnig ausfällt (niedrige Cortisolkonzentration geht mit niedrigen Werten hinsichtlich Blutdruck und Herzfrequenz einher).

Generell reguliert Cortisol über seine Funktion als „Stresshormon“ auch den Blutdruck, hierbei wirkt Cortisol an Herz und Gefäßen sensibilisierend für Katecholamine (Schmidt & Lang 2007). In physiologischen Dosen bewirkt Cortisol eine Erhöhung des Blutdrucks durch eine Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstands (via bereits erwähnter permissiver Wirkung für Katecholamine) sowie durch die Erhöhung der Expression von adrenergen Rezeptoren (Spinas *et al.* 2011). Weiterhin ist bekannt, dass Cortisol in physiologischen Dosen ebenfalls mineralocorticoide Effekte vermittelt sowie dass erhöhte Cortisolkonzentrationen u.a. zu Hypertonie beitragen (Spinas *et al.* 2011). Dementsprechend würde man zwischen dem Blutdruck und der Cortisolkonzentration wiederum einen positiven Zusammenhang erwarten. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht gezeigt werden.

Eine mögliche Erklärung für diese abweichenden Befunde könnte in der Untersuchungssituation liegen. Cortisol ist, wie bereits erwähnt wurde, auch als Stresshormon bekannt und in Zusammenhang damit würde man durch eine hohe Cortisolkonzentration eine Aktivierung des kardiovaskulären Systems erwarten, einhergehend mit der Erhöhung von Blutdruck und Herzfrequenz. Dieses Phänomen ist jedoch vermutlich nur auf akute Stresssituationen beschränkt und daher in der Abbildung des „Normalzustandes“ dieser Arbeit nicht zu beobachten. Studien zeigen, dass eine cortisolinduzierte Erhöhung des Blutdrucks einer Erhöhung der Plasmakonzentrationen weit über die physiologischen Werte bedarf (Kelly *et al.* 1998). Abschließend ist bei der Interpretation der in dieser Arbeit beobachteten gegensinnigen Zusammenhänge zu berücksichtigen, dass die Erhebung der Daten für die Vitalparameter an Tag 0 der Studie stattfand, die Erhebung der Daten für die Cortisolanalyse jedoch an Tag 1 und 2.

7.2.4 Zusammenhang zwischen Ernährung und Cortisolkonzentration

Für die untersuchten Zusammenhänge zwischen der Aufnahme an Makronährstoffen und der Cortisolkonzentration haben sich schwache gegensinnige Zusammenhänge gezeigt, welche für die überwiegende Anzahl an Merkmalen nicht signifikant sind. Lediglich für die Kohlenhydrate konnte ein schwacher gleichsinniger, nicht signifikanter Zusammenhang beobachtet werden. Nur für die beiden Merkmale aufgenommene Menge an Wasser sowie aufgenommene Menge an PUFA und der Cortisolkonzentration konnte ein schwacher bis mittlerer, statistisch signifikanter gegensinniger Zusammenhang ($r = -0,21$ bis $-0,33$) gezeigt werden.

Da Glucocorticoide zu einem geringen Anteil auch mineralocorticoide Effekte vermitteln (Taylor *et al.* 2014), ist ein Zusammenhang zwischen Cortisol und dem Wasserhaushalt nicht unerwartet. Mineralocorticoide beeinflussen hauptsächlich den Wasser- und Mineralhaushalt

des Organismus und erzielen darüber auch Effekte auf den Blutdruck. Für die Mineralocorticoide ist bekannt, dass sie im ZNS u.a. Durstgefühl und Salzhunger auslösen, was wiederum eine erhöhte Wasseraufnahme zur Folge hat (Spinas *et al.* 2011). Da Glucocorticoide in geringem Maße auch mineralocorticoide Effekte vermitteln, würde man demzufolge einen gleichsinnigen Zusammenhang zwischen Cortisol und der aufgenommenen Menge an Wasser vermuten.

Studien zeigen ebenfalls einen positiven Zusammenhang zwischen der Cortisol-Exkretion (freies Cortisol im Urin) und der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge (Mericq & Cutler 1998; Fenske 2006). Diese Unterschiede im Vergleich zu den Literaturbefunden könnten möglicherweise auf die unterschiedlichen Analysesubstanzen zurückgeführt werden (vergl. Abschnitt 7.2.2). Das freie Cortisol im Urin ist zwar einerseits abhängig von der Plasmakonzentration, diese wird jedoch wiederum durch zahlreiche exogene Parameter beeinflusst. Stress stellt bspw. einen großen Einflussfaktor für die Plasmakonzentration von Cortisol dar und hat mit größter Wahrscheinlichkeit einen größeren Einfluss auf die Cortisolkonzentration als die aufgenommene Menge an Flüssigkeit.

Wie bereits erläutert wurde, sind die Hauptfunktionen von Cortisol die Bereitstellung von Energie aus körpereigenen Reserven sowie eine Begünstigung deren Aufbaus. Dementsprechend ist ein Zusammenhang zwischen der Aufnahme an PUFA und der Cortisolkonzentration nicht verwunderlich. Laut Literaturbefunden führen erhöhte Cortisolkonzentrationen zur vermehrten Aufnahme von hochenergetischer Nahrung (Tataranni *et al.* 1996; Wright *et al.* 2015; Hewagalamulage *et al.* 2016), demzufolge könnte man eine positive Korrelation zwischen Cortisolkonzentration und PUFA erwarten, da PUFA hauptsächlich in Pflanzenölen, Nüssen und fettreichen Fischen vorkommen (Kris-Etherton *et al.* 2000). In den vorliegenden Daten wurde jedoch ein negativer Zusammenhang beobachtet. Diese Tatsache ist möglicherweise auf die „normalen“ Cortisolkonzentrationen in diesem Probandenkollektiv zurückzuführen. Da die Cortisolkonzentrationen im physiologischen Bereich liegen, also keine erhöhte Cortisolkonzentration vorliegt, ist dementsprechend auch keine hochkalorische Nahrungsaufnahme in Form von (Pflanzen-) Ölen, Nüssen und fettreichen Fischen vonnöten. Andererseits wurde im Rahmen dieser Studie lediglich die Aufnahme von mehrfach ungesättigten Fettsäuren erhoben – welche als gesund gelten – jedoch nicht die Aufnahme von einfach ungesättigten oder gesättigten Fettsäuren. Der in dieser Studie festgestellte negative Zusammenhang könnte also möglicherweise auch der aktuellen Stress- und Ernährungssituation geschuldet sein. Je mehr gestresst (höhere Cortisolkonzentrationen) ein Mensch ist, desto eher ernährt er sich ungesund (Dallman *et al.* 2004; Dallman *et al.* 2005; Louis *et al.* 2009), was im Umkehrschluss eine

geringere Aufnahme an PUFA bedeuten könnte. Diese Überlegung würde dem hier beobachteten negativen Zusammenhang entsprechen. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass das untersuchte Probandenkollektiv laut Fragebogenbefund im Mittel keinen erhöhten Stresslevel aufweist (vergl. 6.1.2). Weiterhin zeigten Barbadoro *et al.* (2013) und Xie *et al.* (2016), dass die Cortisol-Produktion durch PUFA reduziert wird. Daraus könnte man einen gegensinnigen Zusammenhang zwischen Cortisolkonzentration und PUFA ableiten, dementsprechend bestätigen die vorliegenden Daten diese Literaturbefunde.

Die hier beobachteten und diskutierten Zusammenhänge sind jedoch mit Sorgfalt zu interpretieren, da die Erhebung der Ernährungsgewohnheiten und die Erhebung der Cortisolkonzentrationen nicht in zeitlicher Übereinstimmung erfolgten. Die Daten zur Ernährung wurden mit Hilfe des Fragebogens zur Ernährung retrospektiv erfragt, wohingegen die Cortisolkonzentrationen an den Untersuchungstagen direkt erhoben wurden.

Mit Hinblick auf die sekundäre Fragestellung 1 lässt sich abschließend festhalten, dass die vorliegenden Ergebnisse darauf hindeuten, dass für die Cortisolkonzentration neben den primär untersuchten Zusammenhängen in Bezug auf Energiehaushalt und Körperzusammensetzung, weitere damit indirekt verbundene Zusammenhänge in Bezug auf Herzfrequenz, Blutdruck und Ernährung bestehen. Diese sekundären Zusammenhänge bedürfen jedoch einer ausführlicheren Analyse in zukünftigen Studien, um die hier gezeigten Zusammenhänge bekräftigen zu können.

7.3 Zu Gruppenvergleichen nach Energiehaushalt und Körperzusammensetzung

7.3.1 Gruppenvergleich des Allel G des GR SNP rs41423247

Der Vergleich der Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels G im SNP des GR-Gens zeigt signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen hinsichtlich Energieverbrauch, körperlicher Aktivität, anthropometrischer Merkmale und Blutdruck. So weisen die Allelträgerinnen durchgängig höhere Werte für den aktiven Energieverbrauch, die Dauer der körperlichen Aktivität sowie die Schlaf-METs auf, diese Unterschiede sind teilweise statistisch signifikant (vergl. Abschnitt 6.4.1). In Hinblick auf BMI sowie Taillen- und Bauchumfang können bei den Allelträgerinnen statistisch signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen beobachtet werden. Ferner zeigen die Allelträgerinnen niedrigere Werte für den Blutdruck im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen. Diese Beobachtungen erscheinen als Gesamtheit betrachtet schlüssig. Die Allelträgerinnen weisen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen eine höhere mittlere körperliche Aktivitätsdauer (vergl. Tab. 20) mit daraus resultierendem höherem aktivem Energieverbrauch auf. Durch diesen erhöhten Energieumsatz lassen sich die niedrigeren Umfänge sowie der niedrigere BMI der Allelträgerinnen erklären.

Da der Energieverbrauch im Schlaf (Schlaf-METs) nicht durch körperliche Aktivität beeinflusst wird und weiterhin der Vergleich der BCM keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen zeigt, ist davon auszugehen, dass die beobachteten Unterschiede hinsichtlich des Energieverbrauchs nicht auf Unterschieden in der Muskelmasse oder der körperlichen Aktivität beruhen, sondern möglicherweise mit dem untersuchten Polymorphismus assoziiert sind. Des Weiteren liegt die Vermutung nahe, dass das Allel G des untersuchten Polymorphismus ebenfalls einen Einfluss auf den Blutdruck vermittelt. Hierbei zeigen die Allelträgerinnen im Mittel die niedrigeren Werte im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen.

Der SNP rs41423247 ist mit einer erhöhten Glucocorticoid-Sensitivität assoziiert (van Rossum & Lamberts 2004; Porzezinska-Furtak *et al.* 2014; Kloet & Derijk 2004), da Träger des Allels G eine stärker ausgeprägte Reaktion auf eine Stimulation durch synthetische Glucocorticoide, einhergehend mit typischen Symptomen von Morbus Cushing – jedoch ohne erhöhte Cortisolkonzentrationen – zeigen (van Rossum *et al.* 2003; van Rossum & Lamberts 2004). So wird eine erhöhte Glucocorticoid-Sensitivität mit einem höheren Anteil an Körperfett (vor allem am Körperstamm), einer geringeren LBM sowie einem erhöhten Blutdruck assoziiert (van Rossum & Lamberts 2004; Koper *et al.* 2014; Yan *et al.* 2014; Roerink *et al.* 2016). Studien zeigten sehr kontroverse Ergebnisse hinsichtlich des GR-SNP rs41423247 und der Assoziation mit BMI, Körpergewicht, Körperumfängen und Blutdruck. So konnten Geelen *et al.* (2013) bspw. einen höheren BMI, Taillen- und Hüftumfang für homozygote Träger des Allels G im Vergleich zu Nicht-Trägern und heterozygoten Trägern beobachten. Srivastava *et al.* (2011) zeigten einen höheren Taillen-Hüft-Index sowie einen höheren Blutdruck bei Trägern des Allels G. Letztgenanntes Phänomen konnten auch Yan *et al.* (2004) in ihrer Studie beobachten. Gegensätzlich dazu haben Porzezinska-Furtak *et al.* (2014) einen niedrigeren BMI bei Trägern des Allels G im Vergleich zu Nicht-Allelträgern feststellen können. Auch van Rossum *et al.* (2003) beobachteten einen niedrigeren BMI, Taillen-Hüft-Index und LBM in Allel-Trägern im Vergleich zu Nicht-Allelträgern. Weiterhin zeigt die Studie von Ukkola *et al.* (2001), dass der CC Genotyp im Vergleich zum CG Genotyp durch hochkalorische Energiezufuhr eine höhere Zunahme hinsichtlich Körpergewicht und abdominalem viszeralem Fett aufweist. Schlussendlich konnten Di Blasio *et al.* (2003) keinerlei Unterschiede hinsichtlich BMI, Taillen-Hüft-Index, Blutdruck und Ruheenergieverbrauch (bestimmt durch einmalige indirekte Kalorimetrie) zwischen den verschiedenen Genotypen feststellen. Eine Übersicht über die kontroverse Studienlage bietet Tab. 1 (vergl. Abschnitt 2).

Diese uneinheitlichen Studienergebnisse könnten unter anderem auf den unterschiedlichen zugrundeliegenden Probandenkollektiven beruhen. Der überwiegende Anteil der Studien hat entweder Erwachsene mittleren oder gehobenen Alters untersucht, z.T. mit altersbedingten Vorerkrankungen. Außerdem haben die meisten Studien beide Geschlechter ins das Probandenkollektiv miteinbezogen, so dass geschlechtsspezifische Unterschiede möglicherweise auch eine Rolle für die Heterogenität der Studienlage spielen. Weiterhin wurden einige der Studien an Übergewichtigen durchgeführt andere wiederum nicht, was vermutlich ebenfalls eine Erklärung für die kontroversen Literaturbefunde ist. In dieser Arbeit konnten dahingegen die vorgestellten Unterschiede zwischen Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen erstmalig an einem homogenen, gesunden, jungen, weiblichen Probandenkollektiv unter natürlichen Bedingungen gezeigt werden.

Die in dieser Arbeit beobachteten Unterschiede zwischen den Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen stehen im Einklang mit den Befunden von van Rossum *et al.* (2003) und Porzezinska-Furtak *et al.* (2014). Beide Studien zeigen einen niedrigeren BMI und van Rossum *et al.* zusätzlich auch einen niedrigeren Taillen-Hüft-Index bei den Trägern des G-Allels. Der erhöhte aktive Energieverbrauch sowie die erhöhte Dauer der körperlichen Aktivität, die bei den G-Allelträgerinnen in dieser Studie beobachtet werden konnten, würden einen niedrigeren BMI sowie einen geringeren Taillen-Hüft-Index erklären. Weiterhin könnten die Daten dieser Arbeit als Bestätigung der Studie von Ukkola *et al.* (2001) interpretiert werden, nach der die heterozygoten Träger des Allels G im Vergleich zu den homozygoten Trägern des C-Allels in einem geringeren Maße Gewicht durch konstante hochkalorische Ernährung zunehmen. Erneut würden ein höherer Energieverbrauch der G-Allelträgerinnen sowie eine höhere körperliche Aktivität, welche in der vorliegenden Arbeit beobachtet wurden, eine geringere Gewichtszunahme im Vergleich zu den homozygoten C-Allelträgerinnen erklären.

Die Studie von Porzezinska-Furtak *et al.* (2014) wurde an jungen weiblichen Erwachsenen im Alter zwischen 20 – 40 Jahren durchgeführt, die Studie von Ukkola *et al.* (2001) an jungen, gesunden, schlanken Männern. Somit sind die Probandenkollektive der beiden zuletzt genannten Studien vom Alter her ähnlich zu dem Probandenkollektiv dieser Studie. Dementsprechend könnte die Vermutung aufgestellt werden, dass der GR-SNP rs41423247 im Laufe des Lebens unterschiedliche Effekte vermittelt. Diese Überlegung wurde auch bereits von van Rossum *et al.* (2004) publiziert. Laut van Rossum *et al.* (2003) sind der niedrigere BMI und geringere Taillen-Hüft-Index der G-Allelträger im höheren Alter (Senioren) möglicherweise einem

anhaltenden katabolen Effekt durch lebenslange GC-Hypersensitivität und einer daraus resultierenden erhöhten altersbedingten Abnahme der Magermasse geschuldet. Weiterhin stellt van Rossum *et al.* (2004) die Hypothese auf, dass früher im Leben möglicherweise eher die Fettmasse durch den GR-SNP beeinflusst wird und später im Leben der Einfluss auf die Magermasse überwiegt. Beruhend auf dieser Theorie würde man im früheren Verlauf des Lebens also eher einen höheren BMI sowie höhere Körperumfänge (v.a. Bauchumfang) bei den Trägern des Allels G erwarten. Sowohl die Literaturbefunde an jungen Erwachsenen als auch die Befunde dieser Arbeit widersprechen dieser Hypothese jedoch. Dies könnte einerseits am Alter liegen, möglicherweise führt der Polymorphismus in diesem Abschnitt des Lebens nochmals zu anderweitigen und bisher unbekanntem Merkmalsausprägungen als im mittleren und höheren Alter. Weiterhin wäre es möglich, dass in diesem Stadium des Lebens den Trägern des Allels G schon bewusst ist, dass sie eine Tendenz zum zentralen Übergewicht haben und, um diese Tendenz einzudämmen, eine höhere Aktivität einhergehend mit den positiven Effekten für Energieumsatz und Blutdruck zeigen. Andererseits könnte die Hypothese von van Rossum *et al.* (2004) schlichtweg unzutreffend sein.

Festzuhalten mit Hinblick auf Fragestellung 2 ist, dass es zwischen den Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen des Allels G des GR SNP rs41423247 im GR-Gen Unterschiede hinsichtlich Energieverbrauch, körperlicher Aktivität sowie anthropometrischen Merkmalen gibt. Diese Unterschiede gehen jedoch nicht mit Unterschieden in der BCM einher. Dies deutet einen Zusammenhang zwischen dem untersuchten Polymorphismus und dem Energiehaushalt an. Ferner waren Unterschiede hinsichtlich des Blutdrucks zwischen den beiden Gruppen zu beobachten. Die in dieser Arbeit beobachteten Zusammenhänge konnten nach Kenntnisstand der Autorin erstmalig an einem jungen, gesunden, homogenen, weiblichen Probandenkollektiv unter natürlichen Bedingungen gezeigt werden. Abschließend bleibt jedoch festzuhalten, dass die Auswirkungen des GR SNP rs41423247 auf den Energiehaushalt im Laufe des Lebens noch nicht umfassend geklärt sind und weiterer Forschung bedürfen. So wäre für zukünftige Studien ein Studiendesign, das den Vergleich hinsichtlich Übergewichtigen und Normalgewichtigen sowie Älteren und Jüngeren Probanden zulässt, sehr interessant.

7.3.2 Gruppenvergleich des Allel T des *CLOCK* SNP rs3749474

Der Vergleich der Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T zeigt signifikante Unterschiede in Bezug auf den Grundumsatz, Körperzusammensetzung und Körpermaße. So konnte gezeigt werden, dass die Allelträgerinnen durchweg niedrigere Werte für die

untersuchten Variablen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen aufweisen. Diese geringeren Werte für bspw. LBM, TBW, Körpergewicht, BMI sowie Taillen- und Bauchumfang lassen den Rückschluss zu, dass die Trägerinnen des SNPs möglicherweise eine insgesamt geringere Körpermasse im Vergleich zum Wildtyp aufweisen. Dadurch, dass keine signifikanten Unterschiede in der Körperhöhe festgestellt werden konnten, wird diese Vermutung bekräftigt. Ursächlich dafür könnten einerseits genetisch bedingte verschiedene Körperkonstitutionen sein, andererseits könnte dies aber auch durch einen „nachteiligen“ Trainingszustand erklärt werden. Da allerdings auch die Fettmasse bei den Allelträgerinnen im Vergleich zu den Nicht-Trägerinnen vermindert ist, könnte evtl. auch eine gezielte niedrig-kalorische Diät einhergehend mit Verlusten bei LBM, BF, Körpergewicht, TBW sowie Körperumfängen ursächlich sein. Die Befunde bezüglich des BF liegen jedoch an der Grenze zur statistischen Signifikanz und stellen damit lediglich einen statistischen Trend dar. Neben den bereits erwähnten Parametern ist auch der Grundumsatz der Allelträgerinnen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen signifikant verringert. Im Hinblick auf die bereits diskutierten Beobachtungen dieser Arbeit entspricht ein verminderter Grundumsatz den Erwartungen. Der Energieumsatz wird hauptsächlich durch die Muskelmasse (Bestandteil der LBM) definiert. Dementsprechend ist bei einer im Vergleich verminderten LBM auch der Grundumsatz vermindert. Es wäre folglich denkbar, dass die hier gezeigten Daten durch das „spezielle“ Probandenkollektiv einer Stichprobenverzerrung unterliegen. Da die Probandinnen jung, weiblich und vor allem sportlich aktiv waren (vergl. Abschnitt 7.1), wäre es möglich, dass es sich um ein sehr körperbewusstes Kollektiv gehandelt hat, welches durch kontrollierte und bewusste Nahrungsaufnahme versucht, dem heutigen „Idealbild“ eines weiblichen Körpers (vermittelt durch Medien und soziale Netzwerke) nahezukommen. Mit Hinblick auf die soeben vorgestellte Vermutung erscheinen die in dieser Arbeit vorgestellten Befunde schlüssig.

Der geringere Grundumsatz bei den T-Allelträgerinnen steht in Einklang mit Literaturbefunden von Garaulet *et al.* (2010a). Diese zeigen signifikante Unterschiede hinsichtlich Körpergewicht, BMI und Taillenumfang, wobei die Allelträger durchweg die höheren Werte aufweisen. Für die bei Garaulet *et al.* beobachteten Unterschiede stellt der in dieser Arbeit beschriebene geringere Grundumsatz der Allelträgerinnen eine mögliche Erklärung dar. Die weiteren Befunde dieser Arbeit stehen allerdings im Kontrast zu den Ergebnissen von Garaulet *et al.* (2010). Bei Garaulet *et al.* wurde ein heterogenes Probandenkollektiv aus Männern und Frauen in einem sehr großen Altersbereich (20-65 Jahre) untersucht, welche zum Studienzeitpunkt alle als übergewichtig oder adipös eingestuft waren. Ferner ist das untersuchte Probandenkollektiv zwar europäischer Herkunft, jedoch handelt es sich ausschließlich um Südeuropäer. Da sowohl

Körperhöhe (Einflussgröße auf den BMI) als auch der Lebensstil von Südeuropäern (Siesta und reichhaltige Mahlzeiten sehr spät abends) nicht direkt mit denen von Mitteleuropäern vergleichbar sind, können die abweichenden Beobachtungen möglicherweise auf die unterschiedlichen Stichproben zurückzuführen sein.

Weitere Studien zeigten, dass Träger des T-Allels eine höhere Gesamtenergieaufnahme im Vergleich zum Wildtyp aufweisen (Garaulet *et al.* 2010b; Valladares *et al.* 2015; Loria-Kohen *et al.* 2016). Die Befunde dieser Arbeit stehen zu diesen Literaturbefunden ebenfalls im Kontrast. Bei einer erhöhten Gesamtenergieaufnahme könnte man im Vergleich eher höhere Werte für Körpergewicht, -umfänge, BMI sowie Fettmasse erwarten. Mögliche Ursachen für diese abweichenden Ergebnisse könnten unter anderem die verschiedenen zur Untersuchung herangezogenen Populationen sein. So wurde für die vorliegende Arbeit eine homogene junge, gesunde, weibliche und sportlich aktive Population unter natürlichen Bedingungen untersucht, wohingegen die Literaturbefunde von Garaulet *et al.* (2010a), Garaulet *et al.* (2010b) und Loria-Kohen *et al.* (2016) an übergewichtigen/adipösen Populationen beider Geschlechter mittleren Alters mit überwiegend inaktivem Lebensstil erhoben wurden. Dementsprechend könnten sowohl lebensstilbezogene, geschlechtsspezifische als auch altersbedingte Unterschiede die kontroversen Ergebnisse erklären. Ferner sind auch prä- vs. postmenopausale Einflüsse (hormonelle Umstellungen) auf die Ergebnisse bei den untersuchten Frauen denkbar. Wie vorangehend beschrieben wurde, sind die Auswirkungen genetischer Polymorphismen durch vielfältige Einflussfaktoren genetischer sowie exogener Natur bedingt, so dass die Effekte ganz individuell ausfallen können und dementsprechend auch unterschiedliche Effekte in verschiedenen Populationen nicht gänzlich unerwartet sind. Denkbar wäre auch eine unterschiedliche Auswirkung des Polymorphismus im Laufe des Lebens.

Zusammenfassend lässt sich mit Hinblick auf Fragestellung 3 feststellen, dass in der vorliegenden Arbeit für den *CLOCK* SNP rs3749474 Unterschiede bezüglich Körperzusammensetzung, anthropometrischer Merkmale und Grundumsatz zwischen den T-Allelträgerinnen und Nicht-Allelträgerinnen beobachtet werden konnten. Die hier vorgestellten Gruppenunterschiede konnten nach Kenntnisstand der Autorin erstmalig an einem gesunden, jungen, homogenen, weiblichen Probandenkollektiv unter natürlichen Bedingungen gezeigt werden. Abschließend ist festzuhalten, dass die hier vorgestellten Beobachtungen abweichend zur bisherigen Forschungsliteratur an älteren Erwachsenen sind. Daher müssen zukünftige Studien an homogenen jungen Probandenkollektiven diese Befunde (am besten in Form einer

Längsschnittstudie) bestätigen, um tiefere Einblicke in die Auswirkung des Polymorphismus im Laufe des Lebens zu erhalten.

7.3.3 Gruppenvergleich des Allel C des *CLOCK* SNP rs4580704

Der Gruppenvergleich der Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels C des *CLOCK* SNP rs4580704 zeigt keinerlei statistisch signifikante Unterschiede im Hinblick auf die Körperzusammensetzung und anthropometrische Merkmale. Dieser Befund entspricht nicht den Erwartungen. So konnten Studien bisher einen Zusammenhang zwischen dem untersuchten Polymorphismus und mit Übergewicht/Adipositas assoziierten Merkmalen beobachten. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen jedoch beim überwiegenden Anteil der untersuchten Merkmale geringfügig höhere Werte bei den Allelträgerinnen im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen.

Generell übernimmt das *CLOCK* Gen neben seiner zentralen Rolle in der Steuerung der inneren Uhr auch wichtige Funktionen bei Regulation von Fett- und Glucosemetabolismus in peripheren Geweben, wie Fettgewebe, Muskeln und Leber (Yang *et al.* 2006). So zeigten bspw. Gomez-Delgado *et al.* (2015) eine Interaktion zwischen dem *CLOCK* SNP rs4580704 und der Ernährung. Hierbei konnte beobachtet werden, dass die homozygoten Träger des Allels C nach 12 monatiger „Low-Fat Diät“ ein besseres Profil für Werte des Fettstoffwechsels und in Hinblick auf Entzündungswerte im Vergleich zu den Trägern des Allels G aufweisen. Sookoian *et al.* (2008) zeigten anhand einer Populationsstudie signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen des *CLOCK* SNP rs4580704 hinsichtlich des BMI. Hierbei weist der Genotyp GG im Mittel geringere Werte auf als die beiden anderen Genotypen. Der Genotyp CG zeigt im Vergleich zum Genotyp CC im Mittel einen leicht verminderten BMI. Garaulet *et al.* (2009) beobachteten ebenfalls einen signifikanten Zusammenhang zwischen *CLOCK* SNP rs4580704 und dem BMI sowie dem Körpergewicht. Dabei weisen die homozygoten Träger des Allels C im Vergleich zu den Trägern des Allels G (CG, GG) die höheren Werte auf. Aufgrund der Befunde von Sookoian *et al.* und Garaulet *et al.* liegt der Rückschluss nahe, dass das Allel C des Polymorphismus, möglicherweise mit einem erhöhten BMI einhergehend, mit einem erhöhten Körpergewicht assoziiert ist. Weiterhin zeigen Garaulet *et al.* (2009), dass im Vergleich die Träger des Allels G eine geringere nutritive Gesamtfettaufnahme aufweisen. Dieser Literaturbefund steht wiederum in Einklang mit dem verminderten BMI und Körpergewicht, welche in der vorliegenden Arbeit bei den Nicht-Allelträgerinnen im Vergleich zu den Trägerinnen des Allels C beobachtet werden konnten.

Die Beobachtungen der vorliegenden Arbeit unterstützen diese Literaturbefunde, jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Die Probandinnen der vorliegenden Arbeit sind im Vergleich zu den untersuchten Populationen von Garaulet *et al.* und Sookoian *et al.* mit einem mittleren Alter von $23,29 \pm 3,45$ Jahren deutlich jünger. Möglicherweise kommen die Auswirkungen des Polymorphismus erst im späteren Lauf des Lebens zur deutlicheren Ausprägung. Hierbei wäre für zukünftige Arbeiten ein Studiendesign in Form einer Längsschnittstudie sehr interessant. Mit dessen Hilfe könnte überprüft werden, wie sich die hier im jungen Erwachsenenalter angedeutete Tendenz mit fortschreitendem Alter entwickelt. Mit Hinblick auf Fragestellung 3 lässt sich festhalten, dass sich in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten Gruppenunterschiede hinsichtlich Körperzusammensetzung und anthropometrischen Merkmalen zeigen ließen, zu beobachten war jedoch eine einheitliche Tendenz in Übereinstimmung mit bisherigen Literaturbefunden.

7.4 Methodenkritik

Probandenkollektiv und Studiendesign

Bei der Auswahl des Probandenkollektivs wurde auf eine möglichst homogene Zusammensetzung geachtet. Es kann jedoch nicht völlig ausgeschlossen werden, dass sich durch die Fragestellung der Studie ausschließlich ein spezifisches (körperbewusstes) Probandenkollektiv angesprochen gefühlt hat, welches sich bewusst mit Körperzusammensetzung und Energiestoffwechsel auseinandersetzt. Unter Umständen repräsentieren die vorliegenden Daten ein Kollektiv junger, körperbewusster und sportlich-aktiver Probandinnen und ein eher „unsportlicheres“ Kollektiv (oder gemischteres Kollektiv) würde zu anderen Ergebnissen führen.

Die Daten wurden überwiegend ambulant unter natürlichen Bedingungen während des Untersuchungszeitraums gesammelt. Bei dieser Form der Datenerhebung entsteht i.d.R. immer eine Vielzahl von individuellen verhaltensbezogenen Einflüssen, welche bei der Analyse der Daten nicht bekannt sind und dementsprechend nicht berücksichtigt werden können. Die Probandinnen wurden ausführlich eingewiesen, erhielten schriftliche Instruktionen und konnten jederzeit telefonische Nachfragen stellen, ferner wurde die Sammlung der Speichelproben elektronisch überwacht. Dennoch birgt eine eigenverantwortliche Datenerhebung, Handhabung der Messgeräte und Sammlung von Speichelproben durch die Probanden immer eine Unkontrollierbarkeit von äußeren Einflüssen. Genauso verhält es sich mit der Datenerhebung mittels Fragebögen. Hierbei ist auch davon auszugehen, dass zumindest unterbewusst gewisse Angaben „beschönigt“ werden.

Im Rahmen der Studie wurden verschiedene Merkmale mit Hilfe von Korrelationsanalysen zueinander in Bezug gesetzt. Hierbei ist zu beachten, dass die verschiedenen Variablen i.d.R.

nur eine Momentaufnahme darstellen (einzelner Messzeitpunkt für Korrelation herangezogen). Daher ist eine Generalisierung der beobachteten Korrelationen kritisch und Aussagen zu den verschiedenen Zusammenhängen zwischen den Merkmalen können nur unter Vorbehalt getroffen werden.

Aktigraphie

Die Bestimmung des Energieverbrauchs und der Ruhe- sowie Aktivitätszyklen wurde mit Hilfe des SWA-Armbandes bestimmt. Dieses wurde dazu am jeweils dominanten Oberarm angebracht. Da der dominante Arm im Alltag i.d.R. mehr Bewegungen bzw. alle einseitigen Bewegungen ausführt, könnte es sein, dass die Ergebnisse hierdurch verfälscht sind. Eine beidseitige Überwachung wäre hier optimal gewesen, um Mittelwerte des Energieverbrauchs und der körperlichen Aktivität bestimmen zu können und Artefakte besser zu erkennen und von der Analyse auszuschließen. Weiterhin sollten die Aufwachzeit sowie die Zubettgehzeit durch die Ruhe/Aktivitätsintervalle des Aktigraphen objektiv überwacht werden. Zusätzlich wurden beide Zeitpunkte mittels Probandenprotokoll erfasst. Hierbei zeigte sich, dass der Aufwachzeitpunkt, welcher mittels Aktigraphie erfasst wurde, in vielen Fällen nicht mit dem angegebenen Aufwachzeitpunkt aus dem Protokoll übereinstimmt, bzw. die subjektiven Angaben der Probandinnen nicht korrekt waren. Es scheint, als ob der unruhigere Schlaf kurz vor dem Erreichen des Aufwachens vom Aktigraphen häufig als Aktivität im Sinne eines Wachzustandes erfasst wurde. Auch bei dem Zubettgehzeitpunkt gab es in einigen Fällen Abweichungen von der im Protokoll erfassten Zeit, wobei hierbei die Erfassung der Aktigraphen deutlich zuverlässiger erschien. Messtechnisch bedingt ist es auch kaum möglich, ruhiges Liegen (aber im Wachzustand befindlich) auf der Couch von ruhigem Liegen im Schlaf zu unterscheiden. Ferner waren die Probandinnen angehalten, ihren Alltag während der Datenerhebung so gewöhnlich wie möglich zu gestalten. Dementsprechend war es den Probandinnen gestattet, ihren normalen sportlichen Aktivitäten nachzugehen. Es wäre jedoch durchaus denkbar, dass einige Probandinnen deutlich aktiver waren, als sie es im Normalfall gewesen wären, da die Probandinnen bereits zu Studienbeginn wussten, dass sie ihre eigenen Ergebnisse bspw. zu Energieverbrauch und körperlicher Aktivität mitgeteilt bekommen.

Cortisolanalyse

Die Speichelproben für die Cortisolanalyse wurden von den Probandinnen selbstständig in der gewohnten Umgebung gesammelt. Morgens sollte die erste Speichelprobe unmittelbar nach dem Erwachen gesammelt werden, um daraufhin die CAR mittels der nachfolgenden dritten Probe bestimmen zu können. Zwar wurde die Sammlung der Speichelproben mit Hilfe der

MEMS-Behälter elektronisch überwacht, jedoch war es zu keiner Zeit möglich, den tatsächlichen Aufwachzeitpunkt der Probandinnen zu bestimmen. Es wäre also durchaus möglich, dass einige Probandinnen schon eine gewisse Zeit wach waren, bevor sie mit der Sammlung der ersten Speichelprobe begonnen haben. Selbst wenn die darauffolgenden Proben in den vorgeschriebenen Zeitabständen gesammelt wurden, hätte sich dennoch die gesamte zeitliche Rhythmik der CAR verschoben. Da, wie im Absatz zuvor angedeutet wurde, keine objektive Überwachung des Aufwachzeitpunkts möglich war, war hierbei gänzlich auf die Compliance der Probandinnen zu vertrauen.

Die Analyse der Cortisolkonzentrationen erfolgte mit Hilfe eines ELISA der FA IBL (Hamburg). Da es bei zwei verwendeten Chargen zu Problemen mit den Kalibrierungsstandards kam, wurden große Teile der analysierten Werte mit Hilfe einer vom Hersteller für die betreffende Charge ausgegebenen Regressionsformel händisch berechnet. Hierbei muss davon ausgegangen werden, dass es (minimale) Abweichungen von den berechneten Werten zu den eigentlich (mit einer fehlerfreien Charge) analysierten Werten gibt. Eine Wiederholung der Analysen mit einer fehlerfreien Charge wurde aus Zeitgründen sowie wegen teilweise ungenügender Menge an restlichem Probenmaterial ausgeschlossen. Schlussendlich waren die Probandinnen angewiesen, bestimmte Ausgangsbedingungen für die Speichelprobensammlung zu berücksichtigen. So sollte bspw. keine Flüssigkeit oder Nahrung 30 Minuten vor der Speichelprobensammlung aufgenommen werden sowie keine Zähne geputzt oder Sport getrieben werden. Ob diese Vorgaben eingehalten wurden, konnte nicht überprüft werden.

Weiterhin deuten die Ergebnisse dieser Arbeit sowie bereits bestehende Literaturbefunde (vergl. Abschnitt 7.5) einen Einfluss der Einnahme von oralen Kontrazeptiva auf die Cortisolkonzentration an. Dementsprechend kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Einflussfaktor die vorliegenden Daten möglicherweise beeinträchtigt hat.

Erfassung des Umgebungslichts

Für die Erfassung der Umgebungslichtintensität waren die Probandinnen angewiesen, die Actiwatch 2 vor dem Zubettgehen auf dem Nachttisch zu deponieren und am Morgen nach dem Aufwachen für den gesamten Zeitraum der CAR-Sammelperiode bei sich zu tragen (z.B. am Handgelenk). Es gab jedoch keine einheitliche Regelung, so dass es sein kann, dass bei einem Teil der Probandinnen sich die Actiwatch lediglich im selben Raum befand, wohingegen andere diese am Körper trugen. Weiterhin war es den Probandinnen nicht untersagt, innerhalb der CAR-Sammelperiode duschen zu gehen. Daher ist davon auszugehen, dass zumindest bei einem Teil der Probandinnen die Actiwatch während der Datenerfassung für den

Zeitraum des Duschens nicht am Körper getragen wurde. Zwar wurden die Probandinnen sowohl mündlich als auch schriftlich darauf hingewiesen, den Lichtsensor der Actiwatch während der Datenerfassung nicht mit Kleidung zu bedecken, ob diese Vorgabe jedoch durchgängig eingehalten wurde, konnte nicht nachgeprüft werden. Alle hier aufgezählten Punkte könnten zu einer heterogenen Datenqualität bezüglich der Umgebungslichtintensität geführt haben.

7.5 Ausblick

Individueller Energiestoffwechsel und körperlicher Aktivitätsgrad stellen einen Großteil des spezifischen Energieverbrauchs dar. Doch gerade Unterschiede auf molekularer Ebene, welche einen unterschiedlichen Energieverbrauch – bei gleicher Körperkonstitution – bedingen, sind in letzter Zeit stark in den Fokus der Forschung gerückt. Eine Vielzahl von Studien beschäftigt sich mit dem komplexen Zusammenhang zwischen Cortisolsekretion, Metabolismus und molekularen Mechanismen. Ein Großteil der westlichen Wohlstandsgesellschaft gilt als Übergewichtig und ist damit einhergehend einem hohen Risiko für Erkrankungen wie Diabetes, des Herz-Kreislauf-Systems oder des Skelettsapparats ausgesetzt. Bei der Erforschung neuer Therapieansätze im Kampf gegen diese Zivilisationskrankheiten übernimmt Grundlagenforschung einen wichtigen Anteil. Dementsprechend ist eine Fortführung dieser Arbeit sehr sinnvoll, um ein tieferes Verständnis für die molekularen Mechanismen von Übergewicht und seinen Begleitsymptomen zu erlangen. Zentrale und neue Aspekte dieser Arbeit lagen auf dem Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus im GR-Gen, dem Energiehaushalt und Vitalparametern sowie der Körperzusammensetzung und zwei Polymorphismen im *CLOCK* Gen.

Für zukünftige Arbeiten wäre ein Längsschnittstudiendesign mit verschiedenen Probandensubgruppen (bspw. normalgewichtig vs. übergewichtig/adipös oder Ältere vs. Jüngere) von großem Interesse, um zu überprüfen, ob die hier beobachteten Gruppenunterschiede hinsichtlich Energieverbrauch und Blutdruck sowie dem GR-Polymorphismus rs41423247 zwischen den verschiedenen Subgruppen und auch in verschiedenen Altersstufen reproduzierbar sind. Sinnvoll wäre ferner ein Studiendesign unter kontrollierten Bedingungen (Laborbedingungen), bei dem für alle Probanden gleiche Ausgangsvoraussetzungen bestehen und die Bestimmung des Energieverbrauchs bspw. mit Hilfe indirekter Kalorimetrie bestimmt wird. Ferner sollte die Bestimmung des Blutdrucks zeitgleich zur Bestimmung des Energieverbrauchs stattfinden. Somit wäre eine vergleichende Analyse der hier gezeigten Zusammenhänge unter natürlichen

und kontrollierten Bedingungen möglich. Auch eine vergleichende Analyse der hier an ausschließlich weiblichen Individuen gezeigten Zusammenhänge mit einem männlichen Probandenkollektiv dürfte weitere aufschlussreiche Erkenntnisse hervorbringen.

Auch für die weitere Untersuchung des Zusammenhangs zwischen *CLOCK* SNP rs3749474 und der Körperzusammensetzung wäre eine vergleichende Studie zwischen jüngeren und älteren Probanden interessant, besonders da die hier gezeigten Unterschiede gänzlich im Kontrast zu den bisherigen Studien stehen. In der Literatur gibt es bisher lediglich Befunde zu sehr heterogenen Gruppen. Möglicherweise wäre eine Unterteilung in mehrere Altersklassen (junge Erwachsene, Erwachsene mittleren Alters, ältere Erwachsene, Senioren) sinnvoll, um den Effekt des Polymorphismus im Laufe des Lebens zu erfassen. Auch ein Vergleich zwischen verschiedenen Gewichtsgruppen (normalgewichtig vs. übergewichtig/adipös) unter natürlichen Bedingungen wäre ein interessanter Ansatz, um die Auswirkungen des Polymorphismus auf Metabolismus und Körperzusammensetzung näher zu untersuchen. Ferner bietet sich auch eine vergleichende Analyse zwischen einem weiblichen (vorliegende Arbeit) und einem männlichen Probandenkollektiv an, um etwaige geschlechtsspezifische Einflussfaktoren zu determinieren. Schlussendlich wäre auch bei dieser Fragestellung eine vergleichende Analyse zwischen Daten, die unter natürlichen Bedingungen (vorliegende Arbeit) und unter kontrollierten Bedingungen (Laborbedingungen) erhoben worden sind, interessant.

8 Zusammenfassung

Energieverbrauch sowie Körperzusammensetzung können bei gleichen äußeren Bedingungen zwischen verschiedenen Individuen stark schwanken. Glucocorticoide wie Cortisol haben einen großen Einfluss auf den menschlichen Stoffwechsel, werden circadian sezerniert und vermitteln ihre Wirkung über intrazelluläre Rezeptoren, die sog. Glucocorticoidrezeptoren (GR). Die circadiane Rhythmik des Organismus wird durch sog. Uhrengene zentral gesteuert. Es ist bekannt, dass diese Uhrengene Einfluss auf zahlreiche untergeordnete Gene und Genprodukte nehmen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, mögliche Zusammenhänge zwischen Energiehaushalt (EH) bzw. Körperzusammensetzung (KZ) und Cortisolsekretion zu untersuchen. Ferner galt es, mögliche Verbindungen zwischen EH, KZ sowie der genetischen Variante rs41423247 im GR-Gen zu analysieren. Weiterhin wurde untersucht, ob eine Verbindung zwischen KZ, anthropometrischen Merkmalen (AM) und den genetischen Varianten rs3749474 und rs4580704 des zentralen Uhrengens *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (CLOCK)* besteht. Dafür wurden 156 gesunde, weibliche Probandinnen mit einem mittleren Alter von $23,31 \pm 3,45$ Jahren untersucht. Der Energieverbrauch (EV) wurde mittels Aktigraphie über zwei Tage bestimmt. Die Bestimmung der KZ erfolgte mittels Bioimpedanzanalyse. Blutdruck (BD) und Herzfrequenz wurden mittels elektronischen Sphygmomanometers bestimmt. Für genetische Analysen wurde DNA aus Mundschleimhautzellen isoliert und nach Sanger sequenziert. Zusätzlich wurde ein Cortisolprofil aus Speichelproben über zwei Tage erstellt, die Bestimmung der Cortisolkonzentrationen (CK) erfolgte mittels *Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA)*.

Zwischen EV und CK sowie KZ und CK wurde ein statistisch signifikanter schwacher negativer Zusammenhang beobachtet. Weiterhin zeigten Gruppenvergleiche einen statistisch signifikant höheren Schlafenergieverbrauch bei gleichzeitig vermindertem BD für die Trägerinnen des Allels G des GR-SNP rs41423247 im Vergleich zu den Nicht-Allelträgerinnen. Dabei konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede (GrU) in der Muskelmasse beobachtet werden. Mutmaßlich sind die beobachteten GrU hinsichtlich EV sowie BD daher durch den GR-Polymorphismus bedingt und nicht auf Unterschiede in der KZ zurückzuführen. Bisher existiert in Hinblick auf die hier untersuchten Fragestellungen kaum Vergleichsliteratur. Die bisherigen Studien wurden an heterogenen und daher nicht mit dieser Studie vergleichbaren Stichproben erhoben.

Der Vergleich der Trägerinnen und Nicht-Trägerinnen des Allels T des *CLOCK* SNP rs3749474 zeigte, dass die Trägerinnen signifikant niedrigere Werte für Merkmale der KZ sowie AM aufwiesen, gleichzeitig lagen keine statistisch signifikanten GrU in der Körperhöhe für die Stichprobe vor. Möglicherweise bedingt daher der *CLOCK* SNP rs3749474 Unterschiede hinsichtlich KZ sowie AM. Die in dieser Arbeit beobachteten GrU stehen im Kontrast zu bisherigen Literaturbefunden. Diese wurden jedoch an heterogenen Probandenkollektiven mit verschiedenen Ausgangsbedingungen erhoben und sind damit nicht mit der Stichprobe dieser Arbeit vergleichbar. Mit Hinblick auf den *CLOCK* SNP rs4580704 wurden keinerlei statistisch signifikanten GrU hinsichtlich AM und KZ beobachtet. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich jedoch, dass die Trägerinnen des Allels C im Vergleich zu den Nicht-Trägerinnen geringfügig höhere Werte im überwiegenden Teil der AM sowie KZ aufwiesen. Damit stehen die Ergebnisse dieser Arbeit im Einklang mit Literaturbefunden, wonach das Allel C z.B. mit einem höheren BMI und Körpergewicht assoziiert ist.

Die neuen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass Unterschiede im EV sowie BD durch den GR-Polymorphismus rs41423247 bedingt werden könnten. Ferner scheint der SNP im zentralen Uhrgen *CLOCK* rs3749474 Unterschiede in KZ und AM zu bedingen, wohingegen sich diese Unterschiede für den *CLOCK* SNP rs4580704 nur andeuten.

9 Summary

Energy expenditure (EE) and body composition (BC) can alternate strongly between individuals of the same body height and weight. Glucocorticoids (GC) such as cortisol impact the human metabolism are secreted in a circadian rhythm and mediate their effects via intracellular receptors, the so-called glucocorticoid receptors (GR). The circadian system underlies the regime of clock genes. It is well known that the clock genes influence a large number of subsidiary genes (clock controlled genes) and gene products.

Objective of this study was to examine the relationship between EE, BC and cortisol secretion (CS) as well as the relationship between a genetic polymorphism in the glucocorticoid receptor (GR) gene, energy metabolism and BC. A second objective was to investigate whether a relationship between two polymorphisms of the central clock gene *circadian locomotor output cycles kaput* (*CLOCK*) and the BC as well as anthropometrical parameters exists. Therefore, 156 healthy, female individuals were examined (age 23.31 ± 3.45 years). The EE was determined over two days by the use of an actigraph device. BC was determined using a bioelectrical impedance analyser. Blood pressure (BP) and heart rate were determined using an electronic sphygmomanometer. DNA was extracted from buccal mucosa cells and a Sanger sequencing performed for genotyping. Additionally, a cortisol profile over two consecutive days was generated from saliva samples, analysed using an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

The results showed a statistical significant negative correlation between EE and CS as well as BC and CS. Comparisons showed that G allele carriers of the GR polymorphism rs41423247 had statistically significant higher sleep energy expenditure accompanied with diminished BP in comparison to the non-allele carriers. These group differences were not accompanied with any statistical significant differences in muscle mass. Thus, it could be considered that the GR polymorphism mediates an influence on EE and BP. Yet there is little literature in respect of the objective of this work. All studies on this subject have been surveyed on heterogenic populations and are therefore not comparable to this study.

The comparison between carriers and non-carriers of the allele T of the *CLOCK* single nucleotide polymorphism (SNP) rs3749474 showed statistical significant lower mean values for the carriers respectively BC variables and anthropometrical characters. Furthermore, no statistical significant differences for the body height could be observed. Thus it could be hypothesized that the observed differences were conditioned by the analysed polymorphism. This finding is

controversial to reports from other studies that have surveyed a more heterogenic study population. With regards to the *CLOCK* SNP rs4580704 no statistical significant differences in anthropometric measures and BC have been found. Nevertheless, it could be shown that the carriers of the allele C had slightly higher mean values for the vast majority of anthropometrical variables and variables regarding BC in comparison to the non-carriers. Thus, the findings of this study are in line with former studies that have described an association of the C allele with increased BMI and body weight.

The new findings given by this study indicate that the difference in EE, BC and BP could be attributable to the GR polymorphism rs41423247. Furthermore, it seems to indicate that the polymorphism in the central clock gene *CLOCK* rs3749474 determines differences in BC and anthropometrical parameters. The same conclusions could be drawn about the *CLOCK* SNP rs4580704 yet without statistical significant data.

10 Literatur

- Adam E K, Kumari M (2009): Assessing salivary cortisol in large-scale, epidemiological research. *Psychoneuroendocrinology* 34: 1423–1436.
- Adam E K, Quinn M E, Tavernier R, McQuillan M T, Dahlke K A, Gilbert K E (2017): Diurnal cortisol slopes and mental and physical health outcomes. A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 83: 25–41.
- Ahn R-S, Lee Y-j, Choi J-Y, Kwon H-B, Chun S-i (2007): Salivary cortisol and DHEA levels in the Korean population: age-related differences, diurnal Rhythm, and correlations with serum levels. *Yonsei Medical Journal*: 379–388.
- Ainsworth B E, Haskell W L, Herrmann S D, Meckes N, Bassett 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: 1575–1581.
- Ainsworth B E, Haskell W L, Leon A S, Jacobs D R, Montoye H J, Sallis J F, Paffenbarger R S (1993): Compendium of physical activities. Classification of energy costs of human physical activities. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 25: 71–80.
- Albrecht U, Eichele G (2003): The mammalian circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development* 13: 271–277.
- 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. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences* 65: 9–13.
- Andre D, Pelletier R, Farrington J, Safier S, Talbott W, Stone R, Vyas N, Trimble J, Wolf D, Vishnubhatla S (2006): The development of the SenseWear® armband, a revolutionary energy assessment device to assess physical activity and lifestyle. Pittsburgh, PA. BodyMedia Inc.
- Arnaldi G, Angeli A, Atkinson A B, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos G P, Fava G A, Findling J W, Gaillard R C, Grossman A B, Kola B, Lacroix A, Mancini T, Mantero F, Newell-Price J, Nieman L K, Sonino N, Vance M L, Giustina A, Boscaro M (2003): Diagnosis and complications of Cushing's syndrome. A consensus statement. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88: 5593–5602.

- Aschoff J (1965): Circadian rhythms in man. *Science (New York, N.Y.)* 148: 1427–1432.
- Astrup A, Buemann B, Christensen N J, Madsen J, Gluud C, Bennett P, Svenstrup B (1992): The contribution of body composition, substrates, and hormones to the variability in energy expenditure and substrate utilization in premenopausal women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 74: 279–286.
- 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.
- Barbadoro P, Annino I, Ponzio E, Romanelli R ML, D'Errico M M, Prospero E, Minelli A (2013): Fish oil supplementation reduces cortisol basal levels and perceived stress. A randomized, placebo-controlled trial in abstinent alcoholics. *Molecular Nutrition & Food Research* 57: 1110–1114.
- Bass J, Lazar M A (2016): Circadian time signatures of fitness and disease. *Science (New York, N.Y.)* 354: 994–999.
- Bellissimo N, Akhavan T (2015): Effect of macronutrient composition on short-term food intake and weight loss. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)* 6: 302S–8S.
- Bessey P Q, Watters J M, Aoki T T, Wilmore D W (1984): Combined hormonal infusion simulates the metabolic response to injury. *Annals of Surgery* 200: 264–281.
- Blagrove M, Fouquet N C, Baird A L, Pace-Schott E F, Davies A C, Neuschaffer J L, Henley-Einion J A, Weidemann C T, Thome J, McNamara P, Turnbull O H (2012): Association of salivary-assessed oxytocin and cortisol levels with time of night and sleep stage. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)* 119: 1223–1232.
- Bloch K E, Schoch O D, Zhang J N, Russi E W (1999): German version of the Epworth Sleepiness Scale. *Respiration; International Review of Thoracic Diseases* 66: 440–447.
- Bogardus C, Lillioja S, Ravussin E, Abbott W, Zawadzki J K, Young A, Knowler W C, Jacobowitz R, Moll P P (1986): Familial dependence of the resting metabolic rate. *The New England Journal of Medicine* 315: 96–100.
- Boisseau N, Enea C, Diaz V, Dugué B, Corcuff J B, Duclos M (2013): Oral contraception but not menstrual cycle phase is associated with increased free cortisol levels and low hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity. *Journal of Endocrinological Investigation* 36: 955–964.

- Bouma E MC, Riese H, Ormel J, Verhulst F C, Oldehinkel A J (2009): Adolescents' cortisol responses to awakening and social stress; effects of gender, menstrual phase and oral contraceptives. The TRAILS study. *Psychoneuroendocrinology* 34: 884–893.
- Brillon D J, Zheng B, Campbell R G, Matthews D E (1995): Effect of cortisol on energy expenditure and amino acid metabolism in humans. *The American Journal of Physiology* 268: E501-13.
- Buckingham J C (2006): Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *British Journal of Pharmacology* 147 Suppl 1: S258-68.
- Buemann B, Vohl M-C, Chagnon M, Chagnon Y C, Gagnon J, Pérusse L, Dionne F, Després J-P, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C (1997): Abdominal visceral fat is associated with a Bcl I restriction fragment length polymorphism at the glucocorticoid receptor gene locus. *Obesity Research* 5: 186–192.
- Bugge A, Feng D, Everett L J, Briggs E R, Mullican S E, Wang F, Jager J, Lazar M A (2012): Rev-erba and Rev-erbβ coordinately protect the circadian clock and normal metabolic function. *Genes & Development* 26: 657–667.
- 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 MC, Takahashi J S, Bradfield C A (2000): Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell* 103: 1009–1017.
- Buysse D J, Reynolds C F, 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.
- Carpenter J S, Andrykowski M A (1998): Psychometric evaluation of the pittsburgh sleep quality index. *Journal of Psychosomatic Research* 45: 5–13.
- Cellini E, Castellini G, Ricca V, Bagnoli S, Tedde A, Rotella C M, Faravelli C, Sorbi S, Nacmias B (2010): Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in Italian patients with eating disorders and obesity. *Psychiatric Genetics* 20: 282–288.

- Cho H, Zhao X, Hatori M, Yu R T, Barish G D, Lam M T, Chong L-W, DiTacchio L, Atkins A R, Glass C K, Liddle C, Auwerx J, Downes M, Panda S, Evans R M (2012): Regulation of circadian behaviour and metabolism by REV-ERB- α and REV-ERB- β . *Nature* 485: 123–127.
- Clow A, Thorn L, Evans P, Hucklebridge F (2004): The awakening cortisol response. Methodological issues and significance. *Stress* 7: 29–37.
- Cohen J (1992): A power primer. *Psychological Bulletin* 112: 155–159.
- Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R (1983): A global measure of perceived stress. *Journal of Health and Social Behavior* 24: 385–396.
- Crouter S E, Churilla J R, Bassett D R (2006): Estimating energy expenditure using accelerometers. *European Journal of Applied Physiology* 98: 601–612.
- Dallman M F, La Fleur S E, Pecoraro N C, Gomez F, Houshyar H, Akana S F (2004): Mini-review. Glucocorticoids-food intake, abdominal obesity, and wealthy nations in 2004. *Endocrinology* 145: 2633–2638.
- Dallman M F, Pecoraro N C, La Fleur S E (2005): Chronic stress and comfort foods. Self-medication and abdominal obesity. *Brain, Behavior, and Immunity* 19: 275–280.
- Davidson J R, Moldofsky H, Lue F A (1991): Growth hormone and cortisol secretion in relation to sleep and wakefulness. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 16: 96–102.
- Deng H-W, Deng H, Liu Y-J, Liu Y-Z, Xu F-H, Shen H, Conway T, Li J-L, Huang Q-Y, Davies K M, Recker R R (2002): A genomewide linkage scan for quantitative-trait loci for obesity phenotypes. *American Journal of Human Genetics* 70: 1138–1151.
- Di Blasio A M, van Rossum E FC, Maestrini S, Berselli M E, Tagliaferri M, Podestà F, Koper J W, Liuzzi A, Lamberts S WJ (2003): The relation between two polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and body mass index, blood pressure and cholesterol in obese patients. *Clinical Endocrinology* 59: 68–74.
- Djurhuus C B, Gravholt C H, Nielsen S, Mengel A, Christiansen J S, Schmitz O E, Moller N (2002): Effects of cortisol on lipolysis and regional interstitial glycerol levels in humans. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 283: E172-7.
- Elmadfa I, Leitzmann C (2019): Ernährung des Menschen, 6. überarbeitete und aktualisierte Auflage, Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, S. 1788.

- Feng D, Liu T, Sun Z, Bugge A, Mullican S E, Alenghat T, Liu X S, Lazar M A (2011): A circadian rhythm orchestrated by histone deacetylase 3 controls hepatic lipid metabolism. *Science (New York, N.Y.)* 331: 1315–1319.
- Fenske M (2006): Urinary free cortisol and cortisone excretion in healthy individuals. Influence of water loading. *Steroids* 71: 1014–1018.
- Figueiro M G, Rea M S (2012): Short-wavelength light enhances cortisol awakening response in sleep-restricted adolescents. *International Journal of Endocrinology* 2012: 301935.
- Francke U, Foellmer B E (1989): The glucocorticoid receptor gene is in 5q-q32. *Genomics* 4: 610–612.
- Frey I, Berg A, Grathwohl D, Keul J (1999): Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität-Entwicklung, Prüfung und Anwendung. *Sozial- und Präventivmedizin SPM* 44: 55–64.
- Gallus S, Lugo A, Murisic B, Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C (2015): Overweight and obesity in 16 European countries. *European Journal of Nutrition* 54: 679–689.
- Garaulet M, Corbalán M D, Madrid J A, Morales E, Baraza J C, Lee Y C, Ordovas J M (2010a): CLOCK gene is implicated in weight reduction in obese patients participating in a dietary programme based on the Mediterranean diet. *International Journal of Obesity (2005)* 34: 516–523.
- Garaulet M, Esteban Tardido A, Lee Y-C, Smith C E, Parnell L D, Ordovás J M (2012): SIRT1 and CLOCK 3111T C combined genotype is associated with evening preference and weight loss resistance in a behavioral therapy treatment for obesity. *International Journal of Obesity (2005)* 36: 1436–1441.
- Garaulet M, Lee Y-C, Shen J, Parnell L D, Arnett D K, Tsai M Y, Lai C-Q, Ordovas J M (2009): CLOCK genetic variation and metabolic syndrome risk. Modulation by monounsaturated fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition* 90: 1466–1475.
- Garaulet M, Lee Y-C, Shen J, Parnell L D, Arnett D K, Tsai M Y, Lai C-Q, Ordovas J M (2010b): Genetic variants in human CLOCK associate with total energy intake and cytokine sleep factors in overweight subjects (GOLDN population). *European Journal of Human Genetics : EJHG* 18: 364–369.
- Geelen C C, van Greevenbroek M M, van Rossum E F, Schaper N C, Nijpels G, Hart L M 't, Schalkwijk C G, Ferreira I, van der Kallen, C J, Sauerwein H P, Dekker J M, Stehouwer C D, Havekes B (2013): BclII glucocorticoid receptor polymorphism is associated with greater body

- fatness: the Hoorn and CODAM studies. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 98: E595-9.
- Gehring U (2004): Glucocorticoid receptors: basis for the diverse clinical actions of glucocorticoids. *Medizinische Klinik* 99: 228–235.
- Gekakis N, Staknis D, Nguyen H B, Davis F C, Wilsbacher L D, King D P, Takahashi J S, Weitz C J (1998): Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science (New York, N.Y.)* 280: 1564–1569.
- Gomez-Delgado F, Garcia-Rios A, Alcala-Diaz J F, Rangel-Zuñiga O, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano E M, Lopez-Moreno J, Tinahones F J, Ordovas J M, Garaulet M, Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P (2015): Chronic consumption of a low-fat diet improves cardiometabolic risk factors according to the CLOCK gene in patients with coronary heart disease. *Molecular Nutrition & Food Research* 59: 2556–2564.
- Griefahn B, Kunemund C, Brode P, Mehnert P (2001): Zur Validität der deutschen Übersetzung des Morningness-Eveningness-Questionnaires von Horne und Ostberg. The validity of a german version of the Morningness-Eveningness-Questionnaire developed by Horne and Ostberg. *Somnologie* 5: 71–80.
- Hewagalamulage S D, Lee T K, Clarke I J, Henry B A (2016): Stress, cortisol, and obesity: a role for cortisol responsiveness in identifying individuals prone to obesity. *Domestic Animal Endocrinology* 56 Suppl: S112-20.
- Horber F F, Gruber B, Thomi F, Jensen E X, Jaeger P (1997): Effect of sex and age on bone mass, body composition and fuel metabolism in humans. *Nutrition* 13: 524–534.
- Horber F F, Marsh H M, Haymond M W (1991): Differential effects of prednisone and growth hormone on fuel metabolism and insulin antagonism in humans. *Diabetes* 40: 141–149.
- Horne J A, Ostberg O (1976): A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology* 4: 97–110.
- JafariNasabian P, Inglis J E, Reilly W, Kelly O J, Ilich J Z (2017): Aging human body. Changes in bone, muscle and body fat with consequent changes in nutrient intake. *The Journal of Endocrinology* 234: R37-R51.
- Johns M W (1991): A new method for measuring daytime sleepiness. The Epworth sleepiness scale. *Sleep* 14: 540–545.

- Jordan S, Weiss M, Krug S, Mensink G BM (2012): Überblick über primärpräventive Maßnahmen zur Förderung von körperlicher Aktivität in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 55: 73–81.
- Jung C M, Khalsa S BS, Scheer F AJL, Cajochen C, Lockley S W, Czeisler C A, Wright K P (2010): Acute effects of bright light exposure on cortisol levels. *Journal of Biological Rhythms* 25: 208–216.
- Kelly J J, Mangos G, Williamson P M, Whitworth J A (1998): Cortisol and hypertension. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 25: S51-S56.
- Kirschbaum C, Kudielka B M, Gaab J, Schommer N C, Hellhammer D H (1999): Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosomatic Medicine* 61: 154–162.
- Klein E M, Braehler E, Dreier M, Reinecke L, Muller K W, Schmutzer G, Wolfling K, Beutel M E (2016): The German version of the Perceived Stress Scale - psychometric characteristics in a representative German community sample. *BMC psychiatry* 16: 159.
- Kleine B, Rossmannith W (2014): Hormone und Hormonsystem - Lehrbuch der Endokrinologie, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Kloet E R de, Derijk R (2004): Signaling pathways in brain involved in predisposition and pathogenesis of stress-related disease: genetic and kinetic factors affecting the MR/GR balance. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1032: 14–34.
- Koike N, Yoo S-H, Huang H-C, Kumar V, Lee C, Kim T-K, Takahashi J S (2012): Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science (New York, N.Y.)* 338: 349–354.
- Koper J W, van Rossum E FC, van den Akker E LT (2014): Glucocorticoid receptor polymorphisms and haplotypes and their expression in health and disease. *Steroids* 92: 62–73.
- Kris-Etherton P M, Taylor D S, Yu-Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, Hargrove R L, Zhao G, Etherton T D (2000): Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 179S-88S.
- Krumbholz A (2017): Plasmaproteinbindung endogener Glucocorticosteroide und deren Einfluss auf Haar- und Speichelkonzentrationen. Dissertation, Fachbereich Bioanalytische Chemie, Technische Universität Dresden.

- Kudielka B M, Gierens A, Hellhammer D H, Wust S, Schlotz W (2012): Salivary cortisol in ambulatory assessment--some dos, some don'ts, and some open questions. *Psychosomatic Medicine* 74: 418–431.
- Leproult R, Colecchia E F, L'Hermite-Balériaux M, van Cauter E (2001): Transition from dim to bright light in the morning induces an immediate elevation of cortisol levels. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86: 151–157.
- Liening S H, Stanton S J, Saini E K, Schultheiss O C (2010): Salivary testosterone, cortisol, and progesterone. Two-week stability, interhormone correlations, and effects of time of day, menstrual cycle, and oral contraceptive use on steroid hormone levels. *Physiology & Behavior* 99: 8–16.
- Lim J U, Lee J H, Kim J S, Hwang Y I, Kim T-H, Lim S Y, Yoo K H, Jung K-S, Kim Y K, Rhee C K (2017): Comparison of World Health Organization and Asia-Pacific body mass index classifications in COPD patients. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 12: 2465–2475.
- Loria-Kohen V, Espinosa-Salinas I, Marcos-Pasero H, Lourenço-Nogueira T, Herranz J, Molina S, Reglero G, Ramirez de Molina A (2016): Polymorphism in the CLOCK gene may influence the effect of fat intake reduction on weight loss. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 32: 453–460.
- Lottenberg S A, Giannella-Neto D, Derendorf H, Rocha M, Bosco A, Carvalho S V, Moretti A E, Lerário A C, Wajchenberg B L (1998): Effect of fat distribution on the pharmacokinetics of cortisol in obesity. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 36: 501–505.
- Louis W R, Chan M K-H, Greenbaum S (2009): Stress and the Theory of Planned Behavior. Understanding Healthy and Unhealthy Eating Intentions. *Journal of Applied Social Psychology* 39: 472–493.
- Lowrey P L, Takahashi J S (2004): Mammalian circadian biology. Elucidating genome-wide levels of temporal organization. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 5: 407–441.
- Man K, Loudon A, Chawla A (2016): Immunity around the clock. *Science (New York, N.Y.)* 354: 999–1003.

- Mårin P, Darin N, Amemiya T, Andersson B, Jern S, Björntorp P (1992): Cortisol secretion in relation to body fat distribution in obese premenopausal women. *Metabolism* 41: 882–886.
- Mericq M V, Cutler G B (1998): High fluid intake increases urine free cortisol excretion in normal subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83: 682–684.
- 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: 248–257.
- Müller M J, Bosy-Westphal A., Dilba B., Bader N., Korth O. (2006): Energieverbrauch und Energiebedarf gesunder Menschen. *Aktuelle Ernährungsmedizin* 31: 98–109.
- Murray J C, Smith R F, Ardinger H A, Weinberger C (1987): RFLP for the glucocorticoid receptor (GRL) located at 5q11-5q13. *Nucleic Acids Research* 15: 6765.
- Ndahimana D, Kim E-K (2017): Measurement methods for physical activity and energy expenditure. A review. *Clinical Nutrition Research* 6: 68–80.
- OECD (Hrsg.) (2012): Health at a Glance, Europe 2012. Organization for Economic, S. 149.
- Ottosson M (2000): Effects of cortisol and growth hormone on lipolysis in human adipose tissue. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85: 799–803.
- 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: 68–76.
- Pluchino N, Cubeddu A, Begliuomini S, Merlini S, Giannini A, Bucci F, Casarosa E, Luisi M, Cela V, Genazzani A R (2009): Daily variation of brain-derived neurotrophic factor and cortisol in women with normal menstrual cycles, undergoing oral contraception and in postmenopause. *Human Reproduction (Oxford, England)* 24: 2303–2309.
- Porzezinska-Furtak J, Krzyzanowska-Swiniarska B, Miazgowski T, Safranow K, Kaminski R (2014): Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, personality traits, and BCL1 and N363S polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene in metabolically obese normal-weight women. *Endocrine* 47: 315–321.
- Powell D J, Schlotz W (2012): Daily life stress and the cortisol awakening response: testing the anticipation hypothesis. *PLoS one* 7: e52067.

- Ragnarsson O, Trimpou P, Oleröd G, Landin-Wilhelmsen K (2016): Urinary free cortisol and androgens in the population-Hormone interactions and the relationship with body composition and bone status. *Steroids* 115: 154–159.
- Rask E, Olsson T, Söderberg S, Andrew R, Livingstone D E, Johnson O, Walker B R (2001): Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86: 1418–1421.
- 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.
- Rey G, Cesbron F, Rougemont J, Reinke H, Brunner M, Naef F (2011): Genome-wide and phase-specific DNA-binding rhythms of BMAL1 control circadian output functions in mouse liver. *PLoS Biology* 9: e1000595.
- Roberts S B, Rosenberg I (2006): Nutrition and aging. Changes in the regulation of energy metabolism with aging. *Physiological Reviews* 86: 651–667.
- Roenneberg T, Kuehnele T, Juda M, Kantermann T, Allebrandt K, Gordijn M, Mero M (2007): Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Medicine Reviews* 11: 429–438.
- Roerink S HPP, Wagenmakers M AEM, Smit J WA, van Rossum E FC, Netea-Maier R T, Plantinga T S, Hermus A RMM (2016): Glucocorticoid receptor polymorphisms modulate cardiometabolic risk factors in patients in long-term remission of Cushing's syndrome. *Endocrine* 53: 63–70.
- Rosmond R, Chagnon Y C, Holm G, Chagnon M, Perusse L, Lindell K, Carlsson B, Bouchard C, Bjorntorp P (2000): A glucocorticoid receptor gene marker is associated with abdominal obesity, leptin, and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Obesity Research* 8: 211–218.
- Rutters F, Nieuwenhuizen A G, Lemmens S GT, Bouwman F, Mariman E, Westerterp-Plantenga M S (2011): Associations between anthropometrical measurements, body composition, single-nucleotide polymorphisms of the hypothalamus/pituitary/adrenal (HPA) axis and HPA axis functioning. *Clinical Endocrinology* 74: 679–686.
- Sancar G, Brunner M (2014): Circadian clocks and energy metabolism. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS* 71: 2667–2680.

- Scheer F AJL, Buijs R M (1999): Light affects morning salivary cortisol in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84.
- Schmidt RF, Lang F (Hrsg.) (2007): Physiologie des Menschen. Mit Pathophysiologie, Berlin, Heidelberg: Springer, S. 1039.
- Sookoian S, Gemma C, Gianotti T F, Burgueño A, Castaño G, Pirola C J (2008): Genetic variants of Clock transcription factor are associated with individual susceptibility to obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition* 87: 1606–1615.
- Spinas G A, Fischli S, Berneis K (2011): Endokrinologie und Stoffwechsel. Kompakt ; 61 Tabellen, 2., vollst. überarb. und erw. Aufl., Stuttgart: Thieme, S. 193.
- Sriram N, Hunter G R, Fisher G, Brock D W (2014): Resting energy expenditure and systolic blood pressure relationships in women across 4.5 years. *Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.)* 16: 172–176.
- Srivastava N, Prakash J, Lakhan R, Agarwal C G, Pant D C, Mittal B (2011): Influence of Bcl-1 Gene polymorphism of glucocorticoid receptor gene (NR3C1, rs41423247) on blood pressure, glucose in northern Indians. *Indian Journal of Clinical Biochemistry : IJCB* 26: 125–130.
- Stalder T, Kirschbaum C, Kudielka B M, Adam E K, Pruessner J C, Wust S, Dockray S, Smyth N, Evans P, Hellhammer D H, Miller R, Wetherell M A, Lupien S J, Clow A (2016): Assessment of the cortisol awakening response: Expert consensus guidelines. *Psychoneuroendocrinology* 63: 414–432.
- Stawski R S, Cichy K E, Piazza J R, Almeida D M (2013): Associations among daily stressors and salivary cortisol: findings from the National Study of Daily Experiences. *Psychoneuroendocrinology* 38: 2654–2665.
- Strandheim A, Halland H, Saeed S, Cramariuc D, Hetland T, Lønnebakken M T, Gerds E (2015): Obesity-associated metabolic changes influence resting and peak heart rate in women and men. *Scandinavian Cardiovascular Journal : SCJ* 49: 337–343.
- Strath S J, Kaminsky L A, Ainsworth B E, Ekelund U, Freedson P S, Gary R A, Richardson C R, Smith D T, Swartz A M (2013): Guide to the assessment of physical activity. clinical and research applications. *Circulation* 128: 2259–2279.

- Tataranni P A, Larson D E, Snitker S, Young J B, Flatt J P, Ravussin E (1996): Effects of glucocorticoids on energy metabolism and food intake in humans. *The American Journal of Physiology* 271: E317-25.
- Taylor M K, Larson G E, Lauby M D H (2014): Genetic variants in serotonin and corticosteroid systems modulate neuroendocrine and cardiovascular responses to intense stress. *Behavioural Brain Research* 270: 1–7.
- Torres-Farfan C, Abarzua-Catalan L, Valenzuela F J, Mendez N, Richter H G, Valenzuela G J, Serón-Ferré M (2009): Cryptochrome 2 expression level is critical for adrenocorticotropin stimulation of cortisol production in the capuchin monkey adrenal. *Endocrinology* 150: 2717–2722.
- Travison T G, O'Donnell A B, Araujo A B, Matsumoto A M, McKinlay J B (2007): Cortisol levels and measures of body composition in middle-aged and older men. *Clinical Endocrinology* 67: 71–77.
- Tremblay A, Bouchard L, Bouchard C, Despres J-P, Drapeau V, Perusse L (2003): Long-term adiposity changes are related to a glucocorticoid receptor polymorphism in young females. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88: 3141–3145.
- Turpeinen U, Hämäläinen E (2013): Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* 27: 795–801.
- Ukkola O, Rosmond R, Tremblay A, Bouchard C (2001): Glucocorticoid receptor Bcl I variant is associated with an increased atherogenic profile in response to long-term overfeeding. *Atherosclerosis* 157: 221–224.
- Valenzuela F J, Torres-Farfan C, Richter H G, Mendez N, Campino C, Torrealba F, Valenzuela G J, Serón-Ferré M (2008): Clock gene expression in adult primate suprachiasmatic nuclei and adrenal. Is the adrenal a peripheral clock responsive to melatonin? *Endocrinology* 149: 1454–1461.
- Valenzuela F J, Vera J, Venegas C, Muñoz S, Oyarce S, Muñoz K, Lagunas C (2016): Evidences of polymorphism associated with circadian system and risk of pathologies. A review of the literature. *International Journal of Endocrinology* 2016: 2746909.
- Valladares M, Obregón A M, Chaput J-P (2015): Association between genetic variants of the clock gene and obesity and sleep duration. *Journal of Physiology and Biochemistry* 71: 855–860.

- van Rossum E FC, Koper J W, van den Beld A W, Uitterlinden A G, Arp P, Ester W, Janssen J AMJL, Brinkmann A O, Jong F H de, Grobbee D E, Pols H AP, Lamberts S WJ (2003): Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene. Association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clinical Endocrinology* 59: 585–592.
- van Rossum E FC, Lamberts S WJ (2004): Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Progress in Hormone Research* 59: 333–357.
- Vibarel-Rebot N, Rieth N, Lasne F, Jaffre C, Collomp K (2015): Oral contraceptive use and saliva diurnal pattern of metabolic steroid hormones in young healthy women. *Contraception* 91: 245–247.
- Walker B R, Soderberg S, Lindahl B, Olsson T (2000): Independent effects of obesity and cortisol in predicting cardiovascular risk factors in men and women. *Journal of Internal Medicine* 247: 198–204.
- Wang J-C, Harris C (2015): Glucocorticoid signaling. From molecules to mice to man, New York: Springer.
- Wareham N J, Wong M Y, Hennings S, Mitchell J, Rennie K, Cruickshank K, Day N E (2000): Quantifying the association between habitual energy expenditure and blood pressure. *International Journal of Epidemiology* 29: 655–660.
- Welk G (2002): Physical activity assessments for health-related research. Human Kinetics.
- Welle S, Forbes G B, Statt M, Barnard R R, Amatruda J M (1992): Energy expenditure under free-living conditions in normal-weight and overweight women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 55: 14–21.
- Westerbacka J, Yki-Järvinen H, Vehkavaara S, Häkkinen A-M, Andrew R, Wake D J, Seckl J R, Walker B R (2003): Body fat distribution and cortisol metabolism in healthy men. Enhanced 5beta-reductase and lower cortisol/cortisone metabolite ratios in men with fatty liver. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88: 4924–4931.
- Winkler U H, Sudik R (2009): The effects of two monophasic oral contraceptives containing 30 mcg of ethinyl estradiol and either 2 mg of chlormadinone acetate or 0.15 mg of desogestrel on lipid, hormone and metabolic parameters. *Contraception* 79: 15–23.

Wright T G, Dawson B, Jalleh G, Guelfi K J (2015): Influence of hormonal profile on resting metabolic rate in normal, overweight and obese individuals. *Annals of Nutrition & Metabolism* 66: 162–167.

Xie X, Wang X, Mick G J, Kabarowski J H, Wilson L S, Barnes S, Walcott G P, Luo X, McCormick K (2016): Effect of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on microsomal P450 steroidogenic enzyme activities and in vitro cortisol production in adrenal tissue from Yorkshire Boars. *Endocrinology* 157: 1512–1521.

Yan Y-X, Dong J, Zhang J, Liu F, Wang W, Zhang L, He Y (2014): Polymorphisms in NR3C1 gene associated with risk of metabolic syndrome in a Chinese population. *Endocrine* 47: 740–748.

Yang X, Downes M, Yu R T, Bookout A L, He W, Straume M, Mangelsdorf D J, Evans R M (2006): Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell* 126: 801–810.

Ye S, Zhu C, Wei C, Yang M, Zheng W, Gan D, Zhu S (2018): Associations of body composition with blood pressure and hypertension. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 26: 1644–1650.

Zobel A, Jessen F, Widdern O von, Schuhmacher A, Höfels S, Metten M, Rietschel M, Scheef L, Block W, Becker T, Schild H H, Maier W, Schwab S G (2008): Unipolar depression and hippocampal volume. Impact of DNA sequence variants of the glucocorticoid receptor gene. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 147B: 836–843.

Elektronische Quellen

URL 1. WHO-Pdf

http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0010/74746/E90711.pdf (Stand 26.11.2019; 12:22 Uhr)

URL 2. GR Rezeptor

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279171/> (Stand 26.07.2019; 11:55 Uhr)

URL 3. Abbildung richtig Blutdruckmessen

<https://www.beurer.com/microsite/blutdruck/wissen/richtig-messen.php> (Stand: 31.01.2019; 10:35 Uhr)

URL 4. BIA

<http://www.data-input.de/bia/deutsch/bia-methode.php> (Stand 05.02.2019; 14:04 Uhr)

URL 5. Abbildung SWA Draufsicht

<https://www.phoenix-personal-training.net/sensewear/> (Stand 01.02.2019; 11:43 Uhr)

URL 6. Abbildung Rückseite SWA

<https://www.imedicalapps.com/2011/07/bodymedia-wearable-sensors-fight-obesity-epidemic-step-time/#> (Stand: 01.02.2019; 11:26 Uhr)

URL 7. Actiwatch Draufsicht

<http://www.actigraphy.com/solutions/actiwatch/actiwatch2.html> (Stand 05.02.2019; 13:17 Uhr)

URL 8. MEMS

<https://www.aardexgroup.com/solution/mems-caps/22> (Stand 06.09.2019; 09:57 Uhr)

URL 9. MEMS Behälter und Deckel

https://www.aardexgroup.com/solution/mems_caps/22 (Stand 05.02.2019; 13:33 Uhr)

URL 10. MEMS Reader

https://www.aardexgroup.com/solution/mems_reader/22 (Stand 05.02.2019; 13:34 Uhr)

11 Anhang

Die Anhänge A1 bis A17 befinden sich in der Datei „elektronischer Anhang (A1 bis A17).pdf“ auf dem beiliegenden Datenträger.

A1 Prätest Screening (verkleinert)

A2 Probandeninstruktionen (verkleinert)

A3 Allgemeiner Fragebogen (verkleinert)

A4 Fragebogen Ernährung (verkleinert)

A5 Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) (deutsche validierte Version, D-MEQ) (verkleinert)

A6 Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (verkleinert)

A7 Epworth Sleepiness Scale (ESS) (verkleinert)

A8 Perceived Stress Scale (PSS) (verkleinert)

A9 Freiburger Fragebogen (verkleinert)

A10 Probanden Protokoll (verkleinert)

A11 Shapiro-Wilk Teste zur Überprüfung der Normalverteilung

A12 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Parametern des Energieverbrauchs und der Cortisolkonzentration

A13 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Parametern des Energieverbrauchs und der Cortisolkonzentration für Nicht-Trägerinnen des Allels G des GR-Polymorphismus rs41423247

A14 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten Parametern des Energieverbrauchs und der Cortisolkonzentration für Trägerinnen des Allels G des GR-Polymorphismus rs41423247

A15 Korrelationskoeffizienten zwischen Körperzusammensetzung und ausgewählten anthropometrischen Parametern sowie der Cortisolkonzentration

A16 Korrelationskoeffizienten zwischen Vitalparametern und der Cortisolkonzentration

A17 Korrelationskoeffizienten zwischen ausgewählten ernährungsbezogenen Parametern und der Cortisolkonzentration

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. M. Dittmar herzlich danken für die Bereitstellung des Forschungsthemas und der benötigten Geräte und Materialien, die Entwicklung des Studiendesigns sowie die gute Betreuung über den gesamten Verlauf dieser Arbeit.

Danke an Herrn Prof. Dr. T. Roeder für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Weiterer Dank geht außerdem an das Institut für klinische Molekularbiologie (IKMB) der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel für die Durchführung der Sanger-Sequenzierung. Ich danke in dem Zuge besonders den Technikern T. Naujoks und C. Noack für die technische Unterstützung.

Bei Frau Maria-Lisa Schoone bedanke ich mich für die Einarbeitung in die Cortisolanalyse.

Bei meinen Kollegen Daniela Töbelmann und Daniel Schütz möchte ich mich für die zahlreichen guten Gespräche, aufmunternden Worte und konstruktive Kritik sowie hilfreichen Ratschläge bedanken.

Ein ganz großer Dank geht auch an meinen Schwiegervater H. Rathje, er weiß schon wofür.

Mein besonderer Dank gilt meinen Probandinnen, ohne deren unentgeltliche Unterstützung die Entstehung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, insbesondere bei meinen Eltern und meinem Ehemann, die mich in jeder Lebenslage unterstützen und nie den Glauben an mich verlieren.

Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass diese Abhandlung – bis auf die Beratung durch meine Betreuerin 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. Es wurden keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet. Wörtlich oder inhaltlich aus anderen Quellen entnommene Inhalte 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. Zudem versichere ich, dass mir kein akademischer Grad entzogen wurde. Die Arbeit hat weder ganz noch in Teilen einer anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen. Teile dieser Arbeit wurden bereits im Rahmen eines Kongress vorgestellt:

13. Internationaler Kongress der Gesellschaft für Anthropologie (GfA), 2019, Göttingen

Poster:

Jana Rathje und Manuela Dittmar: Level of energy spent during sleep and arterial blood pressure are related to a common polymorphism in the glucocorticoid receptor gene

Kiel, den 17.04.2020

Jana Rathje