

Aus der Klinik für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Heritabilität und Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost auf
Metabolismus und Circadianik bei gesunden Zwillingen

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinische Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Silke Hornemann

aus Berlin

Datum der Promotion: 25.11.2022

Meinem Sohn

Can

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	8
Zusammenfassung	14
Abstract	16
1 Einleitung	18
1.1 Allgemein	18
1.2 Nutrition und das metabolische Syndrom	19
1.3 Chronobiologie und ihre biologischen Rhythmen	21
1.4 Suprachiasmatischer Nucleus (SCN)	22
1.5 „Periphere“ circadiane Oszillatoren	24
1.6 Entrainment	24
1.7 Chronotyp	25
1.8 Circadiane Rhythmen im Hormonsystem	26
1.8.1 Melatonin	27
1.8.2 Cortisol – Hauptvertreter der endogenen Glucocorticoide	29
1.9 Nutrition und der circadiane Rhythmus	31
1.9.1 Glucose-Metabolismus und der circadiane Rhythmus	33
1.9.2 Lipid-Metabolismus und der circadiane Rhythmus	33
1.10 Zielsetzung	34
2 Material und Methoden	36
2.1 Material	36
2.2 Studiendesign	43
2.3 Nutrition	45
2.4 Indirekte Kalorimetrie (Grundumsatzmessung)	47
2.5 Physical Activity Level (PAL)	47
2.6 Anthropometrie	47
2.7 Aktivitätsverhalten	47
2.8 Blutlaborparameter	48
2.9 Munich Chronotype Questionnaire	49
2.10 Saliva	50

2.10.1 Melatonin	50
2.10.2 Cortisol	50
2.11 24-Stunden-Sammelurin	51
2.11.1 Melatonin-Metabolit aMT6s	52
2.11.2 fCortisol, fCortison, THF, allo-THF, THE, A-Ring-Reduktasen und 11 β -HSD	52
2.12 Subkutane Fettgewebsbiopsie	53
2.13 Genexpression von 11 β -HSD1 und -2	54
2.13.1 RNA-Extraktion	54
2.13.2 Quantitative und qualitative RNA-Analytik	54
2.13.3 Reverse Transkription von RNA	55
2.13.4 Primer-Design	55
2.13.5 Quantitative Realtime-PCR und Schmelzkurvenanalyse	56
2.13.6 Gelelektrophorese	57
2.14 Statistische Analyse	57
3 Ergebnisse	61
3.1 Klinische Charakterisierung der Studienteilnehmenden	61
3.2 Compliance gegenüber der isokalorischen Ernährungsinterventionen	62
3.2.1 Analyse der Ernährungsvorgaben	63
3.2.2 Aktivitätsverhalten	64
3.3 Anthropometrie	65
3.4 Metabolische Adaptation	65
3.4.1 Glucose-Metabolismus	65
3.4.2 Lipid-Metabolismus	67
3.5 Chronotyp	69
3.6 Melatonin-Metabolismus	70
3.6.1 Melatonin in der Saliva	70
3.6.2 Melatonin-Metabolit aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin	73
3.7 Cortisol-Metabolismus	75
3.7.1 Cortisol in der Saliva	75
3.7.2 fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin	77
3.7.3 Relative mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe	84

3.7.4	Korrelationsanalysen von fCortisol, fCortison und deren Metaboliten im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe	85
3.8	Erblichkeitsanalysen	87
3.8.1	Melatonin-Metabolismus	87
3.8.2	Cortisol-Metabolismus	89
3.8.3	mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe	91
4	Diskussion	93
4.1	Studiendesign und -population	93
4.2	Compliance gegenüber Ernährungsvorgaben und isokalorischer Energiebilanz	94
4.3	Einfluss einer isokalorischen Hochfett-Kost auf den Glucose- und Lipidmetabolismus	95
4.4	Einfluss einer isokalorischen Hochfett-Kost auf die Circadianik	99
4.4.1	Allgemein	99
4.4.2	Melatonin-Metabolismus	101
4.4.3	Cortisol-Metabolismus	105
4.4.4	11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe	108
4.4.5	Erblichkeitsanalyse	112
4.5	Fazit	115
5	Literaturverzeichnis	117
	Eidesstattliche Versicherung	142
	Lebenslauf	143
	Publikationsliste	144
	Danksagung	150

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Lokalisation des suprachiasmatischen Nukleus im menschlichen Hirn	23
Abbildung 2:	Entrainment: Anpassung der circadianen Uhren auf externe Zeitgeber, modifiziert.....	25
Abbildung 3:	Studienablauf der NUGAT-Studie	45
Abbildung 4:	ACE-Modell, modifiziert.....	60
Abbildung 5:	Prozentualer Anteil der Geschlechter in den jeweiligen Altersgruppen an der Gesamtkohorte.....	62
Abbildung 6:	Altersverteilung der weiblichen und männlichen Studienteilnehmenden	62
Abbildung 7:	Energieverbrauch durch körperliche Aktivität.....	65
Abbildung 8:	Korrigierte Uhrzeit der Schlafmitte an freien Tagen der gesamten Kohorte, adjustiert für Geschlecht und Alter (MSFsasc)	70
Abbildung 9:	Melatonin-Konzentration in der Saliva der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen im circadianen Verlauf	72
Abbildung 10:	aMT6s-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen.....	74
Abbildung 11:	Cortisol-Konzentration in der Saliva der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen im circadianen Verlauf	76
Abbildung 12:	fCortison-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen	79
Abbildung 13:	allo-THF-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen	80
Abbildung 14:	Relative mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen	85
Abbildung 15:	Korrelationsanalyse von a)–c) allo-THF im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe, d) THE im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11 β -HSD2 im subkutanen Fettgewebe.....	86

Abbildung 16: ACE-Modell für Melatonin-Peak in der Saliva und aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin	88
Abbildung 17: ACE-Modell für a) fCortisol-Peak in der Saliva, fCortisol und fCortison im 24-Stunden-Sammelurin b) THF, allo-THF und THE im 24-Stunden- Sammelurin	90
Abbildung 18: ACE-Modell für mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe	92

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Referenzwerte für das Cortisol-Tagesprofil in der Saliva bei Erwachsenen.....	51
Tabelle 2:	Nachweisgrenze und Reproduzierbarkeit des hausinternen RIAs für die einzelnen zu bestimmenden Parameter im Sammelurin	53
Tabelle 3:	Referenzwerte für GC im 24-Stunden-Sammelurin bei Erwachsenen	53
Tabelle 4:	Zusammensetzung eines PCR-Ansatzes mit einem Gesamtvolumen von 5 µl...	56
Tabelle 5:	Reaktionsschritte der PCR und Schmelzkurvenanalyse mit Zeit und Temperaturangaben.....	57
Tabelle 6:	Charakterisierung der analysierten Studienteilnehmenden bei Studieneinschluss.....	61
Tabelle 7:	Ernährungszusammensetzung der einzelnen Interventionen.....	63
Tabelle 8:	Nüchtern-Glucose, Nüchtern-Insulin, HOMA-Index, HbA _{1c} der Gesamtkohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen.....	66
Tabelle 9:	Gesamt-Cholesterin, HDL-, LDL-Cholesterin, FFA, Triglyceride der Gesamtkohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen.....	69
Tabelle 10:	AUC-Werte der Melatonin in der Saliva der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen im circadianen Verlauf.....	73
Tabelle 11:	AUC-Werte der Cortisol-Konzentration in der Saliva im circadianen Verlauf der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen	77
Tabelle 12:	fCortisol-, THF- und THE-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen	81
Tabelle 13:	Enzymaktivität der 11β-HSD und A-Ring-Reduktasen durch Analysen von fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin	83
Tabelle 14:	Korrelationsanalyse von fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11β-HSD1- und -2 im subkutanen Fettgewebe	87

Tabelle 15: Korrelationsanalyse des Melatonin-Peaks in der Saliva und des aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin von monozygoten (rMZ) und dizygoten (rDZ) Zwillingspaaren	88
Tabelle 16: Korrelationsanalyse des Cortisol-Peaks in der Saliva und des fCortisol, fCortison, THF, allo-THF, THE im 24-Stunden-Sammelurin von monozygoten (rMZ) und dizygoten (rDZ) Zwillingspaaren	91
Tabelle 17: Korrelationsanalyse der mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe von monozygoten (rMZ) und dizygoten (rDZ) Zwillingspaaren	92

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ACE	A = additive genetics (additive Genetik) C = common environment (gemeinsame Umweltfaktoren) E = unique environment (individuelle Umwelteinflüsse)
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AFMK	N ¹ -Acetyl-N ² -Formyl-5-Methoxykynuranin
allo-THE	5 α -Tetrahydrocortison
allo-THF	5 α -Tetrahydrocortisol
AMK	N ¹ -Acetyl-5-Methoxykynuramin
aMT6s	6-Sulfatoxymelatonin
ANOVA	Analysis of Variance (Varianzanalyse)
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area Under the Curve (Fläche unterhalb der Kurve)
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BMI	Body-Mass-Index (Körpermasse-Index)
C	Cytosin
cDNA	complementary Deoxyribonucleic Acid (komplementäre Deoxyribonukleinsäure)
CHOD	Cholesteroxidase
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CRP	C-reaktives Protein
CRY-Gene	Cryptochrome-Gene
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DIfE	Deutsches Institut für Ernährungsforschung

DLMOn	Dim Light Melatonin Onset
DMH	Dorsomedialer Hypothalamus
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DZ	Dizygote
E	Extinktion
EB	Ernährungsberatung
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Enzym-gebundener Immunsorbenttest)
ESC	European Society of Cardiology (Europäische Gesellschaft für Kardiologie)
fCortisol	freies Cortisol
fCortison	freies Cortison
FFA	Free Fatty Acids (nicht veresterte Fettsäuren; freie Fettsäuren)
FFQ	Food Frequency Questionnaire – Fragebogen zum Lebensmittelkonsum
F/(F + W)	Fett/(Fett + Wasser)
G	Guanin
GC	Glucocorticoide
GCP	Good Clinical Practice (gute klinische Praxis)
GPO	Glycerol-3-Phosphat-Oxidase
GR	Glucocorticoid-Rezeptor
¹ H	Hydrogen
HDL	High-Density Lipoprotein (Lipoprotein hoher Dichte)
HF1	Studientag der einwöchigen Hochfett-Intervention
HF6	Studientag der sechswöchigen Hochfett-Intervention
HHN	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinde

HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HOMA-Index	Homoestasis Model Assessment-Index (Homöostase Model zur Insulin-Resistenz-Beurteilung)
11 β -HSD	11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase
IDL	Intermediate-Density Lipoprotein (Lipoprotein mittlerer Dichte)
IQR	Interquartile Range (Interquartilsabstand)
J	Jahre
Kalium-EDTA	Kalium-Ethylenediaminetetraacetic Acid (Kalium-Ethylendiamintetra-essigsäure)
KH	Studientag der Kohlenhydrat-Intervention
KLE	Klinische Ernährung
Konz.	Konzentration
LDL	Low-Density Lipoprotein (Lipoprotein niedriger Dichte)
ln	natürlicher Logarithmus
LOCF	Last Observation Carried Forward („zuletzt erhobene Beobachtung vorwärts getragen“)
LPL	Lipoproteinlipase
männl.	männlich
Max	Maximum
max.	maximal
MCTQ	Munich Chronotype Questionnaire (Münchener Chronotyp-Fragebogen)
Min	Minimum
MR	Mineralcorticoid-Rezeptor
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MSF	Mid-Sleep time on Free days (Uhrzeit der Schlafmitte an freien Tagen)
MSFsasc	MSFsc auf die Variablen Geschlecht und Alter adjustiert

MSFsc	Sleep correction of Mid-Sleep Time on Free days (Schlafkorrektur der Uhrzeit der Schlafmitte an freien Tagen)
MUFA	Monounsaturated Fatty Acids (einfach ungesättigte Fettsäuren)
MW	Mittelwert
MZ	Monozygote
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (nichtalkoholische Fettleber- erkrankung)
NNR	Nebennierenrinde
NTC	Non Template Control (Nicht-Template-Kontrolle)
NUGAT	NUtriGenomics Analysis in Twins (Nutrigenomische Analyse bei Zwi- lingen)
O ₂	Sauerstoff
OD	Optical Density (optische Dichte)
oGTT	oraler Glucosetoleranztest
PAL	Physical Activity Level (körperlicher Aktivitätsgrad)
PAP	Phenol-Aminophenozon
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
PVN	Paraventriculärer Nucleus
RB	Referenzbereich
RCF	Relative Centrifugation Force (relative Zentrifugalkraft)
REE	Resting Energy Expenditure (Energieverbrauch im Ruhezustand)
RHT	Retinohypothalamischer Trakt
RIA	Radioimmunoassay
RNA	Ribonukleinsäure
RPL32	Ribosomal Protein (Ribosomales Protein) L32

RT	Reverse Transkriptase
SCN	Suprachiasmatischer Nucleus
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SFA	Saturated Fatty Acids (gesättigte Fettsäuren)
SPZ	Subparaventriculäre Zone
ST	Studententag
STH	Somatotropes Hormon
T	Thymin
TAE-Puffer	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
TG	Triglyceride
THE	5 β -Tetrahydrocortison
THF	5 β -Tetrahydrocortisol
TMB	3,3',5,5'Tetramethylbenzidine
VLDL	Very Low-Density Lipoprotein (Lipoprotein sehr niedriger Dichte)
weibl.	weiblich
WHR	Waist-Hip-Ratio (Taille-Hüft-Quotient)
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZP	Zeitpunkt

Einheiten:

cm	Zentimeter
d	Tag
g	Gramm
h	Stunde
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm

l	Liter
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mU	Milliunit
m ²	Quadratmeter
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
pg	Pikogramm
rpm	rotation per minute (Umdrehungen pro Minute)
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar
%	Prozent
°C	Grad Celsius

Zusammenfassung

Fetteiche und hyperkalorische Ernährungsformen sind mit Adipositas (Fettleibigkeit) und Diabetes mellitus Typ 2 mit der Folge eines metabolischen Syndroms assoziiert. Unklar ist bislang, welche Effekte Nahrungsfette per se nach dem Wechsel von isokalorischer kohlenhydratreicher Kost auf eine isokalorische Hochfett-Kost haben. Ebenso ist der Einfluss dieser isokalorischen Hochfett-Kost auf die Circadianik und deren Heritabilität bei Menschen unerforscht.

In der NUtriGenomics Analysis in Twins-(NUGAT)-Studie wurden 46 gesunde Zwillingspaare (34 monozygote, 12 dizygote) mit einem durchschnittlichen BMI (Body Mass Index) von 22,5 kg/m² und einem mittleren Alter von 25 Jahren eingeschlossen. Diese erhielten für sechs Wochen als Run-in-Phase eine isokalorische kohlenhydratbetonte Kost (55 E % Kohlenhydrate, 30 E % Fett, 15 E % Protein), anschließend eine isokalorische fettreiche Kost (45 E % Kohlenhydrate, 40 E % Fett, 15 E % Protein) für weitere sechs Wochen. Es erfolgten eine anthropometrische und metabolische Charakterisierung, die analytische Bestimmung des Melatonin- und Cortisol-Stoffwechsels in der Saliva (Speichel) und im 24-Stunden-Sammelurin sowie der mRNA-Expression der 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase 1 und 2 (11 β -HSD1 und -2) im subkutanen Fettgewebe an drei Untersuchungstagen. Zusätzlich wurden geschlechts- und altersspezifische Unterschiede differenziert analysiert. Außerdem erfolgte eine Erblichkeitsanalyse mittels des ACE-Modells.

Es zeigten sich alters- und geschlechtsspezifische signifikante Effekte nach isokalorischer Hochfett-Kost auf den Glucose- und Lipid-Metabolismus. Der circadiane Parameter Melatonin in der Saliva reagierte auf die Kostumstellung ebenfalls mit signifikanten geschlechts- und altersspezifischen Konzentrationsveränderungen, die Analyse des Melatonin-Metaboliten aMT6s im Sammelurin zeigte keine signifikante Veränderung. Ebenso blieb der circadiane Parameter Cortisol in der Saliva nahezu unverändert, das freie Cortison und der allo-THF-Metabolit im Sammelurin wiesen einen signifikanten Konzentrationsabfall nach Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost auf. Die mRNA-Expression der 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe fiel signifikant bzw. hochsignifikant in der gesamten Studienpopulation, auf der anderen Seite stieg die Expression von 11 β -HSD2-mRNA signifikant in der Altersgruppe 26–45 Jahre nach Woche 1 der Hochfett-Kost an. Eine genetische Determinierung wurde bei Melatonin in der Saliva nach Woche 6 der Hochfett-Kost und beim aMT6s im Sammelurin während der gesamten Studiendauer nachgewiesen. Das

freie Cortisol im Sammelurin zeigte eine Heritabilität nach Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost, das freie Cortison nach Woche 1 der Hochfett-Kost.

Die daraus resultierende Zusammenfassung zeigt Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost mit geschlechts- und altersabhängiger Veränderung im Glucose- und Lipidmetabolismus und einer Einflussnahme auf circadiane Synchronisationssignale mit in der Peripherie vermittelten hormonell-metabolischen Mechanismen, einschließlich der mRNA-Expression der 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe. Die mithilfe des ACE-Modells und von Korrelationsanalysen durchgeführte Erblichkeitsanalyse ließ eindeutig eine genetische Determinierung des Melatonin-, weniger des Glucocorticoid-Metabolismus unter einer sechswöchigen Hochfett-Kost erkennen.

Abstract

High fat and hypercaloric diets are associated with obesity and type 2 diabetes leading to metabolic syndrome. It is unclear what effects the dietary fats themselves have after a switch from an isocaloric high-carbohydrate diet to an isocaloric high-fat diet. The influence of this isocaloric high fat diet on the circadian system and its heritability in humans has also not been researched.

In the NutriGenomics Analysis in Twins (NUGAT) study, 46 healthy twin pairs (34 monozygotes, 12 dizygotes) with an average BMI (body mass index) of 22.5 kg/m² and an average age of 25 years were studied. They received an isocaloric carbohydrate-based diet (55 E % carbohydrates, 30 E % fat and 15 E % protein) for a run-in phase of six weeks, followed by an isocaloric high fat diet (45 E % carbohydrates, 40 E % fat and 15 E % protein) for another six weeks. An anthropometric and metabolic characterization was performed, as well as a survey of the melatonin and cortisol metabolism from the saliva of the subjects and from their 24-hour urine collection, additionally an examination of the 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase 1 und 2 (11 β -HSD1 und -2)-mRNA from subcutaneous adipose tissue was carried out on three distinct days. Gender and age-specific differences were calculated by a differentiated analysis of the data. In addition, hereditary analysis was carried out using the ACE model.

After isocaloric high-fat diet, significant age- and gender-specific effects were noted on glucose and lipid metabolism. The circadian parameter melatonin saliva also reacted to changing diet with significant gender- and age-specific changes in concentration, there were no significant alterations of melatonin metabolite aMT6s urine, the circadian parameter cortisol saliva remained almost unchanged. Free cortisol and the metabolite allo-THF in the urine collection showed a significant decrease in concentration after one week of diet change and after the total high-fat intervention. The expression of 11 β -HSD1-mRNA in subcutaneous adipose tissue fell significantly in the entire population under study, whereas that of 11 β -HSD2-mRNA increased significantly in the age group 26–45 years after week 1 of a high-fat diet. A genetic determination was detected in melatonin saliva after week 6 of high-fat diet and in aMT6s urine during the entire period of study. During a high-fat diet, free cortisol in the urine showed heritability after week 1 and 6, free cortisone after week 1.

The resulting summary shows the effects of an isocaloric high-fat diet with gender- and age-dependent changes on glucose and lipid metabolism and the influence on circadian synchronization signals with peripheral hormonal-metabolic mechanisms, including mRNA expression of 11 β -

HSD1 and -2 in subcutaneous adipose tissue. An hereditary analysis with the help of the ACE model and a correlation analysis, showed clearly genetic determination of melatonin metabolism, less that of glucocorticoid metabolism during a high-fat diet.

1 Einleitung

1.1 Allgemein

Übergewicht und Adipositas haben sich zu einem ernsthaften und zunehmenden Gesundheitsproblem unserer Gesellschaft entwickelt. Gemäß einer Langzeitstudie des Robert Koch-Instituts zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen im Alter von 3–17 Jahre in Deutschland (KiGGS Welle 2) sind rund 15,4 % der untersuchten Kinder und Jugendlichen übergewichtig, 5,9 % davon fettleibig (adipös).¹ Nach aktuellsten Daten laut Nationaler Verzehrstudie II sind 29,5 % der Frauen und 45,5 % der Männer in Deutschland übergewichtig (BMI^a 25–29,9 kg/m²), 21,1 % der Frauen und 20,5 % der Männer sind adipös (BMI von ≥ 30 kg/m²).² Die Prävalenz für Adipositas ist laut der DEGS1-Studie weiterhin steigend (Frauen: 23,9 %, Männer: 23,3 %), insbesondere bei jungen Erwachsenen.³

Demzufolge steigt der Anteil der Bevölkerung in Deutschland mit erhöhtem Krankheitsrisiko dramatisch, vor allem mit Entwicklung des metabolischen Syndroms, besser bekannt als das „Wohlstandssyndrom“. Dieses Syndrom umfasst vier Hauptrisiken, das sogenannte tödliche Quartett: Übergewicht, Störung des Zucker-(Glucose)- und Fett-(Lipid)-Metabolismus sowie Bluthochdruck. Jede einzelne dieser Gesundheitsstörungen erhöht für sich genommen das Risiko, an Diabetes Typ 2 zu erkranken und gefährliche Folgen wie Herzinfarkt und Schlaganfall zu erleiden.

Auch sozioökonomisch steigt daher zunehmend das Interesse an der Erforschung des Zusammenhangs von Nahrungskonsum und Metabolismus u. a. mit dem Ziel, primäre bzw. sekundäre Präventionsmaßnahmen entwickeln zu können. Hierzu verzeichnete die Wissenschaft um die Chronobiologie des Menschen einen exponentiellen Zuwachs an Forschungsprojekten in den letzten zwei Dekaden. Dadurch wurde ein neuer, weiterer Meilenstein beim Verständnis der Metabolisierung unserer täglichen Nahrungsaufnahme und deren möglichen Folgen für den Organismus gelegt. Obwohl insbesondere die Durchführung von Humanstudien in diesem Wissenschaftsgebiet weiterhin ein herausforderndes Unterfangen darstellt, ist es von enormer Bedeutung, in diesem Forschungsbereich neue Erkenntnisse zu erbringen.

^a Body Mass Index (Körpermasse-Index); eine Maßzahl für die Bewertung des Körpergewichts in Relation zur Körpergröße (mg/kg²).

1.2 Nutrition und das metabolische Syndrom

Die Ernährung (Nutrition) und deren Strategien mit ihren quantitativen als auch qualitativen Merkmalen nehmen einen starken Einfluss auf die Prävalenz der metabolischen Erkrankungen. Für das Körpergewichtsverhalten ist vor allem die Energiebilanz, d. h. die aufgenommene Energie im Verhältnis zur verbrauchten Energie, von entscheidender Bedeutung. So kommt es bei Dysbalance der Energiebilanz zur Gewichtsabnahme bzw. -zunahme. Eine konstante Gewichtszunahme führt zum Übergewicht bis hin zur Adipositas mit den bekannten Folgeerkrankungen, wie z. B. Insulin-Resistenz (verminderte Antwort der Zielorgane wie z. B. Leber, Skelettmuskulatur und Fettgewebe auf Insulin) mit der konsekutiven Entwicklung des Diabetes mellitus Typ 2.⁴ Auf der anderen Seite verbessert eine Gewichtsabnahme bei adipösen Menschen die Insulin-Sensitivität (gleich starke Wirkung auf den Blutzucker mit geringeren Insulinmengen).⁵ Vergleichbares kann man auch auf der Ebene der Fettstoffwechselstörung (Dyslipidämien) erkennen. Auch hier führt eine Gewichtszunahme zu einer Verschlechterung des Fettstoffwechselprofils im Blut, eine Gewichtsabnahme zur Verbesserung.^{6,7} Makronährstoffe (Kohlenhydrate, Proteine, Fette) untereinander haben keinen differenten Einfluss auf den Gewichtsverlust per se. Eine kohlenhydratarme Ernährung führt mittelfristig zu einer stärkeren Gewichtsreduktion als eine fettarme Kost.^{8,9} Allerdings kann diese Ernährungsform je nach Reduktion der Kohlenhydratmenge, ausgedrückt in Energie-Prozent, zu pathologischen Veränderungen im Körper führen.¹⁰ In der OmniHeart-Studie wurden makronährstofforientierte Ernährungsinterventionen untereinander und ihr Einfluss auf den Organismus verglichen. Es zeigte sich ein positiver Effekt der fett- und proteinreichen Ernährungsform im Vergleich zu einer kohlenhydratreichen Kost auf kardiovaskuläre Risikofaktoren wie den Plasma-Triglyzerid-Spiegel und den arteriellen Blutdruck.¹¹

Ebenso wurde durch isokalorische^b Kostformen mit einer reduzierten Zufuhr an Kohlenhydraten zugunsten des prozentualen Fettanteils bei übergewichtigen und adipösen Frauen und Männern mit einer nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD = Non-Alcoholic Fatty Liver Disease) gezeigt, dass der Leberfettanteil und damit das Risiko für die Genese von Diabetes mellitus Typ 2 und kardiovaskulären Erkrankungen gesenkt werden kann.^{12,13} Bei Betroffenen einer Adipositas per magna^c führte eine Hochfett-Protein-Kost zu einer Leberfettreduktion mit Unterdrückung der Fettaufnahme und der Lipid-Biosynthese.¹⁴ Unter einer PUFA-(mehrfach ungesättigte Fettsäuren)-

^b Griechisch „iso“ = „gleich“, d. h. gleicher Gehalt an Kalorien.

^c BMI > 40 kg/m².

Diät konnte eine Leberfettreduktion mit signifikanter Reduktion von Insulin, Gesamt-Cholesterin/HDL-Cholesterin-Verhältnis, LDL-Cholesterin und Triglyceriden (TG) beobachtet werden.¹⁵

Jacob et al. untersuchten bei Ratten die metabolischen Veränderungen nach der Aufnahme einer isokalorischen Hochfett-Kost und konnten erhöhte Blutzucker-Werte im Vergleich zu den Kontrolltieren messen.¹⁶ In einer humanen Interventionsstudie zeigten die Studienteilnehmenden nach einer isokalorischen fettreichen Kost günstige Effekte auf die kardiovaskulären Risikofaktoren durch Absenkung der TG-Konzentration und einen deutlichen Anstieg des HDL-Cholesterin-Spiegels.¹⁷

Insgesamt wird der Einfluss einer fettreichen Kost auf den Metabolismus in der Wissenschaft kontrovers diskutiert.^{16,18–20}

Der Einfluss einer isokalorischen Hochfett-Kost auf den Glucose- und Lipid-Metabolismus bei gesunden normalgewichtigen Menschen ist bislang in der Literatur nicht beschrieben worden.

Metabolismus der Nahrungsfette

Über die Ernährung werden aus der Gruppe der Nahrungsfette vor allem TG mit Fettsäuren, aber auch Cholesterinester und Phospholipide aufgenommen. Bei den Fettsäuren unterscheidet man gesättigte Fettsäuren (SFA), trans-Fettsäuren, einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA) und PUFA. Zunächst werden die Nahrungsfette (Lipide) durch die Magenperistaltik emulgiert und teilweise durch die Magenlipase zerlegt. Im Zwölffingerdarm werden die Lipide durch Enzyme des Pankreassekrets weiter abgebaut. Die daraus resultierenden Lipolyse-Produkte bilden mit der Gallensäure Mizellen, die über das Darmlumen zu den Darmzellen (Enterozyten) des Dünndarms transportiert werden, dort zerfallen und wiederum als Lipolyse-Produkte durch Diffusion oder durch Carrier^d-vermittelten Transport in die Enterozyten aufgenommen werden. In den Enterozyten werden sie zu TG und Cholesterinester resynthetisiert und mit Phospholipiden, Apolipoproteinen und lipidlöslichen Vitaminen in Chylomikronen verpackt, dann z. T. direkt ins venöse Blutssystem resorbiert (kurzkettige Fettsäuren sowie Glycerin) oder über die Lymphbahnen (Ductus thoracicus) an der Leber vorbei ins Blut transportiert.

Der Großteil der aus der Ernährung stammenden TG wird durch die Lipoproteinlipase (LPL) in Fettsäuren und Glycerin gespalten und in dieser Form vom Muskel- und Fettgewebe zur Energiebereitstellung bzw. -speicherung aufgenommen. Durch die Abspaltung der TG entstehen choleste-

^d Carrier (englisch) = „Träger“. Biochemische Bedeutung: Ein Carrier beschleunigt oder ermöglicht den Transport von Stoffen.

rinangereicherte Rest-Chylomikrone, die sogenannten Kern-Remnants und Oberflächen-Remnants. Erstere werden in die Leber aufgenommen und damit aus dem Blutkreislauf entfernt. Letztere tragen zur Bildung von HDL-Cholesterin bei. Endogen gebildete TG und Gesamt-Cholesterin werden mit dem Very Low-Density Lipoprotein (VLDL)-Cholesterin an das Blut abgegeben. Die Zusammensetzung des VLDL-Cholesterins ist u. a. von der Ernährung abhängig. Unter Einfluss der LPL wird VLDL-Cholesterin zu Intermediate-Density Lipoprotein (IDL)-Cholesterin hydrolysiert. Dieses wird entweder vom hepatischen LDL-Cholesterin-Rezeptor gebunden und aus dem Plasma entfernt oder durch die Triglyceridlipase zum cholesterinreichen LDL-Cholesterin metabolisiert. LDL-Cholesterin wird von den LDL-Rezeptoren der Leber und der extrahepatischen Zellen erkannt und aus dem Plasma eliminiert. Werden diese nur verlangsamt entfernt, z. B. durch gesteigerte Aufnahme von SFA und Gesamt-Cholesterin mit daraus resultierender verminderter LDL-Rezeptoraktivität, spielen sie bei der Atherogenese (Entstehung der Atherosklerose) über ihre ausgeprägte zytotoxische Wirkung auf das Gefäßendothel eine entscheidende Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen.²¹

1.3 Chronobiologie und ihre biologischen Rhythmen

Die Chronobiologie (griechisch „chrónos“, die „Zeit“) befasst sich mit der Erforschung der zeitlichen Organisation in der Physiologie und im Verhalten von Organismen, in denen die biologischen Rhythmen im Vordergrund stehen.

Einer der Gründer der Chronobiologie, der deutsche Mediziner und Verhaltensphysiologe Jürgen Aschoff (1913–1998), definierte solch einen biologischen Rhythmus als „circadian“ („circa“ = „ringsum“, „dies“ = „Tag“), also eine Periodendauer von etwa 24 Stunden. Sein Ursprung liegt in der Erddrehung, aber auch im Orbit der Erde um die Sonne mit 365 Tagen, die wiederum für die Jahreszeitenausprägung, besonders in den äquatorfernen Regionen, verantwortlich ist. Diese physikalisch bedingten Rhythmen haben einen starken, aber auch regelmäßigen Einfluss auf die Lebensräume der Organismen. Licht stellt den stärksten Stimulus (Zeitgeber) dar. Durch innere Uhren, die Oszillatoren (Schrittmacher – *pacemaker*), können die äußeren Rhythmen nachgeahmt und biologische Prozesse auf sie eingestellt bzw. synchronisiert werden. Der dominante Pacemaker in diesem System ist der suprachiasmatische Nucleus (SCN), dem die anderen Oszillatoren primär unterstellt sind. Zusammen stellen sie eine rhythmusgenerierende innere Einheit dar. Dieses circadiane System steuert die zeitliche Organisation von vielen physiologischen einschließlich metabolischen Aspekten, wie z. B. den Schlaf-Wach-Rhythmus und die damit verbundene Nahrungs-

aufnahme, die Körperkerntemperatur und die Hormonsekretion.^{22,23} Auch ohne periodisch wiederkehrende Zeitgeberreize laufen diese durch endogene Generierung weiter. Man spricht von sogenannten desynchronisierten bzw. freilaufenden (*free-running*) Rhythmen, die durch Experimente im Andechser Bunker von Aschoff et al., aber auch bei blinden Menschen nachgewiesen wurden.²⁴

Der circadiane Rhythmus spiegelt sich in einer Amplitude und einer Talsohle wider. Der Abstand beider ergibt die absolute Amplitude. Der Zeitraum dieser absoluten Amplitude ist die Phase bzw. Acrophase eines oszillatorischen Zyklus. Die relative Amplitude wiederum wird aus dem Verhältnis einer rhythmischen Variablen während eines circadianen Zyklus definiert.

Das circadiane System ist ein komplexes Feedback-(Rückkopplung)-Netzwerk mit multiplen Interaktionen zwischen dem zentralen Nervensystem und den peripheren Oszillatoren. Da die circadiane Regulation eng an die metabolische Homöostase gekoppelt ist, kann eine Änderung dieses Zustands zur Entstehung von Krankheiten z.B. im Rahmen des metabolischen Syndroms führen.²⁵ Klinische Studien zeigen, dass Myokardinfarkte, hypertensive Krisen, Lungenödeme sowie asth-mabedingte bzw. allergische Rhinitis vermehrt zu bestimmten Tageszeiten auftreten.^{26–28} Aber auch im Laufe des Lebens ist eine Verschlechterung des circadianen Rhythmus beim Menschen und anderen Säugetieren erkennbar. Der sich hierbei manifestierende physiologische Alterungsprozess des Menschen ist gekennzeichnet durch fragmentierte Schlafepisoden und gestörte Aktivitätsmuster. Bei mittelaltrigen Mäusen ist dieser Prozess durch eine zu beobachtende Reduktion der Amplitude des dominanten Schrittmachers von ~ 50% im Vergleich zu jungen Mäusen charakterisiert.^{29,30} Eine Desynchronisation bei diesen Tieren führt zur Gewichtszunahme über Reduktion des Energieverbrauchs und ist mit einer Insulin-Resistenz assoziiert. So könnte zum Teil die ansteigende Prävalenz des Diabetes Typ 2 bei älteren Menschen als Folge einer mit dem Alter reduzierten Rhythmik des dominanten Schrittmachers gesehen werden.³¹

1.4 Suprachiasmatischer Nucleus (SCN)

In Säugetieren und damit auch bei Menschen ist die dominante circadiane Uhr („master circadian clock“) im SCN des anterioren Hypothalamus lokalisiert. Es handelt sich hierbei um paarig angeordnete, schmale, zellreiche Strukturen mit sehr vielen Synapsen, die sich oberhalb des optischen Chiasmata an der Basis des dritten Ventrikels befinden und aus einer Ansammlung von ca. 20 000 heterogenen Neuronen bestehen. Man unterscheidet den dorsomedialen („shell“) und den ventrolateralen („core“) Anteil.³²

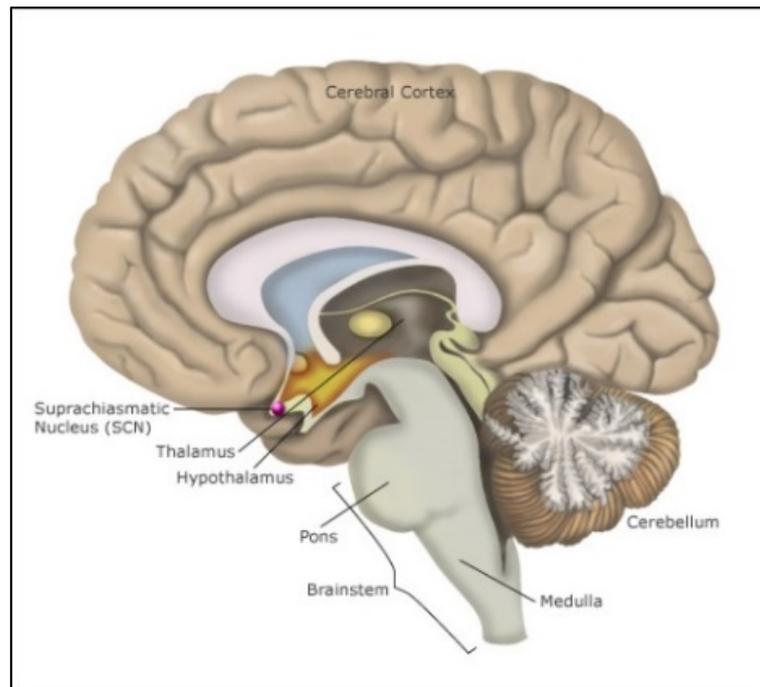


Abbildung 1: Lokalisation des suprachiasmatischen Nukleus im menschlichen Hirn³³

Da der SCN nicht exakt auf 24 Stunden synchronisiert, ist es notwendig, den circadianen Schrittmacher jeden Tag neu „anzupassen“, damit die innere Uhr nicht zu sehr vom äußeren Tag-Nacht-Zyklus abweicht.

Bei Säugetieren erfolgt die Synchronisation des circadianen Systems vorwiegend über die Projektion von Licht auf melanopsinhaltige Photorezeptoren der Retina, spezielle lichtempfindliche non-visuelle Ganglienzellen, mit anschließender Weiterleitung der Signale über den retinohypothalamischen Trakt (RHT) zum SCN.^{34,35} Dieser Trakt ist bereits in der 36. Schwangerschaftswoche bei Menschen ausgebildet und nimmt ab dem 12. postnatalen Tag seine Funktion auf.³⁶ Melanopsin, ein Protein, welches in photosensiblen Ganglienzellen des Auges entdeckt wurde, spielt bei der circadianen Synchronisation eine wesentliche Rolle.³⁷

Zentral gibt der SCN Signale an die subparaventriculäre Zone (SPZ) und an den dorsomedialen Hypothalamus (DMH). Die Fasern des SCN reichen bis zum Gebiet des Nucleus arcuatus im ventromedialen Hypothalamus und bis zum ventralen Teil des lateralen Hypothalamus. Dies ist ein Hinweis auf die Interaktion zwischen den Hirnbereichen, wo u. a. die Nahrungsaufnahme und Aktivität organisiert wird.³⁸ Die SPZ und der DMH, innerviert durch den SCN, geben wiederum viele Signale an andere Hirnregionen ab, einschließlich des paraventriculären Nucleus (PVN), des lateralen Hypothalamus, des ventrolateralen und medialen präoptischen Kerns, der die Glucocorticoid-Ausschüttung, den Schlaf-Wach-Rhythmus, die Nahrungsaufnahme sowie die Thermoregu-

lation steuert. Verschiedene zyklisch durch den SCN ausgestoßene humorale Faktoren, wie Transforming Growth Factor- α , Prokineticin 2 und Cardiotrophin-Like-Cytokine, haben über efferente Verbindungen Wirkung auf die peripheren Oszillatoren.^{39–41}

1.5 „Periphere“ circadiane Oszillatoren

Zu Beginn der Circadianik-Forschung vermutete man, dass ein circadianer Schrittmacher in nur wenigen spezialisierten SCN-Zellen im Gehirn existiert und es sich um eine einfache lineare Verbindung mit dem peripheren Gewebe handelt. Im Verlauf der Zeit entdeckte man aber auch die sogenannten „peripheren“ Oszillatoren, nicht nur in Gewebszellen außerhalb, sondern ebenso innerhalb des Gehirns.^{42–44}

1998 konnte man zunächst in Zellkulturen von Ratten-Fibroblasten zeigen, dass diese außerhalb des SCN gelegenen Oszillatoren circadiane Gene exprimieren.⁴⁵ Bei transgenen Ratten, die unter der Kontrolle eines Per1-Mäuse-Promoters Luciferase rhythmisch exprimierten, beobachtete man die Expression des Uhr-Gens (Clock-Gen) Per1 in Echtzeit. Mit dieser Methode wurden daraufhin in nahezu allen peripheren Organen aktive Clock-Gene nachgewiesen, so auch in Leber, Intestinum, Skelettmuskel, Herz, Fettgewebe und Retina.^{46–50} Diese Clock-Gene repräsentieren das final aufeinander abgestimmte Ergebnis des hierarchisch aufgebauten circadianen Systems, indem sie die tägliche Modulation von vielen physiologischen Abläufen ermöglichen. Sie spielen demzufolge bei der Aufrechterhaltung des gesundheitlichen Gleichgewichts bzw. bei der Entstehung von Krankheiten eine größere Rolle, als lange angenommen wurde.⁵¹ Die Regulation der circadianen Genexpression in einem gewebspezifischen Muster wiederum ermöglicht jeder Zelle, ihre spezifische Funktion angemessen durchzuführen. Der Anteil zyklisch exprimierter Transkripte in jedem peripheren Gewebe liegt bei 5–20% und der überwiegende Anteil dieser Gene ist gewebspezifisch.^{52,53} Diese Ergebnisse unterstreichen die circadiane Kontrolle über einen Großteil der Transkripte im peripheren Gewebe.⁵⁴

1.6 Entrainment

Unter Entrainment versteht man in der Chronobiologie den aktiven Prozess der Synchronisation der inneren Uhren (endogenen Rhythmen) an regelmäßig wiederkehrende Umgebungsfaktoren (exogene Zeitgeber).⁵⁵ Saisonaler Wechsel der Temperaturen und des Tag-Nacht-Rhythmus, aber auch moderne Lebensstile in einer großen Variationsbreite wie künstliche Lichteinstrahlung, Reisen durch die Zeitzonen, Schichtarbeit, körperliche Aktivität oder Mahlzeiten stellen eine große

Herausforderung an die Synchronisation der circadianen Uhren dar. Der SCN bzw. die anderen Oszillatoren koordinieren diese peripheren Ereignisse durch direkte Kontrolle oder indirekte Mittel. Es kommt zur Veränderung bzw. Anpassung des Schlaf-Wach-Rhythmus, des Essverhaltens, der Aktivität, der Körpertemperatur, des Stoffwechsels sowie zur veränderten Hormonproduktion (siehe Abbildung 2).

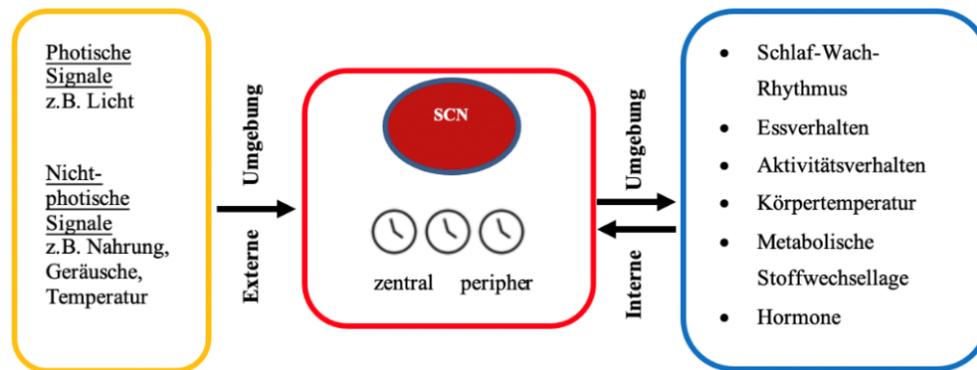


Abbildung 2: Entrainment: Anpassung der circadianen Uhren auf externe Zeitgeber, modifiziert⁵⁶

Entrainment sichert die tägliche Ausrichtung der endogenen circadianen Rhythmen an die Umgebung innerhalb eines zulässigen Periodenbereichs, des sogenannten Entrainment-Bereichs, der wiederum abhängig von der Robustheit der circadianen Oszillatoren ist, d. h., je stärker ein Oszillator ist, desto schmaler ist sein Entrainment-Bereich.⁵⁷ So konnte an Lungenexplantaten von Ratten gezeigt werden, dass die dortigen Oszillatoren einen breiten Entrainment-Bereich besitzen, während die starken SCN-Oszillatoren einen schmalen aufweisen.⁵⁸

1.7 Chronotyp

Menschen zeigen starke interindividuelle Unterschiede in der Organisation ihres 24-Stunden-Tages. Dies ist sehr gut an ihrem präferierten Schlaf-Nacht-Rhythmus erkennbar, der eine annähernde Normalverteilung in einer definierten Population aufweist. Für die auftretenden individuellen Unterschiede ist eine genetische Varianz^e verantwortlich. Der phänotypisch in Erscheinung tretende sogenannte Morgentyp („Lerche“) hat eine Free-Running-Phase (siehe Kap. 1.3) von weniger als 24 Stunden. Er tendiert dazu, unter nicht sozioökonomischen Einflüssen früh aufzustehen, und erreicht mental und physisch seine Bestleistung vormittags. Dagegen bevorzugt der sogenannte Spättyp („Eule“), bei dem die Free-Running-Phase länger als 24 Stunden dauert, morgens später

^e Unterschiedliche phänotypische Ausprägung eines Gens.

aufzustehen, und erreicht seine Bestleistung um 12 Uhr mittags und später. Die daraus resultierende phäno- und genotypische Varianz stellt den einzelnen Chronotyp dar. Eine weitere Determinante für die Einteilung des Chronotyps stellt die Einflussstärke des Zeitgebers dar. Je schwächer dieser Einfluss ist, desto extremere Formen des Chronotyps, sowohl bei den Früh- als auch bei den Spättypen, treten auf.⁵⁹

Der einzelne Chronotyp unterliegt ebenso alters-, geschlechts- und umweltspezifischen Einflussfaktoren und wird durch das Leben in den verschiedenen Klimazonen, Längen- und Breitengraden bestimmt.^{60–65} Auch wenn in der Regel Kinder eher zu den Morgentypen zählen, erkennt man schon im Kleinkindesalter die entsprechende Ausprägung des individuellen Chronotyps. Doch lässt sich im Allgemeinen erkennen, dass während der Pubertät und im jungen Erwachsenenalter vermehrt der Spättyp in Erscheinung tritt, der sich mit ansteigendem Alter aber wieder vermehrt Richtung Morgentyp verschiebt. Ebenso neigen Frauen vermehrt zum Morgentyp und Männer wiederum stellen eher den Spättyp dar.^{62,66,67} Es zeigt sich daher, dass direkte bzw. indirekte endokrine Faktoren in den Wandel des Chronotyps involviert sein müssen.^{68,69}

Durch soziale Verpflichtungen wie z. B. Arbeit, Schule, aber auch durch andere gesellschaftliche Veranstaltungen wird der Schlaf-Wach-Rhythmus entsprechend angepasst. Dieser starke Einfluss auf das Schlafverhalten wird besonders deutlich, wenn die Schlafzeit von Arbeitstagen und arbeitsfreien Tagen separat analysiert wird. Entstehende Schlafdefizite werden gewöhnlich an arbeitsfreien Tagen, wie dem Wochenende, durch längeres Ausschlafen kompensiert. Eine signifikante Relation zwischen der Schlafdauer an Arbeitstagen und an freien Tagen und dem jeweiligen Chronotyp ist zu erkennen. Je später der Chronotyp, desto kürzer der Schlaf an den Arbeitstagen und desto länger der Schlaf an freien Tagen.⁷⁰ Bleibt diese vollständige Kompensation aus, entsteht ein sozialer Jetlag, ein Schlafdefizit ähnlich dem Reise-Jetlag über verschiedene Zeitzonen: Reise nach Westen am Freitagabend und Rückreise am Montagmorgen. Von diesem sozialen Jetlag sind vor allem die Spättypen betroffen.^{64,70}

1.8 Circadiane Rhythmen im Hormonsystem

Viele Hormone, die im Metabolismus involviert sind, zeigen eine circadiane Rhythmik. Melatonin und Glucocorticoide zählen zu den bestcharakterisierten circadianen Biomarkern beim Menschen und können als mögliche Synchronisationssignale über Transduktionswege molekulare Oszillatoren in peripheren Gewebszellen stimulieren. Sie werden daher als endogene Uhren-Marker zur

Beurteilung der zentralen Circadianik in Humanstudien genutzt.^{71,72} Weitere bedeutende Hormone, die eine circadiane Rhythmik aufweisen, sind u. a. Insulin, Glucagon, Adiponektin, Leptin und Ghrelin.⁷³

Zur Beurteilung des circadianen Schrittmachers ist innerhalb des rhythmischen Profils der Beginn der Sekretion des Hormons von entscheidender Bedeutung. Dieser als DLMO_n (Dim Light Melatonin Onset) bezeichnete Zeitpunkt weist auf den Beginn der Melatoninsekretion bei schwachem Licht hin. Zusätzlich wird der Beginn der Melatoninsekretion klinisch verwendet, um Probleme im Zusammenhang mit dem Einsetzen oder Versetzen des Schlafes zu bewerten. DLMO_n ist daher nützlich, um festzustellen, ob eine Synchronisation erfolgt ist oder ein Free-Running-Rhythmus vorliegt. Ebenso ist DLMO_n wichtig, um eine Veränderung von endogenen Rhythmen zu erkennen bzw. um Phasenverschiebungen oder beschleunigte Phasen bei mitgerissenen Rhythmen zu beurteilen.⁷⁴

1.8.1 Melatonin

1917 beobachteten McCord und Allen, dass es durch Zufütterung eines Extrakts aus der Zirbeldrüse (Epiphyse) zur Hautbleichung bei Kaulquappen kam.⁷⁵ 1958 isolierten der Dermatologe Aaron Lerner und seine Mitarbeiter Melatonin aus der Epiphyse von Rindern. Man nimmt an, dass der Name von der Beobachtung der Fähigkeit zur Aggregation von Melaningranula innerhalb von Melanozyten bei Amphibien stammt.^{76,77} Ein Jahr später erfolgte sogleich die chemische Charakterisierung als amphiphiles^f von Tryptophan abgeleitetes Indolamin.⁷⁸

Die Schlüsselregulatoren der Melatonin-Synthese beim Menschen sind das Licht und der photoperiodische Wechsel der Jahreszeiten. Durch die Messung des Lichtspektrums über spezielle Photorezeptoren der Netzhaut wird die Information monosynaptisch über den RHT an den SCN weitergeleitet (siehe auch Kap. 1.4).^{79,80} Von dort werden die Signale polysynaptisch über die Nuclei paraventriculares an das Ganglion cervicale superior des Spinalkanals und dann weiter über sympathisch-postsynaptische Fasern zur Epiphyse projiziert. Die dort befindlichen α 1- und β 1-adrenergen Rezeptoren werden aktiviert und damit die Hell-Dunkel-Information über eine bestimmte Sekretionsrate von Melatonin umgesetzt.⁸¹ Die β 1-Rezeptoren sind dabei zu Beginn einer Dunkelperiode um den Faktor 10 sensitiver als am Ende der Dunkelperiode.⁸² Durch deren Aktivierung erfolgt die Synthese von Melatonin aus Tryptophan über Serotonin. Melatonin diffundiert sowohl passiv ins Gefäßsystem, wo es an Albumin bindet, wird aber auch in den zerebrospinalen Liquor des zentralen Nervensystems abgegeben.⁸³ Der Abbau von Melatonin im Blutkreislauf weist einen

^f Lat.: „beides liebend“; Eigenschaft von Substanzen, sich in polaren als auch unpolaren Lösungsmitteln zu lösen.

hohen „First-pass“-Effekt⁸ auf, denn es werden bis zu 90 % des zirkulierenden Melatonins hepatisch durch Cytochrom-P₄₅₀-Monooxygenase zu 6-Hydroxymelatonin metabolisiert. Anschließend erfolgt die Konjugation, 60–70 % zu 6-Sulfatoxymelatonin (aMT6s), 20–30 % zu glucuronidierten Derivaten mit anschließender renaler Elimination. Die Halbwertszeit im Blut liegt bei 30–45 Minuten.^{81,84}

Das im zentralen Nervensystem befindliche Melatonin wird zu N¹-Acetyl-N²-Formyl-5-Methoxykynuramin (AFMK) abgebaut, das wiederum zu N¹-Acetyl-5-Methoxykynuramin (AMK) deformyliert werden kann. Neuere Erkenntnisse zeigen, dass etwa ein Drittel des gesamten im Körper befindlichen Melatonins diesen Stoffwechselabbau absolviert.⁸⁵

Die Kompetenz von Melatonin als „Chronobiotikum“ bildet sich in der 8.–12. Woche nach der Geburt aus.^{86,87} Die Sekretion in der Epiphyse ist physiologisch nur auf die Dunkelphase der Nacht beschränkt und variiert im 24-Stunden-Rhythmus um den Faktor 10 bis 100, sodass die Dauer der täglichen Sekretion direkt von der Dauer der Photoperiode abhängig ist.^{88–90} Der Melatonin-Spiegel beginnt während der Abendstunden gegen 20 Uhr anzusteigen, erreicht sein Maximum zur nächtlichen Mitte (zwischen 24 und 4 Uhr), sinkt daraufhin wieder ab und kehrt am Morgen gegen 8 bis 10 Uhr auf sein niedrigstes Niveau zurück.^{81,91} Der beschriebene nächtliche Ablauf triggert zelluläre und molekulare Mechanismen wie z. B. der Clock-Gene bzw. Clock-kontrollierenden Gene, wodurch zeitlich nahe sowie ferne bzw. langwierige Effekte definiert werden, die nach Beendigung des Melatonin-Signals am Folgetag exprimiert und als tägliche adaptive Reaktionen dargestellt werden.⁷⁷ Licht in der Nacht blockiert die Synthese, gesteuert über das retinale melanosinerge System und ein komplexes neuronales System, das seinen Höhepunkt in der Inhibition der sympathischen Projektion auf die Epiphyse hat. Dieses Phänomen der Photoinhibition ist determiniert sowohl durch Licht, insbesondere im Blauwellenbereich (460–480 nm), beginnend bei einer Intensität von 60–130 Lux, als auch durch eine aufrechte Körperhaltung.^{77,92} Die Melatonin-Produktion wird ebenso durch eine Vielzahl von Substanzen wie z. B. Antidepressiva, Antiphlogistika, Benzodiazepine, Koffein oder Alkohol beeinflusst und sogar durch Betablocker vollständig blockiert.⁹¹

Bei saisonalen Veränderungen ist vielmehr die Dauer als die Amplitude der circadianen Melatonin-Ausschüttung entscheidend.^{93–95} Diese saisonale Adaptation ist fundamental für die Anpassung an

⁸ Metabolisierung bei der ersten Passage durch die Leber.

die zu erwartenden Veränderungen der äußeren Umgebungsbedingungen, die typisch für die einzelnen Jahreszeiten sind. Diese Anpassung schließt die jährlichen Zyklen des Metabolismus u. a. der Thermoregulation und des Immunsystems ein.⁷⁷

Neben der Epiphyse sind weitere humane Melatonin-Produktionsquellen (im Magen-Darm-Trakt, in Knochenmarkszellen, Blutplättchen, Lymphozyten und in der Haut sowie bei Hamstern in der Retina) entdeckt worden, die wissenschaftlich zunehmend an Bedeutung gewinnen.⁹⁶⁻¹⁰¹ Zu den o. g. regulatorischen Effekten der zentralen und peripheren circadianen Synchronisation wirkt Melatonin im menschlichen Körper auch regulierend auf den Metabolismus der Knochen sowie auf die Fruchtbarkeit und Reproduktion. Zusätzlich wird angenommen, dass Melatonin auch protektive Effekte gegen oxidativen Stress, abnormale Immunaktivierung und/oder Entzündung, Karzinomentwicklung, Übergewicht, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Neurodegeneration hat.¹⁰²

1.8.2 Cortisol – Hauptvertreter der endogenen Glucocorticoide

Die natürlich vorkommenden endogenen Glucocorticoide (GC) sind Corticosteroide, eine Klasse der Steroidhormone. Ihr Name stammt von ihrer unterstützenden Einflussnahme auf die Expression von glucosestoffwechsel-regulierenden Proteinen sowie von ihrem Synthesort, dem Cortex glandulae suprarenalis (Nebennierenrinde), ab. Diese Hormone sind existenziell für das Leben des Menschen.

Als Hauptvertreter der GC beim Menschen macht Cortisol ca. 95% der Gesamtglucocorticoid-Konzentration aus.^{103,104} Es wird in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde über die Stimulation durch das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) aus Cholesterin produziert. Hierzu wird zunächst Cholesterin über die Cholesterin-Desmolase zu Pregnenolon und durch die 3 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase und Steroid- δ -Isomerase zu Progesteron umgewandelt. Über 17 α -Steroid-Hydroxylase, 21 β -Steroid-Hydroxylase und schließlich über die 11 β -Steroid-Hydroxylase wird Progesteron in Cortisol überführt. Die Gene aller an der Cortisol-Biosynthese beteiligten Hydroxylasen werden unter der Kontrolle der ACTH-Sekretion aus der Hypophyse transkribiert. Die Freisetzung des ACTHs wiederum wird durch das aus dem Hypothalamus sezernierte Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) reguliert. Diese Wechselwirkung mit ihren direkten Einflüssen und Rückkopplungsschleifen (Feedback-Loops) nennt man Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-(HHN)-Achse. Die periphere gewebsspezifische Metabolisierung von Cortisol erfolgt über die Isoenzyme 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase 1 (11 β -HSD1) und 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase 2 (11 β -HSD2). 11 β -HSD1 katalysiert durch Reduktion das intrazelluläre inaktive Cortison in das physiologisch aktive freie und damit biologisch wirksame Cortisol (fCortisol),

quantitativ am häufigsten in der Leber und im Fettgewebe.^{105–107} Die andere Isoform 11 β -HSD2 befindet sich vor allem in der Niere, aber auch im Colon und in den Speicheldrüsen, wo es über eine Oxidation das freie Cortisol zu freiem Cortison (fCortison) inaktiviert. Grundsätzlich werden große Mengen an fCortison, welche durch 11 β -HSD2 aus fCortisol konvertiert wurden, durch 11 β -HSD1 wieder zu fCortisol zurückkonvertiert. Dies wird als Cortisol-Cortison-Shuttle bezeichnet.¹⁰⁸ Die Wirkung von fCortisol entfaltet sich zum Großteil über die Bindung am Glucocorticoid-Rezeptor (GR), welcher weit über den gesamten Körper, auch innerhalb des Gehirns, verbreitet ist. Eine Ausnahme hierbei stellt der SCN dar.¹⁰⁹ Daneben beschränkt sich die Expression des Mineralcorticoid-Rezeptors (MR) auf wenige Gewebe wie Niere, Colon und Plazenta. Über diesen Rezeptor vermittelt 11 β -HSD2 durch Inaktivierung des höher konzentrierten Cortisols die mineralcorticoid-Spezifität von Aldosteron.¹¹⁰ Obwohl die detaillierte Biologie in den Adipozyten (Fettzellen) nur unvollständig bekannt ist, konnte die Expression von GR und MR dort nachgewiesen werden, wobei der GR entzündungshemmende (antiinflammatorische) und der MR entzündungsfördernde (proinflammatorische) Wirkungen vermitteln.^{111,112}

Im Blut liegt Cortisol zu 90 % an Plasmaproteine gebunden vor, davon 75 % an Transcortin, ein spezifisches von der Leber sezerniertes corticoidbindendes α -Globulin, und 15 % an Albumin.^{113,114} Der Abbau erfolgt in den Hepatozyten über die sogenannten A-Ring-Reduktasen durch enzymatische Hydrierung. fCortisol wird über die 5 β -Reduktase zu 5 β -Tetrahydrocortisol (THF) und über die 5 α -Reduktase zu 5 α -Tetrahydrocortisol (allo-THF) reduziert, fCortison dagegen über die 5 β -Reduktase zu 5 β -Tetrahydrocortison (THE) und 5 α -Tetrahydrocortison (allo-THE). Diese Metaboliten umfassen mehr als 50% der gesamten Glucocorticoid-Sekretion.¹⁰⁶ Ein Teil vom fCortisol, fCortison, THF, allo-THF, THE und allo-THE wird renal ausgeschieden, der Rest über den enterohepatischen Kreislauf resorbiert.¹¹⁵

Cortisol wird in einem circadianen Rhythmus mit einem Maximum am Morgen, einige Stunden vor Beginn der Aktivitätsphase, und einem Minimum gegen Mitternacht sezerniert. Für die Regulation der Freisetzung ist eine intakte HHN-Achse notwendig, um die ständige Adaption an Umwelteinflüsse zu gewährleisten.^{116,117} So wird die Aktivität des hypothalamischen CRH-Neurons durch mindestens zwei Stimulusarten reguliert, von denen eine stressinduziert ist, die andere einem biologischen Rhythmus folgt.¹¹⁵ Bei diesem biologischen Rhythmus unterscheidet man wiederum das ultradiane und das circadiane Muster. Das ultradiane^h Cortisol-Muster wird über eine negative Rückkopplungsschleife, in der Cortisol die ACTH-Produktion über den Hypothalamus

^h Ein über den Tag anhaltender Rhythmus mit einer sich wiederholenden Periodendauer von weniger als 24 Stunden.

und die Hypophyse unterdrückt, kontrolliert.¹¹⁸ Der circadiane Cortisol-Rhythmus dagegen involviert die HHN-Achse, die SCN-kontrollierte autonom-nervale Innervation und die lokalen NNR-Clocks.¹¹⁹

Cortisol besitzt eine Schlüsselrolle in der Regulation relevanter Schritte des Metabolismus von Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen. Es steigert den Blutzuckerspiegel und unterstützt die Glucose-Freisetzung aus Zellen und Gewebe nicht nur während einer Stresssituation, sondern genauso nach entsprechender Nahrungs- bzw. Energiezufuhr. So induziert Cortisol die hepatische Gluconeogenese (Neubildung von Glucose), hemmt die Glucose-Aufnahme in das Fettgewebe, stimuliert die Freisetzung von freien Fettsäuren aus dem Fettgewebe, fördert die Aminosäureproduktion aus körpereigenem Protein und bewirkt direkt über den GR die Differenzierung des Fettgewebes.¹²⁰ Weiterhin ist es bei der Regulation des Blutdrucks sowie des Salz- und Wasserhaushaltes involviert und ist essenziell für die verstärkte Synthese und Sekretion von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark mitverantwortlich. Außerdem besitzt es antiinflammatorische und immunsuppressive Effekte durch Einwirkung auf beteiligte Zellen wie Lymphozyten, Neutrophile, Mastzellen und Basophile.^{108,121}

1.9 Nutrition und der circadiane Rhythmus

Die Nahrungsaufnahme ist ein sehr potenter Zeitgeber für den gesamten Organismus, insbesondere für die peripheren Uhren. Der Mensch nimmt in der Regel seine Nahrung während der Tagesstunden zu sich und verdaut mit gleichzeitig stattfindender Nahrungskarenz während der Nachtstunden. Dieser Ablauf korreliert eng mit der Aktivität und steht in deutlicher Interdependenz mit dem circadianen Netzwerk von Cortisol.

Ein interessantes Beispiel eines Nahrungseffektes auf die peripheren Uhren der Leber stammt aus Studien mit Wühlmäusen, die normalerweise ein ultradianes Aktivitätsmuster zeigen, mit kleinen Perioden der Nahrungsaufnahme alle zwei bis drei Stunden. Deren Leberzellen lassen unter physiologischen Umständen keine circadiane Genexpression erkennen. Führte man jedoch einen circadianen Fütterungsplan bei den Wühlmäusen durch, so konnte eine circadiane hepatische Genexpression nachgewiesen werden.^{122,123} Wird die Nahrung den Mäusen an jedem Tag zu einem definierten gleichen Zeitpunkt zugeführt, so ist bei den Tieren ein nahrungsabhängiges Verhalten zwei bis vier Stunden vorab registrierbar, gekennzeichnet durch Anstieg der lokomotorischen Aktivität, der Körpertemperatur und der Glucocorticoid-Ausschüttung sowie durch Steigerung der gastrointestinalen Motilität und der Aktivität an Verdauungsenzymen.^{124–127} Dieses Verhalten stellt

eine angepasste Leistung des biologischen Rhythmus an die Nahrungsaufnahme dar. Auf der anderen Seite gibt es ebenso deutliche Hinweise, dass eine Änderung der Ernährungsweise sowie der Einnahmezeit von Mahlzeiten und deren Zusammensetzung Einfluss auf circadiane Oszillatoren nimmt.^{128–130}

Genetische und molekulare Befunde legen nahe, dass innerhalb des zentralen Nervensystems und des peripheren Gewebes eine gemeinsame Regulierung durch Kopplung von Verhalten und Stoffwechsel, in Anbetracht des täglichen Wechsels von Schlaf-Wach-Rhythmus und Nahrungsaufnahme, vorliegt. Es gibt zwei große Wege, über die metabolische Information den SCN erreichen dürfte: 1. sympathische und parasympathische Äste, 2. Hormone und Nahrungsstoffe, wie die Glucose, passieren die Blut-Hirn-Schranke. Die circadiane metabolische Beziehung stellt ein Netzwerk aus vielen Gewebsarten und Zelltypen dar. Diese Gewebsarten und Zelltypen besitzen endogene circadiane Oszillatoren, die untereinander in einer Weise in Verbindung stehen, was bislang noch nicht richtig verstanden wird. Eine große Anzahl an intrazellulären Proteinen, den sogenannten Kernrezeptoren, die als Liganden-abhängige Transkriptionsfaktoren funktionieren, im Zusammenspiel mit Koaktivatoren und Korepressoren die Genexpression regulieren und eine wichtige Rolle in verschiedenen Stoffwechselwegen und bei der Homöostase des Organismus spielen, sind mit circadianem Expressionsmuster im Fettgewebe und im Glucose-Metabolismus gefunden worden.¹³¹ Außerdem ist nicht klar, welche Signale eine Synchronisation bewirken, es könnte die Nahrung per se bzw. seine Metabolite sein. Hierzu haben verschiedene Studien einzelne Nahrungsbestandteile wie z. B. Glucose, Aminosäuren oder Natrium identifiziert, die fähig sind, den circadianen Rhythmus zu synchronisieren.^{132–134} Aber auch Hormone, die bei der Nahrungszufuhr bzw. in deren Abwesenheit ausgeschüttet werden und den Metabolismus regulieren, haben Einfluss auf die Circadianik des Organismus. Insulin z. B. führt zu einer Induktion von Per1-mRNA in Ratten-Fibroblasten-Kulturen, das als Protein wiederum für die Aufrechterhaltung des circadianen Rhythmus in diesen Zellen verantwortlich ist.¹⁰⁹ Kommt es aufgrund einer Dysregulation zur Veränderung des physiologisch ablaufenden circadianen Rhythmus, so korreliert diese mit erhöhtem Risiko für Übergewicht und das Auftreten von Komorbiditäten: Insulin-Resistenz, Hyperglykämie, Diabetes, Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie, Hypertonie und kardiovaskuläre Erkrankungen.^{54,135,136} Besonders deutlich zeigt sich dies beim Nacht-Esser-Syndrom, definiert als eine Nahrungsaufnahme von mehr als 25 % der täglichen Kalorienzufuhr nach dem Abendessen und das nächtliche Aufwachen zur Nahrungsaufnahme. Die Betroffenen zeigen eine ein- bis dreistündige Phasenverschiebung des circadianen Glucocorticoid-Spiegelverlaufs.^{137,138}

1.9.1 Glucose-Metabolismus und der circadiane Rhythmus

Im Glucose-Metabolismus spielt Insulin eine Schlüsselrolle bei der Hemmung der hepatischen Glucose-Produktion und bei der Stimulation der Glucose-Aufnahme in Insulin-sensitiven Geweben, hauptsächlich in der Skelettmuskulatur und im Fettgewebe. Die Insulin-Sekretion ist ein komplexer periodischer Prozess von schnellen, sich wiederholenden Impulsen alle 10 bis 15 Minuten, überlagert von langsamen Perioden der Sekretion im Bereich von 90 bis 120 Minuten. Die sogenannten Gegenspieler-Hormone von Insulin sind hauptsächlich Glucagon, Katecholamine, Cortisol und somatotropes Hormon (STH). Die tägliche Sekretion von Cortisol und STH folgt einem komplexen Muster der circadianen Rhythmik. Die circadiane Variabilität der Cortisol-Konzentration steht möglicherweise unter physiologischen Bedingungen im kausalen Zusammenhang mit einer optimalen Glucose-Toleranz. Er stellt sich in Form einer höheren und von kürzerer Dauer bestehenden Insulin-Sekretionsantwort am Morgen und reduzierter Insulin-Sensitivität ohne entsprechenden Anstieg der Insulin-Sekretion am Nachmittag bzw. Abend dar.¹³⁵ Auch konnte über eine kontinuierliche Glucose-Infusion ein Abfall der Glucose-Toleranz während der biologischen Nacht, definiert als die Zeit zwischen dem Anfang und dem Ende der Melatonin-Sekretion, gezeigt werden.¹³⁹

Aber auch umgekehrt konnte bei Tierstudien nachgewiesen werden, dass die Effekte auf den SCN und auf periphere Clock-Gene nach Futteraufnahme mit der Freisetzung von Nahrungsmetaboliten oder Hormonen assoziiert sind. Glucose z. B. besitzt die Fähigkeit, auf den circadianen Rhythmus Einfluss zu nehmen. Bei Ratten zeigte sich, dass das Monosaccharid Zeitgebereigenschaften besitzt und damit einen großen Einfluss auf den SCN und auf die für das Füttern verantwortliche Oszillatoren nehmen kann. Unter dem Einfluss des durch die Glucose-Metabolisierung veränderten Energiehaushalts passte sich die Körperkerntemperatur ebenfalls entsprechend an. Des Weiteren wiesen periphere Oszillatoren des Herzens bei diabetischen Ratten eine Phasenverschiebung des circadianen Rhythmus auf.^{132,133,140,141}

1.9.2 Lipid-Metabolismus und der circadiane Rhythmus

Beim menschlichen Fettgewebe wurde physiologisch und pathologisch eine strenge Korrelation zum circadianen Rhythmus nachgewiesen: Adiponektin, Leptin, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1 sowie die Zytokine Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α werden in einem circadianen Verlauf sezerniert.¹⁴²⁻¹⁴⁵ Ebenso konnten im subkutanen als auch im viszeralen Fettgewebe Clock-Gene nachgewiesen werden, deren Aktivität signifikant mit den Parametern des metabolischen Syndroms, wie dem Taillenumfang und dem Cholesterinspiegel, korreliert.¹⁴⁶⁻¹⁴⁹ Außerdem zeigt

die Expression der mRNA des Glucocorticoid-Rezeptor, der Enzyme 11 β -HSD1 und -2 sowie der 5 α -Reduktase ein oszillatorisches circadianes Expressionsprofil im humanen Fettgewebe.^{136,150}

Hochfett-Kostformen erzeugten ebenso Effekte auf den circadianen Rhythmus der Clock-Gen-Expression in der Leber: Die circadiane Rhythmizität des Transkriptionsspiegels von Cholesterol-7 α -Hydroxylase, einem die circadiane Cholesterol-Homöostase kontrollierenden hepatischen Hormon, verschwand bei Mäusen unter dieser Ernährungsform.^{151,152} Auch führten Hochfett-Kostformen bei Mäusen zur Veränderung der Periodik des zentralen Schrittmachers in Form von Futtermehraufnahme während der Licht- im Vergleich zur Dunkelperiode, das Gegenteil zu ihrem physiologischen Essverhalten.¹⁵³ Diese Verhaltensänderung korrelierte sowohl mit der Unterbrechung der Clock-Gen-Expression innerhalb des Hypothalamus, der Leber und dem Fettgewebe als auch mit veränderter zyklischer Expression der am Metabolismus beteiligten Hormone und Nuklearkernrezeptoren.¹⁵³⁻¹⁵⁶ Bei Ratten stieg unter einer Hochfett-Kost der Spiegel von β -Hydroxybutyrat betont in der Nacht an, das eigentliche Zeitfenster für deren physiologische Aktivitätsperiode. Des Weiteren führten Hochfett-Kostformen durch Verstärkung der circadianen Varianz in der Glucose-Toleranz und der Insulin-Sensitivität zur Modulation des Kohlenhydratstoffwechsels.^{25,157} In Ratten verbesserte die Melatonin-Gabe während einer Hochfett-Kost wiederum die Insulin-Sensitivität sowie die Glucose-Toleranz.¹⁵⁸ Außerdem konnte ebenfalls bei Ratten gezeigt werden, dass Melatonin die Gewichtszunahme als Antwort auf eine fettreiche Kost verringerte und den Leptin-Spiegel im Plasma innerhalb von drei Wochen reduzierte, unabhängig von der Gesamtnahrungsmengenzufuhr.¹⁵⁹

1.10 Zielsetzung

Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen und die ansteigende Zahl an betroffenen Kindern und Jugendlichen stellen ein ernsthaftes und wachsendes öffentliches Gesundheitsproblem dar.¹⁶⁰ Eine Primärprävention von ernährungs- und lebensstilbedingten Erkrankungen, wie metabolische Veränderungen, Anstieg von Blutdruck, Schlafstörungen und andere ernährungsbedingte Erkrankungen, ist unabdingbar. Es ist bislang nur sehr unzureichend erforscht worden und damit recht unklar, wann und in welchem Ausmaß die Ernährungszufuhr in unterschiedlicher Zusammensetzung, insbesondere unter isokalorischen Bedingungen, ursächlich mit der Circadianik und Teilen des endokrinen Systems in Zusammenhang steht, die wiederum starken Einfluss auf den Metabolismus nehmen. Der zentrale Schrittmacher des circadianen Rhythmus (SCN) kann beim Menschen nicht direkt untersucht werden. Daher müssen entsprechende andere Marker für die Schrittmacherfunktion genommen werden, um den Schrittmacher und dessen Antwort auf Umweltstimuli

zu untersuchen, sogenannte Marker-Parameter. Dafür eignen sich besonders Melatonin und Cortisol.⁷¹

Das Ernährungsverhalten und der Lebensstil werden gewöhnlich im frühen Leben erworben bzw. geprägt. Das Ernährungsverhalten im ersten postnatalen Jahr dürfte selbst an der Programmierung einer langfristigen Gesundheit beteiligt sein.^{161,162} Zu berücksichtigende Faktoren bei der Entwicklung von Übergewicht sind demnach nicht nur genetische, sondern auch soziokulturelle Einflüsse, bei denen neben der Erziehung auch berufliche Bedingungen, Stress, temporäre Ernährungstrends oder auch Geschmacksprägung eine entscheidende Rolle spielen. Um deren Einfluss beurteilen zu können, bieten sich Zwillingsstudien an, die anhand von Varianzanalysen die Frage nach Genetik und Umwelt gleichzeitig mit abdecken.

Die Hauptziele dieser Arbeit im Rahmen der NUGAT-Studie mit gesunden Zwillingen waren:

1. Untersuchung potentieller Veränderungen des Glucose- und des Lipid-Stoffwechsels nach einer einwöchigen isokalorischen Hochfett-Kost zur Beurteilung der metabolischen Sofortreaktion sowie nach einer sechswöchigen isokalorischen Hochfett-Kost zur Beurteilung der verzögerten metabolischen Reaktion;
2. Analyse der Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost auf circadiane Uhren durch indirekte Datenerhebung über hormonelle Veränderungen der Markervariablen Melatonin und Cortisol und deren Metaboliten;
3. Evaluierung der Genexpression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe nach einer isokalorischen Hochfett-Kost und deren Korrelation zu GC und deren Metaboliten;
4. Untersuchung der Heritabilität des Melatonin- und Glucocorticoid-Metabolismus unter einer isokalorischen Hochfett-Kost.

Die daraus resultierende Hypothese lautet:

Eine isokalorische Hochfett-Kost führt zur Veränderung im Glucose- bzw. Lipid-Metabolismus und nimmt genetisch determinierten Einfluss auf circadiane Uhren bei gesunden Zwillingen.

2 Material und Methoden

2.1 Material

Kalorimetrie:

- Druckminderer für Kalibrierungsgas, Firma CareFusion, San Diego, USA
- Gasgemischfüllung 0,75 % CO₂, 20 % O₂, Firma CareFusion, San Diego, USA
- Gasgemischfüllung 26 % O₂, Firma CareFusion, San Diego, USA
- Kalibrationspumpe inklusive Adapter, Firma CareFusion, San Diego, USA
- KIT Regulator 2CAL Gas, Firma CareFusion, San Diego, USA
- Massenflusssensor Flowmeter, Firma CareFusion, San Diego, USA
- Sammelschlauch für Atemgas, Firma CareFusion, San Diego, USA
- Software VMax, Firma CareFusion, San Diego, USA
- VMax Encore Serie 29n, Firma CareFusion, San Diego, USA

Anthropometrie:

- GPM Anthropometer – mit einer Genauigkeit von 0,1 cm, Firma Siber & Hegner, Zürich, Schweiz
- kalibrierte elektronische Soehnle-Körpergewichtswaage – mit einer Genauigkeit von 0,1 kg, Firma Leifheit, Nassau, Deutschland

Aktivität:

- Aktivitätssuhr: Polar FA-20, Firma Polar Electro GmbH, Büttelborn, Deutschland
- Pedometer: Calorie Walk, Firma Tanita, Tokio, Japan

Blutproben:

- ABX Pentra 400, Firma ABX GmbH, Radeberg, Deutschland
- ABX Pentra 401, Firma ABX GmbH, Radeberg, Deutschland
- ABX-Reagenzien, Firma ABX GmbH, Radeberg, Deutschland
- Alkoholisches Hautantiseptikum (Octeniderm®, farblos), Firma Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
- Askina® Brauncel® Zellstofftupfer (4 × 5 cm), Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Biosphere® Filter Pipettenspitze, 200 µl, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- DYNEX ELISA Automat DSX, MedicalExpo Company, Marseille, Frankreich
- Einmalspritzen (Injekt), 5 ml, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Fixierverband Askina® Soft I.V., steril, 8 × 6 cm, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Heraeus Multifuge 3S-R, Universalzentrifuge, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Insulin-ELISA, Firma Mercodia, Uppsala, Schweden
- Kombi-Stopfer, steril, Firma Intermedica GmbH, Klein-Winternheim, Deutschland
- Kochsalz-Spüllösung (0,9 %), 5 ml, Firma Fresenius SE & Co. kgaA, Bad Homburg, Deutschland
- Kühlschrank –80 °C, HFU 3280, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Mechanische Pipette Proline Biohit, 50–200 µl, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
- Mehrwegehahnsystem (Discofix®-3), steril, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Mikro-Schraubröhre, steril, 2 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland

- Multi-Adapter, steril, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- S-Monovette, Serum, steril, 1,2 ml und 2,7 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- S-Monovette, Kalium-EDTA, steril, 2,7 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Stauschlauch
- Venenverweilkanüle (Vasofix® Braunüle), steril, Größe 17 G, 18 G, 20 G, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland

Saliva (Speichel):

- Biosphere® Filter Pipettenspitzen, 100 µl, 1000 µl, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- DYNEX ELISA Automat DSX, MedicalExpo Company, Marseille, Frankreich
- Heraeus Multifuge 3S-R, Universalzentrifuge, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Kühlschrank –80 °C, HFU 3280, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Mikro-Schraubröhre, steril, 2 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Non-Extraktion-Melatonin-Saliva-ELISA (RE54041), Firma IBL International GmbH, Hamburg, Deutschland
- Pipette Eppendorf Research Plus, 50–100 µl, Pipette Eppendorf Research 100–1000 µl, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Salivette® mit Kunststofffaserrolle, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Vortex Genie2, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA

24-Stunden-Sammelurin:

- 24-Stunden-Urin-Sammelbehälter, 3 l, Firma BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA
- Biosphere® Filter Pipettenspitzen 20, 100, 1000 µl, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- DYNEX ELISA Automat DSX, MedicalExpo Company, Marseille, Frankreich
- Kühlschrank –80 °C, HFU 3280, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Melatoninsulfat-ELISA (RE54031), Firma IBL International GmbH, Hamburg, Deutschland
- Pipette Eppendorf Research Plus, 2–20 µl, 50–100 µl, Pipette Eppendorf Research 100–1000 µl, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Schraubröhre, steril, 15 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Urin-Monovette Luer, inklusive aufsteckbare Entnahmespitze, steril, 10 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Vortex Genie2, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA

Subkutane Fettbiopsie:

- Abdecktuch (Foliodrape Protect), 45 × 75 cm, Firma Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
- Alkoholisches Hautantiseptikum (Octeniderm® farblos), Firma Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
- Biopsiebesteck (Hepafix® Luer Lock mit Aspirationsspritze, 10 ml und Cutifix® Skalpell), Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Dewar-Isoliergefäß, Firma kgW-Isotherm, Karlsruhe, Deutschland
- Einmalkanüle (Sterican), braun, Größe 26 G, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Einmalspritze (Injekt), 10 ml, 20 ml, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland

- Präzisionswaage Adventure-Pro, Firma Ohaus GmbH, Nänikon, Schweiz
- Kalt/Warm-Kompresse, 12 × 29 cm, Firma C + V Pharma Depot GmbH, Versmold, Deutschland
- Kochsalz-Spüllösung (0,9 %), 5ml, Firma Fresenius SE & Co. kgaA, Bad Homburg, Deutschland
- Kühlschrank –80 °C, HFU 3280, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Lochtuch (Foliodrape Protect), 45 × 75 cm, Firma Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
- Lokalanästhetikum (Lidocain 1 %), 10ml, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland
- Mikro-Schraubröhre, steril, 2 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Mullkompressen (Euro Gauze HS), 7,5 × 7,5 cm, steril, Firma Henry Schein Medical GmbH, Hamburg, Deutschland
- OP-Handschuhe (Peha-Profile Plus), Gr. 7, Firma Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland
- Pflaster (Drop Med), steril, 10 × 8 cm, Firma Pietrasanta Pharma, Lucca, Italien
- Rotilabo-Probenlöffel, steril, 35 × 25 mm, Firma Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe, Deutschland
- Siebgewebe Nitex, 150 cm, Sefar AG, Heiden, Schweiz
- Sonderkanüle Sterican, Größe 14 G, Firma B. Braun, Melsungen, Deutschland

Genanalyse:

- Agarose, Biozym Scientific GmbH, Oldendorf, Deutschland
- Autoklav Varioklav®, Firma H + P Labortechnik AG, München, Deutschland
- Basenpaarleiter, Fermentas, Fisher Scientific, Schwerte, Deutschland

- Biosphere® Filter Pipettenspitzen, 100 µl, 1000 µl, 1250 µl, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Chloroform von Merck kgaA, Darmstadt, Deutschland
- Combitips advanced®, Eppendorf Biopur®, 100 µl, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- ecoShield™ Eco Nitrile PF 250 Handschuhe, Shield Scientific, Bennekom, Niederlande
- Eppendorf Multipipetter® Plus, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Ethanol 70 % (hergestellt aus Ethanol absolut, Firma AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland und 30 % RNase-free Water, Firma MP Biomedicals, Santa Ana, Kalifornien, USA)
- Gel Imager Fujifilm, Fuji Foto Film Co. LTD, Tokio, Japan
- Heraeus Multifuge 3S-R, Universalzentrifuge, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- High-Capacity cDNA Reverse Transkriptionskit, Invitrogen, Firma Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Kühlschrank -80 °C, HFU 3280, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Mastercycler, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland, Wessling-Berzdorf
- MicroAmp® Optical 384-Well Reaction plate, Applied Biosystems, Firma Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- MicroAmp® Optical Adhesive Film, Applied Biosystems, Firma Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Micro-Tube low binding, 1,5 ml, Firma Sarstedt, AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Mikro-Schraubröhre mit autoklavierten Kugeln, steril, 2 ml, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Mikrowelle, Micromaxx

- NanoDrop-ND-1000, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Pipetten Eppendorf Research 10–100 µl, 100–1000 µl, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Power SYBR® Green PCR Master Mix, Applied, Biosystems, Firma Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Primer-Sequenzen 11β-HSD1 und -2, Invitrogen, Firma Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- RNase-Inhibitor, Ambion, Firma Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- RNeasy® Lipid Tissue Mini Kit, Firma Quiagen GmbH, Venlo, Niederlande
- Rotizell®-Tissue Tücher, Firma Roth, Karlsruhe, Deutschland
- SafesSeal Reagiergefäß, 2 ml, steril, Firma Sarstedt, AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
- Speedmill P12, Firma Analytik Jena AG, Jena, Deutschland
- Tris-Acetat-EDTA-Puffer
- Vortex Genie2, Firma Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- Zentrifuge 5415 D, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Zentrifuge 5417 R, Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- 6 × Loading Dye Solution, Fermentas, Fisher Scientific, Schwerte, Deutschland

Software:

- ClinicalTrials.gov Studienregistrierung: www.clinicaltrials.gov
- Datenbank des National Center for Biotechnology Information: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- GraphPad Prism 6, Firma GraphPad Software, San Diego, Californien, USA

- Munich Chronotype Questionnaire online Eingabe: https://www.bioinfo.mpg.de/mctq/core_work_life/core/introduction.jsp?language=deu
- Online Service der U.S. National Library of Medicine: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- PRODI 4.5 LE 2001 expert, Firma Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Deutschland
- Software Primer Express 2.0, Firma Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
- SPSS Statistics, Version 20, Firma IBM, Chicago, Illinois, USA
- ViiA 7 Real – Time PCR System, Software v.1.2., Applied Biosystems, Firma Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, USA

2.2 Studiendesign

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin genehmigt und durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF-Förderungsnummer: 0315424) finanziert sowie beim internationalen Studienregister ClinicalTrials.gov gemeldet (Registrierungsnummer: NCT01631123).

Die Rekrutierung von Zwillingspaaren erfolgte über das Dienstleistungsunternehmen Health Twist GmbH, Berlin, das sich auf Zwillingstudien mit dem Forschungsschwerpunkt Genetik und Gesundheit spezialisiert hat.

Zusätzlich wurden öffentliche Medien, selbstverfasste Zeitungsberichte sowie Flyer- und Plakataktionen eingesetzt.

Danach erfolgte durch ein telefonisches Interview bei 318 interessierten Zwillingspaaren die Prüfung einer potenziellen Studieneignung, von denen 154 zur Voruntersuchung (Screening) in das Studienzentrum eingeladen wurden.

Neben einer ärztlichen Untersuchung erfolgten beim Screening Untersuchungen im Nüchternzustand, definiert als Nahrungskarenz von mindestens zehn Stunden: Blutuntersuchung (kleines Blutbild, Transaminasen, Nierenparameter, Lipide, Elektrolyte, Gerinnung, CRP, Glucose, Insulin, HbA_{1c}, Zygotie), Bestimmung der Glucose-Toleranz mittels eines zweistündigen oralen Glucosetoleranztests (oGTT), anthropometrische Untersuchung, indirekte Kalorimetrie (Grundumsatzmessung).

Für den Studieneinschluss war eine signierte Einwilligungserklärung notwendig, der eine ausführliche ärztliche Aufklärung vorausging.

Zu den Einschlusskriterien zählten ein BMI von 18–35 kg/m², eine BMI-Differenz des Zwillingspaares ≤ 3 kg/m², ein Alter zwischen 18 und 70 Jahren und ein stabiles Körpergewicht in den vergangenen drei Monaten (± 3 kg). Ausschlusskriterien waren die regelmäßige Einnahme stoffwechselbeeinflussender und/oder gerinnungshemmender Medikamente, konsumierende chronische Krankheiten (Krebs, HIV, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), Typ 1- und Typ 2-Diabetes mellitus, aktuelle oder geplante Schwangerschaft oder Stillzeit, Niereninsuffizienz, mittel- bis hochgradige Leberinsuffizienz, mittel- bis hochgradige Anämie, schwere infektiöse Erkrankung, mittel- bis hochgradige koronare Herzerkrankung oder Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, aortokoronarer Venenbypass, instabile Angina pectoris oder Apoplex innerhalb der letzten sechs Monaten, kein aktueller Wunsch zur Gewichtsreduktion in den nächsten vier Monaten, Nahrungsmittelallergien, Essstörungen, Blut- bzw. Plasmaspende in den letzten zwei Monaten, Teilnahme an anderen klinischen Studien in den letzten drei Monaten, regelmäßige überkontinentale Reisen und Schichtarbeit.

Die Studienteilnehmenden mussten zwei Ernährungsinterventionen (Kostformen) mit isokalorischer Energiemenge über jeweils sechs Wochen einhalten. Zunächst wurde, entsprechend der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) für eine ausgewogene Ernährungsform, mit einer isokalorischen Kohlenhydrat-Intervention bestehend aus einer Makronährstoffverteilung von 55 E % Kohlenhydrate, 15 E % Proteine, 30 E % Fette (10 % SFA, 10 % MUFA, 10 % PUFA) begonnen. Diese erste Ernährungsintervention sollte die Studienteilnehmenden homogen auf eine gesunde Ernährungsform einstellen (Run-in-Phase). Die ersten fünf Wochen ernährten sich die Studienteilnehmenden auf der Grundlage von Ernährungsberatungen ohne Bereitstellung von Lebensmitteln (freie Phase), in der letzten Woche wurde die Ernährung standardisiert (standardisierte Phase), in der die Studienteilnehmenden zum größten Teil die Lebensmittel (bis auf leicht verderbliche Lebensmittel wie z. B. Obst) vom Institut gestellt bekamen und ihnen ein zeitlicher Rahmen für die jeweilige Einnahme der Mahlzeit vorgeschrieben wurde. Diese isokalorische Kohlenhydrat-Kost diente als Kontroll-Kost zur anschließenden isokalorischen Hochfett-Kost, der zweiten Ernährungsintervention, bestehend aus einer Makronährstoffverteilung von 40 E % Kohlenhydrate, 15 E % Proteine, 45 E % Fette (18 % SFA, 17 % MUFA, 10 % PUFA). Sie begann zunächst mit einer standardisierten Phase von einer Woche Dauer, in der den Studienteilnehmenden wieder die Lebensmittel gestellt und der Zeitrahmen der jeweiligen Einnahme der Mahlzeit vorgeschrieben wurde, gefolgt von einer freien Phase von vier Wochen. Die isokalorische

Hochfett-Kost wurde dann mit einer erneuten standardisierten Phase von einer Woche abgeschlossen. Nach jeder standardisierten Phase erfolgte ein Studientag (ST) eines Zwillingspaars (siehe Abbildung 3):

1. ST nach sechs Wochen Kohlenhydrat-Intervention, davon die letzte Woche standardisiert (KH)
2. ST nach einer Woche standardisierter Hochfett-Intervention (HF1)
3. ST nach sechs Wochen Hochfett-Intervention, davon die letzte Woche standardisiert (HF6)

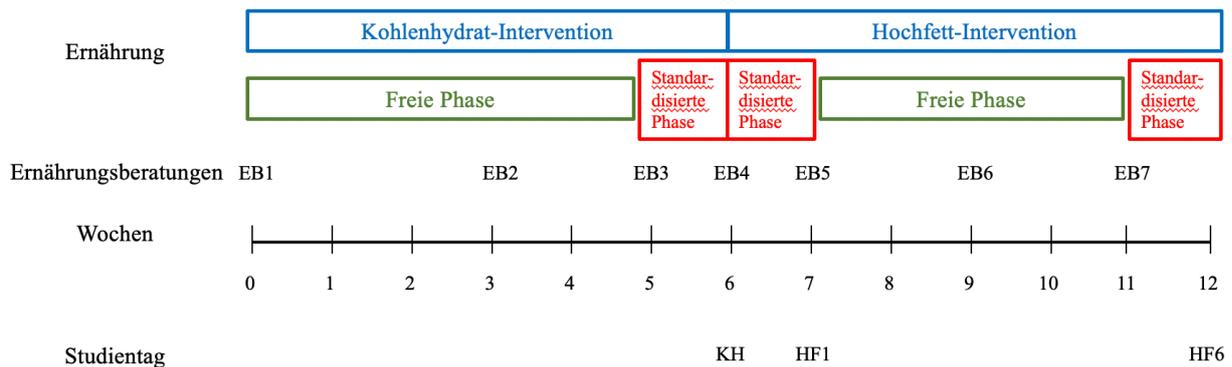


Abbildung 3: Studienablauf der NUGAT-Studie

Abkürzungen: EB: Ernährungsberatung, KH = Studientag der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = Studientag der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = Studientag der sechswöchigen Hochfett-Intervention

An diesen Studientagen erfolgten im Nüchternzustand der Studienteilnehmenden (Definition siehe S. 43) zunächst die Durchführung der Anthropometrie, diverse Blutentnahmen, eine subkutane Fettbiopsie sowie die Erhebung der Schlafprotokolle.

Außerdem wurden die Studienteilnehmenden vorab genauestens instruiert, Saliva- und Urinproben einen Tag vor dem jeweiligen Studientag zu sammeln. Diese Proben wurden dann am jeweiligen Studientag in die Studienambulanz mitgebracht und anschließend verarbeitet.

Zusätzlich wurden die Studienteilnehmenden in den jeweiligen drei standardisierten Phasen gebeten, mithilfe eines Pedometers und einer Aktivitätsuhr ihre tägliche Aktivität aufzuzeichnen.

2.3 Nutrition

Die Studienteilnehmenden wurden während der gesamten Studiendauer engmaschig durch eine Ernährungswissenschaftlerin betreut, die in regelmäßigen Abständen sieben Ernährungsberatungen (EB) durchführte, zwei davon (EB 2 und EB 6) optional telefonisch (siehe Abbildung 3). Im Rahmen der stattgefundenen EB lernten die Studienteilnehmenden, ihr Essverhalten den entsprechenden Ernährungsinterventionen anzupassen. Als Getränke waren Wasser, Tee und ungesüßter

Kaffee gelistet, aber auch Light-Getränke sowie Süßstoffe waren grundsätzlich erlaubt. Zusätzlich wurden die Studienteilnehmenden angeleitet, drei verschiedene Arten von Ernährungsprotokollen über die gesamte Studiendauer zu führen. Sie dienten der Dokumentation über die Einhaltung der Ernährungsvorschriften und dem rechtzeitigen Intervenieren bei möglichen Kostfehlern.

Ernährungsprotokoll Typ 1: Freie Ernährungsprotokolle über jeweils fünf aufeinanderfolgende Tage, einen Wochenendtag eingeschlossen. Die Studienteilnehmenden sollten ausführlich notieren, was sie im jeweiligen Zeitraum gegessen und getrunken hatten. Einsatzzeitpunkte dieses Protokolltyps waren: vor Studienbeginn, zwei Wochen nach Beginn der Kohlenhydrat- und zwei Wochen nach Beginn der Hochfett-Kost.

Ernährungsprotokoll Typ 2: Das Essverhalten wurde über einen Fragebogen zum Lebensmittelkonsum (Food Frequency Questionnaire – FFQ) jeweils über vier Tage pro Woche protokolliert. Hierbei handelt es sich um einen Fragebogen, bei dem die Teilnehmenden unter Beachtung des jeweils vorgegebenen Ernährungsziels eine Auswahl von 94 am häufigsten konsumierten Lebensmittelprodukten zur Dokumentation hatten. Der Einsatzzeitraum dieses Protokolltyps war ab der 1. EB bis zum Beginn der standardisierten kohlenhydratbetonten Ernährungsphase und ab dem 2. ST bis zum Beginn der standardisierten fettbetonten Phase.

Ernährungsprotokoll Typ 3: In den standardisierten Phasen war nur die Aufzeichnung des Trinkverhaltens und etwaiger Fehler der Ernährungsvorschriften notwendig.

Bei den Protokolltypen 1 und 2 sollten die Teilnehmenden das zu sich genommene Essen notieren, wenn möglich abwiegen und/oder Maßeinheiten, den Markennamen und Kochrezepte hinzufügen. Alle in den jeweiligen Protokolltypen notierten bzw. vorgegebenen Lebensmittel wurden in eine länderspezifische Lebensmitteldatenbank übertragen und ausgewertet.

Isokalorische Kostform

Um eine isokalorische Kostform zu gewährleisten, wurde anhand der Bestimmung des Ruheenergieumsatzes (Resting Energy Expenditure – REE) und der Aktivität mittels Physical Activity Level (PAL) unter Berücksichtigung des Geschlechts und des Lebensalters der Tagesenergiebedarf der einzelnen Studienteilnehmenden ermittelt und mit der Auswertung des Ernährungsprotokolls Typ 1 vor Studienbeginn abgeglichen und gegebenenfalls während der Studie angepasst.

2.4 Indirekte Kalorimetrie (Grundumsatzmessung)

Mit dieser Methode kann der individuelle Ruheenergieumsatz (REE) bestimmt werden. Dazu befindet sich die Probandin bzw. der Proband liegend unter einer über dem Kopf befindlichen Atemhaube (Canopy) und wird über ein Einlassventil mit Frischluft versorgt, über ein Auslassventil wird die ausgeatmete Luft abgesaugt. Über Sensoren werden die Volumina des ausgeatmeten Kohlendioxids sowie des eingeatmeten Sauerstoffs unter Berücksichtigung der Luftfeuchtigkeit ermittelt. Da die O₂-Speicherkapazität eines Organismus begrenzt ist, können von der aufgenommenen Sauerstoffmenge Rückschlüsse auf die Oxidationsprozesse und damit auf den Energieumsatz gezogen werden. Basierend auf dem Wissen, dass es bei der Oxidation von Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen zu einem nährstoffspezifischen Sauerstoffverbrauch und einer im stöchiometrischen Verhältnis stehenden Kohlendioxidbildung kommt, kann man, unter Berücksichtigung des Energieäquivalents des Sauerstoffs, die Energie berechnen, die pro Liter an verbrauchtem Sauerstoff im Körper freigesetzt wird. Die Untersuchung erfolgte nüchtern beim Screening.

2.5 Physical Activity Level (PAL)

Der PAL ist ein Maß für die körperliche Aktivität. Er umfasst Aktivitäten im Beruf und während der Freizeit und ist abhängig vom Geschlecht sowie vom Alter. Er wird als Vielfaches des Grundumsatzes angegeben.

2.6 Anthropometrie

Die gesamte Körpervermessung erfolgte nüchtern, entkleidet und im Stehen. Zunächst wurde das Körpergewicht gewogen, danach die Körperlänge gemessen. Der BMI wurde aus dem Quotienten des Körpergewichts (in Kilogramm) und dem Quadrat der Körpergröße (in Meter) berechnet ($\text{BMI} = \text{kg/m}^2$). Die Körpervermessung wurde beim Screening, an jedem Ernährungsberatungstermin sowie an allen drei Studientagen durchgeführt.

2.7 Aktivitätsverhalten

Der Tagesenergiebedarf eines Einzelnen kann über die Aktivität beeinflusst werden. Um eine isokalorische Ernährungseinstellung zu gewährleisten, wurden die Studienteilnehmenden gebeten, ihr Aktivitätsverhalten während der gesamten Studiendauer unverändert beizubehalten. Des Weiteren sollten Maskierungseffekte von Umwelt-Zeitgebern wie körperlicher Aktivität auf die Oszillatoren so stark wie möglich reduziert werden.

Die Dokumentation des täglichen Energieverbrauchs, bedingt durch die körperliche Aktivität, erfolgte mittels eines Pedometers und einer Aktivitätsuhr während der drei standardisierten Ernährungsphasen.

2.8 Blutlaborparameter

Im Nüchternzustand wurde den Probandinnen und Probanden nach Desinfektion der Punktionsstelle eine Venenverweilkanüle – in der Regel in die Antekubitalvene – gelegt und ein Mehrwegesystem angeschlossen. Die Durchgängigkeit und korrekte Lage der Venenverweilkanüle wurden unter Aspiration und anschließender Injektion von 3 ml 0,9%iger Kochsalzlösung kontrolliert. Es erfolgte zunächst eine 5-ml-Blutentnahme, deren Probe aufgrund erhöhter Verdünnung mit der Kochsalzlösung verworfen wurde. Anschließend konnte eine Gesamtmenge von 6,6 ml Blut entnommen werden, die sofort für die weitere Diagnostik und Lagerung entsprechend aufbereitet werden musste: Die Serumprobe zur Bestimmung von Glucose, Insulin, Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Freie Fettsäuren (FFA) und Triglyceride wurde zunächst für 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, anschließend mit 3000 rpm (RCF: 1935) bei 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand der Probe wurde in Mikro-Schraubröhrchen abpipettiert und bei –80 °C gekühlt gelagert. Die weitere Aufarbeitung erfolgte im Zentrallabor des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung, Abteilung Klinische Ernährung. Die Bestimmung des HbA_{1c} erfolgte über die Kalium-EDTA-Probe und spiegelt den Glucose-Durchschnitt in den letzten 8–12 Wochen wider. Die HbA_{1c}-Probe kam direkt zur sofortigen Analyse in das o. g. Zentrallabor.

Die Blutabnahmen wurden beim Screening und an den ST 1–3 durchgeführt.

Folgende Blutparameter wurden bestimmt:

Glucose: Hexokinase-Methode (RB: 3,3–5,6 mmol/l)

Insulin: ELISA (RB: 1,6–10,8 mU/l)

HOMA-Index (Homoestasis Model Assessment): Formel von DR Matthews (RB: < 2,5)¹⁶³

HbA_{1c}: Spektrophotometrie (RB: < 5,7%)

Gesamt-Cholesterin: enzymatische CHOD-PAP-Methode (RB: < 5,2 mmol/l niedriges Risiko)

HDL-Cholesterin: kalorimetrischer selektiver Inhibitionstest (RB: weibl.: > 1,7 mmol/l, männl.: > 1,4 mmol/l)

LDL-Cholesterin: kalorimetrischer selektiver Inhibitionstest (RB < 3,4 mmol/l)

FFA: enzymatischer Farbttest (RB: < 0,7 mmol/l)

Triglyceride: enzymatische GPO-PAP-Methode (RB: weibl.: 0,46–1,6 mmol/l, männl.: 0,68–1,88 mmol/l)

Die Zygotiebestimmung erfolgte bei Studieneinschluss durch die Blutabnahme beim Screening durch Health Twist GmbH.

2.9 Munich Chronotype Questionnaire

Ein typisches, einfach durchzuführendes und validiertes Verfahren zur Erhebung des Chronotyps ist der sogenannte Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ). Dieser Fragebogen konzentriert sich insbesondere auf die gegenwärtigen Zeitparameter der Schlaf- und Wachphase. Sein hervorstechendes Merkmal ist insbesondere die Unterscheidung zwischen normalen, modellhaften „freien Tagen“ und „Werktagen“.⁵⁹ Die Bestimmung des Chronotyps basiert dabei auf der Bestimmung der Uhrzeit der Schlafmitte an freien Tagen (MSF), die dann um den Wert des Ausschlafens an freien Tagen korrigiert wird (MSFsc). Dieses Phänomen reflektiert die Kompensation des akkumulierten Schlafdefizits während der Arbeitswoche. Die dafür notwendige Berechnung wurde nur bei Studienteilnehmenden angewandt, die an freien Tagen länger schliefen als an Arbeitstagen und sich nicht durch einen Wecker am Wochenende wecken ließen.

MSFsc ist die grundlegende Bewertung des Chronotyps für den Einzelnen unter den aktuell vorliegenden Lebensumständen und damit abhängig von entwicklungs- und umweltbedingten Bedingungen, z. B. Alter, Geschlecht und Lichtexposition.⁶⁴

Der MSFsc wurde daher auf die Variablen Alter und Geschlecht adjustiert (MSFsasc).⁷⁰

Das tägliche Ausfüllen des MCTQ in Papierform erfolgte vonseiten der Studienteilnehmenden jeweils für die gesamte letzte Woche vor jedem Studientag. Nach anschließender Online-Übertragung durch das Studienzentrum wurden die o. g. Parameter durch das Institut Medizinische Psychologie (Prof. Dr. T. Roenneberg) an der Ludwig-Maximilian-Universität München erhoben.

2.10 Saliva

Der Speichel wurde mittels Salivetten für Melatonin und Cortisol um 4, 8, 12, 16, 20 und 24 Uhr gewonnen und sollte frühestens 30 Minuten nach der Nahrungsaufnahme, der evtl. Medikamenteneinnahme und der Zahnreinigung erfolgen. 15 Minuten vorher sollten die Studienteilnehmenden den Mund intensiv mit Wasser ausspülen. Die nächtliche Saliva-Gewinnung sollte liegend unter natürlichem Nachtlicht erfolgen, also im optimalen Fall unter keiner exogenen Lichtexposition.^{164,165} Bis zum Transfer in die Studienambulanz sollten die Studienteilnehmenden die Salivetten im Kühlschrank bei 2–8 °C lagern. In der Studienambulanz wurden die Salivetten sofort mit 3000 rpm (RCF: 1935) bei 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Das Einhängengefäß mit der Kunststoffrolle konnte anschließend verworfen werden. Das verbliebende Röhrchen mit der Saliva wurde zur Analyse eingesetzt und bis dahin bei –80 °C gekühlt gelagert. Die Probengewinnung erfolgte direkt vor jedem Studientag.

2.10.1 Melatonin

Für die direkte quantitative Bestimmung von Melatonin in der Saliva wurde ein indirekt messender kompetitiver Enzymimmunoassay (Enzyme-linked Immunosorbent Assay = ELISA) verwendet.

Bei dieser Methode konkurrieren das biotinylierte Antigen (Biotin) und das nicht biotinylierte Antigen (Probe) um die begrenzte Anzahl an Bindungsstellen der an den Wells der Mikrotiterplatte gebundenen Antikörper. Nach der Inkubation werden die nicht gebundenen Antigene durch Waschen entfernt. Das antikörpergebundene biotinylierte Antigen wird durch Streptavidinperoxidase als Marker und durch 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) als Substrat bei 450 nm photometrisch bestimmt. Die Intensität der gebildeten Farbe nach der Substratreaktion ist umgekehrt proportional zur Antigen-Konzentration in den Proben. Die Ergebnisse der Proben können direkt anhand der Standardkurve bestimmt werden.¹⁶⁶

Die analytische Sensitivität des angewandten ELISAs für Melatonin in der Saliva lag bei 0,3 pg/ml, die durchschnittliche Reproduzierbarkeit bei 97 % (Bereich: 86–111 %).

Die Melatonin-Sekretionskonzentrationen der Saliva zeigten eine individuelle Variabilität. Der Melatonin-Spitzen Spiegel der Saliva in der Nacht rangierte zwischen 2 bis 84 pg/ml.¹⁶⁷

2.10.2 Cortisol

Es wurden zur quantitativen Bestimmung von Cortisol in der Saliva 250 µl Speichelprobe auf Trockeneis in das Analysezentrum – Steroidlabor des Universitätsklinikums Heidelberg – verschickt,

wo mittels eines hausinternen Radioimmunoassays (RIA) die Analyse erfolgte. Hierfür wurden die Proben mit titriertem Cortisol versetzt und mit Lösungsmittel extrahiert. Nach der Trennung der wässrigen von der Lösungsmittelphase wurden die Lösungsmittelröhrchen getrocknet, das Sediment mit Wasser gelöst und das Eluat im RIA eingesetzt.

Der RIA ist ein kompetitiver Proteinbindungsassay, bei dem Cortisol der Proben bzw. des Standards mit titriertem Cortisol um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen des Cortisol-Antikörpers konkurrieren. Die Menge an titriertem Cortisol, die an den Antikörper gebunden ist, ist umgekehrt proportional zur Analytkonzentration der Probe. Nach einer definierten Inkubationszeit wird ungebundenes Cortisol mittels Dextran-Aktivkohle-Trennung entfernt. Die Messung von gebundenem titriertem Cortisol erfolgt im Flüssigkeitsszintillationszähler.^{168,169}

Die analytische Sensitivität des hausinternen RIAs für Cortisol in der Saliva lag bei 0,15 ng/ml und unterlag hinsichtlich der Reproduzierbarkeit einem Ringversuch.

Die Referenzwerte für das Cortisol-Tagesprofil bei Erwachsenen sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Uhrzeit	4 Uhr	8 Uhr	12 Uhr	16 Uhr	20 Uhr	24 Uhr
Referenzwerte (ng/ml)	0,3–4,2	0,9–8,1	0,9–6,0	0,8–3,7	0,4–3,0	0,2–1,5

Tabelle 1: Referenzwerte für das Cortisol-Tagesprofil in der Saliva bei Erwachsenen

2.11 24-Stunden-Sammelurin

Die Studienteilnehmenden erhielten explizite Instruktion für die komplette und korrekte Durchführung der 24-Stunden Urinsammlung: Das Sammeln des Urins startete jeweils am Tagesbeginn mithilfe eines 3-Liter-Sammelbehälters, der keine weiteren chemischen Zusätze erhielt.¹⁷⁰ Nach dem Verwerfen des sogenannten Morgenurins, definiert als der erste gelassene Urin in den Morgenstunden nach dem nächtlichen Schlaf, begann die komplette Urinsammlung bis zum Morgenurin des Folgetages, der den Abschluss der Sammlung bedeutete. Die Probandinnen und Probanden wurden instruiert, den Beginn und das Ende der Sammlung zeitlich zu notieren. In der Studienambulanz wurde die Gesamturinmenge bestimmt. Die Urinproben wurden sofort in 10-ml-Röhrchen pipettiert und bis zur weiteren Bestimmung bei -80 °C gelagert.¹⁷¹ Die 24-Stunden-Urinsammlung erfolgte direkt vor allen drei Studientagen.

Zur Beurteilung des Melatonin-Metabolismus wurde der Metabolit aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin analysiert, für den Glucocorticoid-Metabolismus fCortisol, fCortison und deren Metaboliten THF, allo-THF und THE. Zur korrekten Beurteilung der einzelnen Parameter wurden deren

analysierte Konzentrationen jeweils mit der intraindividuellen 24-Stunden-Urinsammelmenge und dem Urin-Kreatinin korreliert.

Zur Zeit der Studienanalyse gab es noch kein labortechnisches Verfahren, um allo-THE zu bestimmen.

2.11.1 Melatonin-Metabolit aMT6s

Für die direkte quantitative Bestimmung des Melatonin-Metaboliten aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin wurde ein direkt messender kompetitiver Enzymimmunoassay verwendet.

Bei diesem Assay konkurrieren eine unbekannte Menge an Antigen in der Probe und eine bekannte Menge an enzymmarkiertem Antigen um die Bindungsstellen der an den Wells der Mikrotiterplatte gebundenen Antikörper. Nach erfolgter Inkubation kommt es zur Entfernung der nicht gebundenen Antigene. Die Intensität der gebildeten Farbe wird nach der Substratreaktion mit TMB photometrisch bei 450 nm gemessen. Sie ist umgekehrt proportional zur Antigen-Konzentration in den Proben.

Die Ergebnisse der Proben wurden direkt anhand der Standardkurve bestimmt. Die analytische Sensitivität des Tests lag bei 1,0 ng/ml, die durchschnittliche Reproduzierbarkeit bei 105,8 % (Bereich 91–122,3 %).

Die Referenzwerte für aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin bei Erwachsenen betragen 7,5–58,1 µg/24 h.¹⁷²

2.11.2 fCortisol, fCortison, THF, allo-THF, THE, A-Ring-Reduktasen und 11β-HSD

Für die In-vitro-Diagnostik zur quantitativen Bestimmung von fCortisol und fCortison und deren Metaboliten THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin wurden 10-ml-Urinproben auf Trockeneis in das Analysezentrum – Steroidlabor des Universitätsklinikums Heidelberg – verschickt, wo mittels hausinternen Radioimmunoassays (RIA) nach Extraktion und Chromatografie die Bestimmung durchgeführt wurde. Es handelte sich hierbei um das gleiche RIA-Testprinzip, das auch für die Cortisol-Bestimmung in der Saliva verwendet wurde.^{108,169,173} Es erfolgte eine Extraktion beider Steroide und deren Metaboliten THF, allo-THF und THE aus einer Probe mit Lösungsmittelmischungen sowie eine chromatografische Trennung unter Verwendung einer Celite-Minisäule. Die Verlustrate von Extraktion und Reinigung wurden durch Messung von titriertem Cortisol, Cortison und deren Metaboliten ermittelt. Der Probenwert, im RIA anhand der erstellten Standardkurve ermittelt, wurde um die jeweilige Verlustrate korrigiert. Die analytische

Sensitivität und Reproduzierbarkeit sind der Tabelle 2 zu entnehmen, die Referenzwerte der Tabelle 3.

	fCortisol	fCortison	THF	allo-THF	THE
Analytische Nachweisgrenze	1,5 µg/l	1,5 µg/l	0,06 mg/l	0,06 mg/l	0,08 mg/l
Reproduzierbarkeit	101,7 ± 7,2	96,5 ± 7,2	99,4 ± 7,9	98,8 ± 5,6	96,2 ± 5,2

Tabelle 2: Nachweisgrenze und Reproduzierbarkeit des hausinternen RIAs für die einzelnen zu bestimmenden Parameter im Sammelurin

fCortisol	fCortison	THF	allo-THF	THE
10–60 µg/24 h	20–140 µg/24 h	0,5–3,5 mg/24 h	0,5–4,5 mg/24 h	0,5–5,5 mg/24 h

Tabelle 3: Referenzwerte für GC im 24-Stunden-Sammelurin bei Erwachsenen

Zur Abschätzung der in der GC-Metabolisierung bedeutenden Enzymaktivität der 11β-HSD-Isoenzyme und der A-Ring-Reduktasen wurden verschiedene Ratios (Verhältnisse) von fCortisol, fCortison und deren Urinmetaboliten THF, allo-THF und THE aus dem Sammelurin bestimmt. Zur Beurteilung der 11β-HSD-Gesamtaktivität wurde die Ratio aus der Summe von THF und allo-THF zu THE ermittelt.¹⁷⁴

Lineare Zusammenhänge im Rahmen des Cortisol-Stoffwechsels zwischen dem fCortisol dem fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin und der mRNA-Expression der zwei Isoformen von 11β-HSD wurden mittels bivariater Korrelation analysiert. Da durch die Voranalysen gezeigt wurde, dass 11β-HSD1 und -2 geschlechts- und altersabhängig sind, erfolgte die Adjustierung für Geschlecht und Alter. Die Stärke der Zusammenhänge liegt zwischen -1 und +1 (siehe auch Kap. 2.14).

2.12 Subkutane Fettgewebsbiopsie

Nach örtlicher Betäubung mit 1 % Lidocain eines 2 × 2 cm großen abdominellen Hautareals lateral des Bauchnabels wurde unter sterilen Bedingungen eine kleine Inzision von ca. 3 mm Länge durchgeführt, durch die eine Kanüle mit angeschlossener Vakuum-Biopsiespritze eingeführt wurde. Durch langsame Bewegungen der Biopsiespritze im Winkel von etwa 20° zur Hautoberfläche konnten kleine subkutane Fettgewebsstücke gelöst und in die Biopsiespritze angesaugt werden. Anschließend wurde das Biopsat mit einer 0,9%igen Kochsalzlösung gespült, gewogen und sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur weiteren Analyse wurde die Probe bei -80 °C gelagert. Die Wundversorgung erfolgte durch einen Steristrip, eine Mullkomresse und ein steriles Pflaster. Die Biopsien wurden an allen drei ST durchgeführt.

2.13 Genexpression von 11 β -HSD1 und -2

2.13.1 RNA-Extraktion

Mithilfe des RNeasy® Lipid Tissue Mini Kit erfolgte aus etwa 500 mg Fettgewebe, welches aus der subkutanen Biopsie entnommen wurde, zunächst die RNA-Isolierung zur Analyse des Genexpressionsprofils von 11 β -HSD1 und 11 β -HSD2. Die Proben wurden zunächst mit 1 ml Quiazol lysiert, mehrmals resuspendiert, in ein steriles Reaktionsgefäß mit Kugeln überführt und für 3 Minuten mit 50 Hertz bei Raumtemperatur homogenisiert. Diese Schritte wurden so oft wiederholt, bis ein Homogenisat entstand. Zu diesem Homogenisat wurden 300 μ l Chloroform hinzugegeben, für etwa zwei Minuten auf dem Vortexer gemischt und anschließend 15 Minuten mit 14 000 rpm (RCF: 21.342) bei 4 °C zentrifugiert. Die dabei entstandene wässrige RNA-haltige Phase wurde in ein Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurde das gleiche Volumen an 70%igem Ethanol zugefügt und gevortext. In weiteren Schritten wurde nun das gesamte Volumen zu jeweils 700 μ l in ein RNeasy Spin Column (2-ml-Sammelgefäß) überführt und 15 Sekunden bei 10 000 rpm (RCF: 12.205) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Dann wurden 350 μ l RW1-Puffer zugefügt und wieder 15 Sekunden mit 10 000 rpm (RCF: 12.205) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Anschließend wurden 10 μ l DNase I stock solution mit 70 μ l RDD-Puffer vermengt, von dem jeweils 80 μ l direkt in das RNeasy Spin Column pipettiert und für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Danach wurden 350 μ l RW1-Puffer dazugegeben und für 15 Sekunden bei 10 000 rpm (RCF: 12.205) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Dem schloss sich die Zugabe von 500 μ l RPE-Puffer mit anschließender Zentrifugation von 15 Sekunden mit 10 000 rpm (RCF: 12.205) bei Raumtemperatur an. Dieser Schritt wurde noch einmal wiederholt. Nach jedem Zentrifugationsschritt wurde der Überstand verworfen. Anschließend wurde das RNeasy spin column in ein steriles Reaktionsgefäß gegeben, 30 μ l RNase-freies Wasser zugefügt und für eine Minute mit 10 000 rpm (RCF: 12.205) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Der Überstand enthielt die RNA, aus der die RNA-Konzentration analysiert werden konnte. Bis zur weiteren Analyse wurde die eluierte RNA bei -80 °C gelagert.

2.13.2 Quantitative und qualitative RNA-Analytik

Anschließend an die RNA-Isolierung wurde zunächst die spektralphotometrische Bestimmung der RNA-Konzentration sowie deren Reinheit durchgeführt. Die RNA-Konzentration wurde mit dem NanoDrop®-Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 260 nm bestimmt. Für die Bestimmung der Reinheit der RNA musste der Quotient der Extinktion (E) bei einer Wellenlänge von 260 nm und 280 nm bestimmt werden (E_{280}/E_{260}), der bei guter Qualität der RNA zwischen 1,8 und 2,2

liegt. Die Messungen wurden mit je 1 µl Probe als Dreifachbestimmung durchgeführt und daraus das arithmetische Mittel berechnet.

2.13.3 Reverse Transkription von RNA

Mit dem Enzym Reverse Transkriptase (RT) ist eine Umschreibung von mRNA in cDNA möglich. Pro Ansatz für 20 µl Gesamtvolumen wurden 10 µl RNA-Probe (1 µg), 2 µl 10 × RT-Puffer, 0,8 µl dNTP-Mix, 2 µl 10 × RT-Random-Primer, 1 µl RT, 1 µl RNase-Inhibitor und 3,2 µl Wasser genommen.

Im Mastercycler wurde die RT unter definierten Bedingungen durchgeführt:

1. Inkubation für 10 Minuten bei 25 °C,
2. RT für 120 Minuten bei 37 °C,
3. Inaktivierung der RT für 5 Sekunden bei 85 °C,
4. Abkühlen der Proben auf 4 °C.

Die synthetisierten cDNA-Proben wurden bei -20 °C gelagert.

2.13.4 Primer-Design

Mithilfe der Datenbank des *National Center for Biotechnology Information* konnte die Primer-Sequenz von 11β-HSD1 und 2 eruiert werden. Danach wurden entsprechende Reverse Primer und Forward Primer mit dem Software-Programm *Primer Express 2.0* konzipiert. Im Anschluss wurde die Primer-Spezifität durch *Basic Local Alignment Search Tool*, ein Online-Service der *U.S. National Library of Medicine*, kontrolliert.

In der Realtime-PCR verwandte Primer:

11β-HSD1 Primer-Sequenzen:

Forward Primer-Sequenz: 5' GCA ATG TAG TGT GCT GAG GCT G 3'

Reverse Primer-Sequenz: 3' GCT TAT CAT CTG GCG AAG ATG G 5'

11β-HSD2 Primer-Sequenzen:

Forward Primer-Sequenz: 5' GGC GCT ACT CAT GGA CAC ATT 3'

Reverse Primer-Sequenz: 3' CCC ACG TTT CTC ACT GAC TCT G 5'

2.13.5 Quantitative Realtime-PCR und Schmelzkurvenanalyse

Die Realtime-PCR ist ein quantifizierendes Nachweisverfahren und stellt eine Weiterentwicklung der konventionellen, rein qualitativen PCR dar. Es kommen u. a. spezifische Primer sowie ein hit-zestabiles Enzym (Taq-Polymerase) zur Anwendung, die zur Vervielfältigung definierter DNA-Bereiche führen. Die Detektion der PCR-Produkte erfolgt schon während der PCR durch Messung einer gleichzeitig freigesetzten Fluoreszenzstrahlung.

Die Reaktionen fanden in 384-Well-Mikrotiterplatten statt, wobei jeder Reaktionsansatz ein Gesamtvolumen von 5 μ l hatte, dessen Zusammensetzung in Tabelle 4 aufgeführt ist.

Reagenz	Eingesetzte Menge	Endkonzentration
Power SYBR® Green PCR Master Mix (2 \times)	2 μ l	0,8 \times
Wasser	1,3 μ l	–
Forward Primer (5 μ M)	0,35 μ l	350 nM
Reverse Primer (5 μ M)	0,35 μ l	350 nM
cDNA-Probe	1 μ l	–

Tabelle 4: Zusammensetzung eines PCR-Ansatzes mit einem Gesamtvolumen von 5 μ l

In die Kavitäten der Platte wurden zuerst die verschiedenen cDNA-Proben vorgelegt und anschließend der Mastermix, bestehend aus Power SYBR® Green, Wasser und Primern, hinzugefügt. Die Platten wurden mit einer transparenten adhäsiven Klebefolie verschlossen und anschließend für zwei Minuten bei 800 rpm (RCF: 138) bei 4 °C zentrifugiert. Von den Proben wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt, für jedes verwendete Primer-Paar eine Standardreihe mit acht Verdünnungsstufen sowie eine Negativkontrolle in Form von Wasser (non template control, NTC) auf jeder Mikrotiterplatte mitgeführt. Als Referenzgen (housekeeping gene), welches unabhängig vom Zelltyp, vom Zellzyklus und von äußeren Einflussfaktoren exprimiert wird, fungierte das 60S-Ribosomal-Protein L32 (RPL32).

Nach jeder PCR wurde zur Überprüfung der Reinheit der PCR-Produkte eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt.

Durch die unspezifische Bindung von SYBR®Green an die doppelsträngige DNA könnten unspezifische PCR-Strukturen wie z. B. PCR-Dimere ebenfalls zu einem Fluoreszenzsignal führen. Durch einen kontinuierlichen langsamen Temperaturanstieg wird die doppelsträngige DNA aufgeschmolzen. Durch Absenken der Temperatur hybridisiert die DNA erneut an einem spezifischen Schmelzpunkt. Diese geht mit einem Fluoreszenzanstieg einher. Für jedes PCR-Produkt entsteht

so ein individueller Schmelzkurvenverlauf, welcher die Unterscheidung zwischen spezifischen und unspezifischen PCR-Produkten zulässt.

Die PCR und die anschließende Schmelzkurvenanalyse erfolgten im Applied Biosystems®ViiA7™ real-time-PCR-System unter den in Tabelle 5 aufgeführten Bedingungen.

Reaktionsschritt	Zeit	Temperatur
Anfängliche Denaturierung – Aktivierung der Taq-Polymerase	10 Minuten	95 °C
Polymerasekettenreaktion (45 PCR-Zyklen):		
• Denaturierung	15 Sekunden	95 °C
• Primer Annealing und Elongation	1 Minute	60 °C
Schmelzkurvenanalyse	15 Sekunden	95 °C
	15 Sekunden	60 °C
	15 Sekunden	95 °C

Tabelle 5: Reaktionsschritte der PCR und Schmelzkurvenanalyse mit Zeit und Temperaturangaben

2.13.6 Gelelektrophorese

Im Anschluss an die Realtime-PCR wurden die Proben zur Kontrolle von möglichen unspezifischen Bindungen des Fluoreszenzfarbstoffes SYBR®Green an die doppelsträngige DNA gelelektrophoretisch aufgetrennt. Somit konnte die Fragmentlänge der PCR-Produkte überprüft und eine mögliche Nebenproduktbildung, welche die Ergebnisse verfälschen könnte, ausgeschlossen werden. Hierfür wurde ein 2%-Agarose-Gel hergestellt: 4 g Agarose wurden in 200 ml 2 × Tris-Acetat-EDTA-Puffer (TAE-Puffer) gelöst, bei 700 Watt in der Mikrowelle aufgekocht und anschließend abgekühlt. Nach Zugabe von 100 µl Ethidiumbromid wurde die Lösung in eine Gelkammer gegossen und Taschenkämme eingesetzt. Die Proben wurden mit Ladepuffer vermischt und in die Geltaschen des abgekühlten und verfestigten Gels aufgetragen. Ebenfalls wurden 0,5 µg einer Basenpaarleiter aufgetragen, um die Länge der DNA-Fragmente zu bestimmen. Die DNA-Proben wurden bei 120 Volt Spannungsfeld für 30 Minuten aufgetrennt und mithilfe des Gel-Imagers Fujifilm detektiert und analysiert.

2.14 Statistische Analyse

Entsprechend der GCP (Good Clinical Practice – Gute klinische Praxis)-Vorschriften wurden nur anonymisierte Daten für die statistische Analyse mithilfe des Software-Programms SPSS, Version 20, analysiert. Zuvor wurden die Rohdaten auf Vollständigkeit, Einheitlichkeit, auf mögliche doppelte Werte, Plausibilität sowie mittels Box-Whisker-Plots auf Datenausreißer untersucht. Für

die statistisch-mathematische Definition eines Ausreißers wurden als Vertrauensintervalle jeweils das 1,5- bis 3-Fache der Interquartilsabstände (Interquartile Range – IQR) herangezogen. Werte über dem 3-fachen Interquartilsabstand wurden als extreme Ausreißer identifiziert und für die folgenden Berechnungen nicht berücksichtigt. Anschließend wurde der Kolmogorov-Smirnov-Z-Test durchgeführt, um die bereinigten Daten auf Normalverteilung zu untersuchen. Bei fehlender Normalverteilung wurden die entsprechenden Daten mithilfe des natürlichen Logarithmus (ln) transformiert. Die Studie erfolgte über wiederholte Messungen von bestimmten Merkmalen an drei aufeinanderfolgenden Studientagen (Zeitpunkten). Um die Merkmalsunterschiede an den jeweiligen Zeitpunkten zu untersuchen, wurden Dependenzanalysen durchgeführt. Hierzu diente für die Longitudinalanalyse bei verbundenen Stichproben die einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung (One-way repeated-measures ANOVA). Ebenfalls wurde der Mauchly-Test auf Sphärizität zur Überprüfung der Varianzhomogenität der einzelnen Faktorstufen und der Korrelationen untereinander durchgeführt. Lag eine Signifikanz vor, d. h., die Sphärizität wurde verletzt, kam die Greenhouse-Geisser-Korrektur zur Anwendung, welche die Freiheitsgrade reduziert. Hier lag das Signifikanzniveau, angegeben als p-Wert, bei $\alpha \leq 0,05$. Durch die durchgeführte One-way repeated-measures ANOVA wurde festgestellt, ob signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der drei Messzeitpunkte vorlagen. Lag ein signifikanter Einfluss der Ernährungsintervention auf den jeweiligen Parameter vor, wurde für die einzelnen Untersuchungszeitpunkte anschließend eine Bonferroni-post-hoc-Analyse durchgeführt. Dadurch konnten signifikante Veränderungen der einzelnen Parameter an jedem Untersuchungszeitpunkt bzw. nach jeder Ernährungsintervention analysiert werden. Um bei vorliegender mehrfacher Testung die sogenannte α -Inflation zu beheben, wurde das Signifikanzniveau durch die Anzahl der durchgeführten Testungen korrigiert. Somit waren im Gruppenvergleich Ergebnisse mit einem Signifikanzniveau von $\alpha < 0,017$ statistisch signifikant (*), mit $\alpha < 0,001$ statistisch hochsignifikant (**). Die Ergebnisse wurden als Median mit IQR bzw. Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD, Standard Deviation) angegeben. Der Median ist grundsätzlich unpräziser als der Mittelwert. Der Median ist jedoch weniger empfindlich gegen Ausreißer und wurde bei den Parametern eingesetzt, die mit Ausreißern zu stark verunreinigt waren.

Zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Unterschiede und altersabhängiger Effekte auf die Parameter wurden entsprechende Subgruppen gebildet. Die Einteilung in drei Alterssubgruppen wurde unter dem Aspekt der optimalen Verteilung der Probandenanzahl und der altersbedingten Variabilität des Hormonspiegels vorgenommen. Für all diese Subgruppen wurde erneut eine One-way repeated-measures ANOVA und ggf. die Bonferroni-post-hoc-Analyse durchgeführt. Auch

hier wurden die Ergebnisse als Median mit IQR bzw. Mittelwert mit Standardabweichung mit dem oben beschriebenen gleichen Signifikanzniveau angegeben.

Im Rahmen der Varianzanalyse wurde zum Ausschluss signifikanter Unterschiede zwischen den Medianen mehrerer Messzeitpunkte der Kruskal-Wallis-Test angewandt, bei dem als Prüfgröße der sogenannte H-Wert ermittelt wurde.

Zur Bestimmung der Produktionsmenge von Melatonin bzw. Cortisol in der Saliva wurde im Anschluss der entsprechenden o. g. statistischen Vorbereitungsschritte der Wert der Fläche unterhalb der Kurve (AUC = Area Under the Curve) des 24-Stundenverlaufs, also der Konzentration-Zeit-Kurve, ermittelt. Im Falle fehlender Werte wurde als Imputationsverfahren Last Observation Carried Forward (LOCF) eingesetzt.

Die Bestimmung der relativen Genexpression von 11 β -HSD1 bzw. -2 fand durch die relative Standardkurvenmethode statt. Die dafür nötige Regressionsanalyse erfolgte durch die Gerätesoftware. Die relative Quantifizierung jeder Probe in Bezug zum Referenz-Gen erfolgte durch die Bestimmung des Quotienten aus der Konzentration des Zielgens und der Konzentration des Referenzgens. Die resultierenden Konzentrationen stellen nicht die tatsächliche Zielgenkonzentration dar, sondern sind dimensionslose Größen, die der Ermittlung von Konzentrationsunterschieden dienen. Aus ihnen wurde der Mittelwert (jeweils für Studientag 1–3) berechnet.

Zur Überprüfung möglicher Zusammenhänge zwischen den Parametern bzw. innerhalb der Zwillingspaare wurde die bivariate Korrelationsanalyse angewandt. Als Korrelationskoeffizient wurde r (nach Pearson) bei zuvor durchgeführter Prüfung und Vorliegen der Normverteilung gewählt. Die Zusammenhänge können Werte zwischen +1 und -1 annehmen, wobei +1 auf eine starke positive und -1 auf eine stark negative Korrelation hinweist. Hierbei wurden die Ergebnisse mit einem Signifikanzniveau von $\alpha \leq 0,05$ statistisch signifikant (*) und mit $\alpha \leq 0,001$ als statistisch hochsignifikant (**) beurteilt.

Für die Erblichkeitsanalyse werden Varianzkomponenten-Modelle genutzt. Als genetisches Modell zur Quantifizierung der Heritabilität (Erblichkeit von Merkmalen) diente das ACE-Modell. Im Rahmen dieses Modells werden genetische und umweltbedingte Einflüsse gebildet, die als ungemessene Variablen einen Beitrag zu einer möglichen multivariaten Differenz zwischen Zwillingen leisten. Dabei wird der Beitrag der jeweiligen additiven Wirkung der Gene, der gemeinsamen Umwelteinflüsse, wie das gemeinsame Leben in der Familie, aber auch der individuellen Umwelteinflüsse, die nicht gemeinsam auf die Zwillinge wirken, ermittelt. Die Ähnlichkeit der Monozygoten (MZ) ist ein Effekt der gleichen genetischen Konstitution und ihrer gemeinsamen Umwelt,

die der Dizygoten (DZ) ist durch die Hälfte der gemeinsamen genetischen Konstitution und ihrer gemeinsamen Umwelt bedingt. Wenn daher der Grad der Ähnlichkeit der MZ um ein gewisses Maß größer ist als der Grad der Ähnlichkeit der DZ, beweist dies den Einfluss der genetischen Effekte. Als Grundlage für die Berechnung des genetischen Anteils dient die *Falconer Formel*, die eine Schätzformel zur Ermittlung der Heritabilität von Persönlichkeitsmerkmalen darstellt:

$$h^2 = 2 \times (r_{MZ} - r_{DZ})$$

h^2 steht im weiteren Sinne für die Erblichkeit (A), r_{MZ} steht für die Korrelation monozygoter Zwillinge und r_{DZ} für die Korrelation dizygoter Zwillinge.

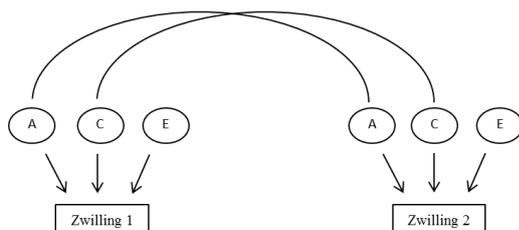
Das Ausmaß der Umwelteinflüsse kann mithilfe der Korrelationen zwischen den monozygoten und dizygoten Zwillingen errechnet werden:

$$A = 2 \times (r_{MZ} - r_{DZ})$$

$$C = r_{MZ} - A$$

$$E = 1 - r_{MZ}$$

Die Korrelationen sind als feste Parameter in dem ACE-Modell definiert: Die Korrelation der genetischen Effekte des Zwilling 1 und des Zwilling 2 eines monozygoten Paares liegt bei 1,0, die der dizygoten Paare bei 0,5. Die Korrelation zwischen den gemeinsamen Umweltfaktoren liegt in der Regel bei 1,0. Hinzu tritt dann noch der Anteil der individuell erlebten Umwelt (siehe Abbildung 4).



A = Genetik (*additive genetics*)

C = gemeinsame Umwelt (*common environment*)

E = individuelle Umwelt (*unique environment*)

Abbildung 4: ACE-Modell, modifiziert¹⁷⁵

Die Berechnung des ACE-Modells erfolgte in Kooperation mit Herrn Dr. Andreas Busjahn, Firma Health Twist.

3 Ergebnisse

Grundsätzlich sind in diesem gesamten Kapitel 3 mit den Bezeichnungen wie *Woche 1*, *Woche 6 der Hochfett-Kost* und *Kohlenhydrat-Kost* jeweils die analysierten Daten an den jeweiligen Untersuchungstagen gemeint, siehe Kap. 2.2.

3.1 Klinische Charakterisierung der Studienteilnehmenden

In der NUGAT-Studie wurden von 92 gesunden Zwillingen erhobene Daten analysiert. Ein Zwillingpaar schied aus privaten Gründen während des Studienverlaufes aus (Drop-out), dessen erhobene Daten wurden nicht analysiert.

Bei den Studienteilnehmenden handelte es sich um 34 monozygote und 12 dizygoten Zwillingspaare, 58 Frauen und 34 Männer. Die Altersspanne der Gesamtkohorte betrug 18–70 Jahre. Das mediane Alter der Gesamtkohorte lag beim Studieneinschluss bei 25,3 Jahre, das der Frauen bei 26,8 Jahren, das der Männer bei 23,9 Jahren. Das mediane Körpergewicht betrug 64,1 kg in der Gesamtkohorte, bei den Frauen 61,4 kg und bei den Männern 78,3 kg. Der BMI lag in der Gesamtkohorte bei 22,5 kg/m², bei den Frauen betrug dieser 21,7 kg/m² und bei den Männern 24,0 kg/m², siehe Tabelle 6.

	gesamt	monozygot	dizygot
Zwillingspaare	46	34	12
	gesamt	weiblich	männlich
Geschlecht	92	58	34
18–25 Jahre	48	28	20
26–45 Jahre	26	18	8
46–70 Jahre	18	12	6
Alter (Jahre)	25,3 (21,9)	26,8 (21,4)	23,9 (22,0)
Körpergewicht (kg)	64,1 (17,5)	61,4 (7,1)	78,3 (10,6)
BMI (kg/m²)	22,5 (3,7)	21,7 (3,0)	24,0 (2,7)

Tabelle 6: Charakterisierung der analysierten Studienteilnehmenden bei Studieneinschluss

Alter, Körpergewicht, BMI dargestellt als Median mit IQR

Den stärksten prozentualen Anteil an der Gesamtkohorte nahmen Frauen im Alter zwischen 18–25 Jahren mit 30 % ein, gefolgt von den Männern derselben Altersgruppe mit 22 %. In allen zwei weiteren Altersgruppen überlagerte ebenfalls der prozentuale Anteil der Frauen (Altersgruppe 26–

45 Jahre: Frauen: 20 %, Männer: 9 %; Altersgruppe 46–70 Jahre: Frauen: 13 %, Männer: 6 %), siehe Abbildung 5.

Es gab jedoch keinen signifikanten geschlechtsassoziierten Altersunterschied, siehe Abbildung 6.

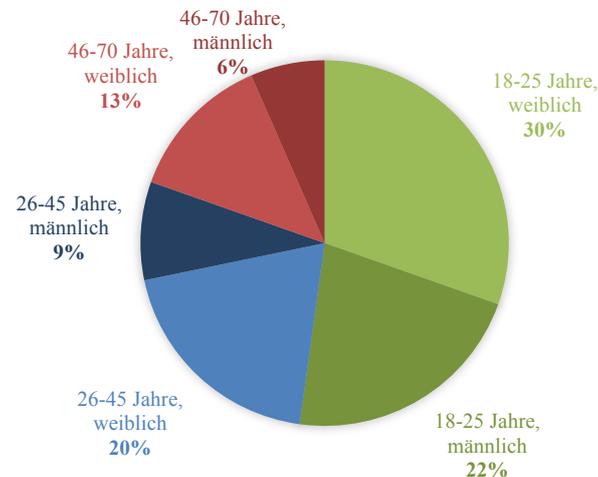


Abbildung 5: Prozentualer Anteil der Geschlechter in den jeweiligen Altersgruppen an der Gesamtkohorte

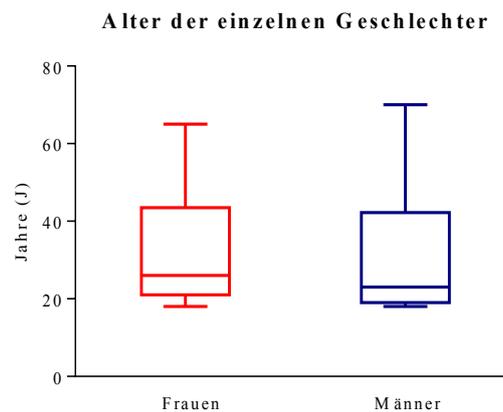


Abbildung 6: Altersverteilung der weiblichen und männlichen Studienteilnehmenden

Dargestellt als Box-Whisker-Plot mit Median, Whisker angepasst an Minimum (Min) und Maximum (Max)

3.2 Compliance gegenüber der isokalorischen Ernährungsinterventionen

Für die Interpretation der unter den isokalorischen Ernährungsinterventionen von 12 Wochen erhobenen und statistisch analysierten Messwerte im Rahmen diverser Untersuchungen war zunächst die Klärung einer optimalen Umsetzung und damit Einhaltung der Ernährungsvorgaben von großer Bedeutung. Hierzu dienten die Auswertung der Ernährungsprotokolle, die Beurteilung von Gewichts- bzw. BMI-Entwicklung und die Analyse des Aktivitätsverhaltens.

3.2.1 Analyse der Ernährungsvorgaben

Mithilfe der von den Teilnehmenden geführten Ernährungsprotokolle wurde die Einhaltung der Ernährungsvorschriften über die gesamte Studiendauer dokumentiert. Die daraus errechneten Anteile der Makronährstoffe, der SFA, der MUFA sowie der PUFA sind in der Tabelle 7 dargestellt und als Mittelwerte unter IST-Werten angegeben.

	Kohlenhydrat-Intervention			Hochfett-Intervention		
	SOLL	IST		SOLL	IST	
		frei	standardisiert		frei	standardisiert
Kohlenhydrate E %	55,0	54,3	55,9	40,0	42,5	41,2
Fette E %	30,0	29,0	30,2	45,0	42,7	46,6
SFA %	10,0	10,4	9,2	18,0	16,5	20,8
MUFA %	10,0	8,9	11,1	17,0	13,6	17,6
PUFA %	10,0	9,7	9,9	10,0	12,6	8,2
Proteine E %	15,0	16,4	15,7	15,0	15,7	14,5

Tabelle 7: Ernährungszusammensetzung der einzelnen Interventionen

Dargestellt sind die Makronährstoffanteile sowie SFA, MUFA und PUFA mit Soll- und Istwerten, jeweils unterteilt in freie und standardisierte Phase, angegeben als Mittelwert in Prozent.

Die Studienteilnehmenden setzten ihre Nahrungsaufnahme in beiden Ernährungsinterventionen, entsprechend den Vorgaben an Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinanteilen, sehr gut um. Insbesondere in den standardisierten Phasen der zwei Ernährungsinterventionen konnten die Zielvorgaben mithilfe der Bereitstellung von Lebensmitteln zusätzlich optimiert werden.

Damit lag der Kohlenhydrat-Energie-Prozentanteil in der freien Kohlenhydrat-Interventionsphase um 0,7 %-Punkte unterhalb der Vorgaben, in der standardisierten Phase um 0,9 %-Punkte oberhalb des Sollwerts.

Der Fett-Energie-Prozentanteil in der Kohlenhydrat-Intervention lag in der freien Phase um 1 %-Punkt unterhalb des Sollwerts, in der standardisierten Phase um 0,2 %-Punkte nur minimal oberhalb der Vorgaben.

Bei der Betrachtung der Fett-Subgruppen lag der relative SFA-Anteil in der freien Phase um 0,4 %-Punkte oberhalb und um 0,8 %-Punkte unterhalb der Vorgaben, der relative MUFA-Anteil in der freien Phase um 1,1 %-Punkte unterhalb und in der standardisierten Phase um 1,1 %-Punkte oberhalb der Vorgaben. Der relative PUFA-Anteil wiederum lag in der freien Phase um 0,3 %-Punkte

gering unterhalb des Sollwerts, in der standardisierten Phase konnte dies sogar auf 0,1 %-Punktedifferenz reduziert werden.

Der Protein-Energie-Prozentanteil in der Kohlenhydrat-Intervention lag während der freien Phase um 1,4 %-Punkte, in der standardisierten Phase um 0,7 %-Punkte oberhalb der Zielvorgabe.

Die Energie-Prozent-Aufnahme aus Kohlenhydraten während der freien Hochfett-Interventionsphase lag um 2,5 %-Punkte oberhalb der Vorgaben. In der standardisierten Phase konnte dies effizienter umgesetzt werden, d. h. mit einer Abweichung um 1,2 %-Punkte zum Soll.

Der Fett-Energie-Prozentanteil in der freien Hochfett-Interventionsphase lag um 2,3 %-Punkte unterhalb des vorgegebenen Sollwerts. Auch hier zeigte sich in der anschließenden standardisierten Phase eine verbesserte Umsetzung der vorgeschriebenen Nahrungsaufnahme um 1,6 %-Punkte oberhalb des Sollwerts.

Der relative SFA-Anteil lag in der freien Phase um 1,5 %-Punkte unterhalb und in der standardisierten Woche um 2,8 %-Punkte oberhalb der Zielvorgaben, der relative MUFA-Anteil wiederum um 3,4 %-Punkte in der freien Phase unterhalb und um 0,6 %-Punkte in der standardisierten Phase oberhalb des Sollwerts, der relative PUFA-Anteil um 2,6 %-Punkte oberhalb und in der freien Phase um 1,8 %-Punkte unterhalb des Sollwertes.

Der Protein-Energie-Prozentanteil lag in der freien Phase der Hochfett-Intervention um 0,7 %-Punkte oberhalb und in der standardisierten Phase um 0,5 %-Punkte unterhalb des Sollwerts.

3.2.2 Aktivitätsverhalten

Im Verlauf der drei standardisierten Phasen traten bei beiden Messarten des Energieverbrauchs durch körperliche Aktivität (Pedometer und Aktivitätsuhr) keine signifikanten Veränderungen auf. Entsprechend der Vorgabe zur Einhaltung einer nutritiv-gesteuerten isokalorischen Stoffwechsellage und zur Wahrung konstanter Bedingungen zur Vermeidung möglicher weiterer exogener Einflüsse auf die Oszillatoren blieb das Aktivitätsverhalten sowohl in der Kohlenhydrat- als auch in der Hochfett-Kostphase unverändert, siehe Abbildung 7.

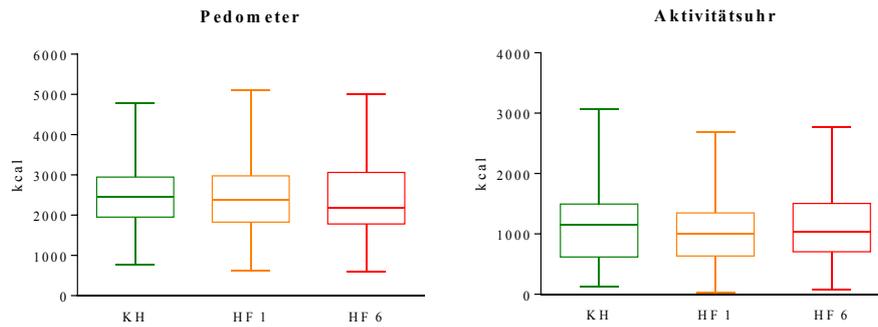


Abbildung 7: Energieverbrauch durch körperliche Aktivität

Dargestellt ist der Energieverbrauch (kcal), angegeben als Box-Whisker-Plot mit Median, Whisker angepasst an Min und Max, Kruskal-Wallis-Test

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

3.3 Anthropometrie

Der BMI stellte ein wesentliches Messkriterium zur Beurteilung der Einhaltung der isokalorischen Kost während der Studiendauer dar. Das Gesamtkollektiv zeigte einen gleichbleibenden BMI nach Woche 1 der Hochfett-Kost von $22,4 \text{ kg/m}^2$ ($\pm 2,6 \text{ kg/m}^2$ Standardabweichung) und einen minimalen Anstieg des BMIs um $0,2 \text{ kg/m}^2$ auf $22,6 \text{ kg/m}^2$ ($\pm 2,6 \text{ kg/m}^2$ Standardabweichung) der Woche 6 der Hochfett-Kost jeweils im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost (KH), also eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 400 g.

3.4 Metabolische Adaptation

3.4.1 Glucose-Metabolismus

Der Nüchtern-Blutzucker blieb während der gesamten Studiendauer in der Gesamtkohorte nahezu unverändert. Hinsichtlich des Geschlechts und des Alters gab es keine eindeutigen Unterschiede.

Die Gesamtkohorte, die Frauen und die Altersgruppe 18–25 Jahre reagierten nach der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zu Kohlenhydrat-Kost mit einem signifikanten Anstieg des Nüchtern-Insulins. Jedoch blieb eine weitere signifikante Veränderung des Parameters in den folgenden fünf Wochen Hochfett-Kost in der Gesamtkohorte und den Subgruppen aus.

Der HOMA-Index stieg bei den Frauen nach der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zu Kohlenhydrat-Kost signifikant an. Eine weitere signifikante Veränderung des Parameters blieb in den folgenden fünf Wochen Hochfett-Kost sowie in der Gesamtkohorte und in den Subgruppen aus.

Der HbA_{1c} stieg in der Altersgruppe 18–25 Jahren jeweils hochsignifikant nach der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost und von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost an.

Die Mittelwerte aller glykämischen Parameter blieben in der Gesamtkohorte und in den Subgruppen während der gesamten Studiendauer im Referenzbereich (siehe Kap. 2.8).

Die beschriebenen Blutparameter des Glucose-Metabolismus sind in der Tabelle 8 dargestellt.

	Glucose mmol/l	Insulin mU/l	HOMA-Index	HbA_{1c} %
Gesamt	(n = 86)	(n = 83)	(n = 83)	(n = 69)
KH	5,08 ± 0,52	3,97 ± 1,93	0,94 ± 0,49	5,04 ± 0,34
HF1	5,12 ± 0,52	4,65 ± 2,09 ⁺	1,07 ± 0,52	5,09 ± 0,32
HF6	5,17 ± 0,57	4,27 ± 1,98	0,98 ± 0,47	5,13 ± 0,37
Frauen	(n = 55)	(n = 55)	(n = 52)	(n = 45)
KH	5,02 ± 0,52	3,81 ± 1,61	0,85 ± 0,38	5,09 ± 0,34
HF1	5,11 ± 0,57	4,63 ± 1,99 ⁺	1,02 ± 0,45 ⁺	5,12 ± 0,33
HF6	5,04 ± 0,51	4,24 ± 2,06	0,95 ± 0,47	5,16 ± 0,39
Männer	(n = 31)	(n = 29)	(n = 30)	(n = 21)
KH	5,18 ± 0,53	4,29 ± 2,33	1,03 ± 0,54	4,92 ± 0,26
HF1	5,15 ± 0,44	4,82 ± 2,39	1,14 ± 0,60	4,99 ± 0,27
HF6	5,39 ± 0,60	4,76 ± 2,52	1,20 ± 0,68	5,04 ± 0,28
18–25 Jahre	(n = 45)	(n = 44)	(n = 45)	(n = 39)
KH	5,04 ± 0,53	4,26 ± 2,29	0,98 ± 0,54	4,91 ± 0,31
HF1	5,00 ± 0,56	5,11 ± 2,29 ⁺	1,15 ± 0,54	4,97 ± 0,30
HF6	5,00 ± 0,51	4,37 ± 1,96	0,99 ± 0,48	5,12 ± 0,44 ^{**##}
26–45 Jahre	(n = 24)	(n = 25)	(n = 24)	(n = 24)
KH	5,15 ± 0,44	3,61 ± 1,58	0,88 ± 0,45	5,02 ± 0,16
HF1	5,21 ± 0,43	4,21 ± 2,11	0,91 ± 0,43	5,09 ± 0,20
HF6	5,33 ± 0,61	3,99 ± 2,24	0,90 ± 0,50	5,01 ± 0,18
46–70 Jahre	(n = 16)	(n = 15)	(n = 15)	(n = 15)
KH	5,06 ± 0,63	4,01 ± 1,67	0,97 ± 0,41	5,45 ± 0,29
HF1	5,34 ± 0,45	4,82 ± 2,32	1,19 ± 0,62	5,34 ± 0,28
HF6	5,47 ± 0,49	4,92 ± 2,26	1,21 ± 0,60	5,36 ± 0,24

Tabelle 8: Nüchtern-Glucose, Nüchtern-Insulin, HOMA-Index, HbA_{1c} der Gesamtkohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung; Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA
KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

KH versus HF1: + p < 0,017; KH versus HF6: ** p < 0,001; HF1 versus HF6: ## p < 0,001

3.4.2 Lipid-Metabolismus

Unter isokalorischen Bedingungen nahm die Hochfett-Kost per se einen deutlich erkennbaren Einfluss auf den Lipid-Metabolismus.

In der Gesamtkohorte kam es zur hochsignifikanten Elevation des Gesamt-Cholesterins jeweils der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost, ebenso von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Bei den Frauen stieg der Gesamt-Cholesterinspiegel jeweils der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost hochsignifikant im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost an, sowie signifikant von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Bei den Männern und in der Altersgruppe 18–25 Jahre kam es zur hochsignifikanten, in den Altersgruppen 26–45 und 46–70 Jahre zur signifikanten Elevation der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. In der Altersgruppe 46–70 Jahre war außerdem ein signifikanter Anstieg von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost zu beobachten.

Des Weiteren kam es in der Gesamtkohorte und bei den Frauen zum hochsignifikanten Anstieg des HDL-Cholesterins jeweils der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost, ebenso von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Bei den Männern kam es zum signifikanten Anstieg der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost und zu einem hochsignifikanten Anstieg von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. In den Altersgruppen zeigte sich bei den 18- bis 25-Jährigen eine hochsignifikante, bei den 26- bis 45-Jährigen und bei den 46- bis 70-Jährigen eine signifikante Elevation der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Des Weiteren konnte man in der Altersgruppe 46–70 Jahre eine signifikante Elevation von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost beobachten.

Hinsichtlich des LDL-Cholesterins war in der Gesamtkohorte eine signifikante Elevation der Woche 1 und eine hochsignifikante Elevation der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost zu beobachten, ebenso eine signifikante Elevation von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. In der geschlechtsspezifischen Subgruppenanalyse konnte man eine hochsignifikante Elevation der Frauen und eine signifikante Elevation der Männer der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost beobachten. Zusätzlich stieg signifikant der LDL-Cholesterin-Wert der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost der Frauen an. In der Altersgruppe der 18- bis 25-Jährigen konnte man eine hochsignifikante, in den Altersgruppen 26–45 Jahre und 46–70 Jahre eine signifikante Elevation der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost beobachten.

Außerdem kam es in der Gesamtkohorte zur hochsignifikanten, bei den Männern und in der Altersgruppe 18–25 Jahre zur signifikanten FFA-Reduktion der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Zusätzlich konnte man bei den Männern eine weitere signifikante Reduktion von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost beobachten.

Triglyceride zeigten keine signifikanten Veränderungen.

Alle Mittelwerte von HDL-Cholesterin der Frauen und Männer lagen unterhalb der laborinternen geschlechtsdifferenten Richtwerte, in der Altersgruppe 46–70 Jahre lagen die Mittelwerte von Gesamt-Cholesterin bei HF1 mit 5,3 mmol/l und bei HF6 mit 5,7 mmol/l, von LDL-Cholesterin bei HF1 mit 3,4 mmol/l und bei HF6 mit 3,7 mmol/l oberhalb des Referenzbereiches. Alle übrigen Parameter-Mittelwerte der Gesamtkohorte und der Subgruppen blieben während der gesamten Studiendauer im Referenzbereich (siehe Kap. 2.8).

Die beschriebenen Blutparameter des Lipid-Metabolismus sind in der Tabelle 9 dargestellt.

	Gesamt- Cholesterin	HDL- Cholesterin	LDL- Cholesterin	FFA	Triglyceride
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l
Gesamt	(n = 89)	(n = 88)	(n = 89)	(n = 87)	(n = 83)
KH	4,28 ± 0,83	1,25 ± 0,28	2,55 ± 0,65	0,60 ± 0,20	0,88 ± 0,34
HF1	4,47 ± 0,81 ⁺⁺	1,31 ± 0,28 ⁺⁺	2,67 ± 0,70 ⁺	0,56 ± 0,19	0,85 ± 0,27
HF6	4,68 ± 0,91 ^{**##}	1,39 ± 0,34 ^{**##}	2,81 ± 0,73 ^{**#}	0,50 ± 0,18 ^{**}	0,86 ± 0,33
Frauen	(n = 56)	(n = 55)	(n = 55)	(n = 56)	(n = 52)
KH	4,49 ± 0,77	1,35 ± 0,24	2,63 ± 0,65	0,62 ± 0,20	0,86 ± 0,31
HF1	4,71 ± 0,75 ⁺⁺	1,42 ± 0,24 ⁺⁺	2,81 ± 0,69 ⁺	0,57 ± 0,21	0,85 ± 0,27
HF6	4,91 ± 0,91 ^{**#}	1,52 ± 0,31 ^{**##}	2,90 ± 0,75 ^{**}	0,53 ± 0,19	0,88 ± 0,34
Männer	(n = 34)	(n = 29)	(n = 34)	(n = 32)	(n = 30)
KH	3,92 ± 0,80	0,99 ± 0,13	2,41 ± 0,65	0,57 ± 0,19	0,90 ± 0,35
HF1	4,02 ± 0,83	1,05 ± 0,15 ⁺	2,46 ± 0,66	0,54 ± 0,15	0,82 ± 0,28
HF6	4,28 ± 0,76 ^{**}	1,10 ± 0,16 ^{##}	2,65 ± 0,69 [*]	0,45 ± 0,16 ^{##}	0,83 ± 0,31
18–25 Jahre	(n = 48)	(n = 46)	(n = 45)	(n = 46)	(n = 43)
KH	3,98 ± 0,80	1,21 ± 0,29	2,17 ± 0,43	0,62 ± 0,20	0,94 ± 0,39
HF1	4,12 ± 0,83	1,26 ± 0,33	2,29 ± 0,53	0,56 ± 0,18	0,87 ± 0,33
HF6	4,27 ± 0,75 ^{**}	1,33 ± 0,33 ^{**}	2,38 ± 0,51 ^{**}	0,49 ± 0,20 [*]	0,89 ± 0,36
26–45 Jahre	(n = 24)	(n = 25)	(n = 24)	(n = 23)	(n = 24)
KH	4,32 ± 0,46	1,28 ± 0,29	2,66 ± 0,42	0,64 ± 0,21	0,80 ± 0,24
HF1	4,55 ± 0,45	1,35 ± 0,26	2,82 ± 0,49	0,54 ± 0,19	0,80 ± 0,20
HF6	4,79 ± 0,67 [*]	1,44 ± 0,32 [*]	2,99 ± 0,64 [*]	0,52 ± 0,16	0,76 ± 0,21
46–70 Jahre	(n = 17)	(n = 18)	(n = 18)	(n = 15)	(n = 18)
KH	5,19 ± 0,86	1,29 ± 0,24	3,35 ± 0,80	0,52 ± 0,13	0,99 ± 0,48
HF1	5,31 ± 0,75	1,34 ± 0,26	3,43 ± 0,70	0,54 ± 0,16	0,95 ± 0,37
HF6	5,70 ± 0,83 ^{**#}	1,47 ± 0,36 ^{**#}	3,73 ± 0,71 [*]	0,46 ± 0,12	1,02 ± 0,39

Tabelle 9: Gesamt-Cholesterin, HDL-, LDL-Cholesterin, FFA, Triglyceride der Gesamtkohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung; Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

KH versus HF1: + p < 0,017, ++ p < 0,001; KH versus HF6: * p < 0,017, ** p < 0,001; HF1 versus HF6: # p < 0,017, ## p < 0,001

3.5 Chronotyp

Zur Beurteilung der ernährungsbedingten Veränderung des Chronotyps wurde der Schlaf-Wach-Rhythmus auf der Basis der Berechnung der Uhrzeit der Schlafmitte an freien Tagen (MSF) untersucht, korrigiert durch den sogenannten Mehrschlaf an freien Tagen als Zeichen der Kompensation des akkumulierten Schlafdefizits während der Arbeitswoche (MSFsc), adjustiert auf die Variablen Alter und Geschlecht (MSFsasc).

Über die gesamte Studiendauer blieb MSFsasc nahezu unverändert (KH: 4:36 Uhr, HF1: 4:24 Uhr, HF6: 4:24 Uhr). Dementsprechend konnte kein signifikanter Einfluss bzw. keine Veränderung des Chronotyps durch die Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost beobachtet werden, siehe Abbildung 8.

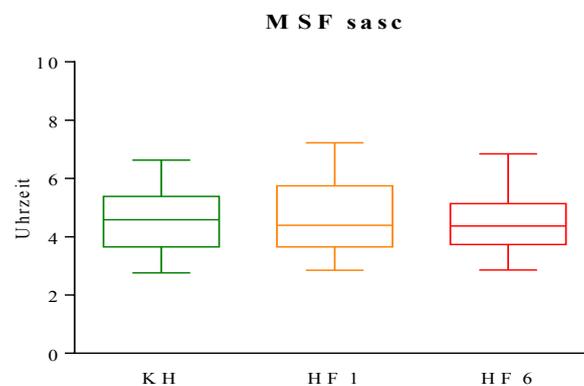


Abbildung 8: Korrigierte Uhrzeit der Schlafmitte an freien Tagen der gesamten Kohorte, adjustiert für Geschlecht und Alter (MSFsasc)

Dargestellt als Box-Whisker-Plot mit Median, Whisker angepasst an Min und Max, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

3.6 Melatonin-Metabolismus

3.6.1 Melatonin in der Saliva

Die Gesamtkohorte zeigte eine hochsignifikante Peak-Elevation der medianen Melatonin-Konzentration in der Saliva um 24 Uhr der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost sowie von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Um 12 Uhr kam es zur signifikanten Reduktion der medianen Melatonin-Konzentration von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost sowie um 12 und 16 Uhr zur hochsignifikanten Reduktion der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Die Gesamtkohorte reagierte demnach mit einer Phasenverschiebung in Form einer verzögerten Reaktion auf die Hochfett-Kost.

In den geschlechtsspezifischen Subgruppen zeigten die Frauen eine signifikant niedrige mediane Melatonin-Konzentration im Peak-Bereich um 24 Uhr nach der Woche 1 im Vergleich zu Woche 6 der Hochfett-Kost, interpretierbar mit einer Phasenverschiebung als kurzfristige Sofortreaktion auf die Hochfett-Kost. Um 12 Uhr kam es zur signifikanten Reduktion der medianen Melatonin-Konzentration von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost.

Die Männer zeigten eine hochsignifikante Peak-Elevation der medianen Melatonin-Konzentration um 24 Uhr der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost sowie von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Dieser Peak-Wert nach der Woche 6 der Hochfett-Kost stellte mit 36,6 pg/ml die höchste mediane Melatonin-Konzentration nach sechswöchiger Hochfett-Kost dar. Die Männer reagierten mit der stärksten Phasenverschiebung in Form einer verzögerten Reaktion auf die Hochfett-Kost.

In den Altersgruppen zeigten die 18- bis 25-Jährigen keine signifikanten Veränderungen des circadianen Verlaufes der medianen Melatonin-Konzentration über die gesamte Interventionsdauer. Bei den 26- bis 45-Jährigen war eine signifikante Elevation der medianen Melatonin-Konzentration um 24 Uhr von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost zu beobachten. Demzufolge war auch in dieser Altersgruppe eine eindeutige Phasenverschiebung in Form einer verzögerten Reaktion auf die Hochfett-Kost zu erkennen.

Die 46- bis 70-Jährigen reagierten jeweils um 24 Uhr mit einer signifikanten Reduktion der Woche 1 im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost sowie mit einer signifikanten Elevation von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost, interpretierbar mit einer Phasenverschiebung als kurzfristige Sofortreaktion auf die Hochfett-Kost.

Durch die Hochfett-Kost kam es in der gesamten Kohorte und in allen Subgruppen zu unterschiedlichsten Formen der Veränderung der circadianen Melatonin-Konzentration.

Die beschriebenen circadianen Kurvenverläufe sind der Abbildung 9 a–f) zu entnehmen.

Die mediane Melatonin-Konzentration in der Saliva blieb in der Gesamtkohorte und in den Subgruppen während der gesamten Studiendauer im Referenzbereich (siehe Kap. 2.10.1).

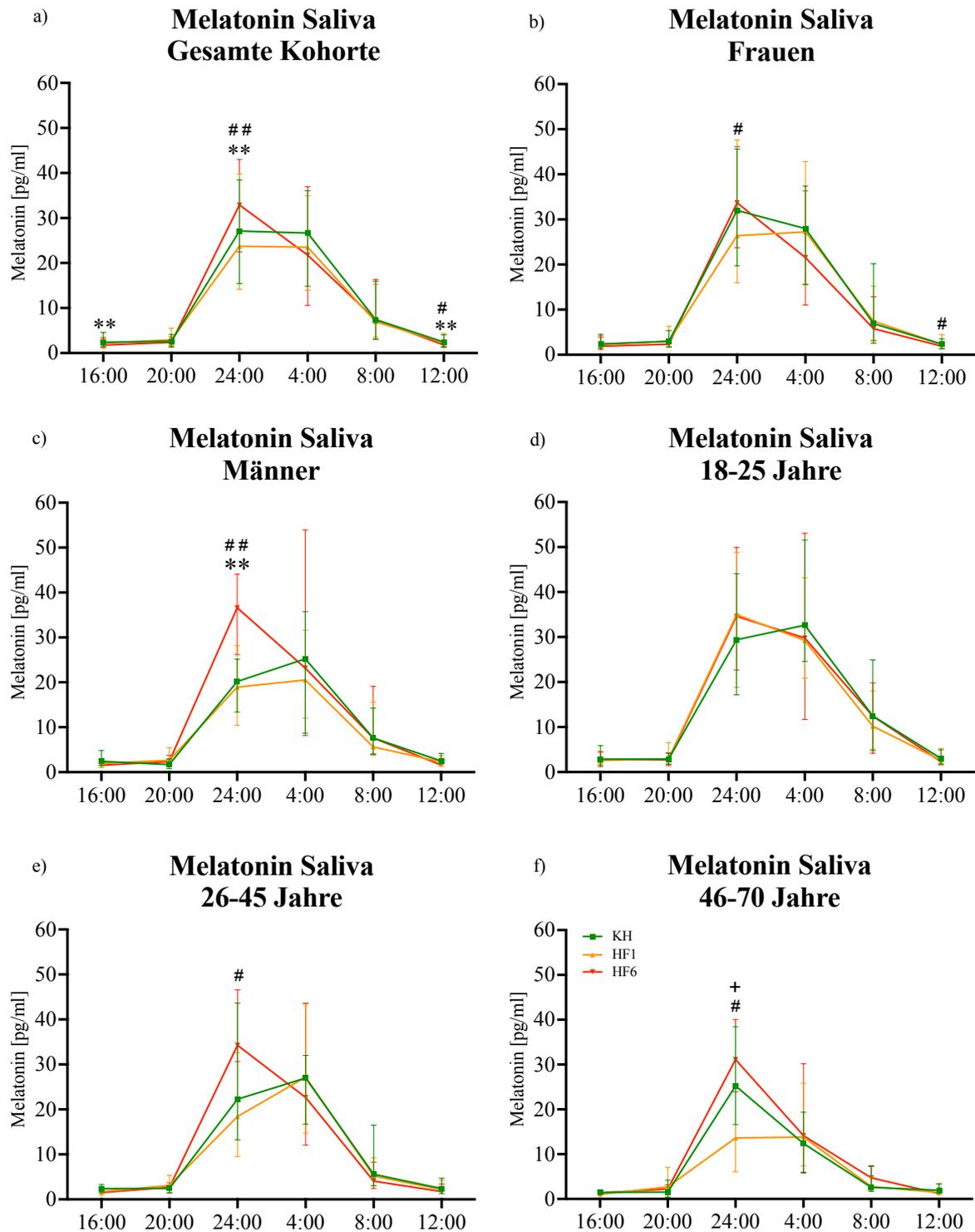


Abbildung 9: Melatonin-Konzentration in der Saliva der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen im circadianen Verlauf

Dargestellt als Median mit IQR, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

KH versus HF1: + $p < 0,017$, KH versus HF6: ** $p < 0,001$, HF1 versus HF6: # $p < 0,017$, ## $p < 0,001$

Als analytisch vergleichbarer Messwert der Gesamtproduktionsmenge von Melatonin in der Saliva über 24 Stunden und damit äquivalent als absolute Amplitude definierbar zeigte die AUC (Area Under the Curve = Fläche unter der Kurve) keine signifikanten Veränderungen, siehe Tabelle 10.

Gesamt			Frauen			Männer		
(n = 73)			(n = 47)			(n = 24)		
KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6
275,84	275,54	294,92	281,28	310,16	292,92	262,66	258,94	294,32
18–25 Jahre			26–45 Jahre			46–70 Jahre		
(n = 35)			(n = 20)			(n = 16)		
KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6
412,64	328,80	340,48	266,56	267,40	308,50	223,04	179,84	208,56

Tabelle 10: AUC-Werte der Melatonin in der Saliva der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen im circadianen Verlauf

Dargestellt sind die AUC-Werte der einzelnen Interventionen (pg/ml x h)
 KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

3.6.2 Melatonin-Metabolit aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin

In der Gesamtkohorte und in allen Subgruppen traten über die gesamte Interventionsdauer keine signifikanten Veränderungen der medianen aMT6s-Konzentration im Sammelurin auf, siehe Abbildung 10 a–f).

Die medianen aMT6s-Konzentrationen im 24-Stunden-Sammelurin lagen als Basiswerte vor der Korrelation mit der intraindividuellen 24-Stunden-Urinsammelmenge und dem Urin-Kreatinin in der Gesamtkohorte und der Subgruppen während der gesamten Studiendauer im Referenzbereich (siehe Kap. 2.11.1).

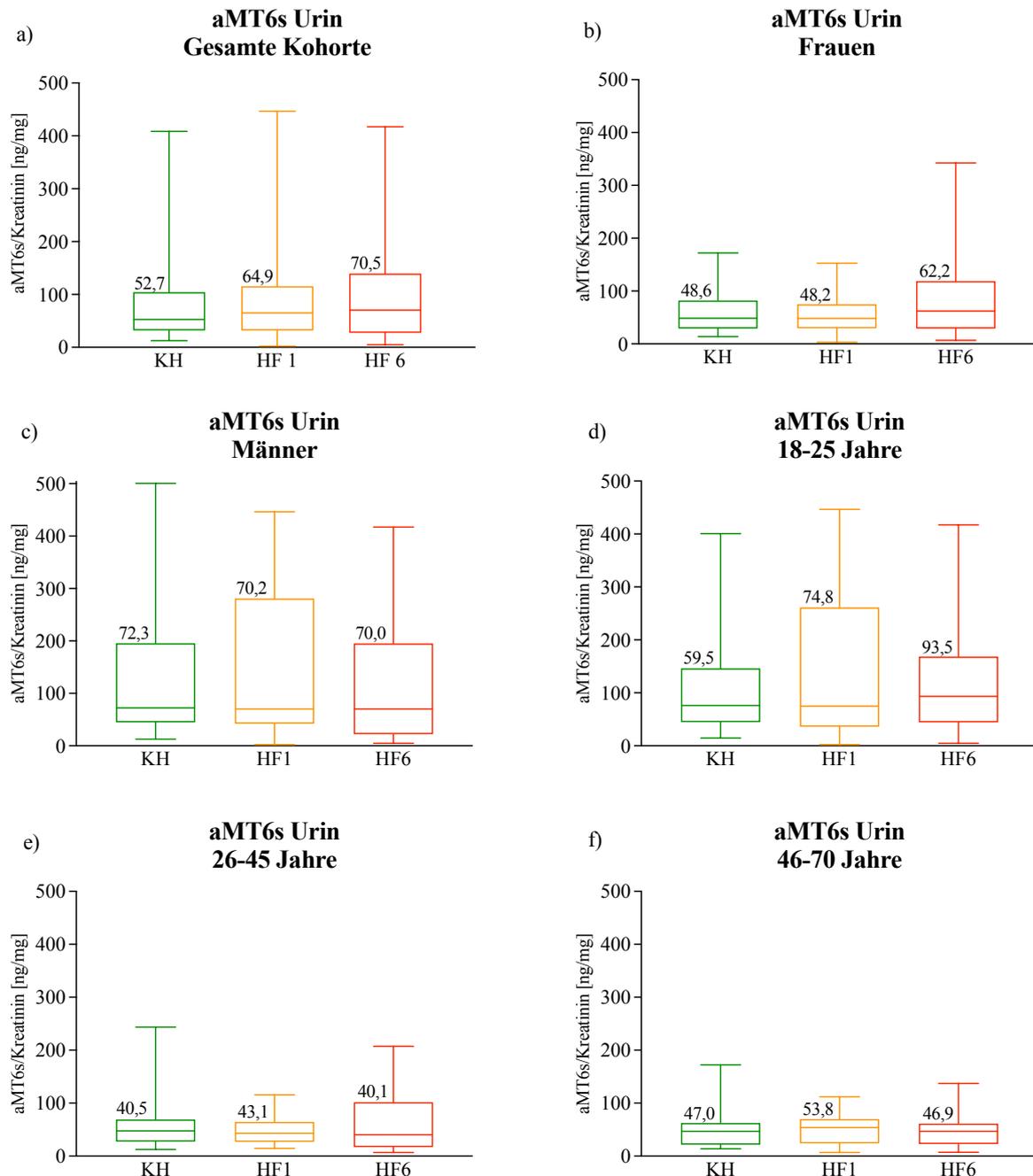


Abbildung 10: aMT6s-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Box-Whisker-Plot mit Median, Whisker angepasst an Min und Max, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

3.7 Cortisol-Metabolismus

3.7.1 Cortisol in der Saliva

In der Gesamtkohorte und in allen Subgruppen traten keine signifikanten Veränderungen der medianen Cortisol-Konzentration in der Saliva auf, siehe Abbildung 11 a–f).

Es kam weder bei der Gesamtkohorte noch bei den Subgruppen zu einer Phasenverschiebung, siehe ebenfalls Abbildung 11 a–f).

Die mediane Cortisol-Konzentration in der Saliva blieb in der Gesamtkohorte und in den Subgruppen während der gesamten Studiendauer im Referenzbereich (siehe Kap. 2.10.2).

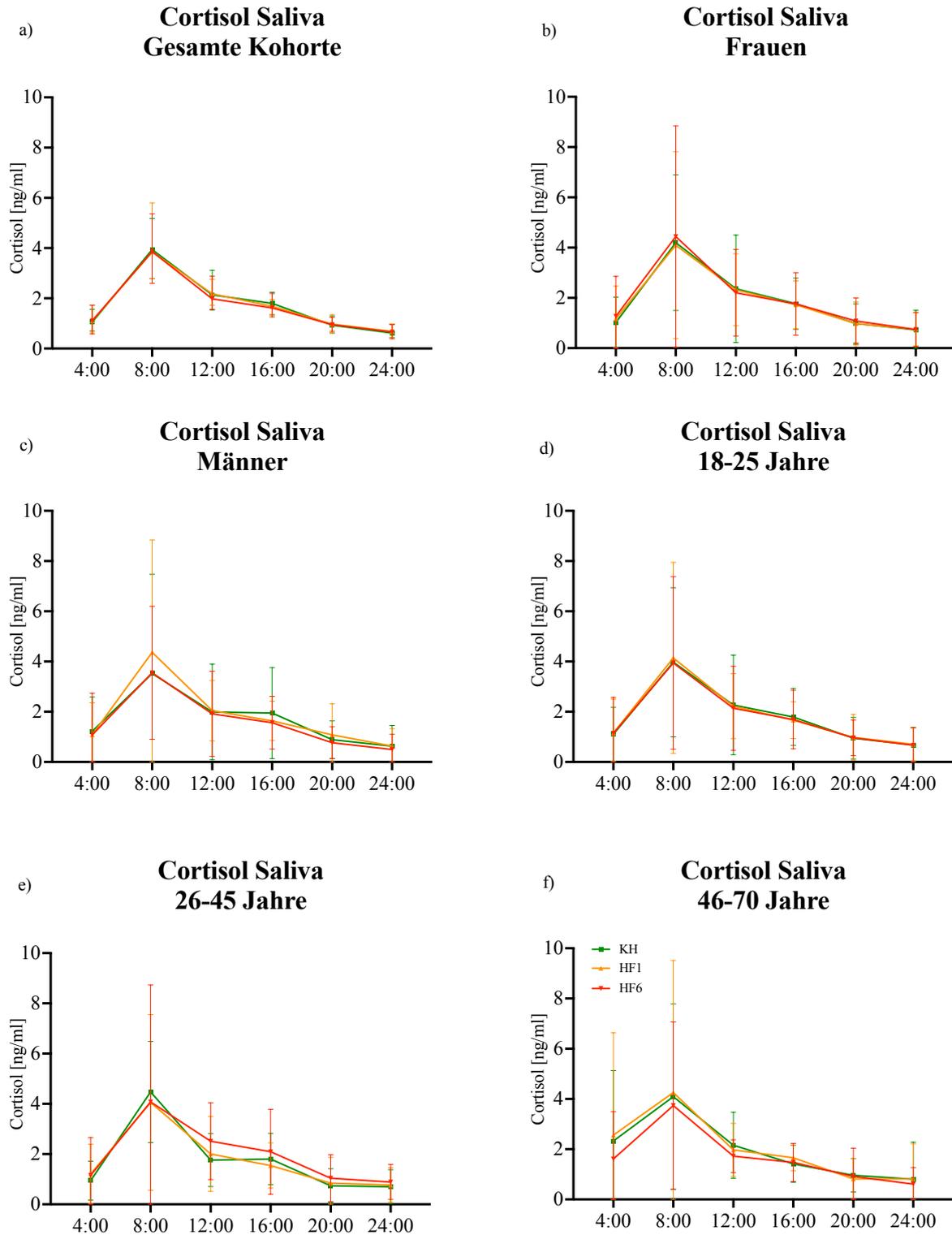


Abbildung 11: Cortisol-Konzentration in der Saliva der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen im circadianen Verlauf

Dargestellt als Median mit IQR, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

Als analytisch vergleichbarer Messwert der Gesamtproduktionsmenge von Cortisol in der Saliva über 24 Stunden und damit äquivalent als absolute Amplitude definierbar, zeigten nur die AUC-Werte der Männer einen signifikanten Abfall der AUC-Werte von Hochfett-Woche 1 auf Woche 6, siehe Tabelle 11.

Gesamt			Frauen			Männer		
(n = 82)			(n = 53)			(n = 29)		
KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6
45,77	45,38	43,32	45,72	46,04	44,72	42,48	44,60	38,64 [#]
18–25 Jahre			26–45 Jahre			46–70 Jahre		
(n = 46)			(n = 20)			(n = 16)		
KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6
47,02	47,06	44,30	41,57	44,32	45,16	50,2	48,65	42,74

Tabelle 11: AUC-Werte der Cortisol-Konzentration in der Saliva im circadianen Verlauf der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt sind die AUC-Werte der einzelnen Interventionen (ng/ml x h), Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention; HF1 versus HF6: # p < 0,017

3.7.2 fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin

In der Gesamtkohorte kam es zu einer signifikanten Reduktion der medianen fCortison-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost und der medianen allo-THF-Konzentration der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost.

Bei der Geschlechteranalyse waren nur bei den Frauen statisch relevante Veränderungen zu beobachten. Die mediane Konzentration von fCortison reduzierte sich signifikant von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost, die mediane allo-THF-Konzentration der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost jeweils hochsignifikant im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost.

Die Streubreite der allo-THF-Konzentrationen der Männer war deutlich größer als die der Frauen über die gesamte Studiendauer.

In der Betrachtung der Altersgruppen konnte man bei den 18- bis 25-Jährigen eine signifikante Reduktion der medianen fCortison-Konzentration von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost und eine signifikante Reduktion der medianen allo-THF-Konzentration der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost beobachten.

Nicht unerwähnt sollte die erhöhte Streubreite der analysierten Messwerte beim fCortison nach einwöchiger Hochfett-Kost in den Altersgruppen 26–45 und 46–70 Jahre bleiben. Ebenso prägnant war die geringe Streubreite des allo-THF-Metaboliten in der Altersgruppe 26–45 Jahre und die große Streubreite in der Altersgruppe 46–79 Jahre nach sechs Wochen Hochfett-Kost, siehe Abbildung 12 a–f und 13 a–f).

Die weiteren analysierten Parameter im 24-Stunden-Sammelurin (fCortisol, THF, THE) blieben ohne signifikante Veränderungen und sind vollständigshalber in der Tabelle 12 dargestellt.

Alle medianen Konzentrationen von fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin blieben während der gesamten Studiendauer im Referenzbereich (siehe Kap. 2.11.2).

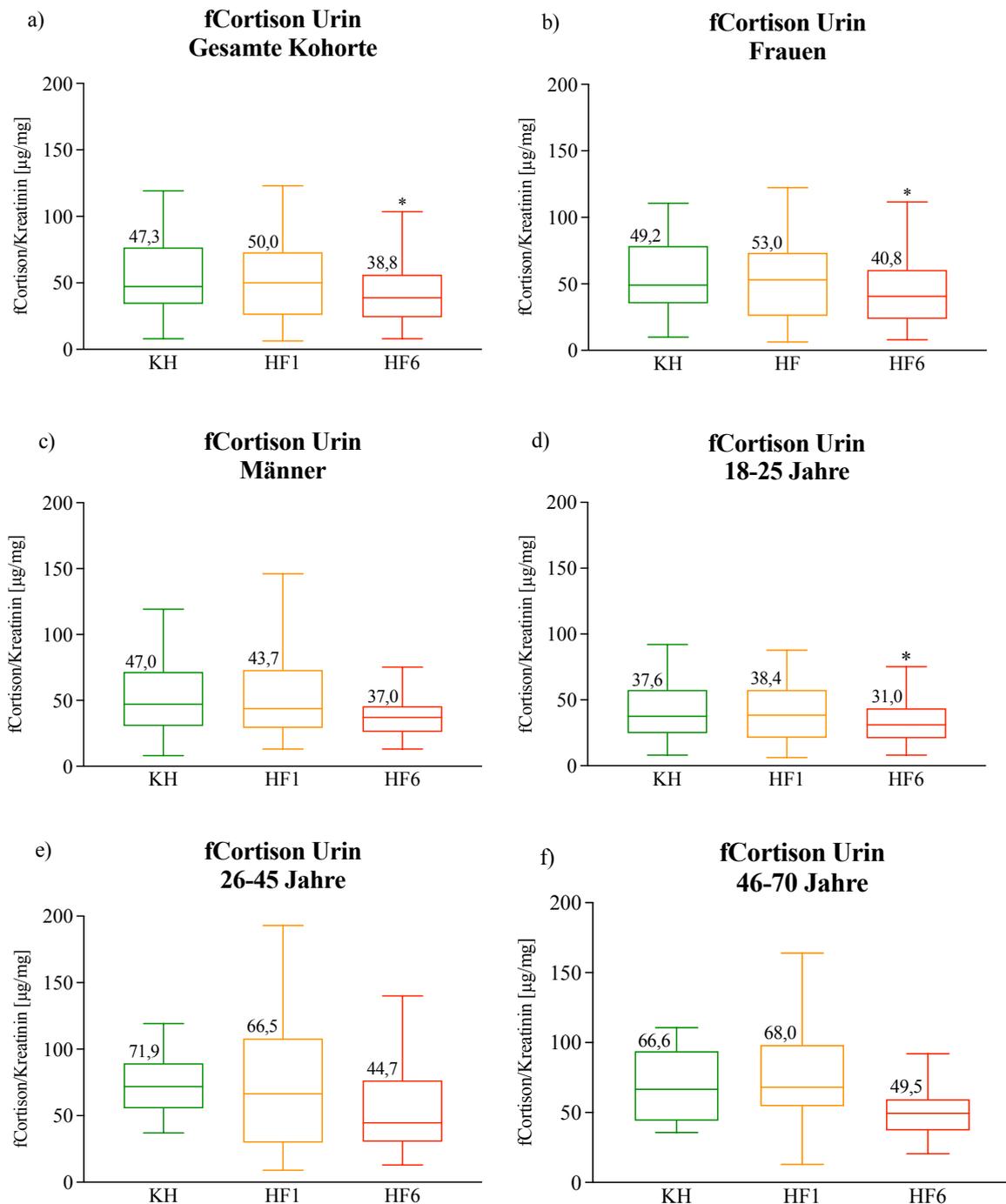


Abbildung 12: fCortison-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Box-Whisker-Plot mit Median, Whisker angepasst an Min und Max, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention, * $p < 0,017$

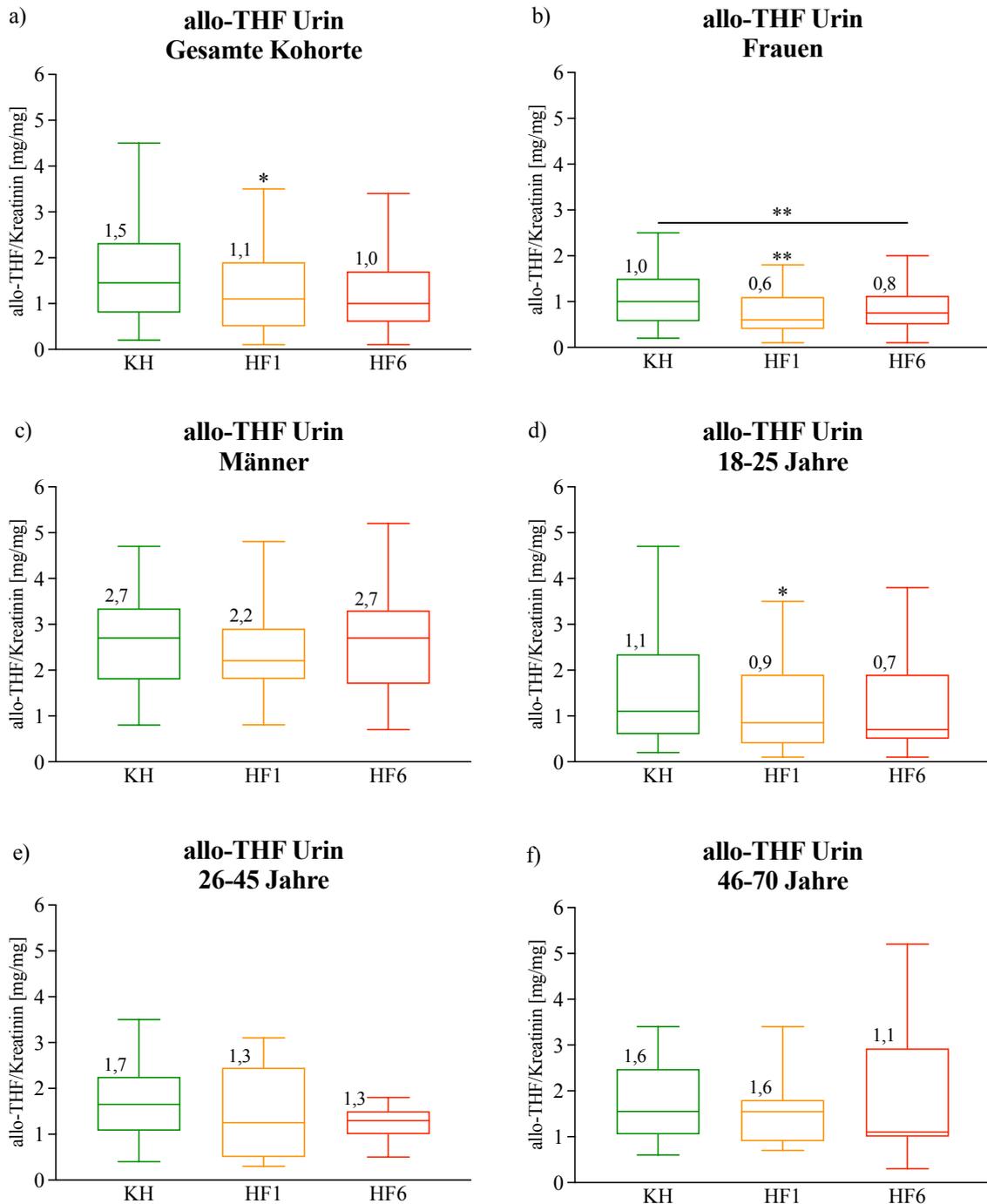


Abbildung 13: allo-THF-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Box-Whisker-Plot mit Median, Whisker angepasst an Min und Max, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA

KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 = ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

** $p < 0,001$, * $p < 0,017$

	fCortisol Urin	THF Urin	THE Urin
	µg/mg Kreatinin	mg/mg Kreatinin	mg/mg Kreatinin
Gesamt	(n = 76)	(n = 74)	(n = 72)
KH	19,60 [2,0–58,5]	1,60 [0,3–3,6]	2,10 [0,4–5,0]
HF1	20,00 [1,2–59,0]	1,70 [0,2–4,7]	2,50 [0,3–7,0]
HF6	21,00 [4,0–50,6]	1,70 [0,4–3,8]	2,00 [0,4–4,7]
Frauen	(n = 50)	(n = 47)	(n = 47)
KH	21,00 [4,0–56,0]	1,50 [0,3–2,6]	1,85 [0,4–4,1]
HF1	19,50 [1,2–59,0]	1,25 [0,2–3,2]	1,65 [0,3–4,6]
HF6	22,50 [4,0–50,6]	1,50 [0,4–3,0]	1,80 [0,4–3,9]
Männer	(n = 26)	(n = 28)	(n = 26)
KH	17,55 [2,0–58,5]	2,14 [0,7–3,9]	3,27 [1,0–6,6]
HF1	21,00 [6,8–46,6]	2,60 [0,6–4,7]	3,20 [0,8–7,3]
HF6	21,00 [8,0–40,4]	2,30 [1,0–4,4]	2,86 [1,1–7,1]
18–25 Jahre	(n = 41)	(n = 41)	(n = 40)
KH	14,80 [2,0–46,0]	1,50 [0,3–3,0]	1,90 [0,4–5,0]
HF1	18,00 [1,2–49,0]	1,40 [0,2–3,8]	1,85 [0,3–4,8]
HF6	21,00 [6,8–50,0]	1,65 [0,4–3,2]	1,90 [0,4–4,7]
26–45 Jahre	(n = 18)	(n = 16)	(n = 16)
KH	26,30 [6,0–46,7]	1,60 [0,8–2,9]	2,10 [0,8–5,6]
HF1	21,90 [6,0–47,6]	1,75 [0,7–4,7]	2,50 [0,5–5,5]
HF6	27,00 [4,0–62,0]	1,90 [1,0–4,4]	2,10 [1,5–5,8]
46–70 Jahre	(n = 16)	(n = 15)	(n = 13)
KH	23,95 [11,0–56,0]	2,00 [1,3–3,5]	2,45 [1,4–4,8]
HF1	31,35 [8,0–80,0]	2,30 [1,3–4,0]	2,80 [1,4–6,2]
HF6	18,00 [10,0–61,0]	1,80 [0,8–3,0]	2,55 [0,9–3,8]

Tabelle 12: fCortisol-, THF- und THE-Konzentration im 24-Stunden-Sammelurin der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Median, Minimum und Maximum, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA
 KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 =
 ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

KH versus HF1: + p < 0,017, ++ p < 0,001, KH versus HF6: * p < 0,017, ** p < 0,001

Die Ratio von fCortisol und fCortison reflektiert die 11 β -HSD2-Aktivität der Niere. Die enzymatische Gesamtaktivität von 11 β -HSD kann anhand der Ratio der Summe von THF und allo-THF zu THE berechnet werden. Die A-Ring-Reduktasen 5 α - und 5 β -Reduktase können über die Ratio von THF und allo-THF kombiniert dargestellt werden. Über die Ratio von allo-THF und fCortisol kann die Aktivität der 5 α -Reduktase und über die Ratio von THF und fCortisol sowie von THE und fCortison die Aktivität der 5 β -Reduktase interpretiert werden.¹⁷⁶

Die Gesamtkohorte zeigte eine hochsignifikante Elevation der renalen 11 β -HSD2-Aktivität der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost.

In der geschlechtsspezifischen Subgruppe der Frauen konnte man eine signifikante Elevation der renalen 11 β -HSD2-Aktivität der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost sowie eine signifikante Reduktion der Gesamtaktivität von 11 β -HSD der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost erkennen. Des Weiteren kam es zur signifikanten Elevation der 5 α - und 5 β -Reduktase-Aktivität der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost jeweils im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Die erhobenen Enzymaktivitäten der Männer blieben über die gesamte Intervention ohne signifikante Änderungen.

In den Altersgruppen reagierten die 18- bis 25-Jährigen mit einer signifikanten Elevation der renalen 11 β -HSD2-Aktivität und einer signifikanten Reduktion der 5 α -Reduktase der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost jeweils im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Außerdem war eine signifikante Reduktion der 5 β -Reduktase-Aktivität der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost in dieser Altersgruppe zu beobachten.

In der Altersgruppe 26–45 Jahre zeigte sich eine signifikante Elevation der renalen 11 β -HSD2-Aktivität der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost sowie eine signifikante Elevation von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost, siehe Tabelle 13.

Ratio	fCortisol/ fCortison	THF+allo- THF/THE	THF/ allo-THF	allo-THF/ fCortisol	THF/ fCortisol	THE/ fCortison
Index	11 β -HSD2- Aktivität Niere	11 β -HSD- Gesamt- Aktivität	5 α - und 5 β - Reduktase- Aktivität	5 α -Reduktase- Aktivität	5 β -Reduktase- Aktivität	5 β -Reduktase- Aktivität
Gesamt	(n = 74)	(n = 70)	(n = 70)	(n = 73)	(n = 76)	(n = 72)
KH	0,41 \pm 0,19	1,43 \pm 0,44	1,43 \pm 0,83	0,12 \pm 0,14	0,11 \pm 0,10	0,06 \pm 0,04
HF1	0,51 \pm 0,22	1,32 \pm 0,42	1,78 \pm 1,20	0,07 \pm 0,06	0,09 \pm 0,05	0,06 \pm 0,06
HF6	0,60 \pm 0,31**	1,38 \pm 0,39	1,83 \pm 1,11	0,07 \pm 0,07	0,09 \pm 0,07	0,06 \pm 0,04
Frauen	(n = 49)	(n = 48)	(n = 48)	(n = 48)	(n = 48)	(n = 48)
KH	0,42 \pm 0,21	1,36 \pm 0,39	1,65 \pm 0,82	0,07 \pm 0,06	0,09 \pm 0,07	0,04 \pm 0,02
HF1	0,49 \pm 0,22	1,18 \pm 0,33 ⁺	2,20 \pm 1,25 ⁺	0,04 \pm 0,05	0,08 \pm 0,05	0,05 \pm 0,05
HF6	0,61 \pm 0,36*	1,26 \pm 0,27	2,14 \pm 1,17*	0,05 \pm 0,05	0,08 \pm 0,07	0,05 \pm 0,03
Männer	(n = 25)	(n = 25)	(n = 25)	(n = 26)	(n = 27)	(n = 23)
KH	0,42 \pm 0,17	1,59 \pm 0,49	0,98 \pm 0,63	0,20 \pm 0,19	0,16 \pm 0,14	0,07 \pm 0,04
HF1	0,54 \pm 0,24	1,53 \pm 0,47	1,07 \pm 0,39	0,11 \pm 0,05	0,11 \pm 0,05	0,08 \pm 0,06
HF6	0,57 \pm 0,16	1,70 \pm 0,47	1,02 \pm 0,47	0,14 \pm 0,08	0,12 \pm 0,05	0,09 \pm 0,05
18–25 Jahre	(n = 41)	(n = 40)	(n = 40)	(n = 42)	(n = 41)	(n = 39)
KH	0,43 \pm 0,22	1,67 \pm 0,97	1,75 \pm 1,67	0,15 \pm 0,17	0,14 \pm 0,13	0,07 \pm 0,04
HF1	0,56 \pm 0,26 ⁺	1,60 \pm 1,01	2,51 \pm 1,64	0,08 \pm 0,08 ⁺	0,09 \pm 0,06	0,07 \pm 0,05
HF6	0,69 \pm 0,37*	1,82 \pm 1,43	2,38 \pm 1,96	0,07 \pm 0,07*	0,08 \pm 0,04*	0,06 \pm 0,03
26–45 Jahre	(n = 17)	(n = 16)	(n = 16)	(n = 16)	(n = 16)	(n = 16)
KH	0,33 \pm 0,12	1,46 \pm 0,27	1,37 \pm 0,81	0,09 \pm 0,08	0,09 \pm 0,05	0,04 \pm 0,02
HF1	0,40 \pm 0,14	1,39 \pm 0,34	1,65 \pm 0,83	0,07 \pm 0,05	0,09 \pm 0,04	0,04 \pm 0,03
HF6	0,50 \pm 0,13* [#]	1,31 \pm 0,21	1,54 \pm 0,42	0,07 \pm 0,07	0,11 \pm 0,12	0,07 \pm 0,05
46–70 Jahre	(n = 16)	(n = 13)	(n = 13)	(n = 14)	(n = 16)	(n = 13)
KH	0,42 \pm 0,17	1,56 \pm 0,47	1,36 \pm 0,45	0,07 \pm 0,03	0,09 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01
HF1	0,44 \pm 0,15	1,28 \pm 0,40	1,66 \pm 0,79	0,06 \pm 0,03	0,10 \pm 0,07	0,06 \pm 0,08
HF6	0,43 \pm 0,12	1,34 \pm 0,38	1,54 \pm 0,58	0,09 \pm 0,07	0,11 \pm 0,05	0,05 \pm 0,02

Tabelle 13: Enzymaktivität der 11 β -HSD und A-Ring-Reduktasen durch Analysen von fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin

Dargestellt als Mittelwert mit Standardabweichung, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA
 KH = ST der sechswöchigen Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = ST der einwöchigen Hochfett-Intervention, HF6 =
 ST der sechswöchigen Hochfett-Intervention

KH versus HF1: ⁺ p < 0,017, KH versus HF6: * p < 0,017, ** p < 0,001, HF1 versus HF6: # p < 0,017

3.7.3 Relative mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe

Hinsichtlich der Beurteilung des Cortisol-Cortison-Shuttles im subkutanen Fettgewebe zeigte die Gesamtkohorte eine hochsignifikante Reduktion der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD1 der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost um 31 % und um 17 % von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Des Weiteren sank signifikant die relative mRNA-Expression der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost um 14 %. Die Änderung der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD2 wies keine Signifikanz auf.

In der geschlechtsspezifischen Subgruppe kam es bei den Frauen zur hochsignifikanten Reduktion der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD1 um 32 %, bei den Männern zur hochsignifikanten Reduktion um 30 % jeweils der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Außerdem zeigten die Frauen eine signifikante Reduktion um 20 % von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Die relative mRNA-Expression von 11 β -HSD2 blieb bei beiden Geschlechtern ohne signifikante Veränderung.

Die Änderung der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe zeigte auch altersabhängige Einflüsse der Ernährung. In der Altersgruppe 18–25 Jahren war eine hochsignifikante Reduktion der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD1 der Woche 1 um 24 % und Woche 6 um 28 % der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. In der Altersgruppe 26–45 Jahre kam es zur hochsignifikanten Reduktion um 20 % der relativen mRNA-Expression der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost sowie zur signifikanten Reduktion um 33 % von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Bei den 46- bis 70-Jährigen reduzierte sich die relative mRNA-Expression der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost hochsignifikant um 38%.

Bezüglich der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD2 kam es in der Altersgruppe 26–45 Jahre zur signifikanten Elevation der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost um 46 % sowie zur signifikanten Reduktion um 44 % der Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost.

Allerdings kam es in den beiden anderen Altersgruppen über die gesamte Studiendauer zu keiner signifikanten Veränderung der relativen mRNA-Expression von 11 β -HSD2, siehe Abbildung 14 a–f).

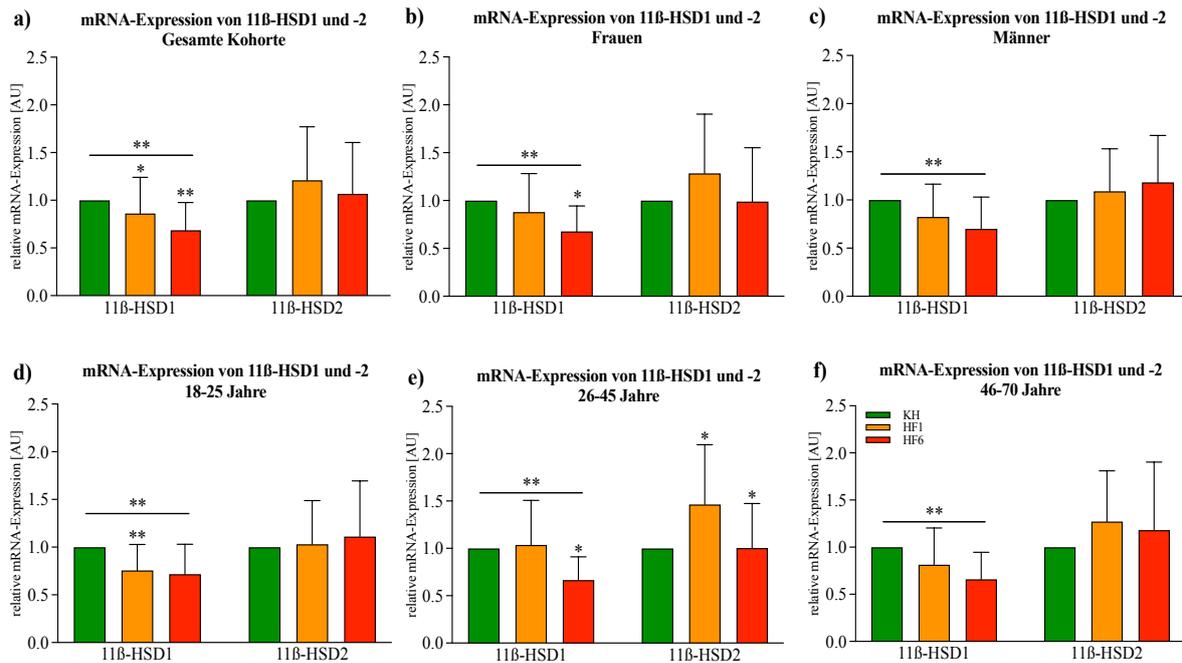


Abbildung 14: Relative mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe der gesamten Kohorte, Frauen, Männer, Altersgruppen

Dargestellt als Mittelwert mit Standardabweichung, Varianzanalyse mit One-way repeated-measures ANOVA
 KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

* $p < 0,017$, ** $p < 0,001$, HF1 versus HF6: ## $p < 0,001$

3.7.4 Korrelationsanalysen von fCortisol, fCortison und deren Metaboliten im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe

Allo-THF im 24-Stunden-Sammelurin und mRNA-Expression von 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe der Kohlenhydrat-Kost korrelierten hochsignifikant moderat positiv, der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost jeweils signifikant schwach bis moderat positiv.

Ebenso erwähnenswert ist die signifikante moderat positive Korrelation von THE im 24-Stunden-Sammelurin mit der mRNA-Expression von 11 β -HSD2 im subkutanen Fettgewebe der Woche 6 der Hochfett-Kost, siehe Abbildung 15 und Tabelle 14.

Bei den Korrelationsanalysen von fCortisol, fCortison und THF im 24-Stunden-Sammelurin mit der mRNA-Expression der 11 β -HSD-Isoenzyme im subkutanen Fettgewebe waren keine signifikanten Korrelationen erkennbar, siehe Tabelle 14.

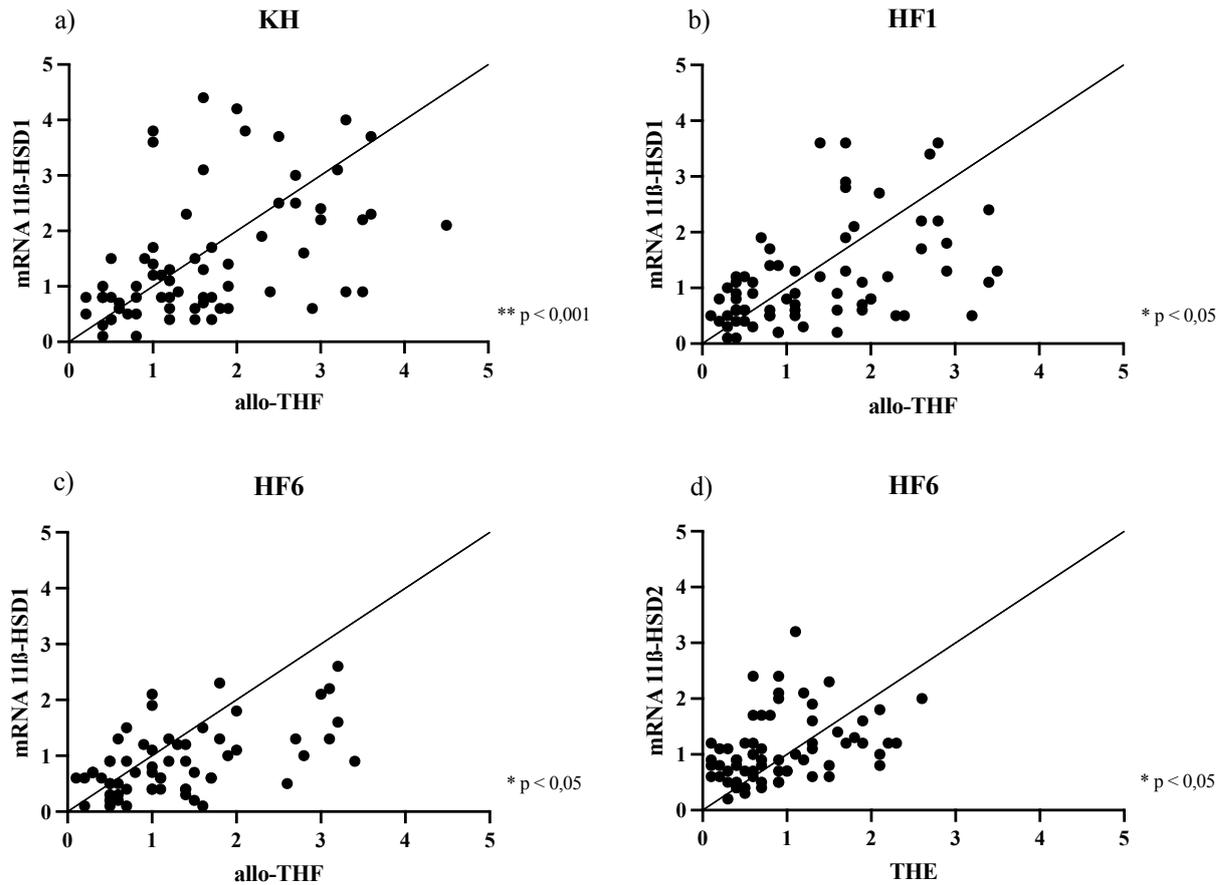


Abbildung 15: Korrelationsanalyse von a)–c) allo-THF im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11β-HSD1 im subkutanen Fettgewebe, d) THE im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11β-HSD2 im subkutanen Fettgewebe

Dargestellt als Streudiagramm

KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$

	mRNA-Expression von 11 β -HSD1			mRNA-Expression von 11 β -HSD2		
	KH (n = 74)	HF1 (n = 75)	HF6 (n = 72)	KH (n = 72)	HF1 (n = 72)	HF6 (n = 72)
fCortisol	-0,004	-0,032	-0,022	-0,069	0,105	0,060
fCortison	0,088	0,125	-0,064	0,003	0,053	0,109
THF	0,063	0,073	-0,002	-0,093	0,011	0,113
allo-THF	0,313 **	0,266 *	0,286 *	-0,168	0,029	0,239
THE	0,222	0,182	0,098	-0,063	0,062	0,300*

Tabelle 14: Korrelationsanalyse von fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin mit mRNA-Expression von 11 β -HSD1- und -2 im subkutanen Fettgewebe

Dargestellt sind Korrelationskoeffizienten

KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$

3.8 Erblichkeitsanalysen

3.8.1 Melatonin-Metabolismus

Zur Beurteilung der Heritabilität und für die Korrelationsanalysen von Melatonin in der Saliva wurde der Peak-Wert zum Zeitpunkt 24 Uhr genauer analysiert.

Nach der Kohlenhydrat-Kost und der Woche 1 der Hochfett-Kost zeigte sich kein genetischer Einfluss auf Melatonin in der Saliva. Diese Interventionszeit war geprägt von Einflüssen an gemeinsamen und individuellen Umweltfaktoren. Allerdings wurde ein genetischer Einfluss der Woche 6 der Hochfett-Kost auf Melatonin in der Saliva mit 65 % nachgewiesen.

Im 24-Stunden-Sammelurin erfolgte ein Anstieg des genetischen Einflusses auf aMT6s nach der Kohlenhydrat-Kost von 68% auf 75 % nach der Woche 1 der Hochfett-Kost, der auf diesem Niveau auch bis Woche 6 der Hochfett-Kost persistierte, siehe Abbildung 16.

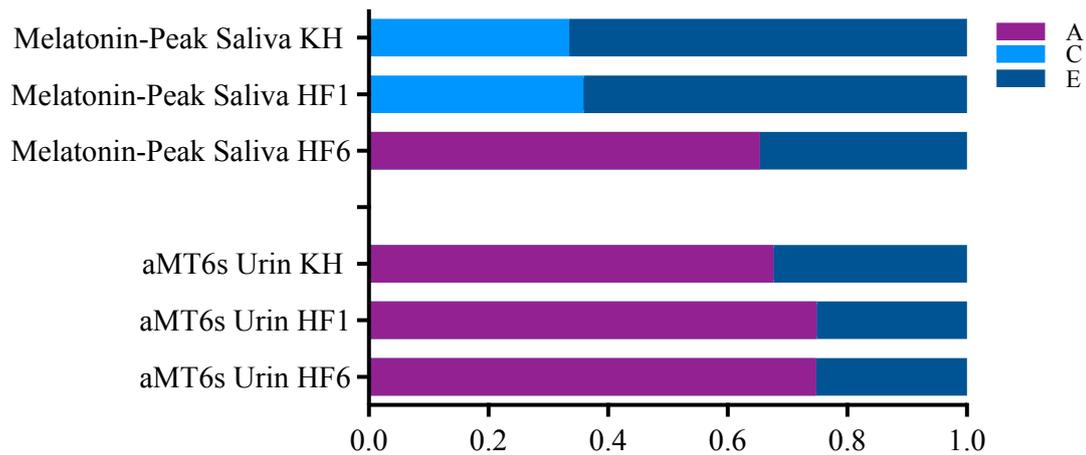


Abbildung 16: ACE-Modell für Melatonin-Peak in der Saliva und aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin

KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

A = genetischer Anteil, C = gemeinsame Umweltfaktoren, E = individuelle Umweltfaktoren

Im analysierten Melatonin-Peak-Bereich der Saliva der Woche 6 der Hochfett-Kost zeigte sich eine hochsignifikante stark positive Korrelation innerhalb der monozygoten Zwillinge. Bei den dizygoten Zwillingen konnte keine signifikante Korrelation der Kohlenhydrat-Kost sowie der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost nachgewiesen werden.

Der Metabolit aMT6s im Sammelurin der Kohlenhydrat-Kost sowie der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost zeigte eine hochsignifikante stark positive Korrelation innerhalb der monozygoten Zwillinge. Die dizygoten Zwillinge zeigten eine signifikante stark positive Korrelation der Woche 6 der Hochfett-Kost, siehe Tabelle 15.

	rMZ			rDZ		
	KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6
	(n = 25)	(n = 22)	(n = 25)	(n = 11)	(n = 10)	(n = 11)
Melatonin-Peak Saliva	0,38	0,38	0,70**	0,23	0,25	0,03
aMT6s Urin	0,65 **	0,76 **	0,70 **	0,14	0,11	0,61*

Tabelle 15: Korrelationsanalyse des Melatonin-Peaks in der Saliva und des aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin von monozygoten (rMZ) und dizygoten (rDZ) Zwillingspaaren

Dargestellt sind Korrelationskoeffizienten innerhalb monozygoter (rMZ) und dizygoter (rDZ) Zwillingspaare
KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$

3.8.2 Cortisol-Metabolismus

Die Heritabilität und die Korrelationsanalysen von Cortisol in der Saliva wurden anhand des Peak-Wertes zum Zeitpunkt 8 Uhr beurteilt. Die Interventionszeit war nur von individuellen Umweltfaktoren geprägt. Anzeichen von genetischem Einfluss oder gemeinsamer Umwelt konnten nicht nachgewiesen werden.

Das fCortisol im 24-Stunden-Sammelurin wurde nach der Kohlenhydrat-Kost überwiegend von gemeinsamen als auch von individuellen Umweltfaktoren beeinflusst. Hingegen stieg die Heritabilität innerhalb der Hochfett-Kost und erreichte einen Einfluss von 42 % nach der Woche 6 der Hochfett-Kost.

Das fCortisol im 24-Stunden-Sammelurin zeigte nach der Woche 1 der Hochfett-Kost einen genetischen Anteil von 37 %. Nach der Kohlenhydrat-Kost und nach der Woche 6 der Hochfett-Kost war ausschließlich der Einfluss der gemeinsamen bzw. individuellen Umweltfaktoren erkennbar, siehe Abbildung 17 a).

Im 24-Stunden-Sammelurin konnte weder nach der Kohlenhydrat-Kost noch nach der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost ein genetischer Einfluss auf die Metabolite THF, allo-THF und THE nachgewiesen werden, sie waren geprägt von individuellen Umweltfaktoren, siehe Abbildung 17 b).

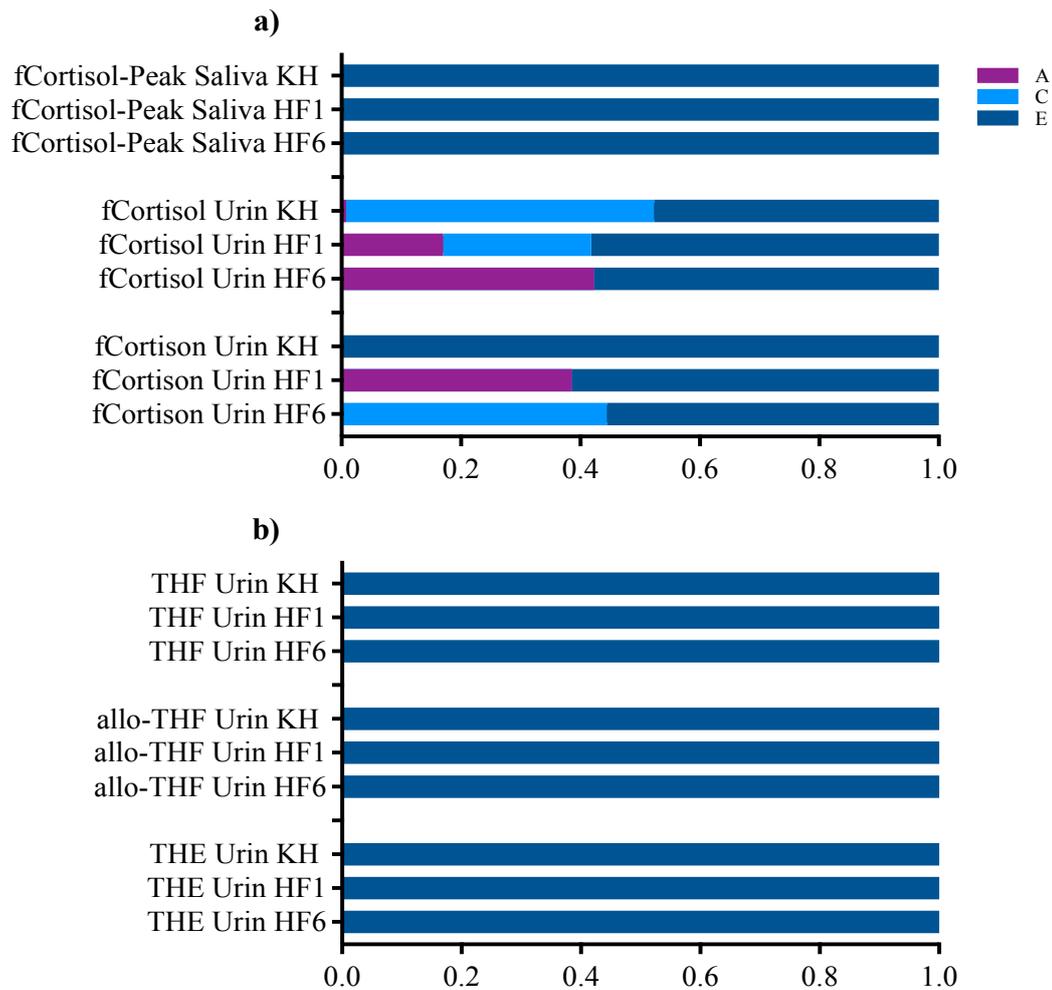


Abbildung 17: ACE-Modell für a) fCortisol-Peak in der Saliva, fCortisol und fCortison im 24-Stunden-Sammelurin b) THF, allo-THF und THE im 24-Stunden-Sammelurin

KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

A = genetischer Anteil, C = gemeinsame Umweltfaktoren, E = individuelle Umweltfaktoren

Der fCortisol-Peak der Saliva der Kohlenhydrat-Kost sowie der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost zeigte keine Korrelation innerhalb der monozygoten wie auch dizygoten Zwillinge.

Das fCortisol im 24-Stunden-Sammelurin der Kohlenhydrat-Kost sowie der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost korrelierte signifikant moderat bis stark positiv innerhalb der Monozygoten.

Bei den monozygoten Zwillingen konnte eine signifikante moderat positive Korrelation von fCortison im 24-Stunden-Sammelurin der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost nachgewiesen werden.

Außerdem korrelierte THF im 24-Stunden-Sammelurin der Woche 6 der Hochfett-Kost innerhalb der monozygoten Zwillinge signifikant moderat positiv.

Es zeigte sich eine signifikante stark positive Korrelation von THE im 24-Stunden-Sammelurin nach der Kohlenhydrat-Intervention bei den Dizygoten, siehe Tabelle 16.

	rMZ			rDZ		
	KH (n = 16)	HF1 (n = 16)	HF6 (n = 16)	KH (n = 11)	HF1 (n = 10)	HF6 (n = 11)
fCortisol-Peak Saliva	-0,06	0,09	-0,09	0,21	0,16	0,28
fCortisol Urin	0,56 *	0,45*	0,44*	0,46	0,28	0,14
fCortison Urin	0,18	0,43*	0,42*	0,40	-0,04	-0,59
THF Urin	0,17	0,32	0,41*	0,48	-0,27	-0,34
allo-THF Urin	0,15	0,27	0,29	0,30	-0,04	0,05
THE Urin	0,32	0,20	0,41	0,61*	0,03	-0,37

Tabelle 16: Korrelationsanalyse des Cortisol-Peaks in der Saliva und des fCortisol, fCortison, THF, allo-THF, THE im 24-Stunden-Sammelurin von monozygoten (rMZ) und dizygoten (rDZ) Zwillingspaaren

Dargestellt sind Korrelationskoeffizienten innerhalb monozygoter (rMZ) und dizygoter (rDZ) Zwillingspaare
KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

* $p \leq 0,05$

3.8.3 mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe

Es konnte keine genetische Determination für die mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe nach der Kohlenhydrat-Kost sowie nach der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost nachgewiesen werden.

Die mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe war nach der Kohlenhydrat-Kost und nach der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost vom Einfluss der individuellen Umweltfaktoren geprägt. Einzig die mRNA-Expression von 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe zeigte nach der Woche 1 der Hochfett-Kost einen Anteil von 71 % an gemeinsamen Umweltfaktoren, siehe Abbildung 18.

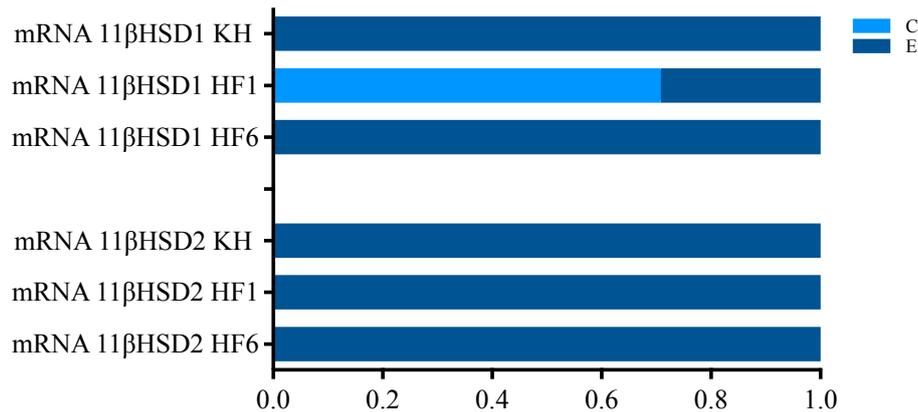


Abbildung 18: ACE-Modell für mRNA-Expression von 11β-HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe

KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

C = gemeinsame Umweltfaktoren, E = individuelle Umweltfaktoren

Die Korrelationsanalyse der mRNA-Expression von 11β-HSD1 im subkutanen Fettgewebe der Woche 1 der Hochfett-Kost zeigte eine hochsignifikante stark positive Korrelation innerhalb der monozygoten Zwillinge. Die dizygoten Zwillinge zeigten wiederum eine signifikante stark positive Korrelation der Kohlenhydrat-Kost und der Woche 1 der Hochfett-Kost.

Eine signifikante Korrelation der mRNA-Expression von 11β-HSD2 innerhalb der Monozygoten als auch innerhalb der Dizygoten war nicht erkennbar, siehe Tabelle 17.

	rMZ			rDZ		
	KH	HF1	HF6	KH	HF1	HF6
	(n = 29)	(n = 28)	(n = 27)	(n = 12)	(n = 12)	(n = 12)
mRNA11β-HSD1	0,29	0,68 **	0,14	0,59 *	0,79 *	0,28
mRNA11β-HSD2	0,26	0,02	0,03	0,57	0,43	0,52

Tabelle 17: Korrelationsanalyse der mRNA-Expression von 11β-HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe von monozygoten (rMZ) und dizygoten (rDZ) Zwillingspaaren

Dargestellt sind Korrelationskoeffizienten innerhalb monozygoter (rMZ) und dizygoter (rDZ) Zwillingspaare KH = 6-wöchige Kohlenhydrat-Intervention, HF1 = 1-wöchige Hochfett-Intervention, HF6 = 6-wöchige Hochfett-Intervention

* $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$

4 Diskussion

4.1 Studiendesign und -population

Beim Design der NUGAT-Studie handelte es sich um eine 12-wöchige nicht-randomisierte kontrollierte Interventionsstudie von Zwillingen. Die Kontrollintervention stellte in dieser Studie die sechswöchige KH-Ernährungsphase dar, die den Vorteil einer Run-in-Phase ermöglichte. Denn durch diese Run-in-Phase sollte vermieden werden, dass die Studienteilnehmenden ihre individuelle gewohnte Kost konsumieren, die dann evtl. Auswirkung auf die zu untersuchende Hochfett-Phase gehabt hätte. Optimiert wurde dies durch eine zusätzliche standardisierte Ernährungswoche vor dem ersten Untersuchungstag, dem Tag der Erhebung der Basisdaten.¹⁷⁷ In der „Nordic Diet“-Studie, bei der dies nicht beachtet wurde, diskutierte man kritisch die evtl. hohe Abhängigkeit der erhobenen Basisdaten von der habituellen Ernährungsform der Teilnehmenden zu Studienbeginn.¹⁷⁸

Durch den konsekutiven Ablauf der zwei Ernährungsphasen wurde die Möglichkeit geschaffen, im Anschluss an eine isokalorische Kohlenhydrat-Kost entsprechend den Empfehlungen der DGE für eine ausgewogene Ernährungsform, die kurzfristigen (eine Woche) und längerfristigen (sechs Wochen) Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost zu beobachten.

In eventuellen Folgestudien sollte man den Goldstandard des Studiendesigns, eine randomisierte kontrollierte Interventionsstudie (parallel oder cross-over), anstreben, um die in der vorliegenden Studie gewonnenen Erkenntnisse zu validieren bzw. aufkommende Fragen zu konkretisieren.

Die Rekrutierung an Zwillingen gestaltete sich schwierig, daher wurden letztendlich nur 96 Studienteilnehmende eingeschlossen. Die Widrigkeiten lagen allein schon in der Vorgabe, nur Paare an Zwillingen in die Studie aufzunehmen, die zusätzlich durch die Ein- bzw. Ausschlusskriterien verstärkt wurden. Jedoch konnte dies durch die sehr geringe Drop-out-Rate von nur einem Zwillingpaar (2 %) im Verlauf der Studiendauer relativ gut kompensiert werden.

Ein klares Ziel war, nicht nur die Ergebnisse der Gesamtpopulation zu analysieren, sondern neue detaillierte Erkenntnisse der Auswirkungen einer isokalorischen Hochfett-Kost auf Geschlecht und Alter zu gewinnen. Bedauerlicherweise bestand in der Studienpopulation keine ausgeglichene Verteilung bezüglich des Geschlechts und Alters. Bei etwa der Hälfte handelte es sich um Studienteilnehmende im Alter von 18–25 Jahren, Frauen stellten die Mehrheit in allen Altersgruppen dar.

Damit lag ein Biasⁱ vor. Dies musste unbedingt in der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden. Aufgrund des o. g. Ziels und da kein nachweisbarer signifikanter geschlechtsassoziierter Altersunterschied vorlag, wurde auf eine Adjustierung für Geschlechter und Alter verzichtet. Eine Ausnahme stellte die Analyse von MSF_{sc} dar, da eine geschlechts- und altersspezifische Analyse nicht das Ziel der Untersuchung war.

Die genetische Analyse mittels ACE-Modells wurde nur in der Gesamtkohorte durchgeführt, da für eine weitere Differenzierung in Geschlecht und Alter die Fallzahlen zu gering ausfielen.

4.2 Compliance gegenüber Ernährungsvorgaben und isokalorischer Energiebilanz

Die Makronährstoffe in der gesamten Interventionsphase lagen absolut gesehen 90 % über den Zielvorgaben (absolute Abweichung max. 9 % in der freien, max. 4,7 % in der standardisierten Phase) und konnten folglich als eine sehr gute Umsetzung der Vorgaben gewertet werden. In den drei Fett-Subgruppen entsprachen die Sollwerte von SFA und MUFA absolut gesehen gleich 80 % (absolute Abweichung max. 20 % in der freien, max. 15,6 % in der standardisierten Phase), jedoch gelang dies nicht bei PUFA. Dort wurde sowohl in der freien als auch in der standardisierten Phase das Ziel verfehlt, es ergab sich eine absolute Abweichung von max. 48 % des Sollwertes. Demzufolge ist eine Interpretation der Werte jeder einzelnen Fett-Subgruppe unter isokalorischer Energiebilanz in dieser Studie nur von SFA und MUFA möglich.

Neben der *qualitativen* Ernährungscompliance musste auch die Compliance gegenüber der *isokalorischen Energiebilanz* eingehalten werden. Diese zeigte sich neben der Auswertung der Ernährungsprotokolle im nahezu konstanten BMI-Verlauf als auch in den zur Aktivitätsmessung herangezogenen Parametern, die keine signifikanten Veränderungen aufwiesen.

Demzufolge wurde ein wesentlicher Grundbaustein für die Datenanalyse durch die Erhebung einer nutritiv-gesteuerten isokalorischen Kostform mit hoher Qualität gesetzt und damit bereits im Vorfeld ein ganz entscheidender Faktor für die Studiauswertung erfüllt.

Umso mehr erlangt dieser Aspekt an Bedeutung, als neben zahlreichen diätetischen auch nichtdiätetische Faktoren Einfluss auf die erhobene Datenlage nahmen. Es ist bekannt, dass eine differente Bioverfügbarkeit der Nährstoffe durch individuell unterschiedliche Absorptionsraten der Darmwand und des First-Pass-Effektes in jedem einzelnen Organismus vorliegt. Ebenso sollten die unterschiedliche Lebensmittelmatrix sowie Polymorphismen der am Metabolismus beteiligten Enzyme nicht unberücksichtigt gelassen werden.¹⁷⁹⁻¹⁸¹

ⁱ Durch systematische Fehler verursachte Verzerrung des Ergebnisses einer Repräsentativerhebung

4.3 Einfluss einer isokalorischen Hochfett-Kost auf den Glucose- und Lipidmetabolismus

In der Gesamtkohorte und in der Altersgruppe 18-25 Jahre kam es nach einer Woche isokalorischer Hochfett-Kost zu einer signifikanten Elevation der Insulin-Konzentration im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost.

Die Frauen reagierten ebenfalls mit einer signifikanten Elevation der Insulin-Konzentration und zusätzlich mit einer signifikanten Elevation des HOMA-Index nach der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Demzufolge stellte sich bei den Frauen nach der Umstellung der isokalorischen Kost von Kohlenhydrat- auf Hochfett-Kost kurzfristig eine Insulin-Resistenz ein. Bei den Männern blieben signifikante Veränderungen, insbesondere der Insulin-Konzentration aus.

Abhängig vom Körperfettverteilungsmuster und vom Testosteronspiegel weisen mehr Männer eine Insulin-Resistenz auf als prämenopausale Frauen.¹⁸²⁻¹⁸⁴ Die durch Sexualhormone vermittelte verbesserte Insulin-Sensitivität bei Frauen nimmt mit dem Einsetzen der Menopause ab.¹⁸⁵ Moran et al. fanden heraus, dass während der Adoleszenz bei Männern die Insulin-Resistenz trotz signifikanter Abnahme der Adipositas signifikant erhöht blieb, wohingegen es bei Frauen mit signifikantem Anstieg des Körperfetts nicht zur signifikanten Änderung der Insulin-Sensitivität kam.¹⁸⁶ Der Einfluss der Nahrungszusammensetzung auf die Insulin-Resistenz wurde mehrfach in Studien untersucht. Ein nutritiver Fettanteil von mehr als 40 % führte in Studien mit Ratten zu einer geschlechtsunabhängigen systemischen Insulin-Resistenz. Es wird angenommen, dass eine umgekehrte Beziehung zwischen dem Fettanteil in der Ernährung und der Insulin-Sensitivität möglich ist.¹⁸⁷

Allerdings stieg in drei isokalorischen Studien von adipösen Probandinnen und Probanden mit NAFLD der Leberfettgehalt ohne Veränderung der Insulin-Sensitivität nach dem Wechsel von Niedrigfett- auf Hochfett-Kost an. Hierfür wurde eher der Fett- als der Kohlenhydratanteil der Kostform als Ursache gesehen.^{12,13,188}

Auf der anderen Seite reduzierte eine sechswöchige isokalorische mediterrane Kost in einer randomisierten Cross-over-Humanstudie die Lebersteatose (Leberverfettung) und verbesserte die Insulin-Sensitivität in einer insulinresistenten Population mit NAFLD.¹⁸⁹ Ebenso konnte bei Typ-2-Diabetikerinnen und -diabetikern durch eine an tierischen und pflanzlichen Proteinen reiche isokalorische Kostform das Leberfett reduziert werden.¹⁹⁰

Yki-Järvinen et al wiederum konnten zeigen, dass jede Art von Kalorienrestriktion langfristig zu wirksamen Effekten der Verringerung des Leberfettgehaltes und der damit assoziierten metabolischen Komorbiditäten führt.¹⁹¹

Demzufolge könnte man anhand der angeführten Studienlage die signifikante Erhöhung der Insulinkonzentration bzw. des HOMA-Indexes bei den Frauen und den 18- bis 25-Jährigen in der NUGAT-Studie als passagere Anpassungsstörung im Sinne einer metabolischen Sofortreaktion auf die isokalorische Hochfett-Kost nach einer isokalorischen Kohlenhydrat-Kost interpretieren. Andersherum bleiben signifikante Veränderungen auf die isokalorische Hochfett-Kost der anderen Subgruppen aufgrund bereits potentiell vorliegender Insulinresistenz aus.

Ähnlich der NUGAT-Studie wurde der Einfluss von SFAs und MUFAs auf die Insulin-Sensitivität in einer sechsmonatigen randomisiert-kontrollierten isokalorischen Interventionsstudie untersucht. Das Kollektiv der Teilnehmenden zeichnete sich durch verschiedene Score-Kriterien wie z. B. erhöhten Blutdruck, Übergewicht, Adipositas und gestörte Glucose-Toleranz aus.¹⁹² In diesem Projekt ergab sich kein Hinweis auf eine Veränderung der Insulin-Sensitivität über einen längeren Zeitraum, indirekt abgeschätzt über die Insulin-Konzentrationsbestimmung im Blut. Ähnliche Effekte zeigte eine kontrollierte isokalorische Ernährungsstudie von gesunden Männern und Frauen mit einem BMI von 22–32 kg/m² bei einer fettreichen Kost mit einem Fettanteil größer als 37 % der Gesamtenergie. Auch bei dieser Studie hatten weder SFAs noch MUFAs einen Einfluss auf die Insulin-Sensitivität.¹⁹³ Das Fettsäuremuster per se scheint einen geringeren Einfluss auf die Insulin-Sensitivität als das nutritive Gesamtfett zu haben.

Der HbA_{1c} stieg allein in der Altersgruppe 18–25 Jahre nach der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost und von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost.

Dieser Parameter spiegelt, wie bereits unter Kap. 2.8 erwähnt, den zirkulierenden durchschnittlichen Blutzucker der letzten 8–12 Wochen im Durchschnitt wider. Dies bedeutet übertragen auf die vorliegende Studie, dass der HbA_{1c} vom Studientag HF1 den durchschnittlichen Blutzucker der gesamten Kohlenhydrat-Interventionszeit darstellt, vom Studientag HF 6 den der gesamten Hochfett- und Kohlenhydrat-Intervention. Man muss zur Einordnung dieser statistisch signifikanten Erhöhung von 0,2 Prozentpunkten anmerken, dass es sich um keine klinische relevante Erhöhung handelt. Eine weitere Interpretation auf dem Boden der vorliegenden Daten scheint nicht möglich.

Trotz isokalorischer Energiebilanz und gleichbleibenden Körpergewichts erhöhten sich die Gesamt-Cholesterin-, HDL- und LDL-Cholesterin-Werte signifikant bzw. hochsignifikant durch die Hochfett-Kost. Eine fettreiche Kost beeinflusst demnach den Cholesterin-Stoffwechsel auch unabhängig von Energiezufuhr bzw. Körpergewichtsverhalten.

Der hochsignifikante Anstieg des Gesamt-Cholesterins nach der sechswöchigen isokalorischen Hochfett-Kost lag in der Altersgruppe 46–70 Jahre sogar über dem laborspezifischen Referenzbereich von 5,1 mmol/l. Laut European Society of Cardiology (ESC) stehen erhöhte LDL-Cholesterin-Konzentrationen kausal für Atherosklerose. Es zeigte sich in der NUGAT-Studie in derselben Altersgruppe eine Konzentrationserhöhung mit einem LDL-Cholesterin-Mittelwert von 3,4 mmol/l nach einer Woche und von 3,7 mmol/l nach sechs Wochen Hochfett-Kost bei einem empfohlenen Zielwert für gesunde Menschen weniger als 3,0 mmol/l.¹⁹⁴ Angelehnt an eine der bekanntesten kardiologischen Studie, der Framingham-Studie, zeigte eine Follow-up-Studie von mehr als 150 000 kardiovaskulären Ereignissen einen bemerkenswerten konsistenten dosisabhängigen log-linearen Zusammenhang zwischen dem absoluten Ausmaß der Exposition des Gefäßsystems gegenüber LDL-Cholesterin und dem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Dieser Effekt scheint mit zunehmender Dauer der Exposition gegenüber LDL-Cholesterin zuzunehmen.¹⁹⁵ Demnach ist die Aussage gerechtfertigt, dass eine Hochfett-Kost an sich allein schon ohne gesteigerte Energiebilanz bzw. Körpergewichtszunahme bei Gesunden in der Altersgruppe 46–70 Jahre über den Anstieg der LDL-Cholesterinkonzentration im Blut das Risiko von kardiovaskulären Ereignissen erhöht.

Der HDL-Cholesterin-Mittelwert lag bereits bei den Studienteilnehmenden, ausgenommen der Männer, nach der Kohlenhydrat-Intervention über den empfohlenen HDL-Cholesterin-Richtwerten der ESC-Leitlinien von 2016 zur Prävention von Herzkreislauf-Erkrankungen, die mit einem niedrigen Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert sind (Frauen > 1,2 mmol/l und Männer > 1,0 mmol/l) und konnte signifikant bei allen Studienteilnehmenden über die isokalorische Hochfett-Kost gesteigert werden. Zum Thema HDL-Richtwerte zur Prävention von kardiovaskulärem Risiko ist anzumerken, dass randomisierte und epidemiologische Studien bislang sehr unterschiedliche Assoziationen zwischen HDL und dem kardiovaskulären Risiko aufzeigen. Darüber hinaus gibt es keine Hinweise aus randomisierten Medikamenten-Studien, dass eine therapeutische Erhöhung des Plasma-HDL-Cholesterins das Risiko von kardiovaskulären Ereignissen verringert.¹⁹⁴

In der NUGAT-Studie führte die isokalorische Hochfett-Ernährung, reich an SFAs und MUFAs, sowohl zum Anstieg von LDL- als auch von HDL-Cholesterin. In der isokalorischen Interventionsstudie von Jebb et al. sanken die Konzentrationen der Cholesterinprofile durch den Austausch von SFA durch MUFA.¹⁹² Demzufolge scheint der Sättigungsgrad der nutritiv aufgenommenen Fettsäuren unabhängig von der Energieaufnahme den Lipid-Metabolismus bei nicht vollständig Gesunden wesentlich zu beeinflussen. Eine entscheidende Auswirkung scheint auch die Quelle der SFAs auf die metabolische Antwort zu haben. Der Verzehr von Fleisch bzw. Fleischprodukten

ist mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen verknüpft, der Verzehr von SFAs aus Milch bzw. Milchprodukten ist wiederum mit einem erniedrigten kardiovaskulären Risiko assoziiert.¹⁹⁶

Es kam sowohl in der Gesamtkohorte als auch bei den Frauen zu einer metabolischen Sofortreaktion und verzögerten Reaktion von Gesamt-Cholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin. Die restlichen Subgruppen reagierten mit einer metabolischen verzögerten Reaktion des Gesamt-Cholesterin, HDL- und LDL-Cholesterins. Die Subgruppe der Männer reagieren zusätzlich mit einer metabolischen Sofort-Reaktion des HDL-Cholesterins auf die isokalorische Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Dies könnte man interpretieren, dass Frauen altersunabhängig empfindlicher bzw. schneller auf die Umstellung auf eine Hochfett-Kost reagieren. Nachweislich ist der Fetttransport bei Frauen schneller als bei Männer.¹⁹⁷

Die Männer lagen, wie oben erwähnt, nach der Kohlenhydrat-Intervention unterhalb der empfohlenen HDL-Cholesterin-Richtwerten, was evtl. ausschlaggebend für den signifikanten Anstieg des HDL-Cholesterins nach bereits einwöchiger isokalorischer Hochfett-Kost sein könnte.

Bei den Männern und in der Altersgruppe 18–25 Jahre konnte man eine signifikante FFA-Reduktion, in der Gesamtkohorte, die bekanntlich aus jungen Studienteilnehmenden bestand, sogar eine hochsignifikante Reduktion während der Hochfett-Intervention beobachten. Die Triglyceride bleiben in den untersuchten Gruppen ohne signifikante Veränderungen.

Normalerweise werden bei einer fettreichen Ernährung die aufgenommenen ungenutzten Energieträger durch die Lipogenese gespeichert. Hierfür werden die Triglyceride durch die LPL in den Adipozyten hydrolysiert und als FFA aufgenommen. Bei einer isokalorischen Energiebilanz sind die Energieträger jedoch begrenzt. Daher wurden in der NUGAT-Studie die über die Nahrung aufgenommenen TG vermutlich nicht im Fettgewebe gespeichert, sondern direkt in FFS abgebaut, die wiederum durch β -Oxidation zur Gewinnung von Energie in Form von ATP genutzt wurden. Dies lässt vermuten, dass es bei einem Fettdepot der Studienteilnehmenden mit einem BMI-Median in der Gesamtkohorte von 22,5 kg/m² zur deutlich verstärkten Fettsäureoxidation aus den nutritiv-aufgenommenen Fetten kommen musste, um den Energiebedarf der Zellen aufrechterhalten zu können.

Noakes et al. analysierten in einer Meta-Analyse, dass kohlenhydratarme fettreiche Kost, die mit Gewichtsreduktion einherging, den TG-Spiegel stärker abfallen lässt als eine fettarme Kost.¹⁷ Analog ergab eine Meta-Analyse mit randomisierten kontrollierten Studien von Lu et al., dass eine fettarme im Vergleich zur fettreichen Kostform den TG-Spiegel bei Übergewichtigen bzw. Adipösen signifikant weniger stark absinken ließ.¹⁹⁸

4.4 Einfluss einer isokalorischen Hochfett-Kost auf die Circadianik

4.4.1 Allgemein

Circadiane Uhren werden über externe Reize durch Phasenanpassung der circadianen Rhythmik an Umgebungsveränderungen reguliert. In der NUGAT-Studie wurde zur weiteren Klärung der Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost auf ein multiples oszillatorisches Netzwerk auf die circadianen Markervariablen Melatonin und Cortisol sowie deren Metaboliten zurückgegriffen. Obwohl Melatonin und Cortisol als robuste Marker für das Signal des circadianen Systems angesehen werden, darf man nicht unerwähnt lassen, dass beide in Bezug auf das Syntheseprofil als auch auf die Synthesedauer stark interindividuellen Schwankungen unterliegen.¹⁹⁹⁻²⁰¹ Trotzdem konnten in der NUGAT-Studie eindeutige geschlechts- und altersdifferente Synchronisationsveränderungen als Reaktion auf eine isokalorische Hochfett-Kost aufgezeigt werden, die im weiteren Verlauf präziser dargestellt werden.

Einer der potenziell stärksten Einflussfaktoren auf die Circadianik und damit auf die Produktion von Melatonin und Cortisol in Form von Entrainment, der Zeitgeber *Schlaf*, konnte durch die Bestimmung des Chronotyps über die Auswertung von speziell zu diesem Thema validierten Schlafprotokollen ausgeschlossen werden. Hier ergaben sich keine signifikanten Veränderungen über die gesamte Studiendauer hinweg.

Um den Einfluss häuslicher exogener Einflüsse zwischen den Untersuchungstagen möglichst gering zu halten, wurden die Studienteilnehmenden auf die mögliche Vermeidung von artifizieller Lichtexposition insbesondere in der Nacht, die Einhaltung von regelmäßigen Mahlzeiten und Schlafturni, den Verzicht auf sportliche Aktivität am Abend sowie möglichst konstante Umgebungstemperaturen insbesondere während der standardisierten Phasen hingewiesen.

Die interindividuelle Neigung oder berufsbedingte Notwendigkeit zur tageszeitlichen Einnahme der Hauptmahlzeit wurde in den freien Interventionsphasen nicht durch Vorgaben durchbrochen. Die tageszeitliche Einnahme der Mahlzeiten sollte jedoch eine Konstanz während der Studiendauer aufweisen. Ein evtl. wissenschaftlich beschriebener metabolischer Jetlag durch die berufsbedingte abendliche Einnahme der Hauptmahlzeit und Änderung am Wochenende konnte damit nicht vermieden werden.²⁰² Jedoch wurde wiederum in der standardisierten Phase explizit um die Einhaltung vorgegebener Esszeiten neben der Aufnahme der standardisierten Hochfett-Kost geachtet. Potenzielle Studienteilnehmende mit einem unregelmäßigen Esszyklus, Schichtarbeit, extremen Schlafstörungen oder Reisen mit berufsbedingtem sozialen Jetlag wurden nicht in die Studie aufgenommen.

Zusätzlich wurde zur Vermeidung von möglichen anderweitigen potenziellen desynchronisierenden Circadianik-Impulsen auf konstante Umgebungskonditionen an den Untersuchungstagen und ein konstant durchgeführtes Untersuchungsprotokoll geachtet. Nur so konnte eine Reduktion potenzieller maskierender Effekte des Umgebungszeitgebers ermöglicht werden.

Durch die Dauer der Gesamtstudie war allerdings ein möglicher Einfluss der saisonal schwankenden Tag-Nacht-Länge nicht ganz auszuschließen. Dies spielte aber sicherlich eine untergeordnete Rolle, da die Studiendauer jedes einzelnen Studienteilnehmenden zwölf Wochen betrug, was somit eher zu einem intraindividuellen Unterschied der einzelnen Analyseergebnisse der drei Untersuchungstage geführt haben könnte. Außerdem wurde in der NUGAT-Studie nicht die Episodendauer analysiert, auf die die Tages- bzw. Nachtlänge einen Einfluss nimmt.

Über die Marker-Evaluierung aus der Saliva war es möglich, die internen circadianen Uhren indirekt repräsentativ darzustellen.²⁰³ Die Erhebung auf diesem Wege hatte den Vorteil, dass die Proben nichtinvasiv gesammelt werden konnten. Jedoch konnte dadurch eine vollständig kontinuierliche Dokumentation, wie bei einer Plasmabestimmung mittels venösen Verweilkatheters, nicht gewährleistet werden. Dies hätte die Notwendigkeit eines stationären Aufenthaltes für 48 Stunden bedeutet, was aus logistischen und finanziellen Gründen im Vorfeld ausgeschlossen werden musste. Folglich setzte diese Entscheidung eine korrekte häusliche Durchführung nach vorgegebener detaillierter Instruktion der Salivetten-Probengewinnung und -lagerung durch jeden einzelnen Studienteilnehmenden voraus, insbesondere für die Aggregation der nächtlichen Proben. Nur durch deren konsequente und gewissenhafte Mitarbeit konnte eine qualitativ hochwertige Probenanalyse gewährleistet werden. Burgess et al. konnten eine gute Korrelation von häuslicher Probensammlung mittels Salivetten und einer laborinternen Messung nachweisen, vorausgesetzt die Studienteilnehmenden verhielten sich konform zu den Instruktionen.²⁰⁴

Zur Einhaltung der Nachtruhe vor dem jeweiligen Untersuchungstag wurde zusätzlich auf die Saliva-Probengewinnung um zwei Uhr verzichtet. Damit wurde die Bewertung des Peaks der Melatonin-Sekretion limitiert, insbesondere die Beurteilung der absoluten bzw. relativen Amplitude sowie der Phase bzw. Acrophase eines oszillatorischen Zyklus. Auf der anderen Seite war selbst nach Abschluss und Auswertung der Studie eine andere praktisch umsetzbare und sinnvolle Möglichkeit nicht erkennbar. Trotz dieser Einschränkung verstärkte sich nach Datenanalyse der Eindruck, dass die Interpretation der Ergebnisse mit anderen in der Studie erhobenen Daten konform war bzw. mit ihnen in Zusammenhang gesetzt werden konnte.

Eine additive und damit ergänzende Möglichkeit zur Beurteilung der Circadianik stellte die ebenfalls nichtinvasive und leicht umsetzbare Bestimmung von aMT6s sowie fCortisol und fCortison mit ihren Metaboliten THF, allo-THF und THE im Urin dar.²⁰⁵ Zur Zeit der Studiendurchführung

gab es noch kein labortechnisches Verfahren, um allo-THE zu bestimmen. Dies könnte zu Ungenauigkeiten bei der Beurteilung der Funktion von Enzymen geführt haben. Die neue, validierte LC-MS-/MS-Methode besitzt den unbestrittenen Vorteil, neben fCortisol, fCortison, THF, allo-THF und THE auch allo-THE bestimmen zu können. Die gründliche Analyse des Glucocorticoid-Gleichgewichts beim Menschen durch diese Methode sollte zukünftig berücksichtigt werden.²⁰⁶

4.4.2 Melatonin-Metabolismus

Der Melatonin-Rhythmus, in der NUGAT-Studie durch die Profil- und Konzentrationsbestimmung in der Saliva und die seines Hauptmetaboliten aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin erhoben, ist der beste periphere Parameter zur Darstellung der regulatorischen Effekte des circadianen Netzwerkes zentral und in der Peripherie beim Menschen.²⁰⁷

Studien zeigen signifikante Korrelationen zwischen dem Melatonin-Spiegel in der Saliva und im Plasma.²⁰⁸ Ebenso wurden nach Verabreichung von exogenem Melatonin nahezu gleichzeitig Veränderungen des Melatonin-Spiegels in der Saliva- und im Serum beobachtet.²⁰⁹ Die Saliva-Konzentration spiegelt demzufolge die im Organismus zirkulierende Melatonin-Circadianik wider.

Ebenso weisen einige Studien signifikante Beziehungen zwischen der aMT6-Konzentration im Urin und dem Melatonin-Spiegel im Plasma nach.^{210,211} Äquivalent zur Melatonin-Konzentration im Blut zeigt auch die aMT6s-Konzentration im Urin einen deutlichen circadianen Rhythmus.²¹²

Melatonin in der Saliva

Die isokalorische Hochfett-Kost nimmt in der Gesamtkohorte Einfluss auf die Melatonin-Circadianik durch eine hochsignifikante Elevation des Peak-Niveaus nach der Woche 1 der Hochfett-Kost im Sinne einer Sofortreaktion und am Ende der Hochfett-Kost im Sinne einer verzögerten Reaktion.

Die verknüpfende Einflussnahme von Hochfett-Kost und Melatonin konnten bereits De Farias et al. bei übergewichtigen Mäusen beobachten. Eine Melatonin-Supplementierung senkte die durch eine Hochfett-Kost induzierte Inflammation.²¹³ Auch an adipösen Ratten wurde mittels potenzieller Biomarker gezeigt, dass Melatonin die durch eine Hochfett-Kost verursachte Inflammation und Leberpathogenese positiv beeinflusst.²¹⁴ Selbst das Lipidprofil, der Blutdruck und die Marker des oxidativen Stresses wurden unter Melatonin-Gabe verbessert.²¹⁵ Eine randomisierte klinische Studie konnte bei einer zweijährigen Gewichtsreduktion keinen Einfluss auf den Melatonin-Rezeptor 1B nachweisen.²¹⁶

Die signifikante bzw. hochsignifikante Reduktion der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich der Kohlenhydrat-Kost bzw. nach der Woche 1 der Hochfett-Kost könnte man als inverse Reaktion

auf die o.g. Elevation des Peak-Niveaus interpretieren. Allerdings sollte man mit weiteren spekulativen Interpretationen dieser Veränderung zurückhaltend sein, denn in der wissenschaftlichen Literatur war kein vergleichbarer Forschungsansatz bzw. kein vergleichbares Forschungsergebnis bezüglich einer Veränderung der Melatonin-Circadianik am Tage zu finden. Allerdings wäre dies ein Ansatzpunkt für die in den Focus zu nehmenden weiteren eigenen Forschungsarbeiten.

Auf die Hochfett-Kost reagierten die Frauen mit einer Sofortreaktion durch die signifikante Reduktion der zirkulierenden Melatonin-Konzentration der Woche 1 im Vergleich zur Woche 6 der Hochfett-Kost im Peak-Bereich der Melatonin-Circadianik. Diese adaptive Dämpfung (chronobiologisch: die Abnahme der Amplitude über die Zeit) der zirkulierenden Melatonin-Konzentration könnte man wiederum mit der Hyperinsulinämie nach der Woche 1 der Hochfett-Kost in Verbindung bringen. In-vivo-Daten von Zellkulturen bestätigen, dass Melatonin direkt die Insulin-Sekretion moduliert bzw. hemmende Insulin-Wirkung aufweist.²¹⁷⁻²¹⁹

Bei postmenopausalen Frauen wiederum führt die Applikation von Melatonin zu einer Reduktion der Insulin-Sensitivität.²²⁰ Ob diese Erkenntnisse im Umkehrschritt (Insulin-Wirkung auf Melatonin) ebenfalls zu beobachten wären, ist bislang noch nicht untersucht worden.

Als einzige Subgruppe der Kohorte reagierten die Frauen um 12 Uhr different zur restlichen Kohorte. Zu diesem Zeitpunkt trat nach sechs Wochen Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost eine signifikante Reduktion der Melatonin-Konzentration auf. Auch hier sollte man, wie bereits oben im Abschnitt der Gesamtkohorte erwähnt und begründet, eine Zurückhaltung der Interpretation der Ergebnisse wahren.

In Betrachtung der Melatonin-Circadianik zeigten die Männer nach der Kohlenhydrat-Kost und der Woche 1 der Hochfett-Kost um 24 Uhr eine deutlich niedrigere Peak-Höhe als die Frauen. Nach der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Intervention sowie von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost stieg allerdings in Form einer verzögerten Reaktion hochsignifikant die zirkulierende Melatonin-Konzentration um 24 Uhr deutlich über das Peak-Niveau der Frauen an. Gleichzeitig handelte es sich beim Effekt der Männer um den steilsten und stärksten Anstieg im Peak-Bereich aller Subgruppen der Studienkohorte.

Sartori et al. bewiesen eine Verbesserung der Insulin-Sensitivität und Glucose-Toleranz mittels Melatonin-Gabe bei insulinresistenten Ratten unter Hochfett-Kost.¹⁵⁸ Damit würde bei gleichbleibender Insulin-Konzentration in der erhobenen Laboranalyse und gleichzeitiger Melatonin-induzierter verbesserter Insulin-Wirkung der Männer die stärkere und signifikante FFA-Reduktion nach der Woche 6 der Hochfett-Kost zu begründen sein. Insulin bewirkt nämlich eine FFA-Unterdrückung durch Hemmung der Lipolyse.²²¹ Bei gleichzeitig geringem, allerdings statistisch nicht

signifikantem Anstieg der Glucose im Blut und konsekutiver HOMA-Index-Elevation wäre zusätzlich zu vermuten, dass sich die Melatonin-induzierte Verbesserung der Insulin-Sensitivität tatsächlich nur auf hepatischer Ebene abspielt. Dieses geschlechtsspezifisch-theoretische Konstrukt basiert auf dem verbreiteten wissenschaftlichen Wissen, dass Männer per se eher insulinresistenter sind als Frauen.

Für den allgemein unterschiedlichen circadianen Verlauf von Melatonin der beiden Geschlechtern und deren Beziehung zur möglichen Insulin-Sensitivität bzw. -Resistenz werden die Geschlechtshormonspiegel und die geschlechtshormonspezifischen Genexpressionen als alleinige Hauptursachen gesehen, die auf evolutionsbiologischen Faktoren basieren.²²² Demzufolge liegt ein Zusammenhang der geschlechtsdifferenten Metabolisierung von Fetten und der damit verbundenen Fettverteilungsmuster der betreffenden Organe sowie des Fett- und Muskelgewebes vor.

In der Altersgruppe 18–25 Jahre zeichneten sich keine signifikanten Unterschiede der Hochfett- zur Kohlenhydrat-Intervention im circadianen Verlauf der Melatonin-Expression ab. Auf der einen Seite könnte man ein robustes intrinsisches circadianes Oszillatorensystem in diesem jungen Alter vermuten, auf der anderen Seite wird die noch nicht stabilisierte Phasenkopplung zwischen den verschiedenen circadianen Rhythmen als mögliche Ursache für die altersbedingten Unterschiede vermutet, nachdem Weinert et al. eine schnellere Resynchronisation von jungen im Vergleich zu erwachsenen Mäusen beobachtet haben.²²³

Ähnlich der Männer reagierte die Altersgruppe 26–45 Jahre mit einer verzögerten Reaktion auf die Hochfett-Kost durch eine signifikante Elevation der zirkulierenden Melatonin-Konzentration um 24 Uhr von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Allerdings befanden sich in dieser Altersgruppe 20% Frauen versus 9% Männer.

In der Altersgruppe 46–70 Jahre stand vor allem die Frühreaktion auf die Hochfett-Kost durch die starke signifikante Reduktion der Amplitude nach der Woche 1 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost im Vordergrund.

Die Amplitudenabschwächung und damit die Reduktion der circadianen Melatonin-Produktion im Alter ist seit einigen Jahren bekannt und kann auf Störungen zwischen endogenem und exogenem circadianen Rhythmus hinweisen.²²⁴⁻²²⁶ Man assoziiert damit auch die im Alter entstehende Zunahme an Erkrankungen, insbesondere entzündlicher Erkrankungen durch entsprechende Veränderungen im Immunsystem.^{227,228}

Diese beschriebenen Phasenantwortkurven spiegelten Impulse auf die Hochfett-Intervention wider, die in Form einer adaptiven Dämpfung als Frühreaktion und in Form einer Phasenverschiebung als Spätreaktion zu interpretieren wären. Die Phasenverschiebung zeigte sich in der Gesamtkohorte und in den besagten Subgruppen als beschleunigte Phasen bei mitgerissenen Rhythmen. Ausführliche Beschreibungen der potenziell konsekutiven, zeitlich versetzt zu sehenden Effekte von Melatonin sind von Cipolla-Neto et al. zusammengefasst.⁷⁷

Melatonin-Metabolit aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin

Die Analyse des Melatonin-Metaboliten aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin zeigte in der gesamten Kohorte bzw. in den Subgruppen keine signifikanten Veränderungen über die gesamte Studiedauer.

Die mediane aMT6s-Konzentration lag während der gesamten Studiendauer bei den Männern höher als bei den Frauen. Der Einfluss des Geschlechts auf die Konzentration von aMT6s wurde detailliert von Gunn et al. untersucht. Bei einer maximalen Urin-Periodenintervall-Sammlung von insgesamt 36 Stunden konnten keine signifikanten Unterschiede der aMT6s-Konzentrationen hinsichtlich der Geschlechter nachgewiesen werden.²²⁹

In der NUGAT-Studie war die mediane aMT6s-Konzentration in der Altersgruppe 18–25 Jahre höher als in den beiden anderen Altersgruppen. Es wird beschrieben, dass das Alter mit aMT6s im 24-Stunden-Sammelurin signifikant negativ assoziiert ist.^{172,230}

Es könnte in der NUGAT-Studie eine limitierte Ergebnislage durch den Sammelzeitraum von 24 Stunden vorliegen. Skene et al. konnten bei einem vierstündlichen Sampling der Urinproben eine signifikante Korrelation von aMT6s und fCortisol nachweisen. Diese signifikante Korrelation bezieht sich auf die Zeit der Acrophase bei Studienteilnehmenden mit einem normalen circadianen Rhythmus. Ebenso wiesen Studienteilnehmende mit desynchronisiertem circadianen Rhythmus eine signifikante Korrelation zwischen beiden Markern hinsichtlich der Periodenlänge der jeweiligen Rhythmen auf.²³¹ Anlehnend an diese Erkenntnis und die unter Kap. 4.4.2 angeführten Korrelationen von Melatonin im Plasma bzw. Serum, in der Saliva und im Urin wäre es durchaus denkbar, dass bei einer Urinsammlung im kürzeren Intervall eine potenzielle Reaktion von aMT6s nachweisbar gewesen wäre. Diese vermutlich differenziertere Analyse hätte man durch eine parallele Salivetten- und Urinsammlung zu den jeweiligen Zeitpunkten, wie unter Kap. 2.10 beschrieben, durchführen können. Der wissenschaftlichen Literatur sind keine speziellen und vor allem keine validierten Empfehlungen diesbezüglich zu entnehmen, jedoch lässt sich erkennen, dass der

Großteil der Urinsammlungen über einen kürzeren, maximal nächtlichen Zeitraum vorgenommen wird.

Ebenso selten sind wissenschaftlich erhobene Daten zur Einflussnahme einer bestimmten Ernährungsweise auf die aMT6s-Konzentration im Urin.

4.4.3 Cortisol-Metabolismus

Die GC stellen mit ihrem circadianen Rhythmus eines der wichtigsten potenten Entrainment-Netzwerke für die peripheren Clocks dar. In Anlehnung an das Zwei-Komponenten-Modell von Pierre et al. ist es hilfreich, das circadiane System des Cortisol-Stoffwechsels bei der Betrachtung des Einflusses einer Hochfett-Kost auf die Circadianik in ein zentrales und ein peripheres Kompartiment einzuteilen.²³² Der Austausch der beiden Kompartimente erfolgt über die Cortisol-Circadianik.

Das periphere Kompartiment stellt ein komplexes System zwischen Organsystemen dar. In unserem Fokus (zur Beurteilung des nutritiven Effektes einer Hochfett-Kost) standen das in der Peripherie zirkulierende Cortisol sowie das Cortisol im 24-Stunden-Sammelurin. Das periphere Cortisol moduliert das Entrainment der peripheren Clocks und wird selbst über die enzymatische Aktivität von 11 β -HSD1 und -2 reguliert.²³³

Das in der NUGAT-Studie in der Saliva untersuchte Cortisol stellt ein valides Abbild des im Blut zirkulierenden Cortisols dar. Zwischen beiden Probenarten besteht eine ausgeprägte Korrelation, auch wenn die Cortisol-Saliva eine höhere Konzentration als das Cortisol im kapillären Blut und im Serum aufweist.^{234,235} Die Probengewinnung über Blutentnahmen war durch die circadiane Sammlung über 24 Stunden mit häuslicher Übernachtung hingegen nicht umsetzbar.

Nur über den Weg der Urinsammlung ist es einzig und allein möglich, die Metabolite von Cortisol und Cortison zu bestimmen. Freies Cortisol im 24-Stunden-Urin korreliert mit der mittleren fCortisol-Konzentration im Serum.²³⁶

Zusätzlich besitzt diese Methode den Vorteil, dass daraus über eine Post-hoc-Analyse ebenso Rückschlüsse auf die vorgeschalteten A-Ring-Reduktasen und vor allem auf die 11 β -HSD-Gesamtaktivität bzw. die renale 11 β -HSD2-Aktivität gezogen werden können.¹⁷⁴

Cortisol in der Saliva

In der NUGAT-Studie zeigte sich nur bei den AUC-Werten, als analytisch vergleichbarer Messwert der Gesamtproduktionsmenge von Cortisol in der Saliva über 24 Stunden und damit äquivalent als

absolute Amplitude definierbar, ein signifikanter Abfall von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost bei den Männern.

Lemmens et al. konnten geschlechtsdifferente ernährungsinduzierte Cortisol-Antworten in der Saliva auf eine Hochprotein- als auch auf eine Hochkohlenhydrat-Kost nachweisen, allerdings zeigte sich kein Unterschied zwischen beiden Ernährungsformen.²³⁷ Martens et al beobachteten bei Männern einen ernährungsinduzierten Einfluss auf den Peak der circadianen Cortisol-Amplitude mit einer stärkeren Reduktion des Cortisol-Spiegels nach der Aufnahme eines fetthaltigen wie auch eines proteinhaltigen Essens im Vergleich zu einem kohlenhydratreichen Essen.²³⁸

Allerdings ist die Datenlage bezüglich der geschlechtsdifferenten ernährungsinduzierten Cortisol-Antwort in der Saliva bzw. im zirkulierenden Blut recht spärlich.

Möglicherweise sind Cortisol-Veränderungen auch durch Phasen- bzw. Acrophasen-Verschiebungen bedingt, die in dieser Studie evtl. durch eine zu geringe Anzahl von circadianen Probenbestimmungen und auch durch unzureichende biometrische Analysen nicht aufgedeckt werden konnten. Pivovarova et al konnten mittels eines mathematischen Modells (Sinus-fitting-Modell) eine signifikante Phasenverschiebung des nächtlichen Tiefpunkts von Cortisol in der Saliva bestimmen.¹²⁸

Außerdem weist die Amplitude von fCortisol im Plasma mitunter die größte circadiane Variation des humanen endokrinen Systems auf und schränkt damit eine korrekte Analyse qualitativ ein.²³⁹

Im Gegensatz zu Melatonin, bei dem die in der Epiphyse synthetisierten Menge in ihrer Gesamtheit ausgeschüttet wird, erfolgt die Steuerung der circadianen Variation der GC-Ausschüttung durch ein komplexes System von SCN, PVN des Hypothalamus, corticotrophen Zellen der Hypophyse und den steroidproduzierenden NNR-Zellen, die wiederum von circadianen und ultracircadianen Rückkopplungsschleifen beeinflusst werden.²⁴⁰ Dieses Netzwerk macht es schwierig, eine eindeutige Interpretation der Analysedaten vorzunehmen.

Allerdings konnten Konakchieva et al. und Torres-Farfan et al. an Tieren eine durch Melatonin-Gabe induzierte Unterdrückung der HHN-Achsen-Aktivität nachweisen.^{241,242} Dies erlaubt die Annahme, dass die unter dem Einfluss der Intervention gesteigerte Melatonin-Konzentration in der Saliva, damit auch im zirkulierenden Blut, ebenfalls zum Einfluss auf die HHN-Achse geführt haben könnte. Obwohl die HHN-Achse für die Erzeugung täglicher GC-Rhythmen nicht entscheidend ist, kann sie zur Anpassung der circadianen Phase der Hormonproduktion beitragen.²⁴³ Außerdem wäre ein durch Melatonin vermitteltes Entrainment des circadianen Rhythmus der Nebenniere denkbar.²⁴⁴ Es erfolgt daher keine über den zentralen circadianen Schrittmacher induzierte

Desynchronisation des Cortisol-Rhythmus, entsprechend seiner Rolle als robustes internes Synchronisationssignal. Die Kostform-Änderungen scheinen eher einen größeren Effekt auf die GC-Metabolite und das 11 β -HSD-Isoenzym im subkutanen Fettgewebe zu haben (siehe dazu den folgenden Abschnitt und Kap. 4.4.4).

Es zeigt sich bei der Komplexität des hier behandelten, umfassenden Themas die grundsätzliche Notwendigkeit, zusätzliche weiterführende Untersuchungen folgen zu lassen.

fCortisol, fCortison, THF, allo-THF, THE im 24-Stunden-Sammelurin

Wie in der klinischen Endokrinologie-Diagnostik üblich, wurde zur Beurteilung der renal ausgeschiedenen Parameter fCortisol, fCortison und deren Metaboliten eine Analyse des 24-Stunden-Sammelurins durchgeführt. Invers zu den oben ausführlich beschriebenen und diskutierten Ergebnissen des Melatonin-Metabolismus konnten zwar keine statistisch relevanten Veränderungen der Cortisol-Werte in der Saliva nachgewiesen werden, stattdessen aber signifikante Einflüsse der Ernährungsintervention auf die analysierten Sammelurin-Parameter des GC-Metabolismus.

Bei der Untersuchung des fCortisols, fCortisons und deren Metaboliten wiesen nur fCortison und der Metabolit allo-THF im 24-Stunden-Sammelurin signifikante bzw. hochsignifikante Veränderungen durch die Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost auf.

Die Gesamtkohorte, die Frauen und die Altersgruppe 18–25 Jahre reagierten mit einer signifikanten Reduktion von fCortison von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost. Ähnlich sah es beim Cortisol-Metaboliten allo-THF aus. Die Frauen zeigten eine hochsignifikante Reduktion der allo-THF-Konzentration nach Woche 1 und Woche 6, die Gesamtkohorte und die Altersgruppe 18–25 Jahre eine signifikante Reduktion nach Woche 1 der Hochfett-Kost jeweils im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost.

Anhand der Ratio der einzelnen Urinparameter des GC-Metabolismus und deren validierten Indizes für die Aktivität der im GC-Stoffwechsel involvierten Enzyme, wie die 11 β -HSD-Isoenzyme und die A-Ring-Reduktasen, zeigte sich bei der renalen 11 β -HSD2-Aktivität der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost eine hochsignifikante Elevation in der Gesamtkohorte und eine signifikante Elevation bei den Frauen. Des Weiteren kam es bei den Frauen zu einer signifikanten Reduktion der 11 β -HSD-Gesamtaktivität der Woche 1 und zu einer signifikanten Elevation der 5 α - bzw. 5 β -Reduktase-Aktivität (Ratio THF/allo-THF) der Woche 1 und der Woche 6 der Hochfett-Kost jeweils im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost.

In der Altersgruppe 18–25 Jahre kam es zur signifikanten Elevation der renalen 11 β -HSD2-Aktivität sowie zur Reduktion der 5 α -Reduktase-Aktivität jeweils der Woche 1 und Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost. Die 5 β -Reduktase-Aktivität fiel signifikant nach Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost ab.

In der Altersgruppe 26–45 Jahre konnte eine signifikante Elevation der renalen 11 β -HSD2-Aktivität von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost sowie der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost beobachtet werden.

Die in dieser Studie festgestellten geschlechtsdifferenten Unterschiede der durch die Post-hoc-Analyse ermittelten 5 α - bzw. 5 β -Reduktase-Aktivitäten wurden von Tomlinson et al. beschrieben.²⁴⁵ Außerdem wurde bei Männern beobachtet, dass freie Fettsäuren in Form einer Lipidinfusion keinen Einfluss auf die renal ausgeschiedenen GC-Metaboliten haben.²⁴⁶

Typ-2-Diabetikerinnen und -Diabetiker zeigten nach einer diät- und sportinduzierten Gewichtsreduktion einen Anstieg der 11 β -HSD-Gesamtaktivität.²⁴⁷ Dies impliziert eine Verschiebung des „Cortisol-Cortison-Gleichgewichts“ mit erhöhtem Cortisol- und/oder erniedrigtem Cortison-Umsatz.

Andererseits konnte bei übergewichtigen und adipösen Nicht-Diabetikerinnen und -Diabetikern (mittlerer BMI 36,6 kg/m²) im Anschluss an eine Gewichtsreduktion ein Absinken der 5 α -Reduktase-Aktivität beobachtet werden.²⁴⁸

Eine vollständige Interpretation und Diskussion der erhobenen Urin-Daten ist erst im Kontext mit den analysierten Enzymen und deren Aktivität sinnvoll und wird nachfolgend in Kap. 4.4.4 im Detail abgehandelt. Unterstützt wird diese Vorgehensweise durch die nachgewiesene hochsignifikante bzw. signifikante Korrelation von allo-THF und der mRNA-Expression von 11 β -HSD1 über die gesamte Studiendauer. Die signifikante Korrelation von THE mit 11 β -HSD2 nach der Hochfett-Intervention sollte hier nicht unerwähnt bleiben, allerdings erbrachten die Daten bei zusätzlicher fehlender Signifikanz der THE-Analysen im 24-Stunden-Sammelurin keinen Zugewinn in diesem Kontext.

4.4.4 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe

Jüngste Erkenntnisse in der Wissenschaft weisen zusehends auf eine pathogene Rolle von GC und 11 β -HSD bei Adipositas und metabolischem Syndrom hin. Dies wurde teilweise nicht nur durch die auffälligen klinischen Ähnlichkeiten zwischen dem metabolischen Syndrom – bei medikamentöser GC-Therapie – und dem Cushing-Syndrom,^j sondern auch durch monogene Nagetiermodelle

^j Erkrankungsbild, gekennzeichnet durch Hypercortisolismus und Komponenten des metabolischen Syndroms.

für das metabolische Syndrom (z. B. die „ob-Maus“ oder die leptinresistente „Zucker-Ratte“) beobachtet, die insgesamt eine erhöhte Sekretion von GC aufwiesen. Systemisch zirkulierende GC sind jedoch in der Regel bei adipösen Patientinnen und Patienten ohne weitere Erkrankungen nicht erhöht. Transgene Nagetiermodelle haben dazu beigetragen, die Rolle des Enzymsystems von 11 β -HSD1 und -2 in diesem Zusammenhang zu erkennen.²⁴⁹

Analog zu den aus der NUGAT-Studie erhobenen Daten der mRNA-Expression im subkutanen Fettgewebe, der renal ausgeschiedenen GCs und deren Metaboliten sowie der Post-hoc-Analyse scheinen die Isoenzyme abhängig vom jeweiligen Gewebekompartiment und deren primärer physiologisch-biochemischer Funktion bei der nutritiven Metabolisierung zunächst grundsätzlich konform zu agieren. Allerdings stellten sich geschlechts- und altersdifferentielle Unterschiede dar.

In allen Subgruppen fiel die mRNA-Expression der 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe der Woche 6 der Hochfett-Kost im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost hochsignifikant ab. Allerdings, und dies ist für die weitere Interpretation nicht unbedeutend, kam es allein in der Altersgruppe 18–25 Jahre zu einer hochsignifikanten Reduktion der mRNA-Expression von 11 β -HSD1 bereits nach einer Woche der Hochfett-Kost. Des Weiteren zeigten die Frauen und die Altersgruppe 26–45 Jahre eine signifikante Reduktion der mRNA-Expression von 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe von Woche 1 auf Woche 6 der Hochfett-Kost.

Setzt man nun diese Ergebnisse in Bezug zu den Urin-Ergebnissen von fCortisol, fCortison und deren Metaboliten, so erkennt man bezüglich der Fraktion allo-THF in den Subgruppen der Frauen und der Altersgruppe 18–25 Jahre Parallelen. Allerdings stellt die Altersgruppe 18–25 Jahre die einzige Subgruppe dar, bei der es nach der Woche 1 der Hochfett-Kost sowohl zur hochsignifikanten Reduktion der 11 β -HSD1-mRNA-Expression als auch zur signifikanten Reduktion von allo-THF gekommen ist. Die durchgeführten Korrelationsanalysen zeigten eine signifikante Korrelation von allo-THF mit der mRNA-Expression von 11 β -HSD1.

Betrachtet man die Adaptionsphase der Frauen und 18- bis 25-Jährige in der NUGAT-Studie im Detail, erkennt man wiederum, dass sie diese Phase auf unterschiedliche Art und Weise durchlaufen.

Die Frauen zeigten einen eindeutigen relativen Überschuss der mRNA-Expression von 11 β -HSD2 im subkutanen Fettgewebe, indirekt erkennbar durch die hochsignifikante Reduktion 11 β -HSD1 im subkutanen Fettgewebe über die Hochfett-Intervention, mit hochsignifikanter Reduktion der renalen Ausscheidung von allo-THF, signifikanter Reduktion der 11 β -HSD-Gesamtaktivität sowie einer signifikanten Elevation der Ratio THF/allo-THF im 24-Stunden-Sammelurin beim Wechsel von der Kohlenhydrat- auf die Hochfett-Kost nach Woche 1.

Die 18- bis 25-Jährigen zeigten dagegen eine hochsignifikante Reduktion der subkutanen mRNA-Expression von 11 β -HSD1, eine signifikante Reduktion der renalen Ausscheidung von allo-THF, eine Elevation der renalen 11 β -HSD2 sowie der 5 α -Reduktase-Aktivität beim Wechsel von der Kohlenhydrat- auf die Hochfett-Kost nach Woche 1.

Mäuse und Ratten, die eine fettreiche Kostform erhielten, zeigten eine Herunterregulierung von 11 β -HSD1 im Fettgewebe, jedoch eine Zunahme der 5 β -Reduktase. Ebenso führte eine Störung des 11 β -HSD1-Gens bei Mäusen zu einer Insulinsensibilisierung.²⁵⁰

Bei kurz- bzw. mittelfristiger Verabreichung von selektiven 11 β -HSD-Inhibitoren in Nagetiermodellen für Fettleibigkeit bzw. Diabetes mellitus Typ 2 wurden analoge Effekte aufgezeigt.^{251,252} Außerdem zeigen 11 β -HSD1-defiziente Mäuse zu Beginn einer fettreichen Ernährung im subkutanen Fettgewebe eine verstärkte Insulin- und beta-adrenerge Signalübertragung, die mit der Expansion kleinerer metabolisch aktiverer Adipozyten verbunden sein soll.²⁵³

Insbesondere die letztgenannte Beobachtung würde für die NUGAT-Studie folglich bedeuten, dass der Weg der Adaptation (Anpassung nach Woche 1 der Hochfett-Kost auf die Kohlenhydrat-Kost) der 18- bis 25-Jährigen möglicherweise über eine verstärkte Insulin-Signalübertragung mit konsekutiver Senkung des bioaktiven Cortisol-Spiegels über Hemmung der subcutanen mRNA-Expression von 11 β -HSD1 verläuft bzw. die Frauen mit einer insulinvermittelten Steigerung der subcutanen mRNA-11 β -HSD2-Expression reagieren. Unterstützend für diese Interpretation der Frauen sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse der Altersgruppe 26–45 Jahre.

Bezüglich der 11 β -HSD2-mRNA-Expression im subkutanen Fettgewebe zeigten nämlich die Frauen und die Altersgruppe 26–45 Jahre im Vergleich zu den anderen Subgruppen eine stärkere Elevation der Woche 1 der Hochfett-Kost. Diese war in der Altersgruppe 26–45 Jahre sogar signifikant im Vergleich zur Kohlenhydrat-Kost erhöht und ging mit daraus resultierender signifikanter Reduktion der 11 β -HSD2-mRNA-Expression nach der sechswöchigen Hochfett-Kost einher.

Es ist bekannt, dass 11 β -HSD2 auch im Pankreas exprimiert wird.²⁵⁴ Daher könnte äquivalent zum subkutanen Fettgewebe eine erhöhte 11 β -HSD2-mRNA-Expression im Pankreas eine gesteigerte Insulinproduktion bzw. -sekretion induziert worden sein.

Allerdings kann man für den Ablauf der Adaptationsphase auch drei weitere Möglichkeiten in Betracht ziehen:

- a) Die hepatische Enzymaktivität von 11 β -HSD1 verlief invers zur Enzymaktivität im subkutanen Fettgewebe, was wiederum zur hepatischen Insulin-Resistenz mit reaktiver Hyperinsulinämie führte.

Livingstone et al. konnten bei „Zucker-Ratten“ durch Adrenalektomie (Entfernung der Nebenniere) einen gewebsspezifischen qualitativen Unterschied der 11 β -HSD1-Aktivität nachweisen. Die 11 β -HSD1-Aktivität fiel bei fehlendem Cortisol im Omentalfett und stieg hepatisch an.²⁵⁵

An männlichen „Wistar“-Ratten bzw. an deren Gewebszellkulturen konnte gezeigt werden, dass eine Hochfett-Kost in den ersten 72 h nur im subkutanen Fettgewebe abfallende Tendenzen der 11 β -HSD1-Aktivität hervorruft, nicht jedoch im hepatischen Gewebe. Erst nach drei Wochen Hochfett-Kost kam es ebenfalls zum Abfall der hepatischen 11 β -HSD1-Aktivität.²⁵⁶

Dazu sei erwähnt, dass eine hepatische Hemmung von 11 β -HSD1 mit Zeichen reduzierter Glucocorticoid-Wirkung in den Leberzellen und ansteigender hepatischer Insulin-Sensitivität assoziiert ist bzw. ein Anstieg von 11 β -HSD1 in der Leber zur vermehrten Cortisol-Produktion und zur hepatischen Insulin-Resistenz führt.¹⁰⁵

- b) Es erfolgte eine allosterische Hemmung^k bzw. Aktivierung von 11 β -HSD im subkutanen Fettgewebe und/oder im hepatischen Gewebe, gefolgt von einer über 11 β -HSD vermittelten gesteigerten Insulin-Resistenzentwicklung durch vermehrten Umsatz von fCortisol zu fCortisol.

In Rattenmodellen konnte durch DHEA (Dehydroepiandrosteron, ein Steroidhormon und Vorstufe der weiblichen wie auch männlichen Sexualhormone) und Östrogene die hepatische 11 β -HSD1-Aktivität kompetitiv gehemmt werden.^{256,258} Dies könnte in Zusammenhang mit der allgemein bekannten höheren hepatischen Insulin-Sensitivität der Frauen im Vergleich zu den Männern stehen, siehe unten.

- c) Trotz Hemmung der subkutanen mRNA-Expression der 11 β -HSD1 blieb das Enzym 11 β -HSD1 in seiner Aktivität nahezu unverändert bzw. die Aktivität stieg an.

Insulin führt über einen GC-Rezeptor-vermittelten transkriptionalen Mechanismus zur Stimulation der 11 β -HSD1 der Adipozyten.²⁵⁹ Ebenso konnte an kultivierten Rattenleberzellen gezeigt werden, dass trotz Hemmung der 11 β -HSD1-mRNA-Expression die Aktivität nahezu unverändert blieb.²⁶⁰

Allerdings sollte man an dieser Stelle hervorheben, dass die Männer keine eindeutigen Adaptationsreaktionen hinsichtlich der mRNA-Expression, auch nicht auf der Ebene der renal ausgeschiedenen Parameter erkennen ließen.

Die für die Adaptationsphase aufgezeigten Interpretationsmöglichkeiten der mRNA-Expression

^k Stoff/Substrat bindet außerhalb des aktiven Zentrums des Enzyms, des sogenannten allosterischen Zentrums; dies bewirkt eine Veränderung der Enzymstruktur und seiner enzymatischen Eigenschaften.

von 11 β -HSD im subkutanen Fettgewebe könnten unter Berücksichtigung der Blutlaborwerte ebenso für die gesamte Hochfett-Kost gelten. Auch hier stellen die Männer eine Ausnahme dar.

Eine erhöhte Stabilität des Cortisol-Cortison-Shuttles bzw. eine weniger sensitiv wirkende 11 β -HSD-Aktivität bei Männern könnte ursächlich sein. Camporez et al. zeigten durch Behandlung von weiblichen und männlichen Mäusen mit Östradiol im Anschluss nach einer Hochfett-Kost eine bemerkenswerte Verringerung der Entzündung im weißen Fettgewebe, nachweislich über eine Verringerung des Tumornekrosefaktor- α - und Interleukin-6-Spiegels in Plasma und Fettgewebe. Daher nahm man an, dass durch die östrogenvermittelte Verringerung der Entzündung im weißen Fettgewebe Frauen eher vor Insulin-Resistenz geschützt sind, was zu einer verbesserten insulinvermittelten Unterdrückung der Lipolyse im Fettgewebe und einem verringerten ektopischen Lipidgehalt in Leber und Skelettmuskulatur führt.²⁶¹

Der beobachtete signifikante Anstieg des HbA_{1c} der 18- bis 25-Jährigen könnte – mit Vorsicht – ebenso, als Zeichen der erhöhten 11 β -HSD1-Aktivität, über die oben aufgezählten Möglichkeiten eingeordnet werden.

Es besteht die Annahme, dass 11 β -HSD1 auch direkt unter der Kontrolle der HHN-Achse stehen könnte. Es ist bekannt, dass Glucose und andere Substrate die HHN-Achse beeinflussen, und eine afferente hepatische Verbindung über den Vagusnerv die Funktion der HHN-Achse moduliert.²⁶²

Es konnte zumindest eine Assoziation des subkutanen 11 β -HSD1-mRNA- und des Aktivität-Spiegels mit der Adipositas und Hyperinsulinämie nachgewiesen werden.²⁶³

4.4.5 Erblichkeitsanalyse

Zwillingsstudien dienen der Erhebung von Daten zur Beurteilung der genetischen Determinierung und umweltbedingten Einflüssen auf ein Merkmal. In der Erblichkeitsanalyse wird der genetische Anteil an den Unterschieden untersucht. Hierzu liegt eine Reihe an mathematischen Analysen vor, die sich näherungsweise mit der Heritabilität (genetischer Anteil) und den gemeinsam erlebten Umweltfaktoren befassen. Das häufig angewandte ACE-Modell wurde zur Analyse der Erblichkeit der circadianen Marker Melatonin, fCortisol sowie fCortison und deren Metaboliten in der Saliva bzw. im 24-Stunden-Sammelurin genutzt.²⁶⁴⁻²⁶⁶ Der Vorteil dieses Modells ist, dass die auch bei monozygoten Zwillingen mit unterschiedlichem Ausmaß einwirkenden individuellen Umweltfaktoren berücksichtigt werden.

Die zusätzlich durchgeführten Korrelationsanalysen der monozygoten und dizygoten Zwillinge zu den o. g. Parametern sollten das mathematische Modell ergänzend in der Aussage unterstützen, da jedes mathematische Modell mehr oder weniger ein Modell bleibt.

Melatonin in der Saliva zeigte im Peak-Bereich um 24 Uhr eindeutige Einflüsse an gemeinsamen und individuellen Umweltfaktoren unter der Kohlenhydrat-Kost sowie nach Woche 1 der Hochfett-Kost. In den Korrelationsanalysen konnten diesbezüglich ebenso keine Korrelationen weder bei den Mono- noch bei den Dizygoten nachgewiesen werden, die das ACE-Modell in seiner Aussage unterstützen. Es war außerdem zu beobachten, dass die Hochfett-Kost der Woche 6 wiederum einen starken Einfluss auf die Heritabilität genommen hatte. Eine Zunahme des genetischen Einflusses auf die Melatonin-Produktion bzw. -Expression unter der Hochfett-Kost konnte durch die nachgewiesene hochsignifikante stark positive Korrelation innerhalb der Monozygoten bezüglich dieser Variablen bestätigt werden.

Außerdem sprachen das ACE-Modell und die Korrelationsanalysen eindeutig dafür, dass der Einfluss der Nahrung einer isokalorischen Kohlenhydrat- und einer isokalorischen Hochfett-Kost auf die aMT6s-Synthese stark genetisch determiniert ist und der Einfluss unter der isokalorischen Hochfett-Kost im Vergleich zur isokalorischen Kohlenhydrat-Kost zunimmt.

Der Einfluss einer Ernährungsform auf die Heritabilität des Melatonin-Metabolismus wurde nach bestem Wissen bislang nicht untersucht. Jedoch konnte man die epigenetische Induktion der Melatonin-Rezeptorexpression bzw. deren Mechanismus nachweisen, worüber indirekt ein genetisch determinierter Einfluss einer Ernährungsform auf den Melatonin-Metabolismus möglich wäre.^{267,268} Darüber wäre auch ein Zusammenhang zu pathologisch ablaufenden Vorgängen in der Epigenetik und der Entstehung von Erkrankungen wie z. B. im Formenkreis des metabolischen Syndroms denkbar.

Die starke genetische Determinierung von aMT6s kann auf der in diesem Metabolismus involvierten Cytochrom-P₄₅₀-Monooxygenase basieren. Es sind viele genetische Polymorphismen dieses Enzyms bekannt, jedoch fehlt bislang der Nachweis einer möglichen Heritabilität. Vielmehr sind differenziell exprimierte microRNAs wahrscheinlich ursächlich für die Expressionsvariabilität und Variation der Enzymfunktion und damit für epigenetische Mechanismen zur Regulierung von Genen, die wiederum das Enzym kodieren.²⁶⁹

Die Ernährungsformen hatten keinen genetisch determinierten Einfluss auf den Peak-Wert um 8 Uhr des Cortisols in der Saliva. Hierfür konnte in der NUGAT-Studie weder über das mathematische Konstrukt des ACE-Modells noch über die Korrelationsanalysen ein entsprechender Nachweis erbracht werden.

Allerdings wies fCortisol im Urin des ACE-Modells unterstützt durch die Korrelationsanalysen einen genetisch determinierten Anteil unter der Hochfett-Kost auf, dessen Ausprägung mit voranschreitender Dauer der Hochfett-Kost zunahm. Das fCortisol im Urin wurde durch die einwöchige Hochfett-Kost genetisch determiniert beeinflusst, auch hier bestätigt durch die moderat positive Korrelationsanalyse.

Der genetische determinierte Einfluss auf die mRNA-Expression von 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe war im ACE-Modell nicht nachzuweisen. Mit 76 % nahmen die gemeinsamen Umweltfaktoren Einfluss auf die mRNA-Expression von 11 β -HSD1 nach einer Woche Hochfett-Kost, sonst hatten nur individuelle Umweltfaktoren einen wesentlichen Einfluss auf dieses Isoenzym im subkutanen Fettgewebe. In den Korrelationsanalysen zeigten sich entsprechende stark positive bzw. fehlende Korrelationen innerhalb der monozygoten bzw. dizygoten Zwillinge.

In einer Follow-up-Zwillingsstudie in den Niederlanden konnte anhand eines ACE- und eines ADE-Modells (D = nicht additive oder dominante genetische Effekte) bei 9- bis 17-Jährigen analysiert werden, dass der Anteil der gemeinsamen Umweltfaktoren zur Cortisol-Produktion beträchtlich war und mit dem Alter zunahm. Der Cortisol-Metabolismus, der über die einzelnen bedeutenden Enzyme untersucht wurde, scheint von der Heritabilität in diesem Alter beeinflusst zu sein: Die Heritabilität der A-Ring-Reduktasen nahm mit steigendem Alter zu, der genetische Anteil an der 11 β -HSD-Gesamtaktivität und der renalen 11 β -HSD2-Aktivität lag im Alter von 12 Jahren am höchsten.²⁷⁰

Die Heritabilität des GC-Metabolismus (insbesondere von Cortisol) variiert in der Forschung je nach Kontext und Alter. Eindeutige Aussagen zur Heritabilität der untersuchten Variablen bei Erwachsenen konnten nicht gefunden werden.

Die NUGAT-Studie besaß auf der Ebene der Erblichkeitsanalyse einige Limitationen: Es wurde nur eine für die Erblichkeitsanalyse relativ geringe Anzahl an Zwillingspaaren eingeschlossen. Hinzu kam, dass aufgrund der genannten relativ geringen Anzahl an Zwillingspaaren keine altersdifferenzierte Darstellung erfolgen konnte.

Die z. T. auftretende fehlende Signifikanz bei den dizygotischen Zwillingspaaren bei ähnlich hohen r-Werten wie bei den monozygoten Zwillingspaaren ist sicherlich durch die geringere Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Dizygoten zu erklären.

4.5 Fazit

Die sich daraus ergebende zusammenfassende Darstellung der Forschungsarbeit zeigt zunächst eine Ernährungsstudie an gesunden Zwillingen, die ein Defizit in der Homogenität der Studienteilnehmenden hinsichtlich des Geschlechts und des Alters aufweist und daher nur limitiert repräsentative Aussagen hervorbringt. Auf der anderen Seite ist bei Vorliegen einer signifikanten Veränderung der Daten insbesondere der unterrepräsentierten Subgruppen die Bewertung der Aussagen von umso größerer Bedeutung.

Des Weiteren ist die Aussage über die Heritabilität bestimmter Parameter unter einer isokalorischen Hochfett-Kost aufgrund der niedrigen Anzahl der Zwillinge, insbesondere der dizygotischen Zwillingspaare, limitiert.

Trotz dieser Begrenzungen konnte durch die NUGAT-Studie erstmals bewiesen werden, dass Nahrungsfette per se alters- und geschlechtsspezifische signifikante Effekte auf den Glucose- und Lipid-Metabolismus haben. Trotz konstanten Gewichtsverhaltens scheint eine vermehrte nutritive Aufnahme von Fetten über einige Wochen hinweg auch bei Gesunden ungünstig zu sein. Diese Tatsache spielt bei der Prophylaxe des metabolischen Syndroms und dessen assoziierten Erkrankungen eine entscheidende Rolle.

Die NUGAT-Studie zeigte ebenfalls, dass eine isokalorische Hochfett-Kost über sechs Wochen einen geschlechts- und altersabhängigen Einfluss auf circadiane Uhren nimmt, erhoben über Veränderungen der Circadianik des zirkulierenden Melatonins. Ob möglicherweise eine isokalorische fettreiche Nutrition im Zusammenhang mit melatoninassoziierten Erkrankungen bzw. pathologischen circadianen Rhythmen des menschlichen Stoffwechsels gesehen werden kann, muss in weiteren Untersuchungen erforscht werden.

Die isokalorische Hochfett-Kost nimmt zwar keinen direkten Einfluss auf die circadiane Markervariable Cortisol, aber auf dessen GC-Metabolismus. Da dieser Metabolismus sehr komplex ist, sollten die dazu erhobenen Daten detaillierter in anschließenden Studien untersucht werden, um sie im Einzelnen besser einordnen zu können.

Die mithilfe des ACE-Modells und von Korrelationsanalysen durchgeführte Erblichkeitsanalyse ließ eindeutig eine genetische Determinierung des Melatonin-, weniger des Glucocorticoid-Metabolismus unter einer sechswöchigen Hochfett-Kost erkennen.

Dieser nutrigenetische Aspekt ist bei der Erforschung von ernährungsbedingten Krankheiten von wesentlicher Bedeutung und sollte durch weitere methodische Analysen epigenetischer Modifikationen fortgeführt werden.

Die daraus resultierende Zusammenfassung zeigt Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost mit geschlechts- und altersabhängiger Veränderung im Glucose- und Lipidmetabolismus und einer Einflussnahme auf circadiane Synchronisationssignale mit in der Peripherie vermittelten hormonell-metabolischen Mechanismen, einschließlich der mRNA-Expression der 11 β -HSD1 und -2 im subkutanen Fettgewebe. Die mithilfe des ACE-Modells und von Korrelationsanalysen durchgeführte Erblichkeitsanalyse ließ eindeutig eine genetische Determinierung des Melatonin-, weniger des Glucocorticoid-Metabolismus unter einer sechswöchigen Hochfett-Kost erkennen. Diesen umfangreichen Erkenntnissen müssen weitere detaillierte Analysen bzw. Studien folgen.

5 Literaturverzeichnis

1. Schienkiewitz A, Brettschneider AK, Damerow S, Schaffrath Rosario A. Übergewicht und Adipositas im Kindes- und Jugendalter in Deutschland – Querschnittergebnisse aus KiGGS Welle 2 und Trends. *Journal of Health Monitoring* 2018;**3**(1):16–23.
2. Nationale Verzehrsstudie II. Ergebnisbericht, Teil 1. Die bundesweite Befragung zur Ernährung von Jugendlichen und Erwachsenen. In: Max Rubner-Institut; 2008.
3. Mensink G, Schienkiewitz A, Haftenberger M, Lampert T, Ziese T, Scheidt-Nave C. Übergewicht und Adipositas in Deutschland. In: Robert Koch-Institut, Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung; 2013.
4. Sung KC, Jeong WS, Wild SH, Byrne CD. Combined influence of insulin resistance, overweight/obesity, and fatty liver as risk factors for type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2012;**35**(4):717–22.
5. Weickert MO. What dietary modification best improves insulin sensitivity and why? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;**77**(4):508–12.
6. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1992;**56**(2):320–8.
7. Yu-Poth S, Zhao G, Etherton T, Naglak M, Jonnalagadda S, Kris-Etherton PM. Effects of the National Cholesterol Education Program’s Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1999;**69**(4):632–46.
8. Silverii GA, Botarelli L, Dicembrini I, Girolamo V, Santagiuliana F, Monami M, Mannucci E. Low-carbohydrate diets and type 2 diabetes treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Acta Diabetol* 2020;**57**(11):1375–82.
9. Mansoor N, Vinknes KJ, Veierød MB, Retterstøl K. Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* 2016;**115**(3):466–79.
10. Schutz Y, Montani JP, Dulloo AG. Low-carbohydrate ketogenic diets in body weight control: A recurrent plaguing issue of fad diets? *Obesity Reviews* 2021;**22**(S2):e13195.

11. Swain JF, McCarron PB, Hamilton EF, Sacks FM, Appel LJ. Characteristics of the diet patterns tested in the optimal macronutrient intake trial to prevent heart disease (OmniHeart): options for a heart-healthy diet. *J Am Diet Assoc* 2008;**108**(2):257–65.
12. Westerbacka J, Lammi K, Häkkinen AM, Rissanen A, Salminen I, Aro A, Yki-Järvinen H. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;**90**(5):2804–9.
13. van Herpen NA, Schrauwen-Hinderling VB, Schaart G, Mensink RP, Schrauwen P. Three weeks on a high-fat diet increases intrahepatic lipid accumulation and decreases metabolic flexibility in healthy overweight men. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;**96**(4):E691–5.
14. Xu C, Markova M, Seebeck N, Loft A, Hornemann S, Gantert T, Kabisch S, Herz K, Loske J, Ost M, Coleman V, Klauschen F, Rosenthal A, Lange V, Machann J, Klaus S, Grune T, Herzig S, Pivovarovova-Ramich O, Pfeiffer AFH. High-protein diet more effectively reduces hepatic fat than low-protein diet despite lower autophagy and FGF21 levels. *Liver Int* 2020;**40**(12):2982–97.
15. Bjermo H, Iggman D, Kullberg J, Dahlman I, Johansson L, Persson L, Berglund J, Pulkki K, Basu S, Uusitupa M, Rudling M, Arner P, Cederholm T, Ahlström H, Risérus U. Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2012;**95**(5):1003–12.
16. Jacob PS, de Meneses Fujii TM, Yamada M, Borges MC, Pantaleão LC, Borelli P, Fock R, Rogero MM. Isocaloric intake of a high-fat diet promotes insulin resistance and inflammation in Wistar rats. *Cell Biochem Funct* 2013;**31**(3):244–53.
17. Noakes TD, Windt J. Evidence that supports the prescription of low-carbohydrate high-fat diets: a narrative review. *Br J Sports Med* 2017;**51**(2):133–9.
18. Veum VL, Laupsa-Borge J, Eng Ø, Rostrup E, Larsen TH, Nordrehaug JE, Nygård OK, Sagen JV, Gudbrandsen OA, Dankel SN, Mellgren G. Visceral adiposity and metabolic syndrome after very high-fat and low-fat isocaloric diets: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2017;**105**(1):85–99.
19. Buckley JD, Howe PR. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids may be beneficial for reducing obesity—a review. *Nutrients* 2010;**2**(12):1212–30.
20. Sacks FM, Katan M. Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease. *Am J Med* 2002;**113 Suppl 9B**:13s–24s.

21. Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin H. Ernährungsmedizin. 2004(3).
22. Engelmann W. Unsere inneren Uhren – Biologische Zeitmessung bei Menschen und anderen Säugern. 2009.
23. Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 2002; **418**(6901):935–41.
24. Sack RL, Lewy AJ, Blood ML, Keith LD, Nakagawa H. Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; **75**(1):127–34.
25. Froy O. Metabolism and circadian rhythms – implications for obesity. *Endocr Rev* 2010; **31**(1):1–24.
26. Staels B. When the Clock stops ticking, metabolic syndrome explodes. *Nature Medicine* 2006; **12**:54–5.
27. Maron BJ, Kogan J, Proschan MA, Hecht GM, Roberts WC. Circadian variability in the occurrence of sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1994;**23**(6):1405–9.
28. Burioka N, Fukuoka Y, Takata M, Endo M, Miyata M, Chikumi H, Tomita K, Kodani M, Touge H, Takeda K, Sumikawa T, Yamaguchi K, Ueda Y, Nakazaki H, Suyama H, Yamasaki A, Sano H, Igishi T, Shimizu E. Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: function of clock genes: influence of medication for bronchial asthma on circadian gene. *J Pharmacol Sci* 2007;**103**(2):144–9.
29. Van Someren EJ. Circadian and sleep disturbances in the elderly. *Exp Gerontol* 2000;**35**(9-10):1229–37.
30. Nakamura TJ, Nakamura W, Yamazaki S, Kudo T, Cutler T, Colwell CS, Block GD. Age-related decline in circadian output. *J Neurosci* 2011;**31**(28):10201–5.
31. Coomans CP, van den Berg SA, Houben T, van Klinken JB, van den Berg R, Pronk AC, Havekes LM, Romijn JA, van Dijk KW, Biermasz NR, Meijer JH. Detrimental effects of constant light exposure and high-fat diet on circadian energy metabolism and insulin sensitivity. *FASEB J* 2013;**27**(4):1721–32.

32. Hastings MH, Maywood ES, Brancaccio M. Generation of circadian rhythms in the supra-chiasmatic nucleus. *Nat Rev Neurosci* 2018;**19**(8):453–69.
33. Harvard MSDoS. SCN location. In; 2011.
34. Moore RY. Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res* 1973;**49**(2):403–9.
35. Guler AD, Ecker JL, Lall GS, Haq S, Altimus CM, Liao HW, Barnard AR, Cahill H, Badea TC, Zhao H, Hankins MW, Berson DM, Lucas RJ, Yau KW, Hattar S. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature* 2008;**453**(7191):102–5.
36. Hannibal J, Fahrenkrug J. Melanopsin containing retinal ganglion cells are light responsive from birth. *Neuroreport* 2004;**15**(15):2317–20.
37. Ruby NF, Brennan TJ, Xie X, Cao V, Franken P, Heller HC, O’Hara BF. Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science* 2002;**298**(5601):2211–3.
38. Yi CX, van der Vliet J, Dai J, Yin G, Ru L, Buijs RM. Ventromedial arcuate nucleus communicates peripheral metabolic information to the suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology* 2006;**147**(1):283–94.
39. Kramer A, Yang FC, Snodgrass P, Li X, Scammell TE, Davis FC, Weitz CJ. Regulation of daily locomotor activity and sleep by hypothalamic EGF receptor signaling. *Science* 2001;**294**(5551):2511–5.
40. Cheng MY, Bullock CM, Li C, Lee AG, Bermak JC, Belluzzi J, Weaver DR, Leslie FM, Zhou QY. Prokineticin 2 transmits the behavioural circadian rhythm of the suprachiasmatic nucleus. *Nature* 2002;**417**(6887):405–10.
41. Kraves S, Weitz CJ. A role for cardiotrophin-like cytokine in the circadian control of mammalian locomotor activity. *Nat Neurosci* 2006;**9**(2):212–9.
42. Abe M, Herzog ED, Yamazaki S, Straume M, Tei H, Sakaki Y, Menaker M, Block GD. Circadian rhythms in isolated brain regions. *J Neurosci* 2002;**22**(1):350–6.
43. Myung J, Schmal C, Hong S, Tsukizawa Y, Rose P, Zhang Y, Holtzman MJ, De Schutter E, Herzog H, Bordyugov G, Takumi T. The choroid plexus is an important circadian clock component. *Nat Commun* 2018;**9**(1):1062.

44. Zhang R, Lahens NF, Ballance HI, Hughes ME, Hogenesch JB. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; **111**(45):16219–24.
45. Balsalobre A, Damiola F, Schibler U. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* 1998;**93**(6):929–37.
46. Lee C, Etchegaray JP, Cagampang FR, Loudon AS, Reppert SM. Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock. *Cell* 2001;**107**(7):855–67.
47. Zvonic S, Ptitsyn AA, Conrad SA, Scott LK, Floyd ZE, Kilroy G, Wu X, Goh BC, Mynatt RL, Gimble JM. Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues. *Diabetes* 2006;**55**(4):962–70.
48. Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 2000;**288**(5466):682–5.
49. Young ME. The circadian clock within the heart: potential influence on myocardial gene expression, metabolism, and function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;**290**(1):H1–16.
50. Froy O, Chapnik N. Circadian oscillation of innate immunity components in mouse small intestine. *Mol Immunol* 2007;**44**(8):1954–60.
51. Thosar SS, Butler MP, Shea SA. Role of the circadian system in cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2018;**128**(6):2157–67.
52. Storch KF, Lipan O, Leykin I, Viswanathan N, Davis FC, Wong WH, Weitz CJ. Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature* 2002;**417**(6884):78–83.
53. McCarthy JJ, Andrews JL, McDearmon EL, Campbell KS, Barber BK, Miller BH, Walker JR, Hogenesch JB, Takahashi JS, Esser KA. Identification of the circadian transcriptome in adult mouse skeletal muscle. *Physiol Genomics* 2007;**31**(1):86–95.
54. Froy O. The circadian clock and metabolism. *Clin Sci (Lond)* 2011;**120**(2):65–72.
55. Mrosovsky N. Masking: history, definitions, and measurement. *Chronobiol Int* 1999;**16**(4): 415–29.
56. Albrecht U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron* 2012;**74**(2):246–60.

57. Finger AM, Dibner C, Kramer A. Coupled network of the circadian clocks: a driving force of rhythmic physiology. *FEBS Lett* 2020;**594**(17):2734–69.
58. Abraham U, Granada AE, Westermark PO, Heine M, Kramer A, Herzog H. Coupling governs entrainment range of circadian clocks. *Mol Syst Biol* 2010;**6**:438.
59. Roenneberg T, Wirz-Justice A, Mrosovsky M. Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *J Biol Rhythms* 2003;**18**(1):80–90.
60. Katzenberg D, Young T, Finn L, Lin L, King DP, Takahashi JS, Mignot E. A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep* 1998;**21**(6):569–76.
61. Hamet P, Tremblay J. Genetics of the sleep-wake cycle and its disorders. *Metabolism* 2006;**55**(10 Suppl 2):S7-12.
62. Vink JM, Groot AS, Kerkhof GA, Boomsma DI. Genetic analysis of morningness and eveningness. *Chronobiol Int* 2001;**18**(5):809–22.
63. Hur YM. Stability of genetic influence on morningness-eveningness: a cross-sectional examination of South Korean twins from preadolescence to young adulthood. *J Sleep Res* 2007;**16**(1):17–23.
64. Roenneberg T, Allebrandt KV, Mrosovsky M, Vetter C. Social jetlag and obesity. *Curr Biol* 2012;**22**(10):939–43.
65. Randler C. Morningness-eveningness comparison in adolescents from different countries around the world. *Chronobiol Int* 2008;**25**(6):1017–28.
66. Duffy JF, Dijk DJ, Hall EF, Czeisler CA. Relationship of endogenous circadian melatonin and temperature rhythms to self-reported preference for morning or evening activity in young and older people. *J Investig Med* 1999;**47**(3):141–50.
67. Koskenvuo M, Hublin C, Partinen M, Heikkilä K, Kaprio J. Heritability of diurnal type: a nationwide study of 8753 adult twin pairs. *J Sleep Res* 2007;**16**(2):156–62.
68. Van Cauter E, Leproult R, Plat L. Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA* 2000;**284**(7):861–8.
69. Gau SF, Soong WT. The transition of sleep-wake patterns in early adolescence. *Sleep* 2003;**26**(4):449–54.

70. Roenneberg T, Kuehnle T, Juda M, Kantermann T, Allebrandt K, Gordijn M, Mellow M. Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Med Rev* 2007;**11**(6):429–38.
71. Klerman EB, Gershengorn HB, Duffy JF, Kronauer RE. Comparisons of the variability of three markers of the human circadian pacemaker. *J Biol Rhythms* 2002;**17**(2):181–93.
72. Kantermann T, Sung H, Burgess HJ. Comparing the Morningness-Eveningness Questionnaire and Munich ChronoType Questionnaire to the Dim Light Melatonin Onset. *J Biol Rhythms* 2015;**30**(5):449–53.
73. Froy O. The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals. *Front Neuroendocrinol* 2007;**28**(2-3):61–71.
74. Pandi-Perumal SR, Smits M, Spence W, Srinivasan V, Cardinali DP, Lowe AD, Kayumov L. Dim light melatonin onset (DLMO): a tool for the analysis of circadian phase in human sleep and chronobiological disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;**31**(1):1–11.
75. McCord CP, Allen F.P. Evidences associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *Journal of Experimental Zoology* 1917.
76. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes¹. *Journal of the American Chemical Society* 1958;**80**(10):2587.
77. Cipolla-Neto J, Amaral FGD. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocr Rev* 2018;**39**(6):990–1028.
78. Lerner AB, Case JD, Heintzelman RV. Structure of melatonin. *J. Am. Chem. Soc.* 1959;**81**(22):6084–6085.
79. Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 2002;**295**(5557):1070–3.
80. Freedman MS, Lucas RJ, Soni B, von Schantz M, Munoz M, David-Gray Z, Foster R. Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science* 1999;**284**(5413):502–4.
81. Arendt J. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. 1995:201–285.
82. Zatz M. Sensitivity and cyclic nucleotides in the rat pineal gland. *J Neural Transm Suppl* 1978(13):97–114.

83. Axelrod J. The pineal gland: a neurochemical transducer. *Science* 1974;**184**(4144):1341–8.
84. Bidlingmaier M. Melatonin. In: Gressner AM, Arndt T, (eds). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019, 1602–1603.
85. Ferry G, Ubeaud C, Lambert PH, Bertin S, Coge F, Chomar P, Delagrè P, Serkiz B, Bouchet JP, Truscott RJ, Boutin JA. Molecular evidence that melatonin is enzymatically oxidized in a different manner than tryptophan: investigations with both indoleamine 2,3-dioxygenase and myeloperoxidase. *Biochem J* 2005;**388**(Pt 1):205–15.
86. Kennaway DJ, Stamp GE, Goble FC. Development of melatonin production in infants and the impact of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;**75**(2):367–9.
87. Sivan Y, Laudon M, Tauman R, Zisapel N. Melatonin production in healthy infants: evidence for seasonal variations. *Pediatr Res* 2001;**49**(1):63–8.
88. Reiter RJ. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 1991;**12**(2):151–80.
89. Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 1980;**210**(4475):1267–9.
90. Wehr TA, Moul DE, Barbato G, Giesen HA, Seidel JA, Barker C, Bender C. Conservation of photoperiod-responsive mechanisms in humans. *Am J Physiol* 1993;**265**(4 Pt 2):R846–57.
91. Kunz D. Melatonin und Schlaf-Wach-Regulation. Habilitationsschrift 2006.
92. Duffy JF, Kronauer RE, Czeisler CA. Phase-shifting human circadian rhythms: influence of sleep timing, social contact and light exposure. *J Physiol* 1996;**495** (Pt 1):289–97.
93. Reiter RJ. Pineal control of a seasonal reproductive rhythm in male golden hamsters exposed to natural daylight and temperature. *Endocrinology* 1973;**92**(2):423–30.
94. Carter DS, Goldman BD. Progonadal role of the pineal in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus sungorus*): mediation by melatonin. *Endocrinology* 1983;**113**(4):1268–73.
95. Coomans CP, Ramkisoensing A, Meijer JH. The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. *Front Neuroendocrinol* 2014.
96. Bubenik GA. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Dig Dis Sci* 2002;**47**(10):2336–48.

97. Conti A, Conconi S, Hertens E, Skwarlo-Sonta K, Markowska M, Maestroni JM. Evidence for melatonin synthesis in mouse and human bone marrow cells. *J Pineal Res* 2000;**28**(4):193–202.
98. Champier J, Claustrat B, Besancon R, Eymin C, Killer C, Jouvet A, Chamba G, Fevre-Montange M. Evidence for tryptophan hydroxylase and hydroxy-indol-O-methyl-transferase mRNAs in human blood platelets. *Life Sci* 1997;**60**(24):2191–7.
99. Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, Garcia-Maurino S, Reiter RJ, Guerrero JM. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *FASEB J* 2004;**18**(3):537–9.
100. Slominski A, Fischer TW, Zmijewski MA, Wortsman J, Semak I, Zbytek B, Slominski RM, Tobin DJ. On the role of melatonin in skin physiology and pathology. *Endocrine* 2005;**27**(2):137–48.
101. Tosini G, Menaker M. Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science* 1996;**272** (5260):419–21.
102. Ferlazzo N, Andolina G, Cannata A, Costanzo MG, Rizzo V, Curro M, Ientile R, Caccamo D. Is Melatonin the Cornucopia of the 21st Century? *Antioxidants (Basel)* 2020;**9**(11).
103. Kaiser H, Kley HK. *Cortisontherapie*. 11th ed. Stuttgart-New York: Thieme; 2002.
104. Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 10th ed. München: Elsevier; 2009.
105. Seckl JR, Walker BR. Minireview: 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 – a tissue-specific amplifier of glucocorticoid action. *Endocrinology* 2001;**142**(4):1371–6.
106. Stewart PM, Krozowski ZS. 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase. *Vitam Horm* 1999;**57**:249–324.
107. Chapman KE, Seckl JR. 11beta-HSD1, inflammation, metabolic disease and age-related cognitive (dys)function. *Neurochem Res* 2008;**33**(4):624–36.
108. Remer T, Maser-Gluth C, Wudy SA. Glucocorticoid measurements in health and disease – metabolic implications and the potential of 24-h urine analyses. *Mini Rev Med Chem* 2008;**8**(2):153–70.

109. Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, Kellendonk C, Reichardt HM, Schutz G, Schibler U. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science* 2000;**289**(5488):2344–7.
110. Wepler M, Preuss JM, Merz T, McCook O, Radermacher P, Tuckermann JP, Vettorazzi S. Impact of downstream effects of glucocorticoid receptor dysfunction on organ function in critical illness-associated systemic inflammation. *Intensive Care Med Exp* 2020;**8**(Suppl 1):37.
111. Marzolla V, Armani A, Zennaro MC, Cinti F, Mammi C, Fabbri A, Rosano GM, Caprio M. The role of the mineralocorticoid receptor in adipocyte biology and fat metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 2012;**350**(2):281–8.
112. Guo C, Ricchiuti V, Lian BQ, Yao TM, Coutinho P, Romero JR, Li J, Williams GH, Adler GK. Mineralocorticoid receptor blockade reverses obesity-related changes in expression of adiponectin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and proinflammatory adipokines. *Circulation* 2008;**117**(17):2253–61.
113. Slaunwhite WR, Jr., Sandberg AA. Transcortin: a corticosteroid-binding protein of plasma. *J Clin Invest* 1959;**38**(2):384–91.
114. Sandberg AA, Slaunwhite WR, Jr., Antoniades HN. The binding of steroids and steroid conjugates to human plasma proteins. *Recent Prog Horm Res* 1957;**13**:209–60; discussion 260–7.
115. Heinrich PC, Müller M, Graeve L. *Löffler/Petrides. Biochemie & Pathobiochemie*. 8th ed. Heidelberg: Springer-Verlag GmbH; 2007.
116. Lamberts SW, Bruining HA, de Jong FH. Corticosteroid therapy in severe illness. *N Engl J Med* 1997;**337**(18):1285–92.
117. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci* 2006;**8**(4):367–81.
118. Spiga F, Walker JJ, Terry JR, Lightman SL. HPA axis-rhythms. *Compr Physiol* 2014;**4**(3):1273–98.
119. Tsang AH, Astiz M, Friedrichs M, Oster H. Endocrine regulation of circadian physiology. *J Endocrinol* 2016;**230**(1):R1–R11.
120. Halvorsen YD, Bond A, Sen A, Franklin DM, Lea-Currie YR, Sujkowski D, Ellis PN, Wilkison WO, Gimble JM. Thiazolidinediones and glucocorticoids synergistically induce

- differentiation of human adipose tissue stromal cells: biochemical, cellular, and molecular analysis. *Metabolism* 2001;**50**(4):407–13.
121. Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency in the critically ill: a new look at an old problem. *Chest* 2002;**122**(5):1784–96.
122. van der Veen DR, Minh NL, Gos P, Arneric M, Gerkema MP, Schibler U. Impact of behavior on central and peripheral circadian clocks in the common vole *Microtus arvalis*, a mammal with ultradian rhythms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;**103**(9):3393–8.
123. Green CB, Takahashi JS, Bass J. The meter of metabolism. *Cell* 2008;**134**(5):728–42.
124. Stephan FK. The “other” circadian system: food as a Zeitgeber. *J Biol Rhythms* 2002;**17**(4):284–92.
125. Comperatore CA, Stephan FK. Entrainment of duodenal activity to periodic feeding. *J Biol Rhythms* 1987;**2**(3):227–42.
126. Saito M, Murakami E, Suda M. Circadian rhythms in disaccharidases of rat small intestine and its relation to food intake. *Biochim Biophys Acta* 1976;**421**(1):177–9.
127. Honma KI, Honma S, Hiroshige T. Critical role of food amount for prefeeding corticosterone peak in rats. *Am J Physiol* 1983;**245**(3):R339–44.
128. Pivovarova O, Jürchott K, Rudovich N, Hornemann S, Ye L, Möckel S, Murahovschi V, Kessler K, Seltmann AC, Maser-Gluth C, Mazuch J, Kruse M, Busjahn A, Kramer A, Pfeiffer AF. Changes of Dietary Fat and Carbohydrate Content Alter Central and Peripheral Clock in Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;**100**(6):2291–302.
129. Pendergast JS, Branecky KL, Yang W, Ellacott KL, Niswender KD, Yamazaki S. High-fat diet acutely affects circadian organisation and eating behavior. *Eur J Neurosci* 2013;**37**(8):1350–6.
130. Adafer R, Messaadi W, Meddahi M, Patey A, Haderbache A, Bayen S, Messaadi N. Food Timing, Circadian Rhythm and Chrononutrition: A Systematic Review of Time-Restricted Eating’s Effects on Human Health. *Nutrients* 2020;**12**(12).
131. Yang X, Downes M, Yu RT, Bookout AL, He W, Straume M, Mangelsdorf DJ, Evans RM. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell* 2006;**126**(4):801–10.

132. Stephan FK, Davidson AJ. Glucose, but not fat, phase shifts the feeding-entrained circadian clock. *Physiol Behav* 1998;**65**(2):277–88.
133. Iwanaga H, Yano M, Miki H, Okada K, Azama T, Takiguchi S, Fujiwara Y, Yasuda T, Nakayama M, Kobayashi M, Oishi K, Ishida N, Nagai K, Monden M. Per2 gene expressions in the suprachiasmatic nucleus and liver differentially respond to nutrition factors in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2005;**29**(3):157–61.
134. Mohri T, Emoto N, Nonaka H, Fukuya H, Yagita K, Okamura H, Yokoyama M. Alterations of circadian expressions of clock genes in Dahl salt-sensitive rats fed a high-salt diet. *Hypertension* 2003;**42**(2):189–94.
135. Van Cauter E, Polonsky KS, Scheen AJ. Roles of circadian rhythmicity and sleep in human glucose regulation. *Endocr Rev* 1997;**18**(5):716–38.
136. Gimble JM, Floyd ZE. Fat circadian biology. *J Appl Physiol* 2009;**107**(5):1629–37.
137. Allison KC, Lundgren JD, O’Reardon JP, Martino NS, Sarwer DB, Wadden TA, Crosby RD, Engel SG, Stunkard AJ. The Night Eating Questionnaire (NEQ): psychometric properties of a measure of severity of the Night Eating Syndrome. *Eat Behav* 2008;**9**(1):62–72.
138. Goel N, Stunkard AJ, Rogers NL, Van Dongen HP, Allison KC, O’Reardon JP, Ahima RS, Cummings DE, Heo M, Dinges DF. Circadian rhythm profiles in women with night eating syndrome. *J Biol Rhythms* 2009;**24**(1):85–94.
139. Van Cauter E, Desir D, Decoster C, Fery F, Balasse EO. Nocturnal decrease in glucose tolerance during constant glucose infusion. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;**69**(3):604–11.
140. Young ME, Wilson CR, Razeghi P, Guthrie PH, Taegtmeier H. Alterations of the circadian clock in the heart by streptozotocin-induced diabetes. *J Mol Cell Cardiol* 2002;**34**(2):223–31.
141. Hirota T, Okano T, Kokame K, Shirotani-Ikejima H, Miyata T, Fukada Y. Glucose down-regulates Per1 and Per2 mRNA levels and induces circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts. *J Biol Chem* 2002;**277**(46):44244–51.
142. Maemura K, de la Monte SM, Chin MT, Layne MD, Hsieh CM, Yet SF, Perrella MA, Lee ME. CLIF, a novel cycle-like factor, regulates the circadian oscillation of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression. *J Biol Chem* 2000;**275**(47):36847–51.

143. Schoenhard JA, Smith LH, Painter CA, Eren M, Johnson CH, Vaughan DE. Regulation of the PAI-1 promoter by circadian clock components: differential activation by BMAL1 and BMAL2. *J Mol Cell Cardiol* 2003;**35**(5):473–81.
144. van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, Klufft C, Grobbee DE. The 4G5G polymorphism in the gene for PAI-1 and the circadian oscillation of plasma PAI-1. *Blood* 2003;**101**(5):1841–4.
145. Yildiz BO, Suchard MA, Wong ML, McCann SM, Licinio J. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;**101**(28):10434–9.
146. Bray MS, Young ME. Circadian rhythms in the development of obesity: potential role for the circadian clock within the adipocyte. *Obes Rev* 2007;**8**(2):169–81.
147. Zvonic S, Floyd ZE, Mynatt RL, Gimble JM. Circadian rhythms and the regulation of metabolic tissue function and energy homeostasis. *Obesity (Silver Spring)* 2007;**15**(3):539–43.
148. Vgontzas AN, Zoumakis M, Papanicolaou DA, Bixler EO, Prolo P, Lin HM, Vela-Bueno A, Kales A, Chrousos GP. Chronic insomnia is associated with a shift of interleukin-6 and tumor necrosis factor secretion from nighttime to daytime. *Metabolism* 2002;**51**(7):887–92.
149. Gomez-Abellan P, Hernandez-Morante JJ, Lujan JA, Madrid JA, Garaulet M. Clock genes are implicated in the human metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)* 2008;**32**(1):121–8.
150. Hernandez-Morante JJ, Gomez-Santos C, Milagro F, Campion J, Martinez JA, Zamora S, Garaulet M. Expression of cortisol metabolism-related genes shows circadian rhythmic patterns in human adipose tissue. *Int J Obes (Lond)* 2009;**33**(4):473–80.
151. Yanagihara H, Ando H, Hayashi Y, Obi Y, Fujimura A. High-fat feeding exerts minimal effects on rhythmic mRNA expression of clock genes in mouse peripheral tissues. *Chronobiol Int* 2006;**23**(5):905–14.
152. Satoh Y, Kawai H, Kudo N, Kawashima Y, Mitsumoto A. Time-restricted feeding entrains daily rhythms of energy metabolism in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;**290**(5):R1276–83.
153. Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, Turek FW, Bass J. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metab* 2007;**6**(5):414–21.

154. Havel PJ, Townsend R, Chaump L, Teff K. High-fat meals reduce 24-h circulating leptin concentrations in women. *Diabetes* 1999;**48**(2):334–41.
155. Barnea M, Madar Z, Froy O. High-fat diet delays and fasting advances the circadian expression of adiponectin signaling components in mouse liver. *Endocrinology* 2009;**150**(1):161–8.
156. Kaneko K, Yamada T, Tsukita S, Takahashi K, Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. Obesity alters circadian expressions of molecular clock genes in the brainstem. *Brain Res* 2009;**1263**:58–68.
157. Rudic RD, McNamara P, Curtis AM, Boston RC, Panda S, Hogenesch JB, Fitzgerald GA. BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis. *PLoS Biol* 2004;**2**(11):e377.
158. Sartori C, Dessen P, Mathieu C, Monney A, Bloch J, Nicod P, Scherrer U, Duplain H. Melatonin improves glucose homeostasis and endothelial vascular function in high-fat diet-fed insulin-resistant mice. *Endocrinology* 2009;**150**(12):5311–7.
159. Puchalski SS, Green JN, Rasmussen DD. Melatonin effect on rat body weight regulation in response to high-fat diet at middle age. *Endocrine* 2003;**21**(2):163–7.
160. Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am J Med Sci* 2006;**331**(4):166–74.
161. Buyken AE, Karaolis-Danckert N, Remer T, Bolzenius K, Landsberg B, Kroke A. Effects of breastfeeding on trajectories of body fat and BMI throughout childhood. *Obesity* 2008;**16**(2):389–95.
162. Gunther AL, Remer T, Kroke A, Buyken AE. Early protein intake and later obesity risk: which protein sources at which time points throughout infancy and childhood are important for body mass index and body fat percentage at 7 y of age? *Am J Clin Nutr* 2007;**86**(6):1765–72.
163. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;**28**(7):412–9.
164. Duffy JF, Dijk DJ. Getting through to circadian oscillators: why use constant routines? *J Biol Rhythms* 2002;**17**(1):4–13.

165. Deacon S, Arendt J. Posture influences melatonin concentrations in plasma and saliva in humans. *Neurosci Lett* 1994;**167**(1-2):191–4.
166. IBL International G. Non-Extraction Melatonin Saliva ELISA – Arbeitsanleitung. In; 2010.
167. Burgess HJ, Fogg LF. Individual differences in the amount and timing of salivary melatonin secretion. *PLoS One* 2008;**3**(8):e3055.
168. Esoterix endocrinology directory of services 2001.
169. Vecsei P. Glucocorticoids: cortisol, cortisone, corticosterone, compounds and their metabolites. In Jaffe BM, Behrmann HR: *Methods of hormone radioimmunoassays*, Academic press (New York) 1979;**767**.
170. Gouarne C, Foury A, Duclos M. Critical study of common conditions of storage of glucocorticoids and catecholamines in 24-h urine collected during resting and exercising conditions. *Clin Chim Acta* 2004;**348**(1-2):207–14.
171. Griefahn B, Remer T, Blaszkewicz M, Brode P. Long-Term stability of 6-hydroxymelatonin sulfate in 24-h urine samples stored at –20 degrees C. *Endocrine* 2001;**15**(2):199–202.
172. Mahlberg R, Tilmann A, Salewski L, Kunz D. Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84. *Psychoneuroendocrinology* 2006;**31**(5):634–41.
173. Will H, Aderjan R, Winkler T, Penke B, Vecsei P. Radioimmunoassays of tetrahydrocortisone and tetrahydrocortisol in human urine. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1977;**86**(2):369–79.
174. Kerstens MN, Riemens SC, Sluiter WJ, Pratt JJ, Wolthers BG, Dullaart RP. Lack of relationship between 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase setpoint and insulin sensitivity in the basal state and after 24h of insulin infusion in healthy subjects and type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000;**52**(4):403–11.
175. Stins JF, van Baal GC, Polderman TJ, Verhulst FC, Boomsma DI. Heritability of Stroop and flanker performance in 12-year old children. *BMC Neurosci* 2004;**5**:49.
176. Schutten JC, Joris PJ, Minović I, Post A, van Beek AP, de Borst MH, Mensink RP, Bakker SJL. Long-term magnesium supplementation improves glucocorticoid metabolism: A post-hoc analysis of an intervention trial. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2021;**94**(2):150–7.
177. Uusitupa M, Hermansen K, Savolainen MJ, Schwab U, Kolehmainen M, Brader L, Mortensen LS, Cloetens L, Johansson-Persson A, Onning G, Landin-Olsson M, Herzig KH,

- Hukkanen J, Rosqvist F, Iggman D, Paananen J, Pulkki KJ, Siloaho M, Dragsted L, Barri T, Overvad K, Bach Knudsen KE, Hedemann MS, Arner P, Dahlman I, Borge GI, Baardseth P, Ulven SM, Gunnarsdottir I, Jónsdóttir S, Thorsdottir I, Orešič M, Poutanen KS, Risérus U, Akesson B. Effects of an isocaloric healthy Nordic diet on insulin sensitivity, lipid profile and inflammation markers in metabolic syndrome – a randomized study (SYSDIET). *J Intern Med* 2013;**274**(1):52–66.
178. Marklund M, Magnusdottir OK, Rosqvist F, Cloetens L, Landberg R, Kolehmainen M, Brader L, Hermansen K, Poutanen KS, Herzig KH, Hukkanen J, Savolainen MJ, Dragsted LO, Schwab U, Paananen J, Uusitupa M, Åkesson B, Thorsdottir I, Risérus U. A dietary biomarker approach captures compliance and cardiometabolic effects of a healthy Nordic diet in individuals with metabolic syndrome. *J Nutr* 2014;**144**(10):1642–9.
179. Rowland M, Tozer T. *Clinical pharmacokinetics: concepts and applications*. Williams & Wilkins 1995.
180. Borel P. Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clin Chem Lab Med* 2003;**41**(8):979–94.
181. Herbeth B, Gueguen S, Leroy P, Siest G, Visvikis-Siest S. The lipoprotein lipase serine 447 stop polymorphism is associated with altered serum carotenoid concentrations in the Stanislas Family Study. *J Am Coll Nutr* 2007;**26**(6):655–62.
182. Lin LY, Hsu CY, Lee HA, Tinkov AA, Skalny AV, Wang WH, Chao JC. Gender difference in the association of dietary patterns and metabolic parameters with obesity in young and middle-aged adults with dyslipidemia and abnormal fasting plasma glucose in Taiwan. *Nutr J* 2019;**18**(1):75.
183. Yeh CL, Cheng IC, Hou YC, Wang W, Yeh SL. MicroRNA-125a-3p expression in abdominal adipose tissues is associated with insulin signalling gene expressions in morbid obesity: observations in Taiwanese. *Asia Pac J Clin Nutr* 2014;**23**(2):331–7.
184. Loguercio C, De Simone T, D'Auria MV, de Sio I, Federico A, Tuccillo C, Abbatecola AM, Del Vecchio Blanco C. Non-alcoholic fatty liver disease: a multicentre clinical study by the Italian Association for the Study of the Liver. *Dig Liver Dis* 2004;**36**(6):398–405.
185. Garaulet M, Perex-Llamas F, Fuente T, Zamora S, Tebar FJ. Anthropometric, computed tomography and fat cell data in an obese population: relationship with insulin, leptin, tumor

- necrosis factor-alpha, sex hormone-binding globulin and sex hormones. *Eur J Endocrinol* 2000;**143**(5):657–66.
186. Moran A, Jacobs DR, Jr., Steinberger J, Steffen LM, Pankow JS, Hong CP, Sinaiko AR. Changes in insulin resistance and cardiovascular risk during adolescence: establishment of differential risk in males and females. *Circulation* 2008;**117**(18):2361–8.
187. Small L, Brandon AE, Turner N, Cooney GJ. Modeling insulin resistance in rodents by alterations in diet: what have high-fat and high-calorie diets revealed? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2018;**314**(3):E251–E265.
188. Utzschneider KM, Bayer-Carter JL, Arbuckle MD, Tidwell JM, Richards TL, Craft S. Beneficial effect of a weight-stable, low-fat/low-saturated fat/low-glycaemic index diet to reduce liver fat in older subjects. *Br J Nutr* 2013;**109**(6):1096–104.
189. Ryan MC, Itsiopoulos C, Thodis T, Ward G, Trost N, Hofferberth S, O'Dea K, Desmond PV, Johnson NA, Wilson AM. The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2013;**59**(1):138–43.
190. Markova M, Pivovarovova O, Hornemann S, Sucher S, Frahnw T, Wegner K, Machann J, Petzke KJ, Hierholzer J, Lichtinghagen R, Herder C, Carstensen-Kirberg M, Roden M, Rudovich N, Klaus S, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AF. Isocaloric Diets High in Animal or Plant Protein Reduce Liver Fat and Inflammation in Individuals With Type 2 Diabetes. *Gastroenterology* 2017;**152**(3):571–585.e8.
191. Yki-Järvinen H. Nutritional Modulation of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance. *Nutrients* 2015;**7**(11):9127–38.
192. Jebb SA, Lovegrove JA, Griffin BA, Frost GS, Moore CS, Chatfield MD, Bluck LJ, Williams CM, Sanders TA. Effect of changing the amount and type of fat and carbohydrate on insulin sensitivity and cardiovascular risk: the RISCK (Reading, Imperial, Surrey, Cambridge, and Kings) trial. *Am J Clin Nutr* 2010;**92**(4):748–58.
193. Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, Nälsén C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. *Diabetologia* 2001;**44**(3):312–9.

194. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, Chapman MJ, De Backer GG, Delgado V, Ference BA, Graham IM, Halliday A, Landmesser U, Mihaylova B, Pedersen TR, Riccardi G, Richter DJ, Sabatine MS, Taskinen MR, Tokgozoglul L, Wiklund O. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020;**41**(1):111–88.
195. Ference BA, Yoo W, Alesh I, Mahajan N, Mirowska KK, Mewada A, Kahn J, Afonso L, Williams KA, Sr., Flack JM. Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol* 2012;**60**(25):2631–9.
196. de Oliveira Otto MC, Mozaffarian D, Kromhout D, Bertoni AG, Sibley CT, Jacobs DR, Jr., Nettleton JA. Dietary intake of saturated fat by food source and incident cardiovascular disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 2012;**96**(2):397–404.
197. Knopp RH, Paramsothy P, Retzlaff BM, Fisch B, Walden C, Dowdy A, Tsunehara C, Aikawa K, Cheung MC. Gender differences in lipoprotein metabolism and dietary response: basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2005;**7**(6):472-9
198. Lu M, Wan Y, Yang B, Huggins CE, Li D. Effects of low-fat compared with high-fat diet on cardiometabolic indicators in people with overweight and obesity without overt metabolic disturbance: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* 2018;**119**(1):96–108.
199. Arendt J. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Rev Reprod* 1998;**3**(1):13–22.
200. Griefahn B. The validity of the temporal parameters of the daily rhythm of melatonin levels as an indicator of morningness. *Chronobiol Int* 2002;**19**(3):561–77.
201. Duffy JF, Zeitzer JM, Rimmer DW, Klerman EB, Dijk DJ, Czeisler CA. Peak of circadian melatonin rhythm occurs later within the sleep of older subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;**282**(2):E297–303.
202. Gill S, Panda S. A Smartphone App Reveals Erratic Diurnal Eating Patterns in Humans that Can Be Modulated for Health Benefits. *Cell Metab* 2015;**22**(5):789–98.
203. van Faassen M, Bischoff R, Kema IP. Relationship between plasma and salivary melatonin and cortisol investigated by LC-MS/MS. *Clin Chem Lab Med* 2017;**55**(9):1340–8.

204. Burgess HJ, Wyatt JK, Park M, Fogg LF. Home Circadian Phase Assessments with Measures of Compliance Yield Accurate Dim Light Melatonin Onsets. *Sleep* 2015;**38**(6):889–97.
205. Arendt J. Melatonin: characteristics, concerns, and prospects. *J Biol Rhythms* 2005;**20**(4):291–303.
206. Kosicka K, Siemiątkowska A, Pałka D, Szpera-Goździewicz A, Bręborowicz GH, Główna FK. Detailed analysis of cortisol, cortisone and their tetrahydro- and allo-tetrahydrometabolites in human urine by LC-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal* 2017;**140**:174–81.
207. Arendt J. Melatonin and human rhythms. *Chronobiol Int* 2006;**23**(1-2):21–37.
208. Shirakawa S, Tsuchiya S, Tsutsumi Y, Kotorii T, Uchimura N, Sakamoto T, Yamada S. Time course of saliva and serum melatonin levels after ingestion of melatonin. *Psychiatry Clin Neurosci* 1998;**52**(2):266–7.
209. Rzepka-Migut B, Paprocka J. Melatonin-Measurement Methods and the Factors Modifying the Results. A Systematic Review of the Literature. *Int J Environ Res Public Health* 2020;**17**(6).
210. Nowak R, McMillen IC, Redman J, Short RV. The correlation between serum and salivary melatonin concentrations and urinary 6-hydroxymelatonin sulphate excretion rates: two non-invasive techniques for monitoring human circadian rhythmicity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1987;**27**(4):445–52.
211. Graham C, Cook MR, Kavet R, Sastre A, Smith DK. Prediction of nocturnal plasma melatonin from morning urinary measures. *J Pineal Res* 1998;**24**(4):230–8.
212. Lynch HJ, Wurtman RJ, Moskowitz MA, Archer MC, Ho MH. Daily rhythm in human urinary melatonin. *Science* 1975;**187**(4172):169–71.
213. de Farias T, Cruz MM, de Sa R, Severi I, Perugini J, Senzacqua M, Cerutti SM, Giordano A, Cinti S, Alonso-Vale MIC. Melatonin Supplementation Decreases Hypertrophic Obesity and Inflammation Induced by High-Fat Diet in Mice. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019;**10**:750.
214. Wongchitrat P, Klosen P, Pannengpetch S, Kitidee K, Govitrapong P, Isarankura-Na-Ayudhya C. High-fat diet-induced plasma protein and liver changes in obese rats can be attenuated by melatonin supplementation. *Nutr Res* 2017;**42**:51–63.

215. Koziróg M, Poliweczak AR, Duchnowicz P, Koter-Michalak M, Sikora J, Broncel M. Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *J Pineal Res* 2011;**50**(3):261–6.
216. Goni L, Sun D, Heianza Y, Wang T, Huang T, Cuervo M, Martínez JA, Shang X, Bray GA, Sacks FM, Qi L. Macronutrient-specific effect of the MTNR1B genotype on lipid levels in response to 2 year weight-loss diets. *J Lipid Res* 2018;**59**(1):155–61.
217. Stumpf I, Mühlbauer E, Peschke E. Involvement of the cGMP pathway in mediating the insulin-inhibitory effect of melatonin in pancreatic beta-cells. *J Pineal Res* 2008;**45**(3):318–27.
218. Peschke E, Bach AG, Mühlbauer E. Parallel signaling pathways of melatonin in the pancreatic beta-cell. *J Pineal Res* 2006;**40**(2):184–91.
219. Li Y, Wu H, Liu N, Cao X, Yang Z, Lu B, Hu R, Wang X, Wen J. Melatonin exerts an inhibitory effect on insulin gene transcription via MTNR1B and the downstream Raf-1/ERK signaling pathway. *Int J Mol Med* 2018;**41**(2):955–61.
220. Rohr UD, Herold J. Melatonin deficiencies in women. *Maturitas* 2002;**41 Suppl 1**:S85–104.
221. Geisler CE, Renquist BJ. Hepatic lipid accumulation: cause and consequence of dysregulated glucoregulatory hormones. *J Endocrinol* 2017;**234**(1):R1–R21.
222. Kur P, Kolasa-Wołoskiuk A, Misiakiewicz-Has K, Wiszniewska B. Sex Hormone-Dependent Physiology and Diseases of Liver. *Int J Environ Res Public Health* 2020;**17**(8).
223. Weinert D, Eimert H, Erkert HG, Schneyer U. Resynchronization of the circadian corticosterone rhythm after a light/dark shift in juvenile and adult mice. *Chronobiol Int* 1994;**11**(4):222–31.
224. Yamazaki S, Straume M, Tei H, Sakaki Y, Menaker M, Block GD. Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;**99**(16):10801–6.
225. Bubenik GA, Konturek SJ. Melatonin and aging: prospects for human treatment. *J Physiol Pharmacol* 2011;**62**(1):13–9.
226. Farajnia S, Deboer T, Rohling JH, Meijer JH, Michel S. Aging of the suprachiasmatic clock. *Neuroscientist* 2014;**20**(1):44–55.
227. Hardeland R. Melatonin in aging and disease – multiple consequences of reduced secretion, options and limits of treatment. *Aging Dis* 2012;**3**(2):194–225.

228. Hardeland R. Aging, Melatonin, and the Pro- and Anti-Inflammatory Networks. *Int J Mol Sci* 2019;**20**(5).
229. Gunn PJ, Middleton B, Davies SK, Revell VL, Skene DJ. Sex differences in the circadian profiles of melatonin and cortisol in plasma and urine matrices under constant routine conditions. *Chronobiol Int* 2016;**33**(1):39–50.
230. Schernhammer ES, Kroenke CH, Dowsett M, Folkard E, Hankinson SE. Urinary 6-sulfatoxy-melatonin levels and their correlations with lifestyle factors and steroid hormone levels. *J Pineal Res* 2006;**40**(2):116–24.
231. Skene DJ, Lockley SW, Thapan K, Arendt J. Effects of light on human circadian rhythms. *Reprod Nutr Dev* 1999;**39**(3):295–304.
232. Pierre K, Schlesinger N, Androulakis IP. The Hepato-Hypothalamic-Pituitary-Adrenal-Renal Axis: Mathematical Modeling of Cortisol's Production, Metabolism, and Seasonal Variation. *J Biol Rhythms* 2017;**32**(5):469–84.
233. Oster H, Challet E, Ott V, Arvat E, de Kloet ER, Dijk DJ, Lightman S, Vgontzas A, Van Cauter E. The Functional and Clinical Significance of the 24-Hour Rhythm of Circulating Glucocorticoids. *Endocr Rev* 2017;**38**(1):3–45.
234. Guyon A, Balbo M, Morselli LL, Tasali E, Leproult R, L'Hermite-Balériaux M, Van Cauter E, Spiegel K. Adverse effects of two nights of sleep restriction on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;**99**(8):2861–8.
235. Wong V, Yan T, Donald A, McLean M. Saliva and bloodspot cortisol: novel sampling methods to assess hydrocortisone replacement therapy in hypoadrenal patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;**61**(1):131–7.
236. El-Farhan N, Rees DA, Evans C. Measuring cortisol in serum, urine and saliva – are our assays good enough? *Ann Clin Biochem* 2017;**54**(3):308–22.
237. Lemmens SG, Born JM, Martens EA, Martens MJ, Westerterp-Plantenga MS. Influence of consumption of a high-protein vs. high-carbohydrate meal on the physiological cortisol and psychological mood response in men and women. *PLoS One* 2011;**6**(2):e16826.
238. Martens MJ, Rutters F, Lemmens SG, Born JM, Westerterp-Plantenga MS. Effects of single macronutrients on serum cortisol concentrations in normal weight men. *Physiol Behav* 2010;**101**(5):563–7.

239. Copinschi G, Turek FW, Van Cauter E. Endocrine rhythms, the sleep-wake cycle, and biological clocks. *Endocrinology* Jameson JL, De Groot L 2010(Jameson JL, De Groot L):199–229.
240. Tsang AH, Barclay JL, Oster H. Interactions between endocrine and circadian systems. *J Mol Endocrinol* 2014;**52**(1):R1–16.
241. Konakchieva R, Mitev Y, Almeida OF, Patchev VK. Chronic melatonin treatment and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat: attenuation of the secretory response to stress and effects on hypothalamic neuropeptide content and release. *Biol Cell* 1997;**89**(9):587–96.
242. Torres-Farfan C, Richter HG, Rojas-García P, Vergara M, Forcelledo ML, Valladares LE, Torrealba F, Valenzuela GJ, Serón-Ferré M. mt1 Melatonin receptor in the primate adrenal gland: inhibition of adrenocorticotropin-stimulated cortisol production by melatonin. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;**88**(1):450–8.
243. Leliavski A, Dumbell R, Ott V, Oster H. Adrenal clocks and the role of adrenal hormones in the regulation of circadian physiology. *J Biol Rhythms* 2015;**30**(1):20–34.
244. Torres-Farfan C, Mendez N, Abarzua-Catalan L, Vilches N, Valenzuela GJ, Seron-Ferre M. A circadian clock entrained by melatonin is ticking in the rat fetal adrenal. *Endocrinology* 2011;**152**(5):1891–900.
245. Tomlinson JW, Finney J, Gay C, Hughes BA, Hughes SV, Stewart PM. Impaired glucose tolerance and insulin resistance are associated with increased adipose 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression and elevated hepatic 5alpha-reductase activity. *Diabetes* 2008;**57**(10):2652–60.
246. Mai K, Kullmann V, Bobbert T, Maser-Gluth C, Möhlig M, Bähr V, Pfeiffer AF, Spranger J, Diederich S. In vivo activity of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and free fatty acid-induced insulin resistance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;**63**(4):442–9.
247. Stomby A, Otten J, Ryberg M, Andrew R, Walker BR, Olsson T. Diet-induced weight loss alters hepatic glucocorticoid metabolism in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2020;**182**(4):447–57.
248. Tomlinson JW, Finney J, Hughes BA, Hughes SV, Stewart PM. Reduced glucocorticoid production rate, decreased 5alpha-reductase activity, and adipose tissue insulin sensitization after weight loss. *Diabetes* 2008;**57**(6):1536–43.

249. Pereira CD, Azevedo I, Monteiro R, Martins MJ. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1: relevance of its modulation in the pathophysiology of obesity, the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 2012;**14**(10):869–81.
250. Kotelevtsev Y, Holmes MC, Burchell A, Houston PM, Schmoll D, Jamieson P, Best R, Brown R, Edwards CR, Seckl JR, Mullins JJ. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 knock-out mice show attenuated glucocorticoid-inducible responses and resist hyperglycemia on obesity or stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;**94**(26):14924–9.
251. Wamil M, Seckl JR. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 as a promising therapeutic target. *Drug Discov Today* 2007;**12**(13-14):504–20.
252. Wan ZK, Chenail E, Xiang J, Li HQ, Ipek M, Bard J, Svenson K, Mansour TS, Xu X, Tian X, Suri V, Hahm S, Xing Y, Johnson CE, Li X, Qadri A, Panza D, Perreault M, Tobin JF, Saiah E. Efficacious 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type I inhibitors in the diet-induced obesity mouse model. *J Med Chem* 2009;**52**(17):5449–61.
253. Wamil M, Battle JH, Turban S, Kipari T, Seguret D, de Sousa Peixoto R, Nelson YB, Nowakowska D, Ferenbach D, Ramage L, Chapman KE, Hughes J, Dunbar DR, Seckl JR, Morton NM. Novel fat depot-specific mechanisms underlie resistance to visceral obesity and inflammation in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1-deficient mice. *Diabetes* 2011;**60**(4):1158–67.
254. Albiston AL, Obeyesekere VR, Smith RE, Krozowski ZS. Cloning and tissue distribution of the human 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 enzyme. *Mol Cell Endocrinol* 1994;**105**(2):R11–7.
255. Livingstone DE, Kenyon CJ, Walker BR. Mechanisms of dysregulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obese Zucker rats. *J Endocrinol* 2000;**167**(3):533–9.
256. Drake AJ, Livingstone DE, Andrew R, Seckl JR, Morton NM, Walker BR. Reduced adipose glucocorticoid reactivation and increased hepatic glucocorticoid clearance as an early adaptation to high-fat feeding in Wistar rats. *Endocrinology* 2005;**146**(2):913–9.
257. Tagawa N, Minamitani E, Yamaguchi Y, Kobayashi Y. Alternative mechanism for anti-obesity effect of dehydroepiandrosterone: possible contribution of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition in rodent adipose tissue. *Steroids* 2011;**76**(14):1546–53.

-
258. Tagawa N, Yuda R, Kubota S, Wakabayashi M, Yamaguchi Y, Kiyonaga D, Mori N, Minamitani E, Masuzaki H, Kobayashi Y. 17Beta-estradiol inhibits 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in rodent adipocytes. *J Endocrinol* 2009;**202**(1):131–9.
259. Balachandran A, Guan H, Sellan M, van Uum S, Yang K. Insulin and dexamethasone dynamically regulate adipocyte 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Endocrinology* 2008;**149**(8):4069–79.
260. Jamieson PM, Chapman KE, Edwards CR, Seckl JR. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase is an exclusive 11 beta-reductase in primary cultures of rat hepatocytes: effect of physicochemical and hormonal manipulations. *Endocrinology* 1995;**136**(11):4754–61.
261. Camporez JP, Lyu K, Goldberg EL, Zhang D, Cline GW, Jurczak MJ, Dixit VD, Petersen KF, Shulman GI. Anti-inflammatory effects of oestrogen mediate the sexual dimorphic response to lipid-induced insulin resistance. *J Physiol* 2019;**597**(15):3885–903.
262. Chapman K, Holmes M, Seckl J. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gatekeepers of tissue glucocorticoid action. *Physiol Rev* 2013;**93**(3):1139–206.
263. Lindsay RS, Wake DJ, Nair S, Bunt J, Livingstone DE, Permana PA, Tataranni PA, Walker BR. Subcutaneous adipose 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity and messenger ribonucleic acid levels are associated with adiposity and insulinemia in Pima Indians and Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;**88**(6):2738–44.
264. Busjahn A, Luft FC. Twin studies in the analysis of minor physiological differences between individuals. *Cell Physiol Biochem* 2003;**13**(1):51–8.
265. Engstler AJ, Frahnow T, Kruse M, Pfeiffer AFH, Bergheim I. Plasminogen Activator Inhibitor-1 is Regulated Through Dietary Fat Intake and Heritability: Studies in Twins. *Twin Res Hum Genet* 2017;**20**(4):338–48.
266. Raggi P, Su S, Karohl C, Veledar E, Rojas-Campos E, Vaccarino V. Heritability of renal function and inflammatory markers in adult male twins. *Am J Nephrol* 2010;**32**(4):317–23.
267. Korkmaz A, Reiter RJ. Epigenetic regulation: a new research area for melatonin? *J Pineal Res* 2008;**44**(1):41–4.
268. Bahna SG, Niles LP. Epigenetic regulation of melatonin receptors in neuropsychiatric disorders. *Br J Pharmacol* 2018;**175**(16):3209–19.

269. Liu JE, Ren B, Tang L, Tang QJ, Liu XY, Li X, Bai X, Zhong WP, Meng JX, Lin HM, Wu H, Chen JY, Zhong SL. The independent contribution of miRNAs to the missing heritability in CYP3A4/5 functionality and the metabolism of atorvastatin. *Sci Rep* 2016;**6**:26544.
270. van Keulen BJ, Dolan CV, Andrew R, Walker BR, Hulshoff Pol HE, Boomsma DI, Rotteveel J, Finken MJJ. Heritability of Cortisol Production and Metabolism Throughout Adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;**105**(2):443–52.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Silke Hornemann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Heritabilität und Effekte einer isokalorischen Hochfett-Kost auf Metabolismus und Circadianik bei gesunden Zwillingen* (engl.: *Heritability and effects of an isocaloric high-fat diet on metabolism and circadian rhythms in healthy twins*) selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autor:innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zur Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und zu den Resultaten (insbesondere Abbildungen, Grafiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§ 156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

1. Kabisch S, Markova M, Hornemann S, Sucher S, Pivovarova-Ramich O, Machann J, Hierholzer J, Rohn S, Pfeiffer AFH. Liver fat scores do not reflect interventional changes in liver fat content induced by high-protein diets. *Sci Rep.* 2021 Apr 23;11(1):8843. doi: 10.1038/s41598-021-87360-2. PMID: 33893355.
2. Schüler R, Markova M, Osterhoff MA, Arafat A, Pivovarova O, Machann J, Hierholzer J, Hornemann S, Rohn S, Pfeiffer AFH. Similar dietary regulation of IGF-1- and IGF-binding proteins by animal and plant protein in subjects with type 2 diabetes. *Eur J Nutr.* 2021 Mar 8. doi: 10.1007/s00394-021-02518-y. Epub ahead of print. PMID: 33686453.
3. Xu C, Markova M, Seebeck N, Loft A, Hornemann S, Gantert T, Kabisch S, Herz K, Loske J, Ost M, Coleman V, Klauschen F, Rosenthal A, Lange V, Machann J, Klaus S, Grune T, Hertzig S, Pivovarova-Ramich O, Pfeiffer AFH. High-protein diet more effectively reduces hepatic fat than low-protein diet despite lower autophagy and FGF21 levels. *Liver Int.* 2020 Dec;40(12):2982–97. doi: 10.1111/liv.14596. Epub 2020 Jul 21. PMID: 32652799.
4. Koelman L, Markova M, Seebeck N, Hornemann S, Rosenthal A, Lange V, Pivovarova-Ramich O, Aleksandrova K. Effects of High and Low Protein Diets on Inflammatory Profiles in People with Morbid Obesity: A 3-Week Intervention Study. *Nutrients.* 2020 Nov 26;12(12):3636. doi: 10.3390/nu12123636. PMID: 33256114; PMCID: PMC7759799.
5. Wernicke C, Apostolopoulou K, Hornemann S, Efthymiou A, Machann J, Schmidt S, Primessnig U, Bergmann MM, Grune T, Gerbracht C, Herber K, Pohrt A, Pfeiffer AFH, Spranger J, Mai K. Long-term effects of a food pattern on cardiovascular risk factors and age-related changes of muscular and cognitive function. *Medicine (Baltimore).* 2020 Sep 25; 99(39):e22381. doi: 10.1097/MD.00000000000022381. PMID: 32991458; PMCID: PMC7523819.
6. Kessler K, Gerl MJ, Hornemann S, Damm M, Klose C, Petzke KJ, Kemper M, Weber D, Rudovich N, Grune T, Simons K, Kramer A, Pfeiffer AFH, Pivovarova-Ramich O. Shotgun Lipidomics Discovered Diurnal Regulation of Lipid Metabolism Linked to Insulin Sensitivity in Nondiabetic Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 May 1;105(5):dgz176. doi: 10.1210/clinem/dgz176. PMID: 31680138.
7. Markova M, Koelman L, Hornemann S, Pivovarova O, Sucher S, Machann J, Rudovich N, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AFH, Aleksandrova K. Effects of plant and

- animal high protein diets on immune-inflammatory biomarkers: A 6-week intervention trial. *Clin Nutr.* 2020 Mar;39(3):862–9. doi: 10.1016/j.clnu.2019.03.019. Epub 2019 Mar 27. PMID: 30967307.
8. Kessler K, Hornemann S, Rudovich N, Weber D, Grune T, Kramer A, Pfeiffer AFH, Pivovarova-Ramich O. Saliva Samples as A Tool to Study the Effect of Meal Timing on Metabolic and Inflammatory Biomarkers. *Nutrients.* 2020 Jan 28;12(2):340. doi: 10.3390/nu12020340. PMID: 32013045; PMCID: PMC7071228.
 9. Pivovarova-Ramich O, Markova M, Weber D, Sucher S, Hornemann S, Rudovich N, Raila J, Sunaga-Franze D, Sauer S, Rohn S, Pfeiffer AFH, Grune T. Effects of diets high in animal or plant protein on oxidative stress in individuals with type 2 diabetes: A randomized clinical trial. *Redox Biol.* 2020 Jan;29:101397. doi: 10.1016/j.redox.2019.101397. Epub 2019 Nov 28. PMID: 31926623; PMCID: PMC6909130.
 10. Kessler K, Hornemann S, Petzke KJ, Kemper M, Markova M, Rudovich N, Grune T, Kramer A, Pfeiffer AFH, Pivovarova-Ramich O. Diurnal distribution of carbohydrates and fat affects substrate oxidation and adipokine secretion in humans. *Am J Clin Nutr.* 2018 Dec 1;108(6):1209–19. doi: 10.1093/ajcn/nqy224. PMID: 30541098.
 11. Kühn C, Kupke F, Baldermann S, Klopsch R, Lamy E, Hornemann S, Pfeiffer AFH, Schreiner M, Hanschen FS, Rohn S. Diverse Excretion Pathways of Benzyl Glucosinolate in Humans after Consumption of Nasturtium (*Tropaeolum majus* L.)-A Pilot Study. *Mol Nutr Food Res.* 2018 Oct;62(20):e1800588. doi: 10.1002/mnfr.201800588. Epub 2018 Aug 28. PMID: 30091516.
 12. Hörbelt T, Tacke C, Markova M, Herzfeld de Wiza D, Van de Velde F, Bekaert M, Van Nieuwenhove Y, Hornemann S, Rödiger M, Seebeck N, Friedl E, Jonas W, Thoresen GH, Kuss O, Rosenthal A, Lange V, Pfeiffer AFH, Schürmann A, Lapauw B, Rudovich N, Pivovarova O, Ouwens DM. The novel adipokine WISP1 associates with insulin resistance and impairs insulin action in human myotubes and mouse hepatocytes. *Diabetologia.* 2018 Sep;61(9):2054–65. doi: 10.1007/s00125-018-4636-9. Epub 2018 May 12. PMID: 29754289.
 13. Tacke C, Aleksandrova K, Rehfeldt M, Murahovschi V, Markova M, Kemper M, Hornemann S, Kaiser U, Honig C, Gerbracht C, Kabisch S, Hörbelt T, Ouwens DM, Weickert MO, Boeing H, Pfeiffer AFH, Pivovarova O, Rudovich N. Assessment of circulating Wnt1 inducible

- signalling pathway protein 1 (WISP-1)/CCN4 as a novel biomarker of obesity. *J Cell Commun Signal*. 2018 Sep;12(3):539–48. doi: 10.1007/s12079-017-0427-1. Epub 2017 Nov 11. PMID: 29129025; PMCID: PMC6039340.
14. Markova M, Hornemann S, Sucher S, Wegner K, Pivovarov O, Rudovich N, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AFH. Rate of appearance of amino acids after a meal regulates insulin and glucagon secretion in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2018 Aug 1;108(2):279–91. doi: 10.1093/ajcn/nqy100. PMID: 29982277.
15. Schüler R, Seebeck N, Osterhoff MA, Witte V, Flöel A, Busjahn A, Jais A, Brüning JC, Frahnow T, Kabisch S, Pivovarov O, Hornemann S, Kruse M, Pfeiffer AFH. VEGF and GLUT1 are highly heritable, inversely correlated and affected by dietary fat intake: Consequences for cognitive function in humans. *Mol Metab*. 2018 May;11:129–36. doi: 10.1016/j.molmet.2018.02.004. Epub 2018 Feb 12. PMID: 29506909; PMCID: PMC6001408.
16. Schüler R, Osterhoff MA, Frahnow T, Möhlig M, Spranger J, Stefanovski D, Bergman RN, Xu L, Seltmann AC, Kabisch S, Hornemann S, Kruse M, Pfeiffer AFH. Dietary Fat Intake Modulates Effects of a Frequent ACE Gene Variant on Glucose Tolerance with association to Type 2 Diabetes. *Sci Rep*. 2017 Aug 23;7(1):9234. doi: 10.1038/s41598-017-08300-7. PMID: 28835639; PMCID: PMC5569105.
17. Sucher S, Markova M, Hornemann S, Pivovarov O, Rudovich N, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AFH. Comparison of the effects of diets high in animal or plant protein on metabolic and cardiovascular markers in type 2 diabetes: A randomized clinical trial. *Diabetes Obes Metab*. 2017 Jul;19(7):944–52. doi: 10.1111/dom.12901. Epub 2017 Mar 8. PMID: 28181738.
18. Frahnow T, Osterhoff MA, Hornemann S, Kruse M, Surma MA, Klose C, Simons K, Pfeiffer AFH. Heritability and responses to high fat diet of plasma lipidomics in a twin study. *Sci Rep*. 2017 Jun 16;7(1):3750. doi: 10.1038/s41598-017-03965-6. PMID: 28623287; PMCID: PMC5473837.
19. Weitkunat K, Schumann S, Nickel D, Hornemann S, Petzke KJ, Schulze MB, Pfeiffer AF, Klaus S. Odd-chain fatty acids as a biomarker for dietary fiber intake: a novel pathway for endogenous production from propionate. *Am J Clin Nutr*. 2017 Jun;105(6):1544–51. doi:10.3945/ajcn.117.152702. Epub 2017 Apr 19. PMID: 28424190.

20. Kessler K, Hornemann S, Petzke KJ, Kemper M, Kramer A, Pfeiffer AF, Pivovarova O, Rudovich N. The effect of diurnal distribution of carbohydrates and fat on glycaemic control in humans: a randomized controlled trial. *Sci Rep*. 2017 Mar 8;7:44170. doi: 10.1038/srep44170. PMID: 28272464; PMCID: PMC5341154.
21. Markova M, Pivovarova O, Hornemann S, Sucher S, Frahnw T, Wegner K, Machann J, Petzke KJ, Hierholzer J, Lichtinghagen R, Herder C, Carstensen-Kirberg M, Roden M, Rudovich N, Klaus S, Thomann R, Schneeweiss R, Rohn S, Pfeiffer AF. Isocaloric Diets High in Animal or Plant Protein Reduce Liver Fat and Inflammation in Individuals With Type 2 Diabetes. *Gastroenterology*. 2017 Feb;152(3):571–85.e8. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.007. Epub 2016 Oct 17. PMID: 27765690.
22. Schüler R, Osterhoff MA, Frahnw T, Seltmann AC, Busjahn A, Kabisch S, Xu L, Mosig AS, Spranger J, Möhlig M, Hornemann S, Kruse M, Pfeiffer AF. High- Saturated-Fat Diet Increases Circulating Angiotensin-Converting Enzyme, Which Is Enhanced by the rs4343 Polymorphism Defining Persons at Risk of Nutrient- Dependent Increases of Blood Pressure. *J Am Heart Assoc*. 2017 Jan 17;6(1):e004465. doi: 10.1161/JAHA.116.004465. PMID: 28096099; PMCID: PMC5523633.
23. Pivovarova O, Jürchott K, Rudovich N, Hornemann S, Ye L, Möckel S, Murahovschi V, Kessler K, Seltmann AC, Maser-Gluth C, Mazuch J, Kruse M, Busjahn A, Kramer A, Pfeiffer AF. Changes of Dietary Fat and Carbohydrate Content Alter Central and Peripheral Clock in Humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Jun;100(6):2291–302. doi: 10.1210/jc.2014-3868. Epub 2015 Mar 30. PMID: 25822100.
24. Pivovarova O, Hornemann S, Weimer S, Lu Y, Murahovschi V, Zhuk S, Seltmann AC, Malashicheva A, Kostareva A, Kruse M, Busjahn A, Rudovich N, Pfeiffer AF. Regulation of nutrition-associated receptors in blood monocytes of normal weight and obese humans. *Peptides*. 2015 Mar;65:12–9. doi: 10.1016/j.peptides.2014.11.009. Epub 2015 Jan 22. PMID: 25620618.
25. Kruse M, von Loeffelholz C, Hoffmann D, Pohlmann A, Seltmann AC, Osterhoff M, Hornemann S, Pivovarova O, Rohn S, Jahreis G, Pfeiffer AF. Dietary rapeseed/canola-oil supplementation reduces serum lipids and liver enzymes and alters postprandial inflammatory responses in adipose tissue compared to olive- oil supplementation in obese men. *Mol Nutr Food Res*. 2015 Mar;59(3):507–19. doi: 10.1002/mnfr.201400446. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25403327.

-
26. Murahovschi V, Pivovarova O, Ilkavets I, Dmitrieva RM, Döcke S, Keyhani-Nejad F, Gögebakan Ö, Osterhoff M, Kemper M, Hornemann S, Markova M, Klötting N, Stockmann M, Weickert MO, Lamounier-Zepter V, Neuhaus P, Konradi A, Dooley S, von Loeffelholz C, Blüher M, Pfeiffer AF, Rudovich N. WISP1 is a novel adipokine linked to inflammation in obesity. *Diabetes*. 2015 Mar;64(3):856–66. doi: 10.2337/db14-0444. Epub 2014 Oct 3. PMID: 25281430.
27. Hattersley JG, Pfeiffer AF, Roden M, Petzke KJ, Hoffmann D, Rudovich NN, Randeva HS, Vatish M, Osterhoff M, Goegebakan Ö, Hornemann S, Nowotny P, Machann J, Hierholzer J, von Loeffelholz C, Möhlig M, Arafat AM, Weickert MO. Modulation of amino acid metabolic signatures by supplemented isoenergetic diets differing in protein and cereal fiber content. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Dec;99(12):E2599–609. doi: 10.1210/jc.2014-2302. PMID: 25157543.
28. Stefan N, Ramsauer M, Jordan P, Nowotny B, Kantartzis K, Machann J, Hwang JH, Nowotny P, Kahl S, Harreiter J, Hornemann S, Sanyal AJ, Stewart PM, Pfeiffer AF, Kautzky-Willer A, Roden M, Häring HU, Fürst-Recktenwald S. Inhibition of 11 β -HSD1 with RO5093151 for non-alcoholic fatty liver disease: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 May;2(5):406–16. doi: 10.1016/S2213-8587(13)70170-0. Epub 2014 Feb 17. PMID: 24795254.
29. Weickert MO, Roden M, Isken F, Hoffmann D, Nowotny P, Osterhoff M, Blaut M, Alpert C, Gögebakan O, Bumke-Vogt C, Mueller F, Machann J, Barber TM, Petzke KJ, Hierholzer J, Hornemann S, Kruse M, Illner AK, Kohl A, Loeffelholz CV, Arafat AM, Möhlig M, Pfeiffer AF. Effects of supplemented isoenergetic diets differing in cereal fiber and protein content on insulin sensitivity in overweight humans. *Am J Clin Nutr*. 2011 Aug;94(2):459–71. doi: 10.3945/ajcn.110.004374. Epub 2011 Jun 1. PMID: 21633074.
30. Zouboulis CC, Katsantonis J, Ketteler R, Treudler R, Kaklamani E, Hornemann S, Kaklamani P, Orfanos CE. Adamantiades-Behçet's disease: interleukin-8 is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells. *Arch Dermatol Res*. 2000 Jun;292(6):279–84. doi: 10.1007/s004030000128. PMID: 10929768.

31. Zouboulis CC, Xia L, Akamatsu H, Seltmann H, Fritsch M, Hornemann S, Rühl R, Chen W, Nau H, Orfanos CE. The human sebocyte culture model provides new insights into development and management of seborrhoea and acne. *Dermatology*. 1998;196(1):21–31. doi: 10.1159/000017861. PMID: 9557220.

Danksagung

Herrn Professor Dr. Andreas Pfeiffer möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und für jede erdenkliche, hilfreiche Unterstützung bedanken. Außerdem möchte ich mich bei ihm an dieser Stelle insbesondere für die Freiheit, die mir während der gesamten Zeit des Forschungsprojektes und der Erstellung der vorliegenden Arbeit entgegengebracht wurde, ganz herzlich bedanken.

Für die Umsetzung des Forschungsprojektes möchte ich hiermit allen Studienteilnehmenden der NUGAT-Studie herzlich Dank sagen, ohne die ich erst gar nicht mit dieser Forschungsarbeit hätte anfangen können.

Andrea Borchert, Melanie Hannemann, Daniela Hoffmann, Katrin Ritter, Andreas Wagner, Dominique Zschau und allen ehemaligen Mitarbeitenden, die mich in der Studienzeit tatkräftig unterstützt und bei guter Laune gehalten haben – tausend Dank!

Ein ganz großer Dank geht an Dr. Stefan Kabisch für die kurze, aber doch intensive Zeit des wissenschaftlichen Austauschs. Wie schön wäre das Miteinander, wenn es mehr von Deiner Art mit dieser Freundlichkeit, Hilfsbereitschaft und Liebe fürs Detail geben würde!

Aber ganz besonders möchte ich aus tiefstem Herzen meinem Sohn Can danken, der mir immer wieder Mut zugesprochen, mich mit jeglicher Unterstützung begleitet und insbesondere in der finalen Phase der Erstellung dieser Arbeit mit viel Nervennahrung verwöhnt hat. Was wäre ich ohne Dich ...