

mgr Martyna Marciniak

**Wpływ restrykcji dietetycznej na okołodobowy rytm wydzielania
kortyzolu u osób otyłych.**

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: Dr hab. med. Dominika Kanikowska

Kierownik Katedry i Zakładu: Prof. dr hab. med. Andrzej Bręborowicz

Katedra i Zakład Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu



Kolegium Nauk Medycznych

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

Słowa kluczowe: kortyzol, rytm okołodobowy, restrykcja dietetyczna, otyłość

*Serdecznie dziękuję
mojej Pani Promotor Dr hab. med. Dominice Kanikowskiej
za poświęcony czas, cierpliwość oraz cenne uwagi merytoryczne.*

FRAGMENTY MATERIAŁU BĘDĄCEGO PODSTAWĄ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
WYKORZYSTANO W DONIESIENIACH NAUKOWYCH:

Streszczenia zjazdowe - forma plakatowa

Marciniak M, Kanikowska D, Orzechowska Z, Bręborowicz A, Witowski J. Lifestyle and chronotype among medical students at Poznan University. *30th Conference of the International Society for Chronobiology (ISC)*, Warszawa, 2-5 lipca 2019

SPIS TREŚCI

| | |
|--|----|
| WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW..... | 7 |
| SPIS TABEL..... | 9 |
| SPIS RYCIN | 10 |
| WSTĘP..... | 11 |
| 1. Restrykcja dietetyczna..... | 12 |
| 1.1. Definicja..... | 12 |
| 1.2. Wpływ restrykcji na otyłość..... | 12 |
| 1.3. Wpływ restrykcji na stężenie kortyzolu | 13 |
| 2. Rytm biologiczne | 14 |
| 2.1. Definicja..... | 14 |
| 2.2. Wpływ rytmów biologicznych na metabolizm | 16 |
| 2.3. Rytm biologiczne a otyłość | 18 |
| 3. Kortyzol..... | 20 |
| 3.1. Definicja | 20 |
| 3.2. Rola kortyzolu | 20 |
| 3.3. Oś podwzgórze-przysadka-nadnercza..... | 21 |
| 3.4. Rytm okołodobowy | 22 |
| 3.5 Metody badań kortyzolu..... | 26 |
| 4. Otyłość | 26 |
| 4.1. Definicja..... | 26 |
| 4.2. Otyłość – konsekwencje zdrowotne | 27 |
| ZAŁOŻENIA I CEL PRACY | 29 |
| MATERIAŁY I METODYKA | 30 |
| 1. Charakterystyka grupy badanej..... | 30 |
| 2. Leczenie dietetyczne w warunkach szpitalnych..... | 31 |
| 3. Materiał | 33 |
| 4. Metodyka..... | 35 |
| 4.1. Metodyka badania próbek krwi..... | 37 |
| 4.2. Metodyka badania próbek śliny | 38 |
| 4.3. Test immunoenzymatyczny ELISA | 38 |
| 4.4. Analiza statystyczna..... | 38 |
| WYNIKI..... | 40 |

| | |
|--|-----|
| 1. Stężenie i rytm okołodobowy kortyzolu grupy badanej (n=49)..... | 41 |
| 2. Stężenie kortyzolu w zależności od płci, chronotypu, korelacje..... | 49 |
| 2.1. Płeć..... | 49 |
| 2.2. Chronotyp..... | 51 |
| 2.3. Parametry składu ciała | 53 |
| 2.4. Badania biochemiczne krwi | 55 |
| 3. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej przed i po restrykcji kalorycznej | 57 |
| 4. Parametry składu ciała a badania biochemiczne krwi..... | 65 |
| 5. Długość snu | 67 |
| 5.1. Stężenie kortyzolu a długość snu | 70 |
| 5.2. Parametry składu ciała oraz biochemiczne krwi a długość snu. | 72 |
| DYSKUSJA | 75 |
| WNIOSKI..... | 86 |
| STRESZCZENIE | 87 |
| SUMMARY | 89 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 91 |
| ZAŁĄCZNIKI..... | 117 |

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

11HSD1 – (ang. *11 Beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1*) – dehydrogenaza 11beta-hydroksysteroidowa typu 1

ACTH – (ang. *adrenocorticotrophic hormone*) – hormon adrenokortykotropowy

ADF – (ang. *alternate-day fasting*) – jednodniowy post

ALT – (ang. *glutamic pyruvic transferase*) – aminotransferaza alaninowa

AMPK – (ang. *5'AMP-activated protein kinase*) – 5'AMP kinaza aktywowana

ARNT1/BMAL1 – (ang. *Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1*)/ (ang. *brain and muscle arnt-like protein-1*) – białko 1 podobne do translokatora jądrowego receptora węglowodorów arylowych

AQP7 – (ang. *Aquaporin-7*) – akwaporyna 7

AUC – (ang. *area under the curve*) – pole pod krzywą

BMI – (ang. *Body Mass Index*) – wskaźnik Queteleta II/ wskaźnik masy ciała

CPM – (ang. *Total Metabolic Rate*) – całkowita przemiana materii

CLOCK – (ang. *circadian locomotor output cycles kaput*) – geny zegarowe

CREB – (ang. *cAMP response element-binding protein*) – białko wiążące element odpowiedzi

cAMP – (ang. *cyclic adenosine monophosphate*) – cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan

CRH – (ang. *corticotropin-releasing hormone*) – kortykoliberyna

CRP – (ang. *C Reactive Protein*) – białko C reaktywne

CRY – (ang. *Cryptochrome*) – kryptochomy

CVD – (ang. *cardiovascular diseases*) – choroby sercowo – naczyniowe

EDTA – (ang. *ethylenediaminetetraacetic acid*) – kwas edetynowy/ kwas wersenowy

ELISA – (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) – test immunoenzymatyczny

GCGR – (ang. *glucagon receptor*) – receptor glukagonu

HbA1C – (ang. *glycated haemoglobin*) – hemoglobina glikowana

HDL – (ang. *High Density Lipoprotein*) – lipoproteiny o dużej gęstości

HPA – (ang. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*) – oś podwzgórze-przysadka-nadnercza

HOMA-IR – (ang. *homeostasis model assessment of insulin resistance*) – wskaźnik insulinooporności

IF – (ang. *intermittent fasting*) – post przerywany

ICD – (ang. *implantable cardioverter defibrillator*) – kardiowerter- defibrylator

LDL – (ang. *low-density lipoprotein*) – lipoproteiny o małej gęstości

MESOR – (ang. *midline estimating statistic of rhythm*) –wartość średnia krzywej rytmu dopasowana do danych otrzymanych z pomiarów,

OB – (ang. *erythrocyte sedimentation rate*) – odczyn Biernackiego

PER – (ang. *Period*) – geny period

PPAR – (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor*) – receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów

SCN – (ang. *supra-chiasmatic nucleus*) – jądro nadskrzyżowaniowe

STEMI – (ang. *ST Elevation Myocardial Infarction*) – zawał serca z uniesieniem odcinka ST

TBW – (ang. *total body water*) - całkowita zawartość wody

VLCD - (ang. *very low calorie diet*) – dieta bardzo nisko kaloryczna

WHR – (ang. *waist-hip ratio*) – stosunek obwodu talii do obwodu bioder

WC – (ang. *waist circumference*) – obwód talii

WHO – (ang. *World Health Organization*) – Światowa Organizacja Zdrowia

SPIS TABEL

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Klasyfikacja otyłości wg WHO..... | 27 |
| Tabela 2. Charakterystyka grupy badanej | 30 |
| Tabela 3. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów z badania. | 35 |
| Tabela 4. Metodologia oznaczania parametrów biochemicznych krwi. | 37 |
| Tabela 5. Stężenia kortyzolu w ślinie pobranej w czasie 72h badania..... | 43 |
| Tabela 6. Charakterystyka okołodobowego rytmu kortyzolu grupy badanej z 72h badania.. | 44 |
| Tabela 7. Charakterystyka okołodobowego rytmu kortyzolu grupy badanej, z podziałem według płci, z 72h badania..... | 46 |
| Tabela 8. Charakterystyka okołodobowego rytmu kortyzolu grupy badanej z podziałem według chronotypu, z 72h badania..... | 48 |
| Tabela 9. Dobowe stężenia kortyzolu grupy badanej z podziałem według płci | 50 |
| Tabela 10. Dobowe stężenia kortyzolu grupy badanej z podziałem według chronotypu | 52 |
| Tabela 11 Korelacja stężenia kortyzolu grupy badanej z wyjściową masą ciała, BMI, zawartością tkanki tłuszczowej oraz redukcją masy ciała..... | 54 |
| Tabela 12. Korelacja stężenia kortyzolu grupy badanej z wyjściowymi badaniami biochemicznymi krwi..... | 56 |
| Tabela 13. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej z podziałem wg płci | 59 |
| Tabela 14. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej wg płci..... | 61 |
| Tabela 15. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej z podziałem wg chronotypu..... | 62 |
| Tabela 16. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej (n=49) uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej z podziałem wg chronotypu..... | 64 |
| Tabela 17 Korelacje pomiędzy parametrami składu ciała a badaniami biochemicznymi krwi grupy badanej | 66 |
| Tabela 18. Porównanie stężenia kortyzolu pomiędzy długością snu (h) w dni powszednie oraz weekend grupy badanej..... | 71 |
| Tabela 19. Porównanie pomiędzy długością snu w dni powszednie, a składem ciała oraz parametrami biochemicznymi krwi..... | 73 |
| Tabela 20. Porównanie pomiędzy długością snu w weekendy a składem ciała oraz parametrami biochemicznymi krwi..... | 74 |

SPIS RYCIN

| | |
|--|----|
| Rycina 1. Interakcja pomiędzy SCN, zegarami obwodowymi a środowiskiem zewnętrznym (modyfikacja własna) | 15 |
| Rycina 2. Wpływ rytmów dobowych na metabolizm | 16 |
| Rycina 3. Wzór strukturalny kortyzolu. | 20 |
| Rycina 4. Oś podwzgórzowo – przysadkowo – nadnerczowa | 23 |
| Rycina 5. Okołodobowy rytm kortyzolu | 24 |
| Rycina 6. Procentowy udział poszczególnych chronotypów w grupie badanej | 31 |
| Rycina 7. Protokół badawczy. | 36 |
| Rycina 8. Stężenia kortyzolu podczas 72h badania | 41 |
| Rycina 9. Mediana stężeń kortyzolu podczas 72h badania | 41 |
| Rycina 10. Pole powierzchni pod krzywą dla stężeń kortyzolu w dniu I (przed postem) oraz dniu II (post)..... | 42 |
| Rycina 11 Długość snu..... | 70 |

WSTĘP

Wydzielanie kortyzolu charakteryzuje się zależnością czasową - ma rytm okołodobowy (circadian), pulsacyjny (ultradian) oraz okołoroczny (infradian). Rytm okołodobowy sekrecji kortyzolu charakteryzuje się maksymalnym stężeniem w godzinach porannych – pomiędzy godziną 06:00-08:00, a najniższe stężenie zauważa się wieczorem, między 23:00-04:00. Uważa się, iż jednodniowy post może być to przydatny sposób wspomagania redukcji masy ciała u osób otyłych, który ma także pozytywny wpływ na normalizację stężenia glukozy, insuliny, cholesterolu całkowitego, lipoprotein o małej gęstości (LDL), lipoprotein o dużej gęstości (HDL) oraz trójglicerydów. Sugeruje się, że głodówka powoduje stymulację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza. Aktywacja ta może być chwilowa, jednakże skutkuje podwyższonym stężeniem kortyzolu, co może mieć wpływ na podwzgórzowy ośrodek głodu i sytości, metabolizm, a także wspomagać redukcję masy ciała, co z kolei wspomaga normalizację parametrów biochemicznych związanych z metabolizmem. U osób otyłych dostrzega się zaburzony rytm dobowy kortyzolu, co może być zarówno przyczyną jak i skutkiem otyłości. Istnieją przesłanki, iż jednodniowy post może być pomocnym narzędziem w normalizacji okołodobowego rytmu kortyzolu.

1. Restrykcja dietetyczna

1.1. Definicja

Jednodniowy post jest jednym z rodzajów postu przerywanego (IF), zakłada on dzień postu (bez spożywania pokarmów i napojów zawierających jakąkolwiek wartość energetyczną), bądź zmniejszenie spożywania pokarmów do 25% ich zwykłego spożycia (około 500 kcal) oraz dni jedzenia, w których można spożywać żywność bez ograniczeń [1]. Wyniki badań dotyczące jednodniowego postu wskazują, że uczestnicy restrykcji z użyciem tego narzędzia tracą o 3-7% więcej masy ciała po 2-3 miesiącach postu co drugi dzień, w porównaniu do grupy kontrolnej. Obserwuje się także wpływ jednodniowego postu na poprawę profili lipidowych, ciśnienia krwi i wrażliwości na insulinę [2].

1.2. Wpływ restrykcji na otyłość

IF to alternatywna metoda zmniejszania spożycia energii, która zyskuje na znaczeniu jako strategia szybszej redukcji masy ciała i uzyskania korzyści zdrowotnych [1,3–6]. Badania sugerują, że stosowanie postu może zmniejszać ryzyko cukrzycy i chorób sercowo-naczyniowych (CVD), a także korzystnie wpływać na hormony biorące udział w regulacji głodu i sytości. Krótkoterminowe badania (trwające 2-12 tygodni) pokazują, iż głodówka powoduje zmniejszenie masy ciała o 3-8% u dorosłych z nadwagą oraz otyłością [7–14]. Kilka badań wykazało, że stosowanie naprzemiennego postu u osób otyłych przez okres od 4 do 12 tygodni może skutecznie zmniejszyć masę ciała i trzewną tkankę tłuszczową [15,16]. Jednodniowy post prowadzi do większej utraty masy ciała niż inne formy IF [13]. Oprócz wyżej wymienionych korzystnych rezultatów jednodniowego postu na poprawę parametrów składu ciała, odnotowano również zmniejszenie stężenia lipidów we krwi (zmniejszenie stężenia cholesterolu LDL i trójglicerydów, wzrost wielkości cząstek LDL) [14]. Chociaż dowody z badań klinicznych są ograniczone, wstępne ustalenia wskazują, że jednodniowy post może być skuteczną strategią terapeutyczną dla pacjentów otyłych, zapewniającą szybszą redukcję masy ciała, szczególnie spadek tkanki tłuszczowej, ze względnym zachowaniem beztłuszczowej masy ciała oraz poprawę parametrów biochemicznych krwi takich jak: stężenie glukozy, insuliny, cholesterolu LDL, HDL, oraz trójglicerydów [17]. W badaniu Cai i wsp. (2019) z udziałem 271 pacjentów z niealkoholowym stłuszczeniem wątroby dostrzeżono, iż w przypadku grupy stosującej naprzemiennie dni postu i karmienia masa ciała obniżyła się o 4.56 ± 0.41 kg, (średnia \pm SD) ($p < 0.001$) w ciągu 4 tygodni leczenia. Po 12-tygodniowej

interwencji w grupie stosującej naprzemiennie dni postu oraz karmienia doszło także do obniżenia stężenia trójglicerydów surowicy ($0.64 \pm 0.06 \text{ mmol/l}$; $25 \pm 1.9\%$; $p < 0.001$) [18]. Natomiast w badaniach Razavi i wsp. (2020) trwających 4 miesiące z udziałem 80 otyłych osób z zespołem metabolicznym porównano wpływ postu oraz diety redukcyjnej. Badacze dostrzegli, iż post co drugi dzień doprowadził do większego zmniejszenia masy ciała, BMI, masy tkanki tłuszczowej, WC (obwód talii) oraz WHR (stosunek obwodu talii do obwodu bioder) [19].

1.3. Wpływ restrykcji na stężenie kortyzolu

Głodówka ma wpływ na zwiększenie stężenia kortyzolu w surowicy poprzez aktywację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza [20]. Stwierdzono, że zwiększone stężenie kortyzolu może mieć wpływ na ośrodek głodu i sytości, metabolizm, a także wspomaga redukcję masy ciała [4,20,21]. Zauważono także, że dieta hipokaloryczna zastosowana u zwierząt doświadczanych rzutuje na funkcję genów zegarowych wątroby i mięśni szkieletowych oraz reguluje rytmy biologiczne różnych procesów metabolicznych. Ten sposób żywienia poprawia metabolizm, co z kolei powoduje wydłużenie życia zwierząt, a także spowolnienie procesu starzenia [22]. Uważa się, że dieta hipokaloryczna może kontrolować przemianę materii poprzez między innymi wpływ na rytmy biologiczne procesów metabolicznych [23]. Dostrzeżono także, iż podczas głodzenia kortyzol wpływa na drogi procesów metabolicznych w wątrobie, tkance tłuszczowej oraz mięśniach szkieletowych, a także oddziałuje na regulację ekspresji genów zegarowych, co z kolei wpływa na rytmy biologiczne procesów metabolicznych [24]. Otyłość wiąże się ze wzmożoną inaktywacją kortyzolu przez wątrobowy pierścień A 5-alfa i 5-beta-reduktazy, a także z upośledzoną regeneracją wątrobową kortyzolu z kortyzonu przez dehydrogenazy 11-beta-hydroksysteroidowej typu 1 (11HSD1) [4]. Ponadto zauważono, iż redukcja masy ciała związana z dietą o bardzo niskiej kaloryczności (VLCD) u otyłych osób normalizuje produkcję kortyzolu [4,25]. Z kolei, w badaniach van Rossum i wsp. (2000) z udziałem 54 otyłych kobiet ($\text{BMI } 32.0 \pm 4.5 \text{ kg/m}^2$), które przez 6 miesięcy stosowały dietę redukcyjną (deficyt $-250\text{-}350 \text{ kcal}$), nie stwierdzono wpływu restrykcji na dobowy rytm kortyzolu [26]. Do podobnych wniosków doszli Nonino-Borges i wsp. (2007), którzy u 12 otyłych pacjentów ($\text{BMI } > 40 \text{ kg/m}^2$) przez 18 dni stosowali dietę hipokaloryczną na poziomie 1000 kcal [27]. Natomiast w badaniu Parra i wsp. (2006) z udziałem 12 otyłych mężczyzn ($\text{BMI } 32.5\text{-}36.2 \text{ kg/m}^2$) zastosowano przez 10 tygodni dietę z redukcją energetyczności na poziomie 500 kcal . W tym badaniu dostrzeżono, że u otyłych mężczyzn

wydzielanie kortyzolu na czczo ($p=0.002$) i po posiłku ($p=0.014$) było niższe niż u osób szczupłych [28]. W innym badaniu z udziałem 33 młodych osób, które zostały podzielone według płci oraz stopnia otyłości, zastosowano 84 godzinny post. Próbkę krwi pobierano co 3 godziny i zauważono wzrost stężenia kortyzolu w odpowiedzi na głodówkę [29]. Do podobnych wniosków doszli Johnstone i wsp. (2004), którzy dostrzegli podczas postu znaczny wzrost stężenia kortyzolu o godzinie 09:30, ($p<0.001$) [4].

2. Rytm biologiczny

2.1. Definicja

Występowanie rytmów biologicznych jest wspólną cechą świata roślin, zwierząt i człowieka; dotyczy ekosystemów, populacji, osobników, ale także narządów, tkanek oraz komórek [30]. Uważa się, że są one zależne od czynników zewnętrznych (środowiskowych) i wewnętrznych (genetycznie uwarunkowanych) [31]. Są one określane jako powtarzające się zmiany zjawiska biologicznego, które zależą od pory doby, sezonu lub mniejszych odcinków czasu. Rytm biologiczny można podzielić ze względu na długość okresu oscylacji na:

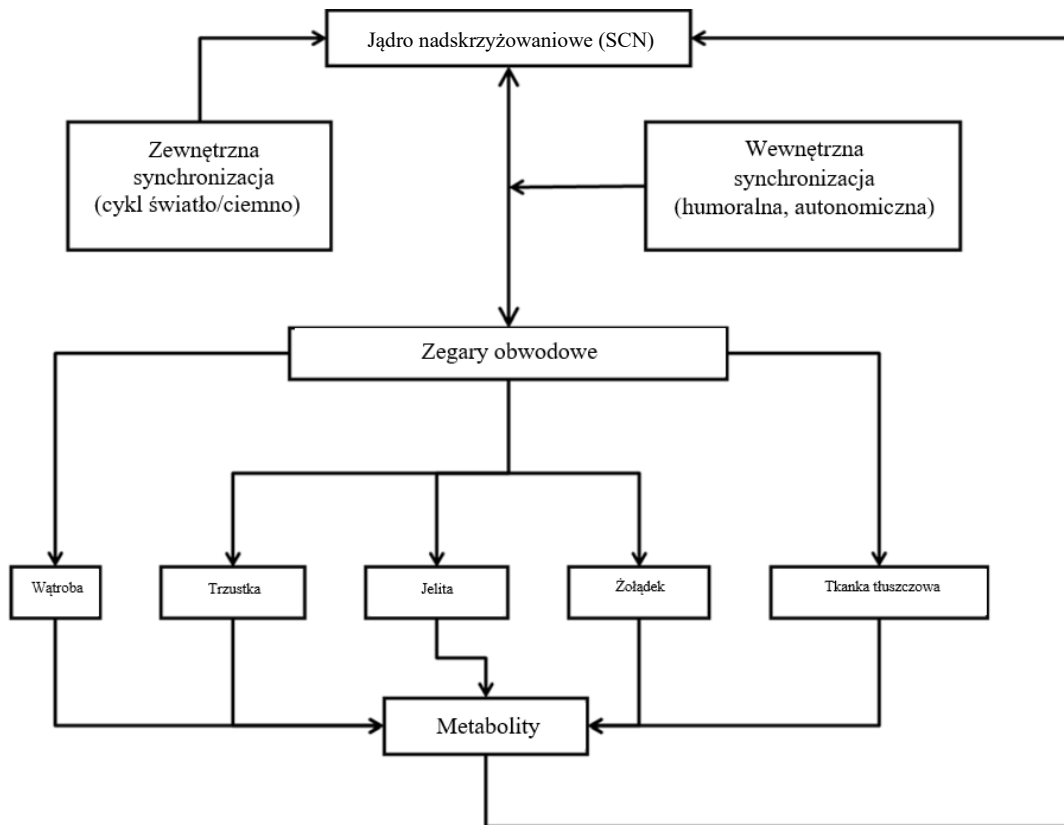
- Ultradian (okres krótszy niż 20 godzin),
- Circadian (okres 20 do 28 godzin),
- Infradian (okres dłuższy niż 28 godzin)

[32,33].

Mechanizm odpowiedzialny za generowanie i synchronizację rytmów biologicznych składa się z dwóch części – zegara centralnego oraz zegarów peryferyjnych (Ryc. 1). Centralny zegar biologiczny, nazywany również centralnym rozrusznikiem rytmów, znajduje się w podwzgórzu, w jądrze nadskrzyżowaniowym (SCN) zawierającym ~20,000 neuronów, jest on odpowiedzialny za generowanie oraz synchronizację rytmów biologicznych [34]. U ssaków, w tym i człowieka, podstawowe geny zegarowe to trzy geny period (*PER1*, *PER2*, *PER3*) oraz dwa kryptochromy (*CRY1* i *CRY2*). Geny te są cyklicznie aktywowane za pośrednictwem wzmacniającej sekwencji E-box, do której wiąże się heterodimer białek *CLOCK/BMAL1*, indukując ich transkrypcję. Gen *BMAL1* reguluje różnicowanie tkanki tłuszczowej i lipogenezę w dojrzałych adipocytach [35]. Głównym synchronizatorem centralnego zegara jest światło. SCN reguluje zegary peryferyjne głównie poprzez układ hormonalny (melatonina, kortyzol), a także układ współczulny [36].

Zegary obwodowe znajdują się w prawie każdej komórce ustroju, m.in. przewodzie pokarmowym, wątrobie, trzustce, mięśniach szkieletowych oraz tkance tłuszczowej, gdzie

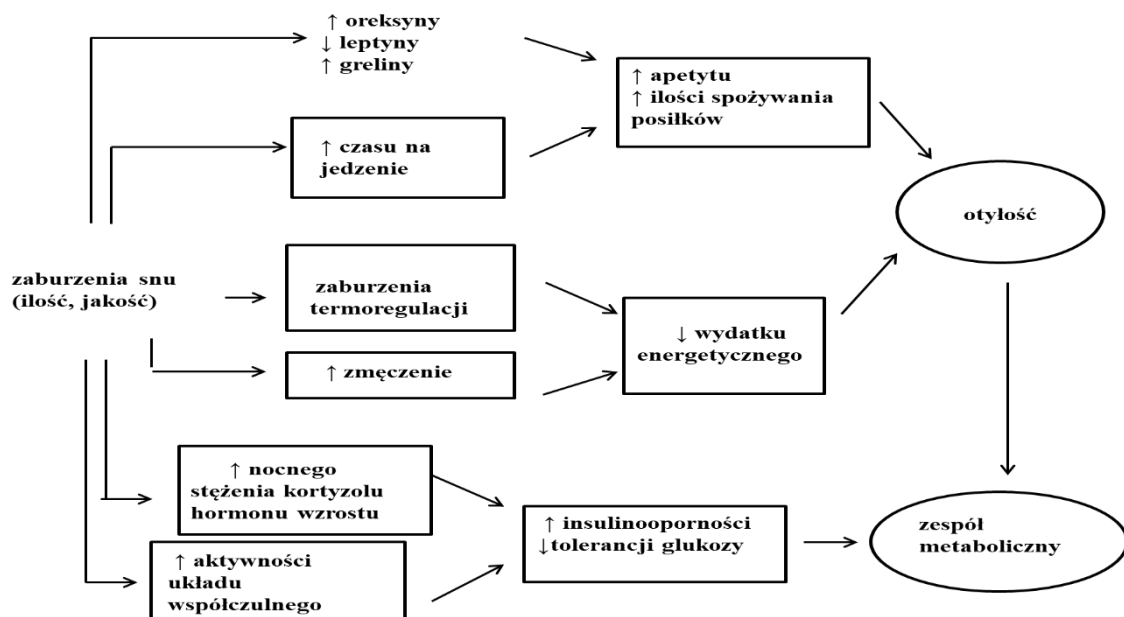
odpowiadają za utrzymanie rytmów okołodobowych oraz regulują ekspresję genów zależną od tkanek [37]. Są one synchronizowane przez zegar centralny, aby zapewnić czasową koordynację procesów fizjologicznych [38]. Mechanizmy synchronizacji implikują różne sygnały humoralne, w tym np. krążące czynniki takie jak glikokortykosterydy [39]. Ważną cechą tego układu jest regulacja zegara dobowego za pomocą pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego [40].



Rycina 1. Interakcja pomiędzy SCN, zegarami obwodowymi a środowiskiem zewnętrznym (modyfikacja własna) [41].

2.2. Wpływ rytmów biologicznych na metabolizm

Zegary okołodobowe są regulowane poprzez cykl światło-ciemność i cykl głodzenia-karmienia, generując około 24-godzinne oscylacje [42]. Okołodobowa ekspresja wydzielanych cząsteczek i składników sygnalizacyjnych przekazuje informacje o czasie między komórkami i tkankami [43]. Takie okołodobowe rytmy wewnątrzkomórkowe i międzykomórkowe optymalizują przebieg procesów fizjologicznych, zarówno poprzez zarządzanie zużyciem energii, jak i przez uporządkowanie procesów w czasie [44]. System zegarów i ich oscylacji wspólnie moduluje szeroki wachlarz dróg metabolicznych, między innymi reguluje produkcję i wydzielanie glikokortykosterydów, ma wpływ na działanie 5'AMP kinazy aktywowanej (AMPK), na szybkość etapów syntezy kwasów tłuszczowych i cholesterolu oraz moduluje glukoneogenezę [45–49]. W ich efekcie obserwuje się, że szereg procesów metabolicznych, – w tym wrażliwość na insulinę, wydzielanie insuliny, synteza cholesterolu, utlenianie tłuszczu i wydatek energetyczny przebiegają rytmicznie w ciągu 24 godzin [44,50,51] (Ryc. 2).



Rycina 2. Wpływ rytmów dobowych na metabolizm [52].

W kilkunastu różnych badaniach, z użyciem testu doustnej tolerancji glukozy stwierdzono istnienie dobowego rytmu glukozy. Stężenie glukozy na czczo osiąga szczyt w godzinach rannych, a tolerancja glukozy zmniejsza się w godzinach późniejszych [53–55]. Te dobowe zmiany stężenia glukozy można częściowo powiązać z dobowymi rytмами odpowiedzi komórek β trzustki na wydzielanie insuliny i klirensu insuliny. Doniesienia literaturowe dotyczące istnienia dobowego rytmu insuliny na czczo są niejednoznaczne [56–58]. Odpowiedź wydzielnicza trzustki na produkcję insuliny zmienia się w ciągu dnia. Reakcja komórek β – mierzona na podstawie testu obciążenia glukozą, mieszanego posiłku lub dożylnego testu tolbutamidu – jest wyższa rano (g. 08:00) niż w innych porach dnia [57,59]. Wydaje się jednak, że wskaźnik wydzielania insuliny i całkowita ilość wydzielanej insuliny w odpowiedzi na posiłek osiąga najwyższe stężenie w czasie godzin poranno-popołudniowych [59–63]. W badaniu z użyciem 68-godzinnych klamr euglikemicznych i hiperglikemicznych stwierdzono, że wskaźnik wydzielania insuliny osiągnął najwyższe stężenie w godzinach popołudniowych (g. 12:00-18:00) i był najniższy w nocy, gdy uczestnicy spali [62]. Podobnie w badaniach z dożylnymi testami tolerancji glukozy i mieszanymi testami posiłków z wykorzystaniem analizy dekonwolucji peptydu C wykazano, że całkowite wydzielanie insuliny (AUC wskaźnika wydzielania insuliny) jest 16–51% większe po południu lub wczesnym wieczorem niż z rana. Jest to spowodowane przedłużonym okresem wydzielania, nawet gdy nie ma dobowego rytmu w szczytowej wartości wskaźnika wydzielania [59–61,63]. W badaniu z udziałem 20 zdrowych ochotników z prawidłowym stężeniem glukozy na czczo (4.8 ± 0.1 mmol/l) i hemoglobiny glikowanej (HbA1c) ($5.2 \pm 0.0\%$) dostrzeżono, iż wydzielanie insuliny było niższe ($p < 0.01$) o g. 09:00 w porównaniu do g. 13:00 [59]. Klirens insuliny wykazuje również zmienność okołodobową, stwierdza się, że wątrobowe uwalnianie insuliny jest niższe rano niż wieczorem [59]. U pacjentów otyłych i chorych na cukrzycę wyżej opisane rytmy są zniesione lub opóźnione w fazie, co sugeruje, że może być to konsekwencją chorób metabolicznych [60,64]. Lipidy również wykazują rytmikę okołodobową z akrofazami osiągającymi maksimum stężenia rano lub około południa [65]. Rytmy te są regulowane między innymi zmianami w syntezie, transporcie oraz w rozkładzie lipidów [66,67]. Stwierdzono szeroką międzyosobniczą zmienność rytmów okołodobowych lipidów, co sugeruje, że mogą istnieć wyraźne okołodobowe fenotypy metaboliczne [42]. Zauważa się, iż układ okołodobowy reguluje 24-godzinny, po posiłkowy wydatek energetyczny, a także subiektywny apetyt [68–70]. Oprócz dowodów na wpływ rytmów okołodobowych na metabolizm, dane literaturowe coraz częściej sugerują, że zakłócenie układu okołodobowego zwiększa ryzyko chorób metabolicznych [50,71–73].

2.3. Rytmu biologiczne a otyłość

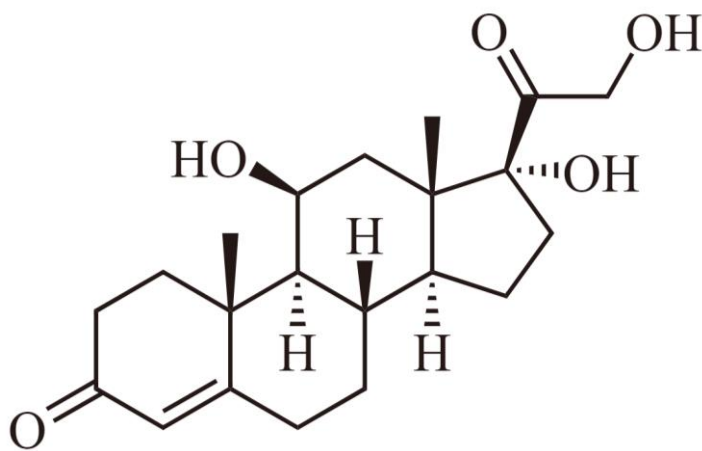
Zegar centralny koordynuje procesy komórkowe, fizjologiczne oraz synchronizuje je z rytмами okołodobowymi [74]. Również adipocytokiny wykazują rytmikę okołodobową [75]. Geny zegarowe regulują tę rytmikę, a dysfunkcja genów prowadzi do osłabienia rytmicznej ekspresji np. adiponektyny, rezystyny oraz wisfatyny, a w konsekwencji do rozwoju otyłości [76]. Dostępność pokarmu promuje bodźce związane z przyjmowaniem pokarmu. Spożywanie pokarmu jest synchronizatorem rytmu okołodobowego, szczególnie u zwierząt [77]. Kwasy tłuszczowe lub ich metabolity mogą modulować aktywność komórek nerwowych przez neurony, które wykrywają składniki odżywcze zaangażowane w regulację homeostazy energii i glukozy dla mózgu [78]. W doświadczalnym modelu zwierzęcym, harmonogram rozkładu posiłków na trzy w ciągu doby, wskazuje, że istnieje ścisły związek pomiędzy stężeniem insuliny w osoczu a dostępnością pokarmu [79]. U ludzi brak synchronizacji między zegarem centralnym i zegarami obwodowymi poprzez np. zmianę czasu przyjmowania pokarmu i składu diety może prowadzić do desynchronizacji rytmów i rozwoju zaburzeń metabolicznych, w tym otyłości i cukrzycy typu 2 [80]. Zaburzenia metaboliczne mogą być związane z nieprawidłowościami rytmów okołodobowych zarówno na poziomie centralnym (SCN), jak i obwodowym, co może prowadzić do otyłości u myszy [81]. Zauważono, że ekspresja genów zegarowych *CLOCK* wzrasta wraz z otyłością wywołaną dietą wysokotłuszczową. Receptor aktywowany przez proliferatory peroksydomów (PPAR) zwiększa poziom transkrypcji w mózgu i mięśniach podobnych do *ARNT 1 (BMAL1)* u otyłych osób. W konsekwencji zaburzenie genów zegarowych powoduje dyslipidemię, insulinooporność i otyłość [82]. Również pora posiłku może mieć wpływ na synchronizację procesów trawienia oraz wchłaniania, a regulowanych przez różne narządy (żołądek, jelita, wątroba, trzustka) i tkanki (tkanka tłuszczowa) [83]. Badania przeprowadzone na eksperymentalnych modelach zwierzęcych sugerują, że przyjmowanie pokarmu jest głównym zewnętrznym synchronizatorem zegarów peryferyjnych [84]. Pora posiłku może decydować o zwiększeniu zawartości tkanki tłuszczowej oraz wpływać na skuteczność zabiegów odchudzających. Okazało się, że zjedzenie głównego posiłku po g. 15:00 korelowało z trudnościami w redukcji masy ciała u osób otyłych zarówno u kobiet jak i mężczyzn [85]. Ponadto, oprócz pory zjedzenia posiłku, ważnym czynnikiem wydaje się być rozkład energetyczności na poszczególne posiłki. Jakubowicz i wsp. (2013) wykazali, że u osób przydzielonych do „małego” śniadania i „dużej” kolacji zanotowano mniejszy spadek masy ciała niż w grupie przypisanej do schematu opierającego się na „dużym” śniadaniu i „małej”

kolacji [86]. Inne badanie z udziałem 420 otyłych pacjentów wykazało, iż osoby jedzące późny obiad (po g. 15:00) osiągnęły mniejszą redukcję masy ciała niż osoby jedzące wczesny lunch (przed g. 15:00). Porównywane grupy badane charakteryzowały się podobnym wiekiem, stężeniem hormonów apetytu, takim samym bilansem energetycznym oraz czasem snu i rozkładem makroskładników w jadłospisie [87]. Ponadto zauważono wpływ chronotypu na czas przyjmowania posiłków, a także na stan odżywienia [88]. Przez chronotyp rozumie się wzór rytmu okołodobowego, który pozwala określić najbardziej optymalną porę aktywności i odpoczynku. Dzieli się on na typ poranny („skowronek”), wieczorny („sowa”) oraz mieszany [89]. Stwierdzono, że osoby preferujące późne posiłki byli w większości chronotypami wieczornymi. Badani o tym chronotypie późno chodzili spać, spali do późniejszej godziny oraz najlepiej radzili sobie fizycznie a także psychicznie późnym popołudniem lub wieczorem [88]. Wykazano, że „sowy” częściej posiadają polimorfizm rs4580704 genu *CLOCK* [87]. W randomizowanym krzyżowym badaniu z udziałem 32 młodych kobiet, w którym wolontariuszki otrzymywały wystandaryzowane posiłki o różnej porze dnia: wczesny lunch o g. 13:00 i późny lunch o g. 16:30, zauważono, iż późne jedzenie w porównaniu z wczesnym jedzeniem zmniejsza tolerancję glukozy, spoczynkowy wydatek energetyczny i utlenianie węglowodanów. W tym badaniu wykazano również, że profil rytmu okołodobowego wydzielania kortyzolu uległ obniżeniu u osób spożywających późny lunch. Podobne zmiany rytmiki stężenia kortyzolu opisuje się w warunkach ostrego stresu [90]. Również, zaobserwowano że, późna pora spożywania posiłków wpływa na rytm okołodobowy temperatury ciała, który jest podobny do profilu rytmu temperatury, jaki występuje u osób z nadwagą czy otyłością [91].

3. Kortyzol

3.1. Definicja

Kortyzol (Ryc. 3) należy do grupy hormonów steroidowych – glikokortykosterydów – które są wydzielane przez warstwę pasmową kory nadnerczy, a w niewielkiej ilości także przez część siatkową kory nadnerczy. We krwi znajduje się on w 90-95% w formie związanej z białkami osocza – alfa-globuliną tzw. transkortyną, a w bardzo małym stopniu z albuminami, natomiast wolna frakcja hormonu wynosi ok. 10%. Związany kortyzol jest białkiem, które jest nieczynne biologicznie oraz stanowi rezerwuar czynnego, wolnego hormonu [92].



Rycina 3. Wzór strukturalny kortyzolu [93].

3.2. Rola kortyzolu

Kortyzol odgrywa ważną rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu. Hormon ten bierze udział w regulacji funkcjonowania wielu narządów oraz metabolizmu węglowodanów, lipidów i białek. Stymuluje glukoneogenezę w wątrobie i hamuje zużycie glukozy w tkankach obwodowych. Reguluje także gospodarkę elektrolitów oraz minerałów, oddziałuje na zwiększenie resorpcji zwrotnej sodu, a także wydzielanie potasu z moczem, obniża wchłanianie fosforu oraz wapnia [94]. Opiswany hormon działa proteolitycznie, wpływa na wychwytywanie aminokwasów w wątrobie, co powoduje możliwość wykorzystania ich w glukoneogenezie. Glikokortykosterydy działają pobudzająco na enzymatyczny proces glukoneogenezy poprzez stymulację kraboksykinazy fosfoenolopironianowej oraz glukozy-6-fosfatazy. Proces ten powoduje zwiększenie wrażliwości wątroby na glukagon przez zwiększenie ekspresji receptora glukagonu (GCGR) oraz zwiększenie uwalniania substratów

glukoneogenezy z tkanek obwodowych, szczególnie tkanki mięśniowej [95]. Kortyzol wpływa także na tkankę tłuszczową, a jego działanie ma charakter kataboliczny, nasila lipolizę, co z kolei wpływa na uwalnianie glicerolu oraz wolnych kwasów tłuszczowych, a to prowadzi do zwiększonego ich poziomu w osoczu. Efekt ten może być spowodowany przez bezpośrednie działanie kortyzolu bądź jako wynik zmniejszonego wychwytu glukozy przez tkankę tłuszczową. Dostrzeżono także wpływ kortyzolu na otwarcie kanału wodnego akwaporyny 7(AQP7) w adipocytach, na wbudowanie go w ich błonę oraz na aktywację transkrypcji oraz translacji podjednostek tego kanału. Powoduje to zwiększenie ryzyka rozwoju zespołu metabolicznego poprzez zaburzenie metabolizmu lipidów [96,97]. Ponadto kortyzol wpływa także na pracę układu sercowo-naczyniowego, ośrodkowy układ nerwowy, metabolizm kości oraz regulację gospodarki wodno-elektrolitowej [98].

3.3. Oś podwzgórze-przysadka-nadnercza

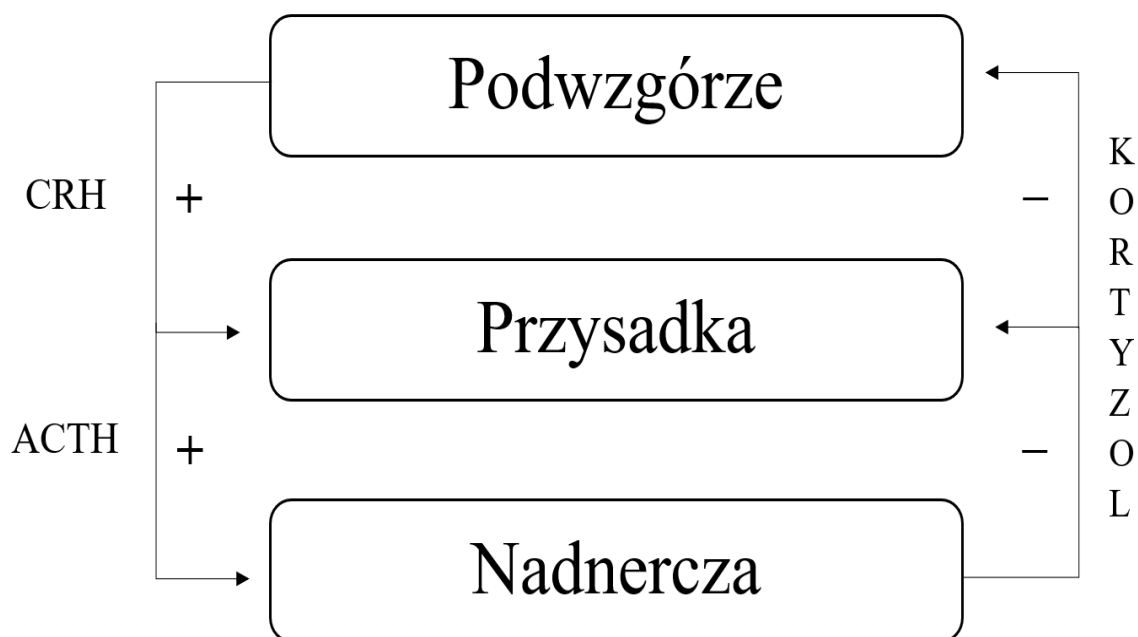
Nadmierna aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) może odgrywać rolę w patogenezie chorób współistniejących z otyłością [99]. Dostrzeżono również, iż wysokie oraz długotrwałe, (w odróżnieniu od krótkotrwałego wzrostu stężenia podczas jednodniowej głodówki), stężenie kortyzolu (w tym również pod wpływem stresu) sprzyja zwiększonemu spożyciu wysokotłuszczowych przekąsek oraz słodyczy [100]. Nadreaktywność osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej koreluje z nadmiernym przyjmowaniem pokarmu oraz odpowiada za jedzenie emocjonalne [101]. Dodatkowo zauważono, że nadmierne stężenie glikokortykosterydów ogranicza działanie hormonu sytości – leptyny [102]. Wydaje się, że największy wpływ na podwyższone stężenie kortyzolu ma tkanka tłuszczowa trzewna [103,104]. Ilość trzewnej tkanki tłuszczowej dodatnio koreluje ze zwiększoną reaktywnością osi HPA szczególnie rano oraz w reakcji na ostry stres [104]. Wydaje się również, iż otyłość jest związana z nadreaktywną osią podwzgórze-przysadka-nadnercza [92]. Ponadto, u ludzi, zaobserwowano, że glikokortykosterydy mogą wpływać na ilość przyjmowanego pokarmu, wydatkowanie energii oraz zwiększają spożycie żywności bogatej w tłuszcz i cukier. W przypadku długotrwałej hiperkortyzolemii u ludzi dostrzega się zwiększony apetyt, co z kolei prowadzi do rozwoju otyłości brzusznej, insulinooporności, hiperglikemii, hiperlipidemii oraz hipertrójglicerydemii [25].

Kortyzol ma działanie oreksygeniczne, czyli stymuluje apetyt oraz zwiększa spożycie pokarmów o wysokiej smakowitości, a to sprzyja wzrostowi masy ciała [105]. Dostrzeżono również, iż podwyższone stężenie kortyzolu prowadzi do aktywacji lipazy lipoproteinowej

występującej między innymi w adipocytach tkanki tłuszczowej, co sprzyja gromadzeniu się tkanki tłuszczowej w obrębie brzucha [103].

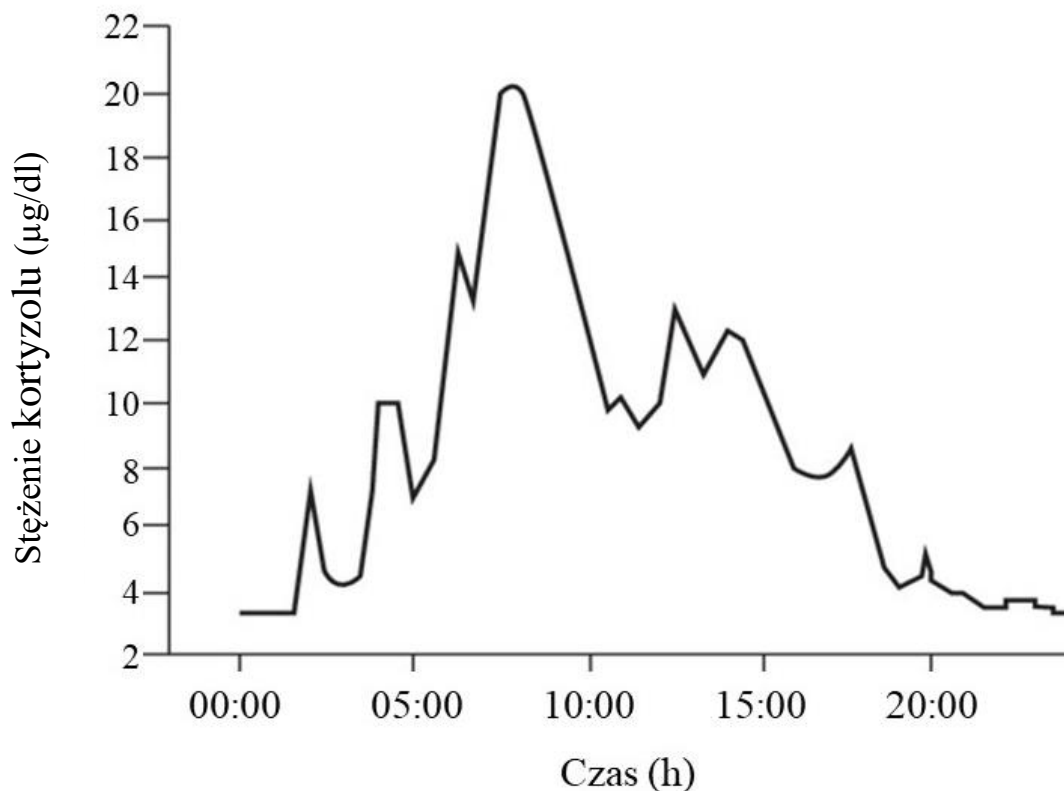
3.4. Rytm okołodobowy

Kortyzol wydzielany jest pod wpływem hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) zgodnie z rytmem biologicznymi, na zasadzie sprzężenia zwrotnego ujemnego [94]. Rytm okołodobowy wydzielania kortyzolu podlega regulacji przez centralny układ tzw. zegar biologiczny zlokalizowany w jądrze nadskrzyżowaniowym podwzgórza, a profil okołodobowy jego wydzielania zależy od pory snu i czuwania [106]. Adrenokortykotropina jest to hormon polipeptydowy, który jest wydzielany przez przednią część przysadki mózgowej, a jej sekrecja jest regulowana przez podwzgórzową kortykoliberynę (CRH). Regulacja ta jest określana jako oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa oraz odbywa się na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [107]. Proces wydzielania kortyzolu jest złożony, zaczyna się on w podwzgórzu, gdzie uwalniana jest kortykoliberyna, która stymuluje komórki kortykotropowe przedniego płata przysadki do sekrecji kortykotropiny, a ta pobudza korę nadnerczy do sekrecji glikokortykosterydów i hormonów płciowych. Fizjologiczne wydzielanie CRH jest zgodne z rytmem biologicznym oraz wpływa na pobudzenie kory nadnerczy do syntezy oraz sekrecji glikokortykosterydów, w tym kortyzolu, androgenów i w mniejszym stopniu mineralokortykosteroidów. Wydzielone hormony hamują zwrotnie przysadkę oraz podwzgórze co wpływa na zmniejszenie wydzielania zarówno kortykoliberyny jak i kortykotropiny [108] (Ryc. 4).



Rycina 4. Oś podwzgorzowo – przysadkowo – nadnerczowa (praca własna).

Około 90% kortyzolu występuje w osoczu krwi w postaci związanej, a jego biologiczny okres połowicznego rozpadu wynosi 1.0-1.5 godziny. Wydzielanie kortyzolu charakteryzuje się zależnością czasową – ma rytm okołodobowy oraz pulsacyjny [109]. W przypadku dobowej sekrecji kortyzolu szczyt stężenia odnotowuje się w godzinach porannych – pomiędzy g. 06:00-08:00, a najniższe stężenie zauważa się wieczorem, między g. 23:00-04:00 [110,111] (Ryc. 5).



Rycina 5. Okołodobowy rytm kortyzolu (modyfikacja własna) [112].

Natomiast wydzielanie pulsacyjne odbywa się z częstością 1-2 razy na godzinę [109]. Pulsacja jest fizjologicznym sposobem szybkiego zwiększania stężenia hormonów i wysyłania wyraźnych informacji sygnalizacyjnych do komórek docelowych [113]. Uważa się, że rytm pulsacyjny jest niezbędny do regulacji reakcji poznawczych [114]. Pozwala on na szybkie zmiany stężenia hormonów a także większą kontrolę nad organizmem [115]. Czas i amplitudy pulsów kortyzolu zmieniają się w ciągu dnia, a zmiany te są spowodowane rytmem okołodobowym leżącym u podstaw uwalniania kortyzolu w okresach 12- i 24-godzinnych [116]. W ciągu 24 godzin zauważa się między 15 a 22 pulsów wydzielniczych kortyzolu [117,118].

Wydzielanie pulsacyjne hormonu leży u podstaw wielu procesów fizjologicznych, np.:

- oscylacje pulsacyjne kortyzolu mają decydujący wpływ na ekspresję genu komórki docelowej i funkcję receptora dla glikokortykosterydów [119,120];
- wybrane choroby psychiczne i metaboliczne są związane ze zmianami pulsacji kortyzolu [121];

- ciągły wlew kortykosteronu w odróżnieniu od wlewu pulsacyjnego, powoduje zauważalnie zmniejszoną odpowiedź ACTH na stres [122].

Stwierdzono, że zarówno pulsacyjne jak i stałe uwalnianie CRH z podwzgórza powoduje pulsacyjne uwalnianie kortyzolu [120]. Stałe stężenie ACTH nie wpływa na pulsacje kortyzolu [123]. Natomiast pulsacyjne wydzielanie ACTH powoduje pulsacyjne uwalnianie kortyzolu [123].

Dodatkowym możliwym czynnikiem wpływającym na okołoroczny rytm wydzielania kortyzolu jest pora roku tzw. sezonowość zależąca głównie od dostępności światła, które jest najważniejszym regulatorem zegara biologicznego SCN. Zaobserwowano, iż stężenie kortyzolu było najwyższe w okresie jesienno-zimowym w porównaniu z wiosną i latem, a różnice te nie były związane z indywidualnym stylem życia osoby badanej [124,125].

Rytm sekrecji kortyzolu może być zaburzony przez stres fizyczny bądź psychiczny, pracę zmianową, a także problemy zdrowotne. Wykazano również, że zjawisko długu czasowego tzw. *jet lag* i deprywacja snu zwiększają stężenie kortyzolu [126,127]. W momencie pojawienia się stresora dochodzi do zwiększenia wydzielania kortyzolu poprzez wzrost podwzgórzowego CRH oraz przysadkowego ACTH [128]. Jednocześnie stwierdzono, iż nieprawidłowy dobowy rytm wydzielania kortyzolu może wskazywać na problemy zdrowotne [129]. Wykazano, że nadmierna masa tkanki tłuszczowej, zwłaszcza otyłość centralna, cukrzyca typu drugiego, podwyższone stężenia cholesterolu całkowitego, LDL i trójglicerydów, korelują ze zwiększonym porannym wzrostem stężenia kortyzolu oraz zwiększoną jego odpowiedzią na reakcję stresową [130,131]. Rosmond i wsp. (1998) badali dobowy profil kortyzolu u 284 otyłych mężczyzn i zaobserwowali u tych osób dwa typy wydzielania kortyzolu. W pierwszym typie występowało wysokie stężenie poranne i niskie stężenie kortyzolu wieczorem oraz wysoka zmienność stężeń, natomiast drugi typ charakteryzował się niskim stężeniem porannym i niską zmiennością stężeń. Drugi typ wydzielania dominował w grupie osób z problemami endokrynologicznymi, zespołem metabolicznym oraz otyłością centralną [132].

3.5 Metody badań kortyzolu

Najczęściej wykorzystywanym materiałem do badania stężenia całkowitego kortyzolu jest surowica lub osocze. Próbkę krwi pobierane są do próbek z antykoagulantem (heparyną bądź też kwasem edetynowym (EDTA)). Czas pobrania jest bardzo istotny, a za najbardziej wiarygodny wynik uznaje się pobranie o g. 08:00 rano. Wówczas jego wartości referencyjne wynoszą od 140 do 560 nmol/l kortyzolu całkowitego, a 12-50 nmol/l w przypadku wolnego kortyzolu. Innym materiałem badawczym do oznaczenia stężenia wolnego kortyzolu może być ślina, a jej pobranie jest bezbolesne oraz nieinwazyjne. Najczęściej jest to wykorzystywane do oceny dobowego rytmu kortyzolu, które wymaga częstego pobierania próbek w ciągu doby [133].

4. Otyłość

4.1. Definicja

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w 2016 roku ponad 1,9 miliarda osób powyżej 18 roku życia miało nadwagę, z czego ponad 650 milionów było otyłych, z kolei w 2019 ponad 38 milionów dzieci miało otyłość bądź nadwagę. W 1985 roku WHO uznało otyłość za chorobę przewlekłą [134]. Jest to stan, który charakteryzuje się zwiększeniem masy ciała poprzez wzrost ilości tkanki tłuszczowej spowodowany hipertrofią lub/i hiperplazją adipocytów, powyżej 25% u mężczyzn i powyżej 30% u kobiet [135]. Zarówno nadwaga jak i otyłość są diagnozowane za pomocą wskaźnika BMI, który jest ilorazem masy ciała wyrażonej w kilogramach przez wzrost wyrażony w metrach do kwadratu [136]. Poniższa tabela ukazująca klasyfikację BMI, a także ryzyko rozwoju chorób towarzyszących otyłości określone przez WHO w 1997 roku (Tab. 1).

Tabela 1. Klasyfikacja otyłości wg WHO [137].

| BMI (kg/m²) | Klasyfikacja WHO | Ryzyko chorób towarzyszących otyłości |
|-------------------------------|---|---|
| <18.5 | Niedobór masy ciała | Minimalne, ale zwiększone ryzyko innych problemów zdrowotnych |
| 18.5-24.99 | Norma | Minimalne |
| 25-29.99 | Nadwaga | Średnie |
| 30-34.99 | Otyłość I stopnia | Wysokie |
| 35-39.99 | Otyłość II stopnia | Bardzo wysokie |
| >40 | Otyłość III stopnia; otyłość chorobliwa | Ekstremalnie wysoki poziom |

4.2. Otyłość – konsekwencje zdrowotne

Otyłość zwiększa ryzyko wystąpienia chorób oraz śmiertelności [138]. Liczne badania epidemiologiczne dowiodły, że wraz ze wzrostem wskaźnika BMI wzrasta ryzyko zgonów [139]. Umieralność związana z otyłością wynika przede wszystkim ze znacznie częstszego występowania chorób sercowo-naczyniowych: nadciśnienia tętniczego, niewydolności serca, choroby niedokrwiennej serca, serca płucnego, zatorowości płucnej, udarów mózgu i żylaków kończyn dolnych [140]. Inne istotne dla zdrowia i życia powikłania towarzyszące otyłości to cukrzyca i nowotwory [141]. Zauważa się, iż powikłania metaboliczne towarzyszą głównie otyłości brzusznej [142]. Według Światowej Organizacji Zdrowia nadwaga i otyłość odpowiedzialne są za 80% przypadków cukrzycy typu 2, 35% przypadków choroby niedokrwiennej serca i 55% przypadków nadciśnienia na świecie [134]. Inne konsekwencje zdrowotne otyłości to choroby zwyrodnieniowe stawów, choroby przewodu pokarmowego, w tym kamica żółciowa, stłuszczenie oraz marskość wątroby, a także zespół obturacyjnego bezdechu nocnego, zaburzenia funkcjonowania układu rozrodczego, zmiany skórne, powikłania urologiczne – nefrologiczne i psychosocjologiczne [143,144]. W opublikowanym w 2009 r. badaniu *Prospective Studies Collaboration* obejmującym 57 badań prospektywnych, w których uczestniczyło 900 000 osób stwierdzono, iż najniższe ryzyko zgonów występowało przy wskaźniku BMI 22.5-25.0kg/m². Zwiększenie BMI o 5 kg/m² wiązało się ze wzrostem zgonów ogółem o 30%, a zgonów z powodu chorób sercowo-naczyniowych o 40% oraz

cukrzycy, chorób nerek i wątroby o 60-120%, a także zgonów nowotworowych o 10%. U otyłych ze wskaźnikiem BMI wynoszącym 30-35 kg/m² przeżycie było o 2-4 lata krótsze, a przy wskaźniku 40-45 kg/m² o 8-10 lat krótsze w porównaniu do osób ze wskaźnikiem 22.5-25.0 kg/m² [145].

Otyłość wynika przede wszystkim z nadmiernej podaży energii, która przekracza zapotrzebowanie przez organizm. Jednak, inne elementy "stylu życia" takie jak: długość snu, nawyki żywieniowe, aktywność fizyczna mogą mieć wpływ na rozwój otyłości [146]. Badania kliniczne dowodzą, iż redukcja masy ciała przynosi istotne korzyści zdrowotne, a wśród nich poprawę wskaźników metabolicznych takich jak zaburzenia lipidowe, zaburzenia gospodarki węglowodanowej, czy podwyższone ciśnienie krwi [140,147,148]. Wykazano, iż w wyniku obniżenia masy ciała o 10 kg zmniejsza się stężenie cholesterolu całkowitego o 10%, cholesterolu LDL o 15%, trójglicerydów o 30% i zwiększa się stężenie cholesterolu HDL o 8%, a także obniża się stężenie glukozy o 30-50%, hemoglobiny glikowanej o 15% i ciśnienie tętnicze krwi o 10-20 mmHg. Wiąże się to również ze spadkiem liczby zgonów ogółem o 20-25%, a zgonów zależnych od cukrzycy o 30-40% i zgonów zależnych od nowotworów o 40-50%, a także zmniejszeniem ryzyka rozwoju cukrzycy o 50% [147]. Obecne zalecenia dotyczące dietetycznej terapii otyłości zakładają deficyt energetyczny na poziomie 20-30% całkowitego zapotrzebowania energetycznego [149]. Takie podejście zazwyczaj powoduje niewielką utratę masy ciała (5–10%) w okresie 6 miesięcy [150].

ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

1. Określenie, w jakim stopniu jednodniowy post (jednodniowa dieta nisko kaloryczna) modyfikuje okołodobowy rytm kortyzolu u osób otyłych (BMI >30 kg/m²).
2. Ocena czy indywidualny chronotyp ma wpływ na okołodobowy rytm kortyzolu u osób otyłych (BMI >30 kg/m²).

MATERIAŁY I METODYKA

1. Charakterystyka grupy badanej

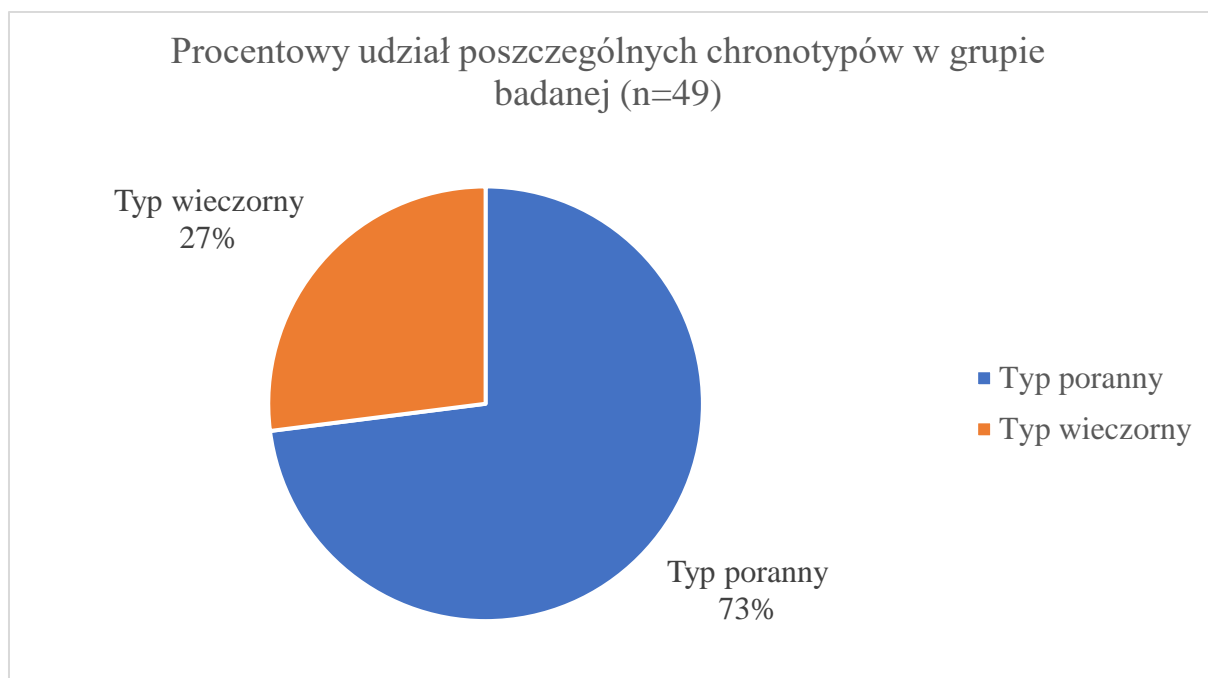
Grupę badaną stanowi 49 osób z otyłością prostą (BMI >30 kg/m²), w tym 25 kobiet i 24 mężczyzn, które zostały poddane 3 tygodniowej hospitalizacji oraz leczeniu dietetycznemu, a także zastosowano aktywność fizyczną dostosowaną do poziomu wydolności fizycznej każdego pacjenta (Tab. 2).

Tabela 2. Charakterystyka grupy badanej. Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto p<0.05; Mann-Whitney test, Test chi².

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8.

| Parametry badane | Wszyscy badani n=49 | Kobiety n=25 | Mężczyźni n=24 | P K vs M |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------|
| Wiek, lata | 47 (26-70) | 45 (26-68) | 49.5 (29-70) | 0.3734 |
| Otyłość olbrzymia BMI >40, n | 29 | 13 | 16 | 0.2952 |
| Nieprawidłowa glikemia na czczo, n | 20 | 11 | 15 | 0.1931 |
| Cukrzyca typu 2, n | 6 | 4 | 2 | 0.4087 |
| Insulinooporność, n | 26 | 14 | 11 | 0.1155 |
| Dyslipidemia, n | 14 | 7 | 7 | 0.9280 |
| Masa ciała, kg | 130.2 (89.2-189.4) | 112.5 (89.2-189.4) | 142.0 (103.3-189.2) | 0.0013 |
| Redukcja masy ciała, kg | 5.3 (0.4-12.5) | 5.0 (0.8-12.5) | 5.75 (0.4-11.8) | 0.3019 |
| BMI, kg/m ² | 41.5(32.2-67.1) | 41.6 (32.2-67.1) | 41.5 (32.7-57.5) | 0.7336 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 41.6 (32.6-53.2) | 43.4 (33.7-53.2) | 40.0 (32.6-48.8) | 0.0076 |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 51.7 (31.9-100.2) | 48.9 (31.9-100.2) | 55.2 (34.4-88.7) | 0.8729 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 18.5 (6-40) | 13.5 (6-25) | 24.0 (17-40) | <0.0001 |
| Masa mięśniowa, kg | 70.3 (31.7-95.6) | 59.4 (48.9-84.7) | 80.3 (31.7-95.6) | <0.0001 |
| Nawodnienie (TBW), % | 41.3 (33.4-48.6) | 43.5 (33.7-53.2) | 40.0 (32.6-48.8) | <0.0001 |
| Glukoza, mg/dl | 103.0 (84-313) | 103.0 (86-313) | 107.5 (84-247) | 0.0473 |
| Insulina, mU/ml | 18.0 (5.8-88.8) | 16.9 (5.8-58.3) | 23.3 (7.3-88.8) | 0.1696 |
| HOMA-IR | 5.4 (1.5-49.3) | 4.1 (1.5-26.5) | 5.8 (1.5-49.3) | 0.0192 |
| HbA1c, % | 6.4 (5-27.4) | 5.7 (5-13) | 6.1 (5.2-27.4) | 0.1504 |
| Cholesterol całkowity, mg/dl | 180.5 (106-274) | 178.5 (112-267) | 182.0 (106-274) | 0.7984 |
| LDL, mg/dl | 106.8 (37.6-204) | 103.5 (56.2-142.3) | 114.9 (37.6-204) | 0.2343 |
| HDL, mg/dl | 45.0 (31-100) | 49.0 (32-100) | 44.0 (31-65) | 0.0146 |
| Trójglicerydy, mg/dl | 135.0 (50-454) | 134.0 (50-454) | 137.0 (77-259) | 0.5039 |
| CRP, mg/l | 6.3 (0.4-16.2) | 7.9 (0.4-16.2) | 4.0 (0.6-11.5) | 0.0152 |
| Chronotyp Skowronek, n | 36 | 20 | 16 | 0.5343 |
| Chronotyp Pośredni, n | 11 | 4 | 7 | 0.2891 |
| Chronotyp Sowa, n | 2 | 1 | 1 | 0.9764 |

Wszyscy uczestnicy badania wypełnili ankietę poranności i wieczorności (MEQ) [89], celem oceny chronotypu. Na tej podstawie zostali oni podzieleni zgodnie z prezentowanym typem chronotypu na typ poranny „skowronki”, typ wieczorny „sowy” oraz osoby o typie pośrednim. Osoby o chronotypie „skowronków” przeważały i stanowiły aż 73% wszystkich badanych pacjentów, osoby o chronotypie pośrednim to 22%, a „sowy” to 5%. Z uwagi na małą liczbę osób o chronotypie „sowy” (2 osoby), uczestnicy zostali umownie podzieleni na dwie grupy pod względem chronotypu, tj. typ poranny (skowronki) (73%, n=36) oraz typ wieczorny (chronotyp pośredni+ sowy) (27%, n=13), który zawierał w sobie oba chronotypy (Ryc. 6). Podział ten został przeprowadzony zgodnie z literaturą [151,152], zgodnie z którą mediana punktacji 53, uzyskana w kwestionariuszu MEQ, dzieliła chronotyp na ranny i wieczorny. Jednocześnie, typ pośredni kojarzony był razem z wieczornym, dlatego od tej pory w dalszej części pracy, typem wieczornym będą określane oba wspomniane typy chronotypu [153].



Rycina 6. Procentowy udział poszczególnych chronotypów w grupie badanej (n=49).

2. Leczenie dietetyczne w warunkach szpitalnych

U pacjentów zastosowano dietę ubogoenergetyczną. Każdy z hospitalizowanych miał wyliczone całkowite zapotrzebowanie energetyczne (CPM) za pomocą wzoru Harrisa-Benedicta (1918) [154]. Zastosowano redukcję na poziomie 25-30% CPM, w zależności od otyłości, stanu zdrowia, wieku, a także wydolności fizycznej [154].

Rozkład makroskładników w diecie każdego z uczestnika wyglądał następująco:

- węglowodany 50% kaloryczności diety,
- białko 15% kaloryczności diety,
- tłuszcz 35% kaloryczności diety.

Dieta była zbilansowana pod względem zawartości witamin, makro oraz mikroelementów.

Harmonogram dnia pacjentów, od poniedziałku do piątku, wyglądał następująco:

- 7.00 – pobudka,
- 7.30 – śniadanie,
- 8.30 – ćwiczenia oddechowe 30 min.,
- 9.30 – ćwiczenia wzmacniające całego ciała 30 min.,
- 10.15 – drugie śniadanie,
- 11.00 – jazda na rowerze stacjonarnym 40 min.,
- 12.00 – spotkanie z dietetykiem,
- 12.40 – obiad,
- 13.30 – ćwiczenia oddechowe 30 min.,
- 17.00 – kolacja.

Weekendy pacjenci poświęcali na regenerację (odpoczynek, bez treningów) po intensywnie przepracowanym tygodniu.

3. Materiał

1) Ocena w ślinie i w surowicy stężenia kortyzolu:

- Próbkki śliny były pobierane samodzielnie przez osoby badane, o godzinie: 08:00, 11:00, 13:00, 16:00, 19:00, 21:00, 24:00, 03:00, 05:00, 08:00 w okresie 72h.
- Próbkki krwi były pobierane 2 krotnie w czasie 21 dni.
- Do oceny stężenia kortyzolu w ślinie wykorzystano test immunoenzymatyczny ELISA, Demeditec, Niemcy, „*Cortisol free in Saliva*”, DES6611. Czulość metody 0.019 ng/ml.

2) Kwestionariusz oceny chronotypu wg Horne & Östberg (1976).

„*A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. International Journal of Chronobiology*”- MEQ.

- Ankieta została przeprowadzona na początku badania – dzień wstępny.

Kwestionariusz MEQ składa się z 19 pytań jednokrotnego wyboru. Porusza zagadnienia, które pozwalają poznać subiektywne preferencje a także odczucia respondenta. Obejmuje on pytania dotyczące wstawania, pory snu oraz najlepszego samopoczucia a także najwyższej aktywności zarówno fizycznej jak i umysłowej. Kwestionariusz ten zawiera także pytania dotyczące hipotetycznych sytuacji np. o której godzinie wstałbyś/wstałabyś, gdybyś mógł/mogła swobodnie zaplanować swój dzień? Każda odpowiedź jest punktowana, można zdobyć od 16 do 86 punktów i na tej podstawie określa się chronotyp osoby badanej – wyższy wynik wskazuje na silniejsze skłonności do typu wieczornego „sowy”. Na podstawie wyników punktowych kwestionariusza uczestnicy zostali podzieleni zgodnie z prezentowanym typem chronotypu na skowronki, sowy oraz osoby o typie pośrednim. Ostatecznie jednak, zdecydowano o połączeniu dwóch ostatnich typów, dlatego osoby o typie pośrednim i sowy zaliczono się do typu wieczornego [151,153].

3) Ocena długości snu.

- Ankieta została przeprowadzona na początku badania - dzień wstępny.

Pytania dotyczące długości snu były pytaniami zamkniętymi, pacjenci mieli do wyboru następujące odpowiedzi: długość snu: <6h, od 7-8h oraz ≥9h [155].

4) Ocena składu ciała za pomocą bioimpedancji elektrycznej (BIA), Tanita – MC 980 (Tokio, Japan).

- Ocena BIA przed i po hospitalizacji.

BIA to nieinwazyjna metoda oceny składu ciała w warunkach klinicznych i nieklinicznych. Podstawowa technika BIA opiera się na zasadzie, że czas przejścia niskonapięciowego prądu elektrycznego przez ciało zależy od charakterystyki składu ciała (prąd znacznie lepiej przewodzi mięśnie, kości oraz woda w porównaniu do tkanki tłuszczowej). Tkanka tłuszczowa zawiera w sobie mało wody, co powoduje, że posiada większy opór i dlatego można ją odróżnić w czasie tego badania. Otrzymuje się informacje o: masie ciała osoby badanej, zawartości tkanki tłuszczowej (w % i kg), masy mięśniowej, beztłuszczowej masy ciała, wody oraz ilości trzewnej tkanki tłuszczowej [156].

4. Metodyka

Wszystkie osoby biorące udział w badaniu otrzymały wyczerpującą informację na temat celu badania, procedur badawczych i wyraziły pisemną zgodę na udział w badaniu. Badanie otrzymało zezwolenie Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, nr 249/19.






Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów do badania zostały umieszczone w tabeli 3.

Tabela 3. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów z badania.

| Kryteria włączenia | Kryteria wyłączenia |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Wiek badanych osób: powyżej 18 roku życia,• Otyłość BMI>30kg/m²,• Zwiększona zawartość tkanki tłuszczowej całkowitej mierzona metodą bioimpedancji elektrycznej,• Zgoda na udział w badaniu, | <ul style="list-style-type: none">• Przebyta bądź aktualna choroba nowotworowa (przyjmowanie radio-/chemioterapii),• Choroby wątroby (ALT > 3x granica normy) oprócz osób z prostym stłuszczeniem wątroby przewlekła choroba nerek eGFR < 30 ml/1,73m²/min,• Niestabilna choroba niedokrwienności serca, stan po operacji by-passów, wszczepione urządzenie stymulujące serce- (kardiowerter-defibrylator – ICD, stymulator serca), protezy wewnątrznaczyniowe,• Stan po udarze niedokrwiennym lub krwotocznym mózgu (<6 miesięcy),• Stan po STEMI z wszczepieniem stentów uwalniających leki, non STEMI (<12 miesięcy),• Wrodzone choroby metaboliczne: fenyloketonuria, galaktozemia,• Choroby autoimmunologiczne (nieleczone dysfunkcje tarczycy, celiakia, choroby układowe tkanki łącznej, niedokrwistość hemolityczna, bielactwo, choroba Addisona, hiperbilirubinemia),• Choroby nadnerczy,• Nieswoiste zapalenie jelit (choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego), |

| | |
|--|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> • Cięża, • Zaburzenia psychiczne, zaburzenia odżywiania tj. anoreksja, bulimia, • Antybiotykoterapia, sterydoterapia (obecnie stosowana), • Uzależnienie od narkotyków, alkoholu (spożywanie więcej niż 1 porcji alkoholu dziennie). |
|--|---|

U wszystkich uczestników badania, przed hospitalizacją wykonano również USG jamy brzusznej, RTG klatki piersiowej oraz EKG. Badania przeprowadzono w Poradni Chorób Metabolicznych Szpitala Klinicznego im. Heliodora Świącickiego w Poznaniu.

- 0 dzień wstępny (dieta szpitalna) (próbka krwi, śliny 1x) 
- 1 dzień (dzień przed postem – dieta szpitalna) – ślina co 3h 
- 2 dzień (całkowity 24h „post” – tylko woda) – ślina co 3h 
- 3 dzień (dzień po poście – dieta szpitalna) – ślina co 3h 
- **! Próbki śliny były pobierane samodzielnie przez osoby badane, o godzinie: 08, 11, 13, 16, 19, 21, 24, 03, 05, 08 w okresie 72h**
- 4-21 dzień (dieta szpitalna)
- 21 dzień – koniec hospitalizacji (próbka krwi, śliny 1x) 

Dieta szpitalna – dieta ubogoenergetyczna

Rycina 7. Protokół badawczy.

4.1. Metodyka badania próbek krwi

Przed oraz po hospitalizacji pacjentom wykonano badania krwi obejmujące:

- stężenie cholesterolu całkowitego, HDL, LDL,
- trójglicerydów,
- glukozy,
- insuliny,
- białka C-reaktywnego (CRP).
- hemoglobiny glikowanej.

Badania te zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Analityczno-Biochemicznym Szpitala Klinicznego im. Heliodora Święcickiego w Poznaniu.

Tabela 4. Metodologia oznaczania parametrów biochemicznych krwi.

| Parametr | Metoda oznaczenia |
|--------------------------------------|---|
| Białko C-reaktywne (CRP) | Test immunoturbidymetryczny ze wzmocnieniem cząstkami lateksu. |
| Cholesterol całkowity | Metoda enzymatyczno-kolorymetryczna. |
| HDL Cholesterol | Jednorodna, enzymatyczna metoda kolorymetryczna. |
| Trójglicerydy | Metoda enzymatyczno-kolorymetryczna z oksydazą glicerofosforanową i 4-amonofenazonem. |
| Hemoglobina glikowana (HbA1c) | Chromatografia jonowymienna z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) - system D10 (Bio-Rad). |
| Glukoza | Referencyjna metoda enzymatyczna z heksokinazą |
| Insulina | ECLIA (elektrochemiluminescencja) z użyciem biotynylowanego przeciwciała swoistego dla insuliny oraz przeciwciała znakowanego rutenem swoistego dla insuliny. |

4.2. Metodyka badania próbek śliny

Niestymulowane próbki śliny (1.0-1.5 ml) uzyskano przy użyciu gotowych probówek do pobierania śliny Salivette (Sarstedt AG & Co., Numbrecht, Niemcy) przez 3-5 minut. Instrukcja dla pacjenta znajduje się w załączniku, na końcu pracy str. 119.

W trakcie pobierania śliny pacjent powinien spełnić kilka zasad:

- 30 minut przed zebraniem próbki śliny nie powinien nic jeść;
- 15 minut przed zebraniem próbki śliny należy przepłukać usta wodą;
- przed zebraniem nie wolno palić papierosów.

[110,157]

Ślinę zbierano bezpośrednio do probówek Salivette. Wszystkie próbki wirowano przez 10 minut przy 2000 obrotów/min przy użyciu wirówki Centrifuge MPW-223e. Supernatanty śliny przechowywano w temperaturze -80°C do momentu analizy.

4.3. Test immunoenzymatyczny ELISA

W celu określenia rytmu okołodobowego sekrecji kortyzolu ocenione zostało jego stężenie w ciągu 72h. Próbki śliny pobierano co 3 godziny i oznaczono w każdej nich stężenie kortyzolu przy pomocy komercyjnie dostępnych, gotowych zestawów ELISA, Demeditec, Niemcy, „*Cortisol free in Saliva*”, DES6611. Czułość metody 0.019 ng/ml.

4.4. Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu Statistica 12 firmy Statsoft. Jako poziom istotności przyjęto $\alpha=0.05$. Wynik uznano za istotny statystycznie, gdy $p<\alpha$. Do sprawdzenia normalności rozkładu zmiennych użyto testu Shapiro-Wilka. Aby dokonać porównania pomiędzy 2 grupami zmiennych mających rozkład zgodny z normalnym i równe wariancje - obliczono test t-Studenta dla prób niepowiązanych, natomiast gdy wystąpił brak równości wariancji użyto testu Cochran-Coxa. Natomiast jeśli wystąpił brak zgodności z rozkładem normalnym, wykonano obliczenia za pomocą testu Manna-Whitneya. Do zbadania zależności między zmiennymi ciągłymi obliczono współczynnik korelacji liniowej r Pearsona bądź współczynnik korelacji rangowej R_s Spearman, z kolei, w przypadku zmiennych kategoryalnych - test niezależności χ^2 . Do sprawdzania zmian w czasie, w sytuacji zgodności z rozkładem normalnym, obliczono test t-Studenta dla prób powiązanych, a w przypadku braku zgodności z rozkładem normalnym – test Wilcoxon. Wartości wyników w pracy podane

zostały jako mediana (minimum-maximum). Okołodobowy rytm kortyzolu został oceniony za pomocą pojedynczego testu cosinorowego przy użyciu programów: Time Series Analysis Cosinor 6.3 (Expert Soft Technologies, Laboratory of Applied Statistics and BioMedical Computing, Richelieu, Francja) oraz MemCalc / Win (GMS, Tokio, Japonia). Parametry określające rytm kortyzolu porównano za pomocą analizy wariancji (1-czynnikowa ANOVA), natomiast aby dokonać oceny wpływu dwóch czynników klasyfikujących (dzień eksperymentu, płeć, chronotyp) użyto testu 2 czynnikowej ANOVA. Parametry rytmu kortyzolu były oceniane pod kątem wartości odstających „*outliers*„ w teście Grubbsa. Usunięto wartości odstające, dlatego w całej dalszej pracy wyniki rytmu kortyzolu zostały zaprezentowane bez wartości odstających.

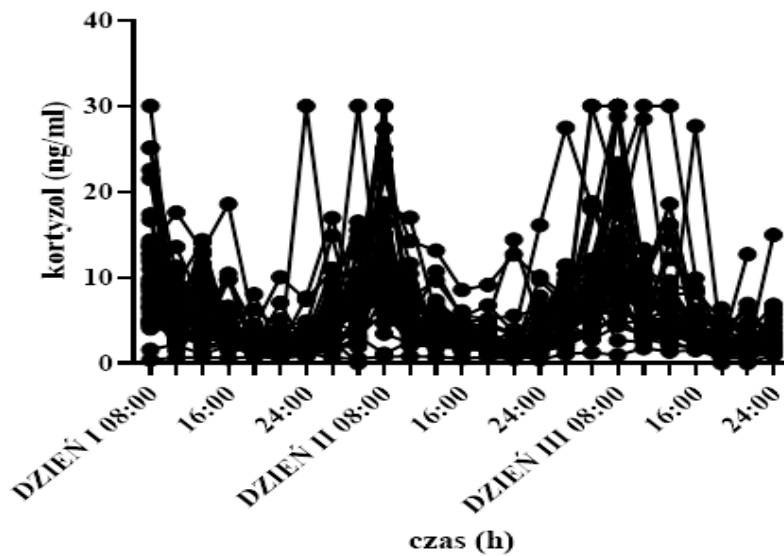
WYNIKI

Wyniki są przedstawione w następującej kolejności:

1. Stężenie oraz rytm okołodobowy kortyzolu grupy badanej.
2. Stężenie kortyzolu w zależności od płci, chronotypu, korelacje:
 - 2.1. Płeć,
 - 2.2. Chronotyp,
 - 2.3. Parametry składu ciała,
 - 2.4. Parametry biochemiczne krwi.
3. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej przed i po restrykcji kalorycznej.
4. Parametry składu ciała a parametry biochemiczne krwi.
5. Długość snu:
 - 5.1. Stężenie kortyzolu a długość snu,
 - 5.2. Parametry składu ciała oraz biochemiczne a długość snu.

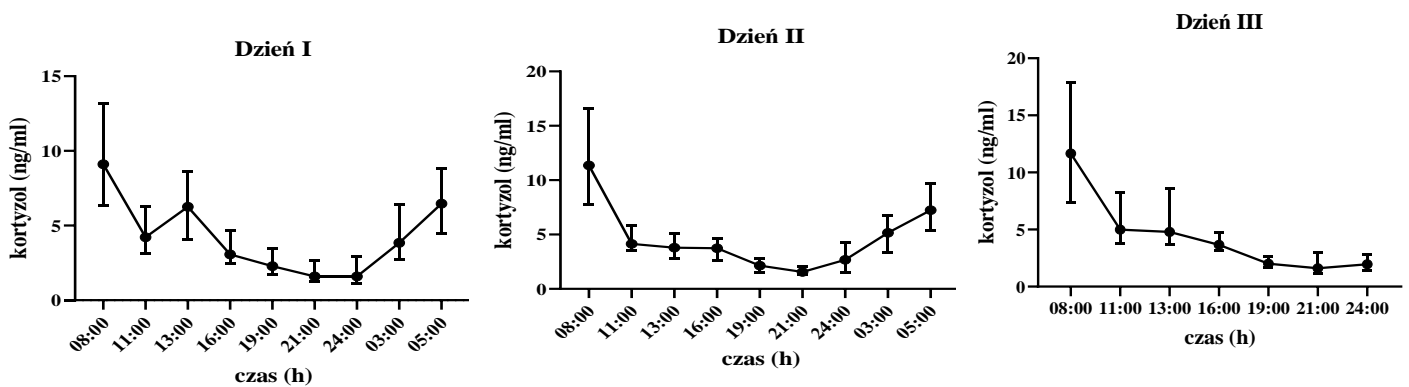
1. Stężenie i rytm okołodobowy kortyzolu grupy badanej (n=49)

Próbki śliny zostały zebrane w czasie 72h badania od wszystkich pacjentów (Ryc.8).



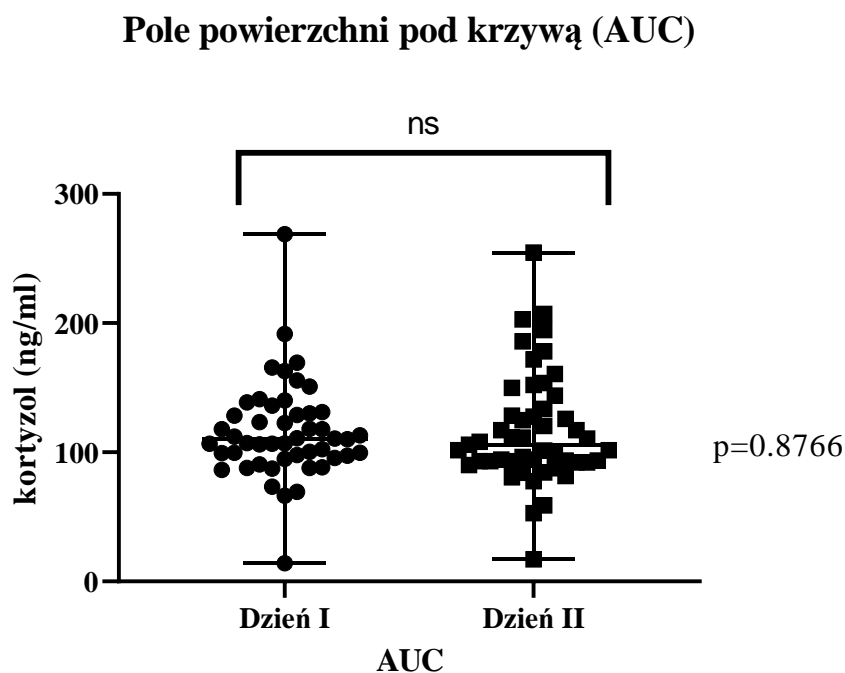
Rycina 8. Stężenia kortyzolu podczas 72h badania, n=49.

Próbki były pobierane co 3h: w dniu poprzedzającym post (dzień I), w dniu 24h postu (dzień II) oraz po dniu postu (dzień III) (Ryc. 9).



Rycina 9. Mediana stężeń kortyzolu podczas 72h badania z podziałem na: dzień I (przed postem), dzień II (post), dzień III (po poście), n=49.

Porównano pole powierzchni pod krzywą dla stężenia kortyzolu w dniu I i II (w dniu III krzywa ma tylko 7 punktów czasowych, co uniemożliwia porównanie) dla zobrazowania całkowitego stężenia kortyzolu w poszczególnych dniach i nie stwierdzono różnic dla poszczególnych dni ($p=0.8766$) (Ryc. 10).



Rycina 10. Pole powierzchni pod krzywą dla stężeń kortyzolu w dniu I (przed postem) oraz dniu II (post). Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p<0.05$; Wilcoxon test.

Następnie porównano stężenia kortyzolu dla każdego z dni i godzin oraz stwierdzono, że stężenie kortyzolu o g. 08:00 ($p=0.046$), 13:00 (<0.0001) oraz 24:00 ($p=0.0004$) istotnie różniło się pomiędzy poszczególnymi dniami diety (Tab. 5).

Tabela 5. Stężenia kortyzolu w ślinie pobranej w czasie 72h badania, n=49.

Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Kruskal-Wallis test oraz Wilcoxon test dla oceny DI vs. DII; DI vs. DIII, DII vs. DIII.

| Czas zegarowy, h | Dzień I (DI) (n=49) | Dzień II (DII) (n=49) | Dzień III (DIII) (n=49) | p | DI vs DII p | DI vs DIII p | DII vs DIII p |
|------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
| 08:00 | 9.11 (0.39-30.00) | 11.36 (0.76-30) | 11.66 (0.96-30) | 0.04878 | 0.0042 | <0.00001 | 0.5116 |
| 11:00 | 4.21 (0.66-17.59) | 4.14 (0.81-16.97) | 4.99 (1.74-30.00) | 0.0498 | ns | ns | ns |
| 13:00 | 6.25 (0.74-14.36) | 5.08 (0.77-13.16) | 4.79 (1.35-30) | <0.0001 | <0.001 | >0.05 | <0.001 |
| 16:00 | 3.07 (0.56-18.58) | 3.74 (0.56-8.57) | 3.65 (1.54-27.66) | 0.9184 | ns | ns | ns |
| 19:00 | 2.28 (0.78-8.05) | 2.14 (0.67-9.12) | 2.01 (0.01-6.44) | 0.305 | ns | ns | ns |
| 21:00 | 2.63 (0.59-10.05) | 2.02 (0.5-14.41) | 1.60 (0.01-12.72) | 0.3679 | ns | ns | ms |
| 24:00 | 2.95 (0.81-30) | 4.29 (0.42-16.1) | 1.95 (0.95-14.97) | 0.0004 | <0.001 | >0.05 | >0.05 |
| 03:00 | 3.84 (0.63-16.96) | 5.16 (1.09-27.49) | | 0.0501 | ns | ns | ns |
| 05:00 | 8.85 (0.01-30) | 9.67 (1.25-30) | | 0.0926 | ns | ns | ns |

Do oceny rytmu biologicznego kortyzolu zastosowano metodę cosinorową. Metoda ta pozwala na analizę 4 składowych charakteryzujących rytm: amplitudę, średni poziom oscylacji tzw. MESOR (*midline estimating statistic of rhythm*), okres oscylacji oraz przesunięcie – akrofazę.

Wyznaczono wyżej wymienione parametry określające rytm dla każdego z dni osobno. Dostrzeżono istotne różnice w zakresie amplitudy ($p=0.0127$) oraz akrofazy ($p=0.0005$). Amplituda w dniu postu była o 15% wyższa w porównaniu do dnia I oraz o 11% ($p=0.224$) wyższa od amplitudy dnia po poście. Akrofaza natomiast była przesunięta w dniu postu, o 48 minut wcześniej w porównaniu do dnia pierwszego ($p=0.0064$) oraz o 39 minut od dnia trzeciego ($p=0.0005$) (Tab.6).

Tabela 6. Charakterystyka okołodobowego rytmu kortyzolu grupy badanej z 72h badania. Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p<0.05$; 1- czynnikiowa ANOVA test.

| Parametr | Dzień I (DI) | Dzień II (DII) | Dzień III (DIII) | p | p DI vs DII | p DI vs DIII | p DII vs DIII |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| MESOR, ng/ml | 4.973 (2.632 -7.83) | 5.025 (2.543-7.05) | 5.175 (1.208 -10.84) | 0.3288 | 0.5093 | 0.2142 | 0.0762 |
| Amplituda, ng/ml | 3.724 (0.1374 -10.23) | 4.289 (0.1839 -10.96) | 3.801 (0.275 -8.808) | 0.0127 | 0.153 | 0.2668 | 0.0224 |
| Akrofaza, czas zegarowy | 08:24 (04:42-10:48) | 07:36 (05:00-10:24) | 08:15 (06:18-11:54) | 0.0005 | 0.0064 | 0.5251 | 0.0005 |

Po podzieleniu grupy badanej wg płci, sprawdzono czy rytm kortyzolu różni się w grupie kobiet i mężczyzn (Tab. 7). Stwierdzono istotne różnice dla amplitudy ($p=0.03$) oraz akrofazy ($p=0.0006$) w grupie kobiet. Amplituda w dniu postu była o 12% wyższa w porównaniu do dnia pierwszego oraz o 13% wyższa od amplitudy dnia po poście. Akrofaza natomiast była przesunięta w dniu postu, o 66 minut w porównaniu do dnia pierwszego ($p=0.0008$) oraz o 48 minut do dnia trzeciego ($p=0.0374$). Nie stwierdzono natomiast różnic dla parametrów rytmu pomiędzy kobietami i mężczyznami (Tab. 7).

Tabela 7. Charakterystyka okołodobowego rytmu kortyzolu grupy badanej, z podziałem według płci, z 72h badania. Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; 1- czynnikowa ANOVA oraz 2-czynnikowa ANOVA test dla oceny K vs. M.

| Parametr | Kobiety | | | | | | | Mężczyźni | | | | | | | K vs M p |
|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------|----------------|-----------------|------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------|----------------|-----------------|------------------|-------------|
| | Dzień I (DI) | Dzień II (DII) | Dzień III (DIII) | p | p DI vs DII | p DI vs DIII | p DII vs DIII | Dzień I (DI) | Dzień II (DII) | Dzień III (DIII) | p | p DI vs DII | p DI vs DIII | p DII vs DIII | |
| MESOR, ng/ml | 4.816 (2.632- 7.83) | 4.842 (2.543- 7.04) | 4.885 (2.841- 7.2) | 0.5806 | ns | ns | ns | 5.185 (3.201- 7.38) | 5.08 (2.719- 7.04) | 5.453 (2.557- 10.48) | 0.4059 | ns | ns | ns | 0.632 |
| Amplituda, ng/ml | 3.812 (0.137- 8.747) | 4.511 (0.1839- 10.96) | 3.6 (0.275- 9.808) | 0.030 | 0.1712 | 0.2462 | 0.0606 | 3.585 (1.543- 6.614) | 3.876 (0.6909- 7.004) | 4.298 (0.6294- 8.407) | 0.0912 | ns | ns | ns | 0.323 |
| Akrofaza, czas zegarowy | 08:18 (04:42- 10:48) | 07:12 (05:18- 09:24) | 08:00 (07:06- 09:48) | 0.0006 | 0.0008 | 0.2774 | 0.0374 | 08:33 (05:36- 10:36) | 07:54 (05:36- 10:18) | 08:30 (06:18- 11:54) | 0.0865 | ns | ns | ns | 0.080 |

Podobnie jak wyżej podzielono grupę badaną wg chronotypu. Dostrzeżono różnice dla akrofazy ($p=0.025$) u osób z chronotypem porannym. Była ona przesunięta w dniu postu o 57 minut wcześniej w porównaniu do dnia pierwszego ($p=0.0202$) oraz o 42 minuty do dnia trzeciego ($p=0.0034$). Nie stwierdzono natomiast różnic dla parametrów rytmu pomiędzy chronotypem porannym i wieczornym. (Tab. 8)

Tabela 8. Charakterystyka okołodobowego rytmu kortyzolu grupy badanej z podziałem według chronotypu, z 72h badania. Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). 1- czynnikowa ANOVA oraz 2-czynnikowa ANOVA test dla oceny S vs. W.

| Parametr | Skowronki | | | | | | | Chronotyp wieczorny | | | | | | | S vs W p |
|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------|----------------|-----------------|------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------|-------------------|-----------------------|------------------------|-------------|
| | Dzień I (DI) | Dzień II (DII) | Dzień III (DIII) | p | p DI vs DII | p DI vs DIII | p DII vs DIII | Dzień I (DI) | Dzień II (DII) | Dzień III (DIII) | p | p DI vs DII | p DI vs DIII | p DII vs DIII | |
| MESOR, ng/ml | 4.932 (2.632- 7.83) | 4.738 (2.543- 7.04) | 5.061 (2.557- 7.1) | 0.931 | ns | ns | ns | 5.18 (3.94- 7.25) | 5.55 (4.134- 6.42) | 6.054 (3.603- 7.7) | 0.783 | ns | ns | ns | 0.612 |
| Amplituda, ng/ml | 3.243 (0.1374- 9.06) | 4.083 (0.1839- 10.96) | 3.579 (0.275- 8.407) | 0.065 | ns | ns | ns | 4.756 (1.961- 7.187) | 4.489 (1.439- 9.794) | 4.344 (0.6796- 8.808) | 0.2108 | ns | ns | ns | 0.356 |
| Akrofaza, czas zegarowy | 08:33 (04:42- 10:48) | 07:36 (05:00- 10:24) | 08:18 (06:18- 11:54) | 0.025 | 0.0202 | 0.5586 | 0.0034 | 08:18 (05:36- 10:12) | 07:42 (05:30- 08:42) | 08:06 (07:06- 10:12) | 0.1803 | ns | ns | ns | 0.409 |

2. Stężenie kortyzolu w zależności od płci, chronotypu, korelacje

2.1. Płeć

Stężenie kortyzolu różniło się pomiędzy płciami (Tab. 10). Stężenie kortyzolu u mężczyzn było około 32% wyższe od stężenia kortyzolu u kobiet o g. 16:00 w dniu poprzedzającym post (dzień I) ($p=0.0045$). W dniu postu (dzień II) również w grupie mężczyzn stwierdzono stężenie o 20% wyższe o g. 16:00 ($p=0.0278$), 32% wyższe o g. 19:00 ($p=0.0147$) i odpowiednio 18% o g. 21:00 ($p=0.0455$). Podobny wynik o 36% wyższego stężenia o g. 21:00 zauważono w dniu po poście (dzień III) ($p=0.0292$) (Tab. 9).

Tabela 9. Dobowe stężenia kortyzolu grupy badanej z podziałem według płci, n=49. Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

| Czas | Kortyzol, ng/ml | | |
|-----------------|---------------------|-----------------------|---------------|
| | Kobiety (K) n=25 | Mężczyźni (M) n=24 | K vs M p |
| DZIEŃ I 08:00 | 6.6 (0.4-22.6) | 9.4 (4.1-30.0) | 0.0718 |
| DZIEŃ I 11:00 | 4.2 (0.7-17.6) | 4.6 (2.1-13.6) | 0.6745 |
| DZIEŃ I 13:00 | 6.0 (0.7-13.2) | 7.2 (1.0-14.3) | 0.2224 |
| DZIEŃ I 16:00 | 2.7 (0.6-18.7) | 4.0 (12.0-10.5) | 0.0045 |
| DZIEŃ I 19:00 | 2.1 (0.8-6.3) | 2.5 (1.0-8.1) | 0.1865 |
| DZIEŃ I 21:00 | 1.4 (0.6-30.0) | 1.9 (0.8-3.6) | 0.1388 |
| DZIEŃ I 24:00 | 1.4 (0.8-30.0) | 2.3 (0.9-7.7) | 0.1285 |
| DZIEŃ I 03:00 | 3.6 (0.6-10.4) | 4.7 (1.5-17.0) | 0.3788 |
| DZIEŃ I 05:00 | 6.9 (0.5-30.0) | 5.5 (0.01-16.5) | 0.101 |
| DZIEŃ II 08:00 | 10.7 (0.8-30.0) | 11.9 (1.1-30.0) | 0.6672 |
| DZIEŃ II 11:00 | 3.8 (0.8-14.3) | 4.3 (2.1-17.0) | 0.3681 |
| DZIEŃ II 13:00 | 3.1 (0.8-13.2) | 4.6 (1.8-10.7) | 0.0657 |
| DZIEŃ II 16:00 | 3.2 (0.6-8.6) | 4.0 (1.7-6.0) | 0.0278 |
| DZIEŃ II 19:00 | 1.7 (0.7-9.1) | 2.5 (1.3-6.8) | 0.0147 |
| DZIEŃ II 21:00 | 1.4 (0.5-14.4) | 1.7 (1.0-3.9) | 0.0455 |
| DZIEŃ II 24:00 | 2.4 (0.4-10.0) | 2.7 (1.2-16.1) | 0.2543 |
| DZIEŃ II 03:00 | 4.5 (1.1-9.6) | 5.8 (1.8-27.5) | 0.1636 |
| DZIEŃ II 05:00 | 7.8 (1.3-30.0) | 6.6 (3.4-18.4) | 0.1764 |
| DZIEŃ III 08:00 | 11.9 (1.0-30.0) | 10.0 (2.7-30.0) | 0.5617 |
| DZIEŃ III 11:00 | 5.0 (1.7-30.0) | 5.2 (2.5-13.3) | 0.749 |
| DZIEŃ III 13:00 | 4.8 (1.4-30.0) | 4.9 (2.1-18.6) | 0.8259 |
| DZIEŃ III 16:00 | 3.4 (1.5-27.7) | 4.1 (1.8-6.3) | 0.8729 |
| DZIEŃ III 19:00 | 1.9 (0.6-5.1) | 2.4 (0.01-6.4) | 0.0751 |
| DZIEŃ III 21:00 | 1.5 (0.6-12.7) | 2.4 (0.01-6.2) | 0.0292 |
| DZIEŃ III 24:00 | 1.8 (1.0-15.0) | 2.2 (1.0-6.8) | 0.1003 |

2.2. Chronotyp

Po podziale grupy badanej wg chronotypu, stwierdzono, że osoby o chronotypie wieczornym miały o 30% wyższe stężenie kortyzolu od osób o preferencjach rannych ($p=0.0214$). Różnicę w stężeniu kortyzolu wykazano o g. 21:00, po dniu postu (dzień III) (Tab. 10).

Tabela 10. Dobowe stężenia kortyzolu grupy badanej z podziałem według chronotypu, n=49. Wartości podane jako mediana (minimum-maximum). Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

| Czas | Kortyzol, ng/ml | | |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|---------------|
| | Skowronki (S) n=36 | Wieczorny (W) n=13 | S vs W p |
| DZIEŃ I 08:00 | 9.0 (0.4-30.0) | 9.2 (5.0-22.6) | 0.7507 |
| DZIEŃ I 11:00 | 3.8 (0.7-17.6) | 5.6 (3.0-13.6) | 0.1060 |
| DZIEŃ I 13:00 | 6.1 (0.7-13.2) | 6.7 (2.1-14.3) | 0.3162 |
| DZIEŃ I 16:00 | 3.0 (0.7-13.2) | 4.0 (1.6-5.3) | 0.8212 |
| DZIEŃ I 19:00 | 2.3 (0.8-18.6) | 2.2 (1.2-6.3) | 0.8227 |
| DZIEŃ I 21:00 | 1.6 (0.6-10.1) | 1.9 (1.0-4.0) | 0.3135 |
| DZIEŃ I 24:00 | 1.5 (0.8-7.4) | 1.8 (0.9-30.0) | 0.0949 |
| DZIEŃ I 03:00 | 3.6 (0.6-14.9) | 4.3 (1.5-17.0) | 0.4835 |
| DZIEŃ I 05:00 | 6.4 (0.01-30.0) | 7.0 (2.6-15.5) | 0.6302 |
| DZIEŃ II 08:00 | 10.4 (0.8-30.0) | 12.8 (6.7-25.1) | 0.0696 |
| DZIEŃ II 11:00 | 4.0 (0.8-14.3) | 4.7 (2.1-17.0) | 0.5288 |
| DZIEŃ II 13:00 | 3.4 (0.8-13.2) | 4.7 (2.0-9.6) | 0.0691 |
| DZIEŃ II 16:00 | 3.6 (0.8-13.2) | 3.9 (2.0-5.6) | 0.1724 |
| DZIEŃ II 19:00 | 2.0 (0.7-9.1) | 2.5 (1.1-5.2) | 0.2956 |
| DZIEŃ II 21:00 | 1.5 (0.5-14.4) | 1.6 (0.9-5.5) | 0.7498 |
| DZIEŃ II 24:00 | 2.6 (0.4-10.1) | 2.7 (0.9-16.1) | 0.5057 |
| DZIEŃ II 03:00 | 4.4 (1.1-11.5) | 5.7 (2.1-27.5) | 0.2597 |
| DZIEŃ II 05:00 | 7.2 (1.3-30.0) | 8.2 (3.4-30.0) | 0.7058 |
| DZIEŃ III 08:00 | 11.6 (1.00-30.0) | 12.4 (5.4-30.0) | 0.5442 |
| DZIEŃ III 11:00 | 5.0 (1.4-30.0) | 6.1 (2.6-13.4) | 0.6201 |
| DZIEŃ III 13:00 | 5.0 (1.7-30.0) | 4.6 (3.1-16.21) | 0.8043 |
| DZIEŃ III 16:00 | 3.9 (1.5-27.7) | 3.3 (2.5-8.4) | 0.4426 |
| DZIEŃ III 19:00 | 2.0 (0.7-6.4) | 2.1 (0.01-5.1) | 0.4094 |
| DZIEŃ III 21:00 | 1.6 (0.6-12.7) | 2.3 (0.01-6.2) | 0.0214 |
| DZIEŃ III 24:00 | 1.9 (1.0-15.0) | 2.1 (1.0-3.5) | 0.6009 |

2.3. Parametry składu ciała

Zaobserwowano związek pomiędzy stężeniem kortyzolu w godzinach rannych (g. 08:00) a redukcją masy ciała oraz zawartością tkanki tłuszczowej.

Redukcja masy ciała słabo ujemnie korelowała ze stężeniem kortyzolu w dniu po poście o g. 08:00 ($r=-0.3614$; $p=0.0126$)

Zauważono słabą ujemną korelację pomiędzy stężeniem kortyzolu, a procentową zawartością tkanki tłuszczowej w dniu poprzedzającym jednodniowy post ($r= -0.3181$; $p= 0.0275$) (Tab. 11).

Tabela 11 Korelacja stężenia kortyzolu grupy badanej z wyjściową masą ciała, BMI, zawartością tkanki tłuszczowej oraz redukcją masy ciała, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Spearman test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Kortyzol, ng/ml | Masa ciała, kg | | Δ Masa ciała, kg | | BMI, kg/m ² | | Tkanka tłuszczowa, % | | Tkanka tłuszczowa, kg | | Trzewna tkanka tłuszczowa | |
|-----------------------------|----------------|--------|-------------------------|---------------|------------------------|--------|----------------------|---------------|-----------------------|--------|---------------------------|--------|
| | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p |
| Dzień, czas zegarowy | | | | | | | | | | | | |
| DZIEŃ I 08:00 | 0.1978 | 0.1779 | -0.1001 | 0.5031 | 0.0917 | 0.5353 | -0.3181 | 0.0275 | 0.1036 | 0.4833 | 0.104 | 0.4817 |
| DZIEŃ II 08:00 | 0.2391 | 0.1017 | -0.1113 | 0.4564 | 0.0414 | 0.7798 | -0.1157 | 0.4334 | 0.0664 | 0.6539 | -0.0023 | 0.9879 |
| DZIEŃ III 08:00 | 0.0355 | 0.8109 | -0.3614 | 0.0126 | -0.1064 | 0.4716 | -0.0293 | 0.8434 | 0.103 | 0.4858 | -0.1099 | 0.4572 |

2.4. Badania biochemiczne krwi

Stwierdzono związek pomiędzy stężeniem kortyzolu, a stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji cholesterolu HDL. Nie dostrzeżono natomiast korelacji pomiędzy stężeniem kortyzolu, a pozostałymi parametrami biochemicznymi (Tab. 12).

Stężenie cholesterolu całkowitego miało niski oraz ujemny związek z porannym stężeniem kortyzolu w dniu poprzedzającym post ($r = -0.3051$; $p = 0.0495$). Cholesterol frakcji HDL umiarkowanie oraz ujemnie korelował ze stężeniem kortyzolu w dniu poprzedzającym post ($r = -0.524$; $p = 0.0008$) (Tab. 12).

Tabela 12. Korelacja stężenia kortyzolu grupy badanej z wyjściowymi badaniami biochemicznymi krwi, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Spearman test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Kortyzol, ng/ml | Glukoza, mg/dl | | Insulina, mU/ml | | HOMA-IR | | HbA1C, % | | Cholesterol całkowity, mg/dl, | | LDL, mg/dl | | HDL, mg/dl | | Trójglicerydy, mg/dl | | CRP, mg/l | |
|----------------------------|----------------|--------|-----------------|--------|---------|--------|----------|--------|----------------------------------|---------------|------------|--------|------------|---------------|-------------------------|--------|-----------|--------|
| | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p |
| DZIEŃ I 08:00 | -0.01 | 0.9477 | 0.0875 | 0.6397 | 0.0617 | 0.7416 | -0.1989 | 0.2312 | -0.3051 | 0.0495 | - | 0.1694 | - | 0.0008 | 0.015 | 0.924 | -0.1535 | 0.3643 |
| DZIEŃ II 08:00 | -0.0706 | 0.6412 | 0.194 | 0.2958 | 0.196 | 0.2907 | -0.0318 | 0.8496 | -0.0205 | 0.8976 | - | 0.6389 | - | 0.0972 | 0.1752 | 0.261 | 0.1355 | 0.4239 |
| DZIEŃ III 08:00 | -0.2518 | 0.0914 | -0.063 | 0.735 | -0.087 | 0.6427 | -0.2842 | 0.0838 | -0.1902 | 0.2277 | - | 0.5606 | - | 0.9796 | -0.205 | 0.1869 | 0.2003 | 0.2346 |

3. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej przed i po restrzykcji kalorycznej

Efektom 3 tygodniowej restrzykcji kalorycznej, u wszystkich pacjentów było zmniejszenie masy ciała o 3% ($p < 0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 2% ($p < 0.0001$), procentowej zawartości tkanki tłuszczowej o 2.6% ($p = 0.0001$), zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 7% ($p < 0.0001$), trzewnej tkanki tłuszczowej o 2.7% ($p < 0.0001$), masy mięśniowej o 1% ($p = 0.001$), nawodnienia o 2% ($p < 0.001$), stężenia cholesterolu całkowitego o 7.7% ($p = 0.0244$), trójglicerydów o 13% ($p = 0.0237$) oraz hemoglobiny glikowanej o 2% ($p = 0.0053$) (Tab. 13).

U kobiet zauważono zmniejszenie masy ciała o 3% ($p < 0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 2% ($p = 0.0001$) oraz trzewnej tkanki tłuszczowej o 4% ($p < 0.0001$), masy mięśniowej o 1% ($p = 0.0003$), natomiast zaskakująco nastąpił wzrost tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 0.5% ($p = 0.0001$) oraz nawodnienia o 4% ($p = 0.01$). (Tab. 13).

U mężczyzn zaobserwowano zmniejszenie masy ciała o 5% ($p < 0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 3% ($p < 0.0001$), procentowej zawartości tkanki tłuszczowej o 8% ($p = 0.0002$), zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 12% ($p < 0.0001$), trzewnej tkanki tłuszczowej o 8% ($p < 0.0001$), nawodnienia o 8% ($p = 0.01$) oraz stężenia trójglicerydów o 21% ($p = 0.0093$). Dostrzeżono także większą redukcję trzewnej tkanki tłuszczowej wśród mężczyzn o 50% ($p < 0.0001$) (Tab. 13).

Zauważono także istotną różnicę w zmianie nawodnienia pomiędzy płciami, u kobiet była ona o 75% większa ($p = 0.0346$). U mężczyzn zauważono większą o 44% różnicę w zmianie zawartości procentowej tkanki tłuszczowej ($p = 0.2069$) oraz różnicę w zmianie zawartości tkanki tłuszczowej trzewnej o 50% ($p < 0.0001$) (Tab. 14).

Mężczyźni w porównaniu do kobiet charakteryzowali się większą masą ciała oraz masą mięśniową zarówno przed jak i po jednodniowym poście – odpowiednio o 21% ($p = 0.0013$) i 19% ($p = 0.0015$) oraz 35% ($p < 0.0001$) i 39% ($p < 0.0001$). Z kolei procentowa zawartość tkanki tłuszczowej była wyższa u kobiet przed postem o 7% ($p = 0.0076$) oraz po 18% ($p = 0.0001$). Całkowita zawartość wody w organizmie przed i po hospitalizacji także była wyższa w grupie

damskiej odpowiednio – o 8% ($p < 0.0001$) oraz 22% ($p < 0.0001$) Zawartość trzewnej tkanki tłuszczowej była wyższa u mężczyzn przed i po hospitalizacji – odpowiednio o 43% ($p < 0.0001$) i 41% ($p < 0.0001$) (Tab. 14).

U osób o chronotypie porannym (skowronki) zauważono istotne zmniejszenie masy ciała o 5% ($p < 0.0001$), wskaźnika BMI o 1% ($p < 0.0001$), zawartości tkanki tłuszczowej, wyrażonej w procentach o 2% ($p = 0.0012$), a w kilogramach o 4% ($p < 0.0001$), trzewnej tkanki tłuszczowej o 11% ($p < 0.0001$), masy mięśniowej o 0.5% ($p = 0.0014$), nawodnienia 0.5% ($p = 0.014$), stężenia insuliny o 11% ($p = 0.0353$) oraz wskaźnika insulinooporności HOMA-IR o 12% ($p = 0.494$) (Tab. 15).

W grupie osób o chronotypie wieczornym (mieszany + sowy) zaobserwowano istotne zmniejszenie masy ciała o 3% ($p = 0.0002$), wskaźnika BMI o 9% ($p = 0.0002$), zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 10% ($p = 0.0005$), wisceralnej tkanki tłuszczowej o 5% ($p = 0.0059$) oraz nawodnienia o 0.5% ($p = 0.0156$) (Tab. 15).

Natomiast osoby o chronotypie porannym oraz wieczornym nie różniły się masą ciała, BMI, zawartością tkanki tłuszczowej, trzewnej tkanki tłuszczowej, CRP, stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu, HDL, LDL, trójglicerydów, hemoglobiny glikowanej, glukozy, insuliny oraz wskaźnika HOMA-IR (Tab. 16).

Tabela 13. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej z podziałem wg płci, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto p<0.05; Wilcoxon test, Mann–Whitney test dla ΔK vs. ΔM.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Parametr | Wszyscy przed n=49 | Wszyscy po n=49 | Kobiety przed (K1) n=25 | Kobiety po (K2) n=25 | Mężczyźni przed (M1) n=24 | Mężczyźni po (M2) n=24 | Wszyscy przed vs. po p | K1 vs K2 p | M1 vs M2p | Δ Wszyscy | Δ Kobiety (K) | Δ Mężczyźni (M) | ΔK vs ΔM p |
|------------------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|------------|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|------------|
| Masa ciała, kg | 130.2 (89.2-189.4) | 125.8 (84.6-184.2) | 112.5 (89.2-189.4) | 109.3 (84.6-177.1) | 142.0 (103.3-189.2) | 135.6 (98.0-184.2) | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 5.3 (0.4-12.5) | 5.0 (0.8-12.5) | 5.8 (0.4-11.8) | 0.2877 |
| BMI, kg/m ² | 41.5 (32.2-67.1) | 40.6 (30.0-62.7) | 41.6 (32.2-67.1) | 40.9 (30.0-62.7) | 41.5 (32.7-57.5) | 40.2 (31.9-54.0) | <0.0001 | 0.0001 | <0.0001 | 1.9 (-7.8-28.2) | 2.1 (-7.8-28.2) | 1.9 (0.2-9.0) | 0.3434 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 41.6 (32.6-53.2) | 40.5 (29.8-55.1) | 43.4 (33.7-53.2) | 45.2 (33.6-55.1) | 40.0 (32.6-48.8) | 37.0 (29.8-46.4) | 0.0001 | 0.1062 | 0.0002 | 1.5 (-15.4-10.9) | 0.8 (-15.4-4.7) | 1.8 (-3.8-10.9) | 0.0269 |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 51.7 (31.9-100.2) | 48.8 (29.2-97.6) | 48.9 (31.9-100.2) | 49.1 (29.2-97.6) | 55.2 (34.4-88.7) | 48.6 (33.0-85.3) | <0.0001 | 0.0001 | <0.0001 | 3.6 (-16.2-15.1) | 3.4 (-16.2-11.7) | 4.9 (-2.3-15.1) | 0.1799 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 18.5 (6.0-40.0) | 18.0 (5.0-36.0) | 13.5 (6-25) | 13 (5-25) | 24.0 (17.0-40.0) | 22.0 (15.0-36.0) | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 1.0 (-1.0-4.0) | 1.0 (0-3.0) | 2.0 (-1.0-4.0) | <0.0001 |
| Masa mięśniowa, kg | 70.3 (31.7-95.6) | 70.0 (47.94.1) | 59.4 (48.9-84.7) | 58.7 (47.0-75.5) | 80.25 (31.7-95.6) | 81.9 (60.5-94.1) | 0.001 | 0.0003 | 0.2312 | 1.2 (-5.7-9.2) | 1.5 (-1.3-1.5) | 0.9 (-5.7-0.9) | 0.1629 |
| Nawodnienie (TBW), % | 41.3 (33.4-48.6) | 40.5 (29.9-55.1) | 43.5 (33.7-53.2) | 45.2 (33.6-55.1) | 39.95 (32.6-48.8) | 37.0 (29.8-46.4) | <0.0001 | 0.01 | 0.001 | -1.2 (-13.2-41.4) | -0.5 (-4.1-41.1) | -2.0 (-13.2-2.3) | 0.0346 |
| CRP, mg/l | 6.3 (0.4-16.2) | 4.6 (0.3-28.9) | 7.9 (0.4-16.2) | 4.8 (0.3-16.9) | 4.0 (0.6-11.5) | 4.0 (0.5-28.9) | 0.4614 | 0.4637 | 0.8551 | 0.3 (-22.4-9.1) | 0.5 (-10.3-9.1) | 0.2 (-22.4-4.4) | 0.5242 |
| Cholesterol całkowity, mg/dl | 180.5 (106.0-274.0) | 166.5 (87.0-266.0) | 178.5 (112.0-267.0) | 172.0 (131.0-266.0) | 182.0 (106.0-274.0) | 143.0 (87.0-262.0) | 0.0244 | 0.2672 | 0.0523 | 3.5 (-266.0-129.0) | -1.0 (-266.0-39.0) | 13.0 (-117.0-129.0) | 0.3355 |
| HDL, mg/dl | 45.0 (31.0-100.0) | 47.0 (28.0-82.0) | 49.0 (32.0-100.0) | 47.0 (33.0-82.0) | 44.0 (31.0-65.0) | 43.0 (28.0-69.0) | 0.144 | 0.6226 | 0.1206 | 0.5 (-65.0-18.0) | -2.0 (-65.0-18.0) | 1.0 (-33.0-2.0) | 0.423 |
| LDL, mg/dl | 106.8 (37.6-204.0) | 97.9 (39.0-198.0) | 103.5 (56.2-142.3) | 99.9 (63.5-181.0) | 114.9 (37.6-204.0) | 93.5 (39.0-198.0) | 0.2576 | 0.9097 | 0.2101 | 0.6 (-181.0-105.2) | -6.1 (-181.0-81.3) | 5.1 (-54.7-105.2) | 0.0933 |
| Trójglicerydy, mg/dl | 135.0 (50.0-454.0) | 118.0 (38.0-438.0) | 134.0 (50-454.0) | 124.0 (38.0-438.0) | 137.0 (77.0-259.0) | 108.0 (69.0-198.0) | 0.0237 | 0.4863 | 0.0093 | 16.0 (-126.0-208.0) | -3.5 (-126.0-208.0) | 19.5 (-31.0-132.0) | 0.1514 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|--------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
| HbA1c, % | 5.8 (5.0-27.4) | 5.7 (5-5.8) | 5.65 (5.0-13.0) | 5.6 (5.1-3.6) | 6.1 (5.2-9.2) | 5.8 (5.1-7.0) | 0.0053 | 0.1418 | 0.1436 | 0.3 (-0.4-1.1) | 0,1 (-5.6-0.6) | 0.3 (-0.4-1.1) | 0.3081 |
| Glukoza 0', mg/dl | 103.0 (84.0-313.0) | 102.0 (84.0-363.0) | 103.0 (86.0-313.0) | 100.0 (84.0-363.0) | 107.5 (84.0-247.0) | 105.0 (84.0-185.0) | 0.6461 | 0.631 | 0.821 | -1.0 (-50.0-254.0) | 0 (-50.0-30.0) | -1.0 (-22.0-142.0) | 0.7924 |
| Insulina, mU/ml | 18.0 (5.8-88.8) | 22.1 (6.2-41.7) | 16.9 (5.8-58.29) | 17.69 (6.2-41.69) | 23.3 (7.3-88.8) | 25.3 (11.1-39.8) | 0.0799 | 0.3804 | 0.0781 | -0.51 (-39.8-30.3) | -0.51 (-22.5-30.2) | 1.0 (-39.8-11.6) | 0.849 |
| HOMA-IR | 5.4 (1.5-49.3) | 5.5 (1.6-10.9) | 4.1 (1.5-26.5) | 4.0 (1.6-10.9) | 5.8 (1.5-49.3) | 7.8 (3.1-10.4) | 0.0934 | 0.6953 | 0.0625 | -0.5 (-10.4-9.0) | -0.6 (-5.4-9.0) | 0.3 (-10.4-2.7) | 0.4262 |

Tabela 14. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej wg płci, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Mann–Whitney test, Student's t-test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Parametr | Kobiety przed, n=25 (K1) | Mężczyźni przed, n=24 (M1) | Kobiety, po n=25 (K2) | Mężczyźni po, n=24 (M2) | K1 vs M1 p | K2 vs M2 p |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|
| Masa ciała, kg | 112.5 (89.2-189.4) | 142.0 (103.3-189.2) | 109.3 (84.6- 177.1) | 135.6 (98.0-184.2) | 0.0013 | 0.0015 |
| BMI, kg/m ² | 41.6 (32.2-67.1) | 41.5 (32.7-57.5) | 40.9 (30.0-62.7) | 40.2 (31.9-54.0) | 0.7336 | 0.8273 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 43.4 (33.7-53.2) | 40.0 (32.6-48.8) | 45.2 (33.6-55.1) | 37.0 (29.8-46.4) | 0.0076 | 0.0001 |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 48,85 (31.9-100.2) | 55.2 (34.4-88.7) | 49.1 (29.2-97.6) | 48.6 (33.0-85.3) | 0.8729 | 0.9122 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 13.5 (6-25) | 24.0 (17.0-40.0) | 13 (5-25) | 22.0 (15.0-36.0) | <0.0001 | <0.0001 |
| Masa mięśniowa, kg | 59.4 (48.9-84.7) | 80.25 (31.7-95.6) | 58.7 (47.0-75.5) | 81.9 (60.5-94.1) | <0.0001 | <0.0001 |
| Nawodnienie (TBW), % | 43.5 (33.7-53.2) | 39.95 (32.6-48.8) | 45.2 (33.6-55.1) | 37.0 (29.8-46.4) | <0.0001 | <0.0001 |

Tabela 15. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej z podziałem wg chronotypu, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Wilcoxon test, Mann-Whitney test dla ΔS vs. ΔW

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Parametr | Wszyscy przed, n=49 | Wszyscy po, n=49 | Skowronki przed, n=36 (S1) | Skowronki po, n=36 (S2) | Wieczorny przed, n=13 (W1) | Wieczorny po, n=13 (W2) | Wszyscy przed i po p | S1 vs S2 p | W1 vs W2 p | Δ Wszyscy | Δ Skowronki (S) | Δ Wieczorny (W) | ΔS vs ΔW p |
|---------------------------|---------------------|--------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------|------------|------------|---------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|
| Masa ciała, kg | 130.2 (89.2-189.4) | 125.8 (84.6-184.2) | 128.0 (89.2-189.4) | 121.9 (84.6-184.2) | 132.7 (103.3-170.3) | 128.1 (98.0-159.8) | <0.0001 | <0.0001 | 0.0002 | 5.3 (0.4-12.5) | 5.4 (1.6-12.5) | 5.1 (0.4-10.5) | 0.3738 |
| BMI, kg/m ² | 41.5 (32.2-67.1) | 40.8 (30.0-62.7) | 41.3 (32.2-67.1) | 40.8 (30.0-62.7) | 43.4 (32.7-64.0) | 39.7 (31.9-54.0) | <0.0001 | <0.0001 | 0.0002 | 1.9 (-7.8-28.2) | 2.1 (-7.8-9.0) | 1.7 (0.2-28.2) | 0.4125 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 41.6 (32.6-53.2) | 40.5 (29.8-55.1) | 42.0 (33.6-53.2) | 41.0 (29.8-55.1) | 40.1 (32.6-48.8) | 38.1 (29.8-50.8) | 0.0001 | 0.0012 | 0.0771 | 1.5 (-15.4-10.9) | 1.5 (-13.5-10.9) | 1.6 (-15.4-8.9) | 0.6679 |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 51.7 (31.9-100.2) | 48.8 (29.2-97.6) | 51.0 (31.9-100.2) | 49.0 (29.2-97.6) | 53.7 (34.4-83.1) | 48.4 (34.3-74.1) | <0.0001 | <0.0001 | 0.0005 | 3.6 (-16.2-15.1) | 3.6 (-16.2-15.1) | 3.5 (-0.04-9.0) | 0.9392 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 18.5 (6.0-40.0) | 18.0 (5.0-36.0) | 18.0 (6.0-38.0) | 16.0 (6.0-35.0) | 21.0 (8.0-40.0) | 20.0 (8.0-36.0) | <0.0001 | <0.0001 | 0.0059 | 1.0 (-1.0-4.0) | 1.0 (0-4.0) | 1.0 (-1.0-4.0) | 0.9811 |
| Masa mięśniowa, kg | 70.3 (31.7-95.6) | 70.0 (47.94.1) | 70.1 (31.7-95.6) | 69.8 (47.0-94.1) | 72.5 (59.5-90.0) | 72.3 (58.7-89.0) | 0.001 | 0.0014 | 0.3054 | 1.2 (-57.7-9.2) | 1.3 (-57.7-1.25) | 1.0 (-7.8-5.0) | 0.4405 |
| Nawodnienie (TBW), % | 41.3 (33.4-48.6) | 40.5 (29.9-55.1) | 42 (33.6-53.2) | 42 (29.8-55.1) | 40.1 (32.6-48.8) | 38.1 (29.8-50.8) | <0.0001 | 0.0014 | 0.0156 | -1.2 (-13.2-41.4) | -1 (-13.2-41.4) | -1.3 (-7.6-2.3) | 0.3548 |
| HDL, mg/dl | 45.0 (31.0-100.0) | 47.0 (28.0-82.0) | 45.0 (31.0-100.0) | 46.5 (28.0-82.0) | 46.0 (33.0-77.0) | 47.0 (32.0-55.0) | 0.144 | 0.2553 | 0.5313 | 0.5(65.0-18.0) | -1.0 (-65.0-18.0) | 0.5 (-45.0-8.0) | 0.8081 |
| LDL, mg/dl | 106.8 (37.6-204.0) | 97.9 (39.0-198.0) | 106.6 (44.7-204.0) | 97.9 (42.7-198.0) | 106.8 (37.6-146.3) | 91.4 (39.0-181.0) | 0.2576 | 0.6385 | 0.3008 | 0.6 (-181.0-105.2) | -0.4 (-165.1-105.2) | 8.3 (-181.0-81.3) | 0.3416 |
| Trójglicerydy, mg/dl | 135.0 (50.0-454.0) | 118.0 (38.0-438.0) | 135.0 (50.0-454.0) | 117.0 (38.0-327.0) | 138.5 (69.0-201.0) | 138.0 (77.0-438.0) | 0.0237 | 0.0901 | 0.1289 | 16.0 (-126.0-208.0) | 16.0 (-106.0-208.0) | 16.0 (-126.0-79.0) | 0.6247 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|---------------|---------|--------------------|-------------------|------------------|--------|
| HbA1c, % | 5.8 (5.0-27.4) | 5.7 (5-5.8) | 5.7 (5.0-8.0) | 5.6 (5.1-8.1) | 6.1 (5.3-13.0) | 5.8 (5.2-12.4) | 0.0053 | 0.0525 | 0.3125 | 0.3 (-0.4-1.1) | 0.2 (-5.6-1.1) | 0.3 (-0.1-0.3) | 0.6323 |
| Glukoza 0', mg/dl | 103.0 (84.0-313.0) | 102.0 (84.0-363.0) | 103.0 (84.0-247.0) | 101.0 (84.0-125.0) | 108.0 (88.0-313.0) | 116.0 (89.0-363.0) | 0.6461 | 0.3889 | 0.5234 | -1.0 (-50.0-254.0) | -1.0 (-22.0-142) | -1.5 (-50-26) | 0.2536 |
| Insulina, mU/ml | 18.0 (5.8-88.8) | 22.1 (6.2-41.7) | 21.2 (5.8-88.8) | 18.8 (6.2-42.0) | 15.8 (8.5-34.3) | 25.3 (11.1-39.8) | 0.0799 | 0.0353 | >0.9999 | -0.51 (-39.8-30.3) | -0.4 (-22.5-30.3) | -7.2 (-39.6-2.5) | 0.1212 |
| HOMA-IR | 5.4 (1.5-49.3) | 5.5 (1.6-10.9) | 5.39 (1.5-49.3) | 4.8 (1.6-10.9) | 4.7 (1.9-26.5) | 7.9 (4.9-10.3) | 0.0934 | 0.0494 | 0.7796 | -0.5 (-10.4-9.0) | -0.1 (-10.4-9.0) | -5.4 (-10.3-1.4) | 0.12 |

Tabela 16. Charakterystyka antropometryczna i metaboliczna grupy badanej (n=49) uwzględniająca zmiany pomiarowe przed i po restrykcji kalorycznej z podziałem wg chronotypu. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Parametr | Skowronki przed, n=36 (S1) | Wieczorny przed, n=13 (M1) | Skowronki, n=36 (S2) | Wieczorny po, n=13 (M2) | S1 vs W1 p | S2 vs W2 p |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|-------------------------|------------|------------|
| Wiek, lata | 46.5 (31.0-68.0) | 54.0 (26.0-70.0) | | | 0.7838 | |
| Masa ciała, kg | 128.0 (89.2-189.4) | 132.7 (103.3-170.3) | 121.9 (84.6-184.2) | 128.1 (98.0-159.8) | 0.3444 | 0.3494 |
| BMI, kg/m ² | 41.3 (32.2-67.1) | 43.4 (32.7-64.0) | 40.8 (30.0-62.7) | 39.7 (31.9-54.0) | 0.1610 | 0.3336 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 42.0 (33.6-53.2) | 40.1 (32.6-48.8) | 42.0 (29.8-55.1) | 38.1 (29.8-50.8) | 0.3649 | 0.4911 |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 51.0 (31.9-100.2) | 53.7 (34.4-83.1) | 49.0 (29.2-97.6) | 48.4 (34.3-74.1) | 0.5254 | 0.3743 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 18.0 (6.0-38.0) | 21.0 (8.0-40.0) | 16.0 (6.0-35.0) | 20.0 (8.0-36.0) | 0.4127 | 0.6052 |
| Masa mięśniowa, kg | 70.1 (31.7-95.6) | 72.5 (59.5-90.0) | 69.8 (47.0-94.1) | 72.3 (58.7-89.0) | 0.2274 | 0.8243 |
| Nawodnienie (TBW), % | 42 (33.6-53.2) | 40.1 (32.6-48.8) | 42 (29.8-55.1) | 38.1 (29.8-50.8) | 0.3109 | 0.6157 |
| CRP, mg/l | 6.3 (0.4-16.2) | 5.3 (1.2-12.2) | 4.8 (0.3-25.8) | 3.5 (0.7-28.9) | 0.0418 | 0.8798 |
| Cholesterol całkowity, mg/dl | 181.0 (106.0-274.0) | 179.0 (108.0-229.0) | 159.0 (107.0-265.0) | 173.0 (87.0-266.0) | 0.7404 | 0.7744 |
| HDL, mg/dl | 45.0 (31.0-100.0) | 46.0 (33.0-77.0) | 46.5 (28.0-82.0) | 47.0 (32.0-55.0) | 0.6734 | 0.8637 |
| LDL, mg/dl | 106.6 (44.7-204.0) | 106.8 (37.6-146.3) | 97.9 (42.7-198.0) | 91.4 (39.0-181.0) | 0.88 | 0.8797 |
| Trójglicerydy, mg/dl | 135.0 (50.0-454.0) | 138.5 (69.0-201.0) | 117.0 (38.0-327.0) | 138.0 (77.0-438.0) | 0.8152 | 0.4947 |
| HbA1c, % | 5.7 (5.0-8.0) | 6.1 (5.3-13.0) | 5.6 (5.1-8.1) | 5.8 (5.2-12.4) | 0.1969 | 0.8416 |
| Glukoza 0', mg/dl | 103.0 (84.0-247.0) | 108.0 (88.0-313.0) | 101.0 (84.0-125.0) | 116.0 (89.0-363.0) | 0.1492 | 0.0629 |
| Insulina, mU/ml | 21.2 (5.8-88.8) | 15.8 (8.5-34.3) | 18.8 (6.2-42.0) | 25.3 (11.1-39.8) | 0.7068 | 0.2495 |
| HOMA-IR | 5.39 (1.5-49.3) | 4.7 (1.9-26.5) | 4.8 (1.6-10.9) | 7.9 (4.9-10.3) | 0.912 | 0.075 |

4. Parametry składu ciała a badania biochemiczne krwi

Stwierdzono silny związek pomiędzy masą ciała a stężeniem insuliny ($r=0.6455$; $p=0.0001$), HOMA-IR ($r=0.6473$; $p=0.0001$) oraz słaby ujemny cholesterolu frakcji HDL ($r=-0.3363$; $p=0.0294$). Zauważono także słabą korelację redukcji masy ciała ze stężeniem insuliny ($r=0.4121$; $p=0.0237$), HOMA-IR ($r=0.4334$; $p=0.0167$) oraz cholesterolu frakcji HDL ($r=-0.3551$; $p=0.0227$) (Tab. 17).

Zaobserwowano dodatnie niskie oraz umiarkowane korelacje pomiędzy BMI a tężeniem glukozy ($r=0.3054$; $p=0.0414$), insuliny ($r=0.5428$; $p=0.0019$), HOMA-IR ($r=0.590$; $p=0.0006$) oraz hemoglobiny glikowanej ($r=0.3713$; $p=0.0217$) (Tab. 17).

Procentowa ilość tkanki tłuszczowej dodatnio oraz umiarkowanie korelowała ze stężeniem insuliny ($r=0.3753$; $p=0.0410$), HOMA-IR ($r=0.390$; $p=0.0331$) oraz cholesterolu frakcji HDL ($r=0.3611$; $p=0.0188$). Natomiast ilość tkanki tłuszczowej wyrażona w kilogramach miała wysoki oraz dodatni związek ze stężeniem insuliny ($r=0.6099$; $p=0.0003$) i HOMA-IR ($r=0.6181$; $p=0.0003$) (Tab. 17).

Zawartość trzewnej tkanki tłuszczowej dodatnio oraz umiarkowanie korelowała ze stężeniem glukozy ($r=0.3965$; $p=0.0070$), insuliny ($r=0.4390$; $p=0.0152$), HOMA-IR ($r=0.4591$; $p=0.0107$) oraz hemoglobiny glikowanej ($r=0.4084$; $p=0.0109$) (Tab. 17).

Tabela 17 Korelacje pomiędzy parametrami składu ciała a badaniami biochemicznymi krwi grupy badanej, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Spearman test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Badania biochemiczne krwi | Masa ciała, kg | | Δ Masa ciała, kg | | BMI, kg/m ² | | Tkanka tłuszczowa, % | | Tkanka tłuszczowa, kg | | Trzewna tkanka tłuszczowa | |
|-------------------------------------|----------------|---------------|-------------------------|---------------|------------------------|---------------|----------------------|---------------|-----------------------|---------------|---------------------------|---------------|
| | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p | r | p |
| Glukoza, mg/dl | 0.1755 | 0.2488 | 0.1585 | 0.3041 | 0.3054 | 0.0414 | 0.1167 | 0.4452 | 0.1505 | 0.3237 | 0.3965 | 0.0070 |
| Insulina, mU/ml | 0.6455 | 0.0001 | 0.4121 | 0.0237 | 0.5428 | 0.0019 | 0.3753 | 0.0410 | 0.6099 | 0.0003 | 0.4390 | 0.0152 |
| HOMA-IR | 0.6473 | 0.0001 | 0.4334 | 0.0167 | 0.590 | 0.0006 | 0.390 | 0.0331 | 0.6181 | 0.0003 | 0.4591 | 0.0107 |
| HbA1C, % | 0.2234 | 0.1775 | 0.2792 | 0.0942 | 0.3713 | 0.0217 | 0.1434 | 0.3905 | 0.1854 | 0.2651 | 0.4084 | 0.0109 |
| Cholesterol całkowity, mg/dl | -0.2065 | 0.4430 | -0.1838 | 0.4430 | 0.1936 | 0.2251 | 0.1094 | 0.6868 | 0.0332 | 0.8374 | -0.0708 | 0.7946 |
| LDL, mg/dl | -0.0054 | 0.9842 | -0.1443 | 0.9842 | 0.1097 | 0.4947 | 0.1741 | 0.5189 | -0.0139 | 0.9311 | 0.1099 | 0.6853 |
| HDL, mg/dl | -0.3363 | 0.0294 | -0.3551 | 0.0227 | -0.0813 | 0.6087 | 0.3611 | 0.0188 | -0.0660 | 0.6780 | -0.2539 | 0.1048 |
| Trójglicerydy, mg/dl | 0.1236 | 0.4297 | 0.2102 | 0.1815 | 0.1296 | 0.4075 | -0.2488 | 0.1076 | -0.0314 | 0.8415 | 0.0946 | 0.5462 |

5. Długość snu

Za pomocą kwestionariusza pacjenci byli pytani o długość snu w dni robocze oraz w weekendy. Pytania dotyczące ilości snu były pytaniami zamkniętymi, pacjenci mieli do wyboru odpowiedzi dotyczące długości czasu snu: <6h, 7-8h oraz ≥9h.

Wśród całej grupy badanych w dni powszednie aż 53% respondentów śpi 6 h lub mniej, 43% od 7 do 8h a 4% 9h i więcej, natomiast w weekend 51% badanych śpi 6h lub mniej, 37% od 7 do 8h oraz 12% 9h oraz więcej (Ryc. 11 A, Ryc. 11 B).

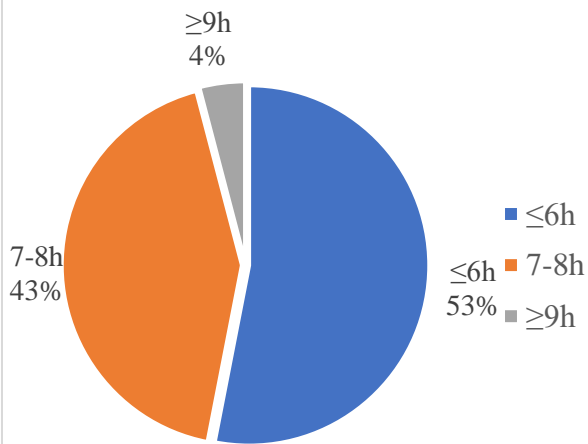
Po podziale grupy badanej ze względu na płeć, wśród kobiet, w tygodniu roboczym 48% śpi 6 h/d lub mniej, 48% od 7 do 8h, a 4% 9h i więcej, z kolei w weekend 16% śpi 6h lub mniej, 72% od 7 do 8h oraz 12% 9h oraz więcej (Ryc. 11 C, Ryc. 11 D).

W grupie mężczyzn w dni powszednie 54% śpi 6 h lub mniej, 42% od 7 do 8h, a 4% 9h i więcej, natomiast w weekend 21% śpi 6h lub mniej, 71% od 7 do 8h oraz 8% 9h oraz więcej (Ryc. 11 E, Ryc. 11 F).

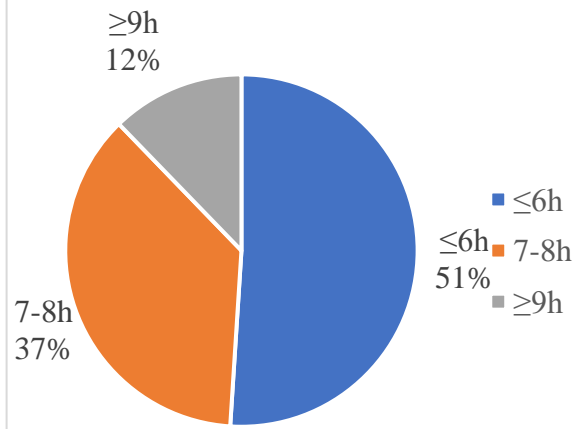
Wśród skowronków w tygodniu roboczym 53% śpi 6 h lub mniej, 44% od 7 do 8h, a 3% 9h/d i więcej, natomiast w weekend 22% śpi 6h lub mniej, 70% od 7 do 8h oraz 8% 9h oraz więcej (Ryc. 11 G, Ryc. 11 H).

W grupie osób o chronotypie wieczornym w dni powszednie 46% śpi 6 h lub mniej, 46% od 7 do 8h, a 8% 9h i więcej, z kolei w weekend 8% śpi 6h lub mniej, 69% od 7 do 8h oraz 23% 9h oraz więcej (Ryc. 11 I, Ryc. 11 J).

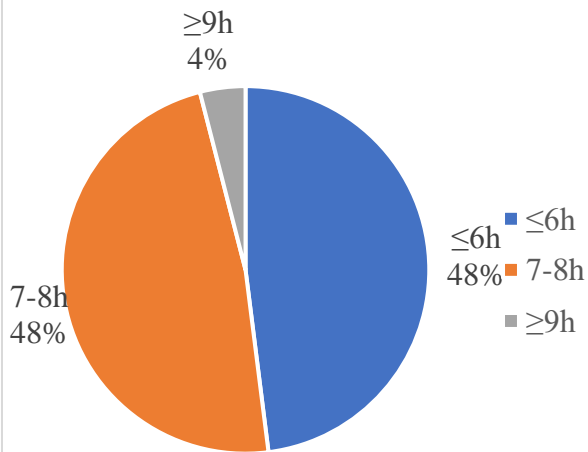
Długość snu - dni powszednie,
wszyscy (n=49)



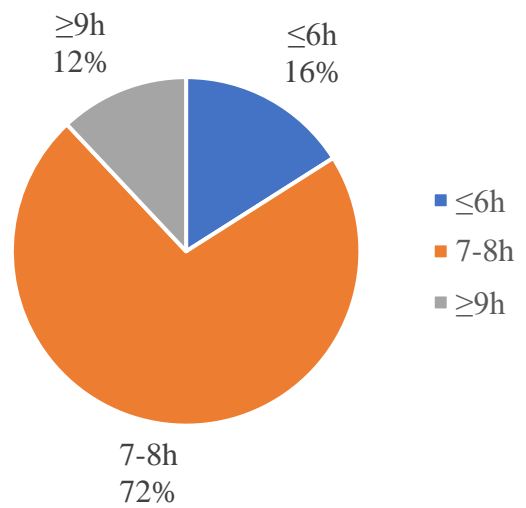
Długość snu - weekend,
wszyscy (n=49)



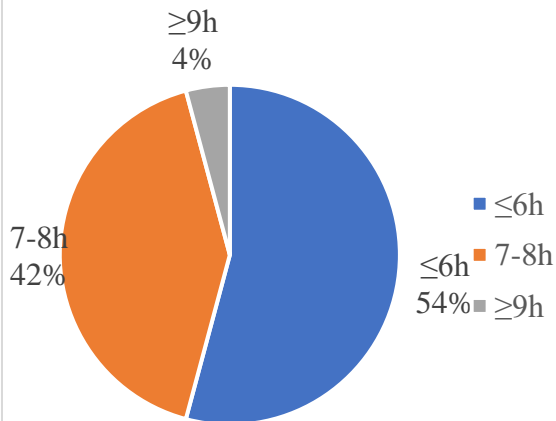
Długość snu - dni powszednie,
kobiety (n=25)



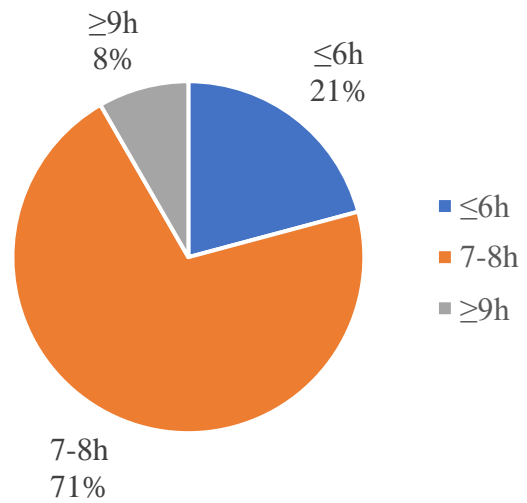
Długość snu - weekend,
kobiety (n=25)



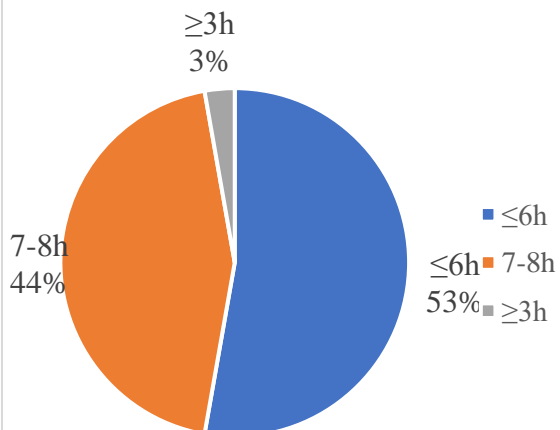
Długość snu - dni
powszednie, mężczyźni
(n=24)



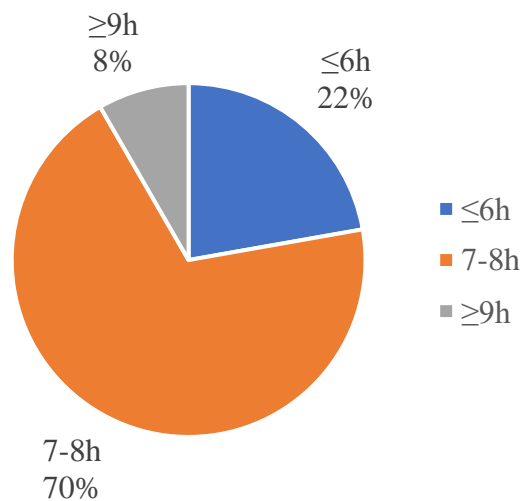
Długość snu - weekend,
mężczyźni (n=24)

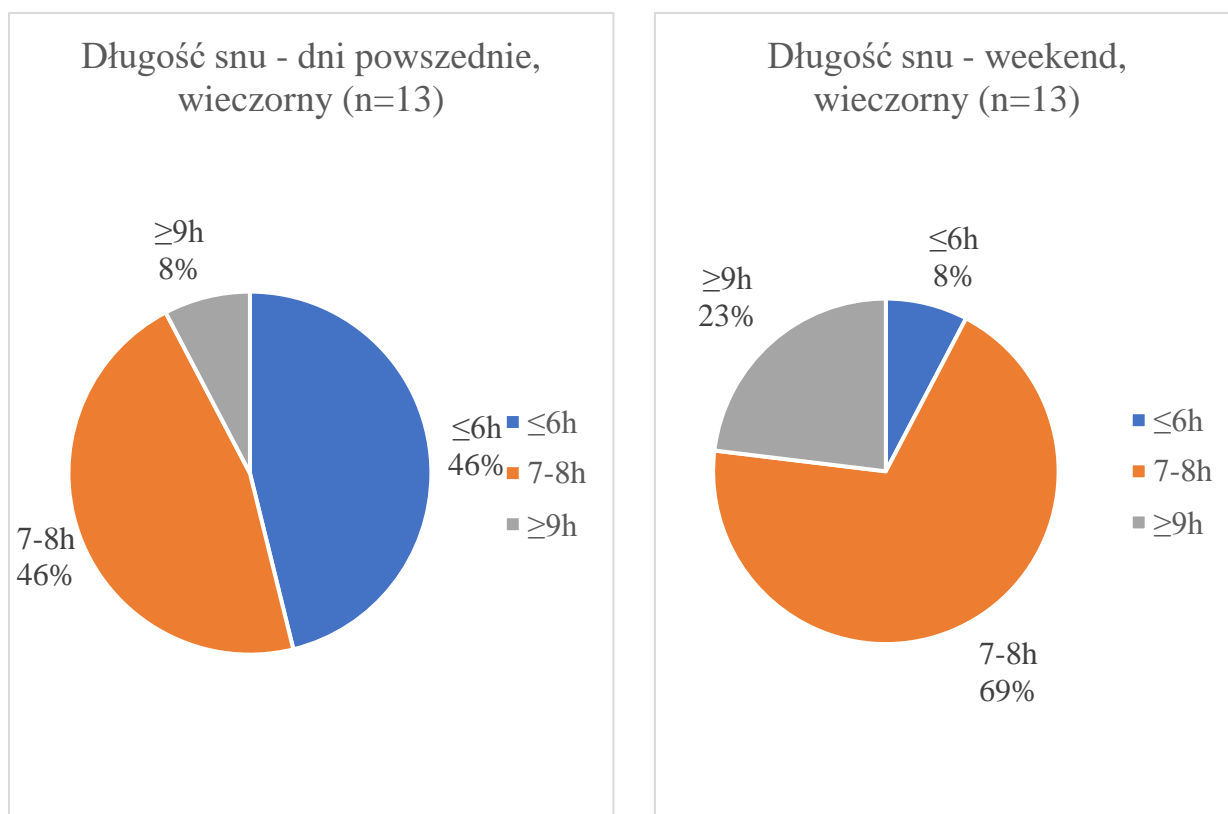


Długość snu - dni
powszednie, skowronki
(n=36)



Długość snu - weekend,
skowronki (n=36)





Rycina 11 Długość snu. A. dni powszednie, wszyscy (n=49); B. weekend, wszyscy (n=49); C. dni powszednie, kobiety (n=25); D. weekend, kobiety (n=25); E. dni powszednie, mężczyźni (n=24); F. weekend, mężczyźni (n=24); G. dni powszednie, skowronki (n=36); weekend; H. skowronki (n=36); I. dni powszednie, wieczorny (n=13); J. weekend, wieczorny (n=13).

5.1. Stężenie kortyzolu a długość snu

W tabeli przedstawiono stężenie kortyzolu w zależności od długości snu w dni robocze oraz w weekendy. Nie zauważono różnic w stężeniu kortyzolu w zależności od długości-snu w dni powszednie oraz weekend (Tab. 18).

Tabela 18. Porównanie stężenia kortyzolu pomiędzy długością snu (h) w dni powszednie oraz weekend grupy badanej, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Kruskal-Wallis test.

| Kortyzol, ng/ml | Sen dni powszednie ≤6h | Sen dni powszednie 7-8h | Sen dni powszednie ≥9h | Sen dni weekend ≤6h | Sen dni weekend 7-8h | Sen dni weekend ≥9h | Sen dni powszednie (h) p | Sen weekendy (h) p |
|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------------|--------------------|
| DZIEŃ I 08:00 | 9.3 (1.6-25.2) | 8.0 (0.4-30.0) | 15.3 (9.1-21.5) | 6.6 (1.6-13.5) | 9.0 (0.4-30.0) | 9.1 (7.7-21.5) | 0.5885 | 0.4087 |
| DZIEŃ I 11:00 | 5.0 (1.5-17.6) | 3.8 (0.7-10.2) | 3.4 (3.1-3.6) | 4.2 (1.5-13.6) | 4.6 (0.7-17.6) | 3.3 (2.6-6.6) | 0.2612 | 0.2592 |
| DZIEŃ I 13:00 | 6.5 (1.0-14.1) | 6.1 (0.7-14.3) | 10.7 (8.6-12.7) | 6.7 (2.7-14.1) | 6.0 (0.7-14.4) | 8.6 (3.0-12.7) | 0.2024 | 0.2675 |
| DZIEŃ I 16:00 | 3.8 (1.6-18.6) | 2.7 (0.6-10.5) | 2.3 (2.2-2.5) | 3.8 (2.6-4.7) | 3.0 (0.6-18.6) | 2.5 (2.2-5.0) | 0.1169 | 0.4180 |
| DZIEŃ I 19:00 | 2.5 (1.0-8.1) | 2.1 (0.8-4.5) | 3.3 (2.3-4.3) | 2.4 (1.5-4.3) | 2.3 (0.8-8.1) | 2.1 (0.9-4.3) | 0.4070 | 0.9173 |
| DZIEŃ I 21:00 | 1.9 (0.6-10.1) | 1.5 (0.6-5.1) | 1.5 (1.4-1.6) | 1.9 (0.6-7.1) | 1.6 (0.6-10.1) | 1.3 (0.6-2.0) | 0.1706 | 0.2138 |
| DZIEŃ I 24:00 | 1.8 (1.0-7.4) | 1.4 (0.8-30.0) | 1.1 (1.0-1.1) | 3.0 (1.2-4.9) | 1.7 (0.8-30.0) | 1.1 (0.9-7.6) | 0.0535 | 0.0608 |
| DZIEŃ I 03:00 | 4.3 (1.4-14.9) | 3.7 (0.6-17.0) | 2.4 (1.5-3.4) | 4.8 (1.5-11.0) | 3.7 (0.6-14.9) | 3.5 (1.5-17.0) | 0.4110 | 0.6086 |
| DZIEŃ I 05:00 | 6.7 (0.1-30.0) | 6.3 (0.5-16.5) | 6.0 (5.4-6.5) | 7.1 (3.0-30.0) | 6.3 (0.1-16.5) | 6.7 (2.6-8.0) | 0.9053 | 0.7644 |
| DZIEŃ II 08:00 | 11.6 (3.5-30.0) | 11.0 (0.8-30.0) | 11.0 (6.8-15.1) | 9.0 (3.5-16.1) | 11.6 (0.8-30.0) | 14.3 (6.8-18.7) | 0.6797 | 0.2485 |
| DZIEŃ II 11:00 | 3.8 (2.1-14.3) | 4.4 (0.8-17.0) | 4.4 (4.1-4.6) | 3.7 (2.4-7.1) | 4.1 (0.8-17.0) | 4.9 (3.7-6.5) | 0.6621 | 0.3431 |
| DZIEŃ II 13:00 | 4.0 (2.1-13.2) | 3.4 (0.8-7.3) | 3.8 (2.8-4.8) | 3.8 (2.4-5.0) | 3.8 (0.8-13.2) | 4.1 (1.8-6.9) | 0.3169 | 0.9762 |
| DZIEŃ II 16:00 | 3.7 (1.7-8.6) | 3.4 (0.6-4.9) | 3.4 (2.9-3.8) | 3.9 (2.6-5.0) | 3.2 (0.6-8.6) | 3.8 (2.9-3.9) | 0.4727 | 0.5927 |
| DZIEŃ II 19:00 | 2.4 (1.1-9.1) | 2.0 (0.7-4.8) | 2.0 (1.6-2.3) | 2.6 (1.3-5.2) | 2.1 (0.7-9.1) | 2.1 (0.7-4.8) | 0.4985 | 0.4710 |
| DZIEŃ II 21:00 | 2.0 (1.0-14.4) | 1.5 (0.5-3.9) | 1.5 (1.4-1.6) | 2.0 (1.0-14.4) | 1.5 (0.9-12.7) | 1.6 (0.5-3.4) | 0.2225 | 0.6709 |
| DZIEŃ II 24:00 | 2.7 (0.9-9.1) | 2.7 (0.4-16.1) | 2.1 (1.4-3.0) | 2.7 (1.6-6.4) | 2.7 (0.4-10.1) | 1.4 (0.9-16.1) | 0.5908 | 0.3695 |
| DZIEŃ II 03:00 | 5.8 (2.1-11.5) | 4.7 (1.1-27.5) | 4.7 (4.0-5.5) | 5.8 (2.1-11.4) | 5.3 (1.1-11.5) | 4.2 (2.5-27.5) | 0.5624 | 0.5676 |
| DZIEŃ II 05:00 | 7.3 (3.4-18.8) | 7.0 (1.3-30.0) | 6.6 (5.3-7.8) | 7.5 (3.4-10.6) | 7.0 (1.2-30.0) | 12.0 (5.3-18.4) | 0.8557 | 0.2549 |
| DZIEŃ III 08:00 | 12.0 (2.7-30.0) | 11.0 (1.0-30.0) | 8.5 (5.0-11.9) | 10.5 (5.4-30.0) | 11.8 (1.0-30.0) | 12.7 (5.0-30.0) | 0.3233 | 0.7694 |
| DZIEŃ III 11:00 | 4.7 (2.5-30.0) | 5.2 (1.7-28.5) | 7.3 (5.0-9.7) | 5.1 (2.6-11.1) | 5.2 (1.7-30.0) | 4.7 (3.3-9.8) | 0.7241 | 0.9190 |
| DZIEŃ III 13:00 | 4.6 (2.9-30.0) | 5.5 (1.4-18.6) | 11.3 (4.0-18.6) | 4.6 (3.6-14.4) | 5.5 (1.3-30.0) | 4.6 (3.8-18.6) | 0.7111 | 0.8739 |
| DZIEŃ III 16:00 | 4.2 (2.2-30.0) | 3.4 (1.5-27.7) | 4.4 (3.4-5.5) | 4.1 (2.2-5.9) | 3.9 (1.5-27.7) | 3.3 (2.7-5.5) | 0.5125 | 0.7645 |
| DZIEŃ III 19:00 | 2.3 (1.2-5.1) | 1.9 (0.01-6.4) | 1.9 (1.9-2.0) | 2.5 (1.8-5.1) | 2.0 (0.1-6.4) | 1.9 (0.8-4.2) | 0.2274 | 0.0787 |
| DZIEŃ III 21:00 | 2.3 (0.7-12.7) | 1.5 (1.0-3.7) | 1.4 (1.2-1.6) | 2.3 (1.4-7.0) | 1.5 (0.1-12.7) | 1.4 (1.0-3.7) | 0.1382 | 0.2391 |
| DZIEŃ III 24:00 | 2.0 (1.1-6.8) | 1.9 (1.0-15.0) | 1.6 (1.2-2.0) | 2.5 (1.5-6.8) | 2.0 (1.0-15.0) | 1.4 (1.0-2.6) | 0.4593 | 0.0955 |

5.2. Parametry składu ciała oraz biochemiczne krwi a długość snu.

Zbadano czy w zależności od długości snu u badanych występują różnice w składzie ciała i w parametrach biochemicznych krwi. U osób, które śpią ≥ 9 h dziennie w dni powszednie masa ciała, BMI, zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach oraz wisceralnej tkanki tłuszczowej, miały najwyższe wartości.

Masa ciała istotnie różniła się między grupami ($p=0.0168$) u osób śpiących 9h i więcej była 33% wyższa od śpiących 7-8h ($p=0.0322$). BMI także różniło ($p=0.0268$) pomiędzy grupami. Podobnie zawartość tkanki tłuszczowej wyrażona w kilogramach także różniła się pomiędzy grupami ($p=0.0212$). U śpiących ≥ 9 h była o 30% wyższa od śpiących 7-8h ($p=0.0241$). Z kolei zawartości wisceralnej tkanki tłuszczowej była inna pomiędzy grupami ($p=0.008$), u osób śpiących ≥ 9 h była wyższa odpowiednio o 36% ($p=0.011$) w porównaniu do śpiących 7-8h. Nie dostrzeżono istotnych różnic dla parametrów biochemicznych krwi (Tab.19).

Długość snu w weekend także wykazywała wpływ na parametry składu ciała, a różnice dotyczyły BMI, zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach oraz procentach. Podobnie jak dla rezultatów zaobserwowanych w dni robocze, najwyższe wartości w badanych parametrach składu ciała również dotyczyły badanych, którzy śpią ≥ 9 h dziennie.

BMI istotnie różniło się pomiędzy grupami ($p=0.0488$). Procentowa zawartość tkanki tłuszczowej także różniła ($p=0.0302$) się pomiędzy grupami, u osób śpiących ≥ 9 h była wyższa o 15% w porównaniu do śpiących 7-8h ($p=0.0269$). Ilość tkanki tłuszczowej wyrażona w kilogramach także istotnie różniła się między grupami ($p=0.0269$), była wyższa u śpiących ≥ 9 h/d o 30% od śpiących 7-8h ($p=0.0317$). Tutaj również nie zauważono istotnych różnic dla parametrów badań biochemicznych krwi (Tab. 20).

Tabela 19. Porównanie pomiędzy długością snu w dni powszednie, a składem ciała oraz parametrami biochemicznymi krwi, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Kruskal-Wallis test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Parametr | Sen dni powszednie (SP1) $\leq 6h$ | Sen dni powszednie (SP2) 7-8h | Sen dni powszednie (SP3) $\geq 9h$ | Sen dni powszednie p | SP1 vs SP2 | SP1 vs SP3 | SP2 vs SP3 |
|------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|----------------------|------------|------------|---------------|
| Masa ciała, kg | 131.9 (89.2-189.4) | 114.1 (89.6-170.2) | 169.6 (150-189.2) | 0.0168 | 0.1299 | 0.1721 | 0.0322 |
| BMI, kg/m^2 | 45.1 (33.0-67.1) | 39.7 (32.2-64.0) | 55.2 (55.0-55.3) | 0.0268 | 0.2530 | 0.2706 | 0.0522 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 41.0 (33.6-53.2) | 41.8 (32.6-52.2) | 48.5 (46.9-50.1) | 0.2265 | ns | ns | ns |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 56.9 (34.2-100.2) | 50.1 (31.9-83.1) | 81.9 (75.1-88.7) | 0.0212 | 0.2911 | 0.0951 | 0.0241 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 23.0 (8.0-35.0) | 17.0 (6.0-40.0) | 26.5 (16.0-35.0) | 0.008 | 0.1583 | 0.0672 | 0.011 |
| Glukoza, mg/dl | 103.0 (84.0-313.0) | 105.0 (91.0-247.0) | 103.0 (103.0-103.0) | 0.7833 | ns | ns | ns |
| Insulina mU/ml | 16.9 (7.3-88.0) | 19.6 (5.8-36.1) | 58.3 (58.3-58.3) | 0.2937 | ns | ns | ns |
| HOMA-IR | 4.1 (1.4-49.3) | 5.6 (1.5-10.0) | 14.8 (14.8-14.8) | 0.3434 | ns | ns | ns |
| HbA1C, % | 6.0 (5.0-13.0) | 5.7 (5.2-7.5) | 5.4 (5.4-5.4) | 0.5252 | ns | ns | ns |
| Cholesterol całkowity, mg/dl | 183.0 (106.0-274.0) | 178.0 (112.0-255) | 181.0 (155.0-207.0) | 0.9313 | ns | ns | ns |
| LDL, mg/dl | 106.0 (37.6-204.0) | 107.6 (56.4-168.5) | 96.4 (65.7-127.0) | 0.9179 | ns | ns | ns |
| HDL, mg/dl | 44.5 (31.0-74.0) | 44.0 (34.0-100.0) | 62.0 (59.0-65.0) | 0.1812 | ns | ns | ns |
| Trójglicerydy, mg/dl | 133.0 (50.0-454.0) | 140.5 (54.0-332.0) | 113.5 (78.0-149.0) | 0.8344 | ns | ns | ns |

Tabela 20. Porównanie pomiędzy długością snu w weekend, a składem ciała oraz parametrami biochemicznymi krwi, n=49. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0.05$; Kruskal-Wallis test.

Skróty zostały wyjaśnione w wykazie skrótów str. 7-8

| Parametr | Sen weekend (SW1) ≤6h | Sen weekend (SW2) 7-8h | Sen weekend (SW3) ≥9h | Sen weekend p | SW1 vs SW2 | SW1 vs SW3 | SW2 vs SW3 |
|---------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------|---------------|---------------|---------------|
| Masa ciała, kg | 133.3 (89.2-189.4) | 121.0 (89.6-183.9) | 149.5 (111.1-189.2) | 0.1319 | ns | ns | ns |
| BMI, kg/m ² | 43.4 (34.0-67.1) | 40.1 (32.2-64.0) | 51.1 (41.3-57.5) | 0.0488 | 0.8582 | 0.6507 | 0,0533 |
| Tkanka tłuszczowa, % | 40.6 (33.6-53.2) | 40.8 (32.6-52.2) | 47.8 (41.9-50.1) | 0.0302 | 0.3027 | 0.5348 | 0.0269 |
| Tkanka tłuszczowa, kg | 56.0 (34.2-100.2) | 50.9 (31.9-87.5) | 71.7 (51.0-88.7) | 0.0269 | 0.6792 | 0.2526 | 0.0317 |
| Trzewna tkanka tłuszczowa | 24.0 (12.0-33.0) | 18.0 (6.0-35.0) | 21.0 (13.0-40.0) | 0.0866 | ns | ns | ns |
| Glukoza, mg/dl | 104.0 (95.0-181.0) | 103.0 (84.0-313.0) | 103.0 (98.0-149.0) | 0.6996 | ns | ns | ns |
| Insulina mU/ml | 17.3 (16.5-53.2) | 17.1 (5.8-88.8) | 29.1 (17.8-58.3) | 0.1566 | ns | ns | ns |
| HOMA-IR | 4.1 (4.1-13.7) | 4.7 (1.5-49.3) | 8.9 (4.5-14.8) | 0.1472 | ns | ns | ns |
| HbA1C, % | 5.6 (5.3-9.2) | 5.9 (5.0-13.0) | 5.7 (5.4-7.5) | 0.9783 | ns | ns | ns |
| Cholesterol całkowity, mg/dl | 190.0 (106.0-242.0) | 180.5 (112.0-274.0) | 179.0 (106.0-202.0) | 0.9267 | ns | ns | ns |
| LDL, mg/dl | 107.8 (37.6-146.3) | 106.0 (56.2-204.0) | 104.5 (65.7-127.1) | 0.9681 | ns | ns | ns |
| HDL, mg/dl | 44.0 (33.0-74.0) | 44.5 (31.0-100.0) | 48.5 (36.0-65.0) | 0.6577 | ns | ns | ns |
| Trójglicerydy, mg/dl | 133.0 (50.0-204.0) | 137.0 (54.0-454.) | 144.0 (78.0-201.0) | 0.7321 | n | ns | ns |

DYSKUSJA

Celem przewodu doktorskiego było określenie, w jakim stopniu jednodniowy post (jednodniowa dieta nisko kaloryczna) modyfikuje okołodobowy rytm kortyzolu u osób otyłych ($BMI > 30.0 \text{ kg/m}^2$) a także ocena czy indywidualny chronotyp ma wpływ na okołodobowy rytm kortyzolu u osób otyłych ($BMI > 30.0 \text{ kg/m}^2$).

Grupę badaną stanowiło 49 osób (25 kobiet oraz 24 mężczyzn). Stężenie kortyzolu zbadano w próbkach śliny, zebranych co 3h, w trakcie 72-godzinnego badania (Ryc. 8, Ryc. 9, Tab. 5). Grupę kontrolną stanowiła grupa badana w dniu przed i po poście (porównywano rytm okołodobowy stężenia kortyzolu w dniu postu vs dzień przed i po poście).

Kortyzol wydzielany jest na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego oraz zgodnie z rytmemi biologicznymi. Jego wydzielanie charakteryzuje się zależnością czasową – posiada zarówno rytm okołodobowy jak i pulsacyjny [158].

W warunkach fizjologicznych stężenie kortyzolu wykazuje wahania okołodobowe, z maksymalnym stężeniem w godzinach rannych, a minimum w godzinach nocnych. Maksymalne stężenie pojawia się pomiędzy g. 06:00 a 08:00 rano, natomiast najniższe jest pomiędzy godziną 23:00 a 04:00 rano [159]. W ciągu 24 godzin zauważa się między 15 a 22 pulsów wydzielniczych kortyzolu [116–118].

U osób otyłych dostrzega się zaburzony okołodobowy rytm kortyzolu [160,161]. W badaniu Al Safi i wsp. (2018) z udziałem otyłych pacjentów zaobserwowano, istotnie wyższe stężenie kortyzolu w porównaniu z osobami o odpowiedniej masie ciała, a ponadto otyłe osoby wykazywały brak spadku stężenia kortyzolu w godzinach wieczornych [160]. Inni badacze w badaniu z udziałem 284 otyłych mężczyzn dostrzegli dwa typy wydzielania kortyzolu – pierwszy polegał na występowaniu wysokiego stężenia porannego i niskiego wieczornego a także wysokiej zmienności stężeń w ciągu doby, natomiast drugi charakteryzował się niskim porannym stężeniem oraz niską zmiennością stężenia w ciągu 24 godzin (po podaniu 0.5 mg deksametazonu) [132]. Wyniki te wyraźnie wskazują na interakcje pomiędzy okołodobową sekrecją kortyzolu związaną z odczuwanym stresem a zmiennymi antropometrycznymi, endokrynologicznymi, metabolicznymi i hemodynamicznymi. Wydaje się to występować przy pozornie prawidłowej regulacji osi HPA

(wysokie poranne szczyty i zmienność stężenia oraz supresja wydzielania kortyzolu przez deksametazon), gdzie inne parametry hormonalne nie są zaburzone. Niska zmienność rytmu stężenia kortyzolu, wskazująca na zaburzenia regulacji osi HPA, była silnie związana z zaburzeniami innych osi w układzie endokrynnym oraz otyłością brzuszną, w tym również z nieprawidłowościami metabolicznymi i hemodynamicznymi.

W badaniu własnym, do oceny rytmu stężenia kortyzolu w trakcie 72 godzin badania zastosowano metodę cosinorową, która podaje trzy parametry charakteryzujące rytm, takie jak MESOR, amplitudę oraz przesunięcie fazowe. Metoda ta jest często stosowana do oceny zmienności rytmów biologicznych [162]. W badaniu Selmaoui i wsp. (2003) z udziałem zdrowych, młodych osób oznaczono rytm stężenia melatoniny i kortyzolu w surowicy krwi i stwierdzono, że zarówno melatonina jak i kortyzol są stabilnymi oraz dobrymi parametrami do oceny rytmów okołodobowych [163].

W badaniu własnym, stwierdzono, różnice w amplitudzie ($p=0.0127$) oraz akrofazie ($p=0.0005$), pomiędzy dniami eksperymentu. Amplituda w dniu postu była o 15% wyższa w porównaniu do dnia pierwszego oraz o 11% ($p=0.224$) wyższa od amplitudy dnia po poście. Wydaje się, iż jednodniowy post powoduje istotne zmiany w różnicy pomiędzy wartością minimalną a maksymalną krzywej rytmu, podobnie zaobserwowano przesunięcie fazy rytmu. Akrofaza w dniu postu była przesunięta o 48 minut wcześniej w porównaniu do dnia pierwszego ($p=0.0064$) oraz o 39 minut od dnia trzeciego ($p=0.0005$). Natomiast dla wartości MESOR nie zaobserwowano różnic pomiędzy dniami (Tab. 6). W badaniu Bergendahl i wsp. (1999), autorzy zauważyli, że post powoduje istotne zwiększenie MESOR (215 ± 12 vs 510 ± 27 nmol/l); ($p < 0.0008$) oraz amplitudy (116 ± 13 vs 170 ± 21 nmol/l) ($p < 0.04$), natomiast nie ma wpływu na akrofazę okołodobowego profilu stężenia kortyzolu w surowicy [21]. W tym badaniu czas trwania postu był tożsamy z badaniem własnym i wynosił również 24 godziny, natomiast grupę badaną stanowili szczupli mężczyźni. W innym badaniu z udziałem 17 osób o prawidłowej masie ciała ($BMI 23.4\pm 0.6$ kg/m²) oraz 16 pacjentów z nadwagą ($BMI 29.5\pm 1.0$ kg/m²) zastosowano 84-godzinny post, a próbki krwi pobierano co 3 godziny. Maksymalne stężenia kortyzolu w surowicy wystąpiły między g. 09:30-13:34 (dni karmienia) i g. 11:16-16:12 (dni postu) ($p < 0.04$). Post zwiększył MESOR rytmu okołodobowego kortyzolu z 215 ± 12 do 510 ± 27 nmol/l ($p < 0.0008$) oraz amplitudę rytmu z 116 ± 13 do 170 ± 21 nmol/l ($p < 0.04$) [164]. W porównaniu do badań własnych występujące różnice

w wynikach (wzrost MESOR rytmu) mogły być związane z czasem trwania postu, (post 5 dni vs. post 1 dzień) oraz inną grupą badaną (zarówno osoby szczupłe jak i otyłe vs. otyłe). Amplituda rytmu natomiast w obu badaniach (Bergendahl i wsp. (1999) oraz własnym) wzrosła.

Po podziale grupy badanej wg płci, uczestniczyło w niej 25 kobiet oraz 24 mężczyzn. Sprawdzone czy rytm kortyzolu różni się w grupie kobiet i mężczyzn. (Tab. 7). Stwierdzono różnice dla amplitudy ($p=0.03$) oraz akrofazy ($p=0.0006$) rytmu w grupie kobiet. Amplituda rytmu w dniu postu była o 12% wyższa w porównaniu do dnia I oraz o 13% wyższa od amplitudy dnia po poście. Akrofaza wystąpiła w dniu postu, o 66 minut wcześniej w porównaniu do dnia pierwszego ($p=0.0008$) oraz o 48 minut wcześniej do dnia trzeciego ($p=0.0374$). Nie pojawiły się różnice pomiędzy wartościami parametru MESOR. Natomiast u mężczyzn nie różnił się żaden z parametrów charakteryzujących rytm (Tab. 7). W badaniu Vance i wsp. (1989) z udziałem 5 szczupłych mężczyzn w wieku od 22 do 28 lat sprawdzano wpływ 5-dniowego postu na wydzielanie kortyzolu, autorzy dostrzegli wyraźne zmiany w ilości i schemacie pulsacyjnego, okołodobowego uwalniania kortyzolu. Amplituda rytmu okołodobowego zmniejszyła się z $160\pm 14\text{nmol/l}$ w dniu 0 do $102\pm 105\text{nmol/l}$ w dniu 5 ($p=0.06$), a amplituda rytmu 12-godzinnego wzrosła z 68 ± 11 do $99\pm 11\text{nmol/l}$ [168]. Obserwowane różnice w wynikach, w porównaniu do badania własnego mogą wynikać z zastosowania dłuższego czasu postu (5 dni) oraz innej grupy badanej (szczupli mężczyźni). Ferrari i wsp. zauważyli wzrost MESOR (15.07 ± 1.34 vs 9.63 ± 0.69) ($p<0.001$) okołodobowego profilu kortyzolu, nie dostrzegli natomiast zmian w akrofazie lub amplitudzie u kobiet z jądłowstrętem psychicznym (63% idealnej masy ciała) w porównaniu z grupą kobiet o prawidłowej masie ciała. Próbkę krwi w tym badaniu były pobierane co 4 godziny [165]. Również w tym badaniu uczestniczyła odmienna grupa badana, która obejmowała tylko kobiety z niedoborem masy ciała.

Podsumowując, zarówno w dostępnej literaturze jak i badaniu własnym dostrzega się różnice w rytmie okołodobowym kortyzolu pomiędzy płciami. Wyniki badań są jednak niejednoznaczne, w niektórych doniesieniach występowało wyższe stężenie kortyzolu u kobiet, w innych u mężczyzn. Jedną z hipotez tłumaczącą te różnice może być odmienność badanego materiału. W badaniach z użyciem surowicy bądź osocza krwi stężenie kortyzolu było wyższe u mężczyzn [166,167], z kolei w przypadku badań z wykorzystaniem śliny zauważono odwrotną zależność [168]. Potwierdzają to wyniki badań Kudelki i wsp. (2004), którzy

wykazali, że podczas gdy całkowite stężenie kortyzolu w osoczu było wyższe u starszych (60-76 lat) kobiet niż u starszych (60-76 lat) mężczyzn, to w przypadku kortyzolu w ślinie występowała istotna odwrotna zależność [169]. Zauważono, iż egzogenne estrogeny przyjmowane przez kobiety zwiększają stężenie globuliny wiążącej kortykosteroidy (CBG), a tym samym zwiększają całkowity poziom kortyzolu we krwi, co mogłoby między innymi tłumaczyć różnice w rytmie okołodobowym pomiędzy płciami [170,171]. Niektóre dodatkowe doniesienia sugerują, że wolny kortyzol może również wzrastać wraz ze stosowaniem tabletek antykoncepcyjnych, prawdopodobnie poprzez zwiększoną podstawową aktywację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza [172,173]. Kolejną z teorii może być odmienność występowania chronotypów w zależności od płci. Część badań wykazała, iż kobiety są bardziej "porannym chronotypem" niż mężczyźni, występuje wcześniejsza faza rytmu ekspresji genów zegara biologicznego oraz krótszy okres rytmu okołodobowego [174–176]. Dostrzega się u kobiet tendencję do wcześniejszego wystąpienia akrofazy okołodobowego rytmu kortyzolu w porównaniu do rytmu kortyzolu u mężczyzn [171]

W badaniu własnym chronotyp poszczególnych osób oceniany był przy pomocy kwestionariusza poranności-wieczorności MEQ, który pozwolił podzielić wszystkich uczestników na typ poranny („skowronek”), wieczorny („sowa”) oraz pośredni [89]. W omawianej analizie aż 73% ankietowanych prezentowało chronotyp poranny, 22% chronotyp pośredni i zaledwie 5% zostało zakwalifikowanych jako sowy. Ze względu na małą liczbę osób o chronotypie wieczornym, osoby prezentujące chronotyp pośredni oraz sowy, zostały połączone w jeden wspólny typ, określony przez nas umownie typem wieczornym [151,153]. Po takim połączeniu skowronki stanowiły 73%, a typ wieczorny 27% ogółu badanych (Ryc. 6). Dostrzeżono różnice akrofazy ($p=0.025$) rytmu w grupie osób z chronotypem porannym. W dniu postu wystąpiła 57 minut wcześniej, w porównaniu do dnia pierwszego ($p=0.0202$) oraz o 42 minuty wcześniej od dnia trzeciego ($p=0.0034$), inne wartości nie wykazały istotnych statystycznie różnic. W grupie osób o chronotypie wieczornym żaden z parametrów nie wykazał istotnej różnicy. Nie wykazano również odrębności w badanych parametrach rytmu, pomiędzy chronotypem porannym i wieczornym (Tab. 8). Toda i wsp. (2012) także nie znaleźli różnic rytmu okołodobowego stężenia kortyzolu między chronotypami „porannym” i „wieczornym”. W badaniu tym brało udział 108 studentów płci męskiej o odpowiedniej masie ciała [177].

Porównano stężenia kortyzolu pomiędzy dniami: poprzedzającym post (dzień I) vs post (dzień II) vs po poście (dzień III) i stwierdzono, że stężenie kortyzolu różniło się o g. 08:00 ($p=0.046$), 13:00 ($p<0.0001$) oraz 24:00 ($p=0.0004$) (Tab. 5). W badaniach Al-Rawi i wsp. (2020) z udziałem 57 otyłych osób, autorzy nie dostrzegli różnic w stężeniu kortyzolu ocenianych przed postem, w porównaniu ze stężeniami ocenianymi po poście [178]. Natomiast Bahijri i wsp. (2013) zaobserwowali zmiany okołodobowego rytmu stężenia kortyzolu u osób praktykujących Ramadan. Przed postem, w grupie badanej zauważono, że stężenie kortyzolu było istotnie wyższe rano niż wieczorem ($p=0.001$), natomiast podczas postu dostrzeżono zmniejszenie porannego stężenia kortyzolu ($p=0.06$) oraz istotne statystycznie spłaszczenie krzywej rytmu kortyzolu ($p=0.004$), a także wieczorną hiperkortyzolemię ($p=0.008$) [179]. Salem i wsp. (2002). także zaobserwował, że w czasie trwania postu Ramadan następuje obniżenie porannego stężenia kortyzolu. Dodatkowo dostrzeżono, że stężenie kortyzolu o g. 20:00 nieznacznie wzrosło w czasie postu ($p=0.08$), jednak pozostawało niższe niż poranne stężenie w czasie postu ($p=0.001$), jak i przed postem ($p<0.001$) [180]. We wszystkich wyżej wymienionych publikacjach opisywano Ramadan, czyli o wiele dłużej trwający post (średnio 28-30 dni) oraz post przerywany. Uczestnicy postu mogli spożywać posiłki tylko po zmierzchu, natomiast w ciągu dnia (przez około 15 godzin) powstrzymywali się od jedzenia oraz picia. Natomiast post w badaniu własnym trwał 24 godziny (1 dzień), a pacjenci mogli przez cały czas pić wodę, w dowolnych ilościach.

Stężenie kortyzolu u mężczyzn było wyższe od stężenia kortyzolu u kobiet, o g. 16:00 w dniu poprzedzającym post (dzień I) różnica wynosiła 32% ($p=0.0045$). Natomiast w dniu postu (dzień II) różnica stanowiła 20% o g. 16:00 ($p=0.0278$), 32% o g. 19:00 ($p=0.0147$) 18% o g. 21:00 ($p=0.0455$). Podobną różnicę zaobserwowano w dniu następnym (dzień III) również o g. 21:00 ($p=0.0292$) (Tab. 9). Analogiczne obserwacje opisał również Wagner M. i wsp. w badaniu z udziałem 434 dzieci (w wieku od 5 do 18 lat). W grupie chłopców zaobserwował wyższe stężenie kortyzolu (6.54pg/mg), a niższe u dziewczynek (3.73pg/mg) ($p<0.05$), co może to wynikać z wyższej zawartości tkanki tłuszczowej u kobiet [181].

Różnice w stężeniu kortyzolu pojawiły się także pomiędzy poszczególnymi chronotypami. „Sowy” miały o 30% wyższe stężenie kortyzolu od osób o preferencjach rannych ($p=0.0214$), różnica ta pojawiła się o g. 21:00, po dniu postu (dzień III) (Tab. 10).

Z kolei Lucassen E.A. i wsp. w badaniach z udziałem 119 otyłych osób nie znaleźli zależności pomiędzy chronotypem a stężeniem kortyzolu zarówno dla porannego stężenia kortyzolu z surowicy ($p=0.530$) jak i stężenia kortyzolu z 24-godzinnej zbiórki moczu ($p=0.885$) [182]. Kortyzol działa aktywizująco, dlatego jego wyższe stężenie może wyjaśniać wyższą sprawność funkcjonowania oraz lepsze samopoczucie osób o chronotypie wieczornym w godzinach wieczornych. Dodatkowo opisuje się, iż osoby o typie porannym w porównaniu do wieczornych, szybciej zasypiają, dłużej śpią, wyżej oceniają jakość swojego snu, mają bardziej stabilne pory snu, co może mieć wpływ na stężenie omawianego hormonu stresu [183].

Redukcja masy ciała negatywnie korelowała ze stężeniem kortyzolu ($r=-0.3614$; $p=0.0126$) (Tab. 11). W badaniu z udziałem 12 otyłych mężczyzn (BMI 30-40kg/m²) autorzy dostrzegli, iż 6-dniowa głódówka, skutkująca redukcją masy ciała pacjentów, spowodowała wzrost stężenia kortyzolu w osoczu w godzinach rannych, ($p<0.001$), przy czym nie zaobserwowano zmian całkowitego stężenia metabolitów kortyzolu w moczu [4]. Z kolei w innym badaniu z udziałem 232 otyłych dzieci (mediana wieku 12 lat) z insulinoopornością (HOMA>4), (81osób) i 151 otyłych dzieci bez insulinooporności (HOMA≤4), zaobserwowano, że redukcja nadwagi spowodowała istotne zmniejszenie stężenia kortyzolu ($p=0.005$) [184] (Tab. 11)

Nie wystąpiły natomiast korelacje pomiędzy stężeniem kortyzolu a masą ciała, BMI, zawartością tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach oraz trzewnej tkanki tłuszczowej. Z kolei procentowa zawartość tkanki tłuszczowej negatywnie korelowała ze stężeniem kortyzolu ($r=-0.3181$; $p=0.0275$). (Tab. 11). W badaniach Abraham i wsp. (2013) z udziałem 369 osób (uczestnicy o BMI 30.00-40.83kg/m²) dostrzeżono, iż stężenie kortyzolu oznaczone w próbkach moczu oraz jego stężenie ocenione po teście hamowania deksametazonem nie korelowało z BMI pacjentów. Natomiast zaobserwowano, że kortyzol oznaczony w próbkach śliny wykazywał tendencję do wzrostu wraz ze wzrostem BMI ($p<0.0001$) [185]. Natomiast Trawison i wsp. (2007) dostrzegli zależność pomiędzy BMI a stężeniem kortyzolu ($p=0.001$) [186], podobnie Jackson i wsp. (2018) ($p<0.01$) [187], oraz Al. Safi i wsp. (2018) ($r=0.44$, $p=0.05$) [160]. Badania Trawison i wsp (2007) i Jackson i wsp. (2018) zostały przeprowadzone z udziałem dużej liczby pacjentów, odpowiednio 999 oraz 1872 osoby [186,187]. Z kolei Reynolds i wsp,(2010) w swoim badaniu zauważyli, że u mężczyzn stężenie kortyzolu negatywnie korelowało ze wskaźnikiem BMI. W tym badaniu grupa pacjentów była

również bardziej liczna niż w badaniu własnym i wynosiła 919 osób [188]. Natomiast Trivison i wsp. (2007), nie dostrzegli związku pomiędzy stężeniem kortyzolu a procentową zawartością tkanki tłuszczowej [186]. Związek pomiędzy zawartością tkanki tłuszczowej trzewnej a stężeniem kortyzolu dostrzegli dwaj badacze. Oltmanns i wsp. (2006) zauważył to powiązanie w grupie 190 pacjentów z cukrzycą typu 2 ($p < 0.05$) [189]. Z kolei Abraham i wsp. (2013) w badaniu z udziałem 369 osób z nadwagą i otyłością (BMI 25.0-83.0 kg/m²) oraz z udziałem 60 zdrowych osób dostrzegł dodatnią korelację pomiędzy stężeniem kortyzolu a zawartością trzewnej tkanki tłuszczowej ($r = 0.28$; $p = 0.02$) [185].

W badaniu własnym zaobserwowano negatywną korelację stężenia cholesterolu całkowitego i stężenia kortyzolu ($r = -0.3051$; $p = 0.0495$). Cholesterol frakcji HDL także ujemnie korelował ze stężeniem kortyzolu ($r = -0.524$; $p = 0.0008$). Nie zaobserwowano związku pomiędzy stężeniem kortyzolu, a stężeniem, glukozy insuliny, wskaźnikiem HOMA-IR frakcji cholesterolu LDL, trójglicerydów oraz białka C-reaktywnego (CRP) (Tab. 12). Abraham i wsp. (2013), w badaniu z udziałem 369 otyłych oraz 60 zdrowych wolontariuszy, dostrzegli, iż stężenia kortyzolu po podaniu deksametazonu były niskie lub umiarkowanie skorelowane z insuliną na czczo ($r = -0.31$, $p = 0.01$) i HOMA-IR ($r = -0.31$, $p = 0.01$) [185]. Z kolei Oltmanns i wsp (2006), którzy sprawdzali stężenie kortyzolu w ślinie, dostrzegli dodatnią korelację pomiędzy stężeniem kortyzolu a stężeniem glukozy na czczo ($p < 0.05$) [189]. Natomiast w innym badaniu, Reynolds i wsp (2010)., zauważono, iż poranne podwyższone stężenie kortyzolu dodatkowo korelowało ze stężeniem glukozy na czczo oraz cholesterolem całkowitym ($p < 0.001$) u otyłych pacjentów z cukrzycą typu 2 [188]. Phillips i wsp. (1998) w badaniach z udziałem 370 mężczyzn ze zdiagnozowaną insulinopornością odnotowali, że stężenie kortyzolu miało związek ze stężeniem glukozy na czczo i po 2 godzinach po doustnym teście tolerancji glukozy ($p = 0.0002$ i $p = 0.04$), stężeniem trójglicerydów ($p = 0.009$), a także wskaźnikiem HOMA-IR ($p = 0.006$) [190].

W grupie badanej po 3 tygodniowej restrykcji dietetycznej dostrzeżono zmniejszenie masy ciała o 3% ($p < 0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 2% ($p < 0.0001$), procentowej zawartości tkanki tłuszczowej o 2.6% ($p = 0.0001$), zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 7% ($p < 0.0001$), wisceralnej tkanki tłuszczowej o 2.7% ($p < 0.0001$), masy mięśniowej o 1% ($p = 0.001$), nawodnienia o 2% ($p < 0.001$), stężenia cholesterolu całkowitego o 7.7% ($p = 0.0244$), trójglicerydów o 13% ($p = 0.0237$) oraz hemoglobiny glikowanej

o 2% ($p=0.0053$). Nie pojawiły się istotne zmiany stężenia CRP, cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, LDL, glukozy na czczo, insuliny oraz HOMA-IR (Tab. 13). W badaniu z udziałem 271 otyłych pacjentów ze zdiagnozowanym niealkoholowym stłuszczeniem wątroby po interwencji w postaci jednodniowego postu (ADF) dostrzeżono istotne statystycznie zmniejszenie masy ciała ($p<0.001$), masy tkanki tłuszczowej ($p<0.001$), stężenia cholesterolu całkowitego ($p<0.001$) oraz trójglicerydów ($p<0.001$), nie zaobserwowano natomiast istotnie statystycznych zmian w stężeniu insuliny oraz glukozy na czczo. W tym badaniu interwencja dietetyczna trwała 12 tygodni. Pacjenci przydzieleni do grupy ADF spożywali 25% podstawowego zapotrzebowania energetycznego podczas okna żywieniowego w dzień postu (24 godziny), a następnie jedli ad libitum w dniu karmienia (24 godziny) [18]. W innym badaniu, Varady i wsp. (2013) zauważyli, że po zastosowaniu postu nastąpiło zmniejszenie masy ciała ($p<0.001$), masy tkanki tłuszczowej ($p<0.001$), stężenia trójglicerydów ($p<0.05$) oraz stężenia CRP ($p<0.05$), z kolei nie zauważono zmian w stężeniu cholesterolu HDL oraz LDL [14]. Akasheh i wsp.(2020) również dostrzegli, iż zastosowanie jednodniowego postu istotnie zmniejszyło masę ciała ($p<0.001$), aczkolwiek zauważyli także zmniejszenie oporności na insulinę ($p<0.05$) [191]. Z kolei w badaniach Al-Rawi i wsp. (2020) dostrzeżono istotnie zmiany stężeń frakcji cholesterolu – zwiększenie HDL ($p<0.001$) oraz zmniejszenie LDL ($p<0.001$). Ci sami badacze zauważyli także istotne zmniejszenie masy ciała ($p<0.05$), BMI ($p<0.05$), procentowej zawartości tkanki tłuszczowej ($p<0.001$) oraz tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach ($p<0.001$) po zakończeniu postu. Opisywane powyżej badanie dotyczyło Ramadanu [178].

W grupie kobiecej zauważono zmniejszenie masy ciała o 3% ($p<0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 2% ($p=0.0001$), oraz trzewnej tkanki tłuszczowej o 4% ($p<0.0001$) oraz masy mięśniowej o 1% ($p=0.003$), natomiast zaskakująco nastąpił wzrost tkanki tłuszczowej o 0.5% ($p=0.0001$). Dostrzeżono także wzrost nawodnienia o 4% ($p=0.01$) (Tab. 13). U mężczyzn zaobserwowano zmniejszenie masy ciała o 5% ($p<0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 3% ($p<0.0001$), procentowej zawartości tkanki tłuszczowej o 8% ($p=0.0002$) zawartości tkanki tłuszczowej o 12% ($p<0.0001$), trzewnej tkanki tłuszczowej o 8% ($p<0.0001$), nawodnienia o 8% ($p=0.01$) oraz stężenia trójglicerydów o 21% ($p=0.0093$) (Tab. 13). Dostrzeżono także większą redukcję trzewnej tkanki tłuszczowej wśród mężczyzn o 50% ($p<0.0001$) oraz o 44% większą różnicę w zmianie zawartości procentowej tkanki.

Zauważono także istotną różnicę w zmianie nawodnienia pomiędzy płciami, u kobiet była ona o 75% większa ($p=0.0346$). (Tab. 14). Wyjściowa masa ciała u mężczyzn była wyższa od masy ciała kobiet zarówno przed (o 21%), ($p=0.0013$) jak i po hospitalizacji (o 19%); ($p=0.0015$) (Tab. 14). W innych badaniach także zauważa się większą masę ciała u mężczyzn w porównaniu do kobiet [192,193]. Procentowa zawartość tkanki tłuszczowej grupy badanej była wyższa u kobiet, w porównaniu do mężczyzn przed restrykcją dietetyczną o 7% ($p=0.0076$) oraz po poście o 18% ($p=0.0001$) (Tab. 14). Te wyniki są także zgodne z doniesieniami literaturowymi, opisuje się, że za różnicę w ilości tkanki tłuszczowej odpowiadają między innymi hormony płciowe [194,195].

U osób o chronotypie porannym (skowronki) zauważono istotne zmniejszenie masy ciała o 5% ($p<0.0001$), wskaźnika BMI o 1% ($p<0.0001$), zawartości tkanki tłuszczowej, wyrażonej w procentach o 2% ($p=0.0012$), a w kilogramach o 4% ($p<0.0001$), trzewnej tkanki tłuszczowej o 11% ($p<0.0001$), masy mięśniowej o 0.5% ($p=0.0014$), nawodnienia o 0.5% ($p=0.014$), stężenia insuliny o 11% ($p=0.0353$) oraz wskaźnika insulinooporności HOMA-IR o 12% ($p=0.494$) (Tab. 15). W grupie osób o chronotypie wieczornym zaobserwowano istotne zmniejszenie masy ciała o 3% ($p=0.0002$), wskaźnika BMI o 9% ($p=0.0002$), zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 10% ($p=0.0005$), oraz wisceralnej tkanki tłuszczowej o 5% ($p=0.0059$) oraz nawodnienia o 0.5% ($p=0.0156$) (Tab. 15). W badaniu własnym nie zaobserwowano różnic w parametrach antropometrycznych takich jak: masa ciała, BMI, zawartość tkanki tłuszczowej (% i kg) oraz wisceralnej tkanki tłuszczowej pomiędzy chronotypami, zarówno przed jak i po hospitalizacji (Tab. 16). Jest to sprzeczne z dostępną literaturą, w której osoby zakwalifikowane do chronotypu wieczornego wyróżniają się większą zawartością tkanki tłuszczowej [196,197]. W badaniu Beaulieu i wsp. (2020) z udziałem 44 osób (22 osoby o chronotypie wieczornym i 22 osoby o chronotypie porannym) stwierdzono, że badani o chronotypie wieczornym mają wyższe BMI (24.1 ± 2.7 vs. 24.9 ± 3.6 ; $p=0.01$) [198]. Również w innym badaniu także zauważono, że najwyższe BMI obserwuje się u osób o chronotypie wieczornym ($p=0.038$) [197]. W badaniu własnym do chronotypu wieczornego, ze względu na bardzo małą liczebność osób o chronotypie „sowy” włączono także osoby o chronotypie mieszanym, co mogło mieć wpływ na otrzymane wyniki.

Nadmierna masa ciała oraz ilość tkanki tłuszczowej wpływa na zwiększenie stężenia glukozy, insuliny, hemoglobiny glikowanej i wskaźnika HOMA – IR, a także prowadzi do zmniejszenia stężenia cholesterolu frakcji HDL [199]. W badaniu własnym, nadmierna masa ciała, BMI, zawartość tkanki tłuszczowej (wyrażona w kilogramach oraz procentach) a także ilość wisceralnej tkanki tłuszczowej dodatkowo korelowały ze stężeniem insuliny na czczo oraz wskaźnikiem HOMA-IR, które wraz ze wzrostem masy ciała uległy zwiększeniu (Tab. 17). Do podobnych wniosków doszli także inni badacze, którzy zauważyli korelację pomiędzy masą ciała, BMI oraz zawartością wisceralnej tkanki tłuszczowej a insulinopornością [200–203]. Ponadto, w badaniu własnym zauważono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem glukozy i hemoglobiny glikowanej a wskaźnikiem masy ciała BMI oraz zawartością trzewnej tkanki tłuszczowej. Wraz ze wzrostem masy ciała oraz zwiększeniem zawartości tkanki tłuszczowej trzewnej następował wzrost stężenia glukozy oraz hemoglobiny glikowanej. Tę korelację potwierdzają także inne dane literaturowe [200,204–206]. Natomiast w badaniu, własnym nie wystąpił związek pomiędzy parametrami masy ciała a stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL oraz trójglicerydów. Jedynie stężenie cholesterolu frakcji HDL wykazywało ujemną korelację z masą ciała ($r=-0.3363$; $p=0.0294$) (Tab. 17). Z kolei Schröder i wsp. (2003) znaleźli zależność pomiędzy nadmierną masą ciała, a cholesterolem całkowitym ($p<0.005$) oraz cholesterolem frakcji LDL ($p<0.006$) [193]. Shama i wsp. (2011) nie dostrzegli związku pomiędzy BMI, a cholesterolem frakcji LDL, natomiast HDL był ujemnie związany z wskaźnikiem masy ciała, a trójglicerydy korelowały z BMI ($r=0.32$, $p=0.005$) [207]. W badaniu Hu i wsp. (2000) zauważono, że w grupie mężczyzn BMI był dodatnio skorelowany z trójglicerydami ($r=0.30$; $p<0.001$) oraz ujemnie skorelowany z cholesterolem HDL ($r=-0.35$; $p<0.001$), a u kobiet BMI było ujemnie powiązane z cholesterolem HDL ($r=-0.24$; $p<0.001$) [208].

W badaniu własnym, wśród badanych osób przeprowadzono ankietę dotyczącą długości trwania snu w dni pracujące i wolne. Pytania dotyczące snu były pytaniami zamkniętymi, pacjenci mieli do wyboru odpowiedzi dotyczące długości czasu snu: $<6h$, od 7 do 8h oraz $\geq 9h$. Nie znaleziono wpływu długości snu na okołodobowy rytm kortyzolu (Tab. 18). Podobne informacje można znaleźć w danych literaturowych [209,210]. Międzynarodowa Fundacja Snu zaleca, aby osoby dorosłe spały od 7 do 9h [211]. W prezentowanym badaniu osoby, które zadeklarowały od 7 do 8h snu dziennie najniższą masę ciała, zawartość tkanki tłuszczowej oraz

wisceralnej tkanki tłuszczowej (Tab. 19). Największą masę ciała, BMI, zawartość tkanki tłuszczowej (kg) oraz trzewnej tkanki tłuszczowej zaobserwowano u osób, które zadeklarowały, że w dni powszednie i w weekendy śpią 9h i więcej. Zarówno nadmiar snu ($\geq 9h$) jak i jego niedobór ($\leq 6h$) może wpływać na występowanie otyłości. Do podobnych wniosków doszli inni badacze [212–216]. W badaniu własnym nie dostrzeżono związku pomiędzy długością snu a stężeniem glukozy, insuliny, cholesterolu całkowitego, LDL, HDL, trójglicerydów, hemoglobiny glikowanej oraz wskaźnikiem HOMA-IR (Tab. 19). Liu i wsp.(2014) w badaniu z udziałem otyłych z insulinoopornością (n=35) oraz otyłych z prawidłową insulinowrażliwością (n=21) zauważyli, że w grupie otyłych z insulinoopornością stwierdza się znacznie krótszy sen (6.53 ± 1.1 vs 7.24 ± 0.9 godziny; $p < 0.05$) [217], obserwacje te poparli także inni badacze [216,218].

WNIOSKI

1. Jednodniowy post powoduje zwiększenie amplitudy oraz przesunięcie akrofazy, bez wpływu na MESOR. Amplituda w dniu postu (dzień II) była wyższa w porównaniu do amplitudy dnia przed postem (dzień I) oraz dnia po poście (dzień III). Akrofaza w dniu postu wystąpiła wcześniej, w porównaniu do dnia I oraz dnia III.

2. U osób o chronotypie porannym jednodniowy post spowodował przesunięcie akrofazy. W dniu postu (dzień II), akrofaza wystąpiła wcześniej w porównaniu do dnia przed postem (dzień I) oraz do dnia po poście (dzień III).

Nie stwierdzono różnic dla parametrów rytmu pomiędzy chronotypem porannym i wieczornym.

STRESZCZENIE

Procesy fizjologiczne, a także biochemiczne w organizmie człowieka są ze sobą zsynchronizowane, zachodzą w określonej kolejności i częstotliwości w 24h cyklu dnia i nocy. Wydzielanie kortyzolu także charakteryzuje się zależnością czasową – ma rytm okołodobowy, pulsacyjny oraz okołoroczny. Szczyt stężenia kortyzolu dostrzega się w godzinach porannych – pomiędzy g. 06:00-08:00, z kolei najniższe stężenie odnotowuje się wieczorem, między g. 23:00-04:00. Jednodniowy post zakłada naprzemienne dni postu, bądź zmniejszenie spożycia pokarmów do 25% ich zwykłego spożycia i dni jedzenia, w których można spożywać żywność bez ograniczeń. Ten sposób żywienia wpływa na zwiększenie stężenia kortyzolu w surowicy i sugeruje się, że powoduje aktywację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza. Zwiększone stężenie kortyzolu może oddziaływać na podwzgórzowy ośrodek głodu i sytości oraz metabolizm .

Celem rozprawy doktorskiej było określenie w jaki sposób jednodniowy post wpływa na rytm okołodobowy stężenia kortyzolu u osób otyłych (BMI > 30 kg/m²).

49 otyłych pacjentów (BMI 32.2-67.1 kg/m²) (25 kobiet i 24 mężczyzn), poddano trzytygodniowej diecie z restrykcją kaloryczną w warunkach szpitalnych, w celu redukcji masy ciała. U pacjentów podczas ich hospitalizacji zastosowano jednodniowy post, podczas, którego pacjenci mogli spożywać tylko wodę. Próbkę śliny były pobierane samodzielnie przez osoby badane, o g.: 08:00, 11:00, 13:00, 16:00, 19:00, 21:00, 24:00, 03:00, 05:00, 08:00 w okresie 72h – dzień przed jednodniowym postem, w dniu postu oraz dzień po poście. Stężenie kortyzolu w pobranych próbkach śliny zostało oznaczone przy pomocy immunoenzymatycznego testu ELISA firmy Demeditec, Niemcy.

Do oceny rytmu biologicznego kortyzolu zastosowano metodę cosinorową. Oceniono amplitudę, średni poziom oscylacji tzw. MESOR, oraz przesunięcie – akrofazę rytmu okołodobowego kortyzolu. Wystąpiły różnice w zakresie amplitudy ($p=0.0127$) oraz akrofazy ($p=0.0005$) rytmu. Amplituda w dniu postu była o 15% wyższa w porównaniu do dnia przed jednodniowym postem oraz o 11% ($p=0.224$) wyższa od amplitudy rytmu w dniu po poście. Akrofaza natomiast była przesunięta w dniu postu, o 48 minut wcześniej w porównaniu do dnia przed jednodniowym postem ($p=0.0064$) oraz o 39 minut od dnia po poście ($p=0.0005$). Porównano również stężenia kortyzolu pomiędzy dniami: poprzedzającym post vs. post vs. po

poście i stwierdzono, że stężenie kortyzolu różniło się o g. 08:00 ($p=0.046$), 13:00 ($p<0.0001$) oraz 24:00 ($p=0.0004$). Stężenie kortyzolu u mężczyzn było około 32% wyższe od stężenia kortyzolu u kobiet o g. 16:00 w dniu poprzedzającym post ($p=0.0045$). W dniu postu również w grupie mężczyzn stwierdzono stężenie o 20% wyższe o g. 16:00 ($p=0.0278$), 32% wyższe o g. 19:00 ($p=0.0147$) i odpowiednio 18% o g. 21:00 ($p=0.0455$). Podobny wynik o 36% wyższego stężenia o g. 21:00 zauważono w dniu po poście ($p=0.0292$). Za pomocą kwestionariusza poranności-wieczorności wg. Horne & Östberg (1976), podzielono grupę na chronotypy. Stwierdzono, że osoby o chronotypie wieczornym miały o 30% wyższe stężenie kortyzolu od osób o preferencjach rannych ($p=0.0214$). Efektem 3 tygodniowej restrykcji kalorycznej, u wszystkich pacjentów było zmniejszenie masy ciała o 3% ($p<0.0001$), wskaźnika masy ciała BMI o 2% ($p<0.0001$), procentowej zawartości tkanki tłuszczowej o 2.6% ($p=0.0001$), zawartości tkanki tłuszczowej wyrażonej w kilogramach o 7% ($p<0.0001$), wisceralnej tkanki tłuszczowej o 2.7% ($p<0.0001$), masy mięśniowej o 1% ($p=0.001$), nawodnienia o 2% ($p<0.001$), stężenia cholesterolu całkowitego o 7.7% ($p=0.0244$), trójglicerydów o 13% ($p=0.0237$) oraz hemoglobiny glikowanej o 2% ($p=0.0053$).

Uzyskane wyniki w pracy potwierdzają, iż jednodniowy post wpływa na okołodobowy rytm kortyzolu osób badanych. Restrykcja dietetyczna wraz z jednodniowym postem wpływają na redukcję masy ciała grupy badanej, a także zmniejszenie stężenia cholesterolu, trójglicerydów oraz hemoglobiny glikowanej osób otyłych.

SUMMARY

Physiological and biochemical processes in the human body are synchronized with each other, take place in a specific order and frequency within 24 hours of the day and night cycle. A time dependence also characterizes cortisol secretion - it has a circadian rhythm, an ultradian rhythm and an infradian rhythm. The peak of cortisol concentration is seen in the morning – (between 06:00 and 08:00), while the lowest concentration is recorded in the evening (between 23:00 and 04:00). Alternate-day fasting implies alternate fasting days or reducing food consumption to 25% of their usual consumption and eating days in which food can be eaten without any restrictions. This type of nutrition increases serum cortisol levels, and it is suggested that it activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Increased cortisol concentration may affect both the hypothalamic centre of hunger and satiety and metabolism

This doctoral thesis aimed to determine how alternate – day fasting affects the circadian rhythm of cortisol concentration among obese people ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$).

49 obese patients ($BMI \text{ } 32.2\text{-}67.1 \text{ kg/m}^2$), (25 women and 24 men) were hospitalized for three weeks to reduce their body weight. The patients were also given a one-day fast, during which they were allowed to consume only water. Saliva samples were collected at: 08:00, 11:00, 13:00, 16:00, 19:00, 21:00, 24:00, 03:00, 05:00, 08: 00 during 72h (pre-fast day, fast day, post- fast day)The cortisol concentration in the collected saliva samples was determined by using the enzyme immunoassay ELISA by Demeditec, Germany.

The cosinor method was used to assess the biological rhythm of cortisol. The amplitude and the average level of oscillation (MESOR) and acrophase of the circadian rhythm of cortisol were measured. There were differences in the amplitude ($p=0.0127$) and acrophase ($p = 0.0005$) of the rhythm. The fasting day's amplitude was 15% higher than the first day and 11% ($p = 0.224$) higher than the amplitude on the third day. On the other hand, acrophase was shifted on the fasting day, 48 minutes earlier than on the first day ($p=0.0064$) and 39 minutes from the third day ($p=0.0005$). Cortisol levels were compared between the days preceding and found that cortisol levels differed at 08:00 ($p=0.046$), 13:00 ($p<0.0001$) and 24:00 ($p=0.0004$). The cortisol concentration among men was approximately 32% higher than the cortisol concentration among women at 04:00 p.m. the day which precedes (day I) ($p=0.0045$).

On the fasting (during the fast) day (day II), the cortisol concentration of men was also 20% higher at 4:00 p.m. ($p=0.0278$), 32% higher at 7:00 p.m. ($p=0.0147$) and 18% higher at 09:00 p.m. ($p=0.0455$). A similar result was seen on the day after the fast day (day III) ($p=0.0292$). By the use of the morning-evening questionnaire, according to Horne & Östberg (1976), the groups were divided according to chronotypes. It was found that people with the evening chronotype had 30% higher cortisol concentration than people with the morning preferences ($p=0.0214$). As a result of the 3-week caloric restrictions, all patients decreased their body weight by 3% ($p<0.0001$), body mass index BMI by 2% ($p <0.0001$), body fat percentage by 2.6% ($p=0.0001$), body fat expressed in kilograms by 7% ($p <0.0001$), visceral adipose tissue by 2.7% ($p<0.0001$), muscle mass by 1% ($p=0.001$), total body water by 2% ($p<0.001$), total cholesterol by 7.7% ($p=0.0244$), triglycerides by 13% ($p=0.0237$) and glycated haemoglobin by 2% ($p=0.0053$).

The results obtained in the study confirm that alternate-day fasting the circadian rhythm of cortisol in the study group. The dietary restriction and ADF have decreased body weight, lipids and glycated haemoglobin concentration among obese people.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Patterson RE, Laughlin GA, Sears DD, LaCroix AZ, Marinac C, Gallo LC, et al. Intermittent Fasting and Human Metabolic Health. *J Acad Nutr Diet* 2015;115:1203–12. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.02.018>.
- [2] Trepanowski JF, Kroeger CM, Barnosky A, Klempel MC, Bhutani S, Hoddy KK, et al. Effect of Alternate-Day Fasting on Weight Loss, Weight Maintenance, and Cardioprotection Among Metabolically Healthy Obese Adults. *JAMA Intern Med* 2017;177:930–8. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2017.0936>.
- [3] Collier R. Intermittent fasting: the science of going without. *CMAJ* 2013;185:E363–4. <https://doi.org/10.1503/cmaj.109-4451>.
- [4] Johnstone AM, Faber P, Andrew R, Gibney ER, Elia M, Lobley G, et al. Influence of short-term dietary weight loss on cortisol secretion and metabolism in obese men. *Eur J Endocrinol* 2004;150:185–94. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1500185>.
- [5] Horne BD, Muhlestein JB, Anderson JL. Health effects of intermittent fasting: hormesis or harm? A systematic review. *Am J Clin Nutr* 2015;102:464–70. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.109553>.
- [6] Mattson MP, Allison DB, Fontana L, Harvie M, Longo VD, Malaisse WJ, et al. Meal frequency and timing in health and disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111:16647–53. <https://doi.org/10.1073/pnas.1413965111>.
- [7] Johnstone A. Fasting for weight loss: an effective strategy or latest dieting trend? *Int J Obes (Lond)* 2015;39:727–33. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.214>.
- [8] Johnson JB, Summer W, Cutler RG, Martin B, Hyun D-H, Dixit VD, et al. Alternate Day Calorie Restriction Improves Clinical Findings and Reduces Markers of Oxidative Stress and Inflammation in Overweight Adults with Moderate Asthma. *Free Radic Biol Med* 2007;42:665–74. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.12.005>.

- [9] Varady KA, Bhutani S, Church EC, Klempel MC. Short-term modified alternate-day fasting: a novel dietary strategy for weight loss and cardioprotection in obese adults. *Am J Clin Nutr* 2009;90:1138–43. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28380>.
- [10] Eshghinia S, Mohammadzadeh F. The effects of modified alternate-day fasting diet on weight loss and CAD risk factors in overweight and obese women. *J Diabetes Metab Disord* 2013;12:4. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-4>.
- [11] Bhutani S, Klempel MC, Kroeger CM, Trepanowski JF, Varady KA. Alternate day fasting and endurance exercise combine to reduce body weight and favorably alter plasma lipids in obese humans. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21:1370–9. <https://doi.org/10.1002/oby.20353>.
- [12] Hoddy KK, Kroeger CM, Trepanowski JF, Barnosky A, Bhutani S, Varady KA. Meal timing during alternate day fasting: Impact on body weight and cardiovascular disease risk in obese adults. *Obesity* 2014;22:2524–31. <https://doi.org/10.1002/oby.20909>.
- [13] Klempel MC, Kroeger CM, Varady KA. Alternate day fasting (ADF) with a high-fat diet produces similar weight loss and cardio-protection as ADF with a low-fat diet. *Metab Clin Exp* 2013;62:137–43. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.07.002>.
- [14] Varady KA, Bhutani S, Klempel MC, Kroeger CM, Trepanowski JF, Haus JM, et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal* 2013;12:146. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-146>.
- [15] Hatori M, Vollmers C, Zarrinpar A, DiTacchio L, Bushong EA, Gill S, et al. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell Metab* 2012;15:848–60. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.019>.
- [16] Catenacci VA, Pan Z, Ostendorf D, Brannon S, Gozansky WS, Mattson MP, et al. A randomized pilot study comparing zero-calorie alternate-day fasting to daily caloric

- restriction in adults with obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2016;24:1874–83. <https://doi.org/10.1002/oby.21581>.
- [17] Alhamdan BA, Garcia-Alvarez A, Alzahrnai AH, Karanxha J, Stretchberry DR, Contrera KJ, et al. Alternate-day versus daily energy restriction diets: which is more effective for weight loss? A systematic review and meta-analysis. *Obes Sci Pract* 2016;2:293–302. <https://doi.org/10.1002/osp4.52>.
- [18] Cai H, Qin Y-L, Shi Z-Y, Chen J-H, Zeng M-J, Zhou W, et al. Effects of alternate-day fasting on body weight and dyslipidaemia in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised controlled trial. *BMC Gastroenterol* 2019;19:219. <https://doi.org/10.1186/s12876-019-1132-8>.
- [19] Razavi R, Parvaresh A, Abbasi B, Yaghoobloo K, Hassanzadeh A, Mohammadifard N, et al. The alternate-day fasting diet is a more effective approach than a calorie restriction diet on weight loss and hs-CRP levels. *Int J Vitam Nutr Res* 2020:1–9. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000623>.
- [20] Nakamura Y, Walker BR, Ikuta T. Systematic review and meta-analysis reveals acutely elevated plasma cortisol following fasting but not less severe calorie restriction. *Stress* 2016;19:151–7. <https://doi.org/10.3109/10253890.2015.1121984>.
- [21] Bergendahl M, Evans WS, Pastor C, Patel A, Iranmanesh A, Veldhuis JD. Short-term fasting suppresses leptin and (conversely) activates disorderly growth hormone secretion in midluteal phase women--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:883–94. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.3.5536>.
- [22] Kinouchi K, Magnan C, Ceglia N, Liu Y, Cervantes M, Pastore N, et al. Fasting Imparts a Switch to Alternative Daily Pathways in Liver and Muscle. *Cell Rep* 2018;25:3299-3314.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.077>.
- [23] Patterson RE, Sears DD. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. *Annu Rev Nutr* 2017;37:371–93. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064634>.

- [24] Peek CB, Ramsey KM, Marcheva B, Bass J. Nutrient sensing and the circadian clock. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23:312–8. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.02.003>.
- [25] Incollingo Rodriguez AC, Epel ES, White ML, Standen EC, Seckl JR, Tomiyama AJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology* 2015;62:301–18. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.014>.
- [26] van Rossum EF, Nicklas BJ, Dennis KE, Berman DM, Goldberg AP. Leptin responses to weight loss in postmenopausal women: relationship to sex-hormone binding globulin and visceral obesity. *Obes Res* 2000;8:29–35. <https://doi.org/10.1038/oby.2000.5>.
- [27] Nonino-Borges CB, Martins Borges R, Bavaresco M, Suen VMM, Moreira AC, Marchini JS. Influence of meal time on salivary circadian cortisol rhythms and weight loss in obese women. *Nutrition* 2007;23:385–91. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.02.007>.
- [28] Parra MD, Martínez de Morentin BE, Alfredo Martínez J. Impact of weight loss on cortisol secretion in obese men with and without metabolic syndrome features. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16:28–34. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2004.11.004>.
- [29] Espelund U, Hansen TK, Højlund K, Beck-Nielsen H, Clausen JT, Hansen BS, et al. Fasting unmasks a strong inverse association between ghrelin and cortisol in serum: studies in obese and normal-weight subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:741–6. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0604>.
- [30] Edgar RS, Green EW, Zhao Y, van Ooijen G, Olmedo M, Qin X, et al. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. *Nature* 2012;485:459–64. <https://doi.org/10.1038/nature11088>.
- [31] Vitaterna MH, Takahashi JS, Turek FW. Overview of Circadian Rhythms. *Alcohol Res Health* 2001;25:85–93.
- [32] Touitou Y, Haus E, editors. *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 1992. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-78734-8>.

- [33] Halberg F. Biological Rhythms. In: Hedlund LW, Franz JM, Kenny AD, editors. *Biological Rhythms and Endocrine Function*, Boston, MA: Springer US; 1975, p. 1–41. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8715-2_1.
- [34] Mohawk JA, Green CB, Takahashi JS. Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annu Rev Neurosci* 2012;35:445–62. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-060909-153128>.
- [35] Sato M, Hayashi H, Kanikowska D. Seasonal differences in clock gene expression levels in buccal epithelial cells of obese men: a pilot study. *Int J Biometeorol* 2021;65:1119–24. <https://doi.org/10.1007/s00484-021-02092-2>.
- [36] Buijs RM, Kalsbeek A. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci* 2001;2:521–6. <https://doi.org/10.1038/35081582>.
- [37] Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol* 2010;72:517–49. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135821>.
- [38] Sahar S, Sassone-Corsi P. Regulation of metabolism: the circadian clock dictates the time. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2011.10.005>.
- [39] Noh J. The Effect of Circadian and Sleep Disruptions on Obesity Risk. *J Obes Metab Syndr* 2018;27:78–83. <https://doi.org/10.7570/jomes.2018.27.2.78>.
- [40] Partch CL, Green CB, Takahashi JS. Molecular Architecture of the Mammalian Circadian Clock. *Trends Cell Biol* 2014;24:90–9. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.07.002>.
- [41] Kanikowska D, Sato M, Witowski J. Contribution of daily and seasonal biorhythms to obesity in humans. *Int J Biometeorol* 2015;59:377–84. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0871-z>.

- [42] Poggiogalle E, Jamshed H, Peterson CM. Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metab Clin Exp* 2018;84:11–27. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.017>.
- [43] Panda S. Circadian physiology of metabolism. *Science* 2016;354:1008–15. <https://doi.org/10.1126/science.aah4967>.
- [44] Marcheva B, Ramsey KM, Peek CB, Affinati A, Maury E, Bass J. Circadian Clocks and Metabolism. *Handb Exp Pharmacol* 2013:127–55. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25950-0_6.
- [45] Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, Kellendonk C, Reichardt HM, et al. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science* 2000;289:2344–7. <https://doi.org/10.1126/science.289.5488.2344>.
- [46] Jordan SD, Lamia KA. AMPK at the crossroads of circadian clocks and metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 2013;366:163–9. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.06.017>.
- [47] Sitaula S, Zhang J, Ruiz F, Burris TP. Rev-erb regulation of cholesterologenesis. *Biochem Pharmacol* 2017;131:68–77. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.02.006>.
- [48] Feng D, Liu T, Sun Z, Bugge A, Mullican SE, Alenghat T, et al. A Circadian Rhythm Orchestrated By Histone Deacetylase 3 Controls Hepatic Lipid Metabolism. *Science* 2011;331:1315–9. <https://doi.org/10.1126/science.1198125>.
- [49] Zhang EE, Liu Y, Dentin R, Pongsawakul PY, Liu AC, Hirota T, et al. Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis. *Nat Med* 2010;16:1152–6. <https://doi.org/10.1038/nm.2214>.
- [50] Li M-D, Li C-M, Wang Z. The role of circadian clocks in metabolic disease. *Yale J Biol Med* 2012;85:387–401.
- [51] Gerhart-Hines Z, Lazar MA. Circadian metabolism in the light of evolution. *Endocr Rev* 2015;36:289–304. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1007>.

- [52] Kanikowska D, Witowski J. *Patofizjologia. Repetytorium*. Warszawa: PZWL; 2018.
- [53] Jarrett RJ. [Circadian variation in blood glucose levels, in glucose tolerance and in plasma immunoreactive insulin levels]. *Acta Diabetol Lat* 1972;9:263–75. <https://doi.org/10.1007/BF01564551>.
- [54] Hulmán A, Færch K, Vistisen D, Karsai J, Nyári TA, Tabák AG, et al. Effect of time of day and fasting duration on measures of glycaemia: analysis from the Whitehall II Study. *Diabetologia* 2013;56:294–7. <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2770-3>.
- [55] Pinkhasov BB, Selyatinskaya VG, Astrakhantseva EL, Anufrienko EV. Circadian Rhythms of Carbohydrate Metabolism in Women with Different Types of Obesity. *Bull Exp Biol Med* 2016;161:323–6. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3406-2>.
- [56] Whichelow MJ, Sturge RA, Keen H, Jarrett RJ, Stimmler L, Grainger S. Diurnal variation in response to intravenous glucose. *Br Med J* 1974;1:488–91. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5906.488>.
- [57] Morris CJ, Yang JN, Garcia JI, Myers S, Bozzi I, Wang W, et al. Endogenous circadian system and circadian misalignment impact glucose tolerance via separate mechanisms in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112:E2225-2234. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418955112>.
- [58] Capani F, Carfagnini A, Consoli A, Della Loggia F, Del Ponte A, Di Felice M, et al. [Effects of a “single-meal” low calorie diet on the circadian variation of serum cortisol, insulin and somatotropin and urinary excretion of catecholamines]. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1981;57:324–6.
- [59] Saad A, Dalla Man C, Nandy DK, Levine JA, Bharucha AE, Rizza RA, et al. Diurnal pattern to insulin secretion and insulin action in healthy individuals. *Diabetes* 2012;61:2691–700. <https://doi.org/10.2337/db11-1478>.
- [60] Van Cauter E, Shapiro ET, Tillil H, Polonsky KS. Circadian modulation of glucose and insulin responses to meals: relationship to cortisol rhythm. *Am J Physiol* 1992;262:E467-475. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1992.262.4.E467>.

- [61] Biston P, Van Cauter E, Ofek G, Linkowski P, Polonsky KS, Degaute JP. Diurnal variations in cardiovascular function and glucose regulation in normotensive humans. *Hypertension* 1996;28:863–71. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.28.5.863>.
- [62] Boden G, Ruiz J, Urbain JL, Chen X. Evidence for a circadian rhythm of insulin secretion. *Am J Physiol* 1996;271:E246-252. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1996.271.2.E246>.
- [63] Calles-Escandon J, Jaspan J, Robbins DC. Postprandial oscillatory patterns of blood glucose and insulin in NIDDM. Abnormal diurnal insulin secretion patterns and glucose homeostasis independent of obesity. *Diabetes Care* 1989;12:709–14. <https://doi.org/10.2337/diacare.12.10.709>.
- [64] Shapiro ET, Tillil H, Polonsky KS, Fang VS, Rubenstein AH, Van Cauter E. Oscillations in insulin secretion during constant glucose infusion in normal man: relationship to changes in plasma glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:307–14. <https://doi.org/10.1210/jcem-67-2-307>.
- [65] Dallmann R, Viola AU, Tarokh L, Cajochen C, Brown SA. The human circadian metabolome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:2625–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1114410109>.
- [66] Hussain MM. Regulation of intestinal lipid absorption by clock genes. *Annu Rev Nutr* 2014;34:357–75. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071813-105322>.
- [67] Hussain MM, Pan X. Circadian regulators of intestinal lipid absorption. *J Lipid Res* 2015;56:761–70. <https://doi.org/10.1194/jlr.R051573>.
- [68] Schoeller DA, Cella LK, Sinha MK, Caro JF. Entrainment of the diurnal rhythm of plasma leptin to meal timing. *J Clin Invest* 1997;100:1882–7. <https://doi.org/10.1172/JCI119717>.
- [69] Natalucci G, Riedl S, Gleiss A, Zidek T, Frisch H. Spontaneous 24-h ghrelin secretion pattern in fasting subjects: maintenance of a meal-related pattern. *Eur J Endocrinol* 2005;152:845–50. <https://doi.org/10.1530/eje.1.01919>.

- [70] Scheer FAJL, Morris CJ, Shea SA. The internal circadian clock increases hunger and appetite in the evening independent of food intake and other behaviors. *Obesity* (Silver Spring) 2013;21:421–3. <https://doi.org/10.1002/oby.20351>.
- [71] Coomans CP, Lucassen EA, Kooijman S, Fifel K, Deboer T, Rensen PCN, et al. Plasticity of circadian clocks and consequences for metabolism. *Diabetes Obes Metab* 2015;17 Suppl 1:65–75. <https://doi.org/10.1111/dom.12513>.
- [72] Baron KG, Reid KJ. Circadian misalignment and health. *Int Rev Psychiatry* 2014;26:139–54. <https://doi.org/10.3109/09540261.2014.911149>.
- [73] Morris CJ, Yang JN, Scheer FAJL. The impact of the circadian timing system on cardiovascular and metabolic function. *Prog Brain Res* 2012;199:337–58. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59427-3.00019-8>.
- [74] Engin A. Circadian Rhythms in Diet-Induced Obesity. *Adv Exp Med Biol* 2017;960:19–52. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_2.
- [75] Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* 2003;46:1594–603. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1228-z>.
- [76] Ando H, Yanagihara H, Hayashi Y, Obi Y, Tsuruoka S, Takamura T, et al. Rhythmic messenger ribonucleic acid expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue. *Endocrinology* 2005;146:5631–6. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0771>.
- [77] Mistlberger RE, Antle MC. Entrainment of circadian clocks in mammals by arousal and food. *Essays Biochem* 2011;49:119–36. <https://doi.org/10.1042/bse0490119>.
- [78] Migrenne S, Le Foll C, Levin BE, Magnan C. Brain lipid sensing and nervous control of energy balance. *Diabetes Metab* 2011;37:83–8. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2010.11.001>.

- [79] Dailey MJ, Stingl KC, Moran TH. Disassociation between Preprandial Gut Peptide Release and Food-Anticipatory Activity. *Endocrinology* 2012;153:132–42. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1464>.
- [80] Oosterman JE, Kalsbeek A, la Fleur SE, Belsham DD. Impact of nutrients on circadian rhythmicity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2015;308:R337–350. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00322.2014>.
- [81] Delezie J, Challet E. Interactions between metabolism and circadian clocks: reciprocal disturbances. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1243:30–46. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06246.x>.
- [82] Marcheva B, Ramsey KM, Buhr ED, Kobayashi Y, Su H, Ko CH, et al. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature* 2010;466:627–31. <https://doi.org/10.1038/nature09253>.
- [83] Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Timing of Breakfast, Lunch, and Dinner. Effects on Obesity and Metabolic Risk. *Nutrients* 2019;11. <https://doi.org/10.3390/nu11112624>.
- [84] Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 2005;308:1043–5. <https://doi.org/10.1126/science.1108750>.
- [85] Garaulet M, Gómez-Abellán P. Timing of food intake and obesity: a novel association. *Physiol Behav* 2014;134:44–50. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.01.001>.
- [86] Jakubowicz D, Barnea M, Wainstein J, Froy O. High caloric intake at breakfast vs. dinner differentially influences weight loss of overweight and obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21:2504–12. <https://doi.org/10.1002/oby.20460>.
- [87] Garaulet M, Gómez-Abellán P, Albuquerque-Béjar JJ, Lee Y-C, Ordovás JM, Scheer F a. JL. Timing of food intake predicts weight loss effectiveness. *Int J Obes (Lond)* 2013;37:604–11. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.229>.

- [88] Randler C. Differences between smokers and nonsmokers in morningness-eveningness. *Social Behavior and Personality: An International Journal* 2008;36:673–80. <https://doi.org/10.2224/sbp.2008.36.5.673>.
- [89] Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 1976;4:97–110.
- [90] Bandín C, Scheer F a. JL, Luque AJ, Ávila-Gandía V, Zamora S, Madrid JA, et al. Meal timing affects glucose tolerance, substrate oxidation and circadian-related variables: A randomized, crossover trial. *Int J Obes (Lond)* 2015;39:828–33. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.182>.
- [91] Corbalán-Tutau MD, Madrid JA, Ordovás JM, Smith CE, Nicolás F, Garaulet M. Differences in daily rhythms of wrist temperature between obese and normal-weight women: associations with metabolic syndrome features. *Chronobiol Int* 2011;28:425–33. <https://doi.org/10.3109/07420528.2011.574766>.
- [92] Daimon M, Kamba A, Murakami H, Mizushiri S, Osonoi S, Matsuki K, et al. Dominance of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis over the renin-angiotensin-aldosterone system is a risk factor for decreased insulin secretion. *Sci Rep* 2017;7:11360. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10815-y>.
- [93] Hintzpeter J, Stapelfeld C, Loerz C, Martin H-J, Maser E. Green Tea and One of Its Constituents, Epigallocatechine-3-gallate, Are Potent Inhibitors of Human 11 β -hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1. *PLOS ONE* 2014;9:e84468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084468>.
- [94] Bertagna X. Effects of Chronic ACTH Excess on Human Adrenal Cortex. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017;8. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00043>.
- [95] Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, Andrew R, Mortier L, Declercq PE, et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2013;368:1477–88. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1214969>.

- [96] Robertson S, Diver LA, Alvarez-Madrazo S, Livie C, Ejaz A, Fraser R, et al. Regulation of Corticosteroidogenic Genes by MicroRNAs. *Int J Endocrinol* 2017;2017:2021903. <https://doi.org/10.1155/2017/2021903>.
- [97] Hardy RS, Doig CL, Hussain Z, O’Leary M, Morgan SA, Pearson MJ, et al. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 within muscle protects against the adverse effects of local inflammation. *J Pathol* 2016;240:472–83. <https://doi.org/10.1002/path.4806>.
- [98] Thau L, Gandhi J, Sharma S. *Physiology, Cortisol*. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- [99] Bose M, Oliván B, Laferrère B. Stress and obesity: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in metabolic disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009;16:340–6. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e32832fa137>.
- [100] Chao AM, Jastreboff AM, White MA, Grilo CM, Sinha R. Stress, cortisol, and other appetite-related hormones: Prospective prediction of 6-month changes in food cravings and weight. *Obesity (Silver Spring)* 2017;25:713–20. <https://doi.org/10.1002/oby.21790>.
- [101] Newman E, O’Connor DB, Conner M. Daily hassles and eating behaviour: the role of cortisol reactivity status. *Psychoneuroendocrinology* 2007;32:125–32. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2006.11.006>.
- [102] Zakrzewska KE, Cusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: toward an understanding of leptin resistance. *Diabetes* 1997;46:717–9. <https://doi.org/10.2337/diab.46.4.717>.
- [103] Björntorp P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obes Rev* 2001;2:73–86. <https://doi.org/10.1046/j.1467-789x.2001.00027.x>.
- [104] Björntorp P, Rosmond R. Neuroendocrine abnormalities in visceral obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24 Suppl 2:S80-85. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801285>.
- [105] Torres SJ, Nowson CA. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 2007;23:887–94. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.08.008>.

- [106] Ham S, Lee Y-I, Jo M, Kim H, Kang H, Jo A, et al. Hydrocortisone-induced parkin prevents dopaminergic cell death via CREB pathway in Parkinson's disease model. *Sci Rep* 2017;7:525. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00614-w>.
- [107] Quesada-López T, González-Dávalos L, Piña E, Mora O. HSD1 and AQP7 short-term gene regulation by cortisone in 3T3-L1 adipocytes. *Adipocyte* 2016;5:298–305. <https://doi.org/10.1080/21623945.2016.1187341>.
- [108] Cheng T, Dimitrov S, Pruitt C, Hong S. Glucocorticoid mediated regulation of inflammation in human monocytes is associated with depressive mood and obesity. *Psychoneuroendocrinology* 2016;66:195–204. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.01.008>.
- [109] Dickmeis T. Glucocorticoids and the circadian clock. *J Endocrinol* 2009;200:3–22. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0415>.
- [110] Vogeser M, Kratzsch J, Ju Bae Y, Bruegel M, Ceglarek U, Fiers T, et al. Multicenter performance evaluation of a second generation cortisol assay. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:826–35. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0400>.
- [111] Lee DY, Kim E, Choi MH. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Rep* 2015;48:209–16. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2015.48.4.275>.
- [112] Saranapala M, Torpy DJ. Cushing's syndrome versus simple obesity: how can a needle be found in the haystack? 2015.
- [113] Veldhuis JD. Pulsatile Hormone Secretion: Mechanisms, Significance and Evaluation. In: Lloyd D, Rossi EL, editors. *Ultradian Rhythms from Molecules to Mind: A New Vision of Life*, Dordrecht: Springer Netherlands; 2008, p. 229–48. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8352-5_10.
- [114] Kalafatakis K, Russell GM, Harmer CJ, Munafo MR, Marchant N, Wilson A, et al. Ultradian rhythmicity of plasma cortisol is necessary for normal emotional and cognitive

- responses in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115:E4091–100.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1714239115>.
- [115] Walker JJ, Terry JR, Tsaneva-Atanasova K, Armstrong SP, McArdle CA, Lightman SL. Encoding and Decoding Mechanisms of Pulsatile Hormone Secretion. *Journal of Neuroendocrinology* 2010;22:1226–38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02087.x>.
- [116] Faghieh RT, Savla K, Dahleh MA, Brown EN. A feedback control model for cortisol secretion. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2011;2011:716–9. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2011.6090162>.
- [117] Veldhuis JD, Iranmanesh A, Lizarralde G, Johnson ML. Amplitude modulation of a burstlike mode of cortisol secretion subserves the circadian glucocorticoid rhythm. *AM J PHYSIOL* 1989;257.
- [118] Brown EN, Meehan PM, Dempster AP. A stochastic differential equation model of diurnal cortisol patterns. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280:E450-461. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2001.280.3.E450>.
- [119] McMaster A, Jangani M, Sommer P, Han N, Brass A, Beesley S, et al. Ultradian cortisol pulsatility encodes a distinct, biologically important signal. *PLoS ONE* 2011;6:e15766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015766>.
- [120] Walker JJ, Spiga F, Waite E, Zhao Z, Kershaw Y, Terry JR, et al. The Origin of Glucocorticoid Hormone Oscillations. *PLOS Biology* 2012;10:e1001341. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001341>.
- [121] Walker JJ, Terry JR, Lightman SL. Origin of ultradian pulsatility in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Proc Biol Sci* 2010;277:1627–33. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.2148>.
- [122] Lightman SL, Conway-Campbell BL. The crucial role of pulsatile activity of the HPA axis for continuous dynamic equilibration. *Nat Rev Neurosci* 2010;11:710–8. <https://doi.org/10.1038/nrn2914>.

- [123] Spiga F, Waite EJ, Liu Y, Kershaw YM, Aguilera G, Lightman SL. ACTH-Dependent Ultradian Rhythm of Corticosterone Secretion. *Endocrinology* 2011;152:1448–57. <https://doi.org/10.1210/en.2010-1209>.
- [124] Kanikowska D, Roszak M, Rutkowski R, Sato M, Sikorska D, Orzechowska Z, et al. Seasonal differences in rhythmicity of salivary cortisol in healthy adults. *J Appl Physiol* 2019;126:764–70. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00972.2018>.
- [125] Hadlow N, Brown S, Wardrop R, Conradie J, Henley D. Where in the world? Latitude, longitude and season contribute to the complex co-ordinates determining cortisol levels. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2018;89:299–307. <https://doi.org/10.1111/cen.13754>.
- [126] Antoni MH, Lutgendorf SK, Cole SW, Dhabhar FS, Sephton SE, McDonald PG, et al. The influence of bio-behavioural factors on tumour biology: pathways and mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2006;6:240–8. <https://doi.org/10.1038/nrc1820>.
- [127] Thaker PH, Han LY, Kamat AA, Arevalo JM, Takahashi R, Lu C, et al. Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nat Med* 2006;12:939–44. <https://doi.org/10.1038/nm1447>.
- [128] Asao T, Oki K, Yoneda M, Tanaka J, Kohno N. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity is associated with the prevalence of chronic kidney disease in diabetic patients. *Endocr J* 2016;63:119–26. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ15-0360>.
- [129] Kudielka BM, Broderick JE, Kirschbaum C. Compliance with saliva sampling protocols: electronic monitoring reveals invalid cortisol daytime profiles in noncompliant subjects. *Psychosom Med* 2003;65:313–9. <https://doi.org/10.1097/01.psy.0000058374.50240.bf>.
- [130] Mujica-Parodi LR, Renelique R, Taylor MK. Higher body fat percentage is associated with increased cortisol reactivity and impaired cognitive resilience in response to acute emotional stress. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:157–65. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.218>.

- [131] Therrien F, Drapeau V, Lalonde J, Lupien SJ, Beaulieu S, Tremblay A, et al. Awakening Cortisol Response in Lean, Obese, and Reduced Obese Individuals: Effect of Gender and Fat Distribution. *Obesity* 2007;15:377–85. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.509>.
- [132] Rosmond R, Dallman MF, Björntorp P. Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1853–9. <https://doi.org/10.1210/jcem.83.6.4843>.
- [133] Gagnon N, Fréchette I, Mallet P-L, Dubé J, Houde G, Fink GD. Establishment of reference intervals for the salivary cortisol circadian cycle, by electrochemiluminescence (ECLIA), in healthy adults. *Clinical Biochemistry* 2018;54:56–60. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.02.012>.
- [134] Expert Consultation on Diet, Nutrition, and the Prevention of Chronic Diseases, Weltgesundheitsorganisation, FAO, editors. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a WHO-FAO Expert Consultation ; [Joint WHO-FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition, and the Prevention of Chronic Diseases, 2002, Geneva, Switzerland]. Geneva: World Health Organization; 2003.
- [135] Branca F, Nikogosian H, Lobstein T, World Health Organization, editors. The challenge of obesity in the WHO European region and the strategies for response: summary. Copenhagen: World Health Organization, Regional Office for Europe; 2007.
- [136] World Health Organisation (2011). WHO Fact sheet N311- Obesity and over-weight. n.d. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (accessed July 24, 2020).
- [137] WHO Consultation on Obesity (1997: Geneva S, Diseases WHOD of N, World Health Organization. Programme of Nutrition F and RH. Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3-5 June 1997 1998.

- [138] Smith KB, Smith MS. Obesity Statistics. *Prim Care* 2016;43:121–35, ix. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2015.10.001>.
- [139] Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet* 2008;371:569–78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60269-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60269-X).
- [140] Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006;113:898–918. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.171016>.
- [141] Després J-P, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, et al. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1039–49. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.159228>.
- [142] Zhang C, Rexrode KM, van Dam RM, Li TY, Hu FB. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: sixteen years of follow-up in US women. *Circulation* 2008;117:1658–67. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.739714>.
- [143] Kopelman P. Health risks associated with overweight and obesity. *Obes Rev* 2007;8 Suppl 1:13–7. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00311.x>.
- [144] Jung RT. Obesity as a disease. *Br Med Bull* 1997;53:307–21. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a011615>.
- [145] Prospective Studies Collaboration, Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* 2009;373:1083–96. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60318-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60318-4).

- [146] Waterhouse J, Bailey L, Tomlinson F, Edwards B, Atkinson G, Reilly T. Food intake in healthy young adults: Effects of time pressure and social factors. *Chronobiology International* 2005;22:1069–92. <https://doi.org/10.1080/07420520500398023>.
- [147] Pinkney JH, Sjöström CD, Gale EA. Should surgeons treat diabetes in severely obese people? *Lancet* 2001;357:1357–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04524-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04524-4).
- [148] Aronne LJ, Brown WV, Isoldi KK. Cardiovascular disease in obesity: A review of related risk factors and risk-reduction strategies. *J Clin Lipidol* 2007;1:575–82. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2007.10.005>.
- [149] Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the Management of Overweight and Obesity in Adults. *Circulation* 2014;129:S102–38. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee>.
- [150] Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res* 1998;6 Suppl 2:51S-209S.
- [151] Vera B, Dashti HS, Gómez-Abellán P, Hernández-Martínez AM, Esteban A, Scheer FAJL, et al. Modifiable lifestyle behaviors, but not a genetic risk score, associate with metabolic syndrome in evening chronotypes. *Sci Rep* 2018;8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18268-z>.
- [152] Bhatti P, Mirick DK, Davis S. The Impact of Chronotype on Melatonin Levels Among Shift Workers. *Occup Environ Med* 2014;71:195–200. <https://doi.org/10.1136/oemed-2013-101730>.
- [153] Ruiz-Lozano T, Vidal J, de Hollanda A, Canteras M, Garaulet M, Izquierdo-Pulido M. Evening chronotype associates with obesity in severely obese subjects: interaction with CLOCK 3111T/C. *Int J Obes (Lond)* 2016;40:1550–7. <https://doi.org/10.1038/ijo.2016.116>.
- [154] Harris JA, Benedict FG. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1918;4:370–3.

- [155] Jeżewska-Zychowicz M, J. G, Wadolowska L, J. C, Galiński G, A. K-D, et al. Kwestionariusz do badania poglądów i zwyczajów żywieniowych oraz procedura opracowania danych. 2014. <https://doi.org/10.13140/2.1.3207.7125>.
- [156] Marra M, Sammarco R, De Lorenzo A, Iellamo F, Siervo M, Pietrobelli A, et al. Assessment of Body Composition in Health and Disease Using Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) and Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA): A Critical Overview. *Contrast Media Mol Imaging* 2019;2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3548284>.
- [157] Mossink JCL, Verkuil B, Burger AM, Tollenaar MS, Brosschot JF. Ambulatory assessed implicit affect is associated with salivary cortisol. *Front Psychol* 2015;6:111. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.00111>.
- [158] Hucklebridge F, Hussain T, Evans P, Clow A. The diurnal patterns of the adrenal steroids cortisol and dehydroepiandrosterone (DHEA) in relation to awakening. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:51–7. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.04.007>.
- [159] Angeli A, Frajria R, Dogliotti L, Crosazzo C, Rigoli F, Ceresa F. Differences between temporal patterns of plasma cortisol and corticosteroid-binding globulin binding capacity throughout the twenty-four hour day and the menstrual cycle. *J Endocrinol Invest* 1978;1:31–8. <https://doi.org/10.1007/BF03346768>.
- [160] Al-Safi ZA, Polotsky A, Chosich J, Roth L, Allshouse AA, Bradford AP, et al. Evidence for Disruption of Normal Circadian Cortisol Rhythm in Women with Obesity. *Gynecol Endocrinol* 2018;34:336–40. <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1393511>.
- [161] Yu T, Zhou W, Wu S, Liu Q, Li X. Evidence for disruption of diurnal salivary cortisol rhythm in childhood obesity: relationships with anthropometry, puberty and physical activity. *BMC Pediatr* 2020;20:381. <https://doi.org/10.1186/s12887-020-02274-8>.
- [162] Bohák Z, Szabó F, Beckers J-F, Melo de Sousa N, Kutasi O, Nagy K, et al. Monitoring the circadian rhythm of serum and salivary cortisol concentrations in the horse. *Domest Anim Endocrinol* 2013;45:38–42. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.04.001>.

- [163] Selmaoui B, Touitou Y. Reproducibility of the circadian rhythms of serum cortisol and melatonin in healthy subjects: a study of three different 24-h cycles over six weeks. *Life Sci* 2003;73:3339–49. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.05.007>.
- [164] Bergendahl M, Vance ML, Iranmanesh A, Thorner MO, Veldhuis JD. Fasting as a metabolic stress paradigm selectively amplifies cortisol secretory burst mass and delays the time of maximal nyctohemeral cortisol concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:692–9. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.2.8636290>.
- [165] Ferrari E, Fraschini F, Brambilla F. Hormonal circadian rhythms in eating disorders. *Biological Psychiatry* 1990;27:1007–20. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(90\)90037-3](https://doi.org/10.1016/0006-3223(90)90037-3).
- [166] Van Cauter E, Leproult R, Kupfer DJ. Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2468–73. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.7.8675562>.
- [167] Zhao Z-Y, Lu F-H, Xie Y, Fu Y-R, Bogdan A, Touitou Y. Cortisol secretion in the elderly. Influence of age, sex and cardiovascular disease in a Chinese population. *Steroids* 2003;68:551–5. [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(03\)00083-7](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(03)00083-7).
- [168] Larsson CA, Gullberg B, Råstam L, Lindblad U. Salivary cortisol differs with age and sex and shows inverse associations with WHR in Swedish women: a cross-sectional study. *BMC Endocrine Disorders* 2009;9:16. <https://doi.org/10.1186/1472-6823-9-16>.
- [169] Kudielka BM, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer DH, Kirschbaum C. HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinology* 2004;29:83–98. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(02\)00146-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(02)00146-4).
- [170] Šimůnková K, Stárka L, Hill M, Kříž L, Hampel R, Vondra K. Comparison of total and salivary cortisol in a low-dose ACTH (Synacthen) test: influence of three-month oral contraceptives administration to healthy women. *Physiol Res* 2008;57 Suppl 1:S193-199. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931505>.

- [171] 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;33:39–50. <https://doi.org/10.3109/07420528.2015.1112396>.
- [172] Boisseau N, Enea C, Diaz V, Dugué B, Corcuff JB, Duclos M. Oral contraception but not menstrual cycle phase is associated with increased free cortisol levels and low hypothalamo-pituitary-adrenal axis reactivity. *J Endocrinol Invest* 2013;36:955–64. <https://doi.org/10.3275/8971>.
- [173] Meulenberg PM, Ross HA, Swinkels LM, Benraad TJ. The effect of oral contraceptives on plasma-free and salivary cortisol and cortisone. *Clin Chim Acta* 1987;165:379–85. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(87\)90183-5](https://doi.org/10.1016/0009-8981(87)90183-5).
- [174] Adan A, Natale V. Gender differences in morningness-eveningness preference. *Chronobiol Int* 2002;19:709–20. <https://doi.org/10.1081/cbi-120005390>.
- [175] Duffy JF, Cain SW, Chang A-M, Phillips AJK, Münch MY, Gronfier C, et al. Sex difference in the near-24-hour intrinsic period of the human circadian timing system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108 Suppl 3:15602–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010666108>.
- [176] Lim ASP, Myers AJ, Yu L, Buchman AS, Duffy JF, De Jager PL, et al. Sex difference in daily rhythms of clock gene expression in the aged human cerebral cortex. *J Biol Rhythms* 2013;28:117–29. <https://doi.org/10.1177/0748730413478552>.
- [177] Toda M, Kawai T, Takeo K, Rokutan K, Morimoto K. Associations Between Chronotype and Salivary Endocrinological Stress Markers. *Endocrine Research* 2013;38:1–7. <https://doi.org/10.3109/07435800.2012.683225>.
- [178] Al-Rawi N, Madkour M, Jahrami H, Salahat D, Alhasan F, BaHammam A, et al. Effect of diurnal intermittent fasting during Ramadan on ghrelin, leptin, melatonin, and cortisol levels among overweight and obese subjects: A prospective observational study. *PLoS One* 2020;15:e0237922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237922>.

- [179] Bahijri S, Borai A, Ajabnoor G, Abdul Khaliq A, AlQassas I, Al-Shehri D, et al. Relative metabolic stability, but disrupted circadian cortisol secretion during the fasting month of Ramadan. *PLoS One* 2013;8:e60917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060917>.
- [180] Ben Salem L, B'chir S, Bchir F, Bouguerra R, Ben Slama C. [Circadian rhythm of cortisol and its responsiveness to ACTH during Ramadan]. *Ann Endocrinol (Paris)* 2002;63:497–501.
- [181] Wagner M, Kratzsch J, Vogel M, Peschel T, Gaudl A, Ceglarek U, et al. Hair Cortisol Concentration in Healthy Children and Adolescents Is Related to Puberty, Age, Gender, and Body Mass Index. *Horm Res Paediatr* 2019;92:237–44. <https://doi.org/10.1159/000504914>.
- [182] Lucassen EA, Zhao X, Rother KI, Mattingly MS, Courville AB, de Jonge L, et al. Evening Chronotype Is Associated with Changes in Eating Behavior, More Sleep Apnea, and Increased Stress Hormones in Short Sleeping Obese Individuals. *PLoS One* 2013;8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056519>.
- [183] Bedyńska S, Sędek G. *Życie na czas Perspektywy badawcze postrzegania czasu*. 1st ed. Warszawa: PWN; 2010.
- [184] Reinehr T, Andler W. Cortisol and Its Relation to Insulin Resistance before and after Weight Loss in Obese Children. *HRP* 2004;62:107–12. <https://doi.org/10.1159/000079841>.
- [185] Abraham S, Rubino D, Sinaii N, Ramsey S, Nieman L. Cortisol, obesity and the metabolic syndrome: A cross-sectional study of obese subjects and review of the literature. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21:E105–17. <https://doi.org/10.1002/oby.20083>.
- [186] Travison TG, O'Donnell AB, Araujo AB, Matsumoto AM, McKinlay JB. Cortisol levels and measures of body composition in middle-aged and older men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67:71–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02837.x>.

- [187] Jackson SE, Steptoe A. Obesity, perceived weight discrimination, and hair cortisol: a population-based study. *Psychoneuroendocrinology* 2018;98:67–73. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.08.018>.
- [188] Reynolds RM, Labad J, Strachan MWJ, Braun A, Fowkes FGR, Lee AJ, et al. Elevated fasting plasma cortisol is associated with ischemic heart disease and its risk factors in people with type 2 diabetes: the Edinburgh type 2 diabetes study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1602–8. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2112>.
- [189] Oltmanns KM, Dodt B, Schultes B, Raspe HH, Schweiger U, Born J, et al. Cortisol correlates with metabolic disturbances in a population study of type 2 diabetic patients. *Eur J Endocrinol* 2006;154:325–31. <https://doi.org/10.1530/eje.1.02074>.
- [190] Phillips DI, Barker DJ, Fall CH, Seckl JR, Whorwood CB, Wood PJ, et al. Elevated plasma cortisol concentrations: a link between low birth weight and the insulin resistance syndrome? *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:757–60. <https://doi.org/10.1210/jcem.83.3.4634>.
- [191] Akasheh RT, Kroeger CM, Trepanowski JF, Gabel K, Hoddy KK, Kalam F, et al. Weight loss efficacy of alternate day fasting versus daily calorie restriction in subjects with subclinical hypothyroidism: a secondary analysis. *Appl Physiol Nutr Metab* 2020;45:340–3. <https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0554>.
- [192] Vijayalakshmi P, Thimmaiah R, Reddy SSN, B. V K, Gandhi S, BadaMath S, et al. Gender Differences in Body Mass Index, Body Weight Perception, weight satisfaction, disordered eating and Weight control strategies among Indian Medical and Nursing Undergraduates. *Investigación y Educación En Enfermería* 2017;35:276–84. <https://doi.org/10.17533/udea.iee.v35n3a04>.
- [193] Kuan PX, Ho HL, Shuhaili MS, Siti AA, Gudum HR. Gender differences in body mass index, body weight perception and weight loss strategies among undergraduates in Universiti Malaysia Sarawak. *Malays J Nutr* 2011;17:67–75.

- [194] Tchernof A, Brochu D, Maltais-Payette I, Mansour MF, Marchand GB, Carreau A-M, et al. Androgens and the Regulation of Adiposity and Body Fat Distribution in Humans. *Compr Physiol* 2018;8:1253–90. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170009>.
- [195] Min Y, Ma X, Sankaran K, Ru Y, Chen L, Baiocchi M, et al. Sex-specific association between gut microbiome and fat distribution. *Nat Commun* 2019;10:2408. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10440-5>.
- [196] Makarem N, Paul J, Giardina E-GV, Liao M, Aggarwal B. Evening chronotype is associated with poor cardiovascular health and adverse health behaviors in a diverse population of women. *Chronobiol Int* 2020;37:673–85. <https://doi.org/10.1080/07420528.2020.1732403>.
- [197] Muscogiuri G, Barrea L, Aprano S, Framondi L, Di Matteo R, Laudisio D, et al. Chronotype and Adherence to the Mediterranean Diet in Obesity: Results from the Opera Prevention Project. *Nutrients* 2020;12. <https://doi.org/10.3390/nu12051354>.
- [198] Beaulieu K, Oustric P, Alkahtani S, Alhussain M, Pedersen H, Quist JS, et al. Impact of Meal Timing and Chronotype on Food Reward and Appetite Control in Young Adults. *Nutrients* 2020;12:E1506. <https://doi.org/10.3390/nu12051506>.
- [199] Engin A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2017;960:1–17. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_1.
- [200] Tong J, Fujimoto WY, Kahn SE, Weigle DS, McNeely MJ, Leonetti DL, et al. Insulin, C-Peptide, and Leptin Concentrations Predict Increased Visceral Adiposity at 5- and 10-Year Follow-Ups in Nondiabetic Japanese Americans. *Diabetes* 2005;54:985–90. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.4.985>.
- [201] Mosca CL, Marshall JA, Grunwald GK, Cornier MA, Baxter J. Insulin resistance as a modifier of the relationship between dietary fat intake and weight gain. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:803–12. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802621>.

- [202] Lazarus R, Sparrow D, Weiss S. Temporal Relations between Obesity and Insulin: Longitudinal Data from the Normative Aging Study. *American Journal of Epidemiology* 1998;147:173–9. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009431>.
- [203] Bilir BE, Güldiken S, Tunçbilek N, Demir AM, Polat A, Bilir B. The effects of fat distribution and some adipokines on insulin resistance. *Endokrynologia Polska* 2016;67:277–82. <https://doi.org/10.5603/EP.a2016.0023>.
- [204] Sepp E, Kolk H, Loivukene K, Mikelsaar M. Higher blood glucose level associated with body mass index and gut microbiota in elderly people. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2014;25. <https://doi.org/10.3402/mehd.v25.22857>.
- [205] Innocent O, ThankGod OO, Sandra EO, Josiah IE. Correlation between body mass index and blood glucose levels among some Nigerian undergraduates. *HOAJ Biology* 2013;2:4. <https://doi.org/10.7243/2050-0874-2->.
- [206] Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am J Clin Nutr* 2005;81:555–63. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.3.555>.
- [207] Shamai L, Lurix E, Shen M, Novaro GM, Szomstein S, Rosenthal R, et al. Association of body mass index and lipid profiles: evaluation of a broad spectrum of body mass index patients including the morbidly obese. *Obes Surg* 2011;21:42–7. <https://doi.org/10.1007/s11695-010-0170-7>.
- [208] Hu D, Hannah J, Gray RS, Jablonski KA, Henderson JA, Robbins DC, et al. Effects of obesity and body fat distribution on lipids and lipoproteins in nondiabetic American Indians: The Strong Heart Study. *Obes Res* 2000;8:411–21. <https://doi.org/10.1038/oby.2000.51>.
- [209] Morgan E, Schumm LP, McClintock M, Waite L, Lauderdale DS. Sleep Characteristics and Daytime Cortisol Levels in Older Adults. *Sleep* 2017;40. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx043>.

- [210] Baker FC, Driver HS. Circadian rhythms, sleep, and the menstrual cycle. *Sleep Med* 2007;8:613–22. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2006.09.011>.
- [211] Hirshkowitz M, Whiton K, Albert SM, Alessi C, Bruni O, DonCarlos L, et al. National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. *Sleep Health* 2015;1:40–3. <https://doi.org/10.1016/j.sleh.2014.12.010>.
- [212] Brady EM, Bodicoat DH, Hall AP, Khunti K, Yates T, Edwardson C, et al. Sleep duration, obesity and insulin resistance in a multi-ethnic UK population at high risk of diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2018;139:195–202. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.03.010>.
- [213] Bayon V, Leger D, Gomez-Merino D, Vecchierini M-F, Chennaoui M. Sleep debt and obesity. *Ann Med* 2014;46:264–72. <https://doi.org/10.3109/07853890.2014.931103>.
- [214] Broussard JL, Kilkus JM, Delebecque F, Abraham V, Day A, Whitmore HR, et al. Elevated ghrelin predicts food intake during experimental sleep restriction. *Obesity (Silver Spring)* 2016;24:132–8. <https://doi.org/10.1002/oby.21321>.
- [215] Liu E, Lee H-S, Aronsson CA, Hagopian WA, Koletzko S, Rewers MJ, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N Engl J Med* 2014;371:42–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal313977>.
- [216] Arora T, Chen MZ, Cooper AR, Andrews RC, Taheri S. The Impact of Sleep Debt on Excess Adiposity and Insulin Sensitivity in Patients with Early Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Sleep Med* 2016;12:673–80. <https://doi.org/10.5664/jcsm.5792>.
- [217] Liu A, Kushida CA, Reaven GM. Habitual shortened sleep and insulin resistance: an independent relationship in obese individuals. *Metabolism* 2013;62:1553–6. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.06.003>.
- [218] Knutson KL, Van Cauter E, Zee P, Liu K, Lauderdale DS. Cross-sectional associations between measures of sleep and markers of glucose metabolism among subjects with and without diabetes: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Sleep Study. *Diabetes Care* 2011;34:1171–6. <https://doi.org/10.2337/dc10-1962>.

ZAŁĄCZNIKI



UNIwersytet Medyczny Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Stomatologicum
ul. Bukowska 70
60-812 Poznań

tel. (+48 61) 854 73 36
www.bioetyka.ump.edu

Uchwała nr 249/19

Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry (t.j. Dz. U. z 2018 r., poz. 617 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. z 1999 r., Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 2211 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2004 Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2005 r., Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem muloletnich (Dz. U. z 2004 r., Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. z 2004 r., Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie wzorów wniosków związanych z badaniem klinicznym wyrobu medycznego lub aktywnego wyrobu medycznego do implantacji oraz wysokości opłat za złożenie tych wniosków (Dz. U. z 2016 r., poz. 208); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 211, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. z 2010 r., Nr 194, poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. z 2012 r., poz. 489); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 12 października 2018 r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. z 2018 r., poz. 1994); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 07 lutego 2019 r.
rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownicy projektu:

prof. dr hab. Marian Grzymisławski i dr n. med. Agnieszka Zawada

Miejsce prowadzenia badań:

**Katedra i Klinika Gastroenterologii, Dietetyki i Chorób Wewnętrznych UMP oraz
Wielkopolskim Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii – Oddział Pulmonologiczno-
Rehabilitacyjny w Ludwikowie.**

Główni badacze: dr n. med. Agnieszka Zawada, lek. med. Aldona Juchacz

Członkowie zespołu

**badawczego: prof. dr hab. Aleksander Barinow-Wojewódzki, mgr Karolina
Zaleśna, mgr Justyna Szymkowiak, mgr Małgorzata Moszak, prof. dr hab. Zenon
Kokot, dr hab. Jan Matysiak, dr n. med. Paweł Dereziński, mgr Szymon Plewa,
dr hab. Katarzyna Domaszewska, mgr Krzysztof Juchacz, prof. dr hab. Agnieszka
Dobrowolska, mgr Martyna Marciniak, lek. dent. Zofia Strojny**

Temat badań:

**„Ocena parametrów antropometrycznych, profilu białkowego i metabolicznego
oraz czynności układu oddechowego u otyłych pacjentów, redukujących masę
ciała w warunkach kontrolowanych**

**Komisja podjęła Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu zmian wprowadzonych do
protokołu powyższego badania, polegających na rozszerzeniu składu zespołu
badawczego (jak wyżej), poszerzeniu protokołu badawczego oraz wydzieleniu tematu
pracy doktorskiej mgr Martyny Marciniak – „Wpływ restrykcji dietetycznej na rytm
wydzielania okołodobowego kortyzolu u osób otyłych”, zgodnie z Aneks nr 2 z
dnia 07.02.2019r. do Uchwały Komisji Bioetycznej nr 144/17 z dnia 02.02.2017r.
(Aneks nr 1 z dnia 06.09.2018r. Do dokumentacji dołączono zaktualizowany
formularz informacji i zgody pacjenta.**

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

Podpisy członków Komisji Bioetycznej podejmujących Uchwałę nr z dnia 07.02.2019r.

249/19

| Lp. | Imię i Nazwisko | Specjalność | Miejsce Pracy | Podpis |
|-----|---|---|--|---|
| 1. | Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Paweł Chęciński | chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia | Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań. |  |
| 2. | Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski | filozof | Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań. |  |
| 3. | prof. dr hab. Zygmunt Adamski | dermatologia i wenerologia | Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań | ----- |
| 4. | dr Krystyna Babiak | prawnik | Kancelaria Rady Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań. |  |
| 5. | ks. prof. UAM dr hab. Andrzej Bohdanowicz | teologia | Wydział Teologiczny Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul Wieżowa 2/4, Poznań | ----- |
| 6. | prof. dr hab. Maciej Krawczyński | genetyka kliniczna, okulistyka | Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań. |  |
| 7. | mgr Jolanta Lojko-Kolodziejczak | pielęgniarka | Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatrii Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań. |  |
| 8. | mgr Krystyna Malinger | farmaceuta | Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań. |  |
| 9. | prof. dr hab. Andrzej Marszałek | patomorfologia | Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań. |  |
| 10. | prof. dr hab. Maciej Owecki | choroby wewnętrzne, endokrynologia | Zakład Zdrowia Publicznego UMP, ul. Dąbrowskiego 79, 60-529 Poznań. |  |
| 11. | prof. dr hab. Wojciech Służewski | pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne | Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań. |  |
| 12. | prof. dr hab. Robert Spaczyński | ginekologia i położnictwo | Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań. |  |
| 13. | dr med. Piotr Tomczak | onkologia kliniczna, radioterapia | Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań. |  |
| 14. | prof. dr hab. Joanna Twarowska-Hauser | psychiatria | Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań. |  |
| 15. | prof. dr hab. Henryk Wysocki | choroby wewnętrzne, kardiologia | Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań. |  |

Instrukcja jak bezpiecznie pobrać ślinę.

Pobieranie próbek śliny jest prostą, nieinwazyjną i łatwo akceptowalną alternatywą dla badania krwi.

Metoda jaką używasz do pobrania ślina jest dla Ciebie całkowicie bezpieczna, higieniczna, bardzo łatwa i nie wymaga od Ciebie żadnych dodatkowych umiejętności.

Prosimy wykonaj następujące czynności, aby pobrać próbkę śliny:

1. 30 minut przed zebraniem próbki śliny nic nie jedz!
2. 15 minut przed zebraniem próbki śliny przepłucz usta wodą!
3. Otwórz probówkę



4. Znajdująca się w probówce gąbkę przybliż bezpośrednio do ust odwracając probówkę, postaraj się nie dotykać gąbki palcami.



5. Wsuń gąbkę do ust. Delikatnie żuj i przesuwaj gąbkę w ustach w ciągu 3 do 5 minut. Następnie wypluj gąbkę bezpośrednio do probówki, starając się nie dotykać jej palcami.



6. Zamknij korkiem probówkę, na etykiecie probówki zapisz datę i godzinę pobrania.
7. Włóż probówkę do lodówki (nie zamrażaj!) i przynieś do Katedry Patofizjologii w ciągu 2 dni!

Dziękujemy za pobranie próbki!