

Aus dem
CharitéCentrum 2: Grundlagenmedizin
Institut für Physiologie
Direktor: Prof. Dr. Hanns-Christian Gunga

Habilitationsschrift

Die Untersuchung von chronobiologischen Aspekten nicht-visueller Lichtwirkungen beim Menschen

Zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Physiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. phil. Mirjam Yvonne Münch

Eingereicht: März 2015

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Henrik Oster

2. Gutachter: Prof. Dr. Steven Brown

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	3
1. Einleitung	4
1.1 Vorbemerkung	4
1.2 Das circadiane System	5
1.3 Die homöostatische Schlaf-Wachregulation	10
1.4 Der Einfluss von Licht	11
2. Eigene Arbeiten	23
2.1 Einführungen zu den eigenen Arbeiten	23
2.2 Der Einfluss von Licht am Abend auf die Wachheit und den Schlaf bei älteren Menschen	24
2.3 Die Auswirkungen von unterschiedlicher Beleuchtung tagsüber auf die subjektive Wachheit und die kognitive Leistungsfähigkeit am Abend	33
2.4 Farbige Lichtpulse erzeugen unterschiedliche EEG Potentiale in verschiedenen Gehirnbereichen in Abhängigkeit der vorausgehenden Lichtadaptation	43
2.5 Die circadianen und schlafabhängigen Einflüsse des Pupillenreflexes im Verlauf von 24 Stunden als Antwort auf verschiedene farbige Licht- stimuli	53
2.6 Der Pupillenreflex unter Beteiligung der inneren und äußeren Netzhaut ist normal bei Patienten mit vererbter optischer Neuropathie	65
3. Diskussion	73
4. Zusammenfassung	82
5. Literaturangaben	83
6. Danksagung	96
7. Erklärung	97

Abkürzungen

CP: Constant Posture

DLMO: Dim Light Melatonin Onset

dIGN: Dorso-lateraler geniculate nucleus

EEG: Elektroenzephalogramm

ERP: Elektoretinogramm

fMRI: funktionelle Kernspintomographie

ipRG: Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells

OCT: Optische Kohärenztomographie

PACAP: Pituitary adenylate cyclase-activating peptide

PIPR: Post-illuminatory pupil response

REM: Rapid-Eye Movement

RHT: Retino-hypothalamischer Trakt

SAD: Saisonal-abhängige Depression

SCN: Suprachiasmatischer Nucleus

1. Einleitung

1.1 Vorbemerkung

Das Zusammenwirken physiologischer Adaptationsvorgänge mit chronobiologischen Funktionen wirft viele hochaktuelle Fragen für die Grundlagenforschung und ihre Anwendung auf. Die vorliegende Arbeit kann unter anderem als Beitrag zur Herstellung der wissenschaftlichen Grundlagen für die Beantwortung der großen Frage nach der optimalen Beleuchtung verstanden werden. In diesen Kontext sind die in dieser Schrift vorgestellten Arbeiten einzuordnen. Im ersten Teil werden die allgemeinen Grundlagen der Chronobiologie, der circadianen und homöostatischen Schlaf-Wach-Regulation sowie der nicht-visuellen Lichtwirkungen beim Menschen vorgestellt. Die Forschungsschwerpunkte der vorliegenden fünf Studien sind kurz- und langfristig wirksame, nicht-visuelle Lichtwirkungen sowie altersbedingte Veränderungen.

1.2 Das circadiane System

Das circadiane System aller Tierspezies beruht auf dem fundamentalen Prinzip, dass einzelne Zellen in der Lage sind, autonom Rhythmen zu generieren. Bei Säugetieren umfasst das circadiane System nebst diesen zellspezifischen Oszillatoren eine übergeordnete innere Uhr, einen sogenannten 'Haupttaktgeber' im vorderen Hypothalamus, in den suprachiasmatischen Kernen (lat: nucleus suprachiasmaticus; SCN). Die Neuronengruppe ist paarig und beidseits des dritten Hirnventrikels angelegt und umfasst je ca. 10'000 Neuronen [137]. Im Tierversuch konnte bereits 1972 gezeigt werden, dass eine Schädigung dieses Hirnbereichs zu einem Verlust des Corticosteron-Rhythmus in der Nebenniere und des circadianen Ruhe-Aktivitätsrhythmus führt [89,128].

Der SCN besteht aus zwei funktional und anatomisch unterscheidbaren Hauptkomponenten, dem Kern und der Schale ('core', 'shell'), welche mittels unterschiedlicher Neurotransmitter miteinander in Verbindung stehen [90,91]. Die Retina detektiert das Licht via die verschiedenen Photorezeptoren (siehe nächster Abschnitt) und gibt die Information biochemisch (Glutamat; PACP) über den retinohypothalamischen Trakt (RHT [90]) an den SCN und verschiedenste andere Hirnbereiche weiter [23,122,145]. Außer den Informationen des RHT wird auch eine Vielzahl anderer sensorischer und tageszeitabhängiger Informationen in den ventralen Teil der subparaventriculären Zone des Hypothalamus integriert, so dass der SCN als übergeordneter Taktgeber die verschiedenen Oszillatoren im Gehirn und den Geweben und Zellen der Peripherie untereinander synchronisieren kann (siehe [122] für einen Übersichtsartikel).

Die oszillatorische Aktivität im SCN umfasst die tageszeitabhängige Transkription verschiedener Uhrengene (= clock genes; z. B. PER1 und PER2; [4]). Die Frequenzänderungen der Aktionspotentiale [58] in den einzelnen SCN-Neuronen führen zu Unterschieden in der Phase, Periode und der Amplitude im SCN [147], wobei die Änderung der Entladungsrate von SCN-Neuronen auch eine Funktion der Beleuchtungsstärke ist [2,87,125]. Der SCN passt seine Aktivität aufgrund von Rückmeldungen verschiedenster Neuronen, z. B. dem ventrolateralen präoptischen Nukleus, dessen GABAerge Aktivität während des Schlafs enthemmt ist [38], laufend

an. Diese Anpassungen an z. B. wechselnde Tageslängen sind aus evolutionsbiologischer Sicht sicherlich ein großer Vorteil gewesen, weil dadurch die Besiedlung beider Erdhemisphären mit den entsprechenden Anpassungen an die jahreszeitlichen Schwankungen von Temperatur, Tageslänge und Nahrungsvorkommen dauerhaft ermöglicht wurde.

Die endogene Periodenlänge des Aktivitätszyklus im SCN dauert ungefähr, aber nicht genau 24 Stunden und ist genetisch determiniert [143]. Dies ist sowohl artspezifisch wie auch interindividuell [110] und geschlechtsspezifisch unterschiedlich [44]. Beim Menschen beträgt die endogene Periodenlänge ($\tau = \text{tau}$) im Mittel 24.18 Stunden [33]. Im SCN und in allen unseren Zellen finden sich molekulare Oszillatoren, welche über verschiedene Rückkoppelungsschleifen den circadianen Rhythmus generieren und regulieren [3,83,111]. Diese molekularen Rückkoppelungsschleifen reagieren leicht verzögert und der Grad der Verzögerung bestimmt die Phase, die Amplitude sowie die Periode der entsprechenden Oszillatoren. Die Synchronisation dieser peripheren Oszillatoren in den Organsystemen und Zellverbänden untereinander und mit dem SCN erfolgt über hormonelle, humorale und neuronale Wege aber auch z. B. über die Körperkerntemperatur, wobei bis heute noch nicht alle Details bekannt sind [88].

Die Hauptfunktion des SCN liegt somit in der zeitlichen Abstimmung körpereigener Abläufe von Organen und Zellen untereinander (Synchronisation), sowie deren Funktion in Abhängigkeit des äußeren Hell-Dunkel-Zyklus (Entrainment), der sozialen Aktivität, des Schlaf-Wachrhythmus und der Nahrungsaufnahme [8,117]. Der wichtigste Zeitgeber zwischen geologischem 24-Stunden-Tag und innerer Uhr ist das Licht, d. h. die innere Uhr im SCN muss ihre Aktivität jeden Tag aufs Neue anpassen [9]. Die Anpassungsfähigkeit des SCN hält sich ohne den Zeitgeber Licht jedoch in sehr engen Grenzen, sie beträgt weniger als eine Stunde (=range of entrainment). Falls diese Grenzen über- oder unterschritten werden, oder wenn der Zeitgeber ‚Licht‘ zu schwach oder nicht vorhanden ist (z. B. bei Blinden), dann läuft die innere Uhr im SCN gemäß ihrer endogenen Periodenlänge sozusagen ‚frei‘, d. h. losgelöst vom äußeren 24-Stunden-Tag [9] (siehe Abschnitt 1.4, wo die biologischen Lichtwirkungen und deren Bedeutung für die chronobiologischen Aspekte der Physiologie beschrieben werden).

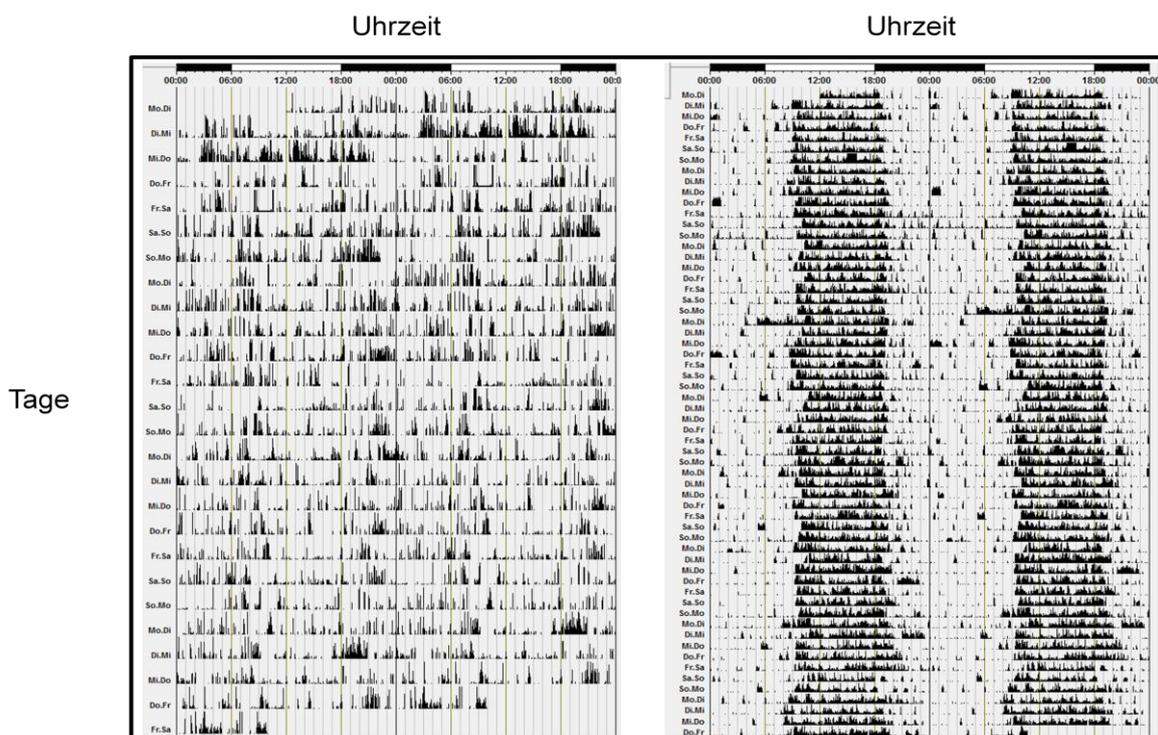
Die exakte endogene Periodenlänge konnte beim Menschen bislang nur in sehr aufwendigen Laborexperimenten, wie z. B. dem sogenannten 'forced desynchrony' Protokoll indirekt, d. h. anhand von circadianen Markern wie z. B. dem Verlauf der Körperkerntemperatur oder dem Verlauf der Konzentrationen des Epiphysen-Hormons Melatonin, eindeutig bestimmt werden [33,41]. Diese forcierte Desynchronisation wird in Laborstudien durch eine künstliche Verlängerung oder Verkürzung des Tages auf 28 oder 20 Stunden erreicht. Bei diesen künstlichen Tageslängen ist das Verhältnis von Schlaf- und Wachphase immer noch 1:2, aber die innere Uhr kann sich (ohne helles Licht) nicht an diese Tage synchronisieren, sondern läuft gemäß ihrer eigenen endogenen Periodenlänge. In diesen Protokollen wird also das Prinzip angewendet, dass forcierte Desynchronisation der inneren Uhr dazu führt, dass sie 'frei' läuft [74]. Dabei muss streng darauf geachtet werden, dass äußere maskierende Faktoren, wie z. B. das Licht, möglichst minimiert werden, um eben gerade ein 'Entrainment' durch Licht als Zeitgeber zu verhindern. Darum werden diese Studien strikt in Dämmerlicht (dim light <5 lx) durchgeführt.

Neuere molekularbiologische Ansätze, die endogene Periodenlänge mittels einfacheren Verfahren zu bestimmen, sind vielversprechend. So konnte gezeigt werden, dass sich menschliche Fibroblasten dazu eignen, die endogene Periodenlänge beim Menschen und beim Tier auch in vitro zu bestimmen [21]. Dazu müssen die Zellen aus menschlichen Hautproben gewonnen und mit einem entsprechenden molekularen (viralen) Vektor versehen werden, welcher synchron mit der Aktivität eines circadianen Gens der Fibroblastenzelle fluoresziert. Auf diese Art und Weise kann die rhythmische Aktivität des entsprechenden Gens über viele Tage gemessen und die endogene Periodenlänge der Zellen bestimmt werden [21].

Was passiert, wenn der SCN nicht funktionstüchtig ist? Im Tierversuch wurde in Transplantationsexperimenten gezeigt, dass die totale Arrhythmie der Ruhe-Aktivitätszyklen infolge einer SCN Zerstörung reversibel ist, wenn dem entsprechenden Tier der intakte SCN eines gesunden Artgenossen eingesetzt wird [110]. Beim Menschen sind ein paar wenige Einzelfälle beschrieben, bei welchen der SCN infolge von Blutungen oder Tumoren funktionsunfähig wurde. Dadurch wurden die Schlaf-Wachzyklen, die sich normalerweise als je eine konsolidierte zeitliche Episode innerhalb von 24 Stunden messen lassen, arrhythmisch oder aber

freiliegend, was jeweils bedeutete, dass die betroffene Person nicht mehr synchronisiert war [15,32]. Anormale Schlaf-Wachzyklen finden wir häufig auch bei Demenz-Patienten, deren SCN-Neuronen nicht mehr voll funktionstüchtig sind [7,131]. Die Abbildung 1 zeigt die Aufnahme unterschiedlicher Ruhe-Aktivitätszyklen von zwei Demenz-Patienten über mehrere Wochen, wobei einer der beiden einen arrhythmischen und der andere einen relativ regelmäßigen Ruhe-Aktivitätsrhythmus aufzeigt. Die hier dargestellte Heterogenität der ultradianen Ruhe-Aktivitätszyklen entspricht auch den interindividuellen Unterschieden, die zwischen Patienten typischerweise auftreten und nicht zwingendermaßen mit der Schwere der Erkrankung korrelieren. Abgesehen davon lassen sich typische Ruhe-Aktivitätsmuster bei sehr unterschiedlichen Erkrankungen feststellen [20,150].

Abbildung 1



Die Abbildung 1 zeigt die Ruhe-Aktivitätszyklen zweier Patienten mit schwerer Demenz über mehrere Wochen. Die Daten auf der x-Achse der Abbildungen links und rechts sind je doppelt dargestellt (48 Stunden). Die linke Abbildung lässt keine konsolidierten Tag-Nachtaktivitäten mehr erkennen, wohingegen beim Patienten auf der rechten Seite ein mehr oder minder normales Ruhe-Aktivitätsmuster vorliegt,

d. h. ein normales Entrainment. Die Daten wurden mit Aktivitätsmonitoren erhoben, welche am Handgelenk getragen wurden (Motion Watch 8; Camntech; Cambridge UK; Quelle: M. Münch; unveröffentlichte Daten).

Die Aufnahme der Ruhe-Aktivitätszyklen erfolgt nichtinvasiv mit einem Aktivitäts-Monitor, der über längere Zeit am Handgelenk getragen wird und die Häufigkeit und Beschleunigung der Armbewegungen misst. Diese Messungen werden dann von der Software in einen Algorithmus integriert und können graphisch dargestellt und auch quantifiziert werden. Es ist also auch beim Menschen möglich, den Ruhe-Aktivitätsrhythmus und somit indirekt einen verlässlichen Anhaltspunkt der SCN-Aktivität zu erhalten. Bei diesen circadianen Aktivitäten werden die eigentlichen Messgrößen ähnlich wie bei einer elektrischen Schwingung beschrieben (und berechnet), nämlich als circadiane Phase, Amplitude und Periodenlänge [117]. Eine weitere Möglichkeit für einen circadianen Marker stellt die Messung der Körperkerntemperatur dar, welche am besten kontinuierlich mit einer Rektalsonde gemessen wird.

Der robusteste, verlässlichste und am einfachsten zu bestimmende Marker für das circadiane System jedoch ist die Messung der Konzentration von Melatonin im Speichel, Blut oder Urin. Melatonin ist ein Peptid-Hormon und wird aus der Aminosäure Tryptophan in der Epiphyse des Zwischenhirns synthetisiert [79]. Es wird auch als 'Dunkelhormon' bezeichnet, weil es am Abend und in der Nacht ausgeschieden wird, sein Maximum ungefähr um den Schlafmittelpunkt herum erreicht (normalerweise 1-2 Stunden vor dem Körperkerntemperatur-Minimum) und danach wieder absinkt. Die Melatonin-Sekretion findet immer in der Nacht statt (auch bei nachtaktiven Tieren) und ist am Tag stets tief, sogar bei Aufenthalt in konstanter Dunkelheit. Viele andere Hormone weisen ebenfalls circadiane Rhythmen auf – d. h. diese Rhythmen oszillieren innerhalb von 24 Stunden – auch in Abwesenheit eines äußeren Zeitgebers wie z. B. Licht (siehe nächster Abschnitt). Folglich könnten sie auch benutzt werden, um die circadiane Phase und Amplitude zu messen; insgesamt werden ungefähr 10 % unseres Genoms circadian exprimiert.

1.3 Die homöostatische Schlaf-Wachregulation

Ein zweites physiologisches System, die homöostatische Schlaf-Wachregulation, sorgt dafür, dass artspezifische Ruhe-Aktivitätsphasen als Garant für normale Körperfunktionen und zum Schutze des Organismus eingehalten werden. Beim Erwachsenen ist dies eine durchschnittlich acht Stunden dauernde, konsolidierte nächtliche Schlafphase, gefolgt von einer ca. 16-stündigen Wachphase. Die homöostatische Schlaf-Wachregulation beim Menschen, oder der Prozess S (nach dem Begründer des 2-Prozess Modells, A. Borbély [16]), bedeutet, dass sich tagsüber ein zunehmender Schlafdruck aufbaut, welcher während des (Tief)-Schlafs in der Nacht exponentiell wieder abgebaut wird. Gleichzeitig reguliert die innere Uhr den circadianen Rhythmus vieler Körperfunktionen (Prozess C) und somit auch den Schlaf. Dementsprechend interagieren beide Prozesse in einer wahrscheinlich nicht additiven Art und Weise [14,47].

Die wichtigsten Marker für den homöostatischen Prozess sind elektrophysiologische Variablen des Wach- und Schlaf-EEGs, wie z. B. die langsam-wellige EEG-Aktivität (<7 Hz) und es wurde auch bereits früh erkannt, dass die individuellen Unterschiede in der Schlafregulation genetisch determiniert sind [52,53]. Der Schlafdruck kann experimentell mittels totalem oder partiellem Schlafentzug untersucht werden. Zunehmend häufiger werden auch Studien mit chronischer Schlafrestriktion durchgeführt [107], die mit ihrem Design des chronischen Schlafmangels über mehrere Tage hinweg näher an unserem Verhalten im täglichen Leben liegen. Der Vorteil bei all diesen längerdauernden Protokollen ist, dass viele physiologische und kognitive Variablen gleichzeitig und wiederholt zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht werden können. Der Nachteil dabei ist, es lässt sich in den meisten Fällen nicht klar trennen, welches die homöostatische und welches die circadiane Komponente ist. Um dies tun zu können, bräuchte man ein spezielles Protokoll, z. B. ein forced desynchrony Protokoll (siehe vorher) [41,107] oder ein Nap-Protokoll [27]. In einem Nap-Protokoll werden die Schlafepisoden als sogenannte 'Naps' über 24 Stunden regelmäßig verteilt, damit sie anschließend verglichen werden können (z. B. 75 Min. Schlaf/150 Min. Wachheit; [94]). Es geht in Nap-Protokollen darum, den homöostatischen Schlafdruck gering zu halten und vor allem die circadiane Komponente zu untersuchen. Dieses Protokoll wurde ursprünglich auch als

'ultrashort sleep-wake paradigm protocol' eingeführt [77]. Wenn also in verschiedenen Experimenten der Einfluss von Licht z. B. auf die Wachheit untersucht wird (siehe nächster Abschnitt), dann muss man sich vergegenwärtigen, dass immer mindestens zwei Prozesse – der homöostatische und der circadiane – gleichzeitig beeinflusst werden, welche unter normalen Bedingungen nicht getrennt quantifiziert werden können.

1.4 Der Einfluss von Licht

Die durch die Erdrotation hervorgebrachten, Jahrmilliarden alten Tag- und Nachtwechsel haben zur Evolution der circadianen Rhythmen aller lebenden Organismen geführt. Die bereits oben beschriebene Eigenheit der endogenen Periodenlänge von Mensch und Tier, welche selten genau 24 Stunden beträgt, bedingt eine tägliche, zeitliche Anpassung des endogenen Rhythmus an den äußeren 24-Stunden-Tag. Diese Anpassung geschieht unbewusst – der wichtigste Faktor oder Zeitgeber ist das Licht. Dieses Entrainment der endogenen circadianen Funktionen mit dem geologischen 24-Stunden Tag stellt eine wesentliche Grundlage für sämtliche physischen und psychischen Funktionen dar. Es wird heute in zunehmendem Masse erkannt, dass ein stabiles circadianes Entrainment beim Menschen eine wichtige Rolle bei der Erhaltung von Gesundheit spielt.

Daher kommt es bei einer Störung des Entrainments auch häufig zu Fehlfunktionen – zur teilweisen oder vollständigen Desynchronisation des Organismus. Eine solche Desynchronisation findet sich z. B. beim Jet-Lag. Darunter werden die körperlichen und psychischen Auswirkungen auf die innere(n) Uhr(en) subsummiert, welche sich nach Flügen über mehrere Zeitzonen hinweg ergeben. Diese Auswirkungen umfassen reversible Symptome wie Müdigkeit und Wachheit zur falschen Uhrzeit, Konzentrationsschwäche, Verdauungsprobleme und Stimmungsschwankungen etc. Eine eher chronisch auftretende Form der circadianen Desynchronisation ergibt sich beispielsweise durch Nachtschichtarbeit und deren Wirkung auf die menschliche Psyche und Stoffwechselfunktionen (die meisten im Krankenhaus Beschäftigten kennen solche Symptome). Die Zusammenhänge der Wirkungen von chronischer Desynchronisation auf die Gesundheit bzw. deren Einfluss bei der Entstehung von

psychischen und körperlichen Krankheiten werden zunehmend erkannt und erforscht. Die Wirkungsgrade, welche auf verschiedenen Ebenen dieser Kaskade bei Schichtarbeit relevant sind – von molekularen Noxen bis hin zu stressbedingten anatomischen Veränderungen, sind jedoch erst teilweise bekannt [129].

Die circadiane Desynchronisation kann beispielsweise nachgewiesen werden, indem die Ruhe-Aktivitätszyklen über mehrere Tage (idealerweise Wochen) analysiert werden, oder das zeitliche Verhältnis verschiedener circadianer Marker zueinander bestimmt wird. Als Beispiel kann hier der abendliche Anstieg der Melatonin-Konzentration an verschiedenen Tagen gemessen werden. Ist die jeweilige Person nicht desynchronisiert, dann bleibt dieser Anstieg mehr oder weniger konstant relativ zur Bettgezeit. Andernfalls verschiebt sich der Anstieg zeitlich auf einen späteren (Phasennachverschiebung; ‚phase delay‘) oder einen früheren Zeitpunkt (Phasenvorverschiebung; ‚phase advance‘).

Eine spätere circadiane Phase kann unter anderem durch (helle) abendliche Lichtexposition verursacht werden, was zu vorübergehender circadianer Desynchronisation und Konflikten mit der erwünschten Arbeitsleistung am nächsten Tag führen kann. Insgesamt werden die pathologischen circadianen Rhythmusstörungen seit einigen Jahren auch offiziell zu den schlafabhängigen Erkrankungen gezählt und sind als solche Bestandteil der Internationalen Klassifikation der Schlafstörungen (ICSD). Die zeitliche Verschiebung der circadianen Phase als Antwort auf helles Licht zu einer bestimmten Tageszeit kann als 'Phasen-Wirkungskurve' (phase response curve; siehe Abbildung 2) dargestellt werden. Je nach Zeitpunkt und Intensität des Lichtpulses kann eine solche Phasenverschiebung bis zu drei Stunden betragen [73].

Abbildung 2

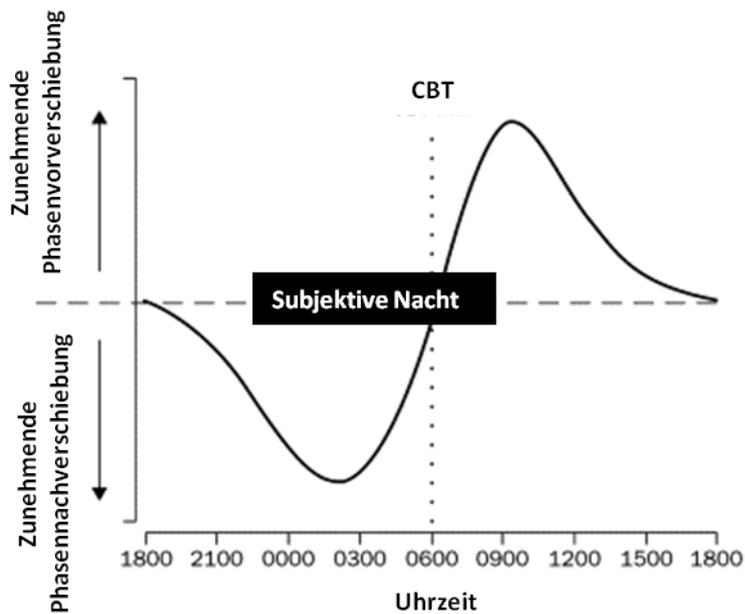


Abbildung 2: Zeigt schematisch die möglichen Richtungen der circadianen Phasenverschiebungen durch Licht (in Abhängigkeit von der Tageszeit der Lichtexposition). Tagsüber bis zum frühen Abend kann die circadiane Phase durch Licht vorverschoben werden. Abends und in der Nacht wird diese durch Licht nachverschoben (bis ungefähr vor das Minimum der Körperkerntemperatur=CBT Minimum); adaptiert von Referenz [109].

Darüber hinaus ist bereits seit ca. 35 Jahren bekannt, dass Lichtexposition in der Nacht die Melatonin-Konzentration beim Menschen akut unterdrückt [80]. Das heißt, via einen multisynaptischen neuronalen Schaltweg (siehe Abbildung 3) wird nachts, wenn Licht auf die Netzhaut trifft, die Melatonin-Sekretion nach dem Dosis-Wirkungsprinzip unterdrückt [152]. Der Messung der Melatonin-Konzentration kommt daher in der Chronobiologie eine wichtige Bedeutung zu, wenn es um die Quantifizierung der Wirkungen einer Beleuchtung auf die innere Uhr geht, da dies zurzeit der verlässlichste Marker für die Wirkung von Lichteffekten ist, den wir kennen.

Ein anderes Peptid-Hormon, das Cortisol, zeigt ebenfalls eine circadiane Oszillation und kann akut mit einer Suppression auf Lichtexposition reagieren. Dies konnte vor allem am Morgen, wenn die Cortisol-Konzentration im Blut am höchsten ist,

nachgewiesen werden [51,68]. Da Cortisol auch stressbedingt ausgeschieden wird, ist es viel anfälliger für Konzentrationsschwankungen und weniger geeignet für einzelne circadiane Feldmessungen.

Abbildung 3:

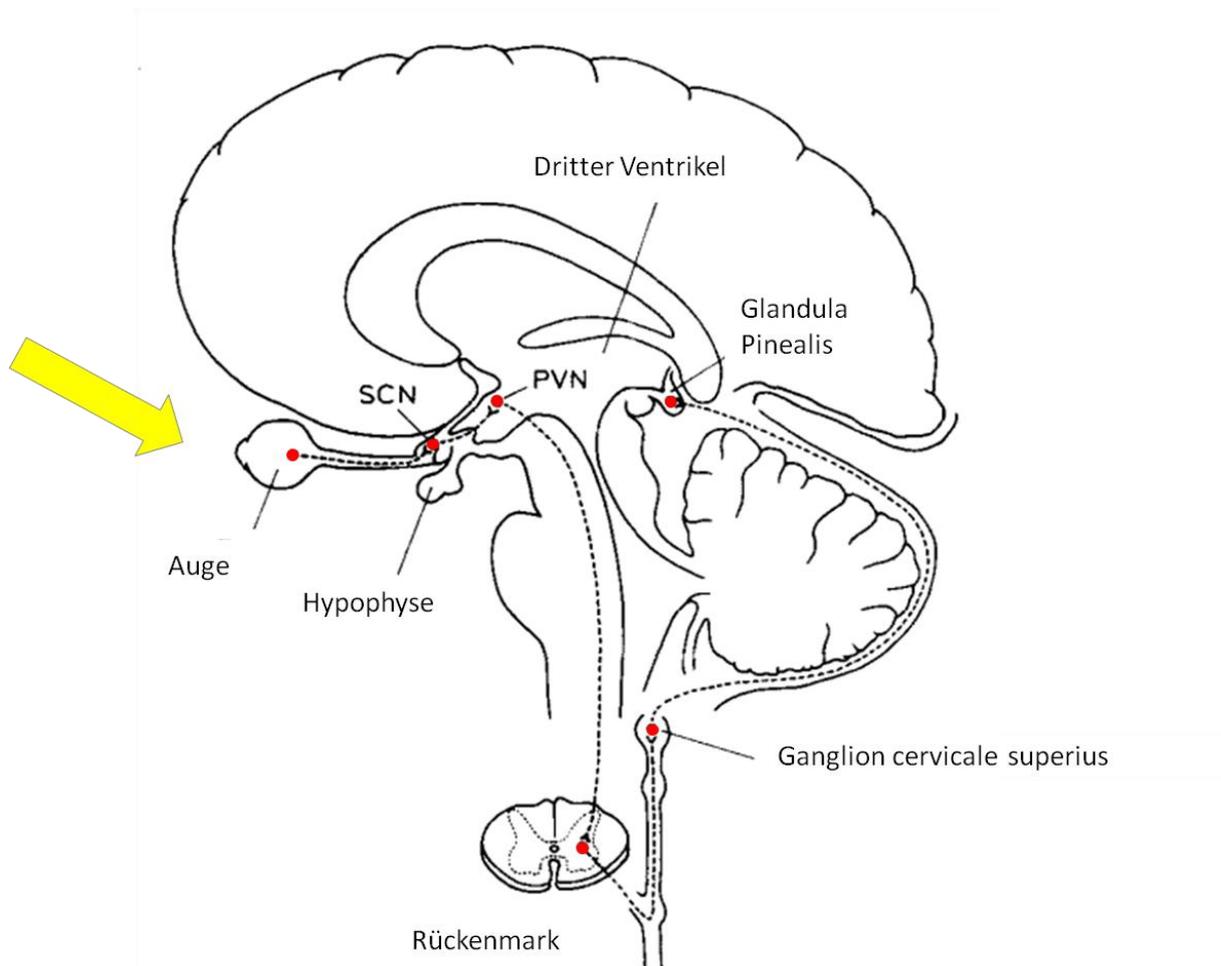


Abbildung 3: Zeigt schematisch die an der Melatonin-Suppression in der Epiphyse beteiligten Neuronen (rot markiert), wenn abends oder nachts Licht (gelber Pfeil) auf die Netzhaut trifft. Der polysynaptische Weg führt von der Retina via den retino-hypothalamischen Trakt (RHT) zum paraventriculären Nucleus (PVN), von dort zum verlängerten Rückenmark und via Ganglion cervicale superius (SCG) zur Glandula pinealis in der Epiphyse (adaptiert von [67]).

Generell wird zwischen akuten und circadianen Lichtwirkungen unterschieden, obwohl natürlich beide miteinander interagieren. Die akuten Wirkungen sind während

der Lichtexposition und kurze Zeit danach (im Bereich von Stunden) messbar. Es ist wichtig zu erwähnen, dass eine große Zahl akuter Lichtwirkungen auch tagsüber gezeigt werden können, d. h. wenn praktisch kein Melatonin oder nur sehr geringe Melatonin-Konzentrationen nachweisbar sind. Als Beispiel könnten die akut wachmachenden Wirkungen einer Beleuchtung am Tage [106,120], genannt werden. Die Wachheit wurde in diesen Studien entweder subjektiv (mit Fragebögen) oder aber objektiv (z. B. via Elektroenzephalogramm; EEG) bestimmt [106,120]. Diese Variablen sind in ihrer Wirkung ebenfalls von der Intensität der Beleuchtung abhängig [26].

Die circadianen Lichtwirkungen machen sich durch eine circadiane Phasenverschiebung bemerkbar und werden z. B. durch die Differenz des zeitlichen Melatonin-Konzentrationsanstiegs am Abend und Folgeabend bestimmt (siehe Abbildung 4). Um die maskierenden Effekte von Licht auf den Anstieg selbst auszuschließen, wird dieser in Dämmerlicht gemessen und heißt deshalb auch ‚Dim Light Melatonin Onset‘ (DLMO).

Abbildung 4

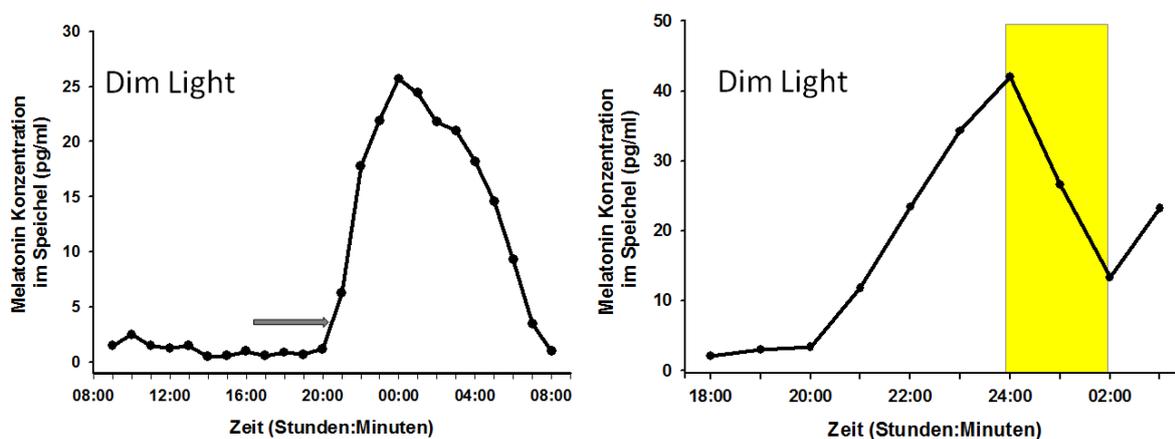


Abbildung 4; linke Seite: Beispiel für ein Melatonin-Sekretionsprofil aus Speichelproben eines jungen Erwachsenen während 24 Stunden in konstantem Dämmerlicht (dim light). Der graue Pfeil zeigt die Zeit des DLMO an (in diesem Fall um 20:30). Rechte Seite: Ein Beispiel für den Verlauf des Melatonin Anstiegs (aus Speichelproben) am Abend, und die akute Suppression während 2 Stunden durch

sehr helle Lichtexposition (gelbes Rechteck; BL= bright light; 4000 lx von 24:00 bis 02:00). (Quelle: M. Münch, unveröffentlicht).

Empirisch wurde gezeigt, dass die circadianen Phasenverschiebungen einem Wirkungs-Dosis Prinzip unterliegen, das heißt sie können aufgrund der Tageszeit, der Beleuchtungsstärke, der Expositionsdauer und vielen anderen Faktoren bestimmt werden [152]. Die circadiane Amplitude eines beliebigen Markers ändert sich sowohl akut wie auch circadian, d. h. es empfiehlt sich, die circadiane Amplitude über mehrere 24-Stunden-Zyklen zu bestimmen, um einen verlässlichen Wert zu erhalten [39].

Seit der Entdeckung der Zapfen und Stäbchen im Auge (vor über 150 Jahren) war bekannt, welches die lichtempfindlichen Rezeptoren im Auge sind. Diese Erkenntnis musste jedoch mit der Entdeckung der intrinsisch lichtempfindlichen retinalen Ganglienzellen (engl. Abkürzung: intrinsic photosensitive Retinal Ganglion Cells; ipRGC) zu Beginn dieses Jahrhunderts grundlegend erweitert werden. Diese Zellen wurden erstmals 1998 [108] beschrieben und 2002 in drei aufsehen erregenden Fachartikeln der renommiertesten Zeitschriften eindeutig charakterisiert [13,62,119]. Die ipRGC, welche in der Ganglien-Zellschicht der inneren Netzhaut liegen, sind weit vernetzt, relativ selten und verteilt über die ganze Fläche der Netzhaut, ihre Dendriten ragen weit in die innere plexiforme Zellschicht hinein [62]. Die neu entdeckten ipRGC produzieren das Photopigment Melanopsin, welches evolutionsbiologisch stark konserviert ist und bereits bei den ersten Vertretern der Vertebraten, z. B. beim Lanzettfischchen, nachgewiesen werden konnte [75]. Auch Nicht-Vertebraten besitzen dieses Photopigment (z. B. Fliegen; [100]). Die ipRGC unterscheiden sich in mehreren physiologischen Eigenschaften von denen der Zapfen und Stäbchen, dies wurde in Tabelle 1 zusammengefasst (die Referenzen sind exemplarisch und beziehen sich nur auf die ipRGC):

Tabelle 1

	Zapfen	Stäbchen	ipGRC	Referenzen
Anzahl Zellen	6 Mio.	120 Mio.	ca. 3000 / Auge (0.2 % aller RGC)	[35]
Aktionspotentiale	Hyperpolarisation	Hyperpolarisation	Depolarisation	[59]
Pigment	S-, M-, L-Opisin	Rhodopsin	Melanopsin	[13,62]
Dunkel- adaptation	Einige Minuten	20-30 Min	bis 2 Std.	[43,149]
Aktivierung	Rasch	Rasch	Verzögert, langanhaltend	[57]
Lambda (λ) max	555 nm	505 nm	480 nm	[54,85]
Sehen	Farbe	Dämmerung	(Kontraste; ?)	[22,46,151]
Funktion	Sehvorgang (primär)	Sehvorgang (primär)	Circadiane Funktionen Anpassung an Umgebungslicht	[63,104]

Tabelle 1: Die wichtigsten Eigenschaften der drei Photorezeptoren

Aus Tabelle 1 wird klar, dass die ipRGC eine einzigartige Zellpopulation mit distinkten Funktionen darstellen. Typischerweise reagieren ipRGC auf Licht verzögert, und brauchen eine gewisse Beleuchtungsstärke, um aktiviert zu werden. Am empfindlichsten sind sie bei ca. 480 nm. Mittlerweile sind mindestens fünf verschiedene Subtypen von melanopsinhaltigen ipRGC beschrieben und untersucht worden [123,124].

Es gibt mehrere Hinweise, dass sich auch die Projektionen der einzelnen Subtypen und somit die Funktionen unterscheiden [10,123,124]. Im Tierversuch wurde gezeigt, dass funktionstüchtige ipRGC in der Retina hinreichend für die Aufrechterhaltung des circadianen Aktivitäts-Rhythmus in blinden Tieren sind [104]. Beim Menschen gibt es einige wenige Beispiele von visuell blinden Patienten, deren sogenannte nicht-visuelle Lichtwahrnehmung unbeeinträchtigt blieb. Sie zeigten deshalb einen normalen Schlaf-Wachrhythmus und während nächtlicher Lichtexposition konnte im Labor eine klare Melatonin-Suppression nachgewiesen werden [34,151].

Eine herausragende Eigenschaft der ipGRC ist deren maximale Empfindlichkeit im sichtbaren blauen Bereich bei ca. 480 nm. Bei monochromatischer Licht-Exposition in diesem Bereich des Lichts hat dies eine klar aktivierende Wirkung auf verschiedene Hirnbereiche [139] und auf die Wachheit [25,82]. Es wird bei dieser

Wellenlänge auch signifikant stärker Melatonin unterdrückt als z. B. bei gleicher Photonenzahl im grünen Bereich bei 555 nm [19,81].

Die Wellenlänge ist jedoch nicht allein entscheidend für die Wirkung einer Beleuchtung. Alle sogenannten nicht-visuellen Lichtwirkungen können auch bei anderen Wellenlängen und natürlich gemischten polychromatischen Beleuchtungen erreicht werden, vorausgesetzt die Beleuchtungsstärken sind genügend hoch [114]. Die Tageszeit und das Alter der jeweiligen Person spielen ebenfalls eine wichtige Rolle (diesen beiden Faktoren widmet sich die erste eigene Arbeit dieser Habilitationsschrift).

Seit der Entdeckung der ipRGC wurde in einer Vielzahl von Studien mit unterschiedlichen Beleuchtungen, Beleuchtungsstärken und Expositionszeiten etc. gezeigt, wie komplex die Wirkungen sind. Eine (unvollständige) Aufzählung zeigt die Wirkung von Licht auf die unterschiedlichsten Variablen, welche allesamt nicht-visuelle Funktionen beinhalten, d. h., nicht direkt mit dem Sehvorgang verknüpft sind (für eine Übersicht siehe auch [93]):

- Herzrate, Blutdruck [25,127]
- Körperkerntemperatur [25]
- Kognition (Reaktionszeit, Vigilanz, Aufmerksamkeit, Merkfähigkeit) [81,139,140]
- Genexpression [1,24,31]
- Schlaf [30,40,96,121,135]
- Hormonsekretion [19,25,51,81,113,133,144]
- Pupillenreflex [54,66,71,97]
- Gehirnaktivität [98,139-141]
- Stimmung, Emotionen [86,142]
- Wachheit [25,82,99,112,127]

Außerdem wird immer klarer, dass die Komplexität der ipRGC-Funktionen in Wirklichkeit viel größer ist als ursprünglich angenommen: So erhalten die ipRGC via extrinsische dendritische Fortsätze, integraler Verschaltung und lateraler Hemmung auf verschiedenen Ebenen der Netzhaut Input von Stäbchen und Zapfen (siehe Abbildung 5).

Abbildung 5

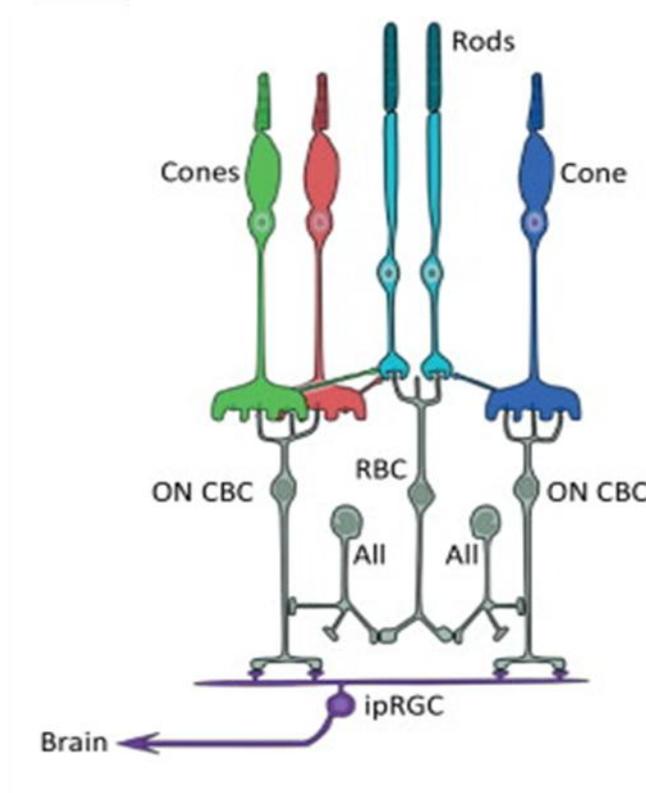


Abbildung 5 zeigt schematisch die drei Photorezeptor-Typen (Zapfen=cones, Stäbchen=rods, ipRGC) und die Verbindungen über bipolare Zellen (ON CBC=on cone bipolar cells; RBC=rod bipolar cells) sowie die Amakrinzellen (All=amacrine cells) und die Verbindung via ipRGC zum Gehirn; adaptiert aus [84].

Dies wurde beispielsweise an den dopaminergen Amakrinzellen aufgezeigt, welche ebenfalls eine einzigartige Schlüsselfunktion für die biochemische Weiterleitung von Lichtreizen innehaben [154]. Seit 2005 ist bekannt, dass neuronale Efferenzen der ipRGC auch in den lateralen Sehhügel des Thalamus projizieren (LGN), d. h., vermutlich existieren Verbindungen mit dem visuellen System auf verschiedenen Ebenen [35]. Allen et al. zeigte kürzlich bei Mäusen auf, dass eine visuelle Adaptation an unterschiedliche Helligkeiten nur in der Gegenwart von funktionstüchtigen melanosinhaltenigen ipRGC-Projektionen in die dorsolateralen Sehhügel des Thalamus (dLGN) optimal vermittelt werden konnte [5]. Die Abbildung 6 gibt einen Überblick über die wichtigsten efferenten ipRGC-Projektionen.

Abbildung 6

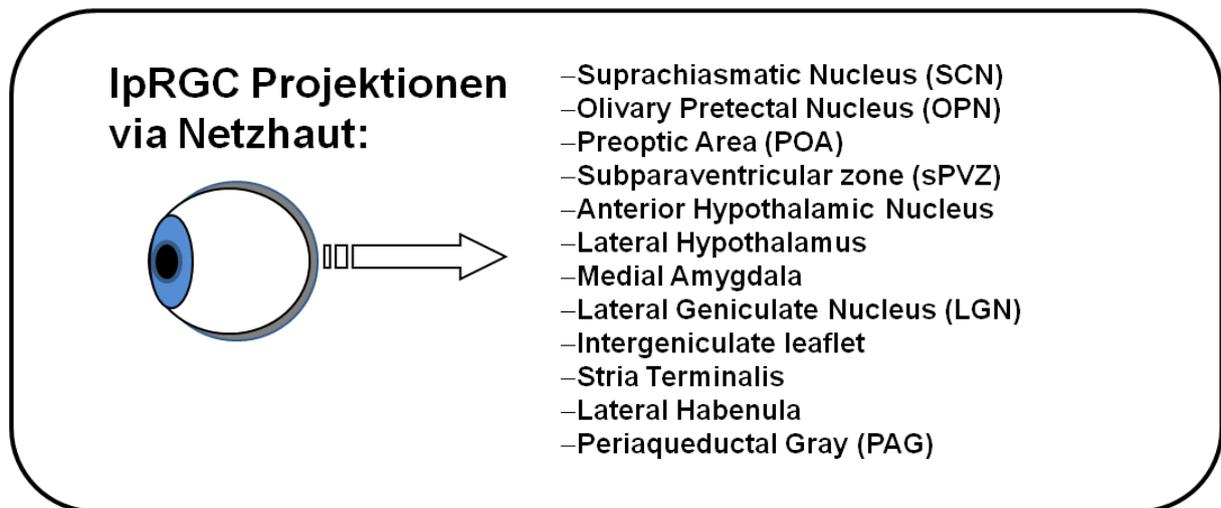


Abbildung 6: Zeigt verschiedene ipRGC-Projektionen im Gehirn von Säugetieren (nach [61])

Bei Tieren und beim Mensch konnte kürzlich gezeigt werden, dass die ipRGC tatsächlich auch zu visuellen Diskriminationsaufgaben und zum Kontrast-Sehen beitragen [22,151]. Eine wesentliche Aufgabe der ipRGC scheint auch die kurz- und länger wirksame Adaptation an wechselnde Beleuchtungen zu sein [5,60]. Inwiefern sich die nicht-visuellen Funktionen dabei ändern können, wird in der zweiten und dritten eigenen Arbeit dieser Schrift gezeigt.

Letztlich bleibt noch ein weiterer Aspekt unberücksichtigt: Wie kann die Qualität einer Beleuchtung hinsichtlich biologischer Wirkung bzw. deren chronobiologischer Wirkung vorausgesagt werden? Dies ist eine Frage, die uns immer noch beschäftigt, zumal der beste und verlässlichste Marker für die Quantifizierung biologischer Lichtwirkungen die Melatonin-Suppression ist, welche jedoch nur am Abend und in der Nacht, während der Sekretionsphase von Melatonin funktioniert.

Deshalb wurde auf breiter Front begonnen, nach neuen Methoden und Markern zu suchen, welche bestimmte, nicht-visuelle Lichtwirkungen quantifizieren können. Einer dieser möglichen Marker ist der Pupillenreflex als Antwort auf kurze, farbige Lichtstimuli. Die Methode wurde bislang in der Ophthalmologie zu diagnostischen Zwecken eingesetzt. Der Pupillenreflex auf Lichtstimuli wird – via Sehnerv, über den

retinotektalen Trakt (RTT) und die Olivenkerne (Nucleus pretectalis olivaris; OPN) – direkt durch Melanopsin reguliert und unterliegt natürlich auch dem Einfluss von Zapfen und Stäbchen [85].

Studien an Nagetieren ohne funktionstüchtige Zapfen und Stäbchen haben gezeigt, dass der persistierende Teil des Pupillenreflexes d. h. die verzögerte Re-Dilatationsphase auf blaue aber nicht rote Lichtstimuli (auch PIPR genannt = post-illuminatory pupil response [54]) den Beitrag von Melanopsin besonders gut aufzeigen kann [69]. Eine pharmakologische temporäre Inaktivierung der Zapfen und Stäbchen bei nicht-menschlichen Primaten zeigte, dass der PIPR nach blauen aber nicht roten Lichtstimuli immer noch intakt war, was als indirekter Beweis für den Beitrag der melanopsinhaltigen ipRGC auf den PIPR genommen werden kann [54]. Die letzten beiden der hier vorgestellten eigenen Arbeiten befassten sich mit der chromatischen Pupillometrie bei gesunden Probanden im Verlauf von 24 Stunden sowie bei Patienten mit vererbten Sehnerv-Erkrankungen.

Ich werde in der vorliegenden Habilitationsschrift aufzeigen, wie sich unterschiedliche chronobiologische Aspekte in Bezug auf die nicht-visuellen Lichtwirkungen beim Menschen auswirken können. Die Arbeit untersuchte nur eine Auswahl möglicher Wirkungen, dabei wurden die folgenden Untersuchungsmethoden angewendet:

- Bestimmung der Melatonin- und der Cortisol-Konzentration im Blut und im Speichel
- Bestimmung der Körperkerntemperatur
- Subjektive Wachheit
- Wach- und Schlaf-EEG, Messgrößen: Ereigniskorrelierte Potentiale, Spektralanalyse, Inverse Solutions
- Messung der Kognition mittels verschiedener Tests
- Messung des Pupillenreflexes (chromatische Pupillometrie; s. Abbildung 7)

Abbildung 7:

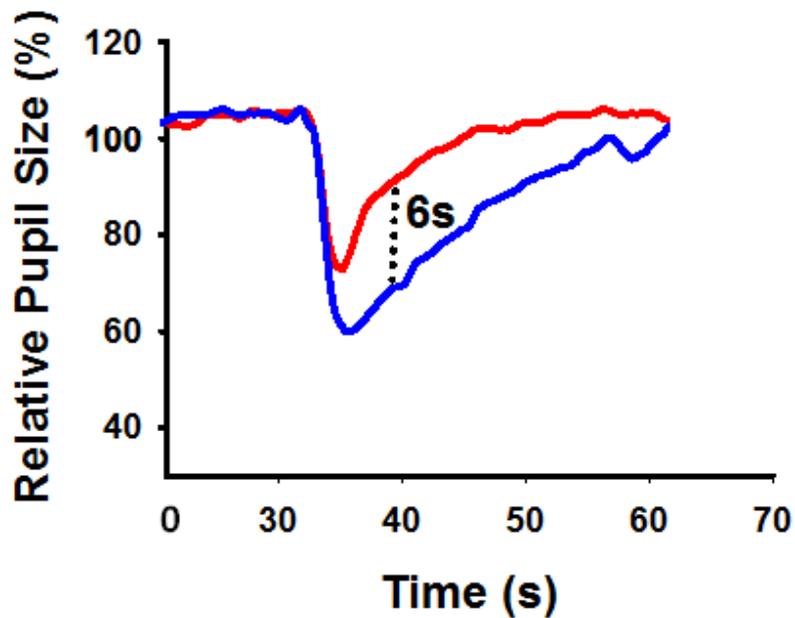


Abbildung 7: Darstellung der Pupillenreflexe nach 1 s langen, roten und blauen Lichtstimuli (übereinander dargestellt). Die ersten 30 Sekunden wurden in Dunkelheit zugebracht und bilden die Baseline (=100 %). Dann folgte entweder ein roter oder ein blauer Lichtstimulus. Die beiden Kurven sind übereinander dargestellt. Die relative Pupillengröße 6 Sekunden nach Ende des blauen Lichtstimulus wurde als Maß für den PIPR (=post-illuminatory pupil response) genommen und beinhaltete eine hohe Beteiligung der ipRGC (adaptiert aus [97]).

2. Eigene Arbeiten

2.1 Einführung zu den eigenen Arbeiten

Die folgenden fünf eigenen Arbeiten befassen sich grösstenteils mit den lang- und kurzzeitig wirksamen Einflüssen unterschiedlicher Lichtbedingungen auf die nicht-visuellen Funktionen beim Menschen. Dabei spielen verschiedene Adaptationsvorgänge eine zentrale Rolle.

In der ersten Arbeit wurde untersucht, ob das Alter bei diesen Vorgängen eine Rolle spielt. Die zweite Arbeit befasste sich mit dem Einfluss von unterschiedlicher Beleuchtung am Tage auf die kognitive Leistungsfähigkeit und die Hormonsekretion bei jungen Erwachsenen am Abend. In einer dritten Arbeit wurde die Wirkung von sehr kurzen, farbigen Lichtpulsen auf die Gehirnaktivität im EEG von Gesunden untersucht.

Ein verlässlicher Marker für die Quantifizierung der nicht-visuellen Lichtwirkungen am Tage fehlt. Daher haben wir im Zuge einer interdisziplinären Zusammenarbeit der weiteren Erforschung eines solchen Markers besondere Bedeutung beigemessen. Ein geeigneter Kandidat könnte der Pupillenreflex auf farbige Lichtpulse sein (=chromatische Pupillometrie). Die vierte Arbeit ging daher zunächst der Frage nach, ob der Pupillenreflex auf kurze, farbige Lichtpulse dazu dienen könnte, circadiane und schlafabhängige Charakteristika bei Gesunden festzustellen. In einer fünften Arbeit wurde dies bei Patienten mit vererbter optischer Neuropathie getestet.

2.2 Der Einfluss von Licht am Abend auf die Wachheit und den Schlaf bei älteren Menschen

Münch M, Scheuermaier KD, Zhang R, Dunne SP, Guzik A, Silva EJ, Ronda JM, Duffy JF. (2011) Effects on subjective and objective alertness and sleep in response to evening light exposure in older subjects. *Behavioural Brain Research*, 224:272-278.

Link zur Originalpublikation: [doi:10.1016/j.bbr.2011.05.029](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.05.029)

In dieser semi-naturalistischen Studie testeten wir, ob sich eine helle, polychromatisch weiße Beleuchtung im Vergleich zu einer blau-angereicherten Beleuchtung unterschiedlich auf die Wachheit und den Schlaf gesunder älterer Versuchspersonen auswirkte. Semi-naturalistisch war das Studiendesign deshalb, weil die Versuchspersonen (außer am Anfang und am Ende der Studie) das Labor tagsüber verlassen konnten, um sich draußen aufzuhalten und ihren gewohnten Tagesaktivitäten nachzugehen. Die Versuchspersonen wurden insgesamt viermal, jeweils am Abend, einer der zwei Beleuchtungsbedingungen ausgesetzt. Zur methodischen Bestimmung der Wirkung wurden einerseits die subjektive Einschätzung der Müdigkeit mittels Fragebogen, und andererseits die objektive Bestimmung derselben durch Quantifizierung der EEG-Aktivität im Wachzustand eingesetzt. Außerdem wurde der Schlaf polysomnographisch aufgezeichnet und analysiert. Am Schluss wurden die Ergebnisse der beiden Beleuchtungsgruppen verglichen.

Für die Erfassung der circadianen Phasenverschiebung wurde die Melatonin-Konzentration im Blutplasma (und im Speichel) bestimmt. Dazu wurde am Anfang und am Ende der Studie während 24 Stunden in einem sogenannten 'constant posture' (CP) Protokoll die Melatonin-Konzentration bestimmt. Während des CP-Protokolls verbleiben die Versuchspersonen in einer konstanten, halb-sitzenden Körperposition im Bett (außer während des Schlafs), um die Einflüsse durch den Wechsel der Körperposition auf die verschiedenen Messgrößen größtmöglich zu vermeiden. Während der Nacht durften die Versuchspersonen zu ihren habituellen Zeiten schlafen. Während der ganzen Zeit wurde ihnen in regelmäßigen Abständen Blut mittels eines langen Infusionsschlauches außerhalb des Zimmers abgenommen.

Während der Nacht geschah dies, ohne sie zu wecken. Der Laborteil der Studie dauerte insgesamt 8 Tage und die 10 Probanden erhielten jeweils an vier Abenden entweder eine helle Beleuchtung mit polychromatisch weißem Licht oder eine blau angereicherte Beleuchtung mit ähnlicher Photonenzahl (aber höherem Blauanteil).

Die Ergebnisse zeigten, dass beide Beleuchtungsbedingungen am Abend die Probanden am 5. Abend (in der CP) subjektiv wacher werden ließen, ohne negativ auf deren Schlaf einzuwirken; lediglich die Rapid-Eye Movement (REM) Schlaf-Latenz wurde verlängert. Letzteres Ergebnis ist im Zusammenhang mit dem Einfluss von Licht auf das circadiane System zu verstehen. Die circadiane Phasenverschiebung zwischen den beiden getesteten Beleuchtungssituationen war vergleichbar (100 Minuten nach polychromatisch weißer, bzw. 116 Minuten nach blau angereicherter Beleuchtung), d. h. eine blau angereicherte Beleuchtung brachte keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich mit einer normalen, hellen Beleuchtung.

Ein Fazit der Studie ist die Tatsache, dass eine helle Beleuchtung, jeweils am Abend und über mehrere Tage eingesetzt, die Wachheit bei älteren gesunden Versuchspersonen steigern kann, ohne den darauf folgenden Schlaf zu beeinträchtigen. Dies wurde jeweils an einem Folgeabend getestet, an dem sich die Probanden im 'dim light' aufhielten. Das heißt, der Effekt der vorausgehenden Beleuchtung war auch nach über 24 Stunden noch messbar. Ob dies durch die induzierte circadiane Phasenverschiebung oder eine Steigerung der Amplitude erreicht wurde, konnte in dieser Studie nicht bestimmt werden.

Die nächste Arbeit befasste sich mit der Frage, ob eine unterschiedliche Beleuchtung tagsüber auch noch länger andauernde Auswirkungen z. B. auf die Leistungsfähigkeit am Abend haben kann.

2.3 Die Auswirkungen von unterschiedlicher Beleuchtung tagsüber auf die subjektive Wachheit und die kognitive Leistungsfähigkeit am Abend

Münch M, Linhart F, Borisuit A, Jaeggi SM, Scartezzini JL. (2012) Effects of prior light exposure on cognitive performance, subjective sleepiness, and hormonal secretion in the evening, Behavioral Neuroscience. 126:196-203.

Link zur Originalpublikation: <http://dx.doi.org/10.1037/a0026702>

Diese Arbeit zeigt auf, dass sich der Einfluss der Beleuchtung tagsüber auch auf kognitive Fähigkeiten später am Tag, bzw. am Abend auswirkt. Die Studie wurde ebenfalls in einem semi-naturalistischen Design durchgeführt, d. h. die 28 jungen Versuchspersonen kamen insgesamt für je zwei Nachmittage und Abende ins Labor und durften danach wieder nach Hause. Bei der Studie handelte es sich um ein sogenanntes 'balanced crossed-over within-subject-design', in welchem alle Probanden beiden Beleuchtungsbedingungen ausgesetzt wurden. An einem Nachmittag war die Beleuchtung normales Tageslicht (während 6 Stunden), welches je nach Bewölkungsgrad mit elektrischer Beleuchtung komplettiert wurde, um eine bestimmte konstante Beleuchtungsstärke (ca. 1000 lx) aufrecht zu erhalten.

Es ist wichtig anzumerken, dass dabei mittels lichtdurchlässigen, matten Storen verhindert wurde, dass die Versuchspersonen zum Fenster hinausschauen konnten. Die zweite Beleuchtungsbedingung war eine elektrische Raumbelichtung mit einer deutlich tieferen Beleuchtungsstärke (im Mittel 176.3 lx in einer vertikalen Richtung am Auge), wie sie standardmäßig als künstliche Beleuchtung in Räumen anzutreffen ist. Die Versuchspersonen mussten am Nachmittag verschiedene subjektive Einschätzungen bezüglich visuellem Komfort, Stimmung und Müdigkeit vornehmen, diese Ergebnisse sind ebenfalls publiziert [18]. Am Abend (18:00) begaben sich die Versuchspersonen in einen Raum mit stark gedimmter Beleuchtung (<6 lx) und mussten dort ebenfalls regelmäßig ihre subjektive Befindlichkeit angeben und einen schwierigen kognitiven Test durchführen, welcher vor allem die Leistung des Arbeitsgedächtnisses untersuchte. Daneben wurden Speichelproben für den Verlauf der Melatonin- und Cortisol-Konzentrationen genommen und analysiert.

Die Resultate dieser Studie zeigten, dass sich die Versuchspersonen am Anfang des Abends wacher und am Ende des Abends (d. h. am Ende der Studie um 20:00) weniger müde fühlten, wenn sie den Nachmittag in der helleren Beleuchtung mit Tageslicht verbracht hatten. Die kognitive Leistungsfähigkeit war ebenfalls größer nach dieser Beleuchtungssituation – zumindest in der leichteren Version des n-back Tests (2-back). Da sich bei diesem Test eine starke Lernkurve ergab, wurden die Resultate am zweiten Studientag relativ zu denjenigen am ersten Tag ausgedrückt, hier ergab sich sogar eine signifikant bessere Leistung für beide Versionen des kognitiven Tests (2- und 3-back) nach hellerer Nachmittagsbeleuchtung.

Die Ergebnisse der Hormonuntersuchungen im Speichel zeigten keine Unterschiede, was darauf hindeutet, dass die unterschiedliche Beleuchtung tagsüber nicht per se zu einer circadianen Phasenverschiebung geführt hatte. Das Fazit dieser Studie ist, dass es eine sogenannte 'prior light history' auch für subjektive Müdigkeit und die kognitive Leistungsfähigkeit zu geben scheint. Dies bedeutet, dass die Wirkung einer Beleuchtung auf nicht-visuelle Funktionen beim Menschen direkt und indirekt über die eigentliche Expositionszeit hinaus messbar ist.

In der nächsten hier vorgestellten eigenen Arbeit ging es um die Erforschung der kurzzeitigen Wirkung von wiederholten, farbigen Lichtstimuli auf die EEG-Aktivität im Gehirn nach unterschiedlicher Lichtadaptation.

2.4 Farbige Lichtpulse erzeugen unterschiedliche EEG-Potentiale in verschiedenen Gehirnbereichen in Abhängigkeit von der vorangegangenen Lichtadaptation

Münch M, Plomp G, Thunell E, Kawasaki A, Scartezzini JL, Herzog M, Different colors of light lead to different adaptation and activation as determined by high-density EEG, *Neuroimage*, (2014) 101: 547-554.

Link zur Originalpublikation: [doi:10.1016/j.neuroimage.2014.06.071](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.06.071)

Die vorhergehende Arbeit befasste sich mit dem Einfluss von länger zurückliegender Lichtexposition (in der Größenordnung von Stunden) auf die nicht-visuellen Effekte von Licht. Das Ziel dieser Arbeit war es, die kurzzeitigen Wirkungen vorheriger Lichtadaptation auf unmittelbar darauf folgende verschiedenfarbige Lichtstimuli in der EEG-Aktivität im Gehirn aufzuzeigen. Darüber hinaus wurde mittels dem mathematischen Verfahren der 'inverse solutions' die entsprechenden neuronalen Bereiche im Gehirn lokalisiert, von welchen diese Veränderungen der Aktivität ausgingen. Besonderes Interesse galt natürlich den beiden Annahmen, dass für blaue Lichtstimuli andere Hirnareale aktiviert würden als mit anderen monochromatischen Farben und dass sich die Aktivität bestimmter Hirnareale quantitativ, in Abhängigkeit der verwendeten Lichtstimuli und vorheriger Adaptation ändern würde. Beides würde im Zusammenhang mit den nicht-visuellen (ipRGC-abhängigen) Funktionen stehen, da aufgrund der unterschiedlichen Empfindlichkeiten der Photopigmente auch unterschiedliche Aktivitäten zustande kommen sollten. Deshalb wurde ein Paradigma gewählt, in welchem die ipRGCs entweder minimal oder maximal aktiviert wurden. Für diese Arbeit wurden 16 junge, gesunde Versuchspersonen in einem randomisierten 'within-subject' Studiendesign getestet. Alle Versuchspersonen kamen insgesamt fünfmal ins Labor und wurden je einmal nach einer halbstündigen Dämmerlichtadaptation und einmal nach einer einstündigen (hellen) Lichtadaptation einem 'event-related' Paradigma unterworfen, in welchem insgesamt 160 kurze, monochromatische oder weiße Lichtstimuli präsentiert wurden. In jeder Sitzung wurde eine andere Lichtfarbe getestet (blau, rot, grün, weiß). Die Datenerfassung erfolgte mit einem hochauflösenden EEG (128 Ableitungen). Die Abbildung 8 zeigt exemplarisch das Studien-Setup.

Die Studie zeigte klare Unterschiede in der Gesamtaktivität (global field power), welche als Korrelat für die neuronale Aktivität gewertet wird. Nach Dämmerlicht-Adaptation fand sich die stärkste Aktivierung nach den roten Lichtstimuli, während nach hellerer Lichtadaptation die Aktivierung mit blauen, grünen und weißen aber nicht roten Lichtstimuli am stärksten war. Diejenigen Hirnareale, welche für die Generierung dieser EEG-Veränderungen als am wahrscheinlichsten analysiert wurden, waren neben dem visuellen Cortex auch präfrontale, parietale und subcortiale Hirnbereiche. Die sehr schnelle Aktivierung von prämotorischen Hirnarealen im Bereich der 'frontal eye fields' (FEF) könnte erklären, warum besonders nach blauen Lichtstimuli schnellere Reaktionszeiten, z. B. im psychomotorischen Vigilanztest möglich sind (wie dies in anderen Studien gezeigt wurde [82]). Diese Aktivierung konnte aber nur nach vorheriger heller Lichtadaptation gezeigt werden, d. h. wenn die ipRGC mit hoher Wahrscheinlichkeit aktiviert waren. Diese Arbeit ist die erste, welche diese sehr kurzzeitigen EEG-Potentiale im Gehirn nach unterschiedlicher Lichtadaptation im Hinblick auf ipRGC-Reaktionen beim Menschen gemessen hat. Damit wird das Bild mit den bereits vorhandenen fMRI-Studien vervollständigt und es kann klar gesagt werden, dass eine Beleuchtung, welche stärker auf die Empfindlichkeit der ipRGC abzielt, auch eine größere Gehirnaktivität verschiedener Areale erzielen kann.

Abbildung 8:

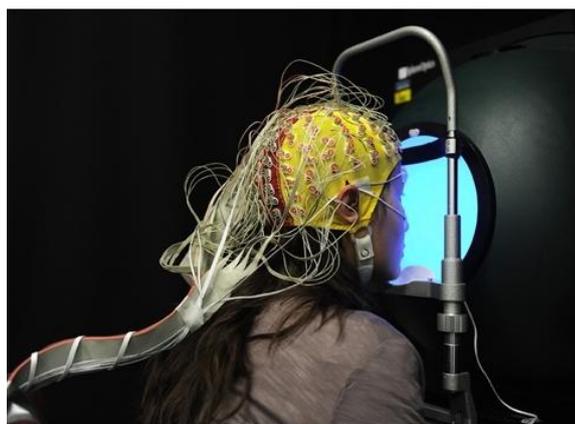


Abbildung 8 zeigt exemplarisch das Studien-Setup mit EEG und der Ulbrichtkugel mit der monochromatischen Lichtquelle (Photo: © David Prêtre).

Die nächsten beiden Arbeiten befassen sich mit der Beschreibung des Pupillenreflexes auf farbige Lichtpulse beim Menschen. Damit könnte dem Ziel, die Wirkung von Licht auf nicht-visuelle Funktionen beim Menschen auch tagsüber verlässlich(er) zu beschreiben, näher gerückt werden.

2.5 Die circadianen und schlafabhängigen Einflüsse des Pupillenreflexes im Verlauf von 24 Stunden als Antwort auf verschiedene farbige Lichtstimuli

Münch M, Léon L, Crippa S, Kawasaki A, (2012) Circadian and wake-dependent effects on the pupil light reflex in response to narrow-bandwidth light pulses, Investigative Ophthalmology and Visual Science, 53:4546-4555. doi:10.1167/iovs.12-9494

Link zur Originalpublikation :

<http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2168154>

Diese Arbeit diente dazu, festzustellen, ob und wie sich der Pupillenreflex auf farbige Lichtstimuli im Verlauf von 24 Stunden bei gesunden Versuchspersonen unter konstant gehaltenen Bedingungen veränderte. Gleichzeitig mit stündlichen Pupillenreflex-Messungen auf rote und blaue kurze Lichtstimuli wurde die Melatonin-Konzentration im Speichel gemessen (als circadianer Marker). Die Messung des Verlaufs der subjektiven Müdigkeit diente als schlafabhängiger, homöostatischer Marker. Diese Studie wurde bei 10 gesunden Versuchspersonen durchgeführt, welche für zwei 12-stündige Aufenthalte ins Photobiologische Labor der EPFL kamen (Lausanne, Schweiz, Labor für Solarenergie und Bauphysik). Die Probanden hielten sich außer für die Pupillenmessungen während der gesamten Zeit in konstantem Dämmerlicht auf (<6 lx) und durften nicht schlafen. Um festzustellen, welcher physiologische Marker des Pupillenreflexes auf Licht am besten geeignet war, wurden insgesamt 6 verschiedene Messgrößen analysiert (siehe Abbildung 1 in der folgenden Publikation).

Die Ergebnisse bestätigten die Annahme, dass sich vor allem die Re-Dilatationsphase der Pupille nach Beendigung des Lichtstimulus von 1 s Dauer sehr gut dazu eignete, die circadiane Variation des Pupillenreflexes festzustellen. Eine solche Variation fand sich nur in Antwort auf blaue Lichtstimuli, was eine starke

Beteiligung der ipRGC implizierte. Ein Maximum innerhalb der 24-Stunden Variation (welches gleichzeitig ein Minimum an Empfindlichkeit auf die Lichtstimuli darstellte) fand sich in der zweiten Nachthälfte, ca. 2 Stunden vor der eigentlichen Aufwachzeit (um das ungefähre Körperkern-Temperaturminimum herum). Die Analyse des Gesamtbereichs unter der Kurve der Pupillenreaktion ('area under the curve') zeigte, dass diese vor allem die schlafabhängigen Pupillenbewegungen erfasste, und somit nicht unbedingt als circadianer Marker geeignet ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Pupillenreflex auf blaue Lichtstimuli von 1 s Dauer ein geeignetes Maß darstellt, um die Mitbeteiligung der ipRGC an der Re-Dilatationszeit als Marker für nicht-visuelle Lichtwirkungen zu nutzen. Es zeigten sich überdies auch schlafabhängige Komponenten, die wahrscheinlich mit den Schläfrigkeits-induzierten Pupillenbewegungen zusammenhängen ('fatigue waves').

Nachdem wir in dieser Arbeit die Validität des chromatischen Pupillenreflexes in einer kontrollierten Studie über 24 Stunden geprüft hatten, wollten wir in einer Studie mit bestimmten ophthalmologischen Patienten testen, ob sich die Pupillometrie auch bei diesen als 'Frühwarnsystem' für Mitbeteiligung der nicht-visuellen Funktionen anwenden ließ, sofern die ipRGC durch die Augenerkrankung geschädigt wurden.

2.6 Der Pupillenreflex unter Beteiligung der inneren und äußeren Netzhaut ist normal bei Patienten mit vererbter optischer Neuropathie

Kawasaki A, Collomb S, Léon L, Münch M, Pupil responses derived from outer and inner retinal photoreception are normal in patients with hereditary optic neuropathy, (2014) Experimental Eye Research, 120 :161-166.

Link zur Originalpublikation: [doi:10.1016/j.exer.2013.11.005](https://doi.org/10.1016/j.exer.2013.11.005)

Diese Arbeit präsentiert die Untersuchung des Pupillenreflexes bei Patienten mit vererbter optischer Neuropathie. Bei diesen Patienten werden die retinalen Ganglienzellen zwar progressiv zerstört, es scheint aber, dass die ipRGC, zumindest bei leichtem bis mittlerem Krankheitsgrad, nicht beteiligt sind. Wir haben die Ergebnisse der acht Patienten mit gesunden Kontrollpersonen derselben Altersklasse verglichen.

Bei der Untersuchung wurden drei unterschiedliche Protokolle verwendet, die darauf abzielten, bestmöglich die Beteiligung der Stäbchen, Zapfen und ipRGC einzeln zu gewichten, wobei klar ist, dass eine vollständige Separation beim Menschen nicht durchführbar ist. Dabei wurde für die Stäbchen ein Protokoll verwendet, bei welchem sehr schwache Lichtpulse (nach Dunkeladaptation) präsentiert wurden. Für die Zapfenstimulation wurden stärkere, rote Lichtstimuli benützt (nach Lichtadaptation) und für die ipRGC-Stimulation wurden helle, blaue Lichtstimuli präsentiert. Des Weiteren wurde die ungefähre Dicke der Netzhaut, und insbesondere die Nervenzellschicht mit den retinalen Ganglienzellen gemessen (siehe Abbildung 9).

Die Ergebnisse zeigten den exponentiellen Zusammenhang zwischen der Intensität der Lichtpulse und der Pupillenreaktion bei Zapfen und Stäbchen in einer Dosis-Wirkungs-Kurve, welche bei Patienten und Kontrollpersonen ähnlich war. Auch die Beteiligung der ipRGC scheint bei beiden Gruppen ähnlich. Lediglich die Korrelationen der visuellen Einschränkung ('mean defect') mit der Pupillenreaktion zeigt klar, dass Patienten mit größeren visuellen Einschränkungen auch eine verminderte Empfindlichkeit der Zapfen und Stäbchen im Pupillenreflex zeigen. Dies

deutet darauf hin, dass bei schwererem Krankheitsgrad auch die Beteiligung der ipRGC möglich wäre. Bei den hier getesteten Patienten mit einem mittleren Schweregrad blieb dies jedoch auf die Beteiligung der äußeren Netzhaut beschränkt.

3. Diskussion

Die hier vorgelegten eigenen Arbeiten können unter den folgenden drei Hauptaspekten diskutiert werden: 1.) Spielt das Alter eine Rolle in der Abschwächung der nicht-visuellen Lichtwirkungen? 2.) Ist der Einfluss von kurz- und länger wirksamer Lichtadaptation aus chronobiologischer Sicht relevant für die nicht-visuellen Lichtwirkungen beim Menschen? 3.) Könnte der Pupillenreflex als möglicher und verlässlicher Marker für die Beeinträchtigung nicht-visueller Funktionen agieren? Eine weiterführende Diskussion müsste dann die Fragen anvisieren, wie es bei Patienten steht, deren nicht-visuelles System beeinträchtigt wurde – sei es durch den Verlust der ipRGCs oder aber durch den Verlust der Funktionalität des SCN, wie z. B. bei Patienten mit Demenz.

Es ist bekannt, dass sich im Alter Veränderungen der nicht-visuellen Funktionen manifestieren, welche unter anderem auch mit dem Älterwerden des oszillatorischen Netzwerks des SCN einhergehen [42,94,130]. Ob bei diesen Prozessen die Ursache im SCN selbst liegt oder in der gestörten oder verminderten Weitergabe des circadianen Signals in die Peripherie (z. B. durch Verkalkung der Epiphyse [76]) und/oder einer geänderten Schlaf-Wachhomöostase, ist nicht eindeutig geklärt [92,94,95]. Tatsache ist, dass ältere Versuchspersonen im Vergleich mit einer jüngeren Kontrollpopulation in kognitiven Tests unter blauer Beleuchtung in der funktionellen Kernspintomographie eine reduziertere Aktivität bestimmter Hirnareale, welche mitbeteiligt sind an der Wachheitsregulation oder der Verarbeitung von visuellen Reizen und höheren exekutiven Funktionen, zeigten [36].

Nun stellt sich die Frage, ob dies in einem Zusammenhang mit einem verminderten Licht-Input steht oder mit einer Veränderung der Empfindlichkeit der ipRGCs selbst. Es ist bekannt, dass mit zunehmendem Alter die Durchlässigkeit der Linse im blauen Bereich (maximal bei ca. 480 nm) abnimmt und die Pupille enger gestellt ist. Im Extremfall kommt es zum Katarakt, bei welchem die Linse praktisch lichtundurchlässig wird [136]. Die abgeschwächte selektive Lichttransmission des alternden Auges (ein Prozess, der bereits in jungen Jahren beginnt), könnte in einer Studie von Herljevic et al. [65] ein Grund für die abgeschwächte Melatonin-Suppression nach monochromatischer Lichtexposition (460 nm) gewesen sein. Die

Autoren dieser Studie fanden bei der älteren Gruppe von gesunden Frauen eine weniger ausgeprägte Melatonin-Suppression nach monochromatischer Blaulicht-Exposition, im Vergleich mit jener der jungen Kontrollpersonen [65]. Die in dieser Habilitationsschrift vorgestellte Studie zeigte bei gesunden, älteren Versuchspersonen eine ähnlich starke circadiane Phasenverschiebung von Melatonin und einen ähnlichen Anstieg der Wachheit nach heller polychromatisch weißer, wie nach einer blau-angereicherten Beleuchtung über mehrere Tage [99]. Und wieder eine andere Studie fand, dass Ältere bei mittleren Beleuchtungsstärken auf polychromatisch weißes Licht schwächer reagierten als junge Versuchspersonen (aber nicht bei tiefen oder hohen Beleuchtungsstärken) [45]. Am Beispiel dieser drei Studien könnten die Ergebnisse dahingehend interpretiert werden, dass im Alter in der Tat die Lichtwahrnehmung abnimmt und sich dies auch im Hinblick auf die nicht-visuellen Funktionen manifestiert.

Aber die Datenlage scheint nicht einheitlich: Eine kürzlich publizierte Studie zeigte keine Unterschiede in der Melatonin-Suppression von älteren Versuchspersonen nach 60 Minuten monochromatischer Licht-Exposition unter 500 nm im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen [102]. Die Autoren derselben Studie fanden auch, dass sich bei der älteren Gruppe (aus nicht bekannten Gründen) die spektrale Empfindlichkeit der ipRGC im sichtbaren Bereich vom blauen in den blau-grünen Bereich hin verschob, mit einem neuen Maximum bei 494 nm [102]. Eine andere Studie zeigte, dass die maximale Pupillenkonstriktion als Antwort auf einen 45 Sekunden dauernden, blauen Lichtstimulus bei älteren Versuchspersonen nicht reduziert war im Vergleich mit einer jungen Kontrollgruppe [37]. Diese letztgenannten Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch im Alter eine gewisse Adaptation des melanopsinabhängigen ipRGC-Systems an tiefere und spektral anders zusammengesetzte Beleuchtung möglich sein könnte.

Ein solcher Adaptationsmechanismus wurde ebenfalls bei jungen Versuchspersonen gezeigt, welche während 16 Tagen orange Kontaktlinsen trugen, die einen Großteil des sichtbaren blauen Lichts herausfilterten [55]. Bei diesen Versuchspersonen fand man nach 16 Tagen des kontinuierlichen Tragens der Linsen keine Unterschiede in der Melatonin-Suppression im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne Linsen. Hier scheint das Thema der (Langzeit)-Adaptation an Licht ebenfalls eine Rolle zu

spielen. Eine andere Interpretationsmöglichkeit wäre die Erhöhung der ipRGC-Empfindlichkeit, worüber aber zum jetzigen Zeitpunkt nur spekuliert werden kann.

Wenn wir davon ausgehen, dass bei älteren Erwachsenen zwar weniger Licht via RHT zum SCN gelangt, dies aber möglicherweise durch das ipRGC System (z. B. mit einer höheren Empfindlichkeit) kompensiert wird, könnte dies einige Fragen beantworten: Warum z. B. die altersbedingte Abflachung der circadianen Amplitude und der häufig stärker fragmentierte Schlaf bei älteren Erwachsenen durch einen stärkeren Zeitgeber Licht verbessert werden kann. Gerade bei dieser Population kann eine optimierte Beleuchtung tagsüber in verschiedenster Hinsicht positive Ergebnisse erzielen [6,138].

Bei älteren Personen in Altersheimen konnte beispielsweise gezeigt werden, dass bereits eine kurze Tageslichtexposition zur Mittagszeit die durchschnittliche nächtliche Melatonin-Konzentration im Urin erhöhte [103], was ein indirekter Hinweis darauf ist, dass eine verbesserte Beleuchtung wahrscheinlich über eine Konsolidierung des circadianen Schlaf-Wachrhythmus wirkt, indem die circadiane Amplitude erhöht wird. In einer größeren Stichprobe konnte gezeigt werden, dass eine verbesserte Beleuchtung bei institutionalisierten älteren Patienten mit Demenz zu einer größeren Stabilität des circadianen Schlaf-Wachrhythmus führte [138] und auch im Langzeitvergleich eine langsamere Progression der kognitiven Defizite zeigte [115]. Eigene Daten aus einer Feldstudie mit einer umfangreicheren Stichprobe (N=89) zeigten klar, dass Demenzpatienten, welche über längere Zeit am Tag mehr Licht ausgesetzt wurden (d. h. in diesem Fall durchschnittlich mehr als ~400 Lux), tagsüber signifikant wacher waren, positivere Emotionen zeigten und insgesamt eine höhere Lebensqualität aufwiesen als eine Kontrollgruppe mit weniger Licht tagsüber (Münch et al. submitted).

Die Relevanz kurzzeitiger, aber auch länger wirksamer Lichtadaptation scheint eine Schlüsselrolle bei der Regulation vieler nicht-visueller Funktionen zu spielen. Eine der eigenen Arbeiten zeigte, dass bestimmte Gehirnbereiche je nach Wellenlänge des Lichts auch durch sehr kurze Lichtpulse unterschiedlich aktiviert wurden – es scheint auch hier eine melanopsinabhängige Aktivierung möglich, aber erst nach genügend langer vorheriger Lichtadaptation [98]. Diese schnelle Aktivierung kann

durchaus wichtig sein, wenn es darum geht, Entscheidungen rasch zu fällen und die Reaktionszeiten zu verkürzen. Die Tatsache, dass die roten Stimuli die stärksten Lichtadaptionseffekte zeigten, d. h. nach konstanter vorheriger Lichtadaptation die EEG-Aktivität am meisten abschwächten, deutet ebenfalls auf wellenlängenspezifische Beteiligung der ipRGC hin (zumindest bei den hier verwendeten Photonendichten).

Die Reaktion hängt auch von der Wellenlänge des Lichts ab, an welches vor der Stimulation adaptiert wird. So wurde von verschiedenen Forschungsgruppen gezeigt, dass eine Adaptation mit längerwelligem (rotem) Licht die nicht-visuellen Reaktionen (Pupillenreflex, circadiane Phasenverschiebung, exekutive Gehirnfunktionen) auf nachfolgende blaue Lichtexposition signifikant verstärkten [29,100,101]. Das Prinzip der Bistabilität von Melanopsin scheint dafür verantwortlich zu sein [101]. Dieses Prinzip kann durch die physiologische Regeneration des Photopigments erklärt werden. Das Photopigment Melanopsin (OPN4) ist an ein Retinaldehyd gebunden, welches zwei Zustände einnehmen kann. Bei der Regeneration ändert das Molekül seine Transformation und geht vom aktivierten Zustand (all-trans-hydroxy-retinal) mittels Energiegewinn aus längerwelliger Lichtabsorption in den Ruhezustand über (11-cis-hydroxy-retinal) und ist bereit für die nächste Lichtabsorption durch ein Photon. Bei Zapfen und Stäbchen geschieht diese Photo-Regenerierung via das retinale Pigmentepithel unter Zuhilfenahme einer Isomerase [118].

Wie bereits in der Einleitung dieser Habilitationsschrift beschrieben, gibt es einen 'prior light history'-Effekt [11]. Darunter wird der direkte Einfluss einer Beleuchtung auf nachfolgende physiologische und kognitive Aspekte beim Menschen verstanden. Mit unserer eigenen Arbeit haben wir den relativ kurzzeitigen Effekt von Licht am Nachmittag auf die subjektive Müdigkeit und die Kognition am Abend nachgewiesen, gleich wie es bereits für den abendlichen Melatoninanstieg gezeigt wurde [28,56,64,126]. Eine kürzlich durchgeführte Studie mit einem ähnlichen Studiendesign wie dem unseren konnte die Ergebnisse replizieren [50]. Wir gehen davon aus, dass die beschriebenen Wirkungen im Allgemeinen auf die melanopsin-abhängigen, nicht-visuellen Effekte zurückzuführen sind, wie sie beispielsweise auch während blau-angereicherter oder sogar monochromatisch blauer Beleuchtung gezeigt wurden. Obwohl wir heute die effektiven Beleuchtungsstärken für die

einzelnen Photorezeptor-Systeme berechnen können (siehe das 'Irradiance Tool' von Lucas et al. [84]), lassen sich aber leider noch keine Aussagen darüber machen, wie die integrierte ‚Lichtdosis‘, welche zu einer bestimmten Tageszeit bzw. über eine bestimmte Zeit hinweg wahrgenommen wurde, sich kurz- und längerfristig auf andere Funktionen auswirkt. Es stellt sich die Frage, ob es sich auch um längerfristige Effekte handeln könnte, die zu einer dauerhaften Veränderung der circadianen Funktionen führen würden.

Eine kanadische Gruppe [11] hat die retinale Empfindlichkeit der Stäbchen und Zapfen im sogenannten Elektroretinogramm (ERG) bei Personen getestet, welche sich vor allem im Freien aufhielten und sie mit der retinalen Empfindlichkeit von Personen verglichen, welche sich tagsüber vor allem in Innenräumen aufhielten. Die Ergebnisse zeigten, dass Versuchspersonen, welche sich vor allem drinnen aufhielten, eine größere skotopische und eine niedrigere photopische Empfindlichkeit hatten als die Vergleichsgruppe, welche sich vor allem draußen aufhielt. Es stellt sich natürlich die Frage, inwieweit die längerfristige Anpassung der Empfindlichkeiten von Zapfen und Stäbchen an vorherrschende Beleuchtungsstärken auch für das circadiane System Konsequenzen haben könnte.

Ob die ipRGC und mit ihnen die nicht-visuellen Funktionen auch solchen adaptiven Veränderungen unterworfen sind, bleibt zu zeigen. Weiter ist nicht klar, ob es jahreszeitliche Unterschiede gibt, welche z. B. eine Erklärung liefern könnten, warum die saisonal abhängige Depression (SAD) häufiger in der dunklen Jahreszeit auftritt. Es gibt allerdings erste Hinweise, dass sich bei SAD-Patienten tatsächlich genetische Veränderungen in der Lichtempfindlichkeit manifestieren. Bei dieser Patientengruppe wurde gezeigt, dass sie einen Polymorphismus im Genotyp von Melanopsin (*OPN4* /394T) aufweisen und sich außerdem weniger empfindlich auf Lichtstimuli in der Re-Dilationsphase des Pupillenreflexes zeigten [116]. Frühere Studien bei depressiven Patienten versuchten ebenfalls, die Ursache in einer Veränderung der Lichtempfindlichkeit zu finden [132], die erklären könnte, warum die Lichttherapie bei den meisten Depressionsformen einer medikamentösen Therapie ebenbürtig ist und zusammen mit dieser die besseren Ergebnisse erzielt [148]. Während es bei Tieren klare saisonale Unterschiede in Physiologie und Verhalten gibt, ist dies bei Menschen auf der nördlichen und südlichen Hemisphäre, vermutlich wegen der

Verfügbarkeit von elektrischer Beleuchtung, weniger offensichtlich, obwohl es ebenfalls Hinweise darauf gibt. Bei Melatonin-Sekretionsprofilen wurden beispielsweise auch beim Menschen klare saisonale Unterschiede gefunden [146]. Bekannt ist auch, dass sich die Lichtintensitäten zwischen Sommer und Winter nicht nur hinsichtlich der absoluten Strahlungsintensität (irradiance), sondern auch bezüglich ihres relativen Blauanteils im sichtbaren Bereich unterscheiden [134]. Es wäre also durchaus plausibel, wenn sich längerfristige Einflüsse wechselnder Tageslängen auch beim Menschen in anderen Messgrößen nachweisen ließen.

Falls sich weiter zeigen sollte, dass es in der Tat über die jahreszeitlichen Unterschiede hinaus zu langfristigen Anpassungen an unterschiedliche Beleuchtung kommt, hätte das auch wichtige Konsequenzen beispielsweise für Schichtarbeitende, das heißt für Arbeitende, welche am Abend maximal wach sein müssten, ohne große Möglichkeiten, die Beleuchtung anzupassen, z. B. U-Bahn-Fahrer. Bei dieser Berufsgruppe scheint es einen Zusammenhang zwischen den tiefen durchschnittlichen Beleuchtungsstärken tagsüber und dem Auftreten körperlicher oder psychiatrischer Erkrankungen zu geben, wie eine Befragung von über 13'000 Angestellten des französischen Transportsystems gezeigt hatte [78]. Bei dieser Studie kam als eindeutiges Ergebnis heraus, dass bei gleichen Schichtplänen, d. h. vergleichbarer circadianer Desynchronisation, diejenigen Arbeiter, welche tagsüber nur sehr tiefen durchschnittlichen Beleuchtungsstärken ausgesetzt waren (weniger als 100 lx), eine signifikant höhere Prädisposition für das Auftreten von beispielsweise Schlafstörungen und Depressionen hatten. Es scheinen sich also unter anderem längerfristige (und möglicherweise irreversible) physiologische Konsequenzen daraus zu ergeben, wie viel Licht jemand Zeit seines Lebens ausgesetzt ist.

Die Frage, ob der Pupillenreflex ein geeigneter Marker ist, um Melanopsin-abhängige Veränderungen von nicht-visuellen Funktionen zu detektieren, kann bis jetzt noch nicht abschließend beantwortet werden. Wir konnten bislang zeigen, dass mit blauen Lichtstimuli eine circadiane Variation stattfindet. Eine andere Arbeitsgruppe hatte ebenfalls eine circadiane Oszillation des Pupillenreflexes auf blaue Lichtstimuli in zeitlicher Abhängigkeit mit der Melatonin-Sekretion gefunden [153].

In unseren Untersuchungen war eine Lichtstimulation von 1 s Dauer genügend, um maximale Unterschiede in der Re-Dilatation der Pupille zu zeigen [105], obwohl eine vollständige Trennung und Quantifizierung der einzelnen Photorezeptor-Beiträge bis dato nicht möglich ist. Die Anwendung des Pupillenreflexes bei Patienten mit vererbter optischer Neuropathie lieferte erste Hinweise, dass der Pupillenreflex ein empfindliches Instrument darstellt, um die visuellen Defizite zu detektieren. Da bei diesen Patienten zwar hauptsächlich die retinalen Ganglienzellen, aber nicht die ipRGC in Mitleidenschaft gezogen werden, konnte mit dieser ersten publizierten Studie nicht abschließend gezeigt werden, dass der Pupillenreflex auch für diesbezügliche Belange taugt.

Die hier vorgestellten Ergebnisse der fünften eigenen Arbeit sind Teil einer größeren Studie, in der wir Patienten mit vererbter optischer Neuropathie und Glaukom-Patienten mit einer altersmäßig ähnlichen Kontrollgruppe verglichen haben (Münch et al. accepted). Obwohl bei beiden Patientengruppen die retinale Ganglienzellschicht signifikant dünner ist, wie dies in der optischen Kohärenztomographie (OCT) gezeigt werden kann (s. Abbildung 9), kommt es gemäß Literatur nur bei den Glaukom-Patienten zu einer Beteiligung der ipRGCs [49,70]. Dies kann jedoch mittels OCT nicht dargestellt werden, sondern es bedarf eines funktionellen Nachweises, z. B. mittels chromatischer Pupillometrie [70]. Um zu testen, ob noch andere nicht-visuelle Funktionen betroffen sind, führten wir für unsere Studie bei allen Patienten und bei der Kontrollgruppe (N=44) eine helle nächtliche Lichtexposition durch. Nebst der Pupillometrie wurde die Melatonin-Suppression und die Reaktionszeit in einem kognitiven Test gemessen sowie die subjektive Müdigkeit erfragt.

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass bei den Glaukom-Patienten die nicht-visuellen Defizite in der Re-Dilatation der Pupille nach dem blauen Lichtstimulus klar sichtbar waren, wie auch in der subjektiven Müdigkeit und der Reaktionszeit. Überraschenderweise zeigten sich jedoch keine Unterschiede in der Melatonin-Suppression. Ein möglicher Erklärungsversuch ist einerseits, dass die Beleuchtungsstärke mit 4000 lx während 2 Stunden genügend hoch war, um die Melatonin-Sekretion bei Patienten und Kontrollpersonen gleichermaßen zu unterdrücken. Eine andere Möglichkeit der Erklärung wäre, dass die Stärke der Melatonin-Suppression möglicherweise nicht das alleinige Kriterium für die Quantität

nicht-visueller Lichtwirkungen sein kann (und sein sollte), sondern es hier vielleicht auch zu einer qualitativen Beeinträchtigung unterschiedlicher ipRGC-Subtypen gekommen sein könnte.

Nichtsdestotrotz ist anzufügen, dass andere Studien bei Glaukom-Patienten mit schwereren visuellen Einschränkungen als bei den Patienten in unserer Studie eine signifikante Abschwächung der Melatonin-Suppression gefunden hatten [48]. Bei der Gruppe mit der optischen Neuropathie gab es keine Unterschiede im Vergleich mit der gesunden Kontrollgruppe, wie bereits in früheren Arbeiten gezeigt werden konnte [72].

Abbildung 9:

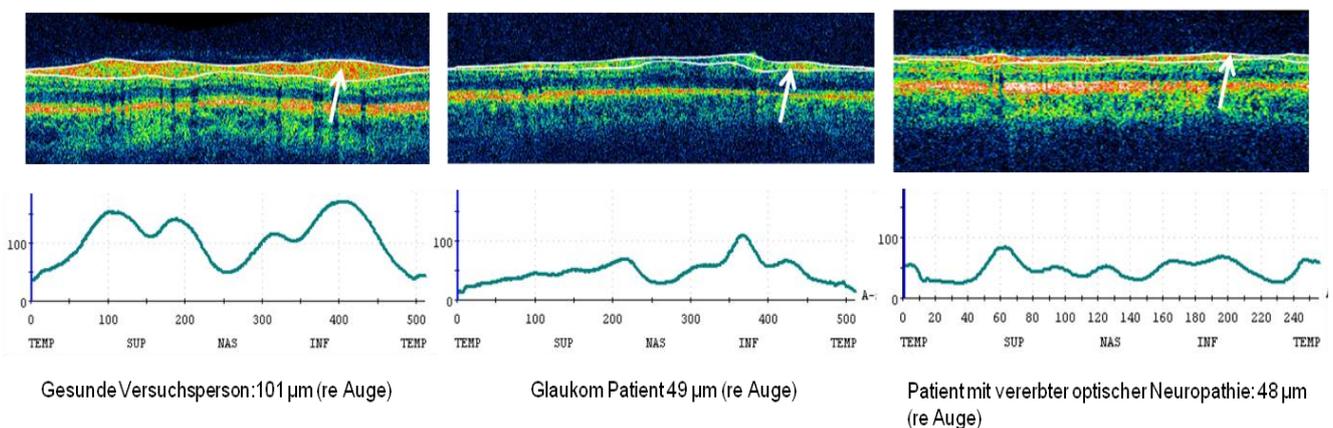


Abbildung 9 zeigt in der optischen Kohärenztomographie (OCT) die verschiedenen Zellschichten der inneren Retina in Falschfarben an. Die weißen Pfeile (obere drei Abbildungen) zeigen die retinale Ganglienzellschicht bei einer gesunden Versuchsperson (links), bei einem Glaukom-Patienten (Mitte) sowie bei einem Patienten mit vererbter optischer Neuropathie (rechts). Die unteren drei Abbildungen stellen die Dicke der retinalen Ganglienzellschicht in μm dar, verteilt über die Fläche der Retina (TEMP=temporal; SUP=superior; NAS=nasal; INF=inferior; unpublizierte Daten: Dr. Münch & Dr. Kawasaki).

Der eingeschlagene Weg, bei Patienten mit unterschiedlichen ophthalmologischen Problemen die nicht-visuellen Lichtwirkungen mit verschiedenen, möglichst sensitiven Markern zu quantifizieren, scheint vielversprechend und sollte unbedingt fortgesetzt werden. Zukünftig sollte es auch möglich sein, mit einem oder mehreren

solcher Marker Voraussagen bezüglich dem Nutzen bestimmter Beleuchtungsbedingungen bei unterschiedlichen Personengruppen zu machen. Idealerweise ließe sich diese Sollkurve einer optimierten Beleuchtung sogar individuell anpassen, z. B. auf den jeweiligen Chronotyp, die Augenfarbe, die Haupttätigkeit, die bereits erhaltene Lichtdosis etc.

Dabei darf auch die Tatsache, dass es hinsichtlich subjektiver Präferenzen und visuellem Komfort für eine bestimmte Beleuchtung große individuelle Unterschiede gibt, nicht vernachlässigt werden. Dies wurde bereits in früheren Publikationen berichtet [12]. Eine kürzlich von uns mit extremen Chronotypen durchgeführte Studie zeigte, dass, wenn Morgen- und Abendtypen während 16 Stunden tagsüber (d. h. relativ zu ihren habituellen Aufstehzeiten, welche ca. 4 Stunden auseinanderlagen) die Beleuchtung selber wählen durften, beide Gruppen sich zunächst mehrheitlich für das vorhandene Tageslicht entschieden. Infolge der unterschiedlichen Verfügbarkeit des Tageslichts waren die Morgentypen jedoch am Morgen signifikant tieferen und im Verlaufe des Tages signifikant höheren Beleuchtungsstärken ausgesetzt als die Abendtypen [17]. Diese Unterschiede konnten nur teilweise mit elektrischer Beleuchtung ausgeglichen werden. Dies sind erste Ergebnisse; die Analyse von Hormonkonzentrationen und kognitiver Leistung sollten hier noch zusätzliche Erkenntnisse liefern. Und es wird noch einiger Anstrengungen bedürfen, um Beleuchtungsbedingungen zu schaffen, die allen Situationen, Individuen und Personengruppen gerecht werden.

4. Zusammenfassung

Die in dieser Habilitationsschrift präsentierten chronobiologischen Untersuchungen zu nicht-visuellen Lichtwirkungen zeigen qualitative Unterschiede derselben in Abhängigkeit von Alter, Lang- und Kurzzeitadaptation. Weiter wurde mittels chromatischer Pupillometrie untersucht, inwieweit sich der Pupillenreflex auf Licht dazu eignet, bei Gesunden und Patienten mit einer Sehbeeinträchtigung als Marker für melanopsinabhängige Funktionen eingesetzt zu werden.

Ein wesentlicher Beitrag der vorgestellten Arbeiten liegt im Aufzeigen konkreter Bedeutungen der 'prior light history'. Unter diesem Begriff verstehen wir die direkten und indirekten Nachwirkungen einer Lichtexposition beim Menschen, beispielsweise die Auswirkungen auf die kognitive Leistung am Abend entsprechend den Lichtbedingungen am Nachmittag oder die größere Wachheit am Abend als Folge wiederholter Lichtexpositionen mit hellerer Beleuchtung an den vorausgehenden Abenden. Im Ultrakurzzeitbereich wiesen wir mittels der evozierten Potentiale im EEG nach, dass je nach spektraler Zusammensetzung der Lichtstimuli eine unterschiedliche neuronale Aktivierung stattfand. Dies könnte für Situationen, in welchen sehr schnelle Reaktionen erforderlich sind, von Bedeutung sein.

In diesem interdisziplinären und teilweise neuen Forschungsfeld sind noch viele spannende Fragen unbeantwortet. Wie wirkt sich beispielsweise eine längerfristig (zu) schwache Beleuchtung tagsüber auf unsere Leistungsfähigkeit und Gesundheit aus? Die behandelte Thematik betrifft sowohl die Grundlagenforschung wie auch die praktische Anwendung und wird uns in den nächsten Jahren sicherlich noch stark beschäftigen und beeinflussen. Die in zwei der eigenen Arbeiten vorgestellte Entwicklung und Validierung der chromatischen Pupillometrie und deren Einsatz für chronobiologische Fragestellungen könnten in Zukunft dazu beitragen, die Entwicklung maßgeschneiderter (Beleuchtungs-) Bedingungen für verschiedene Populationen und Patienten weiter voranzutreiben.

5. Literaturangaben

- [1] Ackermann K, Sletten T, Revell V, Archer S, Skene D. Blue-light phase shifts PER3 gene expression in human leukocytes. *Chronobiology International* 2009;26(4):769-79.
- [2] Aggelopoulos N, Meissl H. Responses of neurones of the rat suprachiasmatic nucleus to retinal illumination under photopic and scotopic conditions. *The Journal of Physiology* 2000;523(1):211-22.
- [3] Albrecht U, Eichele G. The mammalian circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development* 2003;13(3):271-7.
- [4] Albrecht U, Sun ZS, Eichele G, Lee CC. A differential response of two putative mammalian circadian regulators, *mper1* and *mper2*, to light. *Cell* 1997;91:1055-64.
- [5] Allen A, Storchi R, Martial F, Petersen R, Montemurro M, Brown T, Lucas R. Melanopsin-driven light adaptation in mouse vision. *Current Biology* 2014;24(21):2481-90.
- [6] Ancoli-Israel S, Gehrman P, Martin J, Shochat T, Marler M, Corey-Bloom J, Levi L. Increased light exposure consolidates sleep and strengthens circadian rhythms in severe alzheimer's disease patients. *Behavioral Sleep Medicine* 2003;1(1):22-36.
- [7] Ancoli-Israel S, Klauber MR, Williams Jones D, Kripke DF, Martin J, Mason W, Pat-Horenczyk R, Fell R. Variation in circadian rhythms of activity, sleep, and light exposure related to dementia in nursing-home patients. *Sleep* 1997;20:18-23.
- [8] Aschoff J. The Circadian System of Man. In: Aschoff J, editor. *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Vol. 4. New York and London: Plenum Press; 1981. p 311-31.
- [9] Aschoff J, Wever R. Spontanperiodik des Menschen bei Ausschluss aller Zeitgeber. *Die Naturwissenschaften* 1962;49:337-42.
- [10] Baver S, Pickard G, Sollars P, Pickard G. Two types of melanopsin retinal ganglion cell differentially innervate the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and the olivary pretectal nucleus. *European Journal of Neuroscience* 2008;27(7):1763-70.
- [11] Beaulieu C, Rufiange M, Dumont M, Lachapelle P. Modulation of ERG retinal sensitivity parameters with light environment and photoperiod. *Documenta Ophthalmologica* 2009;118(2):89-99.
- [12] Begeman S, Beld G, Tenner A. Daylight, artificial light and people in an office environment, overview of visual and biological responses. *International Journal of Industrial Ergonomics* 1997;20(3):231-9.

- [13] Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 2002;295(5557):1070-3.
- [14] Bes F, Jobert M, Schulz H. Modeling napping, post-lunch dip, and other variations in human sleep propensity. *Sleep* 2009;32(3):392-98.
- [15] Bloch K, Wirz-Justice A. Transient short free running circadian rhythm in a case of aneurysm near the suprachiasmatic nuclei. *Journal of Neurosurgery and Psychiatry* 2005;76:1178-80.
- [16] Borbély A. A two process model of sleep regulation. *Human Neurobiology* 1982;1:195-204.
- [17] Borisuit A. The impact of light including non-image forming effects on visual comfort, EPFL Thesis # 6007. Lausanne, Switzerland: Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL); 2013.
- [18] Borisuit A, Linhart F, Scartezzini J-L, Münch M. Effects of realistic office day- and electric lighting conditions on visual comfort, alertness and mood. *Lighting Research and Technology* 2014;47 (2):192-209.
- [19] Brainard G, Hanifin J, Greeson J, Byrne B, Glickman G, Gerner E, Rollag M. Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor. *Journal of Neuroscience* 2001;21(16):6405-12.
- [20] Bromundt V, Wirz-Justice A, Kyburz S, Opwis K, Dammann G, Cajochen C. Circadian sleep-wake cycles, well-being, and light therapy in borderline personality disorder. *Journal of Personality Disorders* 2012;27(5):680-96.
- [21] Brown S, Kunz D, Dumas, Westermarck P, Vanselow K, Tilmann-Wahnschaffe A, Herzog H, Kramer A. Molecular insights into human daily behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2008;105(5):1602-7.
- [22] Brown TM, Tsujimura S, Allen AE, Wynne J, Bedford R, Vickery G, Vugler A, Lucas RJ. Melanopsin-based brightness discrimination in mice and humans. *Current Biology* 2012;22(12):1134-41.
- [23] Buijs R, Markman M, Nunes-Cardoso B, Hou Y, Shinn S. Projections of the suprachiasmatic nucleus to stress-related areas in the rat hypothalamus: a light and electron microscopic study. *Journal of Comparative Neurology* 1993;335(1):42-54.
- [24] Cajochen C, Jud C, Münch M, Kobińska S, Wirz-Justice A, Albrecht U. Evening exposure to blue light stimulates the expression of the clock gene PER2 in humans. *European Journal of Neuroscience* 2006;23(4):1082-6.
- [25] Cajochen C, Münch M, Kobińska S, Kräuchi K, Steiner R, Oelhafen P, Orgül S, Wirz-Justice A. High sensitivity of human melatonin, alertness, thermoregulation and heart rate to short wavelength light. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005;90:1311-6.

- [26] Cajochen C, Zeitzer J, Czeisler C, Dijk DJ. Dose- response relationship for light intensity and ocular and electroencephalographic correlates of human-alertness. *Behavioural Brain Research* 2000;115:75-83.
- [27] Carskadon M, Dement W. Sleep studies on a 90-minute day. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1975;39(2):145-55.
- [28] Chang A, Scheer F, Czeisler C. The human circadian system adapts to prior photic history. *Journal of Physiology* 2011;589(5):1095-102.
- [29] Chellappa S, Ly JQ, Meyer C, Balteau E, Degueldre C, Luxen A, Phillips C, Cooper H, Vandewalle G. Photic memory for executive brain responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2014;111(16):6087-91.
- [30] Chellappa S, Steiner R, Oelhafen P, Lang D, Götz T, Krebs J, Cajochen C. Acute exposure to evening blue-enriched light impacts on human sleep. *Journal of Sleep Research* 2013;22(5):573-80.
- [31] Chellappa S, Viola A, Schmidt C, Bachmann V, Gabel V, Maire M, Reichert C, Valomon A, Götz T, Landolt H, Cajochen C. Human melatonin and alerting response to blue-enriched light depend on a polymorphism in the clock gene PER3. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2012;97(3):E433-E7.
- [32] Cohen RA, Albers HE. Disruption of human circadian and cognitive regulation following a discrete hypothalamic lesion: a case study. *Neurology* 1991;41:726-9.
- [33] Czeisler CA, Duffy JF, Shanahan TL, Brown EN, Mitchell JF, Rimmer DW, Ronda JM, Silva EJ, Allan JS, Emens JS, Dijk DJ, Kronauer RE. Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science* 1999;284:2177-81.
- [34] Czeisler CA, Shanahan TL, Klerman EB, Martens H, Brotman DJ, Emens JS, Klein T, Rizzo JF. Suppression of melatonin secretion in some blind patients by exposure to bright light. *The New England Journal of Medicine* 1995;332:6-11.
- [35] Dacey D, Liao H, Peterson B, Robinson F, Smith V, Pokorny J, Yau K, Gamlin P. Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature* 2005;433(7027):749-54.
- [36] Daneault V, Hébert M, Albouy G, Doyon J, Dumont M, Carrier J, Vandewalle G. Aging reduces the stimulating effect of blue light on cognitive brain functions. *Sleep* 2014;37(1):85-96.
- [37] Daneault V, Vandewalle G, Hébert M, Teikari P, Mure L, Doyon J, Gronfier C, Cooper H, Dumont M, Carrier J. Does pupil constriction under blue and green monochromatic light exposure change with age? *Journal of Biological Rhythms* 2012;27(3):257-64.

- [38] Deboer T, Vansteensel MJ, D tari L, Meijer JH. Sleep states alter activity of suprachiasmatic nucleus neurons. *Nature Neuroscience* 2003;6:1086-90.
- [39] Dijk D, Duffy J, Silva E, Shanahan T, Boivin D, Czeisler C. Amplitude reduction and phase shifts of melatonin, cortisol and other circadian rhythms after a gradual advance of sleep and light exposure in humans. *PLoS ONE* 2012;7(2):e30037.
- [40] Dijk DJ, Archer SN. Light, sleep, and circadian rhythms: together again. *PLoS Biology* 2009;7(6):e1000145.
- [41] Dijk DJ, Czeisler CA. Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure, electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in humans. *Journal of Neuroscience* 1995;15:3526-38.
- [42] Dijk DJ, Duffy JF, Riel E, Shanahan TL, Czeisler CA. Ageing and the circadian and homeostatic regulation of human sleep during forced desynchrony of rest, melatonin and temperature rhythms. *Journal of Physiology* 1999;516:611-27.
- [43] Do M, Yau K-W. Adaptation to steady light by intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2013;110(18):7470-5.
- [44] Duffy JF, Cain SW, Chang AM, Phillips AJK, Munch MY, Gronfier C, Wyatt JK, Dijk DJ, Wright KP, Czeisler CA. Sex difference in the near-24-hour intrinsic period of the human circadian timing system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2011;108:15602-8.
- [45] Duffy JF, Zeitzer JM, Czeisler C. Decreased sensitivity to phase-delaying effects of moderate intensity light in older subjects. *Neurobiology of Aging* 2007;28(5):799-807.
- [46] Ecker J, Dumitrescu O, Wong K, Alam N, Chen S, LeGates T, Renna J, Prusky G, Berson D, Hattar S. Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. *Neuron* 2011;67(1):49-60.
- [47] Edgar DM, Dement WC, Fuller CA. Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *The Journal of Neuroscience* 1993;13:1065-79.
- [48] Feigl B, Mattes D, Thomas R, Zele A. Intrinsically photosensitive (melanopsin) retinal ganglion cell function in glaucoma. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2011;52(7):4362-7.
- [49] Feigl B, Zele A. Melanopsin-expressing intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in retinal disease. *Optometry & Vision Science* 2014;91(8):894-903.

- [50] Figueiro M, Nonaka S, Rea M. Daylight exposure has a positive carryover effect on nighttime performance and subjective sleepiness. *Lighting Research and Technology* 2014;46(5):506-19.
- [51] Figueiro M, Rea M. Short-wavelength light enhances cortisol awakening response in sleep-restricted adolescents. *International Journal of Endocrinology* 2012;2012:7.
- [52] Franken P, Chollet D, Tafti M. The homeostatic regulation of sleep need is under genetic control. *Journal of Neuroscience* 2001;21:2610-21.
- [53] Franken P, Tafti M. Genetics of sleep and sleep disorders. *Frontiers in Bioscience* 2003;8:e381-e97.
- [54] Gamlin P, McDougal D, Pokorny J, Smith V, Yau KW, Dacey DM. Human and macaque pupil responses driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Vision Research* 2007;47:946-54.
- [55] Gimenez M, Beersma D, Bollen P, van der Linden M, Gordijn M. Effects of a chronic reduction of short-wavelength light input on melatonin and sleep patterns in humans: Evidence for adaptation. *Chronobiology International* 2014;31(5):690-7.
- [56] Gooley J, Chamberlain K, Smith KA, Khalsa S, Rajaratnam S, Van Reen E, Zeitzer J, Czeisler C, Lockley S. Exposure to room light before bedtime suppresses melatonin onset and shortens melatonin duration in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2010;96(3):E463-72.
- [57] Gooley J, Rajaratnam S, Brainard G, Kronauer R, Czeisler C, Lockley S. Spectral responses of the human circadian system depend on the irradiance and duration of exposure to light. *Science Translational Medicine* 2010;2(31):31ra3.
- [58] Green DJ, Gillette R. Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Research* 1982;245:198-200.
- [59] Hankins MW, Lucas RJ. The primary visual pathway in humans is regulated according to long-term light exposure through the action of a nonclassical photopigment. *Current Biology* 2002;12:191-8.
- [60] Hatori M, Panda S. The emerging roles of melanopsin in behavioral adaptation to light. *Trends in Molecular Medicine* 2010;16(10):435-46.
- [61] Hattar S, Kumar M, Park A, Tong P, Tung J, Yau KW, Berson DM. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. *The Journal of Comparative Neurology* 2006;497(3):326-49.
- [62] Hattar S, Liao H, Takao M, Berson D, Yau K. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 2002;295(5557):1065-70.

- [63] Hattar S, Lucas RJ, Mrosovsky N, Thompson S, Douglas RH, Hankins MW, Lem J, Biel M, Hofmann F, Foster RG, Yau K-W. Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. *Nature* 2003;424:76-81.
- [64] Hébert M, Martin SK, Eastman CI. The effects of prior light history on the suppression of melatonin by light in humans. *Journal of Pineal Research* 2002;33:198-203.
- [65] Herljevic M, Middleton B, Thapan K, Skene DJ. Light-induced melatonin suppression: age-related reduction in response to short wavelength light. *Experimental Gerontology* 2005;40(3):237-42.
- [66] Ho Mien I, Chua E, Lau P, Tan L, Lee I, Yeo S, Tan S, Gooley J. Effects of exposure to intermittent versus continuous red light on human circadian rhythms, melatonin suppression, and pupillary constriction. *PLoS ONE* 2014;9(5):e96532.
- [67] Hofman M, Swaab D. The human hypothalamus: comparative morphometry and photoperiodic influences. *Progress in Brain Research* 1992;93:133-49.
- [68] Jung CM, Khalsa SBS, Scheer FAJL, Cajochen C, Lockley SW, Czeisler CA, Wright K. Acute effects of bright light exposure on cortisol levels. *Journal of Biological Rhythms* 2010;25(3):208-16.
- [69] Kankipati L, Girkin C, Gamlin P. Post-illumination pupil response in subjects without ocular disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2010;51(5):2764-9.
- [70] Kankipati L, Girkin C, Gamlin P. The post-illumination pupil response is reduced in glaucoma patients. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2011;52(5):2287-92.
- [71] Kardon R, Anderson S, Damarjian T, Grace E, Stone E, Kawasaki A. Preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology* 2009;116(8):1564-73.
- [72] Kawasaki A, Herbst K, Sander B, Milea D. Selective wavelength pupillometry in Leber hereditary optic neuropathy. *Clinical & Experimental Ophthalmology* 2010;38(3):322-4.
- [73] Khalsa SBS, Jewett ME, Cajochen C, Czeisler CA. A phase response curve to single bright light pulses in human subjects. *Journal of Physiology* 2003;549.3:945-52.
- [74] Kleitman N. *Sleep and wakefulness*. Revised and enlarged edition ed. Chicago and London: The University of Chicago Press; 1987.
- [75] Koyanagi M, Kubokawa K, Tsukamoto H, Shichida Y, Terakita A. Cephalochordate melanopsin: evolutionary linkage between invertebrate visual cells and vertebrate photosensitive retinal ganglion cells. *Current Biology* 2005;15(11):1065-9.

- [76] Kunz D, Schmitz S, Mahlberg R, Mohr A, Stöter C, Wolf KJ, Herrmann WM. A new concept for melatonin deficit: on pineal calcification and melatonin excretion. *Neuropsychopharmacology* 1999;21:765-72.
- [77] Lavie P. Ultrashort sleep-waking schedule III. "Gates" and "forbidden zones" for sleep. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 1986;63:414-25.
- [78] Leger D, Bayon V, Elbaz M, Philip P, Choudat D. Underexposure to light at work and its dissociation to insomnia and sleepiness: a cross-sectional study of 13'296 workers of one transportation company. *Journal of Psychosomatic Research* 2011;70(1):29-36.
- [79] Lerner A, Case J, Takahashi Y. Isolation of melatonin and 5-methoxyindole-3-acetic acid from bovine pineal glands. *Journal of Biological Chemistry* 1960;235(7):1992-7.
- [80] Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 1980;210(4475):1267-9.
- [81] Lockley SW, Brainard GC, Czeisler CA. High sensitivity of the human circadian melatonin rhythm to resetting by short wavelength light. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003;88(9):4502-05.
- [82] Lockley SW, Evans EE, Scheer FAJL, Brainard GC, Czeisler CA, Aeschbach D. Short-wavelength sensitivity for the direct effects of light on alertness, vigilance, and the waking electroencephalogram in humans. *Sleep* 2006;29(2):161-8.
- [83] Lowrey P, Takahashi J. Genetics of circadian rhythms in mammalian model organisms. *Advances in Genetics* 2011;74:175-230.
- [84] Lucas R, Peirson S, Berson D, Brown T, Cooper H, Czeisler C, Figueiro M, Gamlin P, Lockley S, O'Hagan J, Price L, Provencio I, Skene D, Brainard G. Measuring and using light in the melanopsin age. *Trends in Neurosciences* 2014;37(1):1-9.
- [85] Lucas RJ, Douglas RH, Foster RG. Characterization of an ocular photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. *Nature Neuroscience* 2001;4:621-6.
- [86] Meesters Y, Dekker V, Schlangen L, Bos E, Ruiters M. Low-intensity blue-enriched white light (750 lux) and standard bright light (10 000 lux) are equally effective in treating SAD. A randomized controlled study. *BMC Psychiatry* 2011;11(1):17.
- [87] Meijer J, Watanabe K, Schaap J, Albus D, Detari L. Light responsiveness of the suprachiasmatic nucleus: long-term multiunit and single-unit recordings in freely moving rats. *The Journal of Neuroscience* 1998;18(21):9078-87.
- [88] Mohawk J, Green C, Takahashi J. Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annual Review of Neuroscience* 2012;35:445-62.

- [89] Moore RY, Eichler VB. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research* 1972;42:201-6.
- [90] Moore RY, Lenn NJ. A retinohypothalamic projection in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 1972;146:1-14.
- [91] Moore RY, Speh JC, Leak RK. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell Tissue Research* 2002;309:89-98.
- [92] Münch M. Der Schlaf und die innere Uhr im Alter. *Therapeutische Umschau* 2014;71(11):657-62.
- [93] Münch M, Kawasaki A. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: classification, function and clinical implications. *Current Opinion in Neurology* 2013;26(1):45-51
- [94] Münch M, Knoblauch V, Blatter K, Schroder C, Schnitzler C, Krauchi K, Wirz-Justice A, Cajochen C. Age-related attenuation of the evening circadian arousal signal in humans. *Neurobiology of Aging* 2005;26:1307-19.
- [95] Münch M, Knoblauch V, Blatter K, Schröder C, Schnitzler C, Kräuchi K, Wirz-Justice A, Cajochen C. The frontal predominance in human EEG delta activity after sleep loss decreases with age. *European Journal of Neuroscience* 2004;20:1402-10.
- [96] Münch M, Kobiacka S, Steiner R, Oelhafen P, Wirz-Justice A, Cajochen C. Wavelength-dependent effects of evening light exposure on sleep architecture and sleep EEG power density in men. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2006;290(5):R1421-8.
- [97] Münch M, Léon L, Crippa S, Kawasaki A. Circadian and wake-dependent effects on the pupil light reflex in response to narrow-bandwidth light pulses. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2012;53(8):4546-55.
- [98] Münch M, Plomp G, Thunell E, Kawasaki A, Scartezzini J-L, Herzog M. Different colors of light lead to different adaptation and activation as determined by high-density EEG. *NeuroImage* 2014;101(0):547-54.
- [99] Münch M, Scheuermaier K, Zhang R, Dunne S, Guzik A, Silva EJ, Ronda J, Duffy J. Effects on subjective and objective alertness and sleep in response to evening light exposure in older subjects. *Behavioural Brain Research* 2011;224(2):272-8.
- [100] Mure L, Cornut P-L, Rieux C, Drouyer E, Denis P, Gronfier C, Cooper H. Melanopsin bistability: a fly's eye technology in the human retina. *PLoS ONE* 2009;4(6):e5991.
- [101] Mure L, Rieux C, Hattar S, Cooper H. Melanopsin-dependent nonvisual responses: evidence for photopigment bistability in vivo. *Journal of Biological Rhythms* 2007;22(5):411-24.

- [102] Najjar R, Chiquet C, Teikari P, Cornut P, Claustrat B, Denis P, Cooper H, Gronfier C. Aging of non-visual spectral sensitivity to light in humans: compensatory mechanisms? *PLoS ONE* 2014;9(1):e85837.
- [103] Obayashi K, Saeki K, Iwamoto J, Okamoto N, Tomioka K, Nezu S, Ikada Y, Kurumatani N. Positive effect of daylight exposure on nocturnal urinary melatonin excretion in the elderly: a cross-sectional analysis of the HEIJO-KYO study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2012;97(11):4166-73.
- [104] Panda S, Sato T, Castrucci A, Rollag M, DeGrip W, Hogenesch J, Provencio I, Kay S. Melanopsin (Opn4) requirement for normal light-induced circadian phase shifting. *Science* 2002;298(5601):2213-6.
- [105] Park J, Moura A, Raza A, Rhee D, Kardon R, Hood D. Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2011;52(9):6624-35.
- [106] Phipps-Nelson J, Redman J, Dijk D-J, M RS. Daytime exposure to bright light, as compared to dim light, decreases sleepiness and improves psychomotor vigilance performance. *Sleep* 2003;26:695-700.
- [107] Pomplun M, Silva E, Ronda J, Cain S, Münch M, Czeisler C, Duffy J. The effects of circadian phase, time awake, and imposed sleep restriction on performing complex visual tasks: Evidence from comparative visual search. *Journal of Vision* 2012;12(7).
- [108] Provencio I, Cooper HM, Foster RG. Retinal projections in mice with inherited retinal degeneration: Implications for circadian photoentrainment. *Journal of Comparative Neurology* 1998;395(4):417-39.
- [109] Rajaratnam SMW, Arendt J. Health in a 24-h society. *Lancet* 2001;358:999-1005.
- [110] Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 1990(247):975-8.
- [111] Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 2002;418:935-41.
- [112] Revell V, Arendt J, Fogg L, Skene D. Alerting effects of light are sensitive to very short wavelengths. *Neuroscience Letters* 2006;399(1-2):96 - 100.
- [113] Revell V, Burgess H, Gazda C, Smith M, Fogg L, Eastman C. Advancing human circadian rhythms with afternoon melatonin and morning intermittent bright light. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006;91(1):54-9.
- [114] Revell V, Skene D. Light-induced melatonin suppression in humans with polychromatic and monochromatic light. *Chronobiology International* 2007;24(6):1125 - 37.

- [115] Riemersma-van der Lek RF, Swaab DF, Twisk J, Hol EM, Hoogendijk WJG, Van Someren EJW. Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association* 2008;299(22):2642-55.
- [116] Roecklein K, Wong P, Ernecoff N, Miller M, Donofry S, Kamarck M, Wood-Vasey W, Franzen P. The post illumination pupil response is reduced in seasonal affective disorder. *Psychiatry Research* 2013;210(1):150-8.
- [117] Roenneberg T, Daan S, Merrow M. The art of entrainment. *Journal of Biological Rhythms* 2003;18:183-94.
- [118] Rollag M. Does melanopsin bistability have physiological consequences? *Journal of Biological Rhythms* 2008;23(5):396-9.
- [119] Ruby N, Brennan T, Xie X, Cao V, Franken P, Heller H, O'Hara B. Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science* 2002;298(5601):2211-3.
- [120] R ger M, Gordijn MCM, Beersma DGM, de Vries B, Daan S. Time-of-day-dependent effects of bright light exposure on human psychophysiology: comparison of daytime and nighttime exposure. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2006;290(5):R1413-20.
- [121] Santhi N, Thorne H, van der Veen D, Johnsen S, Mills S, Hommes V, Schlangen L, Archer S, Dijk D. The spectral composition of evening light and individual differences in the suppression of melatonin and delay of sleep in humans. *Journal of Pineal Research* 2012;53(1):47-59.
- [122] Saper CB, Lu J, Chou TC, Gooley J. The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends in Neurosciences* 2005;28:152-7.
- [123] Schmidt T, Chen S, Hattar S. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. *Trends in Neurosciences* 2011;34(11):572-80.
- [124] Schmidt TM, Kofuji P. Differential cone pathway influence on intrinsically photosensitive retinal ganglion cell subtypes. *The Journal of Neuroscience* 2010;30(48):16262-71.
- [125] Schwartz W, Gainer H. Suprachiasmatic nucleus: use of ¹⁴C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 1977;197(4308):1089-91.
- [126] Smith KA, Schoen MW, Czeisler CA. Adaptation of human pineal melatonin suppression by recent photic history. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004;89(7):3610-4.
- [127] Smolders K, de Kort Y, Cluitmans P. A higher illuminance induces alertness even during office hours: Findings on subjective measures, task performance and heart rate measures. *Physiology & Behavior* 2012;107(1):7-16.

- [128] Stephan FK, Zucker I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1972;69:1583-6.
- [129] Stevens R, Brainard G, Blask D, Lockley S, Motta M. Breast cancer and circadian disruption from electric lighting in the modern world. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2014;64(3):207-18.
- [130] Swaab D, Dubelaar E, Hofman M, Scherder E, van Someren E, Verwer R. Brain aging and Alzheimer's disease; use it or lose it. *Progress in Brain Research* 2002;138:343-73.
- [131] Swaab DF, Fliers E, Partiman TS. The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia. *Brain Research* 1985;342:37-44.
- [132] Terman JS, Terman M. Photopic and scotopic light detection in patients with seasonal affective disorder and control subjects. *Biological Psychiatry* 1999;46:1642-8.
- [133] Thapan K, Arendt J, Skene DJ. An action spectrum for melatonin suppression: evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. *Journal of Physiology* 2001;535:261-7.
- [134] Thorne H, Jones K, Peters S, Archer S, Dijk D. Daily and seasonal variation in the spectral composition of light exposure in humans. *Chronobiology International* 2009;26(5):854-66.
- [135] Tsai J, Hannibal J, Hagiwara G, Colas D, Ruppert E, Ruby N, Heller H, Franken P, Bourgin P. Melanopsin as a sleep modulator: circadian gating of the direct effects of light on sleep and altered sleep homeostasis in *Opn4*^{-/-} mice. *PLoS Biology* 2009;7(6):e1000125.
- [136] Turner PL, Mainster MA. Circadian photoreception: ageing and the eye's important role in systemic health. *British Journal of Ophthalmology* 2008;92(11):1439-44.
- [137] Van den Pol A. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: intrinsic anatomy. *The Journal of Comparative Neurology* 1980;191(4):661-702.
- [138] Van Someren EJW, Kessler A, Mirmiran M, Swaab DF. Indirect bright light improves circadian rest-activity rhythm disturbances in demented patients. *Biological Psychiatry* 1997;41:955-63.
- [139] Vandewalle G, Gais S, Schabus M, Balteau E, Carrier J, Darsaud A, Sterpenich V, Albouy G, Dijk DJ, Maquet P. Wavelength-dependent modulation of brain responses to a working memory task by daytime light exposure. *Cerebral Cortex* 2007;17(12):2788-95.
- [140] Vandewalle G, Maquet P, Dijk D. Light as a modulator of cognitive brain function. *Trends in Cognitive Sciences* 2009;13(10):429-38.

- [141] Vandewalle G, Schmidt C, Albouy G, Sterpenich V, Darsaud A, Rauchs G, Berken P, Balteau E, Degueldre C, Luxen A, Maquet P, Dijk D. Brain responses to violet, blue, and green monochromatic light exposures in humans: prominent role of blue light and the brainstem. *PlosOne* 2007;2(11):e1247.
- [142] Vandewalle G, Schwartz S, Grandjean D, Wuillaume C, Balteau E, Degueldre C, Schabus M, Phillips AG, Luxen A, J DD, Maquet P. Spectral quality of light modulates emotional brain responses in humans. *Proceedings of National Academic Science of the United States of America* 2010;107(45):19549-54.
- [143] Vitaterna M, King D, Chang A-M, Kornhauser J, Lowrey P, McDonald J, Dove W, Pinto L, Turek F, Takahashi J. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, clock, essential for circadian behavior. *Science* 1994;264(5159):719-25.
- [144] Wahnschaffe A, Haedel S, Rodenbeck A, Stoll C, Rudolph H, Kozakov R, Schoepp H, Kunz D. Out of the lab into the bathroom: evening short-term exposure to conventional light suppresses melatonin and increases alertness perception. *International Journal of Molecular Sciences* 2013;14(2):2573-89.
- [145] Watts A, Swanson L. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemistry in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* 1987;258(2):230-52.
- [146] Wehr TA. Effect of seasonal changes in daylength on human neuroendocrine function. *Hormone Research* 1998;49:118-24.
- [147] Welsh D, Logothetis D, Meister M, Reppert S. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron* 1995;14(4):697-706.
- [148] Wirz-Justice A, Benedetti F, Terman M, editors. *Chronotherapeutics for Affective Disorders. A Clinician's Manual for Light and Wake Therapy*. Basel: S. Karger AG; 2009.
- [149] Wong K, Dunn F, Berson D. Photoreceptor adaptation in intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Neuron* 2005;48(6):1001-10.
- [150] Wulff K, Dijk D-J, Middleton B, Foster R, Joyce E. Sleep and circadian rhythm disruption in schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 2012;4:308-16.
- [151] Zaidi F, Hull J, Peirson S, Wulff K, Aeschbach D, Gooley J, Brainard G, Gregory-Evans K, Rizzo Iii J, Czeisler C, Foster R, Moseley M, Lockley S. Short-wavelength light sensitivity of circadian, pupillary, and visual awareness in humans lacking an outer retina. *Current Biology* 2007;17(24):2122-8.
- [152] Zeitzer J, Dijk D, Kronauer R, Brown E, Czeisler C. Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression. *Journal of Physiology* 2000;526:695-702.

- [153] Zele A, Feigl B, Smith S, Markwell E. The circadian response of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. PLoS ONE 2011;6(3):e17860.
- [154] Zhang D, Wong K, Sollars PJ, Berson DM, Pickard GE, McMahon D. Intraretinal signaling by ganglion cell photoreceptors to dopaminergic amacrine neurons. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 2008;105(37):14181-86.

6. Danksagung

Folgenden Personen, welche mich auf meinem bisherigen wissenschaftlichen Weg begleitet und persönlich gefördert haben, bin ich zu großem Dank verpflichtet (in mehr oder minder chronologischer Reihenfolge):

- PD Dr. G. Anzenberger und Prof. Dr. D.C. Martin (Anthropologisches Institut, Universität Zürich, Schweiz) für die Einführung in wissenschaftliches Arbeiten mit nicht-menschlichen Primaten im Zuge meiner Masterarbeit.
- Prof. Dr. em. A. Wirz-Justice und Prof. Dr. C. Cajochen vom Zentrum für Chronobiologie (Psychiatrische Universitätskliniken Basel, Schweiz) für die Förderung und Begleitung während meiner Dissertation sowie allen Kolleginnen und Kollegen, welchen ich während meiner Dissertationszeit und darüber hinaus wissenschaftlich und persönlich immer noch verbunden bin.
- Prof. Dr. J.F. Duffy und Prof. Dr. C.A. Czeisler (Harvard Medical School, Boston, USA), für die Förderung und Begleitung während meines über zwei-jährigen Aufenthalts als post-doc sowie Dank auch an alle meine damaligen Weggefährten.
- Prof. Dr. J.-L. Scartezzini und seinem Team (Eidgenössische Technische Hochschule Lausanne, Schweiz), welcher mir die Möglichkeiten gab, ein interdisziplinäres photobiologisches Labor aufzubauen.
- Prof. Dr. S. Jaeggi, University of California (USA) für die interessante Zusammenarbeit der letzten Jahre.
- Prof. Dr. M. Herzog, Dr. E. Thunell und Dr. G. Plomp (Eidgenössische Technische Hochschule Lausanne, Schweiz), für die kollegiale Zusammenarbeit.
- Prof. Dr. A. Kawasaki (Hôpital Ophtalmique Jules-Gonin, Universität Lausanne, Schweiz) für die bisherige und hoffentlich auch in Zukunft andauernde, fruchtbare Zusammenarbeit und Freundschaft.
- PD Dr. D. Kunz sowie Dr. F. Bes und allen meinen jetzigen Kolleginnen und Kollegen für die Möglichkeiten und das Vertrauen, in diesem faszinierenden Gebiet weiter forschen und lehren zu können.
- Zu guter Letzt möchte ich auch der VELUX Stiftung Schweiz (Geschäftsführer: Herr L. von Orelli lic. rer. pol. et jur.) danken, durch deren langjährige finanzielle Unterstützung sind viele neue Möglichkeiten in Bezug auf interdisziplinäre Forschung eröffnet worden.
- Und natürlich danke ich meiner Familie und allen Freunden und Bekannten, die mich in den letzten Jahren in irgendeiner Weise unterstützt und gefördert haben. Mein größter Dank gebührt meinem Mann - *Conditio sine qua non*.

7. Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Datum: 29. 03. 2015

Unterschrift