

Aus dem Institut für Physiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Einflüsse von Melatonin und Licht am Abend
auf Parameter des Circadianen Systems**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Amely Wahnschaffe
geb. Tilmann

aus Darmstadt

Datum der Promotion: 5.12.2014

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung.....	1
Abstract (Englisch).....	2
1. Einleitung	3
1.1. Theoretische Grundlagen.....	3
1.1.1. Circadiane Rhythmen, Licht und Melatonin.....	3
1.1.2. Licht und Gesundheit.....	5
1.1.3. Schlafregulation.....	7
1.2. Forschungsprogramm.....	7
1.2.1. Kompensation eines Melatonin-Defizits durch exogenes Melatonin.....	8
1.2.2. Konzeptualisierung eines endogenen Melatonin-Defizits.....	9
1.2.3. Prävention eines Melatonin-Defizits durch geeignetes Licht.....	10
2. Methoden	10
2.1. Probanden: Ein- und Ausschlusskriterien.....	10
2.2. Design.....	11
2.3. Datenerhebung und -verarbeitung.....	12
2.3.1. Fragebögen.....	12
2.3.2. Aktometrie	13
2.3.3. Polysomnographie	14
2.3.4. Melatonin-Bestimmung.....	14
2.3.5. Beleuchtungsmessung.....	15
3. Ergebnisse	16
3.1. REM-Melatonin-Studie (#1).....	16
3.2. Melatonin-Normdaten (#2).....	17
3.3. Licht am Abend- Studie (#3).....	17
4. Diskussion	18
Literaturverzeichnis.....	21
Anhang:	
#0 Tabelle 1a. Probanden: Ein- und Ausschlusskriterien.....	I
Tabelle 1b: Probanden: Stichprobe.....	II
Tabelle 2. Studiendesigns.....	III
Tabelle 3. Zielvariablen.....	IV
Tabelle 4. Statistische Methoden.....	IV
Eidesstattliche Versicherung mit Anteilserklärung.....	V
#1 REM-Melatonin-Studie	
#2 Melatonin-Normdaten-Studie	
#3 Licht-am-Abend-Studie	
Lebenslauf	
Publikationsliste	
Danksagung	

Zusammenfassung

Einleitung: Die vorliegende kumulative Promotionsschrift beinhaltet Ergebnisse aus drei Studien. Dabei wird den Fragen nachgegangen, 1) wie das circadiane System endogen durch Melatonin und exogen durch Licht und Melatonin beeinflusst wird und 2) wie man diese Einflüsse klinisch nutzen kann, um Störungen des circadianen Systems und den daraus folgenden Symptomen vorzubeugen oder diese zu lindern. Circadiane Rhythmen von Physiologie und Verhalten werden über Licht und Dunkelheit mit dem äußeren 24-Stunden Tag synchronisiert. Das Hormon Melatonin spielt dabei eine vermittelnde Rolle. Defizite in der nächtlichen Melatonin-Sekretion könnten somit an einer gestörten circadianen Steuerung beteiligt sein und klinische Symptome hervorrufen.

Methoden: In Studie#1 wurden in einem doppelblinden, Placebo-kontrollierten, cross-over Studiendesign 14 Patienten mit neurologisch-psychiatrischen schlafbezogenen Störungen mit täglich 3mg exogenem Melatonin über vier Wochen behandelt. Einschlusskriterium war quantitativ reduzierter Rapid-Eye-Movement (REM) Schlaf. Studie#2 beinhaltet die Analyse der Melatonin-Konzentrations-Profile im Urin von 75 gesunden Probanden zwischen 20 und 84 Jahren. In Studie#3 wurde bei 9 gesunden Probanden der Einfluss von abendlicher, 30 Minuten dauernder Beleuchtung mit verschiedenen Alltags-Lampen auf die Melatonin-Ausschüttung und das subjektive Befinden untersucht.

Ergebnisse: (#1) Das **exogene Melatonin** erhöhte den REM-Schlafanteil, verstärkte die physiologische Körpertemperaturabnahme während der Nacht, und verbesserte die REM-Schlaf-Kontinuität. Gleichzeitig verbesserten sich der Clinical-Global-Impression-Scale und die Subskala „daytime-dysfunction“ im Pittsburgh-Sleep-Quality-Index im Vergleich zur Placebo-Bedingung bei den Patienten, welche Placebo vor Melatonin erhielten. Wenn die Placebo-Bedingung nach der Melatonin-Bedingung stattfand, überdauerten die positiven Effekte die Melatonin-Einnahme sogar um vier Wochen. (#2) Es zeigt sich eine bis zu 20-fache Variabilität in der Sekretion des **endogenen Melatonins** und eine signifikante Altersabhängigkeit: die Menge des ausgeschütteten Melatonins nahm mit zunehmendem Alter ab. (#3) Alle abendlichen **Beleuchtungssituationen** mit Blauanteil reduzierten den normalen Anstieg der Melatonin-Sekretion im Gegensatz zur Kontrollbedingung und zu einer Beleuchtung ohne Blauanteil; drei von den Beleuchtungssituationen mit Blauanteil steigerten auch signifikant die subjektive Wachheit.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse der drei Studien zeigen zusammengefasst, dass (#1) exogenes Melatonin in der Lage ist, den bei Schlafstörungen manifestierten Störungen der circadianen

Steuerung entgegenzuwirken; (#2) die Melatonin-Sekretion mit dem Alter abnimmt, aber aufgrund der hohen interindividuellen Variabilität kein geeigneter Indikator eines Melatonin-Defizits ist; und (#3) der abendliche Anstieg der Melatonin-Produktion durch allgemein gebräuchliche Beleuchtung unterdrückt wird, und diese Unterdrückung durch Gebrauch von Lampen ohne Blauanteil verhindert werden kann.

Abstract (Englisch)

Introduction: This cumulative thesis comprises results of three studies. It pursues the questions of 1) how the circadian system is influenced endogenously by melatonin and exogenously by light and melatonin; and 2) how these influences can be used in clinical treatment to prevent or mitigate disturbances of the circadian system and resulting symptoms. Light and darkness synchronize physiological and behavioral circadian rhythms with the external diurnal rhythm. The hormone melatonin acts as a mediator. Irregularities in the nocturnal melatonin secretion can thus contribute to an impaired circadian regulation and cause clinical symptoms.

Methodology: In study#1, 14 patients suffering from neurological-psychiatric sleep disorders were treated with daily doses of 3mg exogenous melatonin over a period of four weeks in a double-blind, placebo-controlled, cross-over design. The inclusion criterion was a reduced quantity of rapid eye movement (REM) sleep. Study#2 analyses the melatonin concentration profiles in urine of 75 healthy volunteers between the ages of 20 and 84. In study#3, 9 healthy volunteers were exposed to light from various conventional lamps for 30 minutes during the evening to determine the influence of the light on melatonin secretion and subjective feelings.

Results: (#1) Exogenous melatonin increased the proportion of REM sleep, the physiological decline in body temperature during the night, and improved REM sleep continuity. Subjects who were given the placebo prior to the melatonin also showed improved ratings on the Clinical-Global-Impression-Scale and on the subscale “daytime-dysfunction” in the Pittsburgh-Sleep-Quality-Index compared to placebo conditions. If the placebo condition followed the melatonin condition, the beneficial effects even outlasted the melatonin intake by four weeks. Study#2 showed an up to twenty-fold variability in **endogenous melatonin** secretion as well as a significant age dependency: the amount of melatonin secreted decreases with increasing age. (#3) Evening exposure to all **lighting conditions** involving blue portions reduced the normal increase in melatonin secretion in contrast to both the control condition and the exposure to light without blue portion; three of the lighting conditions involving blue portions increased subjective alertness.

Conclusion: The results of the three studies show that (#1) exogenous melatonin can counter the disturbances in the circadian regulation manifest in sleep disorders; (#2) though melatonin secretion decreases with increasing age, its variation between individual subjects is so high that it is inapplicable as an indicator of a melatonin deficit; and (#3) common lighting in the evening inhibits the increase of melatonin production while the use of lamps without blue light can prevent such an inhibition.

1. Einleitung

1.1. Theoretische Grundlagen

1.1.1. Circadiane Rhythmen, Licht und Melatonin

Indem die Erde sich um ihre eigene Achse dreht, verursacht sie Fluktuationen in der Temperatur, der Verfügbarkeit von Nahrungsmitteln und weiteren überlebensrelevanten Umweltbedingungen von sämtlichen Spezies. Mit dem Rhythmus von Tag und Nacht geht der Wechsel zwischen Licht und Dunkelheit einher. Das circadiane System (lateinisch: circa dies = ungefähr ein Tag), ein komplexes Gefüge innerer Uhren, versetzt Lebewesen in die Lage, sich antizipativ auf diese Schwankungen einzustellen und somit eine ideale Anpassung zu erreichen [2]. Die saisonalen Veränderungen in der Tageslänge vermitteln zudem eine jahreszeitliche Komponente bei der biologischen Verarbeitung dieser Lichtinformationen, wodurch bei einigen Tierarten Brutzeiten und Hibernation gesteuert werden [3, 4]. Beim Säugetier sitzt der zentrale Koordinator dieses Systems im hypothalamischen Nucleus Suprachiasmaticus (SCN) [5]. Umweltaspekte, die das circadiane System darüber informieren, wo die Erde sich bei ihrer täglichen Drehung um sich selbst gerade befindet, werden als Zeitgeber bezeichnet [6]. Diese Zeitgeber synchronisieren den Organismus mit der äußeren Tages- und Jahreszeit. Das natürliche Licht in seiner Intensität und spektralen Zusammensetzung ist der mit Abstand wirksamste Zeitgeber vor z.B. Temperatur und sozialen Reizen [7, 8]. Das Licht wird über das Auge aufgenommen, und dort über die lichtempfindlichen retinalen Ganglienzellen, in einer komplexen Interaktion mit den herkömmlichen und für die Bildverarbeitung zentralen Photorezeptoren, den Stäbchen und Zapfen, über den retino-hypothalamischen Trakt (RHT) zum SCN übertragen [9, 10]. Etliche physiologische und psychologische Funktionen, zum Beispiel Körperkerntemperatur, Hormonsekretion, Verdauung, Herzrate, Blutdruck, Aktivität, Aufmerksamkeit, Schlaf und Wachheit, sind circadian moduliert; die meisten an deren Steuerung beteiligten Gewebe und Zelltypen verfügen dabei über ein circadianes Genexpressionsmuster, das auch ohne Kontakt zum SCN fortbesteht [11]. Diese unterschiedlichen Rhythmen werden durch die zentrale Steuerung im SCN via neuronaler oder humoraler Informationsvermittlung nicht nur an die

Umweltbedingungen angepasst, sondern auch untereinander synchronisiert; eine bei dieser Synchronisierung vermittelnde Funktion hat das in der Epiphyse (Glandula Pinealis) produzierte Hormon Melatonin: Es zeigt eine deutliche und vergleichsweise robuste circadiane Rhythmik. Vom SCN aus gelangt die Hell-Dunkel-Information auf polysynaptischem Weg über den paraventriculären Nukleus und die oberen Spinalganglien des verlängerten Rückenmarks an die Epiphyse, die dann bei Dunkelheit das Melatonin ausschüttet [12]. Über die beiden Melatonin-Rezeptoren M1 und M2 wird eine Vielzahl komplexer Wirkungen moduliert, sowohl in peripheren Geweben [z.B. M1: Gefäßverengung; Verminderung der Ausschüttung von Insulin, Testosteron, Kortisol, luthenisierendem Hormon (LH), folikelstimulierendem Hormon (FSH) und Prolactin (PRL) sowie Reduktion der Proliferationsrate schnell wachsender Gewebe wie z.B. bei malignen Erkrankungen; M2: Gefäßerweiterung, Verringerung der Chorionkarzinom-Zellvermehrung], als auch im zentralen Nervensystem. Die indirekte Aktivierung der beiden Melatonin-Rezeptoren in Dunkelheit bewirkt wiederum im SCN einen Rückgang der neuronalen Feuerungsrate (M1) und eine Phasenverschiebung bei nachtaktiven Säugetieren (M2) [13, 14].

Wie andere circadiane Rhythmen lässt sich auch der Melatonin-Rhythmus mit den Parametern Phase, Amplitude und Periode beschreiben. Die Phase bezeichnet einen Zeitpunkt im Verlauf von 24 Stunden, an dem ein physiologisches Ereignis (z.B. das Körpertemperatur-Minimum) sich periodisch wiederholt. Die circadiane Phasenlage unterscheidet sich bei Frühtypen und Spättypen im zeitlichen Schlafverhalten (d.h. frühe vs. späte Bettgeh- und Aufstehzeiten) auf der Verhaltensebene [15]. Dies entspricht zeitlichen Unterschieden im Beginn der Melatonin-Ausschüttung am Abend auf der physiologischen Ebene [16] bis hin zu Prozessen auf der molekularen Ebene, z.B. der Genexpression [17]. Die circadiane Amplitude dagegen beschreibt die Ausprägung oder Intensität einer circadianen Rhythmik als halbe Differenz zwischen deren Minimum und Maximum [18]. Die circadiane Periode beschreibt die Zeitspanne, nach der sich ein Ereignis nach ungefähr 24 Stunden wiederholt. Dabei unterscheidet man die intrinsische, vom SCN vorgegebene Periode (τ) vom äußeren Licht-Dunkel-Zyklus, mit dem τ mittels Zeitgebern synchronisiert ist. Das zeitliche Verhältnis definierter Ereignisse aus zwei verschiedenen Rhythmen (z.B. Sonnenuntergang und einsetzende Melatoninausschüttung) wird als Phasenbeziehung (ψ) bezeichnet. Deren Stabilität ist ein Maß für die Stärke der Synchronisierung [19]. In Bunkerexperimenten in Anechts zeigten Aschoff und Kollegen schon in den 60'er Jahren, dass die innere Uhr im sogenannten „Freilauf“, d.h. bei Isolation von determinierten Zeitgebern und in einer freigewählten Tagesstruktur, eine zwischen Probanden variierende aber intra-individuell relativ stabile Periodenlänge von durchschnittlich 25 Stunden hat [20]. Wenn jedoch durch Manipulation von Zeitgebern die Tage experimentell verlängert

oder verkürzt werden, passen sich verschiedene circadiane Rhythmen dieser künstlich veränderten Tageslänge nur bedingt und in unterschiedlichem Ausmaß an [21]. Das Ausmaß der Dehnbarkeit der Periodendauer eines circadianen Rhythmus wird Mitnahmebereich (englisch: range of entrainment) genannt. Wenn der Mitnahmebereich eines circadianen Rhythmus überschritten wird, entkoppelt er sich von den Zeitgebern und folgt der endogenen Steuerung durch die innere Uhr. Wenn die Periodenlängen unterschiedlicher Rhythmen sich voneinander unterscheiden und so die sonst stabile Phasenbeziehung zwischen ihnen aufgelöst ist, spricht man von Dissoziation, falls es sich dabei um ein Übergangsphänomen handelt, und von interner Desynchronisation, wenn dieser Zustand von Dauer ist. Eine solche interne Desynchronisation wurde sowohl in den oben beschriebenen Experimenten, als auch klinisch beobachtet (siehe Abschnitt 1.1.2.). Aufgrund der phasenverschiebenden Eigenschaften von Licht und Aktivität, die ja von den Probanden beim klassischen Freilaufprotokoll in Andechs frei wählbar waren, ist es möglich, dass die damals gemessenen Rhythmen vom endogenen Rhythmus der inneren Uhr abwichen. Diese Einflüsse versuchte die Arbeitsgruppe um Czeisler mit einem 20 bzw. 28 Stunden „forced-desynchrony“- Protokoll zu umgehen. Dieses beinhaltet eine täglich um vier Stunden nach vorne bzw. nach hinten geschobene Bettgezeit, so dass Schlaf- und Wach- Zyklen nach 7 Tagen regelmäßig über alle circadianen Phasen verteilt sind und ihr beeinflussender Effekt durch Mittelwertbildung ausgeschlossen werden kann. Dabei wurde auch in den Wachphasen die Beleuchtungsstärke niedrig gehalten (ca. 15 lux), um einen maskierenden Einfluss auf die innere Uhr zu vermeiden. So gemessen ergab sich eine durchschnittliche Periodenlänge von 24.18 Stunden, die der von anderen Arten entspricht [22].

1.1.2. Licht und Gesundheit

Auch in modernen Gesellschaften entstehen durch die ständige Verfügbarkeit von Licht und die Beweglichkeit über Zeitzonen hinweg Phänomene, die die biologisch vorgegebene Abstimmung des endogenen Rhythmus mit dem äußeren Tagesablauf durch Zeitgeber beeinflussen.

Klinische Probleme wie einige Schlafstörungen entstehen, wenn dadurch im Sinne einer internen Desynchronisation die Abstimmung der einzelnen Rhythmen untereinander gestört wird und das „Orchester“ aus dem Takt gerät. Im Zusammenhang mit Flugreisen über Zeitzonen hinweg sind Symptome einer plötzlichen Verschiebung der Phasenlage gut beschrieben [23]: Das so genannte „Jet-Lag“-Syndrom beinhaltet beispielsweise Schlafstörungen, Müdigkeit, Verdauungsstörungen, Schwindel und Kopfschmerz. Es dauert zwischen wenigen Tagen und

zwei Wochen, bis sämtliche Symptome abgeklungen sind. Bereits bei einer Zeitumstellung von nur einer Stunde, z.B. von Winter- auf Sommerzeit, reduzieren sich Schlafdauer und Schlaffeffizienz [24]. Dies beruht vermutlich auf einer unterschiedlich schnellen Reaktion und Umstellung verschiedener physiologischer Rhythmen auf die veränderten Lichtinformationen der neuen, „äußeren“ Zeit, was zu einer vorübergehenden jedoch reversiblen circadianen Desynchronisation führt. Eine Vielzahl von Erkrankungen wird in Verbindung mit Licht bei Nacht und reduzierter Melatonin-Ausschüttung gebracht [13]. Als Langzeitfolgen von Schichtarbeit, vor allem Nachtschichten, werden chronische Schlafstörungen sowie eine erhöhte Morbidität und Mortalität für kardiovaskuläre Erkrankungen oder Tumorerkrankungen benannt [25]. Die Ergebnisse epidemiologischer Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen durch Schichtarbeit gestörten circadianen Rhythmen und erhöhtem Risiko von z.B. Brustkrebs bei Frauen hin (siehe [26]). Eine molekularbiologische Studie am Tiermodell zeigt bezüglich des Zusammenhangs zwischen desynchronisierten circadianen Rhythmen und Brustkrebs eine direkte Wirkung des Lichts bei Nacht auf das Krebszellwachstum [27]. Zudem gehen, um nur zwei weitere Beispiele zu nennen, so verschiedene Erkrankungen wie Diabetes Typ II [28] und Depression [29] auch mit Melatonin-Rezeptor-Polymorphismen einher. Die exzessive Nutzung elektrischer Beleuchtung in den modernen Industriegesellschaften setzt die Abstimmung der inneren Uhr mit dem Verlauf von Tag und Nacht durch das natürliche Licht nicht nur für Risikogruppen außer Kraft, sondern für die gesamte Gesellschaft [30]. Die Neonleuchte im Bad beim abendlichen Zähneputzen, der blaue Computerbildschirm beim Surfen vor dem Einschlafen [31], und die trübe ‚Funzel‘ über dem Schreibtisch, während draußen hinter dem Vorhang die Sonne scheint, gehören zum Alltag. Das wirft die Frage auf, inwieweit der alltägliche Lichtmangel im Innenraum und die allnächtliche „Lichtverschmutzung“ indirekt ein zivilisatorisches Gesundheitsrisiko bedeuten.

Störungen werden jedoch nicht nur durch ein Ungleichgewicht zwischen innerer und äußerer Taktung verursacht, sondern auch durch Erkrankungs- oder auch alterungsbedingte degenerative Prozesse in den an der circadianen Steuerung beteiligten Hirnregionen. Auch bei Personen mit extremen circadianen Präferenzen wie „Lerchen“ und „Eulen“ verläuft unter Umständen schon ein „normaler Tagesablauf“ immer gegen ihre innere Uhr, weil sie zu Zeitpunkten leistungsfähig sein sollen, während denen ihre innere Uhr auf Schlafen eingestellt ist und umgekehrt [15]. Bei Blinden sind die circadianen Rhythmen in Ermangelung des zentralen äußeren Zeitgebers Licht häufig freilaufend [32] und Schlafstörungen treten gehäuft auf [33]. Diese Phänomene lassen sich unter anderem auf den circadianen Anteil der Modulation des Schlaf-Wachzyklus zurückführen.

1.1.3. Schlafregulation

Im Zwei-Prozess-Modell der Schlafregulation nach Borbely [1] wird, wie in Abbildung 1 dargestellt, davon ausgegangen, dass ein homöostatischer Prozess S, der sich infolge des zunehmenden Schlafbedürfnisses über den Tag hinweg als ‚Schlafdruck‘ aufbaut und während des Schlafes wieder absinkt, mit einem circadianen Prozess C interagiert. Prozess C vermittelt, entgegengesetzt Prozess S, am Abend eine schwache und am Morgen eine starke Einschlafneigung. Durch die interaktive Wirkung beider Prozesse wird eine gleichmäßige Schlafbereitschaft während der Nacht sichergestellt, die beim Menschen ausreichenden Schlaf zur günstigen Zeit, nämlich wenn es kein Licht gibt, vermittelt. Gleichzeitig wird eine konsolidierte Wachphase am Tag ermöglicht.

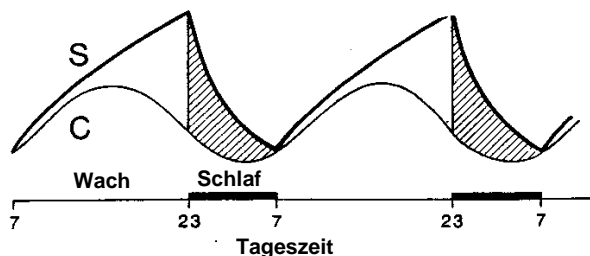


Abbildung 1: Zwei-Prozess-Modell der Schlafregulation nach Borbely [1]

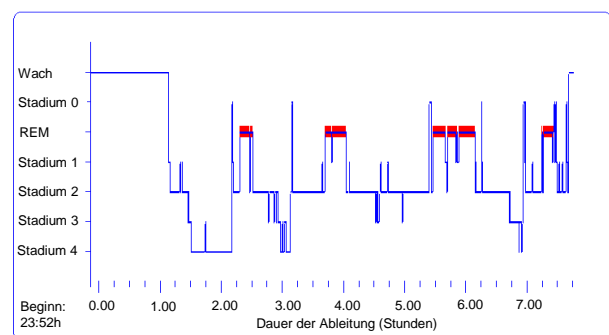


Abbildung 2: Hypnogramm (Schlafstadien) eines gesunden Probanden aus unserem Schlaflabor

Innerhalb der Schlafphase werden in mehreren aufeinander folgenden Schlafzyklen von ca. 90 Minuten die verschiedenen Schlafstadien durchlaufen (siehe Abbildung 2). Die Schlafstadien 1-4 beschreiben den Non-Rapid-Eye-Movement (Non-REM) Schlaf. Der Übergang von Wachheit zum Schlaf wird als Stadium 1 bezeichnet, und Stadium 2 zeigt einen oberflächlichen Schlaf an, während Stadium 3 und 4 zusammen als Tiefschlaf (SWS = Slow Wave Sleep) bezeichnet werden [34]. Bei gesunden Probanden nimmt der Tiefschlafanteil aufgrund des abnehmenden Schlafdrucks (Prozess S) im Verlauf der Nacht ab; der sich davon qualitativ deutlich unterscheidende REM-Schlaf nimmt dagegen anteilig im Nachtverlauf zu, was einerseits auf den abnehmenden Tiefschlafdruck, andererseits aber auf eine circadiane Modulation (Prozess C) der REM-Schlafbereitschaft zurückzuführen ist.

1.2. Forschungsprogramm

Die in der vorliegenden kumulativen Promotionsschrift zusammengefassten drei Studien untersuchen, wie das circadiane System endogen durch Melatonin und exogen durch Licht und Melatonin beeinflusst wird (die Anteile der Verfasserin an den vorgestellten Studien sind

dargelegt in Anhang #0, S. V, Anteilserklärung). Daraus ergibt sich auch die Frage, wie man diese Steuerungsprozesse klinisch und präventiv nutzen kann, um Störungen des circadianen Systems und daraus folgenden Symptomen vorzubeugen oder diese zu lindern. Im Hintergrund steht dabei die Überlegung, dass ein Melatonin-Defizit gemeinsames physiologisches Substrat bei unterschiedlichen akuten und chronischen Störungen im circadianen System und in der Schlafregulation sein könnte. Ursachen dieses hypothetisch postulierten Melatonin-Defizit-Syndroms könnten durch Alterungsprozesse, degenerative Erkrankungen und Lebensweise bedingte Schädigungen des Auges oder des SCN, der neuronalen Übertragung zur Epiphyse oder deren Verkalkung sein [35]. Davon ausgehend lässt sich fragen, wie dieses Defizit durch geeignete Maßnahmen in seiner Entstehung zu verhindern, zu reduzieren oder zu kompensieren wäre. Könnte sich über Licht oder exogen zugeführtes Melatonin sogar die Stabilisierung eines auf diese Weise aus dem Gleichgewicht geratenen circadianen Systems erreichen lassen?

1.2.1. Kompensation eines Melatonin-Defizits durch exogenes Melatonin

Exogenes Melatonin wird seit den 90'er Jahren zur Behandlung von Schlafstörungen und dem akuten Jetlag-Syndrom eingesetzt. In den USA ist es seitdem in Drogerien als sogenanntes Nahrungsergänzungsmittel frei verkäuflich, ohne dass es zu diesem Zeitpunkt Klarheit über die Wirkmechanismen und die Folgen gab. Die Euphorie war groß und Melatonin wurde als allseits beglückendes, da nebenwirkungsfreies Schlafmittel, und sogar als Jungbrunnen im Einsatz gegen Alterungsprozesse beworben [36]. Eine Diskussion der Wirkung des Melatonins auf den Alterungsprozess würde in diesem Rahmen zu weit führen (siehe dazu [37]). Die Wirkung des exogenen Melatonins auf das circadiane System ist unumstritten: Sie erfolgt zeitabhängig und ist im Wesentlichen über den neuronalen Output des SCN vermittelt (siehe Abschnitt 1.1.2. zu Wirkungen endogenen Melatonins und [38]). Über den SCN entfaltet auch die Beleuchtung ihre zeitabhängige Wirkung auf das circadiane System [39].

Das Ziel der ersten Studie der vorliegenden Promotion war, die positive Wirkung des exogenen Melatonins auf circadian beeinflusste Schlafparameter bei Patienten mit schlafbezogenen Störungen und reduziertem REM-Schlafanteil zu zeigen. Die phasenstabilisierende Wirkung von exogenem Melatonin auf das Delayed Sleep Phase Syndrom [40], den Jetlag [41] und Schlafprobleme aufgrund freilaufender Rhythmen [42] ist bereits mit verschiedenen Studien belegt worden. Endogenes Melatonin steuert das circadiane System unter anderem, indem es über M1-Rezeptoren am SCN dessen neuronale Feuerungsrate senkt; die SCN- Neuronen sind in der Abenddämmerung besonders sensitiv für diese Hemmung [14]. Das legt die Hypothese nahe, dass zur richtigen Zeit eingenommenes exogenes Melatonin über den gleichen

Wirkmechanismus eine die circadiane Amplitude erhöhende und damit die interne Synchronisierung einzelner Rhythmen stabilisierende Wirkung haben könnte (siehe dazu auch [43]). Eine solche Wirkung wurde bereits in zwei Serien von Fallstudien gezeigt [44, 45]. Die Gabe von exogenem Melatonin bei unterschiedlichen schlafbezogenen Störungen führte längerfristig (d.h. nach mehreren Wochen) zu Verbesserungen und Normalisierungen in circadian gesteuerten Schlafparametern, ohne die circadiane Phase zu verschieben. In der ersten hier vorgestellten Studie wurde im doppelblinden, randomisierten, placebokontrollierten Paralleldesign untersucht, ob die regelmäßige, abendliche Gabe von exogenem Melatonin bei Patienten mit schlafbezogenen Störungen und reduzierter REM-Schlafdauer zu einer Verlängerung der REM-Schlafdauer und zur subjektiven Verbesserung der Schlafqualität führen kann. Eine weitere Fragestellung war, ob so auch Veränderungen im physiologischen Verlauf der Körperkerntemperatur und nachhaltige Effekte auf die circadiane Amplitude erreicht werden könnten (REM-Melatonin-Studie, Anhang #1)

1.2.2. Konzeptualisierung eines endogenen Melatonin-Defizits

Parallel zu verschiedenen klinischen Studien zur Wirkung von exogenem Melatonin auf den Menschen führte die Arbeitsgruppe ‚Schlafforschung & Klinische Chronobiologie‘ unter der Leitung von Dr. D. Kunz eine Reihe von Studien durch, welche die hirnhysiologischen Grundlagen eines hypothetischen Melatonin-Defizits untersuchten. Dabei hatte sich bei 36 Probanden ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Verkalkung der Melatonin produzierenden Epiphyse und der subjektiven Einschätzung der Schlafqualität [46] gezeigt, was ein klinisches Zeichen eines gestörten circadianen Systems sein könnte. Zudem korrelierte die Menge des ausgeschütteten Melatonins mit der Größe der nicht verkalkten Epiphysen-Fläche; mit diesem Zusammenhang korrespondierte in der Studienstichprobe auch die Abnahme der Melatonin-Produktion im Alter [47]. Aus diesen Ergebnissen ergab sich das Ziel der zweiten hier vorgestellten Studie, in welcher anhand einer größeren Stichprobe untersucht wurde, ob die absolute Menge des ausgeschütteten Melatonins auch eine Relevanz für das hypothetische Konzept eines Melatonin-Defizits haben könnte. Dafür wurde bei 75 gesunden Probanden verschiedener Altersgruppen die Menge der Ausschüttung des Melatonin-Abbauprodukts 6-Sulfatoxymelatonin im Urin über 32 Stunden gemessen. So sollten zum einen praktische Hinweise für die Möglichkeit der Melatonin-Bestimmung bei ambulanten Patienten bereitgestellt, und zum anderen ein Normdatensatz geschaffen werden, der als Basis für potentielle Strategien einer kompensatorischen Gabe von exogenem Melatonin bei einem endogenen Melatonin-Defizit dienen könnte. Zudem sollte die in Zweifel geratene Behauptung

überprüft werden, dass die Melatonin-Produktion mit steigendem Alter nachlässt [48] (Melatonin-Normdatenstudie: Anhang #2).

1.2.3. Prävention eines Melatonin-Defizits durch geeignetes Licht

Die dritte Studie sollte einen Beitrag leisten zur Untersuchung des Einflusses der alltäglichen elektrischen Beleuchtung auf die menschliche Physiologie. Sie befasst sich mit der Fragestellung, wie kurze alltägliche Beleuchtungssituationen am Abend die Melatonin-Ausschüttung bei gesunden Probanden akut beeinflussen und ob ungewollte Effekte durch speziell entwickelte Leuchten verhindert werden könnten. Welche Methode eignet sich am besten, um diese Beleuchtung auf ihre circadiane Wirksamkeit beim Menschen zu testen? Diese Fragen waren Teil des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Projektes PLACAR (FKZ13N89B), in welchem unsere Arbeitsgruppe mit verschiedenen Industriepartnern zusammenarbeitete. Die zentrale Hypothese war, dass herkömmliche Lampen die Melatonin-Sekretion am Abend schon bei geringer Intensität und kurzer Dauer erheblich reduzieren, und dass sich dieser Effekt durch Reduktion des Blauanteils minimieren lässt (Licht am Abend-Studie: Anhang #3).

2. Methoden

2.1. Probanden: Ein- und Ausschlusskriterien

Es gibt einen Kanon von Ausschlusskriterien, den es bei allen Studien, die sich mit circadianen Rhythmen befassen, zu beachten gilt, wenn nicht die genannten Abweichungen selbst Gegenstand der Studie sind. Diese können sonst mögliche Interventionseffekte, hier durch Melatonin oder Licht, überdecken, oder auch, wie im Falle der Melatonin-Normdatenstudie (#2), biologische Parameter verfälschen. Die Erhebungsmethoden der relevanten Variablen werden in Abschnitt 2.3. beschrieben. Eine zusammenfassende Darstellung der Ein- und Ausschlusskriterien der drei Studien findet sich in im Anhang #0, S. 1, Tabelle 1a. Eine **schlechte Schlafhygiene** kann Schlafstörungen hervorrufen oder verschlimmern und circadiane Parameter im Sinne von Phasenverschiebungen oder der Verflachung der Amplitude beeinflussen. Bei der REM-Melatonin-Studie (#1) ist das von zusätzlicher Bedeutung. Denn das Melatonin kann nach Datenlage aus den Vorstudien [44, 45] und nach Überlegungen auf der Grundlage der circadianen Schwankung der Sensitivität von Melatonin-Rezeptoren nur dann amplitudenverstärkend wirksam werden, wenn es zum immer gleichen Zeitpunkt und nicht zu lange vor der Bettgezeit eingenommen wird [49, 50]. Gute Schlafhygiene beinhaltet regelmäßige Schlafenszeiten und eine Abstinenz von melatonin- oder schlafbeeinflussenden

Substanzen. In allen drei Studien ist die Schlafhygiene sowohl in der Rekrutierungs- oder Rhythmisierungsphase als auch im Studienverlauf klar definiert und mithilfe von Aktometern (Bewegungsmessgeräten am Handgelenk; siehe dazu Abschnitt 2.3.6) überprüft (siehe Anhang #0, S. 1, Tabelle 1a). Von der Studienteilnahme ausgeschlossen wurden auch **circadiane Extremtypen** (siehe Abschnitt 2.3.5.), da man davon ausgehen muss, dass diese sich aufgrund der ihnen sozial vorgegebenen Zeiten sozusagen in einem chronischen Jet-Lag befinden [51]. Zudem müssen **Nachtschichtarbeit** und kurzfristig zurückliegende **Flüge über Zeitzonen** ausgeschlossen werden, weil beides eine destabilisierende Wirkung auf das circadiane System hat [52]. Auch Studieninteressenten mit **psychiatrischen, somatischen und schlafbezogenen Erkrankungen** wurden, mit Ausnahme von remittierten affektiven und natürlich auch akut schlafbezogenen Störungen im Falle der REM-Melatonin-Studie, von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

2.2. Design

Eine Übersicht über die Studiendesigns der drei Studien findet sich in im Anhang #0, S.2, Tabelle 2. Im Folgenden werden lediglich einige Besonderheiten detaillierter beschrieben. In der REM-Melatonin-Studie (#1) wurde ein klassisches Cross-Over-Design bei einer Placebo-kontrollierten, randomisierten und doppelblinden Wirksamkeitsstudie abgewandelt, um die Hypothese einer den Zeitraum der Melatonin-Einnahme überdauernden Wirkung zu prüfen. Die einfache Wirksamkeitsprüfung erfolgte durch den Vergleich der Differenzen Melatonin vs. Baseline in der Gruppe, die zuerst Melatonin erhielt, und Placebo vs. Baseline in der Gruppe, die zuerst Placebo erhielt. Ein direkter Vergleich zwischen Placebo und Studienmedikation wurde nur in der Gruppe durchgeführt, die zuerst Placebo und dann Melatonin erhalten hatte. Der Annahme folgend, dass Melatonin die innere Uhr möglicherweise auch sehr langfristig wieder „in den Takt“ bringt [53], wurde zusätzlich getestet, ob die Gruppe, die Placebo in der zweiten Phase erhalten hatte, aufgrund der überdauernden Wirkung des Melatonins eine stärkere „Placebo-Wirkung“ hatte als die Gruppe mit Placebo in der ersten Phase.

In der Licht-am-Abend-Studie (#3) bestand meine Aufgabe im Rahmen des Projekts PLACAR zunächst darin, den beteiligten Industriepartnern theoretisch und empirisch fundierte Empfehlungen zur Entwicklung elektrischer Beleuchtungen mit möglichst geringer Wirkung auf das circadiane System zu machen, die zum Einsatz am Abend geeignet wären. Diese mussten auch auf die technischen Möglichkeiten der Hersteller und die Erfüllung der Sehaufgaben abgestimmt sein (siehe Anhang, Studie #3, S. 2583, Tabelle 3). Weiterhin galt es, zur Prüfung dieser und weiterer im Alltag eingesetzter Beleuchtungen ein einfach anwendbares und gut

reproduzierbares Design zu entwickeln, das sich unter Umständen auch zukünftig als Standarddesign einsetzen lassen würde, um die Wirkung einer großen Anzahl von Beleuchtungssituationen auf das circadiane System zu prüfen. Die Messsituationen sollten naturalistisch gestaltet sein, um der praxisrelevanten Wirkung der Beleuchtung bei deren tatsächlicher Anwendung möglichst nahe zu kommen. Der Zeitpunkt des maximalen Anstiegs der Melatonin-Kurve liegt ca. eine Stunde vor der habituellen Bettgehzeit, die mit der circadianen Phase korreliert [54]. Zu diesem Zeitpunkt kann man auch eine deutliche Melatonin-Unterdrückung durch Licht erwarten. Sowohl um die Generalisierbarkeit von Befunden zur Wirkung langdauernder Lichtexpositionen [55] auf kürzere Zeiträume zu prüfen, als auch um Alltagssituationen mit kurzen Lichteinwirkungen wie das abendliche Zähneputzen im Badezimmer zu imitieren, wurde ein Expositionszeitraum von nur 30 Minuten, beginnend eine Stunde vor der habituellen Bettgehzeit, mit einer gedämpften (engl.: Dimlight) und fünf weiteren Beleuchtungsbedingungen (siehe Anhang #3, S.2583, Tabelle 3) festgelegt. Die Lichtexposition fand im Labor statt, wo die Probanden sich nach einer einwöchigen Rhythmisierungsphase mit aktometrisch überprüften, regelmäßigen Schlafenszeiten während sechs Tagen jeweils von 19h bis 24h in ansonsten gedimmten Lichtverhältnissen aufhielten, während sie sonst ihren gewohnten Aktivitäten nachgingen. Zusätzlich zur Erhebung des physiologischen Parameters der Melatonin-Unterdrückung, maß ich mit visuellen Analogskalen die subjektive Einschätzung von Ruhe, Zufriedenheit und Wachheit, um die Verhaltensrelevanz der Wirkung auf den biologischen Parameter zu erkunden. In einer unveröffentlichten Pilotstudie mit sechs Mitgliedern der Arbeitsgruppe als Probanden führte ich das Design zunächst probeweise mit zwei unterschiedlichen Lampen durch und erhielt erwartungsgemäße Ergebnisse.

2.3. Datenerhebung und –verarbeitung

Im Folgenden werden die Erhebungsmethoden für die in den drei Studien verwendeten Variablen beschrieben. Das umfasst sowohl die Ein- und Ausschlussvariablen (siehe Abschnitt 2.1. und Anhang #0, Tabelle 1a, S.I) als auch die Zielvariablen, die in Tabelle 3 (Anhang #0, S. IV) für die drei Studien zusammengefasst werden. Eine Übersicht über die zu deren Auswertung angewendeten statistischen Methoden gibt Tabelle 4 (Anhang #0, S. IV).

2.3.1. Fragebögen

Der **Horne-Östberg-Morgentyp-Abendtyp-Fragebogen** (D-MEQ; [56]) zur Bestimmung des Chronotyps erfasst die subjektiven Präferenzen für Schlafenszeiten und circadiane Schwankungen anderer Verhaltensweisen und Befindlichkeiten. Er ist anhand der Rhythmen

von Körpertemperatur, Aktivität, Cortisol, Melatonin, Leistungsfähigkeit und Wachheit validiert und weist eine hohe Reliabilität auf [57]. Diesen Fragebogen zeichnet besonders aus, dass er circadiane Präferenzen nicht nur auf einer gegenwärtigen Ebene erfasst, sondern unter Einbeziehung der lebensgeschichtlichen Entwicklung, wodurch äußere Einflüsse der aktuellen Lebensphase abgeschwächt werden und eine Annäherung an den eher biologischen Chronotyp möglich wird. Die so bestimmten Chronotypen zeigen Unterschiede nicht nur in der Phase von behavioralen und physiologischen Rhythmen [56] [57], sondern auch in der circadianen Periodenlänge isolierter humaner Fibroblasten [17].

Der **Pittsburgh-Sleep-Quality-Index** (PSQI; [58]) ist ein validierter Fragebogen mit 18 Items zur retrospektiven Erfassung der subjektiven Schlafqualität, aus dem sich ein Globalwert und insgesamt 7 Skalenwerte berechnen lassen. Mit einem Cut-Off-Wert von <5 differenziert er bei hoher Sensitivität und Spezifität zwischen Gesunden und Patienten mit diagnostizierten Schlafstörungen, was ihn zu einem geeigneten Screening- Instrument macht. Neben dem Einsatz als Ausschlusskriterium (Studien #2 und #3) wird er in der vorliegenden Promotion auch als ein Zielparameter verwendet (Subskala „daytime dysfunction [dt.: Funktionseinschränkungen am Tag] in Studie #1).

Die **Clinical-Global-Impression-Scale** (CGI; [59]) ist ein valides Instrument zur allgemeinen Einschätzung des Schweregrads einer Erkrankung sowie deren Veränderung durch den Untersucher, jeweils in einer Skala von 1-7.

Bei den **Visuellen-Analog-Skalen** (VAS; [60]) zeigt der Proband durch einen Strich auf einer 10cm breiten Skala an, wo er sein Befinden zwischen einem gegensätzlichen Adjektivpaar (z.B. müde vs. wach) einschätzt. Mehrere Adjektivpaare können auf der Grundlage einer Faktorenanalyse den validierten Hauptmessgrößen Ruhe, Zufriedenheit und Wachheit zugeordnet werden, die sich zur Darstellung von Verläufen eignen.

2.3.2. Aktometrie

In allen drei Studien wurden Aktivitätsdaten zur Überprüfung der Einhaltung des Studienprotokolls im Sinne einer ausreichenden Schlafhygiene erhoben. Dies betraf sowohl die Zeiten, in denen die Probanden ihren gewohnten Aktivitäten nachgingen, als auch die Zeiten im Labor. Aktometer sind kleine, am nicht dominanten Handgelenk zu tragende Geräte in der Größe einer Armbanduhr. Sie erfassen über Piezoelemente Beschleunigung als Indikator für Bewegung während vordefinierter Zeiträume von 30 Sekunden bis zu 2 Minuten und speichern diese Werte über eine Zeit von Tagen bis Monaten. Anhand dieser Daten lässt sich das nächtliche

Schlaffenster valide bestimmen [61]. Zusätzlich wurden Schlaftagebuchdaten erhoben, in denen Zubettgeh-, Einschlaf-, Aufwach- und Aufstehzeit vermerkt waren.

2.3.2.1. Polysomnografie

Zur Erfassung der Polysomnographie wurden im Schlaflabor vor dem Zubettgehen Elektroden an Kopf, Gesicht und Beinen der Probanden befestigt, die kontinuierlich Hirnstromwellen (EEG: Elektroencephalogramm), Augenbewegungen (EOG: Elektrookulogramm) und Muskeltonus (EMG: Elektromyogramm) registrierten. Zusätzlich wurden in der REM-Melatonin-Studie (#1) Schnarchgeräusche, Bett-Aktometrie, Luftfluss durch Mund und Nase, thorakale Atmungsanstrengung sowie die mittels Rektalsonde erhobene Körperkerntemperatur kontinuierlich aufgezeichnet. Anhand von Form, Amplitude und Frequenz der Hirnstromwellen und ihrer Interaktion mit Muskeltonus und Augenbewegungen lässt sich der Schlaf nach definierten Kriterien [34] hinsichtlich der Verteilung der Schlafphasen und weiterer Parameter beschreiben, von denen einige vorwiegend homöostatisch (z.B. Tiefschlaf) und andere vorwiegend circadian (z.B. REM-Schlaf) gesteuert sind (siehe Abschnitt 1.1.3.). Diese Parameter weisen bei Schlafstörungen im Vergleich zu Gesunden spezifische Veränderungen auf, z.B. einen reduzierten REM-Schlafanteil. In der REM-Melatonin-Studie (#1) werden zusätzlich zu den herkömmlichen Parametern (Dauer und Latenzen der unterschiedlichen Schlafphasen, Schlaffeffizienz, etc.) als Indikatoren der circadianen Amplitude einige weitere Parameter berechnet: die Häufigkeit der Schlafphasenwechsel innerhalb des REM-Schlafs [Stageshifts in REM (SiR)] als Zeichen einer verminderten REM-Schlaf-Kontinuität und das Ausmaß des nächtlichen Körperkerntemperaturabfalls als Differenz zwischen dem Messwert 30 Minuten nach dem Einschlafzeitpunkt und dem Minimum.

2.3.3. Melatonin-Bestimmung

Als Quellen der Melatonin-Bestimmung stehen Plasma, Urin und Speichel zur Verfügung (siehe [62]). Die Messung **im Plasma** ist zwar sehr zuverlässig und erlaubt Messungen während des Schlafes, aber invasiv (Venenkatheter) und daher für die Probanden schwerer zu tolerieren. Die Ausschüttung von 6-Sulfatoxymelatonin (aMT6s) **im Urin** erzeugt verlässliche Werte zur Bestimmung der Tagesgesamtmenge von Melatonin aus der Epiphyse. Sie wurde im Rahmen der in dieser Promotion verwendeten Methode über 32 Stunden hinweg erhoben. In der REM-Melatonin-Studie (#1) und in der Melatonin-Normdaten-Studie (#2) erfolgte die Erhebung unter kontrollierten Bedingungen, während der Laboraufenthalte von jeweils zwei Nächten zur Polysomnografie, tagsüber gingen die Probanden ihren gewohnten Aktivitäten nach. Sie sammelten ihren Urin in fünf Behältern während fünf aufeinanderfolgenden Zeiträumen: 1)

23.00 bis 07.00; 2) 07.00 bis 11.00; 3) 11.00 bis 18.00; 4) 18.00 bis 23.00; und 5) 23.00 bis 07.00 und dokumentierten die genaue Dauer der Sammelphasen. Dann wurde die Urinmenge je Behälter gemessen und eine Probe je Behälter extrahiert, bei der unter Anwendung der Enzymimmunoassay-Methode (ELISA) die Konzentration des Melatonin-Abbauproduktes 6-Sulfatoxymelatonin in Nanogramm pro Milliliter (ng/ml) bestimmt wurde. Aus diesen Werten wurde der Stundenwert berechnet.

$$\text{Stundenwert aMT6s (ng/h)} = \text{Probenwert aMT6s } \left(\frac{\text{ng}}{\text{ml}}\right) \times \frac{\text{Gesamtmenge Behälter (ml)}}{\text{Dauer Sammelphase (h)}}$$

Wegen der höheren Relevanz des Nachtzeitraums wurde dieser doppelt erhoben, um durch Mittelwertbildung mögliche Artefakte zu reduzieren. So erhält man vier Stundenwerte: Nacht, Morgen, Tag und Abend, die zu einem 24-Stunden-Wert (in Mikrogramm μg) summiert werden und aus denen das Tag-Nacht-Verhältnis berechnet wird. Die derart vorgenommene Messung im Urin kann circadiane Verlaufsprofile nur sehr grob darstellen und ist zur Erhebung akuter Wirkungen z.B. von Licht und damit auch für die Anwendung in Studie #3 ungeeignet.

Die Messung von Melatonin-Konzentrationen **im Speichel** mithilfe von Radioimmunoassays ist einfach, weil sie wenig invasiv ist und die Speichelsammlung bei gedämpftem Licht mithilfe von Salivetten (kleine Zellstoffzylinder, die für eine Minute im Mund belassen werden und sich dort mit Speichel vollsaugen) von den Probanden selbständig durchgeführt werden kann. Sie weist eine zufriedenstellende Reliabilität und Validität bezogen auf die Messung im Blut auf. Die im Plasma gemessenen Werte sind ca. dreimal so hoch wie die im Speichel [63]. Bei ausreichend häufig entnommenen Proben (mind. alle 30 min) ist diese Methode geeignet, einerseits den Beginn der abendlichen Melatonin-Ausschüttung bei gedämpften Licht (DLMO Dim Light Melatonin Onset) und damit einen Marker für die Phasenlage, sowie andererseits die akute Wirkung von Licht auf den Verlauf der Melatonin-Ausschüttung zu erfassen. Damit war sie die Methode der Wahl für die Licht-am-Abend-Studie (#3).

2.3.4. Beleuchtungsmessung

Die bekannteste und auch auf Lichtquellen im Handel angegebene Messgröße ist die von der photopischen V-Lambda-Kurve (empirisch ermittelte spektrale Hell-Empfindlichkeit des menschlichen Auges bei Tageslicht) abgeleitete Beleuchtungsstärke mit der Masseinheit Lux (lx = Lumen pro Quadratmeter; [64]). Gängige, wenn auch grobe, Hinweise auf die spektrale Verteilung geben zudem die Zusatzbezeichnungen „warmweiß“ oder „kaltweiß“, detaillierter formuliert in der Farbtemperatur (Kelvin K), die den Farbeindruck einer Lichtquelle als

Lichtfarbe beschreibt, die von einem erhitzten schwarzen Körper bei dieser spezifischen Temperatur ausgeht. Diese Maße lassen sich ableiten aus der Verteilung der Bestrahlungsstärke [engl.: irradiance, gemessen in Watt pro Quadratmeter (W/m^2)], d.h. der auf einer bestimmten Fläche pro Zeiteinheit auftreffenden Energie und deren Verteilung über die Frequenzbereiche im Farbspektrum. Deren Messung erfolgt mittels eines Spektroradiometers in vertikaler Blickrichtung und auf Augenhöhe der Probanden, um eine möglichst gute Wiedergabe des tatsächlich am Auge auftreffenden Lichts zu erhalten.

3. Ergebnisse

3.1. REM-Melatonin-Studie (#1)

Zwei von den ursprünglich 16 rekrutierten Patienten mit unterschiedlichen Schlafstörungen und einem REM-Schlafanteil von mindestens 25% unter dem Normwert mussten ausgeschlossen werden, weil sie die regelmäßigen Schlafenszeiten nicht eingehalten und/oder die Studienmedikation nicht zum vereinbarten Zeitpunkt eingenommen hatten. Während die Einschlaflatenz sich als einziger Parameter unter Placebo im Vergleich zur Baseline signifikant verkürzte (*Mittelwert [M] = 29.2min / Standardabweichung [SD] = 16.2min vs. M=19min / SD=10.6min* [siehe im Anhang: #1, S. 131, Tabelle 1]), gab es bezüglich des prozentualen Anteils an REM Schlaf (REM%) an der Gesamtschlafzeit eine deutliche Verbesserung unter Melatonin, die signifikant höher war als die Placebo-Wirkung. Das galt sowohl im Vergleich zwischen beiden Gruppen (*Differenz Placebo M=12.0% / SD=2.9% – Baseline M=14.3% / SD=2.7% in Placebo-zuerst-Gruppe vs. Differenz Melatonin M=17.8% / SD=5.1% – Baseline M=14.7% / SD=3.7% in Melatonin-zuerst-Gruppe; $p < 0.01$*) als auch innerhalb der Placebo-zuerst-Gruppe (*Melatonin M=17.9% / SD=4.9% vs. Placebo M=12.0% / SD=2.9%; $p < 0.01$*). Außerdem gab es einen nachhaltigen, den Zeitraum der Melatonin-Einnahme überdauernden Effekt: REM% war unter Placebo in der Melatonin-zuerst-Gruppe signifikant höher als unter Placebo in der Placebo-zuerst-Gruppe (*M=16.2% / SD=3.3% vs. M=12.0% / SD=2.9%; $p < 0.05$*). Auch die Kontinuität des REM-Schlafs (SiR; siehe Abschnitt 2.3.6.1.) und das Ausmaß des nächtlichen Temperaturabfalls sind nach vier Wochen Melatonin in beiden Behandlungsgruppen signifikant höher; die PSQI-Subskala „daytime dysfunction“, die klinische Beurteilung des Schweregrades der Symptomatik und deren Veränderung laut CGI signifikant niedriger. Auch bei diesen Parametern gibt es keine Veränderungen unter Placebo-Einnahme bei

Placebo-zuerst, aber zusätzlich zur direkten Wirksamkeit einen den Zeitraum der Melatonin-Einnahme um vier Wochen überdauernden Effekt.

3.2. Melatonin-Normdaten-Studie (#2)

Ergebnis ist eine Normtabelle von 75 gesunden Probanden zwischen 20 und 84 Jahren, in der die gemessenen Mittelwerte, Standardabweichungen und Spannweiten der Melatonin-Ausschüttung über 24-Stunden, in der Nacht (23-7h), in den Morgenstunden (7-11h), am Tag (11-18h) und in den Abendstunden (18-23h), sowie der Tag-Nacht Quotient für jeweils vier Altersgruppen (20-35, 36-50, 51-65, >65) angegeben werden (siehe Anhang #2, S. 637, Tabellen 1 und 2 und S. 638, Abbildung 1). Bei der Melatonin-Ausschüttung gab es in der Varianzanalyse (*One-Way-ANOVA*) über die vier Altersgruppen signifikante Alterseffekte, die sich auch in allen Einzelvergleichen zwischen nicht aneinander angrenzenden Altersgruppen zeigten. Zudem korrelierte (*Spearman*) das Alter signifikant mit der Melatonin-Menge über 24-Stunden ($F=6.9$; $r=0.68$; $p<0.001$), in der Nacht ($F=16.8$; $r=0.69$; $p<0.001$), und beim Tag-Nacht-Quotienten ($F=16.8$, $r=0.51$; $p<0.001$) in Richtung einer abnehmenden Melatonin-Menge bei zunehmendem Alter. Bemerkenswert ist die extrem hohe, bis zu 20-fache Variabilität in den Werten der 24h- und der nächtlichen Melatonin-Ausschüttung.

3.3. Licht-am Abend- Studie (#3)

In den über die 9 Probanden gemittelten Daten zeigen bei grafischer Exploration alle Beleuchtungsbedingungen mit Blauanteil einen Abfall der Melatonin-Konzentration spätestens 20 Minuten nach dem Beginn der Lichtexposition. Bei Dimlight und bei der gelben Badezimmerbeleuchtung ohne Blauanteil gibt es einen solchen Abfall nicht (siehe Anhang #3, S.2577, Tabelle 1 und S.2578, Abbildung 2 zur Darstellung der gemittelten Melatonin-Konzentrationen sowie S. 2583, Tabelle 3 für eine Übersicht über die Beleuchtungsbedingungen). Die Vergleiche der Flächen unter der Melatonin-Kurve (engl.: area under the curve AUC) zwischen den Beleuchtungsbedingungen wurden jeweils für die Zeiträume 30 Minuten vor, während und nach der Lichtexposition durchgeführt. Aufgrund fehlender Werte bei einzelnen Bedingungen, die durch zu wenig Speichel in den Proben verursacht waren, konnten sie nur mit 6 der ursprünglich 9 Probanden durchgeführt werden. Es zeigten sich insgesamt signifikant unterschiedliche Melatonin-Konzentrationen bei den verschiedenen Beleuchtungsbedingungen während (*Friedmann's ANOVA*: $\chi^2=15.5$, $p<0.01$) und nach ($\chi^2=18.1$, $p<0.01$) der Lichtexposition, erwartungsgemäß jedoch nicht davor ($\chi^2=9.0$, nicht signifikant). In den Einzelvergleichen (*Post-Hoc-Wilcoxon-Tests*) zur Dimlight Lichtsituation

zeigten sich keine Unterschiede der Melatonin-Konzentration zur gelben Badezimmerbeleuchtung, jedoch eine signifikant reduzierte Melatonin-Konzentration während und nach der Lichtexposition bei drei Beleuchtungen mit unterschiedlichem Blauanteil. Eine weitere Beleuchtungsbedingung mit Blauanteil und relativ hoher Intensität (tageslicht-weiße Büroleuchte) zeigte erst nach der Lichtexposition signifikant niedrigere Melatonin-Konzentrationen (siehe Anhang #3, S.2579, Abbildung 3). Bei den visuellen Analogskalen zeigte nur (*Wilcoxon-Test*, $N = 9$) die Skala der subjektiven Wachheit eine signifikant höhere Ausprägung bei drei von vier Beleuchtungsbedingungen mit Blauanteil im Vergleich zu Dimlight (siehe Anhang #3, S.2579, Abbildung 4).

3. Diskussion

Die Ergebnisse der hier vorgestellten drei Studien zeigen, dass

- a) exogenes Melatonin stabilisierend auf circadiane Parameter wirkte, in Form einer Erhöhung des REM-Schlafanteils, der REM-Kontinuität und des Ausmaßes des Temperaturabfalls; und dass diese Wirkung auch von klinischer Relevanz war, da das exogene Melatonin die „daytime dysfunction“ und die „Clinical Global Impression“ bei verschiedenen Schlafstörungen reduzierte. Diese Effekte überdauerten die aktuelle Einnahme um vier Wochen.
- b) endogenes Melatonin bei gesunden Probanden mit bis zu 20-fachen inter-individuellen Unterschieden ausgeschüttet wurde und seine Konzentration mit dem Alter abnimmt.
- c) Licht am Abend bereits während 30 Minuten zur Melatonin-Unterdrückung führt, wenn die Beleuchtung einen Blauanteil enthält, nicht aber, wenn sie keinen Blauanteil im Spektrum hat. Und bei fast allen Beleuchtungsbedingungen mit Blauanteil zeigte sich ein gesteigertes subjektives Empfinden von Wachheit.

Eine Einschränkung der Behandlungsstudie (#1) stellt die geringe Stichprobengröße dar. Eine Replikation an einer größeren Stichprobe wäre wünschenswert. Das Patientenkollektiv ist bezüglich der zugrundeliegenden Schlafstörungen heterogen, was die deutlichen Ergebnisse umso bemerkenswerter macht. Sie sprechen für das Defizit im vorwiegend circadian regulierten REM-Schlaf als gemeinsames Moment dieser unterschiedlichen Schlafstörungen, da die Intervention sich sowohl normalisierend auf REM-Schlafanteil und -kontinuität als auch auf die subjektive Einschätzung der Tagesmüdigkeit durch die Patienten und den klinischen Eindruck des Untersuchers auswirken. Die Ergebnisse bestätigen frühere Befunde in offenen Behandlungsstudien und Fallbeobachtungen [44, 45]. Eine spätere kontrollierte Studie an einem

Kollektiv von Patienten mit REM-Schlaf-Verhaltensstörung ergab ebenfalls einen Einfluss von Melatonin auf den REM-Schlaf in Richtung einer Wiederherstellung der Muskelatonie und dessen die Einnahmezeit überdauernden Effekt [65]. Die Ergebnisse weiterer Behandlungsstudien mit Melatonin sind widersprüchlich (siehe [66, 67]). Eine aktuelle Metaanalyse zeigt zwar insgesamt positive, aber gegenüber anderen pharmakologischen Behandlungen geringe Effekte von Melatonin auf Einschlaf latenz, Schlafdauer und Schlafqualität [68]. Diese abweichenden Ergebnisse lassen sich zum Teil auf die Anwendung klassischer Cross-Over-Designs zurückführen; denn wenn das Placebo nach dem Melatonin gegeben wird und dann die Placebo-Effekte mit den Melatonin-Effekten verglichen werden, führt die hier gezeigte Einnahme überdauernde Wirkung des Melatonins zu einer Unterschätzung der Behandlungseffekte. Außerdem sind die Zielparameter häufig nicht vorwiegend circadian gesteuert und der Einnahmezeitpunkt des Melatonins variiert, was sich phasenverschiebend und amplitudenreduzierend und damit den Behandlungszielen zuwiderlaufend auswirken kann (siehe [69]). Melatonin (Circadin[®]) in Europa für Patienten ab 55 Jahren und der Melatonin-Rezeptor-Agonist Ramelteon (Rozerem[®]) in den USA sind inzwischen zur Behandlung von Schlafstörungen zugelassen [70, 71].

Wenn exogenes Melatonin auf gestörte circadiane Abläufe im Schlaf stabilisierend wirkt, könnten dann nicht diese Störungen durch ein endogenes Melatonin-Defizit verursacht sein (siehe auch Abschnitt 1.2)? Wie ließe sich dieses Defizit definieren und erklären? In der Melatonin-Normdatenstudie (#2) zeigte sich bei gesunden Probanden im naturalistischen Setting trotz der ausgeprägten interindividuellen Schwankungen in der Konzentration des ausgeschütteten Melatonin-Metaboliten im Urin deren deutlicher und annähernd kontinuierlicher Rückgang mit dem Alter. Das korrespondiert bis auf wenige Ausnahmen [48] mit den Ergebnissen von weiteren Studien zu diesem Thema [35, 72]. Ein Zusammenhang zwischen den absoluten ausgeschütteten Melatonin-Mengen und verschiedenen Diagnosegruppen ist bisher sicher auch aufgrund der großen Grundvarianz nicht nachweisbar [73, 74]. Die festgestellte sehr hohe interindividuelle Variabilität in der Melatonin-Konzentration entspricht einer ähnlich hohen Variabilität in der Größe der Epiphyse. Deren Größe und die Melatonin-Konzentration im Urin stehen in einem korrelativen Zusammenhang, der sich bei Abzug der verkalkten Epiphysen-Fläche noch steigern lässt ($r = 0.493$; $p < .005$ vs. $r = 0.672$; $p < .001$ [47]) [75], und sind vermutlich beide weitgehend genetisch determiniert [76]. Möglicherweise lässt sich ein Melatonin-Defizit nicht in Form der absoluten Menge des ausgeschütteten Melatonins erfassen, sondern in der Verminderung der Melatonin-Konzentration im Vergleich zu einem genetisch determinierten individuellen Ausgangspunkt. Der Grad der Verkalkung der Epiphyse könnte ein

solches Maß darstellen. Er korreliert positiv mit subjektiven Maßen eines gestörten Schlafes und der Tagesmüdigkeit [46] und negativ mit der saisonalen Variabilität des Schlafbedürfnisses [77], was man beides als klinische Folgen gestörter circadianer Rhythmen interpretieren könnte. Zudem erweist er sich gegenüber den absoluten Mengen von Melatonin-Metaboliten im Urin als überlegen in der Vorhersage von polysomnographischen Schlafparametern bei Insomniepatienten [78]. Diesen ersten Befunden zufolge ist der Grad der Epiphysen-Verkalkung ein geeigneter Marker für ein endogenes Melatonin-Defizit, nicht jedoch die absolute Menge des ausgeschütteten 6-Sulfatoxymelatonin im Urin.

Die Licht-am-Abend-Studie (#3) hat eine sehr kleine Stichprobengröße und die Auswahl der Lampen erfolgte nicht systematisch anhand von deren lichttechnischen Eigenschaften, sondern pragmatisch, um eine Übersicht über Lampen des alltäglichen Gebrauchs zu gewähren. Somit sind die Ergebnisse nur eingeschränkt generalisierbar und sollten an größeren Stichproben und mit systematisch variierten Lampen repliziert werden. Eine weitere Einschränkung stellt die direkte Aufeinanderfolge der Interventionstage dar, die phasenverschiebende Reihungseffekte produzieren könnte. Dies kann jedoch weitgehend ausgeschlossen werden, weil die Melatonin-Konzentrationen vor der Lichtexposition sich nicht signifikant unterscheiden. Dennoch sollten in zukünftigen Studien Erholungstage eingeführt werden, um diese mögliche Fehlerquelle auszuschließen. Santhi et al. [55] kommen in einer fast zeitgleich veröffentlichten Studie mit allerdings deutlich länger andauernder Lichtexposition (4 Stunden) am Abend an einer größeren Stichprobe (N=22) zu ähnlichen Ergebnissen und zeigen zusätzlich eine verlängerte Einschlaf latenz nach Licht mit höherem Blauanteil. Eine weitere Studie an 116 Probanden zeigte einen Melatonin unterdrückenden und die Dauer der Melatonin-Ausschüttung verkürzenden Effekt bei einer noch längeren Exposition von 8 Stunden Dauer mit moderatem Raumlicht (>200lux) im Vergleich zu gedämpftem Licht (>3lux) [79]. Die aktuelle Studie erweitert diese Befunde um die akute Wirkung herkömmlicher Beleuchtung auch nach einer so kurzen Expositionszeit (30min) und unter naturalistischen Bedingungen. Zusammengefasst mit den Befunden zu Zusammenhängen zwischen Licht, Melatonin und verschiedenen Erkrankungen (siehe Abschnitt 1.1.2.) unterstützen diese Ergebnisse die Vermutung, dass bereits herkömmliche zivilisatorische Lichteinflüsse einen unter anderem über ein Melatonin-Defizit vermittelten gesundheitsschädlichen Faktor darstellen könnten. Das Ausbleiben einer Melatonin-Unterdrückung bei der Lampe ohne Blauanteil eröffnet die Möglichkeit einer präventiven Intervention gegen diese unerwünschten Lichtwirkungen: durch Verminderung des Blauanteils bei am Abend und bei Nacht verwendeten Lampen könnte die im privaten und beruflichen Alltag unserer modernen Gesellschaft unvermeidliche Erfüllung der Sehauflagen gewährleistet bleiben.

Um die Effekte einer solchen Intervention zu prüfen, sind prospektive Langzeitstudien mit veränderten Lichtumgebungen im naturalistischen Setting notwendig.

Zusammenfassend kann aus diesen Ergebnissen der Schluss gezogen werden, dass die Melatonin-Produktion nicht nur durch Alterungs- und degenerative Prozesse beeinträchtigt wird, sondern auch durch Desynchronisation des circadianen Systems, die durch widersprüchliche interne und externe Zeitgeber verursacht wird. Die überdauernden Effekte des exogenen Melatonins in Verbindung mit der Möglichkeit der Beeinflussung des circadianen Systems durch eine Veränderung der Lichtumgebung lassen die Frage aufwerfen, ob über die akute externe Taktung mit Melatonin oder Licht hinaus eine langfristige Restauration oder Verlangsamung des Einflusses alters- und erkrankungsbedingter degenerativer Prozesse im circadianen System möglich wäre.

Literaturverzeichnis

1. Borbely, A.A., *A two process model of sleep regulation*. Hum Neurobiol, 1982. **1**(3): p. 195-204.
2. Hut, R.A. and D.G. Beersma, *Evolution of time-keeping mechanisms: early emergence and adaptation to photoperiod*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2011. **366**(1574): p. 2141-54.
3. Wehr, T.A., *Melatonin and seasonal rhythms*. J Biol Rhythms, 1997. **12**(6): p. 518-27.
4. Butler, M.P., K.W. Turner, and I. Zucker, *A melatonin-independent seasonal timer induces neuroendocrine refractoriness to short day lengths*. J Biol Rhythms, 2008. **23**(3): p. 242-51.
5. Moore, R.Y., *Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus*. Fed Proc, 1983. **42**(11): p. 2783-9.
6. Aschoff, J., *Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik*. Naturwissenschaften, 1954. **41**(3): p. 49-56.
7. Duffy, J.F. and K.P. Wright, Jr., *Entrainment of the human circadian system by light*. J Biol Rhythms, 2005. **20**(4): p. 326-38.
8. Mistlberger, R.E. and D.J. Skene, *Nonphotic entrainment in humans?* J Biol Rhythms, 2005. **20**(4): p. 339-52.
9. Foster, R.G., *Neurobiology: bright blue times*. Nature, 2005. **433**(7027): p. 698-9.
10. Altimus, C.M., et al., *Rod photoreceptors drive circadian photoentrainment across a wide range of light intensities*. Nat Neurosci, 2010. **13**(9): p. 1107-12.
11. Buhr, E.D. and J.S. Takahashi, *Molecular components of the Mammalian circadian clock*. Handb Exp Pharmacol, 2013(217): p. 3-27.
12. Reiter, R.J., et al., *The photoperiod, circadian regulation and chronodisruption: the requisite interplay between the suprachiasmatic nuclei and the pineal and gut melatonin*. J Physiol Pharmacol, 2011. **62**(3): p. 269-74.
13. Hardeland, R., et al., *Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling*. J Pineal Res, 2011. **52**(2): p. 139-66.

14. Dubocovich, M.L. and M. Markowska, *Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals*. *Endocrine*, 2005. **27**(2): p. 101-10.
15. Roenneberg, T., A. Wirz-Justice, and M. Mewes, *Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes*. *J Biol Rhythms*, 2003. **18**(1): p. 80-90.
16. Pandi-Perumal, S.R., et al., *Dim light melatonin onset (DLMO): a tool for the analysis of circadian phase in human sleep and chronobiological disorders*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2007. **31**(1): p. 1-11.
17. Brown, S.A., et al., *Molecular insights into human daily behavior*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(5): p. 1602-7.
18. Van Cauter, E., *Method for characterization of 24-h temporal variation of blood components*. *Am J Physiol*, 1979. **237**(3): p. E255-64.
19. Gronfier, C., et al., *Entrainment of the human circadian pacemaker to longer-than-24-h days*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(21): p. 9081-6.
20. Aschoff, J., *Circadian Rhythms in Man*. *Science*, 1965. **148**(3676): p. 1427-32.
21. Wever, R.A., *Light effects on human circadian rhythms: a review of recent Andechs experiments*. *J Biol Rhythms*, 1989. **4**(2): p. 161-85.
22. Czeisler, C.A., et al., *Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker*. *Science*, 1999. **284**(5423): p. 2177-81.
23. Waterhouse, J., et al., *Jet lag: trends and coping strategies*. *Lancet*, 2007. **369**(9567): p. 1117-29.
24. Lahti, T.A., et al., *Transition to daylight saving time reduces sleep duration plus sleep efficiency of the deprived sleep*. *Neurosci Lett*, 2006. **406**(3): p. 174-7.
25. Arendt, J., *Shift work: coping with the biological clock*. *Occup Med (Lond)*, 2010. **60**(1): p. 10-20.
26. Stevens, R.G., et al., *Adverse health effects of nighttime lighting: comments on american medical association policy statement*. *Am J Prev Med*, 2013. **45**(3): p. 343-6.
27. Blask, D.E., et al., *Melatonin-depleted blood from premenopausal women exposed to light at night stimulates growth of human breast cancer xenografts in nude rats*. *Cancer Res*, 2005. **65**(23): p. 11174-84.
28. Staiger, H., et al., *Polymorphisms within the novel type 2 diabetes risk locus MTNR1B determine beta-cell function*. *PLoS One*, 2008. **3**(12): p. e3962.
29. Terracciano, A., et al., *Genome-wide association scan of trait depression*. *Biol Psychiatry*, 2010. **68**(9): p. 811-7.
30. Rajaratnam, S.M. and J. Arendt, *Health in a 24-h society*. *Lancet*, 2001. **358**(9286): p. 999-1005.
31. Cajochen, C., et al., *Evening exposure to a light-emitting diodes (LED)-backlit computer screen affects circadian physiology and cognitive performance*. *J Appl Physiol (1985)*. **110**(5): p. 1432-8.
32. Lewy, A.J. and D.A. Newsome, *Different types of melatonin circadian secretory rhythms in some blind subjects*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1983. **56**(6): p. 1103-7.
33. Leger, D., et al., *Prevalence of sleep/wake disorders in persons with blindness*. *Clin Sci (Lond)*, 1999. **97**(2): p. 193-9.
34. Rechtschaffen, A.K., A. , *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects*. 1968, Los Angeles, CA: University of California, Brain Information Service/Brain Research Institute.
35. Hardeland, R., *Neurobiology, pathophysiology, and treatment of melatonin deficiency and dysfunction*. *ScientificWorldJournal*, 2012. **2012**: p. 640389.
36. Reppert, S.M. and D.R. Weaver, *Melatonin madness*. *Cell*, 1995. **83**(7): p. 1059-62.
37. Hardeland, R., *Melatonin and the theories of aging: a critical appraisal of melatonin's role in antiaging mechanisms*. *J Pineal Res*, 2013. **55**(4): p. 325-56.

38. Cajochen, C., K. Krauchi, and A. Wirz-Justice, *Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep*. J Neuroendocrinol, 2003. **15**(4): p. 432-7.
39. Aschoff, J., E. Poppel, and R. Wever, [*Circadian rhythms in men under the influence of light-dark cycles of various periods*]. Pflugers Arch, 1969. **306**(1): p. 58-70.
40. Dahlitz, M., et al., *Delayed sleep phase syndrome response to melatonin*. Lancet, 1991. **337**(8750): p. 1121-4.
41. Herxheimer, A. and K.J. Petrie, *Melatonin for preventing and treating jet lag*. Cochrane Database Syst Rev, 2001(1): p. CD001520.
42. Sack, R.L., et al., *Entrainment of free-running circadian rhythms by melatonin in blind people*. N Engl J Med, 2000. **343**(15): p. 1070-7.
43. Dawson, D. and S.M. Armstrong, *Chronobiotics--drugs that shift rhythms*. Pharmacol Ther, 1996. **69**(1): p. 15-36.
44. Kunz, D. and F. Bes, *Melatonin as a therapy in REM sleep behavior disorder patients: an open-labeled pilot study on the possible influence of melatonin on REM-sleep regulation*. Mov Disord, 1999. **14**(3): p. 507-11.
45. Kunz, D. and F. Bes, *Exogenous melatonin in periodic limb movement disorder: an open clinical trial and a hypothesis*. Sleep, 2001. **24**(2): p. 183-7.
46. Kunz, D., et al., *On pineal calcification and its relation to subjective sleep perception: a hypothesis-driven pilot study*. Psychiatry Res, 1998. **82**(3): p. 187-91.
47. Kunz, D., et al., *A new concept for melatonin deficit: on pineal calcification and melatonin excretion*. Neuropsychopharmacology, 1999. **21**(6): p. 765-72.
48. Zeitzer, J.M., et al., *Do plasma melatonin concentrations decline with age?* Am J Med, 1999. **107**(5): p. 432-6.
49. Zhdanova, I.V., *Melatonin as a hypnotic: pro*. Sleep Med Rev, 2005. **9**(1): p. 51-65.
50. Redman, J., S. Armstrong, and K.T. Ng, *Free-running activity rhythms in the rat: entrainment by melatonin*. Science, 1983. **219**(4588): p. 1089-91.
51. Wittmann, M., et al., *Social jetlag: misalignment of biological and social time*. Chronobiol Int, 2006. **23**(1-2): p. 497-509.
52. Sack, R.L., et al., *Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders. An American Academy of Sleep Medicine review*. Sleep, 2007. **30**(11): p. 1460-83.
53. Srinivasan, V., et al., *Melatonin and melatonergic drugs on sleep: possible mechanisms of action*. Int J Neurosci, 2009. **119**(6): p. 821-46.
54. Benloucif, S., et al., *Stability of melatonin and temperature as circadian phase markers and their relation to sleep times in humans*. J Biol Rhythms, 2005. **20**(2): p. 178-88.
55. Santhi, N., et al., *The spectral composition of evening light and individual differences in the suppression of melatonin and delay of sleep in humans*. J Pineal Res, 2012. **53**(1): p. 47-59.
56. Horne, J.A. and O. Ostberg, *A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms*. Int J Chronobiol, 1976. **4**(2): p. 97-110.
57. Di Milia, L., et al., *Reviewing the psychometric properties of contemporary circadian typology measures*. Chronobiol Int. **30**(10): p. 1261-71.
58. Buysse, D.J., et al., *The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research*. Psychiatry Res, 1989. **28**(2): p. 193-213.
59. Guy, W., *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology —Revised (DHEW Publ No ADM 76-338)*. 1976, Rockville, MD, U.S.: Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Alcohol, Drug Abuse, and Mental Health Administration, NIMH Psychopharmacology Research Branch, Division of Extramural Research Programs.

60. Bond, A., Lader, M., *The use of analogue scales in rating subjective feelings*. Br J med Psychol 1974. **47**: p. 211-218.
61. Ancoli-Israel, S., et al., *The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms*. Sleep, 2003. **26**(3): p. 342-92.
62. Benloucif, S., et al., *Measuring melatonin in humans*. J Clin Sleep Med, 2008. **4**(1): p. 66-9.
63. Voultsios, A., D.J. Kennaway, and D. Dawson, *Salivary melatonin as a circadian phase marker: validation and comparison to plasma melatonin*. J Biol Rhythms, 1997. **12**(5): p. 457-66.
64. Physikalisch Technische Bundesanstalt (PTB), A.O. *Definition und Realisierung photometrischer Einheiten*. 2010 [cited 2014 11.1.2014]; Available from: <http://www.ptb.de/cms/fachabteilungen/abt4/fb-41/ag-412/definition-photometrischer-einheiten.html>.
65. Kunz, D. and R. Mahlberg, *A two-part, double-blind, placebo-controlled trial of exogenous melatonin in REM sleep behaviour disorder*. J Sleep Res, 2010. **19**(4): p. 591-6.
66. Brzezinski, A., et al., *Effects of exogenous melatonin on sleep: a meta-analysis*. Sleep Med Rev, 2005. **9**(1): p. 41-50.
67. Buscemi, N., et al., *Efficacy and safety of exogenous melatonin for secondary sleep disorders and sleep disorders accompanying sleep restriction: meta-analysis*. BMJ, 2006. **332**(7538): p. 385-93.
68. Ferracioli-Oda, E., A. Qawasmi, and M.H. Bloch, *Meta-analysis: melatonin for the treatment of primary sleep disorders*. PLoS One, 2013. **8**(5): p. e63773.
69. Kunz, D., *Chronobiotic protocol and circadian sleep propensity index: new tools for clinical routine and research on melatonin and sleep*. Pharmacopsychiatry, 2004. **37**(4): p. 139-46.
70. Lyseng-Williamson, K.A., *Melatonin prolonged release: in the treatment of insomnia in patients aged ≥ 55 years*. Drugs Aging, 2012. **29**(11): p. 911-23.
71. Liu, J. and L.N. Wang, *Ramelteon in the treatment of chronic insomnia: systematic review and meta-analysis*. Int J Clin Pract, 2012. **66**(9): p. 867-73.
72. Munch, M., et al., *Age-related attenuation of the evening circadian arousal signal in humans*. Neurobiol Aging, 2005. **26**(9): p. 1307-19.
73. Mahlberg, R. and D. Kunz, *Melatonin excretion levels and polysomnographic sleep parameters in healthy subjects and patients with sleep-related disturbances*. Sleep Med, 2007. **8**(5): p. 512-6.
74. Karasek, M., *Melatonin, human aging, and age-related diseases*. Exp Gerontol, 2004. **39**(11-12): p. 1723-9.
75. Liebrich, L.S., et al., *Morphology and function: MR pineal volume and melatonin level in human saliva are correlated*. J Magn Reson Imaging, 2013.
76. Burgess, H.J. and L.F. Fogg, *Individual differences in the amount and timing of salivary melatonin secretion*. PLoS One, 2008. **3**(8): p. e3055.
77. Kunz, D., et al., *Pineal Calcification is related to seasonality in humans*. Sleep, 2001. **24**(Abstract Suppl.): p. A116-A117.
78. Mahlberg, R., et al., *Degree of pineal calcification (DOC) is associated with polysomnographic sleep measures in primary insomnia patients*. Sleep Med, 2009. **10**(4): p. 439-45.
79. Gooley, J.J., et al., *Exposure to room light before bedtime suppresses melatonin onset and shortens melatonin duration in humans*. J Clin Endocrinol Metab, 2011. **96**(3): p. E463-72.

Anhang #0

Tabelle 1a. Probanden: Ein- und Ausschlusskriterien.....	I
Tabelle 1b: Probanden: Stichprobe.....	II
Tabelle 2. Studiendesigns.....	III
Tabelle 3. Zielvariablen.....	IV
Tabelle 4. Statistische Methoden.....	IV
Eidesstattliche Versicherung mit Anteilserklärung.....	V

Tabelle 1a. Probanden: Ein- und Ausschlusskriterien

	Studie #1 REM-Melatonin	Studie #2 Melatonin-Normdaten	Studie #3 Licht am Abend
Rekrutierung			
	Aufeinander folgende Patienten der Ambulanz eines neurologisch-psychiatrischen Schlaflabors	Gesunde Probanden aus Berlin	
Einschlußkriterien			
Einwilligung	Informed Consent (schriftlich)		
	Reduzierter REM- Schlafanteil $\leq 25\%$		
Ausschlußkriterien			
Alter	<18 oder >80		<18 oder >35
Schlechte Schlafhygiene	1) Variation der Bettgehzeiten > 2 Std. während 14 Tagen Rekrutierungsphase laut Aktometrie und /oder Schlaftagebuch 2) reguläre Bettgehzeiten außerhalb 22-24 Uhr 3) Im Studienverlauf Bettgehzeiten außerhalb 22-24Uhr > 3 Nächte oder einmalig während Polysomnografie	Bettgehzeiten außerhalb 22-24 Uhr a) während 7 Tagen Aktometrie vor Studienbeginn b) laut PSQI (Item 1)	Mehr als 1 Std. Abweichung von der habituellen Bettgehzeit laut PSQI (Item 1), Bettgehzeiten außerhalb 22-1Uhr a) während 7 Tagen Aktometrie vor Studienbeginn b) laut PSQI (Item 1)
Extreme Chronotypen	Laut D-MEQ		
Schichtarbeit	Aktuell oder innerhalb des letzten Jahres		
Transmeridiane Flüge	Innerhalb der letzten 4 Wochen		
Krankheiten	Psychiatrische Erkrankungen nach Diagnostic and Statistic Manual of Mental Disorders-IV außer remittierte affektive Störungen	Neurologische, psychiatrische oder somatische Erkrankungen laut klinischem und psychiatrischen Interview, körperlicher Untersuchung	
	Pathologische Befunde in der Computertomografie des Gehirns	Schlechte Schlafqualität laut PSQI (Gesamtscore <5)	
Schwangerschaft	Aktuell		
Drogen	Positiver Befund bei Screening im Urin		
Medikamente	Veränderungen innerhalb der letzten 4 Wochen, mit Melatonin-Produktion oder REM-Schlaf interagierende Medikamente	Irgendwelche Medikamente innerhalb der letzten 4 Wochen	
Kaffee und Zigaretten	Instruktion: nicht mehr als habituelle Menge		
Alkohol	Alkoholmissbrauch	Instruktion: Abstinenz	Alkoholmissbrauch Instruktion: Abstinenz in Interventionsphase

Tabelle 1b. Probanden: Stichprobe

	Studie #1 REM-Melatonin	Studie #2 Melatonin-Normdaten	Studie #3 Licht am Abend
Anzahl (N)	16	75	9
Geschlecht	6 Frauen, 10 Männer	45 Frauen, 30 Männer	3 Frauen, 6 Männer
Alter (Jahre)	Durchschnitt:48	Durchschnitt: 47,2; Standardabweichung: 19,5; Spanne: 20-84	Durchschnitt: 26,3; Standardabweichung: 4,2
Ausschlüsse	2 wegen schlechter Schlafhygiene und /oder mangelnder Compliance		
Diagnosen	Idiopathische Insomnie (5); Restless Legs (4); Periodische Beinbewegungen (7); REM-Schlaf- Verhaltensstörung (6); Narkolepsie (2)		

Tabelle 2. Studiendesigns

Studie	Ein-gangs- unter- suchung	Rhyth- misie- rungs- phase	Interventionsphase						
#1 REM- Mela- tonin	PSG 1, D-MEQ, PSQI, Interview, Körper- liche Unter- suchung	14 Tage Schlaf- hygiene	Natürliche Umgebung und Aktivitäten						
			Einnahme der Studienmedikation innerhalb 30 min vor dem Zubettgehen, zwischen 22 und 23h						
			randomisiert, doppelblind	Phase I 4 Wochen		Wash- Out 3-5 Tage	Phase II 4 Wochen		
			Gruppe 1 „Melatonin zuerst“	Melatonin	PSG 2 CGI PSQI	Placebo	PSG 3 CGI PSQI		
Gruppe 2 „Placebo zuerst“	Placebo	Melatonin							
#2 Mela- tonin- Norm- daten	Urin- Screening, PSQI, Interview, Körper- liche Unter- suchung,	7 Tage Schlaf- hygiene	Natürliche Umgebung und Aktivitäten						
			Zur Erhebung der PSG im Schlaflabor nachts 20.00 - 8.30 Uhr						
			32 Stunden Urin Sammlung in 5 Behältern						
			Erste Nacht 23-7 Uhr	Morgen 7-11 Uhr	Tag 11-18 Uhr	Abend 18-23 Uhr	Zweite Nacht 23-7 Uhr		
		Dokumentation der letzten Miktion je Behälter							
#3 Licht am Abend	D-MEQ, PSQI, Urin- Screening	7 Tage Schlaf- hygiene	Natürliche Umgebung und Aktivitäten 24h-19h						
			Dimlight im Labor 19-24h, Lichtexposition für 30 min eine Stunde vor der habituellen Bettgezeit, Speichelproben alle 30 min, ab 10 min vor bis 10 min nach Exposition alle 10 min VAS alle 30 min						
			Gruppe	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6
			1	Dimlight, keine Licht- exposition	Hallen- leuchte	Bad- leuchte, ohne Blau	Bad- leuchte	Bad- leuchte, ohne Blau	Planon
2	Büro- leuchte	Bad- leuchte	Bad- leuchte, ohne Blau		Planon	Hallen- leuchte			
3	Bad- leuchte	Bad- leuchte, ohne Blau	Planon		Hallen- leuchte	Büro- leuchte			

Abkürzungen und Quellen der verwendeten Instrumente:

- D-MEQ = Deutsche Version des Horne-Östberg-Morningness-Eveningness-Questionnaire (Morgentyp-Abendtyp-Fragebogen) [49]
 PSG = Polysomnographie
 PSQI = Pittsburgh-Sleep-Quality-Index [51]
 CGI = Clinical-Global-Impression-Scale [52]
 VAS = Visuelle-Analog-Skalen [53]

Tabelle 3. Zielvariablen

Studie #1 REM-Melatonin	Studie #2 Melatonin-Normdaten	Studie #3 Licht am Abend
<p>Schlafparameter:</p> <ul style="list-style-type: none"> REM-Schlafanteil (%) <p>Klinische Relevanz:</p> <ul style="list-style-type: none"> CGI daytime-dysfunction (PSQI, Subskala 7) <p>Circadiane Amplitude:</p> <ul style="list-style-type: none"> Abfall der Körperkerntemperatur während des Schlafes 	<p>6-Sulfatoxymelatonin im Urin:</p> <ul style="list-style-type: none"> Nacht (ng/h) Morgen (ng/h) Tag (ng/h) Abend (ng/h) 24h (µg) Tag-Nacht-Verhältnis <p>Alter:</p> <ul style="list-style-type: none"> gruppiert <ul style="list-style-type: none"> 20-35 36-50 51-65 >65 (max. 84) kontinuierlich 	<p>Melatoninkonzentrationen im Speichel</p> <p>als Flächen unter der Kurve</p> <ul style="list-style-type: none"> vor Lichtexposition (30-0min vor „Licht an“) während Lichtexposition (10-30min nach „Licht an“) nach Lichtexposition (0-30min nach „Licht aus“) <p>Subjektives Befinden (VAS)</p> <ul style="list-style-type: none"> Ruhe Zufriedenheit Wachheit

Tabelle 4. Statistische Auswertung

Studie #1 REM-Melatonin	Studie #2 Melatonin-Normdaten	Studie #3 Licht am Abend
<p>Placebo-Wirkung:</p> <p>Placebo vs. Baseline bei <u>Placebo zuerst</u></p> <ul style="list-style-type: none"> T-Test für abhängige Stichproben, Wilcoxon -Test (PSQI, CGI) 	<p>Normtabelle:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mittelwerte Standardabweichungen Spannweiten 	<p>Effekte der Beleuchtungsbedingungen auf</p>
<p>Melatonin-Wirkung 1:</p> <p>Differenz Melatonin-Baseline bei <u>Melatonin zuerst</u></p> <p>vs.</p> <p>Differenz Placebo-Baseline bei <u>Placebo zuerst</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Student's T-Test, Mann-Whitney-U (PSQI, CGI) 	<p>Unterschiede zwischen Altersgruppen:</p> <ul style="list-style-type: none"> Einfaktorielle ANOVA Tukey's HSD-Test für post-hoc Vergleiche 	<p>Melatoninkonzentrationen im Speichel</p> <p>Für die Flächen unter der Kurve jeweils vor, während und nach Lichtexposition</p> <ul style="list-style-type: none"> Friedmann ANOVA Alpha korrigiert für multiples Testen nach der Methode von Cross und Chaffin Post-hoc Wilcoxon-Tests
<p>Melatonin-Wirkung 2:</p> <p>Melatonin vs. Baseline bei <u>Placebo zuerst</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Student's T-Test, Mann-Whitney-U (PSQI, CGI) 		
<p>Überdauernde Wirkung:</p> <p>Differenz Placebo-Baseline bei <u>Melatonin zuerst</u></p> <p>vs.</p> <p>Differenz Placebo-Baseline bei <u>Placebo zuerst</u></p> <ul style="list-style-type: none"> T-Test für abhängige Stichproben, Wilcoxon -Test (PSQI, CGI) 	<p>Korrelationen zwischen Alter und 6-Sulfatoxymelatonin im Urin:</p> <ul style="list-style-type: none"> Spearman's Rho 	<p>Subjektives Befinden:</p> <p>Ruhe, Zufriedenheit, Wachheit (explorativ)</p> <p>Baseline vs. verschiedene Beleuchtungsbedingungen</p> <ul style="list-style-type: none"> Wilcoxon-Test
<ul style="list-style-type: none"> Alpha korrigiert für multiples Testen nach der Methode von Bonferoni-Holm 		

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Amely Wahnschaffe, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einflüsse von Melatonin und Licht am Abend auf Parameter des circadianen Systems“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Amely Wahnschaffe, geb. Tilmann, hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Kunz D, Mahlberg R, Müller C, Tilmann A, Bes F., **Melatonin in patients with reduced REM sleep duration: two randomized controlled trials**, The Journal of Endocrinology and Metabolism, 2004

Beitrag im Einzelnen:

- Beratungsfunktion bei der Entwicklung des Studiendesigns im Hinblick auf die Möglichkeiten der Datenanalyse,
- Planung der statistischen Analyse,
- Mitwirkung beim Screening von Ein- und Ausschlusskriterien (Fragebögenauswertung, Aktometrie-Auswertung)

- Durchführung der Dateneingabe und Datenauswertung,
- Beratungsfunktion bei der Interpretation der Ergebnisse
- Publikation: Erstellung des Statistikeils bei den Methoden, Literaturrecherche, Erstellung des Literaturverzeichnisses, Mitwirkung bei allen anderen Teilen der Publikation

Publikation 2: Mahlberg R, Tilmann A, Salewski L, Kunz D., **Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84**, Psychoneuroendocrinology, 2006

Beitrag im Einzelnen:

- Beratungsfunktion bei der Entwicklung des Studiendesigns im Hinblick auf die Möglichkeiten der Datenanalyse,
- Planung der statistischen Analyse,
- Mitwirkung bei der Rekrutierung von Probanden,
- Mitwirkung beim Screening von Ein- und Ausschlusskriterien (Auswertung von Fragebögen und Aktometrie),
- Erhebung klinischer Skalen,
- Durchführung der Dateneingabe und Datenauswertung,
- Beratungsfunktion bei der Interpretation der Ergebnisse
- Publikation: Erstellung des Methodenteils, Literaturrecherche, Erstellung des Literaturverzeichnisses, Mitwirkung bei allen anderen Teilen der Publikation

Publikation 3: Wahnschaffe A, Haedel S, Rodenbeck A, Stoll C, Rudolph H, Kozakov R, Schoepp H, Kunz D., **Out of the lab and into the bathroom: evening short-term exposure to conventional light suppresses melatonin and increases alertness perception**, International Journal of Molecular Sciences, 2013

Beitrag im Einzelnen:

- Entwicklung des Studiendesigns unter Supervision von Dieter Kunz,
- Planung der statistischen Analyse,
- Auswahl der Interventionen und deren Vermessung und Darstellung in Zusammenarbeit mit Sven Haedel, Horst Rudolph, Ruslan Kozakov und Heinz Schoepp,
- Rekrutierung der Probanden,
- Durchführung der Datenerhebung und Dateneingabe,
- Datenauswertung in Zusammenarbeit mit Andrea Rodenbeck,
- Publikation: Verfassen des Manuskripts unter Mitwirkung von Dieter Kunz (Teile der Diskussion) , Andrea Rodenbeck (Teile der Methoden) und Claudia Stoll (Beratungsfunktion).

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Anhang #1

Kunz, D.; Mahlberg, R.; Müller, C.; Tilmann, A.; Bes, F.

**Melatonin in patients with reduced REM sleep duration:
two randomized controlled trials**

J Clin Endocrinol Metab

2004, 89, 128-134.

Aus urheberrechtlichen Gründen darf diese Studie hier nicht mit veröffentlicht werden. Sie ist zu beziehen über:

<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2002-021057>

Anhang #2

Mahlberg, R.; Tilmann, A.; Salewski, L.; Kunz, D.

**Normative data
on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin
in healthy subjects between the ages of 20 and 84**

Psychoneuroendocrinology

2006, 31, S. 634-641

Aus urheberrechtlichen Gründen darf diese Studie hier nicht mit veröffentlicht werden. Sie ist zu beziehen über:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2006.01.009>

Anhang #3

Wahnschaffe, A.; Haedel, S.; Rodenbeck, A.; Stoll, C.;
Rudolph, H.; Kozakov, R.; Schoepp, H.; Kunz, D.

**Out of the lab and into the bathroom:
evening short-term exposure to conventional light
suppresses melatonin and increases alertness perception**

Int J Mol Sci **2013**, *14*, 2573-2589

Article

Out of the Lab and into the Bathroom: Evening Short-Term Exposure to Conventional Light Suppresses Melatonin and Increases Alertness Perception

Amely Wahnschaffe ^{1,*}, Sven Haedel ¹, Andrea Rodenbeck ¹, Claudia Stoll ¹, Horst Rudolph ², Ruslan Kozakov ³, Heinz Schoepp ³ and Dieter Kunz ^{1,4}

¹ Institute of Physiology, Charité–Universitätsmedizin Berlin (CBF), 10115 Berlin, Germany; E-Mails: sven@haedel.de (S.H.); andrea.rodenbeck@charite.de (A.R.); claudia.stoll@charite.de (C.S.); dieter.kunz@charite.de (D.K.)

² Trilux GmbH & Co.KG, 59759 Arnsberg, Germany; E-Mail: hrudolph@trilux.de

³ Leibniz Institute for Plasma Science and Technology (INP), 17489 Greifswald, Germany; E-Mails: kozakov@inp-greifswald.de (R.K.); Schoepp@inp-greifswald.de (H.S.)

⁴ German Heart Institute, 13353 Berlin, Germany

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: amely.wahnschaffe@charite.de; Tel.: +49-30-2311-2901; Fax: +49-30-2311-2903.

Received: 23 November 2012; in revised form: 23 December 2012 / Accepted: 16 January 2013 / Published: 28 January 2013

Abstract: Life in 24-h society relies on the use of artificial light at night that might disrupt synchronization of the endogenous circadian timing system to the solar day. This could have a negative impact on sleep–wake patterns and psychiatric symptoms. The aim of the study was to investigate the influence of evening light emitted by domestic and work place lamps in a naturalistic setting on melatonin levels and alertness in humans. Healthy subjects (6 male, 3 female, 22–33 years) were exposed to constant dim light (<10 lx) for six evenings from 7:00 p.m. to midnight. On evenings 2 through 6, 1 h before habitual bedtime, they were also exposed to light emitted by 5 different conventional lamps for 30 min. Exposure to yellow light did not alter the increase of melatonin in saliva compared to dim light baseline during (38 ± 27 pg/mL vs. 39 ± 23 pg/mL) and after light exposure (39 ± 22 pg/mL vs. 44 ± 26 pg/mL). In contrast, lighting conditions including blue components reduced melatonin increase significantly both during (office daylight white: 25 ± 16 pg/mL, bathroom daylight white: 24 ± 10 pg/mL, Planon warm white: 26 ± 14 pg/mL, hall daylight white: 22 ± 14 pg/mL) and after light exposure (office daylight white: 25 ± 15 pg/mL, bathroom daylight white: 23 ± 9 pg/mL, Planon warm

white: 24 ± 13 pg/mL, hall daylight white: 22 ± 26 pg/mL). Subjective alertness was significantly increased after exposure to three of the lighting conditions which included blue spectral components in their spectra. Evening exposure to conventional lamps in an everyday setting influences melatonin excretion and alertness perception within 30 min.

Keywords: melatonin; circadian rhythm; light; sleep disturbances; alertness

1. Introduction

Both nonorganic disturbances of the sleep–wake schedule (F51.2) and nonorganic insomnia (F51.0) are discrete psychiatric diagnoses according to ICD-10 chapter V, as well as common symptoms of various psychiatric disorders. Whereas the high incidence of the key feature—nonrestorative sleep—is a widely accepted fact [1], it was not until recently that the enormous socioeconomic costs related to sleep disorders were reported [2]. Recently approved melatonergic agents have proven efficient in patients suffering from major depression, as well as nonorganic insomnia, and thereby introduced the potential role of melatonin for psychiatric disorders into scientific discourse [3]. The hormone melatonin is central for the linkage between environmental and internal rhythms, because its secretion pattern depends on environmental light conditions, and an increase of its serum levels signals “night-mode” to numerous body functions. The question arises whether light exposure at the wrong time—e.g., artificial evening light—via suppression of melatonin may contribute to sleep-related psychiatric disturbances by suppressing melatonin secretion.

The earth’s rotation causes the most reliably recurrent event in nature: the daily light–dark cycle. The evolutionary result is a network of internal clocks governed by a master clock located in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus (SCN), which drives the predictable part of daily physiological variations in a precise manner [4]. This circadian timing system (CTS) has been shown to be involved in the daily variation of almost every physiological and psychological system evaluated thus far (e.g., hormones, neurotransmitters, receptor densities and affinities, gene expression, mood, motor activity, pharmacokinetics, pharmacodynamics, responses to pharmacological treatment) [5–10].

Maintaining synchronized circadian rhythms is important to health and well-being. A growing body of evidence suggests that desynchronization of circadian rhythms may play a role in various tumoral diseases, diabetes, obesity, depression, and Alzheimer’s disease [11–14]. Shift workers, who serve as a model for internal desynchronization, are subject to increased morbidity and mortality from a number of diseases, including cardiovascular disorders and cancer [15–17].

The daily light–dark cycle synchronizes the CTS with the natural 24-h day [18]. In 2000, melanopsin was identified in a subgroup of retinal ganglion cells, which were originally only known to integrate the information from rods and cones and transform it into neuronal activation [19]. This allowed for a non-image-forming system to be characterized in accretive detail: light and darkness are predominantly perceived by specialized intrinsic photosensitive retinal ganglion cells expressing melanopsin. On the one hand, they react directly to light input; on the other hand, they gather light information from rods and cones. This integrated measurement provides the internal clock with information on the time and length of day [20]. The blue portion of the visible spectrum appears to

play the dominant role in the intrinsic photosensitivity of these cells, as well as for the integrated non-image-forming response to light stimuli [21]. Two groups independently reported an action spectrum for light-induced melatonin suppression by monochromatic light at night [22,23]. Additionally, monochromatic blue light has been shown to induce pupillary constriction, increase heart rate, influence thermoregulation, enhance alertness, change the frequency of the electroencephalogram and influence sleep architecture [24–26]. In contrast to green light, blue light was even shown to increase human *PER2* gene expression after 2 h of evening light exposure [27]. Enezi *et al.* recently suggested a “melanopic” spectral efficiency function as an alternative to lux and photon density for describing the impact of polychromatic light of different spectral distributions on melanopsin expression and the proximate pupillomotor and circadian responses [28]. This melanopic function was successfully applied to rod- and coneless mice, but not yet to wild-type mice or even humans. Effects of long-term polychromatic light on human melatonin levels have already been shown: a study using artificial room light demonstrated that light exposure <200 lux for 8 h until bedtime delayed the melatonin onset without shifting melatonin offset [29]. Shanti *et al.* [30] reported a wavelength-dependent influence of 4 h of evening light exposure on melatonin suppression, subjective sleepiness, and sleep onset latency. However, data on short-term evening polychromatic light exposure are still missing.

Many practical clinical trials have shown the effects of light as a therapeutic agent on depression, age-related sleep problems and agitation in dementia (see, for example, [31–34]). Thus, evening light exposure was successfully applied to increase alertness in older adults with evening sleepiness [35]. Nevertheless, most of the studies in the context of light influences on circadian rhythms were performed using long-term, high intensity bright white, polychromatic or blue light in artificial settings in a way that seldom occurs even in our world of artificial lighting [22,23,36]. Even when the design for these studies was modeled on average exposition under natural conditions for the periods they examined [30] they did not consider the impact of very short periods of light exposure on circadian parameters. Yet the evening setting can include relevant changes in lighting conditions such as a transition from a brightly lit gym to a moderately lit home, or from a dimly-lit reading corner or television light in the living room to the neon-lit bathroom, where you get ready for bed. Their findings are therefore difficult to generalize to such conditions. Other studies addressed the therapeutic potential of strengthening circadian rhythms with light. The question could be raised if simple behavior recommendations regarding “light hygiene” could already work as a therapeutic agent on circadian rhythm associated disturbances.

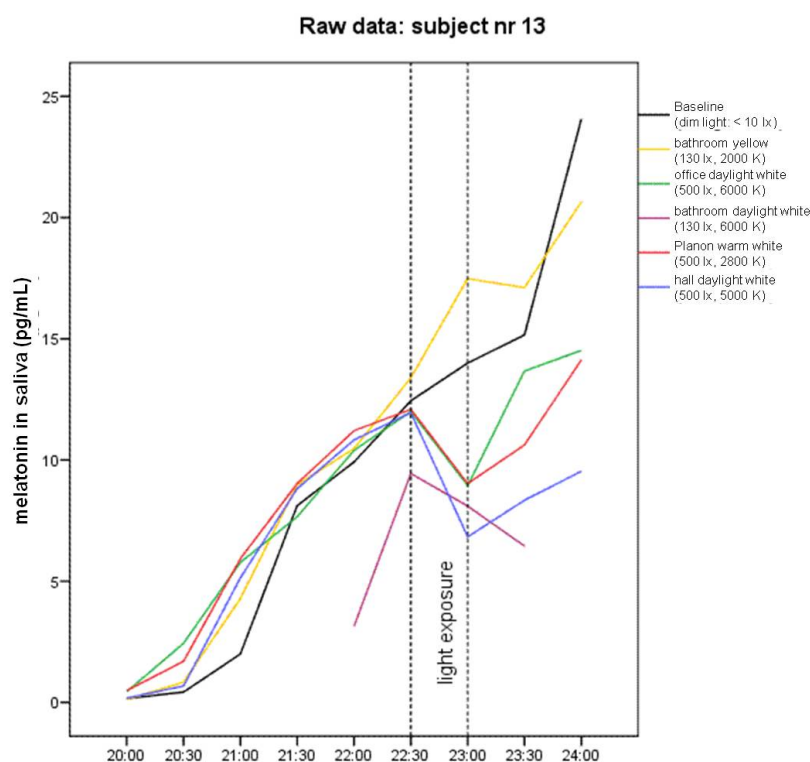
The hypotheses of the present study are that (1) light emitted by conventional home and work place lamps in a naturalistic evening setting can suppress melatonin excretion in healthy human subjects after very short periods of time; and (2) the strength of this influence is wavelength and intensity-dependent and can be minimized by blue depletion and intensity reduction. In a second step, we conduct an exploratory investigation of different lamps on subjective calmness, contentedness and alertness.

2. Results and Discussion

2.1. Raw Data and Descriptive Statistics

Graphical analysis of melatonin raw data in most of the nine single subjects and in group means shows differences between baseline (dim light) and yellow bathroom lamp, on the one hand, and between baseline and the four lamps with blue components of the visible spectrum, on the other hand (e.g., Figure 1, subject 13).

Figure 1. Raw data of melatonin levels in saliva in subject number 13 (subjects in the present study were numbered 7–15 following a pilot study with subjects 1–6). Lines represent the different lighting conditions.

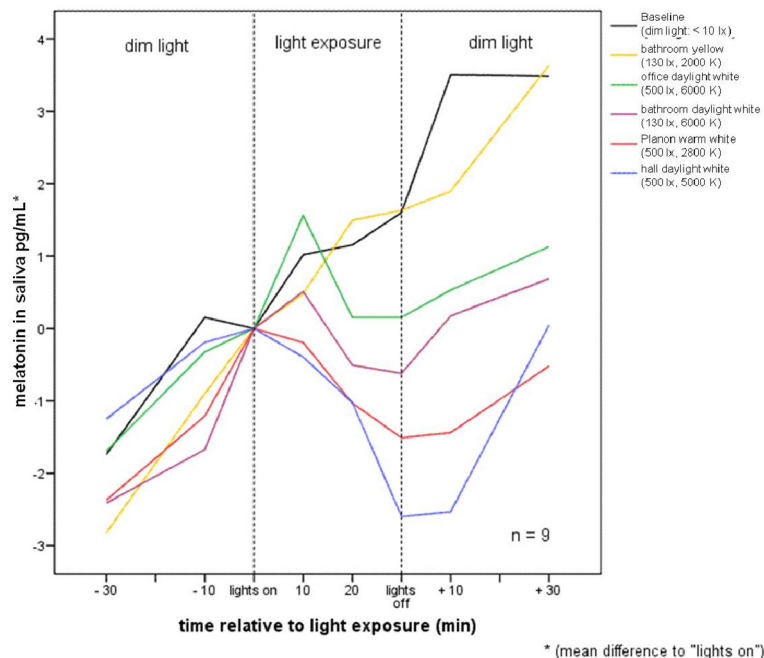


Mean group changes of melatonin levels relative to “lights on” are given in Figure 2. While melatonin concentrations continuously rise during the time of light exposure under baseline and yellow bathroom lamp conditions, the increase of melatonin concentrations stops or is even reversed during exposure to any of the four lamps, including blue portions, starting already as early as 20 min after “lights on”. After termination of light exposure, melatonin concentrations start rising again, but not to the level reached within 30 min after baseline or yellow bathroom lamp concentrations, which are within 30 min after lights exposure. Nearly the same changes between lighting regimes are reached by using the mean between the melatonin concentrations 10 min before “lights on” and “lights on” as zero point (see means and standard deviations in Table 1). This applies both to the analysis of all subjects and to the analysis including the six subjects with complete data for all lighting conditions. The mean difference of melatonin concentration between 10 min before “lights on” and “lights on” was 0.68 ± 0.47 pg/mL (range: -0.12 to 1.34 pg/mL per subject).

Table 1. Group means and standard deviations of saliva melatonin concentrations. Data are given relative to the zero point representing the mean of melatonin concentrations in saliva 10 min before and at “lights on”. The first part of the table gives values for the entire sample, and the second part only for the six subjects with complete data sets.

	Pre -60	Pre -30	Mean -10 to 0 min before lights on	10	20	30	Post +10	Post +30
Baseline (<i>n</i> = 9)	(-4.21) ± 1.89	(-2.26) ± 1.67	0	0.94 ± 2.47	1.08 ± 2.20	1.525 ± 1.69	3.48 ± 2.34	3.41 ± 1.78
bathroom yellow (<i>n</i> = 9)	(-4.40) ± 2.68	(-2.37) ± 2.04	0	0.93 ± 1.56	1.95 ± 0.64	2.08 ± 1.15	2.075 ± 2.96	4.085 ± 4.26
office daylight white (<i>n</i> = 8)	(-3.33) ± 2.23	(-1.29) ± 1.88	0	1.97 ± 2.90	0.56 ± 1.55	0.56 ± 2.48	0.94 ± 1.57	1.54 ± 2.23
bathroom daylight white (<i>n</i> = 8)	(-4.05) ± 1.99	(-2.03) ± 1.44	0	0.97 ± 1.15	(-0.12) ± 1.00	(-0.13) ± 1.72	0.62 ± 2.96	2.03 ± 4.28
Planon warm white (<i>n</i> = 9)	(-3.68) ± 2.94	(-1.77) ± 1.98	0	0.41 ± 2.12	(-0.43) ± 1.72	(-0.91) ± 1.64	(-0.83) ± 2.07	0.09 ± 2.83
hall daylight white (<i>n</i> = 8)	(-2.66) ± 1.12	(-1.15) ± 0.76	0	(-0.30) ± 1.30	(-1.475) ± 1.42	(-2.50) ± 2.11	(-3.23) ± 4.675	(-0.98) ± 6.09
<i>n</i> = 6								
Baseline	(-3.40) ± 1.54	(-1.88) ± 1.06	0	1.58 ± 1.87	1.42 ± 1.44	1.66 ± 1.92	3.84 ± 2.48	2.67 ± 1.58
bathroom yellow	(-5.18) ± 2.91	(-2.76) ± 2.33	0	0.55 ± 1.80	2.02 ± 0.74	2.29 ± 1.39	1.18 ± 3.30	2.38 ± 3.72
office daylight white	(-2.96) ± 2.39	(-0.97) ± 2.11	0	2.45 ± 3.24	0.37 ± 1.78	0.61 ± 2.94	0.885 ± 1.85	1.24 ± 2.14
bathroom daylight white	(-4.295) ± 2.07	(-2.16) ± 1.65	0	0.58 ± 0.85	(-0.11) ± 1.01	(-0.505) ± 1.86	(-0.535) ± 1.79	0.22 ± 2.47
Planon warm white	(-2.95) ± 1.43	(-0.97) ± 1.31	0	0.98 ± 0.93	0.02 ± 0.69	(-0.89) ± 1.45	(-0.68) ± 1.17	0.27 ± 1.39
hall daylight white	(-2.31) ± 1.06	(-1.02) ± 0.83	0	(-0.26) ± 1.53	(-1.29) ± 1.58	(-2.09) ± 2.09	(-1.69) ± 2.05	1.04 ± 3.60

Figure 2. Group means of saliva melatonin concentrations; lines represent the different lighting conditions. Data are given relative to the zero point that represents melatonin concentrations at “lights on”. Values on X-axis represent mean differences of melatonin concentrations to “lights on”.



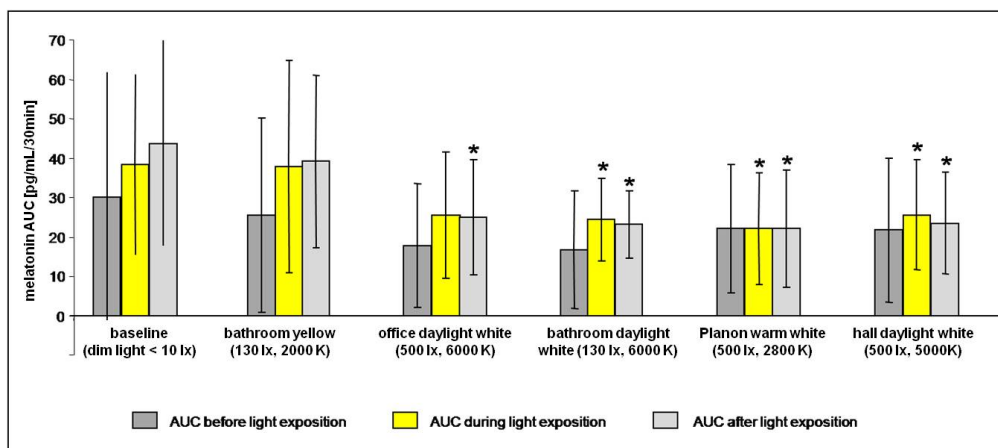
2.2. Data Analysis

2.2.1. Melatonin Levels in Different Lighting Regimes

Friedman ANOVA was only applied to six of the nine subjects, because the melatonin in saliva data sets of three subjects were incomplete due to an insufficient amount of saliva in the assays. In the six subjects with complete melatonin data sets, Friedman ANOVA revealed significant group differences in melatonin levels during ($\chi^2 = 15.5238$, $p < 0.009$) and after ($\chi^2 = 18.09524$, $p < 0.003$) light exposure. In contrast, groups did not differ prior to light exposure with respect to the different lighting regimes ($\chi^2 = 9.04719$, $p < 0.11$), indicating comparable baselines each evening (see Figure 3). Thus, an order effect induced by the experiment can be ruled out. Two out of three Friedman ANOVAs showed significant differences between lighting conditions, thereby indicating a high overall significance ($p = 0.0072$) of the comparisons.

Regarding the time during light exposure, post-hoc comparisons indicate significant decreases of melatonin levels during lighting with three of the four lamps including blue components (daylight white hall, daylight white bathroom, and warm white Planon) as compared to baseline ($p < 0.03$ each). The decrease during exposure to daylight white office failed to reach significance ($p = 0.07$), while the yellow bathroom showed no effect on melatonin levels. *Post-hoc* analysis of the time after “lights off” showed significant ($p < 0.03$ each) lower melatonin levels for daylight white hall, daylight white bathroom, and warm white Planon as compared to baseline. Furthermore, AUC of melatonin levels was diminished following daylight white office ($p < 0.05$), while no changes following yellow bathroom could be detected (Figure 3).

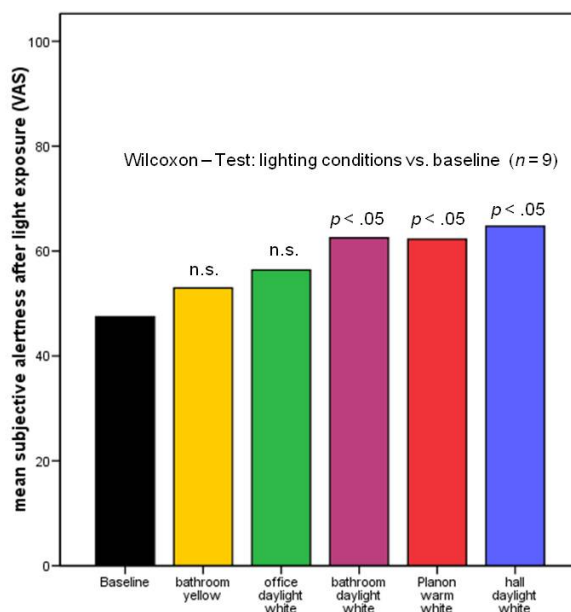
Figure 3. Melatonin levels before, during, and after light exposure. Areas under curve (AUC) of melatonin saliva levels before (AUC pre, 30–0 min before lights on), during (AUC light, 0–30 min after lights on), and after (AUC post, 0–30 min after lights off) the light exposure. Data are expressed as means ± standard deviation; * $p < 0.05$ compared to baseline, $n = 6$.



2.2.2. Subjective Alertness, Calmness and Contentedness in Different Lighting Regimes

The exploratory analysis of subjective calmness and contentedness did not yield any significant results. The results regarding subjective alertness are given in Figure 4. There were no significant differences between the baseline condition and the yellow bathroom condition, nor between baseline and daylight white office. In contrast, subjective alertness after light exposure was significantly increased compared to the baseline condition in three of the four lighting conditions that included a blue portion of the visible spectrum.

Figure 4. Subjective alertness after light exposure. Subjective alertness was measured by visual analog scales [37]. Data are expressed as means ± standard deviation; * $p < 0.05$ compared to baseline (Wilcoxon signed ranks-Test), $n = 9$.



2.3. Discussion

The results of the present study show that short-term polychromatic light emitted by conventional lamps in the evening in a naturalistic setting can suppress melatonin secretion and increase subjective alertness. It is noteworthy, however, that subjects in our study were exposed to only 30 min of light in addition to dim light from 7:00 p.m. until midnight. On a descriptive level, these differences begin to appear after only 20 min of light exposure (see Figure 2).

The explanatory power of the presented data is limited by the small sample size, the non-systematic selection of lamps, and the merely subjective measurement of behavioral variables. To draw substantiated conclusions on adverse effects of light regarding health conditions, more lamps with a systematic variation of light intensity and spectral distribution reflecting the whole range of naturalistic evening light conditions should be tested on a bigger sample and with additional outcome variables such as validated vigilance tasks, polysomnographic sleep parameters, or cortisol levels. In our present sample, the influence of a lamp with no blue component and low light intensity (130 lx) on melatonin concentrations and on subjective alertness was close to zero (see yellow bathroom lamp in Table 2 and Figure 5), while melatonin secretion was suppressed by light with equal low intensity but a high blue component (white bathroom, 130 lx, 6000 K). In addition, all lamps with high (500 lx) light intensities had a detectable influence on melatonin concentrations after light exposure. Even the lamp with the lowest blue proportion (warm white Planon, 2000 K) of the high-intensity (500 lx) lights had strong effects on both melatonin secretion and subjective alertness. The rather low blue component of the warm white Planon—at this intensity (see Table 3 and Figure 5) and the relatively close distance of subjects' eyes to the lamp (1 meter)—seems to be sufficient to cause this effect. The lamp with high blue component and high intensity (hall daylight white) produces, as expected, even more pronounced effects. In spite of the high light intensity and high blue component of the daylight white office lamp, it only reduced melatonin concentrations significantly after, but not during light exposure, and the increase of subjective alertness was not significant. The values of irradiance or melanopic lux (see Table 3), a measure that integrates light intensity and spectral distribution in one unit on an empirical basis [28], would imply a different ranking of the lamps than the amount of their effects in our sample. Thus, the expected combined influence of light intensity and spectral distribution [37] is not reflected in detail by our sample. This is probably due to the small sample size, combined with the pronounced individual differences [30].

Still, in none of the conditions exposing subjects to light containing a high proportion of blue or bright light was the rise in melatonin levels as large as they were in conditions exposing only to dim or yellow light.

Nevertheless, subjects varied substantially in the magnitude of melatonin suppression induced by any one lighting condition. Because all subjects were studied during the same week and exposed to their assigned lighting condition each evening during the experimental period, light history would only differ slightly between subjects according to their daytime activities [38]. Chemical agents or age-related changes in the lens of the eye can be ruled out [39,40]. It might therefore be argued that the observed differential responses to light have predominantly been due to individual variations in light sensitivity [41,42]. Experimental data in extreme chronotypes have shown that circadian rhythms differ in their response to chemical and environmental phase-shifting agents at the cellular level [43].

Though only suppression of melatonin as a circadian signal was investigated and not phase shifts of melatonin, it would be interesting to validate the diagnostic properties of the setting and paradigm used in the present study. This might help detect circadian rhythm sleep disorders by determining patients' sensitivity to melatonin suppression by light. Regarding future research, it also seems worthwhile to think about potential long-term consequences. Though still not generally accepted, several studies suggest that melatonin in humans plays a similarly pivotal role to that already demonstrated in animals [44,45]. Low melatonin is associated with numerous diseases [46], such as cancer [17], and melatonin concentrations are reduced in the elderly [47], in patients with chronic primary insomnia [48–50], and even more so in patients suffering from Alzheimer's dementia [51,52]. Even the neuroprotective properties of melatonin receive increasing evidence [53]. It is also well established that the increase in melatonin levels that occurs in the evening facilitates sleep induction [54–56]. Thus, it is tempting to speculate that melatonin suppression by artificial light during the evening plays a role in the sleep-related problems from which millions of individuals currently suffer. Nevertheless, the general causal relations of light, melatonin-levels, and the health conditions mentioned above still need to be determined.

The current study demonstrates that light affects not only melatonin levels, but also subjective alertness. However, this is thought to rely on a different pathway than the retinal–pineal pathway. As an fMRI study suggests, light directly activates cortical networks that underlie alertness [57]. This relationship requires further investigation with objective measurements.

Diurnal species such as humans are obliged to use their eyes to find their way about the world. Unlike nocturnal species like rats or bats, humans are at the mercy of their enemies when moving about during the nighttime hours. It is most likely for this reason that the CTS promotes motor inactivity and sleep during this period [4]. Although artificial light at night is clearly of great benefit to society, its inappropriate timing might alter human physiology. In December 2007, the World Health Organization added overnight shift work to its list of probable carcinogens [58]. One possible, but yet to be proven, cause of cancer in overnight shift workers is the reduction of nighttime melatonin resulting from exposure to artificial light. The results of the present study raise a question that should be addressed in detail by future research: do we all suffer from these effects to some degree due to nighttime exposure to blue and/or bright light?

3. Experimental Section

The study was performed in the sleep laboratory of the Institute of Physiology at the Charité in the Sankt Hedwig Hospital, Berlin, in February of 2007. The protocol was approved by the local ethics committee. Experimental procedures were conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and all participants gave their written, informed consent.

A total of 9 healthy subjects (3 women, 6 men, aged 22–33 years, mean = 26.3, SD = 4.2) participated in the study. Subjects were recruited by word-of-mouth recommendation and received pecuniary compensation. Medical, psychiatric, and sleep assessments were performed, including evaluations of sleep quality (Pittsburgh Sleep Quality Index, or PSQI [59]), of chronotype (Horne and Östberg [60]), and of seasonality (Seasonal Pattern Assessment Questionnaire, or SPAQ [61]). The inclusion criterion was a habitual bedtime between 10:00 p.m. and 1:00 a.m. (PSQI: Item 1—“When

did you habitually go to sleep during the last four weeks?”). Exclusion criteria were age <18 or >35; current pregnancy; current or recent shift work (during the last year); poor sleep hygiene (sleep log or actigraphic proof of a more than 1-h deviation from habitual bedtime during a 7-day entrainment period); definite morning or evening types; seasonality score greater than 5; transmeridian travel (during, or within 1 month of, the study); any psychiatric, medical, or sleep disorder, including drug or alcohol abuse; and the intake of any medication, including over-the-counter medication, over the past month.

During a 7-day entrainment period, subjects were asked to keep a regular sleep–wake schedule with a tolerance range of ± 60 min of their self-estimated habitual bedtime. Compliance was monitored using a sleep log and actimetry (Actiwatch, Cambridge Neurotechnology).

During the 6-day experimental phase, we tried to create conditions that were as natural as possible: subjects followed their habitual daytime schedules, only attending the laboratory in the evening hours from 7 p.m. until midnight (monitored by sleep log and actimetry). Subjects were allowed to eat until 7 p.m. and to drink caffeinated beverages until 3 p.m. Alcoholic beverages were forbidden during lab days. Drinking water was accepted until 10 min prior to saliva collection. Subjects spent their time in the laboratory pursuing self-chosen activities (e.g., playing games, talking, watching videos on a dim-light screen) in a dimly lit room (<10 lx) by ordinary dimmable halogen lamps. Because circadian phase is associated with habitual bedtime, light exposure was timed individually to occur 1 h before habitual bedtime [62].

Table 2. Study design.

Group	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
I	Baseline:	hall lighting	office lighting	bathroom	bathroom	Planon
II		office lighting	bathroom	bathroom	Planon	hall lighting
II		bathroom	bathroom	Planon	hall lighting	office lighting

daylight white
 warm white
 yellow

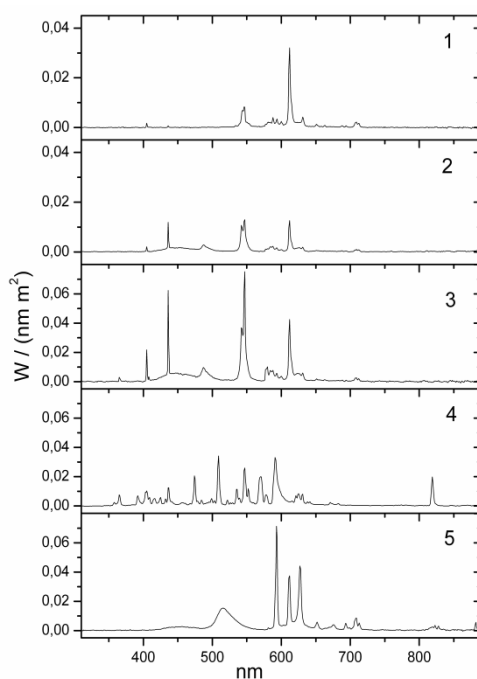
During evening 1, subjects were exposed only to dim light (baseline condition). During evenings 2 through 6, everyday lamps of different types (office, bathroom, industry), with two different intensities (130 vs. 500 lx at the cornea) and spectral distributions (4 with various and 1 without blue portions) were used to expose subjects, in randomly assigned groups of 3, to each lighting condition for a total of 30 min (for study design, see Table 2; for a detailed description of the lamps, see Table 3 and for their spectral distributions, see Figure 5). Three of the lamps were selected by their original application as examples to reflect naturalistic lighting conditions as occurring in bathrooms (bathroom daylight white), office work places (office daylight white) and industrial work places or gyms (hall daylight white). Two of the lamps were custom-made to produce: (1) a zero blue component bathroom light situation (bathroom yellow); and (2) a low blue component but high light intensity work place light situation (Planon warm white).

Table 3. Lighting conditions.

No.	lamp name	Lux (lx)	Kelvin (K)	Irradiance (W/m ²)	Lux _m (lx _m) ¹	Type	Model	Blue component	Position	Eye (cm) distance ²	Company
0	baseline (dim light)	<10						normal	pointing to ceiling	150 cm	
1	bathroom yellow	130	2000	0.319	118	fluorescent	Custom-made	zero	wall over mirror	100 cm	Narva BEL
2	bathroom daylight white	130	6000	0.385	581	fluorescent	6641 L18/W	high	wall over mirror	100 cm	Narva BEL
3	office daylight white	500	6000	1.437	2069	fluorescent (3 pieces)	T5 54W/860	high	ceiling	150 cm	Trilux Narva BEL
4	hall daylight white	500	5000	1.391	1724	metal halogenid	NCT 70W	high	ceiling	150 cm	Trilux Narva GLE
5	Planon warm white ³	500	2800	1.432	1826	dielectric inhibited	custom made	low	wall	100 cm	Osram

¹ The unit melanopic lux (lx_m) was recently suggested by al Enezi *et al.* to predict the sensitivity of melanopsin photoreceptors to polychromatic light [28]. It was derived from action spectra of monochromatic lights in several species; ² Due to reflection, the whole visual field was exposed with a maximum in the center; ³ The Planon is an advanced prototype dielectric inhibited light source. It is being developed by Osram, Munich. So far, more than 150 lamps have been built. It is currently being used as a rugged light source in CNC Machines.

Figure 5. Spectral distributions. Numbers represent the lamps as follows: 1. bathroom yellow; 2. bathroom daylight white; 3. office daylight white; 4. hall daylight white; 5. Planon warm white.



During light exposure, subjects were sitting at an assigned spot and were instructed to keep their gaze straight (at approximately 90°) over the 30-min light exposure. No other activity was permitted except talking. Subjects were informed that bright light may suppress melatonin; no information was given regarding the effects of light spectrum. Lighting conditions were characterized using a luxmeter (LMT Berlin), a spectrometer (StellarNet EPP-2000), and a luminance camera (LMK Mobile Advanced, Ilmenau). Light intensity and spectral distribution were determined for each lamp at the site of the experiment from the position of subjects' eyes, *i.e.*, in the direction and angle of the gaze (performed by INP, Greifswald, Germany).

Each evening during the study period, self-assessment of alertness, calmness and contentedness was performed every 30 min using a paper and pencil version of visual analogue scales [63]. The VAS assessment at the start of light exposure was brought forward by 5 min to avoid disturbing the exposure procedure. In addition, saliva was collected with salivettes every 30 min during dim-light exposure, as well as 10 min before, every 10 min during, and 10 min after light exposure. Saliva collection never took more than one minute. Melatonin concentration in saliva was determined by a commercial radioimmunoassay (Bühlmann Laboratories, Allschwil, Switzerland) with an analytical least detectable dose of 0.15 pg/mL, intraassay precision: 6.7% (range: 4.9%–8.8%), interassay precision: 10.4% (range: 8.5%–13.9%).

As a consequence of the design, subjects' bedtimes were slightly delayed during the experiment, as they still needed to get home after midnight. We tried to rule out possible order effects by using a crossover design and by also controlling for differences between lighting conditions and light exposition (see results section for details).

Statistical Analysis

In order to calculate descriptive group differences, the reference point for differential melatonin levels was set to zero for each individual: (1) at time of "lights on" (see Figure 2); and (2) at the mean of 10 min before "lights on" and "lights on" (see Table 1). For statistical analysis, melatonin concentrations were calculated as areas under the curve (AUC) before, during, and after light exposure. AUC before light exposure (AUC pre) included 30 to 0 min before "lights on," based on 20- and 10-min intervals. AUC during lighting (AUC light) included 10 to 30 min after "lights on," based on 10-min intervals. AUC after light exposure (AUC post) included 0 to 30 min after "lights off," based on 10- and 20-min intervals. Friedman ANOVAs were calculated for each AUC (pre, light, and post), followed by *post-hoc* Wilcoxon-tests. Friedman ANOVAs were alpha-adjusted using the method of Cross and Chaffin [64]. Three subjects had to be excluded from statistical analysis of melatonin levels due to single missing data caused by incorrect saliva collection.

For explorative purposes, subjective alertness was compared between baseline and the various lighting conditions using Wilcoxon signed-rank test.

4. Conclusions

Low-intensity light emitted by everyday lamps in a naturalistic setting can influence melatonin levels and alertness perception in healthy human subjects after only 30 min. The suppressive effect of this light exposure on melatonin can be minimized by using a yellow lamp without blue component.

The order of the other lamps in the degree of influence on alertness and melatonin concentrations in our sample is not completely as expected, which could be due to the small sample size. It should be replicated with bigger sample sizes, also including further outcome variables such as sleep parameters and objective measures of behavioral variables. This could highlight the impact of evening light on adverse health outcomes in more depth. Still, even with this small sample size, the melatonin suppressing and alertness enhancing power of short exposition to ordinary lamps in contrast to dim light or yellow light without blue component could be shown in this study. We suggest that potentially adverse biological effects of untimely light exposure could be reduced or avoided by appropriate tuning of the spectral content and intensity of lighting devices, similar to the way lamps with specially designed spectral distributions can be used therapeutically in order to relieve various conditions. To put it—albeit tentatively—in a nutshell: filter out blue or dim the light when you go brush your teeth at night!

Acknowledgments

This study was funded by BMBF (German Ministry for Education and Research) FKZ: 13N8973. We thank the BMBF for their support.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Ohayon, M.M.; Reynolds, C.F., III. Epidemiological and clinical relevance of insomnia diagnosis algorithms according to the DSM-IV and the International Classification of Sleep Disorders (ICSD). *Sleep Med.* **2009**, *10*, 952–960.
2. Olesen, J.; Gustavsson, A.; Svensson, M.; Wittchen, H.U.; Jonsson, B. The economic cost of brain disorders in Europe. *Eur. J. Neurol.* **2012**, *19*, 155–162.
3. Hickie, I.B.; Rogers, N.L. Novel melatonin-based therapies: Potential advances in the treatment of major depression. *Lancet* **2011**, *378*, 621–631.
4. Pittendrigh, C.S. Temporal organization: Reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annu. Rev. Physiol.* **1993**, *55*, 16–54.
5. Boivin, D.B.; Czeisler, C.A.; Dijk, D.J.; Duffy, J.F.; Folkard, S.; Minors, D.S.; Totterdell, P.; Waterhouse, J.M. Complex interaction of the sleep-wake cycle and circadian phase modulates mood in healthy subjects. *Arch. Gen. Psychiatry* **1997**, *54*, 145–152.
6. Bruguerole, B. Chronopharmacology. In *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine*; Touitou, Y., Haus, E., Eds.; Springer Verlag: Paris, France, 1992; pp. 114–137.
7. Shearman, L.P.; Sriram, S.; Weaver, D.R.; Maywood, E.S.; Chaves, I.; Zheng, B.; Kume, K.; Lee, C.C.; van der Horst, G.T.; Hastings, M.H.; *et al.* Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science* **2000**, *288*, 1013–1019.
8. Van Cauter, E.; Plat, L.; Leproult, R.; Copinschi, G. Alterations of circadian rhythmicity and sleep in aging: Endocrine consequences. *Horm. Res.* **1998**, *49*, 147–152.

9. Wirz-Justice, A. Circadian rhythms in mammalian neurotransmitter receptors. *Prog. Neurobiol.* **1987**, *29*, 219–259.
10. Wyatt, J.K.; Ritz-De Cecco, A.; Czeisler, C.A.; Dijk, D.J. Circadian temperature and melatonin rhythms, sleep, and neurobehavioral function in humans living on a 20-h day. *Am. J. Physiol.* **1999**, *277*, R1152–R1163.
11. Davidson, A.J.; Sellix, M.T.; Daniel, J.; Yamazaki, S.; Menaker, M.; Block, G.D. Chronic jet-lag increases mortality in aged mice. *Curr. Biol.* **2006**, *16*, R914–R916.
12. Spiegel, K.; Leproult, R.; van Cauter, E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* **1999**, *354*, 1435–1439.
13. Stevens, R.G.; Blask, D.E.; Brainard, G.C.; Hansen, J.; Lockley, S.W.; Provencio, I.; Rea, M.S.; Reinlib, L. Meeting report: The role of environmental lighting and circadian disruption in cancer and other diseases. *Environ. Health Perspect.* **2007**, *115*, 1357–1362.
14. Hu, K.; Van Someren, E.J.; Shea, S.A.; Scheer, F.A. Reduction of scale invariance of activity fluctuations with aging and Alzheimer's disease: Involvement of the circadian pacemaker. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 2490–2494.
15. Hansen, J. Risk of breast cancer after night- and shift work: Current evidence and ongoing studies in Denmark. *Cancer Causes Control* **2006**, *17*, 531–537.
16. Knutsson, A.; Akerstedt, T.; Jonsson, B.G.; Orth-Gomer, K. Increased risk of ischaemic heart disease in shift workers. *Lancet* **1986**, *2*, 89–92.
17. Schernhammer, E.S.; Schulmeister, K. Melatonin and cancer risk: Does light at night compromise physiologic cancer protection by lowering serum melatonin levels? *Br. J. Cancer* **2004**, *90*, 941–943.
18. Czeisler, C.A.; Shanahan, T.L.; Klerman, E.B.; Martens, H.; Brotman, D.J.; Emens, J.S.; Klein, T.; Rizzo, J.F., III. Suppression of melatonin secretion in some blind patients by exposure to bright light. *N. Engl. J. Med.* **1995**, *332*, 6–11.
19. Provencio, I.; Rodriguez, I.R.; Jiang, G.; Hayes, W.P.; Moreira, E.F.; Rollag, M.D. A novel human opsin in the inner retina. *J. Neurosci.* **2000**, *20*, 600–605.
20. Foster, R.G. Neurobiology: Bright blue times. *Nature* **2005**, *433*, 698–699.
21. Hanifin, J.P.; Brainard, G.C. Photoreception for circadian, neuroendocrine, and neurobehavioral regulation. *J. Physiol. Anthropol.* **2007**, *26*, 87–94.
22. Brainard, G.C.; Hanifin, J.P.; Greeson, J.M.; Byrne, B.; Glickman, G.; Gerner, E.; Rollag, M.D. Action spectrum for melatonin regulation in humans: Evidence for a novel circadian photoreceptor. *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 6405–6412.
23. Thapan, K.; Arendt, J.; Skene, D.J. An action spectrum for melatonin suppression: Evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. *J. Physiol.* **2001**, *535*, 261–267.
24. Cajochen, C.; Munch, M.; Koblalka, S.; Krauchi, K.; Steiner, R.; Oelhafen, P.; Orgul, S.; Wirz-Justice, A. High sensitivity of human melatonin, alertness, thermoregulation, and heart rate to short wavelength light. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2005**, *90*, 1311–1316.
25. Lockley, S.W.; Evans, E.E.; Scheer, F.A.; Brainard, G.C.; Czeisler, C.A.; Aeschbach, D. Short-wavelength sensitivity for the direct effects of light on alertness, vigilance, and the waking electroencephalogram in humans. *Sleep* **2006**, *29*, 161–168.

26. Munch, M.; Kobińska, 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. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2006**, *290*, R1421–R1428.
27. Cajochen, C.; Jud, C.; Munch, M.; Kobińska, S.; Wirz-Justice, A.; Albrecht, U. Evening exposure to blue light stimulates the expression of the clock gene PER2 in humans. *Eur. J. Neurosci.* **2006**, *23*, 1082–1086.
28. Enezi, J.; Revell, V.; Brown, T.; Wynne, J.; Schlangen, L.; Lucas, R. A “melanopic” spectral efficiency function predicts the sensitivity of melanopsin photoreceptors to polychromatic lights. *J. Biol. Rhythms* **2011**, *26*, 314–323.
29. Gooley, J.J.; Chamberlain, K.; Smith, K.A.; Khalsa, S.B.; Rajaratnam, S.M.; van Reen, E.; Zeitzer, J.M.; Czeisler, C.A.; Lockley, S.W. Exposure to room light before bedtime suppresses melatonin onset and shortens melatonin duration in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2011**, *96*, E463–E472.
30. Santhi, N.; Thorne, H.C.; van der Veen, D.R.; Johnsen, S.; Mills, S.L.; Hommes, V.; Schlangen, L.J.; Archer, S.N.; Dijk, D.J. The spectral composition of evening light and individual differences in the suppression of melatonin and delay of sleep in humans. *J. Pineal Res.* **2012**, *53*, 47–59.
31. Campbell, S.S.; Dawson, D.; Anderson, M.W. Alleviation of sleep maintenance insomnia with timed exposure to bright light. *J. Am. Geriatr. Soc.* **1993**, *41*, 829–836.
32. Riemersma-van der Lek, R.F.; Swaab, D.F.; Twisk, J.; Hol, E.M.; Hoogendijk, W.J.; van Someren, E.J. Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: A randomized controlled trial. *J. Am. Med. Assoc.* **2008**, *299*, 2642–2655.
33. Van Someren, E.J.; Kessler, A.; Mirmiran, M.; Swaab, D.F. Indirect bright light improves circadian rest-activity rhythm disturbances in demented patients. *Biol. Psychiatry* **1997**, *41*, 955–963.
34. Lieverse, R.; van Someren, E.J.; Nielen, M.M.; Uitdehaag, B.M.; Smit, J.H.; Hoogendijk, W.J. Bright light treatment in elderly patients with nonseasonal major depressive disorder: A randomized placebo-controlled trial. *Arch. Gen. Psychiatry* **2011**, *68*, 61–70.
35. Munch, M.; Scheuermaier, K.D.; Zhang, R.; Dunne, S.P.; Guzik, A.M.; Silva, E.J.; Ronda, J.M.; Duffy, J.F. Effects on subjective and objective alertness and sleep in response to evening light exposure in older subjects. *Behav. Brain Res.* **2011**, *224*, 272–278.
36. Lewy, A.J.; Wehr, T.A.; Goodwin, F.K.; Newsome, D.A.; Markey, S.P. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* **1980**, *210*, 1267–1269.
37. Figueiro, M.G.; Rea, M.S.; Bullough, J.D. Circadian effectiveness of two polychromatic lights in suppressing human nocturnal melatonin. *Neurosci. Lett.* **2006**, *406*, 293–297.
38. Hebert, M.; Martin, S.K.; Lee, C.; Eastman, C.I. The effects of prior light history on the suppression of melatonin by light in humans. *J. Pineal Res.* **2002**, *33*, 198–203.
39. Herljevic, M.; Middleton, B.; Thapan, K.; Skene, D.J. Light-induced melatonin suppression: Age-related reduction in response to short wavelength light. *Exp. Gerontol.* **2005**, *40*, 237–242.
40. Wirz-Justice, A.; Reme, C.; Prunte, A.; Heinen, U.; Graw, P.; Urner, U. Lithium decreases retinal sensitivity, but this is not cumulative with years of treatment. *Biol. Psychiatry* **1997**, *41*, 743–746.

41. Lewy, A.J.; Lefler, B.J.; Emens, J.S.; Bauer, V.K. The circadian basis of winter depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 7414–7419.
42. Terman, J.S.; Terman, M. Photopic and scotopic light detection in patients with seasonal affective disorder and control subjects. *Biol. Psychiatry* **1999**, *46*, 1642–1648.
43. Brown, S.A.; Kunz, D.; Dumas, A.; Westermarck, P.O.; Vanselow, K.; Tilmann-Wahnschaffe, A.; Herzel, H.; Kramer, A. Molecular insights into human daily behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 1602–1607.
44. Arendt, J. *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*; University Press: Cambridge, UK, 1995; pp. 201–285.
45. Kunz, D.; Mahlberg, R. Melatonin: A Chronobiotic that not only Shifts Rhythms. In *Melatonin: Biological Basis of its Function in Health and Diseases*; Pandi-Perumal, S.R., Cardinali, D.P., Eds.; Landes Biosciences: Austin, TX, USA, 2004; pp. 1–11.
46. Hardeland, R. Melatonin in aging and disease—Multiple consequences of reduced secretion, options and limits of treatment. *Aging Dis.* **2012**, *3*, 194–225.
47. Mahlberg, R.; Tilmann, A.; Salewski, L.; Kunz, D. Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84. *Psychoneuroendocrinology* **2006**, *31*, 634–641.
48. Riemann, D.; Klein, T.; Rodenbeck, A.; Feige, B.; Horny, A.; Hummel, R.; Weske, G.; Al-Shajlawi, A.; Voderholzer, U. Nocturnal cortisol and melatonin secretion in primary insomnia. *Psychiatry Res.* **2002**, *113*, 17–27.
49. Rodenbeck, A.; Huether, G.; Ruther, E.; Hajak, G. Nocturnal melatonin secretion and its modification by treatment in patients with sleep disorders. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1999**, *467*, 89–93.
50. Hajak, G.; Rodenbeck, A.; Staedt, J.; Bandelow, B.; Huether, G.; Ruther, E. Nocturnal plasma melatonin levels in patients suffering from chronic primary insomnia. *J. Pineal Res.* **1995**, *19*, 116–122.
51. Mahlberg, R.; Walther, S.; Kalus, P.; Bohner, G.; Haedel, S.; Reischies, F.M.; Kuhl, K.P.; Hellweg, R.; Kunz, D. Pineal calcification in Alzheimer's disease: An *in vivo* study using computed tomography. *Neurobiol. Aging* **2008**, *29*, 203–209.
52. Skene, D.J.; Swaab, D.F. Melatonin rhythmicity: Effect of age and Alzheimer's disease. *Exp. Gerontol.* **2003**, *38*, 199–206.
53. Pandi-Perumal, S.R.; Bahammam, A.S.; Brown, G.M.; Spence, D.W.; Bharti, V.K.; Kaur, C.; Hardeland, R.; Cardinali, D.P. Melatonin Antioxidative Defense: Therapeutical Implications for Aging and Neurodegenerative Processes. *Neurotox. Res.* **2012**, doi:10.1007/s12640-012-9337-4.
54. Kunz, D. Chronobiotic protocol and circadian sleep propensity index: New tools for clinical routine and research on melatonin and sleep. *Pharmacopsychiatry* **2004**, *37*, 139–146.
55. Tzischinsky, O.; Shlitner, A.; Lavie, P. The association between the nocturnal sleep gate and nocturnal onset of urinary 6-sulfatoxymelatonin. *J. Biol. Rhythms* **1993**, *8*, 199–209.
56. Wirz-Justice, A.; Armstrong, S.M. Melatonin: Nature's soporific? *J. Sleep Res.* **1996**, *5*, 137–141.
57. Vandewalle, G.; Balteau, E.; Phillips, C.; Degueldre, C.; Moreau, V.; Sterpenich, V.; Albouy, G.; Darsaud, A.; Desseilles, M.; Dang-Vu, T.T.; *et al.* Daytime light exposure dynamically enhances brain responses. *Curr. Biol.* **2006**, *16*, 1616–1621.

58. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. *Graveyard Shift Work Linked to Cancer*; The Associated Press: London, UK, 2007.
59. Buysse, D.J.; Reynolds, C.F., III; Monk, T.H.; Berman, S.R.; Kupfer, D.J. The Pittsburgh Sleep Quality Index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* **1989**, *28*, 193–213.
60. Horne, J.A.; Ostberg, O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int. J. Chronobiol.* **1976**, *4*, 97–110.
61. Williams, J.B.W.; Link, M.J.; Rosenthal, N.E.; Amira, L.; Terman, M. *Structured Interview Guide for the Hamilton Depression Rating Scale- Seasonal Affective Disorder. Version (Sigh-SAD)*; New York State Psychiatric Institute: New York, NY, USA, 1992.
62. Mongrain, V.; Lavoie, S.; Selmaoui, B.; Paquet, J.; Dumont, M. Phase relationships between sleep-wake cycle and underlying circadian rhythms in Morningness-Eveningness. *J. Biol. Rhythms* **2004**, *19*, 248–257.
63. Bond, A.; Lader, M. The use of analogue scales in rating subjective feelings. *Br. J. Med. Psychol.* **1974**, *47*, 211–218.
64. Cross, E.M.; Chaffin, W.W. Use of binomial theorem in interpreting results of multiple tests of significance. *Educ. Psychol. Meas.* **1982**, *42*, 25–34.

© 2013 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

Lebenslauf

Amely Wahnschaffe geb. Tilmann

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

Publikationsliste: Amely Wahnschaffe, geb. Tilmann

1. Schildmann, J.; Bauer, A.; Tilmann, A.; Vollmann, J. [Patients' perspective on the quality of informed consent into psychopharmacological treatment in schizophrenia and depression]. *Fortschr Neurol Psychiatr* **2003**, *71*, 265-270.
2. Vollmann, J.; Kuhl, K.P.; Tilmann, A.; Hartung, H.D.; Helmchen, H. [Mental competence and neuropsychologic impairments in demented patients]. *Nervenarzt* **2004**, *75*, 29-35.
3. Kunz, D.; Mahlberg, R.; Muller, C.; Tilmann, A.; Bes, F. Melatonin in patients with reduced REM sleep duration: two randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**, *89*, 128-134.
4. Mahlberg, R.; Tilmann, A.; Salewski, L.; Kunz, D. Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84. *Psychoneuroendocrinology* **2006**, *31*, 634-641.
5. Brown, S.A.; Kunz, D.; Dumas, A.; Westermarck, P.O.; Vanselow, K.; Tilmann-Wahnschaffe, A.; Herzel, H.; Kramer, A. Molecular insights into human daily behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2008**, *105*, 1602-1607.
6. Wahnschaffe, A.; Haedel, S.; Rodenbeck, A.; Stoll, C.; Rudolph, H.; Kozakov, R.; Schoepp, H.; Kunz, D. Out of the lab and into the bathroom: evening short-term exposure to conventional light suppresses melatonin and increases alertness perception. *Int J Mol Sci* **2013**, *14*, 2573-2589.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Betreuer, Chef und Freund Dr. Dieter Kunz danken für die langjährige Zusammenarbeit, die mich mit längeren und kürzeren Unterbrechungen durch weiterführende Berufsausbildungen und Familiengründung seit meinem Studium begleitet. Er hat mir das Meiste an meinem Fachwissen im Bereich der Chronobiologie und des Schlafes vermittelt, mein Vertrauen in die eigenen Fähigkeiten gestärkt und mit unermüdlicher Schaffenskraft und über unüberwindbar erscheinende Hürden hinweg die Ressourcen zur Durchführung der Studien organisiert und gepflegt. Vor allem aber hat er im Labor für eine kooperative, humorvolle, dynamische und inspirierte Stimmung gesorgt, die mir bis heute Spaß an der Arbeit bringt. Für diese schöne Stimmung und die fruchtbare Zusammenarbeit in der Planung, Durchführung, Auswertung und Verschriftlichung der Studien danke ich auch unseren ehemaligen Kollegen Dr. Richard Mahlberg, Dr. Uta Eichmann und Carsten Loewy. Meiner ans Herz gewachsenen Kollegin Claudia Stoll danke ich für unser fröhliches Zusammenwirken in der Büro-WG mit ständiger Möglichkeit für Austausch, Rat und erfrischende Ablenkung, sowie ihre Durchsicht meiner Schriftstücke. Ich bedanke mich bei Susanne Dümchen für ihren Sprachverstand, ihr Organisationstalent und ihre leckeren Kuchen, bei Sven Hädel für die beleuchtungs- und computertechnische Rückendeckung, bei den studentischen Hilfskräften, allen voran Justyna Menke-Zumbrägel, für die Unterstützung bei der Durchführung der Licht-am-Abend-Studie bei Andrea Rodenbeck für den methodischen Sachverstand, bei Mirjam Münch für die detaillierte Beratung im Abschlussprozess der Dissertation und bei meinen neuesten Kollegen Eric Bes, Johannes Regente, Jan de Zeeuw für die Vorfreude auf die nächsten Jahre.

Ich bedanke mich bei meinen Eltern Job und Brigitte für die Liebe und Unterstützung bei meinem beruflichen Werdegang, bei meinem Bruder Frederik für die wissenschaftliche Beratung, bei meiner Freundin Julia, für ihren freundschaftlichen Beistand und ihr Englisch und bei meinen Freundinnen Maya, Kathrin, Johanna und Lisa dass sie immer wieder für mich da waren.

Bei meinem Mann Felix und unseren Töchtern Linda-Lou und Marilli entschuldige ich mich dafür, dass ich in letzter Zeit so wenig zu Hause und so viel im Schlaflabor war und ich danke Ihnen für das Glück meines Lebens, dass mir mehr Wert ist als aller beruflicher Erfolg.