

*Aus dem Institut für Neuroendokrinologie  
der Universität zu Lübeck*  
Direktor: Prof. Dr. J. Born

---

**Melatonin verbessert die neuroendokrine Schlafarchitektur**  
**von Blinden**

**Inauguraldissertation**  
**zur**  
**Erlangung der Doktorwürde**  
**der Universität zu Lübeck**

Vorgelegt von  
Markus Christian Herms  
aus Magdeburg

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	1
<b>1.1. Melatonin</b>	1
1.1.1. Rückblick	1
1.1.2. Makroskopische und mikroskopische Anatomie der Zirbeldrüse	2
1.1.3. Biosynthese des Melatonins und molekulare Eigenschaften	4
1.1.4. Der Melatoninmetabolismus	6
1.1.5. Neurophysiologische Mechanismen	7
1.1.6. Die Melatoninplasmakonzentrationen	10
1.1.7. Modifikation der Melatoninsekretion durch Licht	11
<b>1.2. Klinische Wirkung von Melatonin</b>	12
1.2.1. Melatonin, Schlaf und zirkadiane Rhythmik bei gesunden Probanden	12
1.2.2. Das Jet-Lag-Syndrom	14
1.2.3. Schichtwechsel-Schlafstörungen	14
1.2.4. Syndrom der verzögerten Schlafphase (delayed sleep phase syndrom)	15
1.2.5. Melatonin als Antioxidans	16
1.2.6. Melatonin und das Immunsystem	16
1.2.7. Nebenwirkungen	17
1.2.8. Wechselwirkungen mit anderen Pharmaka	18
<b>2. Fragestellung</b>	19
<b>3. Material und Methoden</b>	21
<b>3.1. Probanden</b>	21
<b>3.2. Schlaflabor</b>	21
<b>3.3. Versuchsaufbau und –prozedur</b>	22
<b>3.4. Grundlagen des Schlaf-EEGs</b>	23
3.4.1. Schlafregistrierung	25
<b>3.5. Blutentnahme und Hormonbestimmung</b>	25
<b>3.6. Fragebögen</b>	26
<b>3.7. Datenanalyse</b>	26
3.7.1. Schlaffragebögen	26
3.7.2. EEG-Registrierung	27
3.7.3. Hormonbestimmung	27

<b>4. Ergebnisse</b>	30
<b>4.1. Schlaf-EEG</b>	30
<b>4.2. Hormone</b>	32
4.2.1. Melatonin	32
4.2.2. ACTH und Cortisol	36
4.2.3. GH	40
<b>4.3. Subjektive Schlafbeurteilung</b>	42
<b>5. Diskussion</b>	43
<b>5.1. Der Einfluss von Melatonin auf den Schlaf</b>	43
5.1.1. Das Schlafprofil	43
5.1.2. Die subjektive Schlafqualität	45
<b>5.2. Das endogene Melatoninprofil bei Vollblinden</b>	46
5.2.1. Störungen bei Vollblinden	46
5.2.2. Der endogene Melatoninrhythmus und die Schlaf-Wach-Phasen	47
<b>5.3. Das neuroendokrine Profil</b>	49
5.3.1. Normalisierung des neuroendokrinen Profils von Vollblinden nach Melatoningabe	49
5.3.2. Die Bedeutung des SCN des Hypothalamus	49
5.3.3. Die Bedeutung der Schlafstadien für die neuroendokrine Aktivität	50
5.3.4. Melatonin und das HPA-System	52
<b>5.4. Schlaf und Gedächtnis</b>	53
<b>5.5. Resümee</b>	54
<b>6. Zusammenfassung</b>	55
<b>6.1. Hintergrund</b>	55
<b>6.2. Material und Methoden</b>	55
<b>6.3. Ergebnisse</b>	55
<b>7. Literaturliste</b>	57
<b>8. Anhang</b>	
<b>A. Abkürzungsverzeichnis</b>	I
<b>B. Schlaffragebogen</b>	II
<b>C. Danksagung</b>	IV
<b>D. Lebenslauf</b>	V

1. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. soc. Jan Born

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Andreas Moser

Tag der mündlichen Prüfung: 22.04.2005

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 22.04.2005

gez. Prof. Dr. med. Peter Dominiak

-Dekan der Medizinischen Fakultät-

# **Einleitung**

## **1.1. Melatonin**

### **1.1.1. Rückblick**

Die physiologische Funktion der meisten endokrinen Drüsen wurde zu Beginn des vergangenen Jahrhunderts geklärt. Im Gegensatz dazu ist die physiologische Bedeutung der Zirbeldrüse erst in den letzten Jahrzehnten und hier zunächst auch nur für gewisse Spezies erkannt worden.

Im Jahre 1958 gelang erstmals die Extraktion einer Substanz (N-Acetyl-5-Methoxytryptamin) aus der Zirbeldrüse eines Rindes, die zwei Jahre später den Namen Melatonin bekam (Lerner et al., 1958). Wurtmann et al., (1963) erkannten, dass die Melatoninsynthese in der Zirbeldrüse durch Lichteinfluss reguliert wird. In einer Studie konnte durch kurzzeitige Lichtbestrahlung eine Hemmung der Aktivität der N-Acetyltransferase und damit eine Supprimierung der Melatoninsynthese erreicht werden (Klein et al., 1971).

Anton-Tay et al., (1971) und Cramer et al., (1974) beschrieben die schlafanstoßende Wirkung des Melatonins bei normalen gesunden Probanden, womit das Interesse an dieser Substanz geweckt wurde. Von anderen Forschern wurde erkannt, dass der Beginn des nächtlichen Schlafs mit dem Anstieg der abendlichen Melatoninsekretion assoziiert ist und ein zirkadianer Rhythmus der Melatoninsekretion existieren muss (Lynch et al., 1975). Später wurde herausgefunden, dass die geregelte Ausschüttung des Melatonins in Abhängigkeit von der Tageszeit bei den meisten blinden Menschen nicht funktioniert und daraus Schlafstörungen resultieren können (Lewy und Newsome, 1983). Im Hinblick auf diese Erkenntnisse verabreichte man Blinden pharmakologische Melatonindosierungen, meist über einen Zeitraum von mehreren Tagen, und konnte damit einen positiven Effekt auf den Schlaf im Sinne einer verkürzten Einschlafzeit und einer Verlängerung der Gesamtschlafzeit ausüben (Dollins et al., 1994; Zhdanova et al., 1995). In der vorliegenden Studie soll u.a. untersucht werden, ob diese Ergebnisse durch einmalige orale Melatoningabe in pharmakologischer Dosis reproduziert werden können. Bei sehenden Menschen wurde nach pharmakologischer Melatoningabe eine Veränderung der Schlafarchitektur im EEG festgestellt (Tzischinsky und Lavie, 1994). In unserer Studie wird sich zeigen, ob diese Änderungen im EEG nach Melatoningabe auch bei den von uns untersuchten blinden Menschen auftreten.

Außerdem wurde dem Melatonin eine koordinative Rolle bei der Fortpflanzung von Säugetieren durch Beeinflussung des HPA-Systems zugesprochen (Tamarkin et al., 1985). In

anderen Studien wurden die Effekte exogener Melatoninzufuhr auf die endokrine Funktion auch beim Menschen untersucht (Wright et al., 1986). Von Interesse war auch, dass bei blinden Menschen mit gestörtem Freisetzungsprofil des Melatonins gestörte endokrine Aktivitätsmuster, insbesondere desynchronisierte Cortisolplasmaprofile, auffielen (Sack et al., 1991; Sack et al., 1992). Die Beeinflussung gestörter neuroendokriner Aktivitätsmuster bei blinden Menschen durch die Gabe von Melatonin im Vergleich zur Placebobedingung soll auch in der vorliegenden Studie von besonderem Interesse sein.

### 1.1.2. Makroskopische und mikroskopische Anatomie der Zirbeldrüse

Die Zirbeldrüse (Corpus pineale, Epiphysis cerebri) des Menschen ist ein zapfenförmiges, 8 - 12 mm langes, 3 - 6 mm breites und etwa 170 mg schweres Organ mit feingebuckelter Oberfläche. Sie ist Bestandteil des sogenannten Epithalamus des Gehirns und befindet sich an der Hinterwand des dritten Ventrikels oberhalb der Vierhügelplatte. Die Epiphysis cerebri ist durch zwei Stiele aus weißer Hirnsubstanz, den Habenulae, mit dem Dach des dritten Ventrikels verbunden.

Die arterielle Versorgung der Zirbeldrüse erfolgt über Gefäßästchen der Rami choroidei posteriores aus der Arteria cerebri posterior. Die Venen vereinigen sich zu einem Gefäß, welches in die Vena cerebri magna einmündet. Lymphgefäße der Zirbeldrüse sind nicht bekannt. Die Zirbeldrüse ist sympathisch über das obere Halsganglion und parasymphatisch über den Nucleus salivatorius superior versorgt. Außerdem treten marklose Nervenfasern, die Noradrenalin und Serotonin enthalten, in das Organ ein.

In der Zirbeldrüse sind Parenchymzellen und Bindegewebssepten stark miteinander durchflochten. Die Bindegewebssepten sind reich an Blutgefäßen und Nervenfasern. Bei den Parenchymzellen können mindestens zwei verschiedene Zellarten voneinander unterschieden werden: die Pinealzellen (Pinealozyten) und die Interstitialzellen. Die Pinealozyten, die mengenmäßig weit überwiegen, sind große helle Zellen mit großem Zellkern. Sie enthalten membranumhüllte Granula und Vesikel, die teils als Ort der Hormonbildung, teils als Hormonspeicher angesehen werden. Zu den hier produzierten Peptiden und Indolaminen gehört auch das Melatonin. In der Silberfärbung können die langen tentakelartigen Fortsätze der Pinealozyten sichtbar gemacht werden, die in der Nähe von Blutgefäßen mit Auftreibungen enden. Möglicherweise erfolgt über diesen Weg die Abgabe des Melatonins in den Blutkreislauf. Einige Autoren diskutieren aber auch die Ausbreitung des Hormons über den Liquor cerebrospinalis oder direkt über Nervenfasern, letzteres vor allem im Hinblick darauf, dass das von den Pinealozyten produzierte Serotonin innerhalb der Zirbeldrüse von Nervenfasern aufgenommen werden könnte (Ariens und Schade, 1965). Die Pinealozyten sind gruppenweise in einem Gitterwerk der

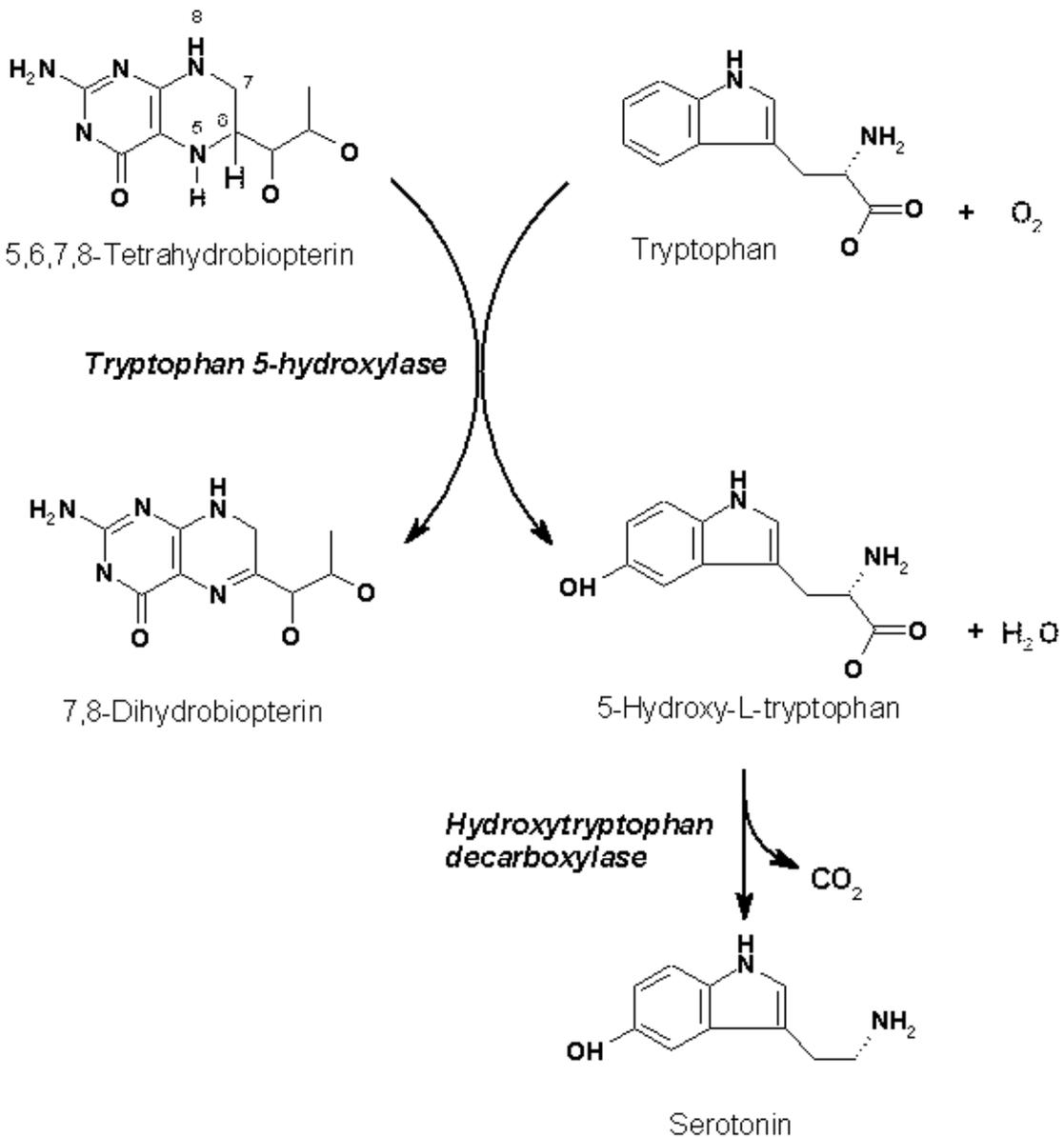
sogenannten Interstitialzellen, welche für fibrillenreiche Astrozyten gehalten werden, angeordnet. Auch die Interstitialzellen besitzen lange Fortsätze. Eine weitere Zellpopulation sind die Mastzellen, die in relativ geringer Dichte vorkommen und für den Histamingehalt des Organs verantwortlich sind.

Im Alter nimmt die Zahl und Dicke der Gliazellen zu. Diese üben im zentralen Nervensystem die Funktion eines Stütz- und Hüllgewebes aus, ähnlich wie das Bindegewebe im übrigen Körper. Herdweise bilden sich die Pinealozyten zurück und werden von den Gliazellen ersetzt. Dabei entstehen Zysten und Konkreme in der Zirbeldrüse. Die kugelförmigen, knollenartigen Konkreme bilden den Hirnsand, auch als Acervulus bezeichnet. Diese konzentrisch geschichteten Gebilde können später Kalksalze einlagern und zu Millimetergröße heranwachsen. So können sie als röntgenologische Orientierungspunkte bei Schädelaufnahmen dienen (Leonhardt et al., 1987).

### 1.1.3. Biosynthese des Melatonins und molekulare Eigenschaften

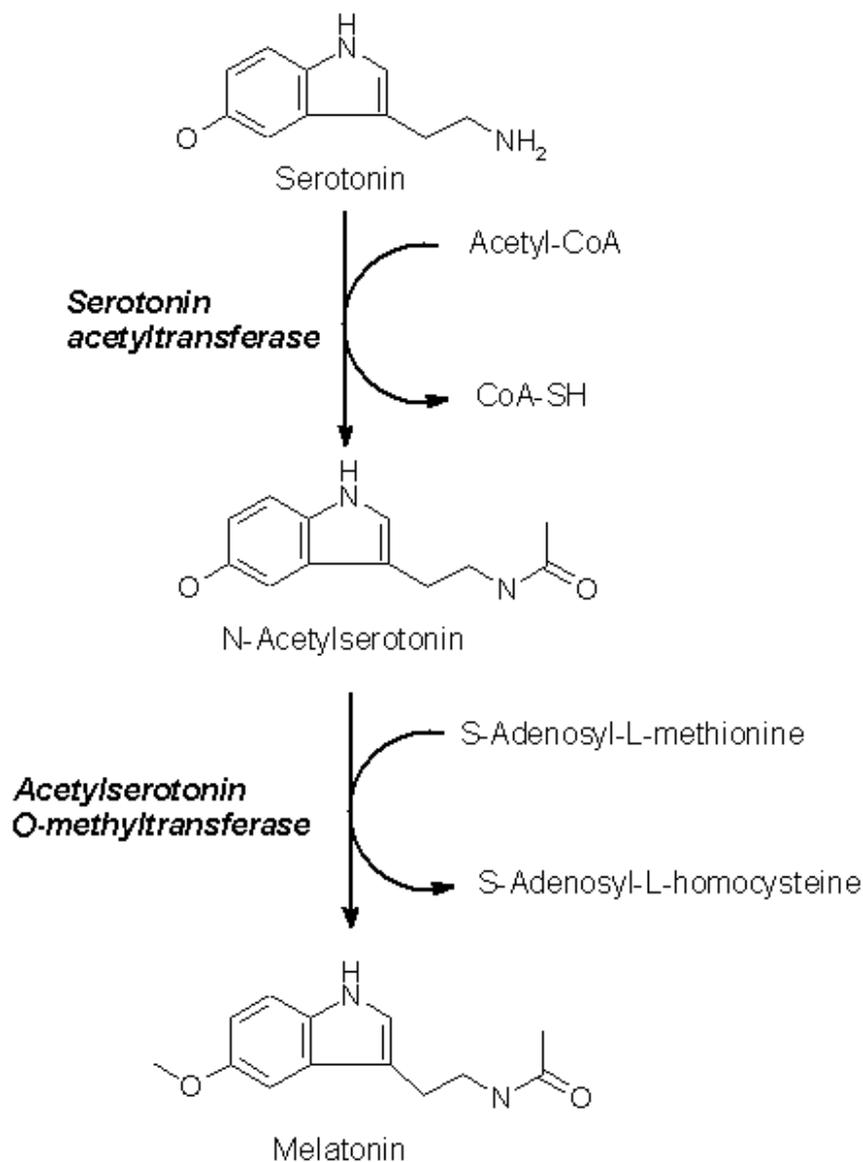
In der Biosynthese des Melatonins wird die Aminosäure Tryptophan mit Hilfe einer Hydroxylase in 5-Hydroxytryptophan umgewandelt. Diese Substanz wird zu Serotonin decarboxyliert. Tryptophan fungiert also als Vorstufe, sowohl bei der Serotonin- als auch bei der Melatoninsynthese (Abb. 1 und 2).

Abb.1: Serotoninsynthese aus Tetrahydrobiopterin und Tryptophan (King, 2003):



Die Synthese des Melatonins aus Serotonin wird durch zwei Enzyme katalysiert, die sich in hohen Konzentrationen in der Zirbeldrüse befinden. Dabei handelt es sich um die Arylalkylamin-N-acetyltransferase (Serotonin-N-Acetyltransferase) und die Hydroxyindol-O-methyltransferase (Axelrod und Weissbach, 1960; Coon et al., 1995). Der zirkadiane Rhythmus der Melatoninkonzentration im Blut wird durch die Aktivität der Serotonin-N-Acetyltransferase vermittelt (Klein et al., 1971; Moore und Klein, 1974). Dieses Enzym ist in die Biosynthese und Freisetzung des Melatonins involviert, wobei nur so viel Melatonin durch die Synthese bereitgestellt wird, wie jeweils vom Körper benötigt wird.

Abb. 2: Melatoninsynthese aus Serotonin (King, 2003):



Melatonin weist ein Molekulargewicht von 320 Dalton auf und ist extrem lipophil. Diese Eigenschaften führen dazu, dass Melatonin problemlos alle Zellmembranen und die Blut-Hirn-Schranke passieren kann.

#### 1.1.4. Der Melatoninmetabolismus

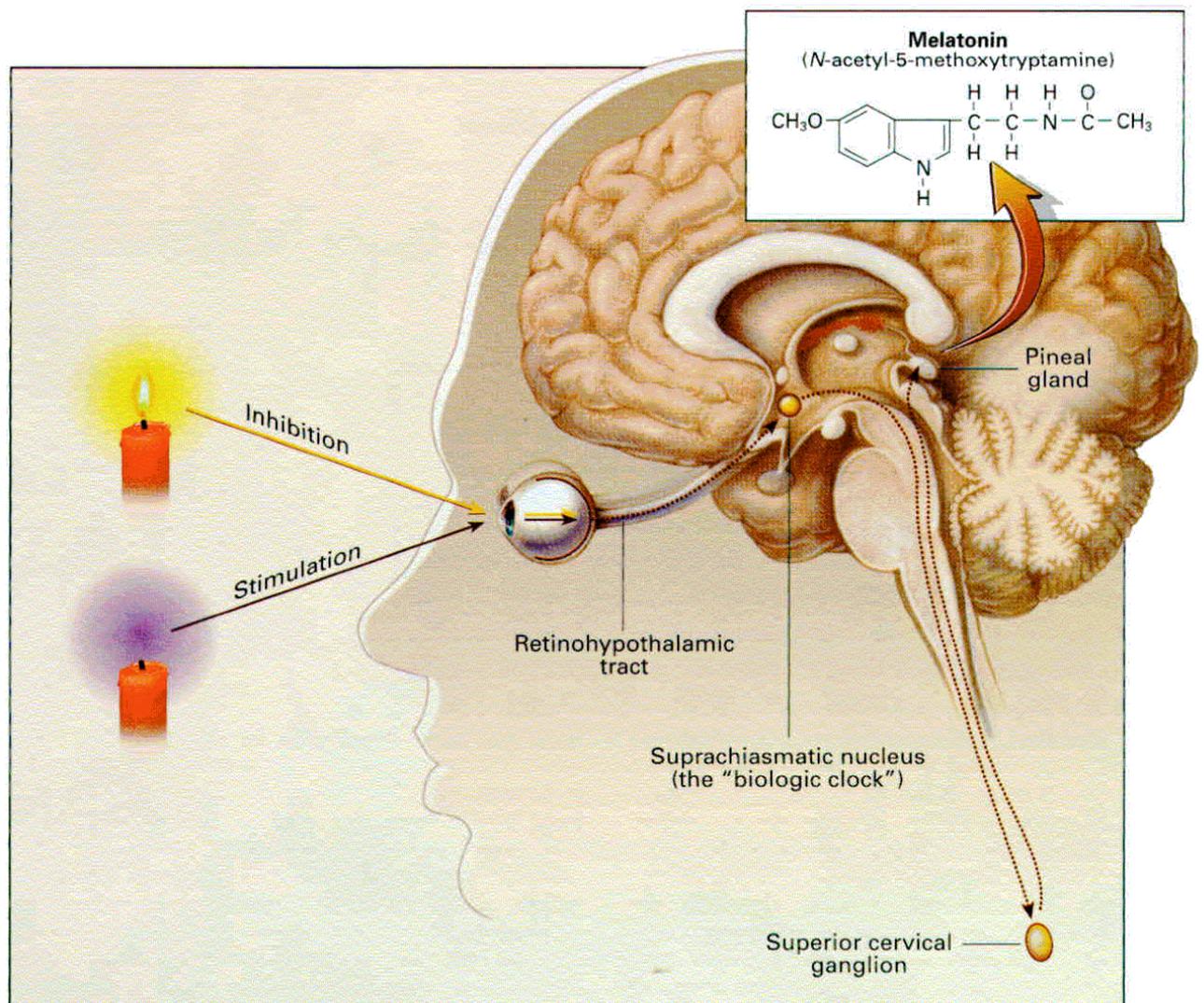
Melatonin ist im Serum zu 70 % frei und zu 30 % an Albumin gebunden (Cardinalli et al., 1972). Der ungebundene freie Anteil ist auch im Speichel nachweisbar. Die Speichelkonzentrationen des Melatonins sind deshalb niedriger als die Serumkonzentrationen. Meist besteht ein bestimmtes Verhältnis zwischen Serum- und Speichelkonzentrationen des Melatonins (Nowak et al., 1987; McIntyre et al., 1987). Allerdings wurden in der Vergangenheit auch Fälle beschrieben, in denen das Verhältnis zwischen Serum- und Speichelkonzentration des Melatonins nicht immer konstant war (Cavallo und Ritschel, 1996). Melatoninspeichelkonzentrationen sind daher mit Vorsicht zu interpretieren. Etwa 60 - 80 % des von der Zirbeldrüse freigesetzten Melatonins werden schnell metabolisiert, vorwiegend in der Leber. Nach Hydroxylierung und Konjugation wird es als 6-Hydroxymelatonininsulfat im Urin ausgeschieden. Die Urinkonzentrationen des 6-Hydroxymelatonininsulfats verhalten sich parallel zu den Serumkonzentrationen des Melatonins (Lynch et al., 1975). Aus diesem Grund gibt die Bestimmung des 6-Hydroxymelatonininsulfats im Morgenurin einen gut brauchbaren Parameter für die kumulative nächtliche Melatoninsekretion ab (Arendt et al., 1985; Bojkowski et al., 1987). Die zeitliche Dynamik der Melatoninsekretion kann damit selbstverständlich nicht beurteilt werden.

Die intravenöse Verabreichung von Melatonin führt zu einer sehr schnellen Verteilung und einem sehr schnellen Abbau der Substanz; die Serumhalbwertszeit liegt zwischen 0.5 und 5.6 Minuten. Nach oraler Gabe von kristallinem Melatonin in Gelatinekapseln wird die Substanz ebenfalls recht schnell absorbiert und schnell wieder aus dem Kreislauf eliminiert (Waldhauser et al., 1984). In einer Vielzahl von Studien wird die große interindividuelle Differenz in den maximalen Melatoninplasmaspiegeln bei gleicher verabreichter oraler Dosis erwähnt. Die Differenz zwischen den Spitzenkonzentrationen im Blut variiert dabei um das 20 - 40fache (Waldhauser et al., 1984; Aldhous et al., 1985). Dies wird hauptsächlich auf interindividuelle Unterschiede in der Absorption zurückgeführt, deren Ursache zur Zeit noch nicht geklärt ist.

### 1.1.5. Neurophysiologische Mechanismen

Zwischen der Retina und dem Hypothalamus besteht eine neuronale Verbindung, der Tractus retinohypothalamicus. Über diese Nervenbahn werden die Lichtreize von der Retina zum suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus geleitet, von hier ziehen Nervenfasern zu den oberen sympathischen Halsganglien und letztendlich zur Zirbeldrüse (Abb.3). Mit Hilfe dieser neuronalen Strukturen wird durch die höhere Lichtintensität während des Tages die Melatoninsynthese und -freisetzung aus der Zirbeldrüse gehemmt und während der Dunkelheit in der Nacht aktiviert (Brzezinski, 1997; Arendt, 2000).

Abbildung 3: Physiologie der Melatoninsekretion (aus Brzezinski, 1997)



An der Steuerung der Melatoninsynthese ist in großem Umfang der Hypothalamus und hier insbesondere der suprachiasmatische Kern des Hypothalamus beteiligt. Dieses Kerngebiet wirkt im Zusammenspiel mit dem Serotonin-System und der Epiphyse in dem Sinne, dass Lichtreize zu einer Erregung inhibitorischer Neurone führen, wodurch in der Epiphyse die Melatoninproduktion und -abgabe reduziert wird. Das vom suprachiasmatischen Kern verarbeitete Lichtsignal wird über paraventriculäre Kerne, das mediane Vorderhirn, die *Formatio reticularis* und die oberen Zervikalganglien an die Zirbeldrüse weitergeleitet (Brzezinski, 1997).

Neben den bekannten retinalen Photorezeptoren, den Stäbchen für das Erkennen von Helligkeitsunterschieden mit ihrem Sehfärbstoff, dem Rhodopsin, und den Zapfen für das Wahrnehmen von Farben mit ihren drei verschiedenen Sehfärbstoffen, den Jodopsinen, existiert eine dritte Art von vor kurzem entdeckten Ganglienzellen. Diese molekularen Lichtsensoren geben ein weiteres Farbpigment ab, welches als Melanopsin bezeichnet wird (Ruby et al., 2002; Gooley et al., 2001). Mit dem Beginn der Dunkelheit kommt es bedingt durch die verminderte Stimulation dieser retinalen Photorezeptoren zu einer vermehrten Freisetzung von Noradrenalin. Dadurch werden  $\alpha$ 1- und  $\beta$ 1-adrenerge Rezeptoren der Zirbeldrüse stimuliert, die zu einer Erhöhung von cAMP und konsekutiv zu einer vermehrten Kalziumfreisetzung führen. Diese Kaskade aktiviert das Enzym Serotonin-N-acetyltransferase, welches Serotonin in N-Acetylserotonin umwandelt, das dann durch die Acetylserotonin-O-Methyltransferase zu Melatonin methyliert wird. Die Aktivität der Serotonin-N-acetyltransferase ist damit indirekt lichtabhängig; je länger die Dunkelphase anhält, umso mehr wächst die Konzentration des N-Acetylserotonins und konsekutiv des Melatonins an (Moore und Klein, 1974; Lewy et al., 1980; Lewy et al., 1985). Folglich wird Melatonin fast ausschließlich in den Dunkelphasen gebildet (Vaughan et al., 1976). Lichtexpositionen, wie sie am Tage auftreten, führen dagegen zu niedrigen bis undetektierbaren Melatoninspiegeln. Aus diesem Grund sind die Serotoninspiegel der Epiphyse am Tage hoch und sinken nachts ab, während die Melatoninspiegel den umgekehrten Rhythmus zeigen. Die Folge ist ein zirkadianer Rhythmus des Melatonins im Serum mit tiefsten Spiegeln mittags zwischen 12.00 und 14.00 Uhr und einem Maximum nachts zwischen 0.00 und 2.00 Uhr. Der Transport des Melatonins aus der Epiphyse in den Blutstrom erfolgt durch passive Diffusion. Im Gegensatz zu vielen anderen Hormonen erfolgt die Freisetzung des Melatonins apulsatil (Trinchard Lugan und Waldhauser, 1989).

Auf zellulärer Ebene wurden in den letzten Jahren zwei membrangebundene Melatoninrezeptoren lokalisiert. Dabei handelt es sich um den hochaffinen Typ ML1 und den Typ ML2 mit geringerer Affinität (Morgan et al., 1994; Dubocovich, 1995). Der ML1-Rezeptor gehört zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Hauptsächlich über diesen Rezeptorsubtyp werden der zirkadiane Rhythmus und die Fortpflanzungsfunktionen vermittelt. Mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion gelang es, zwei Subtypen des ML 1-Rezeptors voneinander zu unterscheiden, die als ML 1a und ML 1b bezeichnet werden (Reppert et al., 1994). Der ML 1a-

Rezeptor wird in der Pars tuberalis und im suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus exprimiert, an den Orten, die für den zirkadianen Rhythmus und die Fortpflanzung verantwortlich sind. Auch in den Granulosazellen des menschlichen Gehirns wurde die mRNA von ML 1a-Rezeptoren nachgewiesen (Wetterberg, 1999). Der ML 1b-Subtyp des Melatoninrezeptors ist vor allem in der Retina und in geringerer Konzentration im Gehirn zu finden (Reppert et al., 1995). Vor allem in den Gliazellen und den Astrozyten des menschlichen Gehirns gelang der Nachweis von mRNA des ML 1b-Rezeptors (Wetterberg, 1999).

Über die Funktion des ML 2-Rezeptors, der eine geringere Affinität zum Melatonin als der ML 1-Rezeptor aufweist, ist noch wenig bekannt (Morgan et al., 1994; Dubocovich, 1995).

Durch die Interaktion mit seinem membrangebundenen Rezeptor verändert Melatonin die  $\alpha$ -Untereinheit eines spezifischen intrazellulären G-Proteins, welches dann an die Adenylatzyklase in der Zielzelle bindet und diese hemmt. Die Adenylatzyklase katalysiert die Umwandlung von ATP in cAMP. Durch die nun verminderte Konzentration von cAMP wird der Kalzium-Calmodulinkomplex gehemmt und damit eine entsprechende Wirkung auf Enzyme in der Zielzelle erreicht (siehe Abb. 4). Melatonin kann auch direkt im Intrazellulärraum oder am Zellkern aktiv werden. Durch die Bindung des Melatonins an das Calmodulin im Zytosol ist das Hormon in der Lage, vermittelt über eine Kalziumfreisetzung, mit Zielenzymen zu interagieren. Zu diesen Zielenzymen gehören die Adenylatzyklase und die Phosphodiesterase genauso wie Strukturproteine (Benitez-King und Anton-Tay, 1993). Die Bindungsstelle des Melatonins am Zellkern wird als Retinoid-Z-Rezeptor bezeichnet. Vermittelt über diesen Rezeptor soll es dem Melatonin möglich sein, freie Radikale, insbesondere die hochtoxischen Hydroxylradikale, durch Elektronentransfer zu neutralisieren. Dadurch würde Melatonin im Hinblick auf oxidativen Stress protektiv auf Makromoleküle des Zellkerns und vor allem auf die DNS wirken. Allerdings ist dieser Mechanismus nicht wissenschaftlich erwiesen.

Während einer mehrere Stunden andauernden Dunkelphase wird die Rezeptorzahl reduziert. Dies liegt daran, dass Melatonin, welches an seinen Rezeptor gebunden ist, zu einer verminderten Bildung von cAMP führt und damit zu einer Abnahme der mRNA für den ML 1a Rezeptor (Kokkola und Laitinen, 1998).

Das Vorhandensein von Melatoninrezeptoren wurde nicht nur in verschiedenen Regionen des menschlichen Gehirns nachgewiesen (Stankov et al., 1991), sondern auch im Gastrointestinaltrakt des Menschen (Lee und Pang, 1993) und in menschlichen Granulosazellen des Ovars (Yie et al., 1995). Von Viswanathan et al. (1990) konnten Melatoninrezeptoren in menschlichen Blutgefäßen nachgewiesen werden. Möglicherweise haben sie eine Funktion in der Regulation der kardiovaskulären Funktion oder der Beeinflussung der Körpertemperatur.

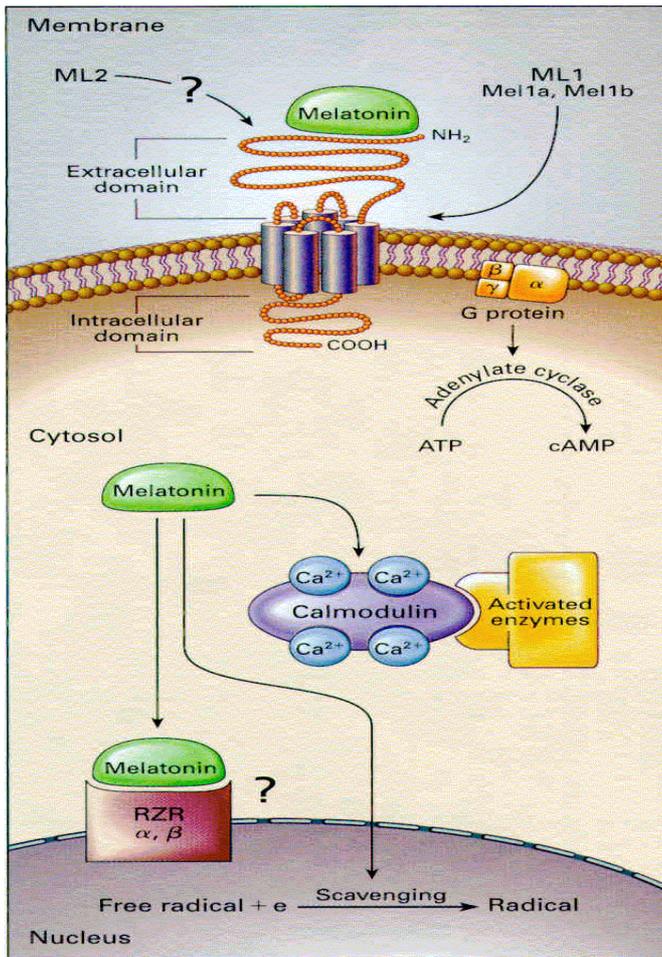


Abbildung 4: Vermittlung der Effekte des Melatonins auf zellulärer Ebene (aus Brzezinski, 1997)

### 1.1.6. Die Melatoninplasmakonzentrationen

Bei gesunden sehenden Menschen steigt mit dem Beginn der Dunkelheit das durch passive Diffusion in den Blutstrom gelangte Melatonin kontinuierlich an. In der Mitte der Nacht (zwischen 2.00 und 4.00 Uhr) erreichen die Plasmakonzentrationen einen Spitzenwert, anschließend sinken die Konzentrationen in der zweiten Nachthälfte auf einen Basiswert ab, der in den frühen Morgenstunden erreicht wird (Brzezinski, 1997). Ein Melatoninplasmaprofil für gesunde sehende Menschen ist in Abb. 5 auf Seite 35 dargestellt. Die Plasmakonzentration des Melatonins zeichnet sich sowohl durch eine große interindividuelle Variabilität (Brzezinski, 1997) als auch durch eine starke Altersabhängigkeit aus. Eine Studie mit 367 Probanden im Alter zwischen 3 Tagen und 90 Jahren von Waldhauser et al. (1988) stellte die Serumkonzentrationen des Melatonins in verschiedenen Altersgruppen dar. Die mittlere Plasmakonzentration des Melatonins bewegte sich in den ersten 6 Lebensmonaten auf einem niedrigen Niveau ( $117,6 \pm 23,3$  pmol/L), danach stieg sie

kontinuierlich bis zum Alter von 1 - 3 Jahren an ( $1419,5 \pm 180,9$  pmol/L). Anschließend fiel die Plasmakonzentration wieder ab, wobei sie im Alter von 15 - 20 Jahren einen durchschnittlichen Wert von  $269,3 \pm 38,8$  pmol/L erreicht. Sehr niedrige Werte wurden im hohen Alter zwischen 70 und 90 Jahren mit durchschnittlich  $125,8 \pm 26,3$  pmol/L gemessen. Die Ursache für den dramatischen Abfall der Melatoninkonzentration während der Kindheit könnte darin begründet liegen, dass die Zirbeldrüse im Kleinkindesalter bereits voll ausgebildet ist und nicht wie andere Drüsen erst im Laufe des Wachstums an Größe zunimmt. Die Drüse produziert beim Kleinkind anscheinend ebenso viel Melatonin wie beim Erwachsenen. Bedingt durch die Zunahme des Extrazellulärvolumens während des Wachstums verteilt sich die gleiche Menge Melatonin dann aber auf ein größeres Volumen. Bei jungen gesunden Erwachsenen beträgt die durchschnittliche Tages- und Nachtkonzentration 40 - 260 pmol/L (Brzezinski, 1997). Dabei ist die Melatoninkonzentration im Blut am Tage stets geringer als 22 pmol/L (Lewy und Markey, 1978). Dieser Wert liegt unterhalb der Sensibilitätsgrenze des Radioimmunoassays für Melatonin von gewöhnlich 43 pmol/L. Im Gegensatz zu vielen anderen Hormonen erfolgt die Freisetzung des Melatonins apulsatil (Trinchard-Lugan und Waldhauser, 1989).

#### 1.1.7. Modifikation der Melatoninsekretion durch Licht

Der normale zirkadiane Rhythmus des Melatonins kann durch veränderte Tageslichtbedingungen modifiziert werden (Czeisler et al., 1989). Das bedeutet, dass es nach Änderung der Dauer der Tageslichtbestrahlung bzw. Vor- oder Rückverlagerung des Beginns der Tageslichtbestrahlung, wie z.B. nach Interkontinentalflügen, zu einer Modifikation der Melatoninsekretion kommt. Auch helles künstliches Licht ist in der Lage, die Melatoninsekretion zu supprimieren (Klein und Weller, 1972; Lewy et al., 1980; Dollins et al., 1992). Die Stärke der Hemmung der Melatoninsekretion ist dabei dosisabhängig. So konnte experimentell nachgewiesen werden, dass künstliches Licht mit einer Stärke von 350 lux in der Lage ist, die Plasmakonzentrationen des Melatonins um 38 % zu senken. Durch noch helleres Licht von 3000 lux ist sogar eine Suppression um 71 % der Plasmakonzentration möglich. Die Suppression ist in der ersten Stunde nach Lichtbestrahlung am stärksten ausgeprägt. Eine weitere Lichteinwirkung hat nur noch einen geringen supprimierenden Effekt auf die Serummelatoninkonzentrationen (McIntyre et al., 1989).

Wie schon erwähnt, findet bei vollständig blinden Menschen in den meisten Fällen keine lichtabhängige Hemmung der Melatoninausschüttung statt. Dies führt zu einer unmodulierten und dem zirkadianen Rhythmus nicht angepassten Melatoninfreisetzung. Allerdings finden in der Literatur auch Fälle Erwähnung, in denen blinde Probanden trotz fehlender Lichtwahrnehmung eine lichtabhängige Hemmung ihrer Melatoninsekretion aufwiesen (Czeisler et al., 1995).

## **1.2. Klinische Wirkung von Melatonin**

### **1.2.1. Melatonin, Schlaf und zirkadiane Rhythmik bei gesunden Probanden**

Bereits 1960 berichteten Lerner und Case (1960) vom sedierenden Effekt des Melatonins, kurz nachdem es von dieser Gruppe erstmals beschrieben worden war. Auch Anton-Tay et al. (1971) beobachteten nach intravenöser Melatoningabe beim wachen Menschen Schlaf. Dies konnte von Cramer et al. (1972) nach intravenöser Verabreichung von 50 mg Melatonin bei jungen männlichen Probanden während des Tages bestätigt werden. In dieser Studie stellte sich der Schlaf ca. 15 - 40 Minuten nach der Verabreichung ein, dauerte 26 - 60 Minuten an und erreichte die Schlafstadien S3 und S4. Mit der Entwicklung moderner Nachweismethoden, wie dem Radioimmunoassay, konnte auch das entsprechende Abbauprodukt des Melatonins, das 6-Hydroxymelatonin-sulfat, im Urin nachgewiesen werden. Diese Messungen zeigten, dass die Melatoninproduktion beim Menschen mit dem nächtlichen Schlaf assoziiert ist (Lynch et al., 1975) und dass die Zunahme der abendlichen Melatoninkonzentrationen mit dem Schlafbeginn korreliert (Akerstedt et al., 1979; Zhdanova et al., 1994; Shochat et al., 1998). Vollrath et al. (1981) konnten auch mit einer intranasalen Applikation von 1.7 mg Melatonin eine hypnogene Wirkung erzielen. Waldhauser et al. (1990) untersuchten 20 Patienten mit durch nächtlichen Straßenlärm induzierter Insomnie, die 80 mg Melatonin um 21.00 Uhr oral verabreicht bekamen. Die polysomnographische Auswertung ergab, dass unter Melatonin signifikant die Einschlafzeit und die Häufigkeit des nächtlichen Erwachens abnahm und sich die Schlafeffizienz verbesserte. In der Schlafarchitektur zeigten sich eine Abnahme von S1 und eine Zunahme von S2.

Auch Studien, in denen niedrigere Dosierungen von Melatonin verwendet wurden, deckten schlafinduzierende Effekte auf. So zeigte sich in den Untersuchungen von Attenburrow et al. (1996) nach oraler Gabe von 1 mg Melatonin eine Zunahme der Gesamtschlafzeit, der Schlafeffizienz und des Non-REM-Schlafs. In der Studie von Zhdanova et al. (1995) wurden verschiedene orale Dosierungen (0.3 mg und 1.0 mg) miteinander verglichen. Dabei wiesen beide Dosierungsschemata nach oraler Gabe von Melatonin um 18.00 Uhr, 20.00 Uhr und 21.00 Uhr zu allen Zeitpunkten eine Verringerung der Einschlafzeit und Verminderung der Latenz zu S2 auf.

Es finden sich aber auch widersprüchliche Ergebnisse. In einer Untersuchung von James et al. (1987) konnte in einer doppelblinden, placebokontrollierten Studie mit oralen Melatonin-Dosierungen von 1 mg und 5 mg polysomnographisch kein signifikanter Effekt an 10 untersuchten Probanden festgestellt werden.

Eine orale Dosis von 5 mg Melatonin wurde auch von anderen Forschern in einer an 18 jungen Probanden durchgeführten Untersuchung verwendet. Das Besondere an dieser Studie war die Verabreichung des Melatonins zu verschiedenen Zeitpunkten um 12.00, 17.00, 19.00 und 21.00

Uhr. Je später der Zeitpunkt der Melatoningabe, desto größer die Aktivität der Deltaspindeln und umso geringer die Latenz zum schlafinduzierenden Effekt (Tzischinsky und Lavie, 1994).

Bei Suppression aller äußeren Zeitgeber stellt sich bei vielen Organismen ein zirkadianer Rhythmus mit einer Phasenlänge von 25 h ein (Wever, 1979). Dieser freilaufende Rhythmus repräsentiert die Existenz eines autonomen Rhythmus, der durch die biologische „innere Uhr“ gesteuert wird. Bei Säugetieren und beim Menschen ist diese „innere Uhr“ im suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus lokalisiert, der den zirkadianen Rhythmus vieler physiologischer Funktionen einschließlich der Körpertemperatur, der Schlafneigung, der Tagesaktivität und der Sekretion vieler Hormone, wie z.B. des Melatonins, steuert (Moore-Ede et al., 1983). Das photosensorische System des Menschen hat – abgesehen von der Verarbeitung von Bildern – die Aufgabe, mittels der oben schon genannten retinalen Photorezeptoren vom Typ des Melanopsin Lichtreize zum suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus weiterzuleiten. Hier erfolgt eine Anpassung des zirkadianen Rhythmus an einen 24-h-Rhythmus im Einklang mit dem äußeren Tag-Nacht-Rhythmus (Moore und Lenn, 1972). Dieser äußere Tag-Nacht-Rhythmus schließt bedeutende äußere Zeitgeber, wie soziale Interaktionen und Nahrungsaufnahme etc., mit ein (Mrosovsky, 1988). In Studien konnte nachgewiesen werden, dass Menschen, denen diese äußeren Zeitgeber, wie soziale Interaktionen oder Uhren, vorenthalten wurden, ihren ursprünglichen zirkadianen Rhythmus im Sinne einer Anpassung an einen 25-h-Rhythmus modifizierten. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Exposition der Probanden mit sehr hellem Licht eine schnelle und ausgeprägte Phasenverschiebung des zirkadianen Rhythmus hervorruft (Lewy et al., 1988).

Der zirkadiane Rhythmus der Melatoninsekretion wird vor allem durch die „innere Uhr“ im Hypothalamus gesteuert. Bemerkenswert ist, dass Melatonin ein Feedback auf die „innere Uhr“ ausübt und damit seine eigene Produktion beeinflussen kann. Diese Feedbackschleife führt dazu, dass nach oraler Verabreichung von Melatonin mit konsekutiver Erhöhung des Melatoninplasmaspiegels die endogene Produktion in der Epiphyse supprimiert wird. Normalerweise erfolgt die Melatoninsekretion während der Nachtstunden. Die abendliche Zunahme der Melatoninproduktion führt zu einem zunehmenden Schlafbedürfnis. Aus einer Melatoninsekretion während des Tages, wie sie bei einigen Störungen im zirkadianen Rhythmus beobachtet wird, resultieren eine erhöhte Tagesmüdigkeit und nächtliche Schlaflosigkeit. Dieser verschobene zirkadiane Rhythmus kann durch die exogene Gabe von Melatonin zu bestimmten Zeitpunkten in einen physiologischen Rhythmus rückverlagert bzw. vorverlagert werden.

### 1.2.2. Das Jet-Lag-Syndrom

Das Jet-Lag-Syndrom wird durch raschen Zeitonenwechsel verursacht. Hierbei treten Differenzen zwischen der eigenen „inneren Uhr“ mit den biologischen Rhythmen wie Körpertemperatur und Hormonhaushalt und dem äußeren Zeitgeber auf. Vor allem beim Überqueren mehrerer Zeitonen sind die Symptome besonders ausgeprägt und können bis zu einer Woche nach dem Zeitonenwechsel auftreten. Dabei fühlt sich der Betroffene zu nicht adäquaten Zeiten des Tages schläfrig oder wach, hungrig oder satt, und die physischen und psychischen Leistungen sind reduziert. Insbesondere die Tagesschläfrigkeit und die Konzentrationsstörungen werden von den Betroffenen als sehr störend empfunden. Melatonin kann dieses subjektiv unangenehme Gefühl des Jet-Lag-Syndroms verbessern, wobei die Einnahme des Melatonins zur Bettzeit am Ankunftsort empfohlen wird. Dies konnte an einer doppelblinden, placebokontrollierten Studie an 14 Probanden mit 5 mg Melatonin nachgewiesen werden (Armstrong et al., 1985). In einer anderen doppelblinden, placebokontrollierten Studie mit 5 mg Melatonin wurden 52 Probanden untersucht, die dem Flugpersonal angehörten (Petri et al., 1993). Auch in dieser Veröffentlichung wird von positiven Effekten des Melatonins berichtet, vorausgesetzt, es wird zum richtigen Zeitpunkt eingenommen, nämlich bis zu 5 Tage nach der Ankunft. Im Gegensatz dazu wurde in dieser Studie eine Verschlechterung gegenüber Placebo erreicht, wenn Melatonin 3 Tage vor und 5 Tage nach der Ankunft eingenommen wurde. Positive Ergebnisse wurden in einer Vielzahl von anderen doppelblinden, placebokontrollierten Studien mit der häufig verwendeten Melatonindosis von 5 mg nachgewiesen (Arendt und Marks, 1986; Arendt et al., 1987; Arendt et al., 1988; Arendt et al., 1995; Spitzer et al., 1999).

Eine milde Form des Jet-Lag tritt übrigens alljährlich zweimal zum Zeitpunkt der Umstellung der Uhren auf Sommer- bzw. Winterzeit auf.

### 1.2.3. Schichtwechsel-Schlafstörungen

Nachtschichtarbeiter berichten oft über Probleme, am Vormittag zu schlafen, und über die Kürze und Störanfälligkeit dieser Schlafepisoden während des Tages, die vor allem durch den erhöhten Lärmpegel, das Tageslicht oder erhöhte Raumtemperaturen hervorgerufen werden. Die dann eintretenden gesundheitlichen Störungen ähneln denen des Jet-Lag-Syndroms, so wie oben beschrieben, und sind auf eine gestörte, dem zirkadianen Rhythmus nicht angepasste Melatoninsekretion zurückzuführen (Waldhauser et al., 1986). In einer Studie wurden Melatoninprofile beim Klinikpersonal untersucht (Sack et al., 1994), welches eine Woche lang in einer sogenannten „7-70“-Schicht eingeteilt war (7 Tage mit 10 Stunden Arbeitszeit zwischen

21.30 und 7.30 Uhr, alternierend mit 7 freien Tagen). Nach einer Woche Nachtarbeit zeigten von 15 Probanden 7 keine Veränderung ihres normalen zirkadianen Rhythmus, 3 eine Phasenvorverlagerung und 5 eine Phasenverzögerung. Insgesamt war im Durchschnitt bei allen Probanden der Schlaf in der Arbeitswoche um 73 Minuten verkürzt. Diejenigen Probanden, die ihren Melatonin-Rhythmus anpassen konnten, hatten auch eine höhere Schlafeffizienz während des Tages. In der doppelblinden, placebokontrollierten Versuchsanordnung erhielten die Probanden sodann 0.5 mg Melatonin oder Placebo. Fünf Probanden veränderten ihren zirkadianen Rhythmus im Sinne einer Annäherung an die neuen äußeren Bedingungen sowohl nach Melatonin als auch nach Placebo, während sechs Probanden eine differenzierte Veränderung zeigten, indem sie größere Verschiebungen nach Melatonin als nach Placebo aufwiesen, jeweils durch Phasenvorverlagerung oder -verzögerung in Richtung des neuen äußeren Zeitgebers. Die Befunde weisen darauf hin, dass es unter Schichtarbeitern eine hohe Varianz in ihrer Anpassungsfähigkeit an wechselnde Schichten gibt und dass Melatonin diesen Anpassungsvorgang unterstützen kann.

#### 1.2.4. Syndrom der verzögerten Schlafphase (delayed sleep phase syndrome)

Patienten mit chronisch verzögerten endogenen Rhythmen können erst spät in der Nacht einschlafen und sind dafür in den Vormittags- und Mittagsstunden des darauffolgenden Tages müde und in ihrer Arbeitsfähigkeit eingeschränkt.

In einer Studie an 8 Probanden zeigte sich nach vierwöchiger Verabreichung von 5 mg Melatonin, verglichen mit Placebo, eine signifikante Vorverschiebung des Schlafbeginns (82 Minuten) und eine Reduktion der nächtlichen Wachzeit. Hierbei verabreichte man das Melatonin um 22.00 Uhr, 5 Stunden vor dem üblichen Schlafbeginn (Dahlitz et al., 1991). Diese Studie unterstützt die Annahme, dass die exogene Zufuhr von Melatonin auch bei dieser Form der Schlafstörung positive Effekte ausüben kann.

Abgegrenzt von dieser Form der Schlafstörung wird auch noch eine ganz ähnliche Form, das Syndrom der vorverlagerten Schlafphase (advanced sleep phase syndrome). Von dieser Form der Schlafstörung sind im Gegensatz zum delayed sleep phase syndrome vorwiegend ältere Menschen betroffen, die dann meist schon in den Nachmittagsstunden müde werden, dafür aber in den frühen Morgenstunden wach und ausgeschlafen sind.

### 1.2.5. Melatonin als Antioxidans

Wie oben schon erwähnt, ist Melatonin möglicherweise in der Lage, als Antioxidans und freier Radikalfänger zu fungieren (Reiter, 1998). Auf diese Weise könnte es eine protektive Wirkung im Hinblick auf oxidativen Stress auf das zentrale Nervensystem ausüben. Diese protektive Wirkung zeigt sich allerdings erst bei relativ hohen Plasmakonzentrationen des Melatonins. Nicht nur Melatonin selbst ist wirksam gegen oxidativen Stress, sondern auch seine Vorläufersubstanz N-Acetylserotonin. Möglicherweise kann Melatonin, vermittelt über eine Stimulation der mRNA, eine Erhöhung der Aktivität der Glutathionperoxidase und der Superoxiddismutase herbeiführen und damit die antioxidative Kapazität erhöhen. Beschrieben wurde auch eine prophylaktische Wirkung bei der Alzheimer-Erkrankung, bedingt durch die Reduktion der Toxizität des Amyloid-Beta-Proteins. Auch ein schützender Effekt vor der Parkinson-Erkrankung, vermittelt über eine Reduktion von DNS-Schäden durch oxidativen Stress, wurde beschrieben. Insbesondere die beiden zuletzt genannten Fähigkeiten sind jedoch nicht hinreichend wissenschaftlich bewiesen.

### 1.2.6. Melatonin und das Immunsystem

Erste Veröffentlichungen über die Zusammenhänge zwischen dem Immunsystem und der Zirbeldrüse präsentierten Csaba und Mitarbeiter und andere (Csaba et al., 1965; Csaba et al., 1968; Csaba, 1975; Jankovic et al., 1975). Sie erkannten, dass es nach der chirurgischen Entfernung der Zirbeldrüse neugeborener Ratten zu einer Umstrukturierung von Thymuszellen kam. Später setzten andere Autoren Mäuse über mehrere Generationen hinweg konstanter Lichtbestrahlung aus (Maestroni und Pierpaoli, 1981). Die dritte und vierte Generation dieser Mäuse war in ihrer Antikörperausschüttung auf T-Zell-vermittelte Antigene beeinträchtigt. Außerdem zeigten sich ein Zellverlust der Thymusrinde sowie eine Atrophie der weißen Milzpulpa, was konsekutiv zu einer immunologischen Insuffizienz, vor allem die zelluläre Immunität betreffend, führte. In einer anderen Studie mit Mäusen wurde durch die abendliche Gabe des Betablockers Propranolol eine Supprimierung der Melatoninsynthese erreicht, daraus resultierten eine verminderte primäre Antikörperantwort sowie eine reduzierte lymphozytäre Reaktion (Maestroni et al., 1986). Die abendliche Verabreichung von Melatonin kehrte diese Effekte um.

In einer Vielzahl von weiteren Studien erwies sich Melatonin als ein Stimulator der T-Zellen mit einer konsekutiv vermehrten Freisetzung von IL-2, IL-4 und  $\gamma$ -Interferon. Man postulierte, dass vor allem T-Lymphozyten und Makrophagen durch Melatonin stimuliert werden (Lissoni et al., 1993; Maestroni, 1995).

Die Freisetzung des Melatonins aus der Zirbeldrüse erfolgt über die Stimulation von  $\beta$ -Rezeptoren (McLeod und Cairncross, 1995). Eine Blockade dieser Rezeptoren mit dem  $\beta$ -Blocker Propranolol, insbesondere in Kombination mit dem  $\alpha^2$ -Agonisten Clonidin, führte in einer Studie zu einer Suppression der peripheren Blutlymphozyten. In dieser Studie konnte auch gezeigt werden, dass endogenes Melatonin in der Lage ist, der Suppression der peripheren Blutlymphozyten entgegenzuwirken (Liebmann et al., 1997). Insbesondere durch die Erhöhung der Konzentration natürlicher Killerzellen ist Melatonin in der Lage, den immunsupprimierenden Effekten des Kortisols entgegenzuwirken. Die vorliegenden Studienergebnisse untermauern, dass Melatonin eine nicht unbedeutende Rolle in der Regulation von Immunvorgängen spielt. Allerdings sind die dabei ablaufenden Mechanismen sehr komplex und längst nicht vollständig aufgedeckt, so dass auch hier ein großer Forschungsbedarf besteht.

### 1.2.7. Nebenwirkungen

Je nach Dosierung treten die physiologischen Wirkungen des Hormons mehr oder weniger in den Vordergrund. Dazu gehören ein sedierender und anxiolytischer Effekt (Liebermann et al., 1984; Zhdanova et al., 1995) und eine bei hochdosierter Melatoningabe auftretende Abnahme der Körperkerntemperatur (Dollins et al., 1994; Satch und Mishima, 2001).

Ein konstanter Effekt, der auch in mehreren Studien immer wieder bestätigt wurde, ist die Erhöhung des basalen Prolaktinspiegels um ca. 100% nach einmaliger Melatoningabe (Waldhauser et al., 1987; Terzolo et al., 1991). Eine Arbeitsgruppe berichtete, dass sich nach oraler Gabe von sehr hohen Melatoninindosierungen (300 mg/d) über einen Zeitraum von mehreren Monaten eine Suppression der Gonadotropin- und Östradiolspiegel zeigte (Voordouw et al., 1992). In einer anderen Studie wird eine dosisabhängige Beeinflussung von Oxytocin und Vasopressin bei 8 jungen gesunden Männern beschrieben. Die niedrige Melatoninindosis von 0.5 mg bewirkte eine Stimulation der Freisetzung von Oxytocin und Vasopressin. Im Gegensatz dazu verringerten sich die Konzentrationen der beiden Hormone nach einer höher dosierten Melatoningabe von 5 mg (Forsling et al., 1999). In einer Vielzahl von Studien ist nach kurzzeitiger Gabe von hohen Melatoninindosierungen keine Beeinflussung von Gonadotropin, Testosteron, Wachstumshormon, Cortisol und TSH festgestellt worden (Waldhauser et al., 1987; Wright et al., 1986).

Die Arbeitsgruppe von Langer et al. (1997) konnte keinen Einfluss der Melatoningabe auf andere Laborparameter, wie z.B. Ionogramm, Transaminasen und Nierenparameter, feststellen. Tierexperimentell war es nicht möglich, die letale Melatoninindosis für Ratten und Mäuse herauszufinden. Bei den aus physikalischen Gründen maximal verabreichbaren Melatoninindosen von 800 mg trat der Tod der Versuchstiere nicht ein (Sudgen, 1983).

Nach sorgfältiger Durchsicht der Literatur finden sich häufiger Angaben über Hypothermie, verlängerte Reaktionszeit und morgendliche Müdigkeit auch nach geringen Dosierungen, des weiteren Begleiterscheinungen wie Hautrötungen, Bauchkrämpfe, Durchfälle und migräneartige Kopfschmerzen nach höheren Melatoninindosierungen.

Es existieren allerdings nur wenige Studien, die sich mit der langfristigen Gabe von Melatonin auseinandersetzen (Ninomiya et al., 2001). Hier besteht offensichtlich noch ein großer Forschungsbedarf. Allerdings sollte nicht unerwähnt bleiben, dass eine unabsehbare Zahl von Amerikanern seit einigen Jahren Melatonin als "Life-style"-Medikament konsumiert. Dieses Verhalten wurde sicherlich durch die in den Medien teilweise überaus positiv dargestellten vielfältigen Einsatzmöglichkeiten des Melatonins gefördert, die aber größtenteils auf keiner wissenschaftlichen Grundlage beruhen. Hinzu kommt sicher auch die freie Verkäuflichkeit und damit die leichte Verfügbarkeit des Melatonins in den USA, das dort in jedem Supermarkt erhältlich ist.

#### 1.2.8. Wechselwirkungen mit anderen Pharmaka

Verschiedene Pharmaka sind in der Lage, die Melatoninplasmaspiegel zu beeinflussen. So können Benzodiazepine die nächtlichen Melatoninplasmaspiegel reduzieren und die Tagesspiegel erhöhen. Dieser Einfluss ist dosisabhängig. McIntyre et al. (1988) zeigten, dass nach Gabe von 0.5 mg Alprazolam keine Melatonin-Suppression erfolgte, wohl aber nach einer 2 mg-Alprazolam-Dosis. Einige Autoren (George et al., 1989; Schneider-Helmert und Spinnweber, 1986) sind der Auffassung, dass die Tagesmüdigkeit und die Rebound-Insomnie nach Benzodiazepingabe durchaus auf die Interaktion mit Melatonin zurückgeführt werden könne. Auch die intravenöse Gabe von L-Tryptophan, welches einschlaflfördernd wirkt, führt zu einer Erhöhung des Melatoninplasmaspiegels (Graf und Kastin, 1986). Andererseits verursachen Betablocker (Brismar et al., 1988) und nicht-steroidale Antiphlogistika wie das Aspirin (Murphy et al., 1993) eine Abnahme der Melatoninplasmaspiegel, bedingt durch eine Abnahme der Aktivität der Serotonin-N-Acetyltransferase. Antidepressiva vom Typ der selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmer bewirken ebenfalls eine Abnahme der Melatoninplasmaspiegel, auch vermittelt über eine Hemmung der Serotonin-N-Acetyltransferase, deren Aktivität durch erhöhte Serotoninplasmaspiegel reduziert wird. Umgekehrt aktivieren Noradrenalinagonisten über  $\alpha$ 1- und  $\beta$ 1-adrenerge Rezeptoren der Zirbeldrüse dieses Enzym mit einem konsekutiven Anstieg der Melatoninplasmakonzentrationen. Die Ursache für die vielfältigen Interaktionsmöglichkeiten liegt darin, dass die Melatoninsekretion durch viele unterschiedliche Rezeptoren für Neurotransmitter und Hormone geregelt wird.

## **2. Fragestellung**

Vollblinde Menschen mit fehlender neuronaler Reizübertragung zwischen Retina und Epiphyse weisen häufig einen desynchronisierten und unmodulierten Melatoninrhythmus auf, der sich auch außerhalb der normalen Phasenlänge von 24h befinden kann. Da eine geregelte, dem Tag-Nacht- Rhythmus angepasste Ausschüttung des Melatonins u.a. wichtige Voraussetzung für einen ungestörten Nachtschlaf ist, resultieren bei Störungen in diesem System in einer Vielzahl der Fälle massive Schlafstörungen.

Neben dem unphysiologischen Freisetzungsprofil des Melatonins wurden in früheren Studien auch gestörte neuroendokrine Aktivitätsmuster, insbesondere desynchronisierte Cortisolplasmaprofile, bei vollblinden Menschen beschrieben (Sack et al., 1991; Sack et al., 1992; Lockley et al., 2000). Es ist bekannt, dass die Sekretionsmuster von ACTH und Cortisol u. a. durch den Melatoninrhythmus beeinflusst werden (Born und Fehm, 1998; Van Cauter et al., 1998). Vor diesem Hintergrund ergaben sich für die vorliegende Studie folgende Fragestellungen:

1. *Inwieweit kommt es durch die einmalige orale Gabe von Melatonin im Vergleich zur Placebobedingung zu einer Änderung neuroendokriner Aktivitätsmuster wie der Ausschüttung von ACTH, Cortisol oder GH?*

In früheren Studien mit vollblinden Menschen konnte durch die orale Gabe von Melatonin, meist über einen Zeitraum von mehreren Tagen, ein positiver Effekt auf die Schlafqualität und –quantität im Sinne einer Verkürzung der Einschlafzeit (Dollins et al., 1994; Zhdanova et al., 1995) und einer Verlängerung der Gesamtschlafzeit erreicht werden (Tzischinsky und Lavie, 1994).

2. *Können diese Ergebnisse durch einmalige orale Melatoningabe bei den von uns untersuchten vollblinden Menschen reproduziert werden?*

In früheren Studien konnte durch die orale Gabe von 5 mg Melatonin bei gesunden sehenden Menschen eine Änderung der Schlafarchitektur mittels EEG-Aufzeichnung festgestellt werden (Tzischinsky und Lavie, 1994).

3. *Lassen sich bei den von uns untersuchten blinden Menschen durch die Melatoningabe Änderungen der Schlafarchitektur im Vergleich zur Placebobedingung erreichen?*

Es existieren nur wenige Studien, in denen über die von den Probanden nach Melatoningabe subjektiv empfundene Schlafqualität berichtet wird (Leppamaki et al., 2003).

4. *Kommt es neben der durch EEG messbaren Änderung des Schlafs auch zu einer von den Probanden empfundenen Verbesserung der Schlafqualität?*

Im Hinblick auf die zu verwendende Melatoninindosierung fällt auf, dass in früheren Studien häufiger hohe Melatoninindosierungen von 5 mg verwendet wurden. Hiermit war nicht nur eine Beeinflussung des Schlafs, sondern auch der Hormonfreisetzung, insbesondere der

Cortisolsekretion, möglich (Tzischinsky und Lavie, 1994; Kostoglou-Athanassiou et al., 1998; Lockley et al., 2000). Deshalb haben wir uns in unserer Studie für die orale Gabe von 5 mg Melatonin entschieden.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1. Probanden**

Es stellten sich 12 blinde Menschen im Alter von 21 - 55 Jahren zur Verfügung. Dabei handelte es sich um 6 Frauen und 6 Männer, die freiwillig und gegen Auszahlung einer Aufwandsentschädigung am Versuch teilnahmen. Zum Versuch wurden nur Probanden zugelassen, die Nichtraucher waren, in den sechs Wochen vor dem Versuch keine Nacharbeit leisteten und keine Medikamente einnahmen. Ausschlusskriterien für die Teilnahme am Versuch waren psychiatrische, neurologische, kardiovaskuläre, pulmonale, endokrinologische und gastroenterologische Erkrankungen. Es wurden nur Probanden zugelassen, deren Blindheit eine beidseitige Schädigung der Retina oder des Nervus opticus zugrunde lag. Unter diesen Bedingungen war die Weiterleitung von Lichtreizen zur Zirbeldrüse über den Tractus retinohypothalamicus, einen den Nervus opticus begleitenden Nervenstrang, unmöglich.

Die Probanden wurden instruiert, einige Tage vor der Untersuchung einem geregelten Tagesablauf nachzugehen, d.h., dass Schlafens- und Aufwachzeiten möglichst geringen Schwankungen unterworfen sein sollten. Am Tage vor der Versuchsnacht sollten die Probanden keine koffeinhaltigen und alkoholischen Getränke zu sich nehmen, die letzte Mahlzeit vor Beginn der Testnacht sollte zur Mittagszeit eingenommen werden und danach war nur noch das Trinken von Mineralwasser gestattet.

Die notwendigen Informationen über den Versuch und die entsprechenden Ausschlusskriterien für die Studie wurden den Versuchsteilnehmern in einer für sie lesbaren Form einige Tage vor der Eingewöhnungsnacht zugesandt. Eine Einverständniserklärung lag anbei und sollte zur Eingewöhnungsnacht unterschrieben mitgebracht werden.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Lübeck genehmigt.

### **3.2. Schlaflabor**

Die Versuchsnächte wurden im Schlaflabor der Klinischen Forschergruppe der Universitätsklinik Lübeck durchgeführt. Als Schlafräum für die Probanden stand dort ein elektrisch abgeschirmter, schallgeschützter Raum zur Verfügung, der mit Hilfe einer Infrarotkamera überwacht werden konnte. Als Schlafgelegenheit diente ein übliches Krankenhausbett, das auf Wunsch des Versuchsteilnehmers entsprechend verstellt wurde. Neben dem Bett befand sich eine ca. 10 x 10 cm messende Öffnung in der Wand, die als Verbindung zum Nebenraum diente. Durch

diese Öffnung wurde die Verbindung zwischen Proband und EEG-Schreiber gesichert und die Möglichkeit der Blutentnahme aus dem Nebenraum über einen ca. 200 cm langen Druckschlauch gewährleistet. So wurde der Schlafende durch die Blutentnahmen nicht beeinflusst. Die Öffnung konnte während der Schlafenszeit mit Schaumstoff ausgekleidet werden, so dass der Proband von Geräuschen aus dem Nebenraum abgeschirmt blieb.

### **3.3. Versuchsaufbau und –prozedur**

Jeder Proband verbrachte insgesamt 3 Nächte im Schlaflabor. Die erste Nacht diente als Eingewöhnungsnacht und ging nicht in die Auswertung ein. Der Proband nächtigte dabei unter denselben Bedingungen wie in den darauffolgenden Testnächten, d. h. mit EEG-Registrierung, Venenverweilkanüle etc.

In den beiden Testnächten wurde den Probanden in einer Nacht Placebo und in der anderen Nacht 5 mg Melatonin in Form einer Tablette verabreicht. Die Abfolge war über die Probanden hinweg ausbalanciert. Die Studie wurde doppelblind durchgeführt.

Das freie Intervall zwischen der Eingewöhnungsnacht und der ersten Testnacht wurde so gering wie möglich gehalten. Das Intervall zwischen der ersten und der zweiten Testnacht betrug ca. 14 Tage. Für den Fall, dass die Probanden in der ersten Testnacht Melatonin bekamen, sollte sich dieses auf gar keinen Fall auf die zweite Testnacht auswirken. Andererseits sollte der Abstand zwischen den Testnächten nicht zu groß sein, um die Wahrscheinlichkeit intraindividuelle Verschiebungen des Schlaf-Wach-Rhythmus und des zirkadianen Rhythmus so gering wie möglich zu halten.

Nach Eintreffen der Versuchsteilnehmer gegen 21.00 h wurden diese nach der Einhaltung der Versuchsbedingungen befragt. Nachdem sich die Probanden für die folgende Nacht vorbereitet hatten, wurden ihnen 10 EEG-Elektroden nach dem 10/20-System nach Jasper (siehe 3.4.1.) zur Schlaf-EEG-Ableitung am Kopf fixiert. Nach dem Legen einer Venenverweilkanüle konnte die erste Blutprobe gewonnen werden. Gegen 22.00 h also ca. eine Stunde vor dem Zubettgehen, erhielten die Probanden das jeweilige Medikament als Tablette, entweder Placebo oder 5 mg Melatonin. Eine halbe Stunde nach Einnahme des Medikaments wurde eine weitere Blutprobe entnommen. Nachdem sich die Probanden zu Bett gelegt hatten, wurden die am Kopf fixierten EEG-Elektroden mit dem EEG-Schreiber verbunden, und die vorher gelegte Venenverweilkanüle konnte nun an einen ca. 200 cm langen Druckschlauch angeschlossen werden, der in den Nebenraum führte und über den die Blutentnahmen erfolgten. In den Intervallen zwischen den Blutentnahmen diente eine 0,9 %ige Ringer-Lösung, die mit einer Geschwindigkeit von ca. 55 ml/h infundiert wurde, zum Offenhalten der Kanüle. Die Kanüle wurde zusätzlich zum Schutz vor

Bewegungen mit einer elastischen Binde gesichert und der dazugehörige Druckschlauch so gelegt, dass der Proband während des Schlafs möglichst nicht beeinträchtigt wurde.

Gegen 23.00 h wurde das Licht gelöscht, und die nun folgende Nachtruhe währte bis 7.00 h. Danach hatten die Probanden die Aufgabe, anhand eines Fragebogens den vorherigen Tag und den Schlaf der vergangenen Nacht zu beurteilen.

### **3.4. Grundlagen des Schlaf-EEGs**

Durch die Entwicklung der Elektroenzephalographie (EEG) im Jahre 1929 war man erstmals in der Lage, Gehirnfunktionen eines Probanden während des Schlafs zu erfassen. Der Schlaf wird grob in REM-Schlaf („rapid eye movements“) und Non-REM-Schlaf unterteilt. Diese Einteilung besteht seit der Entdeckung von Aserinsky und Kleitmann (1953), die erstmals über rhythmische, wiederkehrende schnelle Augenbewegungen (REMs) während des Schlafs berichteten. Der Non-REM-Schlaf wird in vier weitere Stadien (S1-S4) gegliedert, die sich durch die jeweils vorherrschende elektrophysiologische Aktivität voneinander unterscheiden.

Von Rechtschaffen und Kales (1967) wurden die heute gültigen und international anerkannten Kriterien zur Bestimmung der Schlafstadien mittels Elektroenzephalogramm (EEG), Elektromyogramm (EMG) und Elektrookulogramm (EOG) festgelegt.

Dementsprechend dominiert im entspannten Wachstadium (W), bei geschlossenen Augen, der Anteil der Alpha-Wellen (8 - 13 Hz, 20 - 50  $\mu$ V). Es überwiegt eine flache gemischt-frequente EEG-Aktivität, meist begleitet von einem relativ hohen tonischen EMG und Lidartefakten in den Augenableitungen.

Das Schlafstadium 1 (S1) ist definiert als flache, gemischte EEG-Aktivität, im Frequenzbereich von 4 - 7 Hz und einer Amplitude von 20 - 70  $\mu$ V. Es können steile Vertex-Wellen (200  $\mu$ V) auftreten, das tonische EMG liegt unter dem Niveau des entspannten Wachzustandes. Insbesondere nach Wachphasen sind langsame Augenbewegungen charakteristisch. Die Zuordnung zum Stadium 1 beinhaltet das Fehlen von K-Komplexen und Schlafspindeln.

Während des Stadiums 2 (S2) wird die vorherrschende Grundfrequenz (4 - 7 Hz), das sogenannte Thetaband, von Schlafspindeln oder K-Komplexen überlagert. Schlafspindeln sind kurzdauernde Wellenmuster mit einer Frequenz von 12 - 14 Hz und einer Amplitude von 10 - 60  $\mu$ V. K-Komplexe sind definiert als Wellen mit einer gut sichtbaren negativen steilen Auslenkung, an die sich unmittelbar eine positive Komponente anschließt, wobei die Dauer 0.5 sec überschreiten muss. Entscheidend für die Einteilung in Stadium 2 ist das Fehlen von ausreichend hoher langsamer Aktivität, die für die Stadien 3 und 4 charakteristisch ist.

Das Stadium 3 (S3) ist durch Deltawellen mit einer Frequenz von 2 Hz und einer Amplitude über 75  $\mu$ V gekennzeichnet (Differenz zwischen dem negativsten und positivsten Punkt

der Welle). Der Anteil der Deltawellen bewegt sich im Bereich zwischen 20 - 50 % der Gesamtaktivität über einen Zeitraum von 30 sec. Ein Anteil von > 50 % Deltawellen über einen Zeitraum von 30 sec wird als Stadium 4 (S4) bezeichnet. Die beiden letztgenannten Schlafstadien S3 und S4 werden auch als Tiefschlaf (slow-wave-sleep; SWS) subsumiert.

Der REM-Schlaf ist charakterisiert durch ein desynchronisiertes EEG-Muster mit flacher gemischter Aktivität und Episoden mit schnellen Augenbewegungen (4 - 7 Hz, 20 - 40  $\mu$ V). Das EEG-Muster ähnelt dem im Stadium 1. Wie im Stadium 1 fehlen Schlafspindeln und K-Komplexe völlig. Im Gegensatz zum Stadium 1 mit hohem Muskeltonus ist dieser in der REM-Phase minimal. Häufig, aber nicht obligat, treten die für REM-Phasen typischen „Sägezahnwellen“ auf. Ein weiteres wichtiges Merkmal des REM-Schlafs sind die schnellen Augenbewegungen im EOG. Die Identifikation des REM-Schlafs ist nicht leicht, hierbei müssen sowohl EEG, EOG und EMG berücksichtigt werden, die aber nicht immer zum gleichen Zeitpunkt die REM-Schlaf-typischen Veränderungen aufweisen.

Erwähnung finden soll hier noch die Bewertung „MT“ („movement time“), eine 30 sec andauernde Epoche, bei der die EEG- und EOG-Kurven zu mehr als der Hälfte durch Muskelaktivität und/oder die Verstärkung blockierende Artefakte verdeckt sind, verbunden mit Bewegungen der Versuchsperson. Hiervon abzugrenzen ist die Bewertung „MA“ („movement arousals“), die definiert wird als eher kurzzeitiger Anstieg der Muskelaktivität im EMG und häufig begleitet wird von einer Musteränderung in einem zusätzlichen Kanal.

Eine Nacht besteht aus etwa 4 - 5 Schlafzyklen mit einer Periodendauer von jeweils ca. 100 min. Ein Schlafzyklus besteht aus einer Non-REM- und einer REM-Phase. Während des ungestörten Nachtschlafs wechseln sich die Non-REM- und REM-Phasen ab. Das Maximum des Tiefschlafs (SWS) mit den Schlafstadien S3 und S4 liegt in der ersten Schlafhälfte, danach nimmt der SWS-Schlaf stetig über Nacht ab. Die Dauer der REM-Phasen verlängert sich im Laufe der Nacht von anfangs 5 - 10 min auf 20 - 30 min gegen Ende der Nacht. Mit der Intensivierung des REM-Schlafs geht auch ein verlängertes und intensiveres Träumen einher (Birbaumer und Schmidt, 1991). Die physiologischen Korrelate dieses ultradianen Rhythmus sind noch nicht endgültig geklärt. Es ist aber unstrittig, dass Schlaf ein komplexer Prozess ist und die Ausbildung der zirkadianen Schlaf-Wach-Rhythmik und der ultradianen Non-REM - REM-Rhythmik eine Interaktion des gesamten Nervensystems erfordert.

### 3.4.1. Schlafregistrierung

Zur Schlafregistrierung wurden 10 Elektroden nach dem 10/20 System (Jasper, 1958) mittels Kleberingen am Kopf befestigt. Davon dienten 2 Elektroden der Aufzeichnung des EEG, die an den Positionen C3 und C4 befestigt wurden. Die Erdung wurde oberhalb der Nasenwurzel im Bereich der Stirnmitte befestigt, die Referenzelektrode im Bereich des Nasenknochens.

Die Aufzeichnung des vertikalen EOG erfolgte über jeweils eine Elektrode über und unter dem linken Auge, die des horizontalen EOG über jeweils eine Elektrode links und rechts lateral des äußeren Kanthus.

Zur Erfassung des EMG wurde je eine Elektrode rechts und links lateral unterhalb des Mundwinkels angebracht. Sämtliche Elektroden wurden zusätzlich mit einem hautverträglichen Pflaster im Gesicht und auf dem Kopf gesichert. Abschließend erfolgte die Messung des Widerstandes aller Elektrodenpaare gegeneinander mittels eines Widerstands-Messgerätes unter der Maßgabe, den Wert von 4 k $\Omega$  nicht zu überschreiten.

Die Schlafregistrierung erfolgte an einem EEG-Schreiber der Marke „Nicolette EEG 1 A 97“. Die Papierlaufgeschwindigkeit des Polygraphen betrug 10 mm/s, so dass 30 cm des Endlospapiers, jeweils eine Seite, einer halben Minute entsprach. Eine Schreiberamplitude von 10 mm entsprach 50  $\mu$ V.

### 3.5. Blutentnahme und Hormonbestimmung

Die Apparatur zur Blutentnahme bestand aus einer Infusionsflasche mit 500 ml Ringer Lösung (Berlin - Chemie), die über ein Infusionsbesteck und einen Dreiwegehahn durch einen dünnen langen Druckschlauch (Typ Combidyn-Druckschlauch 1.0 x 2.0 mm, Länge 200 cm, Innenvolumen < 1.5 ml) mit der Venenverweilkanüle (Braunüle Optiva 18 G) verbunden war.

Zur Blutentnahme wurden aus dem Dreiwegehahn (Discofix Braun) mit einer 5 ml-Spritze die 1.5 ml Infusionslösung aus dem Druckschlauch sowie noch ca. 3 ml Blut entnommen und verworfen. Mit Hilfe eines Adapters und den entsprechenden Monovetten konnte dann das Blut für die Serum- und EDTA-Probe gewonnen werden. Nach der Blutentnahme wurde das Schlauchsystem mit Ringer Lösung durch eine Spritze gespült und in den freien Intervallen zwischen den Entnahmen die Ringer-Lösung über das Schlauchsystem infundiert, um ein Verstopfen der Venenverweilkanüle zu verhindern. Die erste Blutentnahme fand mit dem Legen der Venenverweilkanüle gegen 22.00 h statt. Von diesem Zeitpunkt an wurden in regelmäßigen Abständen, alle 30 min bis zur Beendigung der Nachtruhe um 7.00 h, Blutproben entnommen. Die beiden Monovetten zur Blutentnahme wurden jeweils mit ca. 7 ml Blut gefüllt. Inklusive des

verworfenen Blutes von ca. 3 ml entsprach dies bei 18 Blutentnahmen pro Nacht einem Volumen von ca. 300 ml Vollblut.

Die Serummonovetten dienten der Bestimmung von GH und Cortisol, die EDTA-Monovetten dem Nachweis von Melatonin und ACTH.

Nach der Entnahme wurde das Blut gekühlt und anschließend zentrifugiert. Das Serum wurde in entsprechend beschrifteten Eppendorf-Gefäßchen pipettiert und für die zu einem späteren Zeitpunkt folgende Hormonbestimmung bei einer Temperatur von  $-20\text{ °C}$  eingefroren.

### **3.6. Fragebögen**

Zur Beurteilung des Schlafes in der jeweils vorangehenden Nacht und des Befindens am Tag davor hatten die Probanden die Aufgabe, Fragebögen auszufüllen (siehe Anhang). Diese wurden am Morgen nach der Versuchsnacht unmittelbar nach dem Aufstehen gegen 7.30 Uhr bearbeitet. Für die Probanden bestand die Aufgabe darin, ihr Befinden am Abend vor der Versuchsnacht sowie am Morgen kurz nach dem Aufstehen mit Hilfe von vorgegebenen Adjektiven (z.B. „erschöpft, ausgeglichen, entspannt, tatkräftig, munter“ usw.) zu beurteilen. Diese Adjektive sollten entsprechend einer Skala von 1 - 5 als zutreffend (1) oder nicht zutreffend (5) beurteilt werden. Nach demselben Prinzip sollte auch versucht werden, die Versuchsnacht selbst zu beschreiben; hier fanden dann Worte wie „ungestört“, „entspannt“ und „ausgiebig“ Verwendung.

Weiterhin sollten die Versuchsteilnehmer u.a. beurteilen, nach welcher Zeitspanne sie eingeschlafen waren, wie häufig sie wach wurden und ob körperliche Beschwerden während der Nacht auftraten.

Die Schlafragebögen wurden sowohl nach der Eingewöhnungsnacht als auch nach den beiden Testnächten von den Probanden bearbeitet.

### **3.7. Datenanalyse**

#### **3.7.1. Schlafragebögen**

Zur Auswertung der Adjektivliste der Schlafragebögen nutzten wir den Wilcoxon Test, wobei ein p-Wert von  $< 0.05$  als signifikant galt.

### 3.7.2. EEG-Registrierung

Im Sinne von Rechtschaffen und Kales wurden jeweils 30 s der polysomnographischen Registrierung ein Schlafstadium zugeordnet. Wie oben schon erwähnt, entsprachen 30 s der EEG-Registrierung bei einer Papierlaufgeschwindigkeit von 10 mm/s gleich 30 cm, also einer Seite des Endlospapiers.

Die elektroenzephalographischen, elektrookulographischen und elektromyographischen Aufzeichnungen wurden durch zwei voneinander unabhängige Untersucher nach standardisierten Kriterien beurteilt (Rechtschaffen und Kales, 1967).

Dabei konnten die Schlafstadien S1-S4, REM, MT, MA sowie W („wach“) voneinander abgegrenzt werden. Die EEG-Registrierung begann um 23.00 Uhr mit dem Zubettgehen und endete gegen 7.00 Uhr mit dem Wecken. Als Einschlafzeitpunkt wurde das erste Auftreten von S1, sofern diesem direkt S2 folgte, gewertet. Aufgrund der Schlafstadienbeurteilung wurden die Gesamtschlafenszeit [total sleep time (TST)] und die absoluten Zeiten, die in den einzelnen Schlafstadien verbracht wurden, ermittelt. Außerdem erfolgte die Berechnung der Schlaffeffizienz (Gesamtschlafenszeit dividiert durch Gesamtzeit, die im Bett verbracht wurde) und der Häufigkeit und Länge der intermittierenden Wachphasen. Durch Zusammenfassen von S3 und S4 ergab sich der Tiefschlaf oder auch SWS („slow wave sleep“). Weiterhin stellten wir die Einschlaflatenz sowie die Latenzen von S2, SWS und REM jeweils in Bezug auf den Einschlafzeitpunkt fest.

Für alle Parameter wurden die Mittelwerte und der jeweilige Standardfehler bestimmt. Bei der statistischen Auswertung kamen t-Tests für abhängige Stichproben und Varianzanalysen mit Messwiederholung (ANOVA) zum Einsatz. Die Schlafphasen S1-S4 sowie REM und W wurden zusätzlich getrennt für die beiden Schlafhälften beurteilt.

### 3.7.3. Hormonbestimmung

Während der gesamten Schlaf- und Wachzeit in den Testnächten erfolgte die Messung der ACTH-, Cortisol-, GH-, und Melatoninplasmaspiegel in halbstündlichen Intervallen. Auf diese Weise wurden die maximalen Konzentrationen von Melatonin, ACTH, Cortisol und GH erfasst und ebenso die minimalen Plasmaspiegel des Cortisols (Cortisol-Nadir) in Bezug zum Schlafbeginn. Es war möglich, den Verlauf der Hormonplasmaspiegel zu beurteilen, vor allem auch in Bezug auf die erste und zweite Schlafhälfte.

Die Plasmaspiegel des Melatonins und des GH wurden mit Hilfe der Radioimmunassay-Methode (RIA) gemessen. Diese radioimmunologische Nachweismethode ermöglicht es, geringste Konzentrationen von Hormonen im Bereich von  $10^{-6}$  -  $10^{-10}$  mol/l zu erfassen. Anwendung findet

diese Methode vor allem beim Nachweis von Eiweiß-, Peptid-, Steroid- und Schilddrüsenhormonen, aber auch bei der Bestimmung von Viren und verschiedenen Pharmaka (z.B. Digitoxin). Die Methode funktioniert nach folgendem Prinzip: Hormone, die als Antigene wirken, werden zunächst dazu eingesetzt, tierexperimentell Antikörper zu erzeugen. Das gereinigte Hormon wird radioaktiv markiert. Der Antikörper kann aber markiertes und unmarkiertes Hormon gleich gut binden. Der Hormonnachweis erfolgt dadurch, dass eine genau definierte Menge Antikörper und markiertes Hormon in die Probe gelangt, in der die Hormonkonzentration (z. B. Melatonin) bestimmt werden soll. Markiertes und unmarkiertes Hormon konkurrieren jetzt um die Bindung am spezifischen Antikörper. Diese Reaktion folgt bei Vorliegen der Reaktionspartner in hohen Verdünnungen dem Massenwirkungsgesetz, d.h. der Verdrängung des markierten Hormons proportional der zugeführten Menge an unmarkiertem Hormon. Ist in der Probe viel unmarkiertes Hormon vorhanden, so kann sich nur wenig markiertes Hormon an den Antikörper binden und entsprechend wird eine geringe Radioaktivität des isolierten Antigen-Antikörper-Komplexes gemessen. Ist nur wenig unmarkiertes Hormon in der Probe vorhanden, so liegen die Verhältnisse umgekehrt (Bundschuh et al., 1992; Kreutzig, 1993).

Für die quantitative Melatoninbestimmung wurde ein Testsatz der Bühlmann AG aus Allschwil (Schweiz) mit einer Sensitivität von 1.3 pmol/l verwendet.

Der Testsatz für die GH-Bestimmung war von der Firma DPC Biermann aus Bad Nauheim (Deutschland) mit einer Sensitivität von 0.9 µg/L.

Der Nachweis der Plasmakonzentrationen des ACTH erfolgte mit Hilfe der Immunfluoreszenz-Technik. Bei dieser Methode werden immunologische Reagenzien (z. B. Antikörper) mit fluoreszierenden Farbstoffen konjugiert. Dabei wird die spezifische Affinität des Antikörpers für das Antigen nicht beeinträchtigt. Wird nun ein mit Fluoreszein markierter Antikörper mit Licht geeigneter Wellenlänge angeregt, sendet er längerwelliges Licht aus. Das Fluoreszenzlicht wird durch geeignete Filter herausgefiltert und mit Detektoren aufgefangen. Die Immunfluoreszenz ist nichts anderes als ein Mikroskop mit einem Präparat, das bei geeigneter Emissionswellenlänge betrachtet wird. Das natürliche Licht inklusive des Anregungslichtes wird weggefiltert, man sieht nur noch das Fluoreszein, welches auf das Vorhandensein von Antigen schliessen lässt (Bundschuh et al., 1992). Bei dem hier verwendeten direkten Immunfluoreszenztest wurde das fixierte Antigen (ACTH) mit einigen Tropfen des antigenhomologen Fluoreszenzkonjugates bedeckt, bis sich entsprechende Immunkomplexe im Präparat bildeten. Dann wurde das Konjugat abgegossen, das Präparat gespült, fertiggestellt und mikroskopisch ausgewertet. Die Immunkomplexe stellten sich durch intensive Fluoreszenz kontrastreich dar.

Verwendung fand eine Immunfluoreszenz-Untersuchung der Brahms Diagnostik GmbH aus Henningsdorf (Deutschland) mit einer Sensitivität von 0.22 pmol/L.

Die Plasmacortisolkonzentrationen wurden mit Hilfe eines Enzymimmunoassays (ELISA) bestimmt. Der ELISA ist das am häufigsten und universellsten eingesetzte Nachweisverfahren für

Antikörper oder auch Antigene im Blut. Mit dem enzymverbundenen Immunassay können kleinste Mengen eines Proteins relativ schnell und einfach nachgewiesen werden. Dabei wird der spezifische Antikörper für das entsprechende Protein an eine polymere Matrix gebunden. Anschließend wird die Serumprobe mit dem zu untersuchenden Protein hinzugegeben. Nach Bildung der Antigen-Antikörper-Komplexe wird die Platte gewaschen. Nun fügt man einen zweiten Antikörper hinzu, der eine andere Stelle auf dem Antigen erkennt, und wäscht erneut. Der zweite Antikörper trägt ein Enzym, welches nach katalytischer Aktivität eine intensiv gefärbte oder fluoreszierende Verbindung hervorbringt, die mit hoher Empfindlichkeit nachgewiesen werden kann. Die an die Platte gebundene Menge dieses Antikörpers ist der des Antigens in der Probe proportional. Auf diese Weise können Rückschlüsse auf die Antigen- bzw. Proteinkonzentration in der Probe gezogen werden (Kreutzig, 1993).

Bei der Auswertung wurde ein ELISA der DSL Sinsheim (Deutschland) mit einer Sensitivität von 2.76 nmol/L und einer intra- und interindividuellen Varianz von durchschnittlich < 7.5 % bzw. < 12 % verwendet.

Die elektroenzephalographischen Parameter und die Hormonkonzentrationen wurden zwischen Placebo- und Melatoninbedingungen verglichen. Dabei kamen t-Tests für abhängige Stichproben und Varianzanalysen mit Messwiederholung (ANOVA) zum Einsatz.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Schlaf-EEG**

Die Auswertung der EEG-Aufzeichnungen der beiden Testnächte ergab deutliche Unterschiede zwischen den beiden Versuchsbedingungen (Tabelle 1). Die Melatonin- und die Placebobedingung differierten im Hinblick auf die Gesamtschlafzeit, die Wachzeit und die Schlafeffizienz. Die Gesamtschlafzeit unter Placebo betrug  $313.95 \pm 31.99$  min und unter Melatonin  $403.77 \pm 13.10$  min; diese Unterschiede erreichten Signifikanzniveau ( $p < 0.05$ ). Die Erhöhung der Gesamtschlafzeit unter der Melatoninbedingung war vor allem durch eine deutliche Zunahme des Schlafstadiums 2 bedingt. Dabei erhöhte sich die Dauer des Schlafstadiums 2 unter Melatoninbedingungen im Vergleich zu Placebobedingungen von  $193.23 \pm 21.19$  min auf  $275.09 \pm 18.22$  min ( $p < 0.01$ ). Auch der Anteil des REM-Schlafes erhöhte sich. Das wurde vor allem in der zweiten Schlafhälfte deutlich, in der sich der Anteil des REM-Schlafes von  $29.14 \pm 6.73$  min unter Placebogabe auf  $39.41 \pm 9.11$  min nach Melatoningabe erhöhte ( $p < 0.05$ ).

Unabhängig von der Behandlungsbedingung dominierte der Tiefschlaf bzw. SWS (S3 und S4) erwartungsgemäß in der ersten Schlafhälfte, dagegen überwog in der zweiten Schlafhälfte der REM-Schlaf ( $F(1,10)=13.52$ ,  $p < 0.004$  und  $F(1,10)=5.19$ ,  $p < 0.05$ , für die jeweiligen ANOVA-Haupteffekte erste versus zweite Schlafhälfte).

Bezüglich der Dauer des SWS-Stadiums, der Länge des Stadiums 1 sowie der Häufigkeit des Erwachens ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Melatonin- und der Placebobedingung. Weiterhin waren keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Einschlafzeiten und der Latenzen zu den einzelnen Schlafstadien zwischen beiden Versuchsbedingungen zu erkennen.

Bedingt durch die Zunahme der Gesamtschlafzeit bei gleich bleibender Bettzeit ergab sich nach Melatoningabe auch eine Verkürzung der intermittierenden Wachzeit verglichen mit der Placebobedingung. Die Abnahme der Wachzeit unter Melatonin ( $41.14 \pm 10.32$  min) war verglichen mit der Placebobedingung ( $96.05 \pm 26.89$  min) signifikant ( $p < 0.05$ ).

Hinsichtlich der Schlafeffizienz (Gesamtschlafenszeit dividiert durch die Gesamtzeit, die im Bett verbracht wurde) zeigten sich ebenfalls deutliche Unterschiede. Die Schlafeffizienz unter Placebo betrug  $0.68 \pm 0.07$  und unter Melatonin  $0.85 \pm 0.02$  ( $p < 0.05$ ).

**Tabelle 1.** Schlaf nach Gabe von PLACEBO und MELATONIN.\*

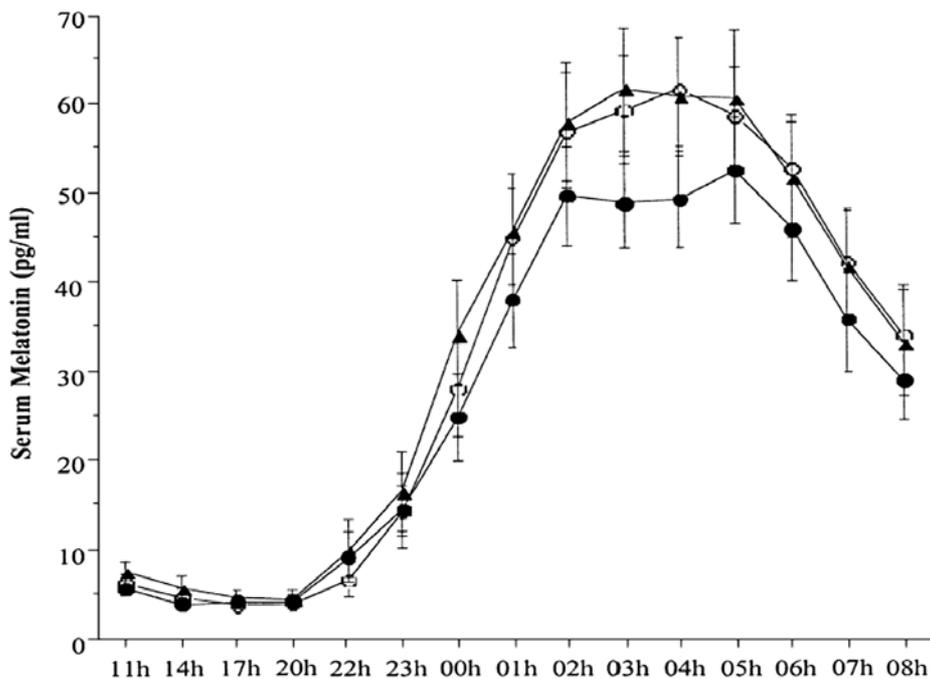
	PLACEBO	MELATONIN
Totale Schlafdauer	313.95 ± 31.99	403.77 ± 13.10 <sup>a</sup>
Schlafeffizienz	0.68 ± 0.07	0.85 ± 0.02 <sup>a</sup>
Latenz zum Schlafbeginn	29.77 ± 13.17	24.55 ± 6.72
Latenz zum Stadium 2	3.73 ± 1.30	8.45 ± 4.87
Latenz zu SWS	33.82 ± 8.70	40.82 ± 5.90
Latenz zu REM	150.18 ± 23.96	132.82 ± 24.19
Häufigkeit des Erwachens	7.73 ± 1.79	8.27 ± 1.47
Wachzeit	96.05 ± 26.89	41.14 ± 10.32 <sup>a</sup>
Stadium 1	43.73 ± 11.25	40.32 ± 5.66
Stadium 2	193.23 ± 21.19	275.09 ± 18.22 <sup>aa</sup>
SWS – gesamt	33.86 ± 7.32	31.27 ± 6.15
SWS – 1. Schlafhälfte	28.95 ± 6.58	23.64 ± 4.52
SWS – 2. Schlafhälfte	4.91 ± 1.39 <sup>bb</sup>	7.64 ± 4.42 <sup>b</sup>
REM – gesamt	43.14 ± 9.63	57.09 ± 8.02
REM – 1. Schlafhälfte	14.00 ± 3.67	17.68 ± 3.83
REM – 2. Schlafhälfte	29.14 ± 6.73	39.41 ± 9.11 <sup>a</sup>

\*) Einheiten in Minuten, außer Schlafeffizienz und Häufigkeit des Erwachens, Werte sind gemittelt ± mittlerer Standardfehler (SEM, Standard Error of Mean). Gesamtschlafzeit, Schlafeffizienz (Gesamtschlafzeit dividiert durch Gesamtbettzeit), Latenzen zum Schlafbeginn (Referenzwert 23.00 h), zum Stadium 2, SWS und REM (Referenzwert ist jeweils der Schlafbeginn), Häufigkeit des Erwachens und Dauer der intermittierenden Wachzeit, Dauer des Schlafstadiums 1, 2, SWS und REM. SWS und REM-Schlafdauer wurden auch getrennt für die 1. und 2. Schlafhälfte berechnet. <sup>a</sup> p<0.05, <sup>aa</sup> p<0.01, verglichen mit den Effekten nach Placebo und Melatonin, <sup>b</sup> p<0.05, <sup>bb</sup> p<0.01, verglichen mit der ersten Nachthälfte.

## 4.2. Hormone

### 4.2.1. Melatonin

In Abb. 5 ist der typische physiologische Kurvenverlauf des Melatoninplasmaspiegels von gesunden sehenden Menschen über einen Zeitraum von 24 h zum Vergleich mit unseren Ergebnissen dargestellt. In der entsprechenden Studie (Selmaoui und Touitou, 2003) wurden insgesamt 3 Messungen der Melatoninplasmaspiegel im Abstand von jeweils 2 bzw. 4 Wochen durchgeführt. Hervorzuheben sind die geringen Unterschiede der Kurvenverläufe des Melatonins zu den einzelnen Zeitpunkten, welches ein Zeichen der hohen Reproduzierbarkeit der Melatoninplasmaspiegel ist.

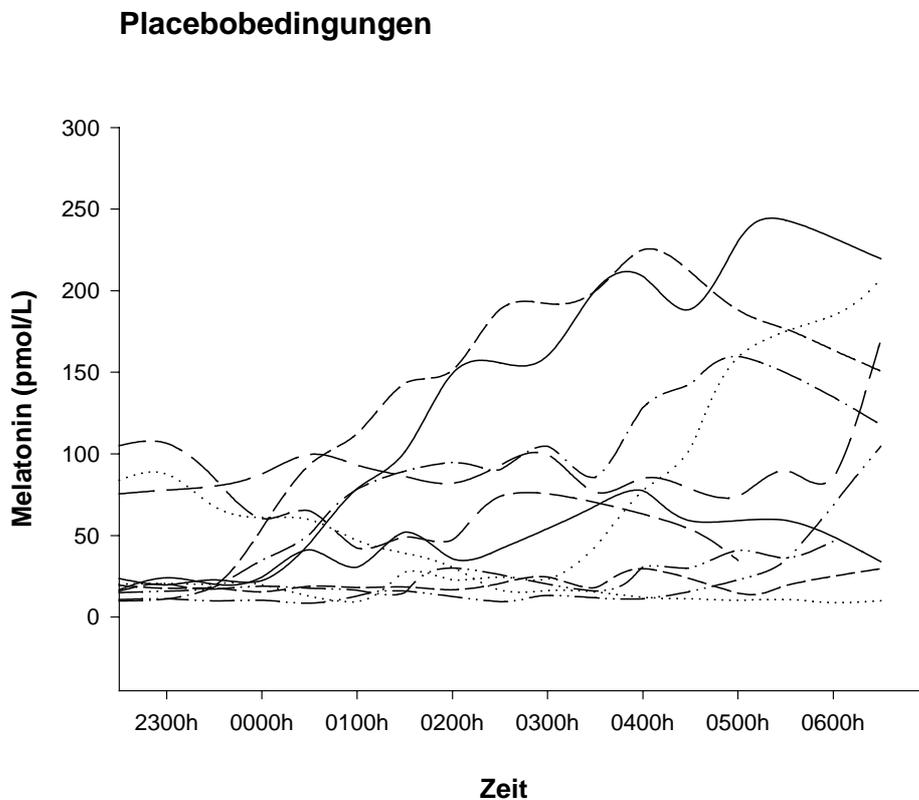


**Abbildung 5 aus Selmaoui und Touitou, 2003:** Zirkadianer Rhythmus des Melatonins von gesunden sehenden Menschen an 3 verschiedenen Tagen. Zwischen Tag 1 (○) und Tag 2 (●) lagen 2 Wochen und zwischen Tag 2 und Tag 3 (▲) 4 Wochen. Gemittelte Werte von 31 Probanden  $\pm$  mittlerer Standardfehler (SEM). Zu berücksichtigen ist, dass die Einheit für die Serumkonzentration des Melatonins in dieser Abbildung nicht der von uns verwendeten SI-Einheit (pmol/L) entspricht.

Der Plasmaspiegel des Melatonins der blinden Probanden betrug in den Placebonächten durchschnittlich  $248.21 \pm 132.90$  pmol/L. Dieser Wert bewegt sich im oberen Bereich der in der Literatur angegebenen durchschnittlichen Normalwerte für Melatoninplasmaspiegel bei gesunden sehenden jungen Männern. Hier finden sich Werte von 40 pmol/L als Tagesdurchschnittswert und von 260 pmol/L als nächtliche Spitzenkonzentration (Brzezinski, 1997).

In Abbildung A, auf der folgenden Seite, sind die Verläufe der Melatoninplasmaspiegel der 12 Probanden in der Zeit zwischen 22.30 h und 6.30 h in der Placebobedingung dargestellt. Auffallend sind hier die völlig ungeordneten Kurvenverläufe der Plasmaspiegel aller Probanden über den gesamten Messzeitraum. Es lassen sich keine deutlichen Spitzenwerte und Basiswerte voneinander abgrenzen. Bei einem Teil der Probanden sind die Plasmaspiegel des Melatonins während der 8-stündigen Messzeit auf einem konstanten Level. In den meisten Fällen wird deutlich, dass gerade in den ersten Stunden des Schlafs ziemlich niedrige Werte im Vergleich zum übrigen Messzeitraum auftreten. Keiner der blinden Probanden wies unter der Placebobedingung ein normales Melatoninplasmaprofil mit hohen Plasmakonzentrationen in den frühen Stunden des Schlafs und einem anschließenden langsamen Abfall der Melatoninspiegel bis auf ein niedriges Niveau in den frühen Morgenstunden auf.

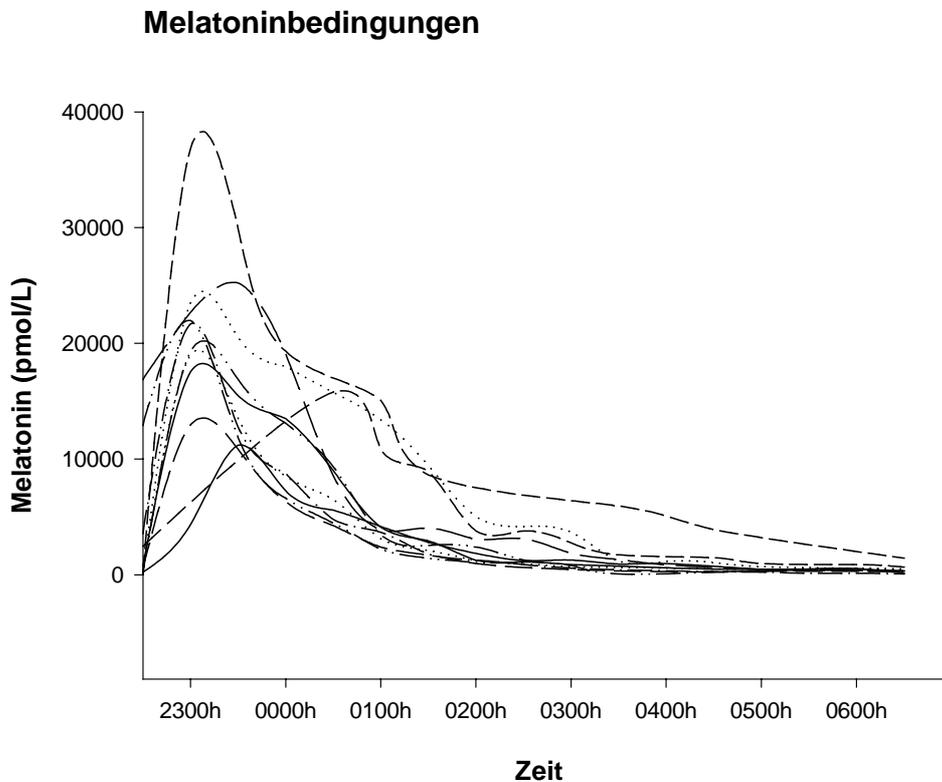
## Abbildung A:



**Abbildung A:** Individuelle nächtliche Melatoninprofile der blinden Probanden in der Placebobedingung. Zwischen 22.30 h und 6.30 h wurden alle 30 min Blutproben zur Messung der Melatoninplasmakonzentration entnommen. Die durchschnittliche Melatoninplasmakonzentration betrug  $248,21 \pm 132,90$  pmol/L. Es zeigten sich deutliche Störungen der Melatoninplasmaprofile. Keiner der Probanden wies ein physiologisches nächtliches Melatoninplasmaprofil auf mit einer deutlichen Zunahme zum Schlafbeginn und einem langsamen Abfall gegen Ende der Nacht. (Die Plasmaspiegelkurve eines Probanden ist nicht dargestellt, da sie weit außerhalb des dargestellten Bereichs lag.)

Die orale Gabe von 5 mg Melatonin führte bei allen 12 Versuchsteilnehmern zu einem deutlichen Spitzenwert des Melatoninplasmaspiegels, der bei den meisten Probanden ca. 1 h nach Einnahme auftrat (siehe Abbildung B). Bedingt durch die hohe Dosierung des Melatonins erreichten die Plasmaspiegel Werte, die mehr als das 20fache der normalen physiologischen Konzentration betragen. Deutlich wird in Abbildung B auch die relativ große interindividuelle Variabilität der Plasmaspiegel, deren durchschnittlicher Wert bei den von uns untersuchten Probanden  $5979,70 \pm 1309,32$  pmol/L betrug.

## Abbildung B:



**Abbildung B:** Individuelle nächtliche Melatoninplasmaprofile der 12 blinden Probanden nach oraler Gabe von 5 mg Melatonin um 22.00 h. Diese Melatoninindosis induzierte einen Spitzenwert der Melatoninplasmaspiegel ca. 1 h nach der Einnahme mit einem Abfall der Plasmakonzentrationen auf Basiswerte gegen Ende der Nacht. Die durchschnittliche Melatoninplasmakonzentration betrug unter diesen Bedingungen  $5979.70 \pm 1309.32$  pmol/L.

Entscheidend bei unseren Untersuchungen waren das Auftreten eines eindrucksvollen Spitzenwertes nach Gabe des Hormons und eine deutliche Rückkehr der Plasmaspiegel auf Tagesausgangswerte gegen Ende der Nacht. Bei allen untersuchten Probanden ließ sich ein einheitlicher und regelhafter Verlauf des Melatoninplasmaspiegels feststellen. Zu bedenken ist in diesem Zusammenhang allerdings, dass es sich um keinen natürlichen endogenen Plasmaspiegelverlauf des Melatonins handelt, sondern um einen durch hohe Dosierung des Hormons induzierten künstlichen Verlauf, der dem endogenen, abgesehen von der Konzentration, aber sehr nahe kommt.

#### 4.2.2. ACTH und Cortisol

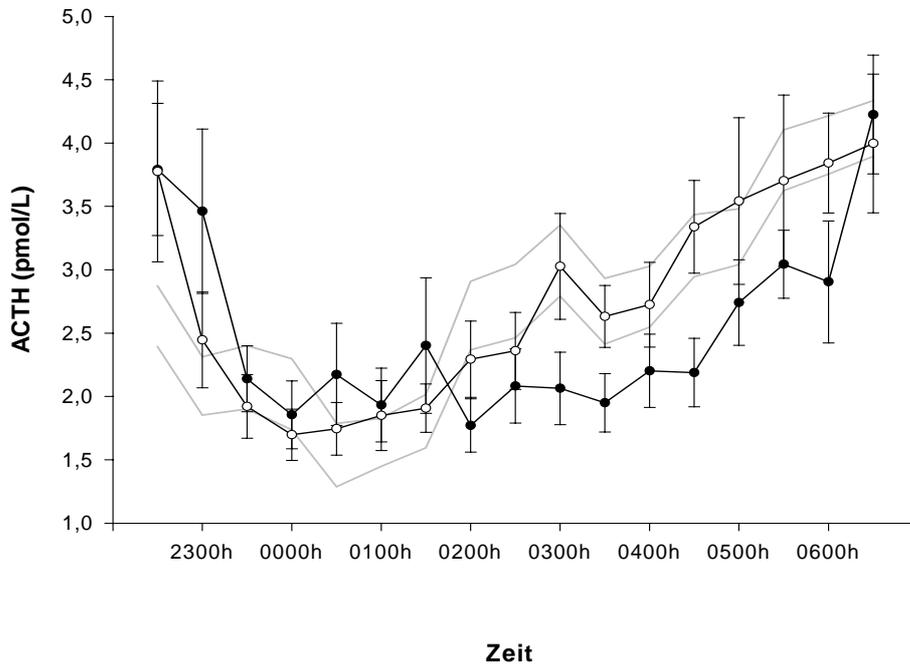
Bei gesunden sehenden Menschen zeigt sich eine charakteristische zeitliche Dynamik des ACTH- und Cortisolplasmaprofils im Laufe des nächtlichen Schlafs. In der ersten Hälfte des Schlafs sind die ACTH- und Cortisolkonzentrationen stark supprimiert. Diese minimalen Konzentrationen sind mit der SWS-Periode des frühen Nachtschlafs in Zusammenhang zu bringen (Alford et al., 1973). Den niedrigsten Wert der Cortisolkonzentration in dieser Schlafhälfte bezeichnet man auch als Cortisol-Nadir. Die Ursache für die verminderten ACTH- und Cortisolkonzentrationen in den frühen Stunden des Schlafs ist in einer Hemmung des HPA-Systems zu suchen (Born und Fehm, 1998).

Die zweite Schlafhälfte zeichnet sich dagegen durch stark zunehmende Konzentrationen von ACTH und Cortisol aus. In den REM-Phasen, die in der zweiten Schlafhälfte zunehmend auftreten, kommt es jedoch immer wieder zu einer kurzfristigen Suppression des ACTH- und Cortisolspiegels, der sich in den Non-REM-Phasen aber immer wieder aufbaut (Born et al., 1986; Follenius et al., 1988; Born und Fehm, 1998; Born et al., 1999). In den REM-Phasen kommt es möglicherweise zu einer Hemmung des HPA-Systems. In den frühen Morgenstunden erreichen die ACTH- und Cortisolkonzentrationen einen Tagesmaximalwert, meist zum Zeitpunkt des Erwachens (Born et al., 1986). Die Sekretion der Hormone ACTH und Cortisol wird direkt durch die Aktivität des HPA-Systems vermittelt, welches auch durch den Schlaf-Wach-Rhythmus reguliert wird und teilweise unabhängig von endogenen Zeitgebern ist (Fehm et al., 1993).

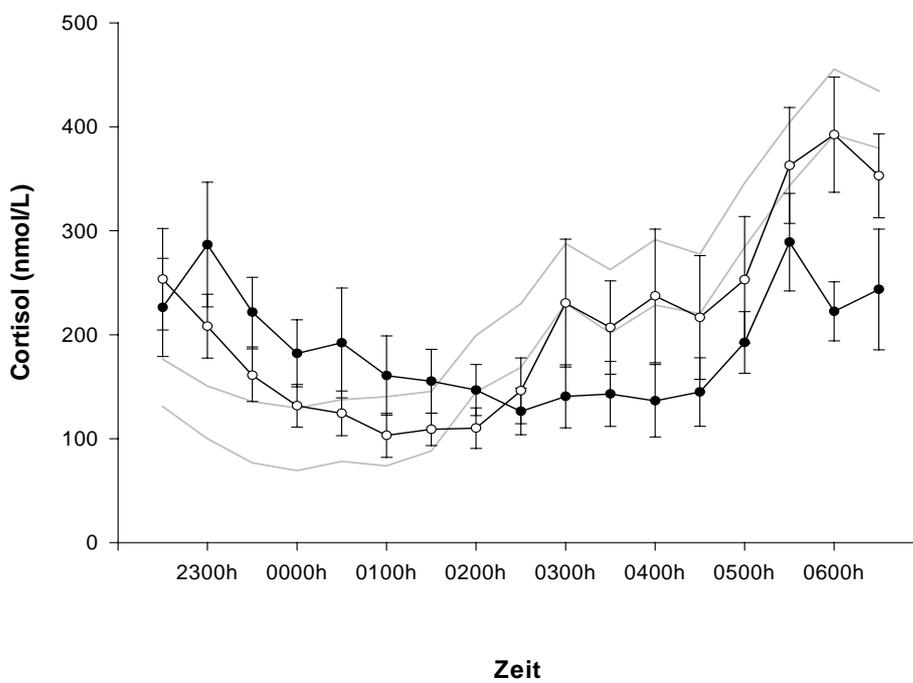
Im Gegensatz dazu waren bei den von uns untersuchten Blinden unter Placebobedingungen keine signifikanten Unterschiede der ACTH- und Cortisolkonzentrationen zwischen den beiden Nachthälften zu verzeichnen ( $p > 0.58$  und  $p > 0.67$ , Tab. 2). Die Freisetzung der Hormone folgte nicht dem oben beschriebenen physiologischen Verlauf, wie er bei gesunden sehenden Probanden zu finden ist (Abb. C und D). Obwohl sich die durchschnittlichen Plasmakonzentrationen von ACTH und Cortisol unter Placebo- und Melatoninbedingungen nicht voneinander unterschieden, gab es doch deutliche Differenzen hinsichtlich des zeitlichen Freisetzungsprofils der Hormone unter der Gabe von Melatonin oder Placebo.

Unter der Melatoninbedingungen stellte sich spontan das für gesunde sehende Menschen typische Muster des Verlaufs der ACTH- und Cortisolplasmakonzentrationen ein. Wie in Abbildung C und D ersichtlich, war unter der Melatoninbehandlung deutlich die für die erste Nachthälfte typische Reduktion der ACTH- und Cortisolplasmakonzentrationen und in der zweiten Nachthälfte eine klare Anhebung der entsprechenden Hormonkonzentrationen zu erkennen [ $F(1,11)=8.22$ ,  $p < 0.01$  und  $F(1,11)=7.44$ ,  $p < 0.02$ ].

**Abbildung C und D:**



● Placebo  
○ Melatonin



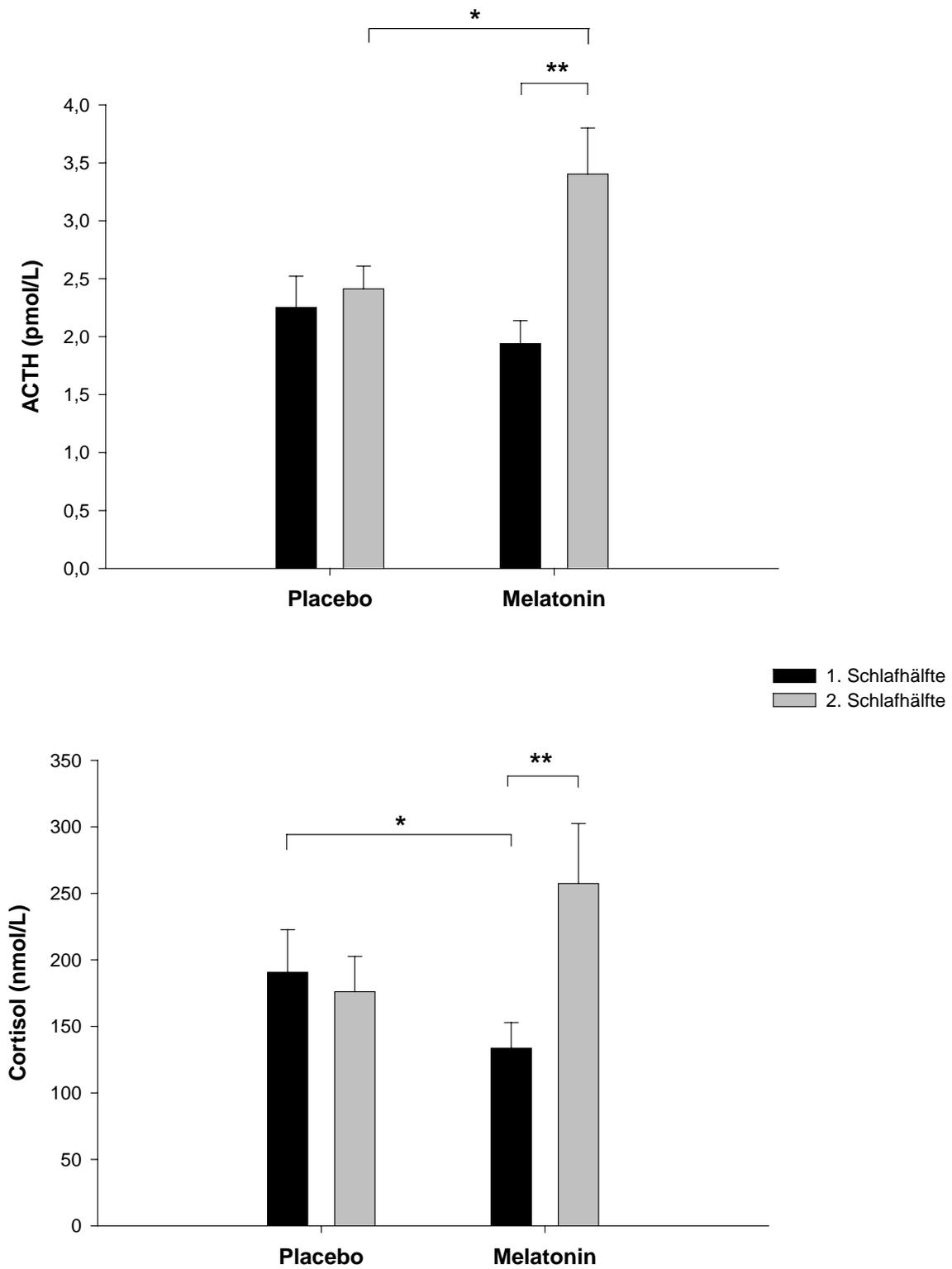
● Placebo  
○ Melatonin

Legende auf der folgenden Seite

**Abbildung C und D:** Nächtliche Verläufe der ACTH- und Cortisolplasmakonzentrationen nach Placebo und Melatonin. Placebo oder Melatonin wurden 1 h vor der Schlafzeit, die um 23.00 h begann, verabreicht. Die Plasmaspiegel von ACTH und Cortisol wurden alle 30 min zwischen 22.30 h und 6.30 h bestimmt. Dargestellt sind die Plasmaspiegelverläufe von ACTH (obere Grafik) und Cortisol (untere Grafik) nach Gabe von Placebo (schwarze Kreise) und Melatonin (offene Kreise). Die Placebonächte sind charakterisiert durch abnehmende Plasmakonzentrationen von ACTH und Cortisol während der Schlafperiode, umrahmt von kurzen Phasen ansteigender und abnehmender Konzentrationen der Hormone zu Beginn und am Ende der Schlafperiode. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich unter der Melatoningabe erste und zweite Schlafhälfte deutlich voneinander im Sinne einer Suppression von ACTH und Cortisol in der ersten Schlafhälfte und kontinuierlich ansteigenden Konzentrationen während der zweiten Schlafhälfte. Dieses Hormonmuster korrespondiert mit dem von normal sehenden Menschen.

Verglichen mit den Effekten von Placebo, stellten sich unter der Gabe von Melatonin signifikant höhere ACTH-Konzentrationen im späten Nachtschlaf ein ( $p < 0.05$ , Abb. E). Die Cortisolplasmakonzentrationen zeigten eine deutliche Reduktion während des frühen Nachtschlafs unter Melatoningabe, verglichen mit der Placebobedingung ( $p < 0.05$ , Abb. F). Die Anhebung der Cortisolkonzentrationen in der späten Phase des Nachtschlafs unter dem Einfluss des Melatonins, verglichen mit Placebo, näherte sich nur dem Signifikanzniveau ( $p < 0.08$ , Abb. F). Die Cortisol-Nadir-Werte unter der Gabe von Melatonin waren übereinstimmend niedriger als unter der Placebobedingung ( $p < 0.05$ ).

**Abbildung E und F:**



Legende auf der folgenden Seite

**Abbildung E und F:** Durchschnittliche Plasmakonzentrationen von ACTH und Cortisol während der ersten und zweiten Schlafhälfte nach Gabe von Placebo und Melatonin. Die Konzentrationen von ACTH (obere Grafik) und Cortisol (untere Grafik) wurden während der ersten (schwarze Balken) und zweiten Schlafhälfte (weiße Balken) unter der Placebobedingung miteinander verglichen. Im Gegensatz dazu divergieren nach Melatoningabe die Plasmaspiegel dieser Hormone deutlich voneinander zwischen beiden Schlafhälften. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , im paarweisen Vergleich.

#### 4.2.3. GH

Die GH-Konzentrationen nehmen bei sehenden gesunden Menschen kurze Zeit nach dem Einschlafen permanent zu und erreichen meist innerhalb der ersten Stunde des Nachtschlafes ihr Maximum. Bis zum Ende der ersten Schlafhälfte reduzieren sich die GH-Spiegel wieder auf einen Basiswert. Der Anstieg der GH-Plasmakonzentration steht in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Schlafbeginn, weniger mit dem Auftreten von SWS. Auch unter gezielter Suppression des SWS-Schlafs konnte ein GH-Spitzenwert ca. 1 h nach dem Schlafbeginn nachgewiesen werden (Born et al., 1987).

Bei den von uns untersuchten blinden Menschen fand sich jeweils unter Placebo und Melatonin das oben beschriebene Muster des GH-Plasmaprofiles. In beiden Versuchsbedingungen traten keine Unterschiede sowohl bezüglich des GH-Maximalwertes als auch der Latenz des GH-Maximums auf.

Alle hier erwähnten Hormonkonzentrationen sind für sämtliche Versuchsbedingungen in der folgenden Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2.** Plasmaspiegel von ACTH, CORTISOL und GH nach Gabe von PLACEBO und MELATONIN.\*

	PLACEBO	MELATONIN
ACTH - gesamt	2,32 ± 0,19	2,58 ± 0,17
ACTH, 1. Schlafhälfte	2,25 ± 0,27	1,94 ± 0,20
ACTH, 2. Schlafhälfte	2,41 ± 0,20	3,40 ± 0,40 <sup>a, b</sup>
Cortisol - gesamt	180,67 ± 23,62	187,45 ± 25,44
Cortisol, 1. Schlafhälfte	190,68 ± 32,03	133,62 ± 19,15 <sup>a</sup>
Cortisol, 2. Schlafhälfte	175,97 ± 26,58	257,41 ± 45,02 <sup>b</sup>
Cortisol-Nadir	86,68 ± 19,93	72,42 ± 16,17 <sup>a</sup>
Latenz zum Cortisol-Nadir	226,54 ± 33,67	180,25 ± 36,48
Cortisol-Maximum	329,13 ± 30,64	392,58 ± 47,36
Latenz zum Cortisol-Maximum	230,29 ± 43,26	327,75 ± 32,63
GH-Maximum	5,31 ± 1,13	4,50 ± 0,96
Latenz zum GH-Maximum	52,79 ± 26,47	40,25 ± 22,11

\*) Werte sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM, Standard Error of Mean). Durchschnittliche Plasmaspiegel von ACTH (pmol/L) und Cortisol (nmol/L), bezogen auf die Gesamtschlafzeit und getrennt für die 1. und 2. Schlafhälfte. Außerdem wurden die Konzentrationen des Cortisol-Nadir sowie die maximalen Konzentrationen von Cortisol und GH (µg/L) angegeben sowie die jeweils entsprechenden Latenzen (min) bis zur Peakkonzentration, bezogen auf den Schlafbeginn.

<sup>a</sup> p<0.05, Vergleich zwischen Placebo und Melatonin,

<sup>b</sup> p<0.01, Vergleich zwischen 1. und 2. Schlafhälfte.

### **4.3. Subjektive Schlafbeurteilung**

So wie bereits unter 3.6. erwähnt, hatten die Probanden die Aufgabe, am Morgen nach einer Versuchsnacht die vergangene Nacht anhand eines Schlaffragebogens subjektiv zu beurteilen (siehe Anhang). In einem Teil des Schlaffragebogens wurde nach dem Befinden am Abend vor dem Zubettgehen gefragt; die hierbei verwendeten Adjektive waren „sorglos, erschöpft, schlafbedürftig, überfordert, ausgeglichen, ruhig, müde und entspannt“. Die von den Probanden vorgenommene Wertung entsprechend auf einer Skala von 1 - 5 ergab hinsichtlich des Befindens vor der Versuchsnacht zwischen Melatonin- und Placebobedingung keine signifikanten Unterschiede. Dies war Voraussetzung für eine gute Vergleichbarkeit zwischen den beiden Versuchsbedingungen nach Ablauf der Versuchsnächte.

Bei der subjektiven Beurteilung der Schlafqualität der vergangenen Nacht fanden Adjektive wie „gleichmäßig, tief, gut, entspannt, ungestört, ruhig und ausgiebig“ Verwendung. Die dabei erkennbare Besserung der subjektiven Schlafqualität nach Melatoningabe erreichte allerdings kein Signifikanzniveau.

Die Frage nach dem Befinden am Morgen nach der Versuchsnacht konnte mit „ausgeglichen, dösig, tatkräftig, munter, frisch, ausgeschlafen und entspannt“ bewertet werden. Unter Melatonineinfluss im Vergleich zu Placebo fühlten sich die Probanden signifikant ausgeglichener, erholter sowie entspannter ( $p < 0.05$ , für alle Bedingungen). Der Schlaf nach Melatonineinnahme wurde als effizienter empfunden ( $p < 0.05$ ). Auffallend war, dass von den Probanden extreme Bewertungen, entsprechend der Skalierung 1 oder 5, nur im Einzelfall verwendet wurden.

Im zweiten Teil des Schlaffragebogens sollten die Probanden angeben, nach welcher Zeitspanne sie eingeschlafen sind, wie häufig, wie lange und warum sie in der Nacht wach wurden und ob sie am Morgen von allein wach geworden sind. Außerdem war von Interesse, ob die Versuchsteilnehmer geträumt hatten und ob mit diesen Träumen unangenehme Gefühle einhergingen. Auch nach körperlichen Beschwerden wie Anstrengungen des vergangenen Tages, verstärktem Schwitzen in der Nacht sowie Kopfschmerzen am Morgen nach der Versuchsnacht wurde gefragt. Nach Auswertung der Antworten des zweiten Fragebogenteils war kein signifikanter Einfluss des Melatonins im Vergleich zu Placebo nachzuweisen.

## **5. Diskussion**

Die orale Gabe von 5 mg Melatonin in Form einer Tablette eine Stunde vor dem Schlafengehen führte im Vergleich zur Placebobedingung zu einer objektiven und subjektiven Verbesserung des Schlafs blinder Probanden. Melatonin bewirkte im Vergleich zu Placebo eine Verlängerung der Gesamtschlafzeit, eine Verbesserung der Schlafeffizienz und verminderte die intermittierende Wachheit der Probanden. Nach der Melatoningabe fühlten sich die Probanden morgens ausgeglichener und entspannter als nach der Verabreichung von Placebo. Darüber hinaus normalisierte die Verabreichung von Melatonin im Vergleich zu Placebo das schlafassoziierte neuroendokrine Geschehen. Das unter Placebobedingungen bei Blinden gestörte Freisetzungprofil der Hormone ACTH und Cortisol normalisierte sich nach der Gabe von Melatonin im Sinne einer Supprimierung der Hormone während der ersten Hälfte des Schlafs und einer Anhebung während der zweiten Hälfte des Schlafs mit dadurch deutlich erhöhten Werten in den frühen Morgenstunden. Der Cortisol-Nadir war im Vergleich zur Placebobedingung unter Melatonin signifikant niedriger.

### **5.1. Der Einfluss von Melatonin auf den Schlaf**

#### **5.1.1. Das Schlafprofil**

In unserer Studie wurde eine signifikante Steigerung der Gesamtschlafzeit nach Melatoningabe im Vergleich zu Placebo von  $313.95 \pm 31.99$  min auf  $403.77 \pm 13.10$  min beobachtet. Dieses eindrucksvolle Ergebnis wurde vor allem durch eine deutlich gesteigerte Dauer des Schlafstadiums 2 von  $275.09 \pm 18.22$  min nach Melatoningabe im Vergleich zu  $193.23 \pm 21.19$  min nach Placebogabe erreicht.

Ähnliche Veränderungen wurden auch in anderen Untersuchungen mit niedrigen Dosierungen (Zhdanova et al., 1996) und mit Melatoninindosierungen zwischen 1 und 40 mg an gesunden sehenden Probanden polysomnographisch festgestellt (Hughes et al., 1997). Im Hinblick auf die Gesamtschlafzeit und die Schlafeffizienz wurden ähnliche Ergebnisse auch bei sehenden Probanden sowohl mit hohen Melatoninindosen (80 mg) (Waldhauser et al., 1990) als auch mit geringen Melatoninindosen (1 mg) erzielt (Attenburrow et al., 1996). Die Ergebnisse, insbesondere mit niedrigen Melatoninindosierungen, sind nicht einheitlich. Es existieren Untersuchungen, in denen diese Resultate nach polysomnographischer Aufzeichnung nicht bestätigt wurden (James et al., 1987).

Bei den von uns untersuchten blinden Probanden konnten wir feststellen, dass Melatonin eine Zunahme des REM-Schlafs bewirkte, insbesondere in der zweiten Schlafhälfte. Auch dieser Befund stimmt mit früheren Studien überein (Tzischinsky und Lavie, 1994; James et al., 1987). In der zweiten Schlafhälfte findet man bei gesunden Schläfern ohnehin ein Überwiegen des REM-Schlafs, verglichen mit der ersten Schlafhälfte, in der der Tiefschlaf bzw. SWS überwiegt. Einen Einfluss des Melatonins auf das SWS-Stadium des Schlafs konnten wir bei den von uns untersuchten blinden Probanden nicht feststellen.

In einigen früheren Studien (Dollins et al., 1994; Zhdanova et al., 1995; Zhdanova et al., 1996) zeigte sich nach Melatoningabe bei gesunden sehenden Probanden eine Verringerung der Einschlafzeit, in den Untersuchungen von Zhdanova et al. auch eine Verminderung der Latenz zum Schlafstadium 2.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei unseren Probanden kein signifikanter Unterschied zwischen Placebo- und Melatoningabe bezüglich der Einschlafzeit. Dies hing wohl damit zusammen, dass die Einschlafzeiten bereits unter Placebo sehr kurz waren. Ein abweichendes Verhalten stellte sich nur bei einem von uns untersuchten blinden Probanden dar, bei dem nach Melatoningabe eine deutliche Reduktion der Einschlafzeit von 156 min auf 23 min erreicht wurde. Warum nach Melatoningabe vor allem eine Zunahme von Schlafstadium 2 und REM, insbesondere in der 2. Schlafhälfte, auftraten, blieb auch in unserer Studie ungeklärt.

Die Verbesserung der Schlafeffizienz (Gesamtschlafzeit dividiert durch Gesamtbettzeit) konnte schon von Attenburow et al., (1996) in seiner Studie mit 0.3 mg und 1.0 mg Melatonin bei gesunden sehenden Probanden nachgewiesen werden. Bei den von uns untersuchten Blinden zeigte sich ebenfalls, natürlich bedingt durch die Erhöhung der Gesamtschlafzeit, eine signifikante Zunahme der Schlafeffizienz nach Melatoningabe. Hierbei standen ausgesprochen schlechte Werte für die Schlafeffizienz unter der Placebobedingung von 68 % den deutlich besseren Werten von 85 % nach Melatoningabe gegenüber. Die sehr schlechte Schlafeffizienz nach Placebo erklärt sich dadurch, dass ein großer Teil der Blinden, die an der Studie teilnahmen, von vornherein an Durchschlafstörungen litt. Um so eindrucksvoller waren die Ergebnisse in den Versuchsnächten nach der Gabe von Melatonin.

Entscheidend vor allem für unsere blinden Probanden mit Schlafstörungen ist die Erkenntnis, dass es nach Melatoningabe zu einer signifikanten Erhöhung der Gesamtschlafzeit kommt. So stellt das Melatonin in der von uns verwendeten oralen Dosis von 5 mg allein durch seine Eigenschaft, die Gesamtschlafzeit zu verlängern, eine therapeutische Option für blinde Menschen mit Schlafstörungen dar.

Erwähnung finden sollte auch, dass Melatonin in der von uns verwendeten Dosierung von 5 mg zu einer Suppression der Körpertemperatur führt, was in unserer Studie allerdings nicht untersucht wurde. In anderen Untersuchungen wurde eine dosisabhängige Beziehung zwischen der Höhe der Melatondosierung und der Verminderung der Körpertemperatur festgestellt. Besonders

eindrucksvolle Ergebnisse wurden mit hohen Melatoninindosierungen von 9 mg erreicht (Sato und Mishima, 2001). Es wurde deshalb für möglich gehalten, dass die schlafinduzierenden Effekte des Melatonins durch thermoregulatorische Mechanismen ausgelöst werden. Für einige Autoren wäre es denkbar, dass die zunehmende Schlafneigung nach Melatoningabe durch eine Verminderung der Körperkerntemperatur hervorgerufen wird (Dawson und Encel, 1993). Die durch die Melatoningabe ausgelösten neuroendokrinen Veränderungen und die Änderung der Schlafarchitektur, wie in unserer Studie nachgewiesen, lassen sich dadurch aber nicht erklären.

### 5.1.2. Die subjektive Schlafqualität

Die Auswertung der von uns erhobenen Schlafragebögen erbrachte statistisch signifikante Verbesserungen im Hinblick auf die subjektive Schlafqualität in den Versuchsnächten unter Melatonin im Vergleich zu Placebo. Nach einer abendlichen Melatoninindosis fühlten sich die Probanden am nächsten Morgen signifikant ausgeglichener, erholt und entspannter als nach Placebogabe. Der Schlaf unter Melatonineinfluss wurde von den Probanden als effizienter bezeichnet. Da sich das subjektive Befinden der Versuchsteilnehmer zu Beginn der Versuchsnächte, sowohl nach Placebogabe als auch nach Melatoningabe, kaum voneinander unterschied, kann von einer guten Vergleichbarkeit der Schlafbeurteilungen der Probanden in beiden Versuchsbedingungen ausgegangen werden. Dennoch sollten die positiven Ergebnisse der subjektiven Schlafbeurteilung nicht überbewertet werden. In zahlreichen Fragen zum Befinden der Versuchsteilnehmer wurden keine signifikanten Unterschiede nach Melatoningabe im Vergleich zu Placebo festgestellt. Außerdem war das Befinden der Probanden zahlreichen anderen Variablen unterworfen, die bei der statistischen Auswertung der Schlafragebögen unberücksichtigt blieben. Die Tatsache, dass die Probanden am Morgen nach der Versuchsnacht unter Melatonineinfluss erholt waren, spricht gegen unangenehme Nachwirkungen der 5 mg-Melatoninindosis. So kann nach Gabe von Melatonin von einem sogenannten „hangover“, der insbesondere nach Schlafmitteleinnahme, z.B. nach Benzodiazepinen auftritt, nicht ausgegangen werden. Diese Feststellung ist vor allem deshalb von Interesse, weil in einigen Studien dem Melatonin eine den Benzodiazepinen ähnliche Wirkung zugesprochen wird. In Übereinstimmung mit den von uns erhobenen Befunden wurde auch in anderen Studien von einer Verbesserung der Schlafqualität nach Melatoningabe berichtet (Wurtmann und Zhdanova, 1995; Leppamaki et al., 2003). Speziell über den Einfluss des Melatonins auf die subjektive Schlafqualität bei Blinden finden sich in der Literatur bisher keine näheren Angaben.

## **5.2. Das endogene Melatoninprofil bei Vollblinden**

### **5.2.1. Störungen bei Vollblinden**

Vollblinde Menschen, also Blinde ohne vorhandene Lichtwahrnehmung, weisen Störungen in der schlafabhängigen neuroendokrinen Aktivität auf, so unter anderem im endogenen Melatoninprofil. Bei gesunden sehenden Menschen oder auch bei Blinden mit noch vorhandener Lichtwahrnehmung steigt der Melatoninspiegel in den ersten Stunden der Nacht stark an, nach Erreichen eines Spitzenwertes fällt dieser bis auf einen niedrigen Ausgangswert in den frühen Morgenstunden langsam ab (Brzezinski, 1997).

Der Grund für die gestörten endogenen Melatoninplasmaprofile bei vollblinden Menschen lässt sich folgendermaßen erklären: Bei blinden Menschen ohne Lichtempfindung (Vollblinde) ist die Blindheit meist durch einen Schaden der Retina oder des Nervus opticus bzw. des ihn begleitenden Tractus retinohypothalamicus bedingt. Bei einer Schädigung dieser Strukturen kommt es, wie oben schon erwähnt, zu einer fehlenden Informationsweiterleitung zum Hypothalamus und zur Zirbeldrüse mit einer konsekutiven Desynchronisation des endogenen Melatoninrhythmus. Deshalb beobachtet man bei den meisten Blinden ohne Lichtempfindung einen freilaufenden Melatoninrhythmus mit einer Phasenlänge von mehr als 24 Stunden. In einer Studie wiesen 23 von 30 Blinden ohne Lichtempfindung einen freilaufenden zirkadianen Rhythmus des Melatonins auf, der sich im Bereich von 24.13 - 24.79 Stunden bewegte. Dadurch verschob sich der Melatoninrhythmus zum Tag-Nacht-Rhythmus kontinuierlich. Ca. alle 2 bis 3 Wochen hatten diese Menschen ihre maximale Melatoninausschüttung während der Nacht und etwa 2 bis 3 Wochen später während des Tages. So bestand die Möglichkeit, dass sich daraus in regelmäßigen Abständen wiederholende Schlafprobleme abwechselnd mit Phasen normalen Schlafs ergaben. Außerdem zeigten diese Probanden ein stark verändertes endogenes Melatoninprofil, dem der typische Spitzenwert des Melatoninplasmaspiegels in den ersten Stunden der Nacht fehlte (Lockley et al., 1997). Wenn sich der endogene zirkadiane Melatoninrhythmus außerhalb der normalen Phasenlängen befindet, resultieren daraus nächtliche Schlafstörungen und Tagesmüdigkeit.

Allerdings gibt es auch Blinde ohne Lichtempfindung, deren endogener Melatoninrhythmus einem physiologischen Verlauf entspricht (Sack et al., 1992; Sack et al., 2000) und deren Melatoninausschüttung durch Licht zu hemmen ist (Czeisler et al., 1995; Miles et al., 1977). Diese Personengruppe leidet folglich auch nicht unter Schlafstörungen. In diesem Fall besteht die Möglichkeit, dass ein noch intakter Tractus retinohypothalamicus für die unbewusste Lichtwahrnehmung verantwortlich ist und dadurch der zirkadiane Rhythmus synchronisiert wird. Neueste Untersuchungen fanden heraus, dass neben den bekannten Stäbchen und Zapfen eine dritte Gruppe von retinalen Ganglienzellen existiert (Ruby et al., 2002). Diese zellulären Lichtsensoren

geben das Farbpigment Melanopsin ab und könnten bei blinden Menschen ohne Lichtempfindung an der Übermittlung der Lichtreize zur Zirbeldrüse beteiligt sein.

So zeigte auch in unseren Untersuchungen einer der Probanden unter Placebo einen annäherungsweise physiologischen Plasmaspiegelverlauf des Melatonins während des achtstündigen Untersuchungszeitraums. Bei den übrigen Probanden stellten wir unter Placebobedingungen völlig unmodulierte Kurvenverläufe der Melatoninplasmaspiegel fest (Abb. A). Es ließen sich kaum deutliche Spitzenwerte oder Basiswerte voneinander abgrenzen. Ein Teil der Probanden wies während des gesamten Messzeitraums einen konstanten Level des Melatoninplasmaspiegels auf. In den meisten Fällen war auffällig, dass entgegen dem physiologischen Verlauf gerade in den ersten Stunden des Schlafs ziemlich niedrige Werte im Vergleich zum übrigen Messzeitraum auftraten. Keiner der Probanden wies unter Placebo ein völlig normales Melatoninplasmaprofil mit einem Spitzenwert in den frühen Stunden des Schlafs und einem langsamen Abfall bis in die frühen Morgenstunden auf.

### 5.2.2. Der endogene Melatoninrhythmus und die Schlaf-Wach-Phasen

Wir gehen davon aus, dass die Synchronisation des Schlafs und der schlafassoziierten neuroendokrinen Muster auch in unserer Studie durch die einmalige exogene Melatoningabe vermittelt wurde.

Melatonin gehört zur Substanzgruppe der sogenannten Chronobiotika (Dawson und Armstrong, 1996). Chronobiotika können therapeutisch zirkadiane Rhythmen, d. h. die biologische Uhr, beeinflussen (Simpson et al., 1980). So können sie zur Behandlung von Schlaf-Wach-Rhythmusstörungen herangezogen werden. Dazu gehört u. a. das sogenannte „Nicht-24-h-Schlaf-Wach-Syndrom“ (Sack et al., 1991). Merkmal dieser Schlafstörung ist die zeitliche Diskrepanz zwischen dem körpereigenen Schlaf-Wach-Rhythmus und der durch den Tagesablauf vorgegebenen Struktur.

Bei blinden Menschen mit fehlender Lichtwahrnehmung weisen die Hormonrhythmen einen freilaufenden Charakter auf. Dies gilt auch für das Melatonin. Die Periodenlänge für einen Tag-Nacht-Rhythmus ist, wie oben schon erwähnt, meist länger als 24 h.

Erste Studien über die Melatoningabe bei Blinden wurden u. a. von Sack et al. (1987) durchgeführt. In einer der Studien erhielten fünf vollblinde Männer über einen Zeitraum von drei Wochen 5 mg Melatonin vor dem Schlafengehen. Alle Probanden hatten einen freilaufenden Melatoninrhythmus. Vier der untersuchten Blinden zeigten während des Untersuchungszeitraums eine Vorverlagerung ihres Melatoninrhythmus, verglichen mit ihrem Ausgangsrhythmus (Sack et al., 1991). Auch andere Autoren berichteten von positiven Ergebnissen mit der Gabe von Melatonin beim Syndrom der verzögerten Schlafphase bzw. beim Syndrom der vorverlagerten

Schlafphase (Oldani et al., 1994; Kayumov et al., 2001). Insgesamt ist aber die Zahl der Veröffentlichungen über Melatoningabe bei Blinden mit freilaufendem Melatoninrhythmus sehr gering. Es ist nicht einfach, mit Hilfe von Melatonin eine Phasenverschiebung zu erreichen, insbesondere bei freilaufenden Rhythmen mit einer Phasenlänge von mehr als 24,5 Stunden. Dabei ist vor allem der Zeitpunkt der Verabreichung des Melatonins von großer Wichtigkeit. Diese sollte in einem bestimmten Zeitfenster am Abend vor der Erhöhung des endogenen Melatoninspiegels erfolgen. Der Vorteil ist, dass hierbei sowohl die schlafauslösenden als auch die phasenverschiebenden Effekte des Melatonins genutzt werden. Die akuten schlafinduzierenden Effekte des Melatonins stabilisieren so den Schlafbeginn (Arendt et al., 1997).

In einer später veröffentlichten Studie konnte durch die exogene Gabe von Melatonin für einige Wochen kurze Zeit vor der Schlafenszeit eine Synchronisation des vorher gestörten Melatoninrhythmus im Sinne einer Anpassung an den 24-h-Rhythmus erreicht werden (Sack et al., 2000).

Eine Hypothese von Sack et al. (1997) besagt, dass sowohl die Phasenveränderungen des Schlafs als auch die schlafinduzierenden Effekte des Melatonins über Rezeptoren des suprachiasmatischen Kerns des Hypothalamus vermittelt werden. Es wird davon ausgegangen, dass innerhalb einer zirkadianen Phase ein „Wach-Signal“ existiert, welches dem Schlafbedürfnis, das sich während des Tages aufbaut, entgegenwirkt. In der Nacht nimmt dieses „Wach-Signal“ ab, bis in den frühen Morgenstunden ein neues Signal von der „biologischen Uhr“, dem Hypothalamus, generiert wird. Da bei Blinden ohne Lichtempfindung der zirkadiane Rhythmus desynchronisiert und der Nachtschlaf gestört ist, wirkt Melatonin offenbar dem „Wach-Signal“ während des Schlafs entgegen und führt damit einen normalen Schlaf herbei.

Denkbar wäre, dass, so wie oben schon erwähnt, sowohl die schlafinduzierenden als auch die phasenverschiebenden Effekte des Melatonins zum Tragen kommen. Möglicherweise bewirkt die von uns verwendete hohe Melatonindosis im suprachiasmatischen Kern (SCN) des Hypothalamus eine Veränderung im Sinne einer Neujustierung. Es ist nach wie vor nicht klar, ob die vorteilhaften Effekte des Melatonins auf den menschlichen Schlaf nur durch die schlafanstoßende Wirkung des Melatonins oder durch eine Phasenveränderung der biologischen Uhr erreicht wird, die den Schlaf mit anderen endogenen Rhythmen (ACTH, Cortisol, GH) synchronisiert. Ob die einmalige Melatonindosis tatsächlich auch phasenverschiebende Effekte ausübte, blieb unklar und war auch nicht Gegenstand unserer Untersuchungen.

Hingewiesen werden sollte an dieser Stelle noch auf die großen interindividuellen Unterschiede der maximalen Melatoninplasmaspiegel nach hohen oralen Dosierungen des Hormons, so wie auch in Abb. B ersichtlich. Auf diese Tatsache wurde auch schon in früheren Veröffentlichungen hingewiesen (Waldhauser et al., 1984; Aldhous et al., 1985). Die Ursache dafür ist sicherlich in einer unterschiedlichen Absorption des Melatonins zu suchen. Wovon diese Unterschiede genau abhängen, ist zur Zeit nicht geklärt. Ca 80 % des absorbierten Melatonins

werden im Rahmen des „first pass effect“ von der Leber dem Kreislauf entzogen (Lane et al., 1985).

### **5.3. Das neuroendokrine Profil**

#### **5.3.1. Normalisierung des neuroendokrinen Profils von Vollblinden nach Melatoningabe**

Neben dem gestörten endogenen Melatoninprofil bei Vollblinden liegt auch eine Störung im HPA-System vor. Bei gesunden sehenden Probanden sind die ACTH- und Cortisolkonzentrationen in der ersten Hälfte der Nacht supprimiert. Der niedrigste Wert liegt in der ersten Schlafhälfte und wird auch als Cortisol-Nadir bezeichnet. Die zweite Nachthälfte zeichnet sich durch eine starke Zunahme der Konzentrationen der beiden Hormone aus. In den frühen Morgenstunden erreichen die ACTH- und Cortisolkonzentrationen einen Tagesmaximalwert, meist zum Zeitpunkt des Erwachens.

So wie oben für den endogenen Melatoninrhythmus beschrieben, fiel in früheren Studien an Vollblinden auch ein massiv gestörter Cortisolrhythmus ohne das typische physiologische Profil bei einem Großteil der untersuchten Probanden auf (Sack et al., 1992). Entgegen dem physiologischen Verlauf und im Einklang mit früheren Forschungsergebnissen zeigte sich nach Placebo auch in unserer Studie kein signifikanter Unterschied der ACTH- und Cortisolkonzentrationen zwischen erster und zweiter Schlafhälfte (Abb. E bzw. Tab. 2). Auffallend war weiterhin eine im Vergleich zum physiologischen Verlauf unmodulierte Freisetzungskinetik mit relativ geringen Konzentrationen der Hormone während eines Großteils des Nachtschlafs und kurzzeitigen Erhöhungen zu Beginn und am Ende der Schlafperiode (Abb. C und D).

Nach der Verabreichung von Melatonin präsentierte sich eine eindrucksvolle Veränderung im zeitlichen Freisetzungsprofil der Hormone ACTH und Cortisol. Hierbei stellte sich spontan das für sehende Menschen typische und physiologische Freisetzungsprofil der Hormone ein mit einer deutliche Reduktion der ACTH- und Cortisolkonzentrationen in der ersten Schlafhälfte und einer klaren Anhebung der Hormonkonzentrationen in der zweiten Schlafhälfte bis zum Erreichen eines Maximalwertes in den frühen Morgenstunden (Abb. C und D, Tab.2).

-

#### **5.3.2. Die Bedeutung des SCN des Hypothalamus**

Es ist wahrscheinlich, dass der endogene Melatoninrhythmus und die sekretorische Aktivität des HPA-Systems durch einen gemeinsamen Oszillator, der sich im suprachiasmatischen

Kern (SCN) des Hypothalamus befindet, verbunden sind (Sack et al., 1992). Dieser Oszillator, der auch als biologische Uhr bezeichnet werden kann, wird durch Lichtreize von außen an einen 24-h-Tag-Nacht-Rhythmus angepasst. So übernimmt er eine koordinierende Rolle bei der Anpassung der Aktivität, der Körpertemperatur und der Freisetzung verschiedener Hormone an den Tag-Nacht-Rhythmus. Bei vollblinden Menschen, bei denen eine Störung der Weiterleitung der Lichtreize zum suprachiasmatischen Kern vorliegt, kann der zirkadiane Oszillator die Hormonausschüttung und andere Körperfunktionen nicht an einen 24-h-Tagesrhythmus angleichen. In der Folge stellt sich ein Tagesrhythmus ein, der einen freilaufenden Charakter aufweist und etwas mehr als 24 h beträgt, so wie bereits unter 5.2.1. in Bezug auf das Melatonin erwähnt.

Dem suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus obliegt nicht nur die Kontrolle der Freisetzung von Hormonen in Abstimmung mit dem Tag-Nacht-Rhythmus, es wurden auch hohe Konzentrationen von hochaffinen Melatoninrezeptoren in dieser Region des Hypothalamus gefunden. Diese Melatoninrezeptoren fanden sich nur im suprachiasmatischen Kern, also dem mutmaßlichen Ort der biologischen Uhr, und in keiner anderen Region des Hypothalamus (Reppert et al., 1988; Vanecek et al., 1987). Die Melatoninrezeptoren vermitteln dort nicht nur das Feedback auf das endogen aus der Zirbeldrüse freigesetzte Melatonin, sondern sind wahrscheinlich auch Zielort für exogen zugeführtes Melatonin. So führt die exogene Zufuhr von Melatonin z.B. in Form einer Tablette, zu einem negativen Feedback auf die Produktion von Melatonin in der Zirbeldrüse, vermittelt über den Hypothalamus. Anders formuliert bewirkt die Verabreichung von hohen Konzentrationen exogenen Melatonins eine Suppression der endogenen Produktion im Sinne einer Gegenregulation (Arendt et al., 1995).

In neueren Studien wurde ein neuronaler Schaltkreis beschrieben, der den suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus mit den vorwiegend noradrenergen Zellen des Locus coeruleus über die dorsomedialen und paraventriculären Kerne des Hypothalamus verbindet. Dieser Schaltkreis wurde als ein aktivierendes System im Gehirn bezeichnet. Hierbei übernimmt der dorsomediale Kern des Hypothalamus eine besondere Funktion; er ist an der Regulation von zirkadianen Schwankungen der Impulsaktivität des Locus coeruleus beteiligt (Aston-Jones et al., 2001). Möglicherweise übernimmt dieser Schaltkreis eine wichtige Funktion in der Regulation monoaminerger Hormone des Gehirns und beeinflusst auf diese Art den Aktivierungszustand des Gehirns zu Schlaf- und Wachzeiten.

### 5.3.3. Die Bedeutung der Schlafstadien für die neuroendokrine Aktivität

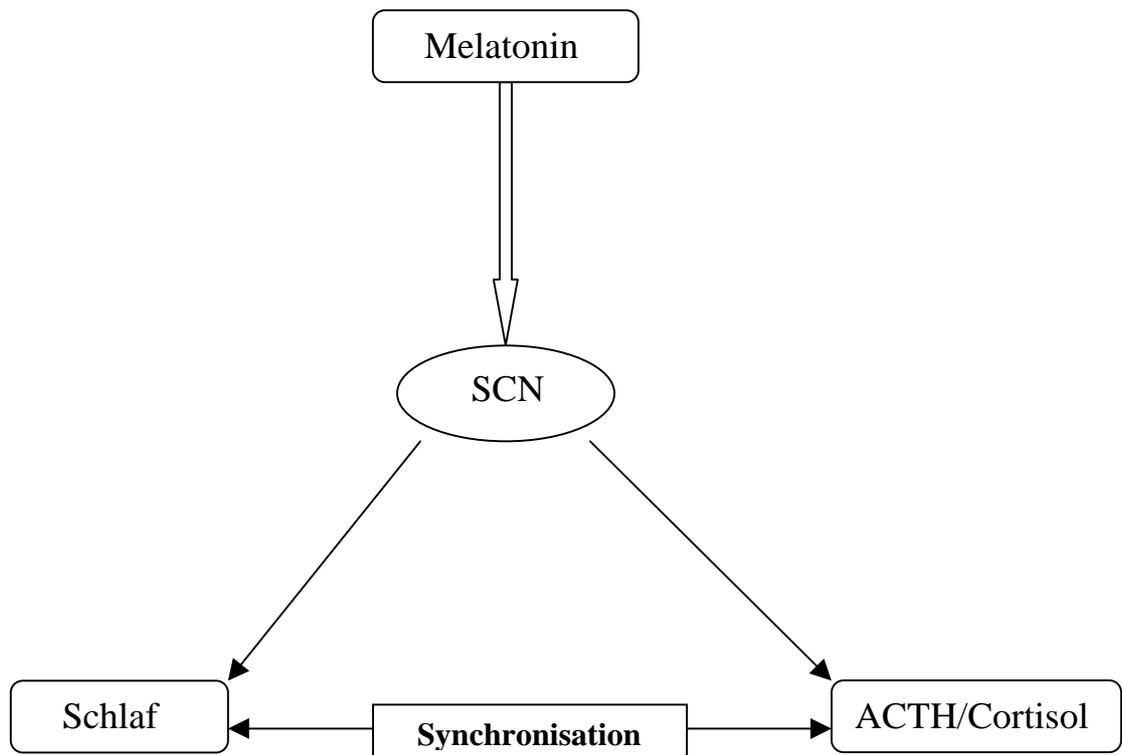
Eine wesentliche Erkenntnis unserer Studie ist die prompte Normalisierung des Musters der hypophysären-adrenalen Aktivität nach einmaliger Gabe von Melatonin bei blinden Probanden. Man könnte annehmen, dass die Veränderung der hypophysären-adrenalen Aktivität während des

Schlafs vor allen Dingen durch den fördernden Einfluss des Melatonins auf den zentralnervösen Schlaf hervorgerufen wird. Insbesondere durch den Tiefschlaf kann die hypophysär-adrenale Aktivität reguliert werden, unabhängig von den Einflüssen des zirkadianen Oszillators im Hypothalamus (Van Cauter et al., 1998). Gerade bei älteren Menschen findet man häufig eine Verminderung des Tiefschlafs sowie eine Zunahme der Wachzeit. Hervorgerufen durch diese Schlafstörungen kommt es konsekutiv zu einer Störung der somatotrophen und kortikotropen Funktion, z. B. im Sinne erhöhter ACTH- und Cortisolwerte im frühen Schlaf. Auch bei jungen Probanden mit Schlafstörungen wurden ganz ähnliche Veränderungen in der hormonellen Funktion wie bei älteren Probanden beobachtet. Vor allem der frühe Schlaf, insbesondere der während des frühen Schlafs vorwiegend auftretende SWS-Schlaf, hemmt die spontane hypophysär-adrenale Aktivität (Bierwolf et al., 1997). Auch die Antwort des HPA-Systems auf die Verabreichung von Vasopressin und CRH ist reduziert. Dies konnte in den entsprechenden Studien nachgewiesen werden, indem Probanden Vasopressin bzw. CRH erhielten. Wenn die Probanden danach wach blieben, kam es zu einem Anstieg von ACTH bzw. Cortisol, wenn sie dagegen schliefen, blieb ein solcher Anstieg aus. Dabei zeigte sich in den Tiefschlafphasen eine besonders effiziente Suppression der ACTH- und Cortisolspiegel. Die sekretorische Aktivität des HPA-Systems während der Nacht ist charakterisiert durch eine Phase mit reduzierter Aktivität in den ersten Stunden des Schlafs und eine verstärkte Aktivität in den frühen Morgenstunden. Es ist noch nicht hinreichend geklärt, ob das typische nächtliche Sekretionsmuster der Hormone ACTH und Cortisol durch den zirkadianen Oszillator oder durch die einzelnen Schlafstadien beeinflusst wird (Späth-Schwalbe et al., 1994).

Andererseits führte umgekehrt die kontinuierliche intravenöse Verabreichung von Cortisol zwischen 22.00 h und 7.00 h, verglichen mit der Placebobedingung, zu einer signifikanten Reduktion des REM-Schlafs und zu einer Zunahme des SWS-Schlafs. (Born et al., 1988). Somit ist auch eine Beeinflussung des Schlafs durch die Hormone des HPA-Systems denkbar, vielleicht auch vermittelt über den zirkadianen Oszillator des SCN.

Die in unserer Studie praktizierte Melatoningabe ließ den Tiefschlaf, welcher wie oben erwähnt einen bedeutenden Einfluss auf die ACTH- und Cortisolspiegel ausübt, unbeeinflusst. Diese Erkenntnis spricht gegen die Annahme, dass ausschließlich die durch die Melatoningabe induzierten Veränderungen des Schlafs, einen Einfluss auf die hypophysär-adrenale Aktivität haben. Vielmehr scheint das Melatonin sowohl den zentralnervösen Schlaf und parallel dazu auch die hypophysär-adrenale Aktivität zu beeinflussen, wahrscheinlich vermittelt über den zirkadianen Oszillator als übergeordnetes Organ (Abb. G auf der nächsten Seite). Es ist allerdings nach wie vor nicht bekannt, welchem neurophysiologischen Mechanismus der Einfluss des Melatonins auf den Schlaf und die hypophysär-adrenale Aktivität zugrunde liegt.

**Abbildung G:**



**Abbildung G:** Mögliche Einflussnahme des Melatonins auf den zentralnervösen Schlaf und parallel auch auf die hypophysär-adrenale Aktivität, vermittelt über den SCN des Hypothalamus als übergeordnetes Organ. Weiterhin sind synchronisierende Effekte des Schlafs auf die hypophysär-adrenale Aktivität möglich und eventuell auch umgekehrt.

**5.3.4. Melatonin und das HPA-System**

Ob Melatonin die Fähigkeit besitzt, auf direkte Art und Weise die Aktivität des hypophysär-adrenalen Systems zu regulieren, ist zur Zeit unklar. Außerdem ist nicht sicher, ob über die neuronale Verbindung zwischen Zirbeldrüse und Hypothalamus eine solche Hemmung des HPA-Systems möglich ist, z.B. über eine Beeinflussung von Releasingfaktoren wie CRH und Vasopressin. Die Effekte einer exogenen Veränderung des Melatoninrhythmus auf die hypophysäre Funktion wurden bereits in einigen Studien beforscht (Watanabe et al., 1998; Isobe et al, 2001). So konnte unter anderem aufgedeckt werden, dass eine Verabreichung von 5 mg Melatonin am Abend bei gesunden Probanden eine Erhöhung des Cortisol- und Prolaktinpeaks herbeiführt, was unseren Ergebnissen widerspricht. Die GH-Spiegel blieben, so wie auch in unserer Studie, unbeeinflusst.

Der bei gesunden Probanden beobachtete Peak des Vasopressinspiegels in der Nacht war nach Gabe von Melatonin deutlich abgeflacht, ebenso blieb eine Erhöhung des Oxytocinspiegels aus (Kostoglou-Alhanassiou et al., 1998). Der genaue Mechanismus der Beeinflussung der neuroendokrinen Funktionen durch Melatonin blieb auch in dieser Studie unklar.

#### **5.4. Schlaf und Gedächtnis**

In einer Vielzahl von bedeutenden Studien wurde herausgefunden, dass dem Schlaf eine Hauptfunktion bei der Aufrechterhaltung des metabolischen Gleichgewichts und bei der Gedächtniskonsolidierung zukommt (Spiegel et al., 1999; Maquet, 2001; Plihal und Born, 1999). Im Hinblick auf den Einfluss des Schlafs auf die metabolische Funktion zeigten sich bei gesunden Probanden nach chronischer Reduktion der nächtlichen Schlafzeit auf 4 h über einen Zeitraum von 6 Nächten eine Verminderung der Glucosetoleranz bzw. eine zunehmende Insulinresistenz, eine erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems sowie eine Zunahme der Cortisolkonzentrationen am späten Abend (Spiegel et al., 1999). Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung eines ungestörten Schlafs, denn Störungen des metabolischen Gleichgewichts können langfristig zu einer nicht überschaubaren Anzahl von gesundheitlichen Störungen führen.

Bezüglich der Gedächtniskonsolidierung während des Schlafs wurde erkannt, dass vor allem der Tiefschlaf während der ersten Schlafhälfte entscheidend für die Konsolidierung von Lerninhalten ist (deklaratives Gedächtnis). Der in der zweiten Nachthälfte überwiegende REM-Schlaf scheint demgegenüber vorrangig der Konsolidierung von Fertigkeiten (prozedurales Gedächtnis) zu dienen (Plihal und Born, 1999). Die deklarative Gedächtniskonsolidierung ist vor allem von der Integrität des Hippocampus abhängig. Eine Voraussetzung für die Konsolidierung deklarativer Gedächtnisinhalte im Schlaf ist eine effiziente Hemmung des Cortisolspiegels während der frühen Tiefschlafphasen (Plihal und Born, 1999). Diese Erkenntnisse verdeutlichen die große Bedeutung der Hemmung der Cortisolspiegel in der ersten Schlafhälfte, wie sie in unserer Studie durch die Melatoningabe im Vergleich zu Placebo erzielt werden konnte. Diese Hemmung der Glukokortikoidfreisetzung während der ersten Nachthälfte wird über eine Blockade von Glukokortikoidrezeptoren des Hippocampus vermittelt. Erhöhte Cortisolspiegel in der ersten Nachthälfte beeinträchtigen die Konsolidierung des deklarativen Gedächtnisses, ohne jedoch den SWS-Schlaf damit zu verändern. Die Festigung des prozeduralen Gedächtnisses wird durch die erhöhten Cortisolspiegel nicht beeinflusst, wohl aber die Dauer des REM-Schlafs.

Die Erkenntnisse über die Bedeutung des Schlafs für die Gedächtnisleistung machen deutlich, dass vollblinde Menschen auch im Hinblick auf ihre kognitiven Fähigkeiten von einer Normalisierung des Schlafs profitieren können.

## **5.5. Resümee**

Der Schlaf hat einen entscheidenden Anteil an der Aufrechterhaltung der physiologischen Funktionen und damit auch an der Erhaltung der Gesundheit des Menschen. Ein ausreichend langer, ungestörter und gesunder Schlaf ist essentiell für die Aufrechterhaltung endokriner Funktionen, wie z. B. der GH, der ACTH- oder der Cortisolkonzentration. Eine ebenso große Bedeutung hat der Schlaf für zentralnervöse Prozesse wie die sympathische Aktivität oder auch Lernvorgänge. Als übergeordnetes Organ, welches sowohl den Schlaf als auch endokrine und metabolische Funktionen, die mit dem Schlaf assoziiert sind, beeinflusst, wurde der suprachiasmatische Kern des Hypothalamus identifiziert. In dieser Region des Hypothalamus befindet sich eine Vielzahl von Melatoninrezeptoren, an die sowohl endogenes als auch exogen verabreichtes Hormon bindet und auf diese Weise die Funktion des suprachiasmatischen Kerns und damit auch alle nachgeschalteten Funktionen verändert. Dies verdeutlicht die Bedeutung der synchronisierten Melatoninfreisetzung für den Schlaf und alle damit assoziierten Funktionen.

Vollblinde Menschen wiesen in unserer Studie nach Placebo eine völlig unmodulierte und desynchronisierte Freisetzungskinetik des Melatonins auf. Neben dem verkürzten und in seiner Architektur veränderten Schlaf fiel eine unphysiologische hypophysär-adrenale Aktivität auf. Diese Störungen könnten bei vollblinden Menschen auf lange Sicht metabolische Erkrankungen und Gedächtnisdefizite bewirken. Möglicherweise liegt dieser Störung eine Desynchronisation des gemeinsamen zirkadianen Oszillators im suprachiasmatischen Kern des Hypothalamus zugrunde. Die Neujustierung dieses zirkadianen Oszillators durch die exogene Gabe von Melatonin, so wie in unserer Studie praktiziert, könnte daher für die Synchronisation zentralnervöser und hormoneller schlafassoziierten Prozesse verantwortlich sein. Dies ist Voraussetzung dafür, dass der Schlaf seine physiologische Funktion voll entfalten kann.

Die Ergebnisse unserer Studie verdeutlichen eindrucksvoll, dass vollblinde Menschen von einer oralen Melatoningabe profitieren können. Neben der subjektiven und objektiven Verbesserung des Schlafs normalisieren sich die zuvor desynchronisierten zentralnervösen und hormonellen schlafassoziierten Prozesse. Von ganz besonderer Bedeutung ist, dass sich diese positiven Effekte auf den Schlaf der Blinden auch schon durch eine einmalige Melatoningabe erreichen lassen. Aufgrund dieser Vielzahl an positiven Wirkungen auf den Schlaf von vollblinden Menschen bei bisher kaum beobachteten Nebenwirkungen wäre ein klinischer Einsatz des Melatonins für die Zukunft denkbar. Durch die Normalisierung des Schlaf-Wach-Rhythmus wäre eine Verbesserung der Lebensqualität vollblinder Menschen möglich, im Hinblick auf die Normalisierung neuroendokriner Aktivitätsmuster könnten metabolische Erkrankungen verhindert und Gedächtnisleistungen verbessert werden.

## **6. Zusammenfassung**

### **6.1. Hintergrund**

Melatonin, das Hormon der Epiphyse, wird in Abhängigkeit vom Tag-Nacht-Zyklus ausgeschüttet und ist an der Regulation des Schlafs beteiligt. Über retinale photorezeptive Signale wird die Freisetzung von Melatonin bei Dunkelheit aktiviert und bei Licht unterdrückt. Beim gesunden Menschen steigt die Melatoninsekretion nach Einbruch der Dunkelheit an, erreicht in der Mitte der Nacht ein Maximum und fällt dann in der zweiten Nachthälfte wieder ab. Der abendliche Anstieg der Melatoninplasmakonzentration geht einher mit zunehmender Schlafneigung. Bei blinden Menschen, deren Retina oder Tractus retinohypothalamicus geschädigt ist, führt das Ausbleiben von Lichtreizen und die damit verbundene veränderte Melatoninfreisetzung sowohl zu gestörtem Schlaf als auch zu gestörten neuroendokrinen Aktivitätsmustern während des Schlafs. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob eine einmalige orale Gabe von Melatonin Schlaf und schlafassoziierte neuroendokrine Muster von blinden Probanden verbessert.

### **6.2. Material und Methoden**

Zwölf vollständig blinde Männer und Frauen mit einer Schädigung der Retina oder des Tractus retinohypothalamicus nahmen an der Untersuchung teil. In der doppelblinden Studie wurde den Probanden eine Stunde, bevor sie um 23.00 zu Bett gingen, entweder 5 mg Melatonin oder Placebo oral verabreicht. Der Schlaf wurde polysomnographisch aufgezeichnet; halbstündlich wurden Blutproben entnommen, um die Plasmaprofile von Melatonin, Wachstumshormon (GH), Adrenokortikotropin (ACTH) und Cortisol zu bestimmen.

### **6.3. Ergebnisse**

Melatonin verlängerte die Gesamtschlafenszeit (d.h. die effektive Schlafdauer), erhöhte die Schlafeffizienz (d.h. das Verhältnis von effektiver Schlafdauer zur Gesamtbettzeit) und verkürzte die intermittierende Wachzeit (jeweils  $p < 0.05$ ). Die Zunahme der Gesamtschlafenszeit beruhte vor allem auf einem Anstieg des Schlafstadiums 2 ( $p < 0.01$ ) und einem leichtem Anstieg des REM-Schlafs ( $p < 0.06$ ). Parallel hierzu normalisierten sich die nächtlichen Plasmaprofile von ACTH und Cortisol. Während unter Placebobedingungen die ACTH- und Cortisolspiegel im frühen und späten Schlaf gleich blieben, zeigte sich nach Melatoningabe die für den normalen Schlaf charakteristische Hemmung von ACTH und Cortisol während der frühen Nacht und ein deutlicher

Anstieg während der späten Nacht (jeweils  $p < 0.01$ ). Weiterhin war der Cortisol-Nadir nach Melatoningabe abgesenkt ( $p < 0.05$ ).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eindrucksvoll, dass eine einmalige orale Melatonin-Dosis sowohl den Schlaf als auch die schlafassoziierten neuroendokrinen Muster von blinden Menschen verbessert. Unter der Placebobedingung war die nächtliche Melatonin- und Hypophysen-Nebennierenrinden-Aktivität der Probanden deutlich gestört. Möglicherweise liegt dieser Störung eine Desynchronisation ihres gemeinsamen zirkadianen Oszillators im Nucleus suprachiasmaticus des Hypothalamus zugrunde. Dieser ist mit hochaffinen Melatoninrezeptoren besetzt und vermittelt somit die Wirkung von endogenem und exogen verabreichtem Melatonin. Die Neujustierung dieser zirkadianen Uhr durch die Melatoningabe könnte für die Synchronisation zentralnervöser und hormoneller schlafassoziierte Prozesse verantwortlich sein. Diese Synchronisation ist Voraussetzung dafür, dass der Schlaf seine physiologische Funktion entfalten kann.

## **7. Literaturliste**

**Akerstedt T, Froberg JE, Friberg Y, Wetterberg L.** Melatonin excretion, body temperature and subjective arousal during 64 hours of sleep deprivation. *Psychoneuroendocrinology* 1976;4:219-225.

**Aldhous M, Franey C, Wright I, Arendt J.** Plasma concentration of melatonin in man following oral absorption of different preparation. *Br J Clin Pharmacol.* 1985;19:517-521.

**Alford FP, Baker HW, Burger HG, De Kretser DM, Hudson B, Johns MW, Masterton JP, Patel YC, Rennie GC.** Temporal patterns of integrated plasma hormone levels during sleep and wakefulness. Thyroid-stimulating hormone, growth hormone and cortisol. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973; 37 (6) .841-7

**Anton-Tay F, Diaz JL, Fernandez-Guardiola A.** On the effect of melatonin upon the human brain: its possible therapeutic implications. *Life Sci* 1971;10:841-50.

**Arendt J, Bojkowski C, Franey C, Wright J, Marks V.** Immunoassay of 6-hydroxymelatonin sulfate in human plasma and urine: abolition of the urinary 24-hour rhythm with atenolol. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985;60:1166-1173.

**Arendt J, Marks V.** Jet lag and melatonin. *Lancet* 1986;2:698-699.

**Arendt J, Aldhous M, English J, Marks V, Arendt JH.** Some effects of jet lag and their alleviation by melatonin. *Ergonomics* 1987;30:1379-1393.

**Arendt J, Aldhous M, Wright J.** Synchronisation of a disturbed sleep-wake cycle in a blind man by melatonin treatment. *Lancet* 1988;1:772-773.

**Arendt J, Aldhous M.** Further evaluation of the treatment of jet lag by melatonin: a double blind crossover study. *Anno Rev Chronopharmacol* 1988;5:53-55.

**Arendt J, Deacon S, English J, Hampton S, Morgan L.** Melatonin and adjustment to phase shift. *J. Sleep Res.* 1995;2:74-79.

**Arendt J, Skene DJ, Middleton B, Lockley SW, Deacon S.** Efficacy of melatonin treatment in jet lag, shift work and blindness. *J Biological rhythms* 1997;6:604-617.

**Arendt J.** Melatonin, circadian rhythms, and sleep. *N Engl J Med* 2000;343:1114-1116.

**Ariens Kappers, J. A., Schade J. P.** Structure and function of the epiphysis cerebri. *Progr. Brain Res.*10, 1965.

**Armstrong SM, Cassone VM, Chesworth MJ, Redman JR, Short RV.** Synchronization of mammalian circadian rhythms by melatonin. In: **Wurtman RJ, Waldhauser F.** Melatonin in humans. Proceedings of the First International Conference on Melatonin in Humans. Vienna, Austria; 1985. Center for Brain Sciences and Metabolism Charitable Trust. Cambridge USA, pp 353-366

**Aserinsky E, Kleitmann N.** Regulatory periods of eye motility and concurrent phenomena during sleep. *Science* 1953; 118:273-274

**Aston-Jones G, Chen S, Zhu Y, Oshinsky ML.** A neural circuit for circadian regulation of arousal. *Nat Neurosci* 2001;4:732-738.

**Attenburrow MEJ, Cowen PJ, Sharpley AL.** Low dose melatonin improves sleep in healthy middle-aged subjects. *Psychopharmacology* 1996;126:179-81.

**Axelrod J, Weissbach H.** Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science* 1960;131:1312-3.

**Benitez-King G, Anton-Tay F.** Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia* 1993;49:635-41.

**Bierwolf C, Struve K, Marshall L, Born J, Fehm HL** Slow wave sleep drives inhibition of pituitary-adrenal secretion in humans. *J Neuroendocrinol* 1997;9:479-484.

**Birbaumer N, Schmidt R. F.** Wachen, Aufmerksamkeit und Schlafen in Physiologie des Menschen 1991; 26:141-153.

**Bojkowski CJ, Arendt J, Shih MC, Markey SP.** Melatonin secretion in humans assessed by measuring its metabolite, 6-sulfatoxymelatonin. *Clin Chem* 1987;33:1343-1348.

**Born J, Kern W, Bieber K, Fehm-Wolfsdorf G, Schiebe M, Fehm HL.** Night-time plasma cortisol secretion is associated with specific sleep stages. *Biol. Psychiatry* 1986;21:1415-1424.

**Born J, Späth-Schwalbe E, Schwakenhofer H, Kern W, Fehm HL.** Influences of Corticotropin-Releasing hormone, Adrenocorticotropin and cortisol on sleep in normal man. *Angewandte Physiologie* 1988;68.

**Born J, Fehm HL.** Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: a coordinating role for the limbic hippocampal system. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998;106:153-163.

**Born J, Hansen K, Marshall L, Molle M, Fehm HL.** Timing the end of nocturnal sleep. *Nature* 1999;397:29-30.

**Brzezinski A.** Melatonin in humans. *N Engl J Med* 1997;336:186-195

**Brismar K, Hylander B, Eliasson K, Rossner S, Wetterberg L.** Melatonin secretion related to side-effects of  $\beta$ -blockers from the central nervous system. *Acta Med Scand* 1988; 223:525-530.

**Bundschuh G, Schneeweiss B, Bräuer H.** Lexikon der Immunologie, 2.erweiterte Auflage 1992;701-702;411.

**Cardinali DP, Lynch HJ, Wurtman RJ.** Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology* 1972;91:1213-1218.

**Cavallo A, Ritschel WA.** Pharmacokinetics in human sexual maturation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:1882-1886.

**Claustrat B, Brun J, Chazot G.** Melatonin and jet lag: confirmatory results using a simplified protocol. *Biol Psychiatry* 1992;32:705-711.

**Cramer H, Kendel K, Beck U.** Influence of melatonin on sleep in humans. Sleep. Physiology, biochemistry, psychology, pharmacology, clinical implications. Presented at the First European congress on sleep research, Basel 1972.

**Cramer H, Rudolph J, Consbruch U, Kendel K.** On the effects of melatonin on sleep and behavior in man. In: Costa E, Gessa GL, Sandler M, eds. *Advances in biochemical psychopharmacology*. Raven Press 1974;187-91.

**Coon SL, Roseboom PH, Baler R, et al.** Pineal serotonin N-acetyltransferase: expression cloning and molecular analysis. *Science* 1995;270:1681-3.

**Csaba G, Bodoky M, Toro I.** Hormonal relationships of mastocytogenesis in lymphatic organs. Effect of epiphysectomy on the genesis of mast cells. *Acta Anat* 1965;61:289-296.

**Csaba G, Dunay C, Fischer J, Bodoky M.** Hormonal relationships of mastocytogenesis in lymphatic organs. Effect of the pineal body-thyroid-thymus system on mast cell production. *Acta Anat.* 1968;71:565-580.

**Csaba G, Barath P.** Morphological changes of thymus and the thyroid gland after postnatal extirpation of pineal body. *Endocrinol. Exp.* 1975;9:59-67.

**Czeisler C, Kronauer R, Allan J, Duffy J, Jewett M, Brown E, Ronda J.** Bright light induction of strong resetting of the human circadian pacemaker. *Science* 1989;244:1328-1333.

**Czeisler CA, Shanahan TI, Klerman EB, Martens H, Brotman DJ, Emens JS, Klein T, Rizzo JF.** Suppression of melatonin secretion in some blind patients by exposure to bright light. *N Engl J Med* 1995;332:6-11.

**Dahlitz M, Alvarez B, Vignau J, English J, Arendt J, Parkes JD.** Delayed sleep phase syndrome response to melatonin. *Lancet* 1991;337:1121-1124.

**Dawson D, Encel N.** Melatonin and sleep in humans. *J Pineal Res.* 1993; 15 (1) : 1-12.

**Dawson D, Armstrong SM.** Chronobiotics: Drugs that shift rhythms. *Pharmacol Ther.* 1996;69:15-36.

**Dollins AB, Lynch HJ, Wurtman RJ, Deng MH, Lieberman HR.** Effects of illumination on human nocturnal serum melatonin levels and performance. *Physiology and Behavior* 1992;53:153-160.

**Dollins AB, Zhdanova IV, Wurtman RJ, Lynch HJ, Deng MH.** Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1824-8.

**Fehm HL, Spath-Schwalbe E, Pietrowsky R, Kern W, Born J.** Entrainment of nocturnal pituitary-adrenocortical activity to sleep processes in man - a hypothesis. *Exp Clin Endocrinol.* 1993; 101 (5) : 267-76

**Follenius M, Brandenberger G, Simon C, Schlienger JL.** REM sleep in humans begins during decreased activity of the anterior pituitary. *Sleep* 1988; 11 (6) : 546-55

**Forsling ML, Wheeler MJ, Williams AJ.** The effect of melatonin administration on pituitary hormone secretion in man. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999, 51(5):637-42

**Dubocovich ML,** Melatonin receptors: are there multiple subtypes? *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16:50-6.

**George CF, Millar TW, Hanly PJ, Kryger MH.** The effects of L-tryptophan on daytime sleep latency in normals; correlation with blood levels. *Sleep* 1989; 12:345-353.

**Gooley JJ, Lu J, Chou TC, Scammell TE, Saper CB.** Melanopsin in cells of origin of the retinohypothalamic tract. *Nat Neurosci* 2001; 4:1165.

**Graf MV, Kastin AJ.** Delta sleep inducing peptide (SDIP): an update. *Peptides* 1986; 7:1165-1187.

**Hughes RJ, Sack RL, Lewy AJ.** The role of melatonin and circadian phas in age-related sleep maintenance insomnia; assessment in a clinical trial of melatonin replacement; 1997.

**Isobe Y, Torii T, Nishino H.** Melatonin inhibits Arg-vasopressin release via MT(2) receptor in the suprachiasmatic nucleus-slice culture of rats. *Brain Res* 2001; 889:214-219.

**James SP, Mendelson WB, Sack DA, Rosenthal NE, Wehr TA.** The effect of melatonin on normal sleep. *Neuropsychopharmacology* 1987;1:41-44.

**Jankovic D, Isakovic K, Petrovic S.** Effect of pinealectomy on immun reaction in the rat. *Immunology* 1970;18:1-6.

**Jasper HH.** Formal discussion: dendrites. *Electroencephalogr. Clin Neurophysiol Suppl.* 1958; 35 (Supp 10): 42-50

**Kayumov L, Brown G, Jindal R, Buttoo K, Shapiro CM.** A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study of the effect of exogenous melatonin on delayed sleep phase syndrome. *Psychosom Med* 2001;63:40-48.

**King MW,** internet resource der IU school of medicine, University of Brescia; 2003-09-18. URL: [http://www.med.unibs.it/~marchesi/biotec/slides/derivati\\_di\\_aminoacidi/sld001.htm](http://www.med.unibs.it/~marchesi/biotec/slides/derivati_di_aminoacidi/sld001.htm)

**Klein DC, Weller JL, Moore RJ.** Melatonin metabolism: neural regulation of pineal serotonin-N-acetyltransferase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1971;68:3107-3110.

**Klein DC, Weller JL** Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Science* 1972;177:532-533.

**Kokkola T, Laitinen JT.** Melatonin receptor genes. *Ann Med.* 1998; 30(1):88-94

**Kostoglou-Athanassiou I, Treacher DF, Wheeler MJ, Forsling ML.** Melatonin administration and pituitary hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998; 48:31-37.

**Kreutzig T.** *Biochemie, Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog, 8.korrigierte Auflage* 1993;..

**Lane EA, Moss HB.** Pharmacokinetics of melatonin in man: first pass hepatic metabolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985;61(6):1214-6

**Langer M, Hartman J, Turkof H, Waldhauser F.** Melatonin in the human, an overview. Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, AKH Wien, Österreich 1997; 109(18):707-13

**Lee PPN, Pang SF,** Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. *Biol Signals* 1993;2:181-93.

**Leonhardt H,** Endokrines System. In: **Leonhardt H, Tillmann B, Töndury G, Zilles K.** Anatomie des Menschen, Innere Organe, Band 2, 20. Aufl., Rauber/Kopsch, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1987, S. 211-213

**Leppamaki S, Partonen T, Vakkuri O, Lonnqvist J, Partinen M, Laudon M.** Effect of controlled-release melatonin on sleep quality, mood, and quality of life in subjects with seasonal or weather-associated changes in mood and behaviour. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2003;13:137-45.

**Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W.** Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958;80:2587.

**Lerner AB, Case JD.** Melatonin. *Fed Proc* 1960;19:590-2.

**Lewy AJ, Markey SP.** Analysis of melatonin in human plasma by gas chromatography negative chemical ionization mass spectrometry. *Science* 1978; 201:741-3.

**Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome BA, Markey SP.** Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 1980;210:1267-1269.

**Lewy AJ, Newsome DA.** Different types of melatonin circadian secretory rhythms in some blind subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56:1103-7.

**Lewy AJ, Sack RL, Singer CM.** Immediate and delayed effects of bright light on human melatonin production: shifting “dawn” and “dusk” shifts the dim light melatonin onset. *Ann NY Acad Sci.* 1985;453:253-9.

**Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, Lynch HF, Wurtman RJ.** Effects of melatonin on human mood and performance. *Brain Res* 1984;323:201-7.

**Liebman PM, Wölfler A, Felsner P, Hofer D, Schauenstein C.** Melatonin and the immune system. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;112:203-211.

**Lissoni P, Barni S, Tancini G, Rovelli F, Ardizioia A, Cont A, Maestroni GJ.** A study of the mechanisms involved in the immunostimulatory action of the pineal hormone in cancer patients *Oncology* 1993;50:399-402.

**Lockley SW, Skene DJ, Arendt J, Tabandeh H, Bird AC, DeFrance R.** Relationship between melatonin rhythms and visual loss in the blind. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:3763-3770.

**Lockley SW, Skene DJ, James K, Thapan K, Wright J, Arendt J.** Melatonin administration can entrain the free-running circadian system of blind subjects. *J Endocrinol* 2000; 164:R1-R6.

**Lynch HJ, Wurtman RJ, Moskowitz MA, Archer MC, Ho MH.** Daily rhythm in human urinary melatonin. *Science* 1975;187:169-71.

**Maestroni GJ, Pierpaoli W.** Pharmacologic control of the hormonally mediated immune response; in Ader: *Psychoneuroimmunology.* Academic Press 1981;405-413.

**Maestroni GJ, Conti A, Pierpaoli W.** Role of the pineal gland in immunity. Circadian synthesis and release of melatonin modulates the antibody response and antagonizes the immunosuppressive effect of corticosterone. *J Neuroimmunol* 1986;13:19-30.

**Maestroni GJ.** T-helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin. *J Pineal Res* 1995;18:84-89.

**Maquet P.** The role of sleep in learning and memory. *Science* 2001;294:1048-1052

**McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, Armstrong SM.** Melatonin rhythm in human plasma and saliva. *J Pineal Res* 1987;4:177-183.

**McIntyre IM, Burrows GD; Norman TR,** Suppression of plasma melatonin by a single dose of the benzodiazepine alprazolam in humans. *Biol Psychiatry* 1988;24:105-108.

**McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, Armstrong SM.** Human melatonin suppression by light is intensity dependent. *J Pineal Research* 1989;6:149-156.

**McLeod SD, Cairncross KD.** Preliminary evidence of a synergistic  $\alpha$ 1-and  $\beta$ 1 -adrenoceptor regulation of rat pineal hydroxyindole-O-methyltransferase. *Gen Comp Endocrinol* 1995;97:283-288.

**Miles LEM, Raynal DM, Wilson MA.** Blind man living in normal society has circadian rhythms of 24.9 hours. *Science* 1977;198:421-3.

**Moore RY, Lenn NJ** A retinohypothalamic projection in the rat. *J Comp Neurol.* 1972 ;146 :1-14.

**Moore RY, Klein DC.** Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res.* 1974;71:17-33.

**Moore-Ede MC, Czeisler Ca, Richardson GS.** Circadian timekeeping in health and disease: Part 2. Clinical implications of circadian rhythmicity. *N Engl. J Med*, 1983; 309:530-6.

**Morgan PJ, Barrett P, Howell HE, Helliwell R.** Melatonin receptors: localization, molecular pharmacological significance. *Neurochem. Int.* 1994;24:101-46.

**Mrosovsky N.** Phase response curves for social entrainment. *J Comp Physiol.* 1988;162:35-46.

**Murphy P, Myers B, Wright K, Boecker M, Badia P.** Non-steroidal anti-inflammatory drugs and melatonin levels in humans. *Sleep Res.* 1993; 22:413.

**Ninomiya T, Iwatani N, Tomoda A, Miike T.** Effects of exogenous melatonin on pituitary in humans. *Clin Physiol.* 2001;21(3) .292-9

**Nowak R, Mc Millen IC, Redman J, Short RV.** The correlation between serum and salivary melatonin concentrations and urinary 6-hydroxymelatonin sulphate excretion rates: two non-invasive techniques for monitoring human circadian rhythmicity. *Clin Endocrinol.* 1987; 27:445-452.

**Oldani A, Ferini-Strambi L, Zucconi M, Stankov B, Fraschini F, Smirne S.** Melatonin and delayed sleep phase syndrome. Ambulatory polygraphic evaluation. *Neuroreport.* 1994;6:132-4.

**Petri K, Dawson AG, Thompson L, Brook R.** A double-blind trial of melatonin as a treatment for jet lag in international cabin crew. *Biol. Psychiatry*1993;33:526-530.

**Plihal W, Born J.** Memory consolidation in human sleep depends on inhibition of glucocorticoid release. *Neuroreport* 1999;10:2741-2747.

**Rechtschaffen A, Kales A.** A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Bethesda, MD: N.I.H. 1967;Publication No. 204

**Reiter RJ.** Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Prog. Neurobiol.* 1998;359-384.

**Reppert SM, Weaver DR, Rivkees SA, Stopa EG.** Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science* 1988;242:78-81.

**Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T.** Cloning and characterization of mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian response. *Neuron* 1994;13:1177-85.

**Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slangenaupt SA, Gusella JF,** Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel 1b melatonin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:8734-8.

**Ruby NF, Brennan TJ, Xie X, Cao V, Franken P, Heller HC, O'Hara BF.** Role of melanopsin in circadian response to light. *Science* 2002, 2211-2213.

**Sack RL, Lexy AJ, Hoban TM.** Free-running melatonin rhythms in blind people: phase shifts with melatonin and triazolam administration. In Rensing :, an der Heiden U, Mackey MC, eds. *Temporal disorder in human oscillatory systems*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1987:219-24.

**Sack RL, Lewy AJ, Blood ML, Stevenson J, Keith L.** Melatonin administration to blind people: phase advances and entrainment. *J Biol Rhythms* 1991;6:249-261.

**Sack RL, Lewy AJ, Blood ML, Keith LD, Nakagawa H.** Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance.1992; *J Clin Endocrinol Metab* 75:127-134.

**Sack R, Blood ML, LewyA.** Melatonin administration promotes circadian adaptation to shift work. *Sleep Res.* 1994;23:509.

**Sack RL, Hughes RJ, Edgar DM, Lewy AJ.** Sleep-Promoting effects of melatonin: at what dose, in whom, under what conditions, and by what mechanisms? *Sleep* 1997;20:908-915.

**Sack RL, Brandes RW, Kendall AR, Lewy AJ.** Entrainment of free-running circadian rhythms by melatonin in blind people. *N Engl J Med* 2000; 343:1070-1077.

**Satoh K, Mishima K.** Hypothermic action of exogenously administered melatonin is dose-dependent in humans. *Clin Neuropharmacol.* 2001 Nov-Dec;24(6):334-40.

**Sapolsky RM.** Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2000;57:925-935.

**Schneider-Helmert D, Spinnweber CL.** Evaluation of L-tryptophan for treatment of insomnia: a review. *Psychopharmacology* 1986; 89:1-7.

**Selmaoui B, Touitou Y.** Reproducibility of the circadian rhythms of serum cortisol and melatonin in healthy subjects : a study of three different 24-cycle over six weeks. *Life Sci.* 2003; 73(26):3339-49

**Shochat T, Haimov I, Lavie P.** Melatonin--the key to the gate of sleep. *Ann M* 1998;30:109-114

**Späth-Schwalbe E, Uthgenannt D, Voget G, Kern W, Born J, Fehm HL.** Corticotropin-releasing hormon-induced adrenocorticotropin and cortisol secretion depends on sleep and wakefulness. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1170-1173.

**Späth-Schwalbe E, Uthgenannt D, Korting N, Fehm HL, Born J.** Sleep and wakefulness affect the responsiveness of the pituitary- adrenocortical axis to arginine vasopressin in humans. *Neuroendocrinology* 1994; 60:544-548.

**Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E.** Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 1999;354:1435-1439.

**Spitzer RL, Terman M, Williams JB, Terman JS, Malt UF, Singer F, Lewy AJ.** Jet lag: clinical features, validation of a new syndrome-specific scale, and lack of response to melatonin in a randomized, double-blind trial. *Am J Psychiatry* 1999;156:1392-1396.

**Stankov B, Fraschini F, Reiter RJ.** Melatonin binding sites in the central nervous system. *Brain Res Brain Rev* 1991;16:245-56.

**Sudgen D** Psychopharmacological effects of melatonin in mouse and rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1983;227:587-591.

**Tamarkin L, Baird CF, Almeida OFX.** Melatonin: A coordinating signal for mammalian reproduction? *Science* 1985;227:714-720.

**Terzolo M, Piovesan A, Osella G, Torta M, Buniva T, Pacotti P, Wierdes T, Angeli A.** Exogenous melatonin enhances the TRH-induced prolactin release in normally cyclin women: a sex.specific effect: *Gynecol Endocrinol.* 1991;5:83-94.

**Trinchard-Lugan I, Waldhauser F.** The short-term secretion pattern of human serum melatonin indicates apulsatile hormone release. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;69 (3) :663-669.

**Tzischinsky O, Lavie P.** Melatonin possesses time-dependent hypnotic effects. *Sleep* 1994;17:638-645.

**Van Cauter E, Moreno-Reyes R, Akseki E, L`Hermitte-Baleriaux M, Hirschfeld U, Leproult R, Copinschi G.** Rapid phase advance of the 24-h melatonin profile in response to afternoon dark exposure. *Am J Physiol* 1998; 275(1 Pt 1):E48-54

**Van Cauter E, Plat L, Copinschi G.** Interrelations between sleep and the somatotropic axis. *Sleep* 1998;21 (6) : 553-66.

**Van Cauter E, Spiegel K.** Sleep as a mediator of the relationship between socioeconomic status and health: a hypothesis. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 896:254-261.

**Vanecek J, Pavlik A, Illnerova H.** Hypothalamic melatonin receptor sites revealed by autoradiography. *Brain Res.* 1987;435 (1-2) :359-62

**Vaughan GM, Pelham RW, Pang SF, Loughlin LL, Wilson KM, Sandock KL.** Nocturnal elevation of plasma melatonin and urinary 5-hydroxyindoleacetic acid in young men: attempts at modification by brief changes in environmental lighting and sleep and by autonomic drugs. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42(4):752-64

**Viswanathan M, Laitinen JT, Saavedra JM.** Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(16):6200-3

**Vollrath L, Semm P; Gammel G.** Sleep induction by intranasal application of melatonin. *Adv Biosci* 1981; 29:327-329.

**Voordouw BCG, Euser R, Verdonk RER, Alberda BT, de Jong FH, Drogendijk AC, Fauser BC, Cohen M.** Melatonin and melatonin-progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J Clin Endocrinol Metabol.* 1992;74:108-117.

**Waldhauser F, Waldhauser M, Lieberman HR, Deng MH, Lynch HJ, Wurtman RJ.** Bioavailability of oral melatonin in humans. *Neuroendocrinology* 1984;39:307-313.

**Waldhauser F, Dietzel M.** Daily and annual rhythms in human melatonin secretion: role in puberty control. *Ann NY Acad Sci* 1985;453:205-14.

**Waldhauser F, Vierhapper H, Pirich K.** Abnormal circadian melatonin secretion in night-shift workers. *N Engl J Med* 1986;315:1614.

**Waldhauser F, Lieberman HR, Lynch HJ, Waldhauser M, Herkner K, Frisch H, Vierhapper H, Waldhausl W, Schemper M, Wurtman RJ.** A pharmacological dose of melatonin increases PRL levels in males without altering those of GH, LH, FSH, TSH, testosterone and cortisol. *Neuroendocrinology* 1987;46:125-130.

**Waldhauser F, Weiszenbacher G, Tatzer E, Gisinger B, Waldhauser M, Schemper M, Frisch H.** Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:648-652.

**Waldhauser F, Saletu B, Trinchard-Lugan I.** Sleep laboratory investigation on hypnotic properties of melatonin. *Psychopharmacology* 1990; 100:222-226.

**Watanabe K, Yamaoka S, Vanecek J.** Melatonin inhibits spontaneous and VIP-induced vasopressin release from suprachiasmatic neurons. *Brain Res* 1998; 801:216-219.

**Wetterberg L.** Melatonin and clinical application. *Reprod Nutr Dev* 1999; 39 (3) : 367-82.

**Wever RA.** The circadian system of man. Results of experiments under temporal isolation. New York; Springer-Verlag 1979.

**Wright J, Aldhous M, Franey C, English J, Arendt J.** The effects of exogenous melatonin on endocrine function in man. *Clin Endocr.* 1986;24:375-382.

**Wurtman RJ, Zhdanova I.** Improvement of sleep quality by melatonin. *Lancet* 1995;346:1491

**Yie SM, Niles LP, Younglai EV.** Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1747-9.

**Zhdanova I, Wurtman RJ, Lynch HJ, et al.** Evening administration of melatonin promotes sleep in humans. *Soc Neurosci Abstr* 1994;20:1440.

**Zhdanova I, Wurtman RJ, Lynch HJ, Ives JR, Dollins AB, Morabito C, Matheson JK, Schomer DL.** Sleep-inducing effects of low doses of melatonin ingested in the evening. *Clin Pharmacol Ther* 1995;57:552-8.

**Zhdanova IV, Wurtman RJ, Morabito C, Piotrovskaya VR, Lynch HJ.** Effects of low doses of melatonin, given 2-4 hours before habitual bedtime, on sleep in normal young humans. *Sleep* 1996;19: 423-31.

## A. Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenokortikotropes Hormon
ANOVA	„analysis of variance“, Varianzanalyse
CRH	„corticotropin releasing hormone“, Corticoliberin,
cAMP	zyklisches Adenosin 5-monophosphat
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EEG	Elektroenzephalographie
ELISA	„enzyme linked immuno sorbent assay“, enzymimmunologisches Bestimmungsverfahren
EMG	Elektromyographie
EOG	Elektrookulographie
GH	„growth hormone“, Wachstumshormon
HPA-System	„hypothalamic-pituitary-adrenal system“, Hypothalamus-Hypophysen- Nebennierenrinden-System
IL	Interleukin
MA	„movement arousal“, Bewegungsarousal im EEG
mRNA	„messenger RNS“, Boten-Ribonukleinsäure
MT	„movement time“, Bewegungszeit im EEG
REM	„rapid eye movement“, Schlafphase mit rascher Augenbewegung (Traumschlaf)
SWS	„slow wave sleep“, langweiliger Schlaf (Tiefschlaf)
SCN	„suprachiasmatic nucleus“, suprachiasmatischer Kern (im Hypothalamus)
TSH	„thyroid stimulating hormone“, Thyreotropin

## B. Schlafragebogen

Anleitung:

Die folgenden Fragen beziehen sich darauf, wie Sie in der letzten Nacht geschlafen haben.

Kreuzen Sie bitte die Antworten an, die für Sie am ehesten zutreffen! Gehen Sie bei der Beantwortung der Fragen zügig voran und lassen Sie keine Frage aus!

Bitte sofort nach dem Aufwachen morgens ausfüllen!

1. Wann haben Sie sich gestern abend schlafen gelegt (Licht gelöscht)?	Beispiel: 22 15 Uhr min                    Uhr min	9. Falls Sie in der Nacht aufgewacht sind, wie lange waren Sie wach? (Falls Sie keine genauen Angaben machen können, schätzen Sie bitte.)	1. Aufwachen: Dauer: ___ min 2. Aufwachen: Dauer: ___ min 3. Aufwachen: Dauer: ___ min 4. Aufwachen: Dauer: ___ min
2. Konnten Sie, nachdem Sie sich schlafen gelegt hatten, gleich einschlafen?	ja <input type="checkbox"/>	10. Können Sie sich erinnern, ob Sie heute nacht geträumt haben?	nein, ich kann mich nicht erinnern, geträumt zu haben  ja, ich habe geträumt, kann mich aber nicht an den Trauminhalt erinnern  ja, ich habe geträumt und kann mich an den Trauminhalt erinnern
	nein, erst nach 10 min <input type="checkbox"/>		
	nein, erst nach 20 min <input type="checkbox"/>		
	nein, erst nach 30 min <input type="checkbox"/>		
	nein, erst nach 1 Std. <input type="checkbox"/>		
	nein, erst nach mehr als 1 Std. <input type="checkbox"/>		
	ich konnte überhaupt nicht einschlafen <input type="checkbox"/>		
3. Falls Sie längere Zeit zum Einschlafen brauchten, welches waren die Gründe? (Mehrfachnennungen möglich)	persönliche/berufliche Probleme <input type="checkbox"/>	11. Falls Sie sich an Ihre Träume erinnern können, welche Gefühle hatten Sie während des Träumens? (Mehrfachnennungen möglich)	angenehme Gefühle  neutrale Gefühle  unangenehme Gefühle
	Geräusche im Zimmer oder von draußen <input type="checkbox"/>		
	Beschäftigung mit Tagesereignissen <input type="checkbox"/>		
	ungewohnte Schlafumgebung <input type="checkbox"/>		
	sonstige: _____ <input type="checkbox"/>		
4. In der Einschlafphase hat man hin und wieder plötzlich deutliche Bildeindrücke. War dies gestern abend bei Ihnen so?	nein <input type="checkbox"/>	12. Haben Sie in der letzten Nacht geschwitzt?	nein  leicht  stark
	bin nicht sicher <input type="checkbox"/>		
	ja, sehr deutlich <input type="checkbox"/>		
5. Hatten Sie während der Einschlafphase Muskelzuckungen in den Armen oder Beinen?	nein <input type="checkbox"/>	13. Wann sind Sie heute morgen aufgewacht?	Beispiel: 06 15 Uhr min                    Uhr min
	leicht <input type="checkbox"/>		
	stark <input type="checkbox"/>		
6. Hatten Sie gestern nacht ein Stechen in d. Herzgegend oder ein Ziehen im linken Arm verspürt?	nein <input type="checkbox"/>	14. Sind Sie heute morgen geweckt worden (Radio-Wecker, Radio, Personen etc.) oder wurden Sie von allein wach?	ich wurde von allein wach  ich wurde aus dem Halbschlaf geweckt  ich wurde aus dem Tiefschlaf geweckt
	leicht <input type="checkbox"/>		
	stark <input type="checkbox"/>		
7. Sind Sie gestern nach dem Einschlafen nachts wieder aufgewacht?	nein <input type="checkbox"/>	15. Hatten Sie heute morgen Kopfschmerzen?	nein  leicht  stark
	ja, einmal <input type="checkbox"/>		
	ja, mehrmals <input type="checkbox"/>		
8. Falls Sie nach dem Einschlafen wieder aufgewacht sind, welches waren die Gründe? (Mehrfachnennungen möglich)	persönliche/berufliche Probleme <input type="checkbox"/>	16. Haben Sie gestern abend nach dem Abendessen Alkohol (Bier, Wein, Schnaps) getrunken?	nein  ja, über den Abend verteilt
	Geräusche im Zimmer oder von draußen <input type="checkbox"/>		
	ich mußte zur Toilette <input type="checkbox"/>		
		17. Haben Sie gestern abend ein Schlafmittel benutzt?	ja nein
		18. Wenn ja, welches Präparat?	_____
		19. War der gestrige Tag für Sie sehr anstrengend?	nein  ein wenig  sehr

Initialien \_\_\_\_\_

Datum (abends) \_\_\_\_\_

Ordnungs-Nummer \_\_\_\_\_

**Bewertung:**  
Auf dieser Seite finden Sie einige Wörter, mit denen Sie beschreiben können, wie Sie sich gestern abend vor dem Schlafengehen fühlten, wie Sie nachts geschlafen haben und wie Sie sich heute morgen fühlen.  
Kreuzen Sie hinter jedem Wort an, in welchem Ausmaß es für Sie zutrifft. Bitte antworten Sie zügig und lassen Sie keine Zeile aus!

		sehr	ziemlich	mittel	wenig	nicht
1. Wie haben Sie in der vergangenen Nacht geschlafen?	gleichmäßig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	tief	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	gut	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	entspannt	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	ungestört	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	ruhig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	ausgiebig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
<input type="text"/>						
2. Wie fühlten Sie sich gestern vor dem Schlafengehen?	sorglos	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	erschöpft	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	schlafbedürftig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	überfordert	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	ausgeglichen	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	ruhig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	müde	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
entspannt	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	
<input type="text"/>						
3. Wie fühlen Sie sich heute morgen?	ausgeglichen	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	dösig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	tatkräftig	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	munter	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	frisch	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
	ausgeschlafen	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
entspannt	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	
<input type="text"/>						

Bitte prüfen Sie, ob Sie alle Fragestellungen zutreffend beantwortet haben!

## **C. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt den Mitgliedern der Klinischen Forschergruppe Neuroendokrinologie der Medizinischen Klinik I, jetzt Institut für Neuroendokrinologie, insbesondere meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. soc. Jan Born, für die Betreuung meiner Doktorarbeit sowie Herrn Prof. Dr. med. G. J. Wiedemann, der mit großem Engagement den Beginn der Arbeit initiierte. Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Rüdiger Smolnik für die ärztliche Überwachung und die Anleitungen zur Durchführung der Studie bedanken, die im weiteren Verlauf durch Herrn Dipl.-Psych. Stefan Fischer übernommen wurden. Dessen Unterstützung möchte ich hervorheben, da ich in ihm einen interessierten Ansprechpartner bei Fragen zur wissenschaftlichen Arbeit hatte und der mir außerdem bei der statistischen Auswertung meiner Daten hilfreich zur Seite stand. Durch Dipl.-Psych. Manfred Hallschmid wurde ich sowohl bei der Literatur-Recherche als auch durch Korrekturvorschläge nach akribischer Durchsicht der Arbeit unterstützt.

Weiterhin möchte ich dem medizinisch-technischen Assistenzpersonal meinen Dank aussprechen. Dazu gehörten Frau Anja Otterbein und Frau Katja Trompf, die mir bei der Organisation und auch bei der Auswertung der EEG-Daten zu Hilfe standen. Die schnelle laborchemische Auswertung der Blutproben wäre ohne Frau Christiane Otten nicht gelungen.

Ein großes Dankeschön natürlich an all meine Probanden, ohne die die gesamte Studie nicht möglich gewesen wäre. Allen voran Herrn Dr. jur. H. H. Vollert, dessen Begeisterung für das Thema der Arbeit es zu verdanken ist, dass eine Vielzahl von blinden Menschen Interesse an der Studie gezeigt haben.

Abschließend möchte ich meiner Familie danken, sowohl meinen Eltern Ursula und MR Dr. sc. med. Günter Herms, die mir mit ihrer finanziellen Unterstützung das Medizinstudium erst ermöglichten und die mir auch in Bezug auf die Doktorarbeit mit Rat und Tat u.a. beim Korrekturlesen zur Seite standen, als auch meiner Partnerin Yvonne Müller, die für meine zeitintensiven beruflichen und wissenschaftlichen Aktivitäten immer viel Verständnis aufbrachte.

## **D. Lebenslauf**

Name: Markus Herms  
Geburtsdatum: 14.10.1973  
Geburtsort: Magdeburg  
Staatsangehörigkeit: BRD  
Nationalität: deutsch  
Familienstand: ledig

Wohnsitz: Blücherstr. 14  
23564 Lübeck

### **Schulbildung**

09/1980-09/1990 Goetheschule Pritzwalk  
09/1990-02/1994 Oberstufenzentrum Pritzwalk  
Abitur und Berufsausbildung zum  
Facharbeiter für Zerspanungsmechanik  
02/1994-04/1994 2-monatige Tätigkeit als Zerspanungsmechaniker  
im Ausbildungsbetrieb

### **Zivildienst**

04/1994-06/1995 pflegerische Tätigkeit in der  
Chirurgischen Klinik Pritzwalk der KMG Kliniken AG

### **frühere berufliche Tätigkeit**

07/1995-10/1995 befristete Tätigkeit als Zerspanungsmechaniker  
im Zahnradwerk Pritzwalk

### **Studium**

10/1995-11/2001 Humanmedizin an der Medizinischen Universität zu Lübeck,  
jetzt Universität zu Lübeck  
10/1997 Ärztliche Vorprüfung  
09/1998 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
10/2000 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
11/2001 Ärztliche Prüfung

### **Famulaturen**

02/1998-03/1998 Allgemein Chirurgie/Chirurgische Klinik Pritzwalk  
der KMG Kliniken AG  
09/1998-10/1998 Septische Chirurgie und Unfallchirurgie/  
Chirurgische Klinik Pritzwalk der KMG Kliniken AG

02/1999-03/1999	Innere Medizin und Rehabilitation/ KMG Klinik Silbermühle GmbH, Plau am See
08/1999-09/1999	Allgemeinmedizin/Praxis Herr B.D. Knacke, Putlitz
09/1999-10/1999	Innere Medizin/Universitätsklinikum Lübeck
02/2000-03/2000	Allgemein- und Gefäßchirurgie/ Praxis Dr. med. B. Schmalz, Pritzwalk

### **Praktisches Jahr**

1. Tertial	Allgemeinchirurgie und Plastische Chirurgie/ Universitätsklinikum Lübeck
2. Tertial	Innere Medizin/ Klinikum Stormarn, Bad Oldesloe
3. Tertial	Anästhesie/Universitätsklinikum Lübeck

### **Tätigkeit als AiP**

01/2002-07/2003	Tätigkeit als AiP in der Asklepios Klinik Bad Oldesloe auf allgemeininternistischer und onkologisch/diabetologischer Station
-----------------	--

### **Tätigkeit als Assistenzarzt**

07/2003-01/2004	interdisziplinäre Intensivstation der Asklepios Klinik Bad Oldesloe
ab 02/2004	Stationsarzt auf der kardiologischen Station der Asklepios Klinik Bad Oldesloe
ab 08/2004	Chirurgische Klinik Pritzwalk der KMG-Kliniken AG
ab 02/2005	Innere Abteilung des Kreiskrankenhauses Perleberg

<b>Persönliche Interessen</b>	Jogging, Fitness, Kajak, Reisen
-------------------------------	---------------------------------

Pritzwalk, den 17.01.2005