

Aus der
Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen
Abteilung Allgemeine Psychiatrie und Psychotherapie
mit Poliklinik

**Nicht-visuelle Wirkungen von Licht auf
molekulare Biomarker**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Meixner, Anne-Sophie
2024**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professorin Dr. V. Nieratschker

2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. I. Mack

Tag der Disputation: 18.09.2024

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	13
1.1	Licht und die innere Uhr.....	13
1.2	Melatonin.....	15
1.3	Cortisol.....	17
1.4	PER3.....	18
1.5	BDNF.....	18
1.6	Epigenetik.....	20
1.7	Einfluss des Lichts im Alter auf den Menschen.....	24
1.8	Zielsetzung der Arbeit.....	25
2	Methodenteil.....	28
2.1	Studiendesign.....	30
2.2	Auswahl der Probanden und Aufklärung.....	32
2.3	Fragebögen.....	34
2.3.1	Geriatric Depression Scale.....	34
2.3.2	PHQ-9.....	34
2.3.3	Minimentalstatus.....	35
2.3.4	D-MEQ-Fragebogen.....	35
2.4	Speichel und Melatoninbestimmung.....	36
2.4.1	Salivetten und Abnahme.....	36
2.4.2	ELISA.....	36
2.5	Serum.....	38
2.5.1	BDNF- ELISA.....	38
2.6	Vollblut.....	40
2.6.1	Abnahme und Lagerung.....	40
2.6.2	DNA-Isolierung und Messung der erhaltenen Konzentration.....	40

2.6.3	Genotypisierung Per 3	41
2.6.4	BDNF-Genotypisierung	44
2.6.5	Bestimmung der DNA-Methylierung von BDNF	48
2.6.5.1	Bisulfitkonvertierung	48
2.6.5.2	PCR	51
2.6.5.3	Gelelektrophorese	51
2.6.5.4	Pyrosequencing	53
2.7	Haaranalyse	56
2.8	Statistik	56
3	Ergebnisse	58
3.1	Vergleich der Gruppen zu Beginn der Intervention	58
3.1.1	Bewohner	58
3.1.2	Mitarbeiter	60
3.1.3	BDNF-Genotyp	60
3.1.4	PER3-Genotypisierung	60
3.2	Melatonin	61
3.2.1	Baseline	62
3.2.2	Visite 2: 3 Wochen nach Beginn der Studie im Winter 2016/2017	65
3.2.3	Visite 3: 6 Wochen nach Beginn der Studie im Winter 2016/17	66
3.2.4	Visite 4: 12 Wochen nach Beginn der Studie im Winter 2016/17 ..	66
3.2.5	Melatoninwerte über den Zeitraum	68
3.2.6	Zusammenhang mit PER3-Genotyp	75
3.2.7	Zusammenhang mit DMEQ	80
3.2.8	Zusammenhang mit dem Alter	81
3.2.9	Zusammenhang mit dem GDS	85
3.3	Cortisol	86

3.4	BDNF als molekulare Biomarker im Serum.....	90
3.4.1	Baseline und Vergleich der Mittelwerte zwischen der Interventions- und der Kontrollgruppe	90
3.4.2	Untersuchungen zwischen den dynamischen Gruppen und der Kontrollgruppe zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten	93
3.4.3	Untersuchungen zu möglichen Effekten bei Untersuchungen bei paarigen Werten	95
3.4.4	Zusammenhang mit dem Genotyp.....	97
3.5	Methylierung	97
3.5.1	Korrelation der einzelnen CpG-Sites	97
3.5.2	Mittlere Methylierung	98
3.5.3	CpG Site 1	102
3.5.4	CpG-Site 2.....	105
3.5.5	CpG-Site 3.....	107
3.5.6	CpG Site 4	109
3.5.7	CpG-Site 5.....	110
3.5.8	Zusammenhang mit dem BDNF-Genotyp.....	113
3.6	Psychometrische Skalen.....	116
3.6.1	Einfluss des Alters	119
4	Diskussion	121
4.1.1	Zielsetzung und Zusammenfassung der Ergebnisse	121
4.1.2	Methodische Aspekte und Studiendesign.....	122
4.2	Melatonin	124
4.2.1	Methodische Aspekte	124
4.2.2	Diskussion der Ergebnisse	126
4.2.3	Ausblick	131
4.3	Cortisol.....	131

4.4	BDNF	132
4.4.1	Ausblick	134
4.5	Epigenetik und BDNF.....	134
4.6	Ausblick und praktische Konsequenzen.....	137
5	Zusammenfassung	140
6	Erklärung zum Eigenanteil	142
7	Literaturverzeichnis.....	145
8	Danksagung.....	152

I. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Materialien	28
Tabelle 2: Bewohner in Zahlen	32
Tabelle 3: Verhältnis Mitarbeiter zu Bewohnerin in den Gruppen.....	33
Tabelle 4: Aufbau GDS	35
Tabelle 5: Aufbau der Verdünnungsreihe	39
Tabelle 6: Verwendete Primer	42
Tabelle 7: PCR-Programm	42
Tabelle 8: Ansatz Gelelektrophorese	43
Tabelle 9: PCR Programm für SNP Genotyping.....	44
Tabelle 10: Eigenschaften des SNP [97, 98].....	47
Tabelle 11: Verwendetes PCR-Programm für den StepOne	48
Tabelle 12: Veränderung der Sequenz durch Pyrosequencing	49
Tabelle 13: Verwendetes PCR-Programm	50
Tabelle 14: Verwendete Primer	51
Tabelle 15: Verwendetes PCR-Programm	51
Tabelle 16: Ansatz für die Gelelektrophorese.....	52
Tabelle 17: Verteilung der BDNF-Genotypen.....	60
Tabelle 18: Verteilung der PER3-Genotypisierung.....	60
Tabelle 19: Mittelwerte der Melatoninkonzentration in pg/ml ± Standardabweichung.....	61
Tabelle 20: Analysierte Proben pro Messung.....	61
Tabelle 21: Melatoninmittelwerte in pg/ml ± Standardabweichung.....	64
Tabelle 22: Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten.....	65
Tabelle 23: Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten.....	65
Tabelle 24: Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten.....	66
Tabelle 25 Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten.....	66
Tabelle 26: Vergleich der Entnahmezeitpunkte	72

Tabelle 27: Melatoninmittelwerte in pg/ml \pm Standardabweichung	75
Tabelle 28: PER3 Genotypen Analyse mittels einfaktorieller Varianzanalyse ..	77
Tabelle 29: Einzel-Aufschlüsselung der Analyse	78
Fortsetzung Tabelle 30 Korrelation zwischen Melatoninwerten und DMEQ	81
Tabelle 31: Korrelation zwischen Melatoninwerten und Alter	83
Tabelle 32 Zusammenhang zwischen GDS und Melatoninkonzentration	86
Tabelle 33: Vergleich zwischen Lichtgruppe und Kontrollgruppe bei den Bewohnern. Mittelwerte und Standardabweichung sind jeweils in ng/ml angegeben. Die Analyse erfolgte mittels t-test für unabhängige Stichproben ..	93
Tabelle 34: Vergleich zwischen Licht- und Kontrollgruppe bei den Mitarbeitern. Alle Konzentrationen sind in ng/ml angegeben. Verwendet wurde jeweils der t-test für unabhängige Stichproben	94
Tabelle 35: Statistische Analysen für die Ergebnisse wurden mittels t-test für gepaarte Stichproben ermittelt. Alle Mittelwerte und Standardabweichungen sind in ng/mL angegeben.....	96
Tabelle 36: Korrelation der einzelnen CpG-Sites	98
Tabelle 37: Mittlere Methylierung im Durchschnitt über alle fünf CPG-Sites in % \pm Standardabweichung.....	99
Tabelle 38: p-Werte beim Vergleich zwischen Licht und Lau in der Baseline. Die Analyse erfolgte mittels Man-Whitney-U-Test	99
Tabelle 39: Vergleich der Visiten zur Baseline mittels Wilcoxon-Vorzeichen Test	106
Tabelle 40 Vergleich der Visiten der Bewohner in der CpG-Site 3 mittels Wilcoxon-Tests.....	107
Tabelle 41: Vergleich der einzelnen Visiten zueinander mittels Wilcoxon-Test	110
Tabelle 42: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 1	114
Tabelle 43: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 2	114
Tabelle 44: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 3	114

Tabelle 45: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 4	114
Tabelle 46: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 1	115
Tabelle 47: Signifikanzniveau der CPG-Sites nach Abhängigkeit vom BDNF- Genotyp.....	116

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Signal transduction of circadian information. A melanopsin induced signal from the ipRGCs is transmitted via the retino-hypothalamic tract (blue) to the hypothalamic pacemaker neurons in the suprachiasmatic nucleus (green), the human “master clock” [8].....	14
Abbildung 2: Melatonin levels of a 24-hour day [8]	16
Abbildung 3: DNA-Methylierung [53]	21
Abbildung 4: DNA-Methylierung [57]	22
Abbildung 5: Vergleich der Stockwerke: links ohne; rechts mit der Studienbeleuchtung.....	31
Abbildung 6: Zeitstrahl der Visiten mit den Zeiträumen der Visiten	33
Abbildung 7: Methode des ELISA [94].....	38
Abbildung 8: Gelelektrophorese bei der PER3-Genotypisierung.....	43
Abbildung 9: Beispiel eines möglichen Streudiagramms nach der Analyse [96]	46
Abbildung 10: Bisulfitkonvertierung [100]	49
Abbildung 11: Gelelektrophorese der PCR für BDNF4 mit 12 Proben und einer Negativkontrolle.....	52
Abbildung 12: Beispiel für das verwendete Pyrosequencing-Programm	55
Abbildung 13: Verteilung zwischen den Gruppen im Hinblick auf das Geschlecht	59
Abbildung 14: Melatoninwerte in pg/ml der Bewohner (oben) und Mitarbeiter (unten) zum Beginn der Studie von 20 Uhr bis 23 Uhr	63
Abbildung 15: Beispielsweise Darstellung der Melatoninwerte in pg/ml der Bewohner (oben) und Mitarbeiter (unten) um 23 Uhr zwischen der ersten und letzten Visite	67
Abbildung 16: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Bewohner bei Visite 2	68
Abbildung 17: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Bewohner bei Visite 3	69
Abbildung 18: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Bewohner bei Visite 4	69

Abbildung 19: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Mitarbeiter bei Visite 2	70
Abbildung 20 Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Mitarbeiter bei Visite 3	70
Abbildung 21 Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Mitarbeiter bei Visite 4	71
Abbildung 22: Verteilung der PER3 Genotypisierung.....	76
Abbildung 23: Boxplot der Melatoninwerte um 21 Uhr aufgeschlüsselt nach PER3 Genotypisierung	79
Abbildung 24: Boxplot der Melatoninwerte um 22 Uhr aufgeschlüsselt nach PER3 Genotypisierung	79
Abbildung 25: Zusammenhang zwischen Melatoninkonzentration und Alter....	84
Abbildung 26: Vergleich von Cortisol in pg/ml zwischen den Gruppen der Bewohner zu Beginn der Studie	87
Abbildung 27: Vergleich von Cortisol in pg/ml zwischen den Gruppen der Mitarbeiter zu Beginn der Studie	87
Abbildung 28: Cortisolkonzentration vor der Intervention („log_cortisol_before“) und 12 Wochen nach Beginn der Intervention („log_cortisol_after“) nach Logarithmisierung bei den Bewohnern	88
Abbildung 29: Cortisolkonzentration vor der Intervention („log_cortisol_before“) und 12 Wochen nach Beginn der Intervention („log_cortisol_after“) nach Logarithmisierung bei den Mitarbeitern	89
Abbildung 30: Verteilung der Genotypisierung bei BDNF.....	90
Abbildung 31: Vergleich von BDNF in ng/ml der Lichtgruppe zur Laugruppe bei den Bewohnern	92
Abbildung 32: Vergleich von BDNF in ng/ml der Lichtgruppe zur Kontrollgruppe bei den Mitarbeitern.....	92
Abbildung 33: Verlauf der BDNF-Konzentration der Bewohner über die 12 Wochen (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)	94

Abbildung 34: Verlauf der BDNF-Konzentration der Bewohner über die 12 Wochen (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)	96
Abbildung 35: Durchschnittliche Methylierung in % bei den Probanden über die verschiedenen Zeitpunkte der Visite (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen).....	101
Abbildung 36: Vergleich der durchschnittlichen Methylierung in % zwischen der Lichtgruppe und der Kontrollgruppe über die verschiedenen Zeitpunkte der Visite (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)	102
Abbildung 37: Boxplots zum Vergleich der CpG Site 1 über den beobachteten Zeitraum (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)	103
Abbildung 38: Boxplots der Mitarbeiter zu CpG-Site 1 über den Verlauf der Entnahmezeitpunkte (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen).....	105
Abbildung 39: Durchschnittliche Methylierung in % der CpG-Site 3 über den Verlauf der Studie (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen) im Vergleich von Mitarbeitern und Bewohnern	108
Abbildung 40: Methylierung der fünften untersuchten CpG-Site bei den Bewohnern im Verlauf der Visiten (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen).....	111
Abbildung 41: Methylierung in % der CpG Site 5 bei den Mitarbeitern im Verlauf (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)	113
Abbildung 42 Streudiagramm MMS-Werte am Ende der Studie und Ergebnisse der Serum-Werte.....	118
Abbildung 43: Streudiagramm zwischen Alter und BDNF-Serumwerten zu Beginn der Studie	119

III. Abkürzungsverzeichnis

A	Adenosin
APS	Adenosin-5-Phosphat
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare
BDNF	brain derived neurotrophic factor
C	Cytosin
CCD	„charge-coupled device“
DNA	Desoxyribonuklein-Acid
DNMT	DNA-Methyltransferasen
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
DLMO	Dim light onset of Melatonin
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Auflage 5
DMEQ	Fragebogen zur Einteilung des Chronotyps
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Eppi	Eppendorf-Reaktionsgefäß
LED	Licht emittierende Diode
Lx	lux (Einheit der Lichtintensität)
GDS	Geriatric Depression Scale
MMS	Mini Mental Status
PCR	Polymerase-Chain-Reaktion
PPi	Pyrophosphat
rpm	rounds per minute
SAM	S-Adenosin-Methionin
T	Thymin
TBE	Trisborat-EDTA
UKT	Uniklinikum Tübingen
UV	Ultraviolett
WHO	Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

Der Mensch ist eine Spezies, die nach einem täglichen und jährlichen Rhythmus lebt. Viele physiologische Prozesse wie beispielsweise die endogene Regulation von Hormonen oder der Metabolismus werden von der inneren Uhr des Menschen beeinflusst. [1] Einer der bekanntesten ist der Schlaf-Wach-Rhythmus. Über die Regulationsmechanismen werden beispielsweise die kognitive Leistung, Blutdruck, Körpertemperatur und Hormonsekretion gesteuert. [2]

Die innere Uhr wird als zelluläre Entität aus einer Einheit von Genen und Proteinen gebildet, die über transcriptional–translational feedback loops (TTFLs) miteinander verbunden sind. Dabei ist sie über Oszillationen in der Lage selbst einen Schlaf-Wach-Rhythmus endogen herzustellen ohne äußere Faktoren wie beispielsweise Licht, was zuerst von Aschoff et al. festgestellt wurde. [3]

Trotzdem wird die innere Uhr auch durch Licht in ihrem Tag-Nacht-Rhythmus beeinflusst.

Dabei fungiert der Nucleus suprachiasmaticus als oberster Taktgeber, der über die Retina und den Hypothalamus Informationen zur Lichtexposition erhält und die inneren Uhren der restlichen Körperzellen synchronisiert. [2] Aber auch unterschiedliche Temperaturkurven oder Hormone wie Cortisol und Melatonin können die innere Uhr beeinflussen. [4]

Da diese innere Uhr unseren Schlaf-Wach- Rhythmus determiniert und auch Einfluss auf unsere kognitiven Fähigkeiten und Stimmung nimmt, hilft beispielsweise eine Lichttherapie bei saisonaler Depression, deren häufigstes Symptom ein gestörter Schlaf-Wach-Rhythmus ist. Ebenso ist ausreichend untersucht, dass eine gestörte innere Uhr den Schlaf, kognitive Fähigkeiten und die Stimmung negativ beeinflusst. [5-7]

1.1 Licht und die innere Uhr

Mittels sichtbarem Licht wird die innere Uhr des Menschen im Nucleus suprachiasmaticus des Hypothalamus mit dem 24 Stunden Zyklus der Sonne synchronisiert. [8] Davon abhängig sind mehrere Hormonlevel, die Schlafqualität

oder auch beispielsweise unsere kognitive Leistung. [8] Provencio et al. entdeckten im Jahr 1998 neue bisher nicht bekannte Photorezeptoren, die besonders sensitiv auf blauwelliges Licht zwischen 446 und 477 nm reagieren. [9] Diese besonderen Photorezeptoren sind Melanopsin enthaltende retinale Ganglienzellen, die sich in der Netzhaut befinden und unter anderem Signale zum bereits erwähnten Nucleus suprachiasmaticus senden, wie beispielsweise von Hannibal et al. untersucht. [5, 10] Sobald diese Photorezeptoren aktiviert werden, wird durch Signale des Nucleus suprachiasmaticus die Melatoninproduktion im Corpus pineale unterdrückt. [8] So konnte bewiesen werden, dass eine Exposition von Licht die Melatoninkonzentration senkt und die Dauer der Melatoninausschüttung verkürzt. [11]

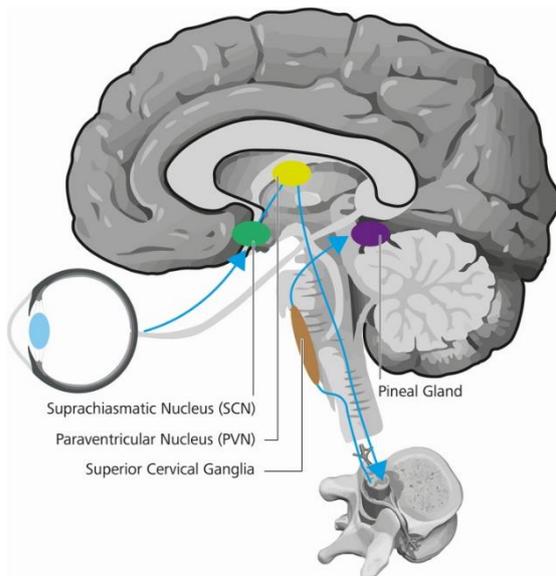


Abbildung 1: Signal transduction of circadian information. A melanopsin induced signal from the ipRGCs is transmitted via the retino-hypothalamic tract (blue) to the hypothalamic pacemaker neurons in the suprachiasmatic nucleus (green), the human “master clock” [8]

Es konnte von Lockley et al. bewiesen werden, dass eine nächtliche Bestrahlung der Photorezeptoren mit Licht mit einer Wellenlänge von 460 nm eine doppelt so starke Suppression der Melatoninausschüttung erzielt im Vergleich zu einer Bestrahlung mit 555 nm monochromatischem Licht. [12]

Dabei ist die innere Uhr stark mit Schlaf verbunden. Dieser wird gefördert und den hämostatischen Prozess im humanen Plasma, welcher kontrolliert wann wir aufwachen. Dieser reguliert die Wachheit und hat sein Maximum am Nachmittag. Diese Substanzen zusammen mit Neurotransmittern beeinflussen über subcorticale Zentren direkt den Nucleus suprachiasmaticus, so dass Dunkelheit oder ein Sinken der Kernkörpertemperatur diesen und den anderen peripheren Uhren des Körper signalisiert, dass geschlafen werden sollte. [13]

1.2 Melatonin

Das Hormon Melatonin ist für den Schlaf-Wach-Rhythmus verantwortlich. [15] Wie zuvor beschrieben, wurde bereits ein Zusammenhang zwischen blauwelligem Licht und Melatonin bestätigt. [1] Dies soll nun weiter untersucht werden, jedoch in einer anderen Umgebung als es bisherige Studien getan haben. [14, 15]

Melatonin ist ein Hormon, das vor allem im Corpus pineale aus der Aminosäure Tryptophan produziert wird und nach einem zirkadianen Rhythmus abhängig vom Licht ausgeschüttet wird. [16] Dabei unterdrückt Licht die Ausschüttung, während Dunkelheit diese stimuliert. [17] Das Licht wird dabei von den intrinsischen photosensitiven Ganglienzellen absorbiert und das Signal wird über die Retina und den Hypothalamus zum Nucleus suprachiasmaticus weitergeleitet, welcher als Zentrum der inneren Uhr gilt. [15] Anschließend erreicht das Signal den paraventriculären Nucleus und das cervicale Ganglion superior, welches über Sympatikusfasern dann den Corpus pinealis erreicht. [15]

Bei Dunkelheit wird die Produktion von Melatonin über Rückkopplungsschleifen gesteuert. Ein weiterer Einfluss ist die biologische Uhr, deren Periode länger als 24 Stunden dauert. [18, 19]. Melatonin wird nicht gespeichert, sondern vollständig in den Blutkreislauf sowie den Liquor sezerniert. Dabei ist die Konzentration des Hormons im dritten Ventrikel 30-mal so hoch im Vergleich zu der Konzentration in Blutproben. [20]

Im physiologischen Rhythmus beginnt der Anstieg der Konzentration zwischen 21 und 22 Uhr. Dabei wird der Maximalwert zwischen 3 und 4 Uhr erreicht und

die Konzentration sinkt zwischen 7 und 9 Uhr auf niedrige oder nicht detektierbare Werte im Tagesverlauf. [21, 22]

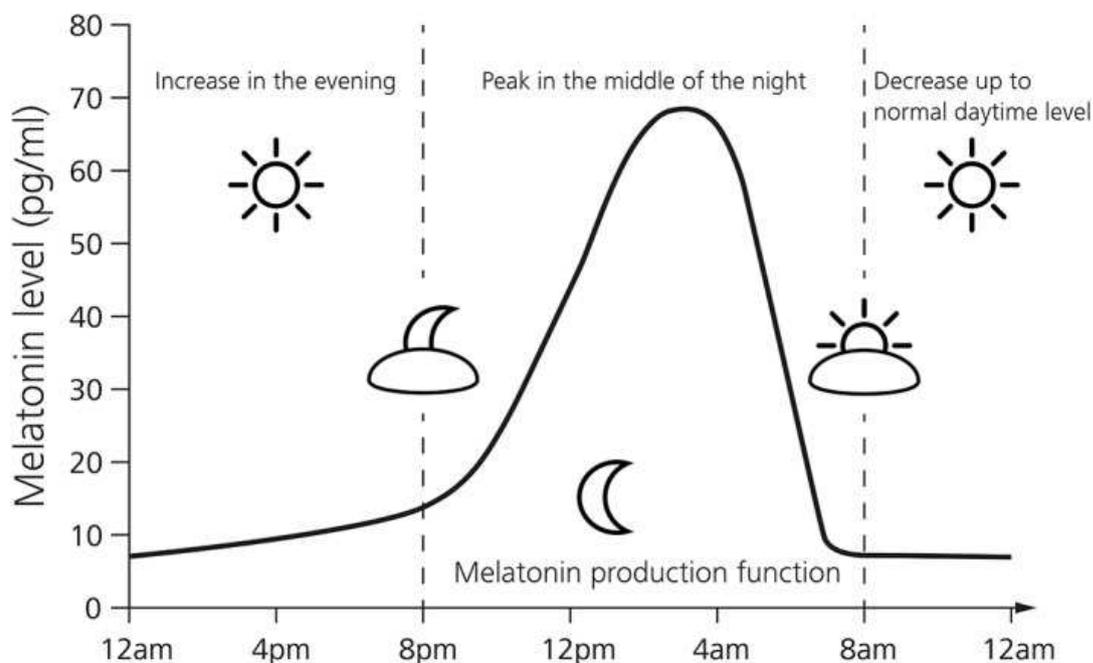


Abbildung 2: Melatonin levels of a 24-hour day [8]

Aufgrund dieses dynamischen Verlaufs schwanken die Werte im Plasma zwischen 5 pg/ml durchschnittlich am Tag und 50-100 pg/ml in der Nacht. [23]

Da Melatonin im Blut zu 70% an Albumin als Trägerprotein gebunden ist und nur zu 30% frei verfügbar ist, wird dieses frei verfügbare Melatonin über passive Diffusion in den Speichel sezerniert und so entspricht die Konzentration im Speichel etwa 24-33% der Plasmakonzentration. [24]

Es ist bekannt, dass die Melatoninwirkung durch neurologische Erkrankungen beeinträchtigt werden kann. [25]

Ein wichtiger Marker in der Interpretation von Melatoninkonzentrationen ist der sogenannte Dim light melatonin onset (DLMO), der dadurch definiert wird, zu welchem Zeitpunkt im Dunkeln ein Anstieg der Werte zu beobachten ist. [26]

Es gibt noch kein einheitliches Protokoll, welche Werte bei der Bestimmung von Melatonin im Speichel als DLMO aussagekräftig sind, im Allgemeinen wird als Schwelle von 4 pg/ml genutzt. Die Vorteile der Nutzung einer absoluten Schwelle wurden beispielsweise von Crowley et al. 2016 bestätigt. [27]

1.3 Cortisol

Cortisol ist ein Hormon, das in der Nebennierenrinde gebildet wird und über den Hypothalamus und die Hypophyse stimuliert oder gebremst wird. Dieses System hat unterschiedliche Einflüsse, unter anderem auch psychosoziale Faktoren. [28] Cortisol ist vor allem als Stresshormon bekannt, hat jedoch auch eine zirkadiane Rhythmik. [27,28]

Ein Zusammenhang mit einer Intervention, die diese beeinflusst, ist daher denkbar.

Cortisol hilft uns in der Reaktion auf direkten Stress. Bei wiederholter Exposition von Stress können jedoch auch Änderungen in seinen Regulationsmechanismen auftreten. Diese längerfristigen Veränderungen können bei der Ätiologie von Depressionen relevant sein, wie Ehlert et al. zeigen konnten. [29]

Dabei kann Cortisol in verschiedenen Medien nachgewiesen werden, beispielsweise Urin, Speichel oder auch Serum. Diese zeigen jedoch vor allem akute Änderungen im Cortisolgehalt und sind physiologischen, täglichen Fluktuationen ausgesetzt, die eine Langzeituntersuchung von Cortisol erschweren.

Bei gesunden Probanden erreicht Cortisol in den frühen Morgenstunden den Höchstwert und nimmt dann langsam ab. [30] Jedoch kann beispielsweise auch die Blutentnahme zur Entnahme von Plasma für die Messung des Cortisols Stress auslösen und somit die Messergebnisse verfälschen.

Mittlerweile ist es möglich Cortisol im Haar zu analysieren. Dieses wächst durchschnittlich 1 cm pro Monat, so dass das proximale Segment von einem Zentimeter Länge zur Kopfhaut der geschätzten Produktion von Cortisol im letzten Monat entspricht. [31]

Die Analyse erfolgt dabei mittels ELISA oder Massenspektrometrie. So konnte beispielsweise von Kirschbau et al. mittels Haaranalysen bestätigt werden, dass im dritten Trimester eine erhöhte Cortisolproduktion bei schwangeren Frauen besteht. [32]

1.4 PER3

So genannte „Clock genes“ werden assoziiert mit dem aktuellen Modell für die Genese des zirkadianen Rhythmus. Allelvarianten dieser Gene können die Phasen dieses Rhythmus beeinflussen. [33]

Eine wichtige Rolle fällt dabei den Period Genen (PER) zu. Die Heterodimere werden aus dem PER3 Protein zusammen mit PER1/2 und Cryptochrome 1/2 gebildet und inhibieren im Nucleus die CLOCK/BMAL-1 beeinflusste Transkription, die wiederum Einfluss auf Rückkopplungsschleifen nimmt, die den zirkadianen Rhythmus beeinflussen. [34]

Dabei hat das PER3-Gen eine höhere Anzahl an Polymorphismen im Vergleich zu den anderen, so dass es möglicherweise für die individuellen Unterschieden zwischen menschlichen zirkadianen Rhythmen verantwortlich sein könnte.

Der Polymorphismus beeinflusst dabei, ob bei den variable-number tandem repeat im Exon 18 (rs57875989, NM_001289861.1:c.3002-13_3042del54) vier- oder fünfmal wiederholt werden. [35]

So belegen Studien, dass dieser Polymorphismus für eine Präferenz der Tageszeit verantwortlich sein könnte. Dabei wurden die Allelvariante PER3 4 mit einer Vorliebe für eine abendlichen Chronotyp und PER3 mit einem morgendlichen Chronotyp assoziiert. [36]

Turco et al. konnten beispielsweise nachweisen, dass PER3 4 /PER3 4 Probanden nach der Applikation von Licht früher Melatonin im Urin produzierten. [35]

1.5 BDNF

Der sogenannte brain derived neurotrophic factor (BDNF) wurde aufgrund seiner Rolle in der Funktion der Synapsen und deren Erhalt bereits ausgiebig untersucht.

Dieser Marker der Neuroplastizität konnte in mehreren Studien beispielsweise mit einer Verbesserung des Lernens in Zusammenhang gebracht werden. [37, 38] [39] [40]

Ebenso konnte festgestellt werden, dass sich mittels dieses Wachstumsfaktors das zentrale Nervensystem regenerieren und an mögliche Schäden anpassen kann. [37, 38]

BDNF gehört zu einer Familie von Wachstumsfaktoren, die auch Neutrophin -3 umfasst. Es wird in der Zelle synthetisiert und anschließend in den extrazellulären Raum sezerniert.

Über Tyrosin Kinase B Rezeptoren und den p75 Neurotrophin Rezeptor bindet BDNF an die Zelle, wobei Tyrosin-Kinase Rezeptoren vor allem für protektive und anti-apoptische Effekte stehen. [41, 42]

Im zentralen Nervensystem wird BDNF v.a. im Hippocampus produziert, jedoch ebenso im Cortex, im Thalamus und im Hypothalamus, in der Pons und in der Medulla oblongata.

Der Faktor kann somit auch die Blut-Hirn-Schranke in beide Richtungen überwinden. Die messbare Konzentration von BDNF resultiert hauptsächlich aus den Neuronen und Glia-Zellen im zentralen Nervensystem. [43]

Im Blut wird BDNF von den Thrombozyten gespeichert, was die höhere Serumkonzentration im Vergleich zur Plasmakonzentration erklärt. [39]

Das im Plasma enthaltene BDNF nimmt mit dem Alter und dem Zuwachs an Körpermasse ab, im Gegensatz zur konstanten Serumkonzentration. [44]

Als Wirkung von BDNF wurde bestätigt, dass es die Neuroplastizität erhöht. Es stimuliert die Plastizität von Neuronen und sorgt für die Bildung neuer Neuronen, Dendriten und Synapsen. [40]

Es konnte bisher mit verbesserter Kognition assoziiert werden und unterstützt emotionale Prozesse, räumliche Orientierung, Koordination und Lernen. [37, 38] [39] [40]

Ebenso wurde entdeckt, dass es einen single nucleotid Polymorphismus in dem für BDNF codierenden Gen gibt, welcher die Aminosäure Valin an Position 66 in dem Pre-Pro-BDNF durch Methionin ersetzt. Diese Mutation kann die Aktivität des Moleküls einschränken und ist wahrscheinlich mit kognitiven Defiziten assoziiert.

Es wurde eine Korrelation zum Auftreten von Depressionen und eines kleinen Hippocampus und damit verbundener Gedächtnisprobleme bemerkt. [45, 46]

1.6 Epigenetik

Dieser Begriff beinhaltet die Regulation der Expression von Genen ohne die direkte Veränderung der DNA-Basenfolge im Gegensatz zu den oben genannten Polymorphismen. Es sind also Veränderungen in der Transkription, die nicht in der Sequenz selbst codiert sind. [47]

Durch epigenetische Veränderungen kann jedoch der Phänotyp beeinflusst werden, so können durch die Methylierung von DNA-Abschnitten ein „Silencing“, also ein Abschalten bestimmter Gen-Regionen erreicht werden. [48]

Dies beeinflusst, welche Genaktivitäten in den Zellen möglich sind sowie die embryonale Stammzellendifferenzierung. Ebenfalls hängt die Genexpression, der Alterungsprozess und die Chromosomenstabilität von der Epigenetik ab. Ebenfalls konnte ein Zusammenhang zwischen Epigenetik und der Kanzerogenese und der Entstehung degenerativer Erkrankungen beobachtet werden. [49]

Epigenetische Veränderungen bleiben über die Zellteilung hinaus bestehen. Es gibt mittlerweile Hinweise, dass diese Modifikationen teilweise sogar transgenerational vererbt werden können. [50, 51] So belegen Studien, dass die Methylierung nicht während der Embryonalphase abgeschlossen ist, sondern weiterhin durch Einflussfaktoren verändert werden kann. Dies geschieht sowohl prä- als auch postnatal. [50, 51] Es wurde bewiesen, dass sowohl chemische Einflussfaktoren als auch Nahrungsmittelzusätze und weitere Umwelteinflüsse (z.B. Stress) dazu beitragen können, epigenetische Veränderungen an der DNA vorzunehmen [50, 52]

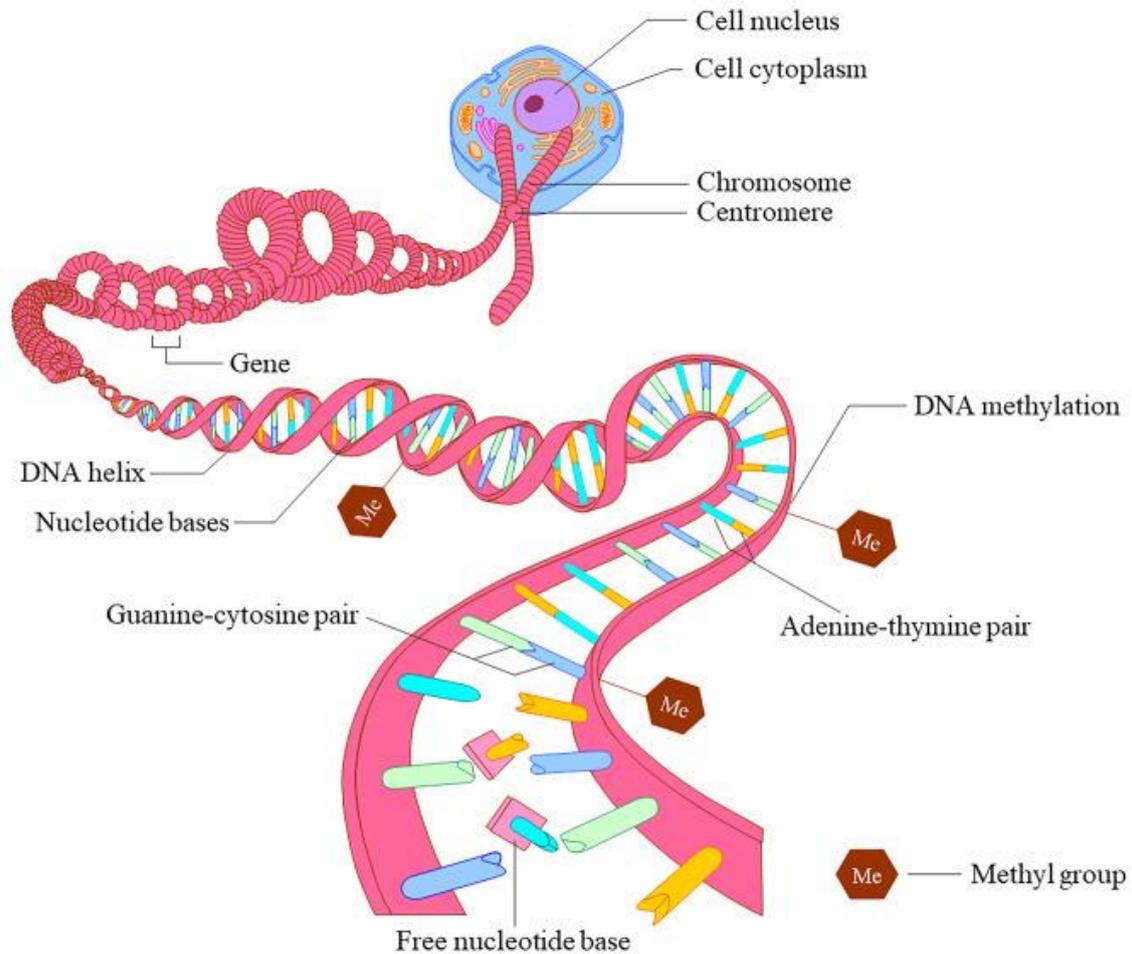


Abbildung 3: DNA-Methylierung [53]

Zu den epigenetischen Prozessen gehören posttranslationale Histon-Modifikation, DNA-Methylierung und die Aktivität von nicht-codierenden RNAs. [54, 55]

Bei der DNA-Methylierung übertragen sogenannte Methyltransferasen eine Methylgruppe des S-Adenosin-Methionins (SAM) auf Position 5 der Cytosin-Base, die in DNA enthalten ist. [54-56]

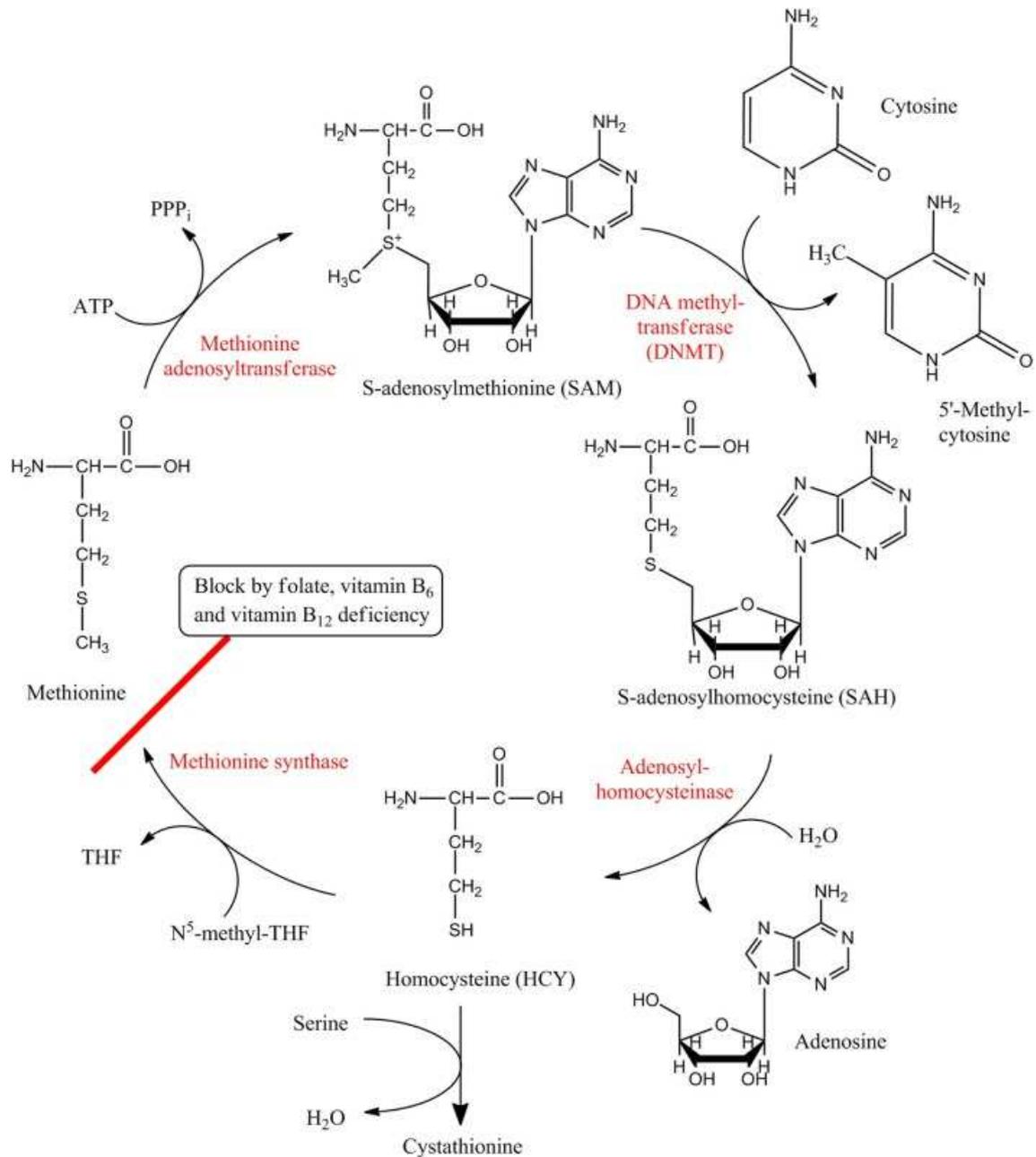


Abbildung 4: DNA-Methylierung [57]

Die DNA-Methylierung findet hauptsächlich an sogenannte CpG-Islands statt, die in der Regel mit regulatorischen Abschnitten der DNA assoziiert sind. In diesen findet man vermehrt Häufungen von CG-Dinukletotiden. Dabei beinhaltet ein CpG-Island einen Abschnitt mit mehr als 500 Basenpaaren mit einem Anteil von 50% an Cytosin und Guanin. [58, 59]

Diese Methylierung ist ein wichtiger Prozess in der Entwicklung und Zelldifferenzierung von Säugetieren. [60] Sie tritt überdurchschnittlich häufig in Promotorregionen auf, die einem Gen voraus gehen. Dabei wird durch die Methylierung über mehrere Mechanismen das Chromatin verdichtet und eine Transkription erschwert. [54,57,59]

Dadurch kann durch die Interaktion zwischen Genom und Umwelt direkt auf die Ebene der Proteinentstehung werden. [60] So vermutet man, dass die Epigenetik eine entscheidene Rolle in Gesundheit und Krankheit des Individuums spielt. [50, 51, 59]

Zuletzt konnte belegt werden, dass Epigenetik auch Einfluss auf neurodegenerative Erkrankungen wie beispielsweise Alzheimer hat. So konnte Mastroeni et al. eine Reduktion der DNA-Methylierung in der Microglia und Astrozyten nachweisen. [61]

Mittlerweile findet Epigenetik ebenfalls Anwendung in Medikamenten, die DNA-Methylierung unterdrücken und so bei Krebserkrankungen helfen können. [62]

Dabei ist vor allem das Alter ein Risikofaktor für neurodegenerative Erkrankungen und ein Nachlassen kognitiver Fähigkeiten. So konnte beispielsweise in Mäusen beobachtet werden, dass der bereits erläuterte Neurotransmitter BDNF in seiner Promotorregion im Alter andere Chromatinstrukturen besitzt. [63]

Ebenfalls konnte entdeckt werden, dass eine Hypermethylierung der Promotorregion von BDNF bei Depressionen häufig vorliegt. [64, 65] Auch zeigen aktuelle Studien, dass Schlafentzug bei Depression Einfluss auf die Expression von Signalwegen nimmt. [66]

Auch veränderte Schlaf-Wach-Rhythmen bei Langzeit-Schichtarbeitern verursachten in Studien eine Änderung der DNA-Methylierung in Genen, die diesen Rhythmus steuern, so dass Schlaf auch einen Einfluss auf die Epigenetik von Individuen hat. [67]

Ebenso konnten epigenetische Veränderungen bei Alzheimer-Patienten nachgewiesen werden, die einen schnelleren Alterungsprozess in den neuronalen Strukturen im Gehirn zeigen und die Kognition beeinflussen. [68] Bisher wurde jedoch noch nicht untersucht, ob eine Veränderung des Lichts Einfluss auf die Epigenetik der BDNF-Region hat.

1.7 Einfluss des Lichts im Alter auf den Menschen

Es ist bekannt, dass im Alter Schlaf fragmentierter wird und ältere Menschen eher zu nächtlichem Erwachen neigen. Insgesamt reduziert sich somit im Alter die Schlafdauer und die Schlafeffizienz [69]

Ältere Menschen gehen im Vergleich früher ins Bett und wachen früher auf. Dabei ist belegt, dass im Alter die Sensitivität des Nucleus suprachiasmaticus abnimmt und somit die innere Uhr bzw. der Schlaf-Wach-Rhythmus gestört ist [70]

Zusätzlich sinkt, wie bereits erwähnt, die Melatoninproduktion im Alter und hat nachts Werte, die den Melatoninwerten tagsüber ähneln. [71]

Mittlerweile beschreiben Studien auch mögliche Effekte einer Bestrahlung mit kurzwelligem Licht tagsüber bei der Behandlung saisonaler Stimmungsschwankungen aufgrund des Zusammenhangs zwischen Schlaf, Depression und Tag-Nacht-Rhythmus wie bereits zuvor erläutert. [5, 72] Ebenso zeigten sich Anwendungsmöglichkeiten in u.a. in Altersheimen oder bei Patienten mit Alzheimer, bei denen erhöhte Aktivitätslevel während des Tages und eine Erhöhung der Schlafstunden in der Nacht beobachtet wurden. [73] Weitere Anwendungsmöglichkeiten wurden bei der Verbesserung der Aufmerksamkeit festgestellt. [74]

Allerdings muss bedacht werden, dass im fortgeschrittenen Alter die Übertragung des Lichts aufgrund der Änderungen in der Linse reduziert ist. [75] So konnte Herljevic et al. beweisen, dass bei älteren Menschen die Melatoninsuppression, die durch das Licht erreicht werden kann, reduziert ist. [76] Zusätzlich ist darauf zu achten, dass keine andauernde Lichtexposition zwischen 400 und 440 nm stattfindet, da diese schädlich für die Netzhaut ist. [14]

Dem gegenüber steht jedoch die Möglichkeit beispielsweise die Schlafqualität zu erhöhen oder auch depressive Verstimmungen vor allem von älteren Menschen zu lindern. Figuiero et al. 2014 konnten dies bestätigen, nachdem sie für vier Wochen bläuliches Licht in 14 Altersheimen installierten und die Werte für Schlafqualität und Depression mittels Skalen im Verlauf untersuchten. [73] Die Vorteile der Verwendung von Lichtquellen mit dem passenden Farbspektrum konnte in einer Studie von Rimersmann van der Lek et al. sogar den kognitiven Abbau von Alzheimer verlangsamen [77], wobei die Alzheimer Erkrankung und die damit verbundene Demenz im Jahr 2010 durchschnittlich 5,1 Millionen Amerikaner betrafen. [78]

Mittlerweile ist bekannt, dass sich im Alter der zirkadiane Rhythmus verliert und eine geringere Genexpression der zirkadianen Gene vorhanden ist, so dass häufiger ein gestörter Schlaf-Wach-Rhythmus vorliegt. [79]

Es muss jedoch angemerkt werden, dass die Datenlage variiert: So konnten Colenda et al. keinen Effekt auf die Schlafmuster in Patienten nachweisen. [80] Insgesamt können aus der aktuellen Datenlage noch keine genauen Empfehlungen für mögliche Beleuchtungsoptionen in Altersheimen zur Verbesserung der Lebensqualität der Bewohner abgeleitet werden.

1.8 Zielsetzung der Arbeit

Wie bereits erwähnt, fungiert der Nucleus suprachiasmaticus als Taktgeber der inneren Uhr des Menschen. [8] Dieser reguliert mehrere physiologische Prozesse im Bereich des Schlaf-Wach-Rhythmus und auch teilweise unsere kognitiven Fähigkeiten. [5-8] Seit der Entdeckung, dass der Nucleus suprachiasmaticus über die von Provencio et al entdeckten Ganglienzellen in besonderem Maße auf blauwelliges Licht reagieren [9] und somit auch nichtvisuelle Funktionen, wie die Melatoninproduktion beeinflussen [11] wird an Ansätzen geforscht, um Menschen über die nichtvisuellen Funktionen bei der Kontrolle des biologischen Rhythmus zu unterstützen.

Vor allem ältere Menschen neigen zu einer Störung des Schlaf-Wach-Rhythmus mit sinkender Schlafdauer und sinkender Schlafeffizienz. [69]

Ein Beispiel für eine Störung dieser Rhythmik bei älteren Menschen ist häufig früh aufzuwachen trotz daraus resultierender Tagesmüdigkeit. Dies wird bei bis zu 30 % einer Population von über 65-jährigen Personen berichtet. [81]

In neueren Studien konnte eine Assoziation von Schlafproblemen mit kognitivem Abbau und der Entwicklung neurodegenerativer Krankheiten bestätigt werden. [82] Dazu passt auch, dass beispielsweise Patienten mit Alzheimer größere strukturelle Schäden im Nucleus suprachiasmaticus zeigen als vergleichbare Individuen ohne Alzheimer. [83]

Berichtet wird auch, dass ein gestörter Schlaf-Wach-Rhythmus das Risiko für eine Hospitalisierung erhöht [84], so dass dies auch beträchtliche Kosten für das Gesundheitssystem verursacht. Obwohl Figuiero et al bereits eine verbesserte Schlafqualität durch Lichttherapie beweisen konnten [73] gibt es nur wenige Studien an älteren Menschen, so dass es wenig konkrete Empfehlungen für die Lichttherapie vorliegen. [85]

Auch bezüglich der Biomarker gibt es zwar Belege, dass diese auf das Licht reagieren [23-26], jedoch ist noch nicht ausreichend belegt, ob diese mit Änderungen des Gesundheitszustandes (depressive Verstimmung, kognitive Leistungsfähigkeit, Schlaf) assoziiert sind.

Ziel der Studie war es zu sehen, ob durch eine spektral modifizierte, dynamische Beleuchtung Gesundheit, Wohlbefinden und Lebensqualität älterer Menschen und des Pflegepersonals in Seniorenheimen verbessert werden können und ob die oben genannten Marker (Melatonin, Cortisol, Chronotyp und BDNF) als Biomarker hierfür dienen könnten. Hierzu wurden diese Biomarker vor und nach einer Veränderung der Wellenlänge des Lichts in zwei Altersheimen untersucht, um festzustellen, ob sich eine Auswirkung auf die circadiane Rhythmik der Senioren oder Mitarbeiter messen lässt. Es soll also geklärt werden, ob es objektiverbare Veränderungen im Körper der Probanden nach der Applikation des Lichtes gibt. Weiterhin soll untersucht werden, ob das Licht Einfluss auf die epigenetische Regulation der BDNF Sekretion hat und ob eventuelle Änderungen hier als Biomarker für das Wohlbefinden dienen könnten.

Das Projekt wurde innerhalb der Bekanntmachung „Intelligente Beleuchtung“ des Bundesministeriums für Bildung und Forschung als Maßnahme im Rahmen des Förderprogramms „Photonik Forschung Deutschland“ durchgeführt.

Folgende Hypothesen wurden im Rahmen dieser Arbeit untersucht:

Hypothese I:

- Erhöhung der abendlichen Melatoninsekretion durch Änderung der Lichtverhältnisse im Vergleich zu der LAU-Kontrollgruppe
- Kein Einfluss von einem PER3 Polymorphismus auf eine mögliche Änderung der Melatoninsekretion

Hypothese II

- Reduktion der Cortisolausschüttung durch Änderung der Lichtverhältnisse im Vergleich zu der LAU-Kontrollgruppe

Hypothese III

- Erhöhung der BDNF-Sekretion durch Änderung der Lichtverhältnisse im Vergleich zu der LAU-Kontrollgruppe
- Kein Einfluss von einem single nucleotid Polymorphismus auf eine mögliche Änderung der BDNF-Sekretion

Hypothese IV:

- Einfluss der Änderung der Lichtverhältnisse auf die Steigerung oder Reduktion der Methylierung der regulierenden Genabschnitte für den Biomarker BDNF

2 Methodenteil

In Tabelle 1 sind die für diese Studie verwendeten Geräte und Stoffe aufgelistet.

Gerät / Stoff	Erläuterung
<i>Agarose</i>	GE Healthcare, Amersham, UK
<i>Borsäure krist.</i>	MERCK KGaA, Darmstadt
<i>Cyanfarbstoff</i>	SYBR®Safe DNA Gel Stain - lifetechnologies™, Carlsbad, CA, USA (=Invitrogen)
<i>DNA-Ladder</i> <i>Plate reader</i>	Promega, Fitchburg, WI, USA Nano-Quant infinite M200 Pro, Tecan, Männedorf, Switzerland
<i>EDTA</i>	Titriplex® - MERCK KGaA, Darmstadt
<i>EDTA-Röhrchen</i>	S-Monovette® - SARSTEDT, Nümbrecht
<i>Elektrophorese-Kämme</i>	PEQLAB, Darmstadt
<i>Eppendorf-Reaktionsgefäß</i>	Eppendorf, Hamburg
<i>Ethanol</i>	AnalaR NORMAPUR Ethanol absolute - VWR Prolab
<i>Falcons</i>	BD, Heidelberg
<i>Fluorometer</i>	Qubit® 2.0 Fluorometer - ThermoFisher scientific, Waltham, MA, USA
<i>Geldokumentation</i> <i>Genotyping Assay</i>	E-Box - PEQLAB, Darmstadt TaqMan®SNP Genotyping Assay C__11592758_10, life technologies; Darmstadt; Germany.
<i>Heizblock</i>	RSM-10HS – Phoenix Instruments, Garbsen
<i>IBM® SPSS® Statistics</i>	Version 24 - IBM Corp., Armonk, NY, USA

Tabelle 1: Verwendete Materialien

Gerät / Stoff	Erläuterung
<i>Loading Dye</i> <i>Microplate Washer</i>	Blue/Orange 6x Loading Dye - Promega, Fitchburg, WI, USA Hydroflex, Tecan, Männedorf, Switzerland.
<i>PCR-MasterMix</i>	PyroMark PCR-MasterMix, 2x - QIAGEN, Hilden
<i>PCR-Platte</i>	96 Multiply PCR-Platte - SARSTEDT, Nürnbergrecht
<i>PCR-Tubes</i>	8 strip-reaction tube (0,2ml) + domed caps - Biometra, Göttingen
<i>RNase-freies Wasser</i>	Promega, Fitchburg, WI, USA
<i>Schüttler</i>	DPC MicroMix® 5 - DPC, Los Angeles, CA, US
<i>Sepharose Beads</i> <i>Step one System</i>	GE-Healthcare, Amersham, UK StepOne system (life technologies; Darmstadt; Germany
<i>Stromquelle für</i> <i>Elektrophorese</i>	Electrophoresis Power Supply EPS 300 - Pharmacia Biotech, Uppsala Schweden (jetzt GE Healthcare, Amersham, UK)
<i>Thermocycler</i>	peqSTAR 96 Universal Gradient Thermocycler - PEQLAB, Darmstadt
<i>Tris</i>	Trizma®-base - SIGMA-ALDRICH, St.Louis, MO, USA
<i>Vortexer</i>	VortexMixer neolab® 7-2020 - neolab®, Heidelberg
<i>Waage</i>	Mettler PM 4600 DeltaRange® - Mettler Toledo, Gießen
<i>Wasserbad</i>	GFL®, Burgwedel
<i>Zentrifuge groß</i>	HERAEUS Multifuge 3L-R - Heraeus Holding, Hanau
<i>Zentrifuge klein</i>	HERAEUS Fresco 21 Microzentrifuge - Heraeus Holding, Hanau

Fortsetzung Tabelle 1: Verwendete Materialien

2.1 Studiendesign

Die Studie wurde in zwei von der BruderhausDiakonie verwalteten Zentren, dem Seniorenzentrum am Markwasen in Reutlingen und dem Seniorenzentrum Herzog Christoph in Bad Urach durchgeführt.

In beiden Zentren wurde ein Bereich mit der ursprünglich im Zentrum vorhandenen Beleuchtung belassen (die im folgenden benannte LAU-Kontrollgruppe), andere Bereiche beziehungsweise Stockwerke erhielten die sogenannte dynamische Studienbeleuchtung.

In Markwasen erhielten das erste und das dritte Stockwerk die Studienbeleuchtung mit dem dynamisch regulierbarem Licht, was insgesamt 40 Bewohnerzimmer mit angrenzenden Badezimmern und die dazugehörigen Aufenthaltsräume beinhaltete. Der zweite Stock wurde zur bereits erwähnten LAU-Kontrollgruppe.

In Bad Urach erfolgte die Ausstattung mit dem Studienlicht im ersten Stock in insgesamt 30 Zimmern mit angrenzenden Bädern und Aufenthaltsräumen, während der zweite und dritte Stock die ursprüngliche Beleuchtung beibehielt.

Die für diese Studie von der Firma RIDI-Leuchten entwickelten, dynamischen Leuchten wurden von einer zentralen Steuerung kontrolliert, um die natürlichen Lichtverhältnisse im Tagesverlauf nachzuahmen. Nach dem Einschalten der Studien-Leuchten um 6 Uhr generierten sie morgens den größten Anteil an blauwelligem Licht und abends den minimalen Anteil an Licht mit einer Wellenlänge von 480 nm. Die Studienbeleuchtung endete um 22 Uhr.

Erzeugt wurde dies durch insgesamt 600 LEDs, die in je 200 warmweiße, neutralweiße und blaue aufgeteilt wurden. Der Gesamtanteil der LEDs wurde über einen Zeitraum von zwei Stunden ohne für das Auge wahrnehmbare Einzelschritte verändert, so dass der Anteil des blauwelligen Lichtes von 10 bis 12 Uhr am höchsten war.

Zwischen 22 und 6 Uhr wurde die Einstellungen auf die auch für die LAU-Kontrollgruppe geltenden Parameter zurückgesetzt. Die setzte sich aus 11% Warmweiß-Anteil, 36 % Neutralweiß-Anteil und null Prozent der blauen LEDs zusammen



Abbildung 5: Vergleich der Stockwerke: links ohne; rechts mit der Studienbeleuchtung

Die bereits erwähnte Dynamik des Lichtverlaufs wurde dadurch erreicht, dass morgens eine Beleuchtungsstärke in den dynamisch gesteuerten Abschnitten auf bis zu 1500 lx erreicht wurde, während diese am Abend auf 480 lx reduziert wurde. Im Bereich der LAU-Kontrollgruppe wurde lediglich eine Beleuchtungsstärke unter 500 lx gemessen.

Im Rahmen der Studie wurde jeweils den Probanden mit der Studienbeleuchtung und der Kontrollgruppe mit handelsüblicher Beleuchtung Blut, Speichel und teilweise Haar entnommen und anschließend auf unterschiedliche Biomarker analysiert. Bei allen geschah dies zu Beginn, nach drei, sechs und 12 Wochen. Nach Abschluss der Baseline-Messungen erfolgte die Einschaltung der Beleuchtung sieben Wochen vor Wintersonnenwende 2016. Ebenfalls wurde mittels eines Lichttrackers untersucht, ob die Bestrahlungsstärke und welches Wellenlängenspektrum bei den Probanden ankam. So wurden die Lichtparameter in einem Zeitintervall von 10 Sekunden objektiviert. Der Winter

wurde für die Studie genutzt, damit möglichst wenig zusätzliches, natürliches Licht von außen als Einflussfaktor in Betracht gezogen werden muss.

Ebenso wurden verschiedene psychometrische Fragebögen wie beispielsweise MMST und GDS verwendet, um mögliche Einflüsse anderer Parameter auf beispielsweise Depression oder kognitive Fähigkeiten zu identifizieren.

2.2 Auswahl der Probanden und Aufklärung

Im August und September 2016 wurden die einwilligungsfähigen Bewohner in Bad Urach und Reutlingen sowie die Mitarbeiter sorgfältig über das Design der Studie und die anstehenden Speichelproben, Blutentnahmen und Haarproben aufgeklärt. Jede Abgabe von Biomaterialien konnte auch separat verweigert werden, so dass unterschiedlich viele Proben von den Probanden vorliegen.

Die vorliegende Studie wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität und des Universitätsklinikums Tübingen untersucht und einer Durchführung der Studie wurde erlaubt. (Projektnummer 641/2016BO1).

Insgesamt willigten 40 Bewohnerinnen und Bewohner der Altenheime in die Teilnahme an der Studie ein. Dabei wohnten 20 in einem Stockwerk mit dynamischem Licht und 20 in einem Stockwerk ohne dieses. Die Probandengruppe mit dynamischem Licht enthielt 4 Männer und 16 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von 85,5 Jahren. Die Kontrollgruppe bestand aus 6 Männern und 14 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von 83,2 Jahren.

	Dynamisches Licht	Kontrollgruppe	Gesamt
Reutlingen	11	7	18
Bad Urach	9	13	22
Gesamt	20	20	

Tabelle 2: Bewohner in Zahlen

	Dynamisches Licht	Kontrollgruppe	Gesamt
Bewohner	20	20	40
Mitarbeiter	17	11	28
Gesamt	37	31	68

Tabelle 3: Verhältnis Mitarbeiter zu Bewohnerin in den Gruppen

Bei den Mitarbeitern wurde dieselbe Aufklärung durchgeführt und es konnten 17 Mitarbeiter, die im dynamischen Lichtbereich arbeiten, mit einem Altersdurchschnitt von 42,0 Jahren rekrutiert werden. Dabei handelt es sich um 14 Frauen und 3 Männer. Als Kontrollgruppe konnten 11 Mitarbeiter mit einem Altersdurchschnitt von 38,3 Jahren gewonnen werden; davon 10 Frauen und ein Mann.

Insgesamt wurden Speichelproben, Blutproben und Fragebögen zu vier Zeitpunkten erhoben. Als Ausgangswerte dienen die Ergebnisse der ersten Messung (Baseline). Danach wurden die Messungen alle drei Wochen wiederholt, siehe Abbildung 6.

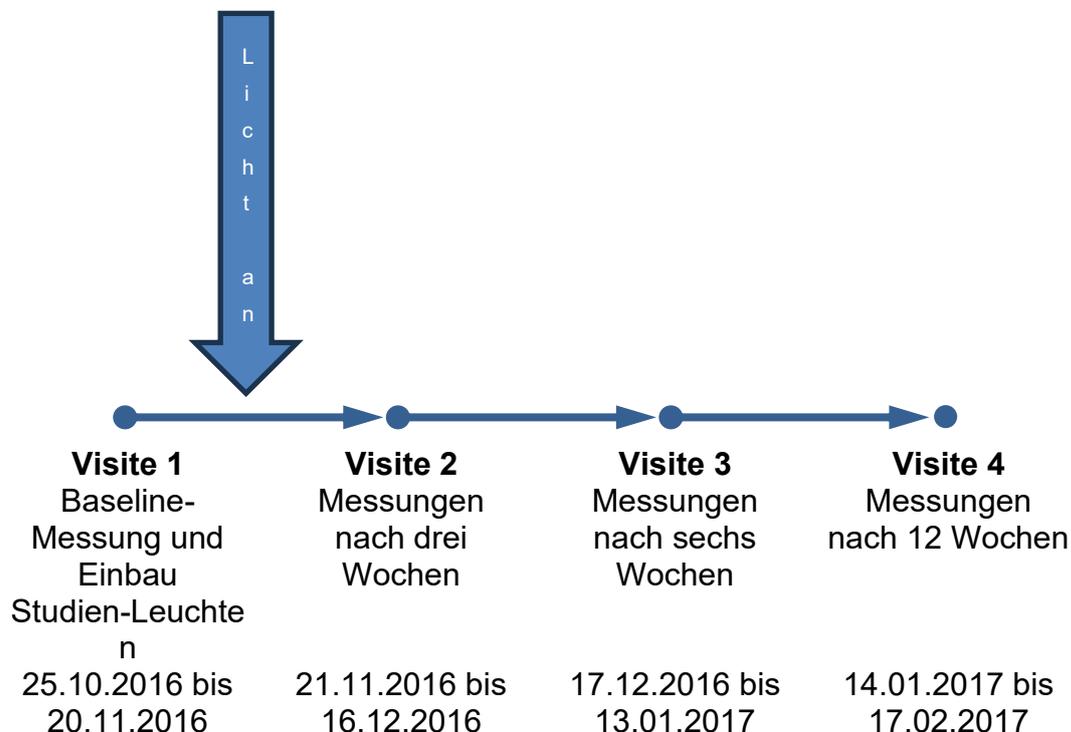


Abbildung 6: Zeitstrahl der Visiten mit den Zeiträumen der Visiten

2.3 Fragebögen

Es wurden mehrere Fragebögen jeweils zur Baseline und am Ende der Lichtexposition verwendet. Im Folgenden wird näher auf die, in dieser Dissertation verwendeten, Instrumente eingegangen.

2.3.1 Geriatric Depression Scale

Der Geriatric Depression Scale oder GDS ist ein Instrument zur Erfassung depressiver Störungen mit insgesamt 15 Fragen, der zuerst von Yesavage et al. [86, 87] Veröffentlicht wurde. Dabei soll der Proband jeweils angeben, ob er die Aussagen als „eher zutreffend“ oder „eher nichtzutreffend“ beurteilt. Der Fragebogen soll dabei vor allem bei älteren Menschen zwischen Depression und Demenz unterscheiden und fragt somit für die Depression typische Symptome wie beispielsweise Hoffnungslosigkeit ab ohne Bezug auf somatische Symptome zu nehmen. Punktzahlen über 5 suggerieren dabei den Verdacht auf eine Depression; ein Ergebnis über 10 Punkte zeigt eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine Depression. [88, 89] Der Fragebogen wurde von den Probanden zur Baseline und nach Beendigung der Lichtexposition bearbeitet.

Der genau verwendete Fragebogen befindet sich im Anhang.

2.3.2 PHQ-9

Der Patient Health Questionnaire oder zusammengefasst PHQ-9 beinhaltet neun Elemente, die sich auf die Kriterien für Depression im Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) beziehen. Es wird dabei der Zeitraum der letzten zwei Wochen berücksichtigt und wurde von Spitzer et al. entwickelt. Je nach Häufigkeit „gar nicht“, „einige Tage“, „mehr als die Hälfte der Tage“ und „fast jeden Tag“ bekommt jedes Element zwischen 0 und 3 Punkten. Anhand der Punktzahl kann der Grad der Depression unterschieden werden. [89]

Punktzahl	Grad der Depression
10 - 14	Mittel
15 - 19	Mittel bis schwer
20 - 27	Schwer

Tabelle 4: Aufbau GDS

Als Cutoff-Wert wird dabei eine Punktzahl von 10 Punkten akzeptiert. Es werden folgende Symptome in den letzten zwei Wochen evaluiert: gedrückte Stimmung, Lustlosigkeit, Schlafprobleme, Müdigkeit, Veränderungen in Gewicht oder Appetit, Schuldgefühle oder Gefühl der Wertlosigkeit, Konzentrationsschwierigkeiten, Sorgen und Suizidabsichten. [89, 90]

2.3.3 Minimentalstatus

Der Mini Mental Status beschreibt ein Assessment zur Feststellung gemischter kognitiver Defizite. Dabei gelten Punktzahlen zwischen 24 und 30 im unauffälligen Spektrum. Die Elemente adressieren dabei Orientierung, Gedächtnis, Erinnerung, Aufmerksamkeit, Benennung von Objekten, Befolgen verbaler Aufforderungen und schriftlicher Aufforderungen, Schreiben eines Satzes und das Nachzeichnen einer Figur. [91, 92]

2.3.4 D-MEQ-Fragebogen

Zusätzlich wurde noch zu Beginn der Studie der D-MEQ-Fragebogen erhoben. Dieser untersucht die verschiedenen Chronotypen und enthält eine Unterscheidung nach den Summenscores. Es erfolgt eine 5-stufige Kategorisierung: [93]

- $\frac{3}{4}$ definitiver Abendtyp (14 – 30)
- $\frac{3}{4}$ moderater Abendtyp (31 – 41)
- $\frac{3}{4}$ Neutraltyp (42 – 58)
- $\frac{3}{4}$ moderater Morgentyp (59 – 69)
- $\frac{3}{4}$ definitiver Morgentyp (70 – 86)

2.4 Speichel und Melatoninbestimmung

2.4.1 Salivetten und Abnahme

An einem Abend in jeder Visitenwoche wurde um 20, 21, 22 und 23 Uhr bei jedem Probanden mittels einer Salivette von Sarstedt Speichel gewonnen. Die Uhrzeiten wurden versucht so genau wie möglich einzuhalten, der Zeitabstand war dabei jedoch immer eine Stunde zwischen den Abnahmen. Es wurde darauf hingewiesen, dass 30 Minuten vorher möglichst nichts gegessen oder getrunken werden sollte, der sonstige Tagesablauf sollte jedoch nicht verändert werden. Die Probanden sollten die Watterolle für ungefähr eine Minute im Mund behalten und dabei leicht kauen. Anschließend wurden die Salivetten sofort auf 2-8°C gekühlt und sobald wie möglich auf -20°C gelagert.

Die Mitarbeiter erhielten die Salivetten mit den Instruktionen und Entnahmezeiten für die selbstständige, häusliche Durchführung an Tagen ohne Nachtschicht. Diese wurden ebenfalls anschließend auf 2-8°C gekühlt und ab der Entgenennahme auf -20°C gekühlt.

2.4.2 ELISA

Am Tag der Analyse wurden die Salivetten für 20 Minuten bei Raumtemperatur gelagert und anschließend bei 2000 g für 2 Minuten zentrifugiert. Sollte in einer Salivette danach kein Speichel vorhanden sein, wurde der Vorgang noch einmal wiederholt. Wenn kein Speichel abzentrifugierbar war oder weniger als 50 µl in der Salivette waren, wurden die Probe verworfen, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu sichern.

Für die Analyse wurde der Melatonin direct Saliva ELISA von IBL international entsprechend den Herstellerangaben verwendet.

Zunächst werden je 100 µl der Standards, Kontrollen und Proben in die entsprechenden Vertiefungen der bereits mit dem entsprechenden Antikörper gecoateten Mikrotiterplatte pipettiert. Anschließend wurde je 50 µl des Melatonin Antiserums in jede Vertiefung dazugegeben, die Platte abgeklebt und für 10 Sekunden vorsichtig geschüttelt und dann für 16 bis 20 Stunden bei 2-8°C inkubiert. Anschließend wurde die Folie entfernt und mittels dem Tecan

Hydrowash die Inkubationslösung entfernt und jedes Well je 4 mal mit 250 µl des 1:10 verdünnten Waschpuffers gewaschen. Die übrig gebliebene Flüssigkeit wird auf Papiertüchern ausgeklopft. Dann wird wiederum 100 µl der Melatonin Biotinlösung pro Well pipettiert. Das darin enthaltenen biotinylierte Antigen konkurriert mit dem nicht biotinylierten Antigen der Probe um die Antikörper Bindungsstellen im Well, das Waschen entfernt das übrige nicht gebundenen biotinylierte Antigen. Es wird wiederum für zwei Stunden auf einem Orbitalschüttler mit 500 rpm (rounds per minute) bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wiederholt sich der Waschvorgang von oben und 100 µl Enzymkonjugat wird dazugegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur auf dem Orbitalschüttler inkubiert. Das darin enthaltene Streptavidin fungiert als Marker für das biotinylierten antikörpergebundene Antigen. Es folgt der Waschvorhang von oben und 100 µl der Substratlösung TMB wird in jedes Well pipettiert, wodurch sich die Lösung blau verfärbt. Nach einer erneuten Inkubationszeit von 15 Minuten wird die Reaktion mittels Schwefelsäure gestoppt, angezeigt durch den Farbumschlag von blau nach gelb. Die Intensität der Farbreaktion ist indirekt proportional zur Antigenkonzentration in den Proben. Die optische Dichte wird sofort danach mit einem Photometer bei 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 600-650 nm bestimmt. Bei jeder Mikrotiterplatte wurden Qualitätskontrollen mitbestimmt und soweit möglich jeder Standard und jede Probe mittels Doppelbestimmungen gemessen.

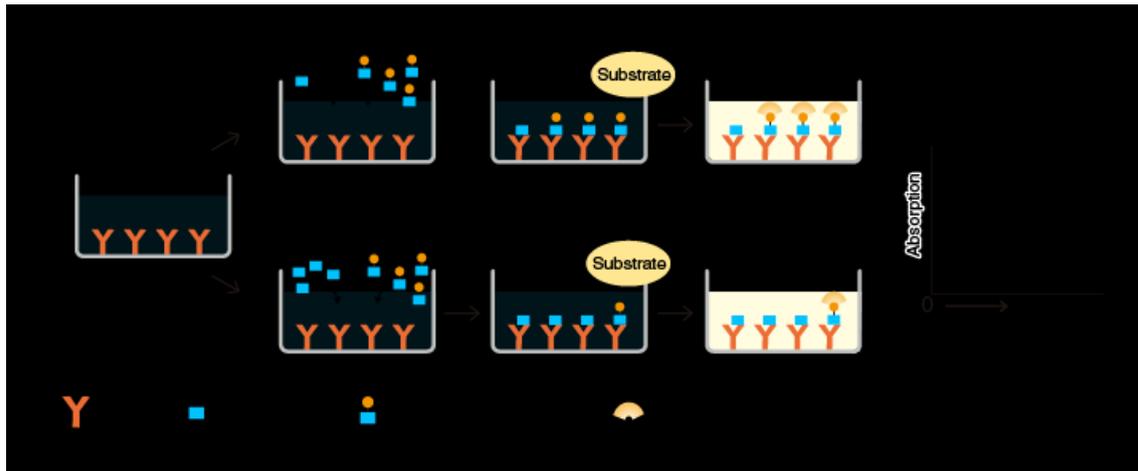


Abbildung 7: Methode des ELISA [94]

2.5 Serum

2.5.1 BDNF- ELISA

Die Serum-Proben wurden zunächst für 30 Minuten bei Raumtemperatur gelagert und nach Sammlung von allen Probanden nach maximal 3 Stunden für 20 Minuten bei 1000 g zentrifugiert, um Serum und zelluläre Bestandteile des Blutes zu trennen. Anschließend wurden mehrere Aliquots mit je 500 µl abpipettiert und bei -20°C gelagert bis zur anschließenden Analyse.

Nach dem Auftauen der Proben erfolgte die Verdünnung der Proben im Verhältnis 1:200 mittels des Assay Diluent A nach einer vorher durchgeführten Versuchsreihe mit dem verwendeten ELISA-Kit. Dies entspricht der Empfehlung des Herstellers humane Serum-Proben mindestens 1:50 zu verdünnen.

Zunächst erfolgt die Erstellung einer Verdünnungsreihe für den Standard. Dabei wird der lysophilierte AntigenStandard mit 1 ml des Assay-Diluents A verdünnt, ebenso wie die Quality Control Probe. Beide werden kurz mittels Vortex geschüttelt und für 15 Minuten ruhen gelassen. Der 1000 pg/ml Standard wird anschließend mittels einer 1:2 Verdünnungsreihe auf 7,8 pg/ml verdünnt, so dass je 300 µl einer Lösung vorhanden sind.

Standard 1	1000 pg/ml
Standard 2	500 pg/ml
Standard 3	250 pg/ml
Standard 4	125 pg/ml
Standard 5	62,5 pg/ml
Standard 6	31,3 pg/ml
Standard 7	15,6 pg/ml
Standard 8	7,8 pg/ml
Assay Diluent A	0 pg/ml

Tabelle 5: Aufbau der Verdünnungsreihe

Dabei wird nur mittels Auf- und Abpipettierens gemischt. Zusätzlich werden der Detection antibody sowie das Streptavidin-HRP Konjugat im Verhältnis 1:100 und der Waschpuffer im Verhältnis 1:10 gemischt.

Daraufhin wird die vorher mit Antikörpern besetzte Platte mit je 100 µl der Standardverdünnungen ab 500 pg/ml, der Quality Control und der verdünnten Proben jeweils doppelt besetzt. Anschließend wird die Platte mittels Paraffinfilm verschlossen und für 45 Minuten bei 140 rpm geschüttelt. Danach wird die Lösung verworfen und es erfolgen 5 Waschvorgänge mit je 200 µl des Waschpuffers. Anschließend werden je 100 µl der Detection Antibody Lösung in jedes Well pipettiert. Es folgt ein Verschließen der Platte und Inkubieren für 30 Minuten bei 140 rpm. Nach Ablauf der benötigten Inkubationszeit wird der Waschvorgang wiederholt und jedes Well mit 100 µl des verdünnten Streptavidin-HRP Konjugats befüllt. Danach wird die Platte wieder verschlossen und es erfolgt eine Inkubation für 30 Minuten bei 140 rpm und Raumtemperatur. Als nächstes wird der Waschvorgang wie oben beschrieben wiederholt. Danach werden je 100 µl der TMB Lösung hinzu pipettiert und die Platte für 5 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur ohne Schütteln inkubiert. Durch Zugabe von 100 µl der Stop Solution wird die Reaktion beendet, was durch einen Farbwechsel der blauen Flüssigkeit zu gelb sichtbar ist. Anschließend erfolgt die Auswertung der Absorption bei 450 nm. Bei einer gemessenen Konzentration der Quality Control zwischen 175 bis 325 pg/ml wurde das Ergebnis akzeptiert.

Die Analyse erfolgte mittels des Mature BDNF Rapid ELISA Kit: Human, Mouse, Rat von biosensis. [95]

2.6 Vollblut

2.6.1 Abnahme und Lagerung

Von jedem Probanden und jeder Kontrolle wurden zu jeder der vier Visiten zwei EDTA-Röhrchen (Ethyldiamintetraessigsäure) Vollblut abgenommen und sofort auf -20°C gekühlt bis zur weiteren Verarbeitung. EDTA verhindert die Gerinnung des Blutes.

2.6.2 DNA-Isolierung und Messung der erhaltenen Konzentration

Zur weiteren Analyse der verschiedenen Biomarker muss zuerst die DNA aus den bereits abgenommenen Blutproben isoliert werden. Für dieses Verfahren wurde der QIAamp DNA Blood Maxi-Kit von Qiagen nach dem vorgegebenen Prozedere des Herstellers verwendet. Dabei wird durch eine primäre Zelllyse mittels einer Protease und eines Lysepuffers (AL) die DNA aus dem Zellkern gelöst. Die negativ geladene DNA kann dadurch durch verschiedene Wach- und Bindschritte und einen geladenen Filter (Column) von den übrigen Bestandteilen getrennt und in 1 ml eines Puffers (AE) eluiert und gelagert werden. Zuerst werden 500 µl der im Kit enthaltenen Qiagen Protease in ein 50 ml Falcon pipettiert und anschließend die 5-10 ml enthaltene Blutprobe dazu gegeben. Im nächsten Schritt wird kurz gemischt und 12 ml AL Puffer hinzugegeben. Anschließend muss für mindestens eine Minute stark geschüttelt und mehrmals invertiert werden; gefolgt von 10 Minuten Inkubation im 70°C Wasserbad.

Danach werden 10 ml 100% Ethanol dazu gegeben, das Falcon mehrere Male invertiert und erneut stark geschüttelt.

Die Hälfte der so gewonnenen Lösung wird in einem 50 ml Falcon überführt, der ein QIAamp Maxi Column enthält und insgesamt drei Minuten bei 3.000 rpm und Raumtemperatur zentrifugiert. Danach wird das Filtrat verworfen und das Prozedere mit der zweiten Hälfte der Lösung wiederholt.

Im nächsten Schritt wird 5 ml des Wachpuffers AW1 in das Maxi Column pipettiert, um es eine Minute bei 5000 rpm zu zentrifugieren. Der so erhaltene Durchfluss wird noch einmal auf das Column gegeben und die vorherige

Zentrifugation wird wiederholt, um die vollständige Elution der DNA aus dem Filter sicherzustellen.

Um die genaue Konzentration der erhaltenen DNA zu messen, wird mit dem Qubit 2.0 Fluorometer gearbeitet. Es wird 1 µl der DNA in 199 µl Qubit working solution (bestehend aus 200 µl working buffer und 1 µl Fluoreszenzfarbstoff) gegeben und anschließend gevortext. Es folgt eine Inkubation für zwei Minuten. Da der Farbstoff nur in Verbindung mit doppelsträngiger DNA fluoresziert, kann so mittels Fluoreszenzmessung und einer vorher erstellten Standardkurve die in der Probe vorhandene DNA-Konzentration gemessen werden. Nach den gemessenen Werten erfolgt die Verdünnung der DNA auf 50 µg/ml.

Die eluierte DNA kann nun ohne weitere Maßnahmen in ein 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt werden und bei -20°C gelagert werden.

2.6.3 Genotypisierung Per 3

Für die Genotypisierung auf vier oder fünf Wiederholungen im Abschnitt des PER3-Gens, erfolgt zuerst eine exponentielle Vervielfältigung spezifischer DNA-Sequenzen.

Der Ansatz besteht aus 12,5 µl PyroMark PCR-MasterMix, 10 µM Primer forward, 10 µM Primer reverse, 9,5 µl RNase freies Wasser und 1µl der vorher extrahierten DNA.

Zuerst werden die DNA-Stränge voneinander getrennt („denaturation“), damit die spezifischen Primer an die zu vervielfältigenden DNA-Abschnitte binden können („annealing“). Der Abschnitt zwischen den beiden Primern wird anschließend durch die hitzestabile DNA-Polymerase vervielfältigt und der gesamte Vorgang wird über mehrere Zyklen wiederholt.

Primer	DNA-Sequenz
Primer in 5`3`	
Primer forward	TTA CAG GCA ACA ATG GCA GT
Primer reverse	CCA CTA CCT GAT GCT GCT GA

Tabelle 6: Verwendete Primer

Programm	Temperatur	Zeit	Arbeitsschritt	
Schritt 1	95 °C	3 min	Denaturation	
Schritt 2	95 °C	30 s	Denaturation	Diese Schritte werden 44-mal wiederholt
	60 °C	30 s	Annealing	
	72 °C	30 s	Extension	
Schritt 3	72 °C	10 min	Extension	
Schritt 4	8 °C	undefiniert	Lagerung	

Tabelle 7: PCR-Programm

Der nächste Schritt erfolgt, um den Erfolg der PCR zu überprüfen. Da negative Ladungen im Feld zum elektrischen Pol wandern, bewegen sich die im neutralen bis alkalischen pH-Bereich negativ geladenen DNA-Fragmente durch Anlegen einer Spannung zur positiven Anode. Die Größe und Konformation beeinflusst die Geschwindigkeit dieser Bewegung, so dass kürzere Fragmente die Agarose-Matrix schneller durchlaufen.

Für das als Medium verwendete zweiprozentige Agarosegel werden 2 g Agarose in 100 ml Trisborat-EDTA Puffer oder Di-Natriumtetraborat Puffer aufgekocht und gelöst.

45 ml dieser Lösung werden danach mit 1 µl SYBR®Safe DNA Gel Stain versetzt, welcher als Cyanfarbstoff die DNA markiert, und das Gel damit gegossen.

Nach der Aushärtung des Gels werden die einzelnen Taschen mit 5 µl der vorher gemischten Lösung aus 5 µl PCR-Produkt und 1 µl Blue/Orange 6x Loading Dye gefüllt. Als Referenz wird das PCR-Produkt durch 5 µl einer 100 bp DNA Ladder

ersetzt. Das Glycerin im Loading Dye stellt sicher, dass die DNA am Boden der Geltasche bleibt, sobald die Spannung angelegt wird.

Inhaltsstoffe TBE Puffer	Inhaltsstoffe Borax Puffer
90 mM Tris	50 mM Di-Natriumtetraborat
90 mM Borsäure	Mit H ₂ O auffüllen
2 mM EDTA	

Tabelle 8: Ansatz Gelelektrophorese

Je nach verwendetem Puffer wird nun eine 100 mV Spannung für 45 Minuten angelegt (TBE Puffer) oder eine Spannung von 250 mV für 20 Minuten (Borax Puffer).

Das so erhaltene Gel kann anschließend herausgenommen und unter UV-Licht analysiert werden.

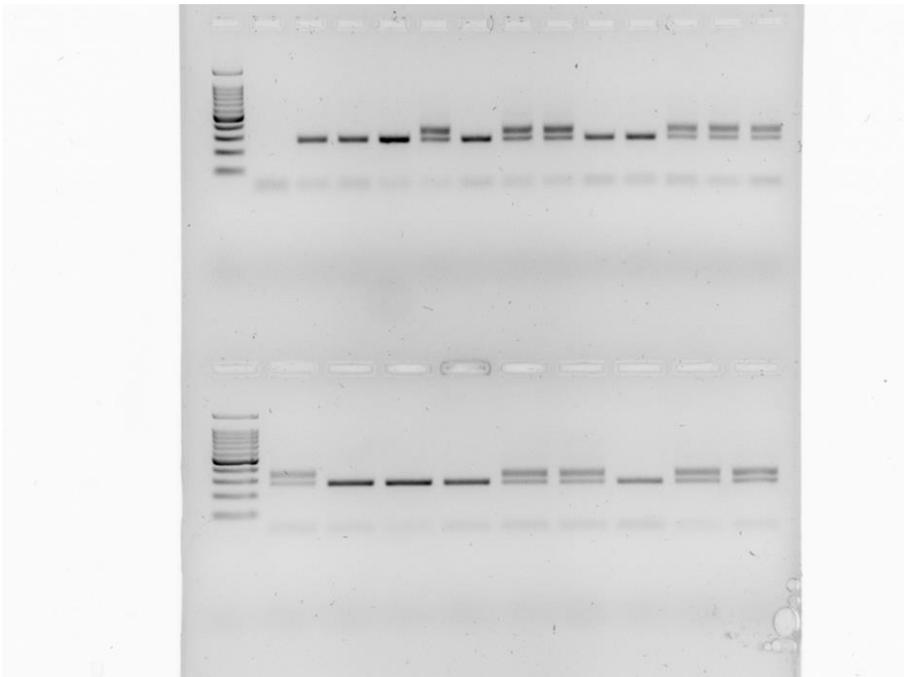


Abbildung 8: Gelelektrophorese bei der PER3-Genotypisierung

Zeigen sich jeweils zwei Banden, so konnte bei diesem Probanden eine Sequenz mit vier sowie eine mit fünf Wiederholungen einer Sequenz bestehend aus jeweils 18 Aminosäuren bestimmt werden (Per 4/5). Der Unterschied zwischen den

Banden beträgt dabei 54 Basenpaare. Konnte nur eine Bande bei der längeren Sequenz bestimmt werden, so besitzt dieser Proband jeweils auf beiden Allelen fünf Wiederholungen des Genabschnittes (Per 5/5).

2.6.4 BDNF-Genotypisierung

BDNF Val66Met -Polymorphismus wurde mittels des StepOne system (life technologies; Darmstadt; Germany) und des TaqMan®SNP Genotyping Assays C__11592758_10 bestimmt.

Zunächst wurde die DNA mittels QIAamp DNA Blood Maxi-Kit von Qiagen, wie in Abschnitt 2.5.3 erläutert, extrahiert und auf eine Konzentration von 12,5 ng/µl verdünnt.

Anschließend erfolgte die Befüllung der Reaktionsgefäße einer optischen Reaktionsplatte mit 5 µl des 2X TaqMan® Master Mix und 0,5µl des 20X Assay Working Stock. Danach wurde sie mittels einer klebenden Folie verschlossen und mittels eines Vortex kurz gemischt, um Luftblasen zu entfernen sowie die Reaktionsflüssigkeit an den Boden des Gefäßes zu bringen.

Nun wird die Platte bereits einmal von Detektionssystem ausgelesen, um eine zuvor bestehende Fluoreszenz von der späteren Reaktion zu subtrahieren.

Es erfolgt eine PCR-Reaktion wie zuvor bereits erläutert bestehend aus:

Programm	Temperatur	Zeit	Arbeitsschritt	
Schritt 1	95 °C	10 min	Aktivierung der Polymerase	
Schritt 2	95 °C 60 °C 60°C	15 s 30 s 30 s	Denaturation Annealing Extension	Diese Schritte werden 40-mal wiederholt
Schritt 3	72 °C	10 min	Extension	
Schritt 4	8 °C	undefiniert	Lagerung	

Tabelle 9: PCR Programm für SNP Genotyping

Anschließend wird die DNA mit 10µl zur Reaktion hinzugegeben.

Durch die Zugabe freier dNTPs und hitzestabiler DNA-Polymerasen wird der DNA-Strang komplementär ergänzt. Das wiederholte Auftrennen und Komplementieren durch mehrfaches Erhitzen und Abkühlen in einem Thermocycler führt zu der Amplifizierung des Abschnittes.

Die für den Polymorphismus spezifischen Einzelstrangnukleotide (Forward- und Reverseprimer) hybridisieren jeweils mit der entsprechenden Sequenz der DNA. Zusätzlich wird eine Sonde zugegeben, deren mittleres Drittel spezifisch für den zu untersuchenden Polymorphismus ist.

Dieser ist ein, zu der spezifischen DNA-Sequenz komplementäres, Oligonukleotid das am 5'-Ende einen fluoreszenzmarkierten Reporter wie beispielsweise VIC oder FAM; am 3'-Ende einen nicht fluoreszierenden Quencher besitzt. Der Quencher kann das fluoreszierende Signal am 5'-Ende bei räumlichem Abstand der Basen unterdrücken.

VIC bildet dabei ein passendes Gegenstück zum ersten Allel und FAM an der zu dem 2. Allel passenden Sonde.

Passt beispielsweise die Sonde mit VIC am 5'-Ende vollständig, so trennt die im Ansatz enthaltene Taq-Polymerase mit ihrer speziellen 5'3' Exonuklease dieses Ende ab und anschließend wird das zuvor erwähnte Oligonukleotid angefügt.

Danach wird bei der Synthese des gegenüberliegenden Abschnittes diese Sonde am 5'-Ende und der Quencher am 3'Ende markiert, so dass das Fluoreszenzsignal nicht mehr unterdrücken werden kann. Falls jedoch die Sonde aufgrund der veränderten Basenfolge nicht passend ist, spaltet die Polymerase weniger Sonde und man erhält deutlich weniger Fluoreszenzmaterial als bei einem full match. Durch die Vermehrung der DNA-Abschnitte steigt so auch die Emission.

Der CT-Wert kennzeichnet den Beginn der exponentiellen Phase der Polymerase-Kettenreaktion. Bei diesem liegt das Signal zum ersten Mal über dem davor bekannten Fluoreszenzsignal im Hintergrund. Bei der Verwendung zweier Oligonukleotide mit verschiedenen Basenfolgen und verschiedener

Fluoreszenzfarbstoffe kann so qualitativ zwischen zwei Allelen unterschieden werden.

TaqMan® Genotyper Software, Thermo Fisher Cloud Genotyping Application, und real-time PCR instrument software geben anschließend die Diskrimination der beiden Allele als Streudiagramm aus. Dabei erscheinen die für in unserem Assays beispielsweise Val/Val homozygoten Proben in der linken oberen Ecke und die für Met/Met homozygoten Proben in der rechten unteren Ecke. Proben mit Val/Met werden aufgrund ihrer Fluoreszenz mit beiden Farbstoffen, da beide Sonden gebunden haben in der Mitte dargestellt

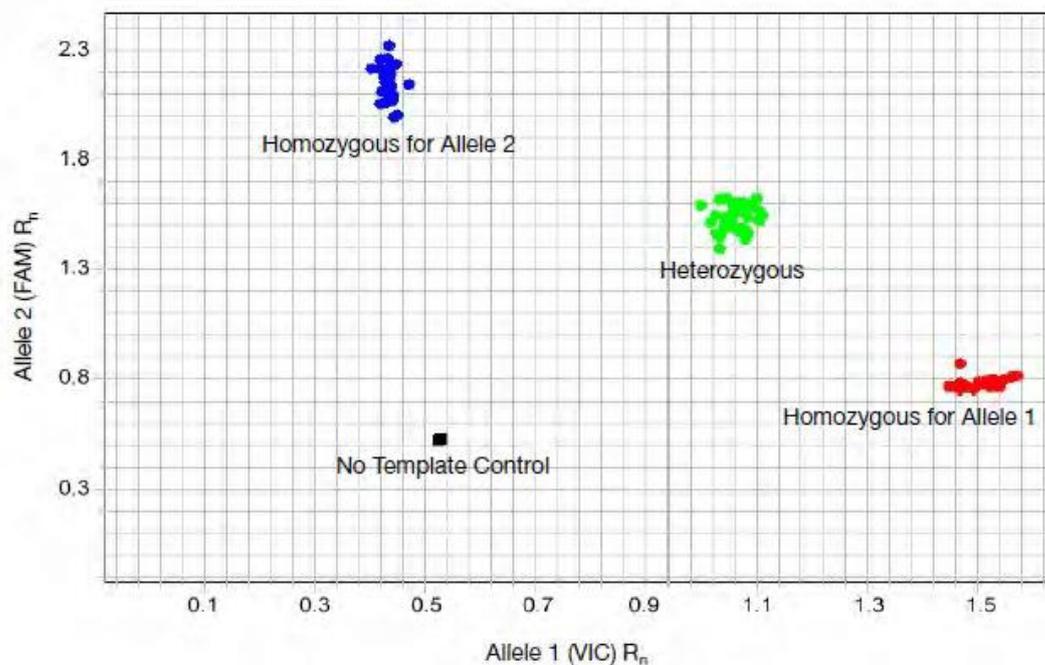


Abbildung 9: Beispiel eines möglichen Streudiagramms nach der Analyse [96]

Im Rahmen der Arbeit wurde ermittelt, ob bei den Probanden an Aminosäuresequenz 66 ein Methionin oder ein Alanin vorliegt. Dieser Austausch geschieht durch die Substitution eines einzigen Nukleotids (Cytosin zu Thymin) im Bereich des BDNF-Gens. Dabei konnte die Substitution bei keinem der beiden Allele (Val/Val; Wildtyp), auf einem Allel (Val/Met; Heterozygot) oder auf beiden Allelen (Met/Met) vorliegen.

Der untersuchte SNP rs6265 hat folgende Eigenschaften:

Eigenschaften des SNP	
Assay ID	C__11592758_10
dbSNP ID	rs6265
Gen	BDNF, brain derived neurotrophic factor
Base	27,679,916-27,679,917
Allele/Polymorphismus	Missensemutation
Codonaustausch	C -> T
Aminosäureaustausch	Valin wird durch Methionin ersetzt
Position	11p13
Sequenz	TCCTCATCCAACAGCTCTTCTATCA[C/T]GTGT TCGAAAGTGTTCAGCCAATGAT
MAF	0.2

Tabelle 10: Eigenschaften des SNP [97, 98]

Der Single Nucleotid Polymorphismus liegt an der Basenposition 27.679.916 an der Schnittstelle zwischen Chromosom 11p13 und 11p14 in der codierenden Sequenz des BDNF-Gens. Die verwendeten Oligonukleotide waren mit FAM (C) und VIC (T) am 5'-Ende mit einem Fluoreszenzfarbstoff versehen sowie mit dem bereits erwähnten Quencher am 3'-Ende.

Für den Assay erfolgte folgender Ansatz: 5 µl des 2X Taqman Master Mix, in welchem die AmpliTaq Gold® DNA-Polymerase und die freien dNTPs enthalten sind, zusätzlich zu 0,5 µl des 20 X Assay Working Stock pro Well. Zusätzlich wird noch durch den 40 X Taqman Genotyping Assay die Oligonukleotide sowie die Primer dazugegeben. Dieses wird anschließend mittels eines klebenden Films verschlossen und kurz zentrifugiert, um die Flüssigkeit an den Boden der Vertiefung zu bringen. Anschließend wird der Film entfernt und die 4,5 µl der DNA-Probe dazu gegeben, gefolgt von einem erneuten Verschließen und Zentrifugieren der Platte. Zusätzlich liefen Negativ-Kontrollen mit bei denen Wasser anstelle von DNA zugegeben wurde.

Der nächste Schritt beinhaltet die PCR:

Programm		Dauer	Temperatur	
Schritt 1	Polymerase Aktivität	10 Minuten	95°C	
Schritt 2	Denaturation	15 Sekunden	95°C	Für insgesamt 40 Zyklen
Schritt 3	Annealing/ Extension	1 Minute	60°C	

Tabelle 11: Verwendetes PCR-Programm für den StepOne

Nach der PCR erfolgt die Analyse mittels der Gerätesoftware. Die Genauigkeit wurde durch Wiederholung von 15 Prozent der Probenmenge bewertet und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse war 100%. Die Häufigkeit der Genotypen wich nicht von der Hardy-Weinberg-Konstante ab (HWE; $p = 0.06$). [99]

2.6.5 Bestimmung der DNA-Methylierung von BDNF

2.6.5.1 Bisulfitkonvertierung

Dieser Schritt besitzt große Bedeutung, um eine spätere Methylierungsanalyse der vorher ausgesuchten Genabschnitte zu erreichen.

Die Bisulfit-Reaktion wandelt nicht-methylierte Cytosin-Nukleotide des DNA-Strangs zu Uracil-Nukleotiden um, während 5-Methylcytosin von der Reaktion unberührt bleibt und somit keine Veränderung durchläuft. Durch diese Konvertierung ist die Unterscheidung zwischen methylierten und nicht methylierten Genabschnitten in der späteren Sequenzanalyse möglich.

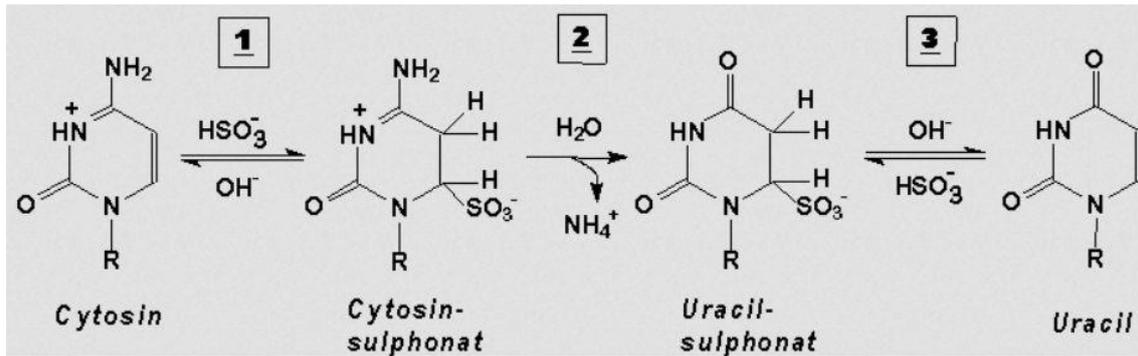


Abbildung 10: Bisulfitkonvertierung [100]

	Ursprüngliche Sequenz	Nach Bisulfit-Konvertierung
Unmethyliert	TTCGTAGCGT	TTUGTAGUGT
Methyliert	TTCGTAGCGT	TTCGTAGCGT

Tabelle 12: Veränderung der Sequenz durch Pyrosequencing

Damit das Ziel einer möglichst vollständigen Konversion erreicht wird, sind in der folgenden Methode hohe Temperaturen, niedrige pH-Werte und hohe Bisulfit-Konzentrationen notwendig unter Verwendung des EpiTect Fast DNA Bisulfite Kit (Qiagen, Hilden).

Nach Herstellerangaben werden je 500 ng der bereits isolierten DNA verwendet. Mit RNase freiem Wasser wird diese auf 20 μl in PCR-Tubes aufgefüllt. Mit der anschließenden Zugabe von 85 μl Bisulfite solution und 35 μl DNA Protect Buffer enthält jeder PCR-Tube insgesamt 140 μl der hergestellten Flüssigkeit. Nach dem Verschließen und kräftigen Schütteln der Tubes werden diese im Thermocycler nach dem vorgegebenen Programm inkubiert.

Programm	Vorgang	Dauer	Temperatur
Schritt 1	Denaturierung	5 min	95 °C
Schritt 2	Inkubation	15 min	60 °C
Schritt 3	Denaturierung	5 min	95 °C
Schritt 4	Inkubation	15 min	60 °C
Schritt 5	Lagerung	Nicht definiert	20 °C

Tabelle 13: Verwendetes PCR-Programm

Im nächsten Schritt werden die PCR-Tubes kurz zentrifugiert und ihr Inhalt in 1,5 ml Eppis überführt. Anschließend werden 310 µl Puffer BL dazu pipettiert, gevortext, 250 µl Ethanol (100%) dazu gegeben, erneut gevortext und kurz zentrifugiert.

Danach folgt die Übertragung in spin columns in 2 ml Sammelgefäße und eine Zentrifugation bei maximaler Geschwindigkeit (21.000 g) für 60 Sekunden. Nun verwirft man den Durchfluss, fügt 500 µl Puffer BW zu und zentrifugiert erneut für eine Minute bei 21.000 g. Der nächste Schritt folgt ebenfalls diesem Schema: Der Durchfluss wird verworfen und 500 µl Puffer BD zugefügt. Nach einer Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur wird ebenfalls für eine Minute bei 21.000 g zentrifugiert.

Danach folgt das Verwerfen des Durchflusses, die Zugabe von 500 µl Puffer BW und die Zentrifugation bei 21.000 g für 60 Sekunden. Dieser Schritt wird nochmals wiederholt. Nachdem der Durchfluss wiederum verworfen wurde, werden je 250 µl 100% Ethanol auf die Säule pipettiert und wiederum für 1 Minute bei 21.000 g zentrifugiert.

Als nächstes werden die spin columns in ein frisches Sammelgefäß übertragen und die vorherige Zentrifugation wird wiederholt, damit auch die restliche Flüssigkeit sicher entfernt ist.

Zum Ende des Prozedere folgt die Übertragung der spin columns in 1,5 ml Eppis und die vorsichtige Zugabe von 20 µl Puffer EB auf die Filtermembran. Nach einer einminütigen Inkubation bei Raumtemperatur schließt sich die letzte Zentrifugation bei 15.000 g an. Das spin column wird entfernt und die erfolgreich eluierte DNA bei -20°C im Eppi gelagert.

2.6.5.2 PCR

Um die Methylierungsanalyse der DNA fortzusetzen, erfolgt zuerst eine exponentielle Vervielfältigung spezifischer DNA-Sequenzen.

Der Ansatz besteht aus 12,5 µl PyroMark PCR-MasterMix, (2x (QIAGEN, Hilden) oder GoTaq-MasterMix, 2x (Promega, Fitchburg, WI, USA), 10 µM Primer forward, 10 µM Primer reverse, 9,5 µl RNase freies Wasser und 1µl der bisulfitkonvertierten DNA.

Zuerst werden die DNA-Stränge voneinander getrennt („denaturation“), damit die spezifischen Primer an die zu vervielfältigenden DNA-Abschnitte binden können („annealing“). Der verwendete Reverse-Primer wurde dabei für das spätere Pyrosequencing biotinyliert. Der Abschnitt zwischen den beiden Primern wird anschließend durch die hitzestabile DNA-Polymerase vervielfältigt und der gesamte Vorgang wird über mehrere Zyklen wiederholt.

Verwendete Primer	Sequenz
Primer forward	TTT GTT GGG GTT GGA AGT GAA AAT
Primer reverse	Biotin-CCC ATC AAC TAA AAA CTC CAT TTA ATC TC

Tabelle 14: Verwendete Primer

Programm	Temperatur	Zeit	Arbeitsschritt	
	95 °C	15 min	Denaturierung	
	95 °C 60 °C 72 °C	30 s 30 s 30 s	Denaturierung Annealing Extention	Diese Schritte werden 49-mal wiederholt
	72 °C	10 min	Extention	
	8 °C	undefiniert	Lagerung	

Tabelle 15: Verwendetes PCR-Programm

2.6.5.3 Gelelektrophorese

Der nächste Schritt erfolgt, erneut eine Gelelektrophorese wie bereits in Abschnitt 2.5.3, um den Erfolg der PCR zu überprüfen

Inhaltsstoffe TBE Puffer	Inhaltsstoffe Borax Puffer
90 mM Tris	50 mM Di-Natriumtetraborat
90 mM Borsäure	Mit H ₂ O auffüllen
2 mM EDTA	

Tabelle 16: Ansatz für die Gelelektrophorese

Je nach verwendetem Puffer wird nun eine 100 mV Spannung für 45 Minuten angelegt (TBE Puffer) oder eine Spannung von 250 mV für 20 Minuten (Borax Puffer).

Das so erhaltene Gel kann anschließend herausgenommen und unter UV-Licht analysiert werden.

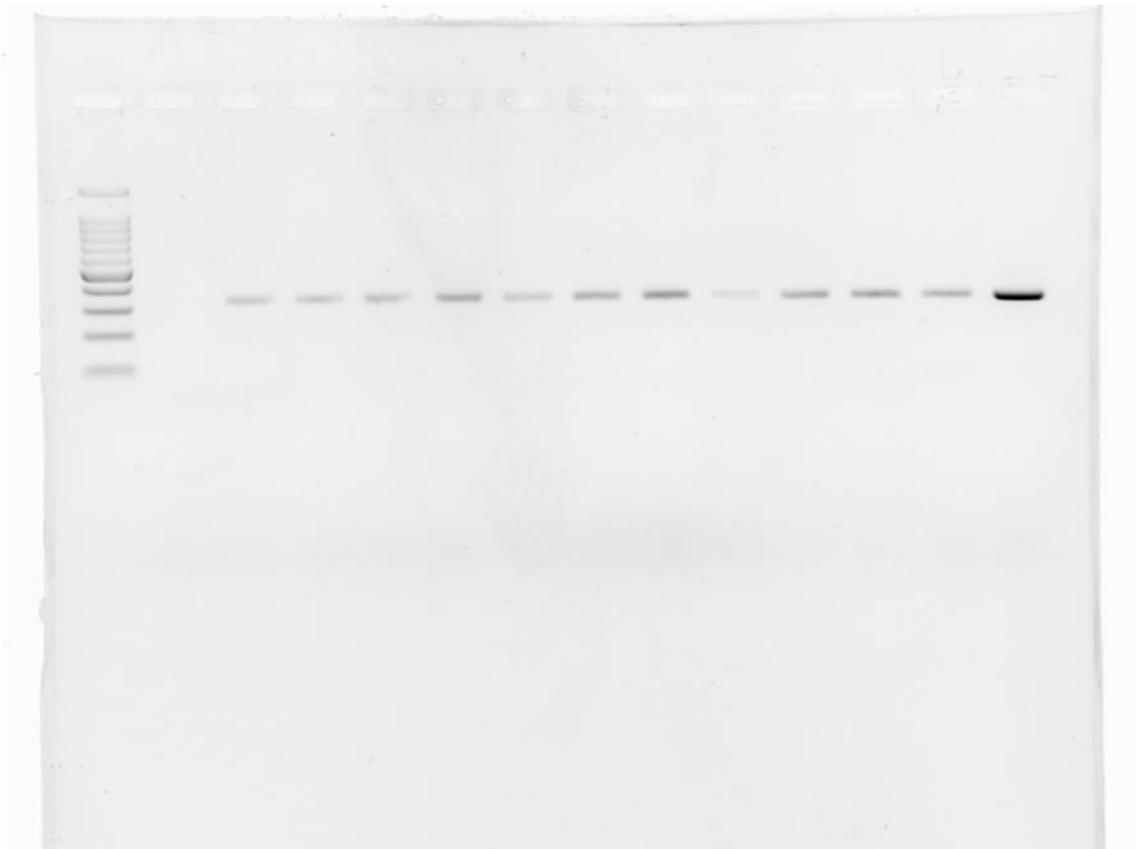


Abbildung 11: Gelelektrophorese der PCR für BDNF4 mit 12 Proben und einer Negativkontrolle

2.6.5.4 Pyrosequencing

Diese Methode stellt schließlich die Analyse des Methylierungsstatus dar; unter Verwendung des Pyrosequenzierers PyroMark Q24 und der Pyromark GoldReagents von QIAGEN, Hilden.

Dadurch ist es möglich bekannte DNA Sequenzen auf Mutationen oder die Methylierung der DNA-Abschnitte zu analysieren. Als Basis dienen verschiedenen Reaktionen durch Enzyme, die zu einer Lichtreaktion führen.

Im ersten Schritt werden zu 10 µl des PCR-Produktes 1 µl der Sepharose-Beads, 29 µl Wasser und 40 µl des von Qiagen hergestellten Binding Puffers in PCR-Tubes gegeben. Durch die Verwendung eines biotinylierten Reverse-Primers bei der vorangegangenen PCR können die Sepharose-Beads an das PCR-Produkt binden. Als nächster Schritt werden die Tubes auf einen Schüttler gestellt und für 10 Minuten bei 1.410 rpm vermischt.

Anschließend werden die Beads durch den Vakuum-Kamm der Station an Filterprobes gebunden. Durch Bewegen des Vakuum-Kamms in verschiedene Lösungen folgt anschließend eine Inkubation für fünf Sekunden in 100% Ethanol, dann für fünf Sekunden in einer Denaturierungslösung und für zehn Sekunden im Washpuffer. Durch das folgende Abschalten des Vakuums können die Beads nun in die vorher mit je 24 µl des Annealing-Puffers und je 1 µl des Sequenzierungs-Primer befüllten Pyromark Platte übertragen werden. Dank der vorherigen Denaturierung kann der Sequenzierungsprimer jetzt an die DNA-Einzelstränge binden.

Daraufhin werden die Proben für zwei Minuten auf dem Heizblock inkubiert und für 15 Minuten abgekühlt. Während dieser Phase folgt das Annealing beziehungsweise Anlegen des Sequenzierungs-Primers. Nun können die Proben in den PyroMark Q24 eingebracht werden und das im Vorfeld geschriebene Programm kann gestartet werden. Der Assay braucht dabei die Angabe der zu analysierenden Sequenz nach der Bisulfitkonvertierung und die Methode, die gewünscht ist. Bei dem verwendeten Assay benötigt man einen CpG Assay zur Analyse der Methylierung der entsprechenden CpG Sites. Aufgrund dieser Angaben wird eine Reihenfolge für die Ausgabe der einzelnen Nukleotide erstellt.

Während des Ablaufs des Programms erfolgt die Zugabe einer DNA-Polymerase, ATP-Sulfurylase, Apyrase, Luziferase und Adenosin-5-Phosphat sowie Luziferin. Der vorher erstellten Reihenfolge entsprechend wird anschließend eine der vier Desoxynukleosidtriphosphate vom Gerät hinzugefügt. Falls diese Base komplementär zum DNA-Strang ist, wird diese durch die DNA-Polymerase mit dem Sequenzierungsprimer unter der Freisetzung von Pyrophosphat verbunden. Das Pyrophosphat wird durch die ATP-Sulfurylase zusammen mit Adenosin-5-Phosphat zu Adenosintriphosphat erweitert. Mittels der dadurch vorhandenen Energie kann nun durch das Enzym Luziferase Luziferin zu Oxyluziferin umgewandelt werden unter der Entstehung sichtbaren Lichts. Die Intensität dessen ist dabei direkt proportional zur Menge an ATP beziehungsweise zur Menge der verwendeten Desoxynukleosidtriphosphate.

Die charge coupled device Sensoren des Gerätes erfassen dieses Licht durch die Übertragung von Energie auf die Elektronen im Material. Dabei entsteht so viel Energie, dass sich negativ-geladenen, freie Elektronen und positiv-geladene freie Zonen im Material bilden. Der Sensor speichert diese entstandenen Ladungen, deren Menge der einfallenden Lichtintensität entspricht. Der Pyromark 24 errechnet aus der Menge pro Dispensation und somit aus der Lichtintensität einen Peak. Die Höhe des Peaks korreliert dabei mit der Anzahl der verwendeten Nukleotide.

Nicht verwendete Nukleotide werden durch das Enzym Apyrase nach jeder Reaktion entfernt ebenso wie nicht verwendetes Adenosintriphosphat. Im nächsten Schritt wird die Art der Nukleotide gewechselt und die Reaktion wiederholt. Sollte die Base nicht komplementär sein, bleibt die Lichtreaktion und der Peak aus.

Durch die vorher durchgeführte Bisulfitkonvertierung wurde ein in der anfänglichen Sequenz unmethyliertes Cytosin zu Uracil umgewandelt. In der anschließenden PCR wird als Gegenstück dazu Adenosin eingebaut. Durch die DNA-Polymerase während des Pyrosequencing wird das zu Adenosin komplementäre Thymin eingebaut. Bei einem methylierten Cytosin hätte bei diesem Schritt der erneute Einbau eines Cytosins gefolgt. Durch das Verhältnis

von Cytosin und Thymin zueinander kann die Software die prozentuale Methylierung errechnen.

Die Sequenzierung erfolgte für jede Probe doppelt In der Arbeit werden nur Analysen verwendet, bei denen sich die Unterschiede der jeweiligen CpG-Site auf unter drei Prozent belaufen.

Zusätzlich erfolgte die Analyse von Proben mit einer standardisierten Methylierung (0%, 12,5%, 25%, 50%, 75% und 100%, um eine Linearität zu bestätigen.

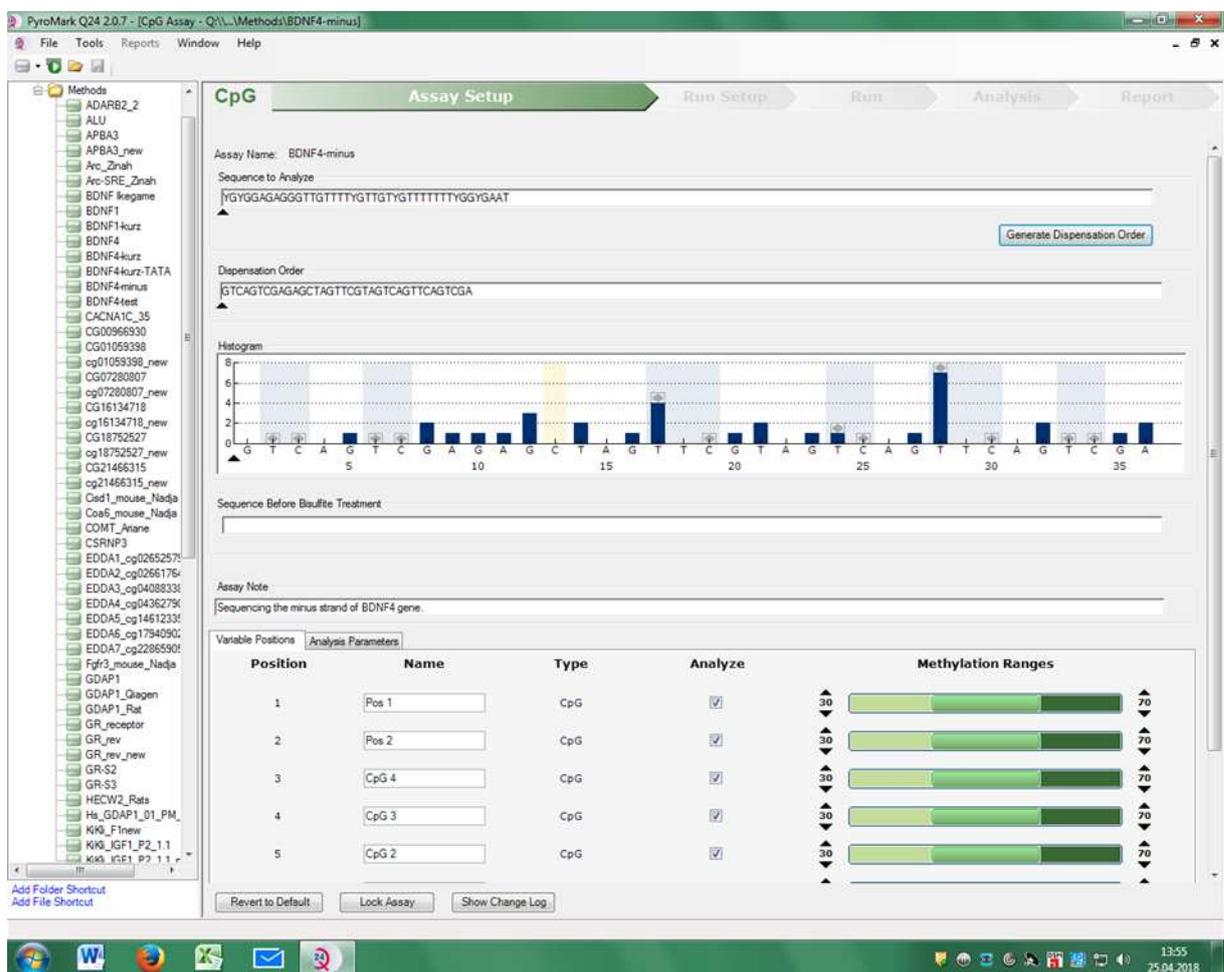


Abbildung 12: Beispiel für das verwendete Pyrosequencing-Programm

Die Analyse des Methylierungsstatus wurde mittels der im Methodenteil beschriebenen Pyrosequencing für jede Probe mehrmals wiederholt. Dabei

wurden die Proben von Mitarbeitern und Bewohnern sowie die verschiedenen Entnahmezeitpunkte gemischt.

Wenn sich zwei Messungen um weniger als 3% in den jeweiligen CpG-Sites unterschieden, wurde auf weitere Messungen verzichtet.

Sowohl die verschiedenen Entnahmezeitpunkte als auch die Ergebnisse der unterschiedlichen Probandengruppen wurden in die Auswertung eingeschlossen und auf signifikante Unterschiede bzw. Zusammenhänge analysiert.

2.7 Haaranalyse

Nach Ablauf der 12 Wochen erfolgte bei den damit einverständenen Probanden die Entnahme einer mindestens 4 cm langen Haarsträhne ab der Kopfhaut. Diese wurde anschließend in das biopsychologische Labor der TU Dresden zur Auswertung mittels Massenspektrometrie gesendet. Dabei wurde der am weitesten von der Kopfhaut entfernte Zentimeter als Ausgangswert des für jeden Probanden bestimmtem Cortisol-Wertes angenommen und aus den restlichen 3 cm ein Durchschnitt über die restliche Zeit bei einer durchschnittlichen Wachstumsgeschwindigkeit von 1 cm pro Monat.

Das Haar wächst aber nicht ständig, sondern in Phasen. Dabei geschieht das Hauptwachstum in der anagenen Phase, während in der katagenen und telogenen Phase kein aktives Wachstum erfolgt. An der Kopfhaut betragen diese Ruhephasen jedoch nur etwa 10 Wochen. Da nicht alle Haare zeitgleich wachsen ist somit ein genaues Haarwachstum pro Monat schwierig zu bestimmen. Haare an der Kopfhaut wachsen durchschnittlich schneller als Haare an anderen Körperregionen. Insgesamt variiert das Wachstum zwischen 0,2 mm/Tag und 1,12 mm/Tag. [101]

2.8 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des IBM SPSS Statistics Version 24.

Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mittels des Shapiro-Wilk-Tests und der graphischen Überprüfung mittels Histogramms. Bei einem t-Wert $> 0,05$ wurde

eine Normalverteilung angenommen und zwei-zeitige t-Tests verwendet. Bei einer nicht-normalverteilten Stichprobe erfolgte die Auswertung mittels parametrischer Tests: Man-Whitney-U-Test bei unabhängigen Variablen und Wilcoxon-Test bei abhängigen Variablen.

Als Signifikanzniveau wurde $\alpha > 0,05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Blut- und Speichelproben wurden ausgewertet und zur Prüfung auf mögliche Unterschiede zwischen den Gruppen und im Verlauf der Intervention mittels SPSS analysiert, wie in Punkt 2.8 beschrieben. Zusätzlich wurden die Zusammenhänge zwischen der Methylierung und den anderen Werten sowie den Ergebnissen der Fragebögen untersucht.

Zu Beginn wurden die Probanden und untersuchten Mitarbeiter anhand der bewohnten Stockwerke in die jeweiligen Gruppen „Licht“ bei Intervention und „Lau“ für die Kontrollgruppe unterteilt.

Aufgrund der immensen Altersunterschiede wurde bis auf wenige Ausnahmen eine getrennte Analyse zwischen Mitarbeitern und Probanden bevorzugt. Aufgrund der Möglichkeit zur Einwilligung auch nur für einen Teil der Materialien, wie beispielsweise nur Speichel, ergeben sich unterschiedliche n-Zahlen.

3.1 Vergleich der Gruppen zu Beginn der Intervention

Im Folgenden sollen zunächst die Fall- und die Kontrollgruppe zu Beginn der Intervention genauer charakterisiert werden.

3.1.1 Bewohner

Es konnten jeweils 20 Probanden für die Licht-Gruppe und 20 Probanden für die Kontrollgruppe, im Folgenden auch Lau genannt, gewonnen werden. Dabei konnte ein annähernd ausgeglichenes Verhältnis zwischen männlichen und weiblichen Probanden zwischen den Gruppen erreicht werden.

Bei den Bewohnern wurden bereits Ausgangswerte für die Ergebnisse der Befragungen im Mini Mental Status (MMS) und Geriatric Depression Scale (GDS) erhoben

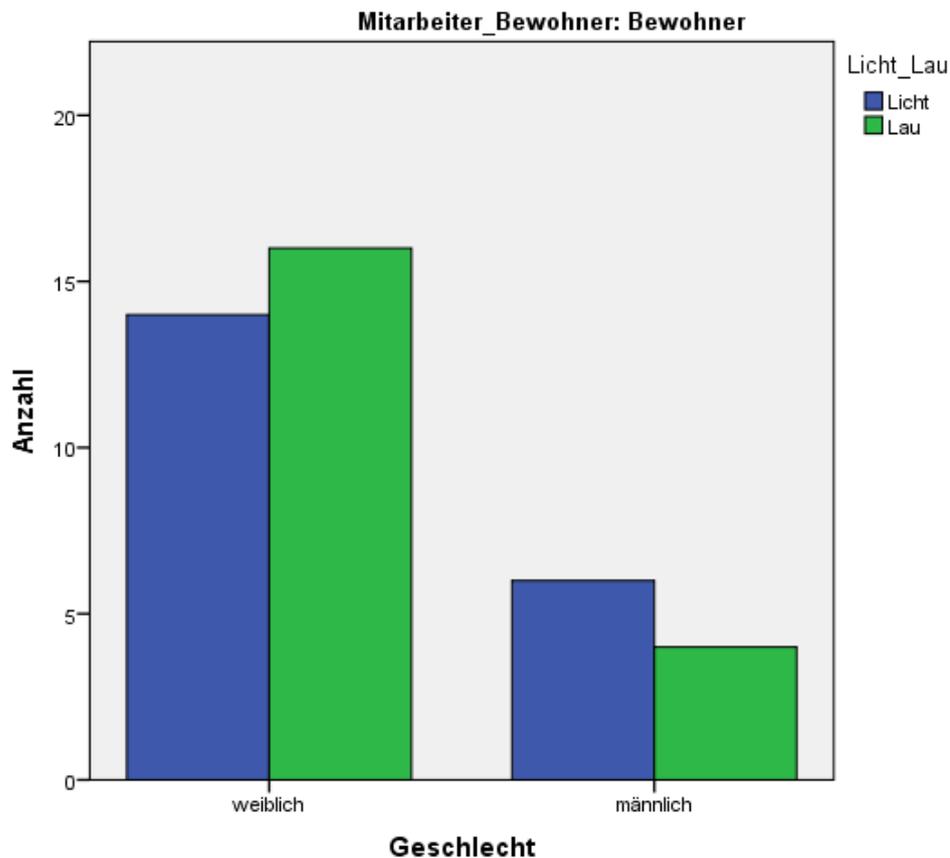


Abbildung 13: Verteilung zwischen den Gruppen im Hinblick auf das Geschlecht

Bei der Altersverteilung zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit einem Altersdurchschnitt von 85,5 Jahren mit einer Standardabweichung von 9,2 Jahren bei der Lichtgruppe und 83,2 Jahren mit einer Standardabweichung von 11,1 Jahren bei der Laugruppe. Im Man-Whitney-U-Test ist somit kein Unterschied erkennbar, $U = 184,50$, $z = -0,42$, $p = 0,678$.

Im MMS der Probanden erzielte die Lichtgruppe durchschnittlich 23,9 Punkte mit einer Standardabweichung von 4,4 Punkten im Vergleich zu 25,8 Punkten mit einer Standardabweichung von 3,6 Punkten bei der Kontrollgruppe. $U = 200,00$, $z = 1,231$, $p = 0,232$ im Man-Whitney-U-Test. Die Ergebnisse beim GDS ergaben 4,75 Punkte mit einer Standardabweichung von 3,3 Punkten bei der Lichtgruppe und 4,94 Punkte mit einer Standardabweichung von 2,9 Punkten bei der Kontrollgruppe. $U = 211,00$, $z = 0,896$, $p = 0,385$ im Man-Whitney-U-Test.

Im D-MEQ Fragebogen erreichten die Teilnehmer der Lichtgruppe durchschnittlich 64 Punkte mit einer Standardabweichung von 8 Punkten im Vergleich zu 60 Punkten mit einer Standardabweichung von 6 Punkten bei der Kontrollgruppe $U = 141$, $z = -0,914$, $p = 0,374$

3.1.2 Mitarbeiter

Insgesamt konnten 17 Mitarbeiter für die Lichtgruppe und 11 Mitarbeiter für die Kontrollgruppe gewonnen werden. Mit einem Altersdurchschnitt von 42,0 mit einer Standardabweichung von 12 Jahren in der Lichtgruppe und 38,3 mit einer Standardabweichung 15,5 Jahren von bei der Laugruppe konnte ebenfalls im Man-Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. $U = 80,5$, $z = -0,612$, $p = 0,547$.

Der MMS und der GDS wurde von den Mitarbeitern nicht durchgeführt. Sie füllten lediglich den Fragebogen zum Chronotyp aus. Dort erreichten die Teilnehmer der Lichtgruppe durchschnittlich 55 Punkte mit einer Standardabweichung von 12 Punkten im Vergleich zu 54 Punkten mit einer Standardabweichung von 9 Punkten der Kontrollgruppe $U = 91,5$, $z = -0,094$, $p = 0,926$.

3.1.3 BDNF-Genotyp

Bezüglich der Auswertung der verschiedenen Gruppen bei BDNF Single Nucleotid Polymorphismus ergab sich folgendes Bild:

	Val/Met	Val/Val	Met/Met
Bewohner	18	15	0
Mitarbeiter	7	16	2

Tabelle 17: Verteilung der BDNF-Genotypen

3.1.4 PER3-Genotypisierung

Bezüglich der Verteilung der PER3-Typisierung ergab sich folgendes Bild

	PER4/4	PER4/5	PER5/5
Bewohner	14	18	1
Mitarbeiter	10	13	2

Tabelle 18: Verteilung der PER3-Genotypisierung

3.2 Melatonin

In diesem Abschnitt sollen die Werte für Melatonin während der Versuchsphase verglichen werden sowie ein möglicher Einfluss des PER3 Polymorphismus, welcher in Studien mit Veränderungen der Melatoninwerten in Verbindung gebracht werden konnte. [35]

Bewohner	20 Uhr	21 Uhr	22 Uhr	23 Uhr
Zu Beginn	0,86 ± 0,65	1,4 ± 1,13	1,8 ± 1,65	3,2 ± 3,23
Nach 3 Wochen	0,6 ± 0,71	1,1 ± 1,2	1,8 ± 3,12	3,3 ± 4,15
Nach 6 Wochen	1,7 ± 2,63	2,6 ± 3,84	2,2 ± 2,94	2,8 ± 3,36
Nach 12 Wochen	0,8 ± 1,03	1,6 ± 1,59	1,7 ± 2,21	3,9 ± 4,73
Mitarbeiter	20 Uhr	21 Uhr	22 Uhr	23 Uhr
Zu Beginn	1,6 ± 1,45	3,3 ± 3,72	5,9 ± 5,65	7,3 ± 6,15
Nach 3 Wochen	0,9 ± 0,63	2,1 ± 1,4	4,4 ± 3,8	6,6 ± 5,36
Nach 6 Wochen	2,7 ± 6,01	4,2 ± 6,63	5,5 ± 6,04	8,7 ± 9,46
Nach 12 Wochen	2,1 ± 1,79	2,7 ± 3,2	4,4 ± 4,54	7,0 ± 6,83

Tabelle 19: Mittelwerte der Melatoninkonzentration in pg/ml ± Standardabweichung

Dabei konnte von den teilnehmenden Probanden aufgrund geringer Speichelmenge nicht jede Probe analysiert werden.

Bewohner	20 Uhr	21 Uhr	22 Uhr	23 Uhr
Zu Beginn	28	23	20	20
Nach 3 Wochen	19	18	19	16
Nach 6 Wochen	21	16	20	15
Nach 12 Wochen	11	12	12	13

Tabelle 20: Analysierte Proben pro Messung

Mitarbeiter	20 Uhr	21 Uhr	22 Uhr	23 Uhr
Zu Beginn	22	24	26	25
Nach 3 Wochen	17	22	23	24
Nach 6 Wochen	15	18	20	21
Nach 12 Wochen	16	22	23	23

Fortsetzung Tabelle 20: Analyisierte Proben pro Messung

3.2.1 Baseline

Nun erfolgt ein Vergleich der dynamischen Lichtgruppe mit der Kontrollgruppe für die Entnahmezeitpunkte um 20, 21, 22 und 23 Uhr zu Beginn der Studie (Baseline).

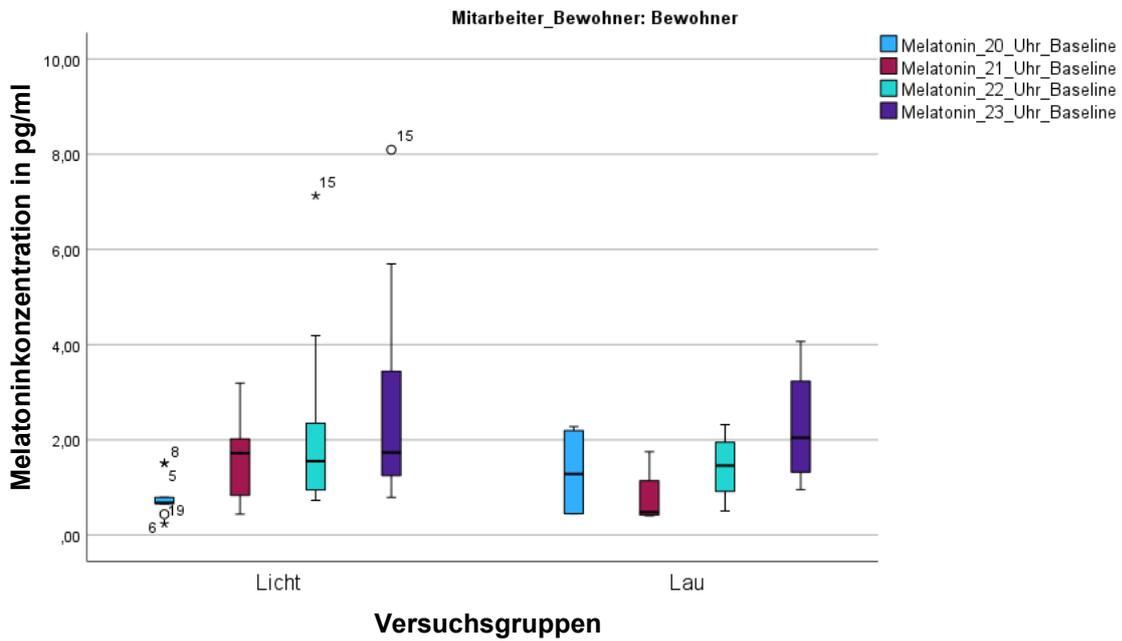


Abbildung 14: Melatoninwerte in pg/ml der Bewohner (oben) und Mitarbeiter (unten) zum Beginn der Studie von 20 Uhr bis 23 Uhr

Am Tag sind Werte zwischen 0 - 8 pg/ml für Melatonin im Speichel zu erwarten im Vergleich zu Werten von 10 - 58 pg/ml in der Nacht [94], mit zu erwartbaren, geringeren Werten bei älteren Bewohnern. [77]

Mittelwerte der Melatoninkonzentration in pg/ml	Bewohner	Mitarbeiter
Melatoninwerte um 20 Uhr zu Beginn	0,85 ± 0,65	1,5 ± 1,46
Melatoninwerte um 21 Uhr zu Beginn	1,4 ± 1,13	3,35 ± 3,71
Melatoninwerte um 22 Uhr zu Beginn	1,8 ± 1,64	5,9 ± 5,66
Melatoninwerte um 23 Uhr zu Beginn	3,2 ± 3,25	7,2 ± 6,15

Tabelle 21: Melatoninmittelwerte in pg/ml ± Standardabweichung

Erfreulicherweise konnte jedoch der für Speichel in der Literatur verwendete Schwellenwert von 3 pg/ml für den Dim Light melatonin onset [102] erreicht werden.

Auch wenn vor allem bei den Bewohnern die für die Nacht berichteten Konzentrationen nicht erreicht werden konnten.

Die Bewohner hatten keinen signifikanten Unterschied in den Melatoninwerten um 20 Uhr oder zu den anderen Messzeitpunkten zu Beginn der Studie. Ebenfalls konnte kein signifikanter Unterschied bei den Mitarbeitern festgestellt werden, wie in Tabelle 22 beschrieben.

	Bewohner	Mitarbeiter
Melatoninwerte um 20 Uhr	U = 102 z = 0,279 p = 0,802	U = 66 z = 0,396 p = 0,722
Melatoninwerte um 21 Uhr	U = 55 z = -0,504 p = 0,643	U = 80 z = 0,745 p = 0,482
Melatoninwerte um 22 Uhr	U = 48 z = 0 p = 1,0	U = 68 z = -0,632 p = 0,551
Melatoninwerte um 23 Uhr	U = 56 z = 0,832 p = 0,438	U = 90 z = 0,832 p = 0,428

Tabelle 22: Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten

3.2.2 Visite 2: 3 Wochen nach Beginn der Studie im Winter 2016/2017

Bei der zweiten Visite konnten ebenfalls über die Fallgruppe der Stockwerke mit dem blauen Licht und der Kontrollgruppe weder bei den Bewohnern noch bei den Mitarbeitern signifikante Unterschiede berichtet werden.

	Bewohner	Mitarbeiter
Melatoninwerte um 20 Uhr	U = 54 z = 0,826 p = 0,442	U = 26 z = 0,00 p = 1,00
Melatoninwerte um 21 Uhr	U = 32 z = -0,751 p = 0,489	U = 66 z = 0,952 p = 0,368
Melatoninwerte um 22 Uhr	U = 41 z = -0,327 p = 0,78	U = 58 z = -0,129 p = 0,925
Melatoninwerte um 23 Uhr	U = 17 z = -1,19 p = 0,267	U = 71 z = 0,429 p = 0,697

Tabelle 23: Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten

3.2.3 Visite 3: 6 Wochen nach Beginn der Studie im Winter 2016/17

Bei der Visite 3 konnten weiterhin keine signifikanten Unterschiede zwischen der Lichtgruppe und der Kontrollgruppe festgestellt werden.

	Bewohner	Mitarbeiter
Melatoninwerte um 20 Uhr	U = 71 z = 1,376 p = 0,185	U = 14 z = -1,347 p = 0,206
Melatoninwerte um 21 Uhr	U = 16 z = 0,692 p = 0,743	U = 28 z = -0,749 p = 0,494
Melatoninwerte um 22 Uhr	U = 20 z = 1,33 p = 0,201	U = 36 z = -0,753 p = 0,485
Melatoninwerte um 23 Uhr	U = 15 z = 0,735 p = 0,513	U = 52 z = 0,224 p = 0,856

Tabelle 24: Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten

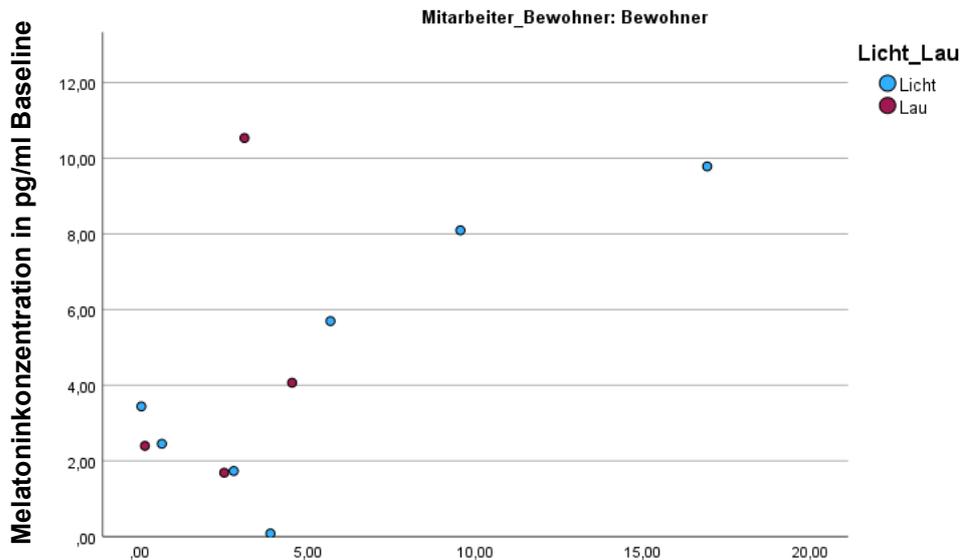
3.2.4 Visite 4: 12 Wochen nach Beginn der Studie im Winter 2016/17

Bei der letzten Visite nach 12 Wochen konnten ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden.

	Bewohner	Mitarbeiter
Melatoninwerte um 20 Uhr	U = 13 z = -0,189 p = 0,927	U = 24 z = -0,651 p = 0,562
Melatoninwerte um 21 Uhr	U = 12 z = -0,679 p = 0,57	U = 79 z = 1,57 p = 0,127
Melatoninwerte um 22 Uhr	U = 12 z = -0,893 p = 0,432	U = 73 z = 0,839 p = 0,428
Melatoninwerte um 23 Uhr	U = 13 z = -1,143 p = 0,295	U = 58 z = -0,315 p = 0,781

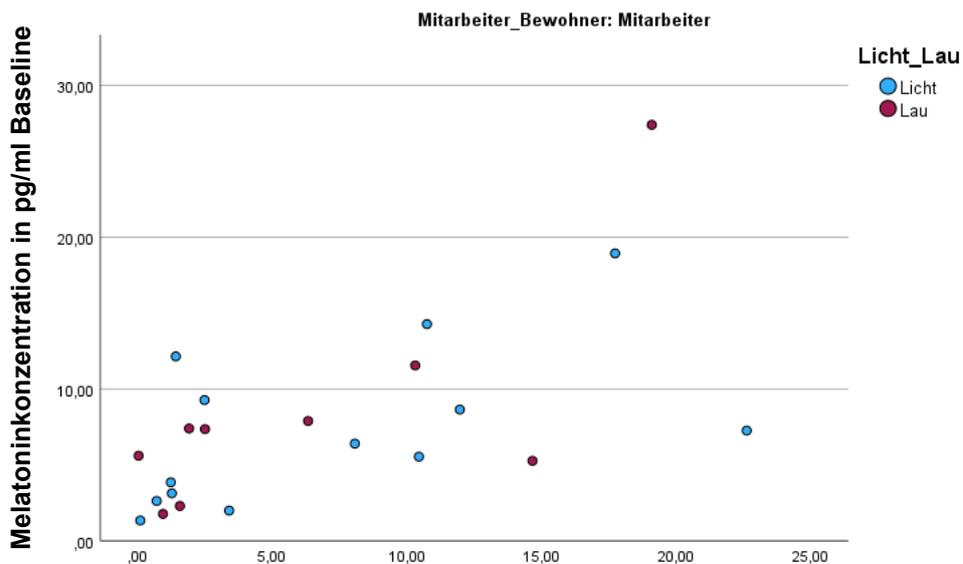
Tabelle 25 Vergleich der Melatoninwerte zwischen Licht- und Kontrollgruppe der Bewohner und Mitarbeiter zu verschiedenen Messzeitpunkten

Streudiagramm von Melatonin_23_Uhr_Baseline Schritt: Melatonin_23_Uhr_Visite4 Schritt: Licht_Lau



Melatoninkonzentration in pg/ml 12 Wochen nach Beginn der Messungen

Streudiagramm von Melatonin_23_Uhr_Baseline Schritt: Melatonin_23_Uhr_Visite4 Schritt: Licht_Lau



Melatoninkonzentration in pg/ml 12 Wochen nach Beginn der Studie

Abbildung 15: Beispielsweise Darstellung der Melatoninwerte in pg/ml der Bewohner (oben) und Mitarbeiter (unten) um 23 Uhr zwischen der ersten und letzten Visite

3.2.5 Melatoninwerte über den Zeitraum

In diesem Abschnitt sollen die Melatoninwerte der verschiedenen Entnahmezeitpunkte miteinander verglichen werden.

Auch wenn kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden konnte, so zeigt sich graphisch bei den Bewohnern in der Lichtgruppe ein höherer Anstieg im Verlauf der Visiten, siehe Abbildung 16 und Abbildung 17.

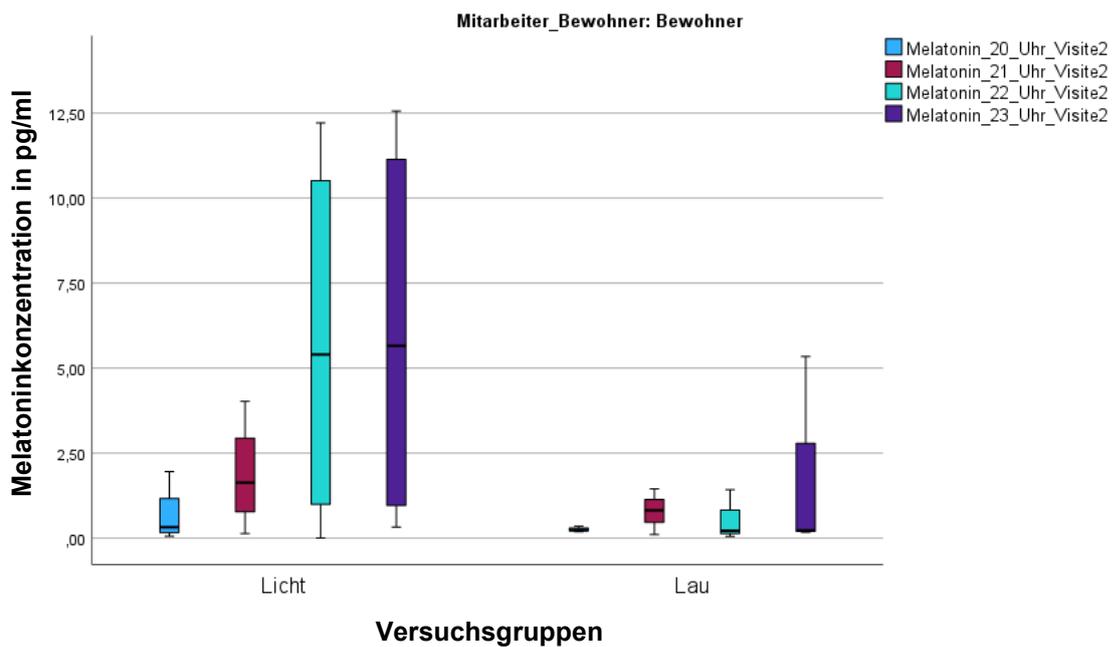


Abbildung 16: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Bewohner bei Visite 2

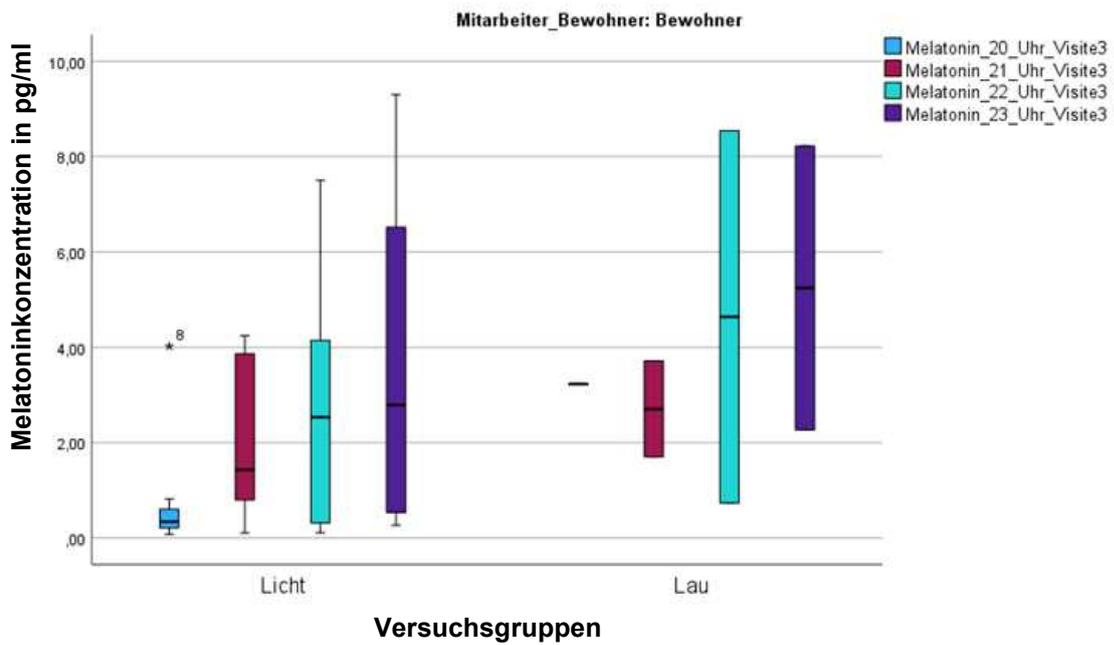


Abbildung 17: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Bewohner bei Visite 3

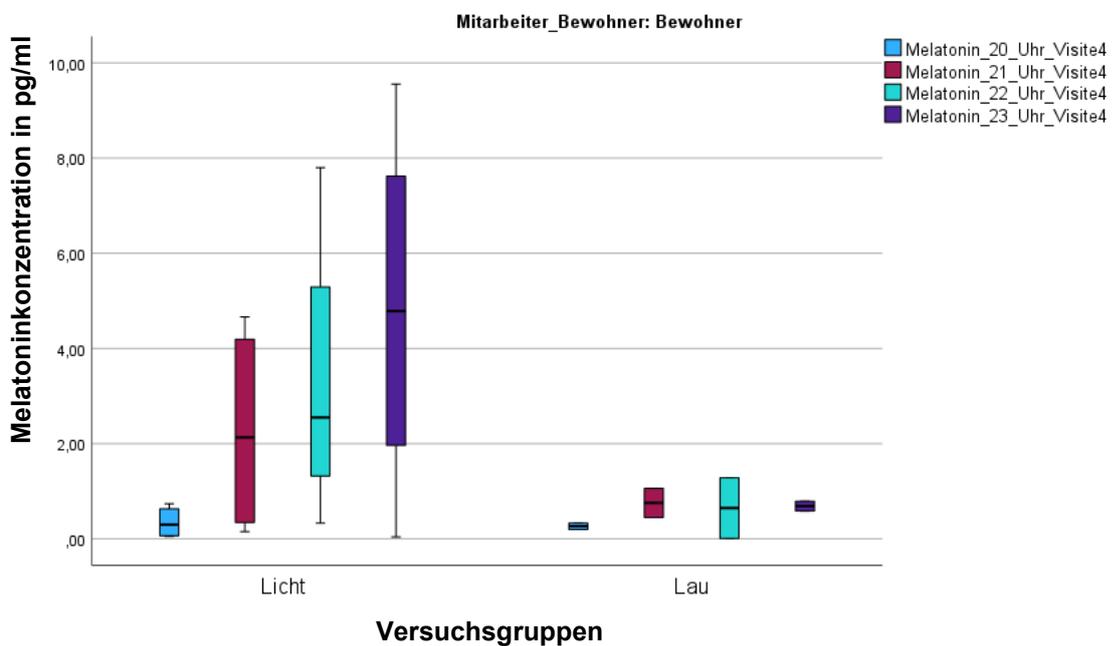


Abbildung 18: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Bewohner bei Visite 4

Bei den Mitarbeitern kommt man auf folgende Werte:

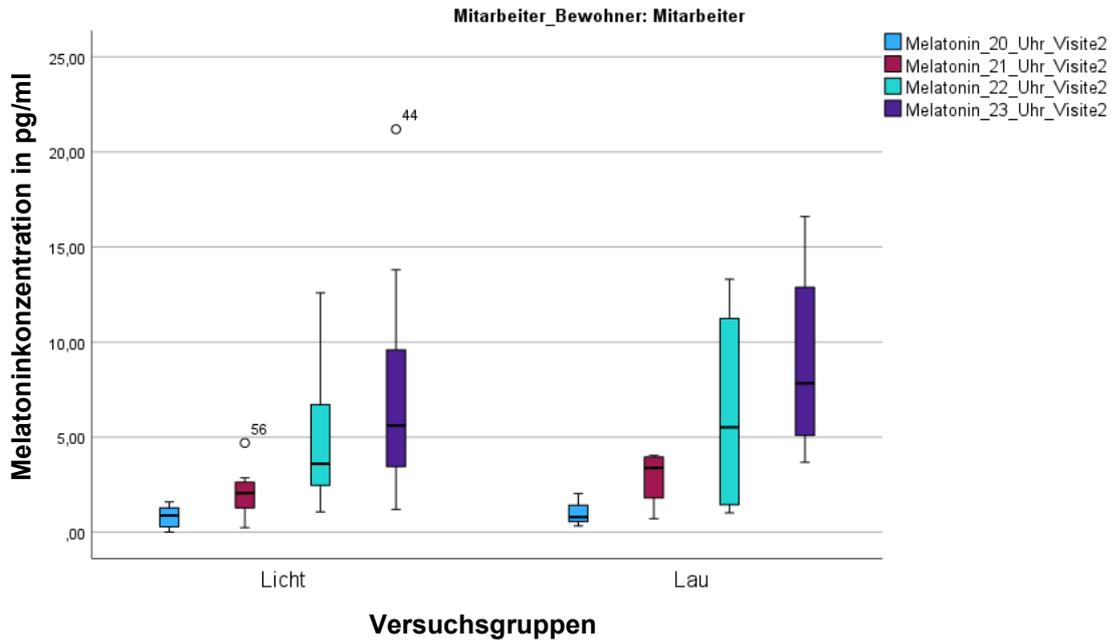


Abbildung 19: Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Mitarbeiter bei Visite 2

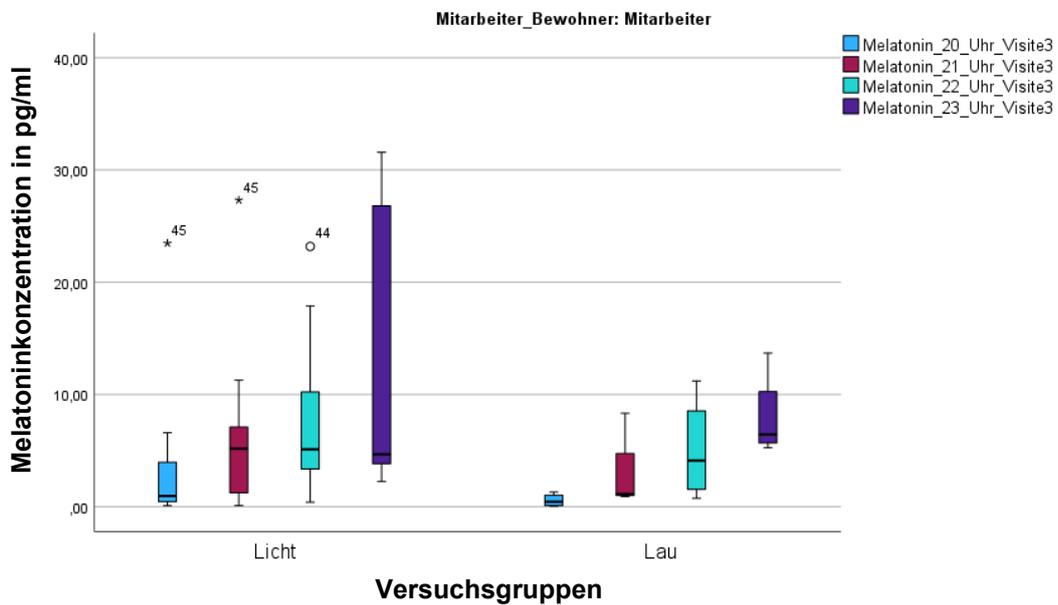


Abbildung 20 Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Mitarbeiter bei Visite 3

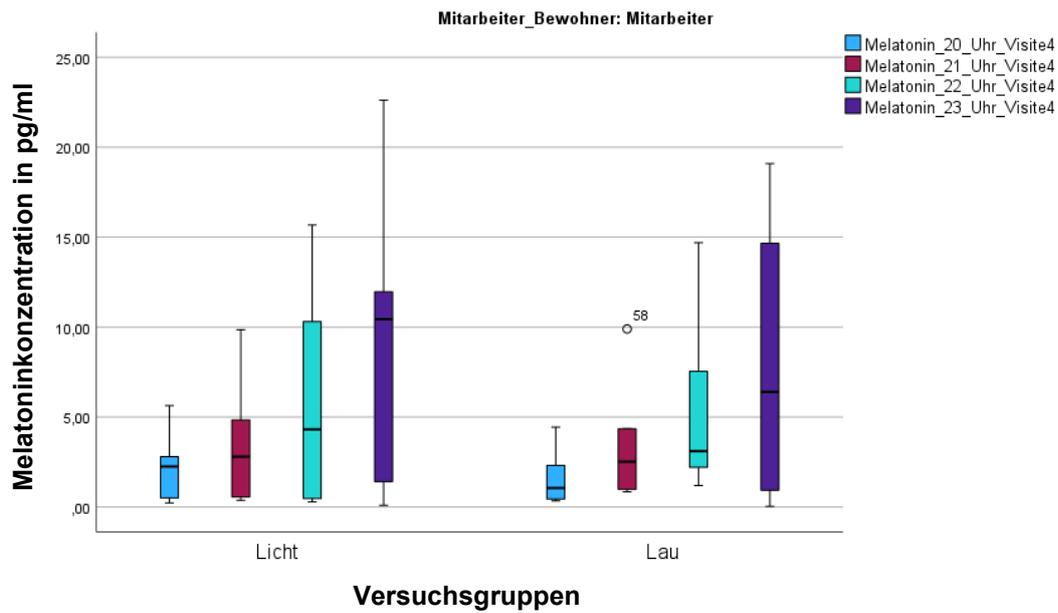


Abbildung 21 Melatonin-Konzentration in pg/ml im Speichel der Mitarbeiter bei Visite 4

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei Bewohnern oder Mitarbeitern bei dem Vergleich der Melatoninwerte bei den Visiten und der Baseline Werte. Die Analyse erfolgte mittels dem Wilcoxon Test für nicht normal verteilte verbundene Stichproben.

Bewohner	Median in pg/ml	Teststatistik (T)	t(df)	p
20 Uhr Baseline	0,65			
20 Uhr Visite 2	0,27	34	t(15) = -1,48	p = 0,14
20 Uhr Visite 3	0,63	97	t(18) = 0,5	p = 0,62
20 Uhr Visite 4	0,74	19	t(8) = 0,14	p = 0,889
Mitarbeiter				
20 Uhr Baseline	1,12			
20 Uhr Visite 2	0,87	30	t(13) = -1,01	p = 0,28
20 Uhr Visite 3	0,70	37	t(12) = -0,157	p = 0,88
20 Uhr Visite 4	0,36	58	t(14) = 0,345	p = 0,73
Bewohner	Median	Teststatistik (T)	t(df)	p
21 Uhr Baseline	0,91			
21 Uhr Visite 2	0,68	28	t(14) = -1,54	p = 0,12
21 Uhr Visite 3	1,57	51	t(13) = 0,384	p = 0,701
21 Uhr Visite 4	0,96	17	t(8) = -0,14	p = 0,889
Mitarbeiter				
21 Uhr Baseline	1,98			
21 Uhr Visite 2	1,82	70	t(19) = -1,00	p = 0,31
21 Uhr Visite 3	1,13	77	t(16) = 0,456	p = 0,64
21 Uhr Visite 4	0,83	87	t(20) = -0,67	p = 0,50

Bewohner	Median	Teststatistik (T)	t(df)	p
22 Uhr Baseline	1,16			
22 Uhr Visite 2	0,63	34	t(12) = -0,34	p = 0,70
22 Uhr Visite 3	0,83	33	t(13) = -0,874	p = 0,38
22 Uhr Visite 4	2,21	6	t(6) = -0,94	p = 0,35
Mitarbeiter				
22 Uhr Baseline	4,90			
22 Uhr Visite 2	3,22	72	t(22) = -1,77	p = 0,077
22 Uhr Visite 3	3,45	93	t(20) = -0,45	p = 0,65
22 Uhr Visite 4	0,90	80	t(23) = -1,76	p = 0,078

Tabelle 26: Vergleich der Entnahmezeitpunkte

Bewohner	Median	Teststatistik (T)	t(df)	p
23 Uhr Baseline	1,71			
23 Uhr Visite 2	0,93	42	t(13) = -0,25	p = 0,81
23 Uhr Visite 3	1,12	27	t(11) = -0,53	p = 0,60
23 Uhr Visite 4	3,00	33	t(11) = 0,00	p = 1,00
Mitarbeiter				
23 Uhr Baseline	6,41			
23 Uhr Visite 2	5,6	112	t(22) = -0,47	p = 0,64
23 Uhr Visite 3	4,67	121	t(20) = 0,6	p = 0,55
23 Uhr Visite 4	2,80	83	t(22) = -1,41	p = 0,16

Fortsetzung Tabelle 26: Vergleich der Entnahmezeitpunkte

Zusammenfassend fand sich kein signifikanter Unterschied in der Melatoninkonzentration der einzelnen Entnahmezeitpunkte.

Es erfolgte eine erneute Analyse mittels repeated measure einfaktorieller Varianzanalyse (rmANOVA).

Die Analyse auf Normalverteilung erfolgte mittels Shapiro-Wilktests. Hier zeigten sich die Werte der meisten Messzeitpunkte normalverteilt bis auf diejenigen zu Beginn der Studie um 20 Uhr, sowie die Werte um 22 Uhr bei der Visite 3 / Entnahme nach 6 Wochen bei den Bewohnern. Bei den Mitarbeitern waren die Werte bei der Entnahme nach 12 Wochen / Visite 4 um 20 Uhr nicht normalverteilt.

Aufgrund der Robustheit wurde der rmANOVA trotzdem verwendet.

Da keine Verletzung der Voraussetzung der Sphärizität vorlag, wurde keine Greenhouse–Geisser Korrektur der Freiheitsgrade vorgenommen.

Bei der ersten Bestimmung der Werte um 20 Uhr für die Bewohner durch eine ANOVA mit Messwiederholung zeigte sich, dass sich die durchschnittlichen Melatoninwerte der verschiedenen Zeitpunkte nicht statistisch signifikant unterschieden, $F(3, 9) = 0,933$, $p = 0,464$, partielles $\eta^2 = 0,237$.

Auch bei den Mitarbeitern konnte kein signifikanter Effekt nachgewiesen werden: $F(3, 12) = 0,218$, $p = 0,882$, partielles $\eta^2 = 0,052$.

Auch ein Test auf einen Effekt der Innersubjekteffekte durch die Einteilung in Licht- und Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Effekt bei den Bewohnern oder Mitarbeitern ($p = 1$ aufgrund niedriger Ergebnisse und teilweise nicht möglichen Analysen, $p = 0,86$ bei den Mitarbeitern).

Bei der Bestimmung der Werte um 21 Uhr zeigen die Bewohner keine Signifikanz: $F(3, 9) = 0,158$, $p = 0,922$, partielles $\eta^2 = 0,05$ ähnlich den Mitarbeitern, $F(3, 30) = 0,693$, $p = 0,563$, partielles $\eta^2 = 0,065$.

Auch ein Test auf einen Effekt der Innersubjekteffekte durch die Einteilung in Licht- Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Effekt bei den Bewohnern oder Mitarbeitern ($p = 1$ ebenfalls aufgrund niedriger Ergebnisse und teilweise nicht möglichen Analysen, $p = 0,419$ bei den Mitarbeitern).

Für die Werte um 22 Uhr lassen sich ähnliche Ergebnisse zeigen $F(3,9) = 3,269$, $p = 0,073$, partielles $\eta^2 = 0,521$ bei den Bewohnern und bei den Mitarbeitern $F(3, 45) = 1,352$, $p = 0,269$, partielles $\eta^2 = 0,083$.

Auch ein Test auf einen Effekt der Innersubjekteffekte durch die Einteilung in Licht- und Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Effekt bei den Bewohnern oder Mitarbeitern ($p = 0,072$ bei den Bewohnern, $p = 0,786$ bei den Mitarbeitern).

Bei der letzten Abnahmezeit um 23 Uhr ergeben sich für die Bewohner Werte von $F(3,15) = 0,473$, $p = 0,706$ partielles $\eta^2 = 0,086$ und für die Mitarbeiter $F(3,42) = 1,093$, $p = 0,363$, partielles $\eta^2 = 0,072$.

Der Test auf einen Effekt der Innersubjekteffekte durch die Einteilung in Licht- und Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Effekt bei den Bewohnern oder Mitarbeitern ($p = 0,946$ bei den Bewohnern, $p = 0,62$ bei den Mitarbeitern)

Auch mittels dieser statistischen Analyse fand sich kein signifikanter Unterschied unter Beachtung der Messwiederholung.

Mittelwerte der Melatoninkonzentration in pg/ml	Bewohner	Mitarbeiter
Melatoninwerte um 20 Uhr nach 12 Wochen	0,83 ± 1,03	2,05 ± 1,79
Melatoninwerte um 21 Uhr nach 12 Wochen	1,5 ± 1,59	2,73 ± 3,19
Melatoninwerte um 22 Uhr nach 12 Wochen	1,65 ± 2,21	4,35 ± 4,54
Melatoninwerte um 23 Uhr nach 12 Wochen	3,9 ± 4,73	7,00 ± 6,83

Tabelle 27: Melatoninmittelwerte in pg/ml ± Standardabweichung

3.2.6 Zusammenhang mit PER3-Genotyp

Von den Proben der Ausgangswerte wurde eine Genotypisierung für die verschiedenen Varianten bei PER3 durchgeführt.

Wie bereits bei der Einleitung ausgeführt ist dieser Polymorphismus Teil der sogenannten CLOCK Genes und es wurde teilweise wie beispielsweise von Turco et al. nachgewiesen, dass PER3 4 /PER3 4 Probanden nach der Applikation von Licht früher Melatonin im Urin produzierten. [35] Ein möglicher Zusammenhang ebenfalls mit der Melatoninproduktion im Speichel wäre denkbar

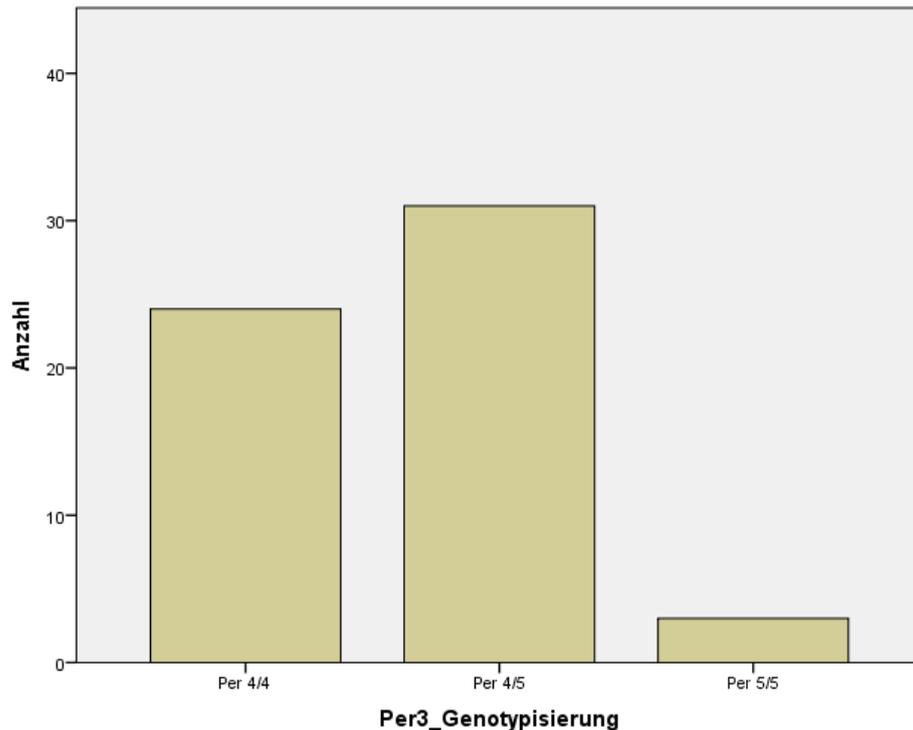


Abbildung 22: Verteilung der PER3 Genotypisierung

Es konnte weder bei Mitarbeitern noch bei den Bewohnern ein signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen bemerkt werden. Die Analyse erfolgte mittels des Man-Whitney-U-Testes.

Der Zusammenhang der verschiedenen PER3 Genotypen und der Melatoninkonzentration im Speichel wurde mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse untersucht. Um nicht durch die wenigen Probanden mit einem PER5/5 Variable number of tandem repeats Polymorphismus die Ergebnisse zu verfälschen, wurde keine differenzierte Auswertung für Mitarbeiter oder Bewohner gemacht.

In der Gruppe der Bewohner fanden sich 14 Personen mit einem PER4/4, 18 Personen mit einem PER4/5 und eine Person mit einem PER5/5 Polymorphismus.

Bei den Mitarbeitern fanden sich 10 Personen mit einem PER4/4, 13 Personen mit einem PER4/5 und zwei Personen mit einem PER5/5 Polymorphismus.

10 Personen verweigerten eine Analyse auf diesen Polymorphismus.

Es ergaben sich dabei folgenden Werte:

Visite 1	F	p
20 Uhr	(2,41) = 2,89	0,067
21 Uhr	(2,39) = 0,286	0,753
22 Uhr	(2,38) = 0,93	0,403
23 Uhr	(2, 37) = 0,154	0,858

Visite 2	F	p
20 Uhr	(2,26) = 0,955	0,398
21 Uhr	(2,30) = 1,001	0,38
22 Uhr	(2,34) = 3,371	0,034
23 Uhr	(2,32) = 1,43	0,254

Visite 3	F	p
20 Uhr	(2,28) = 3,341	0,05
21 Uhr	(2,26) = 6,53	0,005
22 Uhr	(2,32) = 1,167	0,324
23 Uhr	(2,29) = 3,247	0,053

Visite 4	F	p
20 Uhr	(2,19) = 3,381	0,04
21 Uhr	(2,25) = 5,056	0,014
22 Uhr	(2,27) = 5,464	0,01
23 Uhr	(2,28) = 0,007	0,993

Tabelle 28: PER3 Genotypen Analyse mittels einfaktorieller Varianzanalyse

Trotz teilweiser signifikanter Werte wie beispielsweise bei Visite 4 konnte kein statistischer Zusammenhang mit einer direkten Gruppe festgestellt werden.

Signifikanzen der ANOVA-Auswertung	Per 4/4 Zu Per 4/5 Und Per 5/5	Per 4/5 Zu Per 4/4 Und Per 5/5	Per 5/5 Zu Per 4/4 Und Per 4/5
Visite 2: 22 Uhr	p = 0,592 p = 0,995	p = 0,592 p = 0,894	p = 0,995 p = 0,894
Visite 3: 21 Uhr	p = 0,179 p = 0,970	p = 0,179 p = 0,627	p = 0,627 p = 0,970
Visite 4: 20 Uhr	p = 0,509 p = 0,824	p = 0,509 p = 0,981	p = 0,825 p = 0,981
Visite 4: 21 Uhr	p = 0,012 p = 0,979	p = 0,012 p = 0,210	p = 0,979 p = 0,210
Visite 4: 22 Uhr	p = 0,324 p = 0,865	p = 0,324 p = 0,927	p = 0,865 p = 0,927

Tabelle 29: Einzel-Aufschlüsselung der Analyse

Die Analyse erfolgt mittels Tukey-HSD. Es konnte nur bei den Werten um 21 Uhr in der vierten Visite nach 12 Wochen ein Unterschied zwischen Probanden mit einer Per 4/4 Genotypisierung und Probanden mit einer 4/5-Genotypisierung bestätigt werden.

Ebenfalls konnte graphisch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, so dass ein eindeutiger Zusammenhang unbestätigt bleibt.

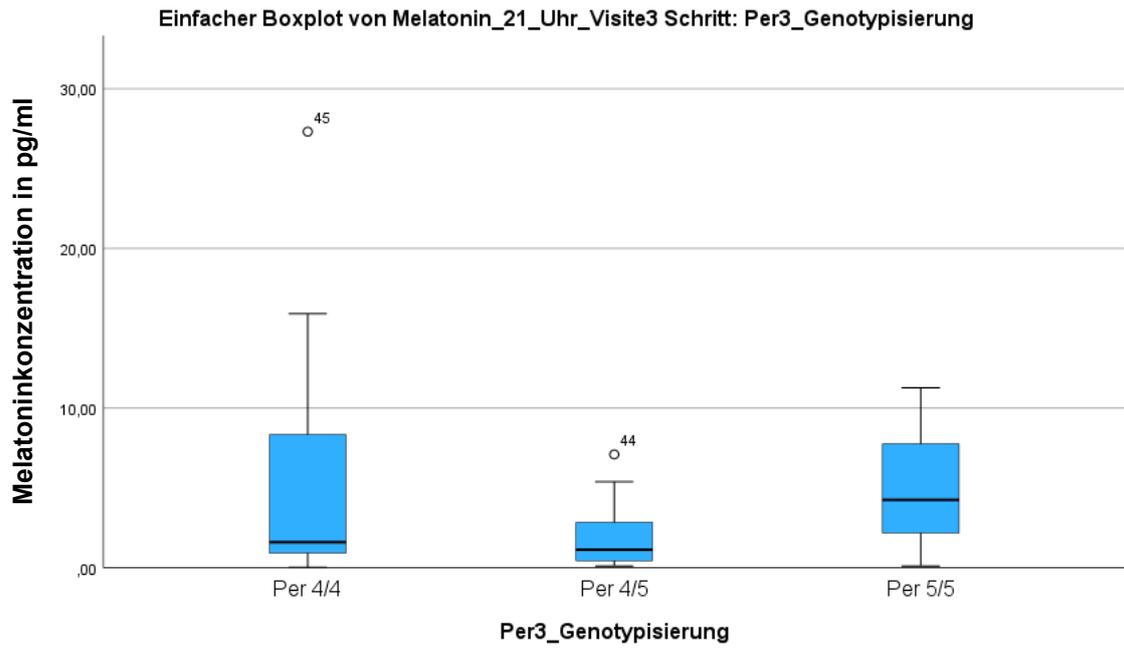


Abbildung 23: Boxplot der Melatoninwerte um 21 Uhr aufgeschlüsselt nach PER3 Genotypisierung

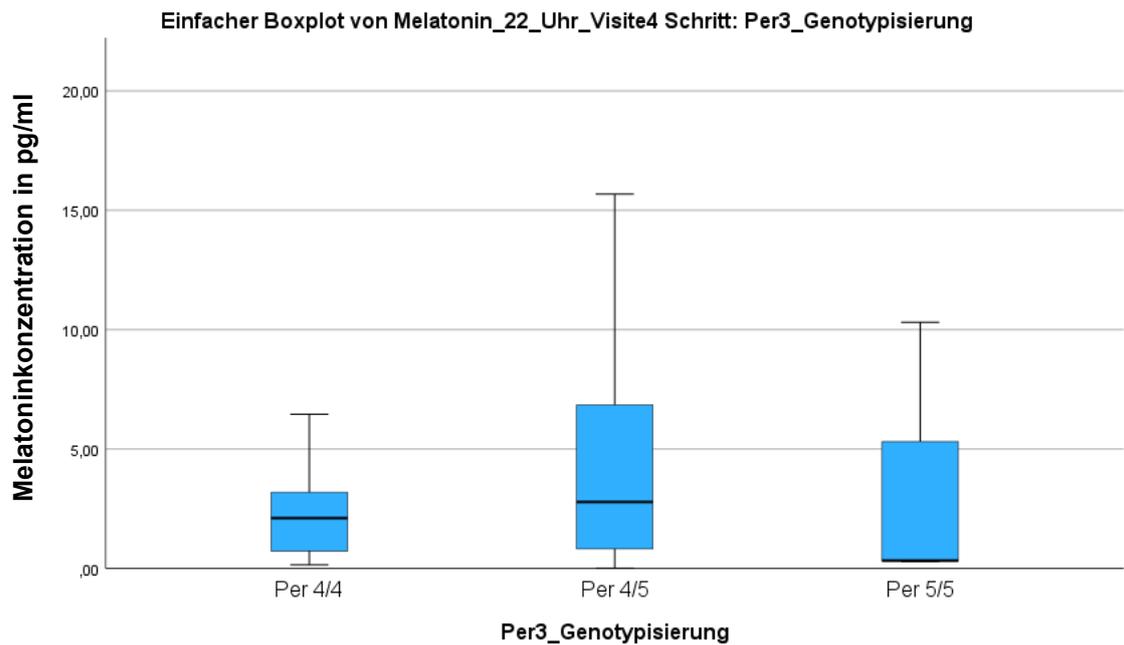


Abbildung 24: Boxplot der Melatoninwerte um 22 Uhr aufgeschlüsselt nach PER3 Genotypisierung

3.2.7 Zusammenhang mit DMEQ

Zu Beginn der Studie (Baseline) konnte keine bedeutsame Korrelation zwischen der Melatoninkonzentration im Speichel und den Ergebnissen im Test festgestellt werden.

Baseline	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = 0,142 p = 0,319	r = -0,164 p = 0,294
21 Uhr	r = 0,23 p = 0,141	r = -0,181 p = 0,223
22 Uhr	r = 0,227 p = 0,17	r = -0,241 p = 0,088
23 Uhr	r = 0,173 p = 0,308	r = -0,268 p = 0,064

Visite 2 (3 Wochen nach Beginn der Studie)	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = -0,094 p = 0,594	r = -0,045 p = 0,803
21 Uhr	r = 0,219 p = 0,229	r = -0,057 p = 0,713
22 Uhr	r = 0,161 p = 0,360	r = -0,113 p = 0,458
23 Uhr	r = 0,220 p = 0,240	r = -0,144 p = 0,332

Visite 3 (6 Wochen nach Beginn der Studie)	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = 0,102 p = 0,536	r = 0,077 p = 0,691
21 Uhr	r = 0,146 p = 0,455	r = -0,093 p = 0,594
22 Uhr	r = 0,018 p = 0,916	r = -0,368 p = 0,025
23 Uhr	r = 0,087 p = 0,654	r = -0,309 p = 0,053

Visite 4 (12 Wochen nach Beginn der Studie)	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = 0,056 p = 0,814	r = 0,254 p = 0,175
21 Uhr	r = 0,114 p = 0,635	r = -0,048 p = 0,755
22 Uhr	r = 0,208 p = 0,385	r = 0,040 p = 0,791
23 Uhr	r = 0,078 p = 0,713	r = 0,133 p = 0,381

Fortsetzung Tabelle 30 Korrelation zwischen Melatoninwerten und DMEQ

Auch ein Zusammenhang mit den Ergebnissen nach der Studie konnte nicht festgestellt werden $r = -0,226$ $p = 0,162$.

Nur bei den Mitarbeitern konnte bei der Melatoninkonzentration im Speichel um 22 Uhr eine signifikante Korrelation zum DMEQ festgestellt werden.

Aufgrund der Tatsache, dass dies für multiples Testen korrigiert werden muss, ergibt sich hier ebenfalls kein signifikantes Ergebnis.

Die Analyse erfolgte mittels Spearman Korrelations-Koeffizienten bei fehlender Normalverteilung.

3.2.8 Zusammenhang mit dem Alter

Es konnte, wie in der Literatur beschrieben [103], bestätigt werden, dass im höheren Alter niedrigere Melatoninwerte erreicht werden.

Die Senioren mit einem durchschnittlichen Lebensalter von 79 Jahren haben im Vergleich zu den Mitarbeitern mit einem durchschnittlichen Lebensalter von 39 Jahren niedrigere Melatoninwerte (siehe Tabelle 21). Die Analyse erfolgte ebenfalls mit dem Spearman Korrelations-Koeffizienten bei fehlender Normalverteilung.

Baseline	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = 0,176 p = 0,370	r = -0,251 p = 0,261
21 Uhr	r = - 0,431 p = 0,04	r = -0,271 p = 0,201
22 Uhr	r = - 0,271 p = 0,248	r = -0,149 p = 0,469
23 Uhr	r = - 0,271 p = 0,230	r = -0,138 p = 0,510

Visite 2 (3 Wochen nach Beginn der Studie)	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = -0,186 p = 0,445	r = -0,017 p = 0,948
21 Uhr	r = -0,395 p = 0,105	r = -0,175 p = 0,436
22 Uhr	r = - 0,109 p = 0,657	r = - 0,020 p = 0,929
23 Uhr	r = - 0,226 p = 0,40	r = - 0,193 p = 0,366

Visite 3 (6 Wochen nach Beginn der Studie)	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = 0,120 p = 0,603	r = - 0,548 p = 0,022
21 Uhr	r = - 0,480 p = 0,060	r = -0,274 p = 0,271
22 Uhr	r = - 0,389 p = 0,090	r = -0,006 p = 0,980
23 Uhr	r = - 0,280 p = 0,313	r = -0,118 p = 0,609

Visite 4 (12 Wochen nach Beginn der Studie)	Bewohner	Mitarbeiter
20 Uhr	r = 0,046 p = 0,894	r = 0,090 p = 0,741
21 Uhr	r = - 0,228 p = 0,477	r = 0,025 p = 0,912
22 Uhr	r = - 0,611 p = 0,035	r = 0,144 p = 0,512
23 Uhr	r = -0,925 p = 0,328	r = 0,005 p = 0,982

Tabelle 31: Korrelation zwischen Melatoninwerten und Alter

Dieser Zusammenhang ist hier als Beispiel der Konzentration um 23 Uhr graphisch dargestellt.

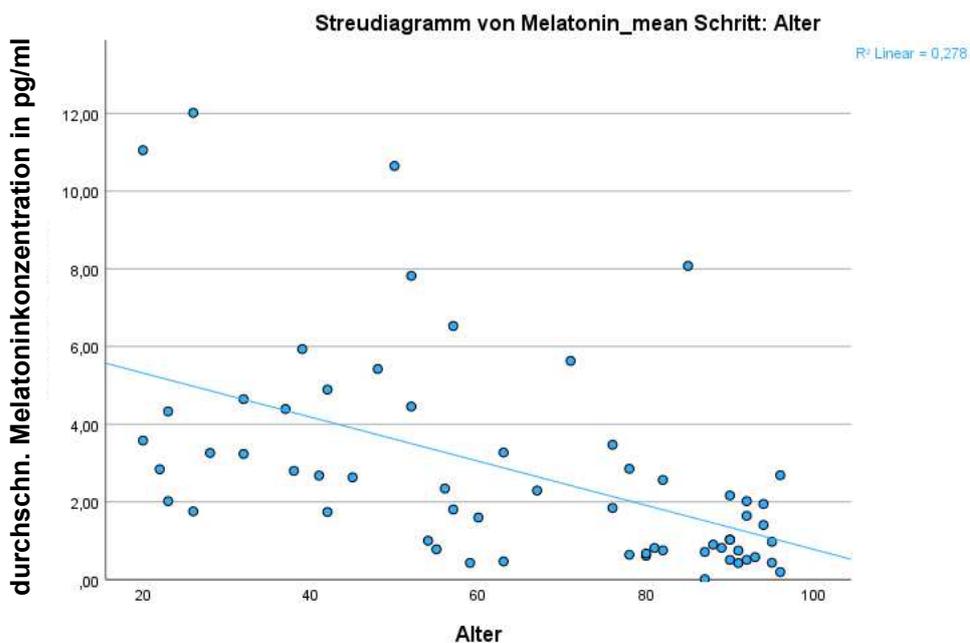
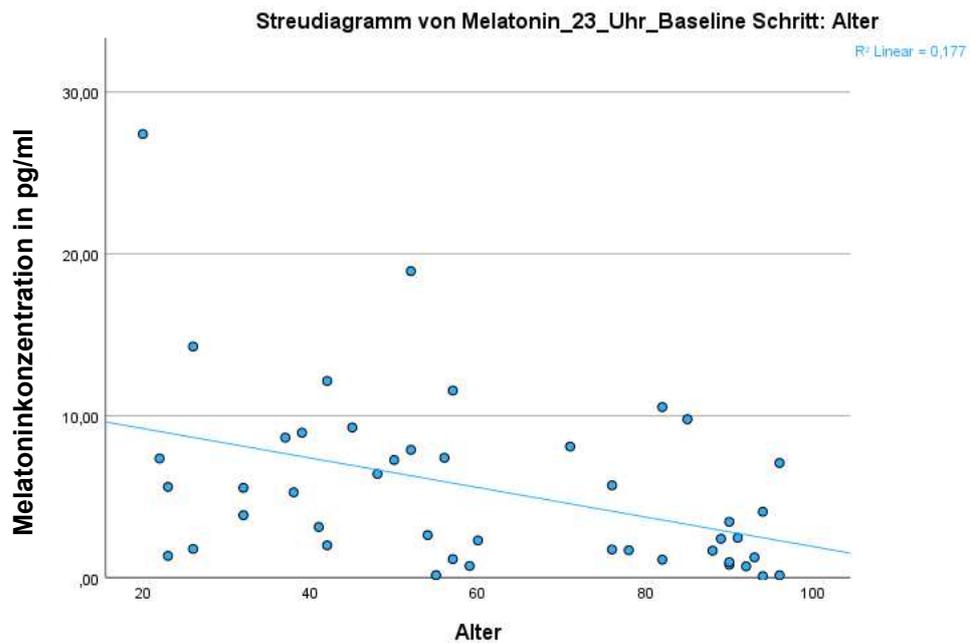


Abbildung 25: Zusammenhang zwischen Melatoninkonzentration und Alter

Das beispielsweise nur bei einzelnen Uhrzeiten wie bei der Visite 4 um 22 Uhr bei den Bewohnern eine signifikante Korrelation erreicht werden kann, ist am wahrscheinlichsten auf die nicht auswertbaren Proben aufgrund von zu geringer Speichelproduktion zurückzuführen.

Die signifikante Korrelation bei den Mitarbeitern bei der Visite 3 um 20 Uhr kann als Bias durch das Sample gewertet werden und kann bei den anderen Entnahmezeitpunkten wie erwartet nicht reproduziert werden bei einer heterogenen Altersverteilung.

3.2.9 Zusammenhang mit dem GDS

Es erfolgt ebenfalls eine Auswertung, ob eine Korrelation zwischen den Werten im GDS sowie den untersuchten Melatoninkonzentrationen im Speichel besteht. Da dieser Fragebogen nur bei den Bewohnern durchgeführt wurde, sind auch nur diese eingeschlossen. Die Analyse erfolgte mittels Spearman Korrelationskoeffizient.

Baseline	Bewohner
20 Uhr	r = -0,122 p = 0,774
21 Uhr	r = -0,024 p = 0,954
22 Uhr	r = -0,488 p = 0,220
23 Uhr	r = -0,489 p = 0,220

Visite 2	Bewohner
20 Uhr	r = 0,203 p = 0,700
21 Uhr	r = -0,232 p = 0,658
22 Uhr	r = -0,609 p = 0,200
23 Uhr	r = -0,406 p = 0,425

Visite 3	Bewohner
20 Uhr	r = 0,167 p = 0,693
21 Uhr	r = -0,071 p = 0,867
22 Uhr	r = -0,333 p = 0,420
23 Uhr	r = -0,690 p = 0,058

Visite 4	Bewohner
20 Uhr	r = -0,718 p = 0,172
21 Uhr	r = -0,410 p = 0,493
22 Uhr	r = -0,667 p = 0,219
23 Uhr	r = -0,359 p = 0,553

Tabelle 32 Zusammenhang zwischen GDS und Melatoninkonzentration

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.

3.3 Cortisol

In diesem Abschnitt werden die Interventions- oder Lichtgruppe mit der Kontrollgruppe verglichen.

Zu Beginn der Messungen zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei den Bewohnern im Man-Whitney-U-Test $U = 50,00$, $Z = 0,889$, $p = 0,408$. Nach der Intervention konnte in den über die 12 Wochen gewachsenen Haarabschnitt ebenfalls kein signifikanter Unterschied im Man-Whitney-U-Test zwischen den Gruppen festgestellt werden $U = 59,00$, $z = 1,688$, $p = 0,101$. Bei den Mitarbeitern konnte in der Analyse auch kein Unterschied im Man-Whitney-U-Test gefunden werden: $U = 33,00$, $z = 0,480$, $p = 0,529$. Ebenso waren die Mittelwerte nach der Intervention bei den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich im Man-Whitney-U-Test $U = 19,00$, $z = -0,943$, $p = 0,388$.

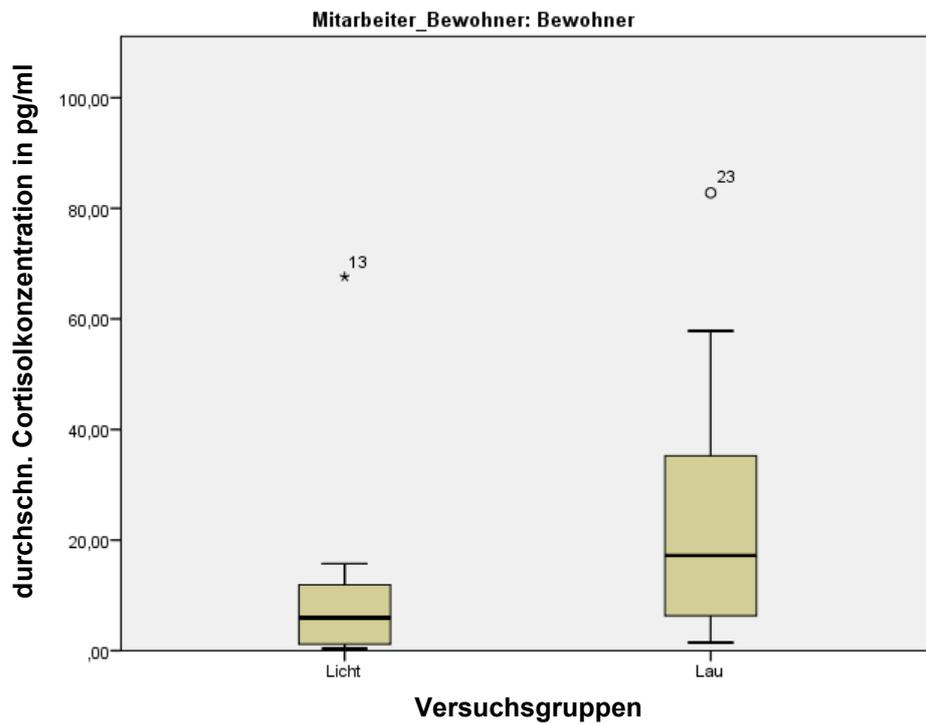


Abbildung 26: Vergleich von Cortisol in pg/ml zwischen den Gruppen der Bewohner zu Beginn der Studie

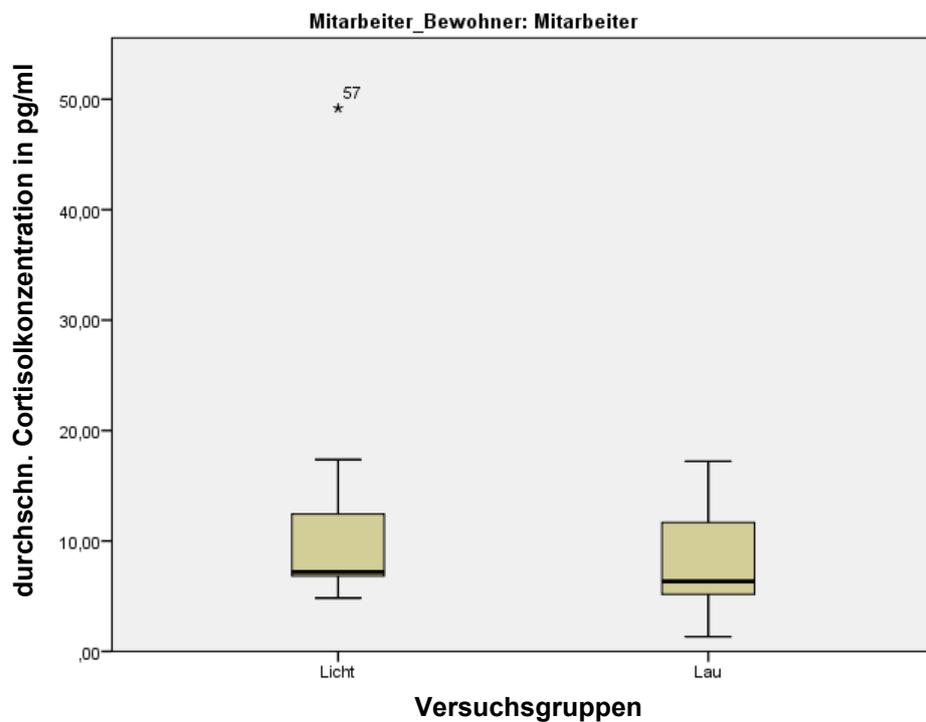


Abbildung 27: Vergleich von Cortisol in pg/ml zwischen den Gruppen der Mitarbeiter zu Beginn der Studie

Auch in der Analyse der Mittelwerte der Ausgangswerte im Vergleich zu den Mittelwerten der Cortisolkonzentration nach der Intervention zeigte sich kein signifikanter Unterschied. (Bewohner: $T = 86$, $z = 0,022$, $p = 0,983$. Mitarbeiter: $T = 90$, $Z = 1,70$, $p = 0,088$.)

Die Auswertung erfolgte mittels des Wilcoxon Tests für nicht normalverteilte verbundene Stichproben.

Um eine zu starke Schiefe auszugleichen erfolgte anschließend eine Logarithmisierung der Werte, durch welche eine Normalverteilung der Werte erreicht werden konnte. Dieses Verfahren wurde bereits in mehreren Publikationen, die mit der Cortisolkonzentration im Haar arbeiten, verwendet. [104] Anschließend präsentieren sich die Daten wie folgt.

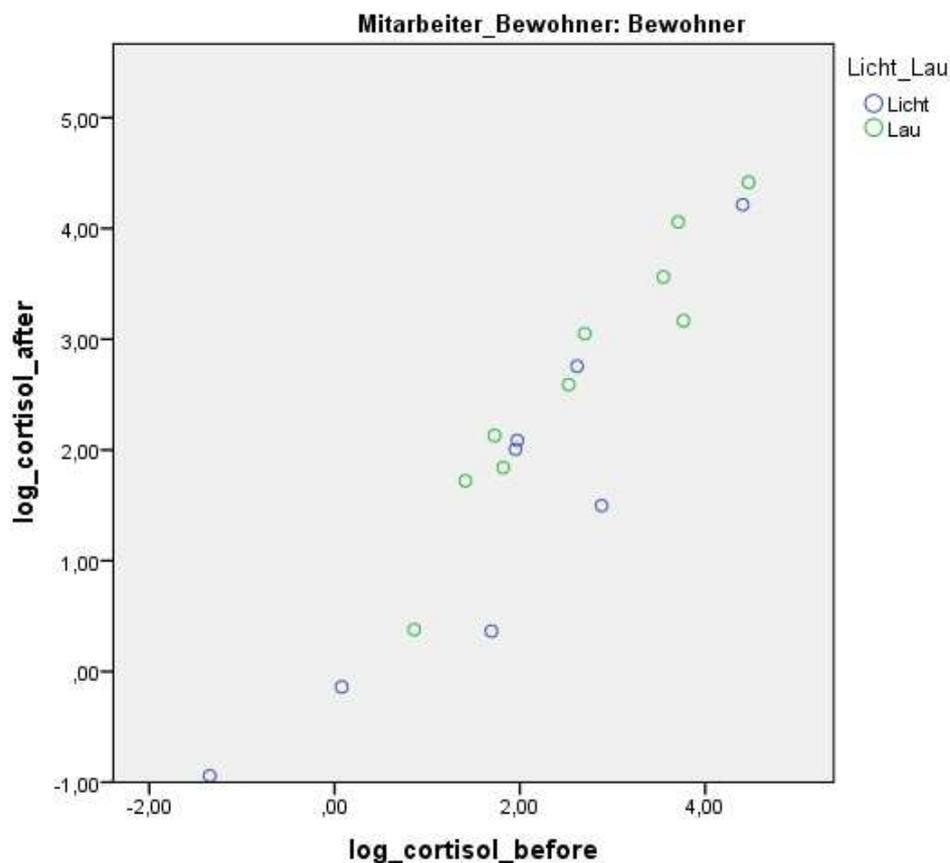


Abbildung 28: Cortisolkonzentration vor der Intervention („log_cortisol_before“) und 12 Wochen nach Beginn der Intervention („log_cortisol_after“) nach Logarithmisierung bei den Bewohnern

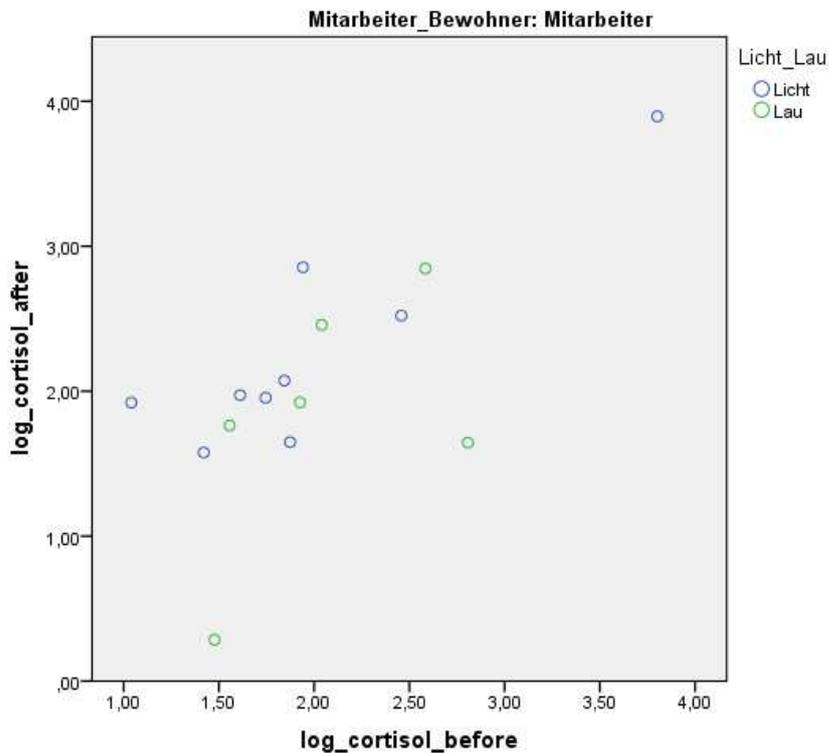


Abbildung 29: Cortisolkonzentration vor der Intervention („log_cortisol_before“) und 12 Wochen nach Beginn der Intervention („log_cortisol_after“) nach Logarithmisierung bei den Mitarbeitern

In den durch die Normalverteilung jetzt möglichen t-Tests konnten keine signifikanten Unterschiede entdeckt werden zwischen der Cortisolkonzentration vor der Intervention bei der mit dem Licht ausgestatteten Gruppe (M = 1,78, SE = 1,75) und der Kontrollgruppe (M = 2,65, SE = 1.19) der Bewohner. Die Differenz betrug -0,87 bei $t(12,46) = -1,72$ und $p = 0,23$. Auch die Werte zwischen den Gruppen nach der Intervention bestätigten dies (Licht: M = 1,48, SE = 1,69, Kontrollgruppe: M = 2,69, SE = 1,22 mit einer Differenz von -1,21 bei $t(11,86) = -1,20$ und einem $p = 0,11$), obwohl die Lichtgruppe im Mittelwert weniger Cortisol produzierte. Beim Vergleich der Mitarbeiter zwischen Lichtgruppe (M = 1,97, SE = 0,79) und der Kontrollgruppe (M = 2,07, SE = 0,54) konnte vor der Intervention kein signifikanter Unterschied gefunden werden bei einer Differenz von -0,09 bei $t(12,96) = -0,28$, $p = 0,787$. Nach der Exposition produzierte die Lichtgruppe mehr Cortisol (M = 2,2, SE = 0,73) als die Kontrollgruppe (M = 1,82, SE = 0,88), jedoch war die Differenz mit 0,45 bei

$t(9,41) = 1,04$ und $p = 0,326$ ebenfalls nicht signifikant. Im Vergleich der Mittelwerte vor zu nach der Exposition blieb die Analyse ebenfalls ohne signifikante Unterschiede im t-test für verbundene Stichproben: Bewohner $t(17) = 0,89$, $p = 0,384$; Mitarbeiter: $t(14) = -0,53$, $p = 0,605$.

3.4 BDNF als molekulare Biomarker im Serum

3.4.1 Baseline und Vergleich der Mittelwerte zwischen der Interventions- und der Kontrollgruppe

Aus den zu Anfang gewonnenen Proben wurde eine Genotypisierung für den Single nucleotid Polymorphismus rs 6265 durchgeführt mit folgendem Ergebnis:

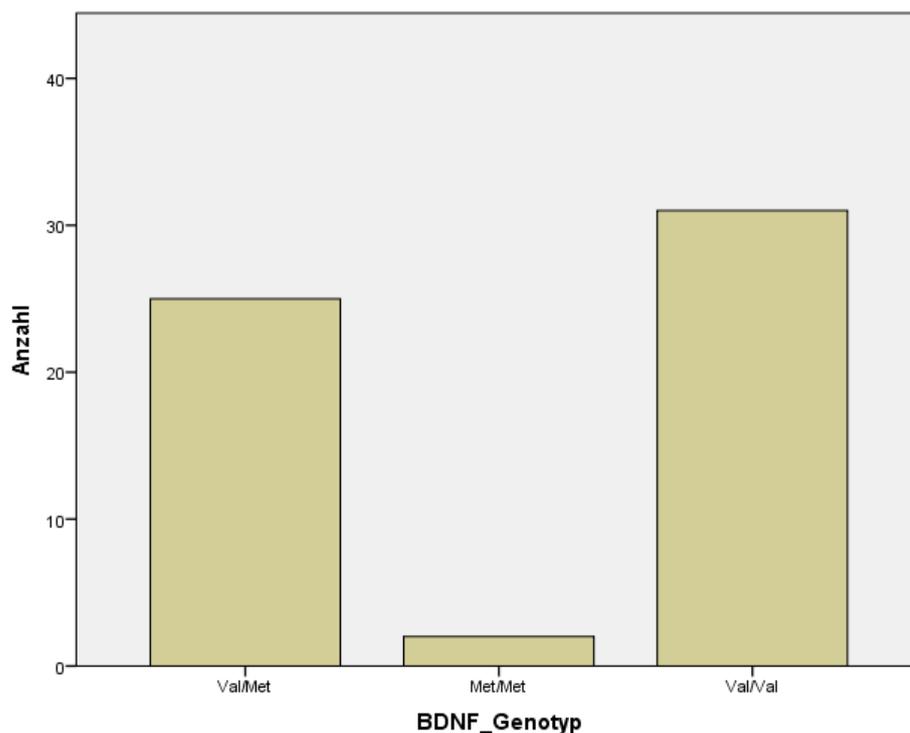


Abbildung 30: Verteilung der Genotypisierung bei BDNF

Bei den Bewohnern fanden sich insgesamt 18 Personen mit Val/Met Polymorphismus und 15 Personen mit Val/Val Polymorphismus.

Bei den Mitarbeitern fanden sich insgesamt 7 Personen mit Val/Met Polymorphismus und 2 Personen mit Met/Met Polymorphismus. 16 Personen

waren homozygot für einen Val/Val Polymorphismus, drei Personen verweigerten die Analyse

Sieben Personen wollten keine Analyse, ein Met/Met Polymorphismus fand sich nicht.

Bei der Analyse der Serumwerte für den molekularen Biomarker BDNF im Blut zeigte sich weder bei den Bewohnern (Mittelwerte 20,32 ng/ml bei der Lichtgruppe, SE = 11,06 bzw. 24,43 ng/ml, SE = 19,21 bei der Kontrollgruppe) noch bei den Mitarbeitern (Mittelwerte 31,61 ng/ml, SE = 16,48 bei der Lichtgruppe und 33,77 ng/ml, SE = 14,27 bei der Kontrollgruppe) ein signifikanter Unterschied beim t-Test für unabhängige Stichproben: $T(21,46) = -0,733$, $p = 0,471$ bei den Probanden mit einer mittleren Differenz von -4,11 und $T(21,29) = -0,349$, $p = 0,731$.



Abbildung 31: Vergleich von BDNF in ng/ml der Lichtgruppe zur Laugruppe bei den Bewohnern

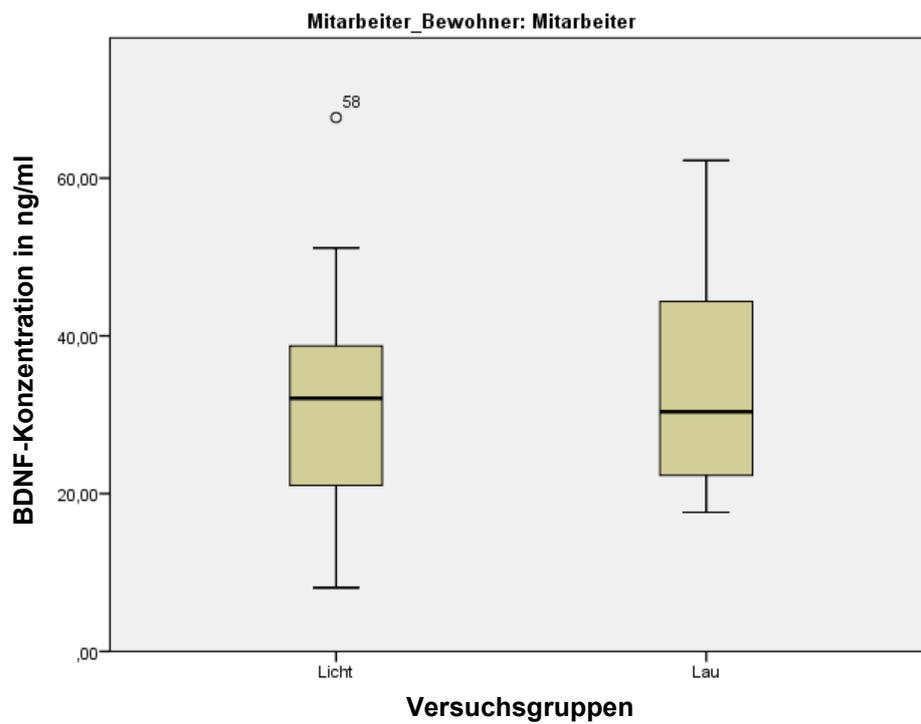


Abbildung 32: Vergleich von BDNF in ng/ml der Lichtgruppe zur Kontrollgruppe bei den Mitarbeitern

In den Werten der Baseline-Blutentnahmen zeigte sich kein signifikanter Effekt der Auswahl des Genotyps in Bezug auf die BDNF-Konzentration im Serum bei den Bewohnern $F(1,25) = 1,003$, $p = 0,326$, partielles $n^2 = 0,039$, $N = 27$. Allerdings waren in der Gruppe der Bewohner auch keine Probanden mit dem Met/Met-Polymorphismus vorhanden, der oft mit der stärksten Veränderung assoziiert wird. [46] Bei den Mitarbeitern konnte trotz vorhanden Probanden mit dieser Art des Single nucleotid Polymorphismus ebenfalls kein signifikanter Effekt auf die Serumlevel des molekularen Biomarkers nachgewiesen werden. $F(2,19) = 1,23$, $p = 0,316$, $n^2 = 0,11$, $N = 22$. Die Auswertung erfolgte mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse. Post hoc Tests mit der Bonferroni-Korrektur zeigte ebenfalls keine signifikante Gruppenbildung ($p = 0,61$ und $p = 0,65$).

3.4.2 Untersuchungen zwischen den dynamischen Gruppen und der Kontrollgruppe zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten

Beim Vergleich der Gruppen zueinander erbrachte die statistische Analyse folgende Werte:

	Licht	Kontrollgruppe	Statistik
Baseline	M = 20,32 SE = 11,06	M = 24,43 SE = 19,21	T = -0,73 p = 0,47
Visite 2	M = 27,45 SE = 11,54	M = 34,42 SE = 17,90	T = -1,2317 p = 0,23
Visite 3	M = 36,32 SE = 19,62	M = 36,54 SE = 16,85	T = -0,03 p = 0,97
Visite 4	M = 40,52 SE = 19,28	M = 37,76 SE = 16,85	T = 0,40 p = 0,69

Tabelle 33: Vergleich zwischen Lichtgruppe und Kontrollgruppe bei den Bewohnern. Mittelwerte und Standardabweichung sind jeweils in ng/ml angegeben. Die Analyse erfolgte mittels t-test für unabhängige Stichproben

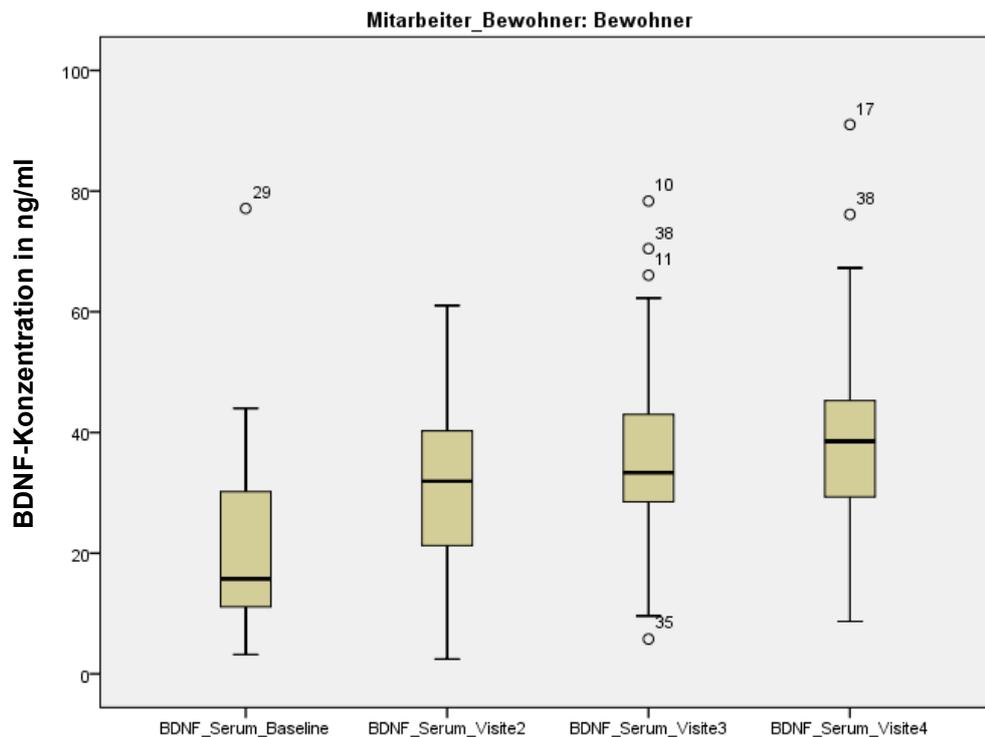


Abbildung 33: Verlauf der BDNF-Konzentration der Bewohner über die 12 Wochen (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

Bei den Mitarbeitern konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen beobachtet werden.

Mitarbeiter	Licht	Kontrollgruppe	Statistik
Baseline	M = 31,61 SE = 16,48	M = 33,77 SE = 14,27	T = -0,35 p = 0,73
Visite 2	M = 34,35 SE = 21,97	M = 21,78 SE = 10,35	T = -1,95 p = 0,07
Visite 3	M = 30,86 SE = 12,05	M = 29,96 SE = 11,62	T = 0,18 p = 0,86
Visite 4	M = 35,30 SE = 14,30	M = 36,63 SE = 21,47	T = -0,16 p = 0,88

Tabelle 34: Vergleich zwischen Licht- und Kontrollgruppe bei den Mitarbeitern. Alle Konzentrationen sind in ng/ml angegeben. Verwendet wurde jeweils der t-test für unabhängige Stichproben

Beobachtet man jedoch den Verlauf der Mittelwerte zeigt sich bei den Mitarbeitern kein deutlicher Anstieg der Konzentration im Vergleich zu den Bewohnern.

3.4.3 Untersuchungen zu möglichen Effekten bei Untersuchungen bei paarigen Werten

Bei den Bewohnern zeigte sich eine Steigerung der Serumkonzentrationen im Verlauf unabhängig von der Verteilung in Licht- oder Kontrollgruppe. Während bei der Baseline durchschnittlich 22,01 ng/ml gemessen wurden, erfolgte bei der zweiten Visite nach drei Wochen ein Anstieg auf 30,37 ng/ml. Beim Vergleich der beiden Werte mittels des t-test für gepaarte Stichproben zeigte sich ein signifikanter Unterschied von $T(30) = -2,45$, $p = 0,02$. Ebenso zeigten sich signifikante Unterschiede zu den Visiten 3 mit einer signifikanten Differenz von 14,41 bei einem p-Wert von 0,001 und zu Visite 4 bei einer Differenz von 17,18 und einem p-Wert von 0,000. Insgesamt zeigt sich so ein deutlicher Anstieg der BDNF-Konzentration im Serum über die 12 Wochen, siehe Abbildung 34 und 32.

Im Gegensatz dazu konnte bei den Mitarbeitern keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten nachgewiesen werden. Trotz Differenzen von 1,44 zu Visite 2 bzw. 1,88 zu Visite 3 und 3,63 zu Visite 4 waren die Mittelwerte nicht signifikant unterschiedlich (siehe Tabelle 35).

Bewohner	Mittelwert	SE	t(df)	p
Baseline	22,01	15,60		
Visite 2	30,37	14,69	t(30) = -2,45	p = 0,02
Visite 3	36,41	18,54	t(30) = -3,64	p = 0,001
Visite 4	39,53	18,19	t(26) = -9,02	p = 0,000
Mitarbeiter				
Baseline	31,21	15,36		
Visite 2	29,77	19,55	t(22) = 0,26	p = 0,80
Visite 3	32,52	11,64	t(23) = 0,541	p = 0,59
Visite 4	35,78	16,76	t(21) = 0,74	p = 0,47

Tabelle 35: Statistische Analysen für die Ergebnisse wurden mittels t-test für gepaarte Stichproben ermittelt. Alle Mittelwerte und Standardabweichungen sind in ng/mL angegeben

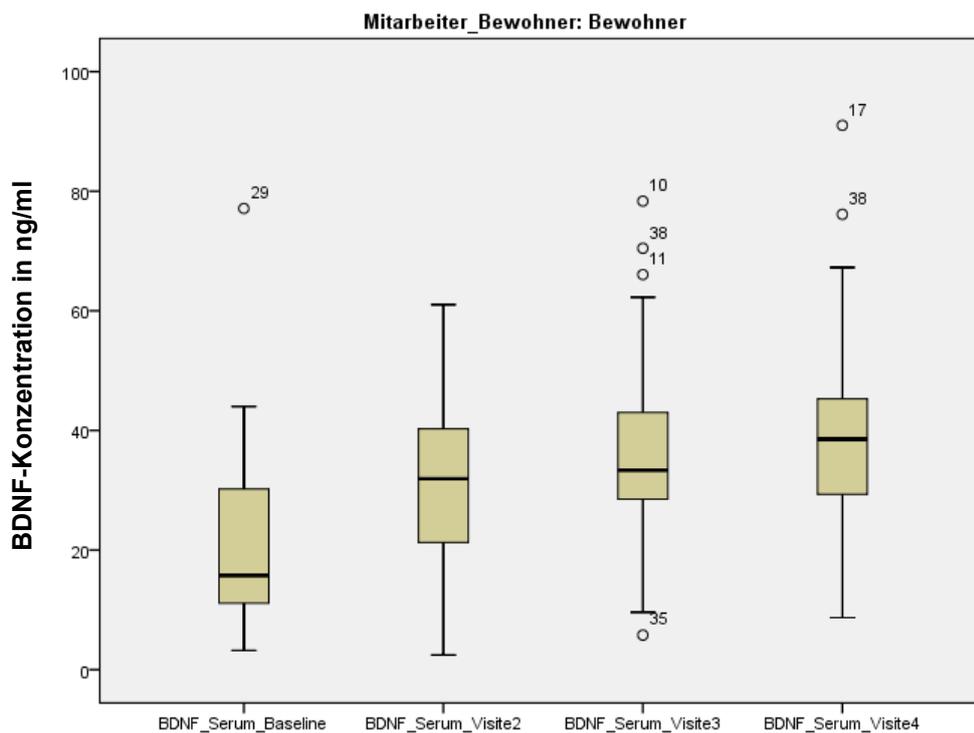


Abbildung 34: Verlauf der BDNF-Konzentration der Bewohner über die 12 Wochen (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

3.4.4 Zusammenhang mit dem Genotyp

Der Zusammenhang mit dem Genotyp wurde mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse untersucht. Bei den Bewohnern konnte in Visite 2 kein signifikanter Effekt nachgewiesen werden. $F(1,29) = 0,04$, $p = 0,836$. Ebenso für Visite 3 $F(1,29) = 0,01$, $p = 0,913$ und Visite 4 mit $F(1,25) = 1,00$, $p = 0,33$. Allerdings konnten bei den Bewohnern auch keine Probanden mit der Met/Met-Variante eingeschlossen werden. Bei den Mitarbeitern konnte in Visite 2 ebenfalls kein signifikanter Effekt aufgezeigt werden $F(2,20) = 0,33$, $p = 0,80$. Bei Visite 3 $F(2,21) = 1,02$, $p = 0,38$ und Visite 4 $F(1,19) = 1,23$, $p = 0,32$ zeigte sich auch danach kein signifikanter Effekt.

3.5 Methylierung

Im folgenden Abschnitt soll die Unterschiede in der Methylierung zwischen der Interventions- und Kontrollgruppe getrennt nach Bewohnern und Mitarbeitern herausgearbeitet werden. Zusätzlich werden getrennt nach Bewohnern und Mitarbeitern ein möglicher Unterschied zwischen den Ausgangswerten und den Werten im Zeitverlauf untersucht.

Es werden zuerst die Korrelation der einzelnen CpG-Sites untereinander verglichen, anschließend wird sowohl die durchschnittliche als auch die einzelnen CpG-Sites zwischen der Licht- und der Kontrollgruppe wie auch zwischen den einzelnen Entnahmezeitpunkten verglichen.

3.5.1 Korrelation der einzelnen CpG-Sites

Es wurden insgesamt 5 CpG-Sites hintereinander untersucht, deren Korrelation miteinander nun dargestellt werden soll.

Bei fehlender Normalverteilung erfolgte die Analyse mittels Spearmans Korrelationskoeffizient.

Baseline	CpG-Site 1	CpG-Site 2	CpG-Site 3	CpG-Site 4	CpG-Site 5
CpG-Site 1		r = 0,804 p = <0,001	r = 0,366 p = 0,005	r = 0,380 p = 0,003	r = 0,239 p = 0,070
CpG-Site 2	r = 0,804 p = <0,001		r = 0,394 p = 0,002	r = 0,283 p = 0,031	r = 0,143 p = 0,284
CpG-Site 3	r = 0,366 p = 0,005	r = 0,394 p = 0,002		r = 0,906 p = < 0,001	r = 0,668 p = < 0,001
CpG-Site 4	r = 0,380 p = 0,003	r = 0,283 p = 0,031	r = 0,0906 p = < 0,001		r = 0,782 p = < 0,001
CpG-Site 5	r = 0,239 p = 0,070	r = 0,143 p = 0,284	r = 0,668 p = < 0,001	r = 0,782 p = < 0,001	

Tabelle 36: Korrelation der einzelnen CpG-Sites

Die Werte der ersten untersuchten CpG-Site korrelierten stark mit der zweiten untersuchten Site und es fand sich eine mittlere Korrelation für die CpG-Sites 3 und 4. Nur die CpG-Site 5 korrelierte zwar stark mit CpG Site 3 und 4, jedoch nicht mit 1 und 2.

Zur besseren Darstellung wurden die signifikanten Korrelationen in Tabelle 36 grau hinterlegt.

3.5.2 Mittlere Methylierung

Insgesamt wurden fünf CpG-Sites in der Promotorregion des BDNF-Genes untersucht.

Es werden jeweils die Zeitpunkte der Blutentnahme, zwischen der Licht- und der Kontrollgruppe mittels Man-Whitney-U-Test bei fehlender Normalverteilung verglichen. Weiter wird mittels Wilcoxon-Testes für verbundene Stichproben bei fehlender Normalverteilung verglichen, ob ein direkter Unterschied zwischen den Visiten vorliegt. Wie in Tabelle 37 zu sehen, ist dies der Fall.

Mittlere Methylierung in % über alle CPG-Sites	Baseline	Visite 2	Visite 3	Visite 4
Bewohner	10,52 ± 2,11	9,20 ± 1,00	8,556 ± 1,05	12,21 ± 2,07
Mitarbeiter	10,39 ± 2,09	9,14 ± 1,06	8,86 ± 1,50	12,03 ± 0,98

Tabelle 37: Mittlere Methylierung im Durchschnitt über alle fünf CPG-Sites in % ± Standardabweichung

Weder bei den Bewohnern noch bei den Mitarbeitern zeigten sich in der Baseline signifikante Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe, sodass eine adäquate Ausgangslage für diese Studie vorliegt.

	Bewohner Licht/Lau	Mitarbeiter Licht/Lau
CPG-Site 1	p = 0,391	p = 0,796
CPG-Site 2	p = 0,758	p = 0,437
CPG-Site 3	p = 0,758	p = 0,154
CPG-Site 4	p = 0,811	p = 0,212
CPG-Site 5	p = 0,732	p = 0,437
Durchschnittliche Methylierung	p = 0,706	p = 0,138

Tabelle 38: p-Werte beim Vergleich zwischen Licht und Lau in der Baseline. Die Analyse erfolgte mittels Man-Whitney-U-Test

Bei der durchschnittlichen Methylierung der Bewohner konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Beleuchtungsgruppen festgestellt werden, wie in Tabelle 38 dargestellt.

Bewohner:

Bei Visite 2 konnten im Man-Whitney-U-Test folgende Ergebnisse beobachtet werden: U = 97,00, z = - 0,801 p = 0,441. Somit konnten auch bei Visite 3 U = 103,00 z = -0,650 p = 0,594 und Visite 4 U = 106,00 z = 0,392 p = 0,717 die

Ergebnisse, die schon bei der Baseline erzielt wurden, $U = 131,5$, $z = -0,382$ $p = 0,706$ bestätigt werden.

Zusammenfassend konnte kein signifikanter Unterschied in der Methylierung zwischen Licht- und Kontrollgruppe festgestellt werden.

Wie in Abbildung 35 erkennbar, zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Visiten, wie zum Beispiel bei Visite 2 mit $T = 109$ $z = -2,724$ $p = 0,006$ zwischen Beleuchtungs- und Kontrollgruppe. Bei Visite 3 konnten ähnliche Ergebnisse beobachtet werden: $T = 30$ $z = -4,272$ $p = < 0,001$

Somit konnte im Vergleich der verbundenen Stichproben ein signifikanter Unterschied in der Methylierung beobachtet werden. Die Methylierung sinkt durchschnittlich in Visite 2 und 3, um dann in Visite 4 unabhängig von der verwendeten Beleuchtung anzusteigen wie erneut in Abbildung 35 graphisch dargestellt wird.

Trotz eines durchschnittlichen Anstiegs der Mittelwerte zu Visite 4 konnten auch bei dieser Visite im Vergleich zum ersten Entnahmezeitpunkt ein signifikanter Unterschied beobachtet werden: $T = 274$ $z = 2,042$ $p = 0,041$. Erneut konnte hier eine signifikante Änderung über den beobachteten Zeitraum beobachtet werden. Die Aufschlüsselung nach den einzelnen Sites erfolgt in den nächsten Abschnitten.

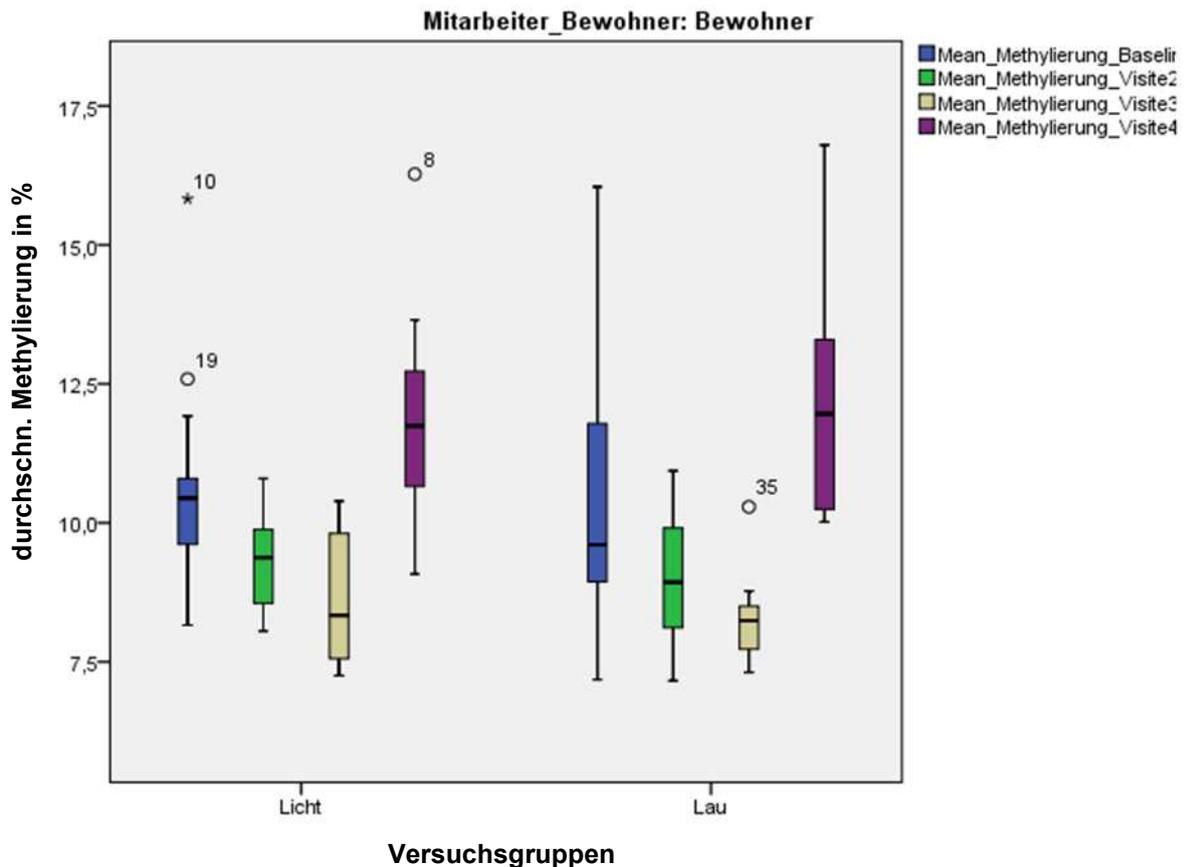


Abbildung 35: Durchschnittliche Methylierung in % bei den Probanden über die verschiedenen Zeitpunkte der Visite (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

Mitarbeiter:

Auch bei den Mitarbeitern konnten weder zur Baseline $T = 96,00$ $z = 1,522$ $p = 0,138$ noch bei den folgenden Visiten ein signifikanter Unterschied zwischen Fall- und Kontrollgruppe festgestellt werden. Visite 2 $U = 49,5$ $z = -0,678$ $p = 0,506$. Visite 3 $U = 59,00$ $z = -0,252$ $p = 0,829$ und Visite 4 $U = 70,00$ $z = 1,304$ $p = 0,210$ bestätigten diese Beobachtungen ebenfalls.

Wie bereits bei den Bewohnern konnten jedoch signifikante Unterschiede über den untersuchten im Zeitraum beim Vergleich der Ergebnisse der Entnahmezeitpunkte zueinander nachgewiesen werden. Bei Visite 2 lautet das Ergebnis im Wilcoxon-Vorzeichentest $T = 57$ $z = -2,256$ $p = 0,024$. Bei Visite 3 wurde $T = 62$ $z = -2,312$ $p = 0,021$ beobachtet. Visite 4 erhielt Ergebnisse mit

T = 176 z = 2,103 p = 0,035, die ebenfalls signifikant waren. Damit steigt also die Serumkonzentration und die Methylierung über die Visiten an. Erneut konnte kein Unterschied beim Anstieg zwischen der Verteilung der Gruppen dargestellt werden, wie beispielsweise in Abbildung 36 gezeigt.

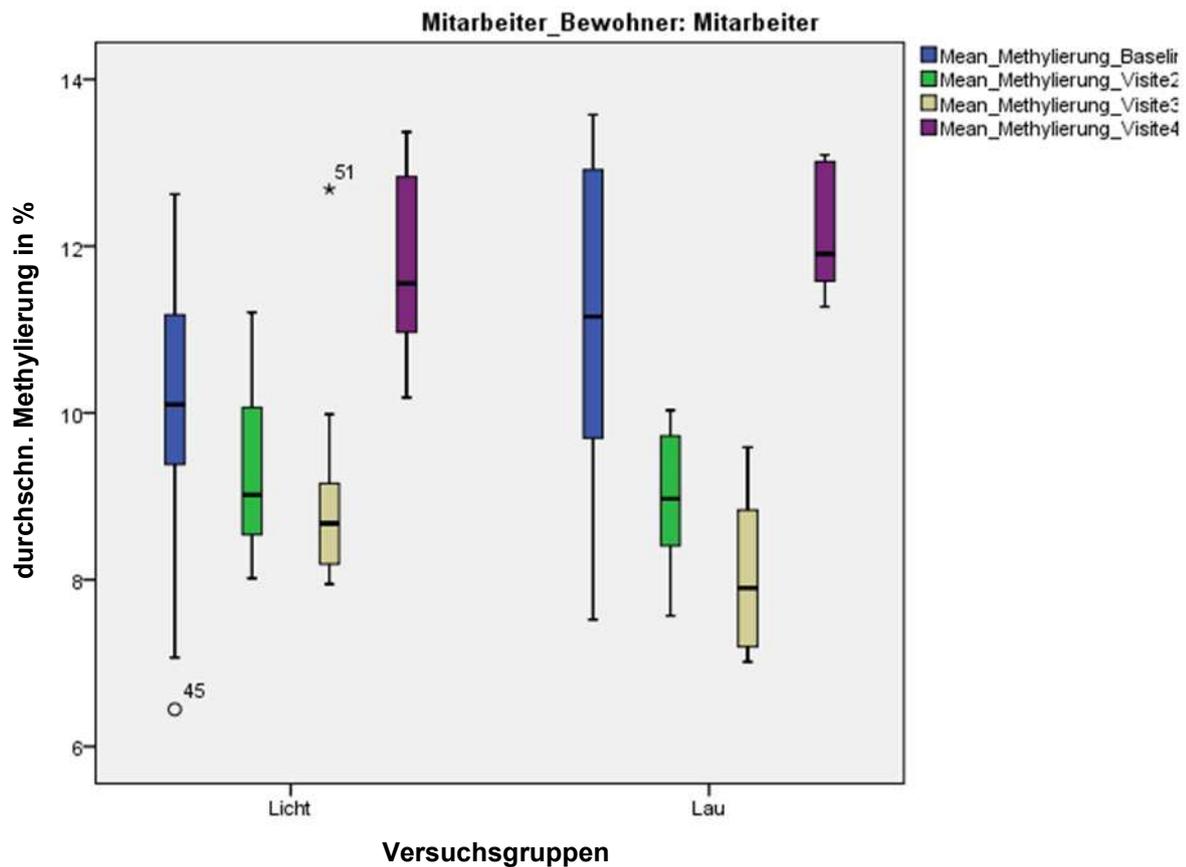


Abbildung 36: Vergleich der durchschnittlichen Methylierung in % zwischen der Lichtgruppe und der Kontrollgruppe über die verschiedenen Zeitpunkte der Visite (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

3.5.3 CpG Site 1

Im folgenden Abschnitt sollen die Unterschiede in der Methylierung zwischen der Interventions- und Kontrollgruppe getrennt nach Bewohnern und Mitarbeitern herausgearbeitet werden.

Bewohner:

Die durchschnittliche Methylierung betrug bei der Baseline bei den Bewohnern 8,50%. Im Verlauf änderte sich das zu Visite 2 im Durchschnitt zu 8,45% bzw. zu 7,90% bei Visite 3 und 9,74% bei Visite 4. In der Analyse mit dem Wilcoxon Vorzeichentest zeigte sich zu Visite 2 kein signifikanter Unterschied $T = 253,5$ $z = 0,108$ $p = 0,914$. Ebenso konnte keine signifikante Differenzierung zu Visite 3 beobachtet werden. $T = 168,5$ $z = -1,558$ $p = 0,119$. Allerdings zeigte sich eine signifikante Steigerung zu Visite 4 bei einem Median von 9,16% bei $T = 286,5$ $z = -2,343$ $p = 0,019$ bei den Bewohnern unabhängig von der Aufteilung zwischen dynamischer Beleuchtung und Kontrollgruppe.

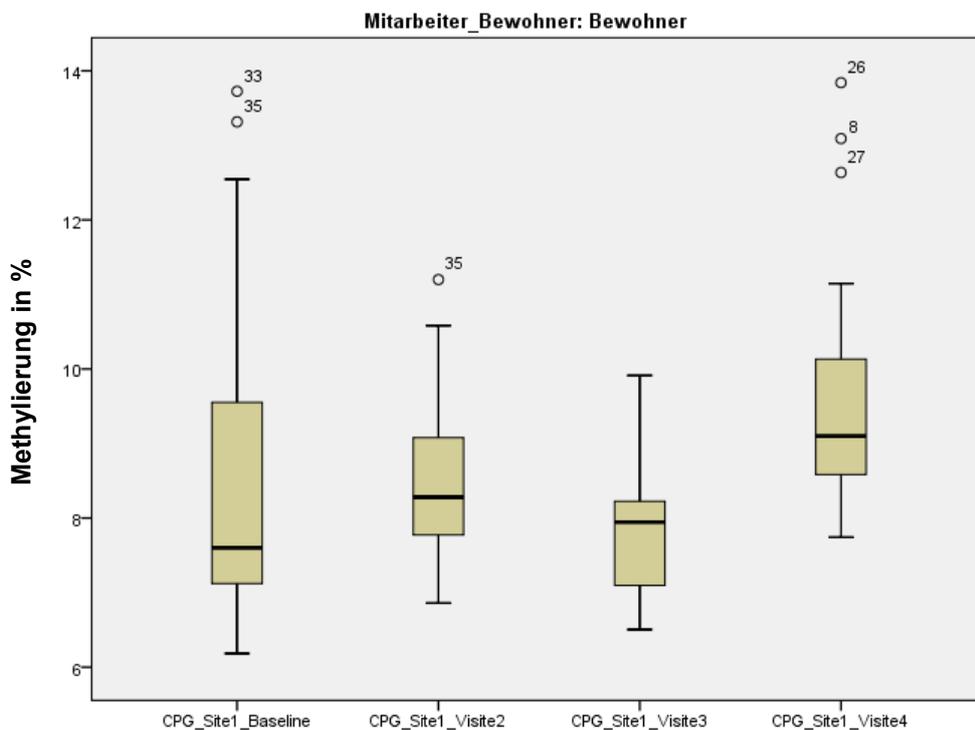


Abbildung 37: Boxplots zum Vergleich der CPG Site 1 über den beobachteten Zeitraum (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

Beim Vergleich zwischen der dynamischen Licht ausgestatteten mit der Kontrollgruppe fand sich zu keinem Zeitpunkt der Studie ein signifikanter Unterschied in der Methylierung. Alle Vergleiche wurden mittels des Man-

Whitney-U-Tests durchgeführt. Bei der Baseline zeigte sich Ergebnisse von $U = 117$ $z = -0,884$ $p = 0,391$. Bei der Visite 2 konnte der Man-Whitney-U-Test ebenfalls keine signifikanten Unterschiede feststellen. $U = 132$ $z = -0,364$ $p = 0,732$. Visite 3 und 4 konnten die bisherigen Ergebnisse bestätigen bei $U = 114$ $z = -0,12$ $p = 0,921$ bzw. $U = 114$ $z = 0,760$ $p = 0,467$.

Mitarbeiter:

Bei den Mitarbeitern betrug die durchschnittliche Methylierung der ersten CpG-Site 7,44%. Dies änderte sich zu Visite 2 zu 8,04% und zu Visite 3 zu 7,94%. Bei Visite 4 konnte ein Mittelwert von 9,23% ermittelt werden.

Beim Vergleich der Baseline Werte mit den verschiedenen Entnahmezeitpunkten nach der, sechs und 12 Wochen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zu Visite 2, der mittels des Wilcoxon Tests ermittelt wurde. $T = 203$, $z = 2,48$ $p = 0,013$. Zu Visite 3 unterschieden sich die Werte ebenfalls signifikant $T = 214,5$ $z = 2,33$ $p = 0,02$. Ebenso konnte dies im Vergleich zu Visite 4 bestätigt werden $T = 223$ $z = -3,74$ $p = 0,000$.

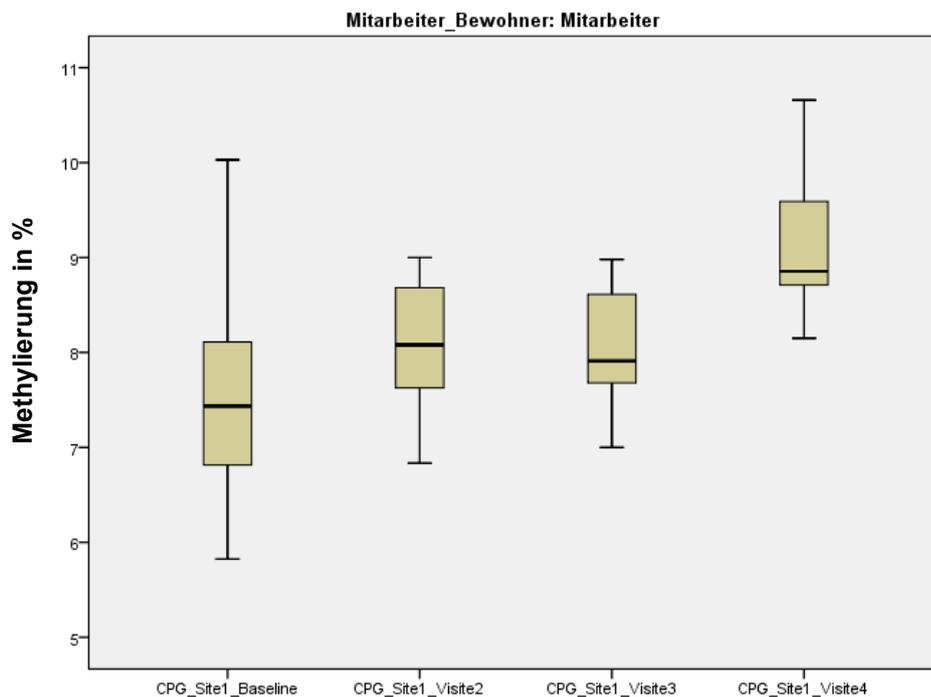


Abbildung 38: Boxplots der Mitarbeiter zu CpG-Site 1 über den Verlauf der Entnahmezeitpunkte (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

Im Vergleich der Licht- und Kontrollgruppe der Mitarbeiter zeigten sich folgende Ergebnisse, welche mittels des Man-Whitney-U-Tests ermittelt wurden. In der Baseline $U = 75$ $z = 0,293$ $p = 0,796$ und Visite 2 $U = 50$ $z = -0,645$ $p = 0,548$ kein signifikanter Unterschied. Hingegen bei Visite 3 jedoch zeigte sich ein signifikanter Unterschied $U = 13$ $z = -3,15$ $p = 0,001$ mit einem Median von 8,35% der Expositionsgruppe und einem Median von 7,49% in der Kontrollgruppe. Da sich bei Visite 4 die Werte jedoch wiederum nicht signifikant unterschieden $U = 68$ $z = 1,159$ $p = 0,268$, sollte das Ergebnis nach Visite 3 wahrscheinlich als Ausreißer betrachtet werden.

3.5.4 CpG-Site 2

Die zweite untersuchte CPG-Site hatte bei der Ausgangsuntersuchung eine durchschnittliche Methylierung von 13,38% bei den Bewohnern, die sich zu Visite 2 zu 13,11% bzw. zu Visite 3 zu 13,3% und zu Visite 4 am Ende der Studie

zu 16,5% verändert hat. Beim Vergleich der einzelnen Visiten mit der Baseline zeigte sich kein signifikanter Unterschied zu Visite 2 im Wilcoxon-Vorzeichen-Test $T = 222$ $z = -0,510$ $p = 0,610$, ebenso kein signifikanter Unterschied zu Visite 3 $T = 259$ $z = -0,216$ $p = 0,829$. Im Vergleich zur Baseline zeigte sich zu Visite 4 jedoch ein signifikanter Anstieg der Methylierung $T = 359$ $z = -4,084$ $p = 0,000$.

Im Vergleich zwischen der, dem Licht exponierten, Gruppe und der Kontrollgruppe konnte zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Dies bestätigte sich bereits zum ersten Entnahmezeitpunkt: $U = 133$ $z = -0,330$ $p = 0,758$ und zeigte ähnliche statistische Ergebnisse bei den anderen Visiten: Visite 2: $U = 103,5$ $z = -0,540$ $p = 0,594$, Visite 3: $U = 103,5$ $z = -0,540$ $p = 0,594$ Visite 4: $U = 118,5$ $z = 0,968$ $p = 0,339$. Die Analysen wurden jeweils mit dem Man-Whitney-U-Test durchgeführt.

Mitarbeiter:

Bei den Mitarbeitern betrug die durchschnittliche Methylierung dieser CpG-Site 12,02%, was sich im Verlauf zu 13,25% bei Visite 2 und zu 13,62% bei Visite 3 steigerte. Am Ende der durchgeführten Lichtexposition betrug die durchschnittliche Methylierung 16,39%. Die mittels Wilcoxon-Vorzeichentest durchgeführte Analyse bestätigte einen signifikanten Unterschied im Vergleich zur Baseline bei allen Visiten, siehe Tabelle 39.

	T	z	p
Zu Visite 2	55	-2,321	0,02
Zu Visite 3	255	-3,559	0,000
Zu Visite 4	231	-4,015	0,000

Tabelle 39: Vergleich der Visiten zur Baseline mittels Wilcoxon-Vorzeichen Test

Im Vergleich der beiden Gruppen bei den Mitarbeitern zu den jeweiligen Visitenzeitpunkten lassen sich die bereits bei den Bewohnern festgestellten Ergebnisse bestätigen. Ebenso wie bei den Bewohnern gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe mit der dynamischen

Beleuchtung und der Kontrollgruppe weder zu der Baseline im Man-Whitney-U-Test ($U = 84$ $z = 0,820$ $p = 0,437$) noch bei Visite 2 ($U = 43$ $z = -1,097$ $p = 0,294$), Visite 3 ($U = 43$ $z = -1,260$ $p = 0,224$) oder Visite 4 ($U = 38$ $z = -1,014$ $p = 0,336$) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden.

3.5.5 CpG-Site 3

Bewohner:

Bei der nächsten CPG-Site, bei welcher ebenfalls die Methylierung gemessen wurde, zeigte sich bei den mitwirkenden Bewohnern ein Ausgangswert von 13,06%, welcher nach drei Wochen (Visite 2) auf 10,73% bzw. nach 6 Wochen (Visite 3) auf 9,78% sank. Lediglich bei den gemessenen Werten der letzten Visite konnte eine Steigerung auf 15,05% festgestellt werden.

Bei der Auswertung der einzelnen Visiten zueinander, der von den Bewohnern entnommenen Proben, zeigte sich eine signifikante Veränderung in der mittels Wilcoxon-Tests durchgeführten Analyse.

	T	z	p
Zu Visite 2	101	-2,881	0,004
Zu Visite 3	34	-4,194	0,000
Zu Visite 4	247	1,393	0,13

Tabelle 40 Vergleich der Visiten der Bewohner in der CpG-Site 3 mittels Wilcoxon-Tests

Wie in Tabelle 40 sichtbar zeigt sich bei einem p von 0,004 bzw. 0,000 ein signifikanter Unterschied zu Visite 2 und 3, was sich jedoch beim letzten Entnahmezeitpunkt Visite 4 im Vergleich jeweils zu den Ausgangswerten nicht mehr nachweisen lässt.

Wie bereits bei den letzten CpG-Sites war auch diesmal zwischen den unterschiedlichen Beleuchtungsgruppen kein Unterschied feststellbar, bis auf das Ergebnis zu Visite 3. Bei Visite 2 wurden folgende Werte ermittelt: $U = 84,00$ $z = -1,321$ $p = 0,196$, zu Visite 3 war das Ergebnis $U = 65,5$ $z = -2,062$ $p = 0,038$

und somit der einzige signifikante Unterschied zwischen den Beleuchtungsgruppen. Jedoch schon bei Visite 4 konnte bei folgenden Ergebnissen $U = 94,00$ $z = -0,161$ und $p = 0,872$ keine Signifikanz erzielt werden, so dass Visite 3 am ehesten als Ausreißer gewertet wird.

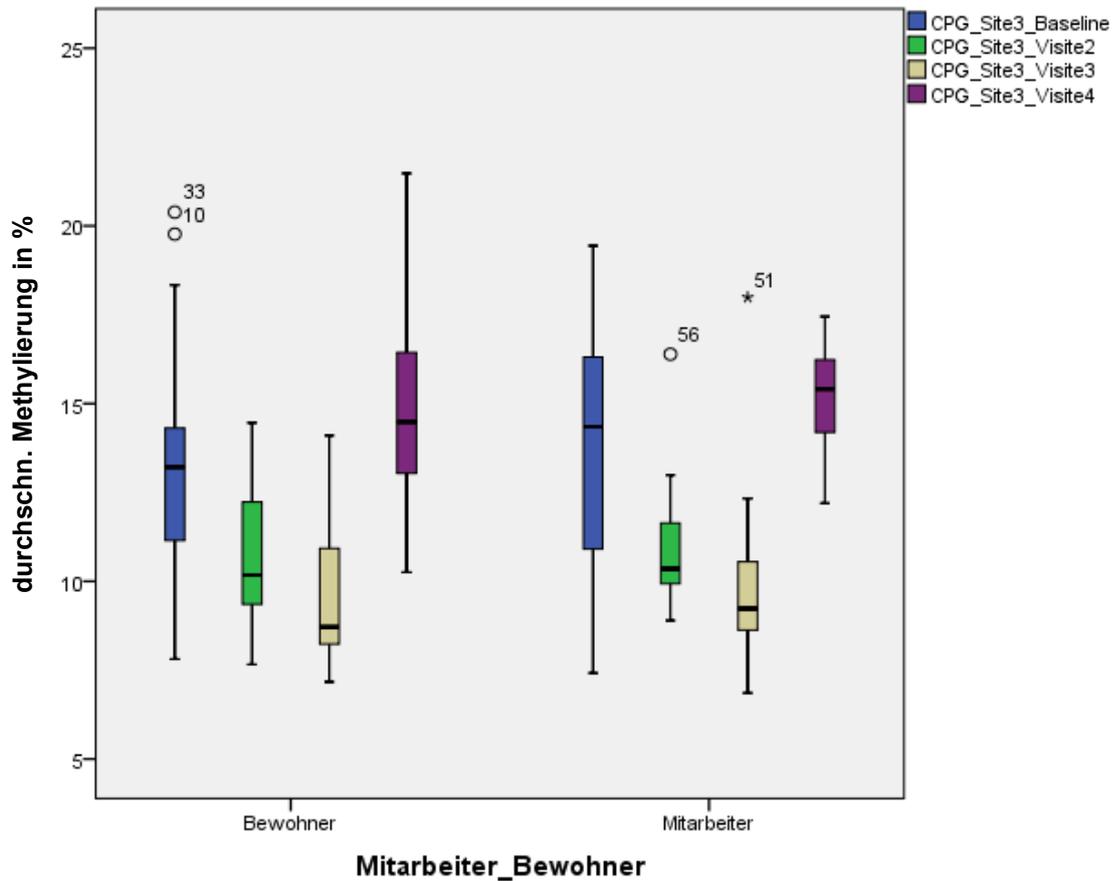


Abbildung 39: Durchschnittliche Methylierung in % der CPG-Site 3 über den Verlauf der Studie (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen) im Vergleich von Mitarbeitern und Bewohnern

Mitarbeiter:

Bei den Mitarbeitern konnten die Analysen der Bewohnergruppen zum größten Teil bestätigt werden. Die durchschnittliche Methylierung betrug zu Beginn der Studie 13,91%. Bei Visite 2 konnte ein Mittelwert von 10,87% festgestellt werden bzw. von 10,35% bei Visite 3. Beim letzten Entnahmezeitpunkt betrug die

Methylierung im Mittelwert 15,56%. Im Vergleich der einzelnen Visiten zueinander konnte zu Visite 2 folgende Ergebnisse im Wilcoxon-Vorzeichen-Test erzielt werden: $T = 46,00$, $z = -2,613$ $p = 0,009$. Bei Visite 3 $T = 41,00$, $z = -2,950$, $p = 0,003$ konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Allerdings, wie bereits bei den Bewohnern und in der Abbildung 39 erkennbar, kam es bei Visite 4 nicht zu signifikanten Unterschieden: $T = 247,00$, $z = 1,393$, $p = 0,163$.

Bei der Einteilung der unterschiedlichen Gruppen nach der erhaltenen Beleuchtung über die Studie konnten erneut keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden. Bei Visite 2 zeigten sich im Man-Whitney-U-Test $U = 54,00$ $z = -0,387$ $p = 0,728$. Bei Visite 3 ergab die Analyse $U = 62,00$ $z = -0,063$ $p = 0,975$. Und bei Visite 4 konnte die vorigen Ergebnisse ohne Signifikanz ebenfalls wiederholt werden. $U = 64,00$ $z = 0,869$ $p = 0,414$.

3.5.6 CpG Site 4

Erneut folgen nun die Ergebnisse der vierten untersuchten CPG-Site. Bei den Bewohnern betrug der Ausgangswert der durchschnittlichen Methylierung 10,42% Bei Visite 2 verringerte sich der Mittelwert zu 8,03% und zu 7,16% zu Visite 3, bevor bei der vierten Visite eine erneute Steigerung zu einer durchschnittlichen Methylierung zu 11,36% beobachtet werden konnte.

Vergleicht man jeweils die einzelnen Visiten der Bewohner mit den Ausgangswerten zur Baseline ergibt sich mittels des Wilcoxon-Testes ein signifikanter Unterschied zu Visite 2 bei einem $T = 68,00$ $z = -3,527$ und $p = 0,000$. Bei Visite 3 ergeben sich bei einem $T = 18,00$ $z = -4,507$ $p = 0,000$ ähnliche Ergebnisse. Wie jedoch bereits zuvor bei der CPG-Site 3 können zu Visite 4 keine signifikanten Unterschiede mehr zur Baseline nachgewiesen werden: $T = 220,00$ $z = 0,745$ $p = 0,456$.

Im Vergleich der unterschiedlichen Beleuchtungssituationen (Lichtgruppe verglichen mit der Kontrollgruppe) zueinander ergaben sich erneut keine signifikanten Unterschiede. Bei Visite 2 ergab sich $T = 107,00$ $z = -0,400$

$p = 0,708$. Bei Visite 3 mit $T = 96,00$ $z = -0,841$ und $p = 0,417$ sowie Visite 4 mit $T = 111,00$ $z = 0,622$ und $p = 0,555$ bestätigten sich diese Beobachtungen.

Mitarbeiter:

Bei den Mitarbeitern wurde mit einer durchschnittlichen Methylierung von 10,95% begonnen. Diese verändert sich zu 8,21% bei Visite 2 und ähnlich den Bewohnern zu einem Tiefpunkt von 7,59% bei Visite 3. Beim vierten Entnahmezeitpunkt konnte ein Anstieg zu einem Mittelwert von 11,47% beobachtet werden.

Im Vergleich der einzelnen Visiten zueinander zeigten sich folgende Ergebnisse:

	T	z	p
Zu Visite 2	34	-3,003	0,003
Zu Visite 3	36	-3,102	0,002
Zu Visite 4	115	-0,017	0,986

Tabelle 41: Vergleich der einzelnen Visiten zueinander mittels Wilcoxon-Test

Erneut zeigten sich signifikante Unterschiede bei Visite 2 und 3, jedoch nicht mehr beim letzten Entnahmezeitpunkt verglichen mit den Methylierungswerten zu Beginn der Studie.

Im Vergleich zwischen der Lichtexpositionsgruppe und der Kontrollgruppe konnten ebenfalls über die Dauer der Studie keine signifikanten Unterschiede in der Methylierung beobachtet werden. Bei Visite 2 zeigte sich $U = 54,50$ $z = -0,355$ $p = 0,728$, bei Visite 3 $T = 59,00$ $z = -0,252$ $p = 0,829$. Und bei Visite 4 konnten mit $T = 63,00$ $z = 0,797$ $p = 0,456$ ähnliche Ergebnisse beobachtet werden.

3.5.7 CpG-Site 5

Zuletzt werden die Ergebnisse der letzten untersuchten CPG-Site im Unterschied von der Licht- zur Vergleichsgruppe berichtet: Zu Beginn war diese CPG-Site durchschnittlich 7,21%. Im Verlauf veränderte sich dieser Wert bei den Bewohnern zu 5,70% bei Visite 2, zu 4,64% bei Visite 3 und schließlich zu 8,35%

bei der letzten Visite. Bereits bei der zweiten Visite konnte kein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Beleuchtungsgruppen im Man-Whitney-U-Test festgestellt werden: $U = 118,5$ $z = 0,60$ $p = 0,953$. Bei Visite 3 $U = 139,5$ $z = 0,901$ $p = 0,373$ und Visite 4 $U = 113$ $z = 0,714$ $p = 0,496$ konnten ähnliche Ergebnisse festgestellt werden.

Beim Vergleich der Visiten mit den Ausgangswerten zur Baseline mittels Wilcoxon-Test zeigte sich eine signifikante Verringerung bei Visite 2 $T = 90$ $z = -3,096$ $p = 0,002$ und Visite 3 $T = 34$ $z = -4,194$ $p = 0,000$. Beim letzten Entnahmezeitpunkt im Vergleich zur Baseline konnten diese Beobachtungen jedoch nicht mehr nachgewiesen werden: $T = 218$ $z = 0,697$ $p = 0,486$.

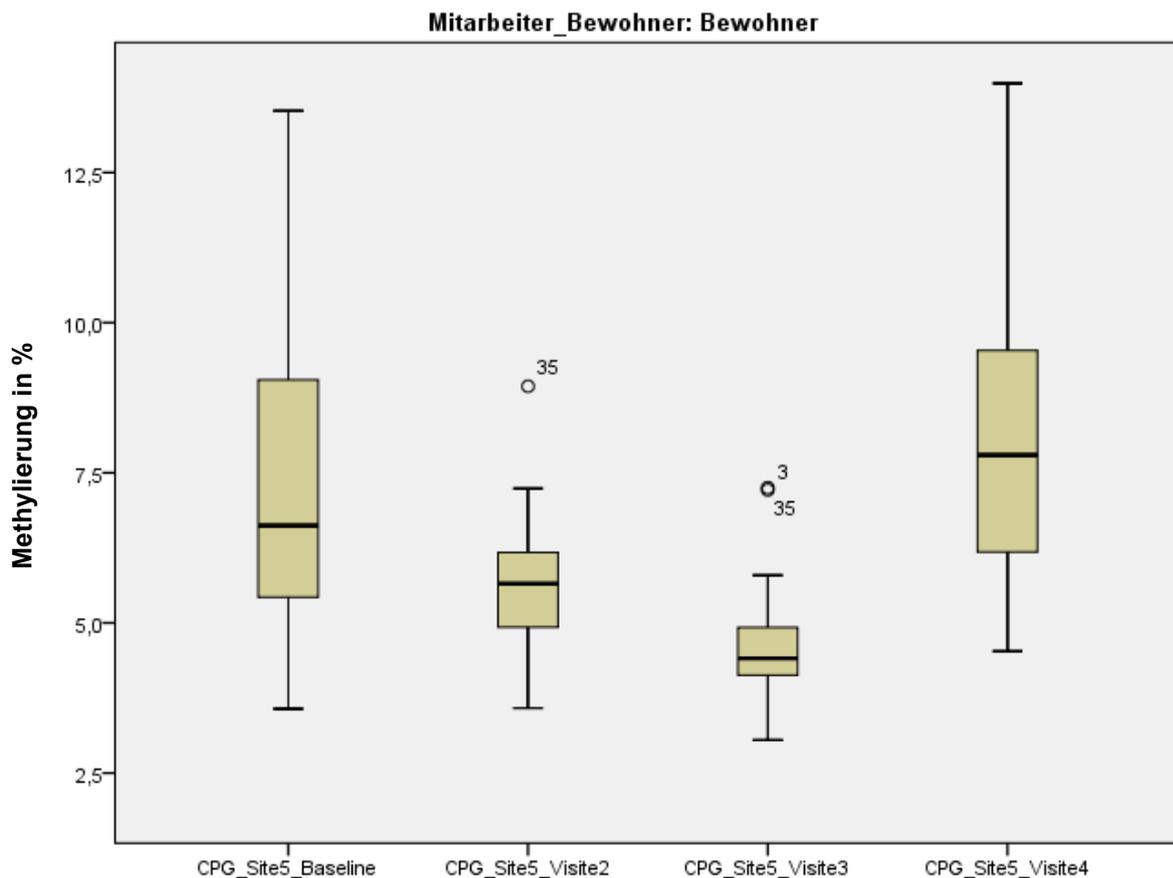


Abbildung 40: Methylierung der fünften untersuchten CpG-Site bei den Bewohnern im Verlauf der Visiten (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

Mitarbeiter:

Bei den Mitarbeitern ergab sich zu Beginn als Ausgangswert eine durchschnittliche Methylierung von 7,61%. Im Verlauf der Visiten verringerte sich diese zunächst in Visite 2 zu 5,33% und zu 4,79% in Visite 3.

Erneut war auch bei den Mitarbeitern bei Visite 2 kein signifikanter Unterschied zwischen Lau- und Lichtgruppe feststellbar: $T = 58,00$ $z = -0,129$ $p = 0,925$.

Bei Visite 3 $T = 70$ $z = 0,441$ $p = 0,688$ und Visite 4 $T = 71$ $z = 1,376$ $p = 0,185$ ließen sich die Ergebnisse reproduzieren.

Wie bereits in der Grafik erkennbar, zeigten sich auch bei der letzten untersuchten CpG-Site signifikante Veränderungen in der Methylierung bei Visite 2 $T = 28$ $z = -3,198$ $p = 0,001$ und Visite 3 $T = 22,5$ $z = -3,513$ $p = 0,000$.

Erneut konnte diese Beobachtung beim letzten Entnahmezeitpunkt nicht wiederholt werden: $T = 102,5$ $z = -0,452$ $p = 0,651$.

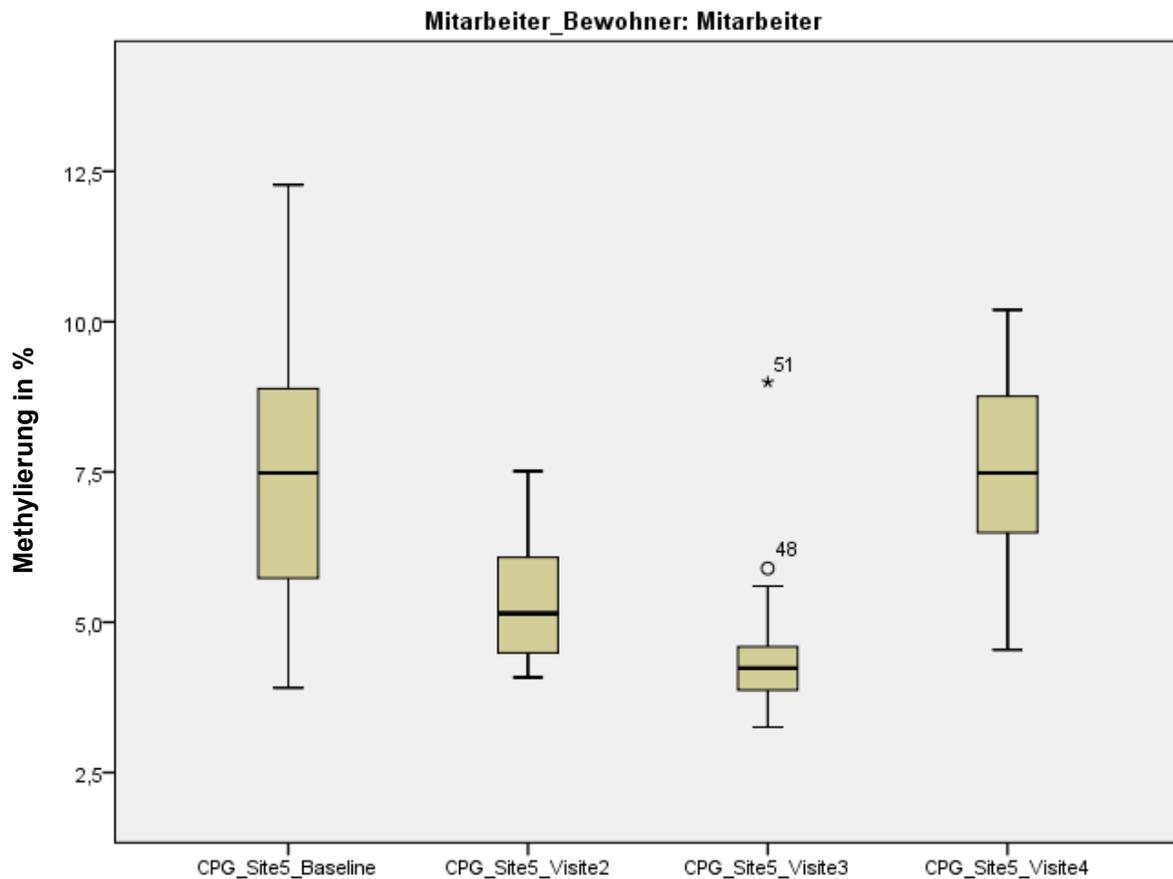


Abbildung 41: Methylierung in % der CpG Site 5 bei den Mitarbeitern im Verlauf (Baseline: nach 0 Wochen; Visite 2: nach 3 Wochen; Visite 3: nach 6 Wochen; Visite 4: nach 12 Wochen)

3.5.8 Zusammenhang mit dem BDNF-Genotyp

Erneut erfolgte die Untersuchung mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse.

Es konnte zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Methylierung und dem BDNF-Genotyp nachgewiesen werden.

Bei den Bewohnern ergaben sich folgende Werte für die CpG-Site 1:

CPG-Site 1	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(1, 31) = 0,868	0,36	
Visite 2	(1, 29) = 0,972	0,33	
Visite 3	(1, 29) = 0,001	0,97	
Visite 4	(1, 25) = 0,006	0,938	

Tabelle 42: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 1

Zusammengefasst konnte kein Unterschied der CpG-Site bei den unterschiedlichen Genotypen festgestellt werden.

CPG-Site 2	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(1, 31) = 0.616	0,44	
Visite 2	(1, 29) = 1,907	0,18	
Visite 3	(1, 29) = 0,166	0,69	
Visite 4	(1, 25) = 0,161	0,69	

Tabelle 43: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 2

Ebenso konnte bei der CpG-Site 2 kein Unterschied festgestellt werden.

CPG-Site 3	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(1, 31) = 0,054	0,82	
Visite 2	(1, 29) = 1,54	0,23	
Visite 3	(1, 29) = 0,499	0,49	
Visite 4	(1, 25) = 0,349	0,56	

Tabelle 44: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 3

CPG-Site 4	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(1, 31) = 0,022	0,88	
Visite 2	(1, 29) = 0,056	0,81	
Visite 3	(1, 29) = 1,13	0,23	
Visite 4	(1, 25) = 1,35	0,26	

Tabelle 45: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 4

CPG-Site 5	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(1, 31) = 3,746	0,062	
Visite 2	(1, 29) = 1,952	0,17	
Visite 3	(1, 29) = 0,18	0,67	
Visite 4	(1, 25) = 1,122	0,3	

Tabelle 46: Signifikanzniveau der Bewohner bei der Methylierung der CPG-Site 1

Und auch bei den weiteren untersuchten CpG-Sites konnte kein signifikanter Unterschied abhängig vom Genotyp festgestellt werden.

Wie bereits bei der Auswertung der BDNF-Werte im Serum ist bei den Bewohnern jedoch kein Proband mit einem doppelten Methionin-Allel inkludiert.

Es erfolgte ebenfalls die Untersuchung spezifisch für die Mitarbeiter. Die Ergebnisse sind in der unten verwendeten Tabelle festgehalten.

CPG-Site 1	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(2, 21) = 2,899	0,07	
Visite 2	(2, 20) = 2,253	0,13	
Visite 3	(2, 20) = 3,928	0,36	
Visite 4	(2, 18) = 1,154	0,34	

CPG-Site 2	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(2, 21) = 2,595	0,098	
Visite 2	(2, 20) = 1,208	0,32	
Visite 3	(2, 20) = 2,384	0,12	
Visite 4	(2, 18) = 1,338	0,29	

CPG-Site 3	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(2, 21) = 0,859	0,44	
Visite 2	(2, 20) = 0,497	0,62	
Visite 3	(2, 20) = 0,281	0,76	
Visite 4	(2, 18) = 1,133	0,34	

CPG-Site 4	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(2, 21) = 0,829	0,45	
Visite 2	(2, 20) = 0,389	0,68	
Visite 3	(2, 20) = 0,720	0,5	
Visite 4	(2, 18) = 0,604	0,56	

CPG-Site 5	F	p	Browne-Forsythe
Baseline	(2, 21) = 0,733	0,49	
Visite 2	(2, 20) = 0,082	0,92	
Visite 3	(2, 20) = 0,597	0,56	
Visite 4	(2, 18) = 0,200	0,82	

Tabelle 47: Signifikanzniveau der CPG-Sites nach Abhängigkeit vom BDNF-Genotyp

Zusammengefasst ließ sich ebenfalls kein Zusammenhang mit dem Genotyp darstellen.

3.6 Psychometrische Skalen

Zusätzlich wurde noch untersucht, ob die Serumkonzentration von BDNF einen Einfluss auf die Werte im MMS hatten.

Die Bewohner hatten zu Beginn der Studie einen Mittelwert von 25,41 Punkten, am Ende der Studie einen Mittelwert von 24,14 Punkten.

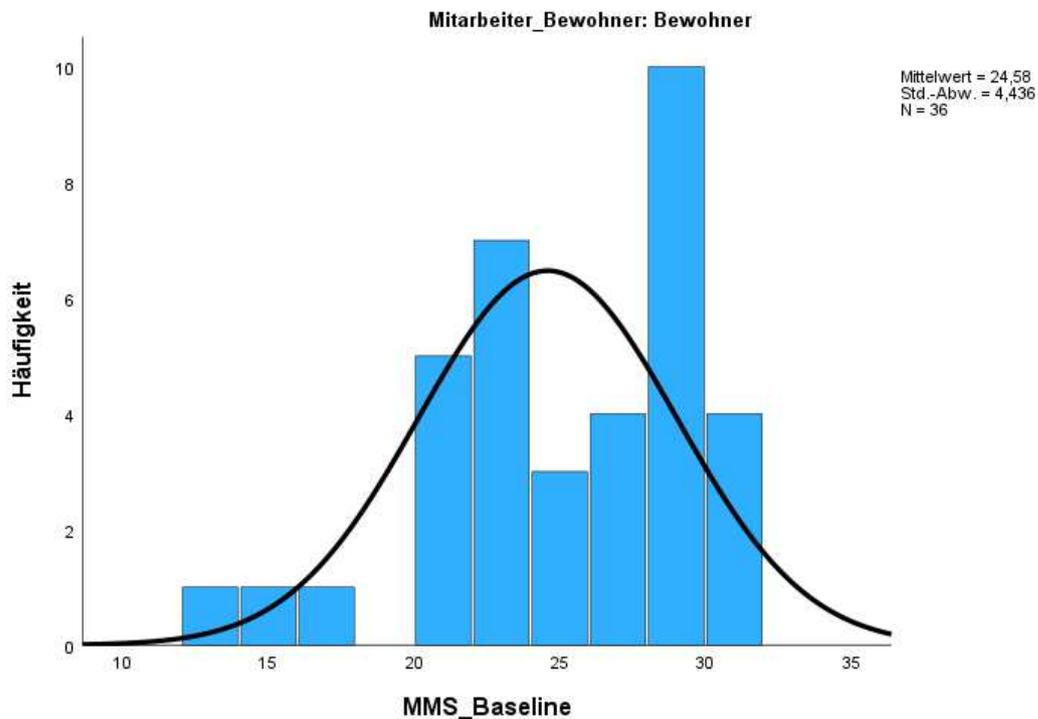


Abbildung 24: Mittelwert der MMS-Auswertung zu Beginn der Studie

Zu Beginn der Studie konnte keine bedeutsame Korrelation zwischen den BDNF-Serumwerten und den Ergebnissen im Test festgestellt werden: $r = 0,162$ $p = 0,305$.

Auch ein Zusammenhang mit den Ergebnissen nach der Studie konnte nicht festgestellt werden $r = -0,226$ $p = 0,162$.

Interessanterweise konnte jedoch eine signifikante Korrelation zwischen den BDNF-Serumwerte in der zweiten Visite und den Ergebnissen zu Ende der Studie im MMS gezeigt werden $r = 0,343$ $p = 0,033$.

Dies konnte in der dritten Visite bestätigt werden $r = 0,383$ $p = 0,018$.

In der vierten Visite konnte keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden $r = -0,059$ $p = 0,715$.

Zu den Testergebnissen zu Beginn der Versuchsperiode konnte auch bei Visite 2 $r = 0,173$ $p = 0,295$, Visite 3 $r = 0,305$ $p = 0,065$ und Visite 4 $r = -0,51$ $p = 0,758$ kein Zusammenhang festgestellt werden.

Ein Zusammenhang mit der durchschnittlichen Methylierung konnte nicht zu Beginn der Studie $r = 0,259$ $p = 0,159$ gezeigt werden.

Jedoch lässt sich eine signifikante mittlere Korrelation der durchschnittlichen Methylierung mit den MMS-Ergebnissen am Ende berichten $r = 0,478$ $p = 0,025$.

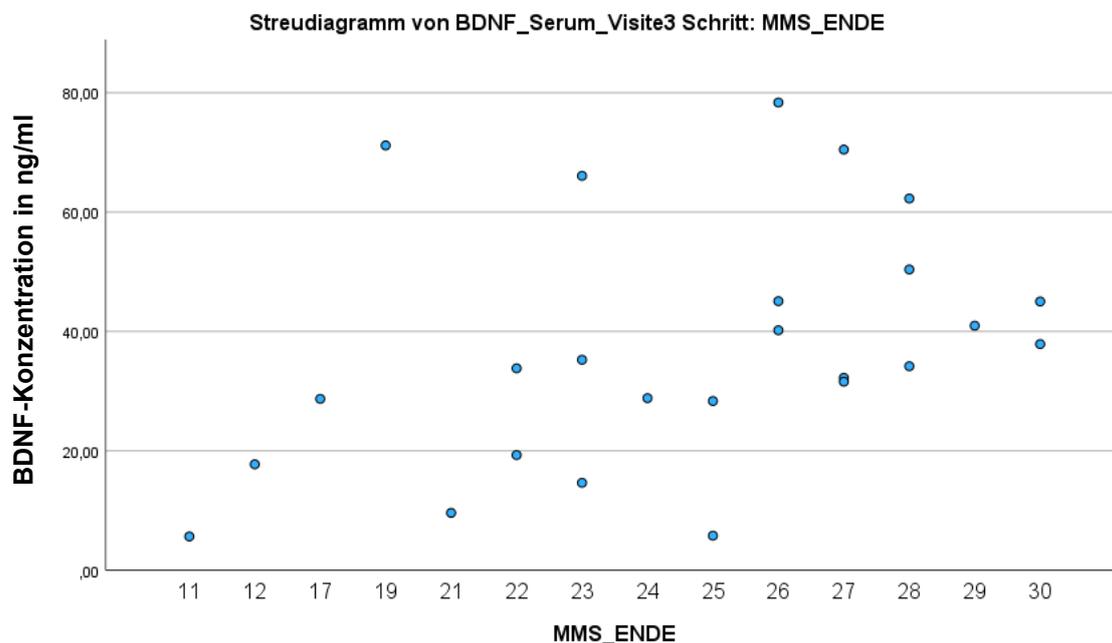


Abbildung 42 Streudiagramm MMS-Werte am Ende der Studie und Ergebnisse der Serum-Werte

Im Vergleich zu den Werten in dem Geriatric Depression Scale, welcher erneut nur von den Bewohnern durchgeführt wurde, konnten folgende Korrelationen festgestellt werden:

Die Analyse erfolgte mittels der Spearman-Korrelation für nicht parametrische Korrelationen.

Bezüglich der zu Anfang der Intervention bestimmten Werte zeigte sich keine signifikante Korrelation zu den BDNF-Werten im Serum $r = 0,136$, $p = 0,464$

Auch drei Wochen nach der begonnenen Intervention konnte keine Korrelation bestätigt werden $r = -0,240$ $p = 0,202$

Bei den Untersuchungen 6 Wochen nach Intervention konnte ebenfalls kein Unterschied festgestellt werden: $r = -0,008$ $p = 0,964$. Ebenso sind die Ergebnisse bei Ende der Studie $r = 0,011$ $p = 0,960$. Ein Einfluss auf die Werte in diesen beiden Fragebögen konnte somit nicht bestätigt werden.

Bezüglich einer Korrelation der durchschnittlichen Methylierungswerte auf den GDS-Bogen konnte bereits bei Beginn der Studie keine signifikante Korrelation festgestellt werden $r = 0,155$ $p = 0,396$.

Auch bei Visite 2 $r = -0,107$ $p = 0,575$, Visite 3 $r = 0,008$ $p = 0,966$ und Visite 4 $r = -0,199$ $p = 0,375$ lassen sich diese Ergebnisse bestätigen.

3.6.1 Einfluss des Alters

Der Einfluss des Alters wurde mittels einer Kendall-Tau b Korrelation berechnet. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter und den BDNF-Serumwerten zu Beginn der Studie festgestellt werden $r = -0,002$ $p = 0,988$.

Ebenso konnte bei den Mitarbeitern keine Korrelation nachgewiesen werden $r = 0,175$ $p = 0,224$.

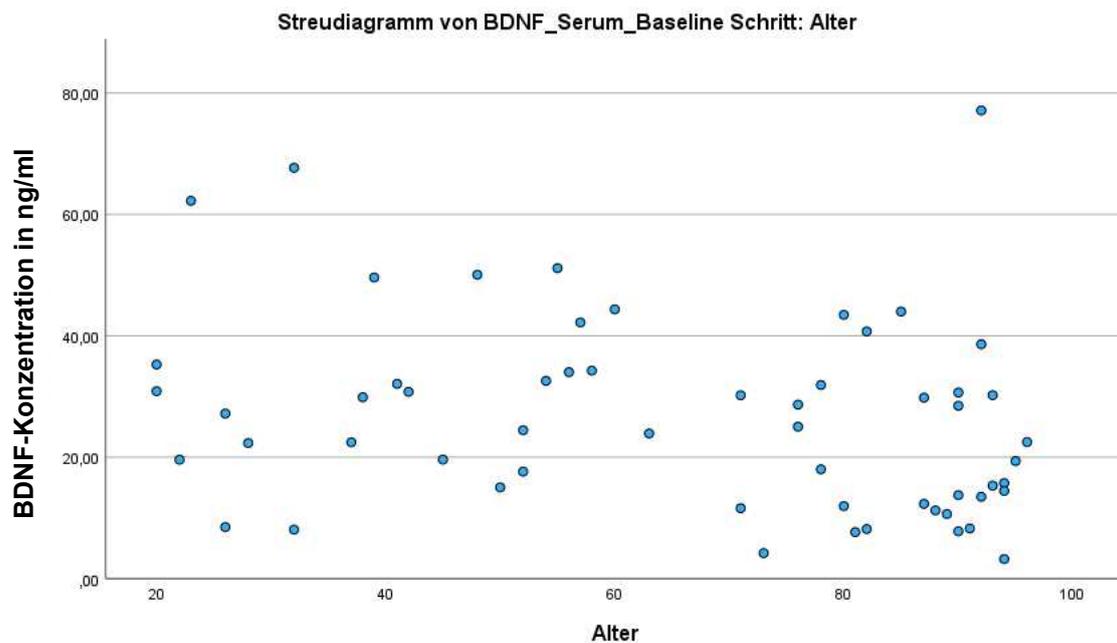


Abbildung 43: Streudiagramm zwischen Alter und BDNF-Serumwerten zu Beginn der Studie

Bei den Bewohnern konnte auch bei Visite 2 $r = -0,192$ $p = 0,168$ oder zu Visite 3 $r = -0,041$ $p = 0,77$ keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden. Ebenso

konnte auch bei der Visite 4 keine signifikante Korrelation mittels Kendall-Tau-b $r = -0,163$ $p = 0,242$ festgestellt werden.

Bei den Mitarbeitern konnte bei Visite 2 $r = 0,287$ $p = 0,079$ und Visite 3 $r = 0,074$ $p = 0,649$ kein Zusammenhang entdeckt werden. Ebenso wurde genauso wie bei den Bewohnern bei Visite 4 kein signifikanter Zusammenhang entdeckt $r = 0,17$ $p = 0,298$.

Bezüglich eines Zusammenhangs des Alters mit der durchschnittlichen Methylierung erfolgte eine Analyse mittels Spearman-Korrelation: Es zeigte sich zu Beginn der Studie kein signifikanter Zusammenhang $r = 0,006$ $p = 0,967$.

Bei der Visite 2 konnte dies ebenfalls bestätigt werden $r = 0,145$ $p = 0,295$.

Auch bei Visite 3 $r = -0,052$ $p = 0,708$ und bei Visite 4 $r = 0,073$ $p = 0,616$ konnte keine signifikante Korrelation entdeckt werden.

4 Diskussion

4.1.1 Zielsetzung und Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Studie wurde mit dem Ziel konzipiert herauszufinden, ob Auswirkungen von Beleuchtung mit unterschiedlichen Wellenlängen und Beleuchtungsstärken auf die circadiane Rhythmik und molekulare Biomarker feststellbar sind. Dafür erfolgte die Teilung von zwei Seniorenwohnheimen in eine Kontrollgruppe (LAU-Gruppe) und eine Interventionsgruppe (DYN-Gruppe). Die Interventionsgruppe erhielt dabei die entwickelte Beleuchtung mit einem maximalen Blaulichtanteil am Vormittag und einer sukzessiven Reduktion der Beleuchtungsstärke und des Blaulichtanteils in Anlehnung an natürliches Licht.

Eingeschlossen wurden in die Studie sowohl die Bewohner als auch die Mitarbeiter. Ziel der Intervention war es mögliche Effekte auf die kognitive Entwicklung zu identifizieren und zu ermitteln, ob diese durch molekulare Biomarker messbar sind oder gegebenenfalls bereits Einflüsse auf die Epigenetik nehmen. Folglich sollen also auch Empfehlungen für die Ausstattung von geriatrischen Einrichtungen und klar nachvollziehbare Marker für weitere Untersuchungen in diesem Bereich ausgesprochen werden können.

Hierfür erfolgt zunächst eine knappe Übersicht zu jedem Marker:

Die Melatoninwerte im Speichel zeigten eine gute Vergleichbarkeit zwischen den beiden Gruppen zu Beginn der Messungen. Auch zu keinem späteren Zeitpunkt der Visiten zeigte sich ein signifikanter Unterschied.

Über den Verlauf der Messung zeigte sich bei beiden Gruppen ein Anstieg der Melatonin-Konzentration, der jedoch vor allem bei den Bewohnern in der LAU-Gruppe niedriger ausfiel.

Ein Zusammenhang der Ergebnisse mit dem PER3-Polymorphismus ließ sich nicht feststellen. Auch ein signifikanter Zusammenhang mit den Fragebögen bestand nicht. Es konnte jedoch erneut bewiesen werden, dass ein höheres Alter mit niedrigeren Melatoninwerten assoziiert ist.

Bei den Ergebnissen bezüglich der Cortisolwerte konnte keine signifikanter Unterscheid zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Bei den Ergebnissen für den Biomarker BDNF zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Lau- und der Lichtgruppe. Es zeigte sich jedoch ein signifikanter Anstieg über den zeitlichen Verlauf bei den Bewohnern im Vergleich zu den Mitarbeitern.

Bezüglich des BDNF-Polymorphismus konnte kein Zusammenhang mit den Serumwerten des Markers festgestellt werden.

Bezüglich der epigenetischen Untersuchungen bei der Methylierung eines Genabschnitts für BDNF konnten teilweise signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden, die jedoch aufgrund der Inkonsistenz keinen klaren Zusammenhang bestätigen können.

4.1.2 Methodische Aspekte und Studiendesign

Künstliche Beleuchtung wird bisher trotz des bereits erwähnten, bekannten Mechanismus der intrinsischen photosensitiven Ganglienzellen vor allem für visuelle Sehaufgaben verwendet. Falls jedoch Beleuchtung gezielt auch für nicht visuelle Wirkung verwendet werden soll, wird eine quantifizierbare Messung für die Folgen dieser nicht visuellen Wirkung benötigt. Bisher ist nur für Melatonin eine definierte spektrale Empfindlichkeit für eine Wellenlänge von 460 nm bei monochromatischem Licht bekannt. [12]

Unklar ist bisher, welche Beleuchtungsfaktoren dafür relevant sein könnten. Es wurde viel geforscht, ob die Beleuchtungsstärke oder das Farbspektrum mit dem bekannten Einfluss des Blaulichtanteils relevanter ist.

Der Zusammenhang von blauwelligem Licht und dem Einfluss auf zirkadiane Rhythmen sowie auch der mögliche Zusammenhang zur Verbesserung neurologischer Funktionen war der Gegenstand mehrerer Studien in den letzten Jahren. Beispielsweise konnten positive Effekte auf die Leistungsfähigkeit oder auch auf eine altersbedingte Verschlechterung der Kognition nachgewiesen werden. [77, 105] Bisher wurden vor allem einzelne Einflussfaktoren betrachtet, was die Studien in ihrer Vergleichbarkeit einschränken.

Die hier vorliegende Studie orientiert sich am Aufbau an der Studie von Riemersma-van der Lek et al. aus dem Jahr 2008. Dabei wurden 189 Probanden für 15 Monaten ebenfalls in Seniorenzentren untersucht. Unterteilt wurde dabei jeweils nach einem hellen Lichtdesign mit einer Beleuchtungsstärke von 1000 lx und einem dunkleren Design mit 300 lx. Zusätzlich erhielt je ein Teil bei beiden Gruppen 2,5 mg Melatonin eine Stunde vor dem Einschlafen, während der andere Teil ein Placebo erhielt. [77]

Unsere Studie unterscheidet sich somit vor allem durch den zusätzlichen dynamischen Blaulichtanteil am Vormittag und die fehlende zusätzliche Melatoninsubstitution. Die verwendeten Studienleuchten hatten zudem einen Abfall der Beleuchtungsstärke von 1500 lx am Morgen auf minimal 480 lx am Abend. Aufgrund des Beobachtungszeitraum von 12 Wochen sollten kurz- und langfristige Effekte der Beleuchtung auf die Biomarker untersucht werden.

Für die LAU-Gruppe erfolgte keine Änderung der zuvor eingebauten Leuchten, so dass keine Verblindung möglich war. Somit besteht auch zwischen den beiden eingeschlossenen Seniorenzentren bei der LAU-Gruppe ein Unterschied in der Beleuchtung.

Möglicherweise führte die physiologischere dynamische Beleuchtungsform dazu, dass ein signifikanter Anstieg der Melatoninsekretion abends ausbliebt im Gegensatz zu der von Riemersma-van der Lek et al verwendeten dauerhaften gleichbleibenden Beleuchtungsstärke, vor allem da retrospektiv die in der Studie verwendeten Lampen wie bereits erwähnt häufig ausgeschaltet waren.

Die Studie konnte so erreichen, dass eine zuvor wenig untersuchte Population ohne die künstliche Atmosphäre eines Labors untersucht wurde. Somit konnten die Leuchten zur besseren Akzeptanz auch ausgeschaltet und das Zentrum verlassen werden.

Im Gegensatz zu der Studie von Riemersma-van der Lek et al konnte somit eine teilweise durch erhöhte Melatoningabe beschriebene Dysphorie und Agitation nicht beobachtet werden, was bei der Teilgruppe, die eine zusätzliche abendliche Melatoningabe erhielt ebenfalls beobachtet werden konnte. [77]

Auch die Tagesgestaltung der Senioren sollte abgesehen von den Messzeitpunkten nicht beeinträchtigt werden, um möglichst aussagekräftige Beobachtungen für weitere Studien treffen zu können.

Natürlich ist die Studie damit jedoch auch im Vergleich solchen, die im Labor stattfinden deutlich anfälliger für unerwünschte oder unbewusste Kovariablen.

Ein Faktor, der die Auswertungen im Nachhinein wahrscheinlich stark beeinflusst hat, war die tagsüber nur geringe Verwendung der Leuchten, die sich nach Erhebung der Proben herausstellte. Somit wurde genau das Zeitfenster am Vormittag mit dem höchsten Anteil an blauwelligem Licht wahrscheinlich eher wenig genutzt. Dies nimmt starken Einfluss auf die Auswertbarkeit der Daten und erschwert somit deutlich, einen Einfluss des Lichtes auf nicht visuelle Wirkungen zu erkennen.

Aufgrund der Zuteilung der Interventions- und Kontrollgruppe auf die verschiedenen Stockwerke war auch keine möglichst gleiche Zuteilung der Senioren bezüglich beispielsweise Vorerkrankungen möglich.

Bezüglich der Mitarbeiter muss auch bedacht werden, dass deren Aufenthaltsdauer in der umgestalteten Umgebung deutlich geringer und je nach Schicht auch außerhalb des Zeitfensters mit der maximalen Beleuchtung mit Blaulichtanteil war.

4.2 Melatonin

4.2.1 Methodische Aspekte

Im physiologischen zirkadianen Rhythmus steigt der Melatoninwert zwischen 21 und 22 Uhr, auch wenn die maximale Plasmakonzentration zwischen 3 und 4 Uhr morgens erreicht wird. [21]

Dies konnte bei den Bewohnern mit einem Mittelwert der Melatoninwerte über den gesamten Studienverlauf von 0,925 pg/ml um 20 Uhr, der auf durchschnittlich 1,66 pg/ml um 21 Uhr, 1,85pg/ml um 22 Uhr und auf schließlich 3,29 pg/ml um 23 Uhr ansteigt, bestätigt werden. Der physiologische Anstieg konnte also durch die, in der Studie gewählten, Abnahmezeitpunkte gut abgebildet werden. Es wurde sich an die von Benloucif et al. vorgeschlagenen

Regeln bei der Abnahme von Proben zur Melatoninbestimmung eingehalten. [106] Es wurde bereits nachgewiesen, dass die Werte im Speichel mit den möglichen Werten im Plasma korrelieren, jedoch etwa dreimal niedriger sind, wie beispielsweise von Nowak et al. untersucht. [24]

Dies ist somit eine mögliche Limitation der Arbeit bei der Methodik. Melatonin kann im Urin, im Plasma und im Speichel gemessen werden. [106]

Aufgrund der Tatsache, dass die Messungen im Rahmen einer Feldstudie durchgeführt wurden und für die Speichelgewinnung keine besonderen Kenntnisse notwendig sind, wurde diese Methode verwendet, trotz der bereits vorbekannten niedrigen Konzentrationen im Alter. [24]

Gegebenenfalls wären über einen Nachweis im Plasma genauere Messwerte möglich gewesen, dies hätte jedoch einen peripheren Venenzugang und ein deutlich invasiveres und möglicherweise weniger akzeptiertes Vorgehen notwendig gemacht, weshalb sich dagegen entschieden wurde.

Es konnte über den Winter beobachtet werden, dass die Senioren teilweise mit angeschaltetem Nachtlicht speziell für die Mitarbeiter wach blieben, was eine Messung des Melatonins im Speichel mit der idealen Beleuchtung von unter 30 lx nach Benloucif et al. erschwerte. [106]

Dies konnte eindeutig als Fehlerquelle identifiziert werden. Als mögliche Lösung wären erneute Informationsveranstaltungen für die Probanden denkbar.

Obwohl der Winter als Jahreszeit gewählt wurde, um möglichst wenig Licht von außen als Einfluss zu gewinnen, berichteten die Mitarbeiter, dass die verwendeten Leuchten tagsüber ausgeschaltet blieben. Dies könnte erklären, warum sich die Interventions- und die Kontrollgruppe so wenig in den Messwerten unterscheiden und kein signifikanter Unterschied beobachtet werden konnte und beeinflusst natürlich die Auswertbarkeit der Biomarker über den Zeitraum der Untersuchungen massiv.

Die Speichelproben der Mitarbeiter wurden von diesen selbst zu Hause durchgeführt und danach abgegeben, so dass erneut keine eindeutige Kontrolle über die Lichtverhältnisse bei Abnahme oder andere Fehlerquellen bestand.

4.2.2 Diskussion der Ergebnisse

Sowohl bei den Ausgangswerten als auch zu den späteren Zeitpunkten zeigte sich durchweg kein Unterschied zwischen den Probanden in den Stockwerken mit blauwelligem Licht und den Probanden mit handelsüblichem Licht.

Erfreulicherweise konnte bei den meisten Probanden zu den gewählten Zeitpunkten ein Anstieg der Melatoninkonzentration bemerkt werden, was dafürspricht, dass die Entnahmezeitpunkte gut gewählt waren. So konnte beispielsweise bei den Ausgangsuntersuchungen ein durchschnittlicher Wert von 3,2 pg/ml bei den Bewohnern um 23 Uhr erhoben werden (siehe Tabelle 21).

Es zeigte sich durchweg eine deutlich niedrigere Konzentration bei den Bewohnern im Vergleich zu den Mitarbeitern. Es ist jedoch schon lange bekannt, dass die Melatoninproduktion im Alter nachlässt, was in dieser Studie erneut bestätigt werden konnte. [6] So erreichten die Bewohner um 23 Uhr auch bei der vierten Visite durchschnittlich einen Wert von 3,9 pg/ml, während bei den Mitarbeitern durchschnittlich 7 pg/ml festzustellen war.

Licht ist ein bekannter und wahrscheinlich der wichtigste Einflussfaktor auf die Melatoninproduktion. Es wurde bereits mehrfach festgestellt, dass Licht diese negativ beeinflusst. [76, 103] Die untersuchte Hypothese war somit, ob die Verwendung der dynamischen Leuchten mit der bekannten, zu Melatoninsuppression führenden Wellenlänge des Lichtes die Melatoninbildung tagsüber unterdrückt und durch einen verminderten Anteil am Abend die Produktion am Abend oder in der Nacht erhöht.

Weder bei den Mitarbeitern noch bei den Bewohnern konnte durch den statistischen Vergleich in nicht parametrischen Tests ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit der dynamischen in der Studie verwendeten Beleuchtung und der handelsüblichen Belichtung in den Vergleichsetagen entdeckt werden.

Dies ist möglicherweise vor allem durch im Nachhinein festgestellte unzureichende Lichtexposition erklärbar, da die Leuchten tagsüber häufig von den Bewohnern nicht verwendet wurden.

Möglicherweise könnte dies bei den Mitarbeitern aufgrund der Schichtarbeit und dem Faktor, dass diese tageweise der Studienbeleuchtung gar nicht oder vermehrt dem natürlichen Tageslicht ausgesetzt waren, zugeschrieben werden. Während bei den Bewohnern graphisch ein deutlicher Anstieg bei der Lichtgruppe darstellbar ist, zeigt sich jedoch kein signifikanter Unterschied, der messbar ist.

Dies könne am ehesten auf Ausreißer in den Gruppen sowie eine zu kleine Größe der Studie zurückzuführen seien. Auch fiel die Speichelproduktion sehr unterschiedlich aus, so dass nicht von jedem Probanden zu jedem Zeitpunkt Messwerte erhoben werden konnten. Leider konnte dies stets erst nach der Verarbeitung der Proben festgestellt werden, sodass eine korrigierende Probenentnahme nicht möglich war (siehe Tabelle 20). Insgesamt führte dies häufig zu kleinen Gruppengrößen, so dass ein möglicher Effekt durch die geringe Gruppengröße von beispielweise bei den Bewohnern 10 Probanden in der Licht- und 10 Probanden in der Vergleichsgruppe beeinflusst sein könnte.

Eine Studie mit einer ähnlichen Probandengruppe und deren Einfluss unter einem Licht mit hohem Blaulichtanteil ist die von Sander et al aus dem Jahr 2015. [107] Dort wurden Senioren mit einem durchschnittlichen Alter von 70 Jahren für drei Wochen einer Lichtexposition am Vormittag mit zunächst 450 nm Wellenlänge und drei Wochen später mit 625 nm ausgesetzt. Danach wurde der Blaulichtanteil ausgeschaltet. Auch die Beleuchtungsstärke war von max 280 lx auf 100 lx am Nachmittag reduziert. Bei den ebenfalls durchgeführten Messungen der Melatoninwerte im Speichel zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Einstellungen. Auch diese Studie berichtet, wie hier, über starke interindividuelle Unterschiede in der Melatoninkonzentration. [107]

Auch in der hier vorliegenden Studie waren von nicht messbaren Werten unter 2 pg/ml bis zu 31 pg/ml starke Schwankungen sichtbar. Dies erschwert eine explorative Datenanalyse deutlich.

Insbesondere bei älteren Menschen und deren bereits reduzierter Melatoninproduktion wird die Speichelproduktion zusätzlich durch chronische Entzündungen im Mundbereich, beispielsweise durch das Tragen eines Gebisses, beeinflusst, wie Balaji et al. zeigen konnten. [108] Und nicht zuletzt wurde auch gezeigt, dass verschiedene Medikamente wie etwa die zur Blutdrucksenkung verwendeten Betablocker (ein Beispiel ist Propranolol) einen negativen Einfluss haben können, indem sie die Spiegel des Melatonins senken. [103, 109, 110] Eine Erkenntnis aus den Ergebnissen des ersten Winters war, dass diese im zweiten Winter erfragt wurden.

Selbst sehr häufig verwendete Medikamente wie Aspirin, welches zur Senkung des Risikos für weitere Embolien nach Schlaganfällen oder anderen kardiovaskulären Erkrankungen verwendet wird, beeinflusst den Hormonspiegel des Melatonins negativ. [111]

Es wurde mit den Bewohnern zweier Altersheime natürlich auch ein Teil der Bevölkerung in der Studie untersucht, der häufig mehr als fünf verschiedene Medikamente erhält. [112]

Zusätzlich ist ein weiterer, möglicher Einflussfaktor, dass bisher je nach Studie unterschiedliche Arten von Licht verwendet wurden, das sich häufig in der Wellenlänge und von der Intensität unterscheidet. [8] Dies schränkt die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Studien ein. So wurden im Vergleich zu unserer Studie häufig nur kürzere Expositionszeiten von 45 Minuten gewählt anstatt einer längeren Dauer der Beleuchtung. [113] Die bisher am besten vergleichbare Studie wurde von Riemersma van der Lek et al. durchgeführt, welche ebenfalls Räume in einem Pflegeheim mit unterschiedlichen Leuchten ausrüsteten, wobei die Gruppe mit der dynamischen Beleuchtung 1000 lux mehr über den Tag zwischen 10 und 18 Uhr erhielt. [77] Jedoch erhielten in dieser Studie zusätzlich noch ein Teil der Probanden Melatonin und es wurde der Schlaf und die Kognition mit verschiedenen Fragebögen gemessen, jedoch kein Bezug zu der Melatoninproduktion untersucht. Ebenfalls wurde die Farbe bzw. die Wellenlänge des Lichtes nicht auf Melatonin beziehungsweise das Ansprechen der retinalen Ganglienzellen optimiert. [77]

Außerdem zeigte sich eine negative Korrelation zwischen dem Lebensalter und der Melatoninproduktion, die bereits Sack et al. festgestellt haben. [6]

Bezüglich der Analyse, ob der PER3 Genotyp einen Einfluss auf das Ansprechen der Melatoninwerte auf die exogene Lichtzufuhr haben ergab sich folgendes: Ein Zusammenhang mit dem PER3 Genotyp konnte nicht festgestellt werden, bis auf wenige Ausnahmen, die jedoch nicht als aussagekräftig beurteilt werden können.

Chellappa et al. konnten feststellen, dass vor allem Personen mit einem PER3 5/PER3 5 Genotyp besonders sensitiv auf Licht reagieren und im Speichel Melatonin anschließend supprimieren. [114]

Insgesamt waren jedoch bei Mitarbeitern und Bewohnern nur drei Probanden mit diesem Genotyp, so dass wahrscheinlich nicht ausreichend Probanden mit diesem speziellen Genotyp inkludiert waren, um einen möglichen Effekt beobachten zu können.

Es muss jedoch festgehalten werden, dass in beiden Studien zunächst die Genotypisierung durchgeführt und anschließend die Auswahl der Probanden in Abhängigkeit davon durchgeführt wurde. Ein solches Vorgehen war bei dieser Studie nicht möglich und auch nicht das primäre Ziel.

Auf eine Auswertung mittels Dim light melatonin onset musste leider aufgrund der niedrigen Melatoninwerte im Speichel verzichtet werden, da häufig der für die Auswertung von Speichelproben verwendete Schwellenwert von 3 pg/ml nicht von allen Probanden erreicht werden konnte. [103] Um genauere Aussagen über die Änderung des DLMO treffen zu können, müsste gegebenenfalls eine andere Art der Spiegelbestimmung wie Plasma in Betracht gezogen werden, welches höhere Werte auch in dieser Altersgruppe erreichen kann. [24]

Ebenfalls mit dem D-MEQ konnte kein Zusammenhang festgestellt werden, so dass in dieser Studie der Abend- oder Morgentyp erfreulicherweise keinen Einfluss auf die Effektivität der Lichttherapie hat.

Zu bedenken ist auch, dass bei älteren Menschen aufgrund der Degeneration der Linse häufig aufgrund der altersabhängigen Akkumulation von Pigmenten in der kristallinen Linse weniger Licht, vor allem mit einer kurzen Wellenlänge absorbiert wird. [115] Es wäre möglich gewesen, dass so ein Unterschied zwischen den Bewohnern und Mitarbeitern festgestellt werden könnte aufgrund der durch das Alter veränderten Struktur der Linse, die weniger Licht durchlässt. Trotz der, in dieser Altersgruppe häufigen, degenerativen Erkrankung scheint der gewählte Anteil an Licht sowie die Wellenlänge und Lux-Anzahl für einen Einfluss auf die Ganglienzellen passend gewählt worden zu sein. Somit kann dies ein Aspekt sein, der in zukünftigen Studien genauer untersucht werden kann.

Insgesamt konnte Melatonin nicht als passender Biomarker für die Beurteilung der Wirkung von blauwelligem Licht identifiziert werden, da trotz einer für die Probanden unproblematischen Abnahme und eine in Studien belegten, ausreichende Wirkung kein signifikanter Unterschied erkennbar ist.

Ein weiterer Aspekt ist, wie in dem Review von Figueiro et al. gut zusammengefasst wurde, wie unterschiedlich bisher die Dauer der Lichtexposition gewählt wurde. [73, 116, 117]

So wurde beispielsweise von Skjerve et al. oder Dowling et al. maximal 45 Minuten Exposition gewählt [116-118], während in dieser Studie deutlich längere Expositionszeiten über den Tag erreicht wurden. [119]

Die Studie mit einem ähnlichen Setting wie dem hier durchgeführten Design ist die von Riemersma- van der Lek et al. aus dem Jahr 2008, wobei jedoch ein Teil der Probanden zusätzlich noch Melatonin supplementiert erhielten. [77] Falls im weiteren Verlauf der Studie die Werte für Melatonin noch weiter ansteigen, könnte gegebenenfalls auf eine zusätzliche Gabe von Melatonin bei Schlaflosigkeit oder veränderten Tag-Wach-Rhythmus verzichtet werden, was bei dem ohnehin zur Multimediakation neigendem Patientenkollektiv sicherlich von Vorteil wäre. Leider ist nicht bekannt, ob Melatonin als Medikation bei einem Teil der Bewohner vorhanden war.

4.2.3 Ausblick

Falls möglich, wären hier sicherlich Untersuchungen mit einer größeren Fallzahl sinnvoll. Zudem wäre eine Betrachtung im weiteren Follow up wünschenswert, um den Ergebnissen nachzugehen, wie bei Riemersma- van der Lek et al., die die Probanden für 3,5 Jahre weiter begleitet hatten. [77]

Zusätzlich sollte in den anschließenden Studien in diesem Setting auf ausreichende Verwendung der Leuchten vermehrt geachtet werden und die Bedeutung der möglichst andauernden Verwendung der Lampen auch in Informationsveranstaltungen deutlicher vermittelt werden

4.3 Cortisol

Es konnten keine relevanten Unterschiede im Cortisolgehalt im Haar zwischen den Probanden in der Licht- und in der Vergleichsgruppe festgestellt werden.

Wie auch zuvor bereits von Mayer et al. bei Medizinstudenten festgestellt, kann kein Zusammenhang zwischen Cortisol im Haar und Depression hergestellt werden. [120]

Es scheint also, dass der Cortisolgehalt kein ausreichender biologischer Marker für die Antwort auf Lichttherapien ist, obwohl verbesserter Schlaf-Wach-Rhythmus auch zu einer Reduktion des Stresses führt. [121, 122]

Gegebenenfalls ist aber auch ein anderer Zeitpunkt sinnvoll. So wurden in manchen Studien höhere Cortisollevel im Sommer im Haar gefunden [123]. Dies widerspricht jedoch dem Design dieser Studie, da für eine möglichst große Auswirkung der Studienbeleuchtung als Zeitpunkt der Winter mit wenig natürlichem Licht zu wählen ist.

Staufebiel et al. konnten auch nachweisen, dass das Färben der Haare zu niedrigeren Cortisolwerten führt, was in dieser Studie ebenfalls nicht berücksichtigt wurde. [123]

4.4 BDNF

Es konnte kein signifikanter Unterschied in den BDNF-Spiegeln im Serum zwischen der Licht- und der Kontrollgruppe gefunden werden. Auch ein Einfluss des Valin-Methionin-Polymorphismus konnte nicht gefunden werden.

Es hat sich jedoch bei den Bewohnern ein signifikanter Anstieg des BDNF im Plasma im Studienverlauf im Vergleich zu den Ausgangswerten (Baseline) gezeigt.

BDNF ist ein weithin erforschter Faktor, der die Neuroplastizität erhöht. Es stimuliert die Plastizität von Neuronen und sorgt für die Bildung neuer Neuronen, Dendriten und Synapsen. [40]

Es wurde auch im Zusammenhang neurologischer und psychiatrischer Erkrankung ausreichend untersucht. [124, 125] So konnte bei Alzheimer Patienten ein starker Zusammenhang zwischen Kognition und kognitiven Fähigkeiten und den BDNF-Leveln im Plasma gezeigt werden. [126]

Passenderweise konnten auch von Molendijk et al. ein saisonaler Unterschied in der BDNF-Sekretion und ein starker Zusammenhang zwischen der Konzentration im Plasma und der Menge an Sonnenlicht nachgewiesen werden. [127]

Es scheint sich nach den Ergebnissen in dieser Studie jedoch auf Sonnenlicht zu begrenzen und keinen eindeutigen Einfluss durch blauwelliges Licht zu nehmen. Konträr dazu steht aber, dass auch Depressionen durch Licht positiv beeinflusst werden können [128], jedoch konnte in der Wirkung von Lichttherapie mit blauem Licht kein eindeutiger Zusammenhang dazu entdeckt werden, so dass in diesem Feld weitere Studien notwendig sind. [113]

Auch ein möglicher Einfluss des single nucleotid Polymorphismus mit Valin und Methionin bei BDNF konnte nicht bestätigt werden. Wie bereits erwähnt, wurde bisher vor allem eine Homozygotie mit Methionin/Methionin mit kognitiven Defiziten assoziiert [46, 129] und dieser Typ war bei den Bewohnern gar nicht vorhanden und auch bei den Mitarbeitern nur wenig.

Falls dieser Effekt genauer untersucht werden sollte, wäre es möglicherweise sinnvoll, wie bereits bei den anderen zitierten Studien erfolgt, von Beginn an die

Probanden zu testen und zu stratifizieren. Sodass sichergestellt ist, dass eine ausreichend große Gruppe an homozygoten Trägern für den Polymorphismus vorhanden ist, um eine größere Effektstärke genauer beleuchten zu können.

Ausschließlich bei den Bewohnern konnte ein signifikanter Unterschied bereits zur zweiten Visite festgestellt werden.

Da die Studienbeleuchtung als relevanter Einflussfaktor ausgeschlossen werden konnte, wäre ein möglicher weiterer Faktor, dass dieser Anstieg durch das in der Studie durchgeführte Training, also das Ausfüllen von Fragebögen und die Reaktionstests möglich wäre. Ebenfalls muss berücksichtigt werden, dass sich das Tageslicht während der Studie änderte und die Testungen ebenfalls zu unterschiedlichen Uhrzeiten durchgeführt wurden, so dass eine Vergleichbarkeit erschwert wird.

Es wurde in mehreren Studien wie bei Rasmussen et al. nachgewiesen, dass bereits kurzzeitiges Ausdauertraining die Serumwerte des Faktors erhöhen kann. [43]

Demzufolge kann also durch die erhöhte geistige Aktivität der Bewohner während der Studie durch die verschiedenen Instrumente ein Anstieg hervorgerufen worden sein.

Andererseits wurde außer dem Test für die Reaktionsfähigkeit (Auretim) das Ausfüllen von Fragebögen durchgeführt, was eher eine Geistige als eine körperliche Anstrengung darstellt.

Ein weiterer möglicher Ansatzpunkt ist, dass durch die Intervention eine höhere Aktivität während der Phase der Studie bestand, welche sich ebenfalls auf BDNF auswirken kann. [40, 46]

Auch wenn sich BDNF als kein sinnvoller Biomarker für nichtvisuelle Lichtwirkungen erwiesen hat, wären ein Vergleich zwischen geistigen und körperlichen Tätigkeiten und deren Einfluss auf BDNF in einem größeren Patientenkollektiv sicherlich für folgende Untersuchungen interessant. Vor allem da der genaue Weg, wie über physische Aktivitäten die Konzentrationen des neurotrophen Faktors beeinflusst wird, noch unbekannt ist. [130]

Es konnte auch keine signifikante Korrelation der BDNF-Konzentration mit dem Alter nachgewiesen werden, was dafür spricht, dass in dieser Studie der Anstieg von BDNF unabhängig vom Alter zu beobachten war. Konträr dagegen konnte jedoch bei den Mitarbeitern wie bereits zuvor berichtet, kein signifikanter Unterschied im Vergleich zu den Visiten festgestellt werden.

Zusammengefasst scheint BDNF kein eindeutiger biologischer Marker für die nicht visuelle Wirkung von Licht darzustellen, da er möglicherweise zu viel von anderen Faktoren beeinflusst wird.

Und es bestätigt sich, wie bereits bei den Ergebnissen des Melatonins, dass die Mitarbeiter wahrscheinlich durch die Schichtarbeit zu wenig von dem blauwelligen Licht beeinflusst wurden, um eine Aussage treffen zu können.

4.4.1 Ausblick

Einflussfaktoren bei der Sekretion von BDNF außer körperlichem Training scheinen noch nicht ausreichend Gegenstand der aktuellen Forschung zu sein, um in bereits in der Nihil Studie verwenden zu können. Ein möglicher Einfluss des Lichts konnte jedoch ausgeschlossen werden. Daher wären weitere, sich anschließende Studien wünschenswert, um herauszufinden welche Art von körperlichem oder geistigem Training sinnvoll wäre, um eine höhere Neuroplastizität bei Senioren zu fördern.

4.5 Epigenetik und BDNF

Signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und Probanden in der Lichtgruppe können für keine der untersuchten CpG-Sites gefunden werden. Es konnte jedoch ein signifikanter Unterschied in einigen CPG-Sites über den zeitlichen Verlauf detektiert werden.

BDNF4 ist in der Epigenetik vor allem in Zusammenhang mit psychiatrischen Erkrankungen untersucht worden. Zusätzlich scheint es im Alter beispielsweise bei Mäusen zu veränderten Methylierungen zu kommen. [63]

Ebenfalls konnte entdeckt werden, dass eine Hypermethylierung der Promotorregion von BDNF bei Depressionen häufig vorliegt. [64, 65]

Blauwelliges Licht scheint also kein Faktor auf die Methylierung der DNA in der BDNF-Promotorregion zu sein. Jedoch decken sich die Ergebnisse mit den Werten im Serum, so dass mit den Serumwerten auch die Methylierung steigt. Dies widerspricht der Tatsache, dass durch die höhere Methylierung üblicherweise die Expression des Gens abnimmt. Gegebenenfalls kann in weiteren Studien ein größerer Abschnitt des für BDNF kodierenden Genomabschnittes beleuchtet werden. Alternativ zeigen sich in der Nachuntersuchung im zweiten Winter über einen längeren Zeitraum andere Ergebnisse. Es wäre auch möglich, dass der Zeitraum der Intervention für eine Veränderung der Methylierung nicht ausgereicht hat und eine längere Phase mit der Studienbeleuchtung andere Ergebnisse zeigen würde.

Auch eine Analyse anderer Gen-Regionen, die beispielsweise mehr mit Alzheimer assoziiert werden, wie APP, PS1 oder BACE1, ist denkbar, da häufig auch Vorstufen einer möglichen Demenz bei den Bewohnern auftreten könnten im weiteren Verlauf. Diese wären besser für eine Studie geeignet, da BDNF Hyper- oder Hypomethylierungen bisher vor allem bei psychiatrischen Erkrankungen wie bipolarer Störung oder Schizophrenie signifikante Ergebnisse zu verzeichnen hatten. [57, 131]

Im Vergleich der verschiedenen Visiten zur Baseline konnten vereinzelt signifikante Unterschiede in CPG-Sites festgestellt werden. Dies unterschied sich je nach Zugehörigkeit der Probanden zu den Bewohnern oder Mitarbeitern. Mit einer größeren Fallzahl könnten solche Unterschiede möglicherweise auch im globalen Kollektiv erkennbar werden. Nachdem bisher keine Untersuchung des BDNF4 auf der Ebene der DNA-Methylierung unter dem Einfluss von

blauwelligem Licht durchgeführt wurde, sind diese notwendig und sicher auch der Einschluss weiterer Regionen, um genauere Analysen vornehmen zu können. Insgesamt scheint BDNF jedoch kein epigenetischer Biomarker zu sein.

Durch den Val66Met single nucleotid Polymorphismus konnte in der statistischen Analyse mittels ANOVA ebenfalls kein signifikanter Einflussfaktor festgestellt werden. Somit scheint auch für Individuen mit einer homozygoten Variante für Methionin/Methionin oder Valin/Valin kein Unterschied weder in den BDNF-Serumwerten noch in der Methylierung zu existieren. Dabei scheint sich zu bestätigen, dass die Studienlage zu Val66Met inkonklusiv ist, so konnte beispielsweise auch je nach Studie bei Angststörungen sowohl bewiesen werden, dass Val66Met anfälliger macht, als auch, dass kein Einfluss dieses Polymorphismus besteht. [132, 133] Auch eine Unterschied in den Serumwerten von BDNF abhängig von Val66Met konnte nicht aufgefunden gemacht werden, obwohl andere Studien dies durchaus zeigen konnten wie beispielsweise Chu et al.[134] Auch hier verweisen die Autoren auf die unterschiedliche Methodik und darauffolgend unklare Datenlage.

Eine weitere Beobachtung ist der, dass sowohl die Serumwerte für BDNF von durchschnittlich 26,62 ng/ml im Verlauf angestiegen ist auf beispielsweise 37,71 ng/ml nach 12 Wochen. Auch die durchschnittliche Methylierung stieg je nach CpG-Site unterschiedlich an von einem Mittelwert von 10,4% auf 12,1%. Dies widerspricht der Tatsache, dass durch die Methylierung die Transkription reduziert wird und damit weniger des Gens exprimiert wird.[135] Neuere Studien zeigen jedoch, dass bis zu 30% methylierter CpG-Sites exprimiert werden. [136] Zusätzlich wird der Signalweg von BDNF mit seinen verschiedenen Promotorregionen aktuell durch die Entdeckung damit zusammenhängender Transmitter besser verstanden, kann aber bisher vor allen an Mäusen reproduziert werden. So konnten Transmitter der CREB Familie (cAMP-response element binding) als Inhibitoren für die Expression des BDNF Exons VI in Mäusen identifiziert werden. [137] Die Ergebnisse müssen jedoch noch im Menschen ausreichend untersucht werden.

Möglicherweise ist ein solcher Signalweg der Grund für die steigende Methylierung trotz durch höhere Serumwerte belegte steigende Genexpression. Vor allem wenn man den Faktor miteinbezieht, dass in neuen Studien wie beispielsweise Tuvikene et al. nachgewiesen wurde, dass über den TrkB Rezeptor sich BDNF auch autoregulieren kann und so seine Expression steigern kann. [138]

Insgesamt konnten wir somit auch in unserer Studie belegen, dass die genaue Genregulation und Expression von BDNF noch nicht vollständig verstanden wird.

Hier wären ebenfalls weitere Studien zur Untersuchung anderer Variablen sinnvoll.

4.6 Ausblick und praktische Konsequenzen

Die NiviL Studie sollte weitere Teilaspekte bei der Erforschung von Licht an Senioren liefern. Ein besonderer Schwerpunkt lag dabei auf der praktischen Anwendung, so dass auf möglichst kontrollierbare Laborbedingungen bewusst verzichtet wurde. Deswegen war es den Probanden ebenfalls möglich, sich zwischen den verschiedenen Lichtbedingungen hin- und her zu bewegen, die Räume zu verlassen oder die Leuchten auszuschalten.

Eine Doppelverblindung war aufgrund der Aufteilung in Stockwerke nicht möglich, so dass unbekannte Variablen Einfluss nehmen konnten.

Niedrige Melatoninwerte im Speichel bei Senioren konnten erneut bestätigt werden. [6]

Ein Einfluss des Lichtes auf die untersuchten biologischen Marker konnte nicht eindeutig festgestellt werden.

Trotzdem ließ sich beispielsweise ein deutlicher Anstieg der BDNF-Serumlevel über den Untersuchungszeitraum beobachten.

Insgesamt wurde die Lichteinstellungen sowohl von Mitarbeitern und Senioren als positiv bewertet, obwohl der erhöhte Blaulichtanteil teilweise als blendend empfunden wurde, was gegebenenfalls auf eine zu hohe Beleuchtungsstärke schließen lässt. Trotzdem beschlossen die beiden untersuchten

Seniorenzentren, die Leuchten zu behalten und nach dem Untersuchungszeitraum nicht auszutauschen.

Es konnte keine der in Abschnitt 1.8 aufgestellten Hypothese eindeutig bestätigt werden. Gegebenenfalls könnte in Anlehnung an die Studie von Riemersma-Van-der Lek et al. eine Verlängerung des Zeitraums mit der Beleuchtung mit Blaulichtanteil oder eine Verlängerung des Untersuchungszeitraumes sinnvoll sein. [77]

Erfreulicherweise scheinen genetische Polymorphismen keinen Einfluss auf eine Suszeptibilität bezüglich des Lichts aufzuweisen.

Insgesamt können durch die hohe Akzeptanz der Beleuchtungseinstellungen auch andere Beleuchtungsszenarien erprobt werden und unter Beachtung der Fehlerquellen, wie beispielsweise des Wartens der Senioren auf die Untersucher, folgende Studien genauere Ergebnisse liefern. Bezüglich der Biomarker scheint Melatonin trotzdem aufgrund der Vielzahl von Voruntersuchungen am erfolgversprechendsten zu sein. [11, 15, 76]

Vor allem da Melatonin auch als Medikament bei Schlafstörungen zum Einsatz kommt [139], wäre eine Unterstützung der Sekretion durch nicht pharmakologische Methoden wünschenswert.

Im Rahmen einer Folgestudie im Feld sollte strikt auf die Umsetzung des Studienprotokolls geachtet werden. Das beinhaltet eine flächendeckendere Verwendung der Lampen während des Untersuchungszeitraumes und die Vermeidung oder Reduktion möglicher Fehlerquellen, wie beispielsweise die Nutzung von Licht, um auf die Speichelprobe zu warten. Zu Überlegen wäre, welche Maßnahmen besonders zielführend sind. Also ob durch ausführlichere Information für die Studienteilnehmer oder umfassendere Schulung der Mitarbeiter oder andere Möglichkeiten diese Fehler zu umgehen sind.

Bezüglich der Neuroplastizität wäre ein verlässlicher Marker, der eine Aussage über mögliche Therapien oder Behandlungsansätze bei Senioren unterstützen kann, sicherlich ebenfalls sinnvoll. BDNF scheint jedoch teils noch nicht bekannte

Einflussvariablen zu haben, die nicht vollständig verstanden sind. Licht kann dabei zumindest nach den Ergebnissen dieser Studie ausgeschlossen werden. Insgesamt sollten mögliche Unterstützungen des Schlaf-Wach-Rhythmus bei Senioren bei dem sich aktuell vollziehendem demographischen Wandel weiterhin Gegenstand der Forschung bleiben.

5 Zusammenfassung

Die Wirkung von blauwelligem Licht auf den Organismus und die hormonellen Regulationsmechanismen des Menschen sind aktuell Gegenstand ausführlicher Forschung. Es konnten in verschiedenen Studien beispielsweise eine höhere Aktivität und eine Reduktion des Auftretens von Depressionen nachgewiesen werden. [77, 119] Es ist jedoch unklar, wie groß der Einfluss ist und wie genau die Beleuchtung hinsichtlich der nicht visuellen Wirkungen optimiert werden kann.

Es erhärtete sich in den letzten Jahren der Verdacht, dass es über die Retina im Auge eine Interaktion zwischen Biomarkern und nichtvisueller Lichtwirkung gibt. Dies könnte neue Möglichkeiten für die Therapie von beispielsweise Schlafproblemen und die Lebensqualität im Alter bieten. Melatonin wurde bereits in mehreren Studien untersucht. [77, 140] In dieser Arbeit wurden zusätzlich Cortisol und BDNF als weitere mögliche Biomarker genauer betrachtet. Die Methylierung von Promotorregionen wird als reversibler Prozess angesehen, der von äußeren Faktoren beeinflusst wird. Folglich drängt sich die Frage auf, ob möglicherweise auch eine längerfristige Beleuchtung als nichtvisuelle Wirkung diese beeinflussen kann. Weitere Forschung ist also notwendig. Es wurden Speichel-, Haar- und Vollblutproben von 40 Bewohnern und 28 Mitarbeitern gesammelt. Zusätzlich wurden psychometrische Skalen angewendet, um die Lebensqualität über den Verlauf zu dokumentieren. Es erfolgte eine Analyse mittels ELISA; der Methylierungsstatus wurde durch Pyrosequenzierung analysiert.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Probanden in der dynamischen Lichtgruppe und in der Kontrollgruppe sowie kein Einfluss der Therapie auf die Methylierung. Jedoch konnte graphisch eine höhere Melatoninkonzentration der Bewohner über den Verlauf der Studie gezeigt werden. Dies konnte unabhängig von Einflussfaktoren wie beispielsweise PER3 festgestellt werden. Somit konnte dieses Hormon als möglicher Biomarker für die nichtvisuelle Wirkung von Licht identifiziert werden. Weder Cortisol noch BDNF

konnten hingegen als Biomarker identifiziert werden. Es konnte jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den BDNF-Werten vor und nach der Intervention festgestellt werden, was unabhängig vom Licht auf eine Aktivierung der Neuroplastizität durch die Studie hindeuten kann. Die genauere Erforschung und Anwendung von Melatonin als Biomarker für einen Erfolg von verschiedener Beleuchtung bedarf jedoch weiterer Forschung.

6 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe für molekulare Psychiatrie der Universitätsklinik Tübingen für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen durchgeführt.

Das Studiendesign wurde von der Arbeitsgruppe Nichtvisuelle Lichtwirkungen (NiVil) erdacht, Betreuung übernahm Frau Jun.-Prof. Nieratschker. Ebenfalls bei der Betreuung haben Dr. Tobias Peters, Dr. Mihail Mladinov und Christof Brückmann mitgewirkt. Die Rekrutierung der Probanden sowie der Einbau der Studienbeleuchtung erfolgte unter der Anleitung der Studiengruppe. Die Blut- und Speichelentnahme sowie Entnahme der Haarproben wurde seit Oktober 2016 zum Teil von mir übernommen. Dies betrifft ebenfalls viele Kontrollprobanden, sowie einen Großteil der Patienten.

Die Durchführung der Cortisolmessung im Haar erfolgte im biochemischen Labor der technischen Universität Dresden.

Die Weiterverarbeitung der Proben bis hin zur Sequenzierung und statistischen Analyse war nach Einarbeitung durch Christof Brückmann ebenfalls vollständig mir übertragen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Blut-, Speichel- sowie Haarproben verwertet. Die statistische Auswertung erfolgte durch mich. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Alle enthaltenen und nicht anders markierten Abbildungen wurden von mir erstellt.

22.07.2023

Anne Sophie Meixner

7 Literaturverzeichnis

1. Finger, A.M. and A. Kramer, *Mammalian circadian systems: Organization and modern life challenges*. Acta Physiol (Oxf), 2021. **231**(3): p. e13548.
2. Finger, A.M., C. Dibner, and A. Kramer, *Coupled network of the circadian clocks: a driving force of rhythmic physiology*. FEBS Lett, 2020. **594**(17): p. 2734-2769.
3. Aschoff, J., *CIRCADIAN RHYTHMS IN MAN*. Science, 1965. **148**(3676): p. 1427-32.
4. Damiola, F., et al., *Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus*. Genes Dev, 2000. **14**(23): p. 2950-61.
5. Lewy A., *Bull. Soc. Light Treat. Biol. Rhythm* 1991, 3(4), 35. .
6. Sack, R.L., et al., *Human melatonin production decreases with age*. J Pineal Res, 1986. **3**(4): p. 379-88.
7. Boivin, D.B., et al., *Complex interaction of the sleep-wake cycle and circadian phase modulates mood in healthy subjects*. Arch Gen Psychiatry, 1997. **54**(2): p. 145-52.
8. Wahl, S., et al., *The inner clock-Blue light sets the human rhythm*. J Biophotonics, 2019. **12**(12): p. e201900102.
9. Provencio, I., et al., *Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998. **95**(1): p. 340-345.
10. Hannibal, J. and J. Fahrenkrug, *Neuronal input pathways to the brain's biological clock and their functional significance*. Adv Anat Embryol Cell Biol, 2006. **182**: p. 1-71.
11. Gooley, J.J., et al., *Exposure to room light before bedtime suppresses melatonin onset and shortens melatonin duration in humans*. J Clin Endocrinol Metab, 2011. **96**(3): p. E463-72.
12. Lockley, S.W., G.C. Brainard, and C.A. Czeisler, *High sensitivity of the human circadian melatonin rhythm to resetting by short wavelength light*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(9): p. 4502-5.
13. Foster, R.G., *Sleep, circadian rhythms and health*. Interface Focus, 2020. **10**(3): p. 20190098.
14. Tosini, G., I. Ferguson, and K. Tsubota, *Effects of blue light on the circadian system and eye physiology*. Mol Vis, 2016. **22**: p. 61-72.
15. Bonmati-Carrion, M.A., et al., *Protecting the melatonin rhythm through circadian healthy light exposure*. Int J Mol Sci, 2014. **15**(12): p. 23448-500.
16. Ostrin, L.A., *Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure*. Clin Exp Optom, 2019. **102**(2): p. 99-108.
17. Mirick, D.K. and S. Davis, *Melatonin as a biomarker of circadian dysregulation*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008. **17**(12): p. 3306-13.
18. Hartley, S., Y. Dauvilliers, and M.A. Quera-Salva, *Circadian Rhythm Disturbances in the Blind*. Curr Neurol Neurosci Rep, 2018. **18**(10): p. 65.
19. Czeisler, C.A., et al., *Bright light resets the human circadian pacemaker independent of the timing of the sleep-wake cycle*. Science, 1986. **233**(4764): p. 667-71.
20. Tricoire, H., et al., *Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess*. Endocrinology, 2002. **143**(1): p. 84-90.
21. Bourne, R.S. and G.H. Mills, *Melatonin: possible implications for the postoperative and critically ill patient*. Intensive Care Medicine, 2006. **32**(3): p. 371-379.
22. Bourne, R.S. and G.H. Mills, *Melatonin: possible implications for the postoperative and critically ill patient*. Intensive Care Med, 2006. **32**(3): p. 371-9.

23. Lüdemann, P., S. Zwernemann, and A. Lerchl, *Clearance of melatonin and 6-sulfatoxymelatonin by hemodialysis in patients with end-stage renal disease*. J Pineal Res, 2001. **31**(3): p. 222-7.
24. Nowak, R., et al., *The correlation between serum and salivary melatonin concentrations and urinary 6-hydroxymelatonin sulphate excretion rates: two non-invasive techniques for monitoring human circadian rhythmicity*. Clin Endocrinol (Oxf), 1987. **27**(4): p. 445-52.
25. Paprocka, J., et al., *Melatonin and Angelman Syndrome: Implications and Mathematical Model of Diurnal Secretion*. Int J Endocrinol, 2017. **2017**: p. 5853167.
26. Gunn, P.J., et al., *Sex differences in the circadian profiles of melatonin and cortisol in plasma and urine matrices under constant routine conditions*. Chronobiol Int, 2016. **33**(1): p. 39-50.
27. Zlotos, D.P., et al., *MT1 and MT2 melatonin receptors: ligands, models, oligomers, and therapeutic potential*. J Med Chem, 2014. **57**(8): p. 3161-85.
28. Levine, S., *Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis*. Eur J Pharmacol, 2000. **405**(1-3): p. 149-60.
29. Ehler, U., J. Gaab, and M. Heinrichs, *Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis*. Biol Psychol, 2001. **57**(1-3): p. 141-52.
30. Russell, E., et al., *Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions*. Psychoneuroendocrinology, 2012. **37**(5): p. 589-601.
31. Wennig, R., *Potential problems with the interpretation of hair analysis results*. Forensic Science International, 2000. **107**(1): p. 5-12.
32. Kirschbaum, C., et al., *Hair as a retrospective calendar of cortisol production—Increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy*. Psychoneuroendocrinology, 2009. **34**(1): p. 32-37.
33. Brown, S.A., et al., *Molecular insights into human daily behavior*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(5): p. 1602-7.
34. Shearman, L.P., et al., *Targeted disruption of the mPer3 gene: subtle effects on circadian clock function*. Mol Cell Biol, 2000. **20**(17): p. 6269-75.
35. Turco, M., et al., *Diurnal preference, mood and the response to morning light in relation to polymorphisms in the human clock gene PER3*. Scientific Reports, 2017. **7**(1): p. 6967.
36. Archer, S.N., et al., *A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference*. Sleep, 2003. **26**(4): p. 413-5.
37. Dieni, C.V., et al., *Low excitatory innervation balances high intrinsic excitability of immature dentate neurons*. Nat Commun, 2016. **7**: p. 11313.
38. Song, M., K. Martinowich, and F.S. Lee, *BDNF at the synapse: why location matters*. Mol Psychiatry, 2017. **22**(10): p. 1370-1375.
39. Chacón-Fernández, P., et al., *Brain-derived Neurotrophic Factor in Megakaryocytes*. J Biol Chem, 2016. **291**(19): p. 9872-81.
40. Eadie, B.D., V.A. Redila, and B.R. Christie, *Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density*. J Comp Neurol, 2005. **486**(1): p. 39-47.
41. Je, H.S., et al., *Role of pro-brain-derived neurotrophic factor (proBDNF) to mature BDNF conversion in activity-dependent competition at developing neuromuscular synapses*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(39): p. 15924-9.

42. de Assis, G.G. and K.M. de Almondes, *Exercise-dependent BDNF as a Modulatory Factor for the Executive Processing of Individuals in Course of Cognitive Decline. A Systematic Review*. Front Psychol, 2017. **8**: p. 584.
43. Rasmussen, P., et al., *Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise*. Exp Physiol, 2009. **94**(10): p. 1062-9.
44. Lommatzsch, M., et al., *The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma*. Neurobiol Aging, 2005. **26**(1): p. 115-23.
45. Ward, D.D., et al., *The BDNF Val66Met polymorphism moderates the relationship between cognitive reserve and executive function*. Transl Psychiatry, 2015. **5**(6): p. e590.
46. Egan, M.F., et al., *The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function*. Cell, 2003. **112**(2): p. 257-69.
47. Portela, A. and M. Esteller, *Epigenetic modifications and human disease*. Nat Biotechnol, 2010. **28**(10): p. 1057-68.
48. Javierre, B.M., et al., *Changes in the pattern of DNA methylation associate with twin discordance in systemic lupus erythematosus*. Genome Res, 2010. **20**(2): p. 170-9.
49. Dugué, P.A., et al., *DNA methylation-based biological aging and cancer risk and survival: Pooled analysis of seven prospective studies*. Int J Cancer, 2018. **142**(8): p. 1611-1619.
50. Skinner, M.K., *Environmental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability*. Epigenetics, 2011. **6**(7): p. 838-42.
51. Jirtle, R.L. and M.K. Skinner, *Environmental epigenomics and disease susceptibility*. Nat Rev Genet, 2007. **8**(4): p. 253-62.
52. Waterland, R.A., et al., *Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor 2 (Igf2) locus*. Hum Mol Genet, 2006. **15**(5): p. 705-16.
53. Koemel, N.A. and M.R. Skilton, *Epigenetic Aging in Early Life: Role of Maternal and Early Childhood Nutrition*. Current Nutrition Reports, 2022. **11**(2): p. 318-328.
54. Li, E., *Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development*. Nat Rev Genet, 2002. **3**(9): p. 662-73.
55. Klose, R.J. and A.P. Bird, *Genomic DNA methylation: the mark and its mediators*. Trends Biochem Sci, 2006. **31**(2): p. 89-97.
56. Edwards, J.R., et al., *DNA methylation and DNA methyltransferases*. Epigenetics Chromatin, 2017. **10**: p. 23.
57. Lu, H., et al., *DNA methylation, a hand behind neurodegenerative diseases*. Front Aging Neurosci, 2013. **5**: p. 85.
58. Han, H., et al., *DNA methylation directly silences genes with non-CpG island promoters and establishes a nucleosome occupied promoter*. Hum Mol Genet, 2011. **20**(22): p. 4299-310.
59. Arechederra, M., et al., *Hypermethylation of gene body CpG islands predicts high dosage of functional oncogenes in liver cancer*. Nat Commun, 2018. **9**(1): p. 3164.
60. Mittelstaedt, N.N., et al., *DNA Methylation and Immune Memory Response*. Cells, 2021. **10**(11).
61. Mastroeni, D., et al., *Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease*. PLoS One, 2009. **4**(8): p. e6617.
62. Jones, P.A., J.P. Issa, and S. Baylin, *Targeting the cancer epigenome for therapy*. Nat Rev Genet, 2016. **17**(10): p. 630-41.
63. Palomer, E., et al., *Aging Triggers a Repressive Chromatin State at Bdnf Promoters in Hippocampal Neurons*. Cell Rep, 2016. **16**(11): p. 2889-2900.

64. Li, M., et al., *What do DNA methylation studies tell us about depression? A systematic review*. *Transl Psychiatry*, 2019. **9**(1): p. 68.
65. Hashimoto, K., *Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions*. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2010. **64**(4): p. 341-57.
66. Orozco-Solis, R., et al., *A Circadian Genomic Signature Common to Ketamine and Sleep Deprivation in the Anterior Cingulate Cortex*. *Biol Psychiatry*, 2017. **82**(5): p. 351-360.
67. White, A.J., et al., *Shift work, DNA methylation and epigenetic age*. *Int J Epidemiol*, 2019. **48**(5): p. 1536-1544.
68. Gonzales, M.M., et al., *Biological aging processes underlying cognitive decline and neurodegenerative disease*. *J Clin Invest*, 2022. **132**(10).
69. Tatineny, P., et al., *Sleep in the Elderly*. *Mo Med*, 2020. **117**(5): p. 490-495.
70. Edwards, B.A., et al., *Aging and sleep: physiology and pathophysiology*. *Semin Respir Crit Care Med*, 2010. **31**(5): p. 618-33.
71. Duffy, J.F., K.M. Zitting, and E.D. Chinoy, *Aging and Circadian Rhythms*. *Sleep Med Clin*, 2015. **10**(4): p. 423-34.
72. Tao, L., et al., *Light therapy in non-seasonal depression: An update meta-analysis*. *Psychiatry Res*, 2020. **291**: p. 113247.
73. Figueiro, M.G., et al., *Tailored lighting intervention improves measures of sleep, depression, and agitation in persons with Alzheimer's disease and related dementia living in long-term care facilities*. *Clin Interv Aging*, 2014. **9**: p. 1527-37.
74. Vandewalle, G., P. Maquet, and D.J. Dijk, *Light as a modulator of cognitive brain function*. *Trends Cogn Sci*, 2009. **13**(10): p. 429-38.
75. Smith, V.C. and J. Pokorny, *Spectral sensitivity of the foveal cone photopigments between 400 and 500 nm*. *Vision Res*, 1975. **15**(2): p. 161-71.
76. Herljevic, M., et al., *Light-induced melatonin suppression: age-related reduction in response to short wavelength light*. *Exp Gerontol*, 2005. **40**(3): p. 237-42.
77. Riemersma-van der Lek, R.F., et al., *Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial*. *Jama*, 2008. **299**(22): p. 2642-55.
78. Aging, N.I.o. *Alzheimer's Disease fact sheet 2023* [cited 2019 03.03.2019]; Available from: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet>.
79. Kondratov, R.V., *A role of the circadian system and circadian proteins in aging*. *Ageing Res Rev*, 2007. **6**(1): p. 12-27.
80. Colenda, C.C., et al., *Phototherapy for patients with Alzheimer disease with disturbed sleep patterns: results of a community-based pilot study*. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 1997. **11**(3): p. 175-8.
81. Foley, D.J., et al., *Sleep complaints among elderly persons: an epidemiologic study of three communities*. *Sleep*, 1995. **18**(6): p. 425-32.
82. Blackwell, T., et al., *Associations of objectively and subjectively measured sleep quality with subsequent cognitive decline in older community-dwelling men: the MrOS sleep study*. *Sleep*, 2014. **37**(4): p. 655-63.
83. Swaab, D.F., E. Fliers, and T.S. Partiman, *The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia*. *Brain Res*, 1985. **342**(1): p. 37-44.
84. Pollak, C.P. and D. Perlick, *Sleep problems and institutionalization of the elderly*. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 1991. **4**(4): p. 204-10.
85. Kim, J.H., A.R. Elkhadem, and J.F. Duffy, *Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders in Older Adults*. *Sleep Med Clin*, 2022. **17**(2): p. 241-252.
86. Yesavage, J.A. and J.I. Sheikh, *9/Geriatric Depression Scale (GDS)*. *Clinical Gerontologist*, 1986. **5**(1-2): p. 165-173.

87. Geriatrie, M.K. *Assessments in der Geriatrie Bereich Emotion*. [cited 2019 1.07.2019]; Available from: [https://kcgeriatrie.de/Assessments in der Geriatrie/Seiten/Bereich - Emotion.aspx](https://kcgeriatrie.de/Assessments%20in%20der%20Geriatrie/Seiten/Bereich%20-%20Emotion.aspx).
88. Syed, H. and G. Swanwick, *Does the geriatric depression scale have utility for measuring depression severity?* Int Psychogeriatr, 2017. **29**(5): p. 873-874.
89. Smarr, K.L. and A.L. Keefer, *Measures of depression and depressive symptoms: Beck Depression Inventory-II (BDI-II), Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D), Geriatric Depression Scale (GDS), Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS), and Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9)*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2011. **63 Suppl 11**: p. S454-66.
90. Muñoz-Navarro, R., et al., *Utility of the PHQ-9 to identify major depressive disorder in adult patients in Spanish primary care centres*. BMC psychiatry, 2017. **17**(1): p. 291-291.
91. Trzepacz, P.T., et al., *Relationship between the Montreal Cognitive Assessment and Mini-mental State Examination for assessment of mild cognitive impairment in older adults*. BMC geriatrics, 2015. **15**: p. 107-107.
92. Geriatrie, M.K., *Assessments in der Geriatrie Bereich Kognition*.
93. Griefahn, B., et al., *Zur Validität der deutschen Übersetzung des Morningness-Eveningness-Questionnaires von Horne und Östberg*. Somnologie - Schlafforschung und Schlafmedizin, 2001. **5**(2): p. 71-80.
94. IBL. *Melatonin direct Saliva ELISA 2019* 03.03.2019]; Available from: <http://ruo.mbl.co.jp/bio/e/support/method/images/elisa-kyougou.png>.
95. Biosensis, *Mature BDNF Rapid ELISA Kit : Human, Mouse, Rat* 2018: Biosensis.
96. https://www.researchgate.net/figure/Example-of-an-allelic-discrimination-plot-TaqMan-R-Genotyper-Software-is-a-standalone_fig9_318590832 [accessed 12 May, 2023, G.p.p.r.t.a.-t.n.f.t.i.C.s.d.-S.F.o.R.A.f.
97. (OMIM), O.M.I.i.M. 2019; Available from: <https://omim.org/entry/113505>.
98. Information, N.N.C.f.B. 2019; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/>.
99. Scientific, A.B.T., *TaqMan® SNP Genotyping Assays USER GUIDE Single-tube assays*.
100. blogs, S. [cited 2019 05.03.2019]; Available from: [http://scienceblogs.de/bloodnacid/files/2015/09/bisulfit-www.methylogix.com .jpg](http://scienceblogs.de/bloodnacid/files/2015/09/bisulfit-www.methylogix.com.jpg).
101. Harkey, M.R., *Anatomy and physiology of hair*. Forensic Science International, 1993. **63**(1): p. 9-18.
102. de Almeida, E.A., et al., *Measurement of melatonin in body fluids: standards, protocols and procedures*. Childs Nerv Syst, 2011. **27**(6): p. 879-91.
103. Rzepka-Migut, B. and J. Paprocka, *Melatonin-Measurement Methods and the Factors Modifying the Results. A Systematic Review of the Literature*. Int J Environ Res Public Health, 2020. **17**(6).
104. Jackson, S.E., C. Kirschbaum, and A. Steptoe, *Hair cortisol and adiposity in a population-based sample of 2,527 men and women aged 54 to 87 years*. Obesity (Silver Spring, Md.), 2017. **25**(3): p. 539-544.
105. Silvani, M.I., R. Werder, and C. Perret, *The influence of blue light on sleep, performance and wellbeing in young adults: A systematic review*. Front Physiol, 2022. **13**: p. 943108.
106. Benloucif, S., et al., *Measuring melatonin in humans*. J Clin Sleep Med, 2008. **4**(1): p. 66-9.

107. Sander, B., et al., *Can sleep quality and wellbeing be improved by changing the indoor lighting in the homes of healthy, elderly citizens?* Chronobiol Int, 2015. **32**(8): p. 1049-60.
108. Balaji, T.M., H.R. Vasanthi, and S.R. Rao, *Gingival, plasma and salivary levels of melatonin in periodontally healthy individuals and chronic periodontitis patients: a pilot study.* J Clin Diagn Res, 2015. **9**(3): p. Zc23-5.
109. Brismar, K., L. Mogensen, and L. Wetterberg, *Depressed melatonin secretion in patients with nightmares due to beta-adrenoceptor blocking drugs.* Acta Med Scand, 1987. **221**(2): p. 155-8.
110. Cowen, P.J., et al., *Treatment with beta-adrenoceptor blockers reduces plasma melatonin concentration.* Br J Clin Pharmacol, 1985. **19**(2): p. 258-60.
111. Murphy, P.J., B.L. Myers, and P. Badia, *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs alter body temperature and suppress melatonin in humans.* Physiol Behav, 1996. **59**(1): p. 133-9.
112. Pazan, F. and M. Wehling, *Polypharmacy in older adults: a narrative review of definitions, epidemiology and consequences.* Eur Geriatr Med, 2021. **12**(3): p. 443-452.
113. Do, A., et al., *Blue-Light Therapy for Seasonal and Non-Seasonal Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials.* Can J Psychiatry, 2022. **67**(10): p. 745-754.
114. Chellappa, S.L., et al., *Human melatonin and alerting response to blue-enriched light depend on a polymorphism in the clock gene PER3.* J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(3): p. E433-7.
115. Petrash, J.M., *Aging and age-related diseases of the ocular lens and vitreous body.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013. **54**(14): p. Orsf54-9.
116. <figueira2017-review-light.pdf>
117. Figueiro, M.G., *Light, sleep and circadian rhythms in older adults with Alzheimer's disease and related dementias.* Neurodegener Dis Manag, 2017. **7**(2): p. 119-145.
118. Skjerve, A., et al., *Improvement in behavioral symptoms and advance of activity acrophase after short-term bright light treatment in severe dementia.* Psychiatry Clin Neurosci, 2004. **58**(4): p. 343-7.
119. Dowling, G.A., et al., *Effect of timed bright light treatment for rest-activity disruption in institutionalized patients with Alzheimer's disease.* Int J Geriatr Psychiatry, 2005. **20**(8): p. 738-43.
120. Mayer, S.E., et al., *Chronic stress, hair cortisol and depression: A prospective and longitudinal study of medical internship.* Psychoneuroendocrinology, 2018. **92**: p. 57-65.
121. Scott, A.J., et al., *Improving sleep quality leads to better mental health: A meta-analysis of randomised controlled trials.* Sleep Med Rev, 2021. **60**: p. 101556.
122. Nollet, M., W. Wisden, and N.P. Franks, *Sleep deprivation and stress: a reciprocal relationship.* Interface Focus, 2020. **10**(3): p. 20190092.
123. Staufenbiel, S.M., et al., *Determinants of hair cortisol and hair cortisone concentrations in adults.* Psychoneuroendocrinology, 2015. **60**: p. 182-94.
124. Erickson, K.I., D.L. Miller, and K.A. Roecklein, *The aging hippocampus: interactions between exercise, depression, and BDNF.* Neuroscientist, 2012. **18**(1): p. 82-97.
125. Chang, L., et al., *Elevation of peripheral BDNF promoter methylation links to the risk of Alzheimer's disease.* PLoS One, 2014. **9**(11): p. e110773.
126. Elahi, F.M., et al., *Plasma biomarkers of astrocytic and neuronal dysfunction in early- and late-onset Alzheimer's disease.* Alzheimers Dement, 2020. **16**(4): p. 681-695.

127. Molendijk, M.L., et al., *Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484)*. *Mol Psychiatry*, 2014. **19**(7): p. 791-800.
128. Paprocka-Borowicz, M., A. Trafalska, and W.A. Borowicz, *Efficacy of Phototherapy in Reducing the Symptoms of Depression in Patients Rehabilitated due to the Dysfunction of Locomotor System*. *Pielęgniarstwo i Zdrowie Publiczne Nursing and Public Health*, 2015. **5**(2): p. 121-130.
129. Colle, R., et al., *Plasma BDNF Level in Major Depression: Biomarker of the Val66Met BDNF Polymorphism and of the Clinical Course in Met Carrier Patients*. *Neuropsychobiology*, 2017. **75**(1): p. 39-45.
130. Murawska-Ciałowicz, E., et al., *BDNF Impact on Biological Markers of Depression-Role of Physical Exercise and Training*. *Int J Environ Res Public Health*, 2021. **18**(14).
131. Perroud, N., et al., *Interaction between BDNF Val66Met and childhood trauma on adult's violent suicide attempt*. *Genes Brain Behav*, 2008. **7**(3): p. 314-22.
132. Chen, K., et al., *Is the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene associated with panic disorder? A meta-analysis*. *Asia Pac Psychiatry*, 2017. **9**(2).
133. Otowa, T., et al., *No association between the brain-derived neurotrophic factor gene and panic disorder in Japanese population*. *J Hum Genet*, 2009. **54**(8): p. 437-9.
134. Chu, L., et al., *The Relationship Among BDNF Val66Met Polymorphism, Plasma BDNF Level, and Trait Anxiety in Chinese Patients With Panic Disorder*. *Front Psychiatry*, 2022. **13**: p. 932235.
135. Hackett, J.A., et al., *Germline DNA demethylation dynamics and imprint erasure through 5-hydroxymethylcytosine*. *Science*, 2013. **339**(6118): p. 448-52.
136. Mohn, F., et al., *Lineage-specific polycomb targets and de novo DNA methylation define restriction and potential of neuronal progenitors*. *Mol Cell*, 2008. **30**(6): p. 755-66.
137. Esvald, E.E., et al., *CREB Family Transcription Factors Are Major Mediators of BDNF Transcriptional Autoregulation in Cortical Neurons*. *J Neurosci*, 2020. **40**(7): p. 1405-1426.
138. Tuvikene, J., et al., *AP-1 Transcription Factors Mediate BDNF-Positive Feedback Loop in Cortical Neurons*. *J Neurosci*, 2016. **36**(4): p. 1290-305.
139. Cruz-Sanabria, F., et al., *Melatonin as a Chronobiotic with Sleep-promoting Properties*. *Curr Neuropharmacol*, 2023. **21**(4): p. 951-987.
140. Munch, M., et al., *Bright Light Delights: Effects of Daily Light Exposure on Emotions, Restactivity Cycles, Sleep and Melatonin Secretion in Severely Demented Patients*. *Curr Alzheimer Res*, 2017. **14**(10): p. 1063-1075.

8 Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meiner Doktormutter Prof. Dr. Vanessa Nieratschker bedanken. Durch sie hatte ich das Glück, eine hervorragende Betreuung und Unterstützung für diese Dissertation zu erfahren sowie einen zuverlässigen Ansprechpartner zu haben.

Ganz besonders geht mein Dank an das Team der Arbeitsgruppe Molekulare Psychiatrie und Dr. Mihovil Mladinov, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen und für sämtliche Probleme mit mir nach einer Lösung suchte.

Außerdem danke ich dem BMBF, das das Projekt NiviL finanziell unterstützte. So konnte eine ganz besondere Forschungsgruppe mit dem geriatrischen Zentrum am Universitätsklinikum Tübingen (UKT), dem Institut für physikalische Chemie des UKT, der Arbeitsgruppe Pupillenforschung des Departments für Augenheilkunde des UKT und der BruderhausDiakonie gebildet werden.

Zusätzlich danke ich meiner Familie, die mich stets unterstützt hat und meinen Geschwistern, dass sie mich auf den Boden der Tatsachen zurückgeholt haben.

Am Schluss möchte ich Albert danken, ohne dessen anhaltende Unterstützung und Motivation, diese Dissertation nicht fertig geworden wäre.