Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Katedra fyziologie živočichů

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Fyziologie živočichů

Bc. Kristina Gesztesová

Ověření vlivu umělého osvětlení simulujícího přirozenou fotoperiodu a spektrum na parametry cirkadiánních rytmů zdravých dobrovolníků

Assessment of the influence of artificial lighting simulating a natural photoperiod and spectrum on the parameters of circadian rhythms of healthy volunteers

Typ závěrečné práce:

Diplomová práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Zdeňka Bendová, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem uvedenou diplomovou práci vypracovala samostatně a řádně jsem uvedla veškeré použité informační zdroje a literaturu. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne:

Poděkování:

Chtěla bych moc poděkovat zejména paní doc. RNDr. Zdeňce Bendové, PhD. za trpělivé vedení a nedocenitelné rady při zpracování této diplomové práce. Dále mé obrovské díky patří Mgr. Kateřině Skálové a Mgr. Kateřině Červené, PhD., za pomoc při organizaci experimentu a zpracování dat.

Abstrakt

Střídáním světla a tmy na planetě Zemi došlo k vývoji endogenních systémů, které fungují s periodou zhruba 24 hodin. Tyto systémy označujeme jako cirkadiánní. Pro optimální fungování lidského cirkadiánního systému je zapotřebí pravidelné synchronizace pomocí vnějšího stimulu. Silným stimulem pro synchronizaci je pro člověka světlo, je však třeba podotknout, že výsledek této světelné synchronizace kriticky závisí na celé řadě faktorů. Mezi tyto faktory patří časování a doba trvání světelného pulzu, dále jsou zásadní parametry světla, jako je spektrum a intenzita. Běžně používané interiérové osvětlení často není pro lidský endogenní cirkadiánní systém optimální, proto se postupně začíná využívat alternativa tzv. biodynamického osvětlení (osvětlení adekvátně stimulující lidský organismus). V rámci experimentu jsme ověřovali vliv nově vytvořeného biodynamického osvětlení na parametry cirkadiánního rytmu zdravých dobrovolníků. Pomocí metod analýzy melatoninového profilu, analýzy teplotních záznamů a aktigrafie jsme vliv experimentálního osvětlení potvrdili.

Klíčová slova

Cirkadiánní systém, světlo, melatonin, světelná synchronizace, aktigrafie

Abstract

The alternation of light and darkness on planet Earth has led to the development of endogenous systems that operate with a period of roughly 24 hours. We refer to these systems as circadian. For optimal functioning of the human circadian system, regular synchronization by an external stimulus is required. Light is a strong stimulus for synchronization for humans, but it should be noted that the outcome of this light synchronization depends critically on a number of factors. These factors include the timing and duration of the light pulse, as well as light parameters like spectrum and intensity. Commonly used interior lighting is often not optimal for the human endogenous circadian system, which is why the alternative of so-called biodynamic lighting (lighting that adequately stimulates the human organism) is being used more lately. As part of the experiment, we verified the effect of the newly created biodynamic lighting on the parameters of the circadian rhythm of healthy volunteers. Using methods of melatonin profile analysis, analysis of temperature records and actigraphy, we confirmed the influence of our experimental lighting.

Key words

Circadian system, light, melatonin, light synchronization, actigraphy

Obsah

Seznam použitých zkratek 1
1. Úvod 2
2. Literární přehled 3
2.1. Cirkadiánní systém člověka 3
2.2. Molekulární mechanismus 7
2.3. Melatonin 8
2.4. Cirkadiánní výstup teploty a denní pohybové aktivity 12
2.5. Chronotypy 14
2.6. Světelná synchronizace 16
3. Cíle práce 20
4. Materiál a metody 21
4.1. Účastníci studie 21
4.2. Popis experimentu 22
4.2.1. Experimentální světla a světelný režim participantů 23
4.3. Sběr a zpracování dat 24
4.3.1. Melatonin 24
4.3.2. Teplotní senzory 25
4.3.3. Aktigrafie a spánkové deníky 26
4.4. Statistické zpracování dat 26
4.4.2. Teplotní senzory 27
4.4.3. Aktigrafie 27
4.4.4. Korelace fázových posunů melatoninu a teploty 27
5. Výsledky 29
5.1. Melatonin 29
5.2. Teplotní senzory 34
5.3. Korelace fázového posunu rytmu melatoninu a tělesné teploty 39
5.4. Aktigrafy 41
6. Diskuze 46
6.1. Design experimentu 46
6.2. Výsledky 47
6.2.1. Melatonin 48
6.2.2. Teplotní senzory 49
6.2.3. Aktigrafy 50

7. Závěr 52
Seznam literatury 53

Seznam použitých zkratek

AANAT	arylalkylamin N-acetyltransferáza
ANOVA	analýza variance
ANS	autonomní nervový systém
ASMT	acetylserotonin O-metyltransferáza
AUC	plocha pod křivkou
BC	bipolární buňky
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
ccgs	hodinami kontrolované geny
Cry	cryptochrom
DAC	dopaminergní amakrinní buňky
DBP	z angl. albumin D-site binding protein
dLGN	dorzální laterální genikulátní jádro
GABA	γ-aminomáselná kyselina
HLF	z angl. hepatetic leukemia factor
ipRGC	vnitřně fotosenzitivní retinální gangliové buňky
IS	mezidenní stabilita
IV	vnitrodenní variabilita
MEQ	z angl. morningness eveningness questionnaire
NPCRA	neparametrická cirkadiánní analýza
OPN	olivární pretektální jádro
PACAP	z angl. pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide
Per	period
PVN	paraventrikulární jádro hypothalamu
RA	relativní amplituda
RIA	radioimunologická esej
SAM	S-adenosylmethionin
SC	colliculi superior
SCG	superior cervical ganglion
SCN	suprachiasmatické jádro hypothalamu
TEF	z angl. thyrotroph embryonic factor
TP	tělesná teplota
TPH	tryptofan hydroxyláza

1. Úvod

V přírodě existuje řada dějů, u kterých dochází k jejich pravidelnému opakování. Typickým příkladem těchto změn v prostředí je střídání světla a tmy. U organismů na planetě Zemi proto došlo v průběhu evoluce k vývoji jejich vlastního – endogenního – časového systému, který jim pomáhá se k těmto změnám adekvátně adaptovat. Děje, které se v organismu opakují s periodou zhruba 24 h označujeme jako cirkadiánní (z latinského circa a dies – přibližně a den).

U člověka je tento endogenní cirkadiánní systém řízen systémem zpětnovazebných transkripčně translačních smyček hodinových genů. Aby tento systém fungoval v souladu s geofyzikálními cykly, je zapotřebí ho pravidelně synchronizovat vnějším časovým podnětem (označovaným v chronobiologii jako Zeitgeber). Nejsilnějším zeitgeberem je pro člověka právě střídání světla a tmy, pro adekvátní synchronizaci endogenního systému s vnějším prostředím je potřeba vystavovat lidský organismus přirozenému světelnému režimu.

V současné době, s rozvojem moderních technologií dochází v této synchronizaci ke komplikacím. Běžné interiérové i exteriérové umělé osvětlení nemá zpravidla vhodné parametry k vyvolání adekvátní odpovědi lidského cirkadiánního systému. Svícení dlouho do noci, vystavování se modrému světlu z obrazovek elektronických displejů ve večerních hodinách, nebo naopak trávení celého dne v kanceláři s umělým LED osvětlením, to vše může vést k nedostatečné synchronizaci nebo dokonce k chronické desynchronizaci cirkadiánního systému. Chronická desynchronizace je spojována s rozvojem civilizačních chorob, diabetem druhého typu či obezity, se zvýšeným rizikem infarktu a vzniku neuropsychiatrických onemocnění, jakou je např. sezónní afektivní porucha, a dokonce neurodegenerativních onemocnění, např. Alzheimerovou chorobou.

Jednou z testovaných strategií, jak docílit v běžném životě správné synchronizace, je výměna běžného interiérového osvětlení za osvětlení tzv. biodynamické. Toto je označení pro světlo s proměnlivými parametry, takovými, aby působilo na organismus adekvátně, podle denní doby. Kvalitně vytvořené biodynamické osvětlení a jeho správné využívání (světelný režim) může vést ke zlepšení synchronizace cirkadiánního systému člověka a tím zlepšení homeostatických kapacit všech fyziologických procesů.

Cílem našeho experimentu bylo ověřit vliv prototypového biodynamického osvětlení na cirkadiánní systém člověka. Experimentálními svítidly byl vybaven byt, v němž se postupně střídali vybraní dobrovolníci. U těchto dobrovolníku byly průběžně sledovány vybrané parametry cirkadiánního rytmu, nejprve v kontrolních domácích, a následně v experimentálních podmínkách.

2. Literární přehled

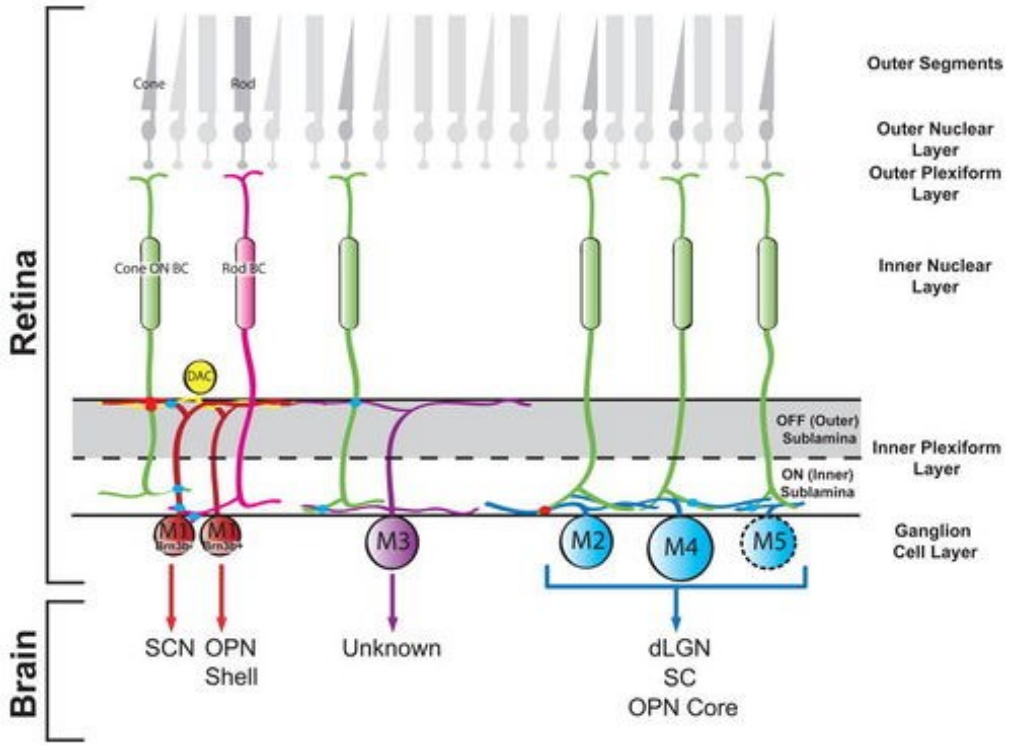
2.1. Cirkadiánní systém člověka

Díky periodickému střídání dne a noci došlo u všech organismů na planetě Zemi k vývoji tzv. cirkadiánního systému. Jedná se o biologický mechanismus, který generuje rytmy běžící s periodou cca 24 hodin (Pittendrigh, 1960). Cirkadiánní rytmy lze charakterizovat parametry jako jsou akrofáze, mesor, amplituda nebo plocha pod křivkou (AUC – area under curve). Akrofáze je parametr odečítající časový bod, kde je rytmus ve svém maximu. Pomocí tohoto parametru je kvantifikován a vyhodnocován fázový posun v rytmicitě daného fyziologického faktoru. Amplituda udává polovinu rozdílu mezi nejnižším a nejvyšším bodem na křivce zobrazující rytmus a parametr mesor určuje střední hodnotu v rytmu. AUC lze interpretovat jako šíři rytmu, např. v případě melatoninového rytmu jako množství vyplaveného melatoninu (Rahman et al., 2018). Cirkadiánní systém člověka i ostatních živočichů je endogenní a je řízen molekulárními hodinami založenými na mechanismu vzájemně provázaných transkripčně translačních smyček tzv. hodinových genů (Ye et al., 2011).

Cirkadiánní systém zajišťuje, aby se v organismu odehrávaly fyziologické procesy v patřičnou denní dobu a docházelo tak k efektivnímu přizpůsobení se okolnímu prostředí. Aby cirkadiánní systém správně fungoval, potřebuje integrovat časové informace z vnějšího prostředí a správně se s nimi synchronizovat (Lucas et al., 2001; Reppert a Weaver, 2002). Těmto signálům z vnějšího prostředí se říká zeitgebery – synchronizátory – z německého termínu Zeitgeber neboli časovač (Aschoff, 1954). Nejsilnějším zeitgeberem je pro člověka právě světlo s vhodnou intenzitou i spektrálním složením (Khalsa et al., 2003). Vedle světla se ovšem na synchronizaci cirkadiánního systému podílí i řada nesvětelných synchronizátorů, jako je vynucená fyzická aktivita a načasování příjmu potravy. Zjevně pozorovatelným fyziologickým jevem vykazujícím cirkadiánní rytmicitu je pravidelné střídání spánku a bdění. Dalšími měřitelnými fyziologickými výstupy jsou pak například rytmy v kolísání tělesné teploty (Cagnacci et al., 1992), či hladin hormonů.

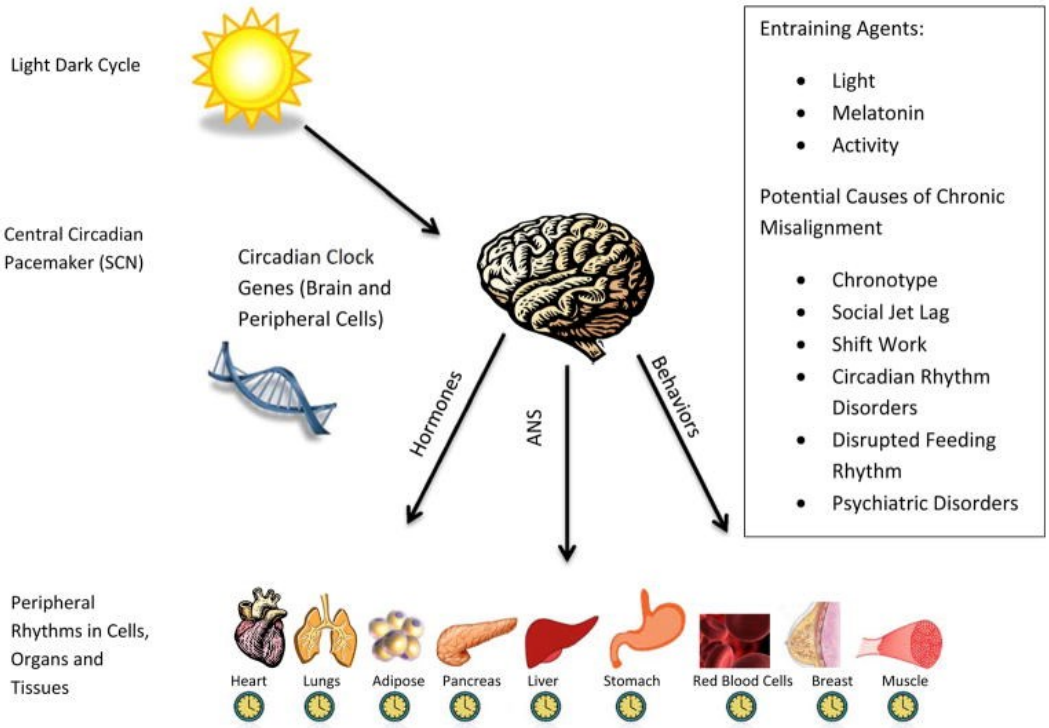
Integrace světelného signálu probíhá pomocí specializovaných buněk sítnice oka, gangliových buněk typu ipRGC (z angl. intrinsically photosensitive retinal ganglion cells; obrázek 1), obsahujících fotopigment melanopsin (Prayag et al., 2019). Odtud signál postupuje retinohypothalamickým traktem do suprachiasmatického jádra (SCN; Gooley et al., 2001). SCN je párová struktura předního hypothalamu, která je umístěná v těsné blízkosti optického chiasma (Ralph et al., 1990). Buňky ipRGC signalizují světlo do SCN výlevem glutamátu a

PACAP (z angl. pituitary adenylate cyclase-activating peptide) a synchronizují tak rytmy v aktivitě SCN (Castel et al., 1993).



Obrázek 1: Schématický diagram rozložení buněk v retině. Na schématu je naznačeno rozložení tyčinek (rod) a čípků (cone) a jejich následné napojení na bipolární buňky (označeny jako BC). Dále je na schématu vyznačena dopaminergní amakrinní buňka (DAC). Buňky ipRGC jsou označeny M1 – M5 dle morfologických subtypů. Následně je schématicky znázorněná axonální projekce do suprachiasmatického jádra (SCN), olivárního pretektálního jádra (OPN) – dále rozděleno podle lokace na „jádro“ a „obal“ (OPN core a OPN shell), projekce do dorzální části laterálního genikulátního jádra (dLGN) a colliculi superior (SC); Převzato z (Schmidt et al., 2011).

SCN funguje v lidském organismu jako centrální pacemaker (Jagota et al., 2000), který synchronizuje ostatní periferní oscilátory v těle prostřednictvím signálů endokrinního a autonomního nervového systému (obrázek 2).

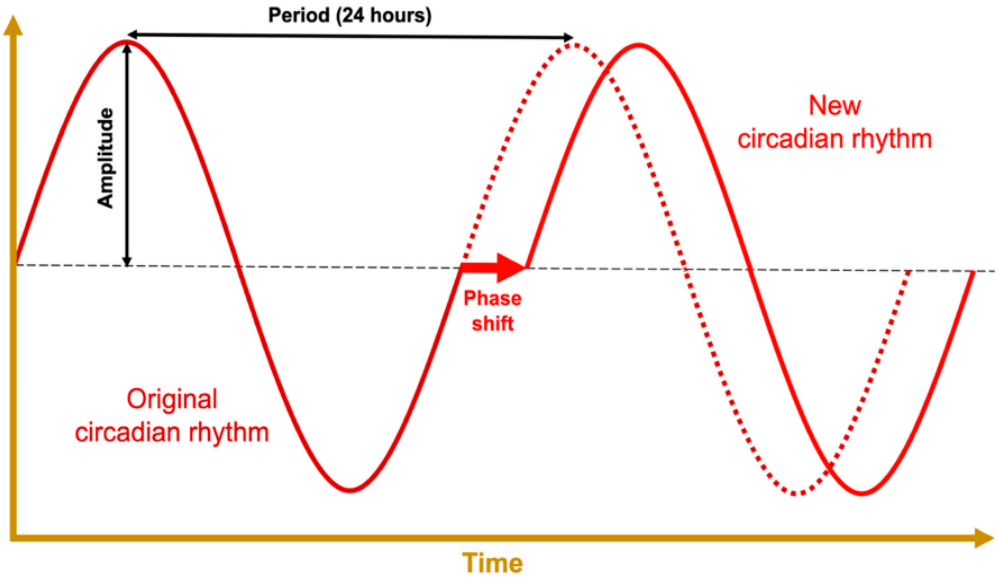


Obrázek 2: Schéma synchronizace periferních oscilátorů pomocí oscilátoru centrálního. Cyklus světla a tmy působí na centrální cirkadiánní pacemaker v SCN, SCN pak generuje centrální cirkadiánní rytmus. Každá buňka v těle obsahuje hodinové geny generující vlastní cirkadiánní rytmus a tvoří tak periferní oscilátory (v rámci schématu: srdce, plíce, tuková tkáň, slinivka, játra, žaludek, červené krvinky, prsní žlázy a svaly). SCN pak pomocí signálních výstupů – autonomní nervový systém (ANS), hormonální a behaviorální – synchronizuje periferní synchronizátory podle svého centrálního rytmu. Na schématu jsou dále uvedeny možné příčiny chronické desynchronizace (chronotyp, sociální jet lag, práce na směny, poruchy cirkadiánního rytmu, nepravidelný příjem potravy a psychiatrická onemocnění). Převzato z (Baron a Reid, 2014).

Při správném světelném režimu, se kterým jsou v souladu i nesvětelné synchronizátory, dochází k optimální synchronizaci, která je z dlouhodobého hlediska pro zdraví člověka naprosto zásadní. Pokud není endogenní cirkadiánní systém dlouhodobě správně synchronizován, může docházet k řadě zdravotních obtíží. Nepravidelný spánkový režim, stres, vystavování se modrému světlu v nočních hodinách a mnohé další aspekty mohou vést ke chronické desynchronizaci (Wright et al., 2013). Ta je spojována s rozvojem řady

neuropsychiatrických a neurodegenerativních onemocnění (Dowling et al., 2008; Hoyt a Obrietan, 2022).

Pojmem „světlo“ tradičně chápeme elektromagnetické záření v rozmezí vlnových délek 380–750 nm. Jedná se právě o tu část spektra, kterou jsou lidé schopni vizuálně vnímat. Kdyby se organismus nacházel ve stálé tmě, jeho endogenní cirkadiánní systém by běžel podle své endogenní periody (Ralph et al., 1990). Při pravidelném střídání světla a tmy dochází k procesu synchronizace, kdy se vnitřní endogenní perioda srovnává a kopíruje periodu vnější. Periodu synchronizátoru značíme T a endogenní periodu τ, k synchronizaci dochází v momentě, kdy se T = τ. Synchronizace je dosaženo principem fázových posunů (obrázek 3), ke kterému dochází po působení světla zrána a zvečera (Smith et al., 2009).



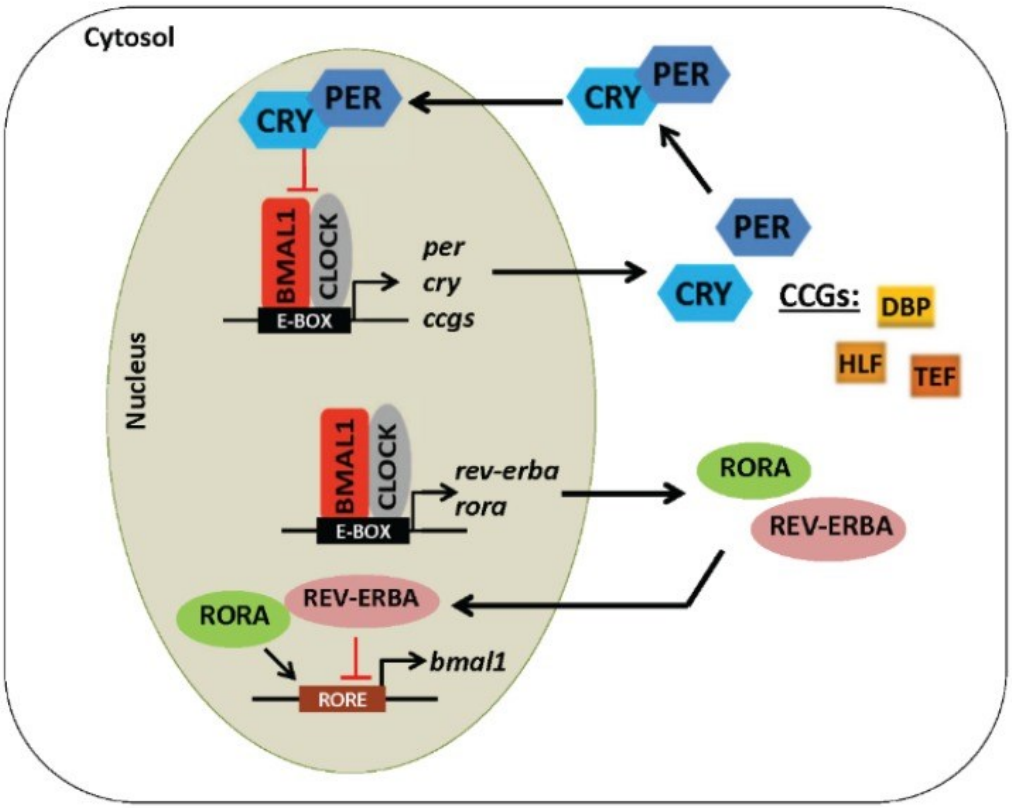
Obrázek 3: Schematické znázornění cirkadiánního rytmu a jeho parametrů s naznačeným fázovým posunem. Červená křivka značí průběh rytmu podle osy x, na které je vyznačen čas. Červená přerušovaná čára pak značí, jak by tento rytmus pokračoval bez uskutečnění fázového posunu (na obrázku Phase shift). Na schématu jsou také naznačeny parametry amplituda a perioda. Převzato z (Nelson et al., 2022).

2.2. Molekulární mechanismus

Každá buňka má vlastní hodinový mechanismus. Tento molekulární mechanismus generování cirkadiánního rytmu závisí na komplexním provázání regulačních transkripčně-translačních smyček (Aronson et al., 1994; Reppert a Weaver, 2002). V základním principu jde vlastně o rytmickou expresi hodinových genů, jejichž bílkovinné produkty se nadále vzájemně ovlivňují.

V jádru těchto smyček se nacházejí hodinové geny *Period (Per1, Per2, Per3)* a *Cryptochrom (Cry1, Cry2)*. Produkty těchto genů PER a CRY tvoří trimer s kasein kinázou a inhibují funkci dalších hodinových genů *Bmal1* a *Clock*. Bílkovinné produkty BMAL1 a CLOCK tvoří dimer, který nasedá na E-BOX genů *Per* a *Cry* a naopak jejich expresi spouští (Gekakis et al., 1998). Tímto vzájemným ovlivněním vzniká zpětná vazba a základ pro cirkadiánní expresi hodinami kontrolovaných funkčních genů (ccgs).

Výsledný molekulární mechanismus je velmi komplexní. Do této základní smyčky vstupují další geny a jejich bílkovinné produkty. Dimer BMAL1 a CLOCK nasedá na E-BOX genu *Rev-Erbα*, jehož výsledný produkt REV-ERBα spolu s RORα spouští expresi genu *Bmal1*. Dále se na regulaci smyček podílejí geny *Nfil3* a *Dbp* a jejich příslušné produkty (Yan et al., 2008; obrázek 4).



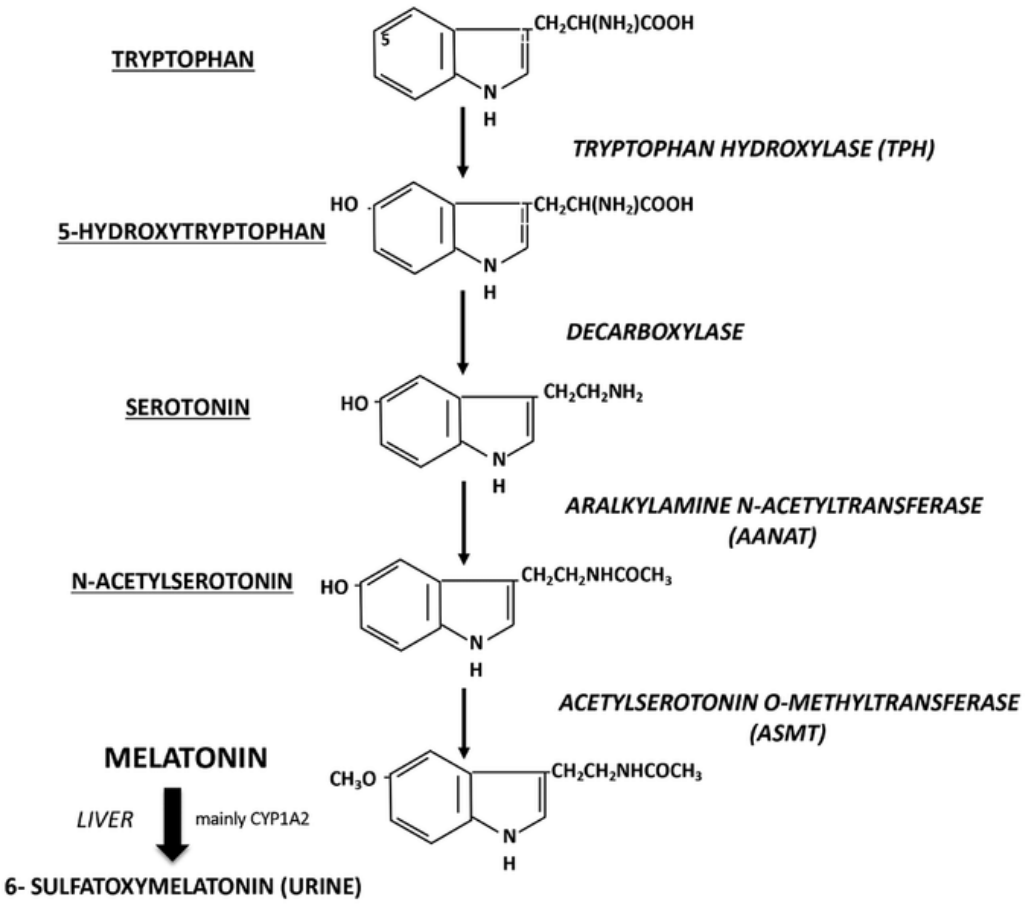
Obrázek 4: Schéma molekulárního mechanismu cirkadiánních hodin. Jádro molekulárních hodin obsahuje transkripčně – translační zpětnovazebné (pozitivní i negativní) smyčky. Dimer BMAL 1 a CLOCK nasedá na E-box a spouští kromě transkripce genů per a cry transkripci celé řady různých ccgs. Mezi ccgs patří například dbp (albumin D-site binding protein), hlf (hepatic leukemia factor) a tef (thyrotroph embryonic factor). Dimer produktů PER a CRY tuto transkripci následně inhibuje. Převzato z (Udoh et al., 2015).

2.3. Melatonin

Jedním z fyziologických výstupů savčího cirkadiánního systému jsou periodické změny v hladinách melatoninu. Melatonin (N-Acetyl-5-methoxytryptamin) je hormon produkovaný epifýzou (Binkley et al., 1978), ze které se vylučuje do třetí mozkové komory a do krevní cirkulace (Reiter, 1986; Reiter, 1991). Nejvyšší hladiny v krvi dosahuje při správné synchronizaci zhruba uprostřed noci.

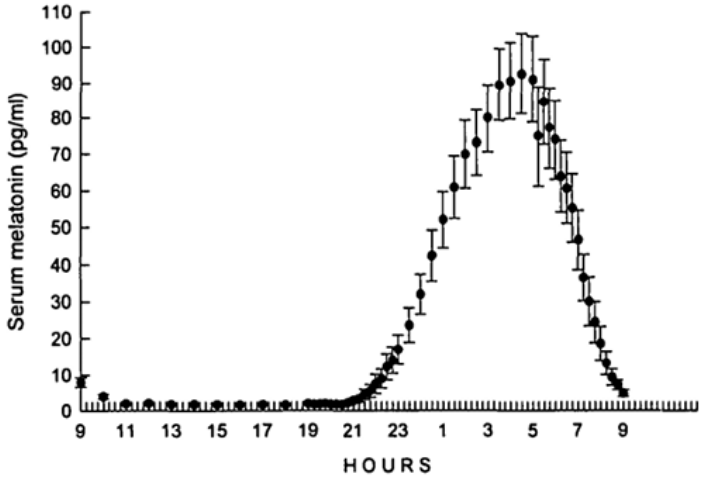
Prekurzorem pro syntézu melatoninu je aminokyselina tryptofan. Tryptofan je řazen mezi esenciální aminokyseliny a je do těla přijímán v potravě. Tryptofan je pomocí enzymu tryptofanhydroxylázy oxidován na 5-hydroxytryptofan, který je následně enzymem

dopadekarboxylázou přeměněn na serotonin. Serotonin reaguje s enzymem N-acetyltransferázou za vzniku N-acetylserotoninu. Tento krok je tzv. rate limiting krok v syntéze melatoninu, krok určující výslednou rychlost a průběh jeho syntézy (Isobe a Nishino, 2004). V posledním kroku syntézy je N-acetylserotonin přeměněn acetylserotonin O-metytransferázou (S-adenosylmethioninem funguje v této reakci jako donor metylové skupiny) na melatonin (Cardinali a Pévet, 1998). Schéma syntézy melatoninu je uvedeno na obrázku 5.



Obrázek 5: Schéma postupné syntézy melatoninu z tryptofanu (přes 5-hydroxytryptofan, serotonin, N-acetylserotonin) a příslušné enzymy (tryptofan hydroxyláza, dekarboxyláza, AANAT a ASMT), které postupné reakce katalyzují. Dále je naznačena následná metabolizace melatoninu v játrech na 6-sulfatoxymelatonin, který je následně vyloučen močí. Převzato z (Amaral a Cipolla-Neto, 2018).

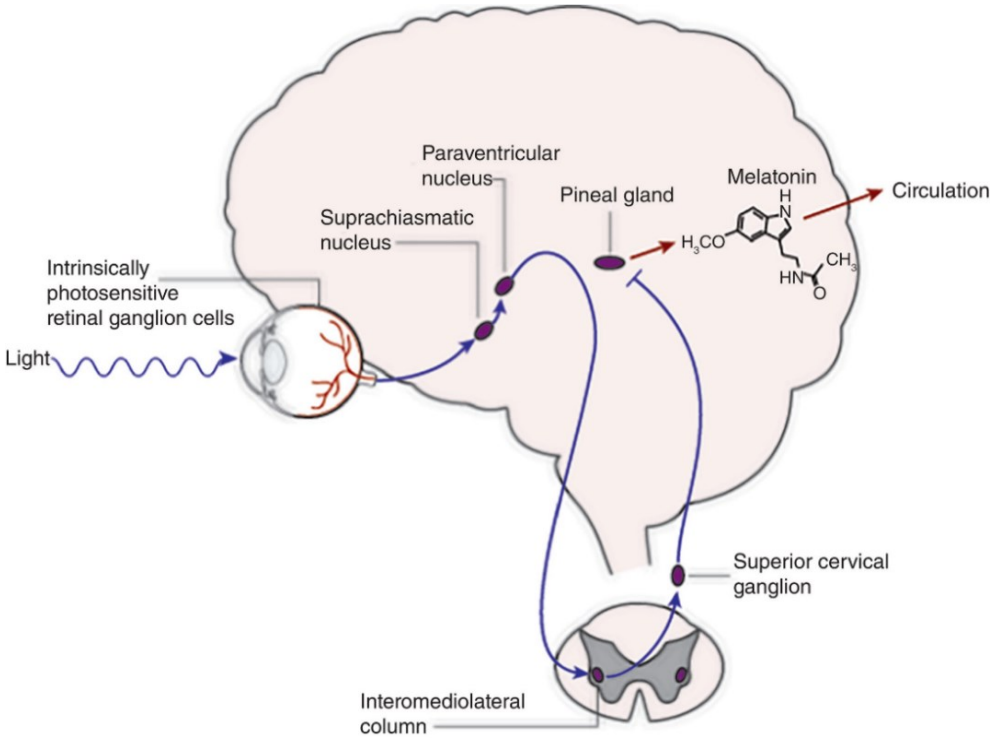
V přirozených podmínkách střídání světla a tmy hladina melatoninu pozvolna stoupá večer (jak při slunečním osvětlení postupně ubývá modrá složka slunečního záření), po píku v noci začíná klesat s příchodem rána (obrázek 6; Lewy a Sack, 1989).



Obrázek 6: Průměrné hladiny melatoninu měřené v séru u mladých lidí (n = 18, věk 29 ± 6,5, USA). Výsledky převzaty ze studie (Zhdanova et al., 1998).

Jeho produkce je však řízena SCN a probíhá rytmicky, i pokud je organismus ve stálé tmě. Pacemaker v SCN je synchronizovaný se světelným režimem, ale udržuje si svůj „subjektivní" den a noc i ve stálé tmě. Během subjektivního dne tlumí GABAergní signalizací aktivitu paraventrikulárního jádra hypothalamu (PVN; Kalsbeek et al., 2000), které signalizuje přes interomediolaterální sloupce míchy a superior cervical ganglion (SCG) do epifýzy (Larsen, 1999; Møller a Baeres, 2002; obrázek 7). Melatonin je v epifýze syntetizován v parenchymálních pinealocytech (Møller a Baeres, 2002), proces závisí na cirkadiánní produkci enzymu arylalkylamin N-acetyltransferázy (AANAT), který je stimulován pomocí cAMP v nervových zakončeních sympatiku z SCG (Ganguly et al., 2002; Gastel et al., 1998). Po syntéze je melatonin uvolněn do systémové cirkulace (Pandiperumal et al., 2008). Tato cesta je nejspíše využívána i pro akutní potlačení syntézy melatoninu světlem v noci. Náhlé světlo zvýší aktivitu SCN, které utlumí aktivitu PVN a tím dojde k inhibici syntézy melatoninu v epifýze (Buijs et al., 2003).

Pro syntézu melatoninu v epifýze musí být tedy splněny dvě podmínky; musí být noc nebo subjektivní noc a musí být v noci tma, neboť světlo vede k akutnímu potlačení syntézy melatoninu.



Obrázek 7: Schéma regulace syntézy melatoninu. Světlo je snímáno buňkami ipRGC, synchronizuje pacemaker v SCN, nebo aktivuje jeho GABAergní projekci, pokud působí v noci. Signál je přenášen na PVN, interomedilaterální sloupce míchy a SCG do epifýzy, zde dochází k regulaci syntézy hormonu melatoninu. Převzato z (Ostrin, 2019).

Zdá se, že na rozdíl od hlodavců, člověk potřebuje výrazně intenzivnější světelný podnět k potlačení syntézy melatoninu (Brainard et al., 1997). U člověka je prokázána suprese melatoninu při působení bílého světla o intenzitě 200 lux, k výrazně vyšší supresi pak dochází při kontinuálním svícením, než při pouhém světelném pulzu (Lewy et al., 1980). U hlodavců je prokázaná suprese melatoninu (při kontinuálním svícení) už při intenzitě 5 luxů (Fonken et al., 2013).

U člověka navíc specificky dochází k integraci informací z čípků pro krátkovlnné světlo (S cone, nám se jeví jako světlo modré), k integraci dochází přes amakrinní buňky tvořící synapse

na jedné straně s ON bipolární buňkou čípku pro krátkovlnné světlo, na straně druhé pak s ipRGC gangliovou buňkou. (Patterson et al., 2020).

Melatonin působí na drtivou většinu buněk v lidském těle. Působení je zprostředkováno receptory MT1 a MT2 (byl identifikován i typ MT3 u hlodavců; Nosjean et al., 2000). MT1 a MT2 patří mezi receptory spřažené s G-proteiny (Fredriksson et al., 2003). Alfa podjednotka G-proteinu spřaženého s MT1 a MT2 je typu G_i, receptor tedy působí mechanismem inhibice andenylátcyklázy a následným snížením hladiny cAMP v buňce (Reppert et al., 1994).

Mimo epifýzu je melatonin syntetizován v retině, gastrointestinálním traktu, kostní dřeni, lymfocytech a kůži (Chen et al., 2011; Kobayashi et al., 2005). Melatonin má celou řadu systémových účinků. Působí jako antioxidant, jeho molekula vychytává nejen reaktivní sloučeniny kyslíku, ale také dusíku a řadu organických radikálů (Pierrefiche et al., 1993). Melatonin je hypnotikum a chrononbiotikum, zvýšení jeho hladiny navozuje u člověka spánek (Deacon a Arendt, 1995). U melatoninu byl také prokázán imunomodulační (Maestroni et al., 1996) a onkostatický efekt (Cos et al., 1991).

V organismu nedochází ke skladování melatoninu, jeho působení je okamžité v reakci na jeho syntézu a je limitované jeho difuzí do krve a cerebrospinální tekutiny (Cardinali a Pévet, 1998). Melatonin je metabolizován v játrech hydroxylací na 6-hydroxymelatonin pomocí cytochrom P_{450} monooxygenásou, 6-hydroxymelatonin následně podléhá konjugaci se sulfátem za vzniku 6-sulfatoxymelatoninu (Francis et al., 1987).

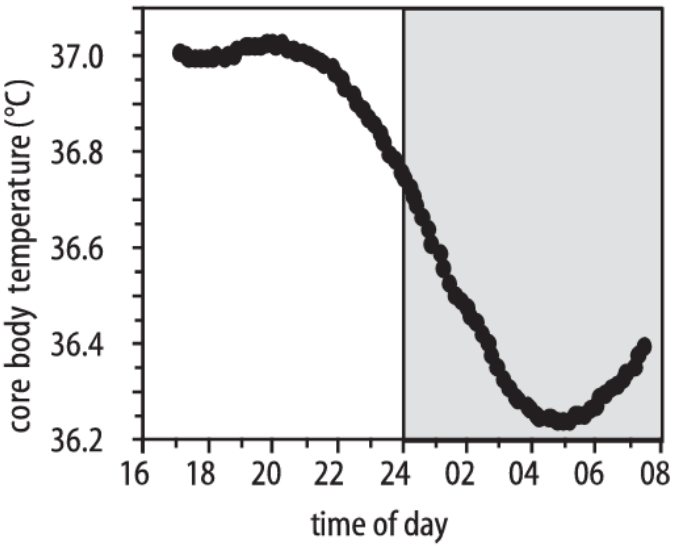
2.4. Cirkadiánní výstup teploty a denní pohybové aktivity

Kontrola tělesné teploty je u člověka zásadní mechanismus udržení homeostázy. Centrum této kontroly tvoří jádra hypothalamu, která dostávají signály z centrálních i periferních termoreceptorů (Kräuchi, 2010). Změny tělesné teploty mají navíc u člověka cirkadiánní profil, teplota tělesného jádra v nočních hodinách klesá. Díky periferní vazodilataci teplota distálních, periferních částí těla naopak v nočních hodinách stoupá (Refinetti, 2010; Smolander et al., 1993; obrázek 8).

Je prokázáno, že v hypotalamu dochází k úzkému propojení teplotní regulace a cirkadiánního systému. Cirkadiánní pacemaker v SCN neuronálně ovlivňuje hypotalamická jádra zodpovědná za teplotní regulaci (Benstaali et al., 2001; Liedtke, 2017). Konkrétně se na tělesné termoregulaci podílí zejména laterální preoptická oblast a dorzální část dorzomediálního hypotalamu (Zhao et al., 2017). V těchto oblastech se navíc nacházejí

receptory pro melatonin MT1 a MT2 (Lacoste et al., 2015; Wu et al., 2006). Při podání exogenního melatoninu pak dochází ke snížení tělesné teploty jádra (Lok et al., 2019).

Cirkadiánní změny teploty jsou tedy pravděpodobně řízeny jak neuronálními signály z SCN, tak humorálními prostřednictvím regulace sekrece melatoninu (Waterhouse et al., 2005).



Obrázek 8: Přirozený cirkadiánní rytmus v teplotě tělesného jádra člověka. Na ose y je vyznačena teplota, na ose x pak časový bod záznamu (Kräuchi, 2002).

Cirkadiánní rytmus člověka lze přirozeně vysledovat i v denní a noční aktivitě. Rozdíl mezi aktivní a klidovou fází lze měřit pomocí aktigrafie a získaný záznam aktivity lze pro účely zjištění cirkadiánního profilu participanta analyzovat např. neparametrickou cirkadiánní analýzou (NPCRA), podobně jako rytmus v tělesné teplotě (Gonçalves et al., 2014).

Parametry analyzované v rámci NPCRA jsou relativní amplituda (RA), mezidenní stabilita (intradaily stability – IS), vnitrodenní variabilita (intradaily variability – IV). RA značí relativní rozdíl mezi nejnižším a nejvyšším bodem na křivce popisující cirkadiánní rytmus, IS značí adekvátní synchronizaci s 24 h cyklem a IV slouží jako marker narušení cyklu spánku a bdění. Další parametry, které lze analyzovat v rámci aktigrafického záznamu jsou L5 Average a M10 Average. L5 Average značí průměrnou aktivitu za pět nejméně aktivních hodin v rámci dne participanta. M10 Average pak značí průměrnou aktivitu za 10 nejaktivnějších hodin v rámci dne participanta (Huang et al., 2002). Dále lze analyzovat dobu spánkové latence (jak dlouho trvá participantovi usnout), celkové imobilní minuty ve spánku, které korelují s hlubokým

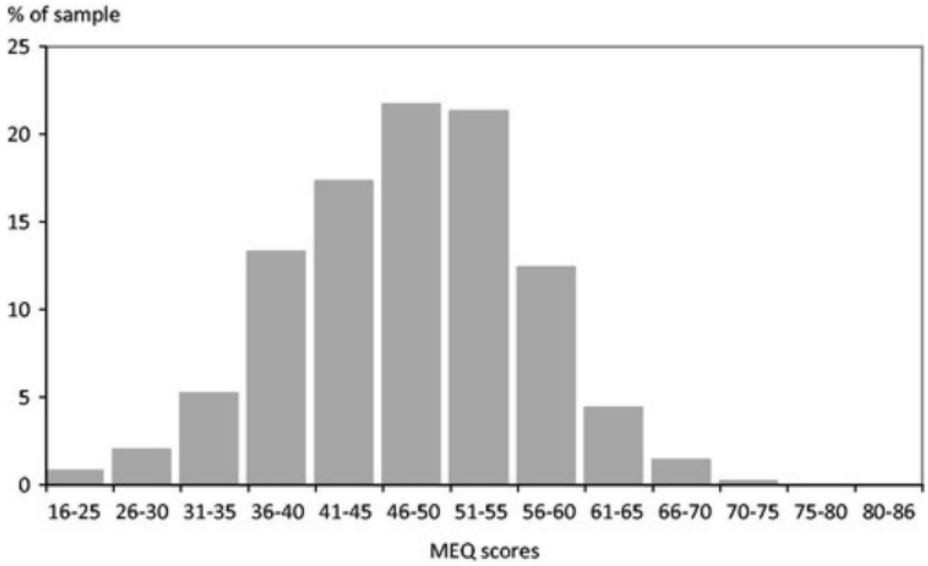
spánkem, index fragmentace (kvantifikuje počet probuzení během noci) a light/dark ratio (relativní čas strávený na světle).

Individuální rozdíly v načasování denní aktivity a spánku jsou základním způsobem charakterizace cirkadiánního fenotypu člověka, označovaného jako chronotypy.

2.5. Chronotypy

Individuální cirkadiánní fenotyp člověka označujeme jako chronotyp. Primárním znakem zařazení člověka k určitému chronotypu je zejména časování doby spánku a probouzení. Lidé patřící spíše k chronotypu rannímu (označováni jako „skřivani“) typicky pociťují dříve únavu, chodí spát dříve a zároveň dříve vstávají (Mongrain et al., 2004). Oproti tomu lidé s chronotypem večerním (označováni jako „sovy“) chodí spát typicky později a později se i probouzejí (Roenneberg et al., 2004).

Chronotypy se nejčastěji zjišťují pomocí standardizovaných dotazníků. Mezi takové dotazníky patří například MEQ (z angl. Morningnes Eveningness Questionnaire; Horne a Ostberg, 1976). V MEQ je subjektu přiřazen počet bodů na základě sebeposouzení preferovaného časování denních aktivit a hodnocení únavy v odlišných fázích dne. Výsledné bodové skóre může nabývat hodnot od 16 do 86. Nižší čísla poukazují na večerní chronotyp a vyšší čísla na ranní chronotyp. Přesná typologie podle výsledků je následující: 16–30 bodů: výrazně večerní typ, 31–41 bodů: mírně večerní typ, 42–58: nevyhraněný typ, 59–69: mírně ranní typ, 70–86: výrazně ranní typ. Rozdělení takto posouzených chronotypů v populaci má charakter Gaussovy křivky – nejvíce lidí spadá pod chronotyp nevyhraněný (Vitale et al., 2015). Příkladové zastoupení chronotypů je uvedeno na obrázku 9.



Obrázek 3: Zastoupení chronotypů (n = 502, průměrný věk 21.3 (±2.37 let) mezi univerzitními studenty v Miláně ze studie (Vitale et al., 2015).

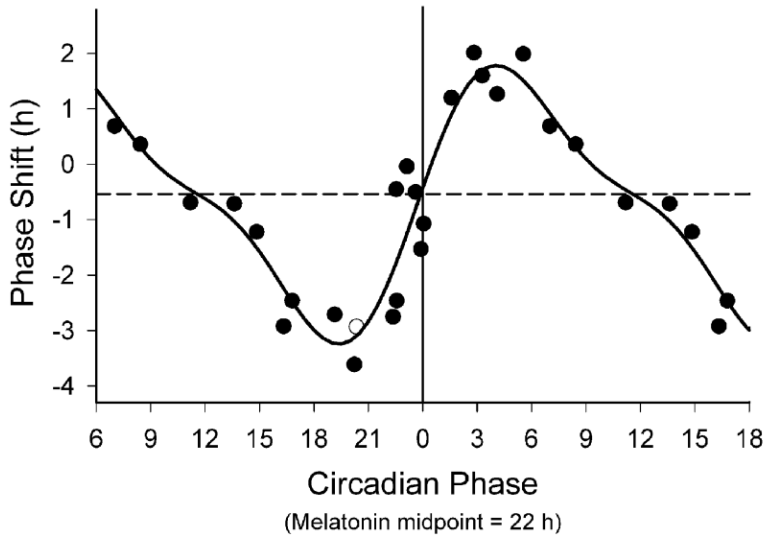
Chronotyp je výsledkem genetických predisposic a fyziologických aspektů světelné synchronizace (Samson et al., 2017). Samotný vznik chronotypu je pravděpodobně způsoben polymorfismy hodinových genů (Viola et al., 2007). Ačkoliv tato otázka je stále živá, existují studie, které se vcelku jasně shodují na tom, že např. VNTR (variable number tandem repeat) polymorfismus genu *Per3* je asociován se vznikem extrémních diurnálních preferencí – konkrétně s DSPS (delayed-sleep-phase syndrome; Viola et al., 2007). Individuální chronotyp se typicky též mění s věkem – děti a starší lidé jsou typicky chronotypy ranní, u adolescentů naopak převládá chronotyp večerní (Park et al., 2002).

Lidský cirkadiánní systém běží s periodou, která je typicky delší než 24 hodin a večerní chronotyp má obvykle vnitřní periodu výrazně delší než chronotyp ranní. Pro svou synchronizaci se solárním a sociálním časem potřebuje člověk zejména světlo ranní, které indukuje fázové předběhnutí a zkracuje délku endogenní periody. Protože zásadní vliv na časování aktivit a spánkového režimu má ve společnosti rytmus sociální, řízený umělým osvětlením, večerním chronotypům se často stává, že jsou vystaveni světlu pozdě zvečera, což ještě prodlužuje délku jejich periody a zesiluje jejich večerní chronotyp (Figueiro et al., 2014). U večerních chronotypů tak často dochází k chronické spánkové deprivaci a vzniku sociálního

jet-lagu, který bývá také asociován s řadou civilizačních nemocí (Baldanzi et al., 2022; Belfry et al., 2020.

2.6. Světelná synchronizace

Princip synchronizace se u laboratorních zvířat studuje pomocí krátkých světelných pulsů, které simulují exposici nočních hlodavců svítání a soumraku. Výsledná velikost a směr fázového posunu kriticky závisí na čase a délce aplikace světelného pulsu (Crowley et al., 2015). Souhrnně lze tyto odpovědi popsat pomocí tzv. fázově responzní křivky. Pro člověka model krátkých světelných pulsů příliš neodpovídá přirozeným podmínkám, proto byla pro popis fázových posunů vytvořena fázově-responzní křivka s 6h působením světla (obrázek 10; Khalsa et al., 2003). Fázově responzní křivka tedy udává směr a velikost fázového posunu při aplikaci dané proměnné, v tomto případě světelného pulzu, ale může se jednat i o nesvětelný stimul, například o farmakologickou látku, která je schopná fázový posun vyvolat (Minors et al., 1991).

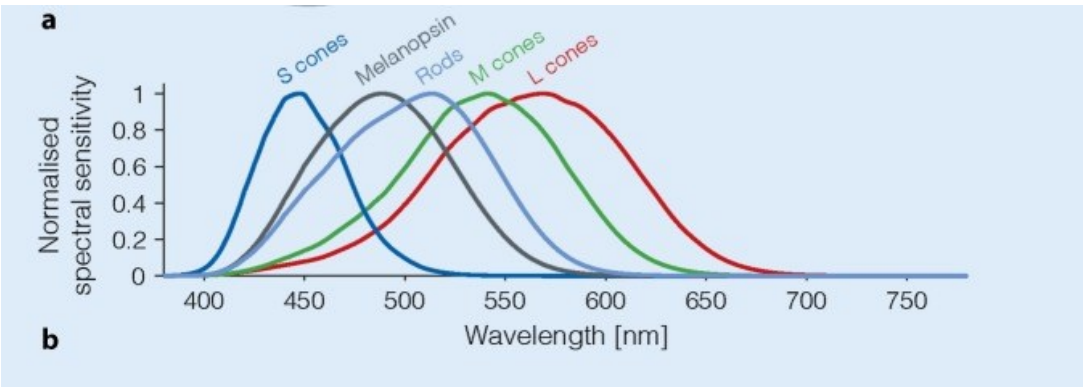


Obrázek 4: Výsledná fázově responzní křivka ze studie (Khalsa et al., 2003). *Každý bod na křivce znázorňuje fázový posun měřeného cirkadiánního rytmu organismu v odpovědi na světelný pulz. Fázový posun je uveden na ose y, kladné hodnoty vyjadřují fázové předběhnutí, záporné hodnoty pak fázové zpoždění.*

Dalším biologickým dopadem světla na lidský organismus je potlačení syntézy melatoninu (Pandiperumal et al., 2008). Buňky sítnice oka reagují různě na světlo o různé intenzitě. Dle některých zdrojů postačuje u člověka k potlačení syntézy melatoninu o 50 % světlo o intenzitě okolo 30 luxů (Phillips et al., 2019). V reakci na intenzitu světla je také patrná značná individuální variabilita, například u vysoce citlivých participantů bylo zaznamenáno potlačení syntézy melatoninu na polovinu již u 10 luxů (Phillips et al., 2019).

Adekvátní odpověď však nevyvolává jakýkoliv typ viditelného světla, celý proces kriticky závisí na tom, jaké má aplikované světlo spektrum a intenzitu (Gronfier et al., 2004). Buňky sítnice oka ipRGC obsahují absorpční pigment melanopsin, který má maximální citlivost na světlo o vlnové délce kolem 480 nm (lidskému oko se toto světlo jeví jako světlo modré; Blume et al., 2019a; Thapan et al., 2001; obrázek 11). Když charakterizujeme světlo, tuto vlastnost ovlivňovat lidský cirkadiánní systém proto označujeme jako melanopickou účinnost (Schöllhorn et al., 2023).

Kromě toho buňky typu ipRGC integrují informace z tyčinek a čípků (Patterson et al., 2020). Citlivost na světlo může být značně individuální, a navíc se měnit s věkem (Crowley et al., 2015).



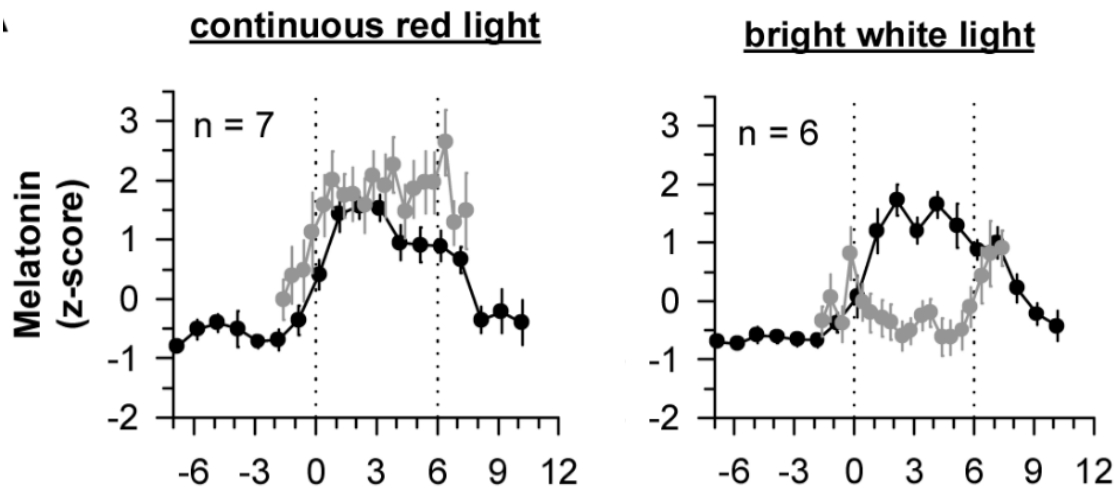
Obrázek 5: Na schématu jsou zobrazena absorpční spektra světločivých buněk sítnice. Černou křivkou je vyjádřeno absorpční spektrum melanopsinu, tmavě modrá křivka vyjadřuje absorpční spektrum pro S – čípky, světle modrá pro tyčinky, zelená pro M – čípky a červená pro L – čípky. Převzato z (Blume a Garbazza, et al., 2019b).

Kromě spektra a intenzity je třeba vzít v potaz ještě jeden světelný parametr, a to teplotu chromatičnosti světla. Teplota chromatičnosti je fyzikální veličina, která popisuje vlastnosti

světla vydávaného zářičem. Výsledkem je, že v závislosti na teplotě chromatičnosti (udávané v kelvinech) se nám světlo jeví jako „teplé“ nebo „studené“ (čím vyšší teplota chromatičnosti, tím světlo vnímáme jako „studenější“). Například zapálená sirka vydává světlo o teplotě chromatičnosti 1700 K, zatímco obrazovka počítače vydává světlo s teplotou chromatičnosti 6500–9500 K (Durmus, 2022). Dle dostupných zdrojů ovlivňuje teplota chromatičnosti soustředění a produktivitu, subjekty studie vykazují větší soustředění při výkonu práce pod světly s vyšší teplotou chromatičnosti (6500 K) než pod kontrolním (4000 K) osvětlením (Ishii et al., 2018).

V současné době dochází k plošným výměnám původních interiérových žárovek za LED osvětlení, které se obvykle výrazně liší obsahem modré složky ve svém spektru. Svým spektrálním složením se hodí spíše k rannímu/dennímu svícení, avšak jejich intenzita nedosahuje potřeb lidského cirkadiánního systému. Naprosto se nehodí k večernímu svícení, neboť modrá složka může vyvolávat nežádoucí fázové posuny a efektivně snižovat produkci melatoninu (obrázek 12; Wright et al., 2013).

Jedna ze strategií, jak docílit v běžném životě adekvátní světelné synchronizace, je výměna interiérového osvětlení a změna světelného režimu. LED technologie umožňuje vytvářet nové zdroje světla, ve kterých může být např. relativně nízká intenzita kompenzovaná spojitým spektrem, které se více přibližuje přirozenému slunečnímu světlu. Naopak u večerního a nočního osvětlení je třeba minimalizovat modrou složku, a naopak volit světlo o vyšších vlnových délkách, odpovídajících světlu červenému nebo červenooranžovému (Ho Mien et al., 2014; obrázek 12).



Obrázek 12: Rozdíl v hladinách melatoninu při kontinuální aplikaci červeného světla (vlevo) a aplikaci jasného bílého světla (vpravo). Na osách x je vyobrazen čas aplikace světelného pulzu. V tomto případě světelný pulz trval 6 hodin. Na ose y jsou uvedeny standardizované hladiny melatoninu. Černá křivka vyjadřuje hladiny melatoninu bez aplikace světelného pulzu, křivka šedá pak reakci na danou aplikaci. Převzato ze studie (Ho Mien et al., 2014).

Používanou alternativou se tak stává tzv. biodynamické osvětlení. Cílem správného biodynamického osvětlení je simulovat člověku přirozené podmínky – během dne sluneční záření, v průběhu večera a západu slunce pak adekvátně regulovat nebo eliminovat modrou složku světelného spektra (Angerer et al., 2022). Očekávaným výsledkem využívání biodynamického osvětlení je dřívější vzestup večerního melatoninu, dřívější navození ospalosti a úprava endogenní periody a fáze cirkadiánního systému člověka (Kimberly a James R., 2009).

3. Cíle práce

Cílem experimentu bylo posoudit vliv nově vytvořeného biodynamického osvětlení na vybrané parametry cirkadiánního rytmu zdravých dobrovolníků, a to pomocí metody sledování rytmu melatoninu, teplotních senzorů a aktigrafie. Experimentální část probíhala v bytě v Praze, který byl pro tyto účely vybaven příslušným biodynamickým osvětlením. Kontrolní měření probíhalo v domácím prostředí participantů.

4. Materiál a metody

4.1. Účastníci studie

Do studie byli zařazeni pouze účastníci v dobrém zdravotním stavu, kteří v době trvání experimentu neužívali žádnou medikaci. Do studie dále nebyly zařazeny těhotné či kojící ženy. Do experimentu bylo nakonec vybráno 13 žen a 7 mužů ve věkovém rozmezí 20–34 let. Dobrovolníci ještě před začátkem experimentu vyplnili dotazník MEQ pro zjištění jejich chronotypu. Z výsledků těchto dotazníků vyplývá, že se výzkumu zúčastnilo 5 jedinců s ranním chronotypem, 10 nevyhraněných a 5 večerních typů.

Každému účastníkovi byl při nástupu do experimentu přiřazen kód, pod kterým byly jeho výsledky dále zpracovávány pro zachování anonymity. Kód byl složen z čísla skupiny a čísla dobrovolníka. Seznam dobrovolníků pod danými kódy je uveden v **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**. Experimentální design byl schválen etickou komisí (č.j. 177/21, 16.11. 2021), zásadní prerekvizitou pro účast ve výzkumu byl podpis informovaného souhlasu.

Tabulka 1: Informace o účastnících experimentu

Číslo skupiny	Kód účastníka	Kontrolní měření (2022)	Experimentální měření (2022)	Rok narození účastníka	Chronotyp
1	EB 1-1	7.2. – 13.2.	14.2. – 20.2.	1997	ranní
1	EB 1-2	7.2. – 13.2.	14.2. – 20.2.	1998	večerní
1	EB 1-3	7.2. – 13.2.	14.2. – 20.2.	1993	ranní
1	EB 1-4	7.2. – 13.2.	14.2. – 20.2.	1987	ranní
1	EB 1-5	7.2. – 13.2.	14.2. – 20.2.	2001	nevyhraněný
2	EB 2-1	14.2. – 20.2.	21.2. – 27.2.	1998	nevyhraněný
2	EB 2-2	14.2. – 20.2.	21.2. – 27.2.	2000	nevyhraněný
2	EB 2-3	14.2. – 20.2.	21.2. – 27.2.	1995	nevyhraněný
2	EB 2-4	14.2. – 20.2.	21.2. – 27.2.	1994	nevyhraněný
2	EB 2-5	14.2. – 20.2.	21.2. – 27.2.	1999	nevyhraněný
3	EB 3-1	21.2. – 27.2.	28.2. – 6.3.	2000	nevyhraněný
3	EB 3-2	21.2. – 27.2.	28.2. – 6.3.	2001	ranní
3	EB 3-3	21.2. – 27.2.	28.2. – 6.3.	2000	večerní

3	EB 3-4	21.2. – 27.2.	28.2. – 6.3.	2001	ranní
3	EB 3-5	21.2. – 27.2.	28.2. – 6.3.	2001	nevyhraněný
4	EB 4-1	28.2. – 6.3.	7.3. – 13.3.	2001	nevyhraněný
4	EB 4-2	28.2. – 6.3.	7.3. – 13.3.	2001	večerní
4	EB 4-3	28.2. – 6.3.	7.3. – 13.3.	2001	nevyhraněný
4	EB 4-4	28.2. – 6.3.	7.3. – 13.3.	1998	večerní
4	EB 4-5	28.2. – 6.3.	7.3. – 13.3.	1999	večerní

4.2. Popis experimentu

Experiment trval celkem 14 dní a zahrnoval dvě oddělené etapy. První týden probíhalo měření testovaných parametrů v kontrolních podmínkách v domácím prostředí, v následujícím týdnu se odehrálo měření experimentální. Celý experiment proběhl během zimních měsíců, aby nedošlo k maskování výsledků experimentu příliš dlouhou přirozenou fotoperiodou.

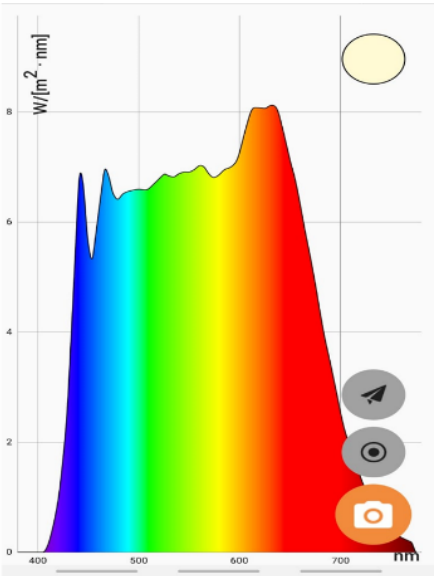
Experimentu se zúčastnilo celkem 20 dobrovolníků, kteří byli rozděleni do čtyř skupin po pěti lidech (tabulka 1), zejména z důvodu kapacity experimentálního bytu. Po celou dobu experimentu nosili dobrovolníci náramkový aktigraf a teplotní senzor na nedominantní ruce. Pro doplnění metody aktigrafie si účastníci v průběhu celého experimentu pečlivě vedli spánkový deník.

Během prvního týdne probíhalo kontrolní měření v domácích podmínkách. Během tohoto období byl režim účastníků prakticky bez omezení, shodný s jejich běžným režimem. V poslední den kontrolního týdne probíhal odběr vzorků slin pro stanovení melatoninu. Účastníci dostali sadu zkumavek s přesnými instrukcemi k odběru. Sliny pro stanovení melatoninu byly odebírány po 3 hodinách pro vytvoření standardizovaného melatoninového profilu (v 10 h, 13 h, 16 h, 19 h, 22 h, 1 h, 4 h, 7 h a opět 10 h). V den odběru slin platil pro účastníky přísný zákaz konzumace kofeinových nápojů a potravin obsahujících tryptofan (jako jsou například banány, čokoláda nebo ořechy).

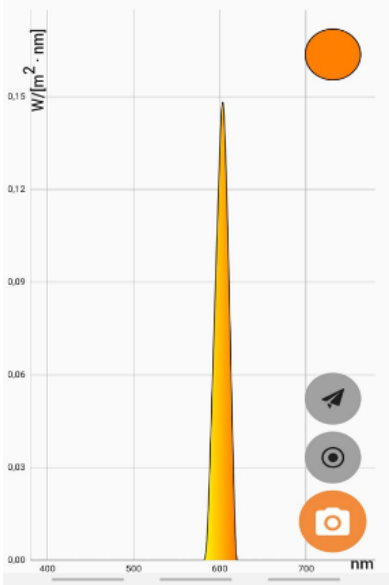
Následující týden se dobrovolníci přesunuli do bytu vybaveného experimentálními světly. Dispozice bytu byla 40 m^2, jednalo se o dvoupatrový byt, který byl v přízemí vybaven obývacím pokojem s kuchyňským koutem, v prvním patře pak ložnicí a koupelnou. V bytě se po dobu jednoho turnusu nacházelo celkem 5 dobrovolníků (turnusy proběhly celkem 4).

4.2.1. Experimentální světla a světelný režim participantů

Experimentální byt byl vybaven odlišnými svítidly pro denní a noční svícení. Pro denní svícení bylo určeno svítidlo s režimem simulujícím spektrum slunečního světla (tj. plné spektrum s malým omezením píku v modré oblasti,), které svítilo intenzitou 1000 lux. Druhý typ svítidel používali dobrovolníci po západu slunce večer do doby spánku. Tato světla vyzařovala světlo vlnové délky cca 600 nm, odpovídající červenooranžové barvě. Spektra obou svítidel byla před zahájením experimentu přeměřena spektrometrem (přístroj photonfly firmy Ledmotive) a jsou uvedena na obrázku 13 a *Obrázek* 14.



Obrázek 13: Naměřené spektrum svítidla určeného pro svícení ve dne. Svítidlo je plnospektrální jen s minimálním píkem v modré oblasti.



Obrázek 14: naměřené spektrum svítidla určeného pro svícení v noci. Spektrum svítidla se pohybuje okolo 600 nm a vizuálně odpovídá červenooranžové barvě.

V experimentálním bytě museli účastnící používat silné červené filtry na veškeré obrazovky elektronických přístrojů, aby omylem nedošlo k vystavení se modrému světlu ve večerních hodinách a tím k narušení řádného průběhu experimentu. V časovém úseku od západu do východu slunce (aktuálně v místě pobytu podle webu www.meteogram.cz) se dobrovolníci v rámci pravidel experimentu měli vždy nacházet v prostorech bytu. Dobrovolníci měli dále

zákaz konzumace alkoholu a omezení konzumace kofeinových nápojů. Poslední den v experimentálním bytě došlo opět k odběru vzorků slin pro stanovení hladiny melatoninu, a to podle stejného časového harmonogramu, jak tomu bylo při měření v domácích podmínkách.

4.3. Sběr a zpracování dat

4.3.1. Melatonin

Pro každého dobrovolníka byly analyzovány dva melatoninové profily, jeden z domácích podmínek a druhý po týdenním pobytu v experimentálním bytě. U lidských participantů se standardně provádí stanovení hladiny melatoninu ze vzorku slin. Každý dobrovolník dostal označenou sadu zkumavek s instrukcemi provádění samostatného odběru. Podle přesného časového harmonogramu odebral dobrovolník 9 vzorků o objemu přibližně 2 ml (na každé zkumavce byla vyznačena ryska). Po odběru každého vzorku byla zkumavka pečlivě zabalena do alobalu – aby nedošlo k následnému rozkladu melatoninu díky jeho fotolabilitě – a vložena do mrazáku. Po dobu trvání experimentu byly zkumavky ponechány v běžném mrazícím zařízení (-18 °C). Po experimentu byly vzorky transportovány v mrazících boxech a uchovány v teplotě -80 °C až do doby samotného stanovení.

Stanovení hladiny melatoninu ve vzorku probíhalo pomocí metody radioimunologické eseje (RIA). Principem této metody je kompetice melatoninu obsaženého ve vzorku slin o protilátku s radioaktivně značeným melatoninem. Pro stanovení byl v této práci použit melatoninový kit značky Melatonin direct Serum/Plasma/Saliva RIA od firmy IBL. Radioaktivně značený melatonin používaný v tomto kitu je navázán na izotop jódu ^{125}I. Součástí každého kitu pro analýzu vzorku slin je vzorek standardu (značený A), vzorky roztoků určených pro kalibraci (značených B–G), dva kontrolní vzorky pro ověření správného fungování kitu, roztok Assay Buffer, jeden vzorek traceru (^{125}I) a dva vzorky s protilátkou.

V rámci jednoho kitu lze najednou analyzovat maximálně čtyři plné melatoninové profily (tedy vzorky od dvou dobrovolníků). Standardně se analýza provádí v dubletech pro zpřesnění výsledků. Stanovení a zpracování vzorků proběhlo dle instrukcí výrobce (firma IBL).

V rámci analýzy je potřeba nechat vzorky minimálně 16 h inkubovat se značeným tracerem a protilátkou, samotná analýza tedy probíhá ve dvou dnech. Po zpracování dle příslušného protokolu byly všechny vzorky přeměřeny na β – counteru v laboratoři Katedry fyziologie PřF UK.

Výsledky získané v hodnotách cpm (counts per minute) byly dále zpracovány v programech Microsoft Excel a Graphpad Prism.

4.3.2. Teplotní senzory

Důležitým fyziologickým parametrem cirkadiánního rytmu člověka je tělesná teplota. Teplota tělesného jádra dosahuje v noci svého minima a přes den maxima. Periferní tělesná teplota je oproti teplotě jádra v protifázi – v noci tudíž dosahuje svého maxima. Pro kontinuální měření periferní tělesné teploty nosili dobrovolníci po celou dobu experimentu náramkové „potítko“ (obrázek 15) s všitým teplotním senzorem (iButton DS1921H-F5#). Tento teplotní senzor měří a ukládá data o teplotě každých 15 minut. Po dokončení experimentu byla tato data z teplotních senzorů stažena v podobě tabulky a následně analyzována v programu Graphpad Prism.

Obrázek 5: Fotografie sportovního „potítka“ s všitým termosenzorem (dole) a aktigrafu (nahoře).

Individuální výsledky byly získané průměrováním teplotních hodnot v jednotlivých časových bodech, během měření v domácích podmínkách a během měření v experimentálním bytě. Výsledkem je tedy jedna průměrná teplotní křivka z domácích podmínek a druhá z experimentálního bytu. Před samotnou analýzou byla data filtrována – použita byla jen

teplotní data nad 30 °C (nižší nasnímaná teplota znamená, že participant v daný okamžik neměl teplotní senzor umístěn adekvátně).

4.3.3. Aktigrafie a spánkové deníky

K měření aktivní a klidové fáze člověka se standardně využívá metoda aktigrafie. Aktigrafický záznam je pořízen pomocí náramkového aktigrafu (obrázek 15), který dobrovolník nosí po celou dobu experimentu na své nedominantní ruce. Aktigraf snímá kromě dat o aktivitě také informace o světle. Metoda aktigrafie byla rozšířena o spánkové deníky. Do těchto deníků účastníci udávají dobu usnutí, probuzení, jejich subjektivní hodnocení kvality spánku a řadu dalších parametrů (zda poslední 2 hodiny před spaním jedli, cvičili, nebo používali multimediální zařízení, v kolik hodin zhasli světlo, zda šli spát v obvyklou dobu, jak dlouho jim odhadem trvalo usnout, počet nočních probuzení, zda k rannímu probuzení použili budík a zhodnocení kvality spánku na škále od 1 do 6 podle míry odpočinku). Spánkové deníky se následně analyzují současně s daty staženými z aktigrafu, slouží k jejich upřesnění. Data z aktigrafu byla analyzována pomocí programů Motion Watch, Graphped Prism a Sleep Analysis 5.

4.4. Statistické zpracování dat

4.4.1. Melatonin

Pro každého účastníka experimentu byla pomocí nelineární regresní analýzy Cosinor (rovnice 1) potvrzena cirkadiánní rytmicita obou melatoninových profilů. Pro srovnání jednotlivých individuálních melatoninových profilů mezi sebou byla data relativizována na násobek minima. Získané melatoninové profily participantů byly porovnávány pomocí dvoucestného testu ANOVA (analysis of variance). Pro určení statisticky signifikantních změn v konkrétních časových bodech byla použita mnohonásobná srovnání (Šidákův test vícenásobného srovnání, signifikantní, pokud $P \leq 0{,}05$). Každý profil byl nadále vyhodnocen pomocí nelineární regresní analýzy Cosinor (rovnice 1) pro zjištění amplitudy, akrofáze a mesoru daného rytmu. Tyto parametry byly srovnány za použití párového t testu (signifikantní, pokud $P \leq 0{,}05$). Také získaná AUC byla porovnána párovým t testem.

$$Y = \text{Mesor} + (\text{Amplituda} \cdot \cos\frac{2 \cdot \pi \cdot (X - \text{Akrofáze})}{\text{Vlnová délka}})$$

Rovnice 1: rovnice nelineární regresní analýzy Cosinor

4.4.2. Teplotní senzory

Pro každého účastníka experimentu byla pomocí nelineární regresní analýzy Cosinor (rovnice 1) potvrzena cirkadiánní rytmicita obou teplotních profilů. Podobně jako u melatoninu byly párovým t testem (signifikantní, pokud $P \leq 0{,}05$) vyhodnoceny parametry akrofáze, mesor, amplituda. Teplotní profily participantů v kontrolních a experimentálních podmínkách byly porovnávány pomocí dvoucestného testu ANOVA. Pro určení statisticky signifikantních změn v konkrétních časových bodech byla použita mnohonásobná srovnání (Šidákův test vícenásobného srovnání, signifikantní, pokud $P \leq 0{,}05$).

4.4.3. Aktigrafie

Získaná data byla nejprve vyhodnocena pomocí NPCRA, vyhodnocené pomocí programu Motion Watch. Získané parametry (relativní amplituda, mezidenní stabilita, vnitrodenní variabilita, L5 Average a M10 Average) byly následně porovnány párovým t testem (signifikantní, pokud $P \leq 0{,}05$). Data získaná o kvalitě spánku (spánková latence, imobilní minuty, index fragmentace, light/dark ratio) byla statisticky zhodnocena pomocí dvoucestného testu ANOVA (signifikantní, pokud $P \leq 0{,}05$).

4.4.4. Korelace fázových posunů melatoninu a teploty

Dalším statistickým vyhodnocením získaných dat bylo ověření potenciální korelace mezi fázovým posunem melatoninu a teploty. Pro tento výpočet byl použit Spearmanův korelační koeficient (rovnice 2) na základě hypotézy lineárního vztahu mezi těmito dvěma proměnnými.

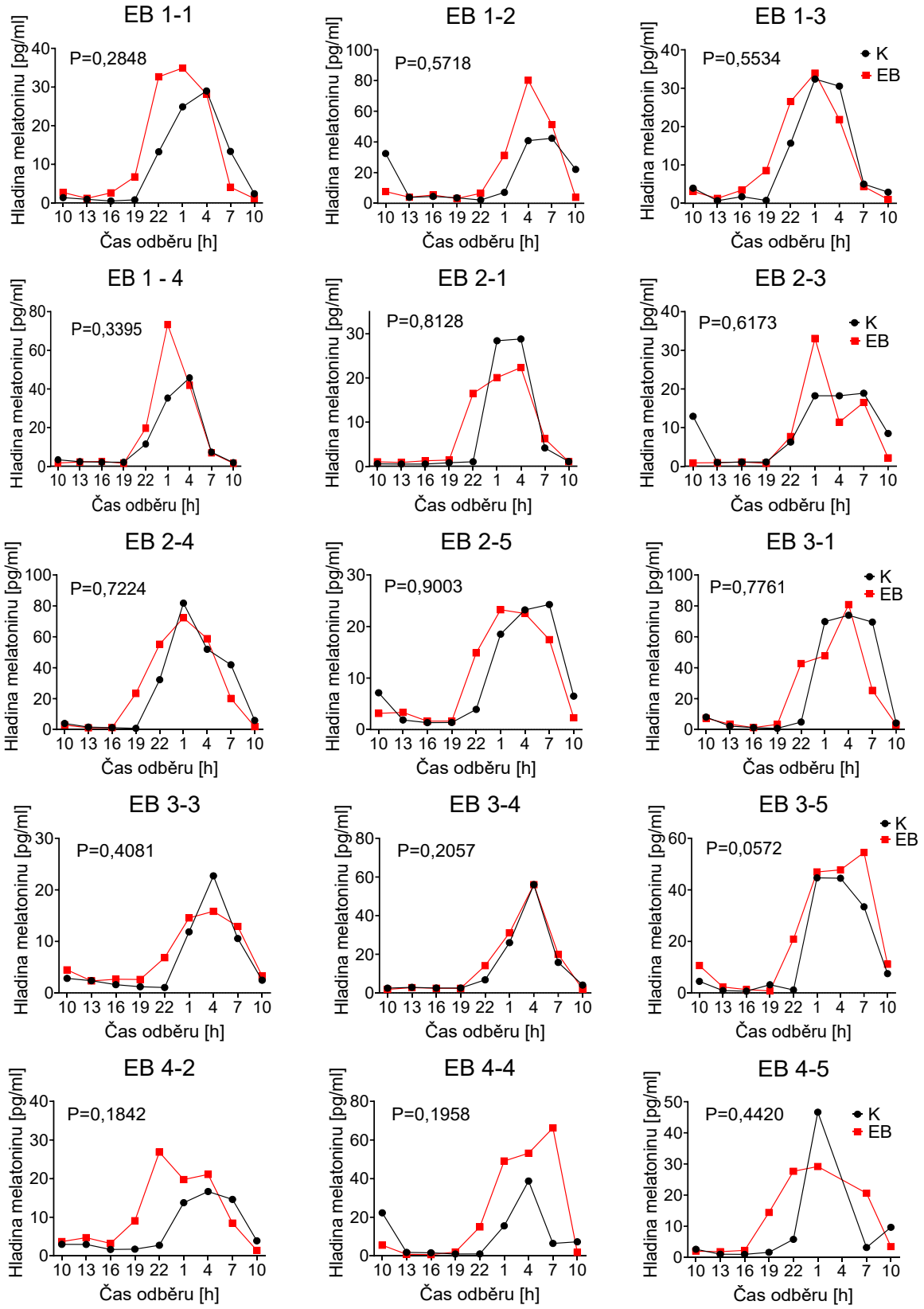
$$r_s = 1 - \frac{6 \cdot \sum di^2}{n\left(n^2 - 1\right)}$$ Kde d_i^2 = rozdíl pořadí mezi x_i a y_i

Rovnice 2: Výpočet Spearmanova korelačního koeficientu

5. Výsledky

5.1. Melatonin

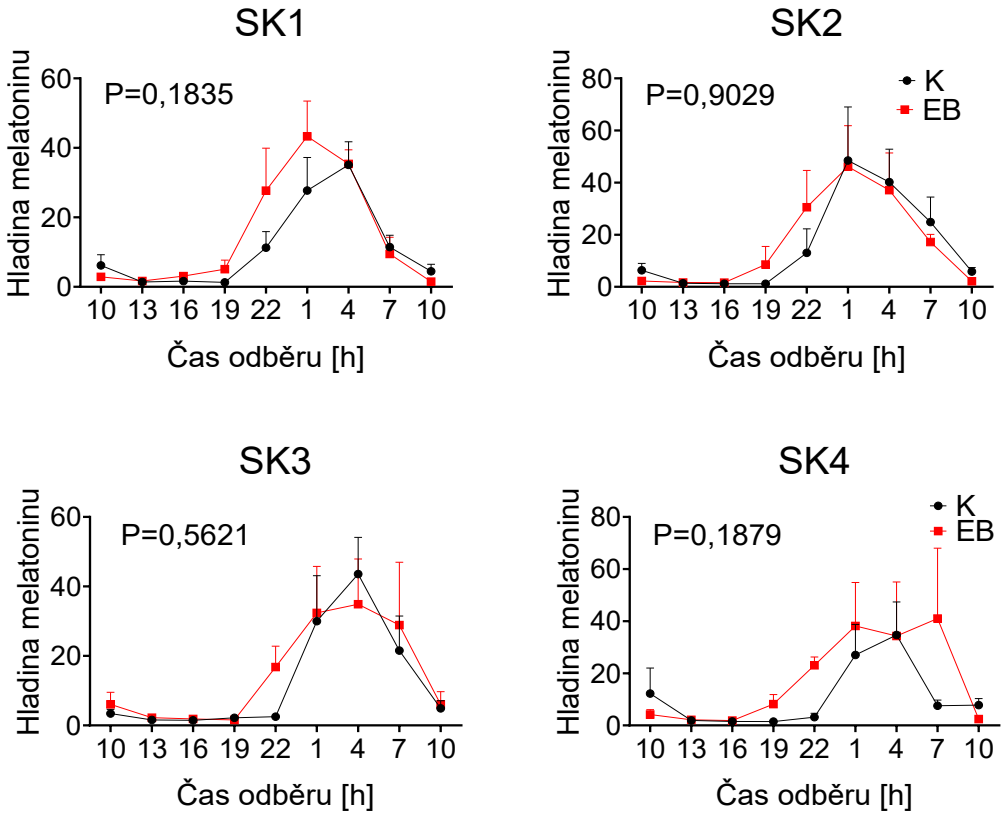
Výsledky individuálních melatoninových profilů pro jednotlivé účastníky experimentu jsou zobrazeny na obrázku 16. Celkem se podařilo získat úplné profily od 15 účastníků. Přesto, že ze srovnání profilů dvoucestným testem ANOVA vyplývá, že oba profily se signifikantně neliší ani u jednoho z účastníků, z grafů je patrné časnější zvyšování hladiny melatoninu téměř u všech participantů po týdenním pobytu v experimentálním bytě, a často i vyšší noční hladiny melatoninu. Proto jsme se pokusili vyhodnotit souhrnný trend změn v melatoninovém profilu u všech participantů.



Obrázek 6: grafy individuálních melatoninových profilů. Pro každého účastníka značí černá křivka grafu melatoninový profil změřený v domácích podmínkách (K), červená křivka pak

značí profil měřený v posledním dnu pobytu v experimentálním bytě (EB). P značí výsledek dvoucestného testu ANOVA.

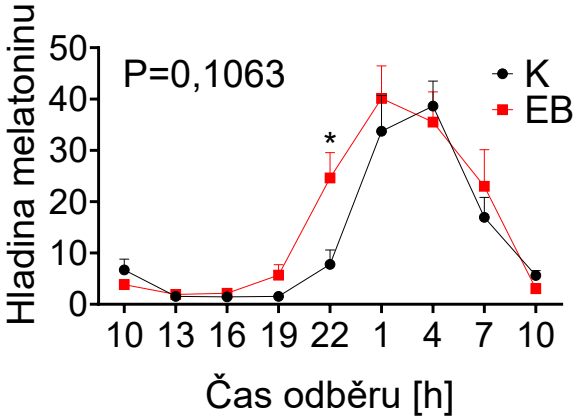
Nejprve jsme srovnali průměrné hodnoty hladin melatoninu v jednotlivých skupinách participantů, abychom postihli případný vliv specifických podmínek, které mohly vzniknout v rámci týdenních rozestupů mezi skupinami (obrázek 17). Pro porovnání dat ve skupině byly reálné hladiny melatoninu v pg/ml pro každý subjekt normalizovány na násobek minima. Dvoucestná ANOVA nepotvrdila rozdíl mezi kontrolním a experimentálním měřením v těchto skupinových srovnáních.



Obrázek 7: Průměrné melatoninové profily účastníků dle skupin SK1 – SK4. Pro každého účastníka značí černá křivka grafu melatoninový profil změřený v domácích podmínkách (K), červená křivka pak značí profil měřený v posledním dnu pobytu v experimentálním bytě (EB). P značí výsledek testu dvoucestná ANOVA.

Srovnávali jsme proti sobě také průměrné kontrolní profily a experimentální profily ze čtyř pobytů. Ani v tomto srovnání dvoucestný test ANOVA neprokázal signifikantní rozdíl mezi kontrolními (P = 0,4154) a experimentálními (P = 0,8928) profily.

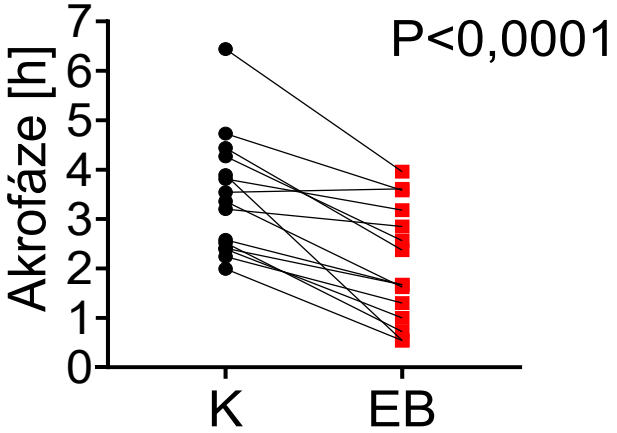
Protože se ani kontrolní, ani experimentální profily mezi skupinami významně nelišily, vytvořili jsme průměr hladin melatoninu z celého vzorku dobrovolníků (obrázek 18).



*Obrázek 18: Celkový průměr melatoninových profilů účastníků. Černá křivka grafu značí průměrný melatoninový profil změřený v domácích podmínkách (K), červená křivka pak značí profil měřený v posledním dnu pobytu v experimentálním bytě (EB). P značí výsledek dvoucestného testu ANOVA. * odpovídá signifikantnímu rozdílu výsledku dvoucestného testu ANOVA v daném bodě pomocí Šidákova testu vícenásobného srovnání.*

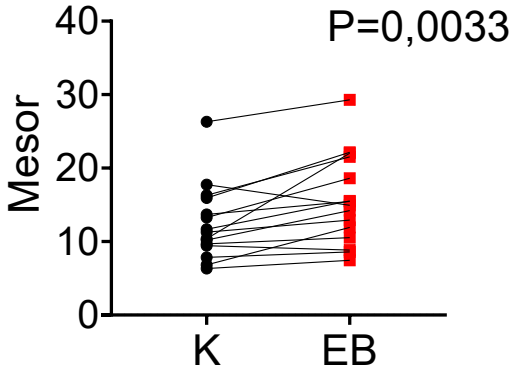
Ačkoliv ani v tomto srovnání nepotvrdila dvoucestná ANOVA signifikantní rozdíl mezi oběma profily, z testu mnohonásobného srovnání je patrné, že po vystavení světelnému režimu v experimentálním bytě došlo u participantů k dřívějšímu nástupu hladiny melatoninu ve večerních hodinách. Statisticky validní změna byla patrná v odběru uskutečněném ve 22 h (P = 0,0163). Nejvyšší hladiny nočního melatoninu zůstaly oproti domácím podmínkám beze změny.

Dalším srovnávaným parametrem byla akrofáze rytmu melatoninu. Srovnání akrofází jednotlivých účastníků experimentu je uvedeno na obrázku 19. Srovnání párovým t testem odhalilo signifikantní posun akrofáze k dřívějším hodinám (P < 0,0001).

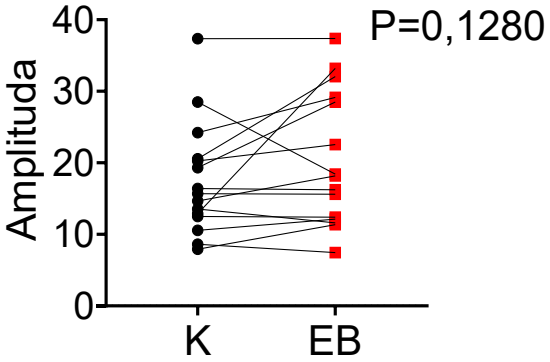


Obrázek 19: Srovnání akrofází participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). Na ose y je vyznačen čas, hodnota 0 značí půlnoc. P značí výsledek párového t testu.

Změna mesoru v experimentálním bytě oproti domácím podmínkám je shrnuta v grafu na obrázku 20. Párový t test odhalil signifikantní změnu (P = 0,0033), střední hodnota rytmu je v experimentálních podmínkách vyšší. Změna amplitudy oproti domácím podmínkám je uvedena v grafu na obrázku 21. Párový t test nepotvrdil žádnou signifikantní změnu (P = 0,1280) v amplitudě.

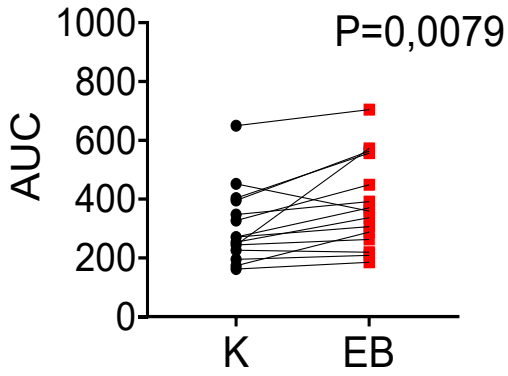


Obrázek 20: Srovnání mesoru participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.



Obrázek 21: Srovnání amplitudy participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

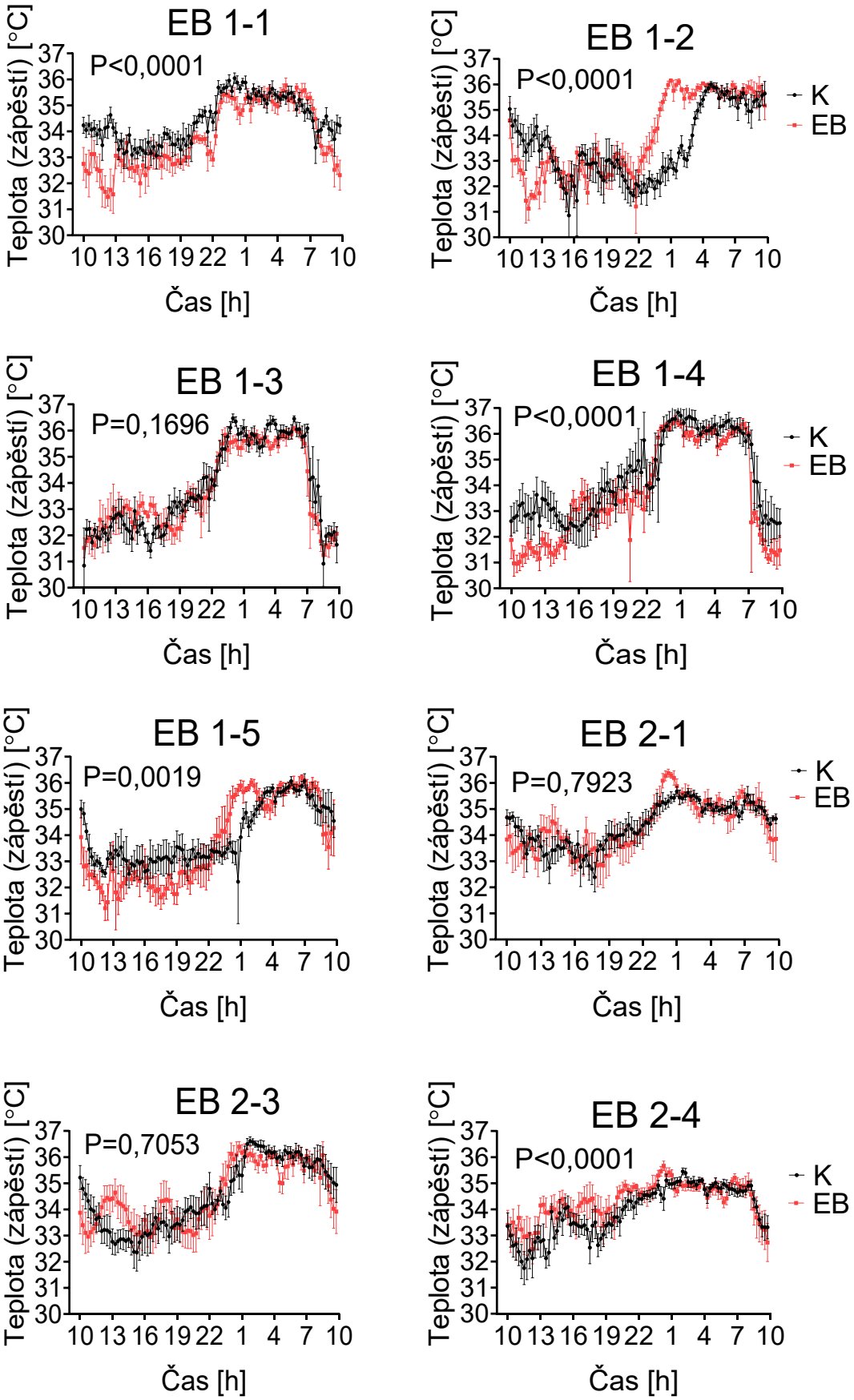
Posledním analyzovaným parametrem v rámci rytmu melatoninu je plocha pod křivkou (area under curve – AUC). Porovnání AUC je uvedeno v grafu na obrázku 22. Párový t test odhalil signifikantní zvětšení (P = 0,0079) AUC rytmu melatoninu oproti kontrolním podmínkám.

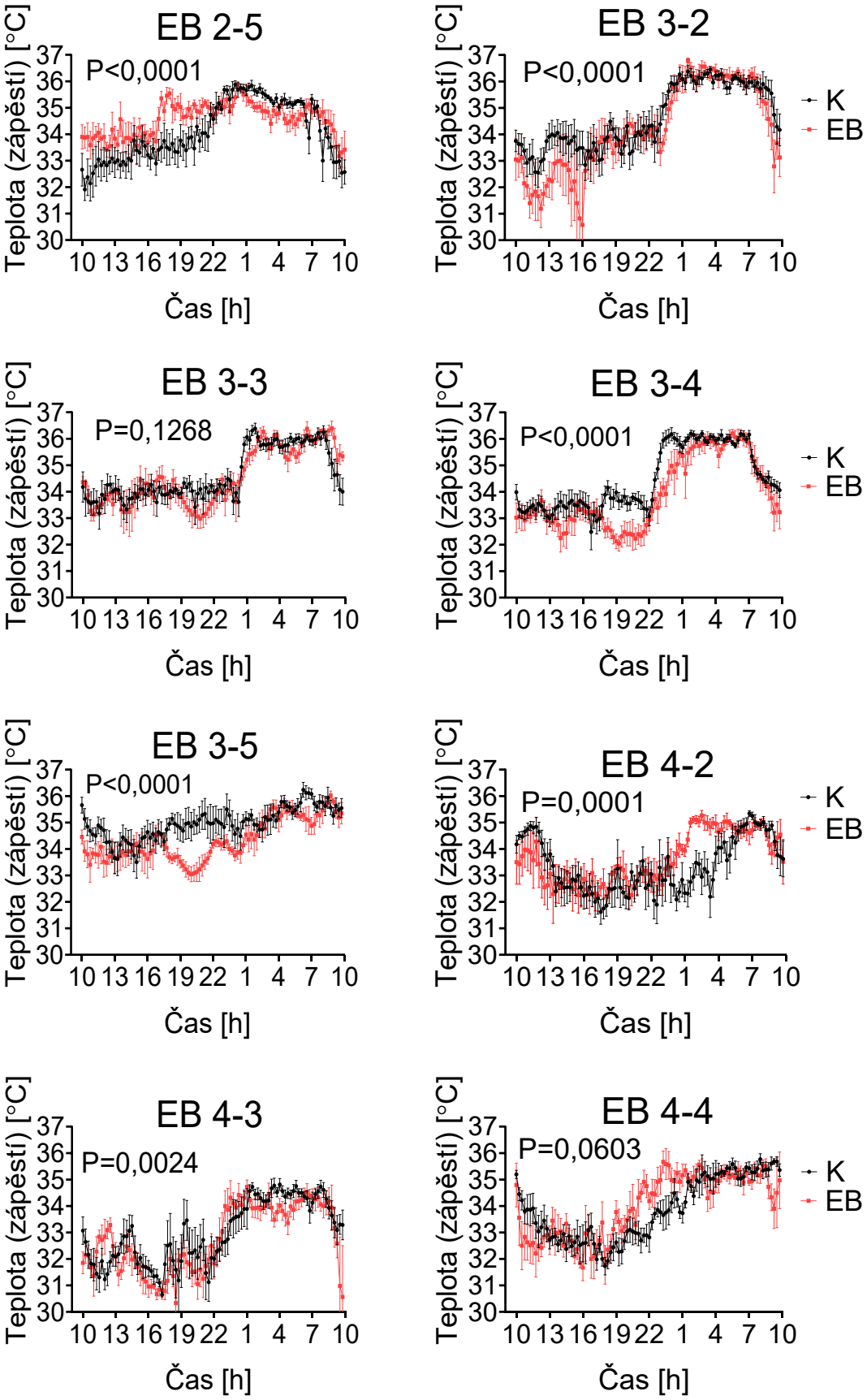


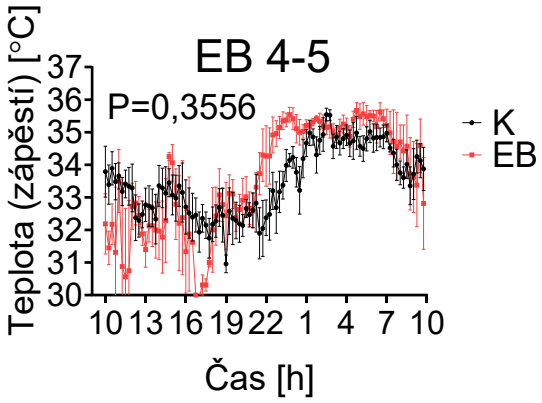
Obrázek 22: *Srovnání amplitudy participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.*

5.2. Teplotní senzory

Rytmus tělesné teploty je jedním z měřitelných výstupů cirkadiánního systému člověka. Následující grafy (obrázek 23) zobrazují cirkadiánní průběh změn v periferní teplotě u jednotlivých participantů. Celkem se podařilo získat kompletní záznam v rytmu teploty od 17 účastníků. U 12 účastníků byl pomocí testu dvoucestná ANOVA potvrzen signifikantní rozdíl v rytmu teploty mezi kontrolními a experimentálními podmínkami.

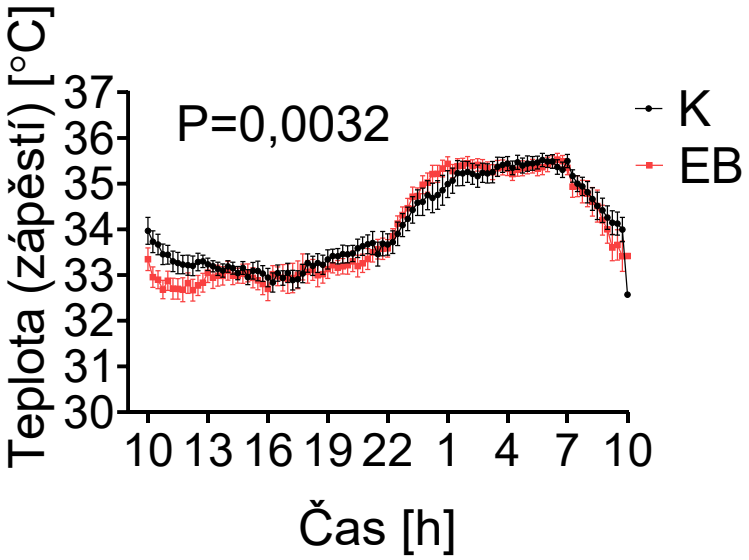

EB 1-1
P<0,0001
EB 1-2
P<0,0001
EB 1-3
P=0,1696
EB 1-4
P<0,0001
EB 1-5
P=0,0019
EB 2-1
P=0,7923
EB 2-3
P=0,7053
EB 2-4
P<0,0001
K
EB
Teplota (zápěstí) [°C]
37
36
35
34
33
32
31
30
10 13 16 19 22 1 4 7 10
Čas [h]


EB 2-5
P<0,0001
EB 3-2
P<0,0001
EB 3-3
P=0,1268
EB 3-4
P<0,0001
EB 3-5
P<0,0001
EB 4-2
P=0,0001
EB 4-3
P=0,0024
EB 4-4
P=0,0603
K
EB
Teplota (zápěstí) [°C]
Čas [h]
37
36
35
34
33
32
31
30
10 13 16 19 22 1 4 7 10



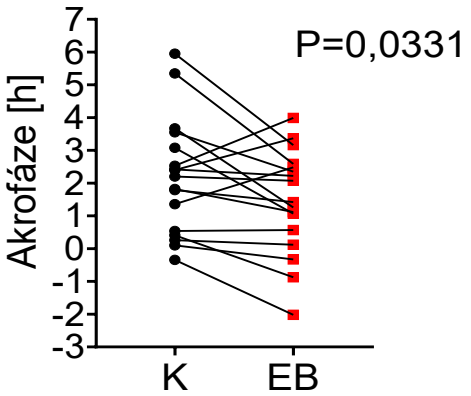
Obrázek 23: Záznamy individuálních rytmů tělesné teploty. Pro každého účastníka značí černá křivka grafu průměrný teplotní profil změřený v domácích podmínkách (K), červená křivka pak značí průměrný profil měřený během pobytu v experimentálním bytě (EB). P značí výsledek dvoucestného testu ANOVA.

Celkový průměr teplot od všech participantů (obrázek 24) pak podle dvoucestného testu ANOVA vykazuje signifikantní změnu (P = 0,032). Šidákův test vícenásobného srovnání však nepotvrdil žádný rozdíl v teplotě mezi jednotlivými časovými body.

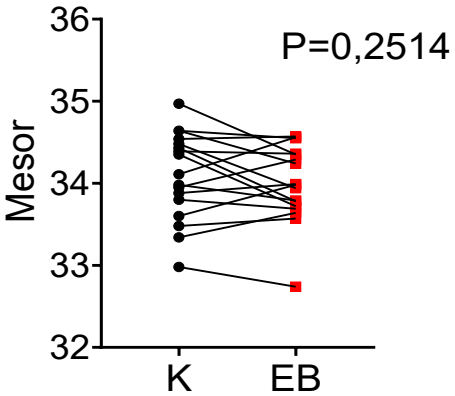


Obrázek 24. Celkový průměr záznamu periferní tělesné teploty účastníků (TP). Černá křivka grafu značí teplotní profil změřený v domácích podmínkách (K), červená křivka pak značí profil měřený během pobytu v experimentálním bytě (EB). P značí výsledek dvoucestného testu ANOVA.

Podobně jako u melatoninu, dalšími zkoumanými parametry byly u rytmů zaznamenané teploty vyhodnocovány akrofáze a mesor. Změna akrofáze (obrázek 25) oproti kontrolním podmínkám byla na základě párového t testu vyhodnocena jako validní (P = 0,0331), u participantů došlo k posunu akrofáze k dřívějším hodinám. Naproti tomu u parametru mesoru (obrázek 26) párový t test žádnou signifikantní změnu nepotvrdil (P = 0,2514).

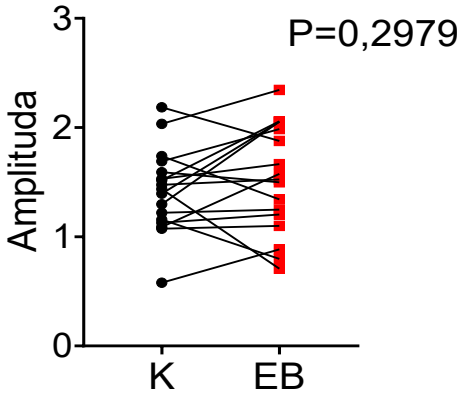


Obrázek 25: Srovnání akrofází participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

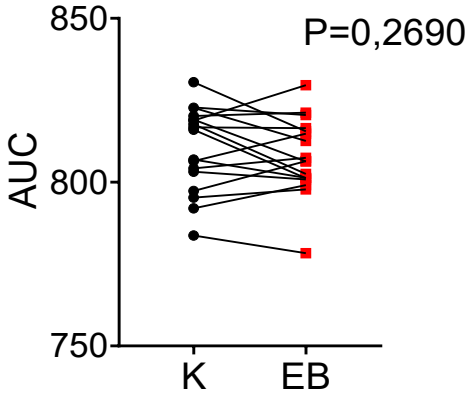


Obrázek 26: Srovnání mesoru participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

Srovnání amplitudy rytmu teploty kontrolních a experimentálních podmínek nevykazovalo dle výsledků párového t testu žádný signifikantní rozdíl (P = 0,2979). Výsledky srovnání amplitud jsou uvedeny na obrázku 27. Srovnání AUC je uvedeno na obrázku 28, dle párového t testu nevykazuje signifikantní rozdíl (P = 0,2690).



Obrázek 27: Srovnání amplitudy participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.



Obrázek 28: Srovnání AUC participantů experimentu v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

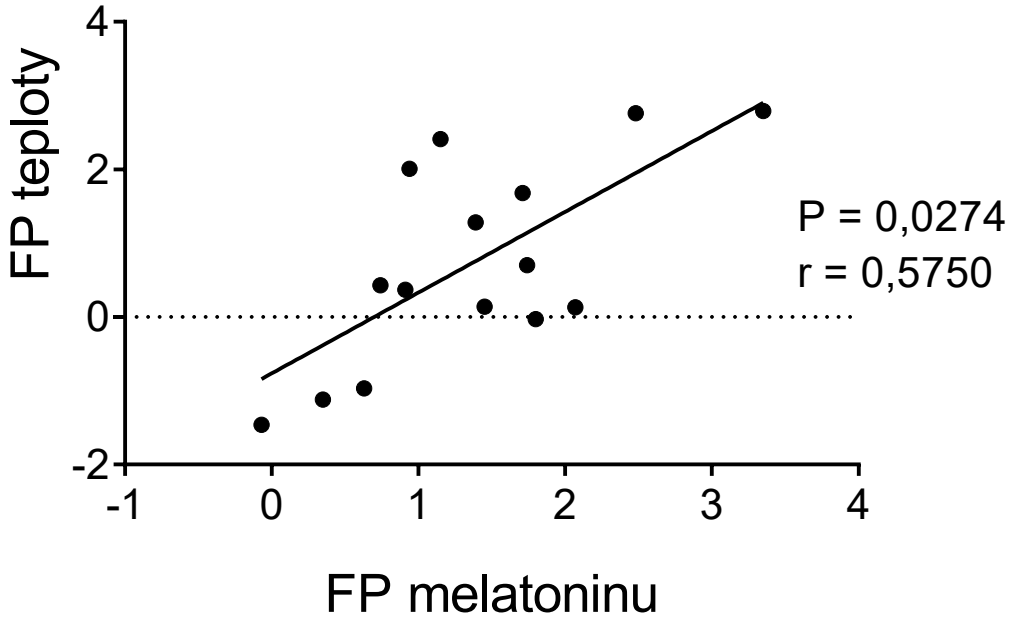
5.3. Korelace fázového posunu rytmu melatoninu a tělesné teploty

Fázový posun byl pro jednotlivé participanty spočítán odečtem akrofáze rytmu změřené v experimentálních podmínkách od akrofáze změřené v podmínkách kontrolních. Fázový posun byl spočítán pro rytmus melatoninu a rytmus teploty, výsledky jsou uvedeny v tabulce 2. Výsledek korelace je uveden na obrázku 29.

Tabulka 2: Akrofáze (reálný čas) a fázové posuny rytmu melatoninu a teploty (h) pro jednotlivé participanty

	Melatonin			Teplota		
Kód	Akrofáze (kontrolní)	Akrofáze (experimentální)	Fázový posun	Akrofáze (kontrolní)	Akrofáze (experimentální)	Fázový posun
1-1	2,52	0,72	1,8	0,54	0,57	-0,03
1-2	6,44	3,96	2,48	5,35	2,59	2,76
1-3	1,99	0,54	1,45	0,26	0,12	0,14

1-4	2,41	1,67	0,74	0,1	-0,33	0,43
2-1	2,58	1,67	0,91	1,79	1,42	0,37
2-3	4,44	2,37	2,07	2,2	2,07	0,13
2-4	2,39	1	1,39	0,41	-0,87	1,28
2-5	4,27	2,56	1,71	-0,34	-2,02	1,68
3-2	3,36	1,62	1,74	1,82	1,12	0,7
3-3	3,81	3,18	0,63	2,4	3,37	-0,97
3-4	3,2	2,85	0,35	1,36	2,48	-1,12
3-5	3,54	3,61	-0,07	2,53	3,99	-1,46
4-2	3,89	0,54	3,35	5,95	3,16	2,79
4-4	4,73	3,58	1,15	3,67	1,26	2,41
4-4	2,24	1,3	0,94	3,08	1,07	2,01

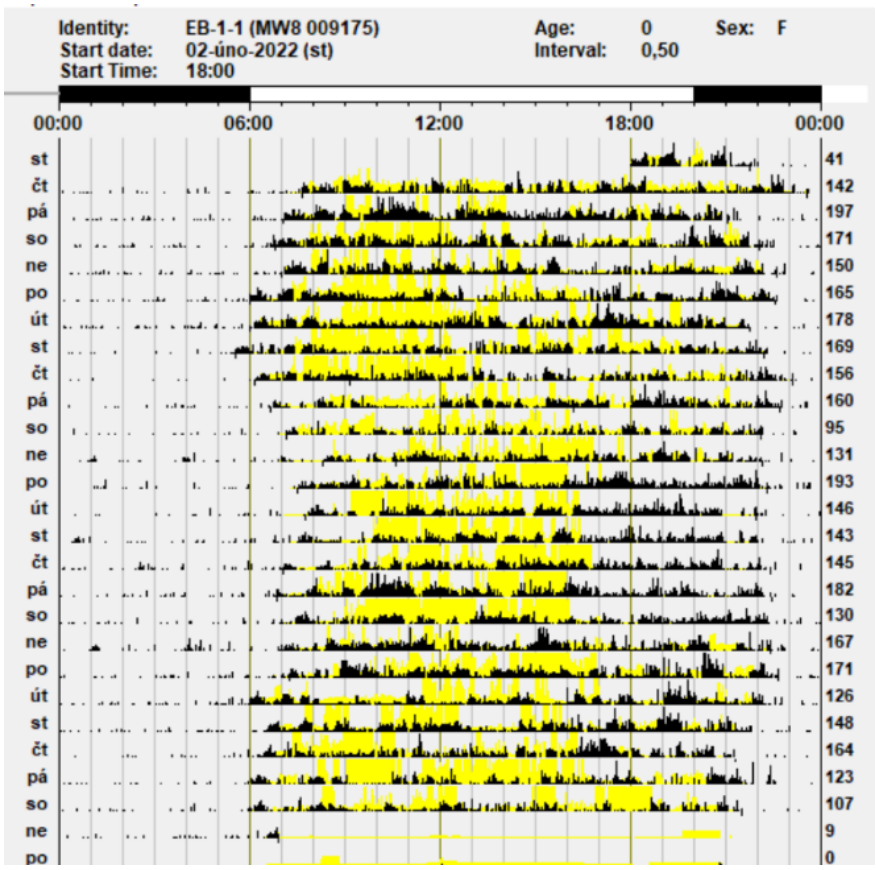


Obrázek 29: Korelace mezi fázovým posunem (FP) rytmu melatoninu a tělesné teploty

Výsledek Spearmanova korelačního koeficientu (r = 0,5750) pro zhodnocení lineárního vztahu naznačuje obecně rostoucí vztah mezi proměnnými.

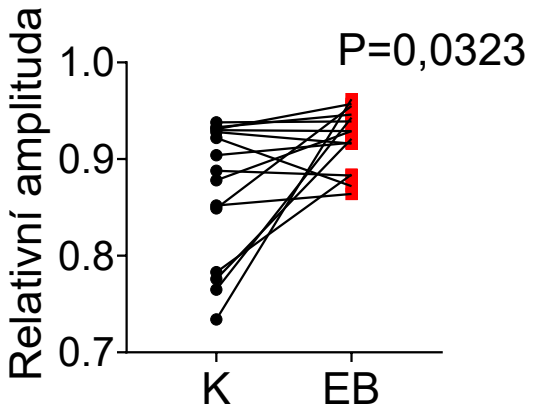
5.4. Aktigrafy

Záznam o pohybové aktivitě byl u účastníků experimentu snímán pomocí náramkového aktigrafu. Výsledkem je pro každého participanta jeho individuální aktogram (příklad individuálního aktogramu na obrázku 30). Z aktogramu lze vysledovat nejen individuální pohybovou aktivitu, ale také míru vystavení se osvětlení v daných časových bodech záznamu.

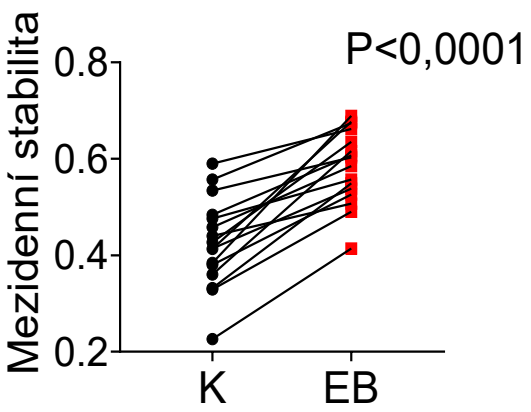


Obrázek 30: Příkladový individuální aktogram participanta s kódem EB 1-1. Na aktogramu jsou na ose y vyznačeny postupně jdoucí dny, na ose x pak časový záznam daného dne. Černá barva v aktogramu značí relativní míru aktivity participanta, barva žlutá značí relativní míru osvětlení, kterému je participant vystaven.

Metodou NPCRA byly vyhodnocovány parametry RA, IS a IV. Párový t test odhalil signifikantní zvýšení RA ($P = 0{,}0323$) a IS ($P < 0{,}0001$) po nastolení experimentálních podmínek u participantů. Výsledky RA jsou uvedeny na obrázku 31, výsledky IS na obrázku 32.

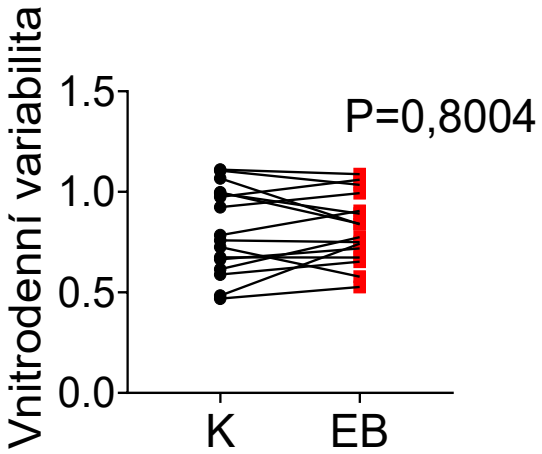


Obrázek 31: Srovnání relativní amplitudy v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.



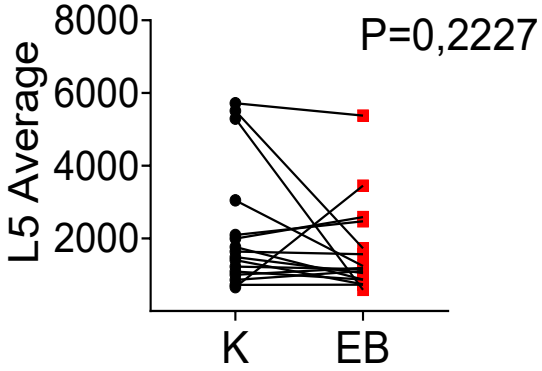
Obrázek 32: Srovnání mezidenní stability v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

Nebyla však zjištěna statisticky validní změna u parametru IV (P = 0,8004). Výsledky jsou uvedeny na obrázku 33.

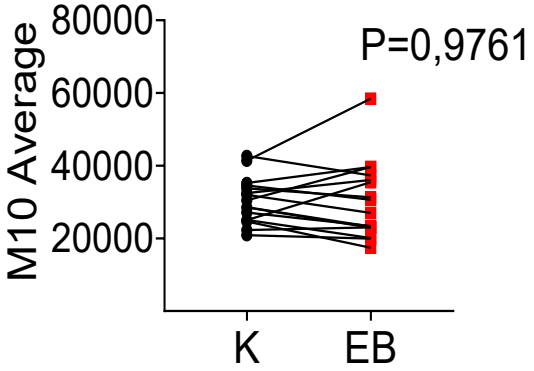


Obrázek 33: Srovnání vnitrodenní variability v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

V rámci experimentu neodhalil párový t test žádnou signifikantní změnu ani u L5 Average (P = 0,2227), ani u M10 Average (P = 0,9761). Srovnání L5 average je uvedeno na obrázku 34, srovnání M10 Average je uvedeno na obrázku 35.



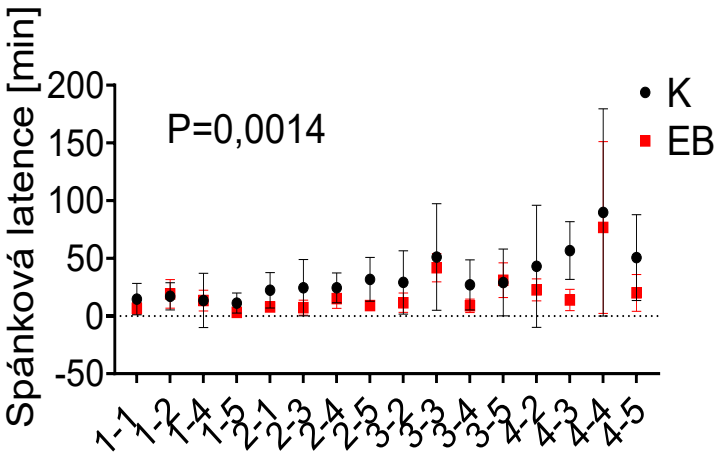
Obrázek 34: Srovnání L5 Average v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.



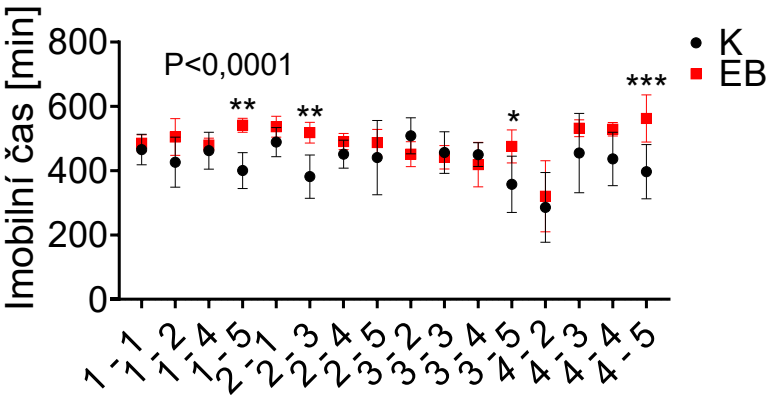
Obrázek 35: Srovnání M10 Average v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). P značí výsledek párového t testu.

Dále byla z aktigrafu analyzovány data o spánku a světelném režimu participantů. Analyzovanými parametry byly spánková latence, celkový počet imobilních minut během noci a celková aktivita během dne. U spánkové latence bylo pomocí testu dvoucestné ANOVA prokázáno signifikantní snížení (P = 0,0014). V případě individuálního srovnání spánkové latence test dvoucestná ANOVA (Šidákovo vícenásobné srovnání) neodhalil signifikantní posun (téměř ve všech bodech P > 0,9, u participanta 4-3 pak P = 0,2224) oproti kontrolním podmínkách (obrázek 36).

Dle dvoucestného testu ANOVA dále došlo k signifikantnímu nárůstu imobilních minut (P < 0,0001). U imobilních minut dále došlo dle Šidákova vícenásobného srovnání k signifikantnímu posunu celkem u 4 participantů (u subjektu 1-5 platí P = 0,0068, pro 2-3 platí P = 0,0100, pro 3-5 se P = 0,0476 a pro 4-5 se P = 0,0006). Data jsou uvedena na obrázku 37.



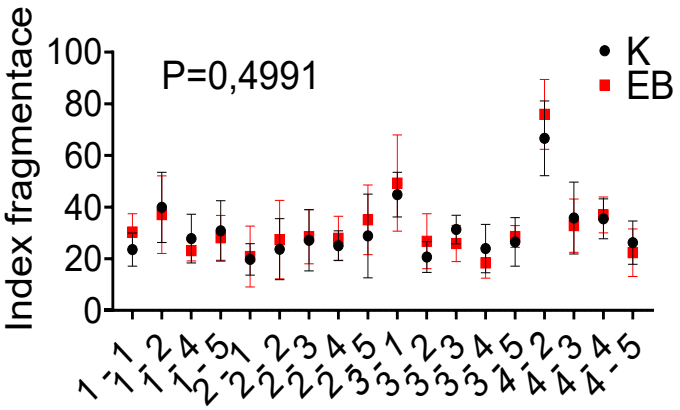
Obrázek 36: Srovnání spánkové latence v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). Pro každého účastníka značí černé body spánkovou latenci změřenou v domácích podmínkách, červené body označují hodnoty změřené během pobytu v experimentálním bytě. P značí výsledek testu dvoucestná ANOVA.



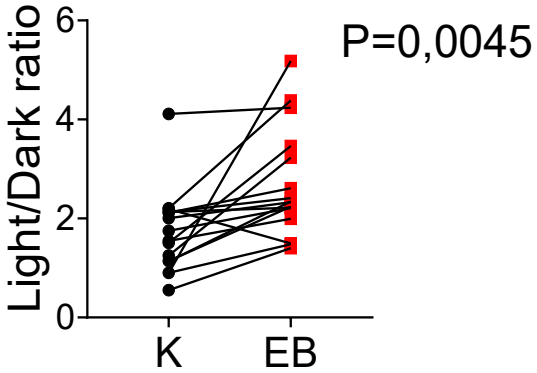
*Obrázek 37: Srovnání imobilních minut v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). Pro každého účastníka značí černé body spánkovou latenci změřenou v domácích podmínkách, červené body označují hodnoty změřené během pobytu v experimentálním bytě. P značí výsledek testu dvoucestná ANOVA. * značí signifikantní výsledek Šidákova vícenásobného srovnání.*

Dalšími analyzovanými parametry byly index fragmentace spánku a „light/dark ratio“. U indexu fragmentace nepotvrdil test dvoucestná ANOVA signifikantní změnu v žádném z bodů. U parametru „light/dark ratio“ došlo dle párového t testu k signifikantnímu zvýšení

(P = 0,0045) – subjekty tedy v experimentálních podmínkách trávili více času na světle. Výsledky indexu fragmentace jsou uvedeny na obrázku 38, výsledky „light/dark ratio“ na obrázku 39.



Obrázek 38: *Srovnání indexu fragmentace v kontrolních (K) a experimentálních podmínkách (EB). Pro každého účastníka značí černé body spánkovou latenci změřenou v domácích podmínkách, červené body označují hodnoty změřené během pobytu v experimentálním bytě P značí výsledek testu dvoucestná ANOVA.*



Obrázek 39: Srovnání „light/dark ratio“ v kontrolních a experimentálních podmínkách. P značí výsledek párového t testu.

6. Diskuze

6.1. Design experimentu

Cílem experimentu bylo prokázat vliv experimentálních biodynamických svítidel na lidský organismus, zejména na amplitudu, akrofázi a mesor charakterizující cirkadiánní rytmus. Experimentu se celkem zúčastnilo 20 mladých dobrovolníků v dobrém zdravotním stavu. Tento počet je v rozmezí standardního rozsahu u experimentů, kde je výzkumným subjektem člověk (Thorne et al., 2009; Ho Mien et al., 2014; Vondrašová-Jelínková et al., 1999).

První část měření podstupovali participantni po dobu jednoho týdne každý ve svém domácím prostředí, prakticky bez zásahu do jejich běžného režimu. V rámci experimentálního měření pobývali v prostorech experimentálního bytu. Tato část experimentu trvala týden. Tato doba by měla být dostačující na to, aby došlo k měřitelným změnám jejich cirkadiánním rytmu (Burke et al., 2013; Thorne et al., 2009). V některých studiích experimenty podobného designu trvají pouze 4 dny (Thapan et al., 2001; Vondrašová-Jelínková et al., 1999), v dalších po dobu víkendu (Cho et al., 2016).

V experimentálním bytě bylo nainstalováno osvětlení dvojího typu – odlišné svítidlo pro denní a noční svícení. Experimentální svítidlo pro denní osvětlení vyzařovalo plnospektrální světlo o síle 1000 lux (měřeno v úrovni očí). Tato intenzita je vyšší než u typického interiérového LED osvětlení, u kterého se dle některých zdrojů pohybuje průměrně okolo 200 lux s výraznou složkou spektra v modré oblasti (Falchi et al., 2011; Sander et al., 2015). Dle kancelářských norem by se intenzita světla měla pohybovat minimálně v hodnotě 500 lux na pracovním stole (Nařízení Komise (ES) č. 244/2009). Nicméně v rámci experimentů s biodynamickým osvětlením patří testované svítidlo spíše k těm s nižší intenzitou, dle některých zdrojů je žádoucí použít na ovlivnění cirkadiánního rytmu osvětlení o intenzitě 3000 lux (Burke et al., 2013; Zeitzer et al., 2000).

Druhé svítidlo používané v experimentálním bytě ve večerních hodinách a mělo za cíl simulovat spektrum zapálené svíčky nebo ohně – tzn. světlo, u kterého se předpokládá ve večerních hodinách minimální potlačení syntézy melatoninu a malý dopad na přirozený průběh cirkadiánního rytmu člověka (Sunde et al., 2020). Na druhou stranu se v některých studiích ukazuje, že červené světlo pravděpodobně neovlivňuje individuální míru ospalosti (Lin a Westland, 2020) a je tedy třeba brát v potaz komplexitu a oddělení těchto fyziologických procesů.

Je třeba zmínit, že u našeho modelu experimentálního osvětlení nebylo příliš pozitivní hodnocení participantů; zaznívaly stížnosti zejména na zrakový komfort a ostrý přechod mezi dvěma světelnými režimy. Svítidla se tedy ukazují jako funkční, nicméně zatím poněkud nepraktická pro každodenní použití. Od participantů zaznívaly stížnosti zejména na zkreslené vnímání barev pod večerním osvětlením, což je problém, se kterým se vývojáři biodynamického osvětlení pravidelně potýkají. Denní svítidlo bylo naopak hodnoceno jako příliš ostré a nepříjemné. Svítidla jsou stále v rané testovací fázi a před uvedením na trh bude třeba tyto faktory zohlednit.

V rámci designu experimentu je také potřeba vzít jeho sociální rozměr. Experimentu se zúčastnily 4 skupiny po 5 lidech, v některých skupinách se mezi sebou participanti znali, v některých nikoliv. Obě varianty s sebou přináší úskalí, v případě že se účastníci znají, lze očekávat ovlivnění spánkového režimu sociálními vazbami. V případě, že se mezi sebou neznají, je třeba vzít v potaz značnou míru stresu, které jsou participanti vystaveni. V obou případech lze také předpokládat sociální synchronizaci, neboť participanti sdíleli velmi omezený prostor a museli se zákonitě ovlivňovat dobou vstávání a pravděpodobně i uléhání ke spánku i dobou společné večeře. Vzhledem k tomu, že participanti nebyli pod stálým dohledem, mohlo dojít k chybám v dodržování podmínek experimentu. Předpokládáme, že míra sociální synchronizace se může projevit zejména na aktigrafických záznamech a domníváme se, že profil melatoninu (Sunde et al., 2020), a pravděpodobně i profil tělesné teploty mohou odpovídat spíše nastaveným světelným podmínkám (Ishibashi et al., 2010; Kakooei et al., 2010; te Kulve et al., 2016).

6.2. Výsledky

Aktigrafické měření „light/dark“ poměru potvrdilo, že participanti trávili v rámci experimentálních podmínek celkově více času na světle než v kontrolních podmínkách domácího prostředí. Tento parametr určuje relativní poměr vystavení subjektu světlu a tmě. Vzhledem k tomu, že aktigraf efektivně snímá světlo až od určité intenzity, lze tento parametr interpretovat jako míru vystavení subjektu fyziologicky významné intenzitě denního osvětlení.

Je ovšem potřeba zdůraznit, že participanti nemuseli pro dodržení podmínek trávit celý týden v prostorách experimentálního bytu. Subjekty se mohli pohybovat venku na denním světle, a proto nelze s jistotou tvrdit, že se jedná pouze o efekt dodaného biodynamického osvětlení.

Ze srovnání s kontrolními podmínkami lze však usuzovat, že dodané denní svítidlo tento efekt jednoznačně podporuje.

6.2.1. Melatonin

První metodou použitou pro analýzu cirkadiánních rytmů účastníků experimentu byla analýza jejich melatoninových profilů. Analýza melatoninu ze vzorků slin je metoda standardně využívaná k těmto účelům (Crowley et al., 2015; Ho Mien et al., 2014).

Analyzovaných profilů bylo celkem 20, zařazeno do výsledků je jich však pouze 15. U účastníků s kódy EB 1–5, EB 4–2 a EB 4–3 nebyly vzorky adekvátně změřeny, s největší pravděpodobností díky vysokým teplotám v laboratoři a znehodnocením detekčních kitů. Po analýze výsledků byli dodatečně z celého experimentu vyřazeni participanti s kódy EB 2-2 (z důvodů výsledků odchýlených od fyziologických hodnot, pravděpodobně způsobeno špatným odběrem vzorků) a EB 3-1 (dle výpovědi subjektu se v době experimentu nenacházel v optimálním rozpoložení a v experimentálním bytě 2 noci prakticky nespal, výsledky tedy nejsou vypovídající).

I když dle dvoucestného testu ANOVA nebyla ani u jednoho účastníka prokázána celková signifikantní změna mezi oběma profily, při porovnání mnohočetným t testem byl prokázán dřívější nástup melatoninu v experimentálním bytě; ve 22 h byla relativní hladina melatoninu v experimentálních podmínkách zhruba 3x vyšší než relativní hladina melatoninu v domácích podmínkách (hladina melatoninu v domácích podmínkách odpovídá relativní hodnotě 7,793, hladina v experimentálních podmínkách odpovídá relativní hodnotě 24,630). S tímto posunem pravděpodobně souvisí i signifikantní posun akrofáze k dřívějším hodinám. Širšímu melatoninovému pulsu v experimentálním bytě odpovídá i rozdíl v AUC. Plocha pod křivkou může být interpretována jako množství vyplaveného melatoninu za měřený interval. Vzhledem k tomu, že melatonin nestoupal v noci v experimentálních podmínkách k signifikantně vyšším hodnotám a nebyl prokázán signifikantní posun v amplitudě melatoninu nelze významně vyšší hodnoty plochy pod křivkou přisoudit jinému parametru než rozšířenému melatoninovému pulsu do večerních hodin.

Naše výsledky jsou tedy v souladu s předpokladem, že oranžové světlo je méně účinné v potlačení produkce melatoninu než bílé světlo, kterému byly participanti vystaveni v domácnostech. Přestože nemáme přímé srovnání s barvou a intenzitou světla v domácích podmínkách našich participantů, můžeme předpokládat, že jsou osvětleny běžnými žárovkami

či LED s bílou barvou světla, která je nejčastěji užívaná jako tzv. „teplá“ bílá. Tyto zdroje mají náhradní teplotu chromatičnosti pod 3000 K. Participanti ale v domácích podmínkách také používali monitory a smartphony bez filtru modrého světla, což mohlo posunout spektrum světla, kterému byli ve večerních hodinách vystaveni více ke krátkým vlnovým délkám. Existují laboratorní studie, které ukazují, že u svítidel s vyšší teplotou chromatičnosti (6500 K) dochází k podstatně silnějšímu potlačení syntézy melatoninu, než u svítidel s teplotou chromatičnosti 3000 K a 2500 K (Chellappa et al., 2011).

Překvapivé je, že nebyl prokázán vzestup v amplitudě melatoninu v experimentálních podmínkách. Ve studiích se objevuje snížení amplitudy rytmu melatoninu po vystavení běžnému umělému osvětlení v noci (Stothard et al., 2017). Hypoteticky by tedy měla být amplituda v experimentálním bytě vyšší. Je pravděpodobně rozdíl, ve které části noci světlo působí. Světlo zvečera pouze oddaluje vzestup melatonin, jehož hladina v průběhu spánku může vystoupat k úrovni typické pro každého jednotlivce (Gooley et al., 2010; Lockley et al., 2003). Nepublikované výsledky naší laboratoře ukazují, že biodynamické osvětlení má vliv na amplitudu rytmu melatoniu u seniorů, ale její navýšení v experimentálních podmínkách je dáno spíše snížením hladiny denního melatoninu, zatímco noční hladina, podobně jako v této práci, zůstává nezměněna.

6.2.2. Teplotní senzory

Další metodou pro zhodnocení cirkadiánního rytmu participantů byly záznamy rytmu v periferní teplotě těla. Metoda teplotních senzorů se pro analýzu lidského cirkadiánního rytmu využívá standardně (Ho Mien et al., 2014; Blume, Angerer, et al., 2019; Angerer et al., 2022).

Teplotní záznam byl snímán pomocí senzoru všitému ve sportovním „potítku“. Tento senzor není voděodolný, a proto není možné mít jej na sobě kontinuálně. Z tohoto důvodů byly z teplotních dat vyřazeny záznamy teploty pod 30 °C, neboť lze předpokládat, že v této době neměli participanti senzor na těle. Z 20 subjektů se podařilo získat 17 kompletních profilů, participanti s kódy EB 2-2 a EB 3-1 byly ze studie (kvůli výše zmíněným důvodům) vyřazeni a participant s kódem EB 4-1 teplotní senzor ztratil.

Na rozdíl od individuálních profilů melatoninu, které se podle testu dvoucestná ANOVA signifikantně neliší, u záznamu z teplotních senzorů tomu tak není. U 12 ze získaných 17 záznamů účastníků byl potvrzen signifikantně odlišný záznam v experimentálních podmínkách. To je pravděpodobně způsobeno výrazně detailnějším záznamem teploty oproti

melatoninu. Melatoninové profily byly analyzovány v časových bodech jednou za 3 hodiny v poslední den před změnou podmínek, zatímco senzor snímal teplotu kontinuálně po několik dní a záznam ukládal jednou za 15 minut. Naopak při zprůměrování teplotních dat ani celkově, ani metodou Šidákova mnohonásobného srovnání nepotvrdil test dvoucestná ANOVA signifikantní rozdíl mezi domácími a experimentálními podmínkami.

Stejně jako u melatoninu je akrofáze rytmu teploty v experimentálních podmínkách vyšší. Po vypočítání fázového posunu je z výsledků patrné, že fázový posun rytmu melatoninu a fázový posun rytmu teploty korelují, a to obecně rostoucí lineární závislostí. Výsledky tedy naznačují, že čím bude vyšší fázový posun rytmu melatoninu, tím bude vyšší fázový posun v rytmu teploty. Toto zjištění je v souladu s poznatky z předchozích studií, které ukazují, že melatonin a tělesné teplota jádra jsou v protifázi – s nástupem melatoninu klesá teplota tělesného jádra (Dijk et al., 2012), což je pravděpodobně způsobeno melatoninovými receptory v krevním řečišti (Kräuchi et al., 2006; Masana et al., 2002).

Zajímavé jsou parametry mesoru a AUC, které u rytmu melatoninu vychází signifikantně vyšší, u rytmu teploty však nikoliv. U teploty, na rozdíl od melatoninu, však nemůže být její hodnota celkově „vyšší“, a tím pádem nebude v experimentálních podmínkách vyšší parametr mesor a AUC. Může však být vyšší amplituda. Avšak, podobně jako z rytmu melatoninu, v našem experimentu nebyla prokázána signifikantní změna amplitudy v rytmu teploty.

6.2.3. Aktigrafy

Poslední metodou použitou ke zhodnocení cirkadiánních rytmů účastníků experimentu byla aktigrafie. Aktigrafie se jako metoda v podobném experimentálním designu využívá standardně (Crowley a Eastman, 2015; Mundey et al., 2005; Smith et al., 2018).

Celkem se od 20 participantů podařilo získat 16 kompletních aktigrafických záznamů. Participanti s kódy EB 2-2 a EB 3-1 byly ze studie z výše uvedených důvodů vyřazeni, participant s kódem EB 4-1 aktigrafický přístroj nevrátil a aktigraf od participanta s kódem EB 1-3 se ukázal být po skončení experimentu jako porouchaný.

Zatímco výsledky melatoninu a teploty nejsou pravděpodobně tímto způsobem ovlivnitelné, výsledky aktigrafického měření mohou být zkresleny sociální synchronizací. Tato sociálně vynucená aktivita se projevuje zejména různým poměrem mezi aktivní a klidovou fází dne a synchronizovaným časováním klidové a aktivní fáze.

Naše výsledky ukazují, že v případě RA a IS došlo v experimentálním bytě k statisticky signifikantnímu zlepšení. Z těchto parametrů vyplývá výraznější rozdíl mezi denní aktivní a noční klidovou fází participantů, ve dne jsou výrazně aktivnější než v domácích podmínkách. Dále z výsledků vyplývá výrazná stabilita v aktivitě mezi jednotlivými dny. Těmto závěrům také napovídají výsledky parametrů spánkové latence a imobilních minut, participanti v experimentálním bytě trvalo usnout kratší dobu a celkově déle spali.

Z výsledků nevyplývá žádná signifikantně validní změna IV, která měla být, podle výsledků předchozích studií v analogických experimentálních podmínkách snížena (Tai et al., 2023). Příčinou mohou být sociologické důsledky designu experimentu, kde jsou participanti ve zcela novém prostředí a situace pro ně může být stresující. Tímto předpokladem lze diskutovat i výsledek indexu fragmentace (fragmentace spánku – jak často se participanti potenciálně budili), u kterého nedošlo v experimentálním bytě ke zlepšení, stejně tak jako parametry L5 Average a M10 Average.

7. Závěr

Cirkadiánní rytmy zasahují prakticky do všech procesů v našem těle, jejich správná synchronizace je proto pro zdraví člověka naprosto zásadní. V současné době vytváří kombinace celé řady společenských faktorů prostředí, ve kterém dochází k dlouhodobé desynchronizaci endogenního cirkadiánního systému. Jednou ze strategií, jak dlouhodobé desynchronizaci zabránit, je výměna interiérového osvětlení za takové, které ovlivňuje cirkadiánní systém způsobem vedoucím ke správné synchronizaci.

Cílem práce bylo ověřit, zda nově vyvinuté osvětlení vytvořené partnerskou firmou splňuje tyto podmínky. Analyzovali jsme rytmy v hladině melatoninu participantů, rytmy v periferní teplotě a rytmy v aktivitě a spánku našich pokusných subjektů. Naše výsledky ukázaly zejména rychlejší vzestup hladiny melatoninu a korelované fázové předběhnutí rytmu v melatoninu a rytmu v tělesné teplotě. Ze srovnání s výsledky experimentů našich předchozích, i jiných laboratoří se domníváme, že tyto změny lze přičítat večernímu osvětlení s dlouhými vlnovými délkami.

Předložená práce navíc přispěla k rozvoji a ověření metodiky testování synchronizace cirkadiánního rytmu u lidských subjektů externími podmínkami. Ukázalo se, že parametry aktigrafických měření nemusí odpovídat pouze světelným podmínkám, ale také jinému životnímu režimu v experimentálním bytě. V dalších experimentech bude tedy nutné navodit takové kontrolní podmínky, ve kterých nebude sociální synchronizace další proměnnou.

Seznam literatury

Amaral, F. G. do, Cipolla-Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, *62*(4), 472–479. https://doi.org/10.20945/2359-3997000000066

Angerer, M., Pichler, G., Angerer, B., Scarpatetti, M., Schabus, M., Blume, C. (2022). From dawn to dusk-mimicking natural daylight exposure improves circadian rhythm entrainment in patients with severe brain injury. *Sleep*, *45*(7). https://doi.org/10.1093/sleep/zsac065

Aronson, B. D., Johnson, K. A., Loros, J. J., Dunlap, J. C. (1994). Negative Feedback Defining a Circadian Clock: Autoregulation of the Clock Gene *frequency*. *Science*, *263*(5153), 1578–1584. https://doi.org/10.1126/science.8128244

Aschoff, J. (1954). Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik. *Die Naturwissenschaften*, *41*(3), 49–56. https://doi.org/10.1007/BF00634164

Baldanzi, G., Hammar, U., Fall, T., Lindberg, E., Lind, L., Elmståhl, S., Theorell-Haglöw, J. (2022). Evening chronotype is associated with elevated biomarkers of cardiometabolic risk in the EpiHealth cohort: a cross-sectional study. *Sleep*, *45*(2). https://doi.org/10.1093/sleep/zsab226

Baron, K. G., Reid, K. J. (2014). Circadian misalignment and health. *International Review of Psychiatry (Abingdon, England)*, *26*(2), 139–154. https://doi.org/10.3109/09540261.2014.911149

Belfry, K. D., Deibel, S. H., Kolla, N. J. (2020). Time of Day Matters: An Exploratory Assessment of Chronotype in a Forensic Psychiatric Hospital. *Frontiers in Psychiatry*, *11*, 550597. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.550597

Benstaali, C., Mailloux, A., Bogdan, A., Auzéby, A., Touitou, Y. (2001). Circadian rhythms of body temperature and motor activity in rodents. *Life Sciences*, *68*(24), 2645–2656. https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01081-5

Binkley, S. A., Riebman, J. B., & Reilly, K. B. (1978). The Pineal Gland: A Biological Clock in Vitro. *Science*, *202*(4373), 1198–1120. https://doi.org/10.1126/science.214852

Blume, C., Angerer, M., Raml, M., Giudice, R., Santhi, N., Pichler, G., Kunz, A. B., Scarpatetti, M., Trinka, E., Schabus, M. (2019a). Healthier rhythm, healthier brain? Integrity of circadian melatonin and temperature rhythms relates to the clinical state of brain-injured patients. *European Journal of Neurology*, *26*(8), 1051–1059. https://doi.org/10.1111/ene.13935

Blume, C., Garbazza, C., Spitschan, M. (2019b). Effects of light on human circadian rhythms, sleep and mood. *Somnologie*, *23*(3), 147–156. https://doi.org/10.1007/s11818-019-00215-x

Brainard, G. C., Rollag, M. D., Hanifin, J. P. (1997). Photic Regulation of Melatonin in Humans: Ocular and Neural Signal Transduction. *Journal of Biological Rhythms*, *12*(6), 537–546. https://doi.org/10.1177/074873049701200608

Buijs, R. M., la Fleur, S. E., Wortel, J., van Heyningen, C., Zuiddam, L., Mettenleiter, T. C., Kalsbeek, A., Nagai, K., Niijima, A. (2003). The suprachiasmatic nucleus balances sympathetic and parasympathetic output to peripheral organs through separate preautonomic neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, *464*(1), 36–48. https://doi.org/10.1002/cne.10765

Burke, T. M., Markwald, R. R., Chinoy, E. D., Snider, J. A., Bessman, S. C., Jung, C. M., & Wright, K. P. (2013). Combination of Light and Melatonin Time Cues for Phase Advancing the Human Circadian Clock. *Sleep*, *36*(11), 1617–1624. https://doi.org/10.5665/sleep.3110

Cagnacci, A., Elliott, J. A., Yen, S. S. (1992). Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *75*(2), 447–452. https://doi.org/10.1210/jcem.75.2.1639946

Cardinali, D. P., Pévet, P. (1998). Basic aspects of melatonin action. *Sleep Medicine Reviews*, *2*(3), 175–190. https://doi.org/10.1016/S1087-0792(98)90020-X

Castel, M., Belenky, M., Cohen, S., Ottersen, O. P., Storm-Mathisen, J. (1993). Glutamate-like Immunoreactivity in Retinal Terminals of the Mouse Suprachiasmatic Nucleus. *European Journal of Neuroscience*, *5*(4), 368–381. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1993.tb00504.x

Chellappa, S. L., Steiner, R., Blattner, P., Oelhafen, P., Götz, T., Cajochen, C. (2011). Non-Visual Effects of Light on Melatonin, Alertness and Cognitive Performance: Can Blue-Enriched Light Keep Us Alert? *PLoS ONE*, *6*(1), e16429. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016429

Chen, C. Q., Fichna, J., Bashashati, M., Li, Y.Y., Storr, M. (2011). Distribution, function and physiological role of melatonin in the lower gut. *World Journal of Gastroenterology*, *17*(34), 3888–3898. https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i34.3888

Cho, C. H., Lee, H. J., Yoon, H. K., Kang, S. G., Bok, K. N., Jung, K. Y., Kim, L., Lee, E. I. (2016). Exposure to dim artificial light at night increases REM sleep and awakenings in humans. *Chronobiology International*, *33*(1), 117–123. https://doi.org/10.3109/07420528.2015.1108980

Cos, S., Blask, D. E., Lemus-Wilson, A., Hill, A. B. (1991). Effects of melatonin on the cell cycle kinetics and “estrogen-rescue” of MCF-7 human breast cancer cells in culture. *Journal of Pineal Research*, *10*(1), 36–42. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.1991.tb00007.x

Crowley, S. J., Cain, S. W., Burns, A. C., Acebo, C., Carskadon, M. A. (2015). Increased Sensitivity of the Circadian System to Light in Early/Mid-Puberty. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *100*(11), 4067–4073. https://doi.org/10.1210/jc.2015-2775

Crowley, S. J., Eastman, C. I. (2015). Phase advancing human circadian rhythms with morning bright light, afternoon melatonin, and gradually shifted sleep: can we reduce morning bright-light duration? *Sleep Medicine*, *16*(2), 288–297. https://doi.org/10.1016/j.sleep.2014.12.004

Deacon, S., & Arendt, J. (1995). Melatonin-induced temperature suppression and its acute phase-shifting effects correlate in a dose-dependent manner in humans. *Brain Research*, *688*(1–2), 77–85. https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)96872-i

Dijk, D. J., Duffy, J. F., Silva, E. J., Shanahan, T. L., Boivin, D. B., Czeisler, C. A. (2012). Amplitude Reduction and Phase Shifts of Melatonin, Cortisol and Other Circadian Rhythms after a Gradual Advance of Sleep and Light Exposure in Humans. *PLoS ONE*, *7*(2), e30037. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030037

Dowling, G. A., Burr, R. L., Van Someren, E. J. W., Hubbard, E. M., Luxenberg, J. S., Mastick, J., Cooper, B. A. (2008). Melatonin and bright-light treatment for rest-activity disruption in institutionalized patients with Alzheimer's disease. *Journal of the American Geriatrics Society*, *56*(2), 239–246. https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2007.01543.x

Durmus, D. (2022). Correlated color temperature: Use and limitations. *Lighting Research & Technology*, *54*(4), 363–375. https://doi.org/10.1177/14771535211034330

Falchi, F., Cinzano, P., Elvidge, C. D., Keith, D. M., Haim, A. (2011). Limiting the impact of light pollution on human health, environment and stellar visibility. *Journal of Environmental Management*, *92*(10), 2714–2722. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.06.029

Figueiro, M. G., Plitnick, B., Rea, M. S. (2014). The effects of chronotype, sleep schedule and light/dark pattern exposures on circadian phase. *Sleep Medicine*, *15*(12), 1554–1564. https://doi.org/10.1016/j.sleep.2014.07.009

Fonken, L. K., Aubrecht, T. G., Meléndez-Fernández, O. H., Weil, Z. M., Nelson, R. J. (2013). Dim Light at Night Disrupts Molecular Circadian Rhythms and Increases Body Weight. *Journal of Biological Rhythms*, *28*(4), 262–271. https://doi.org/10.1177/0748730413493862

Francis, P. L., Leone, A. M., Young, I. M., Stovell, P., Silman, R. E. (1987). Gas chromatographic-mass spectrometric assay for 6-hydroxymelatonin sulfate and 6-hydroxymelatonin glucuronide in urine. *Clinical Chemistry*, *33*(4), 453–457.

Fredriksson, R., Lagerström, M. C., Lundin, L. G., Schiöth, H. B. (2003). The G-Protein-Coupled Receptors in the Human Genome Form Five Main Families. Phylogenetic Analysis, Paralogon Groups, and Fingerprints. *Molecular Pharmacology*, *63*(6), 1256–1272. https://doi.org/10.1124/mol.63.6.1256

Ganguly, S., Coon, S. L., Klein, D. C. (2002). Control of melatonin synthesis in the mammalian pineal gland: the critical role of serotonin acetylation. *Cell and Tissue Research*, *309*(1), 127–137. https://doi.org/10.1007/s00441-002-0579-y

Gastel, J. A., Roseboom, P. H., Rinaldi, P. A., Weller, J. L., & Klein, D. C. (1998). Melatonin Production: Proteasomal Proteolysis in Serotonin *N*-Acetyltransferase Regulation. *Science*, *279*(5355), 1358–1360. https://doi.org/10.1126/science.279.5355.1358

Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H. B., Davis, F. C., Wilsbacher, L. D., King, D. P., Takahashi, J. S., & Weitz, C. J. (1998). Role of the CLOCK Protein in the Mammalian Circadian Mechanism. *Science*, *280*(5369), 1564–1569. https://doi.org/10.1126/science.280.5369.1564

Gonçalves, B. S. B., Cavalcanti, P. R. A., Tavares, G. R., Campos, T. F., & Araujo, J. F. (2014). Nonparametric methods in actigraphy: An update. *Sleep Science (Sao Paulo, Brazil)*, *7*(3), 158–164. https://doi.org/10.1016/j.slsci.2014.09.013

Gooley, J. J., Lu, J., Chou, T. C., Scammell, T. E., & Saper, C. B. (2001). Melanopsin in cells of origin of the retinohypothalamic tract. *Nature Neuroscience*, *4*(12), 1165–1165. https://doi.org/10.1038/nn768

Gooley, J. J., Rajaratnam, S. M. W., Brainard, G. C., Kronauer, R. E., Czeisler, C. A., & Lockley, S. W. (2010). Spectral responses of the human circadian system depend on the irradiance and duration of exposure to light. *Science Translational Medicine*, *2*(31), 31ra33. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000741

Gronfier, C., Wright, K. P., Kronauer, R. E., Jewett, M. E., & Czeisler, C. A. (2004). Efficacy of a single sequence of intermittent bright light pulses for delaying circadian phase in humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *287*(1), E174–E181. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00385.2003

Ho Mien, I., Chua, E. C.-P., Lau, P., Tan, L.-C., Lee, I. T.-G., Yeo, S.-C., Tan, S. S., & Gooley, J. J. (2014). Effects of Exposure to Intermittent versus Continuous Red Light on Human Circadian Rhythms, Melatonin Suppression, and Pupillary Constriction. *PLoS ONE*, *9*(5), e96532. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096532

Horne, J. A., & Ostberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology*, *4*(2), 97–110.

Hoyt, K. R., & Obrietan, K. (2022). Circadian clocks, cognition, and Alzheimer's disease: synaptic mechanisms, signaling effectors, and chronotherapeutics. *Molecular Neurodegeneration*, *17*(1), 35. https://doi.org/10.1186/s13024-022-00537-9

Huang, Y.-L., Liu, R.-Y., Wang, Q.-S., Van Someren, E. J. W., Xu, H., & Zhou, J.-N. (2002). Age-associated difference in circadian sleep–wake and rest–activity rhythms. *Physiology & Behavior*, *76*(4–5), 597–603. https://doi.org/10.1016/S0031-9384(02)00733-3

Ishibashi, K., Arikura, S., Kozaki, T., Higuchi, S., & Yasukouchi, A. (2010). Thermoregulatory effect in humans of supress endogenous melatonin by pre-sleep bright-light

exposure in a cold enviroment. *Chronobiology International*, *27*(4), 782–806. https://doi.org/10.3109/07420521003794069

Ishii, H., Kanagawa, H., Shimamura, Y., Uchiyama, K., Miyagi, K., Obayashi, F., & Shimoda, H. (2018). Intellectual productivity under task ambient lighting. *Lighting Research & Technology*, *50*(2), 237–252. https://doi.org/10.1177/1477153516656034

Isobe, Y., & Nishino, H. (2004). Signal transmission from the suprachiasmatic nucleus to the pineal gland via the paraventricular nucleus: analysed from arg-vasopressin peptide, rPer2 mRNA and AVP mRNA changes and pineal AA-NAT mRNA after the melatonin injection during light and dark periods. *Brain Research*, *1013*(2), 204–211. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.04.052

Jagota, A., de la Iglesia, H. O., & Schwartz, W. J. (2000). Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Nature Neuroscience*, *3*(4), 372–376. https://doi.org/10.1038/73943

Kakooei, H., Zamanian Ardakani, Z., Taghi Ayattollahi, M., Karimian, M., Nasl Saraji, G., & Akbar Owji, A. (2010). The Effect of Bright Light on Physiological Circadian Rhythms and Subjective Alertness of Shift Work Nurses in Iran. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics*, *16*(4), 477–485. https://doi.org/10.1080/10803548.2010.11076860

Kalsbeek, A., Garidou, M.-L., Palm, I. F., Van Der Vliet, J., Simonneaux, V., Pévet, P., & Buijs, R. M. (2000). Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *European Journal of Neuroscience*, *12*(9), 3146–3154. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00202.x

Khalsa, S. B. S., Jewett, M. E., Cajochen, C., & Czeisler, C. A. (2003). A Phase Response Curve to Single Bright Light Pulses in Human Subjects. *The Journal of Physiology*, *549*(3), 945–952. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.040477

Kimberly, B., & James R., P. (2009). Amber lenses to block blue light and improve sleep: A Randomized trial. *Chronobiology International*, *26*(8), 1602–1612. https://doi.org/10.3109/07420520903523719

Kobayashi, H., Kromminga, A., Dunlop, T. W., Tychsen, B., Conrad, F., Suzuki, N., Memezawa, A., Bettermann, A., Aiba, S., Carlberg, C., & Paus, R. (2005). A role of melatonin in neuroectodermal-mesodermal interactions: the hair follicle synthesizes melatonin and expresses functional melatonin receptors. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *19*(12), 1710–1712. https://doi.org/10.1096/fj.04-2293fje

Kräuchi, K. (2010). The interrelationship between sleep regulation and thermoregulation. *Frontiers in Bioscience*, *15*(1), 604. https://doi.org/10.2741/3636

Kräuchi, K., Cajochen, C., Pache, M., Flammer, J., & Wirz-Justice, A. (2006). Thermoregulatory effects of melatonin in relation to sleepiness. *Chronobiology International*, *23*(1–2), 475–484. https://doi.org/10.1080/07420520500545854

Kräuchi, K. (2002). How is the circadian rhythm of core body temperature regulated? *Clinical Autonomic Research*, *12*(3), 147–149. https://doi.org/10.1007/s10286-002-0043-9

Lacoste, B., Angeloni, D., Dominguez-Lopez, S., Calderoni, S., Mauro, A., Fraschini, F., Descarries, L., & Gobbi, G. (2015). Anatomical and cellular localization of melatonin MT_1 and MT_2 receptors in the adult rat brain. *Journal of Pineal Research*, *58*(4), 397–417. https://doi.org/10.1111/jpi.12224

Larsen, P. J. (1999). Tracing autonomic innervation of the rat pineal gland using viral transneuronal tracing. *Microscopy Research and Technique*, *46*(4–5), 296–304. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19990815/01)46:4/5<296::AID-JEMT6>3.0.CO;2-C

Lewy, A. J., & Sack, R. L. (1989). The Dim Light Melatonin Onset as a Marker for Orcadian Phase Position. *Chronobiology International*, *6*(1), 93–102. https://doi.org/10.3109/07420528909059144

Lewy, A. J., Wehr, T. A., Goodwin, F. K., Newsome, D. A., & Markey, S. P. (1980). Light Suppresses Melatonin Secretion in Humans. *Science*, *210*(4475), 1267–1269. https://doi.org/10.1126/science.7434030

Liedtke, W. B. (2017). Deconstructing mammalian thermoregulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(8), 1765–1767. https://doi.org/10.1073/pnas.1620579114

Lin, J., & Westland, S. (2020). Effect of long-wavelength light on electroencephalogram and subjective alertness. *Lighting Research & Technology*, *52*(6), 763–774. https://doi.org/10.1177/1477153520902255

Lockley, S. W., Brainard, G. C., & Czeisler, C. A. (2003). High Sensitivity of the Human Circadian Melatonin Rhythm to Resetting by Short Wavelength Light. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *88*(9), 4502–4505. https://doi.org/10.1210/jc.2003-030570

Lok, R., Koningsveld, M. J., Gordijn, M. C. M., Beersma, D. G. M., & Hut, R. A. (2019). Daytime melatonin and light independently affect human alertness and body temperature. *Journal of Pineal Research*, *67*(1). https://doi.org/10.1111/jpi.12583

Lucas, R. J., Freedman, M. S., Lupi, D., Munoz, M., David-Gray, Z. K., Foster, R. G. (2001). Identifying the photoreceptive inputs to the mammalian circadian system using transgenic and retinally degenerate mice. *Behavioural Brain Research*, *125*(1–2), 97–102. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00274-1

Maestroni, G. J., Hertens, E., Galli, P., Conti, A., & Pedrinis, E. (1996). Melatonin-induced T-helper cell hematopoietic cytokines resembling both interleukin-4 and dynorphin. *Journal of Pineal Research*, *21*(3), 131–139. https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1996.tb00280.x

Masana, M. I., Doolen, S., Ersahin, C., Al-Ghoul, W. M., Duckles, S. P., Dubocovich, M. L., & Krause, D. N. (2002). MT(2) melatonin receptors are present and functional in rat caudal artery. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *302*(3), 1295–1302. https://doi.org/10.1124/jpet.302.3.1295

Minors, D. S., Waterhouse, J. M., & Wirz-Justice, A. (1991). A human phase-response curve to light. *Neuroscience Letters*, *133*(1), 36–40. https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90051-t

Møller, M., & Baeres, F. M. (2002). The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell and Tissue Research*, *309*(1), 139–150. https://doi.org/10.1007/s00441-002-0580-5

Mongrain, V., Lavoie, S., Selmaoui, B., Paquet, J., & Dumont, M. (2004). Phase Relationships between Sleep-Wake Cycle and Underlying Circadian Rhythms in Morningness-Eveningness. *Journal of Biological Rhythms*, *19*(3), 248–257. https://doi.org/10.1177/0748730404264365

Mundey, K., Benloucif, S., Harsanyi, K., Dubocovich, M. L., & Zee, P. C. (2005). Phase-Dependent Treatment of Delayed Sleep Phase Syndrome with Melatonin. *Sleep*, *28*(10), 1271–1278. https://doi.org/10.1093/sleep/28.10.1271

Nařízení Komise (ES) č. 244/2009 ze dne 18. března 2009 , kterým se provádí směrnice Evropského parlamentu a Rady 2005/32/ES, pokud jde o požadavky na ekodesign nesměrových světelných zdrojů pro domácnost (Text s významem pro EHP)
OJ L 76, 24.3.2009, p. 3–16 (BG, ES, CS, DA, DE, ET, EL, EN, FR, IT, LV, LT, HU, MT, NL, PL, PT, RO, SK, SL, FI, SV)
ELI: http://data.europa.eu/eli/reg/2009/244/oj

Nelson, N., Lombardo, J., Matlack, L., Smith, A., Hines, K., Shi, W., & Simone, N. L. (2022). Chronoradiobiology of Breast Cancer: The Time Is Now to Link Circadian Rhythm and Radiation Biology. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3), 1331. https://doi.org/10.3390/ijms23031331

Nosjean, O., Ferro, M., Cogé, F., Beauverger, P., Henlin, J. M., Lefoulon, F., Fauchère, J. L., Delagrange, P., Canet, E., Boutin, J. A. (2000). Identification of the Melatonin-binding SiteMT 3 as the Quinone Reductase 2. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(40), 31311–31317. https://doi.org/10.1074/jbc.M005141200

Ostrin, L. A. (2019). Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure. *Clinical and Experimental Optometry*, *102*(2), 99–108. https://doi.org/10.1111/cxo.12824

Pandi-Perumal L. S., Trakht, I., Srinivasan,, V., Spence, D., Maestroni, G., Zisapel, N., Cardinali, D. (2008). Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Progress in Neurobiology*, *85*(3), 335–353. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.04.001

Park, Y. M., Matsumoto, K., Seo, Y. J., Kang, M. J., Nagashima, H. (2002). Changes of Sleep or Waking Habits by Age and Sex in Japanese. *Perceptual and Motor Skills*, *94*(3_suppl), 1199–1213. https://doi.org/10.2466/pms.2002.94.3c.1199

Patterson, S. S., Kuchenbecker, J. A., Anderson, J. R., Neitz, M., Neitz, J. (2020). A Color Vision Circuit for Non-Image-Forming Vision in the Primate Retina. *Current Biology*, *30*(7), 1269-1274.e2. https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.01.040

Phillips, A. J. K., Vidafar, P., Burns, A. C., McGlashan, E. M., Anderson, C., Rajaratnam, S. M. W., Lockley, S. W., Cain, S. W. (2019). High sensitivity and interindividual variability in the response of the human circadian system to evening light. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(24), 12019–12024. https://doi.org/10.1073/pnas.1901824116

Pierrefiche, G., Topall, G., Courboin, G., Henriet, I., Laborit, H. (1993). Antioxidant activity of melatonin in mice. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, *80*(2), 211–223.

Pittendrigh, C. S. (1960). Circadian Rhythms and the Circadian Organization of Living Systems. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, *25*(0), 159–184. https://doi.org/10.1101/SQB.1960.025.01.015

Prayag, A. S., Najjar, R. P., Gronfier, C. (2019). Melatonin suppression is exquisitely sensitive to light and primarily driven by melanopsin in humans. *Journal of Pineal Research*, *66*(4), e12562. https://doi.org/10.1111/jpi.12562

Rahman, S. A., St Hilaire, M. A., Gronfier, C., Chang, A.-M., Santhi, N., Czeisler, C. A., Klerman, E. B., Lockley, S. W. (2018). Functional decoupling of melatonin suppression and circadian phase resetting in humans. *The Journal of Physiology*, *596*(11), 2147–2157. https://doi.org/10.1113/JP275501

Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C., Menaker, M. (1990). Transplanted Suprachiasmatic Nucleus Determines Circadian Period. *Science*, *247*(4945), 975–978. https://doi.org/10.1126/science.2305266

Refinetti, R. (2010). The circadian rhythm of body temperature. *Frontiers in Bioscience*, *15*(1), 564. https://doi.org/10.2741/3634

Reiter, R. J. (1986). Normal patterns of melatonin levels in the pineal gland and body fluids of humans and experimental animals. *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, *21*, 35–54.

Reiter, R. J. (1991). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, *12*(2), 151–180. https://doi.org/10.1210/edrv-12-2-151

Reppert, S. M., Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, *418*(6901), 935–941. https://doi.org/10.1038/nature00965

Reppert, S. M., Weaver, D. R., Ebisawa, T. (1994). Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron*, *13*(5), 1177–1185. https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90055-8

Roenneberg, T., Kuehnle, T., Pramstaller, P. P., Ricken, J., Havel, M., Guth, A., Merrow, M. (2004). A marker for the end of adolescence. *Current Biology*, *14*(24), R1038–R1039. https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.11.039

Samson, D. R., Crittenden, A. N., Mabulla, I. A., Mabulla, A. Z. P., Nunn, C. L. (2017). Chronotype variation drives night-time sentinel-like behaviour in hunter–gatherers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *284*(1858), 20170967. https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0967

Sander, B., Markvart, J., Kessel, L., Argyraki, A., Johnsen, K. (2015). Can sleep quality and wellbeing be improved by changing the indoor lighting in the homes of healthy, elderly citizens? *Chronobiology International*, *32*(8), 1049–1060. https://doi.org/10.3109/07420528.2015.1056304

Schmidt, T. M., Chen, S.-K., Hattar, S. (2011). Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. *Trends in Neurosciences*, *34*(11), 572–580. https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.07.001

Schöllhorn, I., Stefani, O., Lucas, R. J., Spitschan, M., Slawik, H. C., Cajochen, C. (2023). Melanopic irradiance defines the impact of evening display light on sleep latency, melatonin and alertness. *Communications Biology*, *6*(1), 228. https://doi.org/10.1038/s42003-023-04598-4

Smith, M. R., Revell, V. L., Eastman, C. I. (2009). Phase advancing the human circadian clock with blue-enriched polychromatic light. *Sleep Medicine*, *10*(3), 287–294. https://doi.org/10.1016/j.sleep.2008.05.005

Smith, M. T., McCrae, C. S., Cheung, J., Martin, J. L., Harrod, C. G., Heald, J. L., Carden, K. A. (2018). Use of Actigraphy for the Evaluation of Sleep Disorders and Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, *14*(07), 1231–1237. https://doi.org/10.5664/jcsm.7230

Smolander, J., Härmä, M., Lindgvist, A., Kolari, P., Laitinen, L. A. (1993). Circadian variation in peripheral blood flow in relation to core temperature at rest. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, *67*(2), 192–196. https://doi.org/10.1007/BF00376666

Stothard, E. R., McHill, A. W., Depner, C. M., Birks, B. R., Moehlman, T. M., Ritchie, H. K., Guzzetti, J. R., Chinoy, E. D., LeBourgeois, M. K., Axelsson, J., Wright, K. P. (2017). Circadian Entrainment to the Natural Light-Dark Cycle across Seasons and the Weekend. *Current Biology: CB*, *27*(4), 508–513. https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.12.041

Sunde, E., Pedersen, T., Mrdalj, J., Thun, E., Grønli, J., Harris, A., Bjorvatn, B., Waage, S., Skene, D. J., Pallesen, S. (2020). Alerting and Circadian Effects of Short-Wavelength vs. Long-Wavelength Narrow-Bandwidth Light during a Simulated Night Shift. *Clocks & Sleep*, *2*(4), 502–522. https://doi.org/10.3390/clockssleep2040037

Tai, Y., Obayashi, K., Yamagami, Y., Saeki, K. (2023). Association between circadian skin temperature rhythms and actigraphic sleep measures in real-life settings. *Journal of Clinical Sleep Medicine : JCSM : Official Publication of the American Academy of Sleep Medicine*, *19*(7), 1281–1292. https://doi.org/10.5664/jcsm.10590

te Kulve, M., Schellen, L., Schlangen, L. J. M., van Marken Lichtenbelt, W. D. (2016). The influence of light on thermal responses. *Acta Physiologica*, *216*(2), 163–185. https://doi.org/10.1111/apha.12552

Thapan, K., Arendt, J., Skene, D. J. (2001). An action spectrum for melatonin suppression: evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. *The Journal of Physiology*, *535*(Pt 1), 261–267. https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.t01-1-00261.x

Thorne, H. C., Jones, K. H., Peters, S. P., Archer, S. N., Dijk, D.J. (2009). Daily and seasonal variation in the spectral composition of light exposure in humans. *Chronobiology International*, *26*(5), 854–866. https://doi.org/10.1080/07420520903044315

Udoh, U., Valcin, J., Gamble, K., Bailey, S. (2015). The Molecular Circadian Clock and Alcohol-Induced Liver Injury. *Biomolecules*, *5*(4), 2504–2537. https://doi.org/10.3390/biom5042504

Viola, A. U., Archer, S. N., James, L. M., Groeger, J. A., Lo, J. C. Y., Skene, D. J., von Schantz, M., Dijk, D.J. (2007). PER3 polymorphism predicts sleep structure and waking performance. *Current Biology: CB*, *17*(7), 613–618. https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.01.073

Vitale, J. A., Roveda, E., Montaruli, A., Galasso, L., Weydahl, A., Caumo, A., Carandente, F. (2015). Chronotype influences activity circadian rhythm and sleep: Differences in sleep quality between weekdays and weekend. *Chronobiology International*, *32*(3), 405–415. https://doi.org/10.3109/07420528.2014.986273

Vondrašová-Jelínková, D., Hájek, I., Illnerová, H. (1999). Adjustment of the human melatonin and cortisol rhythms to shortening of the natural summer photoperiod. *Brain Research*, *816*(1), 249–253. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)01189-5

Waterhouse, J., Drust, B., Weinert, D., Edwards, B., Gregson, W., Atkinson, G., Kao, S., Aizawa, S., Reilly, T. (2005). The circadian rhythm of core temperature: origin and some implications for exercise performance. *Chronobiology International*, *22*(2), 207–225. https://doi.org/10.1081/cbi-200053477

Wright, K. P., McHill, A. W., Birks, B. R., Griffin, B. R., Rusterholz, T., Chinoy, E. D. (2013). Entrainment of the Human Circadian Clock to the Natural Light-Dark Cycle. *Current Biology*, *23*(16), 1554–1558. https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.06.039

Wu, Y. H., Zhou, J. N., Balesar, R., Unmehopa, U., Bao, A., Jockers, R., Van Heerikhuize, J., Swaab, D. F. (2006). Distribution of MT1 melatonin receptor immunoreactivity in the human hypothalamus and pituitary gland: colocalization of MT1 with vasopressin, oxytocin, and corticotropin-releasing hormone. *The Journal of Comparative Neurology*, *499*(6), 897–910. https://doi.org/10.1002/cne.21152

Yan, J., Wang, H., Liu, Y., Shao, C. (2008). Analysis of Gene Regulatory Networks in the Mammalian Circadian Rhythm. *PLoS Computational Biology*, *4*(10), e1000193. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000193

Ye, R., Selby, C. P., Ozturk, N., Annayev, Y., Sancar, A. (2011). Biochemical Analysis of the Canonical Model for the Mammalian Circadian Clock. *Journal of Biological Chemistry*, *286*(29), 25891–25902. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.254680

Zeitzer, J. M., Dijk, D. J., Kronauer, R., Brown, E., Czeisler, C. (2000). Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression. *The Journal of Physiology*, *526 Pt 3*(Pt 3), 695–702. https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00695.x

Zhao, Z. D., Yang, W. Z., Gao, C., Fu, X., Zhang, W., Zhou, Q., Chen, W., Ni, X., Lin, J. K., Yang, J., Xu, X. H., Shen, W. L. (2017). A hypothalamic circuit that controls body temperature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(8), 2042–2047. https://doi.org/10.1073/pnas.1616255114

Zhdanova, I. V., Wurtman, R. J., Balcioglu, A., Kartashov, A. I., Lynch, H. J. (1998). Endogenous melatonin levels and the fate of exogenous melatonin: age effects. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, *53*(4), B293-8. https://doi.org/10.1093/gerona/53a.4.b293