

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten  
Kopf- und Halschirurgie  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. habil. Werner Hosemann)  
der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität  
Greifswald

**Untersuchungen zur Melatoninkonzentration im  
Mischspeichel bei obstruktiver Schlafapnoe**

Inaugural – Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen  
Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.)  
der  
Ernst-Moritz-Arndt-Universität  
Greifswald  
2004

vorgelegt von  
Manuela Muffler  
geb. am 25.11.1977  
in Überlingen

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H.K. Kroemer

1.Gutachter: PD Dr. rer. nat. P. Meyer

2.Gutachter: Prof. Dr. med. K. Jahnke

3.Gutachter: -/-

Raum: Hörsaal HNO-Klinik Greifwald

Tag der Disputation: 05.09.2005

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Melatonin</b>	<b>1</b>
1.1.1. Historisches	1
1.1.2. Epiphyse (Zirbeldrüse, Glandula pinealis)	1
1.1.3. Melatoninsynthese und Stoffwechsel	3
1.1.4. Melatoninsekretion	5
1.1.4.1. circadianer Rhythmus	5
1.1.4.2. circannualer Rhythmus	6
1.1.5. Beeinflussung durch das Licht	7
1.1.6. Altersabhängigkeit	7
1.1.7. Beeinflussung durch die Körperlage	9
1.1.8. Physiologische und pathophysiologische Bedeutung	9
1.1.9. Melatoninbindungsstellen	12
1.1.10. Melatonin als Pharmakon	14
<b>1.2. Melatonin im Speichel</b>	<b>16</b>
<b>1.3. obstruktive Schlafapnoe</b>	<b>18</b>
1.3.1. Historisches	18
1.3.2. Einteilung	19
1.3.3. Definition	19
1.3.4. Epidemiologie	21
1.3.5. Ätiologie	22
1.3.6. Pathophysiologie	24
1.3.7. Klinisches Bild	26
1.3.8. Komplikationen	27
1.3.9. Diagnostik und Therapie	28
<b>2. Ziel der Arbeit</b>	<b>31</b>
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>32</b>
<b>3.1. Probandenkollektiv und Gruppeneinteilung</b>	<b>32</b>
<b>3.2. Speichelgewinnung und Verarbeitung</b>	<b>33</b>
<b>3.3. Melatoninbestimmung</b>	<b>34</b>
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>36</b>
<b>4.1. statistisches Verfahren</b>	<b>36</b>
<b>4.2. Vergleich der Melatoninkonzentrationen</b>	<b>37</b>

4.2.1.	morgendlicher Konzentrationsvergleich, Frauen	37
4.2.2.	abendlicher Konzentrationsvergleich, Frauen	39
4.2.3.	morgendlicher Konzentrationsvergleich, Männer	40
4.2.4.	abendlicher Konzentrationsvergleich, Männer	42
<b>4.3.</b>	<b>Einfluss des Geschlechts</b>	<b>43</b>
4.3.1.	Geschlechtsabhängigkeit, Schlafapnoiker morgens	43
4.3.2.	Geschlechtsabhängigkeit, Schlafapnoiker abends	45
4.3.3.	Geschlechtsabhängigkeit, Kontrollgruppe morgens	46
4.3.4.	Geschlechtsabhängigkeit, Kontrollgruppe abends	47
<b>4.4.</b>	<b>Altersstruktur</b>	<b>48</b>
4.4.1.	Altersstruktur in den weiblichen Probandengruppen	48
4.4.2.	Altersstruktur in den männlichen Probandengruppen	48
<b>4.5.</b>	<b>Einfluss des Body-Mass-Index (BMI)</b>	<b>49</b>
4.5.1.	BMI-Vergleich der Frauen	49
4.5.2.	BMI-Vergleich der Männer	49
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>50</b>
<b>5.1.</b>	<b>Diskussion der Methode</b>	<b>50</b>
<b>5.2.</b>	<b>Diskussion der Einflussfaktoren</b>	<b>53</b>
5.2.1.	Altersabhängigkeit der Melatoninkonzentration im Speichel	53
5.2.2.	Medikamente	53
5.2.3.	Körpergewicht	54
5.2.4.	circannuale Einflüsse	55
5.2.5.	Lichtverhältnisse	56
5.2.6.	nCPAP-Therapie	58
<b>5.3.</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>58</b>
5.3.1.	Geschlechtsabhängigkeit	58
5.3.2.	Konzentrationsvergleich zwischen Schlafapnoikern und Kontrollgruppe	59
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>64</b>
<b>7.</b>	<b>Literatur</b>	<b>66</b>
<b>8.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>82</b>
<b>9.</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>I</b>
<b>10.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>II</b>
<b>11.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>III</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1. Melatonin**

#### **1.1.1. Historisches**

Die Existenz der Epiphyse ist seit über 2000 Jahren bekannt. Schon Herophilus (325 bis 280 v.Chr.) und Galen (130 bis 200 n.Chr.) befassten sich mit der Funktion dieses Organs. Der französische Philosoph René Descartes (1596 bis 1650) war der Auffassung, die Epiphyse sei für Muskelbewegungen verantwortlich. Diese würden über eine Verbindung zwischen Augen und Zirbeldrüse über das Sehen ermöglicht werden (Arendt 1995). 1632 bezeichnete er die Zirbeldrüse als "Sitz der Seele" (Kayumov et al. 2000). Ahlborn stellte 1884 die Ähnlichkeit der Epiphyse, nun als "third eye" bezeichnet, einiger niederer Vertebraten mit deren Augen fest. Dies führte zu der Annahme, dass sich deren photosensorisches Organ zu einem sekretorischen Organ der Säugetiere entwickelte. Heubner (1898) und Marburg (1909) sprachen der Zirbeldrüse eine Rolle in der Reproduktion des Menschen zu. 1958 entdeckte der Dermatologe Aaron Lerner das Hormon Melatonin (*gr. melan-* schwarz, dunkel; *ton-* Spannung) als Sekretionsprodukt der Glandula pinealis. Auf der Suche nach einer Substanz, die die Haut von Amphibien aufhellte, gelang es ihm, diese aus Rinderepiphysen zu isolieren (Lerner et al. 1958). Ein Jahr später identifizierte Lerner seine chemische Struktur als N-Acetyl-5-Methoxytryptamin (Lerner et al. 1959).

#### **1.1.2. Epiphyse (Zirbeldrüse, Glandula pinealis)**

Das unpaarige, erbsengroße Organ der Melatoninsynthese liegt zentral zwischen beiden Großhirnhemisphären, unmittelbar hinter dem dritten

Ventrikel. Die Form der Epiphyse (*gr.: epi* oberhalb; *phyesthai* wachsen) gleicht einem Pinienzapfen. Ihr Gewicht beträgt geschlechtsunabhängig 50 bis 150 mg (Hasegawa et al. 1987). Sie besteht größtenteils aus modifizierten Photorezeptorzellen, den Pinealozyten. In geringeren Mengen können Astrozyten, Interstitialzellen und Muskelzellen nachgewiesen werden (Arendt 1995). Die Zirbeldrüse weist mit einer Durchblutung von 4 ml/min/g den zweitgrößten Blutfluss nach der Niere auf (Arendt 1995).

Die Epiphyse ist sympathisch innerviert (Langer et al. 1997). Die präganglionären Perikarya befinden sich im Nucleus intermediolateralis des oberen Thorakalmarks.

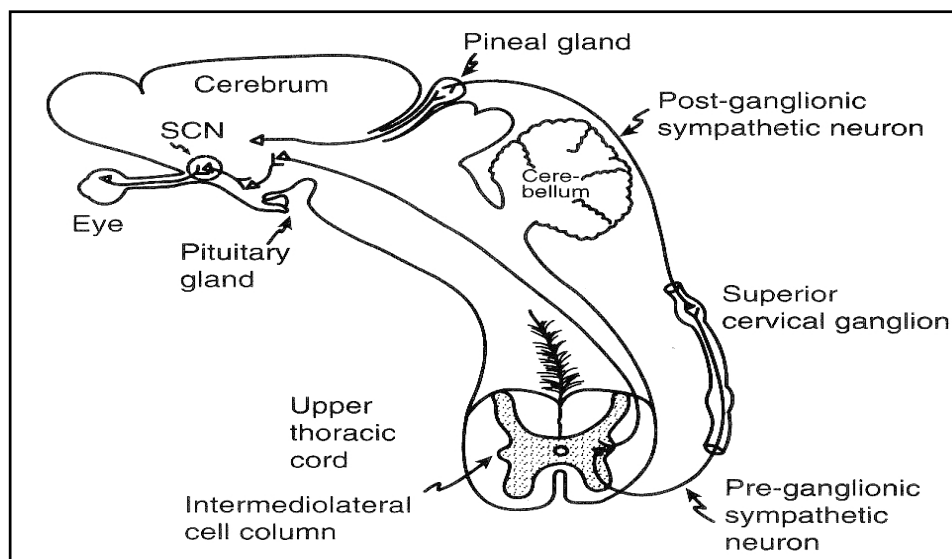


Abb.1.1: sympathische Innervation der Epiphyse (aus Reiter 2003)

Im Ganglion cervicale superior findet die Umschaltung auf postganglionäre Fasern statt. Diese enden direkt an den Pinealozyten (Abb.1.1). Die präganglionären Fasern stehen über den Nucleus paraventricularis mit dem Nucleus suprachiasmaticus (suprachiasmatic nucleus; SCN), einem endogenen Oszillator, in Verbindung (Arendt 1995, Reiter 2003). Der SCN ist außerdem direkt über den Tractus retinohypothalamicus mit der Retina vernetzt.

### 1.1.3. Melatoninsynthese und Stoffwechsel

Die Melatoninsynthese findet hauptsächlich in den Pinealozyten statt. Weitere Syntheseorte stellen die Retina und die enterochromaffinen Zellen des Darmes dar (Raikhlin et al. 1975, Raikhlin et al. 1976). Da das retinale Melatonin des Menschen im Gegensatz zu einigen Vertebraten jedoch nicht in den Blutkreislauf überzugehen scheint, wird ihm eine lokale, letztendlich noch nicht geklärte Rolle zugesprochen (Tosini 2000). Einige Autoren halten die Epiphyse für die einzige Quelle des zirkulierenden Melatonins. Dafür sprechen nach Pinealektomien im Blut nicht mehr nachweisbare Melatoninkonzentrationen (Neuwelt & Lewy 1983, Utiger 1992).



Abb.1.2: Melatoninsynthese (aus Altschule 1975)

In der Zirbeldrüse wird die essentielle Aminosäure Tryptophan durch aktiven Transport über die Pinealozytenmembran aus dem Blut aufgenommen und durch die Tryptophan-5-Hydroxylase zu 5-Hydroxytryptophan umgewandelt (Abb.1.2). Durch das Enzym 5-Hydroxytryptophan-Decarboxylase entsteht das Zwischenprodukt Serotonin (5-Hydroxytryptamin). Die Serotonin-N-Acetyltransferase (SNAT) ist das die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmende Enzym.

Sie katalysiert die Bildung von N-Acetylserotonin. Im letzten Schritt entsteht mittels der Hydroxyindol-O-Methyltransferase das Endprodukt Melatonin (N-Acetyl-5-Methoxytryptamin) (Axelrod und Weissbach 1959, Arendt 1995, Kayumov et al. 2000).

Die Melatonin synthese wird durch die oben beschriebene Innervationskette reguliert. Adrenerge Nervenendigungen setzen während der Dunkelheit (s.u.) den Transmitter Noradrenalin frei, der an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren der Pinealozytenmembran bindet. Stimulation der  $\beta$ -Rezeptoren führt über zwischengeschaltetes G-Protein zur Aktivierung der Adenylatzyklase. Diese katalysiert die Bildung von cyclo-Adenosinmonophosphat (cAMP) aus Adenosin triphosphat (ATP), wodurch das Enzym SNAT aktiviert wird. Gleichzeitige  $\alpha$ -Rezeptorstimulation wirkt potenzierend auf die Wirkung an  $\beta$ -Rezeptoren (Arendt 1995).

Melatonin besitzt ein Molekulargewicht von 320 Dalton. Es ist außerordentlich lipophil und gelangt über passive Diffusion aus den Pinealozyten in die Blutgefäße (Langer et al. 1997). Alle anderen Zellmembranen sowie die Bluthirnschranke sind für das Hormon ebenfalls passabel. Deshalb ist ein Melatoninnachweis auch in anderen Körperflüssigkeiten, darunter im Speichel oder Liquor möglich. Im Gegensatz zu vielen anderen Hormonen scheint die Melatoninsekretion apulsatil zu erfolgen (Trinchard-Lugan & Waldhauser 1989).

Die im Plasma vorhandene Konzentration spiegelt die Sekretionsrate zu jedem beliebigen Zeitpunkt wider (Arendt 1995). Das Hormon liegt im Serum zu 70 bis 80% an Albumin gebunden und zu 20 bis 30% in freier Form vor (Cardinali et al. 1972, Kennaway & Voultzios 1998). Zwischen 60 und 80% werden in der Leber zu 6-Hydroxymelatonin metabolisiert und mit Sulfat konjugiert, zu einem geringeren Teil auch glucuronidiert. Diese Metaboliten sowie ein

kleiner Prozentsatz reinen Melatonins werden über die Nieren ausgeschieden (Lynch et al. 1975, Arendt 1995). Bei Leberzirrhotikern wurde eine verminderte 6-Sulphametyloxymelatoninkonzentration und -ausscheidung beschrieben (Steindl et al. 1997).

#### **1.1.4. Melatoninsekretion**

##### **1.1.4.1. circadianer Rhythmus**

Die Melatoninsynthese unterliegt einem ausgeprägten circadianen (*lat: circa* ungefähr; *dies* Tag) Rhythmus mit niedrigen Melatoninkonzentrationen während des Tages und nächtlichem Maximum (Langer et al. 1997). Deshalb ist Melatonin auch unter der Bezeichnung "Hormon der Dunkelheit" bekannt (Kayumov et al. 2000). Der nächtliche Konzentrationsanstieg im Serum (*dim light melatonin onset; DLMO*) beginnt nach einer Definition von Lewy et al. (1992) ab einer Melatoninkonzentration von 10 pg/ml. Diese Schwelle wird zwischen 20 und 23 Uhr überschritten (Sack et al. 1992a, Gooneratne et al. 2003). Der Serumspiegel steigt nach Erreichen dieses Wertes kontinuierlich an, um zwischen 1 und 4 Uhr ein Maximum zu erreichen. Zwischen 7 und 9 Uhr befindet sich die Melatoninkonzentration wieder auf Tagesniveau (Trinchard-Lugan & Waldhauer 1989, Laakso et al. 1990). Nach Lewy & Markey (1978) erreichen die nächtlichen Durchschnittswerte etwa das 25-fache der Tageskonzentrationen. Letztere liegen im Serum in der Regel unter 10 pg/ml (Iguchi 1982, Laakso et al. 1990, Langer et al. 1997).

Der Melatoninrhythmus wird bei einigen niederen Wirbeltieren und Vögeln durch die Epiphyse selbst generiert. Bei Säugetieren wird diese Rolle vom SCN übernommen (Arendt 1995). Diese, auch als "innere Uhr" bezeichnete, paarige Kernstruktur im basalen Hypothalamus ist für viele zyklische Funktionen, beispielsweise für den Schlaf-Wach-Rhythmus, den Körpertemperaturverlauf oder für die Kortisol-

sekretion als „Generator“ verantwortlich (Voultsios et al. 1997, Kayumov et al. 2000). Der SCN weist beim Menschen eine Eigenfrequenz von etwa 25 Stunden auf (Arendt 1995). Durch sogenannte „äußere Zeitgeber“ wie Hell-Dunkel-Wechsel, Informationen zur Tageszeit oder soziale Kontakte werden diese Rhythmen an einen 24-Studentag synchronisiert.

Die synthetisierte Melatoninmenge ist genetisch determiniert und interindividuell hoch unterschiedlich (Reiter 2003). Laakso et al. (1990) bestimmten bei Erwachsenen nächtliche Konzentrationsmaxima im Serum zwischen 20 und 170 pg/ml. Bei etwa 5% der Normalbevölkerung konnten keine Melatoninspiegel nachgewiesen werden. Ursache und Bedeutung dieser Unterschiede sind unbekannt (Langer et al. 1997, Reiter 2003). Im Gegensatz dazu erweisen sich die intraindividuellen Melatoninspiegel als konstant (Arendt 1995).

Der Melatoninverlauf ist im Gegensatz zu anderen zyklisch verlaufenden Funktionen ausschließlich durch Licht, nicht jedoch durch andere äußere und innere Einflüsse wie Schlaf, soziales Umfeld oder Stress modifizierbar (Deacon & Arendt 1994, Voultsios et al. 1997). Er gilt aufgrund dieser Stabilität als geeigneter Marker der menschlichen circadianen Rhythmik (Honma et al. 1997).

#### 1.1.4.2. circannualer Rhythmus

Verschiedene biologische Rhythmen wie der Körpertemperaturverlauf oder die Schlafdauer unterliegen offensichtlich saisonalen Einflüssen (Wirz-Justice et al. 1984). Ob auch Melatonin einem sogenannten circannualen Rhythmus untersteht und ob Veränderungen der Helligkeitsdauer während des Tages die Dauer der Melatoninsekretion beeinflussen, wurde bereits in vielen Studien, teilweise kontrovers, diskutiert (Illnerová et al. 1985, Kauppila et al. 1987, Laakso et al. 1994, Arendt 1995, Patel 1998).

### **1.1.5. Beeinflussung durch das Licht**

Einfallendes Licht aktiviert Photorezeptoren der Retina. Dies führt über den oben genannten retinohypothalamischen Trakt zu einer Hemmung des Noradrenalinausstosses in der Zirbeldrüse und zu einer daraus resultierenden Melatoninsuppression. Dunkelheit bewirkt den entgegengesetzten Effekt (Brzezinski 1997). Licht beeinflusst die Melatoninsekretion über zwei unterschiedliche Mechanismen (Lewy & Newsome 1983):

Zum einen wirkt der Wechsel von Tag und Nacht synchronisierend. Der endogene 25-Stundenrhythmus wird einem 24-Studentag angepasst (Sack et al. 1992b). Auch unter experimentellen Bedingungen ist es möglich, durch Licht entsprechender Intensität eine Phasenverschiebung des Melatoninverlaufs zu erreichen. Der gesamte Melatoninrhythmus kann abhängig von Tageszeit, Dauer und Intensität der Lichteinwirkung um eine bestimmte Zeit vor- oder zurückverlagert werden (Kostoglou-Athanassiou et al. 1998, Zeitzer et al. 2000, Kubota et al. 2002). Licht maskiert zum anderen durch akute Melatoninsuppression den endogenen Rhythmus. Das Ausmaß ist abhängig von Wellenlänge, Lichtintensität und Zeitpunkt der Lichteinwirkung (Reiter 2003).

### **1.1.6. Altersabhängigkeit**

Im Laufe des Lebens kommt es zu beträchtlichen Änderungen der Melatoninsekretion.

Bei Neugeborenen findet man wenige Tage nach der Geburt sehr niedrige Tageswerte, die sich im ersten Lebensjahr nicht wesentlich verändern. Die nächtliche Melatoninkonzentration ist bis zum 2. oder 3. Lebensmonat ebenfalls minimal. Während der folgenden 3 Monate steigen die nächtlichen Spiegel allmählich an. Waldhauser et al. (1988) bestimmten während des ersten Lebens-

halbjahres eine durchschnittliche Konzentration von 27 pg/ml im Serum. Der Konzentrationszuwachs ist zugleich Beginn der circadianen Melatoninsekretion.

Im Alter von 1 bis 3 Jahren erreichen die nächtlichen Melatoninwerte ein Maximum. Waldhauser et al. (1988) ermittelten bei Kindern dieser Altersklasse durchschnittlich eine Melatoninkonzentration im Serum von 330 pg/ml.

Bis zum Ende der Pubertät fallen die nächtlichen Spiegel stetig auf etwa 20% des Maximalwertes ab (Waldhauser et al. 1984a, Waldhauser et al. 1988, Waldhauser et al. 1993). Die niedrigen Melatonintageswerte sind dagegen in den erwähnten Altersklassen gleich.

Im Erwachsenenalter ist ein zweiter moderater Rückgang der nächtlichen Melatoninspiegel zu verzeichnen. Allerdings unterscheiden sich die einzelnen Studien hinsichtlich der exakten Altersangaben. Waldhauser et al. (1988) beobachteten den größten Konzentrationsabfall in der Altersklasse der über 60-jährigen. Kennaway et al. (1999) sind der Ansicht, die Melatoninproduktion sei bei älteren Personen erniedrigt, die Abnahme würde aber bereits zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr erfolgen. Dagegen konnten Duffy et al. (2002) bei einem Vergleich älterer Probanden (Durchschnittsalter 68 Jahre) mit jüngeren Studienteilnehmern (Durchschnittsalter 23 Jahre) keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

Die morgendlichen Melatoninwerte bei Erwachsenen erwiesen sich in einigen Studien als altersunabhängig, in anderen Veröffentlichungen korrelierten die morgens bestimmten Melatoninkonzentrationen negativ mit dem Alter (Iguichi et al. 1982, Waldhauser et al. 1988, Zhao et al. 2002).

Die nächtliche Melatoninsekretionsabnahme bis zum Pubertätsende wird mit der Veränderung der Körpergröße begründet (Young et al. 1988). Von der frühen Kindheit bis zur Adoleszenz nimmt diese

um 500 bis 800% zu, während die Zirbeldrüse bereits im jungen Alter ihre vollständige Größe erreicht hat. Auch das Extrazellulärvolumen vergrößert sich von etwa 5 bis 6 Litern bei Zweijährigen auf etwa 25 bis 30 Liter bei Erwachsenen. Dieser Verdünnungseffekt führt insgesamt zu einer Abnahme der Melatoninkonzentration (Young et al. 1988, Waldhauser et al. 1993).

Der Melatoninrückgang im Alter wird unter anderem auf die zunehmende Degeneration der Zirbeldrüse, ähnlich wie bei anderen endokrinen Organen, zurückgeführt. Ob die in der Zirbeldrüse typischerweise zu findenden Kalkablagerungen Hinweise für Degenerationserscheinungen und Grund für die abnehmende Melatoninsekretion sind, ist umstritten und wird kontrovers diskutiert (Arendt 1995, Kunz et al. 1999).

#### **1.1.7. Beeinflussung durch die Körperlage**

Der Wechsel vom Stehen zum Liegen und umgekehrt beeinflusst die Melatoninkonzentration im Serum. Im Stehen treten, bedingt durch den höheren hydrostatischen Druck, kleinere Moleküle aus den Gefäßen in das Interstitium über, während das an Albumin gebundene Melatonin zurückbleibt. Daraus resultieren um etwa 30% höhere Konzentrationen (Deacon & Arendt 1994).

#### **1.1.8. Physiologische und pathophysiologische Bedeutung**

Bei einigen Tierarten ist Melatonin an der Steuerung ihres jahreszeitlich unterschiedlichen Verhaltens beteiligt (Laakso et al. 1994, Arendt 1995). Ob auch beim Menschen bestimmte Abläufe dem endogenen Melatoninrhythmus unterliegen, ist noch nicht abschließend geklärt. Einerseits ist kein Krankheitsbild bekannt, das auf einer Melatoninunterfunktion beruht. Nicht nachweisbare Melatoninkonzentrationen bei 5% der Gesamtbevölkerung führen nicht zu Funktions-

einbußen. Andererseits ist bei vielen Prozessen und Krankheiten eine veränderte Melatoninsekretion nachweisbar (Langer et al. 1997).

Zum heutigen Zeitpunkt steht die Bedeutung seiner *chronobiologischen Eigenschaften* im Vordergrund. Melatonin ist offensichtlich an der zeitlichen Steuerung rhythmisch verlaufender Körperfunktionen des Menschen und an der Synchronisation derselben auf eine vorgegebene Tageslänge von 24 Stunden beteiligt (Arendt 1995).

Der Schlaf-Wach-Rhythmus korreliert eng mit der Melatoninsekretion (Wever 1980, Shochat 1998, Kayumov et al. 2000). Der Zeitpunkt des abendlichen Melatoninsekretionsanstiegs sowie der Erhöhung der 6-Sulfametoxymelatoninausscheidung gehen dem Schlafbeginn voraus (Cagnacci et al. 1992, Tzischinsky et al. 1993, Shochat et al. 1997). Bei blinden Personen wurden freilaufende, das heißt nicht an einen 24-Studentag angepasste, jedoch eng aneinander gekoppelte Schlaf- und Melatoninrhythmen festgestellt (Nakagawa et al. 1992). Ferner wurden bei einem Teil dieser Personengruppe tagsüber intermittierend auftretende erhöhte Melatoninspiegel nachgewiesen. Diese waren stark assoziiert mit sogenannten "daytime naps", sogenannten Nickerchen (Lockley et al. 1995).

Der circadiane Rhythmus der Körpertemperatur mit nächtlichem Temperaturminimum und maximalen Tageswerten verläuft entgegengesetzt zum Melatoninrhythmus (Shochat et al. 1997). Melatonin hat sich als einer der Regulatoren dieser Periodizität herausgestellt. Cagnacci et al. (1992) führten annähernd 50% des nächtlichen Temperaturabfalls auf endogenes Melatonin zurück. Auch experimentell konnte der Temperaturverlauf durch medikamentöse Melatonin-suppression bzw. durch Verabreichung von Melatoninpräparaten beeinflusst werden (Cagnacci et al. 1992, Hughes & Badia 1997).

Bei einigen circadianen Rhythmusstörungen finden sich veränderte Melatoninspiegel. Bei blinden Personen wurden unterschiedliche

Sekretionsmuster festgestellt. Neben freilaufenden Melatoninrhythmen, fielen im Vergleich zu Kontrollpersonen frühere oder spätere nächtliche Melatoninkonzentrationsanstiege auf. Auch Melatoninverläufe, die sich nicht von denen Sehender unterschieden, wurden beobachtet (Miles et al. 1977, Lewy & Newsome 1983, Sack et al. 1992b).

Waldhauser et al. (1986) und Sack et al. (1992a) stellten bei Nachtschichtarbeitern um Stunden vorverlagerte, nicht mit dem Schlaf-Wach-Rhythmus synchronisierte Melatoninrhythmen fest.

Bei älteren Menschen mit Schlafstörungen wurden nach vorne verlagerte circadiane Melatoninrhythmen sowie eine verminderte Melatoninausscheidung beobachtet (Haimov et al. 1994, Duffy et al. 2002).

Melatonin beeinflusst die *geschlechtliche Entwicklung*. Schon 1898 beobachtete Heubner eine Pubertas tarda bei einem 4 ½-jährigen Jungen mit einer tumorös zerstörten Zirbeldrüse (Heubner 1898). García-Patterson et al. (1996) berichteten später von ähnlichen Beispielen. Bei einem Patienten mit hypothalamischem Hypogonadismus wurden ebenfalls erhöhte Melatoninspiegel festgestellt (Puig-Domingo et al. 1992). Allerdings stehen Studien zum Nachweis kausaler Beziehungen zwischen Melatonin und dem Pubertätseintritt aus (Brzezinski 1997).

Bei Frauen konnte durch Einnahme von Melatoninpräparaten eine Hemmung der *Ovarialfunktion* induziert werden (Voordouw et al. 1992). Umgekehrt führte die Östrogensubstitution postmenopausaler Frauen zu einer veränderten 6-Sulfametoxymelatoninausscheidung (Bartsch et al. 1995).

Interaktionen zwischen Melatonin und dem *Immunsystem* sind Gegenstand laufender Forschungsarbeiten. Melatonin moduliert offensichtlich die Immunantwort und ist an der Aktivierung immun-

kompetenter Zellen, die teilweise ebenfalls eine circadiane Rhythmik aufweisen, beteiligt (Waldhauser et al. 1993, Litvinenko et al. 2002).

In der *Onkologie* weist Melatonin bei Mamma-, Ovarial- und androgenabhängigen Prostatakarzinomen eine inhibitorische Wirkung auf das Tumorzellwachstum auf (García-Patterson et al. 1996, Moretti et al. 2000). Außerdem wurden bei Patientinnen mit Mammakarzinom niedrigere Melatoninspitzenwerte sowie eine geringere 6-Sulfametyoxymelatoninausscheidung gefunden als bei gesunden Frauen. Dabei sank die nächtliche Melatoninkonzentration mit zunehmender Tumorgroße (Tamarkin et al. 1982, Bartsch et al. 1989, Bartsch et al. 1997).

Patienten mit *saisonalen Depressionen* wiesen in einer Studie von Káradóttir & Axelsson (2001) signifikant höhere Melatoninkonzentrationen auf als vergleichbare Kontrollgruppen. Arendt (1995) berichtete allerdings in diesem Zusammenhang auch über verminderte Melatoninamplituden. Bei *Schizophrenie* soll die Melatoninkonzentration ebenfalls erniedrigt sein (Arendt 1995).

Patienten mit *koronarer Herzkrankheit* zeigten im Vergleich zu Kontrollpersonen eine reduzierte nächtliche Melatoninsekretion (Brugger et al. 1995, Yaprak et al. 2003). Möglicherweise führt die erhöhte Sympathikusaktivierung bei diesem Patientenkollektiv zu einer Verminderung, das heißt „Down-Regulation“ der  $\beta$ -Rezeptoren (Yaprak et al. 2003).

### **1.1.9. Melatoninbindungsstellen**

Auf zellulärer Ebene wirkt Melatonin über mehrere Rezeptortypen. Bei den meisten Säugetieren sind der Hypophysenstiel und die hypothalamischen Kerngebiete, vor allem der SCN, dicht mit Rezeptoren besetzt (Stankov et al. 1993, Weaver et al. 1993). Bei einigen Tierarten weist auch der Nucleus paraventricularis Bindungs-

stellen auf. Neokortikale Lokalisationen sowie Rezeptoren im Kleinhirn sind nur bei wenigen Tierarten bekannt (Stankov et al. 1993).

Beim Menschen findet man ein davon abweichendes Verteilungsmuster. Das Kleinhirn ist durch eine sehr hohe Rezeptordichte gekennzeichnet (Fauteck et al. 1994). Es gibt Hinweise, dass Melatonin über diese Rezeptoren an der Regulation sensomotorischer Funktionen beteiligt ist (Fraschini et al. 1999). Auch im Nucleus suprachiasmaticus sowie im Nucleus paraventricularis sind Bindungsstellen nachgewiesen worden (Reppert et al. 1988, Weaver et al. 1993). Dagegen wurde bislang ein eindeutiger Rezeptornachweis auf der Pars tuberalis nicht erbracht (Weaver et al. 1993, Dubocovich 1995, Reppert & Weaver 1995).

Die Rezeptoren werden entsprechend ihrer Melatoninbindungsfähigkeit sowie ihrer pharmakologischen Eigenschaften in zwei Subtypen unterteilt (Dubocovich 1995). ML1-Rezeptoren binden mit hoher Affinität im Picomolarbereich, der physiologischen Melatoninkonzentration im Serum (Reppert et al. 1988). Die Melatoninbindung der ML2-Rezeptoren erfolgt mit niedriger Affinität im Nanomolarbereich (Dubocovich 1995). ML1-Rezeptoren sind G-Protein gekoppelt. Ihre Aktivierung führt über Hemmung der Adenylatzyklase zu einer verminderten Bereitstellung von cAMP (Reppert et al. 1994, Reppert & Weaver 1995). Bis zum heutigen Zeitpunkt sind drei Rezeptorsubtypen (ML1a, ML1b, ML1c) bekannt. Beim Menschen konnten bislang nur ML1a- und ML1b-Rezeptoren nachgewiesen werden. Sie weisen zu 60% identische Aminosäuresequenzen auf. Die entsprechenden Gene liegen auf den Chromosomen 4q35 bzw. 11q21-22 (Reppert et al. 1995, Reppert & Weaver 1995). ML1a-Rezeptoren sind im SCN, im Kleinhirn und bei einigen Tieren auf der Pars tuberalis lokalisiert (Weaver & Reppert 1996, Al-Ghoul et al. 1998). Der ML1b-Rezeptor befindet sich vor

allem in der Retina und im Kleinhirn (Reppert et al. 1995, Al-Ghoul et al. 1998). Über Signaltransduktion und Lokalisation des ML2-Rezeptors ist noch wenig bekannt (Brzezinski 1997).

#### **1.1.10. Melatonin als Pharmakon**

In den USA ist Melatonin als Nahrungsergänzungsmittel eingestuft und rezeptfrei erhältlich. In Deutschland wurde Melatonin 1995 vom Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin als arzneilich wirksame Substanz eingeordnet. Es ist somit nicht freiverkäuflich.

Im Regelfall sind die Präparate gut verträglich (Langer et al. 1997). Die Melatonineinnahme gilt in der Fachliteratur als sicher und gut tolerabel (Lewy et al. 1996). Schon frühere Versuche eine „dosis letalis„ bei Mäusen zu bestimmen misslangen, da auch verabreichte Maximaldosen nicht zum Tode führten (Barchas et al. 1967).

Da keine offiziellen Reinheitskriterien existieren, besitzen die erhältlichen Produkte allerdings keine einheitliche Qualität. Schon geringste Spuren von Verunreinigungen könnten zu erheblichen Nebenwirkungen führen (Huether 1996, Herxheimer & Waterhouse 2003). Deutsche Experten warnen vor unkontrolliertem Einsatz der Melatoninpräparate. Eine ähnliche Verbreitung wie in den USA wird in der BRD derzeit nicht angestrebt (Meyer 2003).

Erhältlich sind intravenöse und orale Melatoninpräparate unterschiedlicher Zubereitungsformen. Sogenannte „slow-release“-Präparate ahmen durch langsame Melatoninfreisetzung einen physiologischen Verlauf nach. Mit „fast-release“-Produkten werden kurzzeitige Melatoninspitzenwerte erzielt. Sogenannte Effektivkonzentrationen an entsprechenden Zielstrukturen sind noch unbekannt (Arendt 2003).

Entgegen früherer Annahmen wird das endokrine System durch

exogenes Melatonin kaum beeinflusst (Langer et al. 1997). Unberührt bleiben Thyroxin, Testosteron, Kortisol, Luteinisierungs- und Wachstumshormon (Wright et al. 1986, Terzolo et al. 1991). Wright et al. (1986) publizierten einen Abfall, Terzolo et al. (1991) dagegen einen Anstieg des Prolaktinspiegels.

Die Pharmakokinetik wird von Tageszeit, Dosis und Aufbereitung des Medikaments beeinflusst. Abhängig von der Dosierung ist innerhalb von 30 bis 150 Minuten die maximale Serumkonzentration erreicht, die bei „fast-release“-Präparaten das 300 bis 10.000-fache der physiologischen nächtlichen Spitzenwerte betragen kann. Insgesamt besteht eine sehr große interindividuelle Variabilität mit Konzentrationsunterschieden um das 16 bis 35-fache. Der Melatoninspiegel fällt nach einer Plateauphase innerhalb von 8 bis 19 Stunden auf physiologische Werte ab. Mit „slow-release“-Präparaten erreicht man bei insgesamt niedrigeren Maximalwerten über etwa 5 bis 7 Stunden Melatoninspiegel, die innerhalb oder oberhalb der physiologischen nächtlichen Werte liegen (Waldhauser et al. 1984b, Aldhous et al. 1985, Vakkuri et al. 1985).

Exogenes Melatonin wird nahezu vollständig metabolisiert. Die Ausscheidung in den Urin verläuft zunächst parallel zur Serumkonzentration, bleibt aber über längere Zeit nachweisbar (Waldhauser et al. 1984b, Vakkuri et al. 1985). Die Halbwertszeit beträgt 20 bis 50 Minuten (Waldhauser et al. 1984b, Aldhous et al. 1985, Patel 1998, Wirz-Justice et al. 2002).

Schon kurz nach der Entdeckung des Epiphysenhormons gab es Spekulationen über dessen schlafinduzierende Wirkung. Bereits 1967 wiesen Barchas et al. bei Mäusen eine Zunahme der Schlafdauer durch zugeführtes Melatonin nach. Heute nutzt man vor allem seine phasenverschiebende und schlaffördernde Wirkung zu therapeutischen Zwecken (Zulley 1996, Kayumov et al. 2000).

Patienten mit einem *Delayed Sleep Phase Syndrom* profitieren von einer Melatonintherapie (Nagtegaal et al. 2000). Dieses Krankheitsbild geht mit einer gegenüber dem 24-Studentag zurückverlagerten endogenen circadianen Periodik einher. Die Betroffenen schlafen nicht vor 2 Uhr nachts ein und wachen erst spät am Tage auf. Daraus resultieren starke Müdigkeit, reduzierte Leistungsfähigkeit und soziale Probleme (Zulley 1996). Bei *Jet-lag* stellt Melatonin die innere Uhr über eine Phasenverschiebung auf die neue Zeitzone ein (Kayumov et al. 2000). Freilaufende Rhythmen *blinder Personen* konnten in einer Studie von Sack et al. (2000) durch exogenes Melatonin an einen 24-Studentag angepasst werden.

Die indirekte schlaffördernde Wirkung hängt offensichtlich mit dem Einfluss des exogenen Melatonins auf die innere Uhr zusammen. Abhängig von der Dosierung, vom Probandenkollektiv und vom Einnahmezeitpunkt, wurden in den aufgeführten Studien eine Verkürzung der Einschlafzeit, eine Verlängerung der Schlafdauer sowie eine Verbesserung der Schlafeffizienz beobachtet (Garfinkel et al. 1995, Haimov et al. 1995, Wurtman & Zhdanova 1995, Hughes & Badia 1997, Hughes et al. 1998, Zisapel 1999, Baskett et al. 2003).

## **1.2. Melatonin im Speichel**

Die Speichelproduktion findet hauptsächlich in den drei großen paarigen Speicheldrüsen, der Glandula parotis, der Glandula submandibularis und der Glandula sublingualis statt. Ferner fördern eine Vielzahl schleimproduzierender Drüsen der Gaumen-, Wangen- und Rachenschleimhaut eine seröse Flüssigkeit. Pro Tag werden etwa 0,5 bis 1,5 Liter Speichel produziert. Auch ohne Nahrungsaufnahme wird ein sogenannter Ruhespeichel mit einer geringen Basalsekretion von

etwa 0,5 ml/min gebildet. Die Produktion wird durch Geruchs- oder Geschmacksreize etwa um das Doppelte, durch Kauen um den Faktor 3 gesteigert (Vaupel 2000). Speichel besitzt ein spezifisches Gewicht von 1 und besteht zu 99% aus Wasser. Daneben setzt er sich vor allem aus Natrium, Kalium, Chlorid und Bikarbonat sowie aus Makromolekülen wie Amylase, Glykoproteinen, Mucopolysacchariden, Lysozymen, Immunglobulinen und Blutgruppensubstanzen zusammen (Young et al. 1996).

Der Nachweis von Melatonin im Speichel wurde erstmals 1984 von Vakkuri (1985) erbracht. Melatonin wurde aus Speichelproben mittels Chloroform extrahiert und mit Hilfe eines von Vakkuri entwickelten Radioimmunoassays (RIA) quantifiziert. Wie im Blut unterliegt die Melatoninkonzentration auch im Speichel einer circadianen Rhythmik mit nächtlichen Maximalwerten (Vakkuri 1985, Nagtegaal et al. 1998, Zhou et al. 2003). Für Speichelmelatonin definierten Nagtegaal et al. (1998) den Beginn des nächtlichen Sekretionsanstiegs (DLMO) ab einer Konzentration von 4 pg/ml. Die Melatoninkonzentration steigt nach 19 Uhr an, Maximalwerte werden je nach Literaturquelle zwischen 24 und 6 Uhr beobachtet (Demel 1992, Griefahn et al. 2002, Zhou et al. 2003). In der Studie von Zhou et al. (2003) befand sich der Spiegel gegen 7 Uhr wieder auf Tagesniveau.

Auch im Speichel zeigen die Melatoninkonzentrationen geringe intraindividuelle Differenzen, während diese interindividuell sehr unterschiedlich sind (Miles et al. 1987). Die Maximalkonzentrationen variieren nach Laakso et al. (1990) zwischen 10 und 65 pg/ml.

Studien belegen eine enge zeitliche Korrelation zwischen dem Melatoninmaximum im Speichel und im Blut (Laakso et al. 1990, Nagtegaal et al. 1998). Die nächtliche Konzentration im Speichel erreicht je nach Literaturquelle zwischen 23 und 60% der Serum-

konzentration und reflektiert das im Serum ungebundene, aktive Melatonin (Vakkuri 1985, Deacon & Arendt 1994, Kennaway & Voultzios 1998, Nagtegaal et al. 1998, Gooneratne et al. 2003).

Deacon & Arendt (1994) wiesen auch im Speichel höhere Melatoninkonzentrationen im Stehen nach. In einer Veröffentlichung von Voultzios et al. (1997) erwies sich die Speichelmelatoninkonzentration dagegen als von der Körperhaltung unabhängig.

Zhou et al. (2003) fanden bei Erwachsenen in der Altersklasse der 21- bis 25-jährigen die höchsten Maximalwerte. Bei Probanden im Alter von 40 Jahren waren diese bereits auf 60% vermindert. In der Gruppe der 60- bis 93-jährigen fielen insgesamt variabelere Melatoninrhythmen auf. Hierbei wurden die höchsten Tageswerte erstaunlicherweise bei den über 80-jährigen gefunden.

### **1.3. Obstruktive Schlafapnoe**

#### **1.3.1. Historisches**

1836 beschrieb Charles Dickens in einem Roman das Phänomen Schlafsucht an einem fettleibigen Jugendlichen, der ständig schlief und dabei schnarchte. Erst 120 Jahre später erkannte man, dass sich hinter dieser Symptomatik ein eigenständiges Krankheitsbild mit gestörter Atmung verbirgt (Hannemann 2000). 1956 bezeichnete es der amerikanische Forscher Burwell als „Pickwick“ Syndrom (Burwell et al. 1956). Die entscheidenden Schritte bis hin zur Entdeckung des obstruktiven Schlafapnoesyndroms (OSAS) gelangen 1965 in Deutschland durch Jung & Kuhlo (1965) und in Frankreich durch Gastaut et al. (1965).

### 1.3.2. Einteilung

Nach den „*Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie*“ ist die obstruktive Schlafapnoe den schlafbezogenen Atmungsstörungen (SBAS) untergeordnet. Diese gliedern sich in Störungen ohne und mit pharyngealer Obstruktion. Zu den Letzteren gehören das obstruktive Schlafapnoe-Hypopnoesyndrom (OSAHS) sowie das primäre Schnarchen. Das Schlaf-Hypoventilationssyndrom und das zentrale Schlafapnoe-Hypopnoesyndrom bilden die zweite Gruppe (Hein et al. 2001). Nach der „*Internationalen Klassifikation der Schlafstörungen ICSD-R*“ (*International Classification of Sleep Disorders*) der American Sleep Disorders Association werden Schlafstörungen in „Dyssomnien“, „Parasomnien“, „Schlafstörungen bei körperlichen und psychischen Erkrankungen“ sowie in sogenannte „vorgeschlagene Schlafstörungen“ eingeteilt (Steinberg et al. 2000). Die schlafbezogenen Atmungsstörungen gehören den „intrinsischen Schlafstörungen“ an. Diese sind wiederum unter den Dyssomnien aufgelistet.

### 1.3.3. Definition

Unter Apnoe (*gr.: apnoe* Windstille, Atemstillstand) versteht man das Sistieren des Luftflusses an Mund und Nase im Schlaf von mehr als 10 Sekunden Dauer (Guilleminault 1979). Diese kurzzeitig auftretenden Atemaussetzer kommen auch beim Gesunden vor. Je nach Entstehungsort der Apnoe gilt folgende Unterteilung:

- Eine *obstruktive* Form liegt vor, wenn die Atemstromunterbrechungen trotz anhaltender Atemanstrengungen an Mund und Nase auftreten. Dies ist mit annähernd 90% die häufigste Apnoeform.
- Die *zentrale* Apnoe resultiert aus einer Unterbrechung des zentralen Atemantriebs. Folge ist ein Nachlassen bzw. Stillstand der Ventilation im Schlaf bei offenen Atemwegen. Etwa 10% der Apnoen lassen sich auf diese Form zurückführen (Steinberg et al. 2000).

- Die *gemischte Apnoe* besteht sowohl aus zentralen als auch aus obstruktiven Anteilen.

Von der Apnoe abzugrenzen ist die Hypopnoe, die allerdings nicht einheitlich definiert wird. Meist wird darunter eine zeitlich begrenzte Reduktion des Atemflusses mit Sauerstoffentsättigung und/oder mit Aufwachreaktionen verstanden (Sullivan et al. 1981, Cirignotta et al. 1989, Langevin et al. 1992).

Der Begriff „Schlafapnoesyndrom“ bezieht im Unterschied zur „Schlafapnoe“, die durch eine bestimmte Anzahl von Apnoen bzw. Hypopnoen gekennzeichnet ist, weitere klinische Symptome mit ein (Hannemann 2000).

Die folgenden Ausführungen beziehen sich auf die obstruktive Schlafapnoe bzw. auf das obstruktive Schlafapnoesyndrom. Auf die Pathomechanismen der zentralen Schlafapnoe soll hier nicht weiter eingegangen werden, da diese nicht Teilaspekt unserer Studie sind.

Es existieren unterschiedliche Auffassungen darüber, wann die Grenze zum Pathologischen überschritten ist und ein obstruktives Schlafapnoesyndrom vorliegt. Die American Sleep Disorders Association definiert das Krankheitsbild anhand verschiedener zu erfüllender Kriterien (Schäfer et al. 1996) (*Tab.1.1*). In vielen Schlaflaboren wird allerdings der sogenannte Apnoe-Hypopnoeindex (AHI) verwendet. Hier wird die durchschnittliche Anzahl von obstruktiven A- und Hypopnoen von mindestens 10 Sekunden Dauer pro Stunde Schlafzeit erfasst (Guilleminault 1979). Als Grenzwert zum Pathologischen gilt, je nach Literaturquelle, ein Wert ab 5, 10 bzw. 15 Apnoen pro Stunde (Guilleminault 1979, Schäfer et al. 1996). Oft wird zusätzlich das Vorliegen einiger der in *Tab.1.1* genannten Symptome gefordert (Schäfer et al. 1996).

A	ausgeprägte Tagesschläfrigkeit und Insomnie
B	häufige Episoden obstruierender Atmung während des Schlafes
C	Begleitsymptome: lautes Schnarchen, morgendliche Kopfschmerzen, Mundtrockenheit, bei Kleinkindern thorakale Einziehungen während des Schlafes
D	in Polysomnographie: >5 obstruktive Apnoen >10 sek. Dauer plus mindestens eines der folgenden Merkmale: häufiges Erwachen, Bradykardie, arterielle Sauerstoffentsättigung in Verbindung mit den Apnoen
E	eventuell Veränderungen wie Tonsillenhypertrophie
F	eventuell andere Schlafstörungen
Minimalkriterien: A+B+C	

Tab.1.1: Definition OSAS nach der American Sleep Disorders Association (nach Schäfer et al. 1996)

Obwohl keine einheitlichen Regeln für die Schweregradeinteilung aufgestellt sind, existieren Richtlinien auf der Basis des AHI und der minimalen Sauerstoffsättigung (min SaO<sub>2</sub>) (Tab.1.2).

	leichtes OSAS	moderates OSAS	schweres OSAS
AHI	5-19/Stunde	20-49/Stunde	>= 50/Stunde
min SaO <sub>2</sub>	80-89%	70-79%	<= 69%

Tab.1.2: Schweregrad OSAS (nach Chervin & Guilleminault 1996)

#### 1.3.4. Epidemiologie

Die Angaben zur Prävalenz des OSAS stimmen in der gängigen Literatur nicht überein. Dies ist einerseits auf die variable Definition der Erkrankung bzw. auf die unterschiedliche Grenzziehung zwischen Physiologie und Pathophysiologie zurückzuführen. Andererseits spielen dabei Alter und Gewicht der untersuchten Personen sowie die Methode, die zur Prävalenzermittlung benutzt wurde, eine Rolle (Chervin & Guilleminault 1996).

In der Gesamtbevölkerung kann von einer Prävalenz von 1 bis 2% ausgegangen werden (Ohayon et al. 1997, Ohayon et al. 2000, Steinberg et al. 2000, Hein 2004a). Der Altersgipfel liegt zwischen 45 und 65 Jahren. Bei Männern mittleren Alters wurde eine Prävalenz von 1,9 bis 3,8% ermittelt (Cirignotta et al. 1989, Hung et al. 1990, Ohayon et al. 1997). Die Prävalenzangaben liegen allerdings in einer Studie von Young et al. (1993) mit 24% bei Männern und 9% bei Frauen im Alter von 30 bis 60 Jahren deutlich höher.

Schlafapnoiker sind häufig Schicht- bzw. Nachtschichtarbeiter. Verheiratete sind 5 bis 9 mal häufiger betroffen (Ohayon et al. 2000).

### 1.3.5. Ätiologie

Die Ätiologie des obstruktiven Schlafapnoesyndroms ist weitgehend ungeklärt. Im folgenden werden begünstigende Faktoren erläutert, die allerdings nicht zwangsläufig eine Apnoe auslösen müssen.

*Adipositas:* Etwa zwei Drittel aller Betroffenen sind übergewichtig (Schäfer et al. 1996). Bei Adipösen ist die Schlafapnoe viermal häufiger als bei Normalgewichtigen (Hannemann 2000). Vor allem die Stammfettsucht gilt als wichtiger Risikofaktor. Submuköse und muskuläre Fettablagerungen im Pharynx verursachen eine Verkleinerung des Pharynxquerschnitts (Schäfer et al. 1996). Dabei scheint sich das Ausmaß der Adipositas auf die Fettverteilung der oberen Atemwege auszuwirken. Patienten mit einem Body-Mass-Index (BMI)  $>35 \text{ kg/cm}^2$  weisen vorwiegend zirkuläre pharyngeale Ablagerungen auf. Der palatinäre und tonsilläre Bereich ist weniger betroffen (Nishimura et al. 2003). Intraösophagealer Druck, AHI und Sauerstoffsättigung verschlechtern sich mit zunehmendem BMI (Itasaka et al. 2000). Schon eine Gewichtsreduktion um lediglich 10% resultiert in einer Abnahme der Apnoehäufigkeit um durchschnittlich 50% (Hannemann 2000).

*Geschlecht:* Männer sind häufiger betroffen als Frauen (Schäfer et al. 1996). Allerdings kommen einige Studien zu dem Ergebnis, dass das Auftreten einer obstruktiven Schlafapnoe bei Frauen bisher unterschätzt wurde. Ein Grund dafür dürfte das bei Frauen veränderte klinische Erscheinungsbild der Erkrankung sein (Ambrogetti et al. 1991, Resta et al. 2003). Das Geschlechterverhältnis von Männern zu Frauen variiert in verschiedenen Veröffentlichungen von 2:1 (Ohayon et al. 2000) bis 5-10:1 (Schäfer et al. 1996, Steinberg et al. 2000).

*Sexualhormone:* 90% der Frauen erkranken postmenopausal. Möglicherweise spielt die atemantriebssteigernde Wirkung des Progesterons prämenopausal eine protektive Rolle (Schäfer et al. 1996). In einer Studie von Netzer et al. (2003) wiesen Schlafapnoikerinnen im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Frauen niedrigere Progesteron-, Östrogen- und 17-OH-Progesteronwerte auf. Außerdem beeinflussen Geschlechtshormone die bei Frauen und Männern unterschiedliche Fettverteilung (Schäfer et al. 1996). Resta et al. (2003) stellten bei adipösen Männern im Vergleich zu übergewichtigen Frauen eine relativ größere Fettansammlung der oberen Körperhälfte, beispielsweise einen größeren Halsumfang fest. Nach einer Studie von Wilhoit & Suratt (1987) sind Frauen, die vor der Menopause erkranken, außergewöhnlich adipös oder weisen anatomische Besonderheiten der Atemwege auf. Millman et al. (1995) konnten dies hinsichtlich der Adipositas allerdings nicht bestätigen.

*Genetische Komponente:* In einer Studie über Schlafapnoiker in Japan wurde das Leukozytenantigen HLA-A2 bei 81,3% der untersuchten männlichen Schlafapnoiker nachgewiesen. Dagegen war es in der Kontrollgruppe und in der gesamten japanischen Population nur in etwa 40% vertreten (Yoshizawa et al. 1993).

*Anatomie:* Bei Schlafapnoikern werden häufig anatomische Anomalien der oberen Luftwege beobachtet. Oft handelt es sich um

maligne und benigne Tumore wie Speicheldrüsentumore, Larynxzysten, Lipome oder Lymphome. Tonsillenhypertrophien, Adenoide, Makroglossie oder Uvulavergrößerungen wurden ebenfalls beschrieben (Olsen et al. 1981).

*exogene Einflüsse:* Sedativa,  $\beta$ -Blocker und Morphinderivate wirken sich ebenso wie der Konsum von Nikotin, Koffein und Alkohol negativ auf das Krankheitsbild aus (Fischer & Netzer 1995). Alkohol erhöht Dauer und Frequenz okklusiver Episoden. Als Folge nimmt vor allem in der ersten Stunde nach dem Einschlafen der Hypoxaemiegrad zu. Alkohol verstärkt offensichtlich die Hypotonie der Atemwege und unterdrückt die wichtigen Arousalmechanismen (s.u.) (Issa & Sullivan 1982). Außerdem begünstigt Schlafen in Rückenlage das Auftreten einer Apnoe (Akita et al. 2003). Weiterhin spielt ein unregelmäßiger Schlaf-Wach-Rhythmus, beispielsweise bei Schichtarbeit oder Schlafentzug eine Rolle. Bei Letzterem wird die Spannung der Rachenmuskulatur vermindert und die Weckschwelle erhöht (Hannemann 2000).

*Endokrinologische Faktoren:* Akromegalie ist in bis zu 75% der Fälle mit obstruktiver Schlafapnoe assoziiert (Weiss et al. 2000). Selten kann auch ein Myxödem infolge Hypothyreose das Auftreten einer Schlafapnoe begünstigen (Hattori et al. 2003).

### **1.3.6. Pathophysiologie**

Mit zunehmender Schlaftiefe lässt physiologischerweise der Muskeltonus und somit auch der Tonus der Atemmuskulatur nach. Während der Inspiration kommt es bei der obstruktiven Schlafapnoe zusätzlich zu einem vollständigen Kollaps des schon eingeeengten pharyngealen Schlauches. Dieser hält dem sogenannten kritischen negativen Druck, der durch den inspiratorischen Sog erzeugt wird, nicht mehr Stand. Aufgrund fehlender knöcherner und knorpeliger Stützstrukturen ist

besonders der Abschnitt zwischen weichem Gaumen und Hypopharynx betroffen. Bei intakter Atemaktivierung und unter heftigen Atemanstrengungen führt die Obstruktion zum Atemstillstand und zu einer weiteren Verengung des Schlundes. Oft treten Atempausen von 30 bis 50 Sekunden Dauer auf. Bedingt durch den Atemwegsverschluss verlaufen die thorakalen und abdominellen Atembewegungen häufig gegenläufig bzw. paradox, mit Einwärtsbewegungen der Thoraxwand während der frühen Inspiration (Schäfer et al. 1996, Steinberg et al. 2000). Folgen des fehlenden Gasaustausches in der Lunge sind ein Abfall des Sauerstoffgehaltes im Blut um ca. 15% sowie ein Anstieg des Kohlendioxidgehaltes um 10 bis 20% (Hannemann 2000).

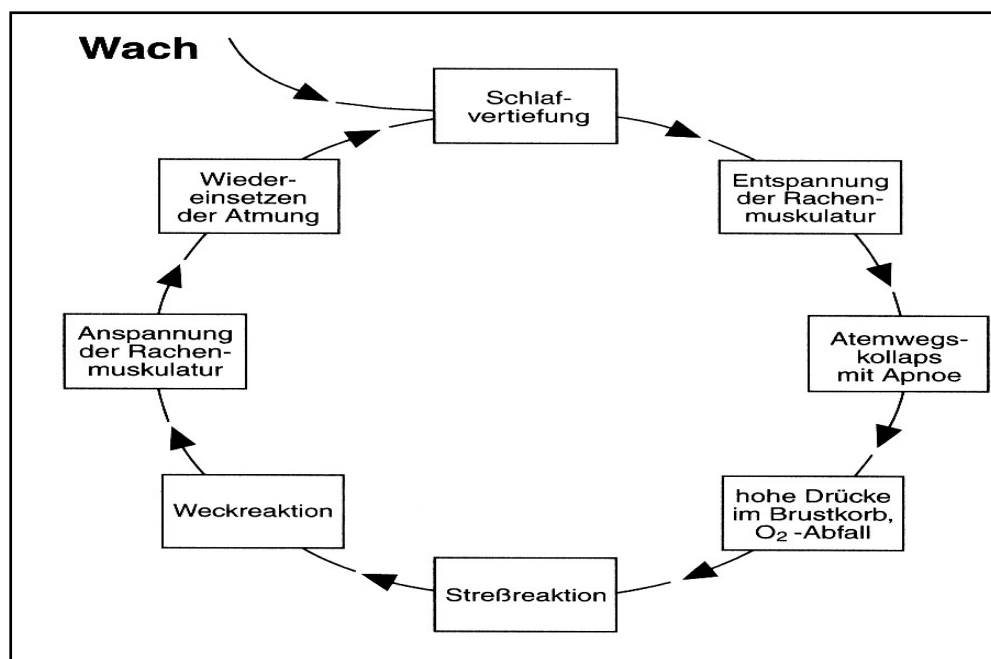


Abb.1.3: Pathophysiologie der obstruktiven Schlafapnoe  
(aus Hannemann 2000)

Ein Abfall der Sauerstoffsättigung um 4%, verglichen mit dem Ausgangswert, wird bereits als klinisch relevant angesehen. Die Apnoe wird schließlich durch eine Weckreaktion, das sogenannte

Arousal, terminiert. Die Vigilanz steigt, die Ventilation setzt ein und die Atemwege werden stabilisiert. Initial ist der Atemantrieb durch die Kohlendioxidretention gesteigert. Diese Hyperventilationsphase führt zu einer ausreichenden Sauerstoffversorgung und überschießenden Kohlendioxidelimination. Die Hyperventilation induziert wiederum erneutes Einschlafen (*Abb.1.3*). Diese Vorgänge laufen in Episoden bis zu einigen hundert Wiederholungen pro Nacht ab. Daraus resultieren periodische Sauerstoffabfälle und -anstiege sowie insgesamt ein niedriger Sauerstoffpartialdruck. Die physiologische Schlafstruktur wird zerstört und die Erholungsfunktion eingebüßt (Schäfer et al. 1996).

### **1.3.7. Klinisches Bild**

Leitsymptom ist lautes und unregelmäßiges Schnarchen. Das explosionsartig einsetzende Geräusch kommt durch das Flattern der Rachenweichteile im Atemstrom zustande, sobald durch Weckreaktionen die oberen Atemwege eröffnet werden. Weitere Kennzeichen sind die vom Bettnachbarn registrierten Atemaussetzer. Diese Apnoephasen sowie die wieder einsetzende Atmung werden vom Betroffenen typischerweise nicht bemerkt. Nächtliches Schwitzen, unruhiger Schlaf sowie Libidoverlust und Potenzstörungen sind weitere Begleiterscheinungen. Aufgrund der selbst nicht wahrgenommenen Atempausen sind Panikattacken selten (Steinberg et al. 2000). Frauen klagen außerdem häufig über Kopfschmerzen (Ambrogetti et al. 1991).

Folgen des fragmentierten Schlafes sind Tagesmüdigkeit mit zum Teil gefährlicher Einschlafneigung, Monotonieintoleranz, morgendlicher Überhang und herabgesetzte Leistungsfähigkeit. Nach Findley et al. (1989) verursachen Personen mit schwerer Schlafapnoe häufiger Autounfälle. Persönlichkeitsveränderungen mit reaktiven

Depressionen, abnormalen emotionalen Ausbrüchen und irrationalen Verhalten werden ebenfalls vermehrt beobachtet (Guilleminault 1979).

### **1.3.8. Komplikationen**

Schlafapnoiker weisen häufig kardiovaskuläre Erkrankungen auf. Das Risiko, einen arteriellen Hypertonus zu entwickeln, ist um das 10-fache erhöht. Annähernd jeder zweite Schlafapnoiker ist davon betroffen (Ohayon et al. 2000). Kontrovers diskutiert wird, ob die Beziehung zwischen Hypertonie und Schlafapnoe durch häufig auftretende Confounder wie Adipositas oder das Alter erklärt werden kann, oder ob tatsächlich eine direkte kausale Verknüpfung zwischen beiden Krankheitsentitäten existiert (Stradling & Crosby 1990). In der Tat stellen einige Veröffentlichungen die Schlafapnoe unter Berücksichtigung weiterer Einflussfaktoren als unabhängigen Risikofaktor dar (Worsnop et al. 1998, Ohayon et al. 2000, Peker et al. 2002).

Schlafapnoiker erkranken häufig an Herzrhythmusstörungen. Bradykardien treten oft bei adipösen Patienten auf. Der Hypoxaemiegrad, die Höhe des Apnoeindex und das Schlafstadium sind ebenfalls von pathogenetischer Bedeutung. Offensichtlich werden diese Bradykardien durch erhöhten Vagotonus noch ungeklärter Ursache ausgelöst. Das Auftreten tachykarder Herzrhythmusstörungen wird nicht von allen Studien bestätigt. Man geht davon aus, dass die in früheren Untersuchungen ermittelte Prävalenz überschätzt wurde (Grote 1996, Koehler et al. 2003). Allerdings begünstigen Sympathikusüberaktivität und Hypoxämie vor allem bei kardiovaskulärer Komorbidität das Auftreten ventrikulärer Tachyarrhythmien (Koehler et al. 2003).

Linksventrikuläre Hypertrophien treten ebenfalls vor allem im

Zusammenhang mit weiteren Risikofaktoren sowie mit einer gesteigerten Sympathikusaktivität verstärkt auf (Grote 1996).

Widersprüchlich sind die Angaben über die Häufung der koronaren Herzkrankheit bei Schlafapnoikern (Ohayon et al. 2000). Hung et al. (1990) wiesen die Schlafapnoe mit einem AHI  $>5,3$  als unabhängigen Risikofaktor für das Auftreten eines Myokardinfarktes bei Männern im Alter von 37 bis 65 Jahren aus. Nach Koehler et al. (2003) ist die Koinzidenz von obstruktiver Schlafapnoe und koronarer Herzkrankheit auf das vergleichbare Risikofaktorenprofil beider Krankheitsbilder zurückzuführen.

Darüberhinaus leiden Patienten mit obstruktiver Schlafapnoe in bis zu 20% der Fälle an einer pulmonal-arteriellen Hypertonie mit daraus resultierender Rechtsherzinsuffizienz (Koehler et al. 2003).

### **1.3.9. Diagnostik und Therapie**

Eine Anamnese bzw. Fremdanamnese dient der Eruierung nächtlicher Atemstillstände und lautem Schnarchen sowie der Einnahme von Medikamenten und Apnoe begünstigenden Suchtmitteln. Anhand spezieller Fragebögen über das Ausmaß der Tagesmüdigkeit kann die Eigen- bzw. Fremdgefährdung eingeschätzt werden. Durch eine Hals-Nasen-Ohrenärztliche Untersuchung werden vorhandene Obstruktionen der oberen Atemwege aufgedeckt. Unumgänglich ist eine zusätzliche internistische Abklärung zum Ausschluß von Begleiterkrankungen. Die Bestimmung des Schweregrades sowie die Frage nach einer Therapieindikation können jedoch nur mit einer Polysomnographie zuverlässig abgeklärt werden (Steinberg et al. 2000).

In der Regel ist eine Therapie indiziert sobald die nächtlichen Apnoen Symptome verursachen. Erfahrungsgemäß ist dies bei 15 oder mehr Apnoen bzw. Hypopnoen pro Stunde der Fall. Auch Patienten,

die zusätzliche kardiovaskuläre Erkrankungen aufweisen, sollten einer Behandlung zugeführt werden (Hannemann 2000). Es stehen unterschiedliche therapeutische Behandlungsmethoden zur Verfügung, die jeweils in unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen eingreifen.

Bei leichteren Fällen und als Grundvoraussetzung für alle anderen Maßnahmen ist die *konservative Therapie* indiziert. Sie beinhaltet Gewichtsreduktion, ausreichende Schlafhygiene wie das Einhalten eines stabilen Schlaf-Wach-Rhythmus, Alkoholkarenz, Nikotinverzicht, Absetzen eventuell muskelrelaxierender Medikamente und Lagepositionstraining (Steinberg et al. 2000, Hein 2004b). Eine seitliche Schlafposition wirkt sich günstig auf die Schlafapnoe aus. Vor allem normalgewichtige Betroffene profitieren offensichtlich davon (Itasaka et al. 2000, Akita et al. 2003).

Der *medikamentöse* Weg wird bei leichten und mittleren Schweregraden gewählt. An erster Stelle steht hier der Einsatz von Theophyllin, einem Bronchodilatator. Jedoch wird das Medikament aufgrund ungenügender Wirksamkeit und Nebenwirkungen zunehmend zurückhaltender eingesetzt. In Frage kommen weiterhin antriebssteigernde Antidepressiva wie Citalopram und Tranylcypromin (Steinberg et al. 2000).

Bei Versagen der bisher genannten Möglichkeiten oder bei schwereren Formen gilt die *nasale kontinuierliche Überdruckbeatmung* (*nasal continuous positive airway pressure; nCPAP*) als Mittel der ersten Wahl (Hein 2004b). 1981 erreichte Sullivan mit dieser zu diesem Zeitpunkt vergleichsweise simplen Therapiealternative bei allen getesteten Patienten eine Verbesserung der Schlafapnoe durch Offenhalten der oberen Atemwege (Sullivan et al. 1981). Die Einführung von nCPAP löste die bis dahin durchgeführte Tracheotomie als Therapie der ersten Wahl ab (Steinberg et al. 2000).

1986 wurden damit in Deutschland die ersten Patienten erfolgreich behandelt. Durch ein individuell einstellbares positives Druckniveau, zugeführt über eine dicht schließende Nasenmaske, wird eine innere Schienung des Pharynx erreicht. Einem Kollabieren der Atemwege wird auf diese Weise vorgebeugt. Apnoephasen, Schnarchen und Druckschwankungen werden verhindert und eine physiologische Schlafstruktur gefördert. Die Erfolgsrate liegt bei etwa 90%. Die Langzeitakzeptanz beträgt 80% (Peter 1990). Akashiba et al. (1999) wiesen bereits nach einer dreitägigen nCPAP-Therapie eine signifikante Senkung des Blutdrucks nach.

*Prothetische und chirurgische Maßnahmen* kommen dann zum Tragen, wenn sich mittels nCPAP keine suffiziente Behandlung erzielen lässt oder diese wegen Nebenwirkungen und Kontraindikationen nicht angewendet werden kann. Bei ausgewählten Patienten mit kraniofazialen Veränderungen oder anatomischen Malformationen sind sie ebenfalls indiziert. Zu den prothetischen Möglichkeiten zählen die sogenannte Esmarch Prothese, der Zungenretrainer sowie der Zungenextensor. Die chirurgischen Maßnahmen beinhalten neben der Tonsillektomie und der Septumplastik, die erstmals 1980 von Fujita durchgeführte Uvulopalatopharyngoplastik (UPPP). Durch dieses Operationsverfahren wird eine Vergrößerung des Oropharynx und eine Stabilisierung des Schlundes erzielt. Allerdings sind hier bestimmte Indikations- und Ausschlusskriterien zu beachten (Steinberg et al. 2000). Gegebenenfalls ist eine Kombination mit einer nCPAP-Therapie sinnvoll. Neuere, weniger invasive Alternativen stellen die 1991 von Fujita eingeführte „Laser midline glossectomy“ und die seit 2000 mittels Harmonic Scalpel® praktizierte „lingual tonsillectomy“ (Yonekura et al. 2003) dar.

## 2. Ziel der Arbeit

In den vergangenen Jahren haben die schlafbezogenen Atmungsstörungen (SBAS) zunehmende Aufmerksamkeit erlangt. Durch starke Beeinträchtigung der Schlafstruktur wird die Lebensqualität der Betroffenen erheblich eingeschränkt (Ulfberg et al. 1998). Die bekannteste Form der SBAS ist die obstruktive Schlafapnoe, deren Ätiologie weitgehend ungeklärt ist.

Melatonin spielt beim Menschen offensichtlich eine wichtige Rolle in der Regulierung des Schlaf-Wach-Rhythmus und anderer circadianer Körperfunktionen. Bei einigen Schlafstörungen wurde außerdem eine veränderte Melatoninsekretion nachgewiesen. Aufgrund seiner schlaffördernden Eigenschaften wird das Hormon in den USA bereits zur Therapie diverser Schlafstörungen eingesetzt.

Chronobiologische Aspekte fanden in der Erforschung obstruktiver Schlafapnoesyndrome bislang kaum Beachtung (Vogel et al. 1993). Dabei wäre es von Interesse, eventuelle Zusammenhänge zwischen dem Melatoninstoffwechsel, insbesondere Speichelmelatonin, und der obstruktiven Schlafapnoe aufzuzeigen. Bis zum jetzigen Zeitpunkt liegen zu dieser Thematik nur wenige Arbeiten vor.

Die vorliegende Studie dient dazu, mit Hilfe nicht invasiver sialochemischer Diagnostik, weitere Einblicke in die Ätiologie der obstruktiven Schlafapnoe zu erhalten. Kernpunkt stellt der **Melatoninkonzentrationsvergleich im Mischspeichel männlicher und weiblicher Schlafapnoiker mit Kontrollgruppen** entsprechender Altersstruktur dar. Außerdem wird die Melatoninsekretion der Schlafapnoiker und der Kontrollgruppen auf eine **Geschlechtsabhängigkeit** hin analysiert. Als Nebenaspekt wird der **BMI** von Schlafapnoikern und Kontrollgruppen miteinander verglichen.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Probandenkollektiv und Gruppeneinteilung**

Die Gruppen der Schlafapnoiker setzten sich aus 48 Männern bzw. 50 Frauen zusammen. Sie befanden sich zum Zeitpunkt der Speichelgewinnung im Schlaflabor der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie der Universität Greifswald entweder zur Schlafapnoediagnostik oder zur Kontrolluntersuchung. In der männlichen Gruppe wiesen 36 Patienten eine obstruktive Schlafapnoe und 12 Personen eine obstruktive Schlafhypopnoe auf. Die weibliche Gruppe setzte sich aus 32 Patientinnen mit obstruktiver Schlafapnoe und 18 Probandinnen mit obstruktiver Schlafhypopnoe zusammen. 5 Schlafapnoiker und 12 Schlafapnoikerinnen wurden schon über mehrere Monate bzw. Jahre mit nCPAP behandelt. Patienten mit einer zentralen Schlafapnoe wurden nicht in die Studie aufgenommen.

Die Kontrollgruppen, wiederum bestehend aus 48 Männern bzw. 50 Frauen, waren ebenfalls Patienten der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie der Universität Greifswald. Schlafbezogene Atmungsstörungen wurden anamnestisch sowie durch Einsicht in die Krankenakte ausgeschlossen. Patienten mit Tumor- oder Karzinomerkrankungen wurden ebenfalls nicht in die Studie miteinbezogen. Die Patienten befanden sich vorwiegend aufgrund eines Hörsturzes, einer Otitis media oder wegen Tinnitus in stationärer Behandlung.

Alle Teilnehmer wurden über den Zweck der Studie sowie über mögliche Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt. Sie gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Datenauswertung erfolgte anonym.

Aufgrund der Altersabhängigkeit der Melatoninkonzentration im Speichel wurde Wert auf eine vergleichbare Altersstruktur zwischen der Gruppe der männlichen bzw. weiblichen Schlafapnoiker und der entsprechenden Kontrollgruppe gelegt. Insgesamt nahmen Personen im Alter von 31 bis 79 Jahren an der Studie teil.

Einige Probanden wiesen für die Weiterverarbeitung zu geringe Speichelmengen oder eine zu zähe Speichelkonsistenz auf. Außerdem waren einige Teilnehmer zu einem der beiden Abnahmezeitpunkte aus verschiedenen Gründen nicht anwesend. Deshalb standen für die Auswertung entsprechend weniger Werte zur Verfügung. Die exakte Anzahl [n] in den einzelnen Gruppen kann der unten aufgeführten Tabelle entnommen werden (*Tab.3.1*).

	Schlafapnoiker		Kontrollgruppen	
	weiblich	männlich	weiblich	männlich
morgens	45	46	49	48
abends	50	48	49	47

*Tab.3.1: Anzahl [n] der Melatoninkonzentrationswerte*

### **3.2. Speichelgewinnung und Verarbeitung**

Die Speichelgewinnung erfolgte morgens um 7.00 Uhr sowie abends um 21.30 Uhr. Alle Probanden führten zunächst eine Mundspülung mit Leitungswasser durch, um Verunreinigungen aus der Mundhöhle in der Speichelprobe zu vermeiden. Durch eine anschließende Wartezeit von 10 Minuten wurde die Bildung eines frischen Mischspeichels gewährleistet und Verdünnungseffekten vorgebeugt. Da es Hinweise für eine Beeinflussung der Melatoninkonzentration von der Körperlage gibt, wurde der Speichel generell im Sitzen gewonnen. Um den Speichelfluss zu stimulieren, kauten die Probanden eine

Spatelspitze Hartparaffinpellets (DAB 10, Universitäts-Apotheke Greifswald). Der produzierte Mischspeichel, eine Mischung aus allen Kopf- und Mundspeicheldrüsen, wurde in eisgekühlten Reagenzgläsern aufgefangen. Der gewonnene Reizspeichel wurde nach Verwerfen des ersten ausgeschiedenen Milliliters für 10 Minuten bei 4° Celsius zentrifugiert. Aus dem Überstand wurden 200 µl Speichel mit 25 µl Natronlauge enthaltendem Pretreatment versetzt und geschüttelt. Nach einer Wartezeit von 10 Minuten wurden 25 µl salzsäurehaltige Neutralisierungslösung zugefügt, geschüttelt und bei -20° Celsius tiefgefroren. Die Haltbarkeitsdauer der Speichelproben beträgt nach dieser Art der Vorbehandlung laut Herstellerangaben 12 Monate.

### **3.3. Melatoninbestimmung**

Die biochemischen Analysen wurden mittels eines direkten ELISA durchgeführt (Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay für den quantitativen Nachweis von Melatonin in menschlichem Speichel, Serum, Plasma oder Urin; Bühlmann Laboratories AG, CH-4123 Allschwil 1, Switzerland; Order Code: EK-DSM). Das Testprinzip besteht darin, dass eine unbekannte Menge an Antigen in der Probe, hier Melatonin im Speichel, und eine bekannte Menge an enzymmarkiertem Antigen (Melatonin-Biotin-Konjugat) um die Bindungsstellen der Antikörper in der Mikrotiterplatte konkurrieren. Nach der Inkubation wird nicht gebundenes enzymmarkiertes Antigen durch Waschen entfernt. Die Intensität der gebildeten Farbe nach der Substratreaktion ist umgekehrt proportional zur Antigenkonzentration in den Proben. Alle Messungen wurden in Doppelbestimmung unter Mitführung entsprechender Melatonin-Standards (enthalten 1, 3, 9, 27 bzw. 81 pg/ml Melatonin) und Melatonin-Kontrollen, bestehend aus Melatonin

niedriger und hoher Konzentration in Humanserummatrix, vorgenommen.

In eine mit Antikörpern (polyklonale Anti-Kaninchen-Ig-Antikörper) beschichtete Mikrotiterplatte wurden zunächst je 100  $\mu$ l aufbereitete Speichelproben pipettiert und mit je 50  $\mu$ l Melatonin-Biotin-Konjugat versehen. Nach einem Kühl- und Waschvorgang erfolgte die Zugabe von 100  $\mu$ l Streptavidin konjugierter Meerrettichperoxidase. Nach einem zweiten Waschvorgang fügte man je 100  $\mu$ l TMB (Tetra-Methyl-Benzidin)-Substratlösung zu. Nach 30 Minuten wurde der enzymatische Vorgang mit je 100  $\mu$ l einer schwefelsäurehaltigen Stopplösung beendet. Die Bestimmung der optischen Dichte des Reaktionsproduktes bei 450 nm sowie die Ermittlung der Melatoninkonzentration über Standardkurven erfolgte computergestützt und vollautomatisch. Die Mikrotiterplatten wurden dazu durch einen Reader eingelesen. Die erforderliche Hardware (Photometer MPRA-4, Armstrad PC 1640, Drucker Epson LX 400) wurde von der Firma IBL in Hamburg bezogen. Aus dem gebildeten Mittelwert der doppelt bestimmten Proben ging die jeweilige Melatoninkonzentration in pg/ml hervor.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. statistisches Verfahren**

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte unter Anwendung des Statistikprogramms SAS (Statistical Analysis System) des Instituts für Biometrie und medizinische Informatik der Universität Greifswald (Oerthel & Tuschl 1995). Mathematisches Testverfahren stellte der nichtparametrische Mann-Whitney-Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben dar (Trampisch et al. 1997).

#### **Abkürzungen:**

n	=	Anzahl der Werte
p	=	Prüfgröße im Mann-Whitney-Wilcoxon-Test
S	=	Signifikanzniveau
*	=	signifikant; $p < 0,05$
**	=	hoch signifikant; $p < 0,005$
n.s.	=	nicht signifikant; $p \geq 0,05$

#### **Lagemaße:**

x	=	Mittelwert
m	=	Median
min	=	Minimalwert
max	=	Maximalwert
Q1	=	25%-Quartil (1. Quantil)
Q3	=	75%-Quartil (3. Quantil)

#### **Streuungsmaß:**

s	=	Standardabweichung
---	---	--------------------

## 4.2. Vergleich der Melatoninkonzentrationen

Nachfolgend sind die Ergebnisse tabellarisch aufgelistet (*Tab. 4.2.1 bis 4.2.4*). Die *Abbildungen 4.2.1 bis 4.2.4* stellen Maximalwert, Minimalwert, Median, 1.- und 3. Quantil der Melatoninkonzentrationen von Schlafapnoikern und Kontrollgruppen in Boxplots gegenüber. In den *Diagrammen 4.2.1 bis 4.2.4* sind die Häufigkeiten der ermittelten Werte der verglichenen Schlafapnoe- und Kontrollgruppen in Konzentrationsintervallen aufgetragen.

### 4.2.1. morgendlicher Konzentrationsvergleich, Frauen

Der Vergleich der morgendlichen Melatoninkonzentrationen im Speichel zwischen Schlafapnoikerinnen und weiblicher Kontrollgruppe ergab **keine signifikanten** Unterschiede.

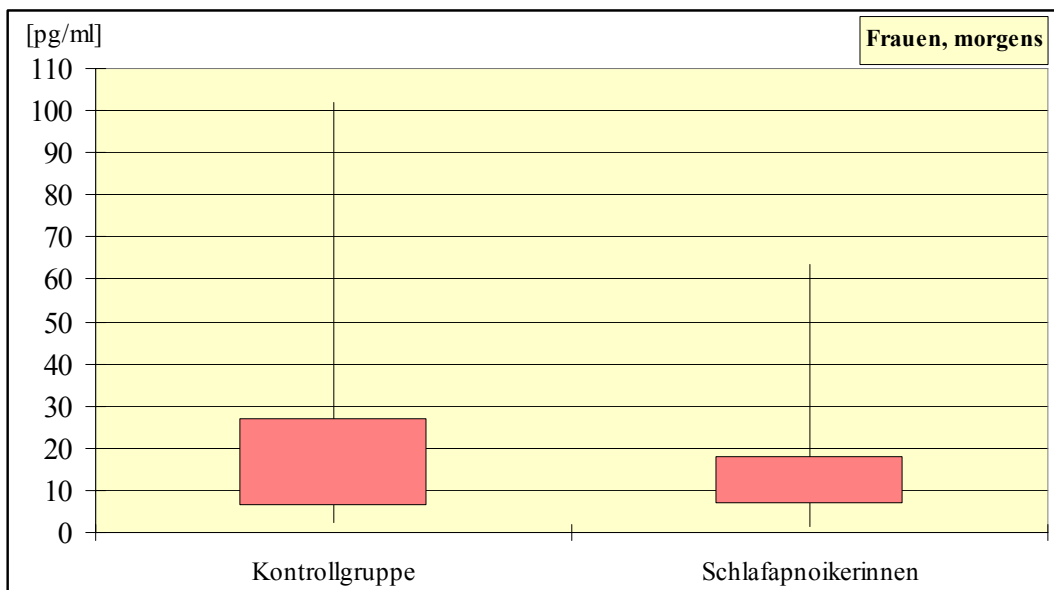
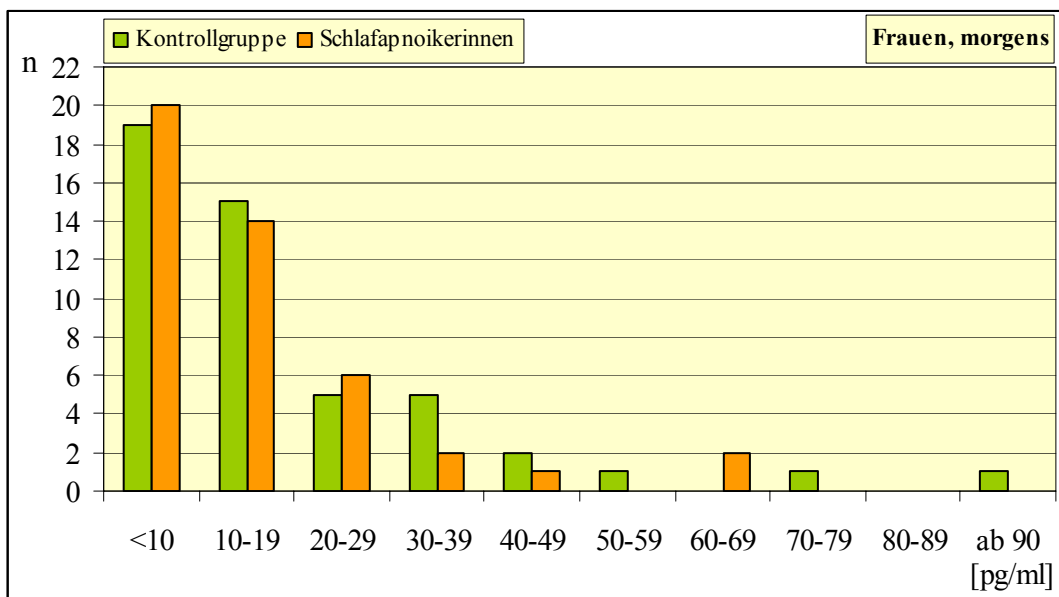


Abb.4.2.1: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, **Frauen morgens**

	Kontrollgruppe (n=49)	Schlafapnoikerinnen (n=45)
x	18,93	15,27
$\pm$ s	19,10	14,26
max	101,85	63,42
Q3	27,02	17,90
m	12,41	10,27
Q1	6,03	6,50
min	2,29	1,51
p	0,41	
S	n.s.	

Tab.4.2.1: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml]  
Frauen morgens



Diagr.4.2.1: Häufigkeit Melatonin [pg/ml] in Intervallen, Frauen morgens

#### 4.2.2. abendlicher Konzentrationsvergleich, Frauen

Die abendlichen Melatoninkonzentrationen im Mischspeichel der Schlafapnoikerinnen unterschieden sich **nicht signifikant** von den Melatoninkonzentrationen der weiblichen Kontrollgruppe.

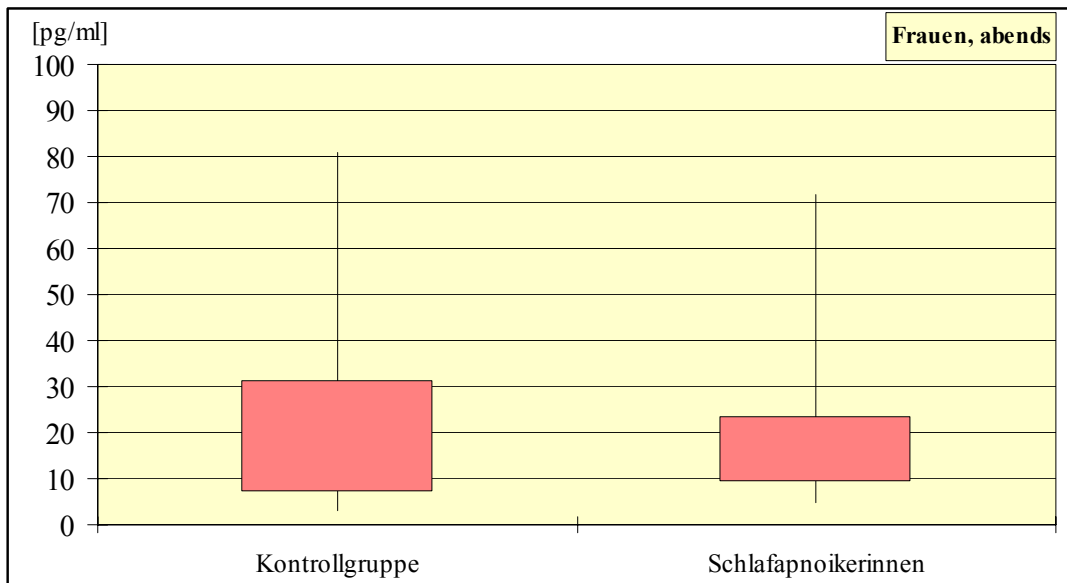
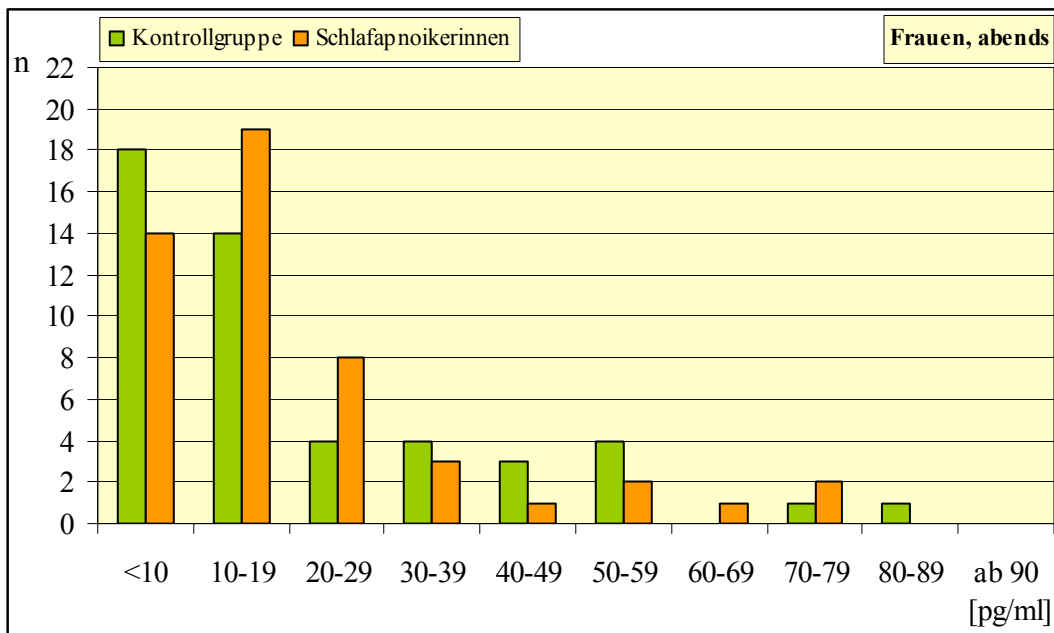


Abb.4.2.2: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, **Frauen abends**

	Kontrollgruppe (n=49)	Schlafapnoikerinnen (n=50)
x	21,42	20,82
$\pm s$	19,36	17,46
max	80,77	71,80
Q3	31,37	23,64
m	14,24	14,80
Q1	6,82	9,14
min	3,02	4,84
p	0,69	
S	n.s.	

Tab.4.2.2: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml]  
**Frauen abends**



Diagr.4.2.2: Häufigkeit Melatonin [pg/ml] in Intervallen, **Frauen abends**

#### 4.2.3. morgendlicher Konzentrationsvergleich, Männer

Schlafapnoiker wiesen bezüglich der morgendlichen Melatonin-konzentrationen im Speichel **keine signifikanten** Unterschiede im Vergleich zur männlichen Kontrollgruppe auf.

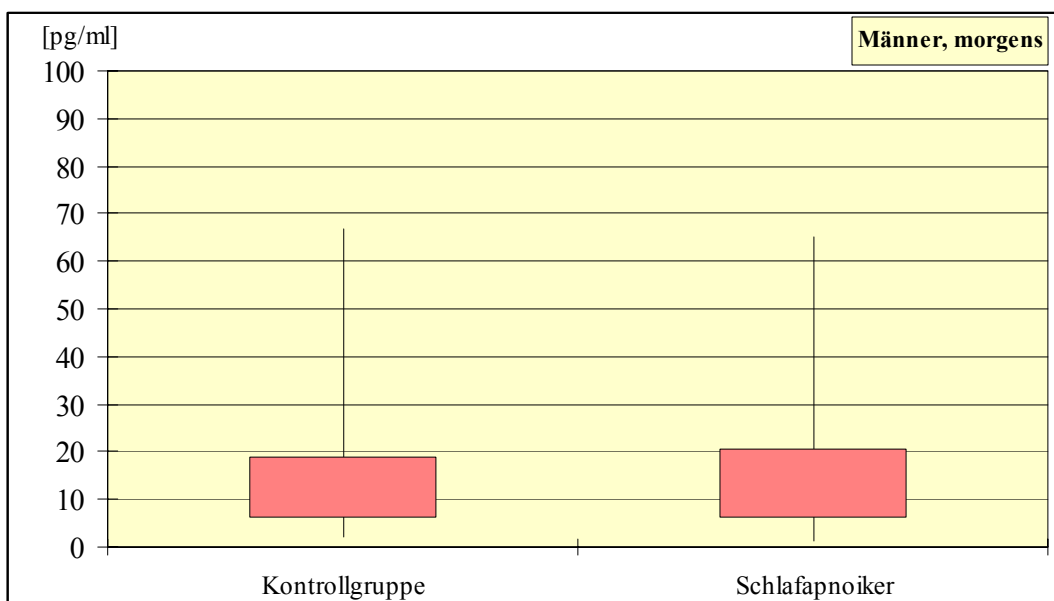
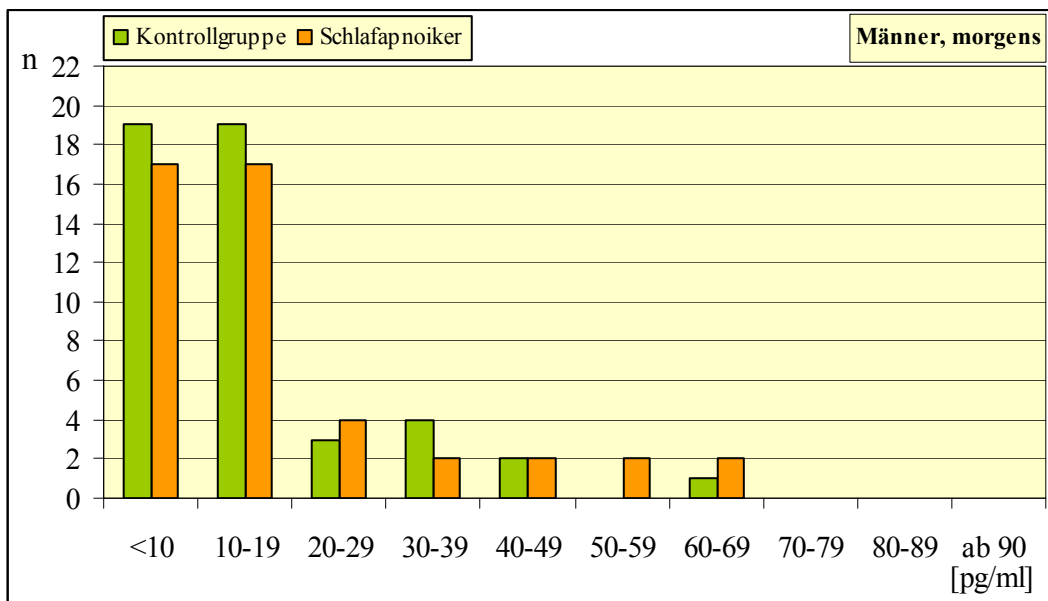


Abb.4.2.3: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, **Männer morgens**

	Kontrollgruppe (n=48)	Schlafapnoiker (n=46)
x	15,21	17,32
$\pm s$	13,07	16,31
max	66,73	64,97
Q3	18,87	20,38
m	11,01	12,14
Q1	5,81	5,76
min	1,94	1,34
p	0,69	
S	n.s.	

Tab.4.2.3: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml]  
**Männer morgens**



Diagr.4.2.3: Häufigkeit Melatonin [pg/ml] in Intervallen, **Männer morgens**

#### 4.2.4. abendlicher Konzentrationsvergleich, Männer

Bei einem Vergleich der abendlichen Melatoninkonzentrationen im Speichel der Schlafapnoiker mit den Melatoninkonzentrationen der männlichen Kontrollgruppe wurden **keine signifikanten** Unterschiede deutlich.

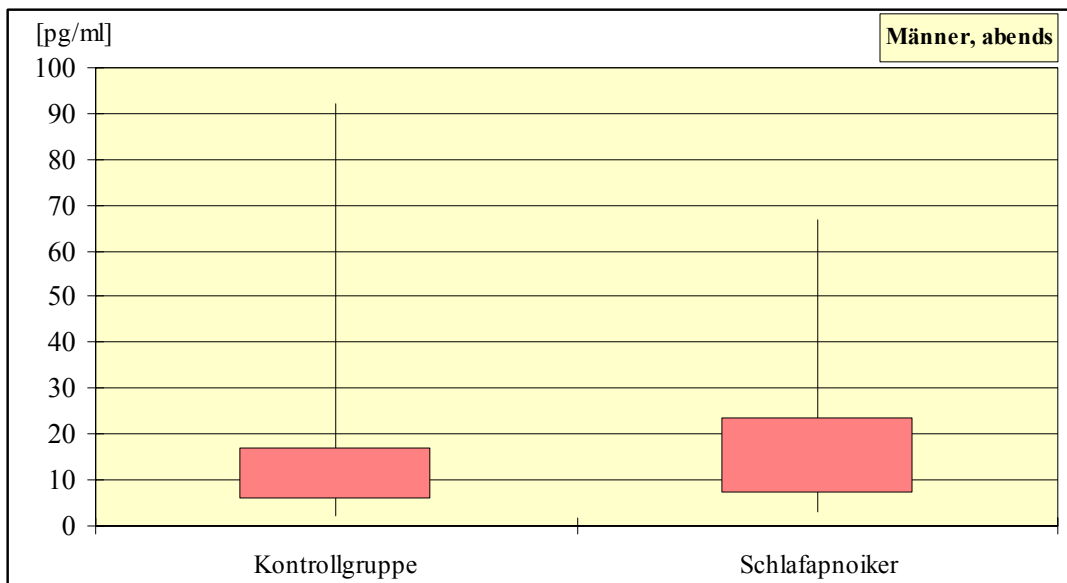
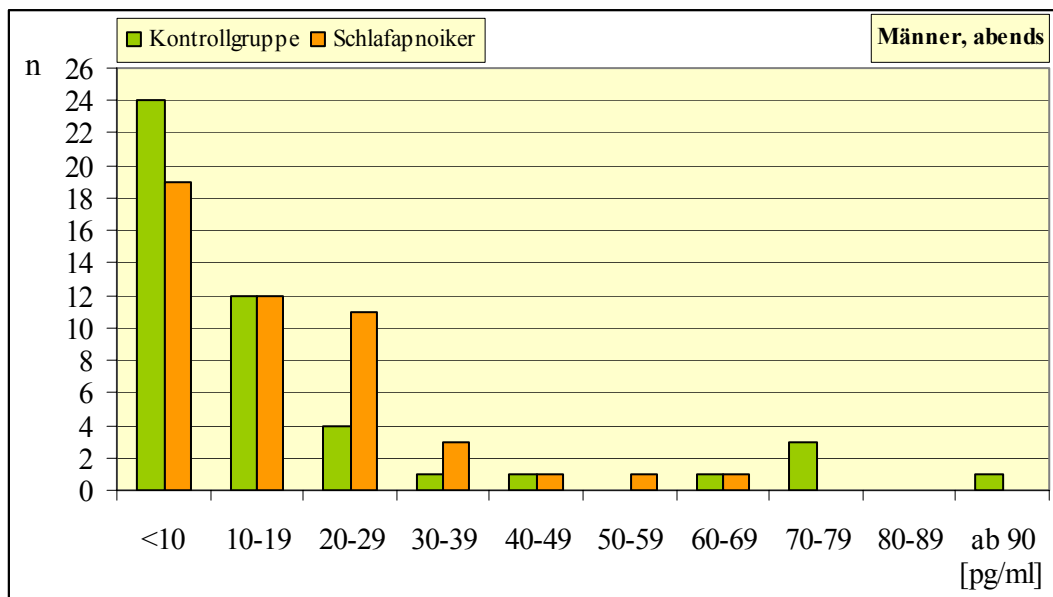


Abb.4.2.4: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, **Männer abends**

	Kontrollgruppe (n=47)	Schlafapnoiker (n=48)
x	17,99	17,45
$\pm s$	21,94	13,61
max	91,97	66,81
Q3	17,06	23,39
m	9,98	15,27
Q1	5,72	6,89
min	2,00	3,05
p	0,16	
S	n.s.	

Tab.4.2.4: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml]  
**Männer abends**



Diagr.4.2.4: Häufigkeit Melatonin [pg/ml] in Intervallen, **Männer abends**

### 4.3. Einfluss des Geschlechts

Nachfolgend sind die Ergebnisse in Tabellen aufgeführt (Tab. 4.3.1 bis 4.3.4). In den Abbildungen 4.3.1 bis 4.3.4 sind Maximalwert, Minimalwert, Median, 1.- und 3. Quantil der Melatoninkonzentrationen von Männern und Frauen in Boxplots gegenübergestellt.

#### **4.3.1. Geschlechtsabhängigkeit, Schlafapnoiker morgens**

In der Gruppe der Schlafapnoiker erwiesen sich die morgendlichen Melatoninkonzentrationen im Mischspeichel bei **nicht signifikantem** Unterschied als geschlechtsunabhängig.

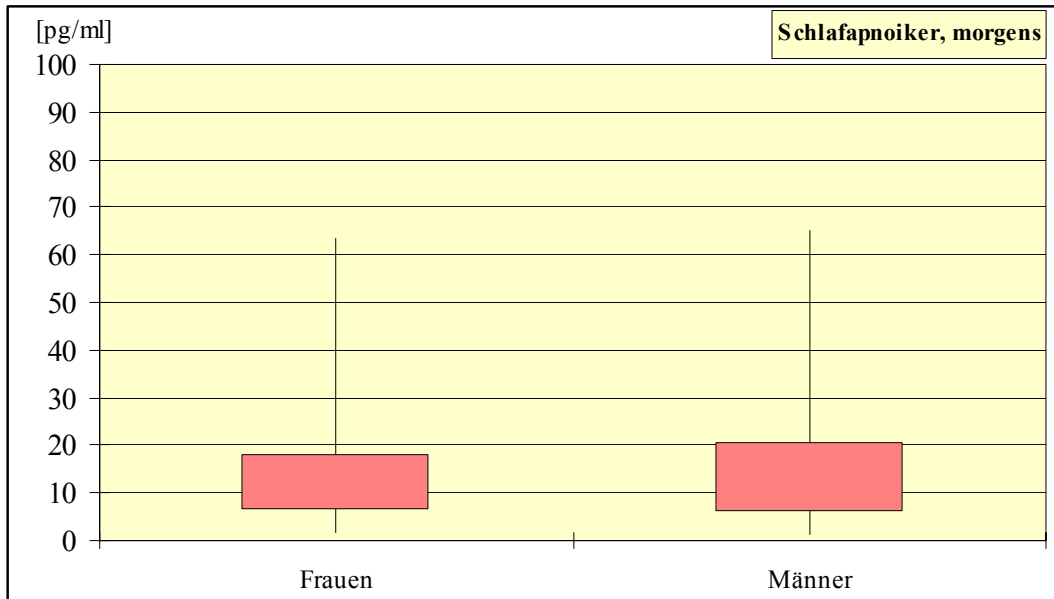


Abb.4.3.1: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, *Schlafapnoiker morgens*

	Frauen (n=45)	Männer (n=46)
x	15,27	17,32
$\pm s$	14,26	16,31
max	63,42	64,97
Q3	17,90	20,38
m	10,27	12,14
Q1	6,50	5,76
min	1,51	1,34
p	0,53	
S	n. s.	

Tab.4.3.1: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml] *Schlafapnoiker morgens*

#### 4.3.2. Geschlechtsabhängigkeit, Schlafapnoiker abends

Die abendlichen Melatoninkonzentrationen im Mischspeichel der Schlafapnoiker zeigten ebenfalls bei **nicht signifikantem** Ergebnis eine Geschlechtsunabhängigkeit.

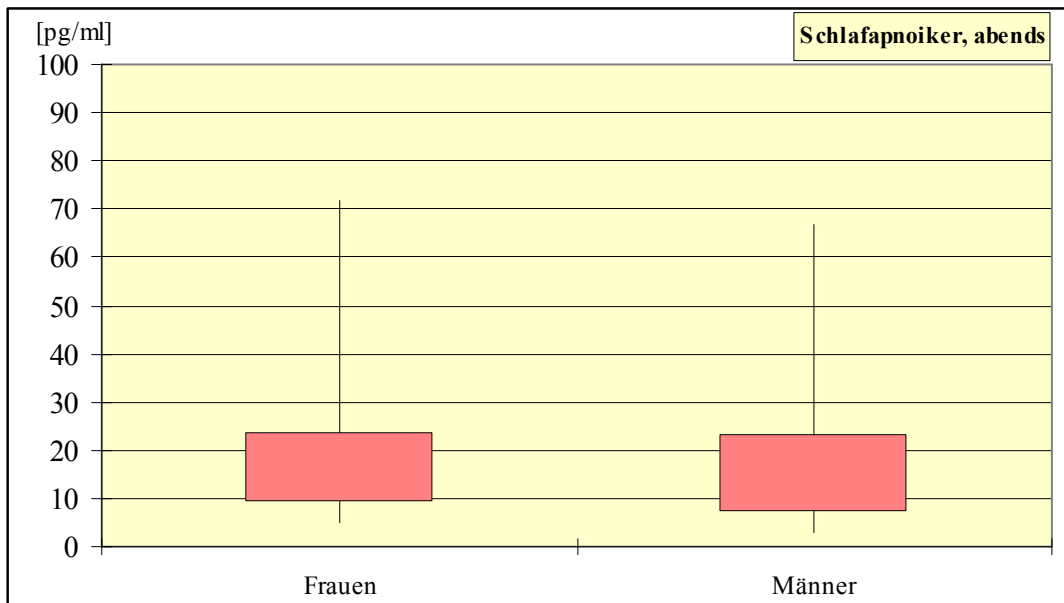


Abb.4.3.2: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, *Schlafapnoiker abends*

	Frauen (n=50)	Männer (n=48)
x	20,82	17,45
$\pm s$	17,46	13,61
max	71,80	66,81
Q3	23,64	23,39
m	14,80	15,27
Q1	9,14	6,89
min	4,84	3,05
p	0,47	
S	n.s.	

Tab.4.3.2: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml] *Schlafapnoiker abends*

### 4.3.3. Geschlechtsabhängigkeit, Kontrollgruppe morgens

Geschlechtsunabhängig waren bei **nicht signifikantem** Unterschied auch die morgendlichen Melatoninkonzentrationen im Speichel der Kontrollgruppe.

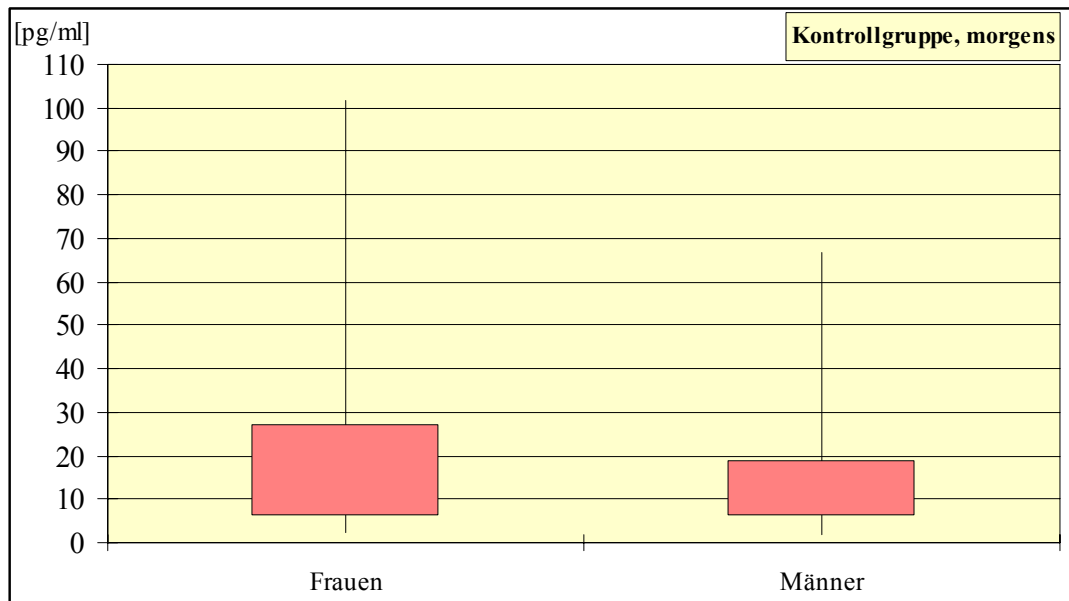


Abb.4.3.3: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, **Kontrollgruppe morgens**

	Frauen (n=49)	Männer (n=48)
x	18,93	15,21
$\pm s$	19,10	13,07
max	101,85	66,73
Q3	27,02	18,87
m	12,41	11,01
Q1	6,03	5,81
min	2,29	1,94
p	0,51	
S	n.s.	

Tab.4.3.3: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml]  
**Kontrollgruppe morgens**

#### 4.3.4. Geschlechtsabhängigkeit, Kontrollgruppe abends

Die abendlichen Melatoninkonzentrationen im Speichel der Kontrollgruppe erwiesen sich bei **nicht signifikantem** Unterschied als geschlechtsunabhängig.

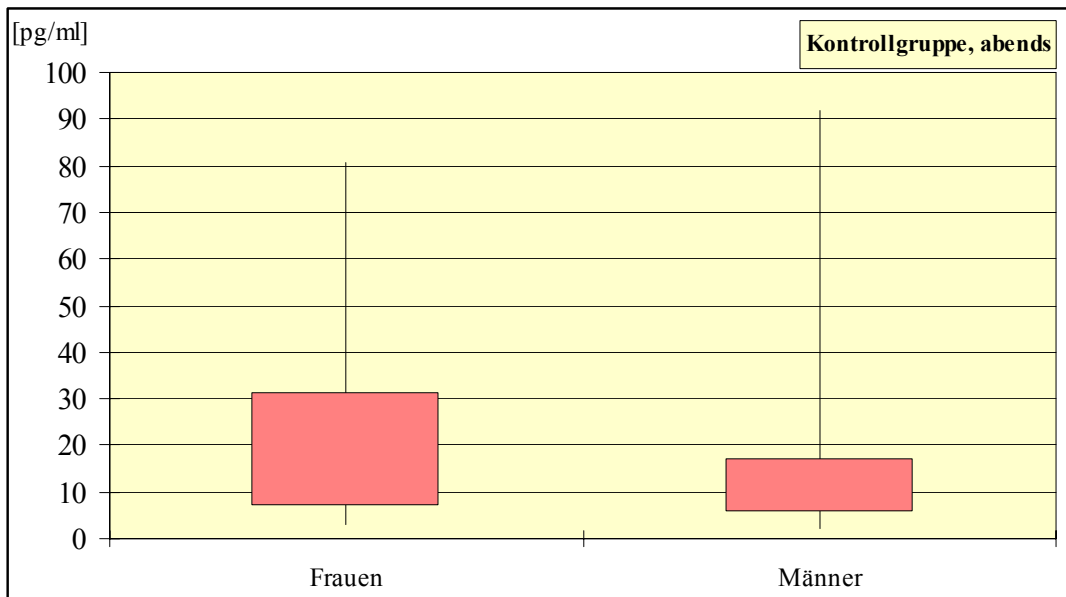


Abb.4.3.4: Melatonin [pg/ml] in Boxplots, **Kontrollgruppe abends**

	Frauen (n=49)	Männer (n=47)
x	21,42	17,99
$\pm s$	19,36	21,94
max	80,77	91,97
Q3	31,37	17,06
m	14,24	9,98
Q1	6,82	5,72
min	3,02	2,00
p	0,13	
S	n. s.	

Tab.4.3.4: Lage- und Streuungsmaße; Vergleich Melatonin [pg/ml]  
**Kontrollgruppe abends**

#### 4.4. Altersstruktur

##### 4.4.1. Altersstruktur in den weiblichen Probandengruppen

Mittelwert und Median unterschieden sich bei der Betrachtung weiblicher Probanden nur gering voneinander. Das Alter der Schlafapnoikerinnen wick **nicht signifikant** von der Kontrollgruppe ab.

	Kontrollgruppe (n=50)	Schlafapnoikerinnen (n=50)
x	57,20	57,32
$\pm$ s	10,22	9,99
m	59	59
min	36	35
max	79	76
p	0,94	
S	n.s.	

Tab.4.4.1: Altersstruktur [Jahre], weibliche Probandengruppen

##### 4.4.2. Altersstruktur in den männlichen Probandengruppen

Hinsichtlich des Alters ergaben sich bei einem Vergleich zwischen Schlafapnoikern und Kontrollgruppe **keine signifikanten** Unterschiede, bei nur gering differierendem Mittelwert und Median.

	Kontrollgruppe (n=48)	Schlafapnoiker (n=48)
x	55,77	56,19
$\pm$ s	12,66	12,66
m	60,50	60
min	31	31
max	77	79
p	0,87	
S	n.s.	

Tab.4.4.2: Altersstruktur [Jahre], männliche Probandengruppen

#### **4.5. Einfluss des Body-Mass-Index (BMI)**

##### **4.5.1. BMI-Vergleich, Frauen**

Der BMI war bei den weiblichen Schlafapnoikern im Vergleich zur weiblichen Kontrollgruppe **hoch signifikant größer**.

	Kontrollgruppe (n=50)	Schlafapnoikerinnen (n=50)
x	26,90	32,63
±s	3,84	5,45
m	26,90	31,51
min	20,76	21,80
max	36,85	44,14
p	<b>&lt;0,001</b>	
S	<b>**</b>	

*Tab.4.5.1: BMI [kg/m<sup>2</sup>], weibliche Probandengruppen*

##### **4.5.2. BMI-Vergleich, Männer**

Der BMI der männlichen Schlafapnoiker stellte sich als **signifikant größer** als der BMI der männlichen Kontrollgruppe heraus.

	Kontrollgruppe (n=48)	Schlafapnoiker (n=48)
x	27,70	30,08
±s	3,42	5,52
m	27,45	29,75
min	20,06	20,68
max	37,02	45,00
p	<b>0,03</b>	
S	<b>*</b>	

*Tab.4.5.2: BMI [kg/m<sup>2</sup>], männliche Probandengruppen*

## **5. Diskussion**

### **5.1. Diskussion der Methode**

Speichel ist ein ideales Nachweismedium zur Untersuchung einer Vielzahl von Substanzen. Obwohl die Forschung der sialochemischen Diagnostik in den letzten Jahren weit vorangeschritten ist (Ferguson 1987, Mandel 1990), hat sich diese im Gegensatz zur gängigen Blutanalyse noch nicht als Routineverfahren etabliert. Auch für die Bestimmung der Melatoninkonzentration wird hauptsächlich die Blut-, seltener die Speichelanalyse verwendet.

Die vorliegende Arbeit wurde im sialochemischen Forschungslabor der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald erstellt. In dieser Abteilung wurden insbesondere in den vergangenen Jahren zahlreiche Untersuchungen zur Physiologie und Pathophysiologie des Speichels und der Speicheldrüsen durchgeführt (Meyer & Werner 1994, Meyer et al. 1997, Meyer et al. 1998, Meyer & Zechel 2001).

In der hier vorgestellten Studie erfolgte die Melatoninkonzentrationsbestimmung im Mischspeichel. Die Speichelgewinnung ist eine praktische Alternative zur Melatoninbestimmung im Blut. Die Vorteile liegen in der nicht invasiven, schmerzfreien und schnellen Abnahmemethode. Von den Probanden wird dieses Verfahren im allgemeinen gut toleriert.

Die Speichelgewinnung war weitgehend problemlos möglich. In <1% der Speichelproben konnte das gewonnene Material entweder aufgrund zu geringer Mengen (<200µl) oder einer für die Weiterverarbeitung zu zähen Konsistenz nicht verwendet werden.

Davon betroffen waren hauptsächlich ältere Probanden. Gonneratne et al. (2003) führten eine Untersuchung durch, die sich speziell auf die Melatoninbestimmung im Speichel älterer Personen im Alter von 65 bis 86 Jahren bezog. Die Speichelmenge erwies sich dort in 23,6% der Fälle als für die Melatoninbestimmung nicht ausreichend.

Vergleiche zwischen Melatonin im Speichel und im Blut setzen eine hohe Korrelation zwischen der Speichel- und Serummelatonin-konzentration voraus. Durch verschiedene Untersuchungen wurde diese Übereinstimmung vor allem für den Zeitpunkt der maximalen Konzentration sowie für die Phase des auf- und absteigenden Melatoninkonzentrationsverlaufs nachgewiesen (Laakso et al. 1990, Deacon & Arendt 1994, Nagtegaal et al. 1998). Durch sensitive Meßmethoden konnte dieser Nachweis auch bei Personen erbracht werden, die insgesamt niedrige Melatoninkonzentrationen aufwiesen (Gooneratne et al. 2003).

Zur Speichelstimulation wurden in der vorliegenden Studie Hartparaffinpellets verwendet. Speichelflussrate und Melatoninkonzentration weichen durch dieses Vorgehen nicht signifikant von nicht stimulierenden Verfahren wie beispielsweise das Verwenden von Salivetten ab (Voultsios et al. 1997). Zitronensäure wurde zur Stimulation nicht eingesetzt, da durch Kontamination des Mischspeichels mit dieser eine Beeinflussung der Melatoninkonzentration nicht ausgeschlossen werden konnte.

Unter Beachtung der circadianen Rhythmik wurde der Mischspeichel jedes Probanden abends um 21.30 Uhr sowie morgens um 7.00 Uhr gewonnen. Wie in der Einleitung erläutert, ist während beider Zeitpunkte zumindest bei einigen Probanden von einer sich im auf- bzw. absteigenden Teil des circadianen Verlaufs befindenden Melatoninkonzentration auszugehen.

Zu berücksichtigen ist, dass sich der Vergleich der Melatoninkonzentration zwischen Kontrollgruppen und Schlafapnoikern ausschließlich auf die genannten Zeitpunkte bezieht und aufgrund der circadianen Rhythmik nicht auf andere Tageszeiten übertragen werden kann. Durch Speichelentnahmen in kurzen Intervallen, die sich über einen 24-Studentag erstrecken und insbesondere auch die nächtlichen Melatoninspitzenwerte erfassen würden, wären Vergleiche über einen gesamten Tag möglich gewesen. Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht realisiert werden, da dadurch der laufende Stationsalltag zu sehr beeinträchtigt gewesen wäre. Da die Speichelgewinnung auf jeweils einen Entnahmezeitpunkt morgens bzw. abends festgelegt war, konnten eventuell bestehende Störungen der circadianen Schlaf-Wach-Rhythmik, beispielsweise vor- oder zurückverlagerte Melatoninverläufe, ebenfalls nicht aufgedeckt werden.

Die Bestimmung der Speichelmelatoninkonzentration ist mit unterschiedlichen Meßmethoden möglich. Für die biochemischen Analysen wurde ein direkter ELISA (Bühlmann Laboratories) eingesetzt. Die erforderliche Probenmenge von 100 µl bzw. 200 µl für Doppelbestimmungen ist mit diesem Verfahren äußerst gering. Der direkte ELISA weist im Vergleich zu dem häufig verwendeten Radioimmunoassay (RIA) den Vorteil auf, dass für die Durchführung keine Radioisotope, die entsprechende räumliche Voraussetzungen erfordern, notwendig sind (Chegini et al. 1995). Die Melatoninbestimmung im Speichel stellt im Vergleich zur Bestimmung im Blut aufgrund der niedrigeren Konzentration in diesem Medium auch mit modernen Nachweismethoden immer noch eine Herausforderung dar. Durch eine funktionelle Sensitivität von 1,3 pg/ml konnten jedoch auch geringe Melatoninkonzentrationen erfasst bzw. geringe Konzentrationsunterschiede aufgedeckt werden.

## **5.2. Diskussion der Einflussfaktoren**

### **5.2.1. Altersabhängigkeit der Melatoninkonzentration im Speichel**

In einer neueren Studie wurden altersbedingte Veränderungen der Melatoninkonzentration im Speichel untersucht. Bereits um das 40. Lebensjahr wurde ein allmählicher Rückgang der nächtlichen Melatoninkonzentration beobachtet. Der tagsüber bestimmte Melatoninspiegel erwies sich dagegen bei den ältesten Probanden (80 bis 93 Jahre) am höchsten (Zhou et al. 2003).

Aufgrund dieser Abhängigkeit wurde in der vorliegenden Studie Wert auf eine vergleichbare Altersstruktur zwischen Schlafapnoikern und Kontrollgruppe gelegt. Das Alter der Schlafapnoiker erwies sich im Vergleich zur Kontrollgruppe sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Probanden als **nicht signifikant** unterschiedlich ( $p=0,94$  bzw.  $p=0,87$ ). Insgesamt wurden Probanden im Alter von 31 bis 79 Jahren in die Untersuchungen mit einbezogen, wobei das Durchschnittsalter in den Gruppen bei 56 bzw. 57 Jahren lag. Der Median befand sich bei 59 bzw. 60 Jahren. Dies entspricht dem in der Einleitung erwähnten mittleren Manifestationsalter der obstruktiven Schlafapnoe.

### **5.2.2. Medikamente**

Die Melatoninproduktion in der Epiphyse wird durch sympathische Innervation über die Stimulation von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren reguliert. Die Wirkung verschiedener  $\beta$ -Blocker auf die Melatoninkonzentration wurde durch Stoschitzky et al. (1999) untersucht. Es konnte ein Melatonin senkender Effekt durch die (S)-Enantiomere Propranolol und Atenolol nachgewiesen werden. (R)-Enantiomere sowie (R,S)-Carvedilol, ein Medikament mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -blockierenden Eigen-

schaften, führten nicht zu einer Melatoninreduktion. Auch durch Verapamil, einem Calciumantagonisten, wurde der Melatoninspiegel nicht beeinflusst.

Die Einnahme von Medikamenten stellte in der vorliegenden Studie allerdings kein Ausschlusskriterium dar. Einerseits sollte eine möglichst breitgefächerte, stellvertretende Patientengruppe durch die Untersuchung erfasst werden. Andererseits erhielt die Mehrzahl der Personen in dieser Altersklasse aufgrund kardiovaskulärer Begleiterkrankungen eine medikamentöse Therapie, die vor allem die  $\beta$ -Blocker Bisoprolol, Metoprolol und Atenolol miteinbezog. Dies galt sowohl für Kontrollgruppen als auch für Schlafapnoiker. Durch Miterfassen der medikamentös behandelten Probanden konnte die, im Vergleich zu ähnlichen Studien, große Probandenanzahl gewährleistet werden. Bedingt durch die Medikamenteneinnahme kann allerdings ein eventuell bestehender Konzentrationsunterschied zwischen beiden Gruppen aus den genannten Gründen nicht völlig ausgeschlossen werden.

### 5.2.3. Körpergewicht

In der vorliegenden Studie lag der BMI, wichtiger Risikofaktor für das Auftreten einer obstruktiven Schlafapnoe, bei beiden Geschlechtern in der Gruppe der Schlafapnoiker höher als in der Kontrollgruppe. Vor allem bei den weiblichen Probanden wich der BMI der Schlafapnoegruppe mit durchschnittlich 32,63 kg/cm<sup>2</sup> deutlich von dem BMI der Kontrollgruppe mit 26,90 kg/cm<sup>2</sup> ab. Der BMI der männlichen Schlafapnoiker betrug im Durchschnitt 30,08 kg/cm<sup>2</sup>, der BMI der Kontrollgruppe lag bei 27,70 kg/cm<sup>2</sup>. Bei den Männern erwies sich der BMI in der Gruppe der Schlafapnoiker als **signifikant (p=0,03)**, bei den Frauen sogar als **hoch signifikant (p<0,001)** vergrößert, im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe.

Ob das Körpergewicht einen Einflussfaktor auf die Melatoninkonzentration darstellt, wurde bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht hinreichend untersucht. Røjdmark et al. (1991) zufolge hat das Körpergewicht keine Auswirkungen auf den Melatoninstoffwechsel. In deren Studie wurde die Serummelatoninkonzentration acht adipöser Probanden in zweistündlichen Intervallen zwischen 18 und 8 Uhr, sowie die Melatoninausscheidung im Urin zwischen 22 und 7 Uhr bestimmt und mit einer normalgewichtigen Kontrollgruppe verglichen. Der BMI der adipösen Gruppe lag bei durchschnittlich 36,4 kg/cm<sup>2</sup>, der BMI der Kontrolle betrug im Durchschnitt 22,3 kg/cm<sup>2</sup>. Die Melatoninkonzentration sowie die Melatoninausscheidung beider Gruppen unterschieden sich über den gesamten Zeitraum nicht signifikant.

Um allerdings abschließend vergleichende Aussagen zwischen beiden Gruppen treffen zu können, ist es notwendig, eventuelle Auswirkungen des Körpergewichts auf die Melatoninkonzentration, insbesondere im Speichel, zu berücksichtigen. Diese Problematik sollte in weiterführenden Studien thematisiert werden.

#### **5.2.4. Circannuale Einflüsse**

Kauppila et al. (1987) berichteten von einer länger anhaltenden erhöhten Melatoninkonzentration sowie einer höheren Amplitude im Herbst und Winter im Vergleich zu Frühling und Sommer. Weitere Studien bestätigten die in den Sommermonaten höhere Melatoninamplitude (Arendt 1995, Patel 1998). Laakso et al. (1994) wiesen darüber hinaus eine jahreszeitlich bedingte Phasenverschiebung des Melatoninverlaufs nach. Unter experimentellen Bedingungen mit künstlich erzeugten winterlichen und sommerlichen Tageslängen wurden vergleichbare Resultate erzielt (Wehr 1991). In einer Studie von Illnerová et al. (1985) zeigte sich die Melatoninkonzentration

allerdings von der Jahreszeit unbeeinflusst.

Die Speichelentnahmen im Rahmen des experimentellen Teils der vorliegenden Studie wurden zu allen Jahreszeiten durchgeführt. Eventuell bestehende saisonale Unterschiede der Speichelmelatonin-konzentrationen wurden dadurch minimiert, dass die Speichelgewinnung sämtlicher Probanden aus Kontrollgruppen und Schlafapnoegruppen bei insgesamt gleichen jahreszeitlichen Bedingungen erfolgte. Durch Speichelentnahmen über einen begrenzten Zeitraum, beispielsweise alle Entnahmen innerhalb eines Monats, hätte diesen saisonalen Einflüssen noch besser entgegengewirkt werden können. Dies war allerdings aufgrund der großen Probandenzahl nicht zu verwirklichen.

#### **5.2.5. Lichtverhältnisse**

In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben über den suppressiven Effekt von Licht auf die Melatoninkonzentration.

Entgegen früherer Untersuchungen konnten Lewy et al. (1980) erstmals eine Suppression auf die nächtliche Melatoninsekretion beim Menschen nachweisen. Probanden, die von 2 bis 4 Uhr weißem Licht einer Intensität von 2500 Lux (zum Vergleich: Innenraumbelichtung abends  $\approx$  100 Lux) ausgesetzt waren, wiesen bis auf Tagesniveau verminderte Melatoninspiegel auf. Auch 1500 Lux waren für eine Reduktion der Melatoninproduktion ausreichend. 500 Lux fluoreszendierendes Licht hatten dagegen keinen Einfluss auf die Melatoninsekretion. McIntyre et al. (1989) konnten bei 3000 Lux eine Suppression um 71% nachweisen, während 200 Lux den Melatoninspiegel noch um 16% verringerten. Abweichend davon hielten Zeitzer et al. (2000) 200 Lux für ausreichend, um eine vollständige Suppression herbeizuführen. Bei 50 bis 130 Lux fiel der Melatoninspiegel um die Hälfte. Dass das Suppressionsausmaß von

den präexperimentellen Lichtverhältnissen abhängt, konnten Hébert et al. (2002) nachweisen. Probanden, die sich eine Woche lang in abgedunkelten Räumen aufhielten, bzw. im Freien schwarze Brillen trugen, fielen in der darauf folgenden "Testnacht" bei einer Lichtexposition von 500 Lux durch eine stärkere Melatoninunterdrückung auf als Personen, die eine Woche lang extrem hellen Lichtbedingungen ausgesetzt waren. Umgekehrt wiederum soll Dunkelheit tagsüber nicht zu einem Melatoninanstieg führen (Utiger 1992).

Die dargestellten Daten zur Melatoninsuppression durch Licht können nur bedingt auf die vorliegende Studie übertragen werden. Die oben erwähnten Untersuchungen fanden meist unter experimentellen Bedingungen unter Verwendung künstlicher Lichtquellen teilweise hoher Lichtintensität statt. Die Probanden befanden sich präexperimentell in dunkler Umgebung und wurden über einen definierten Zeitraum den Lichtquellen ausgesetzt. Auch wurden die Studien nachts bei naturgemäß hoher Melatoninkonzentration durchgeführt. Die Melatoninkonzentration wurde in diesen Studien außerdem im Blut bestimmt.

Die Speichelentnahmen in unserer Studie fanden über den gesamten Zeitraum hinweg unter sogenannten „natürlichen“ Lichtverhältnissen und in nicht abgedunkelten Räumen statt. Morgens und in den Sommermonaten auch abends, waren die Probanden dem entsprechenden Tageslicht ausgesetzt. In den „dunklen“ Kalendermonaten wurde der Speichel bei Zimmerbeleuchtung (entspricht etwa 100 bis 500 Lux; nach Arendt 1995) gewonnen. Dennoch konnten eventuelle Veränderungen der Melatoninkonzentration durch sich verändernde Lichtverhältnisse letztlich nicht vollständig ausgeschlossen werden.

### **5.2.6. nCPAP-Therapie**

Die Gruppe der Schlafapnoiker setzte sich aus Patienten zusammen, die sich zur Diagnostik oder zur Kontrolluntersuchung im Schlaflabor aufhielten. Miteinbezogen wurden auch Personen, die schon über einen längeren Zeitraum, das heißt über mehrere Monate bis Jahre, mit nCPAP behandelt wurden. Bislang gibt es wenige Erkenntnisse, ob und in welchem Ausmaß sich eine nCPAP-Therapie auf den Melatoninspiegel auswirkt.

Wikner et al. (1997) verglichen die Serummelatoninkonzentrationen gesunder Probanden mit denen von Schlafapnoikern, die zunächst keine nCPAP-Therapie erhielten. Anschließend wurden sie einer nCPAP-Behandlung über 4 Wochen zugeführt. Die Melatoninkonzentrationen wurden in zweistündlichen Intervallen zwischen 20 und 8 Uhr bestimmt. Es konnten vor und nach der Behandlung mit nCPAP keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Allerdings wiesen die Schlafapnoiker nach der nCPAP-Therapie, im Gegensatz zu vorher, im Vergleich zur Kontrollgruppe morgens um 6 und um 8 Uhr signifikant niedrigere Werte auf.

Sicherlich bedarf es weiterer Studien, um die Auswirkungen der nCPAP-Therapie auf die Melatoninkonzentration eindeutig klären zu können. Aus diesem Grund kann eine Beeinflussung unserer Ergebnisse durch die Einbeziehung von nCPAP-behandelten Probanden nicht sicher ausgeschlossen werden.

## **5.3. Diskussion der Ergebnisse**

### **5.3.1. Geschlechtsabhängigkeit**

In der vorliegenden Studie wurde die Melatoninkonzentration auf Geschlechtsabhängigkeit überprüft. Der Vergleich der Melatonin-

konzentrationen zwischen weiblichen und männlichen Probanden ergab in der Kontrollgruppe und in der Gruppe der Schlafapnoiker **keine signifikanten** Unterschiede. Dies galt sowohl für den morgendlichen als auch für den abendlichen Entnahmezeitpunkt.

Waldhauser et al. (1988) konnten in Übereinstimmung dazu ebenfalls keinen Geschlechtseinfluss feststellen. In deren Studie wurde die Melatoninkonzentration im Serum zu morgendlichen und abendlichen Entnahmezeitpunkten bestimmt. Auch in einer Studie von Iguchi et al. (1982) zeigte sich die morgendliche Melatoninkonzentration im Serum vom Geschlecht unbeeinflusst. Im Gegensatz dazu konnten Zhao et al. (2002) bei Bestimmung der Serummelatoninkonzentrationen, in allen untersuchten Altersklassen (<60 Jahre, 60 bis 69 Jahre, 70 bis 79 Jahre, ab 80 Jahre) bei Frauen höhere nächtliche Melatoninspiegel nachweisen als bei Männern. Die morgendliche Melatoninkonzentration war allerdings auch in dieser Studie geschlechtsunabhängig.

Diese Thematik wurde bisher nur in wenigen Studien behandelt. Die Ergebnisse sprechen insgesamt für eine Geschlechtsunabhängigkeit der Melatoninkonzentration. Hierfür könnte unter anderem auch das in der Einleitung erwähnte geschlechtsunabhängige Pinealvolumen des Menschen sprechen.

### 5.3.2. Vergleich zwischen Schlafapnoikern und Kontrollgruppe

Die Melatoninkonzentrationen der männlichen und weiblichen Schlafapnoiker unterschieden sich **nicht signifikant** von der entsprechenden Kontrollgruppe. Dies traf für beide Entnahmezeitpunkte zu.

Der Mittelwert in der weiblichen Schlafapnoegruppe betrug morgens 15,27 pg/ml und abends 20,82 pg/ml. In der Kontrollgruppe lag der Mittelwert der Frauen morgens bei 18,93 pg/ml und abends bei

21,42 pg/ml. In der Gruppe der männlichen Schlafapnoiker wurden morgens durchschnittlich 17,32 pg/ml und abends 17,45 pg/ml ermittelt. Der durchschnittliche Wert in der männlichen Kontrollgruppe betrug morgens 15,21 pg/ml und abends 17,99 pg/ml.

In den meisten verfügbaren Studien wurde die Melatoninkonzentration im Serum untersucht. Nur wenige Arbeiten befassten sich mit der Bestimmung im Speichel. Außerdem dienten diese meist der Erfassung des nächtlichen Konzentrationsmaximums. Studienmaterial, das sich explizit auf die Speichelmelatoninkonzentration unserer Entnahmezeitpunkte übertragen läßt, ist in nur geringer Anzahl vorhanden.

In einer Studie von Laakso et al. (1990) lag die Tagesmelatoninkonzentration im Speichel unter 10 pg/ml. Nelson et al. (2001) bestimmten um 10 Uhr morgens Melatoninkonzentrationen im Speichel von durchschnittlich 47 pg/ml. Zhou et al. (2003) ermittelten altersabhängige Tageswerte, die im Mittel zwischen 2,06 pg/ml und 3,69 pg/ml lagen. Die Analysen aller erwähnten Studien wurden mittels RIA durchgeführt. Die durchschnittlichen Melatoninkonzentrationen unserer Studie liegen innerhalb der erwähnten Konzentrationsbereiche. Es ist zu beachten, dass die ermittelten Werte der verschiedenen Studien doch erheblich voneinander abweichen, was allerdings nicht ohne weiteres auf die analytische Methode zurückgeführt werden kann.

Berücksichtigt werden muss, dass sich die Melatoninkonzentration einiger Probanden unserer Studie, bedingt durch den Zeitpunkt der Speichelentnahme, im auf- bzw. absteigenden Teil der circadianen Melatoninkurve befunden haben könnten. In diesem Fall wäre mit entsprechend höheren Melatoninkonzentrationen zu rechnen. Die teilweise beobachteten hohen Melatoninwerte einiger Probanden könnten darauf zurückgeführt werden. Unsere Ergebnisse bestätigen

ferner die schon in anderen Studien erwähnten beträchtlichen interindividuellen Konzentrationsunterschiede (Laakso et al. 1990, Reiter 2003).

Die Melatoninkonzentrationen zeigten in der Kontrollgruppe und in der Gruppe der Schlafapnoiker eine ähnliche Verteilung. Die Diagramme 4.2.1 bis 4.2.4 in Kapitel 4 verdeutlichen, dass mit zunehmendem Konzentrationsintervall tendenziell eine Häufigkeitsabnahme der ermittelten Melatoninwerte zu verzeichnen war. In der weiblichen Kontrollgruppe lagen morgens 69,4% und abends 65,3% der Werte unter 20 pg/ml. Bei den Schlafapnoikerinnen befanden sich unterhalb dieser Konzentration morgens 75% bzw. abends 67,3% der Werte. In der männlichen Kontrollgruppe lagen morgens 79,2% bzw. abends 76,6% unterhalb 20 pg/ml, während bei den Schlafapnoikern morgens 73,9% bzw. abends 64,6% der Werte unterhalb dieser Konzentration vertreten waren.

Zur Melatoninbestimmung bei obstruktiver Schlafapnoe existieren bisher nur wenige Studien. Dabei handelt es sich entweder um Melatoninnachweise im Serum oder im Urin. Studien zur Ermittlung der Melatoninkonzentration im Speichel im Zusammenhang mit obstruktiver Schlafapnoe sind in der uns vorliegenden Literatur nicht vertreten.

Wikner et al. (1997) verglichen den Melatoninstoffwechsel von Männern mit obstruktiver Schlafapnoe mit den Melatoninkonzentrationen von Kontrollpersonen vergleichbaren Alters und Gewichts. Die Untersuchungen fanden zwischen 20 und 8 Uhr statt. Die Melatoninkonzentration im Serum wurde in zweistündlichen Intervallen bestimmt. Gleichzeitig wurde die Melatoninausscheidung im Urin zwischen 22 und 7 Uhr gemessen. Nach 4 Wochen fand eine Wiederholung dieser Untersuchungen statt. In der Zwischenzeit erhielten die Schlafapnoiker eine nCPAP-Therapie. Als Meßmethode

kam ein RIA zum Einsatz. Melatoninsekretion, Urinausscheidung, Maximalkonzentration, die Melatoninkonzentration zu jedem bestimmten Zeitpunkt sowie der Zeitpunkt des Melatoninmaximums der Schlafapnoegruppe wichen nicht signifikant von der Kontrollgruppe ab. Lediglich die Melatoninkonzentration um 6 und 8 Uhr der mit nCPAP behandelten Patienten erwies sich als signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe.

Eine weitere Studie verglich die Melatoninkonzentrationen von 10 Schlafapnoikern mit denen einer Kontrollgruppe. Die Bestimmung im Serum erfolgte in vierstündlichen bzw. abends und nachts in zweistündlichen Intervallen. Der Melatoninspiegel folgte bei Schlafapnoikern und Kontrollgruppe einer circadianen Rhythmik. Die Konzentration in der Gruppe der Schlafapnoiker zeigte sich allerdings, im Vergleich zur Kontrollgruppe, als nicht signifikant unterschiedlich (Entzian et al. 1996).

Eine dritte Studie konzentrierte sich auf einen Vergleich der Melatoninkonzentrationen im Serum um 15 Uhr nachmittags. In die Untersuchungen miteinbezogen wurden 40 Männer und 9 Frauen mit obstruktiver Schlafapnoe und 10 Kontrollpersonen (8 Männer und 2 Frauen) vergleichbaren Alters. Das Ergebnis ergab bei Schlafapnoikern signifikant höhere Werte. Im Gegensatz zu der vorliegenden sowie den oben genannten Studien wurde in dieser Veröffentlichung ein Konzentrationsunterschied zwischen Kontrollen und Schlafapnoikern deutlich (Ulfberg et al. 1998). Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass Schlafstörungen im Zusammenhang mit der obstruktiven Schlafapnoe zu einer Dysfunktion der Epiphyse führen. So würden zumindest teilweise die hohen Tagesmelatoninkonzentrationen, die daraus resultierende Tagesmüdigkeit aber auch Gewichtszunahmen sowie depressive Verstimmungen erklärt werden können.

Die vorliegende Studie sollte dazu beitragen, weitere Einblicke in die noch ungeklärte Ätiologie der obstruktiven Schlafapnoe zu erhalten. Dies ist unseres Wissens die erste Arbeit, die dabei die Melatoninkonzentration im Speichel bestimmte. Unsere Ergebnisse zeigten, in Übereinstimmung mit den Studien von Wikner et al. (1997) und Entzian et al. (1996), keinen Zusammenhang zwischen der Melatoninkonzentration und der obstruktiven Schlafapnoe. Angesichts der wenigen Arbeiten zur Melatoninbestimmung bei schlafbezogenen Atmungsstörungen und unter Berücksichtigung der diskutierten möglichen Einflussfaktoren in unserer Studie, kann die Frage nach einer Beziehung zwischen dem Epiphysenhormon Melatonin und dem OSAS allerdings nicht eindeutig beantwortet werden. Es bedarf zusätzlicher Forschungsarbeiten, um weitere Erkenntnisse auf diesem Gebiet zu gewinnen.

## **6. Zusammenfassung**

Das 1958 als Sekretionsprodukt der Epiphyse entdeckte Hormon Melatonin unterliegt einem ausgeprägten circadianen Rhythmus. Es wird größtenteils nachts produziert und ist deshalb auch unter der Bezeichnung „Hormon der Dunkelheit“ bekannt. Ein Nachweis ist im Blut, im Speichel und in anderen Körperflüssigkeiten möglich. Seine physiologische Bedeutung beim Menschen ist noch nicht vollständig geklärt. Im Vordergrund steht seine Beteiligung an der Steuerung des Schlaf-Wach-Rhythmus und anderer circadian verlaufender Körperfunktionen. Eine veränderte Melatoninsekretion ist beispielsweise bei Jet-lag, bei Schlafstörungen älterer Menschen oder bei Schichtarbeitern nachweisbar. In den USA findet Melatonin breite Anwendung in der Therapie diverser Schlafstörungen.

Die obstruktive Schlafapnoe ist die bekannteste Form der schlafbezogenen Atmungsstörungen. Die Prävalenz in der Gesamtbevölkerung beträgt 1 bis 2%. Ihre Ätiologie ist weitgehend ungeklärt. Pathophysiologisch führen Obstruktionen der oberen Atemwege während des Schlafes zum Atemstillstand. Dieser wird nach Unterschreiten einer bestimmten Sauerstoffsättigung bzw. nach Erhöhung des Kohlendioxidgehaltes im Blut durch sogenannte Weckreaktionen terminiert. Neben dem charakteristischen Schnarchen sind Tagesmüdigkeit, herabgesetzte Leistungsfähigkeit und Monotonieintoleranz weitere typische Symptome. Die Lebensqualität wird oft durch zusätzliche kardiovaskuläre Komplikationen eingeschränkt.

Um weitere Einblicke in die Ätiologie der obstruktiven Schlafapnoe zu erhalten, wurde in der vorliegenden Studie der Fragestellung nachgegangen, welche Beziehung zwischen der Melatoninkonzentration im Speichel und der obstruktiven Schlafapnoe besteht.

Aufgrund der engen Korrelation zwischen Speichel- und Serummelatonin, ist die Melatoninbestimmung im Speichel eine praktische, nicht invasive Alternative zur etablierten Blutanalyse.

Die Melatoninkonzentrationen 48 männlicher und 50 weiblicher Schlafapnoiker wurden mit altersentsprechenden Kontrollgruppen, ebenfalls bestehend aus 48 Männern und 50 Frauen, verglichen. Die Speichelgewinnung erfolgte morgens und abends zu einem jeweils festgelegten Zeitpunkt. Außerdem wurden die Melatoninkonzentrationen aller Probandengruppen auf eine eventuelle Geschlechtsabhängigkeit hin überprüft. Als Nebenaspekt wurde der Body-Mass-Index (BMI), Risikofaktor der obstruktiven Schlafapnoe, zwischen Betroffenen und Kontrollgruppen auf statistische Signifikanz getestet. Die biochemischen Analysen wurden mit Hilfe eines direkten ELISA durchgeführt. Als mathematisches Testverfahren kam der Mann-Whitney-Wilcoxon-Test zum Einsatz.

Die Bestimmungen ergaben für beide Abnahmezeitpunkte und für beide Geschlechter keine signifikanten Melatoninkonzentrationsunterschiede zwischen Schlafapnoikern und Kontrollgruppen. In allen Gruppen wurde eine große interindividuelle Konzentrationsdifferenz deutlich. Eine Geschlechtsabhängigkeit konnte nicht ermittelt werden. Bei Schlafapnoikern erwies sich der BMI im Vergleich zu den Kontrollgruppen als signifikant, bei Schlafapnoikerinnen als hoch signifikant vergrößert.

Zu dieser Thematik liegen bislang nur wenige vergleichbare Untersuchungen vor. Die hier vorgelegte Studie ist unseres Wissens die erste Arbeit über die Beziehung zwischen obstruktiver Schlafapnoe und Speichelmelatonin. Zusammenfassend konnte keine statistische Kausalität zwischen Melatonin und diesem Krankheitsbild festgestellt werden. Zur Bestätigung und Konkretisierung unserer Ergebnisse bedarf es allerdings weiterer Forschungsarbeiten.

## 7. Literatur

**Akashiba T., Minemura H., Yamamoto H., Kosaka N., Saito O. & Horie T. (1999)** Nasal continuous positive airway pressure changes blood pressure “non-dippers“ to “dippers“ in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep* 22: 849-53

**Akita Y., Kawakatsu K., Hattori C., Hattori H., Suzuki K. & Nishimura T. (2003)** Posture of patients with sleep apnea during sleep. *Acta Otolaryngol Suppl* 550: 41-45

**Aldhous M., Franey C., Wright J. & Arendt J. (1985)** Plasma concentrations of melatonin in man following oral absorption of different preparations. *Br J Clin Pharmacol* 19: 517-521

**Al-Ghoul W.M., Herman M.D. & Dubocovich L. (1998)** Melatonin receptor subtype expression in human cerebellum. *Neuroreport* 9: 4063-4068

**Altschule M.D. (1975)** The four phases of pineal studies. in: Altschule M.D. (Hrsg.) *Frontiers of pineal physiology*. The MIT Press Cambridge, Massachusetts and London, England: 1-4

**Ambrogetti A., Olson L.G. & Saunders N.A. (1991)** Differences in the symptoms of men and women with obstructive sleep apnea. *Aust N Z J Med* 21: 863-866

**Arendt J. (2003)** Importance and relevance of melatonin to human biological rhythms. *J Neuroendocrinol* 15: 427-431

**Arendt J. (1995)** *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*. (ed.: Arendt J.), Chapman & Hall London: 1-246

**Axelrod J. & Weissbach H. (1959)** Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science* 131: 1312

**Barchas J., DaCosta F. & Spector S. (1967)** Acute pharmacology of melatonin. *Nature* 214: 919-920

**Bartsch C., Bartsch H., Fuchs U., Lippert T.H., Bellmann O. & Gupta D. (1989)** Stage-dependent depression of melatonin on patients with primary breast cancer. *Cancer* 64: 426-433

**Bartsch C., Bartsch H., Karenovics A., Franz H., Peiker G. & Mecke D. (1997)** Nocturnal urinary 6-sulphatoxymelatonin excretion is decreased in primary breast cancer patients compared to age-matched controls and shows negative correlation with tumor-size. *J Pineal Res* 23: 53-58

**Bartsch C., Seeger H., Muck A.O. & Lippert T.H. (1995)** The effect of estradiol on the production of melatonin in postmenopausal women. *Int J Clin Pharmacol Ther* 33: 401-403

**Baskett J.J., Broad J.B., Wood P.C., Duncan J.R., Pledger M.J., English J. & Arendt J. (2003)** Does melatonin improve sleep in older people? A randomised crossover trial. *Age Ageing* 32: 164-170

**Brugger P., Marktl W. & Herold M. (1995)** Impaired nocturnal secretion of melatonin in coronary heart disease. *Lancet* 345:1408

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

**Burwell C.S., Robin E.D., Whaley R.D. & Bickelmann A. (1956)** Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation - A Pickwickian Syndrome. *Am J Med* 21: 811-818

**Cagnacci A., Elliott J.A. & Yen S.S.C. (1992)** Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 75: 447-452

**Cardinali D.P., Lynch H.J. & Wurtman R.J. (1972)** Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology* 91: 1213-1218

**Chegini S., Ehrhart-Hofmann B., Kaider A. & Waldhauser F. (1995)** Direct enzyme-linked immunosorbent assay and a radioimmunoassay for melatonin compared. *Clin Chem* 41: 381-386

**Chervin R.D. & Guilleminault C. (1996)** Obstructive sleep apnea and related disorders. *Neurol Clin* 14: 583-609

**Cirignotta F., D'Alessandro R., Partinen M., Zucconi M., Cristina E., Gerardi R., Cacciatore F.M. & Lugaresi E. (1989)** Prevalence of every night snoring and obstructive sleep apnoeas among 30-69 year-old men in Bologna, Italy. *Acta Psychiatr Scand* 79: 366-372

**Deacon S. & Arendt J. (1994)** Posture influences melatonin concentrations in plasma and saliva in humans. *Neurosci Lett* 167: 191-194

**Demel A.W. (1992)** Radioimmunologische Untersuchung der Zirkadianrhythmen von Cortisol und Melatonin im Speichel. *Wien Klin Wochenschr* 104: 423-425

**Dubocovich M.L. (1995)** Melatonin receptors: are there multiple subtypes? *Trends Pharmacol Sci* 16: 50-56

**Duffy J.F., Zeitzer J.M., Rimmer D.W., Klerman E.B., Dijk D.-J. & Czeisler C.A. (2002)** Peak of circadian melatonin rhythm occurs later within the sleep of older subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282: E297-303

**Entzian P., Linnemann K., Schlaak M. & Zabel P. (1996)** Obstructive sleep apnea syndrome and circadian rhythms of hormones and cytokines. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1080-1086

**Fauteck J.-D., Lerchl A., Bergmann M., Møller M., Fraschini F., Wittkowski W. & Stankov B. (1994)** The adult cerebellum is a target of the neuroendocrine system involved in the circadian timing. *Neurosci Lett* 179: 60-64

**Ferguson D.B. (1987)** Current diagnostic uses of saliva. *J Dent Res* 66: 420-424

**Findley L.J., Fabrizio M., Thommi G. & Suratt P.M. (1989)** Severity of sleep apnea and automobile crashes. *N Engl J Med* 320: 868-869

**Fischer L. & Netzer N. (1995)** Medikamente und Alkohol - Schlaf und Atmung. in: Matthys H., Netzer N. (Hrsg.) *Schlafmedizin ein Kompendium*. Dustri-Verlag Dr. Karl Feistle München-Deisenhofen: 24-33

**Fraschini F., Cesarani A., Alpini D., Esposti D. & Stankov B.M. (1999)** Melatonin influences human balance. *Biol Signals Recept* 8: 111-119

**García-Patterson A., Puig-Domingo M. & Webb S.M. (1996)** Thirty years of human pineal research: do we know its clinical relevance? *J Pineal Res* 20: 1-6

**Garfinkel D., Laudon M., Nof D. & Zisapel N. (1995)** Improvement of sleep quality in elderly people by controlled-released melatonin. *Lancet* 346: 541-544

**Gastaut H., Tassinari C. & Duron B. (1965)** Etude polygraphique des manifestations episodiques (hypniques et respiratoires), diurnes et nocturnes, du syndrome de Pickwick [Polygraphic study of diurnal and nocturnal (hypnic and respiratory) episodal manifestations of Pickwick Syndrome]. *Rev Neurol* 112: 568-579

**Griefahn B., Künemund C. & Blaszkewicz M. (2002)** Der Verlauf der Melatoninkonzentration im Speichel - ein valider Indikator der zirkadianen Phasenlage. *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 37: 430-435

**Gooneratne N.S., Metlay J.P., Guo W., Pack F.M., Kapoor S. & Pack A.I. (2003)** The validity and feasibility of saliva melatonin assessment in the elderly. *J Pineal Res* 34: 88-94

**Grote L. (1996)** Schlaf - Atmung - Häodynamik. *Internist* 37: 470-482

**Guilleminault C. (1979)** The sleep apnea syndrome. *Med Times* 107: 59-63

**Haimov I., Laudon M., Zisapel N., Souroujon M., Nof D., Shlitner A., Herer P., Tzischinsky O. & Lavie P. (1994)** Sleep disorders and melatonin rhythm in elderly people. *BMJ* 309: 167

**Haimov I., Lavie P., Laudon M., Herer P., Vigder C. & Zisapel N. (1995)** Melatonin replacement therapy of elderly insomniacs. *Sleep* 18: 598-603

**Hannemann P. (2000)** *Schlafapnoe-Syndrom und Schnarchen: Ursachen, Symptome, erfolgreiche Behandlung.* (Hrsg. Hannemann P.), Jopp/Oesch Verlag Zürich, Wiesbaden: 27-104

**Hasegawa A., Kohichiro O. & Mori W. (1987)** Pineal gland in old age; quantitative and qualitative morphological study of 168 human autopsy cases. *Brain Res* 409: 343-349

**Hattori H., Hattori C., Yonekura A. & Nishimura T. (2003)** Two cases of sleep apnea syndrome caused by primary hypothyroidism. *Acta Otolaryngol Suppl* 550: 59-64

**Hébert M., Martin S.K., Lee C. & Eastman C.I. (2002)** The effects of prior light history on the suppression of melatonin by light in humans. *J Pineal Res* 33: 198-203

**Hein H. (2004a)** Herz-Kreislaufkrankungen und schlafbezogene obstruktive Atmungsstörungen. *Pneumologie* 58: 505-509

**Hein H. (2004b)** Schlafapnoe-Syndrom: Alternative Therapieverfahren. *Pneumologie* 58: 325-529

**Hein H., Raschke F., Kohler D., Mayer G., Peter J.-H. & Ruhle K.H. (2001)** Leitlinie zur Diagnostik und Therapie schlafbezogener Atmungsstörungen bei Erwachsenen - Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin. *Pneumologie* 55: 339-342

**Herxheimer A. & Waterhouse J. (2003)** The prevention and treatment of jet lag. *BMJ* 326: 296-297

**Heubner O. (1898)** Tumor der Glandula pinealis. *Dtsch Med Wochenschr* 24: 214-216

**Honma K., Hashimoto S., Endo T. & Honma S. (1997)** Light and plasma melatonin rhythm in humans. *Biol Signals* 6: 307-312

**Huether G. (1996)** Melatonin - eine Wunderdroge aus Amerika? *Internist* 37: 848-850

**Hughes R.J. & Badia P. (1997)** Sleep-promoting and hypothermic effects of daytime melatonin administration in humans. *Sleep* 20: 124-131

**Hughes R.J., Sack R.L. & Lewy A.J. (1998)** The role of melatonin and circadian phase in age-related sleep-maintenance insomnia: assessment in a clinical trial of melatonin replacement. *Sleep* 21: 52-68

**Hung J., Whitford E.G., Parsons R.W. & Hillman D.R. (1990)** Association of sleep apnoea with myocardial infarction in men. *Lancet* 336: 261-264

**Iguichi H., Kato K.-I. & Ibayashi H. (1982)** Age-dependent reduction in serum melatonin concentrations in healthy human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 55: 27-29

**Illnerová H., Zvolsky P. & Vaněček J. (1985)** The circadian rhythm in plasma melatonin concentration of the urbanized man: the effect of summer and winter time. *Brain Res* 328: 186-189

**Issa F.G. & Sullivan C.E. (1982)** Alcohol, snoring and sleep apnoea. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 45: 353-359

**Itasaka Y., Miyazaki S., Ishikawa K. & Togawa K. (2000)** The influence of sleep position and obesity on sleep apnea. *Psychiatry Clin Neurosci* 54, 340-341

**Jung R. & Kuhlo W. (1965)** Neurophysiological studies of abnormal night sleep and the Pickwickian syndrome. *Prog Brain Res* 18: 140-159

**Káradóttir R. & Axelsson J. (2001)** Melatonin secretion in sad patients matched with respect to age and sex. *Int J Circumpolar Health* 60: 548-551

**Kauppila A., Kivelä A., Pakarinen A. & Vakkuri O. (1987)** Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. *J Clin Endocrinol Metab* 65: 823-828

**Kayumov L., Zhdanova I. & Shapiro C.M. (2000)** Melatonin, sleep, and circadian rhythm disorders. *Semin Clin Neuropsychiatry* 5: 44-55

**Kennaway D.J., Lushington K., Dawson D., Lack L., van der Heuvel C. & Rogers N. (1999)** Urinary 6-sulfatoxymelatonin excretion and aging: new results and a critical review of the literature. *J Pineal Res* 27: 210-220

**Kennaway D.J. & Voultsios A. (1998)** Circadian rhythm of free melatonin in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 1013-1015

**Koehler U., Becker H.F., Gross V., Reinke C., Penzel T., Schäfer H. & Vogelmeier C. (2003)** Warum ist die obstruktive Schlafapnoe (OSA) ein kardiovaskulärer Risikofaktor? *Z Kardiol* 92: 977-984

**Kostoglou-Athanassiou I., Treacher D.F., Wheeler M.J. & Forsling M.L. (1998)** Bright light exposure and pituitary hormone secretion. *Clin Endocrinol* 48: 73-79

**Kubota T., Uchiyama M., Suzuki H., Shibui K., Kim K., Tan X., Tagaya H., Okawa M. & Inoué S. (2002)** Effects of nocturnal bright

light on saliva melatonin, core body temperature and sleep propensity rhythms in human subjects. *Neurosci Res* 42: 115-122

**Kunz D., Schmitz S., Mahlberg R., Mohr A., Stöter C., Wolf K.-J. & Herrmann W.M. (1999)** A new concept for melatonin deficit: on pineal calcification and melatonin excretion. *Neuropsychopharmacology* 21: 765-772

**Laakso M.-L., Porkka-Heiskanen T., Alila A., Stenberg D. & Johansson G. (1990)** Correlation between salivary and serum melatonin: dependence on serum melatonin levels. *J Pineal Res* 9: 39-50

**Laakso M.-L., Porkka-Heiskanen T., Alila A., Stenberg D. & Johansson G. (1994)** Twenty-four-hour rhythms in relation to the natural photoperiod: a field study in humans. *J Biol Rhythms* 9: 283-293

**Langer M., Hartmann J., Turkof H. & Waldhauser F. (1997)** Melatonin beim Menschen - ein Überblick. *Wien Klin Wochenschr* 109: 707-713

**Langevin B., Sukkar F., Léger P., Guez A. & Robert D. (1992)** Sleep apnea syndrome (SAS) of specific etiology: review and incidence from a sleep laboratory. *Sleep* 15: S25-32

**Lerner A.B., Case J.D. & Heinzelmann R.V. (1959)** Structure of melatonin. *J Am Chem Soc* 81: 6084-6085

**Lerner A.B., Case J.D., Takahashi Y., Lee T.H. & Mori N. (1958)** Isolation melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 80: 2587

**Lewy A.J., Ahmed S., Latham Knackson J.M. & Sack R.L. (1992)** Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase-response curve. *Chronobiol Int* 9: 380-392

**Lewy A.J., Ahmed S. & Sack R.L. (1996)** Phase shifting the human circadian clock using melatonin. *Behav Brain Res* 73: 131-134

**Lewy A.J. & Markey S.P. (1978)** Analysis of melatonin in human plasma by gas chromatography negative chemical ionization mass spectrometry. *Science* 201: 741-743

**Lewy A.J. & Newsome D.A. (1983)** Different types of melatonin circadian secretory rhythms in some blind subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 56: 1103-1107

**Lewy A.J., Wehr T.A. & Goodwin F.K. (1980)** Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 210: 1267-1269

**Litvinenko G.I., Shurlygina A.V., Malysheva O.A., Kudaeva O.T., Shirinskii V.S., Kozlov V.A. & Trufakin V.A. (2002)** Circadian variations of melatonin concentration in saliva and blood content of immunocompetent cells in healthy individuals. *Bull Exp Biol Med* 133: 500-502

**Lockley S., Tabandeh H., Skene D., Buttery R., Bird A., DeFrance R. & Arendt J. (1995)** Day-time naps and melatonin in blind people. *Lancet* 346: 1491

**Lynch H.J., Wurtman R.J., Moskowitz M.A., Archer M.C. & Ho M.H. (1975)** Daily rhythm in human urinary melatonin. *Science* 187: 169-171

**Mandel I.D. (1990)** The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 19: 119-125

**Marburg O. (1909)** Zur Kenntnis der normalen und pathologischen Histologie der Zirbeldrüse. *Arbeiten aus dem Neurologischen Institute* 17: 217-279

**McIntyre I.M., Norman T.R., Burrows G.D. & Armstrong S.M. (1989)** Human melatonin suppression by light is intensity dependent. *J Pineal Res* 6: 149-156

**Meyer P. & Werner E. (1994)** Sialochemische Untersuchungen an den isolierten Sekreten der großen Kopfspeicheldrüsen. *Laryngorhinootologie* 73: 472-477

**Meyer P., Werner E. & Bankau A. (1997)** Quantitative Untersuchungen am Kallikrein-Prokallikrein-System im Mischspeichel beim oralen Plattenepithelkarzinom. *HNO* 45: 7-10

**Meyer P., Werner E. & Polzin A. (1998)** Zur Kallikrein-konzentration im Vollspeichel nach Kontrazeptivgabe oder postmenopausaler Hormonsubstitution. *Laryngorhinootologie* 77: 21-24

**Meyer P. & Zechel T. (2001)** Quantitative Untersuchungen an den Enzymen Lysozym und Phosphohexoseisomerase im Mischspeichel beim oralen Plattenepithelkarzinom. *HNO* 49: 626-629

**Meyer R. (2003)** Melatonin: Warnungen vor unkontrolliertem Einsatz. *Dtsch Med Wochenschr* 128: 2180

**Miles A., Thomas D.R., Grey J.E. & Pugh A.J. (1987)** Salivary melatonin assay in laboratory medicine - longitudinal profiles of secretion in healthy men. *Clin Chem* 33: 1957-1959

**Miles L.E.M., Raynal D.M. & Wilson M.A. (1977)** Blind man living in normal society has circadian rhythms of 24.9 hours. *Science* 198: 421-423

**Millman R.P., Carlisle C.C., McGarvey S.T., Eveloff S.E. & Levinson P.D. (1995)** Body fat distribution and sleep apnea severity in women. *Chest* 107: 362-366

**Moretti R.M., Montagnani Marelli M., Maggi R., Dondi D., Motta M. & Limonta P. (2000)** Antiproliferative action of melatonin on human prostate cancer LNCaP cells. *Oncol Rep* 7: 347-351

**Nagtegaal J.E., Laurant M.W., Kerkhof G.A., Smits M.G., van der Meer Y.G. & Coenen A.M.L. (2000)** Effects of melatonin on the quality of life in patients with delayed sleep phase syndrome. *J Psychosom Res* 48: 45-50

**Nagtegaal J.E., Peeters T., Swart W., Smits M.G., Kerkhof G.A. & van der Meer Y.G. (1998)** Correlation between concentrations of melatonin in saliva and serum in patients with delayed sleep phase syndrome. *Ther Drug Monit* 20: 181-183

**Nakagawa H., Sack R.L. & Lewy A.J. (1992)** Sleep propensity free-runs with the temperature, melatonin and cortisol rhythms in a totally blind person. *Sleep* 15: 330-336

**Nelson F.A., Farr L.A. & Ebadi M. (2001)** Salivary melatonin response to acute pain stimuli. *J Pineal Res* 30: 206-212

**Netzer N.C., Eliasson A.H. & Strohl K.P. (2003)** Women with sleep apnea have lower levels of sex hormones. *Sleep Breath* 7: 25-29

**Neuwelt E.A. & Lewy A. (1983)** Disappearance of plasma melatonin after removal of a neoplastic pineal gland. *N Engl J Med* 308: 1132-1133

**Nishimura Y., Nishimura T., Hattori H., Hattori C., Yonekura A. & Suzuki K. (2003)** Obesity and obstructive sleep apnea syndrome. *Acta Otolarynol Suppl* 550: 22-24

**Oerthel F. & Tuschl S. (1995)** *Statistische Datenanalyse mit dem Programmpaket SAS.* (Hrsg.: Schlittgen R.), R. Oldenbourg Verlag München, Wien: 1-141

**Ohayon M.M., Guilleminault C., Priest R.G. & Caulet M. (1997)** Snoring and breathing pauses during sleep: telephone interview survey of a United Kingdom population sample. *BMJ* 314: 860-863

**Ohayon M.M., Guilleminault C., Priest R.G., Zulley J. & Smirne S. (2000)** Is sleep-disordered breathing an independent risk factor for hypertension in the general population (13,057 subjects)? *J Psychosom Res* 48: 593-601

**Olsen K.D., Suh K.W. & Staats B.A. (1981)** Surgically correctable causes of sleep apnea syndrome. *Otolaryngol Head Neck Surg* 89: 726-731

**Patel J.C. (1998)** Melatonin. Pineal gland hormone - a brief review. *Indian J Med Sci* 52: 567-568

**Peker Y., Hedner J., Norum J., Kraiczi H. & Carlson J. (2002)** Increased incidence of cardiovascular disease in middle-aged men with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 166: 159-165

**Peter J.H. (1990)** Schlafbezogene Atmungsstörungen: Krankheitsbild, Diagnostik und Therapie. in: Schläfke M.E., Gehlen W., Schäfer T. (Hrsg.) *Schlaf und schlafbezogene Atmungsstörungen aus interdisziplinärer Sicht.* Universitätsverlag Dr. N. Brockmeyer Bochum: 255-265

**Puig-Domingo M., Webb S.M., Serrano J., Peinado M.-A., Corcoy R., Rusalleda J., Reiter R.J. & De Leiva A. (1992)** Brief report: Melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med* 327: 1356-1359

**Raikhlin N.T. & Kvetnoy I.M. (1976)** Melatonin and enterochromaffine cells. *Acta Histochem* 55: 19-25

**Raikhlin N.T., Kvetnoy I.M. & Tolkachev V.N. (1975)** Melatonin may be synthesized in enterochromaffine cells. *Nature* 55: 344-345

**Reiter R.J. (2003)** Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 17: 273-285

**Reppert S.M., Godson C., Mahle C.D., Weaver D.R., Slaughter S.A. & Gusella J.F. (1995)** Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel 1b melatonin receptor. *Proc Natl Acad Sci* 92: 8734-8738

**Reppert S.M. & Weaver D.R. (1995)** Melatonin madness. *Cell* 83: 1059-1062

**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: 1177-1185

**Reppert S.M., Weaver D.R., Rivkees S.A. & Stopa E.G. (1988)** Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science* 24: 78-81

**Resta O., Caratozzolo N., Pannacciulli N., Stefàno A., Giliberti T., Carpagnano G.E. & De Pergola G. (2003)** Gender, age and menopause effects on the prevalence and the characteristics of obstructive sleep apnea on obesity. *Eur J Clin Invest* 33: 1084-1089

**Röjdmarm S., Berg A., Rössner S. & Wetterberg L. (1991)** Nocturnal melatonin secretion in thyroid disease and in obesity. *Clin Endocrinol* 35: 61-65

**Sack R.L., Blood M.L. & Lewy A.J. (1992a)** Melatonin rhythms in night shift workers. *Sleep* 15: 434-441

**Sack R.L., Brandes R.W., Kendall A.R. & Lewy A.J. (2000)** Entrainment of free-running circadian rhythms by melatonin in blind people. *N Engl J Med* 343: 1070-1077

**Sack R.L., Lewy A.J., Blood M.L., Keith D. & Nakagawa H. (1992b)** Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance. *J Clin Endocrinol Metab* 75: 127-134

**Schäfer J., Thalhofer S. & Dorow P. (1996)** *Schnarchen, Schlafapnoe und obere Luftwege.* (Hrsg.:Schäfer J.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York: 10-82

**Shochat T., Haimov I. & Lavie P. (1998)** Melatonin - the key to the gate of sleep. *Ann Med* 30: 109-114

**Shochat T., Luboshitzky R. & Lavie P. (1997)** Nocturnal melatonin onset is phase locked to the primary sleep gate. *Am J Physiol* 273: R 364-370

**Stankov B., Capsoni S., Lucini V., Fauteck J., Gatti S., Gridelli B., Biella G., Cozzi B. & Fraschini F. (1993)** Autoradiographic localization of putative melatonin receptors in the brains of two old world primates: *Cercopithecus aethiops* and *Papio ursinus*. *Neuroscience* 52: 459-468

**Steinberg R., Weeß H.-J. & Landwehr R. (2000)** *Schlafmedizin - Grundlagen und Praxis.* (Hrsg.:Steinberg R.), UNI-MED Verlag AG Bremen: 34-205

**Steindl P., Ferenci P. & Marktl W. (1997)** Impaired hepatic catabolism of melatonin in cirrhosis. *Ann Intern Med* 127: 494

**Stoschitzky K., Sakotnik A., Lercher P. & Zweiker R. (1999)** Influence of beta-blockers on melatonin release. *Eur J Clin Pharmacol* 55: 111-115

**Stradling J.R. & Crosby J.H. (1990)** Relation between systemic hypertension and sleep hypoxaemia or snoring: analysis in 748 men drawn from general practice. *BMJ* 300: 75-78

**Sullivan C.E., Issa F.G., Berthon-Jones M. & Eves L. (1981)** Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares. *Lancet* 1: 862-865

**Tamarkin L., Danforth D., Lichter A., DeMoos E., Cohen M., Chabner B. & Lippman M. (1982)** Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science* 216: 1003-1005

**Terzolo M., Piovesan A., Osella G., Torta M., Buniva T., Paccotti P., Wierdis T. & Angeli A. (1991)** Exogenous melatonin enhances the TRH-induced prolactin release in normally cycling women: a sex-specific effect. *Gynecol Endocrinol* 5: 83-94

**Tosini G. (2000)** Melatonin circadian rhythm in the retina of mammals. *Chronobiol Int* 17: 599-612

**Trampisch H.J., Windeler J., Ehle B. & Lange S. (1997)** *Medizinische Statistik.* (Hrsg.:Windeler J.), Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 238-243

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

**Tzischinsky O., Shlitner A. & Lavie P. (1993)** The association between the nocturnal sleep gate and nocturnal onset of urinary 6-sulfatoxymelatonin. *J Biol Rhythms* 8: 199-209

**Ulfberg J., Micic S. & Strøm J. (1998)** Afternoon serum-melatonin in sleep disordered breathing. *J Intern Med* 244: 163-168

**Utiger R.D. (1992)** Melatonin - the hormone of darkness. *N Engl J Med* 327: 1377-1379

**Vakkuri O. (1985)** Diurnal rhythm of melatonin in human saliva. *Acta Physiol Scand* 124: 409-412

**Vakkuri O., Leppäluoto J. & Kauppila A. (1985)** Oral administration and distribution of melatonin in human serum, saliva and urine. *Life Sci* 37: 489-495

**Vaupel P. (2000)** Funktionen des Magen-Darm-Trakts. in: Schmidt R.F., Thews G., Lang F. (Hrsg.) *Physiologie des Menschen.* Springer Verlag (28.Auflage) Berlin, Heidelberg, New York: 814-815

**Vogel M., Cassel W., Fietze I., Moog R., Penzel T., Ploch T., Peter J.H. & v. Wichert P. (1993)** Maskierungsarme Messung der zirkadianen Kerntemperaturmethodik bei obstruktiver Schlafapnoe. *Pneumologie* 47: 175-177

**Voordouw B.C.G., Euser R., Verdonk R.E.R., Alberda B.T., De Jong F.H., Drogendijk A.C., Fauser B.C.J.M. & Cohen M. (1992)** Melatonin and Melatonin-Progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 74: 108-117

**Voultsios A., Kennaway D. & Dawson D. (1997)** Salivary melatonin as a circadian phase marker: validation and comparison to plasma melatonin. *J Biol Rhythms* 12: 457-466

**Waldhauser F., Ehrhart B. & Förster E. (1993)** Clinical aspects of the melatonin action: impact of development, aging, and puberty, involvement of melatonin on psychiatric disease and importance of neuroimmunoendocrine interactions. *Experientia* 49: 671-681

**Waldhauser F., Frisch H., Waldhauser M., Weiszenbacher G., Zeitlhuber U. & Wurtman R.J. (1984a)** Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. *Lancet* 18: 363-365

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

**Waldhauser F., Waldhauser M., Lieberman H.R., Deng M.-H., Lynch H.J. & Wurtman R.J. (1984b)** Bioavailability of oral melatonin in humans. *Neuroendocrinology* 39: 307-313

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

**Weaver D.R. & Reppert S.M. (1996)** The Mel 1a melatonin receptor gene is expressed in human suprachiasmatic nuclei. *Neuroreport* 8: 109-112

**Weaver D.R., Stehle J.H., Stopa E.G. & Reppert S.M. (1993)** Melatonin receptors in human hypothalamus and pituitary: implications for circadian and reproductive responses to melatonin. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 295-301

**Wehr T.A. (1991)** The duration of human melatonin secretion and sleep respond to changes in daylength (photoperiod). *J Clin Endocrinol Metab* 73: 1276-1280

**Weiss V., Šonka K., Pretl M., Dostálová S., Klozar J., Rambousek P., Marek J. & Haas T. (2000)** Prevalence of the sleep apnea syndrome in acromegaly population. *J Endocrinol Invest* 23: 515-519

**Wever R.A. (1980)** Der 25 - Stunden - Mensch. *Med Klin* 75: 206-213

**Wikner J., Svanborg E., Wetterberg L. & Röjdmark S. (1997)** Melatonin secretion and excretion in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep* 20: 1002-1007

**Wilhoit S.C. & Suratt P.M. (1987)** Obstructive sleep apnea in premenopausal women. *Chest* 91: 654-658

**Wirz-Justice A., Werth E., Renz C., Müller S. & Kräuchi K. (2002)** No evidence for a phase delay in human circadian rhythms after a single morning melatonin administration. *J Pineal Res* 32: 1-5

**Wirz-Justice A., Wever R.A. & Aschoff J. (1984)** Seasonality in free-running circadian rhythms in man. *Naturwissenschaften* 71: 316-319

**Worsnop C.J., Naughton M.T., Barter C.E., Morgan T.O., Anderson A.I. & Pierce R.J. (1998)** The prevalence of obstructive sleep apnea in hypertensives. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 111-115

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

**Wurtman R.J. & Zhdanova I. (1995)** Improvement of sleep quality by melatonin. *Lancet* 346: 1491

**Yaprak M., Altun A., Vardar A., Aktoz M., Ciftci S. & Ozbay G. (2003)** Decreased nocturnal synthesis of melatonin in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 89: 103-107

**Yonekura A., Kawakatsu K., Suzuki K. & Nishimura T. (2003)** Laser midline glossectomy and lingual tonsillectomy as treatments for sleep apnea syndrome. *Acta Otolaryngol Suppl* 550: 56-58

**Yoshizawa T., Akashiba T., Kurashina K., Otsuka K. & Horie T. (1993)** Genetics and obstructive sleep apnea syndrome: a study of human leukocyte antigen (HLA) typing. *Intern Med* 32: 94-97

**Young I.M., Francis P.L., Leone A.M., Stovell P. & Silman R.E. (1988)** Constant pineal output and increasing body mass account for declining melatonin levels during human growth and sexual maturation. *J Pineal Res* 5: 71-85

**Young J.A., Cook D.I., Lingard J.M., Van Lennep E.W. & Wegman E. (1996)** Funktionen des Magen-Darm-Trakts. in: Klinke R., Silbernagl S. (Hrsg.) *Lehrbuch der Physiologie*. Georg Thieme Verlag (1. Aufl.) Stuttgart, New York: 387-433

**Young T., Palta M., Dempsey J., Skatrud J., Weber S. & Badr S. (1993)** The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med* 328: 1230-1235

**Zeitzer J.M., Dijk D.-J., Kronauer R.E., Brown E.N. & Czeisler C.A. (2000)** Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression. *J Physiol* 526: 695-702

**Zhao Z.-Y., Xie Y., Fu Y.-R., Bogdan A. & Touitou Y. (2002)** Aging and the circadian rhythm of melatonin: a cross-sectional study of chinese subjects 30-110 yr of age. *Chronobiol Int* 19: 1171-1182

**Zhou J.-N., Liu R.-Y., van Heerikhuize J., Hofman M.A. & Swaab D.F. (2003)** Alterations in the circadian rhythm of salivary melatonin begin during middle-age. *J Pineal Res* 34: 11-16

**Zisapel N. (1999)** The use of melatonin for the treatment of insomnia. *Biol Signals Recept* 8: 84-89

**Zulley J. (1996)** Der Einfluß der biologischen Rhythmik auf die Schlaf-Wach-Regulation. *Internist* 37: 463-469

**8. Abkürzungsverzeichnis**

AHI	Apnoe-Hypopnoeindex
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
cAMP	cyclo-Adenosinmonophosphat
DAB	deutsches Arzneibuch
DLMO	dim light melatonin onset
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HLA	humanes Leukozytenantigen
ICSD-R	international classification sleep related disorders
minSaO <sub>2</sub>	minimale Sauerstoffsättigung
ML1-Rezeptor	Melatonin-1-Rezeptor
ML2-Rezeptor	Melatonin-2-Rezeptor
nm	Nanometer
nCPAP	nasal continuous positive airway pressure
OSAS	obstruktives Schlafapnoesyndrom
OSAHS	obstruktives Schlafapnoe-Hypopnoesyndrom
pg	Picogramm
RIA	Radioimmunoassay
SAS	statistical analysis system
SBAS	schlafbezogene Atmungsstörungen
SCN	suprachiasmatic nucleus
SNAT	Serotonin-N-Acetyltransferase
TMB	Tetra-Methyl-Benzidin
UPPP	Uvulopalatopharyngoplastik

## **9. Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald, 05.09.2005

Manuela Muffler

**10. Lebenslauf****Persönliche Daten**

Vorname/Name	Manuela Muffler
Geburtsdatum	25.11.1977
Geburtsort	Überlingen, Baden-Württemberg
Familienstand	ledig
Eltern	Engelbert und Monika Muffler
Geschwister	Christian und Steffen

**Schulbildung**

1984-1988	Grundschule Orsingen-Nenzingen
1988-1994	Nellenburg-Gymnasium Stockach
1994-1997	Constantin-Vanotti-Wirtschafts- gymnasium Überlingen

**Freiwilliges Soziales Jahr**

1997-1998	Pestalozzi Kinder- und Jugenddorf Wahlwies
-----------	---

**Medizinstudium**

seit 1998	Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
06.09.2000	Physikum
17.09.2001	1. Staatsexamen
16.09.2003	2. Staatsexamen
20.04.2005	3. Staatsexamen

**Ärztliche Weiterbildung**

seit 01.07.2005	Assistenzärztin am Hegau-Klini- kum Singen, I. Medizinische Klinik
05.09.2005	Manuela Muffler

## **11. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich allen herzlich danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. habil. W. Hosemann, der mir als Direktor der Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie der Universität Greifswald die Durchführung dieser Studie ermöglicht hat

Herrn Doz. Dr. rer. nat. habil. P. Meyer für die Überlassung des interessanten Themas und für die jederzeit wertvolle fachliche Betreuung und Beratung während der wissenschaftlichen Ausarbeitung

Frau MTA S. Wolter für die stets freundliche Unterstützung bei der Durchführung der biochemischen Analysen

Herrn Dr. rer. nat. B. Jäger vom Institut für Biometrie und Medizinische Informatik der Universität Greifswald für die wertvollen Hinweise bei der statistischen Auswertung