

2011.3388.7

Université de Montréal

**Relation entre la phase circadienne de la mélatonine et
le profil d'exposition à la lumière chez les personnes d'âge moyen**

Par

Anna Kawinska

Département de Sciences Biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise ès Sciences (M.Sc.)
en Sciences Biomédicales

juin, 2005

© Anna Kawinska, 2005



W

4

U58

2006

V. 075

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Relation entre la phase circadienne de la mélatonine et
le profil d'exposition à la lumière chez les personnes d'âge moyen**

présenté par
Anna Kawinska

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Arlette Kolta, Ph.D.

président-rapporteur

Julie Carrier, Ph.D.

directrice de recherche

Roger Godbout, Ph.D.

membre du jury

SOMMAIRE

Les mécanismes qui sous-tendent les changements circadiens reliés à l'âge sont encore incertains. Cette étude avait comme premier but de corroborer une avance de phase des rythmes circadiens au milieu de l'âge adulte avec la mélatonine salivaire. Un second objectif visait à déterminer si cette différence circadienne associée à l'âge était liée aux profils d'exposition à la lumière.

Les données recueillies chez 37 sujets entre 22 et 58 ans (21 femmes, 16 hommes) ont confirmé une association entre l'âge et un début de sécrétion de la mélatonine (DSM) plus hâtif. Bien que l'âge n'ait pu être associé au temps passé à différentes intensités lumineuses, il a été démontré que les sujets plus âgés présentaient un pourcentage de la moyenne d'exposition à la lumière plus élevé le matin ainsi qu'un pourcentage plus faible la nuit. Il semblerait que ce soit l'avance de phase du cycle éveil-sommeil qui entraîne cette différence d'exposition lumineuse associée au vieillissement. Un DSM plus hâtif a été relié à un niveau d'illumination plus élevé le matin et plus bas en fin de soirée/début de la nuit. Il a été, toutefois, mis en évidence que cette relation entre le DSM et le pourcentage de la moyenne d'exposition à la lumière pouvait, en fait, être expliquée par les effets de l'âge sur le DSM.

Cette étude a réaffirmé qu'une avance des rythmes circadiens était apparente déjà au milieu de l'âge adulte. Malgré une claire démonstration d'une avance de phase du profil lumineux habituel avec l'âge, cette dernière n'a pas réussi à expliquer entièrement l'avance de phase du rythme circadien de la mélatonine.

Mots clés: Rythmes circadiens, mélatonine salivaire, lumière, âge moyen, vieillissement, cycle éveil-sommeil, actigraphie

SUMMARY

The mechanisms underlying circadian changes in aging have yet to be determined. The aim of this study was first, to corroborate a phase advance of circadian rhythms in middle-aged subjects using salivary melatonin. Second, we sought to determine if this circadian phase difference associated with aging could be related to different patterns of habitual light exposure.

Collected data in 37 subject between the ages of 22 and 58 (21 women, 18 men) confirmed an association between aging and earlier dim light melatonin onset (DLMO). Increasing age was not related to the time spent at different light intensities. However, it was associated with lower percentage of the mean light exposure early during the night and with higher percentage of light exposure in the morning. Earlier habitual wake time seemed to explain the earlier light exposure patterns of older subjects. Earlier DLMO was associated with higher percentage of the mean light exposure in the morning and with lower percentage of light exposure in the late evening/early night. It has been, however, shown that age accounted for the relationship between DLMO and relative light exposure.

This study reaffirmed that a phase advance in the output of the circadian timing system appears during the middle years of life. Whereas a clear phase advance of habitual light exposure patterns was associated with aging, it did not explain entirely the phase advance of melatonin circadian rhythm.

Keywords: Circadian rhythms, salivary melatonin, light, middle-age, aging, sleep-wake cycle, actigraphy.

TABLE DES MATIÈRES

Page d'identification du jury.....	ii
Sommaire.....	iii
Summary.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations.....	xi
Remerciements.....	xii
<u>Introduction générale</u>	1
Rythmes biologiques.....	2
Lumière, agent synchroniseur principal.....	6
Marqueurs circadiens et la mélatonine.....	10
Mesurer les marqueurs circadiens en minimisant les effets masquants.....	14
Mécanismes de régulation du cycle éveil-sommeil.....	15
Transformations circadiennes accompagnant le vieillissement.....	17
Objectifs.....	21
Hypothèses.....	21
<u>Méthodologie/Résultats—Article</u>	22

<u>Discussion générale</u>	61
Relation entre l'âge et la phase circadienne de l'horloge biologique	63
-Avance de phase de l'horloge biologique dès le milieu de l'âge adulte.....	63
-Relation entre la saisonnalité et les rythmes biologiques: facteur confondant?.....	64
Relation entre l'âge et l'exposition à la lumière	66
-Absence d'association entre le vieillissement et le temps moyen passé à différentes intensités lumineuses.....	66
-Association entre l'âge et l'exposition habituelle à la lumière.....	67
-Explication de la relation entre l'âge et le profil d'exposition à la lumière par l'heure de lever habituelle.....	68
Relation entre l'âge, la phase circadienne et l'exposition à la lumière ...69	
-Explication de la relation entre la phase circadienne et le profil d'exposition à la lumière par l'âge.....	69
-Absence d'explication de l'avance de phase circadienne par le profil d'exposition à la lumière.....	71
<u>Conclusion générale</u>	78
 Bibliographie.....	80
 Annexes.....	104
-Resultats supplémentaires non présentés dans l'article.....	105

-Description de l'apport de chacun des coauteurs.....	106
-Accord des coauteurs.....	107
-Permission de l'éditeur d'une revue.....	108

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Paramètres circadiens et provenant des agendas de sommeil pour les sujets jeunes et d'âge moyen.....	54
Tableau 2 Temps (moyenne et erreur-type) en minutes passé à différentes intensités lumineuses par les sujets jeunes et d'âge moyen.....	55
Tableau 3 Corrélations de Pearson entre l'exposition relative à la lumière à chaque heure et l'âge, le début de sécrétion de mélatonine, l'heure de lever.....	56
Tableau 4 Paramètres circadiens supplémentaires pour les sujets jeunes et d'âge moyen.....	105

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 Association entre le début de sécrétion de la mélatonine salivaire et l'âge (n=37).....57
- Figure 2 Concentration de mélatonine salivaire (moyenne et erreur-type) à chaque demi-heure pour les sujets jeunes (rond plein; n=16) et d'âge moyen (rond vide; n=21). Les carrés représentent le début de sécrétion de la mélatonine pour les sujets jeunes (carré plein) et d'âge moyen (carré vide)58
- Figure 3 Profils habituels de l'exposition relative (moyenne et erreur-type) à la lumière pour les sujets jeunes (rond plein; n=15) et d'âge moyen (rond vide; n=18). Les rectangles indiquent l'horaire de l'épisode habituel de sommeil pour les sujets jeunes (rectangle plein) et d'âge moyen (rectangle vide). Les carrés représentent le début de sécrétion de la mélatonine pour les sujets jeunes (carré plein) et d'âge moyen (carré vide). Les asteriks (*) identifient les corrélations significatives entre l'âge et l'exposition relative à la lumière. Les croix (+) identifient les corrélations significatives entre le début de sécrétion

de la mélatonine et l'exposition relative à la lumière. Les corrélations avec l'âge et le début de sécrétion de la mélatonine ont été effectuées à chaque heure.....59

Figure 4 Profils habituels de l'exposition relative (moyenne et erreur-type) à la lumière ajustés à l'heure de lever pour les sujets jeunes (rond plein; n=15) et d'âge moyen (rond vide; n=18)60

LISTES DES ABRIVIATIONS

Français :

CRP : courbe de réponse de phase

DSM : début de sécrétion de la mélatonine

NPV : noyaux paraventriculaires

NSC : noyaux suprachiasmatiques

Anglais :

DLMO : dim light melatonin onset

ECP: endogenous circadian pacemaker

PCR : phase-response curve

REMERCIEMENTS

Il y a maintenant 4 ans que je me suis incrustée, comme je le dis souvent, au Centre d'étude du sommeil de l'hôpital du Sacré-Cœur. Après 2 stages de recherche d'été, mon travail comme assistante de recherche à temps partiel et maintenant à la veille du dépôt de mon mémoire, je ne peux que réaffirmer mon sentiment d'immense joie et de fierté d'avoir fait partie de cette grande et merveilleuse équipe. Par les quelques modestes lignes qui vont suivre, je tenais à faire part de mon infinie gratitude envers toutes les personnes que j'y ai côtoyées et qui m'ont permis de vivre non seulement une incroyable aventure dans le monde de la recherche, mais aussi une expérience de vie hautement riche au niveau personnel.

Je ne vois pas comment je pourrais commencer autrement que par remercier du plus profond de mon cœur l'initiatrice de tout, mon mentor, mon modèle: Julie Carrier, ma directrice de recherche. Julie, je te dirais un million de fois merci que ce ne serait pas assez! Tout d'abord, merci de m'avoir fait découvrir la recherche, la vraie, celle qui passionne et qui donne mais aussi celle qui embrouille et qui exige. Merci pour ton ouverture et ta confiance, dès mon premier stage tu m'as permis de voler de mes propres ailes tout en me guidant et freinant quelques fois mes envols démesurés (je tiens tout de même à préciser que les effets différentiels de la caféine sur l'activité motrice lors du sommeil telle que mesurée par l'Actiwatch chez des sujets jeunes et d'âge moyen, ça pourrait être intéressant). Ta supervision tout au long de ma

formation en recherche aura été pour moi une source de motivation et de désir de dépassement de soi indéfinissable. Merci de m'avoir toujours fait sentir que j'apportais quelque chose, que je contribuais significativement. Merci pour ton écoute, ta sincérité, ta droiture (j'aimerais rajouter un etc... à cette liste; est-ce que je peux dans cette section du mémoire?) J'espère que tu ne m'en voudras pas trop d'avoir décidé d'aller me chercher un parachute avant de me lancer dans le vide du domaine de la recherche. Sache, cependant, que tu étais à un fil de me convaincre de l'existence de ce filet dont nous avons si ardemment discuté. J'espère qu'on sera amené un jour à résoudre ensemble, encore, d'autres Triangles des Bermudes.

Je voudrais, aussi, exprimer ma plus sincère gratitude à Marie Dumont dont la co-supervision lors de mon deuxième stage a été une source d'inspiration et une expérience marquante dans ma formation en recherche. Marie, je ne saurais trouver assez de mots afin de te transmettre ma reconnaissance. Tout au long de ces 4 dernières années, ton aide si précieuse et tes conseils si judicieux auront réussi plus d'une fois à me sortir de l'embarras (et même à me faire gagner un prix !) Merci d'avoir toujours pris le temps.

Je tiens à remercier, sincèrement, tous ceux avec qui j'ai partagé mon quotidien au Centre d'étude du sommeil et qui m'ont permis d'évoluer dans un environnement tout aussi enrichissant qu'agréable. Un merci spécial à Jean Paquet qui m'a tant aidé et appris sur les statistiques, dès mes débuts

en recherche. Je voudrais, également, remercier plus particulièrement Sonia qui m'a chaleureusement accueillie et formée lors de mon arrivée au laboratoire et dont l'amitié, le support ainsi que les encouragements m'ont été très précieux, à chaque étape de ma formation. Merci, aussi, à toi Hélène pour ton amitié; nos débats idéologiques, à l'été 2004, m'ont grandement aidée à digérer mes nombreux recommencements d'analyses. Merci, aussi, à toi Caroline pour tous ces rires partagés et toutes ces longues discussions animées. Ton écoute et tes attentions ont grandement été appréciées. Je remercie tous les autres étudiants : Amélie, Catherine B, Evelyne, Geneviève, Jessica, Marie-Hélène, Marta, Nadia, Rébecca, Shirley, Isabelle, Valérie D, Valérie M, qui chacun à leur façon, à un certain moment, m'ont inspirée, supportée, encouragée ou aidée.

Le cheminement académique et personnel que j'ai réalisé aurait été impossible sans la présence constante et l'amour inconditionnel de mes parents. Pap., Mom. merci d'avoir toujours cru en moi, même lorsque moi-même je doutais. Merci, aussi, de m'avoir fait réaliser qu'on peut toujours plus qu'on ne croit pouvoir. Je sais que je ne pourrais jamais assez vous remercier pour tout ce que vous m'apportez, mais je vais tout de même continuer à le faire !

Je voudrais également remercier très spécialement ma dudette préférée, ma meilleure amie, ma confidente, ma sœur, alias Bach. Magdalena, tu as été la génératrice d'énergie et l'origine de la motivation qui

m'ont permis d'atteindre des objectifs académiques et personnels insoupçonnés. Ta belle personnalité, ta détermination et ton émerveillement font de toi un modèle pour ta grande sœur où elle puise quotidiennement son inspiration.

Un merci tout à fait exceptionnel à l'amour de ma vie (SOEEE), Hugo dont le soutien m'a été inestimable, durant ces cinq dernières années. Hugo, merci pour tous tes « lâche pas la patate », tes petites attentions et pensées, tu ne peux imaginer à quel point c'est apprécié. Ta présence a toujours été pour moi un remède, dans des situations de panique, de stress ou de découragement. Merci pour ton amour, ta compréhension, ton écoute et ton sens de l'humour; ils ont grandement contribué à la réalisation de ce travail. Réjouis-toi, Hugo, suivant la fin de ma maîtrise, je vais sûrement cesser de te parler de la synchronisation de ton horloge biologique et de la chronobiologie... du moins, pendant un certain temps ! Scoubidou !

Un chaleureux merci à vous tous amies et amis pour votre amitié exemplaire, votre compréhension, votre patience (y'a-t-il quelque chose de planifié en fin de semaine? JE PEUX Y ETRE!!) et vos nombreux encouragements.

Je tiens aussi à remercier les Instituts de Recherche en Santé du Canada et les Fonds de la Recherche en Santé du Québec pour leur soutien financier.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'entretien d'une relation adéquate entre l'horloge biologique, le système homéostatique et les synchroniseurs externes, tel le cycle lumière-obscurité, est crucial pour la survie (Daily et al., 1996; DeCoursey et al., 2000; Pittendrigh 1993). En effet, cette coordination rend possible le maintien des activités physiologiques et comportementales optimales en permettant une survenue synchrone des fonctions reliées au sommeil la nuit et de celles associées à l'éveil le jour (Wright et al., 2001) ou inversement selon le caractère diurne ou nocturne des êtres vivants. Le texte qui suit traitera des éléments (mentionnés ci-dessus) qui prennent part à cette synchronisation et des notions fondamentales à la base de cette dernière. Il est incontestable que le vieillissement entraîne plusieurs transformations circadiennes et ce à différents niveaux. Cependant, les mécanismes qui sous-tendent ces changements restent encore obscurs pour la plupart. À ce sujet, plusieurs hypothèses concernant les modifications de l'horloge biologique, du système homéostatique, des synchroniseurs externes ainsi que de leur interaction ont été proposées. Bien qu'une revue de ces hypothèses sera présentée, l'étude dont il sera ici question s'est attardée plus particulièrement à l'une d'entre elle.

Rythmes biologiques

« That period of twenty-four hours formed by the regular revolution of our earth, in which all its inhabitants partake, is particularly distinguished in the physical economy of man. This regular period is apparent in all diseases: and all the other small periods, so wonderful in our physical history, are by it reality determined. It is, as it were, the unity of our natural chronology. »

---Hufeland, 1797---

Les oscillations biologiques font partie intégrale d'un éventail large d'organismes vivants englobant autant l'humain que les entités unicellulaires (Edmunds 1988). En fait, tout ce qui vit alterne. Il suffit de se référer aux variations cycliques de phénomènes tels que la vie allant de la naissance à la mort, les états de repos et d'activité, les saisons, les phases de la lune, le jour et la nuit, afin de constater concrètement l'omniprésence de cette réalité. La rythmicité est une des propriétés fondamentales de la vie.

Plusieurs paramètres descriptifs caractérisent un rythme biologique. En fait, tout événement récurrent peut être décrit comme un processus circulaire partant d'un point d'origine (Shanahan & Czeisler 2000). Par conséquent, la période se définit comme le temps nécessaire afin d'en compléter une révolution complète. Il est question de la phase d'un rythme lorsqu'on fait référence à un moment précis du cycle par exemple l'acrophase (moment du maximum) ou la bathyphase (moment du minimum). La relation temporelle qu'entretiennent les phases de deux rythmes se nomme angle de phase. L'amplitude correspond, quant à elle, à la demi-distance entre l'acrophase et la bathyphase d'un processus rythmique.

On peut différencier les rythmes biologiques selon leur période respective. Ainsi, les oscillations d'environ 24 heures sont appelées circadiennes (du latin « circa » voulant dire environ et « dies » se traduisant par un jour). Bien qu'il existe plusieurs autres variations cycliques avec des périodes différentes telles que plus courte que 24 heures (ultradien),

supérieure à 24 heures (infradien), d'environ un an (circannuel) et d'à peu près une semaine (circaseptan), se seront les premières dont il a été question qui susciteront davantage d'élaboration dans le texte qui suit.

Il est maintenant depuis longtemps reconnu que les rythmes circadiens sont endogènes c'est-à-dire qu'ils prennent naissance à l'intérieur de l'organisme sous l'influence de causes intrinsèques. Plus précisément, afin d'être considéré comme endogène, un rythme circadien doit satisfaire à certains critères : 1) persister en l'absence d'influences périodiques externes, 2) garder une rythmicité près de 24 heures malgré l'adoption d'une période différente par l'environnement, 3) changer sa phase lentement suite à un changement abrupt dans l'environnement, 4) ne pas restaurer immédiatement une nouvelle phase ou période résultant d'un entraînement 5) s'écarter quelque peu d'une période de 24 heures lorsque les synchroniseurs sont inexistantes (Conroy et al., 1970). L'humain démontre plusieurs fonctions biologiques répondant aux critères énumérés. Effectivement, la température corporelle, le cycle éveil-sommeil, la concentration de plusieurs hormones dont la mélatonine et le cortisol, la vigilance figurent parmi les oscillations circadiennes endogènes présentées par l'humain (Minors & Waterhouse 1991a; Weitzman et al., 1978; Dijk et al., 1992; Lavie et al., 2001)

Les noyaux suprachiasmatiques (NSC) sont deux petits noyaux situés dans la partie inférieure de l'hypothalamus, juste au-dessus du chiasma

optique et séparés par le troisième ventricule (Van Someren et al., 2002). En 1972, ils ont été identifiés comme le site de l'horloge biologique chez les mammifères (Moore & Eichler 1972; Stephan & Zucker 1972). L'ablation ou la lésion des NSC entraînait une perte des rythmes circadiens tels que celui de l'activité locomotrice, du comportement d'approvisionnement en eau et d'hormones, ce qui a permis aux premières études de relier ces structures à leur rôle de générateur circadien (Moore & Eichler 1972; Stephan & Zucker 1972). D'autres études ont démontré que suite à une isolation chirurgicale de tissus hypothalamiques contenant les NSC, des rats aveugles ne montraient plus aucune rythmicité circadienne cérébrale à l'exception de l'îlot isolé dont l'oscillation circadienne persistait (Inouye & Kawamura 1979). Il a aussi été rapporté qu'une stimulation électrique des NSC entraînait un changement de phase et de période (Rusak & Groos 1982). Finalement, il a été montré qu'une transplantation de NSC à un hôte arythmique rétablissait les rythmes circadiens (voir revue Ralph & Lehman 1991). Suite à ces nombreuses études, il est aujourd'hui reconnu que les NSC abritent l'horloge biologique qui constitue la principale source des rythmes endogènes. L'existence d'une structure équivalente jouant un rôle homologue est reconnue chez l'être humain (Lydic et al., 1980; Hofman et al., 1988).

Afin de synchroniser les rythmes circadiens intrinsèques avec le jour solaire terrestre de 24 heures, l'horloge biologique compare et intègre continuellement l'information interne et celle fournie par les synchroniseurs externes. Sans stimuli de l'environnement, l'horloge circadienne génère chez

l'humain un signal oscillatoire en moyenne un peu plus long que 24 heures (Czeisler et al., 1999a; Wright et al., 2001), révélant ainsi son rôle de stimulateur endogène dont il a été discuté un peu plus tôt. Dans cette condition, on dit que les fonctions biologiques se conformant à cette cadence sont en libre-cours. Le cycle lumière-obscurité semble être le *zeitgeber* (de l'allemand donneur de temps) ou facteur synchroniseur externe principal (Duffy et al., 1996; Czeisler et al., 1999b). Il semblerait néanmoins que d'autres facteurs, tels l'activité, le cycle éveil-sommeil en soi ainsi que les interactions sociales contribuent modérément, mais significativement à l'entraînement des rythmes circadiens de l'être humain (Van Reeth et al., 1994; Klerman et al., 1998; Burgess & Eastman 2004; Emens et al., 2005). Cette synergie entre le système circadien endogène et le monde extérieur permet non seulement une coordination optimale des processus physiologiques et comportementaux, mais habilite aussi l'organisme à l'anticipation des variations cycliques de l'environnement (Shanahan & Czeisler 2000).

Lumière, agent synchroniseur principal

L'effet synchroniseur du cycle lumière-obscurité est possible grâce à des circuits de connections neuroanatomiques et des facteurs neurochimiques dont le fonctionnement complexe n'est pas entièrement compris à l'heure actuelle. L'existence d'un système de perception de la

lumière dédié spécifiquement à l'entraînement circadien est cependant reconnue.

Afin d'amener l'information lumineuse essentielle à la synchronisation jusqu'à l'horloge biologique des NSC, la lumière doit passer par la rétine. Bien que les photorécepteurs classiques que sont les cônes et les bâtonnets soient nécessaires pour une perception consciente de la lumière, ils ne semblent pas totalement indispensables pour diverses réponses à la lumière (Lucas et al., 2001; Skene et al., 1999). L'existence de photorécepteurs intrinsèquement sensibles à la lumière a récemment été mise en évidence (Provencio et al., 2000; Rollag et al., 2003; Hattar et al., 2002). Il s'agit de cellules ganglionnaires rétiniennes possédant un pigment photosensible: la mélanopsine. Ces photorécepteurs réagissent rapidement et de façon contrastée à la lumière et seraient capables d'accumuler l'information lumineuse sur une longue période de temps. De plus, il a été démontré que les cellules ganglionnaires en question projettent directement aux NSC et feuillet intergénéculé (Hattar et al., 2002; Gooley et al., 2001). La voie retino-hypothalamique constitue la voie principale permettant le transport de l'information photonique via des projections directes entre la rétine et les NSC (Moore 1972; Moore 1996; Dai et al., 1998). Bien que la voie rétino-généculohypothalamique forme une voie indirecte entre la rétine et les NSC en ayant comme relais le feuillet intergénéculé du thalamus, elle semble aussi participer à la synchronisation par la lumière (Meijer & Rietveld 1989; Moore 1996). Néanmoins, l'existence de cette voie secondaire n'est pas certaine chez l'humain (Van Someren et al., 2002). D'autres voies indirectes, entre

autres faisant connections avec les voies visuelles classiques, peuvent également transférer de l'information lumineuse. Il faut noter que les études animales ont bien mis en évidence le caractère spécialisé des cellules ganglionnaires photosensibles et de la voie rétinohypothalamique pour la synchronisation lumineuse, mais elles ont aussi apporté des évidences supportant le rôle complémentaire non négligeable des voies secondaires.

Chez l'humain, l'effet synchroniseur de la lumière dépend de la durée, de l'intensité et du moment de son exposition (Czeisler et al., 1999b). La courbe de réponse de phase (CRP) illustre l'importance du moment de l'illumination. En fait, cette dernière représente le changement de phase observé en fonction du moment circadien de l'application du stimulus lumineux. Chez des sujets normalement synchronisés, une exposition lumineuse en fin de nuit produit une avance de phase de l'horloge biologique et de tous les rythmes qu'elle entraîne, tandis qu'une exposition à la lumière en début de nuit résulte en un délai de phase (Minors et al., 1991b; Czeisler et al., 1989). Les plus grands changements de phase sont observés lorsque l'exposition lumineuse se produit à proximité d'une zone critique située environ deux heures avant l'heure habituelle de lever. Plus précisément, une illumination juste avant ou juste après le minimum du rythme circadien de la température (il sera question de ce marqueur circadien dans la prochaine section) engendre, respectivement, les délais ou avances de phase les plus importants (Minors et al., 1991b; Czeisler et al., 1989; Jewett et al., 1994). D'un autre côté, il est généralement admis, que la lumière durant le jour a

peu ou pas d'effet sur la phase circadienne. Certaines études sembleraient cependant démontrer que l'horloge circadienne de l'humain soit sensible à la lumière pendant toute la journée (Jewett et al., 1997; Hashimoto et al., 1997; Khalsa et al., 2003). Par conséquent, il a été suggéré qu'il soit possible de changer la phase de l'oscillateur circadien humain non seulement durant la nuit, mais également le matin ou en soirée (Czeisler et al., 2000). Ce sont donc ces différences quant aux effets de la lumière en fonction du moment de l'administration qui permettent la synchronisation.

Il était anciennement reconnu que seules de grandes intensités lumineuses (5000 lux et plus) pouvaient entraîner des changements de phase. Il a été depuis rapporté que des niveaux d'illumination domestique aussi bas que 150-500 lux pouvaient aussi entraîner de tels effets (Boivin et al., 1996; Waterhouse et al., 1998). Il faut cependant noter que les études ayant réalisé cette démonstration ont maintenu les sujets durant leur période d'éveil, soit en lumière tamisée (10-15 lux) à l'exception de l'exposition lumineuse qui se faisait près du minimum de température corporelle (Boivin et al., 1996) ou encore à une luminosité constante de 150-500 lux (Waterhouse et al., 1998). En milieu naturel où il n'est pas exceptionnel d'être exposé à des illuminations de plus de 1000 lux, l'influence des niveaux d'illumination domestique doit être explorée davantage. Il a également été démontré que la lumière induisait des ajustements circadiens en entretenant une relation de type dose-réponse que ce soit pour l'intensité (Boivin et al., 1996) ou la durée de son administration (Czeisler et al., 2000). Ainsi un

niveau supérieur de lumière et une exposition plus longue engendrent un effet plus marqué. Une quantité de plus en plus élevée d'évidences semblent confirmer que le système circadien possède une sensibilité plus grande à une lumière de courte longueur d'onde. Effectivement, bien que le spectre de la lumière blanche, utilisée dans la plupart des protocoles, engendre sans contredit des effets chronobiologiques, il a été établi que des longueurs d'ondes d'environ 425-475 nm (violet-bleu-vert) (Brainard et al., 2001; Thapan et al., 2001) pour la suppression de mélatonine ainsi que de 470-525 nm (bleu-vert) pour un changement de phase seraient significativement plus efficaces (Wright et al., 2004).

Marqueurs circadiens et la mélatonine

Puisqu'il est impossible de prendre des mesures directes de l'horloge biologique humaine, des rythmes circadiens robustes tels que celui de la mélatonine ou celui de la température corporelle sont utilisés comme marqueurs de son activité. Chez un jeune adulte en santé, la température corporelle atteint son minimum vers la fin de la nuit et présente son maximum en soirée. Le début de la sécrétion de la mélatonine se produit quant à elle quelques heures avant l'heure habituelle du coucher et son déclin commence dans les heures qui précèdent le réveil. (Shanahan & Czeisler 1991; Van Cauter & Turek 1995). D'un point de vue descriptif, le rythme circadien de la mélatonine entretient une relation inverse avec celui de la température

corporelle puisque l'acrophase de l'un avoisine la bathyphase de l'autre et inversement.

La mélatonine (N-acétyl-5-méthoxytryptamine), composé indolique, fut découverte il y a environ 45 ans (Lerner et al., 1959). Depuis quelques années, elle connaît une hausse fulgurante de popularité motivée par ses dites propriétés anti-veillissantes (Turek et al., 2000). Dans le texte suivant, il sera néanmoins principalement question de son rôle dans la rythmicité circadienne.

La mélatonine est une hormone dérivée de la sérotonine qui est sécrétée et synthétisée par la glande pinéale (Myers & Badia 1995). Tel que déjà mentionné, la sécrétion de la mélatonine est contrôlée par l'horloge biologique. La voie neuronale entre les NSC et la glande pinéale passe en premier par les noyaux paraventriculaires (NPV). Ensuite, les efférences des NPV aboutissent dans la moelle épinière d'où des fibres adrénériques préganglionnaires projettent au ganglion cervical supérieur. Finalement, les fibres adrénériques postganglionnaires provenant du ganglion cervical supérieur atteignent la glande pinéale et y relâchent de la noradrénaline (Cagnacci et al., 1992). Une stimulation noradrénérique des pinéalocytes initie une séquence de processus moléculaires entraînant la synthèse de la mélatonine (Macchi & Bruce 2004). Son inhibition diurne résulte d'un signal GABAergique envoyé aux NPV par les NSC lorsque stimulés par la lumière (Kalsbeek et al., 2000). Conséquemment, lorsque présente, la lumière

entraîne la suppression de la mélatonine (Lewy et al., 1980) et c'est ainsi qu'elle exerce concrètement son rôle comme synchroniseur, abordé un peu plus tôt. Durant la période nocturne, non seulement le retrait de l'inhibition GABAergique, mais aussi, selon certains auteurs, une stimulation glutamatergique des NPV permettraient la sécrétion de mélatonine (Perreault-Lenz et al., 2004). Cette hormone est, donc, souvent considérée comme un signal associé à la noirceur puisqu'elle ne peut être synthétisée que lorsque l'effet inhibiteur de la lumière est levé (Wurtman et al., 1963). Dans cet ordre d'idées, la CRP de la mélatonine se trouve à être très semblable à celle d'un stimulus de noirceur (Boulos & Rusak 1982) et en image miroir avec celle de la lumière. Ainsi, chez des sujets normalement synchronisés une administration matinale de mélatonine produit un délai de phase, tandis qu'une administration vespérale résulte en avance de phase (Lewy et al., 1992; Lewy et al., 1998; Zaidan et al., 1994).

En plus des connexions entre les NSC et la glande pinéale (Klein et al., 1991), ces structures possèdent des récepteurs à la mélatonine en grande densité suggérant par le fait même une possibilité de rétroaction (Weaver et al., 1993). Des récepteurs à la mélatonine, mais en densité inférieure sont aussi présents dans plusieurs autres sites tels que le cortex (Stankov et al., 1991) les intestins (Pontoire et al., 1993) et la rétine (Dubocovich & Takahashi 2005). De plus, il est reconnu que la mélatonine est hautement liposoluble et peut pénétrer facilement à l'intérieur d'une

cellule (Reiter 1991a) où elle peut exercer une variété d'effets (Reiter 1991b, Reiter 1995). Ainsi, la mélatonine pourrait potentiellement influencer chaque événement intracellulaire dans chaque cellule du corps (Reiter 1995). Les effets synchroniseurs de la mélatonine sur la rythmicité circadienne ne sont donc pas surprenants. Si l'horloge circadienne des NSC est le principal générateur des rythmes, la glande pinéale constitue quant à elle la communicatrice par excellence du signal temporel au reste du corps via la mélatonine (Myers & Badia 1995).

Comme la mélatonine est produite majoritairement la nuit, elle est souvent associée au sommeil (Arendt 2003). Bien que son rôle comme chronobiotique fasse l'unanimité, il en est autrement pour ses attributs hypnotiques. En effet, il a été démontré que des individus dépourvus de mélatonine pouvaient, tout de même, dormir normalement (Wehr et al., 2001a). De plus, la production de mélatonine ne semble pas corrélée à la qualité du sommeil chez des sujets âgés (Youngstedt et al., 1998). D'un autre côté, plusieurs études ont prouvé que l'administration de mélatonine affecte le sommeil et la thermorégulation (Cajochen et al., 2003b). Il faut cependant se rappeler que les mesures de mélatonine circulante faites chez l'humain donnent une bonne représentation de l'activité de l'oscillateur endogène, mais ne permettent pas de connaître la quantité absolue produite par la glande pinéale ni celle atteignant les NSC.

Mesurer les marqueurs circadiens en minimisant les effets masquants

On appelle facteur masquant, une influence extérieure confondante qui empêche une estimation précise du signal provenant de l'horloge biologique via des marqueurs circadiens. Que ce soit en milieu naturel ou en conditions de laboratoire non contrôlées, il est difficile d'isoler la composante endogène des marqueurs circadiens des stimuli exogènes provenant de l'environnement ou du comportement du sujet étudié. Par exemple, un changement de la posture couchée à debout entraîne une augmentation de la concentration de la mélatonine (Deacon & Arendt 1994), le sommeil fait diminuer la température corporelle (Barett 1993) et la lumière peut supprimer la mélatonine (Lewy et al., 1980). Il ne s'agit que de quelques exemples parmi une multitude de facteurs tels que l'activité physique, l'ingestion alimentaire, la température ambiante, le stress qui font en sorte que les marqueurs circadiens mesurés dans des situations non encadrées ne peuvent être considérés comme une représentation exacte de l'oscillation endogène (Haskell et al., 1981; Buxton et al., 1997; Monteleone et al., 1992; Collins et al., 1995)

La routine constante constitue la méthode de référence utilisée afin de minimiser les effets masquants (Mills et al., 1978; Czeisler et al., 1985). Il s'agit d'un protocole pendant lequel le comportement et l'environnement du sujet sont contrôlés. En résumé, un niveau constant d'activité dans une position semi-assise et en état d'éveil est maintenu avec un apport

alimentaire étalé uniformément dans le temps en portions équivalentes et une continue basse luminosité (environ 15-25 lux). La routine constante ne prétend pas éliminer complètement tous les facteurs masquants tel que rapporté par certains auteurs, mais elle constitue néanmoins la méthode de référence actuelle permettant de les diminuer assez afin d'avoir une bonne estimation de la composante endogène (Minors & Waterhouse 1992; Duffy & Dijk 2002a). Les effets masquants peuvent aussi être minimisés par l'application de modèles mathématiques (Minors & Waterhouse 1989; Folkard et al., 1991; Carrier et Monk 1997b), cependant, à l'heure actuelle, cette technique comporte des problèmes méthodologiques et elle est moins souvent utilisée. À la lumière des avantages que procure la routine constante ainsi que de l'importance du contrôle des facteurs masquants lors de l'estimation du signal de l'horloge biologique, l'étude dont il sera question dans le présent mémoire utilisera cette méthodologie.

Mécanismes de régulation du cycle éveil-sommeil

L'alternance des états de veille et de sommeil constitue probablement le rythme circadien le plus évident chez l'humain. En fait, celui-ci est modulé par deux processus en continue interaction : le processus C (circadien) et le processus S (homéostatique) (Borbely 1982). Le premier est produit par l'oscillation de l'horloge biologique, déjà abordé précédemment, qui confère au cycle éveil-sommeil son profil de 24 heures. Ainsi, les sujets peuvent facilement initier et maintenir le sommeil lorsque l'horloge envoie un signal de

sommeil, tandis qu'ils ont de la difficulté à s'endormir et rester endormis lorsque celle-ci transmet un signal d'éveil. Chez des individus normalement synchronisés, la propension circadienne au sommeil commence à augmenter en fin de soirée et atteint son maximum aux petites heures du matin près de l'heure habituelle du lever. Inversement, la propension circadienne à l'éveil augmente durant le jour et présente son maximum quelques heures avant le coucher (Czeisler et al., 1980; Dijk & Duffy 1999; Cajochen et al., 2003a). Le deuxième processus dont il a été question augmente avec l'accumulation de la durée de l'éveil et diminue avec le nombre d'heures de sommeil. Il détermine ainsi la propension au sommeil selon le temps d'éveil.

L'interaction entre le processus C et S permet non seulement l'initiation des périodes de sommeil et d'éveil, mais aussi leur consolidation et leur maintien respectif. En effet, dans la première partie de la journée, la pression homéostatique est faible puisque le temps écoulé depuis l'éveil est court ainsi la vigilance reste élevée. Vers la fin de la deuxième partie de la journée, la haute pression homéostatique accumulée devrait causer un déclin rapide de la vigilance, cependant, la coïncidence d'une forte propension circadienne à l'éveil à ce moment permet de maintenir un épisode d'éveil d'environ 16 heures. Inversement, durant la première partie de la nuit, la pression homéostatique est élevée puisque le temps écoulé depuis le début du sommeil est court ainsi la propension au sommeil est grande. Au cours de la nuit, la diminution de la pression homéostatique est accompagnée d'une augmentation de la propension au sommeil circadienne ce qui permet le

maintient d'un épisode de sommeil consolidé d'environ 8 heures (Dijk & Czeisler 1994).

Transformations circadiennes accompagnant le vieillissement

L'atténuation du signal provenant de l'horloge biologique telle qu'interprétée par la diminution de l'amplitude de plusieurs rythmes biologiques fait partie des changements circadiens caractéristiques accompagnant le vieillissement. Effectivement, plusieurs études ont démontré une réduction de la concentration de mélatonine (Ferrari et al., 2000; Sack et al., 1986; Van Coevorden et al., 1991) et de celle du cortisol (Van Cauter et al., 1996) ainsi que de la vigilance subjective (Monk et al., 1996) et de la température corporelle (Weitzman et al., 1982 ; Vitiello et al., 1986 ; revue dans Dijk & Czeisler 1995) pour n'en nommer que quelques exemples. En 1999, cette caractéristique acquise du vieillissement a été remise en question par Zeitzer et collaborateurs qui n'ont trouvé aucune différence d'amplitude du rythme circadien de la mélatonine entre des sujets jeunes et des sujets âgés. Cette dernière étude a cependant été réalisée avec un groupe d'individus âgés dont la santé physique ainsi que psychologique se situaient nettement au-dessus de la moyenne normale. Une absence de modification du rythme circadien de la mélatonine est peut-être possible dans une population âgée restreinte possédant une « supra-santé », mais une telle réalité reste encore à être prouvée dans la population âgée générale. Contrairement à d'autres transformations circadiennes, un

changement de la force du signal endogène tel que mesurée par l'amplitude du rythme de la température semble se manifester plus tard qu'au milieu de l'âge adulte (40-60 ans) (Carrier et al., 2002).

Une modification avec l'âge de l'angle de phase entre le cycle éveil-sommeil ainsi que le rythme circadien de la température (Duffy et al., 1997; Duffy et al., 1998) et le rythme circadien de la mélatonine (Duffy et al., 2002b; Yoon et al., 2003) a aussi été rapportée par certains auteurs. Dans les deux cas, un âge plus avancé a été associé avec un angle de phase plus court. Autrement dit, les personnes plus âgées se réveillent plus près de leur bathyphase de température corporelle ou leur acrophase de mélatonine. Ce changement circadien a été interprété comme une sensibilité plus grande des personnes plus âgées au signal d'éveil envoyé par l'horloge biologique. Ici encore, une étude a démontré une absence de telles modifications chez des personnes âgées possédant une « supra-santé » (Carrier et al., 1999). De plus, il semblerait que les personnes d'âge moyen ne présentent pas encore de différence d'angle de phase par rapport à des jeunes adultes (Carrier et al., 2002).

Des changements de phase des rythmes circadiens accompagnant le vieillissement ont été, à maintes reprises, rapportés dans la littérature. En comparaison aux sujets jeunes, les individus plus âgés rapportent plus souvent être des types du matin (Ishihara et al., 1991). Cette différence semble être apparente dès le milieu de l'âge adulte (Carrier et al., 1997a).

Les études sur le profil du cycle éveil-sommeil chez les sujets jeunes et âgés utilisant les agendas de sommeil corroborent cette tendance matinale associée au vieillissement (Tune 1969; Carrier et al., 1997a; Carrier et al., 1999). Il a été suggéré que cette avance de phase puisse être reliée à un signal plus hâtif provenant de l'horloge biologique. Les études ayant contrôlés pour les effets masquants de l'environnement sur les oscillations circadiennes ont confirmé que par rapport aux sujets jeunes, les personnes âgées montraient une avance de phase du rythme circadien de la température qui était associée avec un épisode de sommeil plus hâtif (Czeisler et al., 1992; Duffy et al., 1998; Carrier et al., 1999). En moyenne, l'heure habituelle du coucher et du lever ainsi que le minimum du rythme circadien de la température se présente une à deux heures plus tôt chez les personnes âgées par rapport aux jeunes (Dijk et al., 2000). Récemment, il a été rapporté que comparativement aux jeunes sujets, les personnes de 40 à 60 ans démontraient déjà une avance de phase de leur horaire de sommeil et de leur rythme circadien de température (Carrier et al., 2002). Ces différences présentaient la même magnitude que celles rapportés chez les sujets âgés en santé. Il semblerait, vraiment, qu'une population singulière ne présente pas de changements circadiens en vieillissant. Aux études déjà mentionnées, s'ajoutent les résultats obtenus par Monk et collaborateurs (1995) qui ne semblent pas supporter l'existence d'une différence ni d'amplitude ni de phase circadienne de la température corporelle chez des sujets âgés en « supra-santé » par rapport à de jeunes adultes. Il se pourrait que ce soit justement cette absence de modification circadienne qui permette

à un groupe restreint de personnes de vivre aussi longtemps et en santé. La grande majorité d'études semble cependant démontrer que ce n'est pas le cas pour la population générale normale.

Les mécanismes qui sous-tendent les changements circadiens reliés à l'âge sont encore, pour la plupart, inconnus. La présente étude s'est plus particulièrement intéressée à l'avance de phase circadienne accompagnant le vieillissement. Une hypothèse, plusieurs fois avancée dans la littérature sur le sujet, propose que les personnes plus âgées pourraient être exposées à davantage de lumière le matin ce qui constituerait un signal d'avance de phase journalier (Duffy et al., 1998; Van Someren et al., 2002; Yoon et al., 2003). Les études portant sur l'exposition habituelle à la lumière en milieu naturel ont fourni plusieurs évidences démontrant que les humains étaient significativement moins exposés à la lumière vive (supérieure à 1000 lux) par rapport à ce qu'on croyait préalablement (Savides et al., 1986; Guillemette et al., 1998). Les résultats de certaines recherches ont révélé une exposition à la lumière vive plus courte chez des personnes âgées en santé. Elle s'est avérée encore plus limitée chez des personnes âgées en institution (Shochat et al., 2000; Mishima et al., 2001; Sanchez et al., 1993). Cependant, d'autres résultats semblent suggérer une absence de relation entre l'âge et les patrons lumineux (Cole et al., 1995; Jean-Louis et al., 2000a; Jean-Louis et al., 2000b; Laffan & Duffy 2002). Il semblerait qu'aucune étude n'ait évalué la relation potentielle entre l'avance de phase circadienne accompagnant le vieillissement et l'exposition habituelle à la lumière.

Objectifs

1. Le premier objectif était de corroborer une avance de phase des rythmes circadiens chez les sujets d'âge moyen (40-60 ans) en utilisant la mélatonine salivaire dans des conditions environnementales et comportementales contrôlées.
2. Le deuxième but visait à déterminer si l'avance de phase du rythme circadien de la mélatonine au milieu de l'âge adulte était reliée à différents patrons d'exposition à la lumière.

Hypothèses

1. Un âge plus avancé devrait être associé à un début plus hâtif de la sécrétion de mélatonine
2. Un âge plus avancé devrait être associé à un profil plus hâtif d'exposition habituelle à la lumière
3. Un début de sécrétion de mélatonine plus hâtif devrait être associé avec des profils plus hâtifs d'exposition habituelle à la lumière

MÉTHODOLOGIE/RÉSULTATS

ARTICLE

**« ARE MODIFICATIONS OF MELATONIN CIRCADIAN RHYTHM IN
THE MIDDLE YEARS OF LIFE RELATED TO HABITUAL PATTERNS
OF LIGHT EXPOSURE? »**

ARE MODIFICATIONS OF MELATONIN CIRCADIAN RHYTHM IN THE
MIDDLE YEARS OF LIFE RELATED TO HABITUAL PATTERNS OF LIGHT
EXPOSURE?

Anna Kawinska¹, Marie Dumont¹, Brahim Selmaoui¹, Jean Paquet¹
and Julie Carrier^{1,2}

*Centre d'étude du sommeil et des rythmes biologiques, Hôpital du Sacré-
Cœur de Montréal, CANADA¹*

Department of Psychology, Université de Montréal, CANADA²

Running title: Melatonin and light exposure in middle age

Submitted to: Journal of Biological Rhythms

15 pages of text (excluding abstract and references), 4 figures, 3 tables

Correspondence about the manuscript to be addressed to:

Julie Carrier, Ph.D.
Centre d'étude du sommeil et des rythmes biologiques
Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal
5400 boul. Gouin Ouest
Montréal, Québec
H4J 1C5, CANADA
Tel.: (514) 338-2222 ext. 3124
Fax: (514) 338-2531
E-mail: [REDACTED]

KEY WORDS: Aging, light, melatonin, circadian rhythms, middle-age, sleep-
wake cycle.

ABSTRACT

The mechanisms underlying age-related changes in the signal from the biological clock have yet to be determined. We sought to determine if the phase advance of circadian melatonin rhythm during the middle years of life is related to different patterns of habitual light exposure.

Forty-one healthy subjects between the ages of 22 and 58 were studied. Habitual light exposure was measured by a wrist monitor for 7 days. Participants underwent a 25-hr constant routine. They provided saliva samples every 30 minutes and melatonin concentration was determined by radioimmunoassay to assess salivary dim light melatonin onset (S-DLMO_{1,3}).

Aging was associated with earlier S-DLMO_{1,3}. Increasing age was not related to the time spent at different light intensities. However, it was associated with lower percentage of light exposure during the night (between 02:00-4:00, 06:00-07:00 and 23:00-24:00) and with higher percentage of light exposure in the morning (between 08:00-11:00). Earlier S-DLMO_{1,3} was associated with lower percentage of light exposure early on in the night (between 22:00-00:00, 00:00-01:00 and 02:00-03:00) as well as in the afternoon (between 15:00-16:00) and with higher percentage of light exposure in the morning (between 08:00-11:00). When the effects of age were controlled, there was no significant relationship between S-DLMO_{1,3} and percentages of light exposure. Yet increasing age was associated with earlier S-DLMO_{1,3} regardless of light exposure patterns. Earlier habitual wake time explained the earlier light exposure patterns of older subjects. Both habitual waketime and age contributed to the prediction of S-DLMO_{1,3}.

Our results suggest a phase advance of circadian rhythms in the middle years of life. Whereas a clear change in habitual light exposure patterns was associated with aging and with shifts in S-DLMO_{1,3}, it did not explain entirely the age-related advance of melatonin circadian phase.

INTRODUCTION

There are numerous reports in the literature of age-related changes in the phase of circadian rhythms. Older people more often indicate that they are morning types than do young people (Ishihara et al., 1991). This difference starts during the middle-years of life (Carrier et al., 1997). Research on habitual sleep-wake patterns of young and elderly subjects using sleep diaries corroborates this age-dependent tendency toward morningness (Carrier et al., 1999; Carrier et al., 1997; Tunc 1969). Studies that controlled for masking effects on physiological circadian rhythms have confirmed that compared to the young, elderly subjects show a phase advance of their temperature circadian rhythm, which is associated with earlier sleep timing (Carrier et al., 1999; Duffy et al., 1998; Czeisler et al., 1992). On average, habitual bedtime, habitual wake time and the minimum of the circadian temperature rhythm all occur one to two hours earlier in elderly subjects than in the young (Dijk et al., 2000). Recently, we reported that compared to young subjects, people in their forties and fifties already exhibit both earlier sleep timing and a phase advance of their circadian temperature rhythm (Carrier et al., 2002). These age differences were of the same magnitude as those reported in healthy elderly subjects.

The mechanisms that underlie age-related changes in the signal from the biological clock have yet to be determined. Based on the phase-response curve to light (Czeisler et al., 1989; Minors et al., 1991), one proposal is that

older individuals might be exposed to more light in the morning, which would constitute a daily phase advancing stimulus (Duffy et al., 1998; Van Someren et al., 2002; Yoon et al., 2003). Studies of habitual light patterns in naturalistic conditions have provided evidence that humans are exposed to significantly less bright light (1000 lux and more) than previously expected (Guillemette et al., 1998; Savides et al., 1986). The results of some studies have revealed a shorter exposure to bright light in healthy elderly subjects, which was even shorter in institutionalized elderly (Shochat et al., 2000; Mishima et al., 2001; Sanchez et al., 1993). However, other results seem to suggest no relationship between age and light exposure patterns (Cole et al., 1995; Jean-Louis et al., 2000b; Jean-Louis et al., 2000a; Laffan & Duffy 2002). To our knowledge, no studies have evaluated the possible relationship between age-related circadian phase advance and habitual light exposure.

The first aim of the study was therefore to corroborate the presence of a phase advance of circadian rhythms in middle-aged subjects compared to young subjects using salivary melatonin in constant environmental and behavioural conditions. We predicted that increasing age would be associated with earlier onset of melatonin. Second, we sought to determine if the phase advance of circadian melatonin rhythm during the middle years of life was related to different patterns of habitual light exposure. We hypothesized that age and earlier melatonin onset would be associated with patterns of earlier habitual light exposure.

METHODS

Participants

Salivary melatonin samples of 41 subjects aged of 22 to 58 years who participated in a larger study on sleep and circadian rhythms (Carrier et al., 2002; Gaudreau et al., 2001), were available for analyses. Melatonin data of 4 subjects were excluded (missing data, noisy melatonin profiles), leaving 37 subjects for subsequent analyses. This group was composed of young (8 women and 8 men; 22-39 y.; mean age 29.8 y. \pm 1.2) and middle-aged subjects (13 women and 8 men; 40-58 y.; mean age 50.4 y. \pm 1.1).

All participants reported good physical and mental health and they had no sleep complaints. Their blood test and urinalysis indicated no significant medical condition and they had a body mass index lower than 27. None of the subjects reported a history of psychiatric or neurological illness. Participants were all non-smokers, and they did not experience transmeridian travelling or night work in the three months prior to the study. Pre-menopausal women were studied during the follicular phase of their menstrual cycle and they were not using hormonal contraceptives. Post-menopausal women were not on hormonal replacement therapy. One night sleep polysomnographic (PSG) evaluation ensured that subjects had no sleep disorders. Subjects with a sleep apnea-hypopnea index per hour >10 and/or a periodic leg movements index per hour >10 were excluded. All participants signed a consent form

before beginning the study and they received financial compensation. The ethical committee of the hospital approved this project.

Study design

Subjects completed a French version of the Horne and Ostberg (1976) questionnaire to assess morningness-eveningness (Horne et al., 1976) and a two-week sleep diary prior to the laboratory part of the study. During these 14 days, subjects were not restricted to specific wake time or bedtime but were instructed to adopt their usual sleep-wake schedule without napping. Mean values from the 14-day sleep diary were calculated for each subject in order to estimate habitual wake time, habitual bedtime, habitual night time in bed and habitual subjective sleep quality (visual analog scale). Light exposure of every participant was measured by ambulatory monitoring for 7 consecutive days prior to laboratory admission. Therefore both week days and weekends were included in all of the recordings.

Subjects came to the chronobiology laboratory for 3 consecutive nights during which they slept according to their habitual sleep schedule. Each evening, subjects were admitted to the laboratory 3 to 5 hours before their habitual bedtime and remained in uncontrolled indoor illumination until bedtime. After the first and second nights, they were awakened at their usual wake time and left the laboratory to pursue their usual activities. Immediately after habitual wake-up time on the third night, participants were subjected to a

constant routine for the next 25 hours while ambient lighting was kept below 15 lux. During that time, subjects remained awake in bed reading, talking, or watching movies in a semi-recumbent position. They were given small snacks on a regular basis. A research assistant was present at all times to make sure that subjects were not falling asleep. The constant routine ended in the morning, one hour after habitual wake time. The study was run across the entire year. Young subjects tended to join the study more often in spring/summer than did middle-aged subjects (12/16 of young subjects and 9/21 of the middle-aged subjects). However, the day length was not significantly different between the two groups (young: $13\text{h}24\pm 0\text{h}27$ and middle-aged: $12\text{h}03\pm 0\text{h}37$; length in hours between sunrise and sunset). Correlations also confirmed that there was no significant relationship between day length and age or between day length and DLMO, for the entire group and for each age group separately.

Salivary melatonin

Saliva samples were collected with salivettes (Sarstedt Inc, Newton, NC, USA) every 30 minutes except for the first three samples, which were collected at a 60 minute interval. Saliva collection started 8 hours after the beginning of the constant routine and continued until the end (36 samples). Salivettes were centrifuged (2 minutes at 3000 r.p.m) and in frozen storage (-20°C) until analysis. Melatonin concentration in saliva was determined in duplicate using radioimmunoassay technique (RIA) with ^{125}I - melatonin tracer

(ALPCO, Windham, NH, with reagents from Bühlmann Laboratories, Switzerland). The reported minimum detectable concentration of melatonin for the assay was 0.65 pg/ml. For the low value (1.5 pg/ml), the intra- and inter-assay coefficients of variation were 9 % and 10 %, respectively. For the high value (15 pg/ml), the intra- and inter-assay coefficients of variation were 6.5 % and 14 %, respectively. Two criteria were used to assess salivary dim light melatonin onset (S-DLMO). A first criterion situated S-DLMO_{1.3} at the interpolation of evening time when melatonin levels reached twice the least detectable melatonin concentration (2×0.65 pg/ml; 1.3 pg/ml), followed by a further increase in melatonin concentration (Deacon and Arendt, 1994; Mongrain et al. 2004). A second criterion was defined as the interpolation of evening time when the third (33%) of the difference between the minimal and the maximal melatonin secretion was reached (S-DLMO_{33%}).

Light exposure

Subjects were instructed to wear a monitor (Actiwatch-L, Mini-Mitter Co, Bend, OR) on their non-dominant wrist, 24 hours a day except when showering and exercising. A photosensor transducer and an accelerometer allowed for simultaneous detection of light (0.1-150 000 lux) and wrist activity (more than 0.01 g). Light intensities and wrist actigraphy were collected per one-minute samples. First, data collected while subjects reported in their sleep diary not wearing the actigraph were excluded. Second, periods of 30 consecutive minutes without any wrist activity detected during daytime or

periods of 120 consecutive minutes found during night-time were also removed from subsequent analyses. In the event that a nap occurred, a specific question included in the sleep diary inquired about the timing and duration of such a nap. In the exceptional cases where subjects did nap, the corresponding actigraphic data were kept in the analyses. Only days with less than 10% of invalid data were included in light analyses. Subjects with fewer than 24 hours of suitable actigraphic data recording were excluded. Thirty minutes out of 60 had to be valid in order to consider a given hour for calculations. Following these criteria, four subjects (one young woman, one middle-aged woman, and two middle-aged men) had to be excluded, leaving 33 subjects for analyses of light exposure (number of days per subject: mean 6.5 ± 0.16 ; range 3-7 days). A calibration was made for 6 of the 9 Actiwatches used in the study (for 26/33 subjects). First the light readings of each wrist monitor were compared with a research photometer (IL-1400, International Light, Newburyport, MA) exposed to 20 light intensities (0 to 10000 lux) from an artificial light source. Then, every minute of light data was adjusted based on the differences found with the research photometer. Five of six Actiwatches were underestimating light levels compared to the research photometers (1% to 39%) and one was overestimating light levels (37%).

The mean number of minutes spent everyday at each light intensity (0-100, 100-500, 500-1000 and 1000 lux and more) was calculated. To analyze light patterns, lux data were first log-transformed before being averaged over

each hour, then over the week of recording. These results were used to analyze absolute values of individual profiles of light exposure. Finally, to assess relative light patterns, absolute light data for every hour was transformed into the percentage of the mean light exposure received during the week for each subject.

Analyses and statistics

First, Pearson correlations were used to assess the relationship between age and subjective sleep parameters (mean of 14-day sleep diary), as well as between age, S-DLMO_{1,3}, and light parameters (light intensities separated in categories, absolute light levels and relative light exposure at each hour).

Second, at clock times where S-DLMO_{1,3}, age and relative light exposure were all significantly correlated with each other, partial correlations were performed in order to evaluate the unique contribution of each variable to the prediction of S-DLMO_{1,3}. Thus, a partial correlation was performed between age and S-DLMO_{1,3}, after controlling for the effects of relative light exposure to evaluate the manner in which relative light exposure might contribute to the effects of age on S-DLMO_{1,3}. Also, a partial correlation was executed between S-DLMO_{1,3} and relative light exposure after controlling for

the effects of age in order to evaluate the contribution of age to the effects of relative light exposure on S-DLMO_{1,3}.

Third, the manner in which habitual wake time may contribute to the effects of age on relative light exposure was assessed by performing a partial correlation between age and habitual light exposure after controlling for the effects of habitual wake time. This was done at clock times for which relative light exposure, age and habitual wake time were all significantly correlated.

Finally, to evaluate the way in which habitual wake time may be involved in the relationship between age and S-DLMO_{1,3}, a partial correlation was performed between age and S-DLMO_{1,3} after controlling for the effects of habitual wake time. Using the same approach, another partial correlation was completed between S-DLMO_{1,3} and habitual wake time after controlling for the effects of age to assess the contribution of age in the relationship between habitual wake time and S-DLMO_{1,3}. This set of partial correlations could be done because age, S-DLMO_{1,3} and habitual wake time were, first, all significantly correlated with each other.

All statistical analyses were correlational. However, for illustrative purposes, figures and tables present data for young and middle-aged groups separately.

RESULTS

Relationship between age and sleep/circadian parameters

Table 1 contains the means and SEM for the sleep diary parameters, chronotype and S-DLMO. Coefficients and P values for Pearson correlations with age are also presented. On average, middle-aged subjects woke up approximately 1 hour earlier and went to bed about half an hour before young subjects did. However, only earlier habitual wake time demonstrated a significant association with increasing age. There was a tendency toward a relationship between aging and greater morningness. There was no significant relationship between age and subjective evaluation of sleep quality. Aging was significantly related to earlier S-DLMO using both criteria. Figure 1 presents a scatter plot illustrating the relationship between age and S-DLMO_{1.3}. Figure 2 shows melatonin secretion profiles for the young and the middle-aged subjects (means and SEM). On average, S-DLMO_{1.3} according to the 1.3 pg/ml criterion occurred 1.3 hours earlier in middle-aged subjects than in young subjects. Because of the similarity of the results from both criteria, subsequent analyses were performed with the 1.3 pg/ml criterion only.

Insert Table 1, Figure 1 and Figure 2 about here

Relationship between age, S-DLMO_{1,3} and absolute light levels

Table 2 shows the mean and SEM number of minutes spent in different light intensities for the young and middle-aged subjects. There was no significant relationship between age and the number of minutes spent at different light intensities. When the 24h profiles of light exposure were considered, increasing age was associated with lower absolute light levels during the night (between 02:00-03:00 and 3:00-4:00; $r=-0.40$ $p=0.02$, $r=-0.38$ $p=0.03$ respectively and 23:00-24:00; $r=0.34$ $p=0.05$) and with higher absolute light levels in the morning (between 09:00-10:00 $r=-0.44$ $p=0.01$). There was no significant correlation between absolute light levels at each hour and S-DLMO_{1,3}.

Insert Table 2 about here

Relationship between age and habitual light exposure in relative values

The first column of Table 3 presents Pearson correlations between age and relative light exposure at each hour (33 subjects: 15 young and 18 middle-aged). Increasing age was associated with less relative light exposure during the night (between 02:00-4:00, 06:00-07:00 and between 23:00-24:00) and with higher light exposure in the morning (between 08:00-11:00). These results are illustrated in Figure 3, which depicts relative light exposure patterns in the young and middle-aged participants.

Insert Figure 3 about here

Relationship between age, S-DLMO_{1,3} and habitual relative light exposure

The second column of Table 3 presents Pearson correlations between relative light exposure and S-DLMO_{1,3} at each hour. Earlier S-DLMO_{1,3} was significantly associated with lower relative light exposure late in the evening and early in the night (between 22:00-00:00, 00:00-01:00, and 02:00-03:00) and in the afternoon (between 15:00-16:00). Earlier S-DLMO_{1,3} was also significantly associated with greater relative light exposure in the morning (between 08:00-11:00). In order to evaluate the manner in which relative light exposure might contribute to the effects of age on S-DLMO_{1,3}, partial correlations were performed between age and S-DLMO_{1,3}, after controlling for the effects of relative light exposure at clock times where relative light exposure was significantly correlated with both age and S-DLMO_{1,3} (02:00-03:00, 08:00-09:00, 09:00-10:00, 10:00-11:00 and 23:00-24:00). After controlling for relative light exposure, correlations between age and S-DLMO_{1,3} were significant at the following times: 02:00-03:00 ($r=-0.40$; $p=0.02$), 08:00-09:00 ($r=-0.40$; $p=0.02$), 09:00-10:00 ($r=-0.37$; $p=0.04$), 10:00-11:00 ($r=-0.38$, $p=0.03$), and 23:00-24:00 ($r=-0.37$; $p=0.06$). In order to evaluate the contribution of age to the effects of relative light exposure on S-DLMO_{1,3}, partial correlations between S-DLMO_{1,3} and relative light exposure were performed at the same clock times (02:00-03:00, 08:00-09:00, 09:00-10:00, 10:00-11:00 and 23:00-24:00) after controlling for the effects of age. There was no significant relationship between S-DLMO_{1,3} and relative light exposure at 02:00-03:00, 08:00-09:00, 09:00-10:00, and 10:00-11:00 after

controlling for the effects of age, which indicates that age accounted for the relationship between S-DLMO_{1,3} and relative light exposure at these times. In this portion of the analysis after controlling for the effects of age, the only significant correlation was between relative light exposure late in the evening (between 23:00-24:00) and S-DLMO_{1,3} ($r=-0.39$; $p=0.03$).

Relationship among age, habitual wake time and habitual relative light exposure

The third column of Table 3 presents Pearson correlations between habitual wake time and relative light exposure. Earlier wake time was associated with higher levels of relative light exposure in the morning (between 06:00 and 11:00) and with lower levels of relative light exposure in the late afternoon, evening, and early night (between 15:00 and 03:00).

Insert Table 3 about here

The manner in which habitual wake time may contribute to the effects of age on relative light exposure was assessed by performing partial correlations between age and habitual light exposure. This was done after controlling for the effects of habitual wake time at those clock times for which relative light exposure was significantly correlated with both age and habitual wake time (between 08:00-11:00, 23:00-24:00 and 02:00-03:00). There was

no significant relationship between age and relative light exposure (between 08:00-11:00, 23:00-24:00 and 02:00-03:00) after controlling for habitual wake time, which suggests that the effects of habitual wake time accounted for the relationship between age and relative light exposure. Therefore, as illustrated in Figure 4, patterns of habitual light exposure were similar following the adjustment of relative light values to habitual wake time.

Insert Figure 4 about here

Relationship between age, S-DLMO_{1,3} and habitual wake time

Habitual waketime and S-DLMO_{1,3} were significantly correlated ($r=0.48$, $p=0.005$). A partial correlation between age and S-DLMO_{1,3} was performed after controlling for the effects of habitual wake time to evaluate the contribution of habitual wake time to the effects of age on S-DLMO_{1,3}. After controlling for habitual wake time, the correlation between age and S-DLMO_{1,3} was no longer significant. Another partial correlation was completed between S-DLMO_{1,3} and habitual wake time after controlling for the effects of age. This last partial correlation was performed to assess the manner in which age may contribute to the effects of habitual wake time on S-DLMO_{1,3}. Again there was no significant relationship between S-DLMO_{1,3} and habitual wake time after controlling for the effects of age. Thus, both age and habitual waketime contributed to the prediction of S-DLMO_{1,3}.

DISCUSSION

The results of the present study support, using salivary melatonin, that a phase advance in the output of the circadian timing system appears during the middle years of life (Carrier et al., 2002). This phase advance is of the same magnitude as the one reported in healthy elderly subjects (Carrier et al., 1999; Duffy et al., 1998). Other recent findings have indicated a similar acrophase (fitted peak time) of salivary melatonin circadian rhythm in both young and middle-aged subjects (Zhou et al., 2003). However, saliva samples in that particular study were collected in subjects' natural environment, where changes in light levels and in posture may compromise the accuracy of melatonin circadian phase estimates due to masking effects.

In the current study, both young and middle-aged subjects were exposed for approximately 1.5 h per day to bright light (1000 lux and more). No relationship was detected between age and time spent exposed to any range of light intensities. Although one study yielded no correlation between age and duration of bright light exposure (Campbell et al., 1988), another investigation revealed that young adults spend about 1.9 hour per day in bright light compared to 0.8 h for healthy elderly (Mishima et al., 2001).

Contrary to our analyses of ranges of light intensity, analyses of light patterns revealed significant relationships between age and light exposure; increasing age was associated with lower light intensity during the night and

with higher light intensity in the morning. These results were more consistent and more robust when analyzed in relative light intensity compared to absolute light levels. It has been demonstrated that light intensity is not interpreted in absolute terms by the ECP, but more likely by comparison with the intensity of other light exposures over the 24 hours (Dumont et al., 2001; Jewett et al., 1997) or even over many days of previous light history (Hebert et al., 2002; Smith et al., 2004). Therefore, relative light intensity might be more appropriate than absolute light intensities for analyses of patterns of light exposure. The fact that relationships between S-DLMO_{1,3} and light exposure were surprisingly nonexistent when considering light exposure in absolute values, but were clearly present when light exposure was analysed in relative values, corroborates this suggestion. In accordance with the PRC to light, earlier S-DLMO_{1,3} was associated with higher percentages of morning habitual light exposure and with lower percentages of light exposure in the late evening and early night.

Both increasing age and earlier S-DLMO_{1,3} were associated with lower relative light exposure in the late evening/early night and with higher relative light exposure in the morning. Despite this similarity, the use of partial correlations revealed that the relationship between age and S-DLMO_{1,3} was still present despite controls for light exposure. Stated differently, the advance of circadian phase in the older subjects could not be explained solely by different patterns of light exposure. On the other hand, the relationship between S-DLMO_{1,3} and patterns of light exposure was no longer significant

when controlling for the effects of age. Thus, it seems that in this set of data, differences in patterns of relative light exposure were specifically related to age, and not to circadian phase. Our results corroborate findings from a recent study that compared illumination acrophases between young and older adults aged 60 to 75. This study demonstrated a phase advance of the moment of maximal light exposure and of 6-sulfatoxymelatonin onset in older subjects. However, relationship between these two variables was not assessed (Yoon et al., 2003). In our study the relationship between age and habitual relative light exposure was mainly a consequence of an age-related difference in habitual wake time. Indeed, when habitual wake time was controlled, the relationship between age and relative light exposure was no longer significant. This indicates that the effects of age on habitual wake time accounted for the significant association between age and habitual relative light exposure. Thus, older subjects exhibit the same phase relationship as do younger subjects between their habitual relative light exposure and their sleep-wake cycle.

Our results support the notion that a difference of habitual light exposure patterns cannot exclusively explain age-related circadian modifications in the middle years of life. The mechanisms that underlie the age-related phase advance of circadian rhythms are still unknown. According to recent studies on humans, there is no age-dependent modification of the endogenous circadian period that could explain a difference in the entrained phase (Czeisler et al., 1999; review in Dijk et al., 2000; Kendall et al., 2001).

Others have suggested that the phase advance may be associated with the phase shifting capacity of the circadian pacemaker in response to the light-dark cycle (Klerman et al., 2001). One study featured a comparison of the phase shifting effects of 3 consecutive days of bright light (5 hours) exposure in young and elderly subjects. Phase delays did not differ between the two age groups but phase advances were attenuated in the elderly. These results cannot explain the phase advance of the circadian pacemaker in older people (Klerman et al., 2001). It has also been reported that melatonin suppression by light is not affected by age in healthy individuals. Indeed, one study showed that after a 200 lux exposure from midnight to 01:00 surrounded by three hours of darkness (21:00-02:30), older subjects did not present significant differences in the percentage suppression of melatonin compared to younger participants (Nathan et al., 1999). Up to now, a change in the circadian pacemaker's sensitivity in response to light cannot explain the phase advance of circadian rhythms in older people. Nevertheless, a complete phase response curve and dose response curve will be necessary to rule out this possibility entirely.

It has been proposed that the sleep-wake cycle may contribute to entrainment of the biological clock (Burgess et al., 2004). Therefore, it is possible that the phase advance of the sleep-wake schedule may contribute to the phase advance of the circadian clock in middle-aged subjects. The lack of correlation between age and S-DLMO_{1,3}, when the effects of habitual wake time are controlled for, supports this proposal. However, the lack of

correlation between S-DLMO_{1,3} and habitual wake time after controlling for the effects of age suggests that the contribution of age is also essential to predict S-DLMO_{1,3}.

One novelty of this paper is to propose a correlational approach to analyze 24-hour light exposure profiles. Because some of our analyses were exploratory, severe corrections for multiple testing were not performed. Future studies should run hypothesis-driven confirmatory analyses in which it will be possible to use adequate statistical corrections. Also, the limitation of actigraphic measurements has to be taken into account in the interpretation of the results of the present study. Indeed, although actigraphy provides priceless information about patterns of habitual light exposure, it does not assess the exact amount of light reaching the retina. This is particularly the case during the night when subjects have their eyes closed and when bedclothes may cover the light sensor.

In conclusion, our results suggest a phase advance of circadian rhythms in the middle years of life. Since some authors have recently shown that measures of melatonin offset are more strongly related to sleep timing than melatonin onset measures, it will be important to corroborate results from this study using melatonin offset parameters (Benloucif et al. 2005). In our study, whereas a clear change in habitual light exposure patterns was associated with aging and with shifts in S-DLMO_{1,3}, it did not explain entirely the age-related advance of melatonin circadian phase. The circadian phase

difference in older subjects might originate from an endogenous source such as age-related specific changes in circadian gene expression or neurotransmission as shown in animals (Benloucif et al., 1996; Driver 2000; Duncan et al., 2000). The influence of age-related changes in other “zeitgebers” (e.g., psychosocial demands, timing and patterns of activity) must also be investigated. The fact that in this study the effects of age and habitual wake time on S-DLMO_{1,3} could not be discriminated does not exclude the possibility of a synchronizing effect of the sleep-wake cycle. Further investigation is needed on this aspect. Finally, the age-dependent modifications in the output of the combined endogenous and exogenous sources will also have to be considered.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by grants MT-14999, MGP-57735 (Carrier) and scholarships from the Canadian Institutes of Health Research (Carrier), CIHR Scholarships (Carrier, Kawinska). The authors thank Sonia Frenette, the project coordinator and our technicians for day-to-day study management.

REFERENCES

1. Benloucif S, Masana MI, and Dubocovich ML (1996) Light-induced shifts of circadian activity rhythms and immediate early gene expression in the suprachiasmatic nucleus are attenuated in old C3H/HeN mice. *Brain Res* 747:34-42.
2. Benloucif S, Guico MJ, Reid KJ, Wolfe LF, L'hermite-Baleriaux M, Zee PC (2005) Stability of melatonin and temperature as circadian phase markers and their relation to sleep times in humans. *J Biol Rhythms*. 20:178-88.
3. Burgess HJ and Eastman CI (2004) Early versus late bedtimes phase shift the human dim light melatonin rhythm despite a fixed morning lights on time. *Neurosci Lett* 356:115-118.
4. Campbell SS, Kripke DF, Gillin JC, and Hrubovcak JC (1988) Exposure to light in healthy elderly subjects and alzheimer's patients. *Physiol Behav* 42:141-144.
5. Carrier J, Land S, Buysse DJ, Kupfer DJ, and Monk TH (2001) The effects of age and gender on sleep EEG power spectral density in the "middle" years of life (20y-60y). *Psychophysiology* 38:232-242.

6. Carrier J, Monk TH, Buysse DJ, and Kupfer DJ (1997) Sleep and morningness-eveningness in the "middle" years of life (20y-59y). *J Sleep Res* 6:230-237.
7. Carrier J, Monk TH, Reynolds CFI, Buysse DJ, and Kupfer DJ (1999) Are age differences in sleep due to phase differences in the output of the circadian timing system? *Chronobiol Int* 16:79-91.
8. Carrier J, Paquet J, Morettini J, and Touchette E (2002) Phase advance of sleep and temperature circadian rhythms in the middle years of life in humans. *Neurosci Lett* 320:1-4.
9. Cole RJ, Kripke DF, Wisbey J, Mason WJ, Gruen W, Hauri PJ, and Juarez S (1995) Seasonal variation in human illumination exposure at two different latitudes. *J Biol Rhythms* 10:324-334.
10. Czeisler CA, Duffy JF, Shanahan TL, Brown EN, Mitchell JF, Rimmer DW, Ronda JM, Silva EJ, Allan JS, Emens JS, Dijk DJ, and Kronauer RE (1999) Stability, Precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science* 284:2177-2181.
11. Czeisler CA, Dumont M, Duffy JF, Steinberg JD, Richardson GS, Brown EN, Sanchez R, Rios CD, and Ronda JM (1992) Association of sleep-

wake habits in older people with changes in output of circadian pacemaker. *Lancet* 340:933-936.

12. Czeisler CA, Kronauer RW, Allan JS, Duffy JF, Jewett ME, Brown EN, and Ronda JM (1989) Bright light induction of strong (Type 0) resetting of the human circadian pacemaker. *Science* 244:1328-1333.
13. Deacon S and Arendt J (1994) Posture influences melatonin concentrations in plasma and saliva in humans. *Neurosci Lett* 167:191-194.
14. Dijk DJ, Duffy JF, and Czeisler CA (2000) Contribution of circadian physiology and sleep homeostasis to age-related changes in human sleep. *Chronobiol Int* 285-311.
15. Driver C (2000) The circadian clock in old *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology* 1:157-162.
16. Duffy JF, Dijk D-J, Klerman EB, and Czeisler CA (1998) Later endogenous circadian temperature nadir relative to an earlier wake time in older people. *Am J Physiol* 275:R1478-R1487.
17. Dumont M, Benhaberou-Brun D, and Paquet J (2001) Profile of 24-h light exposure and circadian phase of melatonin secretion in night workers. *J Biol Rhythms* 16:502-511.

18. Duncan MJ, Crafton CJ, Wheeler DL (2000) Aging regulates 5-HT_{1b} receptors and serotonin reuptake sites in the SCN. *Brain Res* 856:213-219.
19. Gaudreau H, Morettini J, Lavoie HB, and Carrier J (2001) Effects of a 25-h sleep deprivation on daytime sleep in the middle-aged. *Neurobiol Aging* 22:461-468.
20. Guillemette J, Hébert M, Paquet J, and Dumont M (1998) Natural bright light exposure in the summer and winter in subjects with and without complaints of seasonal mood variations. *Biol Psychiatry* 44:622-628.
21. Hébert M, Martin SK, Lee C, and Eastman CI (2002) The effects of prior light history on the suppression of melatonin by light in humans. *J Pineal Res* 33:1-6.
22. Horne JA and Ostberg O (1976) A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 4:97-110.
23. Ishihara K, Miyake S, Miyasita A, and Miyata Y (1991) Morningness-eveningness preference and sleep habits in Japanese office workers of different ages. *Chronobiologia* 18:9-16.

24. Jean-Louis G, Kripke DF, Ancoli-Israel S, Klauber MR, and Sepulveda RS (2000a) Sleep duration, illumination, and activity patterns in a population sample: effects of gender and ethnicity. *Biol Psychiatry* 47:921-927.
25. Jean-Louis G, Kripke DF, Ancoli-Israel S, Klauber MR, Sepulveda RS, Mowen MA, Assmus JD, and Langer RD (2000b) Circadian sleep, illumination, and activity patterns in women: influences of aging and time reference. *Physiol Behav* 68:347-352.
26. Jewett ME, Rimmer DW, Duffy JF, Klerman EB, Kronauer RE, and Czeisler CA (1997) Human circadian pacemaker is sensitive to light throughout subjective day without evidence of transients. *Am J Physiol* 273:R1800-R1809.
27. Kendall AR, Lewy AJ, and Sack RL (2001) Effects of aging on the intrinsic circadian period of totally blind humans. *J Biol Rhythms* 16:87-95.
28. Klerman EB, Duffy JF, Dijk DJ, and Czeisler CA (2001) Circadian phase resetting in older people by ocular bright light exposure. *J Investig Med* 49:30-40.
29. Laffan AM and Duffy JF (2002) Light exposure patterns in healthy young and older adults. *Sleep* 25:A307-A308.

30. Minors DS, Waterhouse JM, and Wirz-Justice A (1991) A human phase-response curve to light. *Neurosci Lett* 133:36-40.
31. Mishima K, Okawa M, Shimizu T, and Hishikawa Y (2001) Diminished melatonin secretion in the elderly caused by insufficient environmental illumination. *J Clin Endocrinol Metab* 86:129-134.
32. Mongrain V, Lavoie S, Selmaoui B, Paquet J, Dumont M (2004) Phase relationships between sleep-wake cycle and underlying circadian rhythms in morningness-eveningness. *J Biol Rhythms* 19:248-257.
33. Nathan PJ, Burrows GD, and Norman TR (1999) The effect of age and pre-light melatonin concentration on the melatonin sensitivity to dim light. *Int Clin Psychopharmacol* 14:189-192.
34. Sanchez R, Ge Y, and Zee PC (1993) A comparison of the strength of external zeitgebers in young and older adults. *Sleep Res* 22:416.
35. Savides TJ, Messin S, Senger C, and Kripke DF (1986) Natural light exposure of young adults. *Physiol Behav* 38:571-574.
36. Shochat T, Martin J, Marler M, and Ancoli-Israel S (2000) Illumination levels in nursing home patients: effects on sleep and activity rhythms. *J Sleep Res* 9:373-379.

37. Smith KA, Schoen MW, and Czeisler CA (2004) Adaptation of human pineal melatonin suppression by recent photic history. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3610-3614.
38. Tunc GS (1969) The influence of age and temperament on the adult human sleep-wakefulness pattern. *Br J Psychol* 60:431-441.
39. Van Someren EJW, Riemersma RF, and Swaab DF (2002) Functional plasticity of the circadian system in old age: light exposure. *Progress Brain Res* 138:205-231.
40. Yoon IY, Kripke DF, Elliott JA, Youngstedt SD, Rex KM, and Hauger RL (2003) Age-related changes of circadian rhythms and sleep-wake cycles. *J Am Geriatr Soc* 51:1085-1091.
41. Zhou JN, Liu RY, Van Heerikhuize J, Hofman MA, and Swaab DF (2003) Alterations in the circadian rhythm of salivary melatonin begin during middle-age. *J Pineal Res* 34:11-16.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1

Association between salivary melatonin onset (S-DLMO_{1,3}) and age (n=37).

The black line represents a linear fit to the data.

Fig. 2

Half-hour concentration of salivary melatonin (means and SEM) for young (black circles; n=16) and middle-aged (white circles; n=21) subjects. Squares represent salivary melatonin onset (S-DLMO_{1,3}) for young (black square) and middle-aged (white square) subjects.

Fig. 3

Habitual light exposure patterns in relative values (means and SEM) for young (black circles; n=15) and middle-aged (white circles; n=18) subjects. Rectangles indicate the timing of the habitual sleep episode for young (black rectangle) and middle-aged (white rectangle) subjects. Squares represent salivary melatonin onset (S-DLMO_{1,3}) for young (black square) and middle-aged (white square) subjects. Asterisks (*) identify significant correlations between age and habitual relative light exposure. Crosses (+) show significant correlations between S-DLMO_{1,3} and habitual relative light exposure. Pearson correlations with age and S-DLMO_{1,3} were performed at each time point.

Fig. 4

Habitual light exposure patterns in relative values adjusted to habitual wake time (means and SEM) for young (black circles; n=15) and middle-aged (white circles; n=18) subjects. Time point 01:00 indicates averaged relative light received during the first hour following habitual wake time.

Table 1. Sleep diary^{a,b} and circadian^b parameters in young and middle-aged subjects^c.

	Young (n=16)	Middle-aged (n=21)	Coefficients	<i>P</i> values
<u>Sleep diary parameters</u>				
Habitual bedtime (hrs)	23:43 (0:13)	23:16 (0:12)	-0.24	n.s.
Habitual wake time (hrs)	08:32 (00:14)	07:29 (0:12)	-0.55	0.0005
Habitual subjective sleep quality (cm)	7.39 (0.27)	7.96 (0.21)	-0.26	n.s.
Chronotype	56.9 (1.5)	63.4 (2.6)	0.29	0.077
<u>Salivary melatonin onsets (hrs)</u>				
1.3 pg/ml criterion	22:51 (00:23)	21:32 (00:17)	-0.56	0.0003
33% criterion	23:24 (00:28)	22:29 (00:22)	-0.43	0.008

^aFourteen-day means

^bMeans and SEM

^cCoefficients and *P* values for Pearson correlations with age

Table 2. Time^a in minutes spent in different light intensities for young and middle-aged subjects.

Light intensities	young (n=15)	middle-aged (n=18)
0-100 lux	1052.53 (38.63)	1070.15 (33.29)
100-500 lux	220.54 (20.88)	208.61 (15.38)
500-1000 lux	34.60 (8.82)	39.08 (6.89)
1000 lux and more	91.01 (20.22)	86.85 (18.58)

^aMeans and SEM.

Table 3. Pearson correlations between hourly relative light exposure and age, DLMO, wake time.

Relative light exposure at different clock times	Age	DLMO	Wake time
00:00-01:00		0.38*	0.61***
01:00-02:00			0.40*
02:00-03:00	-0.38*	0.37*	0.41*
03:00-04:00	-0.38*		
04:00-05:00			
05:00-06:00			
06:00-07:00	-0.37*		-0.46**
07:00-08:00			-0.67***
08:00-09:00	0.38*	-0.38*	-0.75***
09:00-10:00	0.48**	-0.38*	-0.65***
10:00-11:00	0.48**	-0.35*	-0.48**
11:00-12:00			
12:00-13:00			
13:00-14:00			
14:00-15:00			
15:00-16:00		0.39*	
16:00-17:00			0.38*
17:00-18:00			
18:00-19:00			
19:00-20:00			
20:00-21:00			
21:00-22:00			0.36*
22:00-23:00		0.46**	0.57***
23:00-24:00	-0.43**	0.52**	0.66***

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$

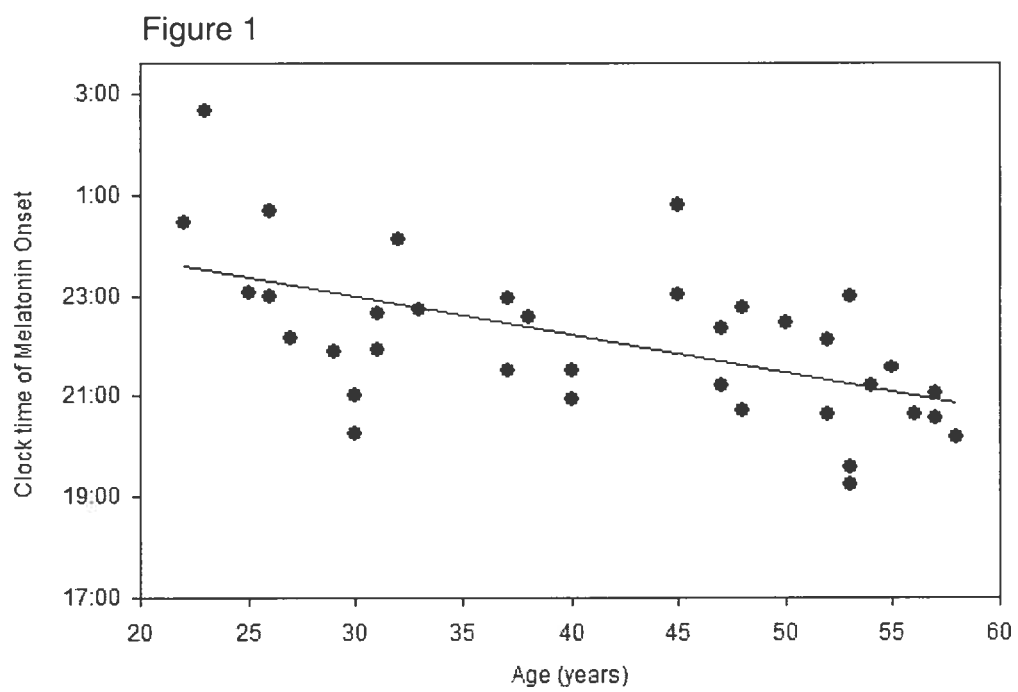


Figure 2

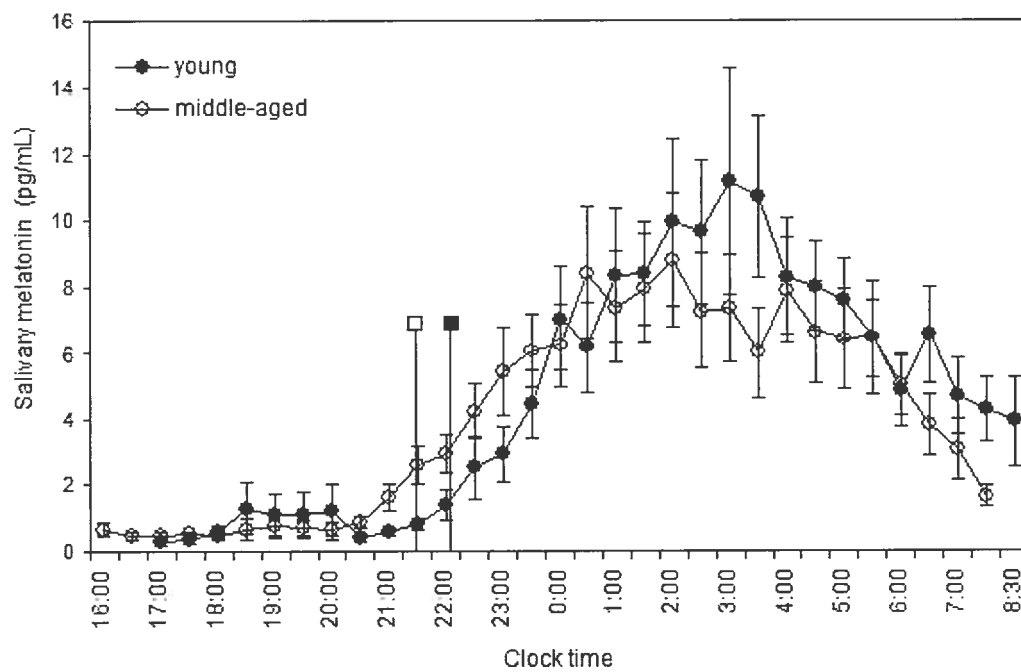
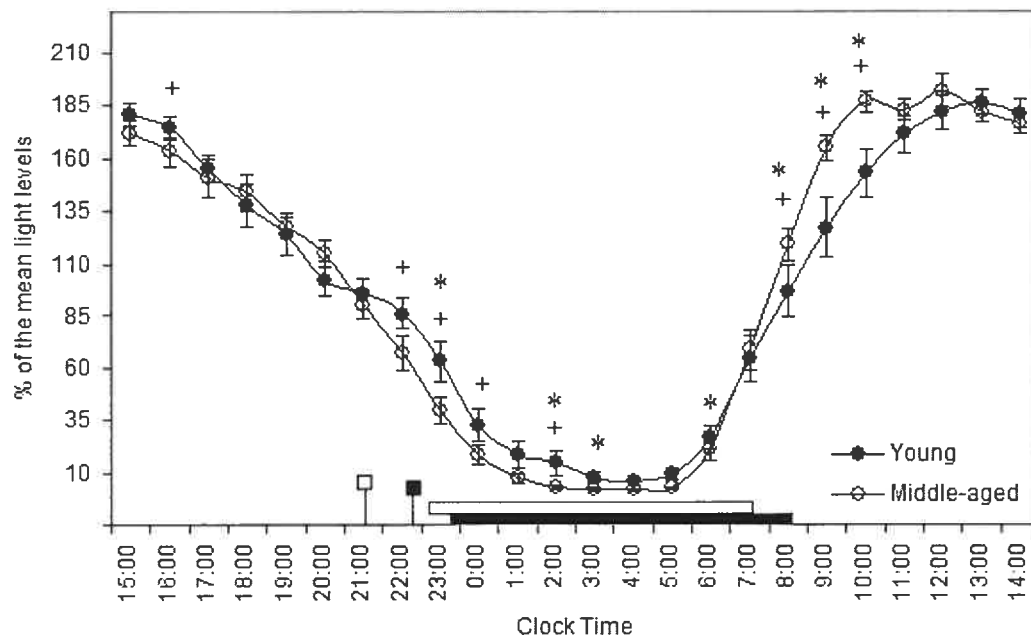
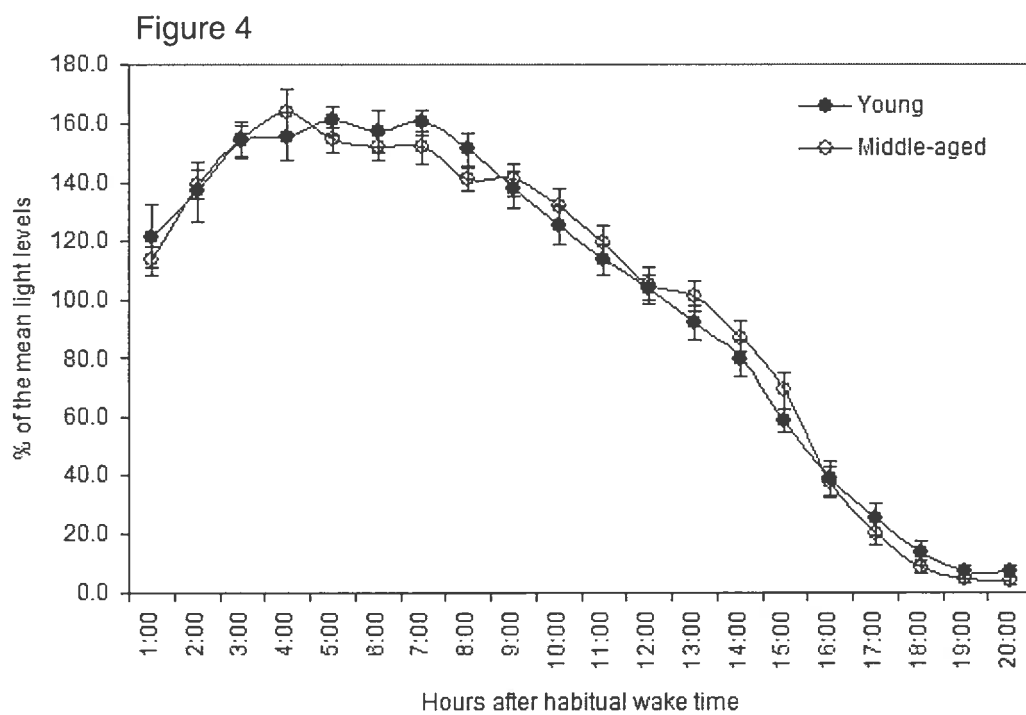


Figure 3





DISCUSSION GÉNÉRALE

L'étude présente a confirmé l'existence, au milieu de l'âge adulte, des associations suivantes avec l'âge: 1) une orientation plus grande vers un chronotype matinal 2) un cycle éveil-sommeil plus hâtif 3) une avance de phase du début de sécrétion de la mélatonine (DSM).

Il a aussi été démontré qu'un âge plus avancé était associé à une avance de phase du profil d'exposition habituelle à la lumière. En effet, les sujets plus âgés démontraient un pourcentage de la moyenne d'exposition à la lumière plus élevé le matin ainsi qu'un pourcentage plus faible la nuit. Il semblerait que ce soit l'avance de phase du cycle éveil-sommeil qui entraînerait cette différence d'exposition lumineuse associée au vieillissement.

En accord avec la CRP à la lumière, un DSM plus hâtif a été relié à un niveau d'illumination plus élevé le matin et plus bas en fin de soirée/début de la nuit. Il a été, toutefois, mis en évidence que cette relation entre le DSM et le pourcentage de la moyenne d'exposition à la lumière pouvait, en fait, être expliquée par les effets de l'âge sur le DSM. En d'autres mots, l'âge constituait une variable confondante dans cette relation. En effet, même après l'élimination des effets attribués au niveau d'illumination, un âge plus avancé était toujours associé à un DSM plus hâtif.

Dans les pages qui suivent, la discussion sera articulée autour des relations dont il vient d'être question. Il s'agira de les approfondir davantage et de les situer dans un contexte théorique et méthodologique.

Relation entre l'âge et la phase circadienne de l'horloge biologique

Avance de phase de l'horloge biologique dès le milieu de l'âge adulte

Les résultats de cette étude corroborent une avance de phase des rythmes circadiens accompagnant le vieillissement (Carrier et al., 1999; Duffy et al., 1998; Lieberman et al., 1989; Van Cauter et al., 1996). Plus précisément, ils confirment qu'un signal plus hâtif provenant de l'horloge biologique tel que mesuré par la mélatonine salivaire apparaît dès le milieu de l'âge adulte (Carrier et al., 2002). Bien que certaines études aient rapporté une avance de phase du rythme circadien de la mélatonine chez les personnes âgées (Yoon et al., 2003; Duffy et al., 2002b) d'une magnitude semblable à celle rapportée dans le cas présent, peu se sont attardées à la condition circadienne de cette hormone chez les personnes entre 40-60 ans. Pourtant, l'étude d'un tel groupe d'âge en comparaison avec des sujets jeunes contribue à l'identification du moment de l'apparition des modifications circadiennes au cours de la vie adulte et pourrait conduire à une meilleure compréhension des mécanismes qui sont à l'origine de ces changements. Une des seules études ayant comparé le rythme circadien de la mélatonine salivaire chez des sujets jeunes et au milieu de l'âge adulte a récemment

rapporté une acrophase similaire dans les deux groupes (Zhou et al., 2003). Cependant, dans cette étude, l'échantillonnage salivaire se faisait dans l'environnement naturel des sujets. Tel que déjà mentionné auparavant, les variations de l'exposition lumineuse et de la posture, dans de telles conditions expérimentales, entraînent des effets masquants qui peuvent compromettre la précision de l'estimation de la phase circadienne de la mélatonine.

Relation entre la saisonnalité et les rythmes biologiques: facteur confondant?

Sachant que les sujets jeunes ont eu tendance à participer au présent protocole de recherche davantage l'été par rapport aux sujets d'âge moyen, l'influence saisonnière potentielle, découlant de cette particularité, devait être abordée.

Le changement de saison est discerné par les mammifères grâce à la capacité de leur système circadien à détecter un changement de photopériode (durée du jour entre le lever et le coucher du soleil) et à transférer cette information à l'organisme en ajustant la durée de la sécrétion de mélatonine (Wehr 2001b). Conséquemment, celle-ci devient plus longue en hiver et plus courte en été (Matthews et al., 1991) ce qui permet la régulation du comportement saisonnier tel que la respiration, la migration ou l'hibernation. En laboratoire, lors de simulations de photopériodes de durées différentes, l'être humain présente cette même relation inverse entre la durée

du jour artificiel et celle de la sécrétion de mélatonine (Wehr et al., 1993). Les résultats sont moins consistants lors d'études dans l'environnement naturel où le recours courant à la lumière artificielle modifie considérablement la photopériode naturelle. Des différences saisonnières dans la durée de la sécrétion de mélatonine ont été relevées surtout lors d'études conduites à de hautes latitudes (voir revue dans Wehr 2001b). Aussi, indépendamment de la latitude, certains auteurs ont rapporté une avance de phase du point milieu de la sécrétion de la mélatonine en été par rapport à l'hiver (Wehr et al., 1995; Broadway et al., 1987; Honma et al., 1992; Illnerová et al., 1985)

Dans la présente étude, la probabilité d'un impact saisonnier est peu plausible puisque les deux groupes ne présentaient pas de différence de photopériode à la participation. Ensuite, des corrélations ont confirmé qu'il n'y avait aucune relation significative entre la photopériode et l'âge, ni entre la photopériode et le DSM pour l'ensemble des sujets, de même que pour chaque groupe séparé. Finalement, si ces analyses n'étaient pas prises en compte et qu'il était hypothétiquement considéré qu'une influence saisonnière a effectivement eu lieu, ceci viendrait réaffirmer encore davantage les résultats obtenus dans cette étude. En effet, les sujets plus âgés ayant eu tendance à participer au protocole surtout l'hiver lors d'une photopériode, en théorie, plus courte, devraient présenter une exposition lumineuse matinale moindre par rapport aux sujets jeunes. De plus, comme mentionné plus tôt, un délai de la phase circadienne serait observé l'hiver comparativement à l'été (Wehr et al., 1995; Broadway et al., 1987; Honma et al., 1992; Illnerová

et al., 1985). Une telle situation encouragerait, en fait, des résultats inverses à ceux obtenus, tant en ce qui concerne la phase que de l'exposition lumineuse.

Relation entre l'âge et l'exposition à la lumière

Absence d'association entre le vieillissement et le temps moyen passé à différentes intensités lumineuses

Antérieurement, plusieurs études portant sur les changements d'exposition à la lumière associés au vieillissement divisaient l'illumination reçue en différentes catégories et s'intéressaient presque exclusivement à celle de grande intensité (1000 lux et plus). Ainsi, certains auteurs ont relevé que les jeunes adultes passaient significativement plus de temps quotidiennement en lumière vive que les personnes âgées en santé : près de 1.7-1.9 heures pour le premier groupe par rapport à 0.6-0.8 heure pour le second (Sanchez et al., 1993; Mishima et al., 2001). Bien que d'autres auteurs aient rapporté une exposition à la lumière vive par jour en moyenne de 1.5 heures chez les sujets jeunes (Savides et al., 1986) comparativement à 1.0 heure chez les sujets âgés et 0.5 chez les patients souffrant Alzheimer (Campbell et al., 1988), ils n'ont pas trouvé de relation significative entre l'âge et la durée de l'exposition à cette intensité lumineuse (Campbell et al., 1988). Dans la présente étude, autant les sujets jeunes que les sujets de 40-60 ans ont démontré une exposition d'environ 1.5 heures à une luminosité de 1000

lux et plus. Aucune relation n'a été détectée entre l'âge et le temps passé à n'importe laquelle des quatre catégories lumineuses évaluées. Puisque seulement la lumière naturelle extérieure peut s'avérer supérieure à 1000 lux, la ressemblance de l'exposition lumineuse à cette intensité entre les sujets jeunes et au milieu de l'âge adulte peut refléter des occupations journalières similaires. Il est concevable qu'avec un âge plus avancé encore cette ressemblance puisse se dissiper et entraîner une exposition inférieure à la lumière vive telle que présentée un peu plus tôt dans les études sur le sujet. Il est à noter qu'une autre étude ayant évalué l'exposition lumineuse naturelle des adultes entre 40-64 ans a évalué leur exposition quotidienne moyenne à la lumière vive à environ 1.0 heure (Espiritu et al., 1994). Cependant, la sélection du groupe de sujets à l'étude s'est déroulée sans tenir compte de la santé physique et psychologique des personnes recrutées.

Association entre l'âge et le profil d'exposition habituelle à la lumière

La présente étude est une des premières à mettre clairement en évidence l'importance d'un choix approprié d'analyses afin d'évaluer l'exposition à la lumière dans l'environnement naturel. En effet, contrairement aux analyses avec les différentes catégories d'intensités lumineuses, celles avec les patrons lumineux ont révélé une relation significative entre l'âge et l'illumination: un âge plus avancé a été associé à une intensité lumineuse plus basse la nuit et plus élevée le matin. Ces résultats se sont avérés davantage consistants et robustes lorsque des intensités relatives de lumière

(pourcentages de la moyenne) par rapport à des niveaux lumineux absolus ont été utilisées pour les analyses. Ce type d'approche méthodologique permet non seulement de diminuer considérablement les effets confondants de la variabilité inter-individuelle, mais aussi de distinguer les différences de distribution de l'illumination. Ainsi, il a été possible dans la présente étude de mettre en évidence une distinction pour l'illumination matinale et nocturne, malgré une quantité lumineuse globale équivalente. Ajoutons qu'il a été démontré que l'intensité lumineuse serait interprétée non pas de façon absolue, mais plutôt en comparaison avec les autres intensités reçues dans les 24 heures (Dumont et al., 2001; Jewett et al., 1997) ou jours précédents (Hebert et al., 2002; Smith et al., 2004). Par conséquent, une représentation de la lumière reçue de façon relative pourrait s'avérer plus appropriée pour les analyses impliquant des profils d'exposition lumineuse. Le fait que la relation entre le DSM et l'exposition à la lumière soit inexistante lors de l'utilisation des données absolues de lumière, mais qu'elle soit clairement présente lorsque les analyses ont été effectuées avec les valeurs lumineuses relatives corrobore cette suggestion (cette relation fera l'objet d'une section ultérieure).

Explication de la relation entre l'âge et le profil d'exposition à la lumière par l'heure de lever habituelle

Il a été démontré que la relation entre l'âge et le profil d'exposition à la lumière, présentée dans la section précédente, constituait principalement une

conséquence de la différence d'heure de lever habituelle associée au vieillissement. En effet, lorsque les effets attribués à l'heure de lever étaient éliminés, la relation entre l'âge et l'exposition relative à la lumière n'était plus significative. Autrement dit, ce sont les effets de l'âge sur l'heure de lever habituelle qui étaient responsables de l'association significative entre l'âge et le profil d'exposition à la lumière. L'heure habituelle de lever était tout simplement une variable confondante dans la relation entre l'âge et l'exposition relative à la lumière. Les personnes plus âgées entretiennent donc la même relation de phase que les plus jeunes entre leur cycle éveil-sommeil et leur exposition relative à la lumière.

Relation entre l'âge, la phase circadienne et l'exposition à la lumière

Explication de la relation entre la phase circadienne et le profil d'exposition à la lumière par l'âge

Un âge plus avancé ainsi qu'un DSM plus hâtif était, tous deux, associés à un pourcentage plus élevé de lumière le matin et moindre en fin de soirée/début de nuit. En dépit de cette ressemblance, les corrélations partielles ont révélé que la relation entre l'âge et le DSM persistait même après avoir contrôlé pour les effets de l'exposition lumineuse. En d'autres mots, l'avance de phase circadienne des sujets plus âgés ne peut être expliquée uniquement par l'avance de phase de leur profil d'exposition à la lumière. D'un autre côté, la relation entre le DSM et les patrons d'exposition à

la lumière n'était plus significative lorsque les effets attribués à l'âge étaient éliminés. Il semblerait donc que dans cet ensemble de données, les différences de l'exposition lumineuse soient spécifiquement associées à l'âge et non pas à la phase circadienne. Ces résultats corroborent ceux d'une récente étude qui a comparé l'acrophase de l'illumination et le DSM urinaire entre des sujets jeunes et des sujets âgés entre 60-75 ans. Cette étude a démontré une avance de phase du moment de l'exposition maximale à la lumière et du DSM urinaire chez les adultes plus âgés. Cependant, la relation entre ces deux paramètres n'a pas été évaluée (Yoon et al., 2003).

Il faut préciser qu'il est tout de même surprenant qu'il n'y ait plus de relation entre le DSM et les patrons d'exposition à la lumière suite au contrôle des effets attribués à l'âge. Dans cet ordre d'idées, il faut considérer que la différence de phase à expliquer par l'exposition lumineuse est, somme toute, limitée dans la présente étude. En effet, dans un groupe de sujets qui démontreraient des variations de l'exposition lumineuse et de la phase plus importantes, cette relation serait probablement maintenue. Il semblerait qu'aucune recherche ne se soit penchée sur la question, mais une étude composée de sujets aux chronotypes extrêmes pourrait sûrement amener des pistes de réponse. Il faut aussi tenir compte des limites de la présente étude dans l'interprétation de ces résultats. Tout d'abord, bien que l'actigraphie constitue un outil inestimable pour l'étude ambulatoire de l'exposition lumineuse, il faut réaliser qu'elle ne permet pas de connaître la quantité exacte de lumière atteignant la rétine. De plus, malgré des

instructions claires à l'intention des sujets indiquant de porter le moniteur par-dessus leurs vêtements et un effort considérable afin d'éliminer la présence de mesures lumineuses invalides avant les analyses, la présence involontaire de telles données ne peut être exclue. Sans compter que des facteurs tels que le port de lunettes de soleil ou la fermeture des paupières peuvent modifier la lumière atteignant l'œil.

Absence d'explication de l'avance de phase circadienne par le profil d'exposition à la lumière

Lorsqu'il est question des changements circadiens accompagnant le vieillissement, non seulement de l'avance de phase, mais aussi des autres transformations circadiennes exprimées auparavant, les auteurs postulent souvent que les conséquences dégénératives normales de la vieillesse (détérioration de la rétine, dégradation des NSC ou de la glande pinéale, détérioration des connections neuronales etc.) pourraient, du moins en partie, en constituer l'origine. Ajoutons que les recherches sur le sujet sont confrontées à des variables confondantes difficiles à contourner provenant de maladies courantes ou de la médication non rare chez des participants âgés. Certaines études ont tenté de surmonter ce défi méthodologique en recrutant des sujets âgés démontrant un vieillissement « supra-normal ». Dans cet ordre d'idées, les expérimentations incluant des sujets au milieu de l'âge adulte contribuent non seulement à l'identification du moment de l'apparition des modifications circadiennes au cours du vieillissement, mais aussi à

l'étude de ces transformations sans influence indésirable d'éléments dont il vient d'être question. Ainsi, les sujets entre 40 et 60 ans de cette étude étaient tous en excellente santé physique et psychologique, ne rapportaient aucune plainte de sommeil, ne présentaient pas de différence d'amplitude de la sécrétion de mélatonine, ni de différence d'angle de phase entre le DSM et le cycle éveil-sommeil (résultats présentés en annexe), mais démontraient pourtant une avance de phase du DSM, du cycle éveil-sommeil ainsi que du profil d'exposition lumineuse par rapport aux sujets jeunes. Ensemble, ces résultats appellent à une réflexion sur, entre autres, la possibilité d'une distinction au niveau des mécanismes qui sous-tendent les différents changements circadiens avec l'âge ainsi que sur l'éventualité d'une chronologie dans l'apparition de ces transformations accompagnée d'une gradation des symptômes apparents.

Rappelons que les résultats de la présente étude ont démontré que l'avance de phase du patron d'exposition lumineuse au milieu de l'âge adulte ne pouvait, à elle seule, expliquer les modifications circadiennes associées au vieillissement. Comme il a déjà été mentionné, les mécanismes qui sont à la base de l'avance de phase des rythmes circadiens avec l'âge sont, encore à l'heure actuelle, inconnus. Une période plus courte du signal circadien endogène de l'horloge biologique pourrait se manifester par une avance de phase des rythmes circadiens. Selon de récentes études sur l'humain, il n'y aurait pas de raccourcissement avec l'âge de la période circadienne endogène qui pourrait expliquer une différence dans la phase circadienne

(revue dans Dijk et al., 2000; Czeisler et al., 1999a; Kendall et al., 2001). D'autres auteurs ont proposé une possible association entre l'avance de phase et une modification avec l'âge de la capacité de l'oscillateur circadien à entraîner un changement de phase en réponse au cycle lumière-obscurité. (Par exemple un accroissement dans la capacité d'effectuer une avance de phase suite à une exposition lumineuse matinale pourrait expliquer les changements circadiens accompagnant le vieillissement.) Une étude a comparé les effets de 3 jours consécutifs d'exposition à la lumière vive (5 heures) sur le changement de phase chez des sujets jeunes et âgés. Les délais de phase ne différaient pas entre les deux groupes d'âge, mais les participants âgés ont présenté cependant des avances de phase atténuées (Klerman et al., 2001). Ces résultats ne peuvent donc pas expliquer l'avance de phase de l'horloge circadienne chez les personnes plus âgées. Il a aussi été rapporté que la sensibilité du système circadien telle que mesurée par le pourcentage de mélatonine supprimée par la lumière blanche n'est pas affectée par l'âge chez des individus en santé. Effectivement, une étude a démontré qu'après une exposition de 200 lux entre minuit et 01:00 chevauchée par 3 heures de noirceur (21:00-02:30), les sujets plus âgés ne montraient pas de différence significative du pourcentage de mélatonine supprimée en comparaison avec les participants plus jeunes (Nathan et al., 1999). Plus récemment, une étude a évalué l'effet de l'âge sur la capacité de supprimer la mélatonine par une lumière de courte (456 nm) et moyenne longueur d'onde (548 nm) (Herljevic et al., 2005). Rappelons que le système circadien semble posséder une sensibilité plus grande à une lumière de

courte longueur d'onde. Suite à une exposition lumineuse de courte longueur d'onde pendant 30 minutes entre 2.5-4.5 heures avant l'acrophase de la mélatonine, les sujets plus vieux démontraient une suppression de mélatonine significativement plus faible que les sujets plus jeunes. L'exposition lumineuse de longueur d'onde moyenne n'entraînait pas de différences de suppression de mélatonine avec l'âge. Cette étude a été la première à rapporter une différence de sensibilité de l'horloge biologique à une lumière de courte longueur d'onde accompagnant le vieillissement. Les auteurs soulèvent la nécessité d'évaluer la quantité minimale essentielle afin de maintenir une synchronisation adéquate chez les personnes âgées. Rajoutons qu'il serait important ensuite de vérifier si ce minimum est présent dans l'exposition lumineuse dans l'environnement naturel des individus plus âgés. Avant d'expliquer formellement l'avance de phase des rythmes circadiens accompagnant le vieillissement par un changement de la sensibilité de l'horloge biologique, non seulement les résultats de la dernière étude devront être corroborés, mais d'autres expérimentations évaluant l'exposition lumineuse à différentes longueurs d'onde de façon ambulatoire chez des personnes jeunes et plus âgées seraient adéquates.

Il est aussi possible que la différence de phase circadienne des personnes plus âgées puisse être la conséquence de l'influence de l'âge sur d'autres *zeitgebers*. Par exemple, il a été démontré que l'activité physique pouvait entraîner des changements de phase (Van Reeth et al., 1994) et elle ferait partie, selon certains auteurs, des synchroniseurs circadiens externes non photoniques (Klerman et al., 1998). Une étude a rapporté une corrélation

entre l'acrophase du profil de l'activité et celui de la lumière. Ainsi, les sujets présentant une acrophase de leur patron lumineux plus tôt dans la journée montraient aussi une acrophase plus hâtive de leur rythme d'activité (Shochat et al., 2000). Puisque, dans la présente étude, les sujets plus âgés démontraient un profil d'exposition à la lumière plus avancée que les plus jeunes, il serait réaliste de croire que leur rythme d'activité se présenterait pareillement plus tôt, ce qui pourrait expliquer ou du moins contribuer à l'avance de phase du rythme circadien de la mélatonine. Le comportement humain est grandement influencé par les demandes psychosociales: horaire de travail, événement sociaux, exigences familiales (Dijk et al., 2000). Celles-ci entraînent probablement des modifications des heures de lever et de coucher. Il semblerait que le cycle éveil-sommeil ait aussi un rôle à jouer en tant que *zeitgeber*. Une étude a démontré une avance de phase des rythmes de mélatonine et de température limitée, mais significative, suite à l'avancement de la période de sommeil (Danilenko et al., 2003). Une autre expérimentation a rapporté que des heures de coucher plus tardives entraînaient un délai de phase du DSM par rapport à des heures de coucher plus hâtives et ce malgré des heures de lever fixes (Burgess & Eastman 2004). Il est donc possible que l'avance de phase du cycle éveil-sommeil présentée par les participants plus âgés de la présente étude puisse participer à l'explication d'une avance de phase du DSM. Il est clair que des *zeitgebers* tels que l'activité et le cycle éveil-sommeil engendrent en laboratoire des effets bien plus faible que la lumière, mais ils possèdent tout de même un certain impact synchroniseur comme démontré par certaines

études (Klerman et al., 1998; Emens et al., 2005) La combinaison des effets synchroniseurs de plusieurs *zeitgebers* subtils (ceux déjà nommés, mais d'autres aussi tels que les heures des repas) pourraient possiblement présenter leur part de responsabilité en milieu naturel dans l'avance de phase circadienne accompagnant le vieillissement.

L'avance de phase circadienne accompagnant le vieillissement peut également avoir comme origine une source endogène tel qu'un changement dans l'expression génétique circadienne ou dans la neurotransmission comme démontré chez les animaux (Benloucif et al., 1996; Driver 2000; Duncan et al., 2000). Il ne peut être exclu que de telles modifications apparaissent dès le milieu de l'âge adulte.

Un autre mécanisme dont il n'a pas encore été question pourrait influencer la phase circadienne des personnes plus âgées. En effet, certains indices portent à croire que les individus âgés présenteraient une atténuation de leur processus homéostatique (Brendel et al., 1990; Bonnet 1989). Des études ont rapporté que déjà des personnes entre 40-60 ans par rapport à des individus plus jeunes pourraient montrer cette modification (Carrier et al., 2001; Gaudreau et al., 2001). Comme il a été expliqué plus tôt, l'interaction entre le processus C et S permet, entre autres, de consolider et maintenir le sommeil. Il se peut que le changement du processus S accompagnant le vieillissement puisse se manifester par une pression homéostatique plus faible à la fin de la période d'éveil ou encore par un déclin plus rapide de

cette pression au cours du sommeil. Dans les deux cas, le temps requis afin de dissiper l'intensité du sommeil, au cours de la période de repos, jusqu'à un niveau entraînant l'éveil serait plus court. Ce mécanisme a souvent été utilisé afin de tenter d'expliquer l'avance de phase du cycle éveil-sommeil accompagnant le vieillissement et pourrait donc constituer, du moins, une partie de l'explication de l'avance de phase circadienne des sujets de cette étude.

Finalement, une différence amenée par un âge plus avancé au niveau de l'interaction entre les sources exogènes et endogènes doit aussi être considérée comme base potentielle aux modifications circadiennes accompagnant le vieillissement.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'hypothèse de cette étude qui stipulait qu'un âge plus avancé devait être associé à un DSM plus hâtif, a été confirmée. Effectivement, les résultats de cette expérimentation ont réaffirmé qu'une avance des rythmes circadiens était apparente déjà au milieu de l'âge adulte. Malgré une claire démonstration d'une avance de phase du profil lumineux habituel avec l'âge, cette dernière n'a pas réussi à expliquer entièrement l'avance de phase du rythme circadien de la mélatonine.

Bien que plusieurs pistes aient été proposées, les connaissances actuelles ne permettent pas encore de définir les mécanismes exacts qui sont à la base de l'avance de phase des rythmes circadiens avec l'âge. Dans cet ordre d'idées, d'autres études sont nécessaires afin d'acquérir davantage de notions permettant soit de corroborer des hypothèses sur le sujet déjà existantes, soit d'apporter de nouveaux postulats.

Tout d'abord, il serait adéquat de corroborer les résultats de cette étude en ce qui concerne la relation entre l'âge, l'exposition à la lumière et la phase circadienne en incluant dans le groupe étudié de jeunes adultes et des sujets âgés en bonne santé. L'influence de l'âge sur d'autres *zeitgebers* et leur relation avec la phase circadienne devraient aussi être étudiées. Par exemple, il serait intéressant d'évaluer la relation entre l'âge, le rythme circadien de l'activité et la phase circadienne endogène.

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE

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

Benloucif S, Masana MI, & Dubocovich ML (1996) Light-induced shifts of circadian activity rhythms and immediate early gene expression in the suprachiasmatic nucleus are attenuated in old C3H/HeN mice. *Brain Res* 747:34-42.

Boivin DB, Duffy JF, Kronauer RE, & Czeisler CA (1996) Dose-response relationships for resetting of human circadian clock by light. *Nature* 379:540-542.

Bonnet M (1989) The effect of sleep fragmentation on sleep and performance in younger and older subjects. *Neurobiol Aging* 10:21-25.

Borbely AA (1982) A two-process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol* 1:195-204.

Boulos Z & Rusak B (1982) Circadian phase response curves for dark pulses in the hamster. *J Comp Physiol* 146:417.

Brainard GC, Hanifin JP, Greeson JM, Byrne B, Glickman G, Gerner E, & Rollag MD (2001) Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor. *J Neurosci* 21:6405-6412.

Brendel DH, Reynolds CF, Jennings JR, Hoch CC, Monk TH, Berman SR, Hall FT, Buysse DJ, & Kupfer DJ (1990) Sleep stage physiology, mood, and vigilance responses to total sleep deprivation in healthy 80-year-olds and 20-year-olds. *Psychophysiology* 27:677-685.

Broadway J, Arendt J, & Folkard S (1987) Bright light phase shifts the human melatonin rhythm during the Antarctic winter. *Neurosci Lett* 79:185-189.

Burgess HJ & Eastman CI (2004) Early versus late bedtimes phase shift the human dim light melatonin rhythm despite a fixed morning lights on time. *Neurosci Lett* 356:115-118.

Buxton OM, L'Hermite-Balériaux M, Hirschfeld U, & Van Cauter E (1997) Acute and delayed effects of exercise on human melatonin secretion. *J Biol Rhythms* 12:568-574.

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

Cajochen C, Jewett ME, & Dijk D-J (2003a) Human circadian melatonin rhythm phase delay during a fixed sleep-wake schedule interspersed with nights of sleep deprivation. *J Pineal Res* 35:149-157.

Cajochen C, Krauchi K, & Wirz-Justice A (2003b) Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *J Neuroendocrinol* 15:432-437.

Campbell SS, Kripke DF, Gillin JC, & Hrubovcak JC (1988) Exposure to light in healthy elderly subjects and alzheimer's patients. *Physiol Behav* 42:141-144.

Carrier J, Monk TH, Buysse DJ, & Kupfer DJ (1997a) Sleep and morningness-eveningness in the "middle" years of life (20y-59y). *J Sleep Res* 6:230-237.

Carrier J, & Monk TH (1997b) Estimating the endogenous circadian temperature rhythm without keeping people awake. *J Biol Rhythms* 12:266-277.

Carrier J, Monk TH, Reynolds CFI, Buysse DJ, & Kupfer DJ (1999) Are age differences in sleep due to phase differences in the output of the circadian timing system? *Chronobiol Int* 16:79-91.

Carrier J, Land S, Buysse DJ, Kupfer DJ, & Monk TH (2001) The effects of age and gender on sleep EEG power spectral density in the "middle" years of life (20y-60y). *Psychophysiol* 38:232-242.

Carrier J, Paquet J, Morettini J, & Touchette E (2002) Phase advance of sleep and temperature circadian rhythms in the middle years of life in humans. *Neurosci Lett* 320:1-4.

Cole RJ, Kripke DF, Wisbey J, Mason WJ, Gruen W, Hauri PJ, & Juarez S (1995) Seasonal variation in human illumination exposure at two different latitudes. *J Biol Rhythms* 10:324-334.

Collins KJ, Abdelrahman TA, Goodwin J, & Mctiffin L (1995) Circadian Body Temperatures and the Effects of A Cold Stress in Elderly and Young Subjects. *Age Ageing* 24:485-489.

Conroy RTWL & Mills JN (1970) *Human Circadian Rhythms*, Anonymous London: Churchill.

Czeisler CA, Brown EN, Ronda JM, Kronauer RE, Richardson GS, & Freitag WD (1985) A clinical method to assess the endogenous circadian phase (ECP) of the deep circadian oscillator in man. *Sleep Res* 14:295.

Czeisler CA, Duffy JF, Shanahan TL, Brown EN, Mitchell JF, Rimmer DW, Ronda JM, Silva EJ, Allan JS, Emens JS, Dijk DJ, & Kronauer RE (1999a) Stability, Precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science* 284 :2177-2181.

Czeisler CA, Dumont M, Duffy JF, Steinberg JD, Richardson GS, Brown EN, Sanchez R, Rios CD, & Ronda JM (1992) Association of sleep-wake habits in older people with changes in output of circadian pacemaker. *Lancet* 340:933-936.

Czeisler CA & Khalsa SBS (2000) The human circadian timing system and sleep-wake regulation dans *Principales and practice of sleep medicine*. Sanders: Philadelphia 3rd:353-375.

Czeisler CA, Kronauer RW, Allan JS, Duffy JF, Jewett ME, Brown EN, & Ronda JM (1989) Bright light induction of strong (Type 0) resetting of the human circadian pacemaker. *Science* 244:1328-1333.

Czeisler CA, Weitzman ED, Moore-Ede MC, Zimmerman JC, & Knauer RS (1980) Human sleep: Its duration and organization depend on its circadian phase. *Science* 210:1264-1267.

Czeisler CA & Wright Jr KP (1999b) Influence of light on circadian rhythmicity in humans dans *Regulation od sleep and circadian rhythms*. Dekker: New-York 149-180.

Dai J, Van der Vliet J, Swaab DF, & Buijs RM (1998) Human retinohypothalamic tract as revealed by in vitro postmortem tracing. *J Comp Neurol* 397:357-370.

Daily GC & Ehrlich PR (1996) Nocturnality and species survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:11709-11712.

Danilenko KV, Cajochen C, & Wirz-Justice A (2003) Is sleep per se a Zeitgeber in humans. *J Biol Rhythms* 18:170-178.

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

DeCoursey PJ, Walker JK, & Smith SA (2000) A circadian pacemaker in free-living chipmunks: essential for survival? *Journal of Comparative Physiology A-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology* 186:169-180.

Dijk DJ, Duffy JF, & Czeisler CA (1992) Circadian and sleep/wake dependent aspects of subjective alertness and cognitive performance. *J Sleep Res* 1:112-117.

Dijk DJ & Czeisler CA (1994) Paradoxical timing of the circadian rhythm of sleep propensity serves to consolidate sleep and wakefulness in humans. *Neurosci Lett* 166:63-68.

Dijk DJ & Czeisler CA (1995) Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure,

electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in humans. *J Neurosci* 15:3526-3538.

Dijk D-J & Duffy JF (1999) Circadian regulation of human sleep and age-related changes in its timing, consolidation and EEG characteristics. *Ann Med* 31:130-140.

Dijk DJ, Duffy JF, & Czeisler CA (2000) Contribution of circadian physiology and sleep homeostasis to age-related changes in human sleep. *Chronobiol Int* 285-311.

Driver C (2000) The circadian clock in old *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology* 1:157-162.

Dubocovich ML & Takahashi JS (2005) Use of 2-[125I]iodomelatonin to characterize melatonin binding sites in chicken retina. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84:3916-3920.

Duffy JF & Dijk DJ (2002a) Getting through to circadian oscillators: why use constant routines. *J Biol Rhythms* 17:4-13.

Duffy JF, Dijk D-J, Klerman EB, & Czeisler CA (1997) Altered phase relationship between body temperature cycle and habitual awakening in older subjects. *Sleep Res* 26:711.

Duffy JF, Dijk D-J, Klerman EB, & Czeisler CA (1998) Later endogenous circadian temperature nadir relative to an earlier wake time in older people. *Am J Physiol* 275:R1478-R1487.

Duffy JF, Kronauer RE, & Czeisler CA (1996) Phase-shifting human circadian rhythms: influence of sleep timing, social contact and light exposure. *J Physiol* 495:289-297.

Duffy JF, Zeitzer JM, Rimmer DW, Klerman EB, Dijk DJ, & Czeisler CA (2002b) Peak of circadian melatonin rhythm occurs later within the sleep of older subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282:E297-E303.

Dumont M, Benhaberou-Brun D, & Paquet J (2001) Profile of 24-h light exposure and circadian phase of melatonin secretion in night workers. *J Biol Rhythms* 16:502-511.

Duncan MJ, Crafton CJ, & Wheeler DL (2000) Aging regulates 5-HT_{1b} receptors and serotonin reuptake sites in the SCN. *Brain Res* 856:213-219.

Edmunds Jr LN (1988) Cellular and molecular bases of biological clocks: models and mechanisms for circadian timekeeping. Springer-Verlag: New-York .

Emens JS, Lewy AJ, Lefter BJ, & Sack RL (2005) Relative coordination to unknown "weak zeitgebers" in free-running blind individuals. *J Biol Rhythms* 20:159-167.

Espiritu RC, Kripke DF, Ancoli-Israel S, Mowen MA, Mason WJ, Fell RL, Klauber MR, & Kaplan OJ (1994) Low illumination experienced by San Diego adults: Association with atypical depressive symptoms. *Biol Psychiatry* 35:403-407.

Ferrari E, Arcaini A, Gomati R, Pelanconi L, Cravello L, Fioravanti M, Solerte SB, & Magri F (2000) Pineal and pituitary-adrenocortical function in physiological aging and in senile dementia. *Exp Gerontol* 35:1239-1250.

Folkard S, Minors DS, & Waterhouse JM (1991) "Demasking" the temperature rhythm after simulated time zone transitions. *J Biol Rhythms* 6:81-91.

Gaudreau H, Morettini J, Lavoie HB, & Carrier J (2001) Effects of a 25-h sleep deprivation on daytime sleep in the middle-aged. *Neurobiol Aging* 22:416-468.

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

Guillemette J, Hébert M, Paquet J, & Dumont M (1998) Natural bright light exposure in the summer and winter in subjects with and without complaints of seasonal mood variations. *Biol Psychiatry* 44:622-628.

Hashimoto S, Kohsaka M, Nakamura K, Honma H, Honma S, & Honma KI (1997) Midday exposure to bright light changes the circadian organization of plasma melatonin rhythms in humans. *Neurosci Lett* 221:89-92.

Haskell EH, Palca JW, Walker JM, Berger RJ, & Heller HC (1981) Metabolism and thermoregulation during stages of sleep in humans exposed to heat and cold. *J Appl Physiol* 51:948-954.

Hattar S, Liao H-W, Takao M, Berson DM, & Yau K-W (2002) Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 295:1065-1070.

Hebert M, Martin SK, Lee C, & Eastman CI (2002) The effects of prior light history on the suppression of melatonin by light in humans. *J Pineal Res* 33:1-6.

Hofman MA, Fliers E, Goudsmit E, & Swaab DF (1988) Morphometric analysis of the suprachiasmatic and paraventricular nuclei in the human brain: sex differences and age-dependent changes. *J Anat* 160:127-143.

Honma K, Honma S, Kohsaka M, & Fukuda N (1992) Seasonal variation in the human circadian rhythm: dissociation between sleep and temperature rhythm. *Am J Physiol* 262:R885-R891.

Hufeland CW (1797) *Makrobiotik, the art of prolonging life*. Bell: London.

Illnerová H, Zvolsky P, & Vanecek 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.

Inouye ST & Kawamura H (1979) Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76:5962-5966.

Ishihara K, Miyake S, Miyasita A, & Miyata Y (1991) Morningness-eveningness preference and sleep habits in Japanese office workers of different ages. *Chronobiologia* 18:9-16.

Jean-Louis G, Kripke DF, Ancoli-Israel S, Klauber MR, & Sepulveda RS (2000a) Sleep duration, illumination, and activity patterns in a population sample: effects of gender and ethnicity. *Biol Psychiatry* 47:921-927.

Jean-Louis G, Kripke DF, Ancoli-Israel S, Klauber MR, Sepulveda RS, Mowen MA, Assmus JD, & Langer RD (2000b) Circadian sleep, illumination,

and activity patterns in women: influences of aging and time reference. *Physiol Behav* 68:347-352.

Jewett ME, Kronauer RE, & Czeisler CA (1994) Phase-amplitude resetting of the human circadian pacemaker via bright light: a further analysis. *J Biol Rhythms* 9:295-314.

Jewett ME, Rimmer DW, Duffy JF, Klerman EB, Kronauer RE, & Czeisler CA (1997) Human circadian pacemaker is sensitive to light throughout subjective day without evidence of transients. *Am J Physiol* 273:R1800-R1809.

Kalsbeek A, Garidou ML, Palm IF, Van Der Vliet J, Simonneau V, Pévet P & Buijs RM (2000) Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *Eur J Neurosci* 12:3146-3154.

Kendall AR, Lewy AJ, & Sack RL (2001) Effects of aging on the intrinsic circadian period of totally blind humans. *J Biol Rhythms* 16:87-95.

Khalsa SB, Jewett ME, Cajochen C, & Czeisler CA (2003) A phase-response curve to single bright light pulses in human subjects. *J Physiol* 549:945-952.

Klein DC, Moore RY, & Reppert SM (1991) *Suprachiasmatic Nucleus: the mind's clock* Oxford University Press: New-York.

Klerman EB, Duffy JF, Dijk DJ, & Czeisler CA (2001) Circadian phase resetting in older people by ocular bright light exposure. *Journal of Investigative Medicine* 49:30-40.

Klerman EB, Rimmer DW, Dijk DJ, Kronauer RE, Rizzo III JF, & Czeisler CA (1998) Nonphotic entrainment of the human circadian pacemaker. *American Journal of Physiology: Regulative, Integrative and Comparative Physiology* 274:R991-R996.

Laffan AM & Duffy JF (2002) Light exposure patterns in healthy young and older adults. *Sleep* 25:A307-A308.

Lavie P (2001) Sleep-wake as a biological rhythm. *Annu Rev Psychol* 52:277-303.

Lerner AB, Case JD, & Heinzelman RV (1959) Structure of melatonin. *J Am Chem Soc* 81:6084-6085.

Lewy AJ, Ahmed S, Latham Jackson JM, & Sack RL (1992) Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase- response curve. *Chronobiol Int* 9:380-392.

Lewy AJ, Bauer VK, Ahmed S, Thomas KH, Cutler NL, Singer CM, Moffit MT, & Sack RL (1998) The human phase response curve (PRC) to melatonin is about 12 hours out of phase with the PRC to light. *Chronobiol Int* 15:71-83.

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

Lieberman HR, Wurtman JJ, & Teicher MH (1989) Circadian rhythms of activity in healthy young and elderly humans. *Neurobiol Aging* 10:259-265.

Lucas RJ, Freedman MS, Lupi D, Munoz M, David-Gray ZK, & Foster RG (2001) Identifying the photoreceptive inputs to the mammalian circadian system using transgenic and retinally degenerate mice. *Behav Brain Res* 125:97-102.

Lydic R, Schoene WC, Czeisler CA, & Moore-Ede MC (1980) Suprachiasmatic region of the human hypothalamus: Homolog to the primate circadian pacemaker? *Sleep* 2:355-361.

Macchi MM & Bruce JN (2004) Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 25:177-195.

Matthews CD, Guerin MV, & Wang X (1991) Human plasma melatonin and urinary 6-sulphatoxy melatonin: studies in natural annual photoperiod and in extended darkness. *Clin Endocrinol* 35:21-27.

Meijer JH & Rietveld WJ (1989) Neurophysiology of the suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents. *Physiol Rev* 69:671-707.

Mills JN, Minors DS, & Waterhouse JM (1978) Adaptation to abrupt time shifts of the oscillator(s) controlling human circadian rhythms. *J Physiol* 285:455-470.

Minors D & Waterhouse J (1989) Masking in humans: The problem and some attempts to solve it. *Chronobiol Int* 6:29-53.

Minors DS & Waterhouse JM (1991a) Endogenous and exogenous components of circadian rhythms when living on a 21-hour day. *Int J Chronobiol* 8:31-48.

Minors DS & Waterhouse JM (1992) Investigating the endogenous component of human circadian rhythms: A review of some simple alternatives to constant routines (review). *Chronobiol Int* 9:55-78.

Minors DS, Waterhouse JM, & Wirz-Justice A (1991b) A human phase-response curve to light. *Neurosci Lett* 133:36-40.

Mishima K, Okawa M, Shimizu T, & Hishikawa Y (2001) Diminished melatonin secretion in the elderly caused by insufficient environmental illumination. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 86:129-134.

Monk TH, Buysse DJ, Reynolds CF, Kupfer DJ, & Houck PR (1996) Subjective alertness rhythms in elderly people. *J Biol Rhythms* 11:268-276.

Monteleone P, Fuschino A, Nofle G, & Maj M (1992) Temporal Relationship Between Melatonin and Cortisol Responses to Nighttime Physical Stress in Humans. *Psychoneuroendocrinology* 17:81-86.

Monk TH, Buysse DJ, Reynolds CF III, Kupfer DJ, Houck PR. (1995) Circadian temperature rhythms of older people. *Exp Gerontol* 30:455-474.

Moore RY (1972) A retinohypothalamic projection in the rat. *J Comp Neurol* 146:1-14.

Moore RY (1996) Entrainment pathways and the functional organization of the circadian system. *Prog Brain Res* 111:103-119.

Moore RY & Eichler VB (1972) Loss of circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res* 42:201-206.

Myers BL & Badia P (1995) Changes in circadian rhythms and sleep quality with aging: Mechanisms and interventions. *Neurosci Biobehav Rev* 19:553-571.

Nathan PJ, Burrows GD, & Norman TR (1999) The effect of age and pre-light melatonin concentration on the melatonin sensitivity to dim light. *Int Clin Psychopharmacol* 14:189-192.

Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Pévet P & Buijs RM (2004) Glutamatergic clock output stimulates melatonin synthesis at night. *Eur J Neurosci* 19:318-324.

Pittendrigh CS (1993) Temporal Organization - Reflections of A Darwinian Clock-Watcher. *Annu Rev Physiol* 55:16-54.

Pontoire C, Bernard M, Silvain C, Collin JP, & Voisin P (1993) Characterization of melatonin binding sites in chicken and human intestines. *Eur J Pharmacol* 247:111-118.

Provencio I, Rodriguez IR, Jiang G, Hayes WP, Moreira EF, & Rollag MD (2000) A novel human opsin in the inner retina. *J Neurosci* 20:600-605.

Ralph MR & Lehman MN (1991) Transplantation: a new tool in the analysis of the mammalian hypothalamic circadian pacemaker. *Trends Neurosci* 14:362-366.

Reiter RJ (1991a) Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 12:151-180.

Reiter RJ (1991b) Melatonin: that ubiquitously acting hormone. *News Physiol Sci* 6: 223-227.

Reiter RJ (1995) The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp Gerontol* 30:199-212.

Rollag MD, Berson DM, & Provencio I (2003) Melanopsin, ganglion-cell photoreceptors, and mammalian photoentrainment. *J Biol Rhythms* 18:227-234.

Rusak B & Groos G (1982) Suprachiasmatic stimulation phase shifts rodent circadian rhythms. *Science* 215:1407-1409.

Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, & Singer CM (1986) Human melatonin production decreases with age. *J Pineal Res* 3:379-388.

Sanchez R, Ge Y, & Zee PC (1993) A comparison of the strength of external zeitgebers in young and older adults. *Sleep Res* 22:416.

Savides TJ, Messin S, Senger C, & Kripke DF (1986) Natural light exposure of young adults. *Physiol Behav* 38:571-574.

Shanahan TL & Czeisler CA (1991) Light exposure induces equivalent phase shifts of the endogenous circadian rhythms of circulating plasma melatonin and core body temperature in men. *J Clin Endocrinol Metab* 73:227-235.

Shanahan TL & Czeisler CA (2000) Physiological effects of light on the human circadian pacemaker. *Semin Perinatol* 24:299-321.

Shochat T, Martin J, Marler M, & Ancoli-Israel S (2000) Illumination levels in nursing home patients: effects on sleep and activity rhythms. *J Sleep Res* 9:373-379.

Skene DJ, Lockley SW, Thapan K, & Arendt J (1999) Effects of light on human circadian rhythms. *Reprod Nutr Dev* 39:295-304.

Smith KA, Schoen MW, & Czeisler CA (2004) Adaptation of human pineal melatonin suppression by recent photic history. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3610-3614.

Stankov B, Cozzi B, Lucini V, Fumagalli P, Scaglione F, & Fraschini F (1991) Characterization and mapping of melatonin receptors in the brain of three mammalian species: rabbit, horse and sheep. A comparative in vitro binding study. *Neuroendocrinology* 53:214-221.

Stephan FK & Zucker I (1972) Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 69:1583-1586.

Thapan K, Arendt J, & Skene DJ (2001) An action spectrum for melatonin suppression: evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. *J Physiol* 535:261-267.

Tune GS (1969) The influence of age and temperament on the adult human sleep-wakefulness pattern. *Br J Psychol* 60:431-441.

Turek FW, Zee P, & Van Reeth O (2000) Melatonin and aging. *Melatonin after Four Decades* 435-440.

Van Cauter E, Leproult R, & Kupfer DJ (1996) Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2468-2473.

Van Cauter E & Turek FW (1995) *Endocrine and other biological rhythms*. DeGroot LJ, ed Endocrinology. Sanders: Philadelphia 2487-2548.

Van Coevorden A, Mockel J, Laurent E, Kerkhofs M, Neve P, Van Cauter E, L'Hermite-Baleriaux M, & Decoster C (1991) Neuroendocrine rhythms and sleep in aging men. *Am J Physiol* 260:E651-E661.

Van Reeth O, Sturis J, Byrne MM, Blackman JD, L'Hermite-Balériaux M, Leproult R, Oliner C, Refetoff S, Turek FW, & Van Cauter E (1994) Nocturnal exercise phase delays circadian rhythms of melatonin and thyrotropin secretion in normal men. *Am J Physiol* 266:E964-E974.

Van Someren EJW, Riemersma RF, & Swaab DF (2002) Functional plasticity of the circadian system in old age: light exposure. *Progress Brain Res* 138:205-231.

Vitiello MV, Smallwood RG, Avery DH, Pascualy RA, Martin DC, & Prinz PA (1986) Circadian temperature rhythms in young adult and aged men. *Neurobiol Aging* 7:97-100.

Waterhouse J, Minors D, Folkard S, Owens D, Atkinson G, MacDonald I, Reilly T, Sytnik N, & Tucker P (1998) Light of domestic intensity produces phase shifts of the circadian oscillator in humans. *Neurosci Lett* 245:97-100.

Weaver DR, Stehle JH, Stopa EG, & Reppert SM (1993) Melatonin receptors in human hypothalamus and pituitary: implications for circadian and reproductive responses to melatonin. *J Clin Endocrinol Metab* 76:295-301.

Wehr TA, Aeschbach D, & Duncan WC, Jr. (2001a) Evidence for a biological dawn and dusk in the human circadian timing system. *J Physiol* 535:937-951.

Wehr TA (2001b) Photoperiodism in humans and other primates: Evidence and implications. *J Biol Rhythms* 16:348-364.

Wehr TA, Giesen HA, Moul DE, Turner EH, & Schwartz PJ (1995) Suppression of men's responses to seasonal changes in day length by modern artificial lighting. *Am J Physiol* 269:R173-R178.

Wehr TA, Moul DE, Barbato G, Giesen HA, Seidel JA, Barker C, & Bender C (1993) Conservation of photoperiod-responsive mechanisms in humans. *Am J Physiol* 265:R846-R857.

Weitzman ED, Moline ML, Czeisler CA, & Zimmerman JC (1982) Chronobiology of aging: Temperature, sleep-wake rhythms and entrainment. *Neurobiol Aging* 3:299-309.

Weitzman ED, Weinberg U, D'Eletto R, Lynch H, Wurtman RJ, Czeisler CA, & Erlich S (1978) Studies of the 24 hour rhythm of melatonin in man. *J Neural Transm Suppl* 13:325-337.

Wright Jr KP, Hughes RJ, Kronauer RE, Dijk DJ, & Czeisler CA (2001) Intrinsic near-24-h pacemaker period determines limits of circadian entrainment to a weak synchronizer in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:14027-14032.

Wright HR, Lack LC, & Kennaway DJ (2004) Differential effects of light wavelength in phase advancing the melatonin rhythm. *J Pineal Res* 36:140-144.

Wurtman RJ, Axelrod J, Phillips LS (1963) Melatonin synthesis in the pineal gland: control by light. *Science* 142:1071-3.

Yoon IY, Kripke DF, Elliott JA, Youngstedt SD, Rex KM, & Hauger RL (2003) Age-related changes of circadian rhythms and sleep-wake cycles. *J Am Geriatr Soc* 51:1085-1091.

Youngstedt SD, Kripke DF, & Elliott JA (1998) Melatonin excretion is not related to sleep in the elderly. *J Pineal Res* 24:142-145.

Zaidan R, Geoffriau M, Brun J, Taillard J, Bureau C, Chazot G, & Claustrat B (1994) Melatonin is able to influence its secretion in humans: description of a phase-response curve. *Neuroendocrinology* 60:105-112.

Zeitzer JM, Daniels, JE, Duffy JF, Klerman EB, Shanahan TL, Dijk D-J & Czeisler CA. (1999) Do plasma melatonin concentrations decline with age? *Am J Med* 107:432-436.

Zhou JN, Liu RY, Van Heerikhuize J, Hofman MA, & Swaab DF (2003) Alterations in the circadian rhythm of salivary melatonin begin during middle-age. *J Pineal Res* 34:11-16.

ANNEXES

RESULTATS SUPPLÉMENTAIRES NON PRÉSENTÉS DANS L'ARTICLE

Table 4. Paramètres circadiens^a supplémentaires pour les sujets jeunes et d'âge moyen^{b,c}

	Jeunes (n=16)	Âge moyen (n=21)	<i>t</i>	<i>P</i>
Amplitude de la sécrétion de mélatonine (pg/mL)	16.3 (3.06)	13.30 (2.01)	n.s	n.s
Angle de phase avec l'heure de lever (hrs)	9:40 (00:21)	09:56 (00:17)	n.s	n.s
Angle de phase avec l'heure de coucher (hrs) ^d	01:13 (0:14)	01:21 (0:16)	n.s	n.s

^aMoyenne et écart-type

^bValeurs des corrélations de Pearson avec l'âge sont aussi présentés

^cValeurs des test-t de Student sont aussi présentés

^dJeunes n=15 et Âge moyen n=18

L'amplitude correspond à la concentration de mélatonine (pg/mL) maximale recueillie.

L'angle de phase est défini comme étant l'intervalle de temps (hrs) entre le début de sécrétion de la mélatonine et l'heure de lever ou l'heure de coucher.

DESCRIPTION DE L'APPORT DE CHACUN DES COAUTEURS

Kawinska, A., Dumont, M., Selmaoui, B., Paquet, J., Carrier, J. (2005) Are modifications of melatonin circadian rhythm in the middle years of life related to habitual patterns of light exposure? *Journal of Biological Rhythms* (soumis)

Dans le cadre de cet article, j'ai réalisé la préparation des données ainsi que l'analyse et l'interprétation de ces dernières. Pour ce faire, j'ai développé et élaboré de nouvelles méthodes et standards pour le traitement des données en question. J'étais aussi en charge de l'écriture du manuscrit. Madame Dumont a participé activement dans l'interprétation des résultats et la rédaction de l'article. Monsieur Selmaoui a réalisé les dosages de mélatonine et a participé à l'interprétation des résultats et à la rédaction du manuscrit. Monsieur Paquet a contribué considérablement aux analyses statistiques et à l'interprétation des résultats. Mme Carrier a agi comme chercheure principale dans ce programme de recherche.

ACCORD DES COAUTEURS

1. Identification de l'étudiant et du programme

Nom de l'étudiant : Anna Kawinska

Programme : Maîtrise (MSC) en Sciences Biomédicales

2. Description de l'article

Kawinska, A., Dumont, M., Selmaoui, B., Paquet, J., Carrier, J. (2005) Are modifications of melatonin circadian rhythm in the middle years of life related to habitual patterns of light exposure? *Journal of Biological Rhythms* (soumis)

3. Déclaration de tous les coauteurs autres que l'étudiant

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que Anna Kawinska inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre « Relation entre la phase circadienne de la mélatonine et le profil d'exposition à la lumière chez les personnes d'âge moyen ».

Marie Dumont		6 juin 2005
Coauteur	Signature	Date
Brahim Selmaoui		10 Juin, 2005
Coauteur		Date
Jean Paquet		6 Juin 2005
Coauteur	Signature	Date
Julie Carrier		07/06/2005
Coauteur	Signature	Date

PERMISSION DE L'EDITEUR D'UNE REVUE

Date: Fri, 9 Dec 2005 14:38:37 -0800

De: permissions <permissions@sagepub.com>

À: [REDACTED]

Objet: RE: Permissions

Dear Anna,

Please consider this written permission to use the material, detailed below for your thesis only. Please let me know if you need anything further.

Sincerely,

Anna Clifford
 Permissions & Translations Administrator
 Sage Publications
 2455 Teller Road
 Thousand Oaks, CA 91320
 805-410-7713
 805-376-9562 fax

[REDACTED]

-----Original Message-----

[REDACTED] . [REDACTED]
 [REDACTED] . [REDACTED]
 [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] PM

To: permissions

Subject: Permissions

Email: anna.kawinska@umontreal.ca

 Name: Anna Kawinska
 Affiliation: Université de Montréal, Hôpital du Sacré-Coeur, Centre
 d'étude du sommeil
 Address: 5400 Gouin Ouest
 City: Montreal
 State: Quebec, Canada
 Zip: H4J-1C5
 Phone: (514) 338-2222 3746
 Reference Code:
 Title_of_publication: J Biol Rhythms
 Type_of_publication: Journal
 Type_of_Pub_Other:
 Isbn_issn:
 Pub Date: October, 1 2005
 Volume_Issue: 20/5
 Title_of_Material: Are Modifications of Melatonin Circadian Rhythm
 in the Middle Years of Life Related to Habitual Patterns of Light
 Exposure?
 Authors_of_Material: Anna Kawinska, Marie Dumont, Brahim Selmaoui,
 Jean Paquet, and Julie Carrier

Portion_of_material: entire article
Page_Range: 451-460
Type_of_use: republish in a thesis/dissertation
Type_of_use_Other:
Purpose_of_use: Academic
Distribution_qty: 3
Title_of_your_publication:
Requestor_type_of_publication:
Author_Editor_your_publication:
your_publisher_distributor:
Estimated_pub_date:
Entire_Publication:
Other_Use_of_Material:
Comments: