

Tesis Doctoral con Mención Internacional

**Influencia de la luz y los ritmos
circadianos en tareas de vigilancia**

Autora:

Beatriz Rodríguez Morilla

Directores:

Dr. Ángel Correa Torres (Universidad de Granada)

Dr. Juan Antonio Madrid Pérez (Universidad de Murcia)



Universidad de Granada

2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autora: Beatriz Rodríguez Morilla
ISBN: 978-84-9163-703-5
URI: <http://hdl.handle.net/10481/48878>

Tesis Doctoral presentada por

Beatriz Rodríguez Morilla

para la obtención del Título de Doctor con Mención Internacional por la

Universidad de Granada

Tesis supervisada por:

- Dr. Ángel Correa Torres (Universidad de Granada)
- Dr. Juan Antonio Madrid Pérez (Universidad de Murcia)

Evaluada por los expertos internacionales:

- Dra. Patricia V. Agostino (Universidad de Quilmes, Argentina)
- Dra. M^a Ángeles Bonmatí Carrión (Universidad de Surrey, Reino Unido)

Estancia predoctoral supervisada por:

- Proff. Damien M. G. Beersma



Doctorado Internacional Solicitud de Mención Internacional

D./Dña Beatriz Rodríguez Morilla

Doctorando/a del Programa de Doctorado siguiente:

RD1393-2007

de la Universidad de Granada, manifiesta que ha cumplido y acreditado las condiciones a las que hace referencia el artículo 15 del Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, sobre mención internacional en el título de Doctor, y en base a dicho artículo,

SOLICITA la correspondiente mención internacional en el Título de Doctor o Doctora

Para ello acredita (1):

- Estancia durante 3 meses en (indicar Centro): **University of Goringen (The Netherlands)**
- Fechas de estancia: **15 / 03 / 2015 – 15 / 06 / 2015**
- Certificado de la Estancia
- Informe del experto (indicar nombre y Centro al que pertenece) **Patricia V. Agostino, Universidad de Quilmes (Buenos Aires, Argentina)**
- Informe del experto (indicar nombre y Centro al que pertenece) **M^a Ángeles Bonmatí Carrión, Universidad de Surrey (Reino Unido)**

Granada, 18 de Junio de 2017

Fdo.: Beatriz Rodríguez Morilla

(1) Los documentos a presentar tendrán que ser los originales, no obstante se podrán aportar copias inicialmente y antes de obtener el resguardo del título de doctor/a presentará los originales o copias debidamente compulsadas.

ARTÍCULO 15. MENCIÓN INTERNACIONAL EN EL TÍTULO DE DOCTOR.

1. El título de Doctor o Doctora podrá incluir en su anverso la mención «Doctor internacional», siempre que concurren las siguientes circunstancias:

a) *Que, durante el periodo de formación necesario para la obtención del título de doctor, el doctorando haya realizado una estancia mínima de tres meses fuera de España en una institución de enseñanza superior o centro de investigación de prestigio, cursando estudios o realizando trabajos de investigación.*

La estancia y las actividades han de ser avaladas por el director y autorizadas por la Comisión Académica, y se incorporarán al documento de actividades del doctorando.

b) *Que parte de la tesis doctoral, al menos el resumen y las conclusiones, se haya redactado y sea presentado en una de las lenguas habituales para la comunicación científica en su campo de conocimiento, distinta a cualquiera de las lenguas oficiales en España. Esta norma no será de aplicación cuando las estancias, informes y expertos procedan de un país de habla hispana.*

c) *Que la tesis haya sido informada por un mínimo de dos expertos doctores pertenecientes a alguna institución de educación superior o instituto de investigación no española.*

d) *Que al menos un experto perteneciente a alguna institución de educación superior o centro de investigación no española, con el título de doctor, y distinto del responsable de la estancia mencionada en el apartado a), haya formado parte del tribunal evaluador de la tesis.*

Publicaciones incluidas en la tesis doctoral:

Rodríguez-Morilla B, Madrid JA, Molina E and Correa A (2017): Blue-enriched white light enhances physiological arousal but not behavioral performance during simulated driving at early night. *Frontiers in Psychology*. 8:997. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00997

Índices de calidad:

Cuartil: Q1

Índice de Impacto: 2.323

Índice de contenidos

I. Resumen General	1
1. Resumen general.....	3
2. General abstract.....	10
II. Introducción	17
1. Contextualización	19
2. Sistema circadiano: estructura y organización funcional.....	23
2.1. Marcapasos central y osciladores periféricos	25
2.2. <i>Inputs</i> : vías de entrada	26
2.3. <i>Outputs</i> : vías de salida o ritmos manifiestos	31
2.4. Mecanismos de retroalimentación o <i>feedback</i>	37
3. Ritmos circadianos en el rendimiento cognitivo	38
3.1. Arousal, atención y vigilancia	40
4. Efectos de la luz sobre la alerta y el rendimiento cognitivo	43
III. Planteamiento de la investigación y Objetivos	47
IV. Estudio 1: <i>Validación de un sistema de Monitorización Circadiana Ambulatoria para la detección del sueño patológico</i>	53
1. Introducción	55
2. Método.....	58
3. Resultados	65
4. Discusión	71
V. Estudio 2: <i>Blue-enriched white light enhances physiological arousal but not behavioral performance during simulated driving at early night</i>	75
1. Introduction.....	78
2. Methods	81
3. Results	90
4. Discussion.....	95

VI. Estudio 3: <i>Blue-enriched light enhances alertness but impairs accurate performance in evening chronotypes driving in the morning</i>	101
1. Introduction.....	104
2. Methods	107
3. Results	114
4. Discussion.....	120
VII. Discusión General	125
1. Resumen general de resultados.....	127
2. Aplicación de la monitorización circadiana ambulatoria en el ámbito de la clínica del sueño	128
3. Efectos de la luz sobre la activación fisiológica en distintos momentos subóptimos del día	130
4. Efectos de la luz sobre el rendimiento en vigilancia y conducción en distintos momentos subóptimos del día.....	133
5. Mecanismos subyacentes y factores moduladores de los efectos de la luz en distintos momentos del día	135
6. Propuestas de investigación futura.....	136
VIII. Conclusions	139
Referencias bibliográficas	143

Índice de figuras

Figura 1. Organización general del sistema circadiano humano (modificada de Madrid-Navarro et al., 2015).	24
Figura 2. Vista esquemática de las regiones cerebrales y circuitos implicados en las respuestas no visuales a la luz (modificada de Madrid-Navarro et al., 2015). ..	28
Figura 3. Curva de respuesta de fase a la luz (modificada de Madrid-Navarro et al. 2015).	30
Figura 4. Representación conjunta de los ritmos de temperatura corporal distal, proximal, central, y gradiente distal-proximal (tomada de Krauchi & Deboer, 2010).	33
Figura 5. Dispositivo de Monitorización Circadiana Ambulatoria Kronowise® (Cronolab, Universidad de Murcia).	59
Figura 6. Árbol de decisión para la clasificación de patologías circadianas, de sueño y controles sanos (Estudio 1).....	67
Figura 7. Onda media diaria de temperatura de la muñeca, actividad motora, TAP, sueño estimado y exposición a luz ambiental, en cada una de las tres categorías incluidas en el Estudio 1: controles sanos, insomnio y síndrome de retraso de la fase del sueño (SRFS)	68
Figura 8. Ondas medias diarias de los ritmos de TAP, sueño estimado y exposición a luz ambiental, para los tres subtipos de insomnio y para la comparación entre insomnio de inicio y SRFS	69
Figura 9. Curvas ROC para la categoría de controles (A), insomnio (B) y SRFS (C). 9C: representación de los datos de la matriz de confusión, en función de las variables TAP-RA (de 0 a 1, eje vertical) y TAP-L5h (hora del día, eje horizontal)	71
Figura 10. Simulated driving task display. At the left bottom corner the participants could see the velocity gauge..	83

Figura 11. Spectral distribution of the blue-enriched white (BWL) and orange light (OL) employed in our Study 2.....	85
Figura 12. Schema of the experimental protocol of Study 2	87
Figura 13. Circadian rhythm of wrist temperature averaged across participants during the week prior to the experimental session in Study 2.....	92
Figura 14. Mean distal-proximal temperature gradient (DPG) along the time on task as a function of lighting in Study 2.....	93
Figura 15. Driving task performance: evolution of the position error along the driving task in every experimental condition of Study 2.....	94
Figura 16. Simulated driving task display in Study 3	108
Figura 17. Spectral distribution of the blue-enriched light employed in Study 3 at the corneal level.....	110
Figura 18. Schema of the experimental protocol of Study 3	112
Figura 19. Increments with respect to baseline of the distal-proximal temperature gradient along the driving task, as a function of light condition, in Study 3....	117
Figura 20. Mean RTs in the Psychomotor Vigilance Task (PVT) as a function of lighting condition and time of testing in Study 3	118
Figura 21. RT increments from baseline in the driving task as a function of time on task and lighting condition in Study 3.....	119
Figura 22. Position error increments from baseline as a function of time on task and lighting condition in Study 3	119

I. Resumen General

1. Resumen general

Los ritmos circadianos son las fluctuaciones exhibidas por variables fisiológicas y comportamentales en ciclos de aproximadamente 24 horas de duración. Son el resultado de la adaptación evolutiva al ciclo ambiental día-noche, promoviendo, en los humanos, el sueño durante la fase de oscuridad y las actividades propias de la vigilia durante la fase de luz. Sin embargo, la sociedad actual caracterizada por la oferta de servicios 24 horas al día, 7 días a la semana (sociedad 24/7), promueve la presencia de luz ambiental durante las 24 horas del día, el incremento en el uso de tecnologías, y una elevada incidencia de *jet lag social*, es decir, un desajuste de los ritmos entre el fin de semana y los días laborables (Roenneberg, Wirz-Justice, & Mellow, 2003). Todo ello conlleva una alteración del sistema circadiano y del sueño (Goel, Basner, Rao, & Dinges, 2014). A su vez, la luz ejerce efectos promotores de la vigilia que pueden tener aplicaciones positivas, como incrementar la activación en momentos del día donde su nivel no es óptimo, con el fin de mejorar el rendimiento cognitivo.

La *vigilancia*, es decir, la capacidad de mantener un estado óptimo de alerta para atender y responder al ambiente, es uno de los procesos cognitivos más susceptibles de deterioro a horas subóptimas del día. Por tanto, la conducción de vehículos, dada su alta implicación de la vigilancia durante periodos prolongados de tiempo, ha mostrado un mayor deterioro en las horas cercanas al valor mínimo de temperatura corporal central, según estudios epidemiológicos (revisados por Folkard, 1997) y de laboratorio (Kosmadopoulos et al., 2015).

Correa, Molina, & Sanabria (2014) estudiaron la influencia de la hora del día sobre el rendimiento en conducción en relación con el cronotipo. El *cronotipo* se refiere a las preferencias en cuanto a horarios de sueño y realización de actividades, que se deben a diferencias internas en la fase circadiana (Adan et al., 2012). En dicho estudio, los participantes vespertinos, caracterizados por la preferencia de horarios de sueño retrasados y realización de actividades durante la tarde-noche, tuvieron una peor ejecución a su hora subóptima (8:00 h de la mañana) que a su hora óptima (20:00 h).

Considerando el efecto activador de la luz, especialmente la de color azul, sobre el sistema nervioso (Cajochen et al., 2005), se ha estudiado su posible aplicación para mejorar el rendimiento cognitivo en situaciones subóptimas, como sucede con la conducción nocturna. Sin embargo, los resultados hasta la fecha son inconsistentes. Taillard et al. (2012) encontraron un efecto beneficioso de la luz enriquecida en azul sobre el rendimiento en conducción a lo largo de la noche. En cambio, Phipps-Nelson, Redman, Schlangen, & Rajaratnam (2009), encontraron un efecto activador al nivel fisiológico (supresión de ondas EEG lentas, delta y theta) que no se manifestó en mejoras de rendimiento en la tarea.

La presente tesis doctoral aborda el estudio de los ritmos circadianos desde sus dos vertientes: su interrelación con el sueño nocturno, y sus efectos sobre el rendimiento en vigilancia y conducción durante la vigilia, con un énfasis especial en el papel de la luz para modular tales efectos. La primera parte de la tesis se dirigió a presentar una aproximación metodológica novedosa para el estudio del sueño a través de la evaluación de los ritmos circadianos, mediante el uso de dispositivos multisensor combinados con técnicas de minería de datos. La segunda parte centró su interés en el efecto de la luz artificial sobre el rendimiento en tareas de vigilancia y conducción simulada en dos momentos subóptimos del ciclo circadiano: al inicio de la noche, coincidiendo con el inicio en la secreción de melatonina nocturna, y durante la mañana temprano en participantes vespertinos.

El Estudio 1 puso a prueba la validez de una técnica de Monitorización Circadiana Ambulatoria (Kronowise®, Cronolab, Universidad de Murcia), basada en el registro de los ritmos circadianos de temperatura corporal distal (piel de la muñeca), actividad motora, posición corporal, y exposición a luz ambiental, para discriminar entre sueño normal y patológico y, en este último caso, entre insomnio primario y síndrome de retraso de la fase de sueño (SRFS). Esto se llevó a cabo en una muestra de 242 pacientes afectados de insomnio primario (n = 184) o SRFS (n = 68) y de 19 sujetos control.

Estas patologías de sueño fueron seleccionadas por dos motivos. En primer lugar, su elevada prevalencia: hasta un 30% de la población experimenta síntomas de insomnio, y los criterios para considerarlo trastorno se cumplen en un 5 – 7% de la

población (Roth, 2007). Por su parte, como mínimo, un 16% de la población adolescente sufre SRFS (Lovato, Gradisar, Short, Dohnt, & Micic, 2013). En segundo lugar, por las evidencias de solapamiento entre los síntomas de ambas patologías (Gradisar & Crowley, 2013; Richardson, Gradisar, & Barbero, 2015; Sivertsen et al., 2013), lo que nos llevó a plantear la necesidad de establecer criterios objetivos para su diferenciación.

En una primera fase, los datos obtenidos mediante monitorización circadiana ambulatoria se procesaron como se describe en Ortiz-Tudela, Martínez-Nicolas, Campos, Rol, & Madrid (2010), generando una variable integrada llamada TAP (derivada de Temperatura, Actividad y Posición). Esta variable expresa el nivel de activación general, y fue empleada para estimar los periodos de sueño y su calidad (Ortiz-Tudela et al., 2014). Todas estas variables fueron sometidas a un análisis no paramétrico que arrojó diversos indicadores: a) calidad de los ritmos circadianos: estabilidad interdiaria, variabilidad intradiaria, amplitud relativa e *índice de funcionamiento circadiano (CFI)* (Ortiz-Tudela et al., 2010); b) calidad del sueño: promedio de TAP durante las 5 horas consecutivas donde sus niveles fueron más bajos (L5); c) activación diurna: promedio de TAP durante las 10 horas consecutivas con niveles más altos (M10), y d) marcadores de fase: hora central de L5 para la fase de sueño y de M10 para la de vigilia.

En la segunda fase, los parámetros resultantes del análisis no paramétrico fueron sometidos a un análisis de *aprendizaje automático (Machine learning)*. Este análisis permitió, en primer lugar, seleccionar los parámetros (o atributos) con mayor potencia de discriminación entre clases. Para ello se utilizaron los criterios de *Ganancia de la Información* (basado en la reducción de entropía), *ANOVA* (maximización de las diferencias entre clases) y *Chi cuadrado* (maximización de la correlación entre las puntuaciones del atributo y la clase asignada). A partir de los atributos seleccionados: marcadores de fase (hora central de L5 y M10) de TAP, amplitud relativa de TAP y CFI del sueño estimado, los sujetos fueron clasificados mediante un *árbol de decisión*. Este modelo mostró una sensibilidad y especificidad superiores al 80% para cada una de las tres categorías (insomnio, SRFS y controles). Más aún, además de distinguir entre las tres categorías iniciales, el árbol de decisión permitió diferenciar entre insomnio de

mantenimiento y de inicio, y entre este último y el SRFS, las dos patologías cuyos síntomas más comúnmente se solapan.

Según nuestros resultados, el insomnio de inicio y el SRFS se diferenciaron del resto de clases por un retraso en la hora central del sueño debido a las dificultades de conciliación. En cambio, se diferenciaron entre sí porque el SRFS mostró también un retraso en el momento central de máxima activación diurna con respecto al insomnio de inicio. Esto es congruente con un perfil circadiano de tipo vespertino en el SRFS (Lack, Bailey, Lovato, & Wright, 2009), mientras que el insomnio de inicio mostraría el aumento de somnolencia nocturna en un horario normal. De las otras clases resultantes, insomnio de mantenimiento y controles sanos se diferenciaron entre sí principalmente por la amplitud relativa del TAP. Ésta fue más baja en los insomnes, en consonancia con su fraccionamiento del sueño y su somnolencia diurna (que reducen el contraste entre los niveles de activación propios del sueño y los de la vigilia). Un tercer grupo de insomnio, que podríamos considerar leve, sólo se diferenció de los controles sanos en la robustez global del ritmo circadiano o CFI (mayor en los controles). Llama la atención el papel relevante de la luz ambiental en la discriminación de clases con atributos similares, como es el caso del SRFS, que se diferenció del resto de clases (incluida el insomnio de inicio) por el ritmo de exposición a luz ambiental, caracterizado por ausencia de luz durante las primeras horas de la mañana.

Aparte de su utilidad en el ámbito de la clínica del sueño, la metodología utilizada en el Estudio 1 ha servido como referencia para la evaluación de los ritmos circadianos y el sueño de los participantes en nuestros siguientes estudios experimentales.

En el Estudio 2 se investigó el efecto de distintas condiciones de luz sobre el nivel de activación y el rendimiento en una tarea de conducción simulada al inicio de la noche. Específicamente, se utilizaron dos fuentes de luz con diferente espectro: una luz de color blanco enriquecida en azul (pico máximo de distribución espectral = 440 nm) frente a una luz de color ámbar (pico máximo de distribución espectral = 595 nm), pero con similar iluminancia (469 lx y 410 lx, respectivamente), en comparación a una condición control de penumbra (< 1 lx). La franja horaria de la manipulación experimental (de 21:45 h a 22:45 h) se seleccionó en consonancia con el momento del

inicio en la secreción de la melatonina (Bonmatí-Carrión et al., 2014). Los participantes de este estudio (n = 36) fueron de cronotipo intermedio, para evitar los efectos facilitadores o disruptores que los cronotipos vespertino y matutino, respectivamente, mostrarían en una tarea nocturna, y fueron asignados aleatoriamente a una de las tres condiciones experimentales descritas.

La tarea de conducción, seleccionada por haber mostrado sensibilidad a los efectos adversos de una hora subóptima del día en un estudio previo (Correa et al., 2014), consistía en guiar el coche lo más centrado posible sobre una línea paralela al centro de la carretera, a velocidad constante (60 millas/hora, 97 km/hora). La variable dependiente fue el error de posición, corregido por la velocidad. Durante toda la tarea se midió el nivel de activación fisiológica a través del gradiente de temperatura distal-proximal (Kräuchi, Cajochen, & Wirz-Justice, 2004, 2005) y, tanto antes como después de la misma, se evaluó la somnolencia subjetiva (escala de Somnolencia Subjetiva Karolinska, KSS) y la vigilancia psicomotora (Psychomotor Vigilance Task, PVT).

Este estudio se diseñó a partir de las siguientes asunciones: 1) el mantenimiento de la vigilancia es susceptible de deterioro en las circunstancias descritas debido al aumento de la somnolencia, y 2) las distintas condiciones de luz empleadas conllevarían un impacto diferencial en la secreción de melatonina y, por tanto, en la alerta y el rendimiento. Así pues, en la condición de penumbra esperábamos encontrar un aumento del error de posición a lo largo del tiempo en tarea, así como en la somnolencia subjetiva (KSS) y el tiempo de reacción a la PVT tras la conducción, acompañado de un aumento en el gradiente de temperatura distal-proximal, indicador de un decremento de activación (Kräuchi et al. 2004, 2005). La exposición a ambos tipos de luz debía producir una respuesta de activación, atenuando todos estos efectos en comparación con la penumbra, y dicha respuesta debería ser mayor en el caso de la luz blanca enriquecida en azul que en el caso de la luz ámbar.

Los resultados mostraron un efecto activador de la luz blanca enriquecida en azul al nivel fisiológico, detectado través de un decremento en el gradiente de temperatura distal-proximal, en comparación con las otras dos condiciones de luz. Sin embargo, este efecto no redundó en una menor somnolencia subjetiva ni en una mejora en las tareas de vigilancia; por el contrario, el error de posición aumentó a lo

largo de la tarea de conducción bajo luz blanca enriquecida en azul frente a lo observado en las otras dos situaciones. Este inesperado resultado fue interpretado como un posible efecto de hiperactivación que pudo perjudicar una tarea de precisión como es el mantenimiento de la posición del vehículo.

Considerando los resultados del experimento anterior, en el Estudio 3 utilizamos un diseño que maximizase los efectos de la exposición a la luz. Para ello, recurrimos a cronotipos vespertinos ($n = 17$) evaluados a las 8:00 h de la mañana, ya que previamente estas condiciones habían sido sensibles al decremento de vigilancia en una tarea de características similares (Correa et al., 2014). Adicionalmente, en este estudio nos centramos el efecto de la luz blanca enriquecida en azul (469 lx), al ser la que mayores efectos había mostrado en el estudio previo, y la comparamos con una condición control de penumbra (< 1 lx). Estas dos condiciones se manipularon intra-sujeto para aumentar la potencia estadística al minimizar las diferencias inter-individuales. Otras mejoras metodológicas fueron la utilización de una tarea de conducción que incluía el tiempo de reacción como variable dependiente, más sensible a las fluctuaciones de vigilancia (Basner & Dinges, 2011; Graw, Kräuchi, Knoblauch, Wirz-Justice, & Cajochen, 2004) y el empleo de *análisis no paramétricos de permutaciones*, independientes de la distribución de los datos y más adecuados para muestras pequeñas (Pesarin & Salmaso, 2010).

Este estudio mostró tres hallazgos principales: 1) replicamos resultados previos indicativos de decremento de vigilancia en participantes vespertinos por la mañana (Correa et al., 2014). Dicho decremento se manifestó en un aumento de la somnolencia subjetiva (KSS), del gradiente de temperatura distal-proximal, y del tiempo de reacción a lo largo de la tarea de conducción, así como en la PVT. 2) La exposición a luz blanca enriquecida en azul atenuó dicho decremento, tal como indicaron las temperaturas más bajas y los tiempos de reacción más rápidos en la conducción y la PVT. 3) Sin embargo, y en línea con nuestro estudio anterior, la luz blanca enriquecida en azul deterioró la precisión a la hora de mantener la posición del coche.

En síntesis, esta tesis doctoral ha dado lugar a varias aportaciones. La primera parte proporciona una aproximación metodológica novedosa para la evaluación

automática del sueño a través del estudio sistemático de los ritmos circadianos. Esto ha permitido obtener información relevante sobre las características de los ritmos circadianos en determinadas patologías de sueño, y ha puesto de manifiesto la relación entre el ritmo de exposición a luz ambiental y la patología de sueño de origen circadiano. A su vez, la validación de esta técnica tiene interesantes aplicaciones. En el ámbito clínico, facilita la discriminación entre dos patologías de sueño muy prevalentes y frecuentemente solapadas; en el ámbito de investigación, se plantea como un método válido tanto para la selección de muestras experimentales como simplemente para su evaluación.

La segunda parte de la tesis, por un lado, apoya los efectos activadores de la luz enriquecida en azul a nivel fisiológico. Esto puede favorecer el rendimiento en medidas simples de vigilancia bajo circunstancias claramente desfavorables, como es el caso de los cronotipos vespertinos por la mañana temprano, pero no necesariamente en circunstancias menos extremas, como sucede en nuestro primer estudio. En cambio, no ocurre lo mismo en tareas de precisión como el mantenimiento de la posición del coche que, lejos de beneficiarse del efecto activador de la luz, puede verse perjudicado. Estos hallazgos animan a seguir investigando para delimitar mejor las posibles situaciones objetivo, susceptibles de obtener ventajas de los efectos activadores de la luz.

Como conclusión general, nuestros resultados aportan nuevas evidencias sobre la utilidad de la luz para mejorar el mantenimiento de la alerta en determinadas condiciones de deterioro. Más aún, esta tesis doctoral aplica esta medida por primera vez en vespertinos por la mañana temprano: un perfil circadiano muy común durante la adolescencia y juventud, y a una hora en la que normalmente se requiere un buen rendimiento de este tipo de población, por estudios o por trabajo. A su vez, estos hallazgos invitan a la cautela ante el uso indiscriminado de la luz como contramedida bajo cualquier situación. En su lugar, se sugiere la conveniencia de encontrar un equilibrio entre el potencial activador de la luz y el requerido para nuestros fines. Esto tiene especial relevancia cuando se trata de situaciones en las que su uso, además, puede tener efectos secundarios indeseados como es la supresión de melatonina al inicio de la noche.

2. General abstract

Circadian rhythms are the fluctuations exhibited by physiological and behavioral variables following approximately 24-hour cycles. They emerged as a result of evolutionary adaptation to the environmental day-night cycle, promoting, in humans, sleep during the dark phase and wakefulness activities during the light phase. However, modern societies are characterized by services available at any time, 7 days a week (24/7 society), which implies exposure to environmental light 24 hours a day, growing use of technology, and high incidence of *social jetlag*, i.e., a rhythms misalignment between work and free days (Roenneberg et al., 2003). This leads to circadian disruption and, therefore, to sleep alterations (Goel et al., 2013). In turn, the wake-promoting light effects may have positive applications, as enhancing activation at detrimental times of day with the aim of improving cognitive performance.

Vigilance, i.e. the ability to maintain an optimal disposition to attend and respond to the environment, is one of the cognitive processes most sensitive to adverse circumstances such as suboptimal times of day. That is why driving, which involves high levels of vigilance maintenance, has shown detriments at times of day near the nadir (i.e., minimum value) of core body temperature, according to both epidemiological (Folkard, 1997) and laboratory studies (Kosmadopoulos et al., 2015).

Correa et al., 2014 studied the effect of time of day over driving performance in relation to participants' chronotype was recently studied by. *Chronotype* refers to the individual preferences regarding schedules for sleep and daytime activities, which are due to internal differences in circadian phase (Adan et al., 2012). In Correa et al.'s study, evening-types showed their worst performance at their suboptimal time of day (8:00 h) and their best performance at their optimal time of day (20:00 h).

Considering the alerting effects of light, specially within the blue spectrum (Cajochen et al., 2005), its possible applications to improve cognitive performance at suboptimal conditions have been explored, as in the case of night driving. Nevertheless, research on this topic is scarce and shows inconclusive results. Taillard et al. (2012), found improvement of driving performance at night under blue-enriched light. In contrast, in the study of Phipps-Nelson et al. (2009), blue-enriched light

increased arousal (i.e., physiological activation) according to suppression of slow delta and theta EEG waves, but it did not result in benefits on driving performance.

This doctoral thesis addressed the study of circadian rhythms from two perspectives: its relationship with night sleep, and its effects on vigilance and driving performance during wakefulness, with special emphasis on the modulating role of light exposure. The first part of the thesis proposed a novel approach to study sleep through the evaluation of circadian rhythms, using a multisensor wearable device in combination to machine learning methods of analysis. The following two chapters focused on the effect of artificial light over vigilance and driving performance at suboptimal times of day: at early night, coinciding with the dim light melatonin onset, and at early morning in a group of evening-types.

Study 1 tested the validity of an Ambulatory Circadian Monitoring technique (Kronowise®, Chronolab, University of Murcia), based on the recording of distal (wrist) temperature, motor activity, body position and exposure to environmental light, to differentiate between normal and disrupted sleep. And further, to discriminate between primary insomnia and delayed sleep phase disorder (DSPD). This was addressed through a sample of 242 patients suffering from either primary insomnia (n = 184) or DSPD (n = 68) and 19 healthy control subjects.

We selected these sleep pathologies for two reasons. First, due to their high prevalence: up to 30% of the population experiences insomnia symptoms and 5 – 7 % of the population meet the criteria for insomnia disorder (Roth, 2007). Meanwhile, at least 16% of the adolescent population suffers from DSPD (Lovato et al., 2013). Second, there is evidence of overlapping between the symptoms of these two pathologies (Gradisar & Crowley, 2013; Sivertsen et al., 2013; Richardson et al., 2015), which highlights the need of differential diagnosis criteria.

In the first phase, data from ambulatory circadian monitoring were processed as described in Ortiz-Tudela et al. (2010) to obtain an integrated variable called TAP (from Temperature, Activity and Position). This variable expressed general activation and was employed to estimate sleep periods and assess sleep quality (Ortiz Tudela et al., 2014). All these variables were submitted to non-parametric analyses yielding

several indexes: a) circadian rhythms quality: interdaily stability, intradaily variability, relative amplitude and a global *circadian functioning index* (CFI, Ortiz-Tudela et al., 2010); b) sleep quality, estimated from TAP average during the 5 consecutive hours where it showed its lowest values (L5); c) diurnal activation: TAP average during the wake period, obtained from the 10 consecutive hours where it showed its maximal values (M10), and d) phase markers: central time of L5 (for the sleep phase) and M10 (for the wake phase).

In a second step, the parameters obtained by non-parametric analyses were submitted to *machine learning* analyses. This allowed, first, to select the parameters (or attributes) with the highest power for discriminating between classes. To that, we used the following criteria: *Information Gain* (based on the reduction of entropy), *ANOVA* (maximization of differences between classes) and *Chi-squared* (maximization of correlation between the attribute and the assigned class). The selected attributes were: the phase markers (central time of TAP L5 and M10), TAP relative amplitude, and CFI of estimated sleep, which were employed to classify the subjects through a *decision tree*. The sensitivity and specificity of the model were higher than 80% for each one of the three general classes: primary insomnia, DSPD and the control group. Further, in addition to differentiate between the three main classes, the decision tree discriminated between maintenance and onset insomnia, so as between onset insomnia and DSPD, where the sleep symptoms are commonly overlapped.

According to our results, onset insomnia and DSPD showed a later midsleep time than the other classes, due to difficulties for initiating sleep. Also, these two pathologies differed between each other as DSPD showed a later time of maximal diurnal activation than onset insomnia. That is congruent with an evening chronotype in DSPD (Lack et al., 2009), while onset insomnia would show a normal timing for the onset of sleepiness at night. On the other side, maintenance insomnia and healthy controls differed between each other in the relative amplitude of TAP. This was lower in maintenance insomnia, as they suffer from fractionated sleep and daytime sleepiness (thus reducing day-night contrast of activation). A third group of insomnia, which we could consider a mild type, distinguished from healthy controls only in the robustness of their circadian rhythms (CFI, higher in healthy controls). Importantly,

DSPD differed from the other classes (including onset insomnia) in the rhythm of exposure to environmental light, characterized by absence of light during the first morning hours in this group.

Besides its usefulness in the field of sleep medicine, this study served as a reference for evaluating the circadian rhythms and sleep of our participants in our two following experimental studies.

In Study 2, we investigated the effect of different light conditions on arousal and driving performance at early night. Specifically, we employed two light sources with different light spectra: blue-enriched white (peak of spectral irradiance at 440 nm) and orange light (peak of spectral irradiance at 595 nm), but similar illuminance (469 and 410 lx, respectively), in comparison with a control dim light condition. The timing of the light manipulation, from 21:45h to 22:45 h, was selected in accordance with the dim light melatonin onset (Bonmatí-Carrión et al., 2014). Participants (n = 36) were intermediate chronotypes, in order to avoid the enhancing or detrimental effects of evening and morning chronotypes, respectively, over night performance. They were randomly assigned to one of the three experimental conditions.

The driving task was selected as it had been sensitive to the detrimental effects of suboptimal times of day in a previous study (Correa et al., 2014). It consisted on driving the car as centered as possible on a green line parallel to the center of the road, at a constant velocity (60 miles/hour). The dependent variable was the position error, corrected by velocity. Physiological activation was assessed along the time on task through the distal-proximal temperature gradient (Kräuchi et al., 2004, 2005). Before and after driving, subjective sleepiness (Karolinska Sleepiness Scale, KSS) and psychomotor vigilance (Psychomotor Vigilance Task, PVT) were also assessed.

This study was designed from the assumptions that: 1) vigilance maintenance would be susceptible to detriments under the above described circumstances, due to increase of sleepiness, and 2) the three light conditions would impact differently on melatonin secretion and, therefore, on activation and performance. Thus, under dim light conditions we expected position error to increase along the time on task, subjective sleepiness (KSS) and reaction times in the PVT to be higher after than before

driving, and distal-proximal temperature gradient to rise along driving, indicating a decrement of activation (Kräuchi et al., 2004, 2005). Light exposure was expected to increase activation, thus attenuating all these effects in comparison with dim light, and this activation effect should be larger under blue-enriched than under orange light conditions.

Our results showed blue-enriched light to increase arousal, as indexed by a decrement of the distal-proximal temperature gradient, with respect to the other two light conditions. However, this activation did not result in lower subjective sleepiness neither in vigilance improvements; instead, position error increased along time on task under blue-enriched light, contrarily to orange and dim light. This unexpected result was interpreted as a possible hyper-activation effect, which could be detrimental for a precision task such as keeping the car position.

Therefore, in Study 3 we aimed to maximize sensitivity to light effects. To that, we tested evening-type participants ($n = 17$) at 8:00 h in the morning, as this condition had been sensitive to vigilance decrement in a similar task (Correa et al., 2014). Also, we used a within-subject design to enhance statistical power by minimizing inter-individual differences. Additional methodological improvements were the use of a driving task further measuring reaction times, as they are sensitive to vigilance fluctuations (Basner & Dinges 2011; Graw et al. 2004), and non-parametric permutation analyses, which are independent from the underlying data distribution and adequate for small samples (Pesarin & Salmaso 2010). In this study we focused on blue-enriched white light, as it had showed the larger effects in the previous study, which was compared to a control dim light condition.

This study yielded three main findings: first, we replicated previous findings of vigilance decrement in evening-types at early morning (Correa et al., 2014). Such a decrement was manifested on increasing subjective sleepiness (KSS), distal-proximal temperature gradient, and reaction times along the driving task and in the PVT. Second, blue-enriched white light attenuated such effects, as suggested by lower temperatures and faster reaction times in the driving task and the PVT. Finally, and in

line with our previous study, blue-enriched white light impaired accuracy on keeping the car position.

In summary, this doctoral thesis yielded several contributions. The first part proposed a novel approach for automatic evaluation of sleep through the systematic study of circadian rhythms. This method provided relevant information about the characteristics of circadian rhythms in two very common sleep pathologies, also highlighting the relevance of the relationship between light exposure and sleep disruption of circadian origin. In addition, our approach has interesting applications: in the medical field, it facilitates the differentiation between two highly prevalent and frequently overlapping sleep pathologies; in the research field, it stands as a valid method for selecting or evaluating experimental samples.

The second part of the thesis supports the activating effects of blue-enriched light at a physiological level. This may be beneficial for performance in simple vigilance measures under clearly detrimental circumstances, as for evening-types in the morning, but not necessarily under less extreme circumstances, as in our first study. Nevertheless, that is not the case for accuracy tasks such as keeping the car position, which, instead of benefiting from the activating effect of light, can be adversely affected. These results encourage further research in order to better delimit the target situations to take advantage of the activating effects of light.

Taken together, these findings provided evidences about the efficacy of light to enhance vigilance under certain detrimental conditions. Further, here we studied for the first time its usefulness for evening-types at early morning. However, our results also suggest that the optimal application of light exposure requires a balance between the activating potential of the light selected, and the level of activation needed for our aims.

II. Introducción General

1. Contextualización

Los seres vivos evolucionaron en un entorno cambiante, por lo que debieron desarrollar mecanismos que les permitiesen anticiparse a los cambios cíclicos del ambiente con el objetivo de generar respuestas más eficientes al mismo (Paranjpe & Sharma, 2005). En mamíferos, el sistema circadiano se encarga de generar ritmos endógenos sincronizados con el ciclo día-noche, conocidos como ritmos circadianos (del latín *circa*, “cerca de”, y *dies*, que significa “día”, con duración aproximada de 24 horas). La influencia de los ritmos circadianos está presente en múltiples procesos de nuestra vida, desde la *regulación del sueño* durante la noche hasta la *organización de nuestras actividades durante el día*, llegando a incidir significativamente sobre el rendimiento en las mismas. El principal factor regulador de los ritmos circadianos es la luz ambiental, al proporcionar información sobre el día y la noche, fomentando de forma indirecta la vigilia durante su presencia y el sueño durante la fase de oscuridad. Es por ello que la luz artificial puede producir efectos activadores sobre el sistema. Esto puede influir positivamente, favoreciendo el rendimiento cognitivo y, aplicada en consonancia con el ciclo natural día-noche, potenciando la sincronización del sistema circadiano. Aunque también puede generar consecuencias negativas, provocando alteración circadiana si se aplica en horarios aberrantes de forma crónica. En vista de todo ello, el objeto de estudio de esta tesis doctoral fueron los ritmos circadianos y la influencia de la luz sobre ellos, en sus distintas vertientes: 1) en relación al sueño, pondremos a prueba una aproximación metodológica novedosa para la medición de los ritmos circadianos y, a través de ella, la evaluación del sueño nocturno; 2) en relación a la vigilia, estudiaremos el efecto de la luz artificial sobre el nivel de activación y el rendimiento en tareas de vigilancia, en horas del día subóptimas desde el punto de vista circadiano.

La ***regulación del sueño*** depende, principalmente, de la interacción entre el propio sistema circadiano, encargado de promover la vigilia durante el día y el sueño durante la noche, y un proceso homeostático por el cual la presión por dormir aumentaría a medida que transcurre el tiempo tras el despertar, alcanzando su máximo por la noche y disipándose durante el sueño (Bobérly, 1982; Daan, Beersma, & Borbély, 1984). Así pues, cabe esperar una relación bidireccional entre las alteraciones

circadianas y las del sueño. En efecto, los trastornos de sueño de origen circadiano están contemplados en la *Clasificación Internacional de Enfermedades* (CIE-10, 2008). El estilo de vida actual está caracterizado por la oferta de servicios durante 24 horas al día los 7 días de la semana (sociedad 24/7), lo que implica a su vez la presencia de luz ambiental las 24 horas del día, con la consiguiente aparición de trastornos circadianos como el de *retraso de la fase de sueño* o el asociado al *trabajo a turnos* (Goel et al., 2014). De hecho, la prevalencia del *síndrome de retraso de fase* puede ascender a un 16% en adolescentes (Lovato et al., 2013) mientras que aproximadamente un 20% de la población está empleada en trabajo en turno de noche o rotatorio (Sack et al., 2007a).

A su vez, los trastornos del sueño de causa no circadiana pueden desembocar en un deterioro en los ritmos circadianos por diversas vías. Por un lado, el posible cambio en los horarios o duración del sueño derivados de la propia patología modularía los horarios de exposición a la luz, actividades diurnas y de comidas, etc., todos ellos implicados en mantener los ritmos internos correctamente ajustados. Por otro lado, la somnolencia diurna derivada de un sueño no reparador puede inclinar al individuo a dormir en momentos del día no apropiados en términos circadianos.

Todo ello hace necesaria la inclusión, de forma rutinaria, de la evaluación de los ritmos circadianos en el ámbito de la clínica del sueño. Sin embargo, ésta aún no es abordada de forma sistemática. El método más extendido para la evaluación del ritmo de sueño-vigilia es el de actigrafía (Ancoli-Israel et al., 2003; Sadeh & Acebo, 2002), es decir, el registro del nivel de actividad física 24 horas al día durante varios días consecutivos mientras la persona realiza vida normal. Esta evaluación actigráfica mejora de forma notable cuando se incluye el registro de otros marcadores circadianos, como por ejemplo la temperatura corporal (Ortiz-Tudela et al., 2010, 2014), al proporcionar información adicional que contrarresta en cierta medida los posibles artefactos del registro de actividad. Es por eso que el empleo de técnicas de Monitorización Circadiana Ambulatoria multicanal supone un gran avance en este campo (Ortiz-Tudela et al. 2010). No obstante, la sistematización y estandarización de su uso, tanto en el ámbito clínico como de investigación científica, requiere de estudios que pongan a prueba la sensibilidad y fiabilidad de estas medidas para la

detección de sueño patológico y, a ser posible, para la discriminación entre distintos tipos de patologías circadianas y de sueño. Así pues, debido a nuestro interés en los ritmos circadianos, gran parte del contenido de esta tesis está centrado en aportar nuevas herramientas metodológicas para su estudio.

Los ritmos circadianos, además, influyen sobre el **rendimiento cognitivo en la vigilia** (Blatter & Cajochen, 2007; Schmidt, Collette, Cajochen, & Peigneux, 2007). La vigilancia, entendida como el mantenimiento de un estado preparatorio para atender y responder de forma óptima a estímulos ambientales (Oken, Salinsky, & Elsas, 2006; Posner & Petersen, 1990) es uno de los procesos cognitivos más susceptibles de deterioro bajo circunstancias adversas, como la fatiga o la somnolencia (Basner & Dinges, 2011; Dinges et al., 1997). Es por ello que la conducción de vehículos, una tarea que implica el mantenimiento de la vigilancia durante periodos prolongados de tiempo, ha mostrado gran sensibilidad a la influencia de los ritmos circadianos. Esto ha quedado evidenciado tanto en estudios de laboratorio (Kosmadopoulos et al., 2015; Correa et al., 2014), como en estudios epidemiológicos, que muestran que el número de accidentes de tráfico alcanza su máximo entre las 2:00 h y las 5:00 h de la madrugada, horas a la que se producen los valores mínimos del ritmo de temperatura corporal (Folkard, 1997). Teniendo en cuenta lo anterior, el interés de esta tesis sobre la influencia de los ritmos circadianos en el rendimiento cognitivo se focalizará sobre el mantenimiento de la vigilancia, evaluada a través de tareas de conducción simulada por su mayor capacidad de extrapolación a situaciones reales.

En el estudio de Correa et al. (2014), además, la influencia de la hora del día sobre el rendimiento en conducción se estudió en relación con el cronotipo de los participantes, es decir, sus preferencias horarias, que reflejan diferencias internas en la fase circadiana (Adan et al., 2012). Así pues, este estudio comparó participantes matutinos (caracterizados por horarios muy tempranos de inicio y final de sueño y preferencia de realización de actividades por la mañana) frente a vespertinos (con horarios tardíos de inicio y final de sueño y realización de actividades preferentemente por la tarde-noche), mostrando estos últimos una peor ejecución a su hora subóptima (8:00 h de la mañana) que a su hora óptima (20:00 h).

Partiendo de la evidencia de tales fluctuaciones circadianas, el siguiente paso lógico consiste en la búsqueda de estrategias para contrarrestar el deterioro en rendimiento observado en horas subóptimas. Dado que la **exposición a luz brillante**, especialmente dentro del espectro azul, ha mostrado causar efectos activadores agudos sobre el sistema nervioso (Cajochen, 2007, recoge una revisión al respecto), ésta se ha propuesto como posible medida para mejorar, o al menos mantener, el rendimiento cognitivo en niveles adecuados en variadas condiciones adversas. Por ejemplo, durante la noche (Christian Cajochen et al., 2005; Chellappa et al., 2012; Taillard et al., 2012), tras restricción de sueño (Gabel et al., 2013, 2015) o tras fatiga inducida (Borragán, Deliens, Peigneux, & Leproult, 2017; Huiberts, Smolders, & de Kort, 2015). Sin embargo, los resultados publicados hasta la fecha han mostrado gran variabilidad de efectos en función de diversos factores como la intensidad de la luz (Christian Cajochen, Zeitzer, Czeisler, & Dijk, 2000; West et al., 2011), la duración de la exposición (Smolders, de Kort, & Cluitmans, 2012), la hora del día y el tipo de tarea (Huiberts et al., 2015), o el nivel previo de activación (Correa, Barba, & Padilla, 2016).

En cuanto a las tareas de conducción, la escasez de estudios hace más notoria la inconsistencia de los resultados. Así, mientras que Taillard et al. (2012), mostraron un efecto beneficioso de la luz enriquecida en azul sobre el rendimiento en conducción a lo largo de la noche, Phipps-Nelson et al. (2009) encontraron un efecto activador a nivel fisiológico (supresión de ondas EEG lentas, delta y theta), en comparación con las condiciones de luz roja y penumbra, que no se manifestó en mejoras de rendimiento en la tarea.

Más aún, a pesar de la diversidad de circunstancias bajo las que se han explorado los posibles beneficios de la exposición a la luz, sus efectos en cronotipos extremos a su hora subóptima del día aún no han sido abordados. Téngase en cuenta que, aunque los horarios nocturnos en los que se han llevado a cabo algunos de los estudios mencionados constituyen una hora subóptima en sí misma, ésta no ha sido considerada en relación al cronotipo de los participantes, los cuales suelen seleccionarse de cronotipo intermedio a la hora de llevar a cabo este tipo de estudios. Así pues, en el último capítulo experimental de esta tesis se explorará el efecto de la

luz sobre el rendimiento de participantes vespertinos evaluados a primera hora de la mañana.

A modo de síntesis, el objetivo de esta tesis doctoral ha sido el de profundizar en el estudio de los ritmos circadianos, en particular de su interrelación con el sueño nocturno y su influencia sobre el rendimiento en tareas de vigilancia durante la vigilia, prestando especial atención al papel modulador de la luz artificial sobre dicha influencia. La primera parte del contenido experimental de esta tesis pretende aportar una aproximación metodológica novedosa para la evaluación de los ritmos circadianos y comprobar su validez para la inclusión de la evaluación circadiana en el ámbito de la medicina del sueño. En relación con los ritmos circadianos y el rendimiento en vigilia, esta tesis pretende medir el efecto activador de determinados tipos de luz artificial sobre el rendimiento en tareas de vigilancia en condiciones subóptimas del ciclo circadiano.

Para ello, comenzaremos presentando un marco teórico, a través del cual se repasarán los conceptos más relevantes para comprender el funcionamiento de los ritmos circadianos con especial énfasis en el ritmo de sueño-vigilia, y serán abordados los principales hallazgos de la literatura científica acerca de sus efectos sobre el rendimiento cognitivo, así como las evidencias en relación al potencial activador de la luz y su posible utilidad para la mejora del rendimiento cognitivo.

2. Sistema circadiano: estructura y organización funcional

El responsable de la generación de ritmos circadianos en los seres humanos y de su adaptación al ciclo de luz-oscuridad de 24 horas es el sistema circadiano, que consta de tres componentes:

a) **Marcapasos circadianos** o ‘relojes biológicos’, generadores de ritmos endógenos con un ciclo aproximado de 24 horas. El marcapasos principal está formado por el núcleo supraquiasmático (NSQ), situado en la parte medial del hipotálamo. Además, en todos los tejidos y órganos existen osciladores periféricos capaces de generar ritmos localmente. Su actuación está coordinada por el NSQ.

b) **Entradas:** son las vías que comunican las señales temporales ambientales con los marcapasos endógenos. Son, por tanto, los responsables de la sincronización de los ritmos endógenos a los ciclos ambientales de luz-oscuridad, es decir, del *encarrilamiento circadiano*. La más importante de estas entradas es la vía fótica, originada en las células ganglionares intrínsecamente fotosensibles de la retina (ipRGC, del inglés *intrinsically photosensitive Retinal Ganglion Cells*), que transmiten la información lumínica al NSQ a través del tracto retinohipotalámico.

c) **Salidas:** los ritmos manifiestos, constituyen la expresión externa, medible, de la actividad de los relojes biológicos. Son todos aquellos ritmos que podemos registrar externamente, como la secreción de melatonina o el ritmo de temperatura corporal.

Adicionalmente, algunas salidas pueden funcionar a su vez como entradas a modo de **mecanismos de retroalimentación**, por ejemplo, los horarios de sueño y comidas, la actividad física, etc. colaborando a la sincronización del sistema. A lo largo de las siguientes páginas se profundizará en el funcionamiento de cada uno de estos tres componentes (figura 1).

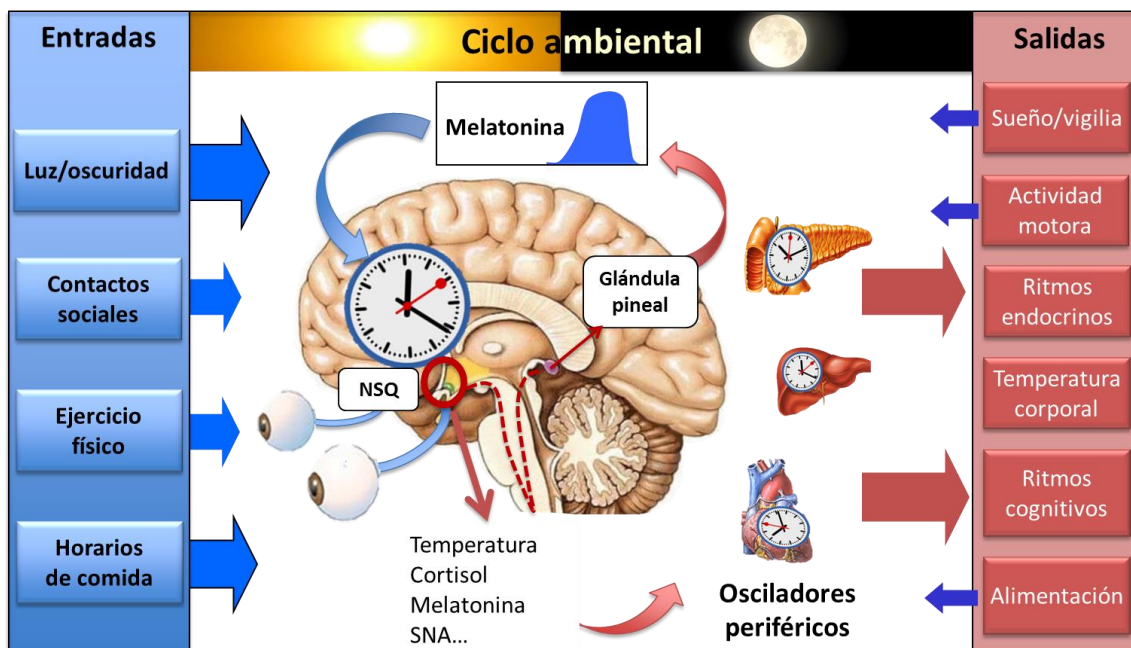


Figura 1. Organización general del sistema circadiano humano. Señales de entrada: las señales cíclicas ambientales (*zeitgebers*) pueden sincronizar la actividad del marcapasos central y los osciladores periféricos. El NSQ es considerado el marcapasos principal del sistema circadiano, generando la ritmicidad circadiana en otras áreas cerebrales y tejidos periféricos, enviándoles señales neuronales (sistema nervioso autónomo), humorales (ritmo de la melatonina y cortisol) y fisiológicas (ritmo de

temperatura). La mayoría de los tejidos y órganos periféricos contienen osciladores circadianos, generalmente bajo el control del NSQ. Salidas: variables fisiológicas y comportamentales que expresan ritmicidad circadiana bajo el control del NSQ. Algunos de estos ritmos (el ejercicio físico, la temperatura, el ciclo de sueño-vigilia y el horario de alimentación), a su vez, proporcionan una retroalimentación que puede modificar la función de NSQ y los osciladores periféricos (modificada de Madrid-Navarro et al., 2015).

2.1. Marcapasos central y osciladores periféricos

Las primeras investigaciones sobre el funcionamiento del reloj biológico en humanos las llevó a cabo Jürgen Aschoff a principios de los años 60, mediante el aislamiento de los sujetos en apartamento completamente aislados del exterior y por tanto libres de cualquier tipo de sincronizador ambiental. En tales circunstancias, se observó la existencia de una ritmicidad cuasi circadiana a través de la preservación del ritmo de sueño-vigilia. Sin embargo, el periodo de dicho ritmo mostró ser superior a 24 horas en la mayoría de los sujetos, oscilando entre 24'5 y 28 h (Aschoff, 1976). La conservación de ritmos circadianos en ausencia de señales ambientales periódicas implicaba la existencia de algún tipo de reloj endógeno, cuya localización tardó unos años en descubrirse. Mediante estudios de lesiones en animales de laboratorio, se observó la pérdida de la mayoría de los ritmos circadianos tras la eliminación de una estructura del hipotálamo ventral, el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo (Moore & Eichler, 1972). La confirmación del papel principal de estos núcleos en el funcionamiento del sistema circadiano vino de la mano de estudios en los que se mostró que el trasplante de un NSQ sano genera en un receptor lesionado ritmos con la fase y periodo propios del donante (Drucker-Colín, Aguilar-Roblero, García-Hernández, Fernández-Cancino, & Bermudez Rattoni, 1984; Ralph, 1996). Asimismo, se ha constatado la preservación de oscilaciones circadianas en la actividad de células del NSQ mantenidas durante semanas en condiciones *in vitro* (Green & Gillette, 1982).

El marcapasos circadiano central dirige la actividad rítmica de un conjunto de osciladores periféricos localizados en la mayoría de células y tejidos, como el hígado, pulmón, corazón, páncreas o músculo esquelético (Stratmann & Schibler, 2006). A diferencia del NSQ, cuyas células conservan su ritmicidad mientras puedan ser preservadas con vida *in vitro*, el ritmo de los osciladores periféricos se desvanece tras uno o dos ciclos en estas condiciones (Yamazaki et al., 2000). Sin embargo, dicho

desvanecimiento se puede prevenir si el cultivo se refresca añadiendo nuevas células, que actúan induciendo la sincronización de las primeras a estas últimas, lo que sugiere que las células de los osciladores periféricos necesitan “ser puestas en hora” para mantener su comportamiento cíclico. Así pues, los osciladores periféricos normalmente funcionan bajo la coordinación del NSQ; no obstante, ante determinadas circunstancias (restricción de alimento, jet lag o trabajo a turnos) pueden desincronizarse del mismo (Garaulet & Madrid, 2009).

2.2. Inputs: vías de entrada

Dado que el NSQ genera ritmos internos con un periodo ligeramente diferente de 24 horas, resulta necesaria la acción de factores cíclicos externos que lo encarrilen respecto al ciclo ambiental día-noche, de 24 horas de duración.

Llegados al concepto de encarrilamiento, es conveniente realizar una aclaración terminológica, ya que este término puede ser fácilmente confundido con el de sincronización. Hablamos de sincronización entre dos ritmos cuando ambos siguen un ciclo con un periodo similar y coinciden en su fase, pero ninguno de ellos determina el comportamiento rítmico del otro (es decir, son paralelos pero independientes entre sí). En cambio, hablamos de encarrilamiento cuando el comportamiento de un ritmo depende de otro, de modo que este último regula al primero. A este ritmo regulador o de referencia se le conoce como *zeitgeber* (del alemán “dador de tiempo”). No obstante, a menudo se utilizan ambos términos indistintamente.

El principal *zeitgeber* del sistema circadiano humano es el ciclo ambiental de luz-oscuridad. Debido a ello y a la relevancia de este factor para el contenido general de esta tesis, su explicación será más detallada que la del resto de *zeitgebers*.

2 2 1. Luz y fotorrecepción

La luz es la porción de la radiación electromagnética perceptible para el ojo humano. Como tal, se transmite en ondas con frecuencia y longitud determinadas. El espectro visible de la luz comprende el rango de longitudes de onda entre 390 y 780 nanómetros (nm), con el pico de sensibilidad máxima a los 555 nm (Haim & Portnov, 2013).

La transducción del estímulo luminoso se lleva a cabo por distintos tipos de fotorreceptores situados en la retina, dando lugar a respuestas visuales (es decir, relacionadas con la formación de imágenes) y no visuales (principalmente relacionadas con la estimulación del NSQ para producir efectos sobre el sistema circadiano, entre otras).

Los fotorreceptores implicados en la formación de imágenes son los conos y los bastones. Los conos aportan información espacial y sobre el color, ya que cada uno de los tres tipos existentes posee un fotorreceptor con una curva característica de absorción respecto a la longitud de onda que les llegue. Así pues, los hay sensibles al rojo (longitudes de onda largas), al verde (longitudes de onda medias) y al azul (longitudes de onda cortas). Hay aproximadamente 7 millones distribuidos por la retina, principalmente concentrados en la fóvea (parte central de la mácula, que es la zona de la retina especializada en la visión más fina de los detalles). Pero sólo son sensibles bajo niveles elevados de iluminación, lo que se conoce como *visión fotópica* (requiere al menos 0,05 luxes, Chapa Carreón, 1990).

Los bastones, en cambio, son mucho más sensibles que los conos, por lo que aportan visión cuando los niveles de iluminación son muy bajos (por debajo de 0,05 luxes, *visión escotópica*). No permiten discriminar longitudes de onda. En su lugar, aportan información sobre el brillo. Hay alrededor de 100 millones, distribuidos principalmente en la periferia de la retina.

El tercer tipo de fotorreceptor, las *células ganglionares intrínsecamente fotosensibles* (ipRGC, por las siglas del término en inglés), es de muy reciente descubrimiento. No fue hasta el año 2000 cuando se encontró en humanos un tipo de células retinianas que expresaban el fotorreceptor melanopsina (Provencio et al., 2000), descubierto a su vez en ratones sólo dos años antes (Provencio, Jiang, De Grip, Hayes, & Rollag, 1998). Por su parte, Berson describió en 2002 un grupo de células retinianas que proyectaban hacia el NSQ y, posteriormente, se demostró que esas células desconocidas que expresaban melanopsina y las que proyectaban al NSQ eran las mismas (Hattar, Liao, Takao, Berson, & Yau, 2002). Dicho fotorreceptor les permite ser intrínsecamente fotosensibles, a pesar de recibir inputs también de conos y bastones (Lucas et al., 2014). Su función no está relacionada con la formación de

imágenes, sino con respuestas no visuales a la luz, principalmente aquellas mediadas por el NSQ e implicadas en la regulación de los ritmos circadianos o la respuesta pupilar, aunque también en respuestas fásicas de activación fisiológica y modulación emocional y cognitiva (figura 2).

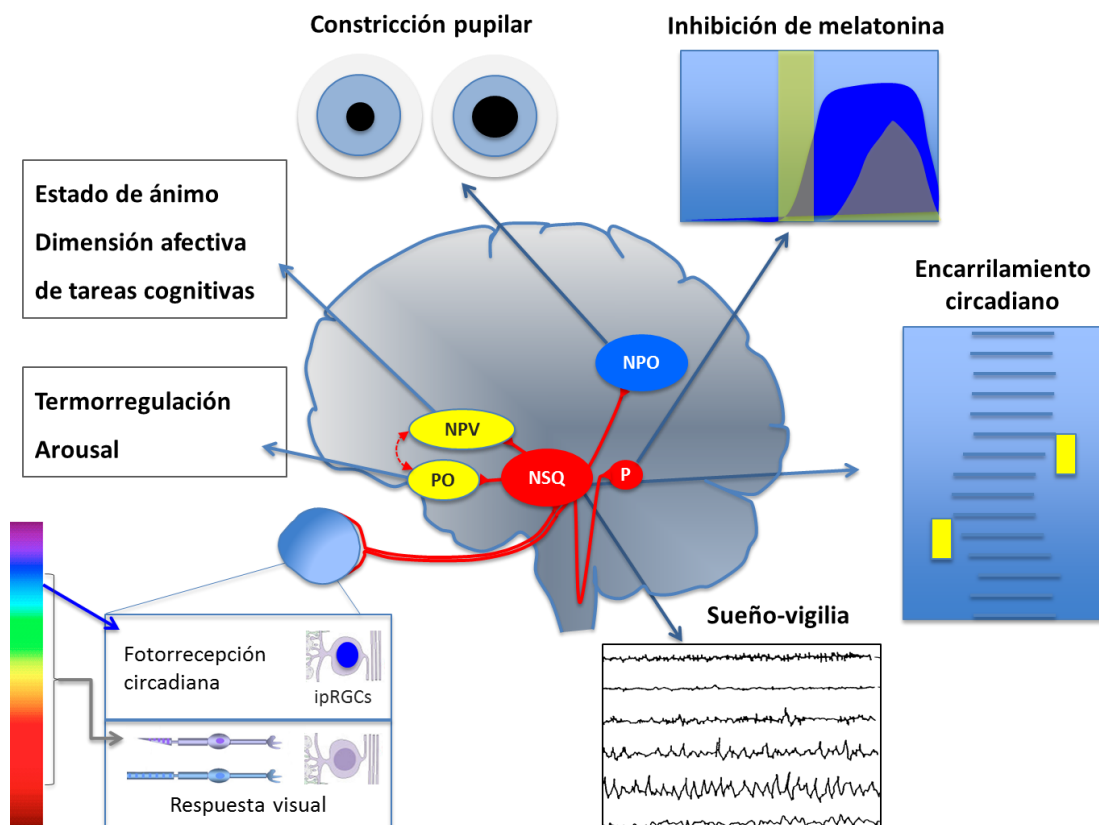


Figura 2. Vista esquemática de las regiones cerebrales y circuitos implicados en las respuestas no visuales a la luz. Las proyecciones de las ipRGCs al NSQ permiten el encarrilamiento del reloj circadiano. Un circuito polisináptico que se origina en el NSQ regula la liberación de melatonina por la glándula pineal (P) a través de la inervación simpática. El núcleo pretectal olivar (NPO), otro destino directo de las ipRGC, es un eslabón crucial en el reflejo pupilar a la luz. Otros contactos de las ipRGC incluyen el área preóptica (PO) asociada a la modulación del arousal, así como el núcleo paraventricular (NPV) del tálamo, implicado en respuestas afectivas y cognitivas (Colavito, Tesoriero, Wirtu, Grassi-Zucconi, & Bentivoglio, 2015) (modificada de Madrid-Navarro et al., 2015).

2.2.2. Luz y encarrilamiento circadiano

Cuando alcanza la retina, la luz estimula la melanopsina contenida en las ipRGC. Este fotopigmento muestra máxima sensibilidad a longitudes de onda cortas (entre 460 – 480 nm), es decir, las correspondientes a la parte azul del espectro visible

(Berson, 2002), el cual es especialmente importante en la luz solar. La excitación de las ipRGC se transfiere de forma directa al NSQ del hipotálamo a través de una vía integrada en el nervio óptico conocida como tracto retinohipotalámico. Desde aquí, el NSQ redirige la señal al ganglio cervical superior de la médula espinal, un componente del sistema nervioso autónomo implicado en el mantenimiento del equilibrio homeostático, cuyos axones inervan la glándula pineal. Esta glándula es la responsable de la producción de melatonina, hormona mediadora en la regulación de los ritmos circadianos, cuya secreción es máxima durante la fase de oscuridad. Por este motivo se conoce a la melatonina como 'oscuridad química' y, como tal, promoverá todas las actividades diseñadas para tener lugar durante la noche, como es, en el caso de los humanos, el sueño (Brown & Piggins, 2007). De este modo, a través de la regulación del ritmo de secreción de melatonina, la luz mantiene los ritmos circadianos sincronizados entre sí y encarrilados respecto al ciclo ambiental día-noche.

No obstante, conviene tener en cuenta que los efectos de encarrilamiento dependen drásticamente de la fase en la que se encuentre el ciclo interno en el momento de recibir la señal del *zeitgeber*, en este caso la luz. Concretamente, la exposición a luz entre el nadir o valor mínimo del ritmo de temperatura central y las primeras horas de la mañana produciría adelantos de fase, mientras que entre la puesta de sol y el nadir de temperatura central produciría retraso de fase. Durante las horas centrales del día, en cambio, la exposición a luz no produce cambios significativos en la fase circadiana. Estos efectos dependientes del momento se conocen como curvas de respuesta de fase (figura 3).

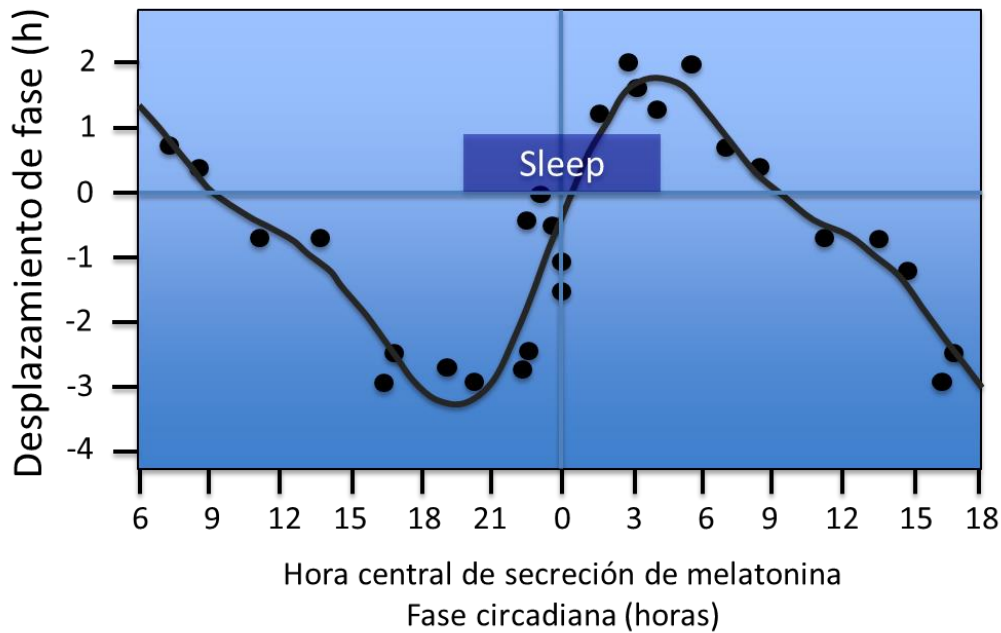


Figura 3. Curva de respuesta de fase a la luz. Los avances de fase (valores positivos) y los retrasos de fase (valores negativos) del ritmo de melatonina se representan en ordenadas con respecto al tiempo de la exposición a la luz (abscisas). Las horas 6 - 18 se representan dos veces para una mejor visualización. La exposición a la luz alrededor del inicio del sueño espontáneo es seguida por un retraso de fase de los ritmos circadianos, mientras que la luz alrededor del despertar produce un avance de fase (modificada de Madrid-Navarro et al. 2015).

La implicación de las ipRGCs en el encarrilamiento circadiano a través de la luz ha quedado demostrada en personas ciegas que, habiendo perdido la capacidad de percepción de imágenes debido a la degeneración de conos o bastones, pero no ipRGCs, son capaces de seguir sincronizándose a la luz ambiental (Klerman et al., 2002; Zaidi et al., 2007). No obstante, en ausencia de melanopsina funcional, las ipRGCs pueden seguir realizando su función gracias a las entradas procedentes de conos y bastones (Ho Mien et al., 2014). Aun así, estudios animales han mostrado que el desplazamiento de fase inducido por pulsos de luz en ratones carentes de melanopsina es más débil que en ratones intactos, indicando que la contribución de conos y bastones a este proceso es inferior al 50% (Panda et al., 2002).

Otros estímulos implicados en el encarrilamiento del sistema circadiano se relacionan con los horarios de rutinas, como la ingesta de comida, contactos sociales u horarios de trabajo y actividad física, aunque su contribución es menor que la del ciclo

de luz-oscuridad. Por ejemplo, el encarrilamiento a partir de los horarios de comida se relaciona con los osciladores periféricos, de modo que los relojes moleculares situados en órganos como el hígado, pulmón, corazón, páncreas o músculo esquelético, se encarrilarían en respuesta a cambios metabólicos derivados del ciclo de ayuno-ingesta (Mendoza, 2007).

2.3. *Outputs*: vías de salida o ritmos manifiestos

Un reloj circadiano correctamente encarrilado y en buen estado da lugar a ritmos comportamentales y fisiológicos robustos y en fase con el ciclo ambiental de luz-oscuridad. Dichos ritmos se considerarían las salidas del sistema circadiano y, como tales, mostrarían oscilaciones circadianas reflejando el estado del sistema circadiano en cada momento.

Existen salidas de tipo hormonal, como la secreción de melatonina o cortisol, salidas fisiológicas como el ritmo de temperatura corporal, o salidas comportamentales como el ciclo de sueño-vigilia. Aunque existen más ritmos manifiestos de cada tipo, nos centraremos en estos por ser los más relevantes para nuestros principales temas de estudio a lo largo de la tesis.

2.3.1. Salidas hormonales

La síntesis de melatonina, como se ha señalado anteriormente, está directamente mediada por la interacción entre la actividad del NSQ y el ciclo de luz-oscuridad, siendo máxima su secreción durante la fase de oscuridad. Una vez segregada, la melatonina pasa a los capilares cerebrales y al líquido cefalorraquídeo, promoviendo el sueño en humanos (Brown & Piggins, 2005). Por el contrario, su síntesis es inhibida durante el día por la actividad del NSQ y la presencia de la luz, mostrando su nadir por la mañana. El cortisol sigue un ritmo circadiano prácticamente opuesto, con sus concentraciones mínimas cerca de 3 – 5 horas tras el inicio del sueño y su máximo por la mañana temprano (alrededor del horario habitual de despertar), facilitando los procesos fisiológicos asociados al proceso del despertar (Elder, Ellis, Barclay, & Wetherell, 2016).

2.3.2. Salidas fisiológicas: ritmo de temperatura corporal

La temperatura corporal es sobradamente conocida como uno de los marcadores más robustos del sistema circadiano (Kerkhof & Van Dongen, 1996; Van Someren, 2006). Inicialmente, las investigaciones a este respecto se centraron en el ritmo de temperatura corporal central, estrechamente ligado a los cambios metabólicos correspondientes al sueño y la vigilia y la consiguiente producción y disipación de calor asociada a este ritmo (Guyton, 1991; Meijer et al., 1991). La temperatura central muestra los valores más elevados en vigilia, mientras que los más bajos tienen lugar durante el sueño. Específicamente, alrededor de las 21 h la temperatura central comienza un descenso ligado al inicio en la secreción de melatonina (DLMO, del inglés *dim light melatonin onset*), alcanzando su nadir entre las 5 – 6 h y comenzando a partir de este momento un progresivo ascenso que se asocia al despertar. La acrofase suele observarse alrededor de las 20-21 h, en la conocida como ‘zona de mantenimiento de vigilia’ que tiene lugar justo antes del DLMO, momento en el que resulta más difícil la conciliación del sueño en adultos jóvenes (Shekleton et al., 2013).

El ritmo de temperatura distal o periférica refleja la disipación de calor a través de las extremidades (Kräuchi, Cajochen, Werth, & Wirz-justice, 1999), mecanismo que favorece la disminución de la temperatura central asociada al sueño. Como tal, su ritmo muestra una correlación prácticamente inversa respecto a la temperatura central, precediéndola ligeramente, de modo que asciende en anticipación al inicio del sueño, mostrando sus valores máximos durante el mismo y cayendo por la mañana previamente al despertar (Sarabia, Rol, Mendiola, & Madrid, 2008). De hecho, el pico de máxima probabilidad de sueño es más próximo al máximo de temperatura periférica que al mínimo de temperatura central (Raymann, Swaab, & Van Someren, 2007) y estudios de validación han mostrado asimismo una estrecha correlación entre la elevación de la temperatura periférica al inicio de la noche y la hora del DLMO (Bonmati-Carrión et al., 2014) (figura 4).

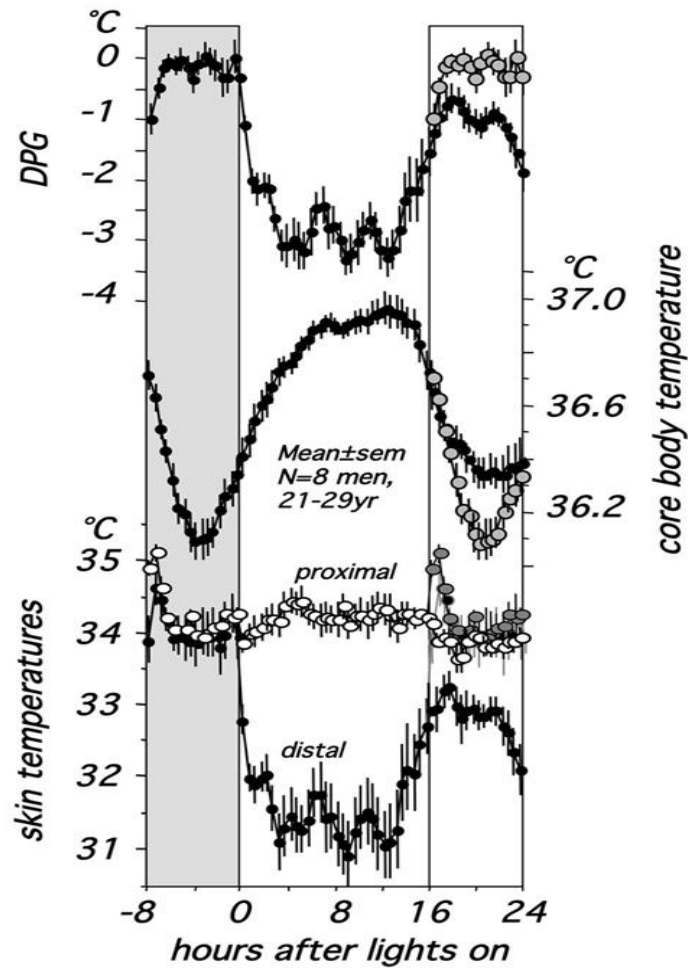


Figura 4. Representación conjunta de los ritmos de temperatura corporal distal, proximal, central, y gradiente distal-proximal. La temperatura central muestra sus valores más elevados durante la vigilia y los más bajos durante el periodo de sueño (entre 16 y 24 tras el inicio de la vigilia), mientras que la temperatura distal y el gradiente distal-proximal muestran ritmos opuestos a la anterior, con un aumento asociado al sueño nocturno y valores bajos durante la vigilia. La temperatura distal, además, oscila dentro de un rango de valores más amplio, aunque todos ellos más bajos, que la temperatura central. La temperatura proximal muestra valores intermedios entre la temperatura central y la distal. La banda sombreada indica el periodo de sueño, mientras que la banda blanca se corresponde con un periodo de privación de sueño nocturno (tomada de Krauchi & Deboer, 2010).

2.3.3. Salidas comportamentales: ritmo sueño-vigilia

Finalmente, el ritmo sueño-vigilia es la salida comportamental más evidente del sistema circadiano. No obstante, este ritmo está no está regulado exclusivamente por el sistema circadiano, sino por la interacción entre diversos componentes:

- Proceso circadiano (proceso “C”): como hemos comentado anteriormente, este sistema es controlado por un marcapasos interno independiente de la historia previa de sueño, según el cual, la propensión a dormir aumenta de acuerdo a un patrón cíclico, alcanzando su máximo cuando la temperatura corporal central alcanza su mínimo.
- Un mecanismo homeostático (proceso “S”), según el cual, la presión por dormir aumenta progresivamente a medida que se acumula el tiempo en vigilia y se disipa a medida que el sujeto duerme.

Estos dos componentes son reconocidos en el *modelo de dos procesos para la regulación del sueño* (Bobérly, 1982; Daan et al., 1984). Considerándolos en conjunto, la propensión al sueño seguiría el siguiente patrón: en el momento en que despertamos, tras una noche de sueño normal, no existiría presión homeostática por dormir, a lo que se sumaría la acción circadiana que promueve la vigilia durante el día a partir de la estimulación lumínica. Con el transcurrir de las horas de vigilia, el componente homeostático iría generando progresivamente la necesidad de dormir, pero el circadiano actuaría compensando dicha necesidad, favoreciendo activamente el estado de vigilia hasta alcanzar un máximo aproximadamente dos horas antes de la hora habitual de sueño, en la que se conoce como “zona de mantenimiento de vigilia” o “zona prohibida de sueño”. Tras ello, con la secreción de la melatonina, también el reloj circadiano incitaría a dormir, uniendo su acción a la de la presión homeostática del sueño. Tras unas pocas horas de sueño, la presión homeostática desciende, sin embargo, la presión circadiana continua en aumento hasta aproximadamente las 5 – 6 de la mañana, lo que contribuye a prolongar unas horas más el periodo de sueño. Esta sincronía entre el proceso S y el C es fundamental para el mantenimiento de un ritmo adecuado de sueño-vigilia.

Sin embargo, este modelo ha sido revisado y en la actualidad se reconoce un nuevo componente en el ahora llamado *modelo de tres procesos para la regulación del sueño* (y por extensión, de la alerta) (Åkerstedt & Folkard, 1997; Kräuchi, Knoblauch, Wirz-Justice, & Cajochen, 2006) a lo largo del día:

- Inercia del sueño (proceso “W”): somnolencia residual experimentada tras un periodo de sueño, a pesar de que en este caso la presión homeostática debería ser nula.

Finalmente, dos componentes ultradianos también contribuyen a la regulación del sueño a lo largo de las 24 horas:

- El primer componente ultradiano, con una periodicidad de 90 – 120 minutos, genera la alternancia de sueño REM – NREM durante la noche y el *ciclo básico de reposo-actividad* (CBRA, o más conocido como BRAC, del inglés *basic rest-activity rhythm*) durante la vigilia (Kleitman, 1982).
- El segundo componente ultradiano es un ciclo de 12 horas que da lugar a la típica propensión a dormir durante el periodo postprandial (posterior al almuerzo), manifiesto a través del ritmo de temperatura como un descenso en el caso de la temperatura corporal central y un pico en el caso de la distal. Aunque esta elevación en la temperatura distal se encuentra influenciada por la ingesta previa de alimentos y amplificada en el caso de dormir durante dicho periodo, se ha demostrado que permanece en ausencia de ambos factores, aunque su manifestación sea más sutil en dichos casos (Sarabia et al., 2008), lo que impide descartar la implicación de un proceso ultradiano endógeno.

2.3.4. Evaluación de los ritmos circadianos a través del registro de sus outputs

El comportamiento cíclico del sistema circadiano generalmente se mide de forma indirecta a través de marcadores observables, como las salidas hormonales, fisiológicas o comportamentales descritas en apartados anteriores, directamente sometidas al control del sistema circadiano y que, en consecuencia exhiben oscilaciones circadianas que reflejan de forma fiable el estado del sistema circadiano en cada momento.

Aunque en teoría todas las salidas descritas serían válidas (Hofstra & de Weerd, 2008), la medición de algunas de ellas muestra ciertos inconvenientes a la hora de llevarlas a la práctica. Por ejemplo, la melatonina, considerada uno de los indicadores circadianos más fiables, debe medirse en sangre o en saliva, lo que resulta incómodo

para el sujeto y requiere su colaboración activa, con la consiguiente pérdida de información relevante durante los periodos de sueño (Mayeda et al., 1998; Ortiz-Tudela et al., 2010).

El ritmo de actividad-reposo es uno de los ritmos más fácilmente medibles mediante el empleo de actígrafos, que presentan la ventaja de ser poco invasivos. Se trata de dispositivos con sensores de movimiento (normalmente acelerómetros) que permiten una amplia frecuencia de muestreo y constan de suficiente memoria interna como para almacenar datos durante periodos de tiempo prolongados, la mayoría de ellos de una semana en adelante. Permiten estimar tanto la cantidad como la calidad del sueño, esto último a través del nivel de movimientos durante el mismo, lo cual ha sido validado en comparación con la medida estándar de referencia, la polisomnografía (Sivertsen et al., 2006; Vallières & Morin, 2003). No en vano, esta técnica ha sido utilizada durante al menos 30 años para evaluar ritmos circadianos y sueño (Ancoli-Israel et al., 2003; Sadeh & Acebo, 2002) y ha sido aceptada por la American Academy of Sleep Medicine (AASM) como técnica clínicamente apropiada para el estudio de diferentes trastornos de sueño, incluyendo insomnio, hipersomnia, síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) y síndrome de retraso de la fase del sueño (SRFS) (Morgenthaler et al., 2007).

Entre las desventajas de este método destacan los errores de registro debidos a artefactos como los movimientos del compañero de cama, la dificultad para distinguir periodos de retirada de sensores de periodos de reposo, o para distinguir sueño de periodos de vigilia en los que el sujeto permanece inmóvil en la cama (Ortiz-Tudela et al., 2010). Se ha observado que esto puede llevar tanto a subestimar como a sobreestimar la cantidad total de sueño (Sadeh & Acebo, 2002; Vallières & Morin, 2003; Sivertsen et al., 2006).

La temperatura corporal, como vimos en apartados anteriores, también se ha mostrado como un potente ritmo marcador del sistema circadiano. La temperatura central presenta como desventaja principal la incomodidad de su registro (vía rectal), o la necesidad de cierto grado de colaboración por parte del sujeto (vía timpánica o sublingual), lo que puede dar lugar a pérdida de datos durante los periodos de sueño. En su lugar, la temperatura distal o periférica ha ganado consideración en los últimos

años como marcador circadiano debido a la mayor comodidad, economía y no invasividad de su registro respecto a la central, ya que ésta puede ser medida a través de sensores como el iButton (Hasselberg, McMahon, & Parker, 2013) sujetos sobre la piel de manos y pies (Van Marken Lichtenbelt et al., 2006) o de la muñeca (Sarabia et al., 2008). No obstante, ambas presentan el riesgo de enmascaramiento por factores como la postura corporal, la ingesta de alimentos, la temperatura ambiental o la actividad motora (Martinez-Nicolas et al., 2015).

Para contrarrestar los artefactos derivados del registro de variables individuales, Ortiz-Tudela et al. propusieron en 2010 la combinación de tres variables rítmicas: temperatura de la muñeca, actividad motora y posición corporal, en una variable integrada llamada TAP indicativa del nivel general de activación. Para ello, los valores de temperatura de la muñeca se normalizaron e invirtieron, de manera que valores elevados de TAP indicaban valores bajos de temperatura distal junto con niveles elevados de actividad motora y posición corporal y, por tanto, activación general elevada. En este estudio, dicha variable combinada manifestó una mayor precisión para la estimación del sueño que cada una de las variables individuales en comparación con los diarios de sueño de los participantes. En un estudio posterior (Ortiz-Tudela et al., 2014) TAP fue contrastada con la polisomnografía, ratificando su mayor concordancia, sensibilidad y especificidad respecto a cualquiera de las variables individuales y, más aún, sin que existiesen diferencias significativas respecto a la polisomnografía en la estimación de la latencia, duración y eficiencia del sueño ni en número de despertares detectados.

En vista de tales resultados, en la presente tesis doctoral utilizaremos el algoritmo presentado en los mencionados estudios de Ortiz-Tudela et al. (2010, 2014) para la evaluación de los ritmos circadianos y el sueño en los tres capítulos experimentales. En el primero de ellos, además, pondremos a prueba la validez de esta técnica como herramienta diagnóstica para clasificar patologías de sueño, a través de su implementación en el ámbito clínico y la aplicación de técnicas de minería de datos.

2.4. Mecanismos de retroalimentación o *feedback*

Finalmente, algunas de las vías de salida descritas pueden funcionar a su vez como señales para el encarrilamiento del sistema circadiano. En este sentido, la

elevación de la temperatura periférica funciona como una señal que anticipa y prepara al organismo para el inicio del sueño. Ya en 1999, Krauchi et al. mostraron que la vasodilatación de las regiones distales de la piel se comportaba como un mejor predictor de la predisposición del cuerpo para dormir que otros factores como la somnolencia subjetiva, el ritmo cardiaco o la temperatura central, los cuales mostraron menos correlación con la latencia de inicio del sueño.

Esta relación entre la temperatura distal y el sueño ha sido puesta a prueba mediante el calentamiento artificial de la piel de las extremidades, empleando diversas técnicas como calcetines térmicos (Kräuchi et al., 1999; Kräuchi, Cajochen, Werth, & Wirz-Justice, 2000) o baños en agua caliente (Raymann et al., 2007). En este último estudio, este fenómeno fue atribuido a un mecanismo según el cual, los cambios en la temperatura de la piel modularían la actividad de ciertas áreas cerebrales involucradas en la regulación del sueño, en particular, de una subpoblación de neuronas sensibles al calor (WSN, del inglés *warm-sensitive neurons*) en el área preóptica del hipotálamo anterior (POAH). Además de mostrar un aumento espontáneo de su tasa de excitabilidad al inicio del sueño, esta excitabilidad también se ve modulada por conexiones termoaférentes originadas en la piel y proyectadas hacia el POAH (Boulant & Bignall, 1973).

Pero de todas las salidas, el ritmo de sueño-vigilia es el que mayor actividad de retroalimentación ejerce sobre el sistema circadiano, ya que la modificación voluntaria de los horarios de sueño puede modular la exposición a la luz así como los horarios de alimentación, contactos sociales y actividad física, alterando los efectos sincronizadores de estas señales.

3. Ritmos circadianos en el rendimiento cognitivo

Como hemos descrito en apartados anteriores, el sistema circadiano se encarga de generar patrones cíclicos en muchos de los procesos y actividades de nuestro día a día, coordinándolos entre sí y con los ciclos ambientales. Los procesos cognitivos no son una excepción y, como tal, la influencia de los ritmos circadianos sobre el

rendimiento cognitivo está ampliamente documentada (Blatter & Cajochen, 2007; Schmidt et al., 2007).

Uno de los posibles moduladores de tal influencia serían las propias fluctuaciones en somnolencia y alerta que los procesos circadiano y homeostático producen a lo largo del día. De hecho, los estados subjetivos de somnolencia y alerta han manifestado un consistente patrón circadiano a través de escalas tipo analógico-visual como la de Monk (Monk, 1989), o escalas tipo Likert como las escalas de somnolencia de Karolinska (Karolinska Sleepiness Scale, KSS; Åkerstedt & Gillberg, 1990) y de Stanford (Stanford Sleepiness Scale, SSS; Hoddes, Zarcone, Smythe, Phillips, & Dement, 1973).

En la literatura, la influencia circadiana se ha conseguido aislar de la homeostática y del efecto de los *zeitgebers* en protocolos como el de *desincronía forzada* (Czeisler et al., 1999; D. J. Dijk & Czeisler, 1995; Wyatt et al., 1999) o el de *rutina constante* (Kräuchi et al., 2005). El primero consiste en someter a los sujetos a ciclos de luz-oscuridad con una duración considerablemente distinta a 24 horas (por ejemplo 20 o 28 horas) de manera que el sistema circadiano, incapaz de mantener ciclos con ese periodo, acaba por desencarrilarse y seguir un ritmo en curso libre. Por su parte, el protocolo de rutina constante consiste en someter al sujeto a *zeitgebers* constantes (no cíclicos) durante varios días consecutivos, de modo que cualquier comportamiento cíclico en las variables de interés pueda considerarse una salida de los propios ritmos endógenos y no una respuesta a los *zeitgebers*. Este paradigma permite aislar, a su vez, los efectos circadianos del componente homeostático cuando se compara una condición de rutina constante con privación de sueño frente a otra en la que se permiten siestas a intervalos regulares, que mantienen la presión homeostática al mínimo.

En el caso de la alerta subjetiva, el perfil circadiano se muestra paralelo al de temperatura corporal central, con un declive alrededor de la hora habitual de inicio de sueño nocturno, que continúa a lo largo de la noche hasta alcanzar valores mínimos entre 1 y 2 horas tras el nadir de temperatura central. A continuación se observa un repunte por la mañana, incluso en los casos de privación de sueño (Åkerstedt, Anund,

Axelsson, & Kecklund, 2014), lo que enfatiza la importancia del componente circadiano.

En cuanto a medidas comportamentales, la literatura aporta evidencias de modulación circadiana en diversas tareas de atención, memoria, funciones ejecutivas y control inhibitorio (Schmidt et al., 2007). Hay que tener en cuenta, no obstante, que el paralelismo descrito entre el patrón circadiano de temperatura y el de alerta subjetiva no implica necesariamente una correlación en el grado de afectación entre dichas variables y las respuestas comportamentales. Por ejemplo, en estudios de privación de sueño, la asociación entre somnolencia subjetiva y rendimiento se ha mostrado dependiente del tipo de tarea (Frey, Badia, & Wright, 2004) o incluso ausente (Leprout et al., 2003). Este tipo de discrepancias han sido atribuidas a la variabilidad interindividual (en los mencionados estudios y en Van Dongen, Vitellaro, & Dinges, 2005) o al estado cognitivo previo, que puede afectar las estimaciones subjetivas de somnolencia (Van Dongen & Dinges, 2005).

Las variaciones circadianas en rendimiento cognitivo están, además, moduladas por el cronotipo de la persona, lo que se conoce como *efecto de sincronía* (May & Hasher, 1998). Así pues, se observa un mejor rendimiento cuando las tareas se realizan en el momento óptimo del día en función del cronotipo (por la mañana en el caso de los matutinos y por la tarde-noche en el caso de los vespertinos) que cuando se realizan en su momento subóptimo. Este efecto se ha encontrado en diferentes tareas cognitivas, como *span* de palabras (Yoon, 1997), tareas de memoria a largo plazo (Intons-Peterson, Rocchi, West, McLellan, & Hackney, 1999; May & Hasher, 1998; Winocur & Hasher, 2002) y funciones ejecutivas, especialmente control inhibitorio (Intons-Peterson et al., 1999; Lara, Madrid, & Correa, 2014; May, 1999; May & Hasher, 1998).

Nosotros nos centraremos en la influencia de los ritmos circadianos sobre la vigilancia.

3.1. Arousal, atención y vigilancia

La posible relación mencionada entre las fluctuaciones en activación fisiológica o *arousal* y las comportamentales es especialmente relevante en el caso de la

atención, proceso con el que se encuentra estrechamente relacionada. En palabras de Gitelman: *“parece lógico que un organismo con déficit en arousal muestre también déficit en atención. Sin embargo, esto no es necesariamente cierto a la inversa, ya que individuos con niveles normales de alerta pueden mostrar deterioro atencional. Más aún, ciertos estados de hiperarousal (...) pueden interferir con un adecuado funcionamiento de la atención”* (Gitelman, 2003).

El término de *arousal* hace referencia a un nivel general de activación psicofisiológica que permite al individuo mantenerse despierto y alerta (Sohlberg & Mateer, 1987), lo cual es un prerrequisito para la realización de cualquier tarea cognitiva. Por su parte, el término *atención* se referiría a un proceso multidimensional cuyo cometido global consiste en conceder prioridad al procesamiento de determinados estímulos en función de los objetivos de la tarea. Se puede subdividir en diferentes procesos que varían dependiendo de la clasificación escogida, aunque casi todas contemplan los procesos de control, selección y vigilancia o atención sostenida. Los procesos de *control* comprenden el mantenimiento activo de las metas, el desarrollo de estrategias y la resolución de conflictos estímulares y de respuesta, mientras que los procesos de *selección* permiten priorizar el procesamiento de determinados estímulos frente a otros en función de su relevancia para nuestras metas. Aquí haremos especial énfasis en la *vigilancia*, la capacidad de mantener la atención en una tarea de forma consistente durante un periodo prolongado.

Este término sería equivalente a la atención sostenida o alerta tónica (Posner & Petersen, 1990). Según el modelo propuesto por estos autores, la red de vigilancia y/o alerta se encargaría de mantener *“un estado preparatorio de arousal general, necesario para la detección rápida del estímulo esperado”* (Funes & Lupiáñez, 2003). Esta red también incluye el concepto de *alerta fásica*, referido a las oscilaciones transitorias en el estado de alerta, la cual aumentaría de forma rápida y brusca como preparación ante estímulos inminentes o, al contrario, puede disminuir momentáneamente dando lugar a los conocidos como *lapses* de atención.

El mantenimiento de la vigilancia es una tarea altamente demandante (Warm, Parasuraman, & Matthews, 2008), por lo que tiende a deteriorarse a lo largo del tiempo dando lugar al conocido como *decremento de vigilancia* (Mackworth, Kaplan, &

Metlay, 1964). Una tarea muy utilizada para evaluar la vigilancia es la *Psychomotor Vigilance Task* (PVT; David F Dinges & Powell, 1985). Se trata de una tarea de tiempo de reacción simple en la que un estímulo es presentado en modalidad visual o auditiva tras un intervalo de tiempo aleatorio, típicamente entre 2 y 10 segundos, ante el cual el sujeto debe efectuar una respuesta motora (pulsar el botón indicado) lo más rápido posible. Su duración estándar es de 10 minutos, que suelen ser suficientes para provocar decremento de vigilancia, sobre todo bajo circunstancias subóptimas, por ejemplo, en situaciones que impliquen aumento de la somnolencia como la privación de sueño total (Basner & Dinges, 2011; Doran, Van Dongen, & Dinges, 2001) o parcial crónica (Dinges et al., 1997), tal como cabría esperar teniendo en cuenta la estrecha interrelación entre vigilancia y arousal.

En efecto, estudios sobre las fluctuaciones circadianas de la vigilancia sugieren una relación entre el ritmo de temperatura corporal central y el rendimiento en la PVT. En un protocolo de privación de sueño bajo rutina constante (Cajochen, Khalsa, Wyatt, Czeisler, & Dijk, 1999), la ejecución en esta tarea se mostró relativamente estable durante las 16 primeras horas de vigilia, deteriorándose a lo largo de toda la noche hasta alcanzar los peores niveles alrededor del nadir de temperatura central o ligeramente después. Sin embargo, tras este mínimo y a pesar del mantenimiento de la vigilia continuada, se observó una mejora relativa al comenzar el siguiente periodo diurno. Esto fue interpretado como un efecto de la influencia circadiana para mantener un estado de vigilancia durante el día, que se llega a superponer a la presión homeostática de sueño derivada de la privación.

Dado que el mantenimiento de la vigilancia se considera básico para un rendimiento óptimo en prácticamente cualquier tipo de tarea cognitiva, parece lógico pensar que las variaciones circadianas en vigilancia pueden situarse en la base, o al menos, ejercer cierto impacto sobre las fluctuaciones que puedan observarse en otras tareas. Este podría ser el caso de la conducción de vehículos, una tarea habitualmente prolongada y monótona con gran implicación de la vigilancia, así como de otros recursos atencionales (por ejemplo, atención selectiva, dividida o control inhibitorio). En efecto, el máximo número de accidentes se produce en una franja horaria próxima al nadir de temperatura corporal central (entre las 3:00 h y las 5:00 h) (Folkard, 1997).

En el estudio de Correa, Molina y Sanabria, (2014), la influencia de la hora del día sobre la conducción se mostró mediada por el cronotipo. En particular, los participantes de cronotipo vespertino mostraron un mayor decremento de vigilancia en conducción (expresado a través de un mayor incremento en el error de posición del coche) a lo largo de la tarea cuando ésta fue realizada en su hora subóptima (8:00 h) en comparación con su hora óptima (20:00 h). Estos resultados motivaron gran parte de nuestro trabajo experimental.

En esta tesis doctoral, no obstante, los objetivos van más enfocados a la búsqueda de soluciones para compensar los deterioros en ejecución derivados de las fluctuaciones circadianas y sus efectos de sincronía que al estudio de dichos efectos en sí mismos, que ya han quedado probados a lo largo de la bibliografía revisada anteriormente. Con ese fin, nuestro foco de interés se extendió al potencial activador de la luz (Cajochen, 2007) por su posible aplicabilidad para la mejora en el rendimiento (Chellappa et al., 2011).

4. Efectos de la luz sobre la alerta y el rendimiento cognitivo

Los primeros estudios sobre este tema se centraron en los efectos de la exposición a luz por la noche, por su conocido papel en la regulación de la melatonina, cuya inhibición evitaría la somnolencia ligada a su secreción. Debido a que la melanopsina es máximamente sensible a la luz con longitudes de onda entre 460 y 490 nm (Bailes & Lucas, 2013; Hatori & Panda, 2010), la luz azul mostró, en estos primeros estudios, un mayor efecto activador que otras luces con longitud de onda media (color verde, Cajochen et al., 2005) o larga (amarillo, rojo, Chellappa et al., 2011). Además de la supresión de melatonina, la activación fisiológica asociada a la luz azul en ambos estudios se reflejó en una disminución del gradiente de temperatura distal-proximal y menor somnolencia subjetiva medida a través de la KSS. Más aún, en el estudio de Chellappa et al. (2011) esta mayor activación se manifestó en tiempos de reacción más rápidos en la tarea PVT, aunque no mejoró el rendimiento en funciones ejecutivas (Paced Visual Serial Addition Task, PVSAT).

No obstante, otros estudios sugieren efectos activadores de la luz no mediados por la melatonina, bien mediante la exposición a luces sin efectos sobre su secreción (Figueiro, Bierman, Plitnick, & Rea, 2009; Figueiro, Sahin, Wood, & Plitnick, 2015; Van de Werken, Giménez, de Vries, Beersma, & Gordijn, 2013) o bien durante el día, cuando la secreción de melatonina es mínima en condiciones normales (Sahin & Figueiro, 2013; Vandewalle et al., 2006; Vandewalle, Maquet, & Dijk, 2009). Estos efectos podrían estar mediados por el área preóptica del hipotálamo y el núcleo paraventricular del tálamo (PO y NPV, figura 2), que generarían respuestas de activación y, en el caso del segundo, afectivas, independientes de la melatonina. El área preóptica estaría implicada en la regulación del estado de arousal (Lockley, 2009). Por su parte, el núcleo paraventricular se ha propuesto como punto de interconexión entre señales relacionadas con la regulación circadiana y el arousal, y estructuras del sistema límbico como la amígdala y el núcleo accumbens, encontrándose implicado en la dimensión emocional de las tareas cognitivas (Colavito et al., 2015).

Esto supone un gran atractivo para los investigadores, debido, por un lado, a los costes de la supresión de melatonina nocturna para la salud general y la del sistema circadiano en particular (Fonken & Nelson, 2011) y por otro lado, a la ampliación del rango de situaciones susceptibles de beneficiarse de la exposición a luz. Así pues, en los últimos años los efectos de la luz se han explorado bajo diferentes circunstancias como tras privación de sueño (Gabel et al., 2013, 2015; Segal, Sletten, Flynn-Evans, Lockley, & Rajaratnam, 2016), tras fatiga mental inducida (Smolders & de Kort, 2014; Borragán et al., 2017) y en diferentes momentos a lo largo del día (Huiberts et al., 2015; Huiberts, Smolders, & de Kort, 2016; Vandewalle et al., 2011). Pero esta variedad de estudios ha dado lugar a una gran heterogeneidad de resultados. Por ejemplo, los efectos de la exposición a luz durante el día parecen depender de factores como el proceso cognitivo estudiado (Gabel et al., 2015), la dificultad de la tarea y la hora del día (Huiberts et al., 2015), la interacción entre los procesos circadiano y homeostático (Vandewalle et al. 2011), la cantidad de noches de privación de sueño (Gabel et al., 2013) o los propios niveles individuales de rendimiento (Gabel et al., 2015) o alerta previa (Correa et al., 2016). En otros casos, como los publicados por Segal et al. (2016), tras privación de sueño o por Borragán et al. (2017), tras fatiga

inducida, la exposición a luz no provocó mejoras en la alerta fisiológica ni en el rendimiento cognitivo.

Esta inconsistencia se hace más evidente en el caso de las tareas de conducción debido a la escasez de estudios sobre este tema. En el estudio de Taillard et al. (2012), la exposición a luz azul provocó mejoras en una tarea de conducción simulada nocturna (llevada a cabo en dos periodos de 2 horas de duración a la 1:00 h y a las 3:15 h) comparables a las de la cafeína. En cambio, en el estudio de Phipps-Nelson et al. (2009), la exposición a luz enriquecida en azul sobre conducción simulada nocturna (en 4 periodos de 2 horas de duración, repartidos entre las 21:00 h y las 8:00 h) no repercutió sobre el rendimiento en conducción, a pesar de incrementar el nivel de activación fisiológica (supresión de ondas lentas delta y theta en el registro de electroencefalografía (EEG) durante la tarea). Estas discrepancias podrían deberse a diferencias en la intensidad de la luz empleada en cada uno, muy baja en el primero (<1 lux, 2 mW/cm²) y baja-moderada en el segundo (20 lux, 7.4 mW/cm²).

Adicionalmente, los resultados del estudio de Phipps-Nelson et al. (2009), ponen de manifiesto una disociación entre las respuestas fisiológicas y cognitivas a la luz que también se sugiere en otros estudios (Gaggioni, Maquet, Schmidt, Dijk, & Vandewalle, 2014; Huiberts et al., 2016; Vandewalle et al., 2009). Tal disociación puede manifestarse de diferentes formas. Por ejemplo, estudios de neuroimagen (Vandewalle et al., 2009; Gaggioni et al., 2014) revelan diferencias en el curso temporal requerido por cada tipo de respuesta, más rápida en el caso de las neurofisiológicas y más lenta en las comportamentales. Por otro lado, la relación entre nivel de activación y rendimiento no es necesariamente lineal, de hecho, la ley de Yerkes-Dodson (1908) predice que el nivel de arousal requerido para un rendimiento óptimo dependería de la dificultad de la tarea: mientras tareas simples necesitarían niveles elevados de arousal, para incrementar la motivación, tareas complejas o de precisión requerirían niveles bajos de arousal, para facilitar la concentración. En este tipo de tareas, el incremento en los niveles de activación facilita el rendimiento hasta llegar a un punto óptimo, a partir del cual, cualquier incremento adicional de activación resultaría en deterioro de la ejecución. De forma similar, se ha sugerido que

la alerta física acelera los tiempos de reacción a costa de la precisión en las respuestas (Posner, 1978).

Tomando en consideración todo lo anterior, aunque existe bastante consenso sobre los efectos de alerta fisiológica de la luz nocturna, efectos similares durante el día estarían más sujetos a la influencia de otros muchos factores y, en ambos casos, las repercusiones sobre el rendimiento cognitivo son aún más variables. Esto hace necesario ampliar la investigación antes de extraer conclusiones definitivas y, en lo referente a la luz azul en horario nocturno, invita a ser cauteloso hacia su aplicación con fines de incremento de la alerta si no hay garantías de mejoras en rendimiento, debido a los costos derivados de la supresión de la melatonina en cuanto a alteración de los ritmos y el sueño.

A corto plazo, la supresión de melatonina nocturna se ha asociado con retraso en el inicio del sueño nocturno y alteración de su estructura, disminuyendo la proporción de sueño profundo: menor actividad de ondas lentas (delta, 0,5 – 4 Hz) durante el sueño NREM, y menor actividad theta (4 – 8 Hz) durante el sueño REM (Cajochen, Kräuchi, Danilenko, & Wirz-Justice, 1998; Cho, Joo, Koo, & Hong, 2013). A largo plazo, la supresión crónica de melatonina puede dar lugar a *cronodisrupción*: una alteración relevante del funcionamiento del sistema circadiano. Esta puede manifestarse como una reducción anormal en la amplitud de los ritmos (incluso ausencia total del ritmo), una alteración persistente en la relación de fase entre los ritmos internos y el ciclo ambiental día-noche, o una desincronización entre diferentes ritmos internos que deben estar sincronizados entre sí para el correcto funcionamiento de los procesos fisiológicos. Esta alteración puede causar, favorecer, mantener o empeorar numerosas patologías, relacionadas o no con el sueño, como la obesidad, diabetes, hipertensión, envejecimiento prematuro (Ortiz-Tudela et al., 2012), deterioro del sistema inmune (Pandi-Perumal et al., 2009), e incluso algunos tipos de cáncer, como el colorectal, de mama o de próstata (Erren, Pape, Reiter, & Piekarski, 2008).

Por el contrario, la exposición a luz de espectro azul durante el día, en horarios adecuados, puede tener efectos beneficiosos para la correcta sincronización del sistema circadiano (Martinez-Nicolas, Ortiz-Tudela, Madrid, & Rol, 2011).

III. Planteamiento de la investigación y Objetivos

El **objetivo general** de esta tesis fue profundizar en el estudio de los ritmos circadianos, tanto por su aplicación para la evaluación del sueño nocturno, como por su influencia sobre el rendimiento en tareas de vigilancia durante la vigilia, prestando especial atención al papel modulador de la luz artificial sobre dicha influencia. Este objetivo general fue abordado a través de una serie de estudios encaminados a cubrir diferentes **objetivos específicos**:

El **primer objetivo** fue la validación de un sistema de monitorización circadiana ambulatoria que permitiese la detección de sueño patológico y, dentro de este último, la discriminación entre insomnio primario y síndrome de retraso de la fase del sueño.

Este sistema estaba basado en el registro conjunto de temperatura corporal distal (muñeca), actividad motora, posición corporal y exposición a luz ambiental. En estudios previos, esta técnica había mostrado sensibilidad comparable a la de la polisomnografía (PSG) para evaluar la calidad y estructura del sueño (Ortiz-Tudela et al., 2014) y una alta correlación con el inicio en la secreción de melatonina, que permitió validar esta técnica para estimar la fase circadiana (Bonmatí et al., 2014). En el primer capítulo de esta tesis, pusimos a prueba su validez en el ámbito clínico a través de una muestra de pacientes (n = 242) afectados de insomnio psicofisiológico (n = 184) o trastorno de retraso de la fase circadiana (n = 58), y una muestra de controles sanos (n = 19).

Se llevó a cabo un análisis basado en técnicas de *aprendizaje automático* para la identificación de los parámetros con mayor poder de discriminación y la clasificación de estas tres categorías mediante un *árbol de decisión*. Esto permitió evaluar la sensibilidad y especificidad de nuestro sistema de monitorización circadiana, sirviendo como herramienta para la evaluación de los ritmos circadianos y el sueño de los participantes en nuestros siguientes estudios experimentales.

El **segundo objetivo** fue estudiar el efecto de diversos tipos de luz artificial sobre una tarea de conducción simulada al inicio de la noche. Específicamente se emplearon dos fuentes de luz con similar luminancia (410-469 lx) pero de distinto espectro: color blanco enriquecida en azul (pico máximo de distribución espectral = 440 nm) vs. color ámbar (pico máximo de distribución espectral = 595 nm), en comparación a una condición control de penumbra (< 1 lx). El nivel de activación

fisiológica se midió durante todo el tiempo en tarea a través del gradiente de temperatura distal-proximal. En un estudio previo (Correa et al., 2014), la ejecución en la tarea utilizada había demostrado ser sensible al decremento de vigilancia en horas subóptimas del día. En nuestro estudio, la hora elegida (21:45 h a 22:45 h) coincidía con el momento de inicio de la secreción de melatonina.

Este objetivo se planteó bajo las siguientes premisas: 1) el mantenimiento de la vigilancia es susceptible de deterioro al inicio de la noche, coincidiendo con el momento de inicio en la secreción de melatonina, debido a un aumento de somnolencia y 2) la luz blanca enriquecida en azul inhibe la secreción de la melatonina, aumentando la activación fisiológica, por lo que se ha propuesto como medida para mejorar el rendimiento en vigilancia respecto a la luz ámbar y la penumbra. Los participantes de este estudio fueron de cronotipo intermedio, para evitar los efectos facilitadores o disruptores que los cronotipos vespertino y matutino, respectivamente, mostrarían a dicha hora.

Los resultados mostraron un efecto activador de la luz blanca enriquecida en azul a nivel fisiológico, de acuerdo con el decremento en el gradiente de temperatura distal-proximal, en comparación con las otras dos condiciones. Sin embargo, este efecto no favoreció una mejora en la ejecución de las tareas de vigilancia; más aún, el error de posición aumentó a lo largo de la tarea de conducción bajo luz azul en comparación con las otras condiciones de iluminación. Esto fue interpretado como un posible efecto de hiperactivación que pudo perjudicar la precisión en el mantenimiento de la posición del vehículo.

Esta posibilidad nos llevó a plantear la realización de otro estudio con un diseño que implicase un mayor deterioro en vigilancia, para optimizar la respuesta a la luz. Además, para el nuevo estudio se seleccionó únicamente la luz blanca enriquecida en azul, por ser la que mayores efectos había mostrado.

Así pues, nuestro **tercer objetivo** consistió en estudiar el efecto de la luz blanca enriquecida en azul sobre la alerta y el rendimiento en conducción, a una hora subóptima del día (8:00 h) en una muestra de sujetos vespertinos. Diversos factores motivaron esta investigación:

- Evidencias previas de deterioro de la vigilancia sobre una tarea similar en una muestra de vespertinos a su hora subóptima del día (Correa et al., 2014). Este deterioro se manifestó en un mayor incremento del error de posición a lo largo del tiempo en tarea en la sesión de las 8:00 h, en comparación con la de las 20:00 h.
- Evidencias de efectos activadores de diversos tipos de luz independientes del ritmo de secreción de melatonina. En particular, estos efectos han sido observados tanto durante el día (Sahin et al., 2013, 2014) como de noche, mediante el empleo de luces cuya distribución espectral no conlleva una disminución sustancial en la secreción de melatonina, por ejemplo luz de color rojo (Figueiro et al., 2009) o de color blanco con atenuación del contenido azul (Van de Merken et al., 2013).
- Ausencia de estudios sobre el efecto activador de la luz en cronotipos extremos a su hora subóptima, a pesar de todas las evidencias anteriores y del amplio rango de situaciones bajo las que se ha estudiado el efecto activador de la luz.

Además de optimizar la sensibilidad a nuestra manipulación de luz mediante el recurso a condiciones más adversas, este estudio supuso las siguientes mejoras metodológicas respecto a nuestro estudio previo:

- Diseño intra-sujeto, para incrementar la potencia estadística al reducir las diferencias inter-individuales.
- Utilización de una tarea de conducción que incluía (además del error de posición) el tiempo de reacción como variable dependiente, más sensible a fluctuaciones de la vigilancia (Basner & Dinges 2011; Graw et al. 2004).
- Empleo de análisis no paramétricos de permutaciones, independientes de la distribución de los datos (v.g., no requieren que los datos sigan una distribución normal) y más adecuados para muestras pequeñas (Pesarin y Salmaso, 2010).

IV. Estudio 1

**Validación de un sistema de Monitorización Circadiana
Ambulatoria para la detección del sueño patológico**

1. Introducción

Los estudios cronobiológicos, especialmente los aplicables a la práctica clínica, han mostrado una gran expansión en los últimos años (Ancoli-Israel et al., 2003; Sadeh & Acebo, 2002). Esto se debe en parte a los cambios en hábitos de vida de las sociedades desarrolladas que afectan directamente la calidad de los ritmos biológicos, con el consiguiente impacto en el sueño (Shochat, 2012). En concreto, el estilo de vida conocido como *sociedad 24/7* se caracteriza por un aumento en las actividades laborales y de ocio nocturnas, exposición a luz en horarios aberrantes, incremento en el uso de tecnologías y *jetlag* social, es decir, un desajuste de ritmos entre el fin de semana y los días laborables (Goel et al., 2013). Todos estos factores conllevan desincronización entre los ritmos internos y el ciclo ambiental de luz-oscuridad. Además, el uso de dispositivos electrónicos con emisión de luz durante la noche se ha asociado a sueño retrasado, de corta duración y elevada fragmentación (Bulck, 2004; Owens et al., 1999; Shochat, Flint-Bretler, & Tzischinsky, 2010).

A su vez, las alteraciones de sueño, sea cual sea su causa, suelen conllevar deterioro de los ritmos circadianos. Por un lado, los horarios y duración del sueño modulan la exposición al resto de sincronizadores circadianos (exposición a luz, horarios de actividades, comidas...); por otro lado, la fragmentación, limitación o baja calidad del sueño, con la consiguiente privación parcial crónica de sueño, conllevan una reducción en la amplitud de los ritmos (Martínez-Nicolás et al. 2011) y somnolencia diurna, alterando el equilibrio entre los procesos circadiano y homeostático en la regulación del sueño (Borbély, Daan, Wirz-Justice, & Deboer, 2016).

Esta relación bidireccional entre sueño y ritmos circadianos pone de relieve la importancia de la evaluación circadiana en el ámbito clínico del sueño. En vista de ello, quisimos poner a prueba la utilidad diagnóstica de una técnica de Monitorización Circadiana Ambulatoria (MCA), basada en el registro conjunto de diversos marcadores circadianos como la temperatura de la muñeca (Sarabia et al., 2008), la actividad motora y la posición corporal (Ancoli-Israel et al., 2003; Sadeh & Acebo, 2002), junto con el ritmo de exposición a luz ambiental. Las tres variables corporales mencionadas permiten el cálculo de una variable integrada (TAP), que expresa el nivel general de

activación. Esta variable había sido previamente validada para la estimación del sueño, mostrando mayor fiabilidad y validez que cada una de las tres variables individuales que la componen, tanto en comparación con diarios de sueño en sujetos sanos (Ortiz-Tudela et al., 2010) como en comparación con PSG en pacientes con diversas patologías de sueño (Ortiz-Tudela et al., 2014). Para probar su utilidad diagnóstica, en este trabajo nos centramos en el insomnio primario y el síndrome de retraso de fase del sueño (SRFS), debido a la alta prevalencia de estas patologías y al potencial solapamiento en la sintomatología de ambas alteraciones.

El insomnio puede ser un síntoma o un trastorno. Brevemente, es entendido como dificultades en el inicio o mantenimiento del sueño, o sueño no reparador, a pesar de darse la oportunidad y circunstancias favorables, y se considera un trastorno cuando conlleva un impacto en las actividades diurnas y los síntomas se presentan al menos tres veces por semana, durante al menos un mes (Roth, 2007). Es el trastorno de sueño más común, pero su prevalencia varía en función de la definición adoptada y la población estudiada. Los criterios más estrictos de definición sugieren una prevalencia del 5 al 7%, aunque las quejas de síntomas de insomnio ascienden a aproximadamente un 30% (Roth, 2007).

El síndrome de retraso de fase del sueño (SRFS) hace referencia a un sueño normal pero significativamente retrasado en sus horarios de inicio y final respecto a los deseados o externamente impuestos (American Academy of Sleep Medicine, 2005; Clasificación Internacional de Enfermedades, CIE-10, 2008). Esto implica dificultades para iniciar el sueño, manifestando por tanto síntomas similares a un insomnio de conciliación, así como para levantarse por la mañana, cuando el sujeto ha de seguir un horario estándar. Si se cumple el horario estándar de despertar, dichas dificultades de conciliación resultan en privación parcial de sueño, lo que puede conllevar un importante deterioro en las actividades diurnas (Gradisar & Crowley, 2013). Dos estudios en población general incluyendo adultos y adolescentes arrojaron una tasa de prevalencia entre el 0.13 y el 0.17% (Schrader, Bovim, & Sand, 1993; Yazaki, Shirakawa, Okawa, & Takahashi, 1999) pero, si nos centramos en la adolescencia, la prevalencia puede ascender al 16% (Lovato et al., 2013). No obstante, todas las estimaciones hasta el momento siguen siendo inciertas, ya que este trastorno está probablemente

subestimado (Gradisar, Gardner, & Dohnt, 2011) y es fácilmente confundido con el insomnio de inicio (Weitzman et al., 1981). Más aún, existen referencias de solapamiento entre ambas (Gradisar & Crowley, 2013; Richardson et al., 2015; Sivertsen et al., 2013), lo que hace necesaria la búsqueda de herramientas para facilitar su diferenciación, ya que esto facilitaría la selección de la terapia más apropiada para cada caso.

Los procedimientos de predicción y clasificación basados en técnicas de *aprendizaje automático o computacional* están en plena expansión como herramienta diagnóstica en muy diversas patologías (Dagliati et al., 2017; Duda, Haber, Daniels, & Wall, 2017; Kim, Cho, & Oh, 2017; Kubota, Chen, & Little, 2016; Mossotto et al., 2017; Serrano et al., 2017). Se trata de un subcampo de las ciencias de la computación cuyo objetivo es desarrollar algoritmos capaces de detectar patrones complejos en muestras de datos, de modo que éstos le permitan generar modelos de predicción con un alto nivel de éxito. Algunos modelos tienen la propiedad de producir resultados interpretables que permiten al experto extraer conocimiento de los datos, como es el caso de las reglas de inferencia o los árboles de decisión (Mitchell, 1997). A grandes rasgos, los problemas abordados por el aprendizaje computacional supervisado son la *clasificación*, donde la salida es una etiqueta o valor nominal, y la *predicción* cuando la salida es un valor numérico. En este trabajo recurrimos a un modelo de clasificación mediante *árbol de decisión*: un algoritmo de clasificación *top-down* que descompone los datos en clases jerárquicas y anidadas, seleccionando en cada paso la variable que mejor subdivide el conjunto de elementos (Rokach & Maimon, 2005). La comparación de la clasificación resultante con el criterio experto (es este caso, con las categorías iniciales de las patologías bajo estudio) permite obtener la sensibilidad y especificidad del modelo de clasificación generado (Kubota et al., 2016).

En vista de todo lo anterior, el objetivo de este trabajo ha sido determinar la utilidad de la Monitorización Circadiana Ambulatoria (MCA,) combinada con técnicas de aprendizaje automático, como ayuda para el diagnóstico diferencial de estas dos patologías de sueño con elevado solapamiento en sus síntomas, el insomnio primario y el síndrome de retraso de fase del sueño (SRFS). Para ello, se compararon los principales parámetros circadianos de temperatura de la piel, actividad motora,

posición corporal, exposición a luz ambiental y sueño en sujetos control y pacientes diagnosticados de insomnio primario y SRFS.

2. Método

2.1. Participantes

El estudio incluyó 242 pacientes, diagnosticados de insomnio primario (n = 184), o de SRFS (n = 58), atendidos en la Clínica de Sueño Dr. Estivill (Barcelona) y 19 controles sin alteraciones circadianas o de sueño. El diagnóstico de estas dos patologías fue realizado por los especialistas de sueño de la clínica utilizando la historia clínica como base diagnóstica. La existencia de trastorno orgánico, metabólico, endocrino o psiquiátrico, incluyendo otros trastornos primarios de sueño (descartados mediante polisomnografía) fue considerada motivo de exclusión para el estudio, así como el abuso de alcohol o drogas.

2.2. Materiales y procedimiento

2.2.1. Entrevista clínica

A todos los sujetos incluidos (y, en los casos necesarios, sus familiares) se les realizó una entrevista clínica sobre la naturaleza de sus quejas. La caracterización del problema se abordó a través de cuestiones encaminadas a cubrir los siguientes aspectos:

- Si el problema se refería a la conciliación del sueño, a su mantenimiento, a sensación de sueño no reparador, o a una mezcla
- Duración, frecuencia y gravedad de los síntomas
- Síntomas diurnos asociados
- Otros posibles síntomas (ronquidos, apneas, nicturia, somnolencia u otras parasomnias)
- Hábitos de vida del paciente: horarios laborales, escolares, de comidas, actividades sociales, ejercicio físico, uso de tecnologías por la noche, rutinas previas al inicio del sueño
- Condiciones del entorno de sueño

- Preferencias horarias del paciente
- Consumo de sustancias psicoactivas (alcohol, sustancias estimulantes o relajantes, uso de fármacos, consumo de drogas ilegales...)

2.2.2. Polisomnografía (PSG)

En caso de sospecha, se recurrió al estudio polisomnográfico, tal como se describe en Ortiz-Tudela et al. (2014) para descartar posibles patologías orgánicas causantes de los síntomas de insomnio. Debido a que las patologías orgánicas confirmadas por esta técnica fueron consideradas motivo de exclusión, no volverán a abordarse a lo largo de este capítulo.

2.2.3. Dispositivo de Monitorización Circadiana Ambulatoria (MCA)

Para la evaluación ambulatoria de los ritmos circadianos y el sueño de los pacientes y controles, se empleó el dispositivo multicanal Kronowise® (Cronolab, Universidad de Murcia), integrado por tres sensores diferentes: 1) un sensor de temperatura (Thermochron® iButton DS1921H, Dallas, Maxim) situado en la muñeca no dominante al nivel de la arteria radial, para medir la temperatura corporal distal cada 10 minutos; 2) un actímetro (Hobo® Pendant G Acceleration Data Logger) para medir la posición corporal del eje paralelo al brazo (eje X, figura 5) en grados de inclinación ($^{\circ}$), y el nivel de actividad motora mediante el registro de su aceleración cada 30 segundos. El actímetro podía llevarse en la muñeca o en el brazo. Y 3) un luxómetro (Hobo® Pendant Light-Temperatura Data Logger) para la medición de la luz ambiental recibida cada 30 segundos. Este dispositivo se llevó durante una semana completa, las 24 horas del día.



Figura 5. Dispositivo multicanal Kronowise® (Cronolab, Universidad de Murcia).

2. 3. Análisis de datos

2.3.1. Análisis no paramétricos

Para cada sujeto, se obtuvo una variable integrada a partir de los ritmos de temperatura, actividad motora y posición corporal, llamada TAP (por las iniciales de los ritmos que la componen) e indicativa del nivel general de activación, tal como se describe en Ortiz-Tudela et al. (2010). Para ello, los datos de temperatura se invirtieron y tanto estos como los de actividad motora y posición corporal se normalizaron, de modo que la variable TAP puede tomar valores entre 0 (activación mínima) y 1 (activación máxima). Dado que el actímetro podía ir situado en la muñeca o en el brazo, los datos de actimetría fueron tipificados respecto a la colocación del sensor. Debido a que el potencial informativo de la variable posición corporal, por sí sola, es muy bajo (Ortiz-Tudela et al., 2010, 2014), en el apartado de resultados no se reportarán los datos de esta variable individual, aunque sí fue utilizada para generar la variable integrada TAP.

La variable TAP se utilizó para estimar el sueño a partir de un umbral establecido dinámicamente para cada sujeto, en función de sus propios ritmos de acuerdo con el procedimiento implementado en Ortiz-Tudela et al. (2014). Cada una de estas variables, individuales e integrada, fue sometida a análisis no paramétricos (Refinetti, Lissen, & Halberg, 2013) mediante el software Kronowizard® (<https://kronowizard.um.es/>; Cronolab, Universidad de Murcia), proporcionando los siguientes índices:

- Estabilidad Interdiaria (IS). Este índice cuantifica la estabilidad del ritmo entre los distintos días. Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$IS = \frac{n \sum_{h=1}^n (\bar{x}_h - \bar{x})^2}{p \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

n: número total de datos

p: número de datos por día

\bar{x}_h : valor medio de ese punto horario

Los valores de IS varían entre 0 para máximo ruido y 1 para una estabilidad interdiaria perfecta, lo que sucede cuando la onda se repite igual cada día.

- Variabilidad Intradia (IV). Es un indicador de la fragmentación del ritmo, y depende de la frecuencia y extensión de transiciones entre los valores altos y los bajos, según la siguiente fórmula:

$$IV = \frac{n \sum_{i=2}^n (x_i - x_{i-1})^2}{(n-1) \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

n: número total de datos

\bar{x} : valor medio del total de datos

Los valores de IV s cercanos a 0 cuando se trata de una onda sinusoidal perfecta y se aproximan a 2 para el caso de una señal de ruido gaussiano.

- Amplitud Relativa (RA). Es un marcador de la amplitud del ritmo o contraste entre los valores propios de vigilia y los de sueño. Inicialmente este índice se desarrolló para el análisis de la actividad motora, aunque en este trabajo se ha utilizado también para el resto de variables. Hace referencia a la diferencia entre el valor máximo y el mínimo del ritmo. La fórmula para actividad motora, posición corporal, TAP y luz ambiental es la siguiente:

$$RA = \frac{M5v - L10v}{L10v + M5v}$$

Sin embargo, dado que el ritmo de temperatura periférica y el de sueño son inversos los de actividad, posición, y exposición a la luz, la fórmula utilizada en este caso queda de la siguiente forma:

$$RA = \frac{M5v - L10v}{L10v + M5v}$$

Este índice toma valores entre 0, expresando ausencia de contraste entre los valores de sueño y los de vigilia, y 1 para el máximo contraste.

M10v y M5v, y L10v y L5v son los valores medios de las 10 horas ó 5 horas consecutivas de valores más altos (M) o más bajos (L), respectivamente. Los valores de M5v de temperatura y de L5v de actividad, posición y luz, se han utilizado como indicadores profundidad del sueño, mientras que los valores de M10 de actividad, posición y luz y los valores L10 de temperatura proporcionan una estimación de los niveles de activación durante el periodo principal de vigilia.

También se ha calculado la hora a la que se encuentra el valor central de estos índices (M10h y M5h, y L10h y L5h, respectivamente), utilizándose como indicadores de fase circadiana.

- Índice de Funcionamiento Circadiano (CFI) (Ortiz-Tudela et al., 2010): es un índice desarrollado para caracterizar con un solo valor el grado de robustez de los ritmos de un sujeto. Incorpora 3 parámetros, IV, IS y RA. Los valores IV se invierten y normalizan entre 0 y 1, siendo 0 una señal de ruido y 1 una curva sinusoidal perfecta. De este modo, el CFI al ser calculado como promedio de estos tres parámetros puede oscilar entre 0 (ausencia de ritmicidad circadiana) y 1 (ritmo circadiano robusto).

2.3.2. Fase 2: Aprendizaje automático (o aprendizaje de máquinas)

A partir de los índices obtenidos mediante el análisis no paramétrico, los sujetos incluidos en el estudio fueron clasificados mediante aprendizaje automático, utilizando el software Orange Canvas© (Universidad de Ljubljana, Slovenia; Demšar et al., 2013).

Selección de atributos

La selección de atributos se realizó sobre la variable integrada TAP (y el sueño estimado a partir de ésta) por su mayor validez sobre las variables individuales (Ortiz-Tudela et al., 2010, 2014). Esta selección estuvo guiada por el criterio experto de incluir atributos que contuviesen información complementaria entre sí,

seleccionándose parámetros indicativos de: fase circadiana, calidad de los ritmos y de calidad del sueño.

Teniendo en cuenta lo anterior, se aplicaron los criterios estadísticos de *ANOVA* (maximización de las diferencias entre clases), *Chi cuadrado* (maximización de la correlación interna entre los valores del atributo dentro de cada clase), y el criterio *Ganancia de Información* (basado en una medida de reducción de impureza o entropía), para establecer el potencial discriminativo de los atributos candidatos.

Discretización

Utilizando como punto de partida los datos de los atributos seleccionados, estos se han sometido a un proceso de reconversión de valores continuos en discretos, a través de particiones que: 1) reflejen la distribución original del atributo continuo; 2) mantengan los patrones de los atributos sin añadir otros espurios; y 3) tengan sentido clínico y sean interpretables según criterios expertos (Maslove, Podchiyska, & Lowe, 2013). En general, los modelos de clasificación construidos basándose en atributos discretos son más exactos que los continuos (Liu & Hussain, 2002). La técnica de discretización utilizada fue la de *Longitud de Descripción Mínima (MDL)* (Fayyad & Irani, 1993). Esta es una técnica *top-down* que divide el atributo de forma recursiva maximizando la ganancia de información, hasta llegar al punto en que partición ya no agregue más información a las predicciones.

Validación del modelo

La evaluación del modelo generado se realizó mediante muestreo por validación cruzada con 10 pliegues. Se obtuvieron las siguientes medidas:

- Sensibilidad o ratio de verdaderos positivos: o probabilidad de clasificar correctamente un caso dentro de su categoría. Se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

VP: número de verdaderos positivos

FN: número de falsos negativos

Estudio 1

- Precisión, valor predictivo positivo o recuperación: probabilidad que un caso pertenezca a una categoría tras haber sido asignado a ella por el modelo:

$$\text{Precisión} = \frac{VP}{VP + FP}$$

VP: número de verdaderos positivos

FN: número de falsos positivos

- Puntuación F1: índice que evalúa de forma conjunta la sensibilidad y la precisión, obtenido como la media armónica entre ambas, es decir:

$$F1 = \frac{2 (\text{Sensibilidad} \times \text{Precisión})}{(\text{Sensibilidad} + \text{Precisión})}$$

- Especificidad o ratio de verdaderos negativos: probabilidad de excluir correctamente un caso no perteneciente a una categoría, obtenida mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

VP: número de verdaderos negativos

FN: número de falsos positivos

- Ratio de falsos positivos: probabilidad de clasificar erróneamente a un caso dentro de una categoría a la que no pertenece:

$$\text{Ratio de falsos positivos} = 1 - \text{Especificidad}$$

- Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*, o Característica Operativa del Receptor) y AUC (*Area Under Curve* o Área Bajo la Curva): la curva ROC se obtiene a partir de la representación gráfica conjunta de la sensibilidad y el ratio de falsos positivos. El área delimitada bajo esta curva, el AUC, se puede interpretar como la probabilidad de que un clasificador puntuará una instancia positiva elegida aleatoriamente más alta que una negativa. Es una medida de discriminación que indica cuánto es capaz el modelo de separar los valores de ambas clases.

3. Resultados

3.1. Análisis no paramétricos

La tabla 1 muestra los parámetros circadianos más relevantes en cada una de las tres categorías previas a la clasificación por aprendizaje automático.

Tabla 1: promedio de los índices obtenidos mediante análisis no paramétrico de temperatura, actividad motora, TAP, sueño estimado y luz ambiental.

	Temp.	Act	TAP	Sueño	Luz
L5/M5v	(°C)	Punt. Z	Normalizado	Probabilidad	Log(lux)
Control	34,92	0,02	0,13	0,95	0,01
Insomnio	34,54	-0,1	0,18	0,9	0,03
Retraso Fase	34,35	0,19	0,19	0,87	0,11
L5/M5h	hh:mm	hh:mm	hh:mm	hh:mm	hh:mm
Control	4:04	3:57	3:54	4:06	3:52
Insomnio	4:44	3:54	4:04	3:57	3:54
Retraso Fase	7:21	6:43	6:48	6:37	6:08
M10/L10v	(°C)	Punt. Z	Normalizado	Probabilidad	Log(lux)
Control	32,04	-0,11	0,63	0,01	1,81
Insomnio	32,46	0,17	0,59	0,05	1,64
Retraso Fase	32,44	-0,06	0,58	0,06	1,35
M10/L10h	hh:mm	hh:mm	hh:mm	hh:mm	hh:mm
Control	15:40	16:19	16:16	15:51	14:56
Insomnio	14:25	15:26	15:25	15:19	14:20
Retraso Fase	18:01	17:45	18:07	17:05	16:03
RA (Amplitud Relativa)					
Control	0,04	0,69	0,66	0,98	0,99
Insomnio	0,03	0,66	0,53	0,89	0,96
Retraso Fase	0,03	0,6	0,5	0,87	0,88
IS (Estabilidad Interdiaria)					
Control	0,52	0,28	0,59	0,75	0,52
Insomnio	0,37	0,28	0,49	0,64	0,48
Retraso Fase	0,32	0,26	0,44	0,57	0,4
IV (Variabilidad Intradiaria)					
Control	0,12	0,97	0,3	0,19	0,19
Insomnio	0,16	0,98	0,48	0,32	0,21
Retraso Fase	0,15	1,01	0,48	0,3	0,2
CFI (Índice de Funcionamiento Circadiano)					
Control	0,5	0,54	0,7	0,88	0,8
Insomnio	0,44	0,51	0,59	0,79	0,78
Retraso Fase	0,42	0,49	0,57	0,76	0,73

3.2. Selección de atributos

Los atributos seleccionados para la elaboración del árbol de decisión fueron: TAP-L5h como marcador de la fase de sueño, TAP-M10h como marcador de la fase de vigilia, CFI del sueño estimado como indicador global de la calidad de los ritmos, y AR de TAP que, aun siendo un indicador de calidad del ritmo, contiene simultáneamente la información relativa a la profundidad de sueño y al nivel de activación diurna. La tabla 2 contiene las magnitudes de los criterios de selección utilizados.

Tabla 2: índices de Ganancia de Información, F del ANOVA y χ^2 para cada uno de los atributos seleccionados para la construcción del árbol de decisión

	Ganancia de Información	ANOVA (F)	χ^2
TAP-L5h	0,36	50,30	79,06
TAP-M10h	0,25	35,70	53,64
Sueño-CFI	0,13	12,83	25,59
TAP-AR	0,10	13,86	24,08

3.3. Árbol de decisión

A partir de los atributos seleccionados en la fase anterior, los sujetos fueron clasificados como se describe en la figura 6.

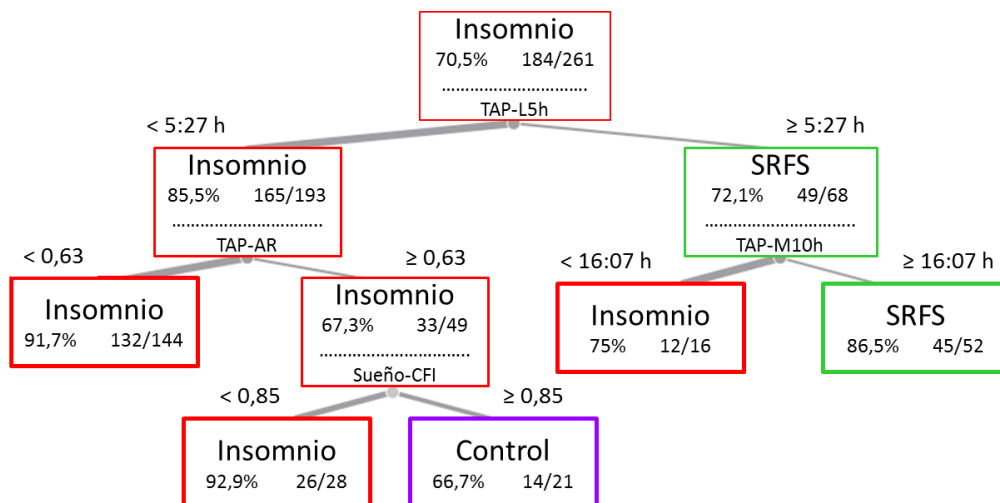


Figura 6. Árbol de decisión. El marcador de fase TAP-L5h (hora central de sueño) permitió discriminar entre las patologías caracterizadas por dificultades de conciliación, RF e insomnio de inicio (TAP-L5h posterior a las 5:27 h), y el resto de clases. Los sujetos sin dicho retraso en la fase de sueño fueron divididos en función de la RA del TAP: aquéllos en los que ésta fue más baja (< 0.629), indicativa de un menor contraste entre el nivel de activación diurna y nocturna, fueron clasificados como insomnio. En un siguiente nivel, los sujetos con mayor RA de TAP fueron subdivididos en controles sanos y en otro subgrupo de insomnio, en función de su CFI de sueño, que fue mayor (indicativo de ritmos más robustos) en el caso de los controles (≥ 0.852). Respecto a la clase caracterizada por el retraso en la hora central de sueño, el marcador de fase TAP-M10h (hora central de vigilia) permitió diferenciar entre el RF y el insomnio de inicio, caracterizándose el RF por mostrar un retraso en la hora central de máxima activación diurna (posterior a las 16:07 h) respecto al insomnio de inicio. Así pues, este modelo dio lugar a 5 clases finales: SRFS (retraso tanto en la hora central de sueño como en la de máxima activación diurna), insomnio de inicio (retraso en la hora central de sueño pero no en la de activación diurna), insomnio de mantenimiento (fase de sueño en horario normal, baja amplitud relativa y bajo CFI), insomnio “leve” (sólo diferente de los controles sanos por la calidad global del ritmo sueño-vigilia), y controles sanos.

Cada una de las clases obtenidas a partir del árbol de decisión se caracteriza por un perfil circadiano concreto, como se puede ver en la figura 7. Los controles sanos se distinguen de las otras dos categorías en: a) mayor profundidad de sueño: valores nocturnos más altos de temperatura de la muñeca y sueño estimado, y más bajos de actividad motora y TAP, y b) temperaturas diurnas más bajas, indicativas de un mayor nivel de activación (esta diferencia no se observa ni en actividad motora ni en TAP). El SRFS se diferencia de las otras dos categorías en: a) un marcado retraso de la fase de sueño en todas las variables; b) baja activación (temperatura más alta, actividad motora y TAP más bajos) durante toda la mañana; y c) niveles de luz ambiental más bajos durante toda la mañana, sin diferencias respecto a las otras dos categorías entre las 17:00 h y las 23:00 h, y presencia de luz ambiental durante la noche (hasta aproximadamente las 6:00 h por término medio).

Estudio 1

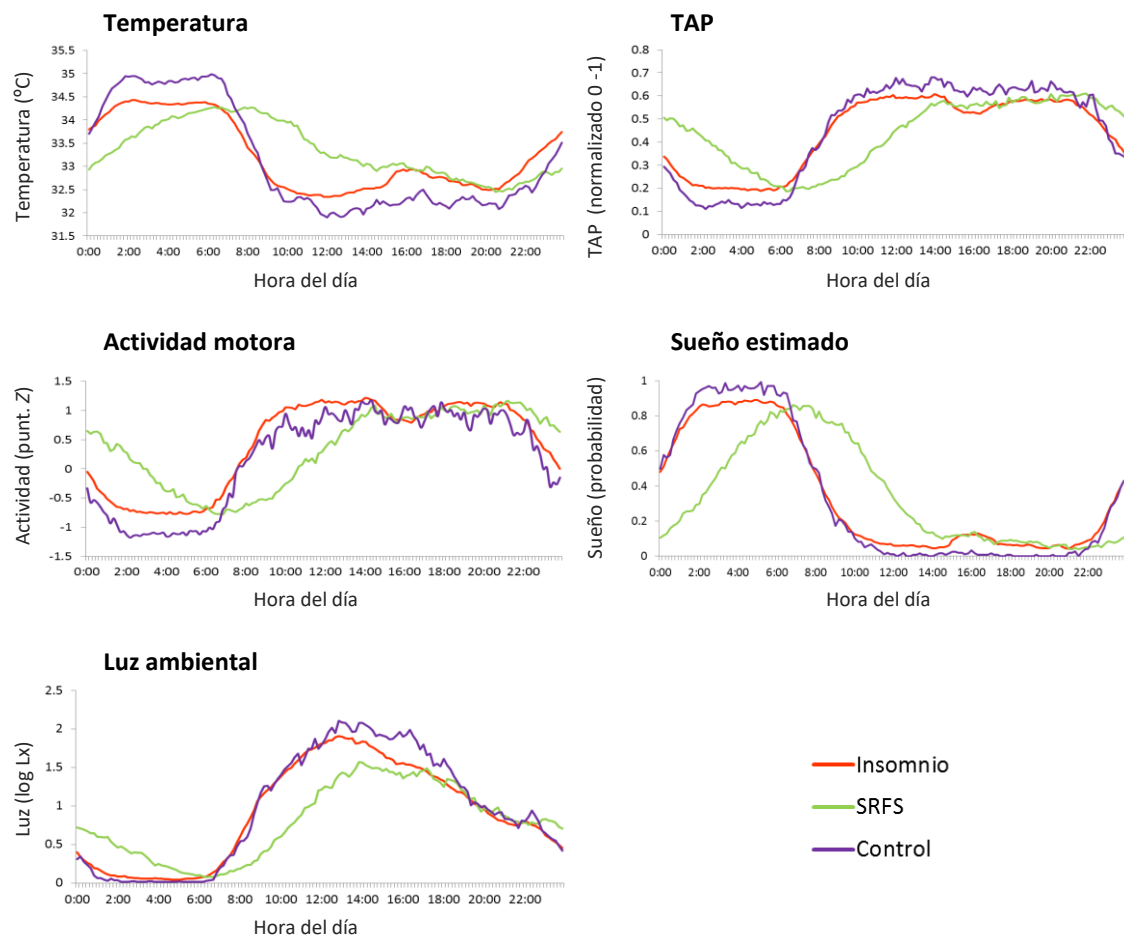


Figura 7. Onda media diaria de temperatura de la muñeca, actividad motora, TAP, sueño estimado y exposición a luz ambiental, en cada una de las tres categorías principales: controles sanos (línea violeta), insomnio (línea roja) y síndrome de retraso de la fase del sueño (SRFS, línea verde). El eje vertical de cada figura indica la magnitud de la medida. El eje horizontal indica la hora del día.

La figura 8, por su parte, permite contrastar los perfiles circadianos correspondientes a los distintos subtipos de insomnio (A) y los de insomnio de inicio frente a SRFS (B). En consonancia con los resultados del árbol de decisión, se puede observar que el insomnio de inicio difiere de las dos categorías de insomnio de mantenimiento en un retraso en las horas de inicio y final de sueño, mientras que los otros dos tipos de insomnio solamente difieren entre sí en la amplitud relativa del ritmo de TAP, que muestra valores nocturnos más bajos (menor activación) y valores diurnos más altos (mayor activación) en su forma más leve. Por su parte, el SRFS muestra un mayor retraso en su fase de sueño que el insomnio de inicio y, lo que es más importante, diferencias en su patrón de activación y exposición a luz ambiental

diurna. En particular, el insomnio de inicio muestra valores globales de activación más altos durante la mañana y un descenso más marcado durante el periodo postprandial, mientras que el SRFS muestra una mayor activación durante toda la tarde y primeras horas de la noche. En cuanto al ritmo de exposición a luz, se observan valores más bajos durante la mañana en el SRFS que en el insomnio de inicio, mientras que durante la tarde sucede al contrario.

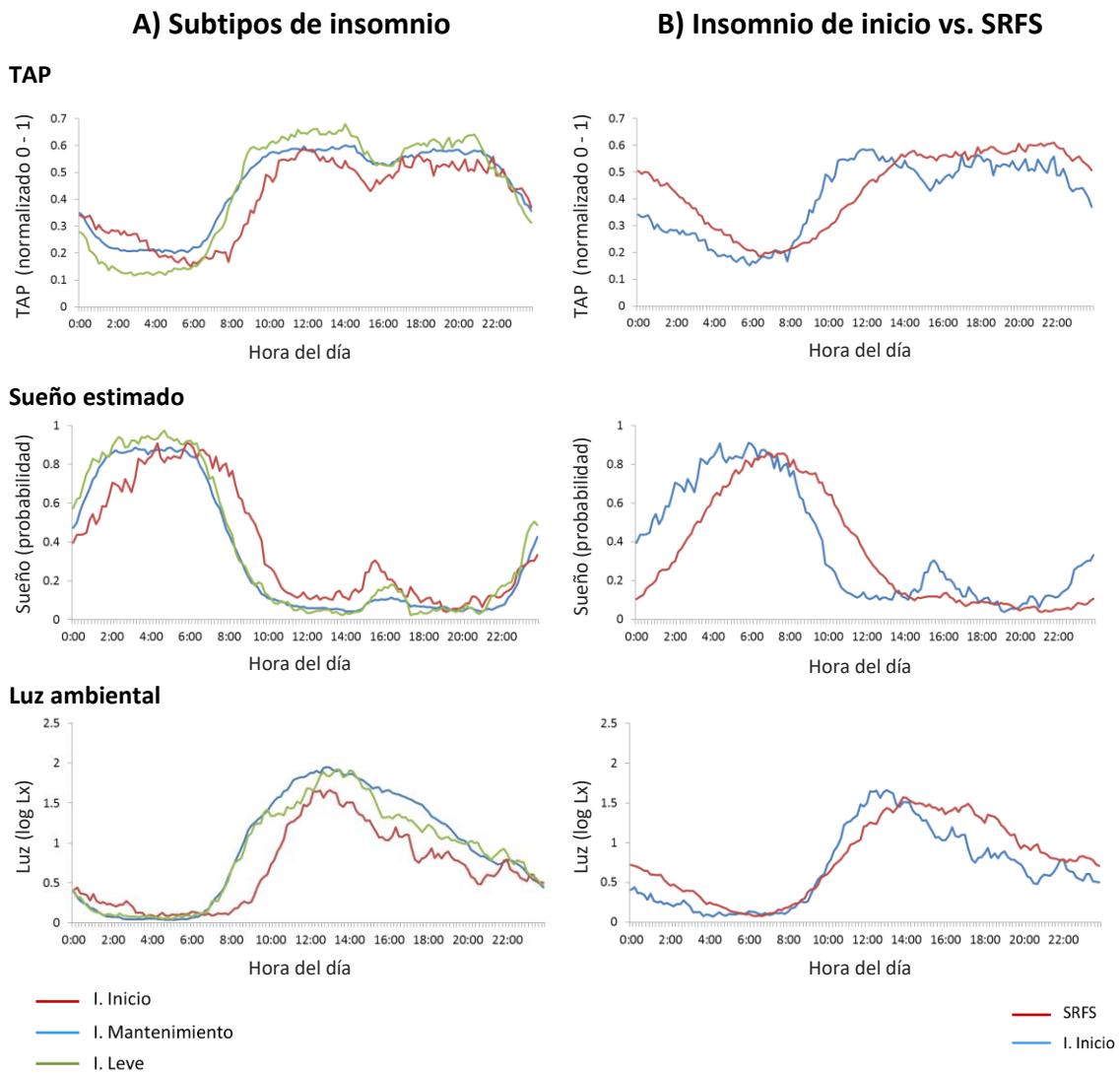


Figura 8. Ondas medias diarias, de arriba abajo, de los ritmos de TAP, sueño estimado y exposición a luz ambiental, para los tres subtipos de insomnio (izquierda) y para la comparación entre insomnio de inicio y SRFS (derecha). El eje horizontal representa la hora del día. El eje vertical representa la magnitud de TAP (unidades arbitrarias), la probabilidad de sueño y los niveles de luz (en logaritmo de luxes), respectivamente.

3.4. Validación del modelo

La evaluación del modelo se realizó mediante validación cruzada con 10 pliegues. La precisión, sensibilidad, índice F1 y AUC del modelo para cada categoría se recogen en la tabla 3, mientras que la especificidad y el ratio de falsos positivos están plasmados a través de la curva ROC (figura 9 A, B y C). Esta validación también permitió obtener una matriz de confusión cuyas datos están representados en la figura 9D.

Tabla 3: índices de evaluación del modelo.

	Precisión	Sensibilidad	F1	AUC
Control	0,96	0,962	0,667	0,851
Insomnio	0,884	0,885	0,921	0,897
SRFS	0,922	0,923	0,811	0,934

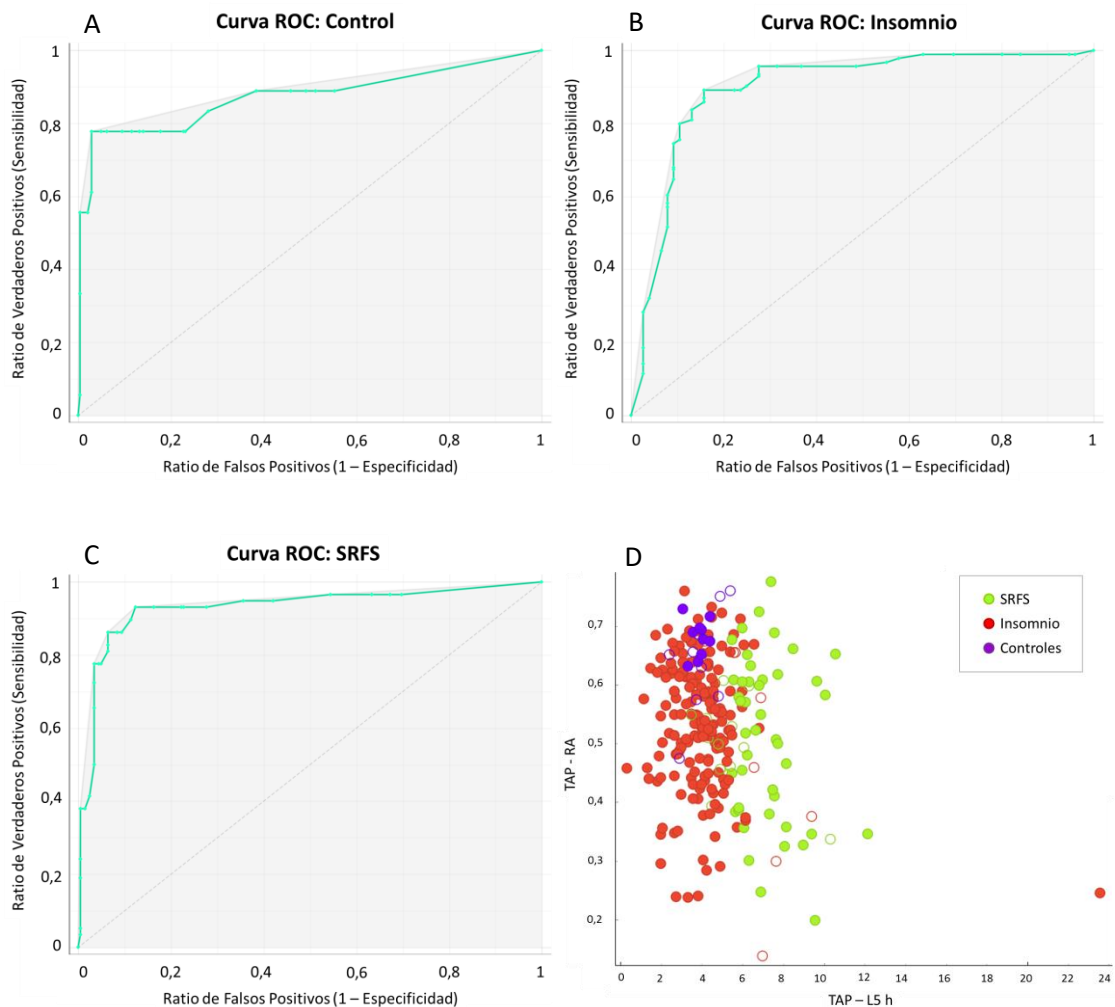


Figure 9. Curvas ROC para la categoría de controles (A), insomnio (B) y SRFS (C). 5C: representación de los datos de la matriz de confusión, en función de las variables TAP-RA (de 0 a 1, eje vertical) y TAP-L5h (hora del día, eje horizontal). Los puntos rellenos representan verdaderos positivos, mientras que los puntos huecos representan falsos negativos. Los casos categorizados como SRFS (puntos verdes) se caracterizan por una hora central de sueño (TAP-L5h) más tardía que las otras dos categorías, mientras que el TAP-RA puede tomar un amplio rango de valores. El insomnio (puntos rojos) muestra una hora central de sueño máximamente concentrada entre las 3:00 h y las 5:00 h y, al igual que el SRFS, un amplio rango de valores de TAP-RA. Los controles, por su parte, se caracterizan por una hora central de sueño concentrada en torno a las 4:00 h y niveles predominantemente altos de TAP-RA (entre 0,65 y 0,7).

4. Discusión

El presente trabajo tuvo el objetivo de proporcionar una nueva aproximación a la evaluación clínica del sueño a través del estudio de los ritmos circadianos. Para ello, nos propusimos validar el potencial de discriminación diagnóstica de una técnica de monitorización circadiana ambulatoria basada en el registro simultáneo de los ritmos de temperatura corporal distal, actividad motora, posición corporal y luz ambiental. Esto se llevó a cabo sobre una muestra de pacientes afectados de insomnio o síndrome de retraso de la fase del sueño (SRFS), y un grupo de controles sin patología circadiana ni de sueño. El potencial diagnóstico de la técnica se exploró mediante análisis de aprendizaje automático.

Los modelos de aprendizaje automático están revolucionando el campo de la medicina como soporte para el diagnóstico diferencial: sólo entre 2016 y 2017 ya se han aplicado para la evaluación de trastornos tan dispares como el autismo y trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH, Duda et al., 2017), la enfermedad de Parkinson (Kubota et al., 2016), el glaucoma (Kim et al., 2017), la diabetes (Dagliati et al., 2017) o la enfermedad inflamatoria intestinal pediátrica (Mossotto et al., 2017).

Para la implementación de esta técnica, nos basamos principalmente en la variable integrada TAP (obtenida a partir de la temperatura, la actividad y la posición) por haber mostrado mayor validez para la estimación del sueño que cada una de las variables individuales (Ortiz-Tudela et al., 2012, 2014). También fueron considerados los parámetros circadianos calculados para la propia variable ‘sueño estimado’,

obtenida a partir de TAP. A partir de los índices circadianos obtenidos mediante análisis no paramétrico (Refinetti et al., 2013) se construyó un árbol de decisión para la clasificación de los sujetos de estudio, lo que fue posible a partir de solamente 4 atributos: un marcador de la fase de sueño, un marcador de la fase de vigilia, un indicador de la calidad del ritmo (CFI) y otro indicador, el RA, que además de relacionarse también directamente con la calidad de los ritmos, contiene intrínsecamente información sobre la profundidad de sueño y el nivel de activación diurna, al expresar el contraste entre ambos. De hecho, los criterios estadísticos y de reducción de entropía aplicados para la selección de atributos demostraron que este índice fue más discriminativo que los propios indicadores directos de profundidad de sueño (valor promedio del L5 de TAP y actividad motora).

Además de discriminar entre las tres categorías seleccionadas a priori: controles, insomnio y SRFS, el árbol de decisión dio lugar a 3 subtipos de insomnio. De ellos, uno se caracterizó por un retraso en la hora central de sueño (TAP-L5h), lo que suele asociarse a dificultades de conciliación, por lo que este subgrupo fue etiquetado como insomnio de inicio. Debido a esta característica, este subgrupo surgió de una rama en común con el SRFS, del cual se diferenció por la hora central de máxima activación en vigilia (TAP-M10h), que fue más tardía en el SRFS. Esto va en consonancia con el perfil circadiano que cabría esperar de este último, ya que el SRFS se podría considerar como la manifestación clínica del cronotipo vespertino extremo (Lack et al., 2009). Por el contrario, esto no debería ser el caso en un insomnio de inicio no secundario a trastorno circadiano, lo cual es acorde con nuestros resultados. Este hallazgo es digno de consideración teniendo en cuenta el elevado solapamiento entre los síntomas de ambas patologías (Gradisar & Crowley, 2013; Richardson et al., 2015; Sivertsen et al., 2013), y llama la atención sobre la necesidad de tener en cuenta los ritmos circadianos a un nivel global para el estudio clínico del sueño, más allá de los síntomas nocturnos. Curiosamente, el SRFS se también se distinguió de los demás (incluido el insomnio de inicio) por su ritmo de exposición a luz ambiental, que se caracterizó por ausencia de luz durante las primeras horas de la mañana y presencia de luz durante gran parte de la noche. Nuestro modelo no permite establecer una relación de causalidad, es decir, no podemos inferir si el retraso en su fase de sueño se

debe a un ritmo inadecuado de exposición a la luz, o si estos horarios de exposición a la luz son secundarios a los propios horarios de sueño – vigilia. Sin embargo, sí está claro que ambos factores se retroalimentan y este ritmo de exposición a luz puede contribuir al mantenimiento del trastorno circadiano y de sueño.

Entre las demás categorías, cuya fase de sueño no mostró el retraso horario observado en las anteriores, se observa en primer lugar la separación de un grupo de pacientes insomnes, a raíz de su menor amplitud relativa del ritmo de activación general (TAP), del resto de sujetos. Esta baja amplitud relativa, o contraste del ritmo, es congruente con una confluencia de sueño poco profundo o fraccionado junto con somnolencia diurna. Por tanto, este subgrupo fue etiquetado como insomnio de mantenimiento. Entre los sujetos restantes, en cambio, se observa un subgrupo de pacientes insomnes que apenas se diferencian de los sujetos controles en una menor calidad de los ritmos circadianos, mientras que la amplitud relativa de TAP no fue diferente entre ambos. De hecho, el perfil circadiano de ambos grupos, expresado a través de las ondas medias de las diversas variables, es muy similar. Esto permite inferir que probablemente se trate de pacientes cuya afectación del sueño es muy leve. Más aún, muy probablemente los mayores factores de confusión entre insomnio y controles se concentren en estos dos grupos.

A pesar de los esperables errores del modelo (falsos positivos y falsos negativos) nuestros análisis mostraron unas tasas más que aceptables de sensibilidad, precisión, relación entre ambas (índice F1) así como relación entre sensibilidad y falsos positivos (AUC), lo que lo confirma como un modelo válido para la discriminación entre las clases incluidas.

La limitación más relevante de nuestro estudio es la gran diferencia en el tamaño muestral de las distintas categorías incluidas, y sobre todo el hecho de que fuese tan reducido en el caso de los controles. Esto puede afectar a la calidad del modelo generado, que daría más peso a los atributos discriminativos de las categorías con mayor número de casos (en este caso, el insomnio) en detrimento de las categorías más reducidas, con el fin de maximizar el número de aciertos. Así pues, el modelo tomaría decisiones encaminadas a incrementar la sensibilidad hacia el insomnio, pero que reducirían su especificidad. Aun así, los índices de calidad del

modelo previamente descritos permiten atribuirle credibilidad a pesar de esta limitación. Más aún, permiten esperar que un mayor tamaño muestral en el grupo control (así como en el de SRFS, aunque este no sea tan reducido) pudiera incrementar la validez del modelo. Futuros estudios deberían solventar esta limitación mediante la aplicación de este método en muestras más amplias y, sobre todo, más equiparadas en número entre sí.

Otra propuesta interesante de futuro sería la inclusión de más tipos de patologías, como por ejemplo el Síndrome de Apnea de Sueño (SAS), o el Síndrome de Avance de la Fase del Sueño (SAFS), entre otras. En este estudio nos hemos centrado en el insomnio primario y el SRFS debido sobre todo a su elevada prevalencia y las elevadas probabilidades de confusión entre ambos, en particular cuando el insomnio es de inicio, debido a la similitud de sus síntomas centrales: i.e., las dificultades de conciliación. En este sentido, nuestros resultados podrían ser de gran utilidad en el ámbito clínico al proporcionar datos relevantes para caracterizar mejor ambas patologías. En cuanto a la implementación en otras patologías, estos hallazgos positivos animan a seguir investigando en esta línea. Por último, la validación de esta técnica de evaluación circadiana permite confiar en su aplicación en el ámbito de la investigación, bien para mejorar la selección de las muestras, o como herramienta de evaluación.

En conclusión, la unión de dispositivos tecnológicos "llevables" (del término inglés *wearable devices*), que permiten la recogida de miles de datos de cada sujeto, junto con el desarrollo de técnicas basadas en el manejo de datos masivos (*big data*) y métodos de minería de datos y aprendizaje automático, nos acerca a la incorporación de la "Salud Digital" a nuestros sistemas de salud e investigación. Muy probablemente, estas técnicas están llamadas a jugar un importante papel como soporte de clasificación diagnóstica, con la consiguiente utilidad para la selección de terapias adecuadas e individualizadas, en grandes grupos de población y a unos costes perfectamente asumibles.

V. Estudio 2

Blue-enriched white light enhances physiological arousal but not behavioral performance during simulated driving at early night

This study has been published as:

Rodríguez-Morilla B, Madrid JA, Molina E & Correa A: Blue-enriched white light enhances physiological arousal but not behavioral performance during simulated driving at early night. **Frontiers in Psychology. 8: 997** doi: 10.3389/fpsyg.2017.00997

Abstract

Vigilance usually deteriorates over prolonged driving at non-optimal times of day. Exposure to blue-enriched light has shown to enhance arousal, leading to behavioral benefits in some cognitive tasks. However, the cognitive effects of long-wavelength light have been less studied and its effects on driving performance remained to be addressed.

We tested the effects of a blue-enriched white light (BWL) and a long-wavelength orange light (OL) versus a control condition of dim light (DL) on subjective, physiological and behavioral measures at 21:45 h. Neurobehavioural tests included the Karonlinska Sleepiness Scale and subjective mood scale, recording of distal-proximal temperature gradient (DPG, as index of physiological arousal), accuracy in simulated driving and reaction time in the auditory Psychomotor Vigilance Task.

The results showed that blue-enriched white light decreased the DPG (reflecting enhanced arousal), while it did not improve reaction time or driving performance. Instead, blue light produced larger driving errors than orange light, while performance in orange light was stable along time on task.

These data suggest that physiological arousal induced by light does not necessarily imply cognitive improvement. Indeed, excessive arousal might deteriorate accuracy in complex tasks requiring precision, such as driving.

Keywords: lighting, alertness, Psychomotor Vigilance Task, simulated driving, circadian rhythms, temperature, vigilance decrement, time on task.

1. Introduction

Vigilance, or tonic alertness, is a preparatory state to optimally attend and respond to the environment (Oken, Salinsky, & Elsas, 2006; Posner & Petersen, 1990). Vigilance maintenance during driving is highly demanding and frequently results in both mental fatigue and sleepiness. Based on a general definition of fatigue (Williamson et al., 2011), we define mental fatigue as a biological drive for psychological restoration from prolonged or effortful cognitive activity. Sleepiness involves difficulty to stay awake due a physiological pressure to sleep, which is driven by the interaction between circadian and homeostatic factors (Borbély, 1982).

Therefore, the ability to remain optimally awake and vigilant fluctuates depending on the time of day, so that driving performance experiences the largest impairment after midnight (2 am), at early morning (6 am) and early afternoon (2 pm) (Lenné, Triggs, & Redman, 1997). Indeed, epidemiological research (Di Milia et al., 2011; Folkard, 1997) confirms that traffic accidents are most frequent at certain times, reaching their maximum around 3-5 a.m. when the levels of body temperature and vigilance are minimal. These results point out the relevance of circadian rhythms on human performance and safety.

Circadian rhythms are natural oscillations of biological variables with a periodicity around 24 hours. The sleep-wake cycle is the most evident circadian rhythm, but other physiological processes also follow circadian variations such as hormone secretion, body temperature, arousal (non-specific physiological activation in relation to the sleep-wake axis, Oken et al., 2006) and cognitive performance, among others (Bailey & Heitkemper, 2001; Dijk, Duffy, & Czeisler, 1992; Schmidt et al., 2007).

The entrainment of circadian rhythms to the external day/night cycle is driven by the suprachiasmatic nucleus (SCN), using the light-dark cycle as the main synchronizing cue. This process originates when photic information stimulates a class of photoreceptor cells involved in non-visual responses to light, the intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs), by the excitation of their photopigment, melanopsin (Warthen & Provencio, 2012). Through the retinohypothalamic tract (Berson, 2002), this input reaches the SCN the photic signal is processed and

redirected via cervical ganglia to the pineal gland, which regulates melatonin secretion. As a result, melatonin is maximally secreted in darkness, promoting sleep at night in humans, while its synthesis is suppressed in the presence of light, mediating the regulation of sleep and circadian rhythms (Cajochen, Kräuchi, & Wirz-Justice, 2003). Consequently, exposure to light at night affects circadian rhythms and can produce SCN disruption and melatonin secretion inhibition (West et al., 2011).

In the short term, melatonin suppression at night is associated with increased arousal, which results in both difficulties for initiating sleep (Wahnschaffe et al., 2013) and changes in sleep structure (Cho et al., 2013). In the long term, chronic melatonin suppression causes chronodisruption, which has been associated with sleep disturbances (see Sack et al., 2007, for a review of circadian sleep disorders), premature aging (Ortiz-Tudela, Bonmatí-Carrión, De la Fuente, & Mendiola, 2012), metabolic disease (Garaulet & Madrid, 2010) and increased risk of cancer (Erren et al., 2010). Nevertheless, the phasic alerting effects of light may be useful to counteract the detriment derived from performing cognitive tasks at non-optimal times of day or night.

Melanopsin is maximally sensitive to short wavelength light, around 460 - 480 nm, i.e. in the blue color range of the light spectrum (Bailes & Lucas, 2013). Previous studies have therefore focused on the effects of blue light at night, reporting larger enhancement of activation when it was compared to mid- (green) and long-wavelength (red, yellow) lights (Cajochen, 2007; Cajochen et al., 2005; Chellappa et al., 2011).

Moreover, blue light has shown to increase arousal also during daytime, when melatonin would not be involved (Sahin & Figueiro, 2013). But according to recent findings, lights with little inhibitory activity on melatonin secretion, as short-wavelength attenuated polychromatic white light (Van de Werken et al., 2013) or long-wavelength, i.e. red color (Figueiro et al., 2009, 2015; Sahin & Figueiro, 2013), have also shown alerting effects both during daytime and night, as indexed by increased heart rate and reduced alpha and alpha-theta power of EEG. These results altogether suggest that melatonin suppression is not always necessary to increase arousal through light exposure. If so, it could be possible to improve cognitive performance

through lighting, whilst avoiding the chronodisruption risks derived from melatonin suppression.

But studies testing the effectiveness of lights with different spectra over cognitive performance have yielded heterogeneous results, mostly depending on the kind of task, time of day (Gabel et al., 2015; Huiberts et al., 2015) homeostatic sleep pressure and circadian phase (Gaggioni et al., 2014; Vandewalle et al., 2011) or the previous arousal level of the participants (Correa et al., 2016), besides the light spectra itself. In addition, it is important to note that cortical, and consequently cognitive responses to light need more prolonged exposures than subcortical responses to develop, as highlighted by fMRI studies (Vandewalle et al., 2011, 2009).

Regarding our main task, driving, studies on light effects are scarce and inconclusive. While Taillard et al. (2012) found improvements of night performance under blue-light conditions, null effects have been reported as well (Phipps-Nelson et al., 2009). In the latter study, comparing blue light versus red light and ambient (dim polychromatic light) conditions, physiological measures suggested an increase of alertness (EEG slow wave delta and theta suppression) which did not translate into behavioral benefits during driving. The effect of red light only involved a reduction of slow eye movements in comparison with dim light. Different light levels between these studies (20 lx versus approximately 1 lx, respectively) could account for their diverging results.

Given this inconsistency, we aimed to deepen into the effects of short and long wavelength light on night driving performance. We specifically compared the effects of a blue-enriched white light (BWL) and an orange light (OL) over performance on a simulated driving task at night, employing higher intensities than the studies described above as this factor has shown to be crucial.

According to previous results, we expected light exposure to increase arousal in comparison to a control condition of dim light (DL), being this effect stronger under BWL than under the OL. In particular, under control conditions (i.e., in the DL condition) we predicted a progressive decrement of alertness along nighttime, which would be evident as: a) an increase of the distal-proximal temperature gradient, b) higher subjective sleepiness after driving, and c) performance deterioration along time,

i.e., both increment of the position error along the driving task and slower responses in the PVT after than before driving. We expected light exposure to counteract these effects, and this lighting effect should develop progressively along time of exposure and be larger in the BWL than in the OL condition.

2. Methods

2.1. Participants

The study included thirty-six (29 women) neither-type students, according to the *Morningness - Eveningness Questionnaire (MEQ)* (Horne & Östberg, 1976), from the University of Granada, whose ages ranged from 18 to 25 years (mean = 21.59, S.D. = 2.54). Exclusion criteria, explored through interview, were pregnancy, major medical conditions (i.e., neurological disease, severe trauma, psychiatric history or disorders involving chronic medication), circadian or sleep disorders, night or shift work, and transmeridional travels within three months prior to the experiment. Participants were also asked about the use of prescribed medication during the week of the experimental session or illicit substances, which no one reported. This study was approved by the Ethics Committee of the University of Granada (n.34/CEIH/2015). All participants gave prior written informed consent and they were rewarded economically at the end of the experiment.

Participant's chronotype and sleep quality were further checked by assessing their circadian rhythms under normal living conditions during the week prior to the experimental session.

2.2. Materials and procedure

2.2.1. Questionnaires and subjective measurements

Morningness - Eveningness Questionnaire (MEQ) (Horne & Östberg, 1976), Spanish version (Adan & Almirall, 1990): scores in this questionnaire range between 16 and 86, allowing the classification of subjects in 5 groups: *definitely evening type* (score 16-30), *moderately evening type* (31-41), *neither type* (42-58), *moderately morning type* (59-69) and *definitely morning type* (70-86).

Karolinska Sleepiness Scale (KSS) (Åkerstedt et al., 2014): this scale provided the subjective sleepiness level perceived by every participant, from 1 = “totally alert” to 9 = “totally sleepy, difficulties to keep on awake”, at the beginning and at the end of the experimental session.

Mood state scale: the participants were asked about their general mood state from 1 = “extremely negative” to 9 = “extremely positive” at the beginning and the end of the experimental session.

Visual comfort (based on the Subjective Visual Comfort assessment from Linhart, 2010) and the Rating Scale Mental Effort (Zijlstra, 1993): at the end of the experimental session, the participants evaluated their visual comfort through three different visual analogue scales referring to the light they had been exposed to: “The light in this room is pleasant”, “This room is too bright” and “I would use this kind of light for reading or working”. The participants rated their agreement with each item by placing a mark on a line ranging from “I totally disagree” (score = 0) to “I totally agree” (score = 100). Similarly, they rated their perceived mental effort during the driving task between “None” and “Extreme mental effort”.

2.2.2. Behavioural tasks

Driving simulator: the free software Racer (<http://www.racer.nl/>) version 0.8.9 was used to test driving performance. This system was configured by selecting the track Speedest2 (<http://www.racer-xtreme.com/>), a road forming a big oval-shaped rectangle (approximately 3000 meters long by 1750 meters wide, with a bend radius of 850 meters), which simulated monotonous highway driving, and thus required vigilance maintenance for long periods. The car was a Lexus IS350, which was controlled through a Logitech Momo Racing wheel and pedals set. On the display, the participants could see the car from behind and above and, at the bottom left corner of the screen, a velocity gauge (figure 10). Participants were instructed to drive the car following a green line on the center of the road, keeping the car as centered on the line as possible at a constant velocity of 60 miles per hour (i.e., 96.56 km/h). As can be observed in Figure 1, the image contrast was high and the green line indicating the target position was clearly perceived in all conditions.



Figure 10. Simulated driving task display. At the left bottom corner the participants could see the velocity gauge. The participants were instructed to drive the car as centered as possible on the green line at a constant velocity of 60 miles/hour.

As we intended to simulate real highway driving, i.e., keeping a proper position of the car while monitoring velocity, the task was deliberately presented in the visual modality, similarly to previous research (Phipps-Nelson et al., 2009). Visual stimuli were displayed on a 24' LCD monitor, rating 100 – 240V~, 50/60 Hz.

Psychomotor Vigilance Task (PVT): we employed an auditory version of this computerized reaction-time (RT) task that evaluates sustained attention (Dinges & Powell, 1985), programmed through E-Prime software (Schneider, Eschman, & Zuccolotto, 2002). In the current version, the target stimulus was a 700-Hz tone of 500 ms. Participants were asked to hold their gaze at a central fixation point on the display in front of them while wearing headphones and the target was presented after a delay interval ranging randomly on each trial from 2000 to 10000 ms. The participants were instructed to respond to the target stimulus as quickly as possible by pressing a button on the same steering-wheel they used for the driving task. In every trial, the RT was recorded and displayed to the participants as feedback for 500 ms, and then the next trial began. Participants also received feedback on misses (responses after 1500 ms) and anticipations (responses before target onset). This task was presented for 10 minutes.

2.2.3. Physiological measurements

A *Kronowise*[®] ambulatory circadian monitoring equipment (Chronolab, University of Murcia) was employed to assess the circadian rhythms and sleep quality of the participants during the week prior to the experimental session (see Ortiz-Tudela, Martinez-Nicolas, Campos, Rol, & Madrid, 2010, for further information). This equipment integrates three different devices: a temperature sensor (Thermochron[®] iButton DS1921H, Dallas, Maxim) placed on the non-dominant wrist at the level of radial artery for measuring the distal temperature rhythm every 10 minutes; an actimeter (Hobo[®] Pendant G Acceleration Data Logger) placed on the arm for registering the rhythms of motor activity and body position every 30 seconds, and a luxometer (Hobo[®] Pendant Light-Temperature Data Logger) that assessed the amount of light received by the participants every 30 seconds along the day. Body temperature has shown to be an excellent marker of the circadian status (Kerkhof & Van Dongen, 1996; Sarabia et al., 2008; Van Someren, 2006) and, together with actimetry (Ortiz-Tudela et al., 2014, 2010) it constitutes a reliable method for ambulatory assessment of circadian rhythms and sleep. The participants were instructed to wear them 24 hours per day throughout the week except for shower time. These data were analysed by the Circadianware[®] software (<https://kronowizard.um.es/>, University of Murcia).

Additional temperature sensors (Thermochron[®] iButton DS1921H, Dallas, Maxim) were used to assess distal (right wrist) and proximal (right clavicle) temperature every minute throughout the experimental session, as objective markers of the physiological arousal (Christian Cajochen et al., 2005).

2.2.4. Light manipulation

We employed two 40w LED lamps, a BWL and an OL (maximum peak of spectral irradiance at 440 and 595nm respectively) as well as a DL control condition (lamps off in the same room, <1lux). The lamps were placed obliquely from the left side, 60 cm far from the participants' eyes, so indirectly falling upon both participants' eyes and the screen, and the light emitted was diffused by a shade, mimicking a Ganzfeld full-field illumination. Illuminance at the eye level was 469 lx and 410 lx, respectively, and the spectral distribution of the lighting devices is displayed in figure 11. These measures were obtained by Illuminance Spectrophotometer Konica Minolta CL-500A.

All the photometric information of every lighting condition, estimated through the supplementary material from (Lucas et al., 2014) is reported in table 4.

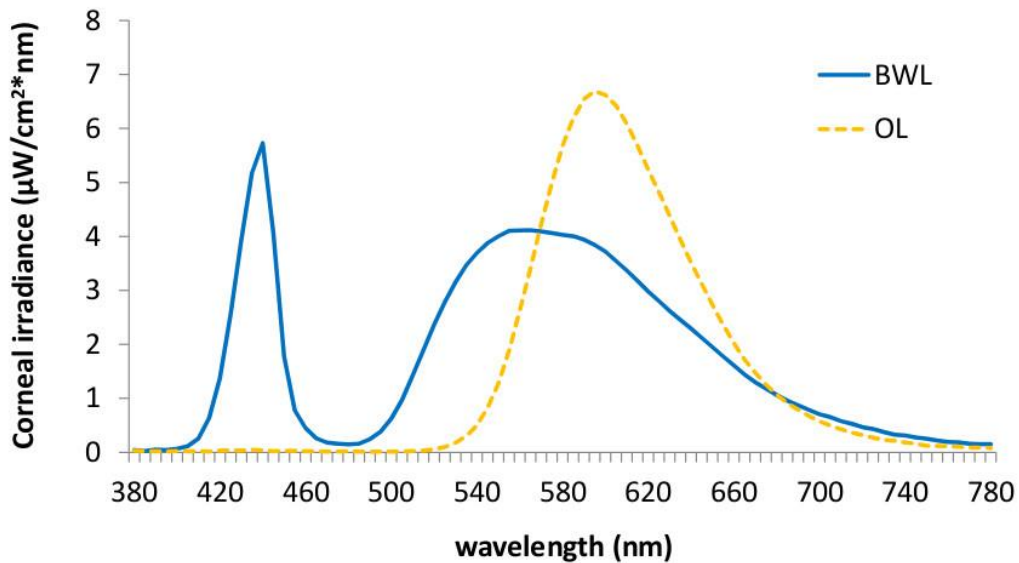


Figure 11. Spectral distribution of the blue-enriched white (BWL), (blue line), and the orange light (OL), (orange line).

Table 4. Photometric values at eye level for every lighting device

	Blue-enriched white	Orange
Irradiance ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	141.14	114.94
Photon flux ($1/\text{cm}^2/\text{s}$)	$4 \cdot 10^{14}$	$3.54 \cdot 10^{14}$
Photopic illuminance (lux)	469	410
Cyanopic	323.26	4.20
Melanopic	224.84	26.05
Rhodopic	294.64	81.30
Chloropic	401.00	271.01
Erythroptic	444.34	424.43

Light levels of the light emitted by the monitor were also measured with Illuminance Spectrophotometer Konica Minolta CL-500A, resulting in 0.06 lux, which was below the threshold required for causing alerting effects on the nervous system (Cajochen et al., 2000; Wood, Rea, Plitnick, & Figueiro, 2013), and was in any case constant across the three experimental conditions.

2.3. Study protocol

Only volunteers whose MEQ scores ranged between 42 and 58, i.e. neither-types, were included, and randomly assigned to one of the three groups of light condition (i.e., subject 1 to DL, subject 2 to BWL, subject 3 to OL, etc.). One week before the experiment, participants were interviewed about general health and sleep habits and were informed about the study protocol. They were instructed to follow regular sleep-wake schedules during the week prior to the experimental session and were given the ambulatory circadian monitoring devices *Kronowise*[®].

Smoke and caffeine consumption were allowed during the day of the experimental session (but not during the session itself) in line with participants' habits, as acute withdrawal of those substances may deteriorate cognitive performance in regular consumers (Havermans, Debaere, Smulders, Wiers, & Jansen, 2003; Rogers et al., 2005), respectively. Regular consumption of these substances was recorded, and their distribution across groups was analyzed.

The timing of light manipulation (from 21:45 h to 22:45 h) was deliberately selected to overlap with the dim light melatonin onset (DLMO) and with the beginning of the peripheral temperature rise that follows the wake-maintenance zone and precedes sleep (Bonmatí-Carrión et al., 2014). The participants came to the laboratory at 21:00 h and stayed under dim light conditions for 45 minutes (baseline period), during which they answered the mood state and sleepiness (KSS) scales, performed the PVT, and drove for 30 minutes in dim light. Then, either BWL, OL or DL was applied according to random selection and participants went on driving during 60 minutes. After the driving task they completed again mood and sleepiness scales and the PVT (figure 12).

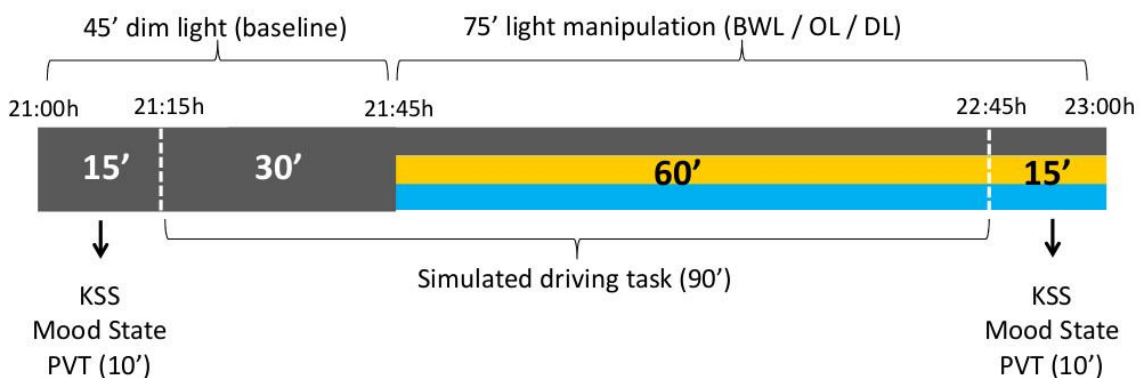


Figure 12. Schema of the experimental protocol. All the participants were under dim light conditions during the first 45 minutes, for the assessment of baseline values. The following 75 minutes corresponded to the light manipulation: blue-enriched white (BWL), orange (OL) or dim light (DL) conditions.

2.4. Design and data analysis

2.4.1. Demographic data, questionnaires and subjective measures

Mean age, mean duration of sleep the night before the experimental session (in hours), and the scores in the Cognitive Effort scale were submitted to separate one-way ANOVAs with *light condition* as between-subjects factor (BWL, OL and DL). Analysis of the Visual Comfort scale only included two levels of *light condition* (BWL and OL).

Scores in the KSS and the Mood state scale were analyzed by a repeated-measures ANOVA with *light condition* as between-subjects factor with three levels, and *time of testing* as within-subject factor (pre vs. post driving task).

2.4.2. Circadian and sleep rhythms

An integrated variable “TAP” (from Temperature, Activity and Position) was obtained from the rhythms of wrist temperature, motor activity and body position to index the general level of arousal and to infer the sleep-wake states as described in (Ortiz-Tudela et al., 2010). The rhythms of motor activity, body position, wrist temperature, TAP and environmental light were then subject to non-parametric analyses (Gonçalves, Adamowicz, Louzada, Moreno, & Araujo, 2015) providing several indicators referring to sleep and circadian rhythms characteristics:

M5/L5: five consecutive hours where skin temperature was maximal (M5) and the values of motor activity, body position and TAP were the lowest (L5). This period is identified as the main rest period.

Midsleep time: central time of the sleep period, located from the central time of M5/L5. It was employed as a physiological index of the sleep phase and, consequently, an objective measure of chronotype.

Finally, **sleep quality** was inferred from the L5 values of motor activity and TAP and the M5 values of skin temperature. Those were multiplied by 10, so that global sleep quality ranged from 0 (null sleep quality) to 10 (best sleep quality).

Values of sleep quality, hours of sleep per day and midsleep time averaged through the week prior to the experimental session, and hours of sleep the night prior the experimental session, were analyzed by separate one-way ANOVAs with light condition as between-groups factor.

Additionally, free-living wrist temperature during the time zone relative to our light manipulation (21:45 h to 22:45 h) was analyzed through a 3 (light condition) x 3 (time of day: 20-minute intervals from 21:45 h to 22:45 h) ANOVA in order to control for possible basal differences in this trend between groups before the light manipulation.

2.4.3. Temperature analyses

Distal (wrist) and proximal (infra-clavicular) skin temperatures were also recorded during the laboratory session as physiological indexes of the potential effects of light on the autonomic nervous system. The distal-proximal temperature gradient (DPG) of every participant along the experimental session was obtained by subtracting the values of the infra-clavicular temperature from the values of the wrist temperature, to minimize possible artefacts derived from analyzing the distal temperature (Kräuchi et al., 2000). Every value was baseline corrected using the last 10 minutes of the dim light phase. These data were submitted to a 3 (light condition: blue-enriched white, orange, dim light) x 3 (block) ANOVA. Further comparisons tested lighting effects on each 20-min block, as they were expected to arise after tens of minutes and evolve over time exposure (Vandewalle et al., 2007).

2.4.4. Driving task

Analyses focused on position error, that is, the distance between the center of the car and the green line, which was rectified and corrected by velocity. The velocity error was the absolute difference between the instructed velocity (60 miles/hour) and the current velocity.

These data were analyzed as temperature data, that is, 10-minute baseline corrected and submitted to a 3 (light condition: blue-enriched white, orange, dim light) x 3 (block) ANOVA. Similarly to temperature analyses, the evolution of lighting effects across time of exposure was analyzed by comparing the effect of the three lighting groups on each block (baseline correction therefore minimized basal differences between subjects, therefore allowing a more strict test of light effects at block 1).

In addition to the Visual Comfort scale, we objectively checked for any potential visual effects of the light manipulation on driving performance due to either glare or other perceptual differences, which should be evident in a shorter term than non-visual effects (Vandewalle et al., 2007). Therefore, short-term variations in performance were analysed by comparing the first five minutes of lights on with baseline (lights off), through a mixed ANOVA with *light condition* as between-subjects factor and *timing* (*pre* and *post* lights on) as within-subject factor.

2.4.5. PVT

The first five trials of the task, considered as practice trials, were not included in the analysis. Data were then processed and analyzed as recommended by Basner and Dinges (2011). The RT analysis did not include responses below 100 milliseconds (1.7% anticipations). Response speed was computed from RTs ($1000/RT$) to obtain a normal distribution of the data, as suggested by the nonsignificant Lilliefors test ($p > .20$) (Lilliefors, 1969). Mean response speed was submitted to a repeated-measures analysis with *light condition* (BWL, OL and DL) as between-subjects factor and *time of testing* (*pre* and *post* driving task) as within-subject factor with two levels. Descriptive statistics and non-parametric tests were reported for the number of lapses (RTs > 500 ms), as they were very rare and showed low variability for parametric analyses. Specifically, comparisons between the number of lapses before and after driving were carried out by nonparametric Wilcoxon Matched Pairs Test, whereas between-participant differences were tested through the nonparametric Kruskal-Wallis ANOVA by ranks.

2.4.6. Bayesian analyses

Bayesian ANOVAs were further performed to assess the probability of the null hypothesis being true. The Jeffrey-Zellner-Siow prior, and a specified effect size of 1 was selected for our analyses (Rouder, Speckman, Sun, Morey, & Iverson, 2009). Hence, all null effects from the ANOVA results were accompanied by the Bayes factor, which is a ratio that contrasts the likelihood of the data fitting under the null hypothesis with the likelihood of fitting under the alternative hypothesis. Bayes factors (B_{01}) higher than .33 were interpreted as support for the null hypothesis, this support being stronger with higher values. By contrast, values below .33 were considered as support for the alternative hypothesis, with lower values indicating stronger support (Jarosz & Wiley, 2014).

3. Results

3.1. Demographic data and subjective measures

None of the groups differed in either mean age, $F(2,33) = 1.70$, $p = .20$, $B_{01} = 1.739$ (table 5), chronotype, $F(2,33) = .412$, $p = .666$, $B_{01} = 3.974$, or perceived mental effort, $F(2,33) = .783$, $p = .465$, $B_{01} = 3.127$. The two groups exposed to light did not differ in perceived visual comfort, either in the global score or any of the items (all $F < 1$, all $B_{01} > .37$). Visual comfort was rated within intermediate levels (mean average: 57.83 out of 100 under blue-enriched white and 54.82 under orange light).

There were no differences in the distribution of caffeine intake ($\chi^2_2 = .525$; $p = .77$; 50% in blue-enriched white, 38% in orange and 36% in dim light) or tobacco use ($\chi^2_2 = 1.85$; $p = .40$; 8% in blue-enriched white, 15% in orange and 0% in dim light) across groups during the day of the experimental session.

The groups were also balanced in basal sleepiness, $F(2, 33) = 1.27$; $p = .29$, $B_{01} = 2.246$, and mood, $F(2, 33) = .75$; $p = .928$, $B_{01} = 4.996$. At the end (vs. beginning) of the session, they showed higher sleepiness, *time of testing*: $F(1, 33) = 131.66$, $p < .01$, $\eta p^2 = 0.8$, and worse mood, $F(1, 33) = 7.76$, $p < .01$, $\eta p^2 = 0.19$, which did not differ between groups (*light condition x time of testing on KSS scores*: $F(2, 33) = 2.2$, $p = .129$, $B_{01} = 2.463$, and $F(2, 33) = 1.17$, $p = .323$, $B_{01} = 1.112$, for mood scores).

Table 5. Mean scores and standard deviations (in brackets) of each group in every demographic and subjective measure.

		Blue-enriched white	Orange	Control
Age		19.5 (1.88)	20.69 (2.59)	21.46 (3.14)
MEQ score		51.83 (5.04)	49.85 (5.62)	50.82 (5.72)
Mental effort		54.17 (23.10)	58.54 (14.97)	48.36 (21.09)
Midsleep time (hh:mm)		04:22 (0:37)	04:25 (0:36)	04:47 (0:25)
Sleep hours (previous week)		7.9 (0.7)	7.5 (0.68)	7.6 (0.26)
Sleep hours (previous night)		7.4 (0.62)	7.5 (0.25)	7.1 (0.76)
Sleep quality		8.51 (0.16)	8.55 (0.29)	8.56 (0.22)
Visual comfort, global score		57.83 (22.93)	54.62 (16.71)	-
“The light in this room is pleasant”		56.67 (23.1)	52.54 (18.68)	-
“This room is too bright”		38.42 (27.73)	36 (21.46)	-
“I would use this kind of light for reading or working”.		55.25 (30.02)	47.31 (30.51)	-
KSS	Pre	3.25 (1.87)	4.31 (1.65)	3.82 (1.4)
	Post	6.67 (1.78)	6.54 (1.71)	7.09 (1.22)
Mood state	Pre	6.75 (1.49)	6.82 (0.75)	6.62 (1.5)
	Post	5.92 (1.6)	6 (1.35)	5.636 (1.75)

3.2. Circadian and sleep rhythms

In the week prior to the experimental session, mean midsleep time (BWL = 4:22, S.D. = 0:37; OL = 4:25, S.D. = 0:36; DL = 4:47, S.D. = 0:25) was typical of neither-type participants according to Roenneberg et al’s (Roenneberg et al., 2003) classification, and did not differ between groups, $F(2,33) = 1.80$, $p = .18$, $B_{01} = 1.642$ (table 5). The remaining parameters related to sleep and circadian rhythms were within the range of normality according to previous research (Hirshkowitz et al., 2015; Ortiz-Tudela et al., 2014, 2010), and well balanced between groups: sleep quality, $F(2,33) = .139$, $p = .87$, $B_{01} = 4.369$), and mean amount of sleep per night, both during the week before, $F(2,33) = .821$, $p = .449$, $B_{01} = 2.028$, and the night before the experiment, $F(2,33) = 1.02$, $p = .37$, $B_{01} = 2.673$ (table 5).

Figure 13 represents the circadian rhythm of temperature averaged across participants during the week prior to the experimental session. Inspection of Figure 4

confirms that the light manipulation was administered after the center of the *wake maintenance zone* (nadir at 20:30 h) and matching the habitual anticipation of the sleep period. This visual impression was corroborated by the analysis of basal temperature rhythms under free-living conditions during the interval fitting the light manipulation (21:45 h – 22:45 h). That is, wrist temperature showed the typical increase preceding sleep: *time of day* $F(2, 60) = 9.79, p < .01, \eta p^2 = .25$; without significant differences between groups (*light condition*: $F(2,30) = 2.228, p = .125, B_{01} = .88$; *light condition x time of day*: $F(2, 60) = 2.44, p = .09, B_{01} = 1$).

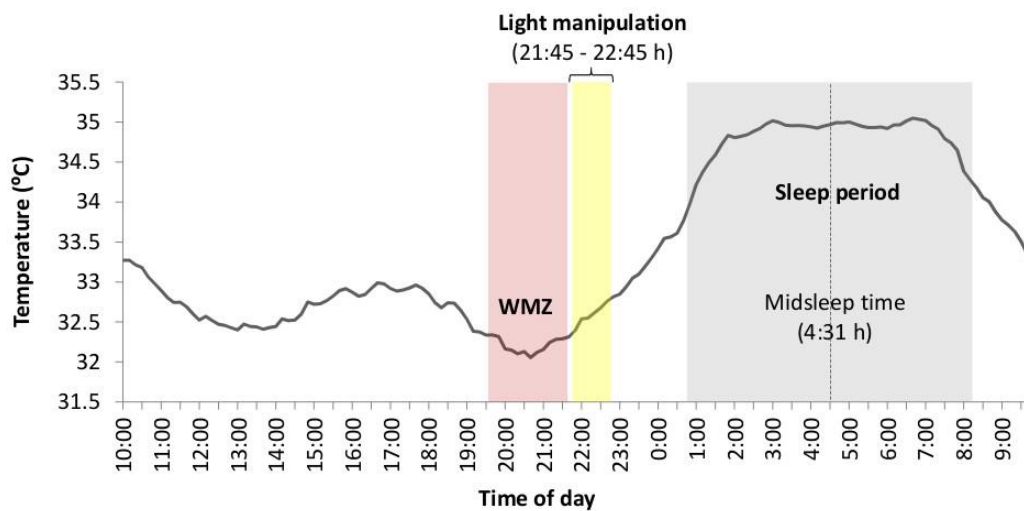


Figure 13. Circadian rhythm of wrist temperature averaged across participants during the week prior to the experimental session. The wake maintenance zone (WMZ, shaded in pink color), with midpoint at 20:40 h, was characterized by a dip in distal temperature values. The lighting manipulation took place an hour later, at the beginning of the distal temperature rise anticipating sleep and closely overlapping the DLMO.

3. 3. Temperature analysis during driving

The 3 (light condition) x 3 (block) ANOVA on the distal-proximal temperature gradient showed different temporal courses depending on lighting: *light condition x block*, $F(4, 66) = 3.42, p = .01, \eta p^2 = .17$ (figure 14). In Blocks 1 and 2, the three groups showed similar temperature gradient (all $p > .11$, all $B_{01} > 2$). Importantly, in Block 3, blue-enriched white decreased the DPG in relation to dim light, $F(1, 33) = 6.62, p = .01$, while orange light did not influence temperature as compared to either dim light, $F(1, 33) = 1.31, p = .26, B_{01} = 1.142$, or blue-enriched white light, $F(1, 33) = 2.29, p = .14, B_{01}$

= 1.449). In other words, only the blue-enriched white light produced a reliable gradient decrement over time, (linear trend effect: $F(1, 33) = 5.25, p = .03$).

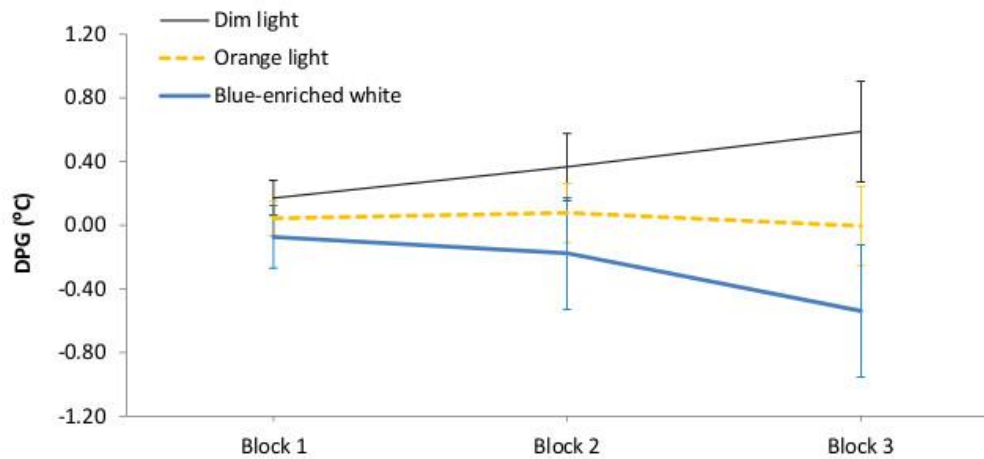


Figure 14. Mean Distal-Proximal Temperature Gradient (DPG) along the three 20-minute blocks of light manipulation, as a function of lighting. Bars indicate standard error of the mean.

3. 4. Driving task

The 3 (light condition) x 3 (block) ANOVA on the position error showed a significant effect of *block*, $F(2,66) = 6.36, p < .01, \eta p^2 = 0.16$, leading to larger error with time on task. The effect of *light condition* was marginally significant, $F(2, 33) = 3.08, p = .06, \eta p^2 = 0.16$, but the Bayesian ANOVA rather supported the null hypothesis, $B_{01} = 0.169$. *Light condition* did not interact with *block*, $F(4, 66) = 1.4, p = .24, B_{01} = 0.578$. In Block 1, as expected, the three groups showed similar performance, $F(1,33) < 1, B_{01} = 1.15$. Interestingly, in Block 2, BWL led to larger position error than OL, $F(1,33) = 4.79, p = .04$, while BWL vs. DL showed marginal differences, $F(1,33) = 3.04; p = .09$, as supported by Bayesian ANOVA ($B_{01} = .30$). This lighting effect remained significant in Block 3 for BWL vs. OL, $F(1,33) = 5.64, p = .03$ (BWL vs. DL: $F(1,33) = 1.796, p = .19, B_{01} = 1.337$; OL vs. DL: $F(1,33) = .914, p = .346, B_{01} = 1.962$). In other words, only the BWL group led to larger position error over time of light exposure (linear trend: $F(1,33) = 9.58, p = .004$) (figure 15).

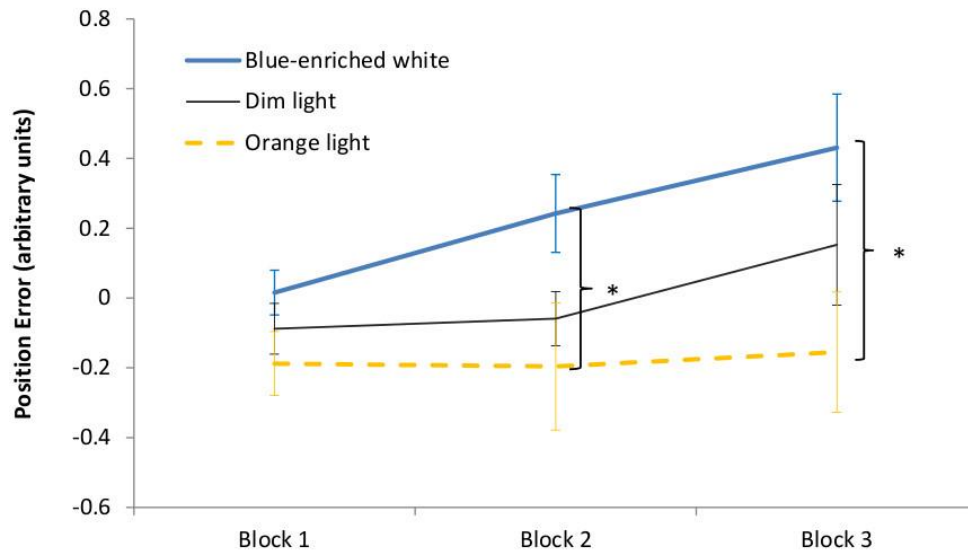


Figure 15. Driving task performance: evolution of the position error along the 60 minutes of driving task corresponding to the period of light exposure (3 blocks of 20 minutes) in every experimental condition. Bars indicate standard error of the mean. Asterisk symbols indicate statistically significant differences.

The 3 (light condition) x 2 (timing: *pre* and *post* lights on) analysis of possible visual effects on performance derived from our light manipulation (e.g., glare), did not show any significant effect: (*light condition*: $F(2,33) = .221$, $p = .803$, $B_{01} = 2.301$; *timing*: $F(2,33) = .001$, $p = .978$, $B_{01} = 4.124$; *interaction*: $F(2,33) = .782$, $p = .466$, $B_{01} = 30.01$).

3. 5. PVT

The 3 (light condition) x 2 (time of testing) ANOVA on the mean response speed showed a significant main effect of *time of testing*, reflecting slower responses after the driving task (mean response speed = 3.57; for the sake of clarity, mean RTs are reported here instead of response speed: mean RT = 280 ms; S.D. = 45) than before (mean RT = 252 ms; S.D. = 29), $F(1, 33) = 41.37$, $p < .01$, $\eta p^2 = 0.56$.

There was also an effect of *light condition*: $F(2, 33) = 3.94$, $p = .03$, $\eta p^2 = 0.19$ with slower responses in the BWL group (M = 280 ms; S.D. = 44), followed by the OL group (M = 270 ms; S.D. = 21) and the fastest overall RTs in the DL group (M = 247 ms; S.D. = 27). However, further analyses suggested that this difference was not caused by the light manipulation, since the *light condition* x *time of testing* interaction was not

significant, $F(2,33) = .203$, $p = .818$). Instead, the main effect of *light condition* might come from basal differences before driving (*light condition*, pre: $F(2, 33) = 4.99$; $p = .01$; $\eta p^2 = 0.23$).

Bayesian ANOVA further supported the null hypothesis (i.e., no effect of light), regarding both the main effect of *light condition* ($H_{01} = 1.986$) and the *light condition* x *time of testing* interaction ($H_{01} = .519$).

Descriptive statistics indicated higher number of lapses in the PVT after ($M = .78$, $S.D. = 1.89$) than before ($M = .08$, $S.D. = .34$) the driving task, which was significant according to the Wilcoxon test, $T = 14.5$, $Z = 2.766$, $p = .006$. On the other hand, lapses did not differ between groups, either before, $H_2 = 1.916$; $p = .384$, or after driving: $H_2 = 1.171$; $p = .338$.

4. Discussion

It is known that driving performance undergoes detriments at non-optimal times of day (Correa et al., 2014). Since exposure to light enhances alertness (reviewed by Cajochen, 2007), our study explored the influence of light on prolonged simulated driving at night. We specifically compared, with respect to a control condition of dim light, the effects of two lights with very different ability to stimulate melanopsin ganglion cells: a short-wavelength light (blue-enriched white color) expected to both enhance alertness and inhibit melatonin secretion (Lewy, Werh, Goodwin, Newsome, & Markey, 1980), and a long-wavelength light (orange color), assumed to moderately increase alertness without melatonin suppression (Figueiro et al., 2009, 2015; Sahin & Figueiro, 2013). We expected both lights to improve driving performance along time on task, the effect being larger for the short wavelength.

Lighting effects were further assessed by subjective and objective measurements (the Karolinska Sleepiness Scale and the Psychomotor Vigilance task, respectively), including skin temperature as a physiological index of both the circadian state and phasic changes in arousal (Cajochen et al., 2005). These measures revealed a clear dissociation between the physiological and cognitive responses to light, as highlighted by neuroimaging studies (Vandewalle et al., 2009) and supported by

Huiberts et al. (Huiberts et al., 2016). At the physiological level, our temperature analyses showed an effect of lighting. Wrist temperature, recorded in normal living conditions, consistently showed the typical circadian rise from 21:45 h to 22:45 h in all groups during the week prior to the experimental session, suggesting an arousal decrement in anticipation of sleep at night. Most relevant, during the experimental session, BWL led to a significant decrement of the DPG along time of exposure. This effect confirmed the effectiveness of our lighting manipulation by producing a reliable alerting effect at the physiological level, in line with previous literature (Cajochen et al., 2005), starting after 20 minutes of lighting and developing progressively along time. This effect was not found in dim light (control) or in the orange light condition.

Interestingly, this physiological arousal was neither reflected in our subjective assessments nor translated into better performance in the cognitive tasks: all the groups showed significantly higher somnolence in the KSS, worse mood state and slower responses in the PVT after the driving task, regardless of the lighting condition. The PVT is sensitive to vigilance fluctuations under non-optimal circumstances (Tucker, Basner, Stern, & Rakitin, 2009; Van Dongen & Dinges, 2005) and has been modulated by blue light in previous studies (Chellappa et al., 2011; Phipps-Nelson et al., 2009). However, several studies from independent laboratories have also reported null effects both under blue-enriched (Borragán et al., 2017; Correa et al., 2016; Gabel et al., 2015; Huiberts et al., 2016) and red light (Figueiro et al., 2009). Bayesian analyses on our PVT data strengthened the conclusion that lighting effects on behavioural performance are not, by necessity, a standard finding in the literature (see also Borragán et al., 2017).

Most important to our study, in the driving task, the group exposed to blue-enriched white light revealed an increment of the position error after 20 minutes of lighting. This effect could be due to an increase of arousal, as shown by the temperature analysis, which could overtake the optimal level required for proper performance in this task (Yerkes & Dodson, 1908). According to the Yerkes-Dodson law, the level of arousal required for optimal performance depends on task difficulty: while more complex or precision-requiring tasks such as our driving task would require lower levels of arousal to facilitate concentration, simpler tasks such as the PVT would

require higher levels of arousal to increase motivation. This theory holds that, in difficult tasks, the higher arousal level up to an optimum point, the better performance; beyond this critical point, any additional increment of arousal would result in performance detriments. More moderate alerting effects might be more beneficial for cognitive performance in this situation. Thus, it is important to emphasize that exposure to blue light should not necessarily improve performance; moreover, it could even impair it (Huiberts et al., 2015). However, this intriguing finding should be replicated in future studies (note that the light x block interaction was not significant, and that the clearest differences concerned the blue vs. orange light contrasts).

Regarding light and driving performance, there are still heterogeneous results in the scarce existing literature. For example, in the study by Phipps-Nelson and colleagues (Phipps-Nelson et al., 2009) blue light at night did not improve driving performance in comparison to red and polychromatic white light conditions, even though the physiological measurements (suppression of EEG slow wave delta and theta activity) suggested increase of arousal, as our temperature did. In contrast, Taillard and colleagues (Taillard et al., 2012) found improvements of night driving under blue-light conditions comparable to the effects of caffeine. There are relevant methodological discrepancies between these studies and ours: although both involved more adverse conditions (more prolonged driving at later times of night), Phipps-Nelson et al. employed dim light intensities (1.12 to 1.18 lux, 2 mW/cm²), which could be below the threshold required to affect complex cognitive processes, while Taillard et al. used low-moderate intensities (20 lux, 7.4 mW/cm²). Following Yerkes and Dodson's law, different lighting intensities are likely to bring different alerting effects (Cajochen et al., 2000) and, consequently, different cognitive responses in similar tasks. But it is important to note that our study is not comparable to those because of the considerable differences in the time of testing and duration: 2-hours sessions at 21:00, 24:00, 03:00, and 06:00 h in the study of Phipps-Nelson et al. and at 1:00 and 3:15 h in Taillard et al.

The possibility that our results could be due to differences between groups was further considered. Analyses of basal measures before the lighting manipulation only

showed a statistically significant difference between groups, regarding response speed in the PVT. This finding fits with our previous research reporting high individual differences in basal vigilance as measured by the PVT (Correa et al., 2016). In the current study, the null finding of light x timing interaction suggested that this basal difference did not evolve differently as a function of light. In any case, potential differences between groups were minimized by baseline correction, and supported by the finding of null effects of light on both performance and temperature during at least the first 20 minutes of exposure. In this line, possible differences in the rhythms of free living temperatures at the time of our experimental manipulation were also carefully considered and discarded.

It might be argued that the current behavioral results were influenced by the effects of light on visual perception, for example, by impaired performance because of a glare effect or visual fatigue. If so, glare effects should occur in both BWL and OL conditions; however, there were differences in performance between these two light conditions. Moreover, visual effects should be noticeable right at the beginning of the light manipulation phase, but no differences between conditions were found in the first minutes of the task. A differential effect of glare between groups was also unlikely on the basis of subjective assessments of visual comfort: participants' ratings were similar between BWL and OL conditions regarding both room brightness (38/100 and 36/100, respectively) and pleasantness (57/100 and 53/100).

In any case, we can conclude that exposure to BWL in the early night does not necessarily lead to better cognitive performance, at least not under any condition increasing arousal (Correa et al., 2016). As a conclusion, our results supported a dissociation between physiological and cognitive responses to light, as previously highlighted (Vandewalle et al., 2009). Moreover, given similar physiological effects, the cognitive responses might broadly vary depending on the complexity of the task (e.g., Gabel et al., 2015). This factor should therefore be considered when interpreting the results of studies including different measurements.

Such dissociation brings up relevant implications, such as careful consideration to the popular claim that light exposure is a remedy for improving cognitive performance under any circumstances (see also Veitch, 1997). Further, facing this

dissociation and considering the costs of melatonin suppression, the unconditional use of blue light at night could be no longer justified in order to improve performance. Additional research is necessary to determine which kind of cognitive processes, under which circumstances, may actually improve due to lighting stimulation at night.

Funding: This work was supported by the Spanish and Andalusian Governments to A.C. (MINECO: PSI2014-58041-P, and Proyectos de Excelencia JJAA: SEJ-3054) and to J.A.M. (MINECO: SAF2013-49132-C2-1-R).

VI. Estudio 3

Blue-enriched light enhances alertness but impairs accurate performance in evening chronotypes driving in the morning

This study is currently under review in Chronobiology International

Abstract

Driving requires vigilance maintenance during prolonged periods, which is demanding and usually deteriorates along time. This so called *vigilance decrement* has shown to be accentuated at suboptimal times of day. The alerting effects of exposure to blue-enriched light could be an effective countermeasure for driving under such adverse circumstances. However, its effects on driving had been scarcely studied, and they remained to be addressed in a sample of extreme chronotypes tested at their suboptimal time of day.

We tested the effects of a blue-enriched white light (compared with a control condition of dim light), in a group of evening-types, over performance during 60 minutes of simulated driving at early morning (from 8:00 h to 10:00 h). Lighting effects were measured subjectively (Karolinska Sleepiness Scale and mood state), physiologically (distal-proximal temperature gradient, DPG) and behaviorally (position error of the car and reaction times to unexpected events during driving, and auditory Psychomotor Vigilance Task, PVT).

Time on task effects were replicated in evening chronotypes tested in the morning, leading to higher subjective somnolence, increasing DPG, larger reaction times and position error along the driving task, and slower responses to the PVT. Most important, exposure to blue-enriched white light attenuated this vigilance decrement, as indexed by lower DPG and faster reaction times in the PVT and driving, while it increased position error along time on task.

Our findings suggest that exposure to blue-enriched light can be an effective countermeasure to enhance alertness at suboptimal times of day. However, this boosting of alertness may impair accuracy in precision demanding tasks such as keeping the car position.

Keywords: chronotype, time of day, circadian rhythms, distal-proximal temperature gradient, Psychomotor Vigilance Task, driving, alertness, vigilance decrement, fatigue, accuracy

1. Introduction

There is broad evidence that cognitive performance is affected by circadian rhythms (natural oscillations of biological variables with a periodicity of around 24 hours), as reviewed in 2007. Such fluctuations are mediated by the *chronotype*, i.e., individual preferences regarding sleep-wake timing, which expresses internal differences in the phase of the circadian cycle (Adan et al., 2012). Accordingly, while morning-type people show their best cognitive performance early in the morning, evening-type people perform their best late in the evening, and vice-versa. The intermediate chronotypes (60% of the population) fall between these two extreme categories.

The interaction between time of day and chronotype, known as “synchrony effect” has been reported in many studies employing different cognitive tasks (Blatter & Cajochen, 2007), although tasks engaging high operational load or motivation levels may be unaffected by this effect, as reported in (Natale, Alzani, & Cicogna, 2003) for reasoning tasks. Driving performance, our topic of interest, was sensible to synchrony effects in previous research (Correa et al., 2014; Oginska et al., 2010).

Driving requires maintenance of attention for long periods, which typically deteriorates along time on task, leading to the *vigilance decrement*. The vigilance decrement is most evident when driving takes place under adverse circumstances. For example, epidemiological research (Di Milia et al., 2011; Folkard, 1997) confirms that traffic accidents are most frequent at certain times, reaching their maximum around 3-5 a.m. when the levels of body temperature and vigilance are minimal. In our previous research (Correa et al., 2014), we found that participants with extreme chronotypes completing a simulated driving task at both their optimal and suboptimal times of day, revealed lower performance in evening-type participants at early morning in comparison to evening. However, it is not always feasible to schedule tasks at optimal times of day. Therefore, the current research addressed whether this behavioral impairment could be prevented by exposure to short wavelength (blue color) light, given its phasic alerting effects on the nervous system (see Cajochen, 2007, for a review).

Early studies on the alerting effects of light focused on blue light at night, as it is related to melatonin suppression (Cajochen et al., 2005; Lockley et al., 2006). Melatonin secretion is modulated by photic information, being maximal during the dark phase to promote sleep in humans. This process initiates with the reception of light stimulus by a kind of retinal photoreceptors, the ipRGC (intrinsically photosensitive retinal ganglion cells) which photopigment, melanopsin, is maximally sensitive to light around 460 – 490 nm (Bailes & Lucas, 2013). Consequently, blue light has shown alerting effects at night at physiological (thermoregulation, heart rate, melatonin secretion; Cajochen et al., 2005), subjective (Karolinska Sleepiness Scale; Cajochen et al., 2005; Chellappa et al., 2011), and behavioral levels (Psychomotor Vigilance Task (PVT); Chellappa et al., 2011).

Regarding driving, studies on the effects of light exposure are very scarce and have not yet provided consistent results. For example, in the study of Taillard et al., 2012, driving performance during nighttime (at 1:00 h and at 3:15 h, for 2 consecutive hours) was improved by exposure to blue light at low-moderate intensities (20 lux, 7.4 mW/cm²). By contrast, Phipps-Nelson et al., 2009, did not find benefits from blue-enriched light on night driving (2 hours continuously, 4 times from 21:00 h to 8:00 h), in spite of an increase of alertness according to physiological indexes (EEG slow wave delta and theta suppression) in comparison to an orange light and a control dim light condition. The null effects on driving performance were attributed to the low intensity of the light stimulus (1.12 to 1.18 lux, 2 mW/cm²).

In line with Phipps-Nelson et al.'s study, we recently found exposure to blue-enriched white light at early night to increase physiological alertness (indexed by decrement of the distal-proximal temperature gradient along the time on task) with no concomitant benefits on driving performance. Rather, driving performance in this condition deteriorated along time of light exposure (Rodríguez-Morilla, Madrid, Molina, & Correa, 2017). It is possible that the increase of physiological alertness could have gone beyond the optimal level of activation required for proper performance. Thus, we were interested on testing the effects of light on driving under more adverse circadian conditions.

Other designs have been employed for studying light effects under suboptimal states, such as sleep restriction (Gabel et al., 2013, 2015; Phipps-Nelson, Redman, Dijk, & Rajaratnam, 2003) or generating fatigue by mental exertion (Borragán et al., 2017; Smolders & de Kort, 2014). Circadian phase and sleep homeostasis have shown to modulate the effects of light on alertness (Vandewalle et al., 2011). However, as far as we know, lighting effects in extreme chronotypes performing at their suboptimal time of day have not been yet studied. Generally, in lighting research on humans, participant's chronotype is either not considered or controlled by testing intermediate chronotype subjects only. As an exception, the study of (Maierova et al., 2016) evaluated extreme chronotypes throughout their habitual waking period, finding light effects on visual and auditory 3- and 2-back tasks while 0-back condition and the simpler PVT task did not benefit from light exposure. However, as participants were tested respecting their own internal rhythms, (so that the first testing time of day was 7:16 h for morning-types and 11:14 h for evening-types) suboptimal morning hours in evening-types remained to be explored.

Aiming to fill this gap in the literature, we studied for the first time the effect of blue-enriched white light (in relation to dim light) over driving performance in a group of evening-types at 8:00 h. In the dim light (control) condition we expected to replicate our previous finding that driving performance at such suboptimal time of day would decrement along time on task (Correa et al., 2014). This decrement should further manifest as higher reaction times in the PVT (Dinges et al., 1997), slower reactions and higher deviations of the car position while driving (Correa et al., 2014) and increasing gradient between distal and proximal skin temperatures (Rodríguez-Morilla, Madrid, Molina, & Correa, 2015). In contrast, exposure to blue-enriched white light should attenuate the vigilance decrement, mitigating the increment of reaction times, position error and temperature gradient.

2. Methods

2.1. Participants

Seventeen *evening-type* students from the University of Granada participated in this study (ages ranging 19 – 24 years; M = 20.25; S.D. = 1.48; 11 women). The study was conducted at Granada, Spain (37°11'17"N, 03°36'24"W; UT+02:00) between April, the 4th and June, the 21th of 2016. Exclusion criteria were pregnancy, major medical conditions, sleep disorders, night or shift work and the realization of any transmeridional travels within the 3 months prior to the experiment. This study was approved by the Ethics Committee of the University of Granada (n.34/CEIH/2015). All participants gave prior written informed consent and they were rewarded economically at the end of the experiment.

2.2. Materials and procedure

2.2.1 Questionnaires and subjective measurements

Participants were interviewed about health and sleep habits, including information of timing and duration of sleep, subjective sleep quality, and consumption of any stimulating or relaxing substances. These questions were answered in reference to both general habits and the nights prior to each experimental session.

Morningness - Eveningness Questionnaire (MEQ) (Horne & Östberg, 1976), in its Spanish reduced version (Adan & Almirall, 1990), was employed to select exclusively evening-type participants. Scores in this questionnaire can range between 4 and 25, leading to 3 groups: *evening type* (score 4 - 11), *neither type* (12 - 17), *morning type* (18 - 25).

Karolinska Sleepiness Scale (KSS) (Åkerstedt & Gillberg, 1990): it measured the subjective sleepiness level from 1 = "totally alert" to 9 = "totally sleepy, difficulties to keep on awake".

Mood state scale: participants reported about their general mood state from 1 = "extremely negative" to 9 = "extremely positive".

2.2.2. Behavioural tasks

Psychomotor Vigilance Task (PVT): we used an auditory version of this computerized reaction-time (RT) task that evaluates sustained attention (Dinges & Powell, 1985), programmed through E-Prime software (Schneider et al., 2002). In the current version, the target stimulus was a 700-Hz tone of 500 milliseconds long presented after a delay interval ranging randomly on each trial from 2000 to 10000 milliseconds. The participants had to respond to the target stimulus as quickly as possible by pressing a key. In every trial, the RT was recorded as dependent variable and displayed to the participants as feedback, and then the next trial began. Participants also received feedback on misses (responses after 1500 milliseconds) and anticipations (responses before target onset). This task was presented for 10 minutes without interruption.

Driving simulator: the software employed for simulated driving was OpenDS 2.2 (Sun Microsystems, 2010). The car was controlled through a Logitech Momo Racing wheel and pedals set. The participants were instructed to drive the car as centred as possible along the central lane of a straight highway with three lanes (figure 16).



Figure 16: Simulated driving task display. Participants were asked to drive the car as centred as possible along the central lane.

After a delay randomly ranging from 6000 to 14000 milliseconds, the car was displaced from its position, simulating being pushed away by a gust of wind. The

participants' task was to correct the car back to the central position as quickly as possible. Two main dependent variables were recorded: reaction time (RT) to correct the position of the car after the wind events, and position error of the car (i.e., the distance with respect to the centre of the lane), which was continuously recorded. The recording of RT constituted an advantage with respect to the software employed in our previous study (Rodríguez-Morilla et al., 2017) due to its sensitivity to vigilance fluctuations and its relevance to safety.

As we intended to simulate real highway driving, i.e., keeping a proper position of the car and responding quickly to unexpected events during driving, the task was deliberately presented in the visual modality, similarly to previous research (Phipps-Nelson et al., 2009). Visual stimuli were displayed on a 24" LCD monitor, rating 100 – 240V~, 50/60 Hz.

2.2.3. Physiological measurements

Circadian rhythms and sleep quality of the participants during the week prior to the experimental session were assessed by an Ambulatory Circadian Monitoring equipment (*Kronowise*®, Chronolab, University of Murcia), as described in Ortiz-Tudela et al., 2010. This equipment integrates two different devices: a temperature sensor (*Thermochron*® iButton DS1921H, Dallas, Maxim) placed on the non-dominant wrist for measuring the distal temperature rhythm every 10 minutes, and an actimeter (*Hobo*® Pendant G Acceleration Data Logger) placed on the arm for registering the rhythms of motor activity and body position every 30 seconds. Body temperature has shown to be a reliable marker of the circadian status (Kerkhof & Van Dongen, 1996; Sarabia et al., 2008) and, together with actimetry, it allows ambulatory assessment of circadian rhythms and sleep (Ortiz-Tudela et al., 2014, 2010). The participants were instructed to wear them 24 hours per day throughout the week except for shower time.

Additional temperature sensors (*Thermochron*® iButton DS1921H, Dallas, Maxim) assessed distal (right wrist) and proximal (right infraclavicular area and the inner side of the upper arm – peri-axilar –) skin temperature every minute throughout the session, as objective markers of physiological alertness (Christian Cajochen et al., 2005). Although infra-clavicular recording is widely established as proximal

temperature (Hasselberg et al., 2013), we added the inner arm temperature (Wuyts et al., 2012) since it corresponds to a more proximal body region and, therefore, was expected to yield closer estimations of central temperature.

2.2.4. Light manipulation

We employed a 40w LED lamp (IgniaLight, SACOPA, S.A.U.) emitting blue-enriched polychromatic white light with maximum peak of spectral irradiance at 440 nm and illuminance at the eyes level, 469 lx. The spectral composition of the lighting source, determined by means of an Illuminance Spectrophotometer (Konica Minolta CL-500A), is displayed on figure 17.

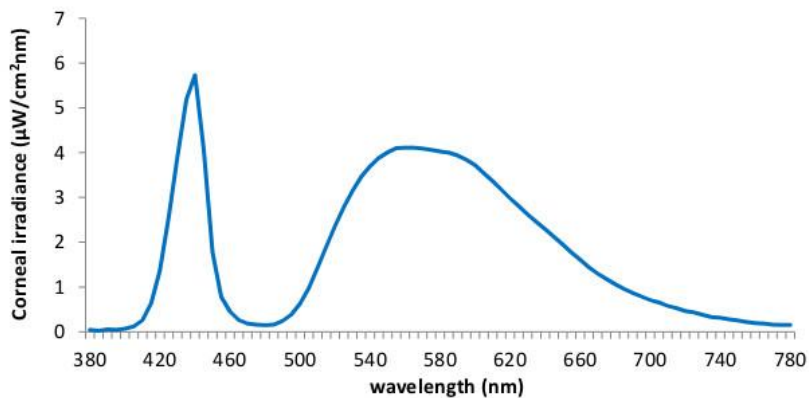


Figure 17. :Spectral distribution of the blue-enriched light at the corneal level.

The lamp was placed obliquely from the left side, 60 cm far from the participants' eyes, so indirectly falling upon both participants' eyes and the screen, and the light emitted was diffused by a shade, mimicking a Ganzfeld full-field illumination. Further photometric information is reported in table 6. This condition was compared to a dim light control condition (lights off in the same room, < 1 lx).

Table 6: photometric values of the light source at eye level, estimated through the Excel toolbox from Lucas et al., 2014.

Irradiance ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	141.14
Peak of spectral irradiance	440 nm
Photon flux ($1/\text{cm}^2/\text{s}$)	$4 \cdot 10^{14}$
Photopic illuminance (lux)	469
Cyanopic	323.26
Melanopic	224.84
Rhodopic	294.64
Chloropic	401.00
Erythropic	444.34

The illuminance emitted by the monitor was 0.06 lux, which is below the threshold required for causing alerting effects on the nervous system (Christian Cajochen et al., 2000; Wood et al., 2013). In addition, the blue component of the light emitted by this monitor was filtered by F-lux[®] software.

2.3. Study protocol

Only evening-type volunteers, i.e. with rMEQ scores below 12 and later confirmed by the phase markers calculated from ambulatory circadian monitoring, were included. Every participant came three times to the laboratory. The first time, they were given the circadian monitoring devices to assess their circadian rhythms under normal living conditions during one week. They were instructed to follow regular sleep-wake schedules following their own internal preferences, as we were interested on realistic consequences of performing at an adverse time of day considering both chronotype and socially imposed schedules. Within this week, every participant completed two experimental sessions at non-consecutive days, following a within-subject design in which blue-enriched and dim light conditions were administered in a counterbalanced order.

Each session lasted about 105 minutes and started at 8 a.m. Participants were seated at 60 cm from the monitor in a soundproof isolated room throughout the whole session. During the first 30 minutes, the participants were under dim light conditions in order to obtain temperature and performance baselines (see figure 18),

completed the mood state and sleepiness (KSS) scales, performed the PVT and practised the simulated driving task for 5 minutes, followed by 10 minutes of driving baseline performance.

Then, the blue-enriched white light (or no light, in the dim light condition) was applied, and the participants performed the driving task for another 60 minutes. After driving, they were asked again about their level of sleepiness and mood state, and performed the PVT for a second time. Caffeine consumption was allowed the day of the experimental session (but not during the session itself) in line with participants' habits, as acute withdrawal may deteriorate cognitive performance in regular consumers (Rogers et al., 2005). This information was recorded, and the distribution of consumption across experimental conditions was analyzed.

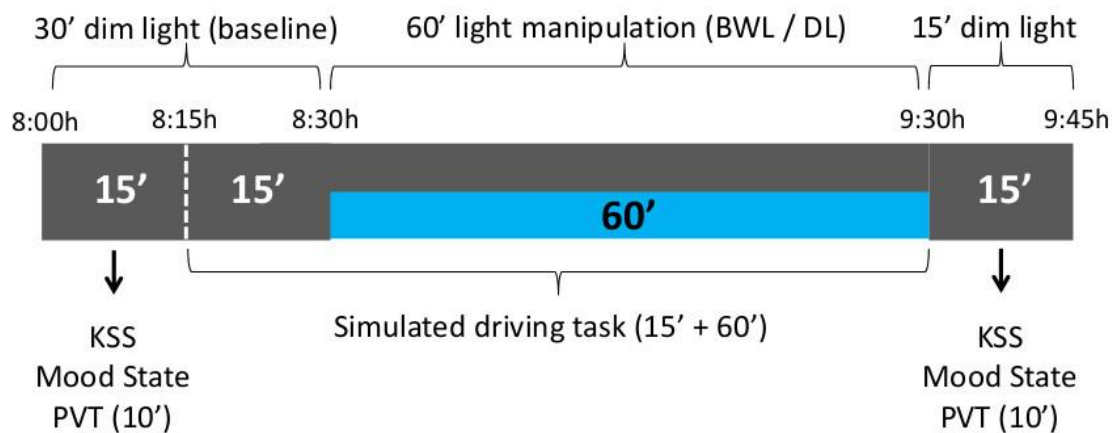


Figure 18. :Schema of the experimental protocol. The participants remained the first 30 minutes of the session under dim light, while they carried out the baseline subjective scales and PVT, followed by 5 minutes of driving practice and 10 minutes of baseline driving. After that, one of the lighting conditions (blue-enriched white – BWL – or dim light – DL –) was applied while they drove for 60 minutes. Finally, they performed the PVT and subjective scales for a second time in dim light.

2.4. Design and data analysis

2.4.1. Behavioural and temperature measures

Driving performance was analyzed following a repeated-measures design with the factors *light condition* (blue-enriched versus dim light) and *time on task* (20, 40 and 60 minutes), as in our previous study (Rodríguez-Morilla et al., 2017). Pairwise contrasts between light conditions on each level of time on task were performed in

order to study the temporal course of light effects on performance (see Vandewalle & Dijk, 2013; Smolders & de Kort, 2017, and Rodríguez-Morilla et al., 2017, for a similar approach). The dependent variables were mean RT and position error per minute, baseline corrected.

Two estimations of the distal-proximal temperature gradient (DPG) were conducted for every participant by subtracting infra-clavicular (DPG-clavicle) and inner arm temperature (DPG-arm), respectively, from the values of the wrist temperature. The dependent variable was the temperature change with respect to the last minute of the dim light phase, when temperatures were maximally stabilized. Changes in both DPG-clavicle and DPG-arm were analysed following a similar 2 (*light condition*) x 3 (*time on task*) design.

The analysis of PVT performance included mean RTs larger than 100 ms, and followed a repeated measures design with the factors *light condition* and *time of testing* (pre- and post- driving task).

Data were analyzed through a non-parametric permutation test. It consists of performing all possible exchanges of conditions' labels from the original sample, assuming that, given the null hypothesis of no differences between conditions, this replacement would not change the probability distribution of the samples. This generates an empirical virtual population, making this procedure independent from the underlying data distribution and adequate for small sample sizes (Pesarin & Salmaso, 2010). We obtained a distribution of 10,000 permutations, and *p*-value was calculated as the proportion of values from this surrogate distribution which were higher than the value obtained from the original sample. All these analyses were carried out through Matlab® (Mathworks®).

Since demographic and subjective data had single observations per level, squared-chi tests were employed to compare the frequency distributions of caffeine intake before each session, and sleep duration in the night prior to each session was analyzed through a one-way analysis of variance (ANOVA) with the factor of *light condition*. Subjective measures of sleepiness (KSS) and mood were analyzed through 2 (*light condition*) by 2 (*time of testing*: pre- and post- driving task) ANOVAs. Effect sizes of significant effects were estimated and reported as partial eta squared (ηp^2).

2.4.2. Circadian rhythms and sleep

The rhythms of motor activity, body position, wrist temperature and environmental light were processed as described in previous studies (Ortiz-Tudela et al., 2010). An integrated variable “TAP” (from Temperature, Activity and Position) was obtained from the rhythms of wrist temperature, motor activity and body position to infer the general level of activation and sleep-wake states (Sarabia et al., 2008). Each of these variables, including TAP, was then submitted to non-parametric analyses (Refinetti et al., 2013), providing several indicators referring to sleep and circadian rhythms characteristics:

M5/L5: five consecutive hours where skin temperature was maximal (M5) and the values of motor activity, body position and TAP were the lowest (L5). This period is identified as the main rest period.

Midsleep time: central time of the sleep period, located from the central time of L5 from TAP. It was employed as a physiological index of the sleep phase and, consequently, an objective measure of chronotype.

Finally, **sleep quality** was inferred from the inverse of L5 values of TAP ($1 - L5$). Those were multiplied by 10, so that global sleep quality ranged from 0 (no sleep) to 10 (best sleep quality). Scores equal or above 8 are considered as good sleep quality (established from comparison with sleep depth estimation by polysomnography in Ortiz-Tudela et al., 2014).

3. Results

3.1. Demographic data and questionnaires

Both the rMEQ score ($M = 9.21$, see table 7) and midsleep time (05:50 h) confirmed the *evening-type* chronotype of our sample. Participants' sleep quality ($M = 8$, over 10) fell within standard levels (from 8 onwards). There were not significant differences in the total amount of sleep between nights prior to each experimental session (5.68 for the *light exposure* condition versus 5.27 before the *dim light* session: $F(1, 16) = 2.88$, $p = .11$, or in the distribution of caffeine intake before the experiment

across sessions (33% of participants consuming caffeine in blue-enriched white light and 40% in dim light, $\chi^2_1 = .144$; $p = .705$).

The analysis of subjective sleepiness as measured by the KSS showed a significant effect of *time of testing*, $F(1,15) = 11.54$; $p < .01$; $\eta p^2 = .43$, revealing higher subjective somnolence/sleepiness after (mean = 6.44; S.D. = 1.52) than before (mean = 5.16; S.D. = 1.74) the driving task. A significant effect of *light condition*, $F(1,15) = 5.09$; $p = .04$; $\eta p^2 = .25$, indicated higher levels of sleepiness in the dim light (M = 6.16; S.D. = 1.72) than in the blue-enriched light condition (mean = 5.41; S.D. = 1.74). This difference was unlikely caused by our light manipulation, as suggested by the *light x time of testing* null interaction ($F < 1$). Rather, it came from basal differences before driving: $F(1,15) = 6.04$; $p = .03$; $\eta p^2 = .29$. There were no significant effects regarding mood state (all $ps > .24$).

Table 7: mean values and standard deviations (in parenthesis) of demographic data, and mean scores and 95% confidence intervals [C.I., in square brackets] obtained through bootstrapping of subjective measures.

Age		20.25 (1.48)
Chronotype (rMEQ)		9.21 (1.65)
Midsleep time (hh:mm)		05:50 h (1:17)
Sleep quality		8/10 (0.39)
		Blue-enriched white light Dim light
Sleep hours (before sessions)		5.68 [1.06] 5.27 [0.97]
Subjective Sleepiness (KSS)	Pre	4.69 [3.94 – 5.5] 5.63 [4.69 – 6.44]
	Post	6.13 [5.31 – 6.81] 6.69 [6 – 7.38]
Subjective Mood State	Pre	6.94 [6.31 – 7.5] 6.75 [5.88 – 7.31]
	Post	6.87 [6.38 – 7.38] 6.63 [5.88 – 7.19]

3.2. Skin temperature measures

All main effects and interactions obtained from permutation analyses on every temperature assessment are reported in table 8.

Table 8: main effects, interactions and pairwise contrasts in all temperature analyses.

	Wrist	Clavicle	Inner-arm	DPG-clav.	DPG-arm
Light condition	$p = .005$	$p < .001$	$p = .127$	$p < .001$	$p = .127$
Time on task	$p < .001$	$p < .001$	$p = .213$	$p < .001$	$p < .001$
Interaction	$p = .001$	$p = .026$	$p = .188$	$p = .001$	$p = .001$
Time on task in DL¹	$p < .001$	$p < .001$	$p = .028$	$p < .001$	$p < .001$
Time on task in BWL¹	$p < .001$	$p < .001$	$p = .152$	$p < .001$	$p < .001$
Light effect² 20 min	$p < .001$	$p < .001$	$p = .528$	$p < .001$	$p < .001$
Light effect² 40 min	$p = .008$	$p < .001$	$p = .037$	$p < .001$	$p = .346$
Light effect² 60 min	$p = .109$	$p = .001$	$p = .478$	$p = .503$	$p = .071$

¹Main effect of *time on task* in permutation analyses performed separately for each light condition (DL = dim light; BWL = blue-enriched white light).

²Pairwise contrasts of factor *light condition* for every level of *time on task*.

The table shows that all temperature measures, except for the most proximal temperature (inner-arm) showed significant effects of *time on task*, and *time on task* x *light condition* interaction. Wrist, clavicle and distal-proximal (clavicle) gradient also showed a main effect of *light condition*. For comparison purposes with our previous study (Rodríguez-Morilla et al., 2015), description of results will focus on the distal-proximal temperature gradient (figure 19, DPG-clavicle). This temperature gradient significantly increased along *time on task*, but it was reduced by the blue-enriched white light in relation to dim light. Analyses of the significant interaction ($p = .001$) revealed that this temperature decrement by blue-enriched white light was already present within the first 20 minutes and remained significant after 40 minutes of driving, whereas the lighting effect vanished during the last 20 minutes of the task.

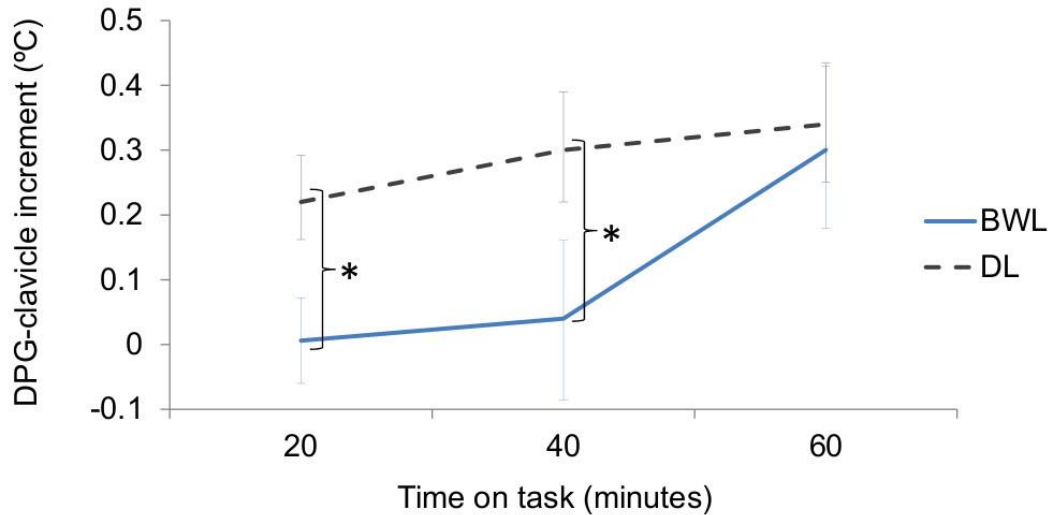


Figure 19. Increments with respect to baseline of the distal-proximal (clavicle) temperature gradient along the driving task, as a function of light condition (BWL: blue-enriched white light; DL: dim light). Bars represent 95% confidence intervals obtained through bootstrapping.

3.3. Performance in the Psychomotor Vigilance Task (PVT)

The permutation test for the analysis of RTs in the PVT showed a significant effect of *light condition* ($p < .001$), with faster overall RTs in blue-enriched ($M = 260$ ms; 95% C.I. = 257 – 265) as compared to dim light ($M = 276$ ms; 95% C.I. = 271 – 281), and a significant effect of *time of testing* ($p < .001$), with slower RTs after ($M = 274$ ms; 95% C.I. = 270 – 279) than before ($M = 262$ ms; 95% C.I. = 258 – 266) the driving task. Most relevant, the *light x time of testing* interaction, $p < .001$, revealed that the RT increment along time was attenuated under blue-enriched ($p = .162$) as compared to dim light ($p < .001$) (figure 20).

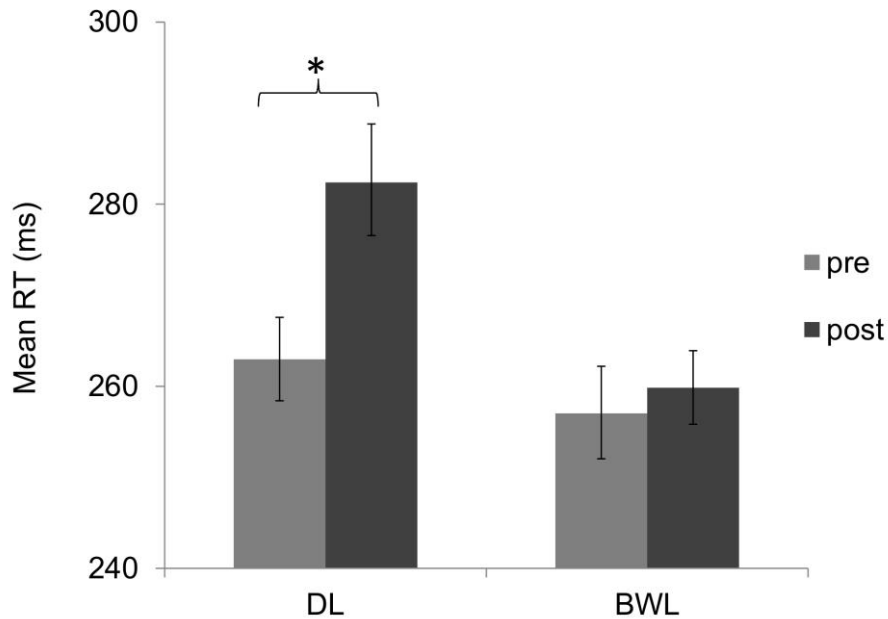


Figure 20. Mean RTs in the Psychomotor Vigilance Task (PVT) as a function of lighting condition (dim light vs. blue-enriched white light) and time of testing: before (pre) and after (post) the driving task. Bars represent 95% confidence intervals obtained through bootstrapping.

3.4. Performance in the simulated driving task

The permutation analysis on driving RTs yielded a significant effect of light condition ($p < .001$), with faster responses in blue-enriched white (increment from baseline: $M = 126$ ms; 95% C.I. = 120 – 132) vs. dim light condition ($M = 144$ ms; 95% C.I. = 138 – 141). A significant effect of time on task ($p < .001$) reflected an increase of RTs along driving. The interaction was not significant ($p = .482$), as pairwise contrasts showed that lighting effects were already present within 20 minutes of exposure, ($p = .042$) and remained significant throughout the task ($p = .001$ after 40 minutes and $p = .031$ after 60 minutes) (figure 21).

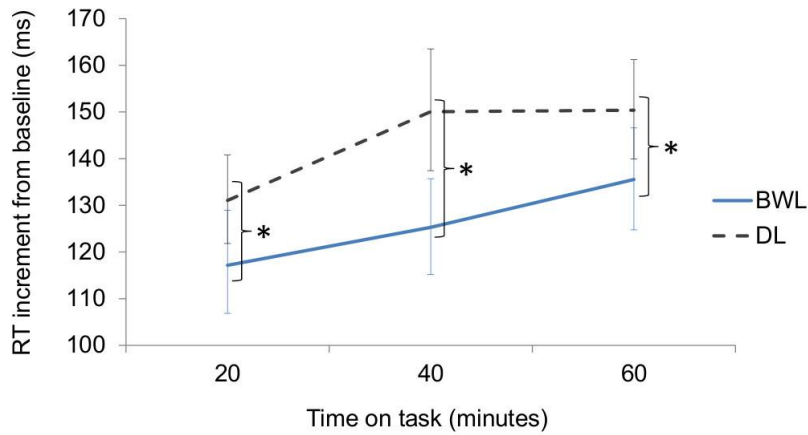


Figure 21. RT increments from baseline in the driving task as a function of time on task and lighting condition (BWL: blue-enriched white light; DL: dim light). Bars represent 95% C.I. obtained through bootstrapping.

Interestingly, the analysis on driving accuracy revealed higher position error increments with respect to baseline in the blue-enriched white light than in the dim light condition ($p = .002$). Position error also increased along time on task ($p = .007$). The light \times time on task interaction was not significant ($p = .188$). According to pairwise contrasts, position error did not differ between conditions within the first 20 minutes ($p = .816$) or after 40 minutes ($p = .072$) of light exposure, but it was significantly larger after 60 minutes ($p = .001$) of blue-enriched white vs. dim light (figure 22).

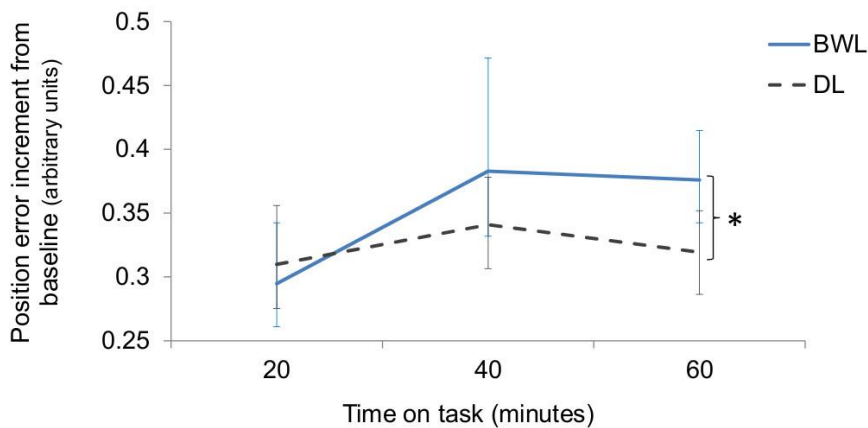


Figure 22. Position error increments from baseline as a function of time on task and lighting condition (BWL: blue-enriched white light; DL: dim light). Bars represent 95% C.I., obtained through bootstrapping.

4. Discussion

Exposure to blue-enriched light has been proposed as a resource for enhancing alertness and cognitive performance in adverse circumstances, such as at nighttime (Chellappa et al., 2011; Correa et al., 2016; Kretschmer, Schmidt, & Griefahn, 2011; Lockley et al., 2006; Phipps-Nelson et al., 2009; Taillard et al., 2012) or after sleep restriction (Gabel et al., 2013, 2015; Phipps-Nelson et al., 2003). Cognitive effects of light have been studied also during daytime (Huiberts, et al., 2015; Smolders & de Kort, 2017; Vandewalle et al., 2006, 2007, 2011), but its influence in extreme chronotypes performing at their suboptimal time of day had not been addressed.

We previously reported performance impairments in evening-types driving at early morning (Correa et al., 2014). Therefore, the current study tested whether blue-enriched white light could attenuate this impairment in similar circadian conditions. It also provided the following methodological improvements with respect to our previous lighting study (Rodríguez-Morilla et al., 2017): 1) light exposure was manipulated within-subjects to enhance statistical power by minimizing inter-individual differences, 2) the new driving task further measured reaction times, as they are sensitive to vigilance fluctuations (Basner & Dinges, 2011; Graw et al., 2004), and 3) non-parametric permutation analyses were performed, being this procedure independent from the underlying data distribution and adequate for a relatively small sample (Pesarin & Salmaso, 2010).

The current study provided two main findings. First, it replicated our previous result (Correa et al., 2014) of a decrement associated with time on task when evening-type participants performed at their suboptimal time of day (8 a.m.). This impairment was clear at multiple dimensions, such as in subjective somnolence (higher KSS scores), physiological (increasing temperatures), and behavioral measures (higher RTs in the PVT, slower responses and higher position error when driving), therefore providing converging evidence of a vigilance decrement. Second, and most important, exposure to blue-enriched white light prevented this decrement, as revealed by lower skin temperatures and faster RTs in both PVT and driving tasks, thus extending the alerting effects of light to a sample of extreme chronotypes. In line with our previous lighting

study (Rodríguez-Morilla et al., 2017), blue light was related to lower accuracy during driving.

Our temperature results showed increments along time on task in all measures except for the most proximal temperature (inner-arm). The inner-arm index could be a more stable estimate of central temperature, not sensitive to short term variations along time on task. However, the distal-proximal inner-arm gradient was as sensitive as the distal-proximal infraclavicular gradient to measure physiological changes associated with the effects of time on task and lighting. Our finding of increments in distal temperature and distal-proximal gradients have been related to a parasympathetic predominance, as the autonomous nervous system drives vasodilatation on peripheral skin vessels to promote heat loss, diminishing arousal and leading to increased somnolence (Kräuchi et al., 2004, 2005; Sarabia et al., 2008). This finding fits well with the fact that our participants were tested at a suboptimal time of day in a task that typically depletes resources of vigilant attention. Skin temperature increments were also in line with our previous study (Rodríguez-Morilla et al., 2017) where the distal-proximal gradient increased from 22:00 h onwards under dim light. Interestingly, blue-enriched light reduced temperature, indicating a restoration of the level of alertness as compared to the dim light condition (see also Cajochen et al., 2005; Myers & Badia, 1993).

Time on task effects, presumably related to fatigue and decrement in vigilant attention, were also evident at the behavioral level in the PVT. Participants in the dim light condition performed the PVT significantly slower after the driving task than before. Importantly, this RT lengthening was prevented in the blue-enriched light condition, leading to faster performance than in dim light in the PVT administered postdriving. This finding supports previous research showing alerting effects of light on the PVT (Chellappa et al., 2011; Phipps-Nelson et al., 2009), although null results are also common in the literature (Gabel et al., 2015; Huiberts et al., 2016; Rodríguez-Morilla et al., 2017; Segal et al., 2016). Probably, our design optimized sensitivity to such effects by testing participants at suboptimal conditions, as in Phipps-Nelson et al. (2003).

In the simulated driving task, the vigilance decrement was evident as increasing reaction times along time on task. The replication of this finding (Correa et al., 2014) is important because it confirms the effectiveness of our circadian manipulation (i.e., testing evening-type participants at an adverse time of day). In these conditions, the blue-enriched light helped them to drive with enhanced alertness, as suggested by the finding of faster responses to unexpected events (gusts of wind). Nevertheless, increments in phasic alertness do not always involve performance benefits, rather, it depends on task demands (Yerkes & Dodson, 1908). It has been suggested that phasic alertness improves response speed but at the cost of accuracy (Posner, 1978). Our results concerning position error pointed to this direction. In particular, position error increased along time on task in the blue-enriched light condition, leading to more inaccurate driving after 60 minutes of light exposure as compared to dim light. This result replicated previous findings of our lab (Rodríguez-Morilla et al., 2017), suggesting that excessive arousal could be detrimental for accurate performance. However, in previous light studies on night driving the position error increased across consecutive testing times, and exposure to blue-enriched light either prevented it (Taillard et al., 2012) or did not increase it with respect to control conditions (Phipps-Nelson et al., 2009). Protocol differences, like shorter task durations or higher illuminance in our study, could account for these differences.

It is also important to note that partial sleep deprivation could have contributed to the effects. Indeed, mean sleep duration was below six hours in our sample. As we were interested on testing evening-type participants under normal living conditions (e.g. Correa et al., 2014), we assumed a certain degree of sleep deprivation. In real life, evening-types in the early morning are necessarily affected by partial sleep deprivation when there is an obligation of waking up early according to socially imposed schedules, leading to an accumulation of sleep deficit along working days (Roenneberg et al., 2003). This desynchronization of rhythms between working and free days, which reflects a misalignment between social and biological time, is known as social jetlag. Further, the evening-type rhythm has been compared to a sort of “chronic jetlag” (Wittmann, Dinich, Merrow, & Roenneberg, 2006). In any case, our analyses on free-living recording of actigraphy and temperature rhythms, confirmed

that sleep duration was balanced across experimental sessions. An alternative approach to avoid sleep deprivation would imply a later testing time, as in the study of Maierova et al. (2016), who tested evening-types from 11:17 h forward, leaving suboptimal morning hours unexplored.

To conclude, this study addressed for the first time the effects of light exposure on the performance of evening-types at early morning. Our results suggest that blue-enriched white light can enhance alertness and prevent behavioral decrements of vigilance at suboptimal times of day, while accuracy in complex tasks requiring precision may be deteriorated, as previously suggested (Rodríguez-Morilla et al., 2017). Hence, a cognitive analysis of tasks involving health risks should be considered when using lighting stimuli to boost alertness.

Funding

This work was supported by the Spanish and Andalusian Governments to A.C. (MINECO: PSI2014-58041-P, and Proyectos de Excelencia JJAA: SEJ-3054) and to J.A.M. (MINECO: SAF2013-49132-C2-1-R).

VII. Discusión General

El interés de la presente tesis doctoral estuvo centrado en el estudio de los ritmos circadianos, su relación con el sueño nocturno y con las fluctuaciones en activación y rendimiento en vigilancia a lo largo del día. En la base de esta relación se encuentra el ciclo de luz ambiental, que regula los ritmos circadianos favoreciendo la activación fisiológica en presencia de luz, y con ello el desempeño cognitivo. Desde una perspectiva aplicada, esta tesis intenta proporcionar herramientas para mejorar la evaluación del sueño a través del estudio de los ritmos circadianos (objetivo 1) y para mejorar los niveles de activación y el rendimiento en vigilancia a través de la manipulación de la luz ambiental, en momentos subóptimos del día desde el punto de vista circadiano: al inicio de la noche, coincidiendo con el momento de inicio en la secreción de melatonina (objetivo 2) y por la mañana temprano en el caso de cronotipos vespertinos (objetivo 3).

1. Resumen general de resultados

En nuestro primer estudio, la aplicación de los métodos de aprendizaje automático a los índices circadianos obtenidos mediante el análisis no paramétrico de TAP, nuestra variable integrada, proporcionó un modelo de clasificación con altos niveles de sensibilidad y precisión. Además de las categorías previamente designadas, insomnio primario, síndrome de retraso de la fase del sueño y controles sanos, este modelo facilitó la distinción entre distintas tipologías de insomnio, principalmente de inicio y mantenimiento. Más aún, fue lo suficientemente sensible como para diferenciar los casos más leves de insomnio de mantenimiento. Finalmente, nuestros resultados pusieron de manifiesto la interrelación entre el ritmo de exposición a la luz ambiental y el trastorno de fase.

En nuestro segundo estudio, la exposición a luz blanca enriquecida en azul coincidiendo con la hora de inicio en la secreción de melatonina en sujetos intermedios provocó un aumento en el nivel de activación fisiológica, manifiesto a través de un decremento del gradiente distal-proximal, en comparación con una condición de luz ámbar y una condición control de penumbra. Sin embargo, este incremento de activación no afectó el nivel de somnolencia subjetiva ni benefició el

rendimiento en la Tarea de Vigilancia Psicomotora (PVT) o en la de conducción simulada. Más aún, deterioró la precisión para mantener la posición correcta del coche a lo largo de la tarea.

En nuestro tercer estudio, el empleo de luz blanca enriquecida en azul para mejorar el nivel de alerta en sujetos vespertinos por la mañana temprano, provocó un incremento de activación que llevó a una mejora del rendimiento en vigilancia, reflejada en tiempos de reacción más rápidos, con respecto a la condición control de penumbra. No obstante, la precisión en el mantenimiento de la posición del coche se vio de nuevo deteriorada bajo la condición de luz blanca enriquecida en azul, en línea con nuestro anterior estudio.

Todos estos resultados tienen implicaciones relevantes desde una perspectiva aplicada.

2. Aplicación de la monitorización circadiana ambulatoria en el ámbito de la clínica del sueño

Los resultados de nuestro Estudio 1 realizan las tres aportaciones principales siguientes. En primer lugar, permiten distinguir entre dos patologías de sueño muy comunes y frecuentemente solapadas (Gradisar & Crowley, 2013; Sivertsen et al., 2013; Richardson et al., 2015), como son el insomnio, en particular el subtipo de insomnio de inicio, y el síndrome de retraso de la fase del sueño. La importancia de su diferenciación radica principalmente en su utilidad a la hora de seleccionar la terapia más adecuada. Por ejemplo, en el síndrome de retraso de fase ésta iría más orientada a sincronizar correctamente los ritmos circadianos respecto a los horarios socialmente establecidos (S W Lockley, 2009; Sack et al., 2007b), a diferencia de las terapias comúnmente utilizadas para el insomnio, como las técnicas de control de estrés o la terapia cognitivo-conductual (Martínez, Miró, & Sánchez, 2016), más centrada en los hábitos, pensamientos y asociaciones disruptivos que desencadenan y perpetúan los síntomas de insomnio. Adicionalmente, esto aumenta la visibilidad del síndrome de retraso de la fase del sueño, cuya prevalencia, debido a su facilidad para ser

confundido con el insomnio de inicio (Weitzman, 1981), se encuentra probablemente infraestimada (Gradisar et al., 2011).

En segundo lugar, estos resultados subrayan la interrelación entre los ritmos circadianos, a un nivel global, y los problemas de sueño nocturno, en línea con los planteamientos iniciales que nos llevaron a diseñar este estudio (Bobérly, 1982; Sack et al., 2007 a, b; Goel et al., 2013). Esto queda de manifiesto a través de todas las categorías: por un lado, en el hecho de que el síndrome de retraso de fase se diferencie del insomnio de inicio en el perfil circadiano de activación diurna, por otro lado, en el hecho de que la forma más leve de insomnio se diferenciase, tanto del resto de casos de insomnio como del grupo control, precisamente en la calidad global de los ritmos circadianos.

Por último, el ritmo de exposición a luz ambiental distintivo del síndrome de retraso de fase confirma la relación entre dicho factor y el ritmo sueño-vigilia (Aoki, Ozeki, & Yamada, 2001; Auger, Burgess, Dierkhising, Sharma, & Slocumb, 2011). En este caso particular, se observó cómo este retraso en la fase del sueño se asociaba a los niveles de luz más bajos durante la mañana y más altos durante la noche de todas las categorías. Como dijimos en la introducción, esta relación puede ser bidireccional: de un lado, la luz juega un rol principal en el encarrilamiento circadiano, pudiendo producir desplazamientos de fase en función del momento del ciclo en el que se reciba; del otro, los horarios de sueño pueden modificar la exposición a este zeitgeber, retroalimentando de este modo el proceso de regulación circadiana. Así pues, el patrón observado en nuestros pacientes con retraso de fase podría estar reflejando la confluencia de ambos mecanismos, sin permitir aislar el uno del otro.

Considerados de forma conjunta, todos estos resultados subrayan la utilidad del estudio de los ritmos circadianos en el ámbito de la clínica del sueño y la necesidad de sistematizar dicho estudio. Asimismo, estos resultados validan nuestra aproximación basada en la combinación de técnicas de monitorización circadiana ambulatoria con métodos de aprendizaje automático para mejorar el diagnóstico de trastornos circadianos y de sueño a partir de criterios fisiológicos objetivos. Aunque estos métodos han sido previamente utilizados con éxito como herramienta de clasificación diagnóstica en otro tipo de patologías (Kubota et al., 2016; Dagiati, et al.,

2017; Kim et al., 2017; Mossotto et al., 2017), hasta donde nosotros sabemos, esta es la primera vez que se aplican en el ámbito de la clínica del sueño.

La aplicabilidad de esta técnica de monitorización circadiana ambulatoria también se extiende al ámbito de la investigación. En el campo de la investigación clínica, esta técnica puede ser implementada para evaluar a los pacientes en distintas fases del proceso de terapia, comprobando así la eficacia de los tratamientos. En investigación básica, puede ser usada con fines tanto de selección como de evaluación de muestras experimentales. En efecto, en los siguientes capítulos experimentales de esta tesis utilizamos esta técnica para estimar la calidad de los ritmos circadianos y el sueño de nuestros participantes, así como para confirmar su cronotipo como parte del proceso de inclusión en los estudios.

3. Efectos de la luz sobre la activación fisiológica en distintos momentos subóptimos del día

Mediante el empleo de distintos diseños experimentales para estudiar el efecto de la luz bajo circunstancias subóptimas del ritmo circadiano, los Estudios 2 y 3 proporcionaron resultados complementarios entre sí. Respecto a los efectos de la luz sobre la activación fisiológica, ambos mostraron un incremento del arousal bajo la condición de luz blanca enriquecida en azul, expresada a través de valores más bajos en el gradiente de temperatura distal-proximal, aunque con un patrón diferente en cada uno de estos estudios. El primero de estos se llevó a cabo coincidiendo con la hora aproximada de inicio de secreción de melatonina (Bonmatí-Carrión et al., 2014), en la que típicamente se produce un incremento de la temperatura distal y del gradiente distal-proximal en anticipación al inicio del sueño nocturno (Bonmatí-Carrión et al., 2014; Krauchi et al., 2004, 2005). En estas condiciones, los efectos de la luz blanca enriquecida en azul, tradicionalmente asociada a la supresión de melatonina (Cajochen et al., 2005; Chellappa et al., 2011), se compararon con los de una luz de color ámbar, de longitud de onda larga y no asociada por tanto a supresión de melatonina (Chellappa et al., 2011; Figueiro et al., 2009), y una condición control de

penumbra, con el fin de aislar los efectos derivados de la calidad espectral de la luz de los efectos debidos puramente a la presencia vs. ausencia de luz.

Los resultados de este estudio mostraron un decremento del gradiente distal-proximal de temperatura bajo la condición de luz blanca enriquecida en azul, reflejando un incremento del arousal respecto a la condición de penumbra, en consonancia con estudios anteriores (Cajochen et al., 2005; Cajochen, 2007; Chellappa et al., 2011; Lockley et al., 2006; Phipps-Nelson et al., 2009). Bajo las condiciones generadas con este diseño, esta respuesta probablemente se asocie a una inhibición en la secreción de melatonina.

La condición de luz ámbar, por su parte, mostró un efecto intermedio entre las otras dos, sin diferencias significativas respecto a la condición de luz blanca enriquecida en azul pero tampoco respecto a la condición de penumbra. Estos resultados sugieren una tendencia congruente con lo esperado para las distintas condiciones: mayor activación bajo exposición a ambos tipos de luz que en penumbra (Figueiro et al., 2009) y mayor aún en el caso de la luz blanca enriquecida en azul que en la luz ámbar, debido a su impacto diferencial sobre la supresión de melatonina. No obstante, la ausencia de efectos significativos en la condición de luz ámbar nos impide realizar afirmaciones rotundas sobre su potencial activador a partir de nuestros resultados.

En el Estudio 3 nos centramos en evaluar a participantes vespertinos por la mañana temprano. Cabe destacar que se respetaron los ritmos circadianos de los participantes. Esto implicaba cierto grado de privación de sueño, ya que al retraso en la hora de inicio de sueño característico de este cronotipo se unía la hora temprana de despertar requerida para la realización del experimento. De hecho, asumimos esta confluencia de factores debido a nuestro interés en las condiciones experimentadas por las personas de cronotipo vespertino en la vida real, donde acumulan una deuda de sueño a lo largo de los días laborables (Roenneberg et al. 2003).

Asimismo, nos limitamos a las condiciones de penumbra y luz blanca enriquecida en azul, por ser esta la que mayores efectos había mostrado en el estudio previo, y se manipularon intrasujeto para incrementar la potencia estadística mediante la disminución de la variabilidad interindividual y un mayor tamaño muestral en cada

condición respecto a nuestro anterior estudio. La restricción a estas dos condiciones de luz tuvo la ventaja de simplificar el diseño, pero no permitía atribuir los posibles resultados a la calidad espectral de la luz. En cualquier caso, y a pesar de que la luz de onda corta ha mostrado mayores efectos de alerta que otros tipos de luz también durante el día (Rahman et al., 2014; Vandewalle et al., 2007), nuestro interés en este estudio no estaba enfocado a explicar los posibles efectos de la luz en términos de su espectro.

Por otro lado, la franja horaria en la que se realizó este estudio implicaba un patrón distinto de temperatura corporal al de las condiciones en las que se realizó el Estudio 2. De hecho, las predicciones sobre el comportamiento de la temperatura a esta hora del día en participantes vespertinos se dificultan enormemente, pues de forma natural mostrarían valores típicamente propios del sueño, pero ante circunstancias como las de nuestro estudio la temperatura no reflejaría el estado esperado de su sistema circadiano, sino que estaría modulada por factores asociados a la vigilia y el desempeño cognitivo forzados.

En estas circunstancias, bajo ambas condiciones experimentales se observó un aumento del gradiente distal-proximal, reflejando una desactivación simpática (Kräuchi et al., 2005; Sarabia et al., 2008), y por tanto un decremento del nivel de arousal a lo largo de la tarea. Sin embargo, este incremento del gradiente fue mucho más rápido y abrupto en la condición control de penumbra, mientras que la exposición a luz blanca enriquecida en azul refrenó dicho aumento, que no alcanzó valores similares a los de la condición de control hasta después de cuarenta minutos de conducción. Esto se interpretó como un efecto activador de la exposición a luz, aunque de alcance limitado y transitorio ante tales circunstancias adversas.

Una posible vía propuesta para explicar los efectos diurnos de la luz sobre la activación podría implicar estructuras subcorticales involucradas en la regulación del arousal como el área preóptica del hipotálamo (Lockley et al., 2006).

4. Efectos de la luz sobre el rendimiento en vigilancia y conducción en distintos momentos subóptimos del día

Los resultados relativos a las respuestas cognitivas a la luz en ambos estudios también fueron complementarios. En nuestro Estudio 2, el efecto de activación fisiológica encontrado bajo la condición de luz blanca enriquecida en azul no provocó mejoras en el rendimiento en vigilancia (PVT) ni en la conducción. A pesar de ir en contra de nuestras hipótesis iniciales, resultados similares ya han sido reportados previamente en la literatura. Por ejemplo, un estudio reciente de Knaier et al. (2017) muestra un efecto de supresión de melatonina al inicio de la noche bajo exposición a luz policromática brillante durante una hora, sin efectos sobre una tarea de tiempo de reacción. Por su parte, Phipps-Nelson et al. (2009), encontraron un efecto de activación fisiológica (disminución de ondas lentas en el EEG) durante una tarea de conducción nocturna, sin efectos sobre el rendimiento en dicha tarea.

Más sorprendente en nuestro estudio fue que la activación producida por la luz blanca enriquecida en azul no sólo no conllevó una mejora en rendimiento, sino que, más aún, deterioró la habilidad para mantener la posición del coche a lo largo del tiempo en tarea. Este deterioro se atribuyó a un posible exceso de activación, y el mantenimiento de la posición del coche probablemente implica una demanda cognitiva compleja, relacionada con respuestas de precisión, que por tanto requerirían menores niveles de activación para un rendimiento óptimo que los obtenidos en nuestro estudio (Posner, 1978; Yerkes-Dodson, 1908).

A partir de esta interpretación de nuestros resultados, el diseño del Estudio 3 estuvo orientado a maximizar el beneficio de la luz sobre el rendimiento en vigilancia y conducción, motivo por el cual se recurrió a circunstancias más extremas desde el punto de vista circadiano: participantes vespertinos por la mañana temprano.

Este diseño facilitó un incremento de la vigilancia bajo la condición de luz blanca enriquecida en azul, que fue evidente a través de tiempos de reacción más rápidos, tanto en la PVT como en la tarea de conducción. Esto indica que nuestra manipulación fue efectiva en el propósito de optimizar la respuesta cognitiva a la luz, con el valor añadido de ser la primera vez, hasta donde nosotros sabemos, que los

efectos de la luz sobre el rendimiento cognitivo han sido estudiados sobre vespertinos en su hora subóptima del día. La relevancia de esto radica en la elevada presencia de este cronotipo entre la población adolescente y joven, quienes normalmente están obligados a rendir en un contexto educativo o laboral a esta hora del día: se ha reportado hasta un 37% de prevalencia entre 15 – 20 años de edad (Lehto et al., 2016) y un 11 – 12 % entre 24 – 29 años de edad (Koskenvuo, Hublin, Partinen, Heikkilä, & Kaprio, 2007). Así pues, la imposibilidad de elegir nuestra hora óptima para la realización de tareas que requieren atención en muchas ocasiones de nuestra vida cotidiana plantea la necesidad de buscar medidas para contrarrestar situaciones subóptimas.

A pesar de estos efectos sobre la activación y la vigilancia, la exposición a luz blanca enriquecida en azul produjo un deterioro en la precisión para mantener la posición del coche, en línea con los resultados de nuestro experimento previo. De esta nueva evidencia se desprende que las respuestas comportamentales a la luz pueden depender en gran medida del proceso cognitivo implicado, como ya se había señalado previamente (Gabel et al., 2015), y mostrar una disociación respecto a las respuestas fisiológicas, como en nuestro anterior estudio y otros hallazgos de la literatura (Knaier et al., 2017; Phipps-Nelson et al., 2009).

Sintetizando los resultados de nuestros estudios 2 y 3, se pueden extraer varias conclusiones generales. En primer lugar, que las respuestas fisiológicas, subjetivas y cognitivas a la luz no son necesariamente convergentes entre sí, así como tampoco lo son los efectos de la luz sobre diferentes procesos cognitivos. De acuerdo con nuestros resultados, las respuestas más robustas se producirían a un nivel de activación fisiológica, mientras que las respuestas subjetivas fueron las menos sensibles. Respecto a las respuestas cognitivas, los efectos de la luz sobre la vigilancia parecen maximizarse bajo condiciones en las que realmente se requiera un incremento de activación, es decir, bajo un deterioro relativamente marcado. Incluso en estos casos, procesos cognitivos más complejos podrían no beneficiarse de tal incremento. Todo ello pone en evidencia la necesidad de encontrar un equilibrio entre los niveles de activación producidos por nuestra manipulación de luz y aquéllos requeridos por la tarea. Esto es especialmente relevante en las circunstancias en las que la exposición a

luz pueda provocar efectos indeseados, como es el caso de la supresión de melatonina nocturna, sobre todo si esta condición se produce de forma reiterada y a largo plazo.

5. Mecanismos subyacentes y factores moduladores de los efectos de la luz en distintos momentos del día

Desde los comienzos de la investigación sobre los efectos activadores de la luz, observados inicialmente durante la noche (Badia, Myers, Boecker, Culpepper, & Harsh, 1991; Cajochen et al., 2005; Chellappa et al., 2011) , y más aún tras el descubrimiento de las ipRGCs (Provencio et al., 1998; 2000; Berson, 2002), dichos efectos de alerta han sido atribuidos a la inhibición de melatonina (Cajochen et al., 2000; Lockley et al., 2006). Debido a la máxima sensibilidad de las ipRGCs a la luz de longitud de onda corta (Berson, 2002), se encontró que tanto los efectos de activación a nivel fisiológico como su utilidad para la mejora del rendimiento cognitivo eran mayores bajo luces de espectro azul que de otros tipos (Cajochen et al., 2005; Chellappa et al., 2011).

Sin embargo, el hallazgo de efectos de activación y alerta bajo condiciones no asociadas a supresión de melatonina, bien por luz roja (Figueiro et al., 2009; 2015), luz policromática con atenuación del componente azul (Van de Verken et al., 2013) o durante el día (Sahin & Figueiro, 2013; Sahin, Wood, Plitnick, & Figueiro, 2014; Vandewalle et al., 2009) sugirieron la existencia de otros mecanismos de acción.

El área preóptica del hipotálamo y el núcleo paraventricular del tálamo, implicadas en mecanismos relacionados con la regulación del arousal, han sido propuestas como estructuras mediadoras del efecto activador de la luz en tales situaciones (Gaggioni et al., 2014; Golombek & Rosenstein, 2010; Lockley et al., 2006). El núcleo paraventricular del tálamo se ha planteado como una estación de relevo entre el sistema circadiano y otras regiones del cerebro, y recibe aferencias directas de las ipRGCs (Colavito et al., 2015), lo que le hace especialmente sensible al espectro azul de la luz pese a su independencia respecto al papel modulador de la melatonina. Por este motivo, las respuestas no visuales a la luz también son mayores bajo condiciones de luz enriquecida en azul durante el día (Rahman et al., 2014; Vandewalle et al., 2007). Adicionalmente, su efecto sobre el rendimiento cognitivo podría involucrar

conexiones con estructuras límbicas como la amígdala y el núcleo accumbens, que modularían las respuestas cognitivas a la luz durante el día mediante la regulación de respuestas emocionales y afectivas a las tareas (Colavito et al., 2015; Rautkylä, Puolakka, & Halonen, 2012).

Los diseños experimentales de nuestros Estudios 1 y 2 plantean ambos escenarios. En el Estudio 1, aunque no contamos con medición de melatonina para corroborar esta deducción, podemos inferir que se produjo una supresión en la inhibición de melatonina bajo la condición de luz blanca enriquecida en azul, basándonos en nuestra revisión bibliográfica y en nuestro dato del gradiente distal-proximal de temperatura. Nuestro Estudio 2, en cambio, da soporte a los efectos de la luz sin mediación de la melatonina. En este caso, la respuesta de alerta encontrada, probablemente se relacione más con los mecanismos descritos de incremento de arousal, presumiblemente mediados por el área preóptica del hipotálamo, que con una posible reacción afectiva a la luz como la descrita para la interrelación entre el núcleo paraventricular del tálamo y el sistema límbico, ya que no se observaron efectos en el estado de ánimo subjetivo de nuestros participantes en ninguno de los dos estudios ni, en el primero de ellos, preferencias por uno u otro tipo de luz.

Otra disociación evidenciada en nuestros estudios es la de las respuestas fisiológicas vs. cognitivas. Este tipo de disociación ya se había manifestado en la literatura de diversas formas, encontrándose, por ejemplo, respuestas a la luz en medidas de EEG (Phipps-Nelson et al., 2009), de secreción de melatonina (Knaier et al., 2017) o de resonancia magnética (Vandewalle et al., 2007), sin efectos concurrentes en las tareas cognitivas (Phipps-Nelson et al., 2009; Knaier et al., 2017) o con efectos demorados sobre las respuestas cognitivas con respecto a las respuestas fisiológicas evidenciadas por neuroimagen (Vandewalle et al., 2007).

6. Propuestas de investigación futura

A pesar de las aportaciones de la presente tesis doctoral a su campo de estudio, nuestros resultados dan pie a nuevas líneas de investigación y generan nuevos interrogantes.

En relación con la aproximación metodológica propuesta para la evaluación de trastornos de sueño a través del registro circadiano, el siguiente paso lógico sería su aplicación para la caracterización y discriminación de otras patologías circadianas y de sueño, como por ejemplo el Síndrome de Avance de la Fase del Sueño (SAFS), el Síndrome de Piernas Inquietas (SPI) o el Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño (SAOS). Hay que tener en cuenta, no obstante, que la inclusión de un mayor número de patologías aumentaría la complejidad del modelo y podría dificultar el proceso de clasificación. En cualquier caso, se trataría de un reto interesante y de gran utilidad.

Respecto a la utilidad de la luz para incrementar la alerta ante determinadas circunstancias de deterioro, nuestros estudios dejan varias cuestiones sin explorar. En primer lugar, nuestras evidencias sobre su aplicabilidad en participantes vespertinos a su hora subóptima animan a ampliar el estudio de los efectos de la luz sobre cronotipos extremos con la inclusión del cronotipo matutino, y estudiando ambos bajo las condiciones de hora óptima y subóptima del día, para corroborar los efectos de sincronía y su respuesta a la exposición a luz. Por otro lado, dado que el diseño de nuestro Estudio 3 no permitió extraer conclusiones relativas a la implicación de la calidad espectral de la luz en sus efectos, en futuras investigaciones sería interesante estudiar los efectos de luces con diferente espectro.

Asimismo, el hecho de que nuestros Estudios 2 y 3 estén realizados sobre muestras de estudiantes universitarios los limita a un rango de edad muy determinado (entre 18 y 30 años), por lo que sería interesante ampliar la investigación a otros grupos de edad.

En cuanto a las tareas de conducción utilizadas en nuestros estudios, se ha de recalcar que estas fueron seleccionadas por su sensibilidad a las fluctuaciones de vigilancia y no intentando maximizar su similitud con la conducción real, en la cual concurrirían muchos otros estímulos que requieren el despliegue de procesos más numerosos y complejos. Esto se hizo con el objetivo de simplificar el diseño y facilitar la interpretación de los efectos de la luz y los posibles factores implicados. Así pues, futuras investigaciones podrían aplicar diseños similares a los aquí empleados, en tareas de conducción más realistas. De modo similar, para nuestros estudios recurrimos a iluminancias superiores a las que sería factible proponer en situaciones

Discusión General

de conducción real, con el fin de maximizar los efectos en pos de facilitar su estudio. Así pues, el salto a su aplicación para mejorar la conducción de vehículos en la vida real pasaría, entre otros requisitos, por probar el efecto de diferentes intensidades de luz.

VIII. Conclusions

The present doctoral thesis addressed the influence of circadian rhythms on sleep, arousal and driving performance in humans. The first part tested the utility of combining Ambulatory Circadian Monitoring (ACM) with machine learning analyses, in order to better discriminate between primary insomnia and delayed sleep phase disorder (DSPD). The second part focused on the effects of light exposure over arousal and driving performance at suboptimal times of day. The specific conclusions obtained from our results are:

I. The application of machine learning methods to circadian indexes, obtained from nonparametric analysis of the rhythms of wrist temperature, motor activity, body position and light exposure, yielded a reliable classification model that allowed: 1) to distinguish healthy from pathologic sleep, 2) to classify patients suffering from DSPD and primary insomnia, 3) to discriminate between maintenance and onset insomnia, and 4) to discriminate between onset insomnia and DSPD.

DSPD and onset insomnia were characterized by a later midsleep time than both maintenance insomnia and healthy controls, but differed between each other in their midwake time (later in DSPD than in onset insomnia). Maintenance insomnia differed from healthy controls in the relative amplitude of the rhythms, which was reduced in maintenance insomnia as they suffered from lighter sleep and daytime sleepiness.

II. In comparison with orange light and dim light conditions, exposure to blue-enriched light at early night enhanced physiological arousal, as indexed by decreasing distal-proximal temperature gradient. However, it did not affect subjective sleepiness, and did not improve psychomotor vigilance or driving performance. Moreover, accuracy in keeping the car position was impaired by blue-enriched white light, since position error increased along time on task under this light condition. This was attributed to excessive activation, as the time of testing was not extremely adverse.

III. By enhancing circadian adverse conditions, such as the case of evening chronotypes performing at early morning, we found that exposure to blue-enriched light increased arousal leading to enhanced vigilance performance, according to reaction time measures. But, in line with our previous study, accuracy was deteriorated by this light condition.

Conclusions

As a **general conclusion**, this thesis proposes a useful method for circadian and sleep evaluation, yielding relevant information about the circadian profile of two of the most common sleep pathologies: insomnia and delayed sleep phase disorder. In addition, we provide new evidences about the usefulness of light exposure to improve vigilance maintenance under certain detrimental conditions. Moreover, this doctoral thesis applies this countermeasure in evening-types at early morning for the first time. This is relevant as such circadian profile is very common in adolescents and young population, who are usually required good performance at that time of day, in school or at work. In turn, our results invite to caution against the indiscriminate use of light as a countermeasure for any situation. Instead, these findings suggest the convenience of finding a balance between the activating potential of light and what is required for our aims. This is especially relevant in situations where light exposure can cause side effects, as melatonin suppression at early night.

Referencias bibliográficas

- Adan, A., & Almirall, H. (1990). Adaptation and standardization of a Spanish version of the morningness-eveningness questionnaire: Individual differences. *Personality and Individual Differences, 11*(11), 1123–1130. [http://doi.org/10.1016/0191-8869\(90\)90023-K](http://doi.org/10.1016/0191-8869(90)90023-K)
- Adan, A., Archer, S. N., Hidalgo, M. P., Di Milia, L., Natale, V., & Randler, C. (2012). Circadian Typology: A Comprehensive Review. *Chronobiology International, 29*(9), 1153–1175. <http://doi.org/10.3109/07420528.2012.719971>
- Åkerstedt, T., Anund, A., Axelsson, J., & Kecklund, G. (2014). Subjective sleepiness is a sensitive indicator of insufficient sleep and impaired waking function. *Journal of Sleep Research, 23*(3), 240–252. <http://doi.org/10.1111/jsr.12158>
- Åkerstedt, T., & Folkard, S. (1997). The three-process model of alertness and its extension to performance, sleep latency, and sleep length. *Chronobiology International, 14*(2), 115–123. <http://doi.org/10.3109/07420529709001149>
- Åkerstedt, T., & Gillberg, M. (1990). Subjective and objective sleepiness in the active individual. *The International Journal of Neuroscience, 52*(1), 29–37.
- Ancoli-Israel, S., Cole, R., Alessi, C., Chambers, M., Moorcroft, W., & Pollak, C. P. (2003). The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms. *Sleep, 26*(3), 342–392.
- Aoki, H., Ozeki, Y., & Yamada, N. (2001). Hypersensitivity of melatonin suppression in response to light in patients with delayed sleep phase syndrome. *Chronobiology International, 18*(2), 263–71.
- Aschoff, J. (1976). Circadian systems in man and their implications. *Hospital Practice, 11*(5), 51–97.
- Auger, R. R., Burgess, H. J., Dierkhising, R. A., Sharma, R. G., & Slocumb, N. L. (2011). Light exposure among adolescents with delayed sleep phase disorder: a prospective cohort study. *Chronobiology International, 28*(10), 911–20. <http://doi.org/10.3109/07420528.2011.619906>
- Badia, P., Myers, B., Boecker, M., Culpepper, J., & Harsh, J. R. (1991). Bright light effects on body temperature, alertness, EEG and behavior. *Physiology & Behavior, 50*(3), 583–588. [http://doi.org/10.1016/0031-9384\(91\)90549-4](http://doi.org/10.1016/0031-9384(91)90549-4)
- Bailes, H. J., & Lucas, R. J. (2013). Human melanopsin forms a pigment maximally sensitive to blue light ($\lambda_{\max} \approx 479$ nm) supporting activation of G(q/11) and G(i/o)

- signalling cascades. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 280, 20122987. <http://doi.org/10.1098/rspb.2012.2987>
- Bailey, S. L., & Heitkemper, M. M. (2001). Circadian rhythmicity of cortisol and body temperature: morningness-eveningness effects. *Chronobiology International*, 18(2), 249–261. <http://doi.org/10.1081/CBI-100103189>
- Basner, M., & Dinges, D. F. (2011). Maximizing sensitivity of the psychomotor vigilance test (PVT) to sleep loss. *Sleep*, 34(5), 581–91. <http://doi.org/10.1111/jsr.12322>
- Berson, D. M. (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*, 295(5557), 1070–1073. <http://doi.org/10.1126/science.1067262>
- Blatter, K., & Cajochen, C. (2007). Circadian rhythms in cognitive performance: Methodological constraints, protocols, theoretical underpinnings. *Physiology and Behavior*, 90(2–3), 196–208. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.09.009>
- Bobérly, A. A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Human Neurobiology*, 1(3), 195–204.
- Bonmatí-Carrión, M. Á., Middleton, B., Revell, V. L., Skene, D. J., Rol, M. Á., & Madrid, J. A. (2014). Circadian phase assessment by ambulatory monitoring in humans: correlation with dim light melatonin onset. *Chronobiology International*, 31(1), 31–57.
- Borbély, A. A., Daan, S., Wirz-Justice, A., & Deboer, T. (2016). The two-process model of sleep regulation: a reappraisal. *Journal of Sleep Research*, 25(2), 131–43. <http://doi.org/10.1111/jsr.12371>
- Borragán, G., Deliens, G., Peigneux, P., & Leproult, R. (2017). Bright light exposure does not prevent the deterioration of alertness induced by sustained high cognitive load demands. *Journal of Environmental Psychology*, 51, 95–103. <http://doi.org/10.1016/j.jenvp.2017.03.008>
- Boulant, J. A., & Bignall, K. E. (1973). Hypothalamic neuronal responses to peripheral and deep-body temperatures. *The American Journal of Physiology*, 225(6), 1371–4.
- Brown, T. M., & Piggins, H. D. (2007). Electrophysiology of the suprachiasmatic circadian clock. *Progress in Neurobiology*, 82(5), 229–255. <http://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.05.002>
- Bulck, J. Van Den. (2004). Television Viewing, Computer Game Playing, and Internet

- Use and Self-Reported Time to Bed and Time out of Bed in Secondary-School Children. *Sleep*. <http://doi.org/10.1093/sleep/27.1.101>
- Cajochen, C. (2007). Alerting effects of light. *Sleep Medicine Reviews*, *11*(6), 453–464. <http://doi.org/10.1016/j.smr.2007.07.009>
- Cajochen, C., Khalsa, S. B., Wyatt, J. K., Czeisler, C. A., & Dijk, D. J. (1999). EEG and ocular correlates of circadian melatonin phase and human performance decrements during sleep loss. *The American Journal of Physiology*, *277*, R640–R649. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.04.034>
- Cajochen, C., Kräuchi, K., Danilenko, K. V., & Wirz-Justice, A. (1998). Evening administration of melatonin and bright light: Interactions on the EEG during sleep and wakefulness. *Journal of Sleep Research*, *7*(3), 145–157. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2869.1998.00106.x>
- Cajochen, C., Kräuchi, K., & Wirz-Justice, A. (2003). Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *Journal of Neuroendocrinology*, *15*(4), 432–7. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.00989.x>
- Cajochen, C., Münch, M., Kobińska, S., Kräuchi, K., Steiner, R., Oelhafen, P., ... Wirz-Justice, A. (2005). High sensitivity of human melatonin, alertness, thermoregulation, and heart rate to short wavelength light. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *90*(3), 1311–1316. <http://doi.org/10.1210/jc.2004-0957>
- Cajochen, C., Zeitzer, J. M., Czeisler, C. A., & Dijk, D.-J. (2000). Dose-response relationship for light intensity and ocular and electroencephalographic correlates of human alertness. *Behavioural Brain Research*, *115*(1), 75–83. [http://doi.org/10.1016/S0166-4328\(00\)00236-9](http://doi.org/10.1016/S0166-4328(00)00236-9)
- Chapa Carreón, J. (1990). *Manual de instalaciones de alumbrado y fotometría*. Limusa.
- Chellappa, S. L., Steiner, R., Blattner, P., Oelhafen, P., Götz, T., & Cajochen, C. (2011). Non-visual effects of light on melatonin, alertness and cognitive performance: Can blue-enriched light keep us alert? *PLoS ONE*, *6*(1). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0016429>
- Chellappa, S. L., Viola, A. U., Schmidt, C., Bachmann, V., Gabel, V., Maire, M., ... Cajochen, C. (2012). Human melatonin and alerting response to blue-enriched light depend on a polymorphism in the clock gene PER3. *Journal of Clinical*

- Endocrinology and Metabolism*, 97(3), 433–437. <http://doi.org/10.1210/jc.2011-2391>
- Cho, J. R., Joo, E. Y., Koo, D. L., & Hong, S. B. (2013). Let there be no light: The effect of bedside light on sleep quality and background electroencephalographic rhythms. *Sleep Medicine*, 14(12), 1422–1425. <http://doi.org/10.1016/j.sleep.2013.09.007>
- Colavito, V., Tesoriero, C., Wirtu, A. T., Grassi-Zucconi, G., & Bentivoglio, M. (2015). Limbic thalamus and state-dependent behavior: The paraventricular nucleus of the thalamic midline as a node in circadian timing and sleep/wake-regulatory networks. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 54, 3–17. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.11.021>
- Correa, Á., Barba, A., & Padilla, F. (2016). Light effects on behavioural performance depend on the individual state of vigilance. *PLoS ONE*, 11(11), e0164945. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0164945>
- Correa, Á., Molina, E., & Sanabria, D. (2014). Effects of chronotype and time of day on the vigilance decrement during simulated driving. *Accident Analysis and Prevention*, 67, 113–118. <http://doi.org/10.1016/j.aap.2014.02.020>
- Czeisler, C. A., Duffy, J. F., Shanahan, T. L., Brown, E. N., Jude, F., Rimmer, D. W., ... Kronauer, R. E. (1999). Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science*, 284(5423), 2177–2181. <http://doi.org/10.1126/science.284.5423.2177>
- Daan, S., Beersma, D. G., & Borbély, a a. (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *The American Journal of Physiology*, 246(2 Pt 2), R161–R183. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Dagliati, A., Marini, S., Sacchi, L., Cogni, G., Marsida, T., Tibollo, V., ... Bellazzi, R. (2017). Machine Learning Methods to Predict Diabetes Complications. *Journal of Diabetes Science and Technology*. <http://doi.org/10.1177/1932296817706375>
- Demšar, J., Curk, T., Erjavec, A., Hočevár, T., Milutinovič, M., Možina, M., ... Zupan, B. (2013). Orange: Data Mining Toolbox in Python. *Journal of Machine Learning Research*, 14, 2349–2353.
- Di Milia, L., Smolensky, M. H., Costa, G., Howarth, H. D., Ohayon, M. M., & Philip, P. (2011). Demographic factors , fatigue , and driving accidents : An examination of the published literature. *Accident Analysis and Prevention*, 43(2), 516–532.

<http://doi.org/10.1016/j.aap.2009.12.018>

- Dijk, D., Duffy, J. F., & Czeisler, C. A. (1992). Circadian and sleep / wake dependent aspects of subjective alertness and cognitive performance. *Journal of Sleep Research, 1*, 112–117.
- Dijk, D. J., & Czeisler, C. a. (1995). Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure, electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in humans. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience, 15*(5 Pt 1), 3526–3538.
- Dinges, D. F., Pack, F., Williams, K., Gillen, K. a, Powell, J. W., Ott, G. E., ... Pack, a I. (1997). Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. *Sleep, 20*(4), 267–77.
- Dinges, D. F., & Powell, J. W. (1985). Microcomputer analyses of performance on a portable, simple visual RT task during sustained operations. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers, 17*(6), 652–655.
- <http://doi.org/10.3758/BF03200977>
- Doran, S. M., Van Dongen, H. P. A., & Dinges, D. F. (2001). Sustained attention performance during sleep deprivation.pdf. *Archives Italiennes de Biologie, 139*, 253–267.
- Drucker-Colín, R., Aguilar-Roblero, R., García-Hernández, F., Fernández-Cancino, F., & Bermudez Rattoni, F. (1984). Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Research, 311*(2), 353–7.
- Duda, M., Haber, N., Daniels, J., & Wall, D. P. (2017). Crowdsourced validation of a machine-learning classification system for autism and ADHD. *Translational Psychiatry, 7*(5), e1133. <http://doi.org/10.1038/tp.2017.86>
- Elder, G. J., Ellis, J. G., Barclay, N. L., & Wetherell, M. A. (2016). Assessing the daily stability of the cortisol awakening response in a controlled environment. *BMC Psychology, 4*(1), 3. <http://doi.org/10.1186/s40359-016-0107-6>
- Erren, T. C., Falaturi, P., Morfeld, P., Knauth, P., Reiter, R. J., & Piekarski, C. (2010). Shift work and cancer: the evidence and the challenge. *Deutsches Arzteblatt International, 107*(38), 657–662. <http://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0657>
- Erren, T. C., Pape, H. G., Reiter, R. J., & Piekarski, C. (2008). Chronodisruption and

- cancer. *Naturwissenschaften*, 95(5), 367–382. <http://doi.org/10.1007/s00114-007-0335-y>
- Fayyad, U. M., & Irani, K. B. (1993). Multi-interval discretization of continuous-valued attributes for classification learning. In *Proceedings of the 13th International Joint Conference on Artificial Intelligence, Chambéry, France* (pp. 1022–1027).
- Figueiro, M. G., Bierman, A., Plitnick, B., & Rea, M. S. (2009). Preliminary evidence that both blue and red light can induce alertness at night. *BMC Neuroscience*, 10, 105. <http://doi.org/10.1186/1471-2202-10-105>
- Figueiro, M. G., Sahin, L., Wood, B., & Plitnick, B. (2015). Light at night and measures of alertness and performance: implications for shift workers. *Biological Research for Nursing*, 18(1), 90–100. <http://doi.org/10.1177/1099800415572873>
- Folkard, S. (1997). Black times: temporal determinants of transport safety. *Accident Analysis and Prevention*, 29(4), 417–430.
- Fonken, L. K., & Nelson, R. J. (2011). Illuminating the deleterious effects of light at night. *F1000 Medicine Reports*, 3(September), 18. <http://doi.org/10.3410/M3-18>
- Frey, D. J., Badia, P., & Wright, K. P. (2004). Inter- and intra-individual variability in performance near the circadian nadir during sleep deprivation. *Journal of Sleep Research*, 13(4), 305–315. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2004.00429.x>
- Funes, M. J., & Lupiáñez, J. (2003). La teoría atencional de Posner: Una tarea para medir las funciones atencionales de Orientación, Alerta y Control Cognitivo y la interacción entre ellas. *Psicothema*, 15(2), 260–266.
- Gabel, V., Maire, M., Reichert, C. F., Chellappa, S. L., Schmidt, C., Hommes, V., ... Cajochen, C. (2013). Effects of artificial dawn and morning blue light on daytime cognitive performance, well-being, cortisol and melatonin levels. *Chronobiology International*, 30(8), 988–997. <http://doi.org/10.3109/07420528.2013.793196>
- Gabel, V., Maire, M., Reichert, C. F., Chellappa, S. L., Schmidt, C., Hommes, V., ... Viola, A. U. (2015). Dawn simulation light impacts on different cognitive domains under sleep restriction. *Behavioural Brain Research*, 281, 258–266. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.043>
- Gaggioni, G., Maquet, P., Schmidt, C., Dijk, D.-J., & Vandewalle, G. (2014). Neuroimaging, cognition, light and circadian rhythms. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8(July), 126. <http://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00126>

- Garaulet, M., & Madrid, J. A. (2009). Chronobiology, genetics and metabolic syndrome. *Current Opinion in Lipidology*, *20*(2), 127–134.
<http://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283292399>
- Garaulet, M., & Madrid, J. A. (2010). Chronobiological aspects of nutrition, metabolic syndrome and obesity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *62*(9–10), 967–978.
<http://doi.org/10.1016/j.addr.2010.05.005>
- Gitelman, D. R. (2003). Attention and its disorders Imaging in clinical neuroscience. *British Medical Bulletin*, *65*(1), 21–34.
<http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1093/bmb/65.1.21>
- Goel, N., Basner, M., Rao, H., & Dinges, D. F. (2014). Circadian rhythms, sleep deprivation, and human performance. *Prog Mol Biol Transl Sci.*, *119*, 155–190.
<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-396971-2.00007-5>.
- Golombek, D. a, & Rosenstein, R. E. (2010). Physiology of Circadian Entrainment. *Physiology Rev*, *90*(3), 1063–1102. <http://doi.org/10.1152/physrev.00009.2009>.
- Gonçalves, B. S. B., Adamowicz, T., Louzada, F. M., Moreno, C. R., & Araujo, J. F. (2015). A fresh look at the use of nonparametric analysis in actimetry. *Sleep Medicine Reviews*, *20*(July 2016), 84–91. <http://doi.org/10.1016/j.smr.2014.06.002>
- Gradisar, M., & Crowley, S. J. (2013). Delayed sleep phase disorder in youth. *Current Opinion in Psychiatry*, *26*(6), 580–585.
<http://doi.org/10.1097/YCO.0b013e328365a1d4>
- Gradisar, M., Gardner, G., & Dohnt, H. (2011). Recent worldwide sleep patterns and problems during adolescence: A review and meta-analysis of age, region, and sleep. *Sleep Medicine*, *12*(2), 110–118.
<http://doi.org/10.1016/j.sleep.2010.11.008>
- Graw, P., Kräuchi, K., Knoblauch, V., Wirz-Justice, A., & Cajochen, C. (2004). Circadian and wake-dependent modulation of fastest and slowest reaction times during the psychomotor vigilance task. *Physiology and Behavior*, *80*(5), 695–701.
<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2003.12.004>
- Green, D. J., & Gillette, R. (1982). Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Research*, *245*(1), 198–200.
- Guyton, A. C. (1991). *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Referencias Bibliográficas

- Haim, A., & Portnov, B. A. (2013). *Light Pollution as a New Risk Factor for Human Breast and Prostate Cancers*. Springer. <http://doi.org/10.1007/978-94-007-6220-6>
- Hasselberg, M. J., McMahon, J., & Parker, K. (2013). The validity, reliability, and utility of the iButton for measurement of body temperature circadian rhythms in sleep/wake research. *Sleep Medicine*, *14*(1), 5–11.
<http://doi.org/10.1016/j.sleep.2010.12.011>
- Hatori, M., & Panda, S. (2010). The emerging roles of melanopsin in behavioral adaptation to light. *Trends in Molecular Medicine*, *16*(10), 435–446.
<http://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.07.005>
- Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M., & Yau, K. W. (2002). Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells: Architecture, Projections, and Intrinsic Photosensitivity. *Science*, *295*(5557), 1065–1070.
<http://doi.org/10.1126/science.1069609>
- Havermans, R. C., Debaere, S., Smulders, F. T. Y., Wiers, R. W., & Jansen, A. T. M. (2003). Effect of cue exposure, urge to smoke, and nicotine deprivation on cognitive performance in smokers. *Psychology of Addictive Behaviors*. Educational Publishing Foundation. <http://doi.org/10.1037/0893-164X.17.4.336>
- Hirshkowitz, M., Whiton, K., Albert, S. M., Alessi, C., Bruni, O., DonCarlos, L., ... Adams Hillard, P. J. (2015). National sleep foundation's sleep time duration recommendations: Methodology and results summary. *Sleep Health*, *1*(1), 40–43.
<http://doi.org/10.1016/j.sleh.2014.12.010>
- Ho Mien, I., Chua, E. C. hern P., Lau, P., Tan, L. C., Lee, I. T. ian G., Yeo, S. C., ... Gooley, J. J. (2014). Effects of exposure to intermittent versus continuous red light on human circadian rhythms, melatonin suppression, and pupillary constriction. *PLoS One*, *9*(5), e96532. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0096532>
- Hoddes, E., Zarcone, V., Smythe, H., Phillips, R., & Dement, W. C. (1973). Quantification of Sleepiness: A New Approach. *Psychophysiology*, *10*(4), 431–436.
<http://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1973.tb00801.x>
- Hofstra, W. A., & de Weerd, A. W. (2008). How to assess circadian rhythm in humans: A review of literature. *Epilepsy and Behavior*, *13*(3), 438–444.
<http://doi.org/10.1016/j.yebeh.2008.06.002>
- Horne, J. A., & Östberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine

- morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology*, 4, 97–100.
- Huiberts, L. M., Smolders, K. C. H. J., & de Kort, Y. A. W. (2015). Shining light on memory: Effects of bright light on working memory performance. *Behavioural Brain Research*, 294, 234–245. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.07.045>
- Huiberts, L. M., Smolders, K. C. H. J., & de Kort, Y. A. W. (2016). Non-image forming effects of illuminance level : Exploring parallel effects on physiological arousal and task performance. *Physiology & Behavior*, 164(0), 129–139. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.05.035>
- Intons-Peterson, M. J., Rocchi, P., West, T., McLellan, K., & Hackney, a. (1999). Age, testing at preferred or nonpreferred times (testing optimality), and false memory. *Journal of Experimental Psychology. Learning, Memory, and Cognition*, 25(1), 23–40. <http://doi.org/10.1037/0278-7393.25.1.23>
- Jarosz, A. F., & Wiley, J. (2014). What are the odds? A practical guide to computing and reporting Bayes factors. *The Journal of Problem Solving*, 7(1), 2–9. <http://doi.org/10.7771/1932-6246.1167>
- Kerkhof, G. A., & Van Dongen, H. P. A. (1996). Morning-type and evening-type individuals differ in the phase position of their endogenous circadian oscillator. *Neuroscience Letters*, 218(3), 153–156. [http://doi.org/10.1016/S0304-3940\(96\)13140-2](http://doi.org/10.1016/S0304-3940(96)13140-2)
- Kim, S. J., Cho, K. J., & Oh, S. (2017). Development of machine learning models for diagnosis of glaucoma, 1–16. <http://doi.org/10.5061/dryad.q6ft5>. Funding
- Kleitman, N. (1982). Basic Rest-Activity Cycle-22 years later. *Sleep*, 5(4), 311–317.
- Klerman, E. B., Shanahan, T. L., Brotman, D. J., Rimmer, D. W., Emens, J. S., Rizzo, J. F., & Czeisler, C. A. (2002). Photic Resetting of the Human Circadian Pacemaker in the Absence of Conscious Vision. *Journal of Biological Rhythms*, 17(6), 548–555. <http://doi.org/10.1177/0748730402238237>
- Knaier, R., Schäfer, J., Rossmeißl, A., Klenk, C., Hanssen, H., Höchsmann, C., ... Schmidt-Trucksäss, A. (2017). Effects of bright and blue light on acoustic reaction time and maximum handgrip strength in male athletes: a randomized controlled trial. *European Journal of Applied Physiology*. <http://doi.org/10.1007/s00421-017-3659-0>

- Koskenvuo, M., Hublin, C., Partinen, M., Heikkilä, K., & Kaprio, J. (2007). Heritability of diurnal type: A nationwide study of 8753 adult twin pairs. *Journal of Sleep Research, 16*(2), 156–162. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2007.00580.x>
- Kosmadopoulos, A., Sargent, C., Zhou, X., Darwent, D., Matthews, R. W., Dawson, D., & Roach, G. D. (2015). The efficacy of objective and subjective predictors of driving performance during sleep restriction and circadian misalignment. *Accident Analysis and Prevention, 73*, 10–17. <http://doi.org/10.1016/j.aap.2015.10.014>
- Kräuchi, K., Cajochen, C., Werth, E., & Wirz-justice, A. (1999). Warm feet promote the rapid onset of sleep. *Nature, 401*(1991), 36–37. <http://doi.org/10.1038/43366>
- Kräuchi, K., Cajochen, C., Werth, E., & Wirz-Justice, A. (2000). Functional link between distal vasodilation and sleep-onset latency? *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 278*(3), R741–R748.
- Kräuchi, K., Cajochen, C., & Wirz-Justice, A. (2004). Waking up properly: Is there a role of thermoregulation in sleep inertia? *Journal of Sleep Research, 13*(2), 121–127. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2004.00398.x>
- Kräuchi, K., Cajochen, C., & Wirz-Justice, A. (2005). Thermophysiologic aspects of the three-process-model of sleepiness regulation. *Clinics in Sports Medicine, 24*(2), 287–300. <http://doi.org/10.1016/j.csm.2004.12.009>
- Krauchi, K., & Deboer, T. (2010). The interrelationship between sleep regulation and thermoregulation. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition), 15*, 604–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20036836>
- Kräuchi, K., Knoblauch, V., Wirz-Justice, A., & Cajochen, C. (2006). Challenging the sleep homeostat does not influence the thermoregulatory system in men: evidence from a nap vs. sleep-deprivation study. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 290*(4), R1052-61. <http://doi.org/10.1152/ajpregu.00381.2005>
- Kretschmer, V., Schmidt, K.-H., & Griefahn, B. (2011). Bright light effects on working memory, sustained attention and concentration of elderly night shift workers. *Lighting Research and Technology, 44*(3), 316–333. <http://doi.org/10.1177/1477153511418769>
- Krieger, A. C., Ayappa, I., Norman, R. G., Rapoport, D. M., & Walsleben, J. (2004). Comparison of the maintenance of wakefulness test (MWT) to a modified

- behavioral test (OSLER) in the evaluation of daytime sleepiness. *Journal of Sleep Research*, 13(4), 407–411. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2004.00417.x>
- Kubota, K. J., Chen, J. A., & Little, M. A. (2016). Machine learning for large-scale wearable sensor data in Parkinson's disease: Concepts, promises, pitfalls, and futures. *Movement Disorders*, 0.
- Lack, L., Bailey, M., Lovato, N., & Wright, H. (2009). Chronotype differences in circadian rhythms of temperature, melatonin, and sleepiness as measured in a modified constant routine protocol. *Nature and Science of Sleep*, 1, 1–8. <http://doi.org/10.2147/NSS.S6234>
- Lara, T., Madrid, J. A., & Correa, Á. (2014). The vigilance decrement in executive function is attenuated when individual chronotypes perform at their optimal time of day. *PLoS ONE*, 9(2). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0088820>
- Lehto, J. E., Aho, O., Eklund, M., Heinaro, M., Kettunen, S., Peltomäki, A., ... Partonen, T. (2016). Circadian preferences and sleep in 15- to 20-year old Finnish students. *Sleep Science (Sao Paulo, Brazil)*, 9(2), 78–83. <http://doi.org/10.1016/j.slsci.2016.06.003>
- Lenné, M. G., Triggs, T. J., & Redman, J. R. (1997). Time of day variations in driving performance. *Accident Analysis and Prevention*, 29(4 SPEC. ISS.), 431–437. [http://doi.org/10.1016/S0001-4575\(97\)00022-5](http://doi.org/10.1016/S0001-4575(97)00022-5)
- Leproult, R., Colecchia, E. F., Berardi, A. M., Stickgold, R., Kosslyn, S. M., & Van Cauter, E. (2003). Individual differences in subjective and objective alertness during sleep deprivation are stable and unrelated. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284(2), R280–R290. <http://doi.org/10.1152/ajpregu.00197.2002>
- Lewy, A. J., Werh, T. A., Goodwin, F. K., Newsome, D. A., & Markey, S. P. (1980). Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science*, 210(4475), 1267–1269. <http://doi.org/10.1126/science.7434030>
- Lilliefors, H. W. (1969). On the Kolmogorov-Smirnov Test for the Exponential Distribution with Mean Unknown. *Journal of the American Statistical Association*, 64(325), 387–389. <http://doi.org/10.1080/01621459.1969.10500983>
- Linhart, F. (2010). *Energetic, Visual and Non-Visual Aspects of Office Lighting*. Université de Lausanne.

- Liu, H., & Hussain, F. (2002). Discretization: An Enabling Technique. *Data Mining and Knowledge Discovery*, 6, 393–423.
- Lockley, S. W. (2009). Circadian Rhythms: Influence of Light in Humans A2 - Squire, Larry R. BT - Encyclopedia of Neuroscience, 2, 971–988.
<http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-008045046-9.01619-3>
- Lockley, S. W., Evans, E. E., Scheer, F. A. J. L., Brainard, G. C., Czeisler, C. A., & Aeschbach, D. (2006). Short-wavelength sensitivity for the direct effects of light on alertness, vigilance, and the waking electroencephalogram in humans. *Sleep*, 29(2), 161–8. <http://doi.org/10.5665/sleep.2894>
- Lovato, N., Gradisar, M., Short, M., Dohnt, H., & Micic, G. (2013). Delayed sleep phase disorder in an Australian school-based sample of adolescents. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 9(9), 939–944. <http://doi.org/10.5664/jcsm.2998>
- Lucas, R. J., Peirson, S. N., Berson, D. M., Brown, T. M., Cooper, H. M., Czeisler, C. A., ... Brainard, G. C. (2014). Measuring and using light in the melanopsin age. *Trends in Neurosciences*, 37(1), 1–9. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2013.10.004>
- Mackworth, N. H., Kaplan, I. T., & Metlay, W. (1964). Eye movements during vigilance. *Perceptual and Motor Skills*, 18(2), 397–402.
<http://doi.org/10.2466/pms.1964.18.2.397>
- Madrid-Navarro, C., Sánchez-Gálvez, R., Martínez-Nicolas, A., Ros, M., García, J., Madrid, J. A., & Rol, M. A. (2015). Disruption of circadian rhythms and delirium, sleep impairment and sepsis in critically ill patients. Potential therapeutic implications for increased light-dark contrast and melatonin therapy in an ICU environment. *Current Pharmaceutical Design*, 21(24), 3453–3468.
<http://doi.org/10.2174/1381612821666150706105602>
- Maierova, L., Borisuit, A., Scartezzini, J. L., Jaeggi, S. M., Schmidt, C., & Münch, M. (2016). Diurnal variations of hormonal secretion, alertness and cognition in extreme chronotypes under different lighting conditions. *Scientific Reports*, 6, 33591. <http://doi.org/10.1038/srep33591>
- Martínez-Nicolas, A., Meyer, M., Hunkler, S., Madrid, J. A., Rol, M. Á., Meyer, A. H., ... Kräuchi, K. (2015). Daytime variation in ambient temperature affects skin temperatures and blood pressure: Ambulatory winter/summer comparison in healthy young women. *Physiology & Behavior*, 149, 203–211.

<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.014>

- Martinez-Nicolas, A., Ortiz-Tudela, E., Madrid, J. A., & Rol, M. A. (2011). Crosstalk Between Environmental Light and Internal Time in Humans. *Chronobiology International*, 28(7), 617–629. <http://doi.org/10.3109/07420528.2011.593278>
- Martínez, P. M., Miró, E., & Sánchez, A. I. (2016). Beneficios clínicos globales de la terapia cognitivo conductual para el insomnio y de la terapia basada en conciencia plena aplicadas a la fibromialgia: revisión sistemática y metaanálisis. *Behavioral Psychology / Psicología Conductual*, 24(3), 459–480.
- Maslove, D. M., Podchiyska, T., & Lowe, H. J. (2013). Discretization of continuous features in clinical datasets. *Journal of the American Medical Informatics Association : JAMIA*, 20(3), 544–53. <http://doi.org/10.1136/amiainl-2012-000929>
- May, C. P. (1999). Synchrony effects in cognition : The costs and a benefit. *Psychonomic Bulletin & Review*, 6(1), 142–147.
- May, C. P., & Hasher, L. (1998). Synchrony effects in inhibitory control over thought and action. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*. US: American Psychological Association.
<http://doi.org/10.1037/0096-1523.24.2.363>
- Mayeda, A., Mannon, S., Hofstetter, J., Adkins, M., Baker, R., Hu, K., & Nurnberger, J. (1998). Effects of indirect light and propranolol on melatonin levels in normal human subjects. *Psychiatry Research*, 81(1), 9–17. [http://doi.org/10.1016/S0165-1781\(98\)00069-9](http://doi.org/10.1016/S0165-1781(98)00069-9)
- Meijer, G. A., Westerterp, K. R., Seyts, G. H., Janssen, G. M., Saris, W. H., & ten Hoor, F. (1991). Body composition and sleeping metabolic rate in response to a 5-month endurance-training programme in adults. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 62(1), 18–21.
- Mendoza, J. (2007). Circadian Clocks: Setting Time By Food. *Journal of Neuroendocrinology*, 19(2), 127–137. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01510.x>
- Mitchell, T. M. (1997). *Machine Learning*. McGraw-Hill.
- Monk, T. H. (1989). A Visual Analogue Scale technique to measure global vigor and affect. *Psychiatry Research*, 27(1), 89–99.
- Moore, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm

- following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42(1), 201–6.
Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5047187>
- Morgenthaler, T., Alessi, C., Friedman, L., Owens, J., Kapur, V., Boehlecke, B., ... Swick, T. J. (2007). Practice parameters for the use of actigraphy in the assessment of sleep and sleep disorders: an update for 2007. *Sleep*, 30(4), 519–529.
<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Mossotto, E., Ashton, J. J., Coelho, T., Beattie, R. M., MacArthur, B. D., & Ennis, S. (2017). Classification of Paediatric Inflammatory Bowel Disease using Machine Learning. *Scientific Reports*, 7(1), 2427. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-02606-2>
- Myers, B. L., & Badia, P. (1993). Immediate effects of different light intensities on body temperature and alertness. *Physiology and Behavior*, 54(1), 199–202.
[http://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90067-P](http://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90067-P)
- Natale, V., Alzani, A., & Cicogna, P. C. (2003). Cognitive efficiency and circadian typologies: A diurnal study. *Personality and Individual Differences*, 35(5), 1089–1105. [http://doi.org/10.1016/S0191-8869\(02\)00320-3](http://doi.org/10.1016/S0191-8869(02)00320-3)
- Nebes, R. D., & Brady, C. B. (1993). Phasic and tonic alertness in Alzheimer's disease. *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior*, 29(1), 77–90.
- Oginska, H., Fafrowicz, M., Golonka, K., Marek, T., Mojsa-Kaja, J., & Tucholska, K. (2010). Chronotype, sleep loss, and diurnal pattern of salivary cortisol in a simulated daylong driving. *Chronobiology International*, 27(5), 959–974.
<http://doi.org/10.3109/07420528.2010.489412>
- Oken, B. S., Salinsky, M. C., & Elsas, S. M. (2006). Vigilance, alertness, or sustained attention: physiological basis and measurement. *Clinical Neurophysiology*, 117(9), 1885–1901. <http://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Ortiz-Tudela, E., Bonmatí-Carrión, M. Á., De la Fuente, M., & Mendiola, P. (2012). La cronodisrupción como causa de envejecimiento. *Revista Española de Geriatria Y Gerontología*, 47(4), 168–173. <http://doi.org/10.1016/j.regg.2011.09.013>
- Ortiz-Tudela, E., Martínez-Nicolas, A., Albares, J., Segarra, F., Campos, M., Estivill, E., ... Madrid, J. A. (2014). Ambulatory Circadian Monitoring (ACM) based on Thermometry, motor Activity and body Position (TAP): A comparison with

- polysomnography. *Physiology and Behavior*, 126, 30–38.
<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.12.009>
- Ortiz-Tudela, E., Martínez-Nicolas, A., Campos, M., Rol, M. Á., & Madrid, J. A. (2010). A new integrated variable based on thermometry, actimetry and body position (TAP) to evaluate circadian system status in humans. *PLoS Computational Biology*, 6(11). <http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000996>
- Owens, J., Maxim, R., McGuinn, M., Nobile, C., Msall, M., & Alario, a. (1999). Television-viewing habits and sleep disturbance in school children. *Pediatrics*, 104(3), e27. <http://doi.org/10.1542/peds.104.3.e27>
- Panda, S., Sato, T. K., Castrucci, A. M., Rollag, M. D., DeGrip, W. J., Hogenesch, J. B., ... Kay, S. A. (2002). Melanopsin (Opn4) requirement for normal light-induced circadian phase shifting. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5601), 2213–6.
<http://doi.org/10.1126/science.1076848>
- Pandi-Perumal, S. R., Moscovitch, A., Srinivasan, V., Spence, D. W., Cardinali, D. P., & Brown, G. M. (2009). Bidirectional communication between sleep and circadian rhythms and its implications for depression: Lessons from agomelatine. *Progress in Neurobiology*, 88(4), 264–271. <http://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.04.007>
- Paranjpe, D. A., & Sharma, V. K. (2005). Evolution of temporal order in living organisms. *Journal of Circadian Rhythms*, 3(1), 7. <http://doi.org/10.1186/1740-3391-3-7>
- Pesarin, F., & Salmaso, L. (2010). The permutation testing approach: a review. *Statistica*, 70(4), 481–509. <http://doi.org/10.6092/issn.1973-2201/3599>
- Phipps-Nelson, J., Redman, J. R., Dijk, D.-J., & Rajaratnam, S. M. W. (2003). Daytime exposure to bright light, as compared to dim light, decreases sleepiness and improves psychomotor vigilance performance. *Sleep*, 26(6), 695–700.
<http://doi.org/citeulike-article-id:9948027>
- Phipps-Nelson, J., Redman, J. R., Schlangen, L. J. M., & Rajaratnam, S. M. W. (2009). Blue light exposure reduces objective measures of sleepiness during prolonged nighttime performance testing. *Chronobiology International*, 26(5), 891–912.
<http://doi.org/10.1080/07420520903044364>
- Posner, M. I. (1978). *Chronometric explorations of mind*. New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.

Referencias Bibliográficas

- Posner, M. I., & Petersen, S. E. (1990). The Attention System of the Human Brain. *Annual Review of Neuroscience*, *13*(1), 25–42.
<http://doi.org/10.1146/annurev.ne.13.030190.000325>
- Provencio, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P., & Rollag, M. D. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(1), 340–5.
- Provencio, I., Rodriguez, I. R., Jiang, G., Hayes, W. P., Moreira, E. F., & Rollag, M. D. (2000). A novel human opsin in the inner retina. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *20*(2), 600–5.
- Rahman, S. A., Flynn-Evans, E. E., Aeschbach, D., Brainard, G. C., Czeisler, C. A., & Lockley, S. W. (2014). Diurnal spectral sensitivity of the acute alerting effects of light. *Sleep*, *37*(2), 271–81. <http://doi.org/10.5665/sleep.3396>
- Ralph, M. R. (1996). Circadian rhythms: mammalian aspects. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *7*(6), 821–830. <http://doi.org/10.1006/scdb.1996.0100>
- Rautkylä, E., Puolakka, M., & Halonen, L. (2012). Alerting effects of daytime light exposure—a proposed link between light exposure and brain mechanisms. *Lighting Research and Technology*, *44*(2), 238–252.
<http://doi.org/10.1177/1477153511409294>
- Raymann, R. J. E. M., Swaab, D. F., & Van Someren, E. J. W. (2007). Skin temperature and sleep-onset latency: Changes with age and insomnia. *Physiology and Behavior*, *90*(2–3), 257–266. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.09.008>
- Refinetti, R., Lissen, G. C., & Halberg, F. (2013). Procedures for numerical analysis of circadian rhythms, *38*(4), 275–325. <http://doi.org/10.1080/09291010600903692>.
- Richardson, C. E., Gradisar, M., & Barbero, S. C. (2015). Are cognitive “insomnia” processes involved in the development and maintenance of delayed sleep wake phase disorder? *Sleep Medicine Reviews*, *26*(May), 1–8.
<http://doi.org/10.1016/j.smr.2015.05.001>
- Rodríguez-Morilla, B., Madrid, J. A., Molina, E., & Correa, A. (2017). Blue-enriched white light enhances physiological arousal but not behavioral performance during simulated driving at early night, *8*, 1–13.
<http://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00997>
- Roenneberg, T., Wirz-Justice, A., & Mrosovsky, M. (2003). Life between clocks: daily

- temporal patterns of human chronotypes. *J Biol Rhythms*, *18*(1), 80–90.
<http://doi.org/10.1177/0748730402239679>
- Rogers, P. J., Heatherley, S. V., Hayward, R. C., Seers, H. E., Hill, J., & Kane, M. (2005). Effects of caffeine and caffeine withdrawal on mood and cognitive performance degraded by sleep restriction. *Psychopharmacology*, *179*(4), 742–752.
<http://doi.org/10.1007/s00213-004-2097-y>
- Rokach, L., & Maimon, O. (2005). Top-Down Induction of Decision Trees Classifiers—A Survey. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics, Part C (Applications and Reviews)*, *35*(4), 476–487. <http://doi.org/10.1109/TSMCC.2004.843247>
- Roth, T. (2007). Insomnia: Definition, prevalence, etiology, and consequences. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, *3*(5 SUPPL.), 3–6. <http://doi.org/10.1378/chest.14-0970>
- Rouder, J. N., Speckman, P. L., Sun, D., Morey, R. D., & Iverson, G. (2009). Bayesian t tests for accepting and rejecting the null hypothesis. *Psychonomic Bulletin & Review*, *16*(2), 225–237. <http://doi.org/10.3758/PBR.16.2.225>
- Sack, R. L., Auckley, D., Auger, R. R., Carskadon, M. A., Wright, K. P., Vitiello, M. V., & Zhdanova, I. V. (2007a). Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders. An American Academy of Sleep Medicine review. *Sleep*, *30*(11), 1460–1483.
- Sack, R. L., Auckley, D., Auger, R. R., Carskadon, M. A., Wright, K. P., Vitiello, M. V., & Zhdanova, I. V. (2007b). Circadian rhythm sleep disorders: part II, advanced sleep phase disorder, delayed sleep phase disorder, free-running disorder, and irregular sleep-wake rhythm. An American Academy of Sleep Medicine review. *Sleep*, *30*(11), 1484–1501.
- Sadeh, A., & Acebo, C. (2002). The role of actigraphy in sleep medicine. *Sleep Medicine Reviews*, *6*(2), 113–124. <http://doi.org/10.1053/smr.2001.0182>
- Sahin, L., & Figueiro, M. G. (2013). Alerting effects of short-wavelength (blue) and long-wavelength (red) lights in the afternoon. *Physiology and Behavior*, *116–117*, 1–7.
<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.03.014>
- Sahin, L., Wood, B. M., Plitnick, B., & Figueiro, M. G. (2014). Daytime light exposure: Effects on biomarkers, measures of alertness, and performance. *Behavioural Brain Research*, *274*, 176–185. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.017>
- Sarabia, J. A., Rol, M. Á., Mendiola, P., & Madrid, J. A. (2008). Circadian rhythm of wrist

- temperature in normal-living subjects. A candidate of new index of the circadian system. *Physiology and Behavior*, 95(4), 570–580.
<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.08.005>
- Schmidt, C., Collette, F., Cajochen, C., & Peigneux, P. (2007). A time to think: circadian rhythms in human cognition. *Cogn Neuropsychol*, 24(7), 755–789.
<http://doi.org/10.1080/02643290701754158>
- Schneider, W., Eschman, A., & Zuccolotto, A. (2002). E-Prime User's Guide.
- Schrader, H., Bovim, G., & Sand, T. (1993). The prevalence of advanced and delayed sleep phase syndromes. *J Sleep Res*, 2, 51–55.
- Segal, A. Y., Sletten, T. L., Flynn-Evans, E. E., Lockley, S. W., & Rajaratnam, S. M. W. (2016). Daytime exposure to short- and medium-wavelength light did not improve alertness and neurobehavioral performance. *Journal of Biological Rhythms*, 1–13.
<http://doi.org/10.1177/0748730416659953>
- Serrano, J. I., Romero, J. P., Castillo, M. D. del, Rocon, E., Louis, E. D., & Benito-León, J. (2017). A data mining approach using cortical thickness for diagnosis and characterization of essential tremor. *Scientific Reports*, 7(1), 2190.
<http://doi.org/10.1038/s41598-017-02122-3>
- Shekleton, J. A., Rajaratnam, S. M. W., Gooley, J. J., Van Reen, E., Czeisler, C. A., & Lockley, S. W. (2013). Improved neurobehavioral performance during the wake maintenance zone. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 9(4), 353–362.
<http://doi.org/10.5664/jcsm.2588>
- Shochat, T. (2012). Impact of lifestyle and technology developments on sleep. *Nature and Science of Sleep*, 4, 19–31. <http://doi.org/10.2147/NSS.S18891>
- Shochat, T., Flint-Bretler, O., & Tzischinsky, O. (2010). Sleep patterns, electronic media exposure and daytime sleep-related behaviours among Israeli adolescents. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 99(9), 1396–1400.
<http://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01821.x>
- Sivertsen, B., Omvik, S., Havik, O. E., Pallesen, S., Bjorvatn, B., Nielsen, G. H., ... Nordhus, I. H. (2006). A comparison of actigraphy and polysomnography in older adults treated for chronic primary insomnia. *Sleep*, 29(10), 1353–1358.
- Sivertsen, B., Pallesen, S., Stormark, K. M., Bøe, T., Lundervold, A. J., & Hysing, M. (2013). Delayed sleep phase syndrome in adolescents: prevalence and correlates

- in a large population based study. *BMC Public Health*, *13*(1), 1163.
<http://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1163>
- Smolders, K. C. H. J., & de Kort, Y. A. W. (2014). Bright light and mental fatigue: Effects on alertness, vitality, performance and physiological arousal. *Journal of Environmental Psychology*, *39*, 77–91. <http://doi.org/10.1016/j.jenvp.2013.12.010>
- Smolders, K. C. H. J., & de Kort, Y. A. W. (2017). Investigating daytime effects of correlated colour temperature on experiences, performance, and arousal. *Journal of Environmental Psychology*, *50*, 80–93.
<http://doi.org/10.1016/j.jenvp.2017.02.001>
- Smolders, K. C. H. J., de Kort, Y. A. W., & Cluitmans, P. J. M. (2012). A higher illuminance induces alertness even during office hours: Findings on subjective measures, task performance and heart rate measures. *Physiology and Behavior*, *107*(1), 7–16. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.04.028>
- Sohlberg, M. M., & Mateer, C. A. (1987). Effectiveness of an attention-training program. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, *9*(2), 117–130.
<http://doi.org/10.1080/01688638708405352>
- Stratmann, M., & Schibler, U. (2006). Properties, Entrainment, and Physiological Functions of Mammalian Peripheral Oscillators. *Journal of Biological Rhythms*, *21*(6), 494–506. <http://doi.org/10.1177/0748730406293889>
- Taillard, J., Capelli, A., Sagaspe, P., Anund, A., Akerstedt, T., & Philip, P. (2012). In-Car Nocturnal Blue Light Exposure Improves Motorway Driving: A Randomized Controlled Trial. *PLoS ONE*, *7*(10). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0046750>
- Tucker, A. M., Basner, R. C., Stern, Y., & Rakitin, B. C. (2009). The variable response-stimulus interval effect and sleep deprivation: an unexplored aspect of psychomotor vigilance task performance. *Sleep*, *32*(10), 1393–1395.
- Vallièrès, A., & Morin, C. M. (2003). Actigraphy in the Assessment of Insomnia. *Sleep*, *62*(7), 2–6.
- Van de Werken, M., Giménez, M. C., de Vries, B., Beersma, D. G. M., & Gordijn, M. C. M. (2013). Short-wavelength attenuated polychromatic white light during work at night: limited melatonin suppression without substantial decline of alertness. *Chronobiology International*, *30*(7), 843–854.
<http://doi.org/10.3109/07420528.2013.773440>

- Van Dongen, H. P. A., & Dinges, D. F. (2005). Sleep, circadian rhythms, and psychomotor vigilance. *Clinics in Sports Medicine*.
<http://doi.org/10.1016/j.csm.2004.12.007>
- Van Dongen, H. P. A., Vitellaro, K. M., & Dinges, D. F. (2005). Individual differences in adult human sleep and wakefulness: Leitmotif for a research agenda. *Sleep*, *28*(4), 479–496.
- Van Marken Lichtenbelt, W., Daanen, H., Wouters, L., Fronczek, R., Raymann, R., Severens, N., & Van Someren, E. (2006). Evaluation of wireless determination of skin temperature using iButtons. *Physiology & Behavior*, *88*(4–5), 489–497.
<http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.04.026>
- Van Someren, E. J. W. (2006). Chapter 18: Mechanisms and functions of coupling between sleep and temperature rhythms. *Progress in Brain Research*, *153*(December), 309–324. [http://doi.org/10.1016/S0079-6123\(06\)53018-3](http://doi.org/10.1016/S0079-6123(06)53018-3)
- Vandewalle, G., Archer, S. N., Wuillaume, C., Balteau, E., Degueldre, C., Luxen, A., ... Maquet, P. (2011). Effects of light on cognitive brain responses depend on circadian phase and sleep homeostasis. *Journal of Biological Rhythms*, *26*(3), 249–259. <http://doi.org/10.1177/0748730411401736>
- Vandewalle, G., Balteau, E., Phillips, C., Degueldre, C., Moreau, V., Sterpenich, V., ... Maquet, P. (2006). Daytime Light Exposure Dynamically Enhances Brain Responses. *Current Biology*, *16*, 1616–1621.
<http://doi.org/10.1016/j.cub.2006.06.031>
- Vandewalle, G., & Dijk, D.-J. (2013). Neuroimaging the effects of light on non-visual brain functions. In E. Nofzinger, P. Maquet, & M. J. Thorpy (Eds.), *Neuroimaging of Sleep and Sleep Disorders* (pp. 171–178). Cambridge: Cambridge University Press.
<http://doi.org/10.1017/CBO9781139088268>
- Vandewalle, G., Gais, S., Schabus, M., Balteau, E., Carrier, J., Darsaud, A., ... Maquet, P. (2007). Wavelength-dependent modulation of brain responses to a working memory task by daytime light exposure. *Cerebral Cortex*, *17*(12), 2788–2795.
<http://doi.org/10.1093/cercor/bhm007>
- Vandewalle, G., Maquet, P., & Dijk, D.-J. (2009). Light as a modulator of cognitive brain function. *Trends in Cognitive Sciences*, *13*(10), 429–438.
<http://doi.org/10.1016/j.tics.2009.07.004>

- Wahnschaffe, A., Haedel, S., Rodenbeck, A., Stoll, C., Rudolph, H., Kozakov, R., ... Kunz, D. (2013). Out of the lab and into the bathroom: Evening short-term exposure to conventional light suppresses melatonin and increases alertness perception. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(2), 2573–2589.
<http://doi.org/10.3390/ijms14022573>
- Warm, J. S., Parasuraman, R., & Matthews, G. (2008). Vigilance Requires Hard Mental Work and Is Stressful. *Human Factors*, *50*(3), 433–441.
<http://doi.org/10.1518/001872008X312152>
- Warthen, D. M., & Provencio, I. (2012). The role of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in nonimage-forming responses to light. *Eye and Brain*, *4*, 43–48.
<http://doi.org/10.2147/EB.S27839>
- Weitzman, E., Czeisler, C., Coleman, R., Spielman, A., Zimmerman, J., Dement, W., ... Pollak, C. (1981). Delayed sleep phase syndrome: A chronobiological disorder with sleep-onset insomnia. *Archives of General Psychiatry*, *38*(7), 737–746.
- West, K. E., Jablonski, M. R., Warfield, B., Cecil, K. S., James, M., Ayers, M. A., ... Brainard, G. C. (2011). Blue light from light-emitting diodes elicits a dose-dependent suppression of melatonin in humans. *Journal of Applied Physiology*, *110*(3), 619–626. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.01413.2009>
- Williamson, A., Lombardi, D. A., Folkard, S., Stutts, J., Courtney, T. K., & Connor, J. L. (2011). The link between fatigue and safety. *Accident; Analysis and Prevention*, *43*(2), 498–515. <http://doi.org/10.1016/j.aap.2009.11.011>
- Winocur, G., & Hasher, L. (2002). Circadian rhythms and memory in aged humans and animals. In L. Squire & D. Schacter (Eds.), *Neuropsychology of memory* (3rd ed., pp. 273–285). New York.
- Wittmann, M., Dinich, J., Mellow, M., & Roenneberg, T. (2006). Social jetlag: misalignment of biological and social time. *Chronobiology International*, *23*(1–2), 497–509. <http://doi.org/10.1080/07420520500545979>
- Wood, B., Rea, M. S., Plitnick, B., & Figueiro, M. G. (2013). Light level and duration of exposure determine the impact of self-luminous tablets on melatonin suppression. *Applied Ergonomics*, *44*(2), 237–240.
<http://doi.org/10.1016/j.apergo.2012.07.008>
- Wuyts, J., De Valck, E., Vandekerckhove, M., Pattyn, N., Bulckaert, A., Berckmans, D., ...

Referencias Bibliográficas

- Cluydts, R. (2012). The influence of pre-sleep cognitive arousal on sleep onset processes. *International Journal of Psychophysiology*, 83(1), 8–15.
<http://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2011.09.016>
- Wyatt, J. K., Ritz-De Cecco, A., Czeisler, C. A., Dijk, D. J., Åkerstedt, T., Folkard, S., ... Aschoff, J. (1999). Circadian temperature and melatonin rhythms, sleep, and neurobehavioral function in humans living on a 20-h day. *The American Journal of Physiology*, 277(4 Pt 2), R1152-63. <http://doi.org/10.1007/bf01185109>
- Yamazaki, S., Numano, R., Abe, M., Hida, A., Takahashi, R., Ueda, M., ... Tei, H. (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science (New York, N.Y.)*, 288(5466), 682–5.
- Yazaki, M., Shirakawa, S., Okawa, M., & Takahashi, K. (1999). Demography of sleep disturbances associated with circadian rhythm disorders in Japan. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 53(2), 267–268. <http://doi.org/10.1046/j.1440-1819.1999.00533.x>
- Yerkes, R. M., & Dodson, J. D. (1908). The relation of strength of stimulus to rapidity of habit-formation. *Journal of Comparative Neurology and Psychology*, 18, 459–482.
- Yoon, C. (1997). Age differences in consumer's processing strategies: an investigation of moderating influences. *The Journal of Consumer Research*, 24(3), 329–342.
- Zaidi, F. H., Hull, J. T., Peirson, S. N., Wulff, K., Aeschbach, D., Gooley, J. J., ... Lockley, S. W. (2007). Short-wavelength light sensitivity of circadian, pupillary, and visual awareness in humans lacking an outer retina. *Current Biology : CB*, 17(24), 2122–8. <http://doi.org/10.1016/j.cub.2007.11.034>

