

VILNIUS UNIVERSITY

RŪTA PRANINSKIENĖ

SLEEP DISORDERS AND
MELATONIN SECRETION-EXCRETION
PATTERNS IN THE EPILEPTIC
CHILDREN

Summary of doctoral dissertation

Biomedical sciences, medicine (06 B)

Vilnius, 2012

The dissertation was prepared in the years of 2005–2011 at Vilnius University.

Academic Consultants

Prof. dr. Augustina Jankauskienė (Vilnius University, Biomedical sciences, Medicine – 06 B)

Dr. Aurelija Jučaitė (Vilnius University, Biomedical sciences, Medicine – 06 B; Karolinksa Institutet, Pediatric Neurosciences)

The dissertation is prepared and defended on individual schedule

**The dissertation defence is to be held
at the Medical Research Council of Vilnius University:**

Chairman

Prof. Dr. Algirdas Utkus (Vilnius University, Biomedical sciences, Medicine – 06 B).

Members:

Prof. Dr. Habil. Eugen Boltshauser (Zurich University, Biomedical sciences, Medicine – 06 B);

Prof. Dr. Nerija Vaičienė – Magistris (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical sciences, Medicine – 06 B);

Prof. Dr. Dalius Jatužis (Vilnius University, Biomedical sciences, Medicine – 06 B);

Prof. Dr. Osvaldas Rukšėnas (Vilnius University, Biomedical sciences, Biophysics – 02 B).

The public defence of the dissertation will take place at the open session of the Medical Research Council at 11:00 p.m. on 14 December, 2012 at the biggest auditorium of the Children's Hospital, Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics.

Address: Santariškių Str. 7, LT-08661 Vilnius, Lithuania.

The summary of this doctoral dissertation was sent on 14 November 2012. This dissertation is available in the library of Vilnius University. Address: Universiteto str. 3, LT-01513 Vilnius, Lithuania.

VILNIAUS UNIVERSITETAS

———— RŪTA PRANINSKIENĖ ————

EPILEPSIJA SERGANČIŲ VAIKŲ
MIEGO SUTRIKIMAI IR
MELATONINO SEKRECIJOS
BEI EKSKRECIJOS YPATUMAI

Daktaro disertacijos santrauka

Biomedicinos mokslai, Medicina (06 B)

Vilnius, 2012

Disertacija rengta 2005–2011 metais Vilniaus universitete.

Moksliniai konsultantai:

prof. dr. Augustina Jankauskienė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

dr. Aurelija Jučaitė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B; Karolinska Institutet, pediatrijos neuromokslai)

Disertacija parengta ir ginama eksternu.

**Disertacija ginama Vilniaus universiteto
Medicinos mokslo krypties taryboje:**

Pirmininkas

prof. dr. Algirdas Utkus (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B).

Nariai:

prof. dr. habil. Eugen Boltshauser (Ciuricho universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B);

prof. dr. Nerija Vaičienė – Magistris (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B);

prof. dr. Dalius Jatužis (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B);

prof. dr. Osvaldas Rukšėnas (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biofizika – 02 B).

Disertacija ginama viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2012 m. gruodžio 14 d. 11 val. Vaikų ligoninės, VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų filialo didžiojoje auditorijoje.

Adresas: Santariškių g. 7, LT-08408 Vilnius, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2012 m. lapkričio 14 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje.

Adresas: Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius, Lietuva.

CONTENTS

	ABBREVIATIONS	6
1	INTRODUCTION.....	7
	1.1 Background.....	7
	1.2 Aim and objectives of the study.....	8
	1.3 The scientific novelty and practical significance of the study	9
2	SUBJECTS AND METHODS OF THE STUDY	10
	2.1 Ethical issues and funding of the study.....	10
	2.2 Study design and subjects.....	10
	2.3 Quantifications of melatonin parameters.....	13
	2.4 Statistical data analysis	13
3	RESULTS.....	14
	3.1 Sleep Disturbances in typically developing children and children with epilepsy.....	14
	3.2 Melatonin system in children with epilepsy.....	15
	3.2.1 Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC) and demographic characteristics	15
	3.2.2 Clinical characteristics of both study groups	15
	3.3 Melatonin levels	17
4	CONCLUSIONS.....	24
5	PUBLICATIONS AND SCIENTIFIC CONFERENCE REPORTS.....	25
6	SUMMARY IN LITHUANIAN	26
7	BIOGRAPHY	44

ABBREVIATIONS

AED	– antiepileptic medications
aMT6s	– 6 – sulphatoximelatonin
ANOVA	– a three-way ANOVA
AUC	– area under the concentration-time curve
EEG	– electroencephalography
ELISA	– enzyme linked immunosorbent assays
GABA	– γ -aminobutyric acid
MLT	– melatonin
SD	– standart deviation
SE	– standard error of the mean
SDSC	– Sleep Disturbance Scale for children
DIMS	– difficulty in initiating and maintaining sleep
SBD	– sleep breathing disorders
DA	– arousal disorders
SWTD	– sleep-wake transition disorders
DOES	– disorders of excessive somnolence
SHY	– sleep hyperhydrosis

1 INTRODUCTION

1.1 Background

Sleep disorders in children provide a frequent cause for parents to seek medical care. If a child has several kinds of sleep disorders and (or) has another illness, their diagnosis and treatment typically become more complicated. Sleep disorders are a frequent comorbidity to epilepsy.

In the Lithuanian population, Endziniene M (1997) conducted an epidemiological study of epilepsy in the town of Kaunas and found, that the incidence of this disease is 68 cases out of 100 000 children and the prevalence of active epilepsy – 4.25 out of

100 000. The prevalence of epilepsy in human population is 0.5 – 1% (Hauser et al., 1991).

In scientific literature, the data from clinical studies suggest, that epileptic seizures are related to the circadian rhythm. The analysis of data in the literature, describing studies of epilepsy and sleep disorders in children, shows, that interrelation between them is complicated and etiology is complex: i) recurrent epileptic seizures during sleep disturb sleep pattern; ii) sleep disturbances cause changes in sleep architecture and children with epilepsy experience epilepsy seizures during night and day more often; iii) patients with epilepsy are taking medicine that may affect sleep architecture. On the other hand, anticonvulsant effect of sleep-wake rhythm regulating melatonin (MLT) hormone has been suggested in experimental and clinical studies.

Melatonin is a pineal gland hormone that is synthesized from tryptophan and released in the circadian rhythm, with peak concentrations at night (Brzezinski, 1997). The hormone is involved in the control of various physiological functions in humans (sleep, body temperature, blood pressure regulation, modulation of mood and behaviour, reproductive and immune functions) (Zhdanova et al, 1997).

Its role in epilepsy has been noted since early 70-ies (Anton-Tay, 1974) and linked either to the epileptogenic process direct (γ -aminobutyric

acid (GABA) neurotransmission, oxidative stress (Bazil et al, 2000), or to the exacerbations of seizures via disrupted sleep patterns (Becker et al, 2003). Experimental studies have suggested, that pinealectomy induces seizures, and that exogenous melatonin may have anticonvulsant properties (Yehuda et al,1993; Chung et al, 2003). However, it has also been observed that melatonin may increase the frequency and amplitude of epileptiform field potentials in the hippocampus (low Mg²⁺ model, daytime) (Musshoff et al, 2003) and, consequently, may increase the risk of seizures.

In the clinical practice synthetic melatonin is prescribed for treatment of sleep disorders in children with epilepsy. Clinical trials suggest that melatonin may shorten duration to sleep onset and balance the sleep structure, leading to decrease in the number of epileptic attacks. However, the melatonin system in these trials has not been explored and changes of the melatonin system in children with epilepsy are not yet fully understood.

In the present reach program we showed the most common children sleep disorders in patients with epilepsy. The studies included in this dissertation present contribution to the research on pineal gland melatonin hormone secretion and excretion patterns in children. The studies of melatonin system in control group and in children with the epilepsy have shown that laboratory measurements of both salivary MLT and its urinary metabolite can be applied in clinical practice, and further studies on the function of melatonin system in children with epilepsy are warranted.

We have carried out the first salivary melatonin and its urinary metabolite aMT_{6s} studies in Lithuania.

1.2 Aim and objectives of the study

The main aim of the present study were to examine the profile of sleep disorders in children with epilepsy and characterize the MLT system in children with epilepsy in detail: to describe full diurnal profile, search cor-

relation with anthropometric data, seizure characteristics (time, type of seizures, antiepileptic medications (AED)) as well as the other physiological circadian rhythms (core body temperature, pulse, blood pressure).

Objectives

1. To examine the profile the most frequent kinds of sleep disorders in children with epilepsy.
2. To examine melatonin secretion and excretion of the circadian rhythm in children with epilepsy and the children of the control group by using the enzyme-linked immunoassay (ELISA) techniques and introducing the international quantitative parameters of melatonin circadian rhythm.
3. To characterize the melatonin secretion and excretion in the control group and children in the epilepsy group, in detail: to describe full diurnal profile, search correlation with: i) anthropometric data at birth (gestational age, birth weight and height) and trials (weight, height, body weight index) ii) sexual maturity iii) other physiological circadian rhythms (body temperature, pulse, blood pressure).
4. To search for correlations between the melatonin secretion and excretion parameters and seizure characteristics (time, type of seizures, antiepileptic medications) in the epilepsy group.
5. To investigate relation between the melatonin system and sleep characteristics using the Sleep Disturbance Scale for children (SDSC) (by Bruni O et al, 1996).

1.3 The scientific novelty and practical significance of the study

1. For the first time, the detailed and comprehensive examination of the melatonin system in the control children and in the epilepsy group were performed, i.e. both melatonin concentration in saliva and its metabolite aMT6s concentration in urine were evaluated in the same individual, full circadian rhythm was examined in the epilepsy group,

correlations were searched both with anthropometric data, as well as the other physiological circadian rhythms (core body temperature, pulse, blood pressure) that were mapped simultaneously.

2. The data obtained have added knowledge about variability of the melatonin circadian rhythm patterns among children and presented novel characteristics of melatonin system in patients with epilepsy.
3. We showed that salivary melatonin and urinary metabolite aMT6s concentrations can be well measured, using non-invasive methods, though in children with epilepsy urinary metabolite, measurements may be preferred due to safety reasons. Laboratory analysis of melatonin concentrations and quantitative data analysis were introduced in Lithuania.

2 SUBJECTS AND METHODS OF THE STUDY

2.1 Ethical issues and funding of the study

The study was approved of by the Bioethics committee of Lithuania (Registry 2004-12-22 No. 69). Participation in the study was voluntary, and the subjects agreed to participate after receiving written and oral information. The written informed consent was obtained from the parents and assent from the children, in accordance with the Declaration of Helsinki. The study was carried out in the years of 2005–2011 at the Department of Child Neurology of the Children's Hospital, Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics. The study conduct received support from the Lithuanian State Science and Studies Foundation (2006; No. T- 06131; T-39/06).

2.2 Study design and subjects

The study was carried out during the months of September –March. The light in the corridors and wards was measured with lux meter JU-166 (Vibrator, Russia). During data sampling, fluorescent room lighting provided

relatively constant illumination throughout the day (100–200 Lx) and with intensities at night, with curtains closed, not exceeding 10 Lx (a dim light), so as to prevent suppression of melatonin secretion by the bright light.

The study was performed in two stages. At stage I, a survey of children with epilepsy and the control group was performed, in order to better understand distribution of sleep disorders. At stage II, a subgroup of children with epilepsy and the control group underwent detailed examination of the melatonin system.

Stage I: Investigation of sleep disturbances in children using the Sleep Disturbance Scale for children

We performed a survey of 246 children, 5 to 18 yrs of age. Among them, 152 children had epilepsy (67 males, 85 females, 5.5 to 17.9 yrs of age (mean 12.2 ± 3.3)) and 94 control, typically developing children (38 males, 56 females, 4.9 to 18 yrs (mean 12 ± 3.5)).

Parents and children were interviewed using the standardised questionnaire for sleep,

the Sleep Disturbance Scale for children (SDSC) (Bruni et al, 1996) which evaluated the sleep quality over the previous six months. The SDS includes such sleep disorders, as difficulty in initiating and maintaining sleep (DIMS), sleep breathing disorders (SBD), arousal disorders (DA), sleep-wake transition disorders (SWDT), disorders of excessive somnolence (DOES), sleep hyperhydrosis (SHY).

Stage II: Examination of melatonin secretion and excretion

This was an open exploratory study, comparing two groups of children: the epilepsy and comparison group. There were 83 children enrolled in this study from the first stage. The children had been selected according to the following inclusion criteria: 1) no gross, progressive brain pathology (magnetic resonance or computer tomography imaging was performed to exclude); 2) the SDSC reserved for the control children; children with total score SDSC below 50 (T-value ≤ 70 %) and no circadian rhythm or sleep disorders. Exclusion criteria: 1) no endocrino-

logical disorders, blindness, autism, severe mental retardation, depression, migraine, kidney and liver disease, fever.

The final study group consisted of 80 subjects, 29 comparison group children, 17 girls and 12 boys, 5.5 to 17.3 yrs of age (12.2 ± 3.6 years, mean \pm SD), and 51 child with epilepsy, 25 girls and 26 boys, 6.6 to 17.9 yrs of age (12.6 ± 3.0).

The samples for melatonin were collected on the third day of hospitalisation, after children had got synchronized to the hospital routines and were asleep from 22:00 to 07:00. Children and their parents were explained the sampling procedures and were instructed to drink 125-250ml fluids (water, juice) every 3 hours during the day, to rinse the mouth 15 min before a saliva sampling during the day, shortly rinse the mouth and drink a gulp of water at the sample collection during a night period. On the day of sample collection, bananas, chocolate products, coffee, tea, cacao and other caffeine containing products were excluded.

The sample collection included probes at 3 hour intervals, starting at 15:00 and finishing at 12:00 the next day. Saliva samples were collected in the saliva collection device (Buhlman, Allschwil, Switzerland) by chewing on a polystyrol plug for 1 min. The urine samples were collected into a plastic beaker. All the samples were stored at 2–8°C until the last sample and then were taken to the laboratory, where they were centrifuged for 5 min (saliva at 1000 x g, urine at 2000 x g), supernatant was transferred to fresh micro-tubes and was frozen and stored at – 20°C until assay.

At the same time points, all the participants were subjected to measurements of core body temperature, pulse and blood pressure.

Sleep and wake electroencephalography (EEG) was registered during the screening period, to confirm epilepsy diagnosis (10–20 system electrodes arrangement, Cadwell Laboratories computer electroencephalograph, Kennewick WA, US). The type of epileptic seizures was defined, following the International League Against Epilepsy Classification and Terminology (Engel, 2001).

Laboratory analysis of MLT concentrations was conducted at the Division of Immunology, State Research Institute Center for Innovative

Medicine. The concentrations were measured in duplicate, using competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) commercial kits (Buhlman Laboratories, Allschwil, Switzerland). Data processing was performed by BioTek's Gen5 data Analysis Software. The standard curve was calculated by using a four parameter algorithm.

2.3 Quantifications of melatonin parameters

Melatonin system was evaluated by using parameters that describe volume of MLT and the circadian phase. Individual diurnal profiles were inspected visually and the peak (maximum) value of salivary MLT and urinary aMT6s was identified for each subject. The area under the concentration-time curve (AUC) was calculated using the trapezoidal method and expressed as pg/ml*h for salivary MLT and ng/ml*h for urinary aMT6s, total AUC and AUC for daytime and night time (21:00–9:00) periods were calculated. Circadian phase variables were acrophase, onset-offset time and duration of elevated melatonin (time above threshold). A threshold to determine onset-offset values was calculated as the mean of consecutive daytime values plus twice the standard deviation of these points.

2.4 Statistical data analysis

Prior to statistical analyses, all data were inspected for outliers, skewness, and homogeneity of variance to ensure their appropriateness for parametric statistical tests. Both parametric and nonparametric tests were used, depending on variables analyzed. Differences between the groups in demographic characteristics were assessed using the t-test for independent samples (two-tailed). Comparison of circadian rhythms between the study groups was performed using the analysis of variance. Potential associations between the clinical data and laboratory measurements were assessed by Pearson product moment correlation (r). In all the analyses, the statistical significance was set at $p < 0.05$. Statistical analysis was performed with software STATISTICA, v10, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA.

3 RESULTS

3.1 Sleep Disturbances in typically developing children and children with epilepsy

Children with epilepsy had significantly higher levels on all subscales of SDSC (absolute scores) (Table 1). Sleep disturbance profile in children with epilepsy was characterised by highest scores in sleep-wake transition disorders, excessive somnolence and sleep breathing disorders. 39% of children in the epilepsy group and 15% in the control group had total T-score above 70 %. In the epilepsy group, 48% of children had SWTD, 34% DA, 28% DOES, 20% DIMS, 14% SBD, 7% SHY scores above threshold (>70 % T-score). In the control group, 21% had SWTD, 8% DA, 14% DOES, 12% DIMS, 5% SBD and SHY T-scores above threshold (chi-square, $p < 0.005$ for DA, SWTD, DOES and total scores). No correlates to age, gender were observed in any of the groups. There was no difference in sleep profile between the children with different types of seizures (focal, generalized), but the children with active epilepsy* had significantly higher SDSC scores (DA, DOES, SHY and total scores, $p < 0.05$). DA, SHY and total SDSC scores were significantly higher among the children having night seizures, as compared to those having daytime seizures ($p < 0.05$).

Table 1. Characteristics of sleep disturbances in children with epilepsy

Sleep Disturbance Scale for Children, subscores	Epilepsy (Mean, SD)	Control (Mean, SD)	t	df	p
Disorders of initiating and maintaining sleep (DIMS)	13.03 (3.78)	12.21 (3.54)	1.69	244	0.09
Sleep breathing disorders (SBD)	4.46 (1.74)	3.68 (1.58)	3.54	244	0.0005
Disorders of arousal, nightmares (DA)	4.46 (1.81)	3.94 (1.85)	2.19	244	0.03
Sleep and wake transition disorders (SWTD)	12.89 (3.69)	10.55 (3.29)	5.03	244	0.000001
Disorders of excessive somnolence (DOES)	11.04 (3.64)	8.53 (3.92)	5.09	244	0.000001
Sleep hyperhydrosis (SHY)	3.43 (1.88)	2.90 (1.68)	2.24	244	0.03
Total score	49.48 (10.2)	41.67 (11.68)	5.50	244	0.00

3.2 Melatonin system in children with epilepsy

3.2.1 *Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC) and demographic characteristics*

At recruitment, parents filled in the standardised questionnaire for sleep, the Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC), which evaluated the sleep quality over the past six months. The SDSC also served as inclusion criteria for the control children: the children with the total score below 50 (T-value $\leq 70\%$) and no circadian rhythm disorders were included in the study's II stage. In the group of children with epilepsy, 25 children (49%) had sleep disorder (total SDSC score T-value $>70\%$).

The clinical descriptions of children in both groups contained information on gestation age, height, weight, body mass index (BMI, weight/height²), Tanner pubertal stage. The study groups did not differ in demographic characteristics, except for lower BMI in epilepsy group ($p < 0.01$). Sleep questionnaire had higher scores in children with epilepsy (Table 2).

3.2.2 *Clinical characteristics of both study groups*

Children in the comparison group had the following medical conditions: twenty participants had the tension type headache, two adolescents had low back pain, two – simple motor tics, and the other five had the following diagnoses: myotonia, undifferentiated myopathy, inguinal hernia, congenital heart disease, dyslalia.

The children with active epilepsy (at least one seizure during a year before the study) and on antiepileptic treatment, as well as with newly diagnosed epilepsy were recruited to the study group. Overall duration of epilepsy was from 3 days to 7 years. Wake and sleep EEG was registered during the screening period to confirm epilepsy diagnosis. Children with epilepsy had the following seizure types: simple and complex partial seizures (16), partial seizures with secondary generalisation (27), generalised tonic-clonic (2), myoclonic (5) and absence seizures (1). The diagnosis of epilepsy syndrome was defined in 35 children: Rolandic

Table 2. Characteristics of the study groups

Variable	Group		Statistics		
	Comparison (n=29)	Epilepsy (n=51)	t/ χ^2	df	p
Age (years)	12.2 (3.6)	12.6 (3.0)	0.58	78	0.56
Sex (M/F)	17F/12M	25F/26M	0.21/0.25	1	0.65/0.62
Tanner stage ^a	9/12/8	19/19/13	0.15/0.06/0.02	1	0.69/0.81/0.87
Weight (kg)	48.8 (20.1)	44.7 (14.3)	-1.05	78	0.29
Height (cm)	152.7 (20.3)	155.4 (16.9)	0.65	78	0.52
BMI (kg/m ²)	20.1 (4.0)	18.0 (3.1)	-2.55	78	0.01
SDSC (total score)	33.9 (4.5)	51.7 (7.8)	11.27	78	0.00
DIMS	9.5 (2.2)	12.7 (2.8)	5.43	78	0.00
SBD	3.4 (1.0)	4.9 (1.9)	3.64	78	0.0005
DA	3.6 (1.7)	4.4 (1.8)	2.06	78	0.04
SWTD	9.1 (2.1)	13.5 (3.0)	6.88	78	0.00
DOES	5.6 (3.6)	12.1 (3.6)	9.28	78	0.00
SHY	2.7 (1.7)	3.6 (1.7)	2.46		0.02

data presented as mean (standard deviation);

^aTanner stage is divided in groups: prepubertal – stage 1, pubertal – stage 2–4, postpubertal – stage 5.

Abbreviations: BMI = body mass index. SDSC = sleep disturbance scale for children.

DIMS – difficulty in initiating and maintaining sleep. SBD – sleep breathing disorders.

DA – arousal disorders. SWTD – sleep-wake transition disorders. DOES – disorders of excessive somnolence. SHY – sleep hyperhidrosis.

epilepsy (21), idiopathic generalised epilepsy (5), temporal lobe epilepsy (7) and Lennox-Gastaut syndrome (1), Landau-Kleffner syndrome (1). Eleven children with epilepsy were medication-free during the study period, 11 were on combined antiepileptic medication (valproate-lamotrigine, valproate-topiramate, oxcarbazepine-topiramate) and 29 children were using monotherapy with valproate (VPA) (16), oxcarbazepine (9), and lamotrigine, sultiam, primidone and topiramate, one each.

3.3 Melatonin levels

In both groups, salivary MLT and urinary aMT6s concentrations and thermoregulatory, cardiovascular parameters followed diurnal circadian rhythm (Figure 1, Table 3). Significant negative correlations were found between the salivary MLT, urinary aMT6s concentrations and core body temperature, pulse and systolic blood pressure measurements, in each studied group and in combined sample (epilepsy: $r > -0.43$, $p = 0.00$; control: $r > -0.23$, total: $p = 0.00$; $r > -0.13$, $p < 0.01$). Salivary MLT and urinary aMT6s concentrations correlated in either group and in the combined sample ($r > 0.36$, $p = 0.00$).

In children with epilepsy, the salivary MLT threshold and daytime AUC, the urinary aMT6 AUC was significantly higher than that of comparison group children (Table 4). No difference between the groups remained after controlling for multiple comparisons, except for the higher daytime salivary MLT AUC in children with epilepsy. Children in the epilepsy group were, in addition, analyzed with focus on presence/absence of concomitant sleep disorder, by dividing them into two subgroups: the children who had epilepsy and sleep disorder ($n = 25$) and the children with epilepsy only ($n = 26$). No difference in MLT parameters was found between these subgroups (Mann-Whitney U test $p > 0.05$).

All children in the epilepsy and comparison groups had preserved circadian rhythm of melatonin (Table 3, Figure 1). High intersubject variability in MLT diurnal profiles was found. To further assess this variability, concentrations were grouped by level, arbitrarily set as low < 20 pg/ml, medium 20-60 pg/ml, high 60-100 pg/ml and very high > 100 pg/ml level for salivary MLT peak, and as low < 60 ng/ml and high > 60 ng/ml levels for nocturnal urinary aMT6 peaks (Figure 2). Levels of peak MLT concentrations were distributed equally between the groups, except for the very high salivary MLT level which was found only in children with generalised epilepsy ($\chi^2(4.93)$, $p = 0.03$; 9 (17.6%) children had salivary MLT peaks in the range of 120–200 pg/ml).

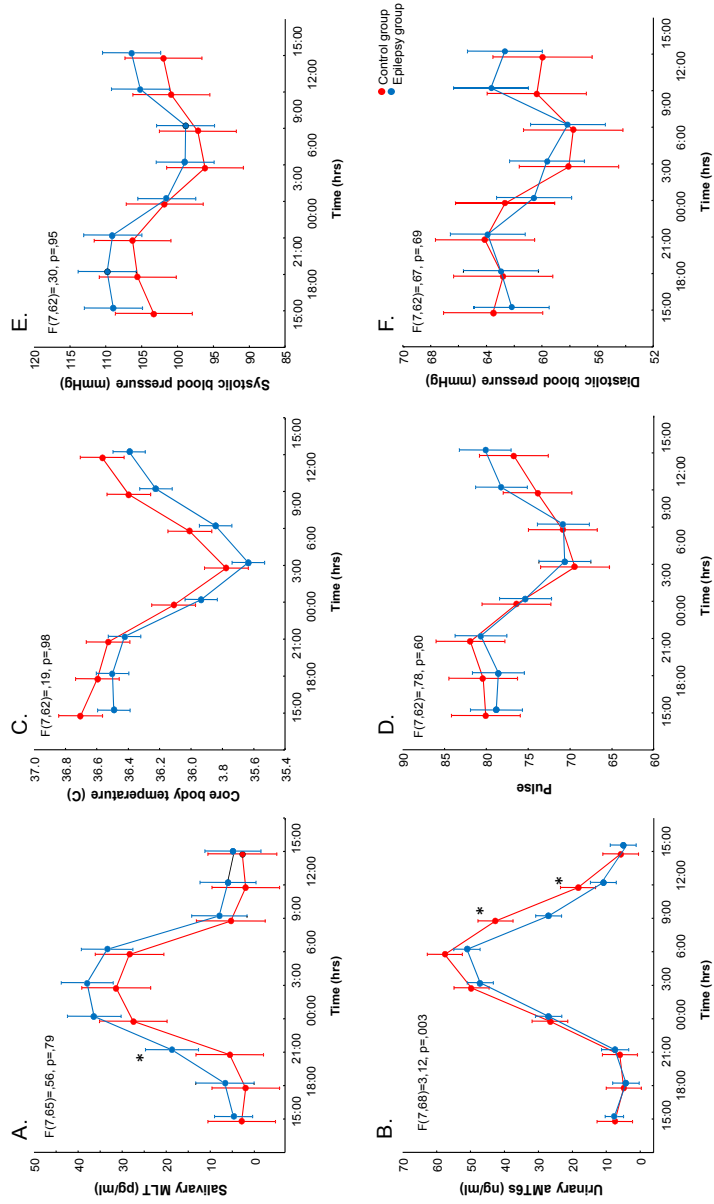


Figure 1. Chronograms of the (A) salivary MLT, (B) urinary 6-sulphatoxymelatonin concentration, (C) core body temperature, (D) pulse, (E) systolic blood pressure and (F) diastolic blood pressure (vertical bars denote 95%CI)

Table 3. Melatonin concentration in the studies groups by the time of day

Group	Salivary melatonin concentration							
	Time point							
	15:00	18:00	21:00	00:00	3:00	6:00	9:00	12:00
control (n=29)	2.9 (4.7)	2.0 (1.8)	5.6 (9.8)	27.5 (17.4)	31.4 (20.1)	28.3 (20.4)	5.3 (4.8)	1.9 (1.6)
epilepsy (n=51)	4.5 (5.6)	6.7 (15.1)*	18.7 (24.0)***	36.3 (17.9)	37.9 (32.4)	33.4 (42.5)	7.9 (10.7)	6.0 (9.7)**
Urinary 6-sulphathoxymelatonin concentration								
control (n=29)	7.5 (7.9)	4.9 (7.2)	6.0 (10.0)	26.6 (21.0)	49.7 (18.3)	57.6 (20.9)	42.7 (19.6)	18.3 (16.1)
epilepsy (n=51)	8.8 (11.4)	4.2 (3.7)	7.4 (11.0)	22.8 (36.7)	47.1 (14.7)	51.0 (15.4)	27.0 (19.4)***	10.9 (11.9)**
Body temperature								
control (n=29)	36.7 (0.3)	36.6 (0.3)	36.5 (0.4)	36.1 (0.5)	35.7 (0.4)	36.0 (0.5)	36.4 (0.4)	36.6 (0.3)
epilepsy (n=51)	36.5 ^(p=0.04) (0.3)	36.5 (0.3)	36.4 (0.4)	35.9 ^(p=0.07) (0.4)	35.6 (0.4)	35.8 (0.4)	36.2 (0.4)	36.4 (0.3) ^{p=0.02}
Puls								
control (n=29)	80.1 (10.4)	80.4 (9.5)	81.9 (9.8)	76.4 (8.8)	69.4 (9.5)	70.9 (10.4)	73.9 (8.0)	76.7 (9.3)
epilepsy (n=51)	78.8 (12.2)	78.6 (11.5)	80.6 (13.9)	75.3 (13.5)	70.6 (12.3)	70.8 (10.0)	78.2 (11.8)	80.1 (11.2)
Systolic blood pressure								
control (n=29)	103.3 (16.2)	105.5 (17.8)	106.3 (19.8)	101.8 (16.7)	96.2 (13.9)	97.2 (13.4)	100.9 (14.8)	102.0 (16.9)
epilepsy (n=51)	108.9 (15.8)	109.8 (14.4)	109 (12.8)	101.5 (11.9)	98.9 (13.2)	98.8 (11.2)	105.2 (14.1)	106.4 (15.5)
Diastolic blood pressure								
control (n=29)	63.5 (10)	62.8 (9.5)	64.1 (11.9)	62.6 (11.2)	58.1 (9.9)	57.6 (20.9)	60.4 (9.5)	59.9 (9.7)
epilepsy (n=51)	62.2 (8.5)	62.9 (8.6)	63.9 (8.1)	60.5 (10.9)	59.6 (10.3)	51.0 (15.4)	63.7 (10.7)	62.7 (8.2)

*p < 0.09, **p < 0.05, ***p < 0.01;

Laboratory values presented as mean (standard deviation)

Table 4. Group comparison of melatonin parameters

Variable	Group		t	df	p
	Comparison group (n=29)	Children with epilepsy (n=51)			
Peak salivary melatonin (pg/ml)	60.7 (19.5)	56.9 (44.6)	1.89	77	0.06
Peak 6-sulfatoxymelatonin (ng/ml)	44.7 (27.5)	53.6 (13.9)	-0.43	77	0.66
AUC salivary melatonin (pg/ml*h)	597.8 (190.9)	513.3 (170.6)	-2.02	77	0.05*
AUC 6-sulfatoxymelatonin (ng/ml*h)	309.9 (156.2)	406.5 (323.0)	1.49	77	0.01*
AUC salivary melatonin (pg/ml*h) (day)	13.3 (9.1)	47.2 (57.6)	2.97	75	0.004*
AUC 6-sulfatoxymelatonin (ng/ml*h) (day)	24.2 (17.4)	35.1 (31.9)	1.61	75	0.11
AUC salivary melatonin (pg/ml*h) (night)	279.4 (149.4)	290.6 (231.9)	0.23	77	0.82
AUC 6-sulfatoxymelatonin (ng/ml*h) (night)	421.4 (154.4)	471.8 (132.9)	-1.52	77	0.13
Threshold salivary melatonin (pg/ml)	2.5(1.9)	4.0(3.4)	1.98	75	0.05*
Thershold 6-sulfatoxymelatonin (ng/ml)	4.8(2.0)	3.7(2.6)	-1.61	75	0.11
Duration above threshold of salivary melatonin	9.4 (3.3)	10.9(3.4)	1.88	75	0.06
Duration above threshold 6-sulfa-toxymelatonin	11.4 (2.9)	12.3(3.0)	1.26	75	0.21

Notes: Data presented as mean (SD).

*significant difference between groups (not corrected for multiple comparisons).

The peak salivary MLT concentration could not be clearly determined in one child with epilepsy and peak of urinary aMT6s concentration was not determined in one control child. Due to high variability in daytime MLT measurements, threshold and duration above threshold were not determined in 3 cases

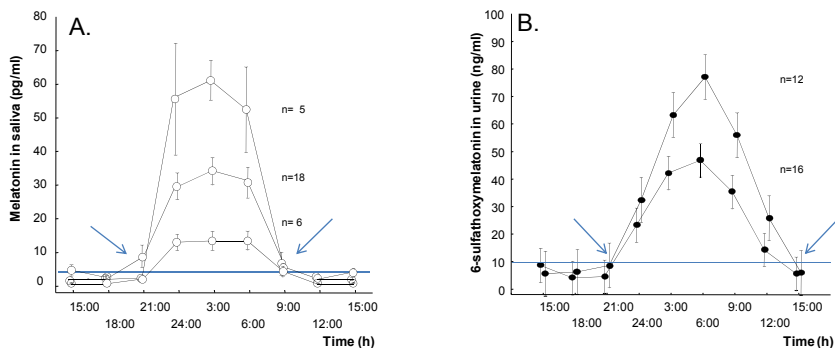


Figure 2. Chronograms of the (A) salivary MLT, (B) urinary 6-sulphatoxymelatonin concentration curves represent three typical salivary melatonin profiles in the control groups, with the low, medium and high peak (A) and two, high-low, urinary 6-sulphatoxymelatonin profiles (B). (The threshold (horizontal) line is based on mean of 2 day-time values+2SDs; all data shown as mean (SD), arrows indicate onset and offset times.

Melatonin and clinical correlates

Correlations between chronological age, anthropometric parameters (height, weight, BMI), and melatonin measurements (the peak salivary MLT and urinary aMT6s concentrations) were nonsignificant in each of the groups and pooled data set (Pearson product moment, r). Diurnal profile of MLT concentrations was also not related to anthropometric measures (analysis of variance). A three-way ANOVA including group (control, epilepsy), puberty (pre, pubertal and postpubertal phase) and sex factors showed no significant effects ($F < 1$, $p > 0.5$). Melatonin metabolism (AUC/per kg body weight) correlated with age and Tanner stage in each group separately and in the pooled total group (Figure 3).

In six children with epilepsy, seizures occurred during the day of the sample collection, however, no clear changes in salivary MLT concentrations could be related to the seizure time (Figure 4). The data of child n6 are not presented, due to interrupted MLT measurements during the seizures and were excluded from the statistical analysis.

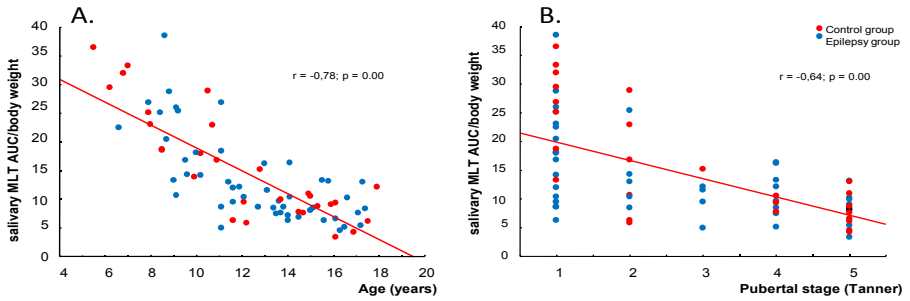


Figure 3. Chronograms of correlation between salivary melatonin metabolism (area under curve/per body weight) and age (A); and the Tanner stage (B) in both study groups

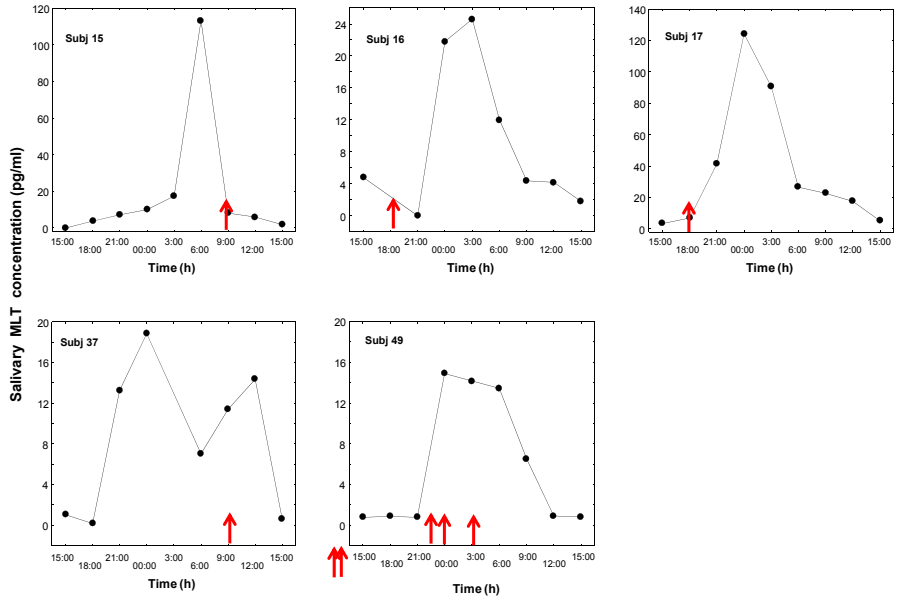


Figure 4. Individual salivary MLT profiles of the subjects who had seizures during the testing day (time of seizures indicated by arrows, the 6th subject had no nocturnal samples, due to frequent seizures)

The children, using valproate had numerically higher MLT concentrations compared to non-treated ones and no differences in MLT were seen for other antiepileptic medications, either. Overall, there were no significant associations between MLT parameters and epilepsy characteristics (seizure type, time of the day, medication used) (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks, comparison of multiple groups).

Sleep disorders were more frequent in the group of children with epilepsy (χ^2 test: DIMS, (3.81) $p=0.05$; SWDT,(7.73) $p=0.005$; total SDSC, (12.52) $p=0.0004$). There was no relation between the SDSC scores and the seizure type/frequency, except for sleep-wake transition disorder (SWDT) score, that was higher in the generalised seizures than in the partial ones ($p=0.004$). There were no significant correlations between the SDSC scores and the MLT parameters in children with epilepsy, though the children with very high nocturnal MLT concentrations had higher SDSC compared to the other children with epilepsy (Figure 5).

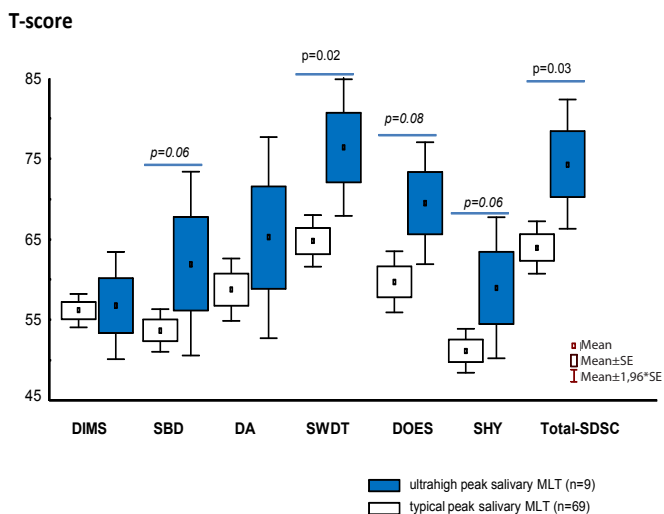


Figure 5. Comparison of sleep scores in the children with epilepsy, having a very high nocturnal peak salivary MLT concentration and the other children with epilepsy (t test; sleep scores are expressed as T-values)

4 CONCLUSIONS

1. Sleep disorders were more expressed in the group of children with epilepsy, i.e., total score as well as subscores for different sleep disorders were significantly higher in the epilepsy group compared to the control one. The highest difference between the groups was observed for the sleep – wake transition disorders (SWTD), disorders of excessive somnolence (DOES) and sleep breathing disorders (SBD). Disorders of arousal (DA), sleep hyperhydrosis (SHY) and total SDSC scores were significantly higher among the children having night seizures, as compared to those having daytime seizures.
2. Melatonin metabolism (AUC/per kg body weight) had negative correlations with age and stage of sexual maturity (Tanner stage) in each group separately and in the pooled total group. No relations between melatonin concentrations and anthropometric parameters, age, or sexual maturation were found.
3. The circadian rhythms of salivary MLT secretion and excretion of urinary metabolite 6-sulphatoxymelatonin (aMT6s), core body temperature, pulse, blood pressure were preserved in children with epilepsy.
4. The diurnal profiles of MLT secretion and excretion showed high inter-individual variability in both study groups.
5. In the group of children with epilepsy, a subgroup of children had very high peak nocturnal salivary MLT concentrations (9/50; 18%).
6. MLT concentrations showed no associations with seizure characteristics (type of seizures, time, during the day, epilepsy syndrome, treatment).

The study suggests that the MLT system should be studied further in children with epilepsy and used in the clinical workup when treatment with melatonin is intended.

5 PUBLICATIONS AND SCIENTIFIC CONFERENCE REPORTS

Publications

1. Praninskienė R, Dumalakienė I, Mauricas M, Jučaitė A. A rare case of pineal cyst and epilepsy with high salivary melatonin concentration. *Acta medica Lituanica* 2006; 13(2): 115–118.
2. R. Praninskienė, A. Jučaitė. Kankorėžinės liaukos hormono melatonino poveikis žmogaus biologiniams procesams. *Neurologijos seminarai*. 2008; 2: 88–91.
3. Praninskienė R, Dumalakienė I, Kemežys R, Mauricas M, Jučaitė A. Diurnal melatonin patterns in children: ready to apply in clinical practice? *Pediatr Neurol*. 2012 Feb; 46(2): 70–76.
4. Praninskienė R, Dumalakienė I, Kemežys R, Mauricas M, Jučaitė A. Melatonin secretion in children with epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 2012; Vol. 25, 3: 315–322.

Conference reports

1. Praninskienė R, Dumalakienė I, Kemežys R, Mauricas M, Jučaitė A. Circadian rhythm of melatonin secretion in children with epilepsy. 26th International Epilepsy Congress; 2005 Paris, France (poster report in *Epilepsia* Vol. 46, Suppl.6, 2005).
2. Praninskienė R, Dumalakienė I, Kemežys R, Mauricas M, Jučaitė A. Melatonin system in children: typical development and epilepsy. 9th Conference of the Baltic Child Neurology Association; 2007 Vilnius (oral report).
3. Praninskienė R, Jučaitė A. Vaikų melatonino sistemos tipinė raida ir ypatumai, sergant epilepsija. International Educational Course in sleep disorders; 2008 Vilnius (oral report).
4. Praninskienė R, Jučaitė A. Kankorėžinės liaukos hormono melatonino įtaka žmogaus biologiniams procesams. 2th Conference of Lithuanian Neuroscience Association; 2010 Vilnius (oral report).

5. Praninskienė R, Jučaitė A. Sleep disturbances in children with epilepsy. 9th conference of the Baltic Child Neurology Association; 2007 Vilnius (poster report).
6. Praninskienė R, Jučaitė A. Relation between epilepsy and sleep in childhood. 1st Baltic Pediatric Congress; 2011 Vilnius (poster report).
7. Praninskienė R, Jučaitė A. Sleep disturbances in children with epilepsy. 4th Eilat International Educational Course: Pharmacological Treatment of Epilepsy; 2011 Eilat, Israel (poster report).

6 SUMMARY IN LITHUANIAN

Vaikų miego sutrikimai – dažna problema, dėl kurios 25 – 40 proc. tėvų kreipiasi į gydytoją (Mindell La ir kt., 2003). Jeigu vaikui yra keli miego sutrikimai ir jis serga dar kita liga (nervų, somatine), tai diagnostika ir gydymas yra sudėtingi. Pasirinkome tirti epilepsija sergančius vaikus, nes ji yra dažniausia vaikų nervų liga.

Lietuvoje M. Endzinienė (1997) atliko epilepsijos epidemiologinius tyrimus Kauno mieste ir nustatė, kad sergamumas šia liga yra 68 atvejai iš 100 000 vaikų, o aktyvios epilepsijos paplitimas – 4,25 iš 100 000. Epilepsijos paplitimas žmonių populiacijoje yra 0,5–1 proc. (Hauser ir kt., 1991).

Literatūroje aprašomi klinikiniai tyrimai, kuriuose teigiama, kad epilepsijos priepuoliai yra susiję su cirkadiniu ritmu. Išanalizavus literatūroje paskelbtus vaikų epilepsijos ir miego sutrikimų tyrimų duomenis, parodyta, kad jų tarpusavio ryšys yra sudėtingas, o etiologija kompleksinė: i) besikartojantys epilepsijos priepuoliai miego metu sutrikdo miego struktūrą, ii) miego sutrikimai lemia miego struktūros pokyčius, ir epilepsija sergantys vaikai dažniau patiria epilepsijos priepuolius dieną ir naktį, iii) sergantys epilepsija vaikai vartoja vaistus, kurie gali daryti įtaką miego struktūrai. Miego ir budrumo ritmo sutrikimai yra susiję su kankorėžinės

liaukos hormono melatonino stoka (Leu-Semenescu ir kt., 2010). Epilepsija sergantiems vaikams gali trūkti šio hormono, nes G. Coppola ir kt. (2004), atlikę dvigubai aklą placebo kontroliuojamą tyrimą, įrodė egzogeninio melatonino efektyvumą miego ir budrumo ritmui vaikams su raidos sutrikimais ir epilepsija, nes pagerėjo jų užmigimas.

Melatoninas yra sintetinamas kankorėžinėje liaukoje iš triptofano, išsiskiria cirkadiniu ritmu ir maksimalią koncentraciją pasiekia 2–4 val. naktį (Brzezinski, 1997). Hormonas reguliuoja įvairias fiziologines organizmo funkcijas (miegą, kūno temperatūrą, arterinį kraujo spaudimą, nuotaiką ir elgesį, reprodukcinę ir imuninę) (Zhdanova ir kt., 1997).

Ekspimentiniais tyrimais melatonino receptoriai rasti žinduolių Amono rage (lot. *hippocampus*) (Laudon ir kt., 1988; Nonno ir kt., 1995; Mazzuchelli ir kt., 1996; Yamamoto ir Tang, 1996; Musshoff ir kt., 2002). Todėl galima manyti, kad melatoninas turi įtakos ir moduliuoja neuronų jaudrumą Amono rage, kuriame sinchronizuojasi epilepsinis aktyvumas.

Ekspimentiniais tyrimais su žiurkėmis įrodyta, kad melatoninas slopina traukulius (Kabuto ir kt., 1998; Mevissen ir kt., 1998; Srivastava ir kt., 2002; Musshoff ir Speckmann, 2003; Ray ir kt., 2004; Yahyavi-Firouz-Abadi ir kt., 2006, 2007). Tirdamas gyvūnus Munoz-Hoyos ir kt. (1998) aprašė traukulius sukeltą melatonino poveikį. Ekspimentinių darbų rezultatai paskatino atlikti klinikinius hormono MLT tyrimus.

Pirmuosius klinikinius tyrimus, įrodančius traukulius slopinantį MLT poveikį epilepsija sergantiems pacientams, 1974 metais aprašė F. Antón Tay ir šie tyrimai trunka iki šių dienų (Jan ir kt., 1994; Molina-Carballo ir kt., 1997; Sheldon, 1998; Fauteck ir kt., 1999; Ross ir Morris, 1999; Madhur ir kt. 2004, Uberos ir kt., 2011). Tyrėjai empiriškai skyrė sintetinių melatonino preparatų, kurie sutrumpino užmigimo laiką, reguliavo miego struktūrą, dėl to retėjo epilepsijos priepuoliai. Tačiau pati MLT sistema vaikams, sergantiems epilepsija, nėra išsamiai ištirta.

Atliktu tyrimu išsiaiškino dažniausius epilepsija sergančių vaikų miego sutrikimus. Savo gautais duomenimis papildėme hormono melatonino ir jo metabolito aMT6s šlapime tyrimus vaikų amžiuje. Kontrolinės grupės ir sergančių epilepsija vaikų melatonino ir jo metabolito

aMT6s profilio tyrimai parodė, kad melatonino koncentracijų tyrimus galima įdiegti klinikinėje praktikoje, o šio hormono ryšį su epilepsija tikslinga tyrinėti toliau.

Mes atlikome pirmuosius Lietuvoje klinikinius melatonino ir jo metabolito aMT6s tyrimus.

Mokslinio darbo tikslas

Išsiaiškinti epilepsija sergančių vaikų dažniausius miego sutrikimus ir hormono melatonino, jo metabolito 6-sulfatoksimelatonino (aMT6s) paros profilio ypatumus ir ryšį su antropometriniais duomenimis, epilepsijos formomis, priepuolių tipais, priepuolių laiku, vartojamais vaistais nuo epilepsijos (VNE) bei kitais fiziologiniais cirkadiniais rodikliais (kūno temperatūra, pulsas, arteriniu kraujo spaudimu).

Mokslinio darbo uždaviniai

1. Įvertinti įvairiomis epilepsijos formomis sergančių vaikų miego sutrikimus.
2. Ištirti sergančių epilepsija ir kontrolinės grupės vaikų melatonino sekrecijos ir ekskrecijos paros ritmą, įdiegiant imunofermentinio tyrimo (ELISA) metodiką bei įsisavinant melatonino cirkadinio ritmo rodiklių tarptautines apskaičiavimo metodikas.
3. Įvertinti epilepsija sergančių ir kontrolinės grupės vaikų melatonino sekrecijos ir ekskrecijos ryšį su: i) antropometriniais duomenimis gimimo metu (gestaciniu amžiumi, gimimo svoriu ir ūgiu) ir tyrimų metu (svoriu, ūgiu, kūno svorio indeksu); ii) lytine branda; iii) kitais fiziologiniais cirkadiniais ritmais (temperatūros, širdies susitraukimų dažnio, arterinio kraujo spaudimo).
4. Įvertinti melatonino sekrecijos ir ekskrecijos ryšį su traukulių laiku, epilepsijos forma, VNE vartojimu (epilepsijos grupėje).
5. Ištirti kontrolinės grupės ir epilepsija sergančių vaikų melatonino sekrecijos ryšį su miego ypatumais, naudojant vaikų miego sutrikimų skalę (VMSS) (pagal O. Bruni, 1996).

Darbo mokslinis naujumas

1. Detalūs melatonino tyrimai įvairiose vaikų amžiaus grupėse ir epilepsija sergančių grupėje, įvertinant tam pačiam individui melatonino koncentraciją seilėse ir jo metabolito aMT6s koncentraciją šlapime, bei kartu atliekant kitų fiziologinių cirkadinių ritmų matavimus (temperatūros, arterinio kraujo spaudimo, širdies susitraukimų dažnio) atlikti pirmą kartą.
2. Gauti duomenys papildė žinias apie hormono cirkadinio ritmo individualius dėsningumus vaikų amžiuje bei ypatumus, sergant epilepsija.
3. Melatonino tyrimo metodikos ir skaičiavimas įsisavintas Lietuvoje.

Tirtasis kontingentas ir tyrimo metodika

Tyrimas atliktas 2005–2011, gavus Lietuvos bioetikos komiteto leidimą (2004-12-22, Nr. 69). Melatonino tyrimus finansavo Lietuvos valstybinis mokslo ir studijų fondas (projekto registracijos Nr. T-06131; sutarties Nr. T-39/06).

Tyrimas vyko dviem etapais.

Pirmame etape dalyvavo 246 vaikai (94 kontroliniai, 151 sergantis epilepsija). Vaikų amžius buvo nuo 5,5 iki 17,9 metų. Vaikai su tėvais ir gydytoju tyrėju užpildė vaikų miego sutrikimų skalės klausimyną (VMSS) (pagal Bruni ir kt., 1996). Šiame etape išsiaiškinome abiejų grupių vaikų miego sutrikimus.

Antrame etape dalyvavo 80 (83) vaikų (29 kontroliniai; 51 sergantis epilepsija). Trims vaikams nepavyko surinkti bandinių.

Melatonino seilėse ir jo metabolito aMT6s šlapime cirkadinio profilio ir kitų cirkadinių fiziologinių parametrų (temperatūros, pulso, arterinio kraujo spaudimo) tyrime dalyvavo abiejų grupių vaikai, kurie dalyvavo pirmame etape ir atitiko įtraukimo kriterijus: abiejų grupių vaikai nuo 5–18 metų be organinių galvos smegenų pažeidimų (atliktas kompiuterinės tomografijos ir (ar) magnetinio branduolių rezonanso tyrimas); kontrolinės grupės vaikai, kurie pagal VMSS neturėjo miego ir budrumo

ritmo sutrikimų ir bendroji VMSS reikšmė buvo mažiau 50 (T-vertė ≤ 70 %). Neįtraukimo kriterijai: vaikai, sergantys endokrininės sistemos ligomis, aklumu, autizmu, sunkiu protiniu atsilikimu, depresija, migrena ir kitomis lėtinėmis somatinėmis (inkstų, kepenų) ligomis; vaikai, vartojantys medikamentus žinomai somatinei ligai gydyti; karščiuojantys vaikai.

Abiejų grupių vaikams rinktos seilės ir šlapimas kas trys valandos visą parą ir tuo pačiu metu matuota temperatūra, arterinis kraujo spaudimas, pulsas.

Melatonino koncentracija seilėse ir jo metabolito aMT6s koncentracija šlapime ištirta imunofermentiniu metodu (ELISA) Valstybiniame mokslinių tyrimų institute Inovatyvios medicinos centro Imunologijos departamento laboratorijoje.

Melatonino rodiklių skaičiavimas

Melatonino koncentracijos rodikliai buvo skaičiuojami naudojant Voultios ir kt., (1997), Benloucif ir kt. (2008) metodikas. Melatonino sekrecija buvo įvertinta naudojant parametrus, kurie apibūdina MLT koncentraciją ir cirkadinę fazę. Pakartotinių MLT matavimų individualus paros profilis ir piko vertė (maksimalus taškas) seilėse ir jo metabolito aMT6s šlapime buvo įvertintas vizualiai kiekvienu atveju. Išvestiniai fazės kintamieji buvo tamsa ir šviesa, sekrecijos pradžia ir pabaiga bei melatonino pakilimo trukmė. Riba, apibūdinanti sekrecijos pradžios ir pabaigos vertes, buvo apskaičiuota kaip dienos tyrimų, einančių iš eilės, verčių vidurkis, prie kurio pridodamas dvigubas standartinis nuokrypis (Voultios ir kt., 1997). Kiekvieno atvejo MLT sekrecijos pradžios ir pabaigos laiko taškai buvo laiko taškai, kai melatonino koncentracija viršijo ir liko didesnė už nustatytą ribinę vertę ar sumažėjo ir išliko žemiau ribos bent 1 valandą.

Greta cirkadinių MLT rodiklių įvertinome ir jo apykaitą. Hormono melatonino ir jo metabolito aMT6s šlapime kitimui paskaičiuoti buvo naudojamas rodiklis – plotas po koncentracijos ir laiko kreive (angl. *area under the concentration-time curve*, AUC). Plotas po koncentracijos ir

laiko kreivė nusako koncentracijos kitimo greitį ir yra išvestinis hormono apykaitos rodiklis. Tai koncentracijos integralas laiko intervale. Jis buvo skaičiuojamas visai parai, nuo 15:00 val. iki 12:00 val., taip pat apskaičiuotas atskirai dienos (nuo 15:00 val. iki 21:00 val.) ir nakties periodu (nuo 21:00 val. iki 09:00 val.). Skaičiavimai buvo atlikti trapecijos metodu pagal formulę:

$$AUC_{0-1} = \left\{ \frac{Cp_0 + Cp_1}{2} \cdot (t_1) \right\}$$

čia AUC_{0-1} – koncentracijos integralas per laiko pokytį t , Cp_0 – pradinė koncentracija (ng/ml/val.), Cp_1 – koncentracija po trijų valandų (ng/ml/val.) (nes mėginiai rinkti kas tris valandas), t_1 – laiko pokytis.

Gauta vertė buvo išreikšta kaip pg/ml/val. melatonino seilėse ir ng/ml/val. jo metabolito aMT6s šlapime.

Statistinė duomenų analizė

Disertacijoje buvo naudojami įvairūs statistinės analizės metodai. Grupių klinikiniai ir demografiniai rodikliai pateikti naudojant aprašomąją statistiką, vidurkiai – su standartiniu vidurkio nuokrypiu (vidurkis \pm SE). Skirtumai tarp grupių demografinių savybių ir melatonino rodiklių buvo vertinami naudojant Studento t-testą nepriklausomoms imtims, jei tiriamoji aibė atitiko parametrinei statistikai keliamus reikalavimus. Mann–Whitney U testas buvo naudojamas neparametrinei analizei (kai lyginamose mažose grupėse pasiskirstė netolygiai).

Melatonino koncentracijų, temperatūros, pulso, arterinio kraujo spaudimo cirkadinių ritmų palyginimas atliktas naudojant variacinę analizę ANOVA (angl. *a three-way ANOVA*).

Galimo ryšio tarp klinikinių ir laboratorinių tyrimų ieškojome naudodami Pearsono koreliacinę analizę (angl. *Pearson product moment correlation analysis*), kai skaičiuojamas koreliacijos koeficientas r ir patikimumo lygmuo p . Patikimumo lygmuo (p), mažesnis už 0,05 ($p < 0,05$), laikomas statistiškai reikšmingu.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant programinę įrangą „Statistika 10.0“ ir programinį paketą „StatSoft, Inc Tulsa OK“, JAV.

Rezultatai

Pirmojo etapo – apklausos pagal Vaikų miego sutrikimų skalę (VMSS) duomenų apibendrinimas

Pirmame etape buvo apklausti 246 vaikai nuo 5,5 iki 17,9 metų amžiaus. Iš jų 152 vaikai, sergantys epilepsija (67 berniukai, 85 mergaitės), nuo 6,6 iki 17,9 metų ($12,6 \pm 3,0$, vidurkis \pm SD) ir 94 normalios raidos kontrolinės grupės vaikai (38 berniukai, 56 mergaitės) nuo 5,5 iki 17,3 metų ($12,2 \pm 3,6$, vidurkis \pm SD). Visų 246 vaikų miegas buvo įvertintas apklausus vaikus ir jų tėvus ar globėjus, naudojant vaikų miego sutrikimų skalę (VMSS), išverstą į lietuvių kalbą (pagal Bruni ir kt., 1996), o gauti duomenys pateikti 1 lentelėje.

Vaikų, sergančių epilepsija, balai pagal visas VMSS skalės dalis buvo gerokai didesni (kaip absoliutūs balai, $p = 0,00$). Pagal gautus aukščiausius balus, dažniausi epilepsija sergančių vaikų miego sutrikimai buvo šie: miego ir budrumo ritmo sutrikimai (MBRS), padidėjęs mieguistumas (PM) ir kvėpavimo sutrikimai miego metu (KSMM).

Epilepsijos grupėje net 48 proc. vaikų turėjo MBRS, 28 proc. – PM, 14 proc. – KSMM ir balų virš slenksčio (> 70 proc. T-lygmuo). Kontrolinės grupės 21 proc. vaikų turėjo MBRS, 14 proc. – padidėjusį mieguistumą dieną (PM), 5 proc. – KSMM ir balų virš slenksčio (chi kvadrato $p < 0,005$ MBRS, PM skalės dalyse). Statistiškai patikimos koreliacijos tarp amžiaus ir lyties miego sutrikimų grupėse nerasta. Nebuvo miego sutrikimų tarp vaikų, sergančių epilepsija, ir turinčių skirtingų tipų priepuolius (židinius, generalizuotus, mišrius – židinius ir generalizuotus). Vaikų, kuriems epilepsija aktyvi (priepuoliai kartojasi ne rečiau kaip kartą per metus), VMSS balai buvo gerokai didesni (MBRS, PM, HM skalės dalyse, $p < 0,05$). Vaikų, kuriems priepuoliai yra naktiniai, gauti reikšmingai didesni bendrieji VMSS skalės balai negu tų, kuriems priepuoliai pasireiškia dieną (PA, HM) ($p < 0,005$).

1 lentelė, Kontrolinės grupės ir epilepsija sergančių vaikų miego sutrikimų skalės duomenų palyginimas

Vaikų miego sutrikimų skalė (miego sutrikimo dalys)	Epilepsija (vidurkis, SD, %)	Kontrolinė (vidurkis, SD)	t	df	p
Miego pradžios ir eigos ligos (MPE)	13,03 (3,78)	12,21 (3,54)	1,69	244	0,09
Kvėpavimo sutrikimai miego metu (KSMM)	4,46 (1,74)	3,68 (1,58)	3,54	244	0,0005
Parasomnijos (PA)	4,46 (1,81)	3,94 (1,85)	2,19	244	0,03
Miego ir budrumo ritmo sutrikimai (MBRS)	12,89 (3,69)	10,55 (3,29)	5,03	244	0,000001
Padidėjęs mieguistumas (PM)	11,04 (3,64)	8,53 (3,92)	5,09	244	0,000001
Hiperhidrozė miego metu (HM)	3,43 (1,88)	2,90 (1,68)	2,24	244	0,03
Bendras skaičius	49,48 (10,2)	41,67 (11,68)	5,50	244	0,00

Antrojo etapo : melatonino seilėse ir jo metabolito aMT6s šlapime tyrimų rezultatai

Buvo analizuojami 80 tiriamųjų bandinių: 29 kontrolinių, iš jų 17 mergaičių ir 12 berniukų nuo 5,5 iki 17,3 metų amžiaus ($12,2 \pm 3,6$ metų, vidurkis \pm SD), ir 51 sergančio epilepsija vaiko nuo 6,6 iki 17,9 metų amžiaus ($12,6 \pm 3,0$, vidurkis \pm SD). Šie vaikai tyrime dalyvavo po pirmojo tyrimų etapo, kai jau buvo užpildę VMSS ir atitiko visus įtraukimo kriterijus. Epilepsijos forma buvo diagnozuota remiantis priepuolių klinika, budrumo ir miego elektroencefalogramų analizės išvadomis. Diagnozei nustatyti remtasi 2001m. patvirtintais Tarptautinės lygos prieš epilepsiją kriterijais – Tarptautine epilepsijos priepuolių ir sindromų klasifikacija (Engel, 2001). Visi vaikai sirgo aktyvia epilepsija (priepuoliai kartojosi bent kartą per metus).

Abiejų tirtų vaikų grupių demografiniai, antropometriniai ir klinikiniai duomenys palyginti 2 lentelėje. Epilepsija sergantys vaikai turėjo aukštus VMSS rodiklius, palyginti su kontrolinės grupės vaikais. Rezultatai atitiko gautus pirmame etape. Epilepsijos grupėje statistiškai patikimai aukštesnės buvo MBRS, PM, KSMM miego sutrikimų skalės.

Paaiškėjo, kad 49 proc. vaikų, sergančių epilepsija, turėjo miego sutrikimų. Taigi tolesnei analizei epilepsijos grupės vaikai buvo suskirstyti į

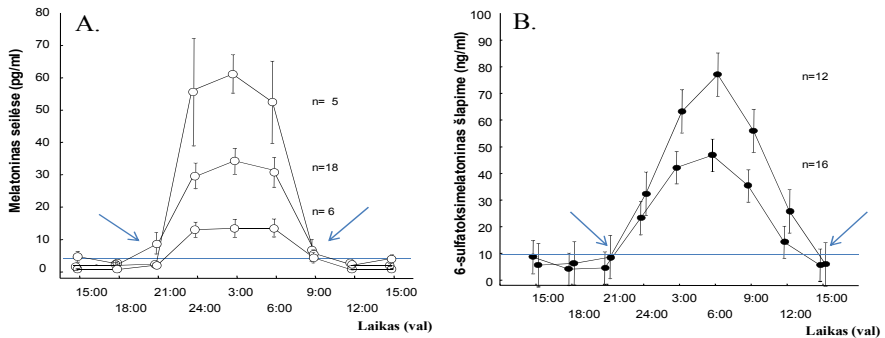
2 lentelė. Abiejų grupių demografiniai, antropometriniai ir klinikiniai duomenys

Duomenys	Grupės		t/ χ^2	df	p
	Kontrolinė grupė (n=29)	Epilepsijos grupė (n=51)			
Amžius (metais)	12,2 (3,6)	12,6 (3,0)	0,58	78	0,56
Lytis (M/B)	17M/12B	25M/26B	0,21/0,25	1	0,65/0,62
Tannerio stadijos ^a	9/12/8	19/19/13	0,15/0,06/0,02	1	0,69/0,81/0,87
Svoris (kg)	48,8 (20,1)	44,7 (14,3)	-1,05	78	0,29
Ūgis (cm)	152,7 (20,3)	155,4 (16,9)	0,65	78	0,52
KMI(kg/m ²)	20,1 (4,0)	18,03 (3,1)	-2,55	78	0,01
VMSS	33,9(4,5)	51,7 (7,8)	11,27	78	0,00
MPES	9,5	12,7	5,43	78	0,00
KSMM	3,4	4,9	3,64	78	0,0005
PA	3,6	4,4	2,06	78	0,04
MBRS	9,1	13,5	6,88	78	0,00
PM	5,6	12,1	9,28	78	0,00
HM	2,7	3,6	2,46	78	0,02

Pastabos: pateikti duomenų vidurkiai (SD); a – Tannerio stadijos yra suskirstytos į grupes: iki brendimo – I stadija; brendimo – II, III, IV stadijos; po brendimo – V stadija. Sutrumpinimai: KMI – kūno masės indeksas, VMSS – vaikų miego sutrikimų skalė, MPES – miego pradžios ir eigos sutrikimai, KSMM – kvėpavimo sutrikimai miego metu, PA – parasomnijos, MBRS – miego ir budrumo ritmo sutrikimai, PM – padidėjęs mieguistumas, MH – hiperhidrozė miego metu, VMSS (t-reiškė) – bendra reikšmė.

du pogrupius: vaikų, kurie turėjo miego sutrikimų (kriterijus $T > 70$ % VMSS) ($n = 25$), ir vaikų, kurie tokių sutrikimų neturėjo ($n = 26$). Skirtumo tarp melatonino parametrų (koncentracijos piko, AUC, akrofazės laiko, koncentracijos trukmės virš slenkstinės reikšmės) vaikų epilepsijos pogrupiuose nerasta (Mann-Whitney U testas $p > 0,05$).

Abiejose grupėse rasti individualūs melatonino kitimo profiliai seilėse ir jo metabolito aMT6s šlapime, esant dideliame kintamumui nakties metu (1 pav., 3 lentelė).



1 pav. Kontrolinių vaikų grupių chronogramos per 24 valandas: (A) MLT koncentracijos seilėse lygiai (pg/ml) ir (B) 6-sulfatoksimeletonino koncentracijos šlapime lygiai (ng/ml) (tęstinė linija jungia slenkstines vertes, vertikalias linijas laiko taškuose pažymi SD)

Mažiausiai kintančios šlapime buvo melatonino metabolito aMT6s vertės 03:00 – 09:00 (variacijos koeficientas 31–70 proc.). Tirtų kontrolinių vaikų grupėje hormono reikšmės buvo individualios ir turėjo žemus, vidutinius, aukštus rodiklius. Melatonino kiekio seilėse piko vertės svyravo 20 kartų, kisdamos nuo 5,6 iki 128,2 pg/ml.

Šešiams vaikams rasta labai maža seilių melatonino koncentracija be piko nakties metu (MLT <20 pg/ml), 18 vaikų nustatyta vidutinė melatonino sekrecijos piko koncentracija (20–60 pg/ml) ir 5 vaikai turėjo melatonino piką (MLT >60 pg/ml) (grupės vertės pasirinktos atsitiktinai) (žr. 1 pav., A). Šlapime hormono metabolito aMT6s piko vertės svyravo 4 kartus, kisdamos nuo 39,3 ng/ml iki 122,7 ng/ml, 16 vaikų tyrimuose rastos piko vertės <60 ng/ml (žr. 1 pav., B).

Tirtų kontrolinių vaikų melatonino sekrecijos vidutinė (SD) reikšmė buvo 4,8 (7,6) pg/ml. Hormono paros profiliai dešimčiai kontrolinių vaikų buvo nereguliarūs arba buvo santykinai dideli dieną, o dviem iš jų nebuvo galima nustatyti hormono didėjimo pradžios.

Todėl hormono metabolito šlapime aMT6s ribos bei ekskrecijos pradžios ir pabaigos vertės buvo skaičiuojamos tik 26 vaikams, vidurkis (SD) buvo 9,9 (8) ng/ml.

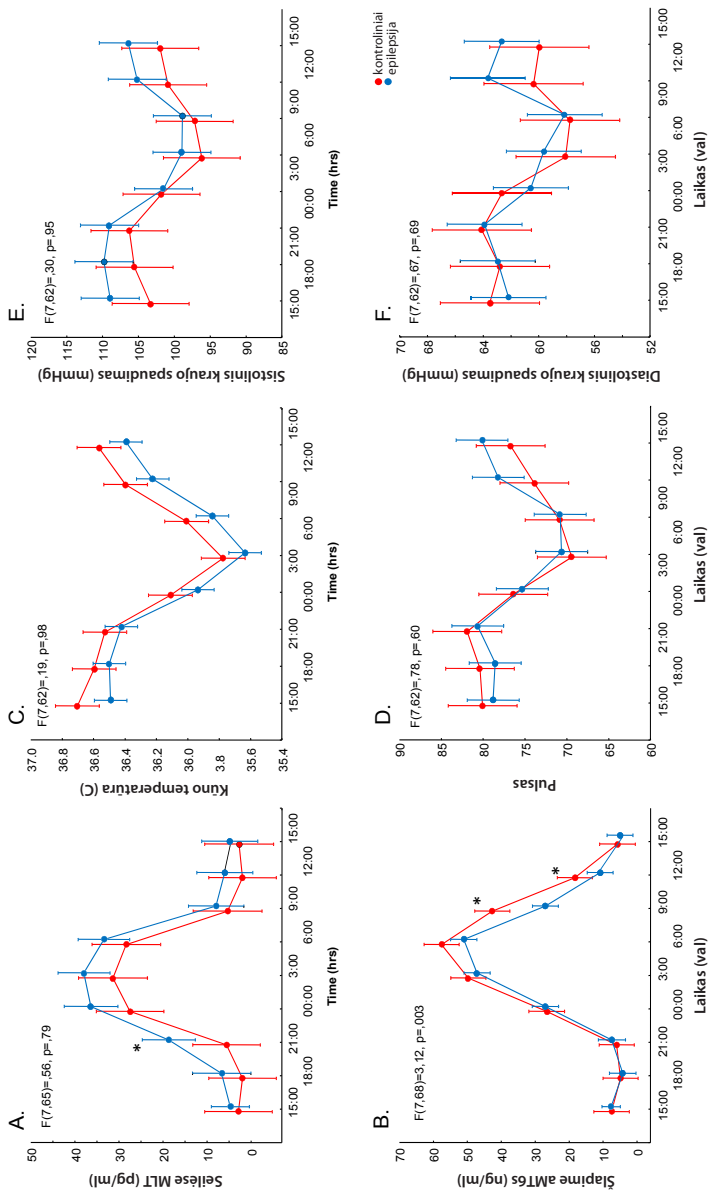
Padidėjusių (virš ribos) MLT lygių seilėse trukmė 9 (31 proc.) vaikams buvo 12 valandų, 9 (31 proc.) vaikams – 9 valandos, ir 11 (38 proc.) vaikų – 6 valandos, dažniausiai nuo 21:00 val. iki 9:00 val. arba nuo 21:00 val. iki 12:00 val.

Šlapime aMT6s išliko virš ribos ≥ 15 val. – 5 (18 proc.) vaikams, 12 val. – 13 (44 proc.) vaikų, 9 val. – 5 (18 proc.) vaikams ir 6 val. – 4 (15 proc.) vaikams; dažniausiai nuo 21:00 val. iki 12:00 val. ir nuo 21:00 val. iki 15:00 val. Intervalo matavimai yra apytiksliai, nes riboja kas 3 valandas imti bandiniai.

Abiejose tiriamųjų grupėse melatonino seilėse ir jo metabolito aMT6s šlapime koncentracijos ir termoreguliacija, širdies ir kraujagyslių sistemos parametrai atitiko paros cirkadinį ritmą (3 lentelė, 2 pav.). Aiškiai neigiama koreliacija buvo rasta tarp melatonino seilėse ir metabolito šlapime aMT6s bei kūno temperatūros, pulso ir sistolinio arterinio kraujo spaudimo (koreliacijos atliktos kiekvienoje tiriamoje grupėje atskirai ir bendroje sujungtoje grupėje: kontrolinė grupė $r > -0,43$, $p = 0,00$; epilepsijos grupė $r > -0,23$, $p = 0,00$, sujungta grupė $r > -0,13$, $p < 0,01$; 2 pav.).

Epilepsija sergančių vaikų grupėje dienos melatonino, slenkstinė ir dienos laiko AUC reikšmės buvo daug didesnės, palyginti su kontroline grupe (4 lentelė). MLT seilėse ir metabolito aMT6s šlapime koncentracijos aiškiai koreliavo kiekvienoje grupėje atskirai ir sujungtoje grupėje ($r > 0,36$, $p = 0,00$).

Melatonino seilėse koncentracijos plotas po kreive (angl. *area under curve*, AUC) buvo 597 (191) pg/ng/val. ir metabolito aMT6s šlapime – 310 (156) pg/ml/val. (kreivė apskaičiuota per 24 val.) (4 lentelė). Seilių melatonino AUC parodė tendenciją, kad su amžiumi hormono mažėja ($r = -0,31$, $p = 0,1$).



2 pav. Abiejų grupių duomenų palyginimas (melatonino seilėse, metabolito 6-sulfatoksimelatonino šlapime, kūno temperatūros, pulso, arterinio sistolinio ir diastolinio kraujospaudimo)

3 lentelė. Abiejų tirtų grupių duomenų palyginimas (melatonino ir metabolito aMT6s koncentracijų, kūno temperatūros, sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo)

Grupės	Melatonino koncentracija seilėse (ng/ml)							
	Laikas							
	15:00	18:00	21:00	00:00	3:00	6:00	9:00	12:00
kontrolinė (n=29)	2,9 (4,7)	2,0 (1,8)	5,6 (9,8)	27,5 (17,4)	31,4 (20,1)	28,3 (20,4)	5,3 (4,8)	1,9 (1,6)
epilepsijos (n=51)	4,5 (5,6)	6,7 (15,1)*	18,7 (24,0)***	36,3 (17,9)	37,9 (32,4)	33,4 (42,5)	7,9 (10,7)	6,0 (9,7)**
Melatonino metabolito šlapime 6-sulfatoksimeletonino (aMT6s) koncentracija (pg/ml)								
kontrolinė (n=29)	7,5 (7,9)	4,9 (7,2)	6,0 (10,0)	26,6 (21,0)	49,7 (18,3)	57,6 (20,9)	42,7 (19,6)	18,3 (16,1)
epilepsijos (n=51)	8,8 (11,4)	4,2 (3,7)	7,4 (11,0)	22,8 (36,7)	47,1 (14,7)	51,0 (15,4)	27,0 (19,4)***	10,9 (11,9)**
Kūno temperatūra								
kontrolinė (n=29)	36,7 (0,3)	36,6 (0,3)	36,5 (0,4)	36,1 (0,5)	35,7 (0,4)	36,0 (0,5)	36,4 (0,4)	36,6 (0,3)
epilepsijos (n=51)	36,5 ^(p=0,04) (0,3)	36,5 (0,3)	36,4 (0,4)	35,9 ^(p=0,07) (0,4)	35,6 (0,4)	35,8 (0,4)	36,2 (0,4)	36,4 (0,3) ^{p=0,02}
Pulsas								
kontrolinė (n=29)	80,1 (10,4)	80,4 (9,5)	81,9 (9,8)	76,4 (8,8)	69,4 (9,5)	70,9 (10,4)	73,9 (8,0)	76,7 (9,3)
epilepsijos (n=51)	78,8 (12,2)	78,6 (11,5)	80,6 (13,9)	75,3 (13,5)	70,6 (12,3)	70,8 (10,0)	78,2 (11,8)	80,1 (11,2)
Sistolinis kraujo spaudimas								
kontrolinė (n=29)	103,3 (16,2)	105,5 (17,8)	106,3 (19,8)	101,8 (16,7)	96,2 (13,9)	97,2 (13,4)	100,9 (14,8)	102,0 (16,9)
epilepsijos (n=51)	108,9 (15,8)	109,8 (14,4)	109 (12,8)	101,5 (11,9)	98,9 (13,2)	98,8 (11,2)	105,2 (14,1)	106,4 (15,5)
Diastolinis kraujo spaudimas								
kontrolinė (n=29)	63,5 (10)	62,8 (9,5)	64,1 (11,9)	62,6 (11,2)	58,1 (9,9)	57,6 (20,9)	60,4 (9,5)	59,9 (9,7)
epilepsijos (n=51)	62,2 (8,5)	62,9 (8,6)	63,9 (8,1)	60,5 (10,9)	59,6 (10,3)	51,0 (15,4)	63,7 (10,7)	62,7 (8,2)

Laboratorijos vertės pateikiamos kaip vidurkis (standartinis nuokrypis). T laikosi apie $p = 0,1$;

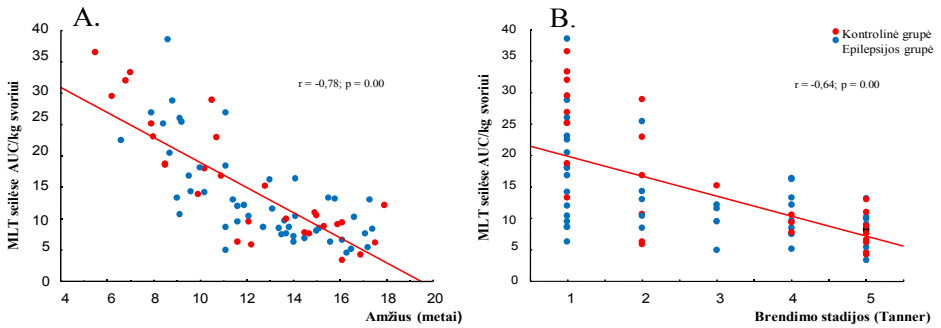
* $p < 0,09$, ** $p < 0,05$, *** $p < 0,01$

4 lentelė. Melatonino seilėse ir metabolito 6-sulfatoksimeletonino šlapime duomenų palyginimas

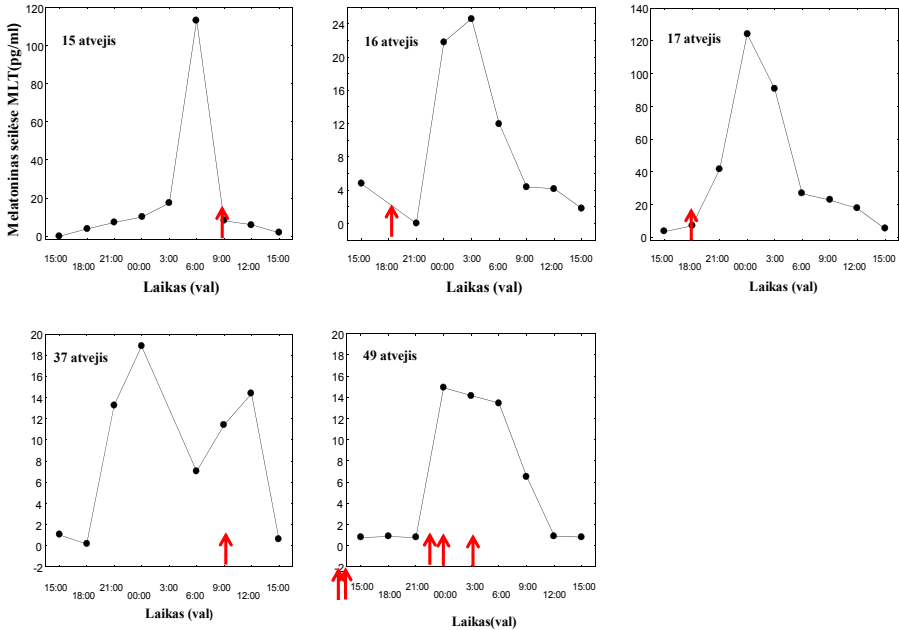
Kintamieji	Grupės		t	df	p
	Kontrolinių vaikų (n=29)	Vaikų, sergančių epilepsija (n=51)			
Melatonino pikas seilėse (pg/ml)	41,9 (22,2)	56,9 (44,6)	1,66	77	0,102
6-sulfatoksimeletonino pikas šlapime (ng/ml)	60,7 (19,5)	53,6 (13,9)	1,31	77	0,061
AUC melatonino seilėse (pg/ml/val.)	597,8 (190,9)	513,3 (170,6)	-2,02	77	0,047*
AUC 6-sulfatoksimeletonino šlapime (ng/ml/val.)	309,9 (156,2)	406,5 (323,0)	1,49	77	0,014*
AUC melatonino seilėse (pg/ml/val.) (diena)	13,3 (9,1)	47,2 (57,6)	2,97	77	0,004*
AUC 6-sulfatoksimeletonino šlapime (ng/ml/val.) (diena)	24,2 (17,4)	35,1 (31,9)	1,61	77	0,110
AUC melatonino seilėse (pg/ml/val.) (naktį)	290,6 (149,4)	279,4 (213,9)	0,23	77	0,818
AUC 6-sulfatoksimeletonino (ng/ml/val.) (naktį)	421,4 (154,4)	471,8 (132,9)	-1,52	77	0,132
Slenkstinė melatonino riba seilėse (pg/ml)	2,5 (1,9)	4,0 (3,4)	1,98	67	0,052*
Slenkstinė 6-sulfatoksimeletonino riba šlapime (ng/ml)	4,8 (2,0)	3,7 (2,6)	-1,61	56	0,113
Trukmė virš apatinės melatonino ribos seilėse (val.)	9,4 (3,3)	10,9 (3,4)	1,88	67	0,063
Trukmė virš kritinės 6-sulfatoksimeletonino ribos šlapime (val.)	11,4 (2,9)	12,3 (3,0)	1,26	56	0,211

Pastaba: *skirtumai tarp grupių. Duomenų vidurkis (SD); AUC – plotas po kreive; slenkstinė riba (angl. *threshold*).

Melatonino koncentracijas koregavus pagal kūno svorį (AUC/kg kūno svorio), nustatytas neigiamas koreliacinis ryšys su amžiumi ir Tannerio stadija kiekvienoje grupėje atskirai ir sujungtoje bendroje grupėje (n = 78; amžius su: AUC MLT seilėse/svoris, $r^2 = 0,60$, $p = 0,00$, AUC aMT6s šlapime, $r^2 = 0,16$, $p = 0,0003$; Tannerio stadijos su: AUC MLT seilėse, $r^2 = 0,41$, $p = 0,00$; AUC aMT6s šlapime, $r^2 = 0,10$, $p = 0,004$) (3 pav.).



3 pav. Abiejose grupėse AUC melatonino seilėse/kūno svoriui priklausomybė nuo amžiaus (A); AUC melatonino seilėse/kūno svoriui priklausomybė nuo lytinio brendimo stadijų (B)



4 pav. Melatonino koncentracijos seilėse cirkadinis ritmas vaikams, kuriems tyrimo metu įvyko traukulių priepuoliai (priepuolio laikas atžymėtas rodykle)

Šešiems vaikams įvyko epilepsijos priepuoliai rinkimo parą. Vieno vaiko duomenys neanalizuoti, nes nesurinkti mėginiai dėl priepuolių pasikartojimo. MLT cirkadiniai profiliai buvo įvairūs ir priepuolis neturėjo pastebimos įtakos hormono koncentracijų kaitai. Dviem iš šių vaikų buvo labai didelės MLT koncentracijos seilėse naktį (117;128 pg/mg) (4 pav.).

Individuali duomenų analizė

Nė vieno tyrimuose dalyvavusio vaiko melatonino sekrecijos ir ekskrecijos ritmas nebuvo sutrikęs. Melatonino koncentracijos seilėse ir jo metabolito šlapime, jų paros profilis pasižymėjo didele įvairove tarp abiejų tiriamųjų grupių individų (3 lentelė; 1 pav.). Tolesniems palyginimams MLT koncentracijos buvo pasirinktinai sugrupuotos pagal kiekį, lygi: žemą <20 pg/ml, vidutinį 20–60 pg/ml, aukštą 60–100 pg/ml ir labai aukštą >100 pg/ml, o šlapime metabolito aMT6s lygi: žemą <60 ng/ml, aukštą >60 ng/ml. MLT koncentracijos kiekiai tarp grupių pasiskirstė lygiai, išskyrus labai didelį melatonino kiekį seilėse, kuris buvo rastas tik epilepsijos vaikų grupėje ($\chi^2 = 4,93$, $p = 0,03$). Devyniems vaikams, sergantiems generalizuota epilepsija (17,6 proc.), naktinė melatonino koncentracija seilėse siekė piką 120–200 pg/ml ribose, devyniems epilepsijos grupės vaikams MLT koncentracijos seilėse kreivė turėjo dvigubą piką.

Temperatūros paros profilis skyrėsi nuo tipišku (pikas krinta 3:00 val.) dviem iš 29 kontrolinių vaikų ir šešiems iš 51 vaiko, sergančio epilepsija: ritmas turėjo keletą pikų, akrofazės poslinkį ar sunkiai apibrėžiamą kreivę.

Melatoninas ir klinikinės koreliacijos

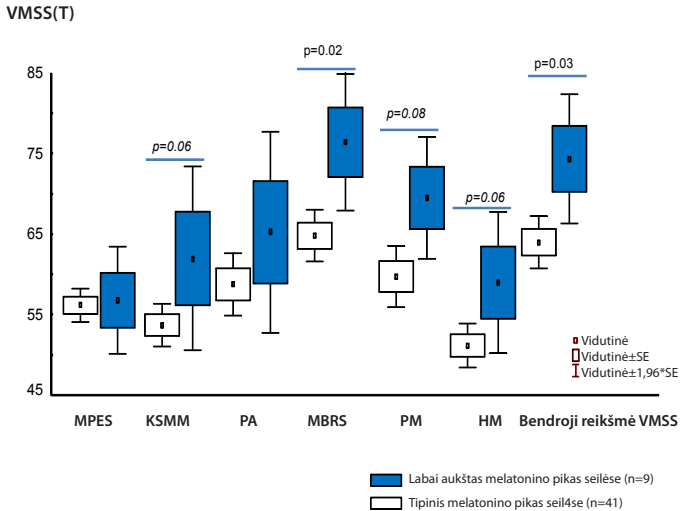
Atlikus koreliacinę analizę tarp chronologinio amžiaus, antropometrinių duomenų (ūgio, svorio, KSI) ir melatonino rodiklių (maksimalios MLT nakties koncentracijos seilėse ir jo metabolito aMT6s koncentracijos šlapime), statistiškai reikšmingų duomenų negauta nė vienoje iš šių grupių atskirai, taip pat sujungtoje grupėje, naudojant Pearsono koreliaciją (r).

ANOVA variacijos analizė (angl. *a three-way ANOVA*), įskaitant grupę (kontrolinė, epilepsijos), lytinio brendimo stadiją (stadijos – iki lytinio brendimo, lytinio brendimo, pasibaigus lytiniam brendimui) ir lyties veiksnį (B/M), parodė, kad šie veiksniai neturėjo ryšio su melatonino koncentracijomis ($F < 1$, $p > 0,5$).

Miego sutrikimai (>70 % VMSS bendros (T) reikšmės) buvo dažnesni epilepsijos grupėje (χ^2 testas: MPES (3,81) $p = 0,05$; MBRS (7,73) $p = 0,005$; bendrasis balas VMSS (12,52) $p = 0,0004$).

Nebuvo gauta patikimo ryšio tarp VMSS ir priepuolių tipo/dažnio, išskyrus miego ir budrumo ritmo sutrikimų (MBRS) pogrupį, kurio rodikliai generalizuotų epilepsijos priepuolių grupėje buvo aukštesni negu židinių epilepsijos priepuolių grupėje ($p = 0,004$).

Nebuvo aiškios koreliacijos tarp VMSS ir MLT parametrų (piko, AUC) epilepsijos grupėje, nors vaikai, kurių seilėse rasta labai didelė melatonino koncentracija, turėjo didesnes VMSS vertes negu kiti epilepsija segantys vaikai (5 pav.).



5 pav. Epilepsijos grupės vaikų melatonino koncentracijos seilėse piko palyginimas su VMSS

Tyrimo išvados

1. Epilepsija sergančių vaikų VMSS rodikliai buvo statistiškai patikimai didesni visuose miego sutrikimų pogrupiuose nei kontrolinės grupės. Labiausiai grupėse skyrėsi padidėjusio mieguistumo (PM), miego ir budrumo ritmo (MBRS), kvėpavimo sutrikimų miego metu (KSMM) skalės rodikliai. Bendros VMSS, parasomnijų (PA), hiperhidrozės (HM) gauti aukštesni balai vaikams su naktiniais priepuoliais.
2. Abiejose grupėse melatonino apykaita, išreikšta kaip ekskrecijos metabolito aMT6s kiekis kūno svorio vienetui, turėjo neigiamą ryšį su amžiumi ir lytinės brandos stadija. Ryšio tarp melatonino koncentracijų ir antropometrinių rodiklių, amžiaus, lytinės brandos stadijų nebuvo nustatyta.
3. Vaikų, sergančių epilepsija, cirkadinis melatonino sekrecijos ir ekskrecijos ritmas, kūno temperatūros, širdies ir kraujagyslių sistemos cirkadinis ritmas buvo nesutrikę.
4. Abiejose grupėse MLT sekrecijos ir ekskrecijos intensyvumas nakties metu pasižymėjo didele koncentracijų įvairove.
5. Epilepsija sergančių vaikų grupėje, nepaisant didelės naktinių koncentracijų pikų įvairovės, išsiskyrė pogrupis, kuriame maksimali naktinė MLT koncentracija seilėse buvo labai aukšta (18 proc.).
6. Epilepsija sergančių vaikų grupėje nebuvo ryšio tarp MLT rodiklių ir epilepsijos fenotipo (epilepsijos priepuolių tipo, priepuolių laiko paros metu, epilepsijos formos, VNE).

Praktinė tyrimo reikšmė

1. Svarbu laiku atpažinti ir gydyti epilepsija sergančių vaikų miego sutrikimus.
2. Parodėme, kad galima iširti vaikų melatonino ir jo metabolito aMT6s cirkadinį profilį neinvaziniais metodais. Seilių ir šlapimo rinkimas gali būti įdiegtas į klinikinę praktiką. Tyrimo rezultatai leidžia teigti, kad tikslinga tirti melatonino paros koncentracijas vaikams, sergantiems epilepsija.
3. Melatonino tyrimo metodikos ir skaičiavimas pirmą kartą įsisavintas Lietuvoje.

7 BIOGRAPHY

Name: Ruta Praninskiene
Date of birth: 22nd of April 1970
Birth place: Siauliai, Lithuania
Address: Department of Child Neurology, Children's Hospital,
Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu
Clinic, Santariskiu st. 4,
LT-08406, Vilnius, Lithuania
Phone (work): +37052492415
E-mail: ruta.praninskiene@vuvl.lt;
ruta.praninskiene@elnet.lt
Languages: lithuanian – native, german, russian, english

Medical education:

1989–1995 Vilnius University, The Faculty of Medicine,
program of pediatric studies.
1995–1997 Residentsip in Pediatrics, Department of Pediatrics,
Vilnius University, The Faculty of Medicine.
1997–1998 Residentsip in child neurology, Department of
Children's Neurology, Vilnius University Children's
Hospital; Vilnius University Faculty of Medicine.
1998–1999 Residentsip in child neurology, Department of
Children's Neurology, at Zurich University Children's
Hospital; Zurich University (Switzerland).
1999 Graduated from the Residentsip in child neurology
at Vilnius University, the Faculty of Medicine.
Since 2002 Received a Certificate of Computer
Electroencephalography Investigation and
Evaluation.
Since 2004 Received a Certificate of making botulinum toxin
injections.

Work experience:

- 1999–2003** Children neurologist at Child Development Center, Vilnius, Lithuania.
- 1999–2008** Children neurologist of Department of Child Neurology, Children's Hospital, Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinic.
- Since 2008** Chief of Department of Child Neurology, Children's Hospital, Affiliate of Vilnius University Hospital Santariskiu Clinic.
- Since 2008** Lecturer at Vilnius University Children's Diseases Clinic (lectures at the doctors training section).
- Since 2011** Assistant at the Vilnius University Faculty of Medicine, Clinic of Children's diseases.

Postgraduate training:

- 2001** Courses of Epilepsy at Munich University in Germany.
- 2002** International Courses of botulinum toxin injections in Riga, Latvia.
- 2003** Salzburg-Cornell Courses of Neurology in Nida, Lithuania.
- 2003** Courses of clinical neurophysiology (encephalography and electroneuromiography) for the Baltic countries in Vilnius, Lithuania.
- 2004** Courses on Epilepsy in Slovenia, Portoroz.
- March 2004** Internship at Bern University Hospital, the Laboratory of Sleep Disorders and Epilepsy.
- August 2007** The Baltic Sea summer school of Epilepsy in Druskininkai, Lithuania.
- October 2008** International Courses of sleep disorders in Vilnius, Lithuania.

- June 2009** The Baltic Sea summer school of Epilepsy in Kiel, Germany.
- March–May 2010** Courses of statistical processing methods of scientific results at Vilnius University.
- August 2010** Migrating Courses of Epilepsy in Serock, Poland.
- September 2011** The 4th Eilat International Courses: pharmacological treatment of epilepsy, Israel.

Professional affiliation:

Member of Pediatric Neurologists Society of Lithuania; Member of Pediatric Neurologists association of the Baltic Countries; Member of Neurologists Society of Vilnius region; Member of Clinical Physiologists Society of Lithuania; Member of the Neuroscience association of Lithuania. Since 2005 to date – specialist adviser at the Ministry of Health in Lithuania.

