

Katarina Mlekuš¹, Barbara Gnidovec - Stražičar², David Neubauer³

Ontogeneza cirkadianega ritma dejavnosti in počivanja ter ritma izločanja melatonina pri dojenčkih z navidezno življenjsko ogrožajočim dogodkom (NŽOD)

Ontogenesis of Rest-Activity Rhythm and Melatonin Excretion Rhythm in Infants with Apparent Life Threatening Event (ALTE)

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: melatonin – izločanje, cirkadni ritem, spanje, budnost, nenadna smrt dojenčka

Izhodišča. Ontogenezo ritma dejavnosti in počivanja ter ritma izločanja melatonina v zgodnjem življenjskem obdobju so do sedaj obravnavali ločeno, neposredne povezanosti med njima v prvih 6 mesecih življenja pa še niso opredelili. Pri dojenčkih z navidezno življenjsko ogrožajočim dogodkom (NŽOD) je bila ugotovljena zakasnjena ontogeneza ritma izločanja melatonina, razvoj ritma budnosti in spanja pa naj bi bil pri dojenčkih z NŽOD enak kot pri zdravih dojenčkih. Namen. Opredeliti, ali obstaja povezanost med ritmom dejavnosti in počivanja ter ritmom izločanja melatonina v prvih šestih mesecih življenja in preveriti, ali se razvoj ritmov v naši skupini dojenčkov z NŽOD razlikuje od razvoja obeh ritmov pri zdravih dojenčkih. Preiskovanci in metode dela. V raziskavo je bilo vključenih 42 dojenčkov, ki so bili sprejeti zaradi NŽOD. Starost dojenčkov ob dogodku je bila od 0 do 28 tednov (povprečje $8,6 \pm 5,5$). Prvi obravnavi je sledilo prospektivno spremljanje dojenčkov v starosti 3, 4 in pol ter 6 mesecev. Vselej se je opravilo 24-urno aktimetrijo in zbiranje urina v 4-urnih časovnih intervalih za določitev glavnega razgradnega produkta melatonina v seču, 6-sulfatoksimeletonina (6SMT). Podatke smo statistično analizirali s splošnim linearnim modelom, dvosmerno ANOVA analizo po Friedmanu, Tukey-Kramerjevimi post-hoc testi, Wilcoxonovim testom predznačenih rangov in s Spearmanovim korelacijskim koeficientom. Rezultati. Med hitrostjo izločenega 6SMT in povprečnim indeksom telesne aktivnosti v nobeni od starostnih skupin ni bilo povezanosti (Spearmanov korelacijski koeficient: $r_s = -0,088$ in $p = 0,483$ v 1. mesecu, $r_s = 0,070$ in $p = 0,543$ v 2. mesecu, $r_s = -0,041$ in $p = 0,800$ v 3. mesecu, $r_s = -0,147$ in $p = 0,437$ pri 4 in pol mesecih, $r_s = -0,148$ in $p = 0,139$ v 6. mesecu starosti). Cirkadiani vpliv na ritem izločanja 6SMT je bil prisoten v 3. mesecu starosti (enosmerni Wilcoxonov test predznačenih rangov: $p < 0,001$), na ritem dejavnosti in počivanja pa v 2. mesecu starosti (enosmerni Wilcoxonov test predznačenih rangov: $p < 0,0002$). Zaključek. Med ritmom izločanja melatonina ter ritmom dejavnosti in počivanja v prvih šestih mesecih življenja nismo ugotovili povezanosti pri skupini dojenčkov z NŽOD, ki se pri ločeni analizi razvoja ritmov ni bistveno razlikovala od zdravih dojenčkov.

¹ Katarina Mlekuš, absolventka medicine, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova 2, 1000 Ljubljana.

² Asist. dr. Barbara Gnidovec - Stražičar, dr. med., Oddelek za otroško, mladostniško in razvojno nevrologijo, SPS Pediatrična klinika, Vrazov trg 1, 1000 Ljubljana.

Inštitut za klinično nevrofiziologijo, SPS Nevrološka klinika, Zaloška 7, 1000 Ljubljana.

³ Prof. dr. David Neubauer, dr. med., Oddelek za otroško, mladostniško in razvojno nevrologijo, SPS Pediatrična klinika, Vrazov trg 1, 1000 Ljubljana.

ABSTRACT

KEY WORDS: melatonin – secretion, circadian rhythm, sleep, wakefulness, sudden infant death

BACKGROUND: So far the ontogenesis of the rest-activity rhythm and melatonin excretion rhythm in infants have been treated separately and no direct correlation between them in the first six months of life has been defined. In infants with apparent life threatening event (ALTE) the delayed ontogenesis of melatonin excretion rhythm has been proved, whereas the ontogenesis of rest-activity rhythm has been defined to be identical to that of healthy infants. **AIM:** The aim of this study is to find out if any correlation between the rest-activity rhythm and melatonin excretion rhythm in the first six months of life exists and to test if the ontogenesis of the two rhythms in infants with ALTE differs from that of healthy infants. **SUBJECTS AND METHODS:** The study involved 42 infants who were admitted to the Department of Child, Adolescent & Developmental Neurology of the University Children's Hospital in Ljubljana due to the apparent life threatening event (ALTE). The average age of the infants at the time of the event was from 0 to 28 weeks (average 8.6 ± 5.5). After the first evaluation they were followed-up at 3, 4.5 and 6 months. In addition, 24-hour actigraphic recording of infants' body movements was made regularly and urine was collected in 4-hour intervals to measure melatonin's main degradation product in urine 6-sulphatoxymelatonin (6SMT). The data was analysed by general linear model, the Tukey-Kramer post-hoc tests, the Wilcoxon signed rank test, the Friedman two-way ANOVA and the Spearman's correlation coefficient. **RESULTS:** No correlation was found in any of the age groups between the speed of excretion of 6SMT and the average index of activity (the Spearman's correlation coefficient: $r_s = -0.088$ and $p = 0.483$ at one month, $r_s = 0.070$ and $p = 0.543$ at two months, $r_s = -0.092$ and $p = 0.562$ at three months, $r_s = -0.147$ and $p = 0.437$ at four-and-a-half months, $r_s = -0.148$ and $p = 0.139$ at six months). Circadian influence on 6SMT excretion was present in the third month (one-way, the Wilcoxon signed rank test: $p < 0.001$) and a circadian influence on rest-activity was present in the second month (one-way, the Wilcoxon signed rank test: $p < 0.0002$). **CONCLUSION:** The separate analysis of the melatonin excretion rhythm and the rest-activity rhythm in the first six months of life in infants with ALTE established no correlation between the two rhythms. Besides, it was determined that there is no significant difference in the ontogenesis of the two rhythms between infants with ALTE and the healthy infants.

UVOD

Cirkadiani ritmi so endogeno vodeni ritmi s periodo, dolgo približno 24 ur. Večinoma sledijo ritmu notranje biološke ure, ki jo predstavlja parno suprahiazemsko jedro v sprednjem delu hipotalamusa (1). Cirkadiani ritem dejavnosti in počivanja ter ritem izločanja melatonina sta poleg cirkadianega ritma temperature najpomembnejša kazalca delovanja notranje ure (2). V vsakdanjem življenju se cirkadiani ritmi najočitneje izražajo z ritmičnim izmenjavanjem dejavnosti in počivanja oziroma budnosti in spanja, kar je običajno usklajeno z izmenjavanjem dneva in noči v okolju (3). V prvih 6 mesecih življenja spanje zavzema večino vsega časa (4). Novo-

rojenčki spijo približno 16 ur dnevno, pri čemer posamezna obdobja spanja trajajo največ 4 ure in so enakomerno razporejena preko 24-urnega dnevnega cikla (5). Pravimo, da prevladuje ultradiani nadzor ritma budnosti in spanja (6). Približno pri treh tednih se začne postopoma izražati vpliv cirkadianega ritma, ki se popolnoma razvije do starosti 3. mesecev (7). Pri dojenčkih z NŽOD so ugotovili spremenjen razvoj strukture spanja (8), razvoj ritma budnosti in spanja pa se pri njih ne razlikuje od razvoja pri zdravih dojenčkih (9).

Endokrino se usklajenost s svetlobnimi razmerami v okolju najočitneje izraža v ritmu izločanja melatonina, imenovanega tudi hormon teme (10). Pri novorojenčkih so prisotne

visoke koncentracije melatonina v krvnem obtoku, vendar že v prvem tednu padejo na komaj zaznavne vrednosti (11). Od takrat dalje postopoma naraščajo, cirkadiani ritem se vzpostavi pri starosti 3. mesecev (12–13). Statistično pomembne razlike v izločanju melatonina med različnimi časovnimi intervali so prisotne že pri starosti od 27 do 41 dni (14). Pri dojenčkih s taksonomsko hudo stopnjo NŽOD* so ugotovili zakasnjeno ontogenezo izločanja melatonina (15), enako tudi pri dojenčkih z idiopatskim NŽOD (9).

NŽOD (angl. *Apparent Life Threatening Event – ALTE*) pri dojenčku so leta 1986 opredelili kot dogodek, za katerega je značilno prenehanje dihanja (centralna ali občasno obstruktivna apneja) v kombinaciji s spremembo barve kože (običajno cianoza ali bledica, občasno rdečica ali pletora), izrazito spremembo v mišičnem tonusu (običajno huda ohlapnost) in z zaletavanjem ali dušenjem. Za starša oz. skrbnika je tak dogodek zastrašujoč, ker se mu lahko zdi, da je dojenček umrl (16). Za prekinitev dogodka je občasno potrebno celo oživljanje, zato je včasih veljalo prepričanje, da so otroci z NŽOD »rešenčki NNSD«. NNSD (angl. *sudden infant death syndrome – SIDS*) je opredeljena kot nenadna smrt otroka, mlajšega od enega leta, ki je ostala nepojasnjena po temeljiti preiskavi s popolno avtopsijsko, pregledom mesta dogodka in otrokove zdravstvene kartoteke (17). Med najbolj ogroženimi za pojav NNSD so ravno dojenčki z NŽOD, še posebej s t. i. idiopatsko obliko NŽOD oziroma sindromom dojenčkove apneje, saj je pri njih verjetnost za NNSD od dva do petkrat večja kot v splošni populaciji dojenčkov (18).

Neposredno primerjavo med ritmom izločanja melatonina in ritmom spanja v prvem letu življenja so do sedaj obravnavali le Sadeh in sod. Ugotovili so, da melatonin igra pomembno vlogo v razvoju ritma budnosti in spanja pri zdravih dojenčkih, starih od 7 do 9,5 mesecev (19). V naši študiji smo želeli opredeliti povezanost ritma dejavnosti in počivanja ter ritma izločanja melatonina v prvih šestih mese-

cih življenja pri dojenčkih z NŽOD in hkrati opredeliti, ali se razvoj posameznega ritma pri teh dojenčkih razlikuje od razvoja pri zdravih dojenčkih.

NAMEN

Razvoj ritma izločanja melatonina ter razvoj ritma dejavnosti in počivanja sta bila vselej obravnavana ločeno. Doslej še ni bila opravljena študija, ki bi neposredno določila njuno povezanost v zgodnjem življenjskem obdobju. Tako tudi ni jasno, ali lahko na podlagi zakasnjene ontogeneze enega cirkadianega ritma sklepamo na motnje v razvoju drugih. Namen naše naloge je preveriti, ali se zakasnenost razvoja cirkadianega ritma melatonina pri dojenčkih z NŽOD odraža tudi v zakasnjem razvoju njihovega cirkadianega ritma dejavnosti in počivanja ter opredeliti, ali obstaja povezanost med ritmom dejavnosti in počivanja ter ritmičnim izločanjem melatonina v prvih šestih mesecih življenja.

HIPOTEZI

- Pri dojenčkih z NŽOD je ontogeneza cirkadianega ritma izločanja melatonina zakasnjena, medtem ko je cirkadiani vpliv na njihov ritem dejavnosti in počivanja prisoten že ob koncu prvega meseca starosti.
- Ritem izločanja melatonina ter ritem dejavnosti in počivanja v prvih šestih mesecih življenja nista povezana.

METODE

Preiskovanci

Naša študija je bila del širše raziskave (9), ki je potekala od 1.9.2003 do 31.1.2005 na Kliničnem oddelku za otroško, mladostniško in razvojno nevrologijo Pediatrične klinike v Ljubljani. Vanjo so bili vključeni dojenčki, ki so bili v tem času sprejeti na omenjeni oddelek zaradi NŽOD in katerih starši so soglašali s sodelovanjem v raziskavi. V 17 mesecih je bilo v raziskavo vključenih 42 dojenčkov.

* Taksonomski profil NŽOD, modificiran po Flemingu (citac: Fleming DG. A proposed taxonomy for the classification of ALTEs. *Ped Pulmol* 1995; 20: 336.), s pomočjo katerega se lahko oceni stopnjo resnosti dogodka preko ovrednotenja intenzitete štirih značilnih znakov NŽOD (dihanje, barva kože, nevrološki status, za prekinitev dogodka potreben ukrep).

Med njimi je bilo 23 deklic in 19 dečkov. Vsi razen šestih so bili donošeni. Gestacijska starost nedonošenčkov je bila od 32 do 36 tednov (povprečje $35 \pm 1,4$). Vsi nedonošenčki so bili rojeni po spontanem razpoku plodovih ovojev, pri čemer sta bila dva rojena po večplodni nosečnosti po postopku zunajtelesne oploditve. Porodna teža nedonošenčkov je bila od 1500 do 2690 g (povprečje $2550 \text{ g} \pm 198 \text{ g}$), donošenih otrok pa od 2550 g do 4500 g (povprečje $3257 \text{ g} \pm 667 \text{ g}$). Štirje otroci so bili majhni (porodna teža pod 10. percentilom), štirje pa veliki (porodna teža nad 90. percentilom) za gestacijsko starost.

Nihče izmed preiskovancev ni imel sorodnika z NŽOD, v nobeni družini tudi ni bilo nenadno in nepričakovano umrlih otrok. Štirje nedonošenčki in ena donošena dojenčica so bili pred NŽOD zaradi perinatalnih dejavnikov tveganja vključeni v razvojno-nevrološko obravnavo, vendar nihče od preiskovancev pred nastopom NŽOD ni bistveno odstopal glede na zgodnji umsko-gibalni razvoj (razvojni kvocient pod 75). Nihče izmed preiskovancev v obdobju pred NŽOD tudi ni prejemal zdravil, ki bi vplivala na njihovo izločanje melatonina. 28 preiskovancev je bilo polno dojenih, 10 pa hranjenih s prilagojenim mlekom. Vsi so bili hranjeni na zahtevo in ne ob rednih časovnih obdobjih. 28 jih je doma spalo v popolni temi, 14 pa v blago osvetljenem spalnem prostoru.

Staršem sta bila namen in zasnova raziskave podrobno pojasnjena, za sodelovanje njihovega otroka v raziskavi pa so morali dati tudi pisno soglasje. Pri načrtovanju in izvedbi raziskave so bila upoštevana načela Helsinške deklaracije o raziskovalnem delu v medicini. Raziskavo je odobrila Komisija za medicinsko etiko Republike Slovenije na svoji seji 10. 2. 2004 (dopis št. 51/02/04).

Metode dela

Vse obravnave dojenčkov z NŽOD so bile enodnevne in so potekale bolnišnično, zato so bili vsi dojenčki v času preiskav izpostavljeni enakim pogojem. Sobe, v katerih so ležali, na oknih nimajo rolet, zato so bili popolnoma izpostavljeni dnevni svetlobi. Ponoči so bile luči ugasnjene, kadar je bilo potrebno, so se prižgale luči v sosednji sobi. Prvi klinični obravnavi ob dogodku je sledilo prospektiv-

no spremljanje dojenčkov v starostnem obdobju 3, 4,5 ter 6 mesecev. Pri vseh preiskovancih smo poleg rutinskih preiskav za vzročno opredelitev NŽOD opravili tudi 24-urno aktimetrijo ter 24-urno zbiranje urina za določitev razgradnega produkta melatonina, 6-sulfatoksimeletonina (6SMT). Število aktimetrskih meritev je bilo manjše od števila meritev izločanja 6SMT, saj se je v primeru hkratnega sprejema dveh dojenčkov z NŽOD aktimeter lahko uporabilo le pri enem. Če so preiskovanci na dan predvidenega ponovnega sprejema akutno zboleli, so pregled ob predpisani starosti izpustili. Na oddelek so bili sprejeti takoj po ozdravitvi, vendar zaradi različnih starosti njihovih podatkov navadno nismo mogli upoštevati pri kasnejši analizi. Raziskavo je v celoti zaključilo 30 preiskovancev, 12 pa jih je iz raziskave izstopilo predčasno.

Ritem izločanja melatonina

Ritem izločanja melatonina smo opredelili z merjenjem njegovega glavnega razgradnega produkta v urinu, 6-sulfatoksimeletonina (6SMT), za katerega je dokazano, da se dobro ujema z nivoji melatonina v krvi (20). 24-urni urin smo vselej zbirali ločeno v šestih 4-urnih časovnih intervalih s pričetkom ob 16 h. Otroci so imeli pod pleniciami nameščene otroške samolepilne urinske vrečke, ki se jih je menjalo po potrebi. Vsake 4 ure se je izmerilo volumen v tem času izločenega urina. 5 ml zamrznjenega (-20°C) vzorca se je nato poslalo v laboratorij v Bronu (Service de Radioanalyse, Centre de Médecine Nucléaire, Hôpital Neurologique, Bron, Francija), kjer so z metodo RIA določili količino 6-sulfatoksimeletonina. V primeru uhajanja urina iz vrečke smo količino izločenega urina določili s tehtanjem plence. Kadar se je urin kontaminiral z blatom, se je vzorec izključilo iz obravnave.

Ritem dejavnosti in počivanja

Za določanje ritma dejavnosti in počivanja smo uporabili 24-urno aktimetrijo in dnevniške otrokove aktivnosti. Vsi aktimetrski postopki so bili narejeni v bolnišničnem okolju. Vsakokrat smo naredili 24-urni posnetek z aktimetrom ActiWatch (Cambridge Neurotechnology Ltd., Cambridgeshire, Velika

Britanija). Zanesljivost njegovih meritev je bila določena v validacijski študiji (21). Naprava tehta 16 g, zaznava pospeške, ki so večji od 0,05 g, ima največjo frekvenco vzorčenja 32 Hz in 64 kilobajtov notranjega spomina. Izbrali smo epoho, dolgo 30 s. Aktimeter se je pritrnilo na levi gleženj, saj se je izkazalo, da je to v primerjavi z namestitvijo na zapestje za otroka manj moteče (22). Po vsakem snemanju se je aktimetske podatke iz notranjega spomina preneslo na računalnik in shranilo za nadaljnjo analizo. Za pravilno interpretacijo rezultatov aktimetrije je potrebno poznati obdobja, ko je bilo otroku gibanje vsiljeno. Zato je med aktimetrskim snemanjem otroka spremljal eden od staršev oz. skrbnikov, ki je vodil dnevnik otrokove aktivnosti, in ob vsakem prenašanju, zibanju, hranjenju, previjanju in kopanju dojenčka ter ob odstranitvi aktimetra pritisnil na gumb na napravi in v dnevnik zapisal čas dogodka.

Obdelava podatkov

Ritem izločanja melatonina

Hitrost izločanja 6SMT v urinu smo izrazili v ng/h, pri čemer smo predvidevali enakomerno hitrost izločanja v vsakem 4-urnem časovnem intervalu. Če dojenčki v posameznem 4-urnem obdobju niso urinirali, smo določili 6SMT v urinu iz naslednjega 4-urnega obdobja in predpostavili enakomerno izločanje preko celotnih 8 ur. Kadar se je urin kontaminiral z blatom, se je vzorec izključilo iz obravnave in tako je 8,35% vrednosti v podatkih manjkalo. Če so pri posameznih 24-urnih meritvah manjkali podatki v treh ali več časovnih intervalih ali v dveh zaporednih časovnih intervalih, se meritev ni vključilo v analizo, do česar je prišlo v 19 primerih.

Ritem dejavnosti in počivanja

Aktimetrosko merjena dejavnost in počivanje se izražata kot povprečni indeks telesne aktivnosti, ki meri število in jakost telesnih gibov v minuti. Vrednosti povprečnega indeksa telesne aktivnosti smo iz aktimetru priloženega programa (CNT Actiwatch Activity & Sleep Analysis 5, različica 5,38) prenesli v preglednice in jih tam pripravili za nadaljnjo obravnavo. S pomočjo dnevniških zapisov je bilo mogoče poiskati in odstraniti obdobja, ko

je bila motorična aktivnost dojenčkov prekri-ta z zunanjim oziroma vsiljenim gibanjem. Preostale vrednosti povprečnega indeksa telesne aktivnosti so bile v skladu z meritvami 6SMT razdeljene v 4-urne časovne intervale. V različnih časovnih intervalih je bilo število odstranjenih meritev različno, zato smo povprečja vsakega 4-urnega intervala obtežili glede na število ohranjenih meritev.

Statistična analiza

Statistične analize so bile opravljene v programih NCSS (angl. *Number Cruncher Statistical System 2004*) in SPSS (angl. *Statistical Package for the Social Sciences*, različica 13,0). Manjkajoče vrednosti izločenega 6SMT smo nadomestili z linearno interpolacijo. Tako dobljene podatke smo primerjali s prvotnimi s pomočjo Wilcoxonovega testa predznačenih rangov, ki ni pokazal razlik ($z = 0,00$ in $p = 1,000$). Testi normalnosti porazdelitve za posamezne časovne intervale so pokazali nenormalno porazdelitev s Shapiro-Wilk W vrednostmi med 0,449 in 0,800 pri hitrosti izločanja 6SMT in 0,678 in 0,927 pri povprečnem indeksu telesne aktivnosti, zato smo se odločili za uporabo neparametričnih testov. Vrednosti p , manjše od 0,05, smo privzeli kot statistično značilne.

Za opredelitev ontogeneze ritma izločanja 6SMT in ontogeneze ritma dejavnosti in počivanja, ob kateri bi sočasno upoštevali starostno skupino otrok, vpliv posamičnega otroka in časovni interval, smo uporabili splošni linearni model, ki je vključeval dvosmerne interakcije, ne pa tudi večsmernih. Starostno skupino smo upoštevali kot neponovljeno meritev, časovni interval kot ponovljeno meritev in posamičnega otroka kot vgnezdno spremenljivko. Razlike med starostnimi skupinami smo naknadno primerjali s Tukey-Kramerjevimi post-hoc testi. Za določitev razlik med časovnimi intervali v posameznih starostnih skupinah smo uporabili dvosmerno ANOVA analizo po Friedmanu, posamezne pare 4-urnih intervalov pa smo primerjali s Tukey-Kramerjevimi post-hoc testi. Velikost razlik med posameznimi pari meritev smo ocenili tudi s pomočjo intervalov zaupanja, pridobljenih s Tukey-Kramerjevo metodo.

Vzpostavitev cirkadianega ritma izločanja 6SMT smo določili pri tisti starosti, pri kateri

so bile nočne (20–8 h) vrednosti hitrosti izločanja 6SMT pomembno večje od dnevnih (8–20 h). Obratno smo vzpostavitev cirkadianega ritma dejavnosti in počivanja določili pri tisti starosti, pri kateri so bile dnevne (8–20 h) vrednosti indeksa aktivnosti pomembno večje od nočnih (20–8 h). Pri primerjavi nočnih in dnevnih vrednosti izločenega 6SMT ter nočnih in dnevnih vrednosti povprečnega indeksa telesne aktivnosti v posameznih starostnih skupinah smo uporabili Wilcoxonov test predznačenih rangov.

Primerjave med hitrostjo izločanja 6SMT in povprečnimi indeksi telesne aktivnosti v vsaki posamezni starostni skupini smo izračunali s Spearmanovim korelacijskim koeficientom, pri čemer smo lahko v analizo vključili le dojenčke, ki so imeli v posameznem starostnem obdobju opravljeno tako aktimetrijo kot tudi meritve izločenega 6SMT. Pri tem smo predpostavili, da so dobljene vrednosti neodvisne, in zanemarili vpliv ponovljenih meritev pri posameznih dojenčkih.

REZULTATI

Ločena analiza ritma izločanja melatonina ter ritma dejavnosti in počivanja

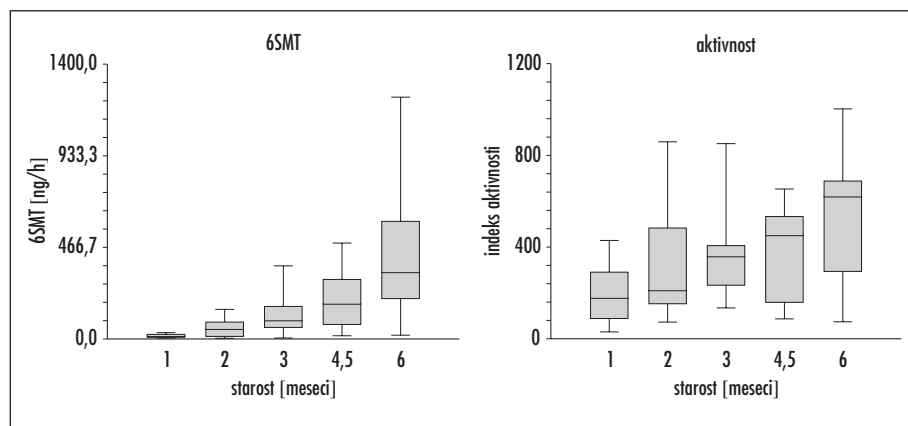
Razlike med starostnimi skupinami

Starostne skupine so se medsebojno značilno razlikovale tako po hitrosti izločanja 6SMT

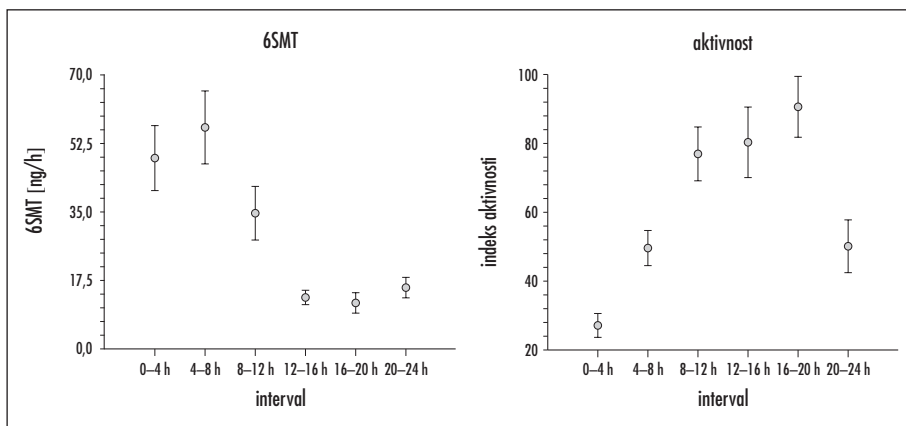
kot tudi po povprečnem indeksu telesne aktivnosti (dvosmerni splošni linearni model, v obeh primerih $p < 0,001$) (slika 1). Hitrost izločanja 6SMT je bila v skupini najmlajših dojenčkov statistično značilno manjša kot pri 3 mesece starih in starejših dojenčkih. Dvomesečni dojenčki so se po hitrosti izločanja 6SMT razlikovali od 4,5 meseca starih in od najstarejših dojenčkov, 3 ter 4,5 meseca stari dojenčki pa so se razlikovali le od najstarejših dojenčkov. Povprečni indeks telesne aktivnosti je bil v skupini najmlajših dojenčkov statistično značilno manjši od povprečnega indeksa v vseh ostalih starostnih skupinah. Skupine 2, 3 ter 4,5 mesecev so se po povprečnem indeksu telesne aktivnosti značilno razlikovale le od skupine najstarejših dojenčkov.

Razlike med časovnimi intervali

Časovni intervali so se medsebojno razlikovali tako po hitrosti izločanja 6SMT kot tudi po povprečnem indeksu telesne aktivnosti (dvosmerni splošni linearni model: v obeh primerih $p < 0,001$) (slika 2). V časovnih intervalih 0–4 h in 4–8 h so bile izmerjene tako največje hitrosti izločanja 6SMT kot tudi najmanjši povprečni indeksi telesne aktivnosti. Visoka hitrost izločanja 6SMT je bila v obdobju od polnoči do poldneva. Najvišja je bila v celotnem obdobju od polnoči do 8 h, saj razlika med časovnima intervaloma 0–4 h in 4–8 h ni preseгла praga statistične značilno-



Slika 1. 24-urne vrednosti hitrosti izločanja 6SMT in povprečnega indeksa telesne aktivnosti pri dojenčkih z NŽOD v različnih starostih. Prikazane so mediane, interkvartilni razmiki ter vrednosti znotraj 1,5-kratnega produkta interkvartilnega razmika.



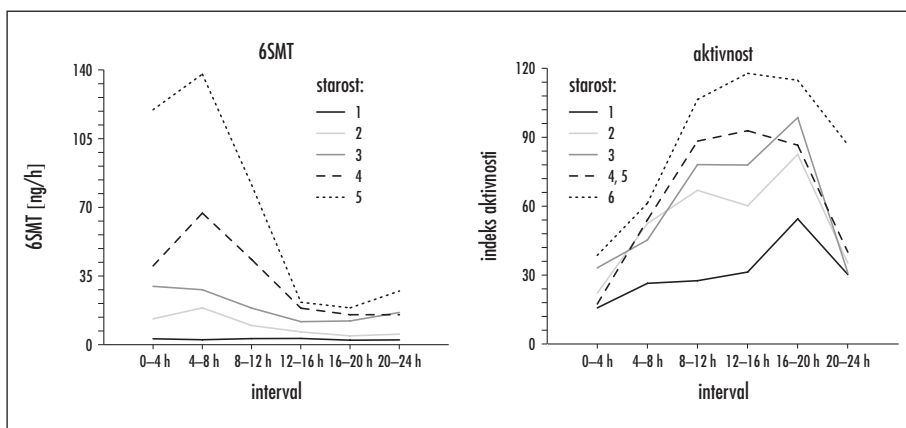
Slika 2. Vrednosti hitrosti izločanja 6SMT in povprečnega indeksa telesne aktivnosti v posameznih časovnih intervalih za vse starostne skupine dojenčkov z NŽOD hkrati. Prikazana so povprečja in standardni odkloni.

sti. Povprečni indeks telesne aktivnosti je bil nizek v obdobju od 20 h do 8 h. Najnižji je bil v časovnem intervalu 0–4 h in se je v približno enaki meri razlikoval od obeh sosednjih intervalov (20–24 h in 4–8 h).

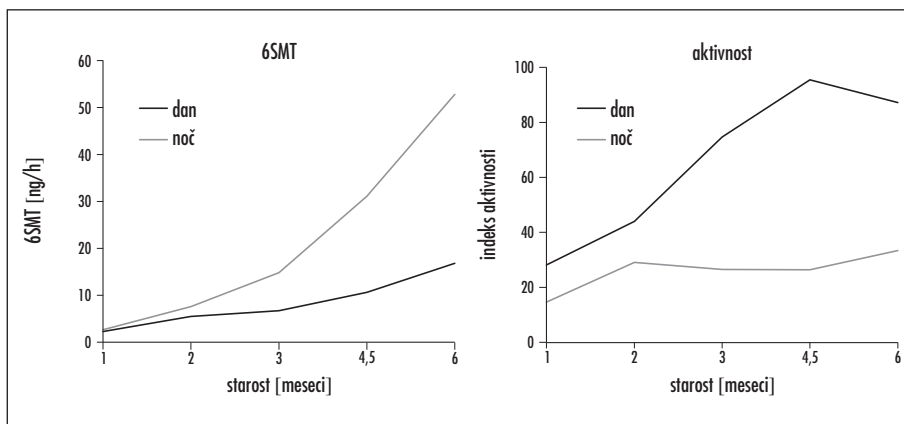
Sočasen vpliv starosti in časovnega intervala

Časovni intervali kot celota so se tako po hitrosti izločanja 6SMT kot tudi po povprečnem indeksu telesne aktivnosti statistično značilno razlikovali pri treh mesecih starosti. Posamezni pari časovnih intervalov so se po hitrosti izločanja 6SMT statistično značilno razliko-

vali že pri dveh mesecih, po povprečnem indeksu telesne aktivnosti pa že v prvem mesecu starosti. Sovplivanje oziroma interakcija med starostno skupino in časovnim intervalom je bila statistično značilna pri ritmu izločanja 6SMT (dvosmerni splošni linearni model: $p < 0,001$), ni pa bila značilna pri ritmu dejavnosti in počivanja (dvosmerni splošni linearni model: $p = 0,882$) (slika 3). To je bilo razvidno tudi iz velikosti razlik med posameznimi pari časovnih intervalov, ki so bile pri hitrosti izločanja 6SMT z naraščajočo starostjo vedno večje, pri povprečnem indeksu telesne aktivnosti pa so bile pri vseh starostnih skupinah bolj ali manj enake.



Slika 3. Spreminjanje vrednosti hitrosti izločenega 6SMT in povprečnega indeksa telesne aktivnosti pri dojenčkih z NŽOD v različnih starostnih skupinah glede na časovne intervale. Prikazane so povprečne vrednosti.



Slika 4. Dnevne (8–20 h) in nočne (20–8 h) vrednosti povprečnega indeksa telesne aktivnosti in hitrosti izločanja 6SMT pri dojenčkih z NŽOD v različnih starostih. Prikazane so mediane vrednosti. $p < 0,05$

Razlike med dnevom in nočjo

Cirkadiani ritem izločanja 6SMT se je vzpostavil pri starosti 3 mesecev, saj so bile nočne (20–8 h) vrednosti hitrosti izločanja 6SMT takrat pomembno večje od dnevnih (8–20 h) in (slika 3). Cirkadiani ritem dejavnosti in počivanja se je vzpostavil pri starosti 2 mesecev, saj so bile dnevne (8–20 h) vrednosti povprečnega indeksa telesne aktivnosti takrat pomembno večje od nočnih (20–8 h) (slika 3).

Primerjava med ritmom izločanja melatonina ter ritmom dejavnosti in počivanja v prvih 6 mesecih življenja

Korelacija med hitrostjo izločanja 6SMT in povprečnim indeksom telesne aktivnosti v nobeni od starostnih skupin ni bila statistično značilna (slika 4).

RAZPRAVLJANJE

V študiji smo poskušali opredeliti povezanost ontogeneze ritma dejavnosti in počivanja ter ritma izločanja melatonina v prvih šestih mesecih življenja. Pri tem smo ritma tudi ločeno analizirali, da bi preverili, ali se razvoj posameznega ritma v naši skupini dojenčkov z NŽOD razlikuje od razvoja pri zdravih dojenčkih. Vzpostavitev cirkadianega ritma smo določili pri tisti starosti, pri kateri so se dnevne (8–20 h) vrednosti statistično značilno razlikovale od nočnih (20–8 h). Pri ritmu

izločanja melatonina se je to zgodilo pri starosti 3 mesecev, kar se ujema z ontogenezo ritma pri zdravih dojenčkih. Zakasnen razvoj so do sedaj ugotovili pri dojenčkih z idiopatskim NŽOD (9) in pri dojenčkih s taksonomsko hudo stopnjo NŽOD (15). V naši študiji dojenčkov nismo ločeno obravnavali glede na vzročno opredeljenost, takšnih s taksonomsko hudo stopnjo NŽOD pa je bilo le 9,52%. Razlike v povprečnem indeksu telesne aktivnosti med dnevom in nočjo so bile statistično značilne v 2. mesecu starosti, blizu statistične značilnosti pa so bile že v 1. mesecu, ko sta se statistično značilno razlikovala tudi časovna intervala z najmanjšo (0–4 h) in največjo (16–20 h) telesno aktivnostjo. Na podlagi tega sklepamo, da tudi razvoj ritma dejavnosti in počivanja pri naši skupini dojenčkov z NŽOD ni bistveno odstopal od razvoja ritma pri zdravih dojenčkih. Do sedaj so v svoji študiji obravnavali povezanost obeh cirkadianih ritmov le Sadeh in sod. (19).

Ugotovili so, da se pri zdravih dojenčkih, starih od 7,5 do 9 mesecev, izločanje 6SMT ujema tako s časom nastopa spanja kot tudi s kvaliteto spanja in zaključili, da ima melatonin pomembno vlogo pri razvoju ritma budnosti in spanja (19). V našo študijo so bili vključeni mlajši dojenčki in izkazalo se je, da povezanost med ritmom dejavnosti in počivanja ter ritmom izločanja melatonina v nobeni od starostnih skupin ni bila statistično pomembna. V vseh starostnih skupinah

razen v dvomesečni je bilo nakazano obratno sorazmerje med povprečnim indeksom telesne aktivnosti in hitrostjo izločanja 6SMT. To obratno sorazmerje je predvsem odraz ujemanja nizkega povprečnega indeksa telesne aktivnosti in visoke hitrosti izločanja 6SMT v časovnem obdobju od polnoči do 8 h zjutraj. Takšnega ujemanja pa nismo zasledili v večernih in dopoldanskih časovnih intervalih. V časovnem intervalu od 20 h do 24 h je bil povprečni indeks telesne aktivnosti pomembno nizek že v 3. mesecu starosti, medtem ko značilnega porasta hitrosti izločanja 6SMT v tem časovnem obdobju ni bilo moč zaslediti niti pri šestmesečnih dojenčkih. Podobno je bil v časovnem intervalu od 8. do 12. ure povprečni indeks telesne aktivnosti pomembno visok že pri dvomesečnih dojenčkih, medtem ko je bila hitrost izločanja 6SMT še pri starosti 6 mesecev značilno višja od hitrosti v sledečih časovnih intervalih. Neujemanje med povprečnim indeksom telesne aktivnosti ter hitrostjo izločanja 6SMT v večernih in dopoldanskih časovnih intervalih je lahko posledica našega načina dela. V študiji smo uporabili neinvaziven pristop, ki je omogočil le grobo oceno izločanja melatonina. Merili smo koncentracijo 6SMT v urinu v 4-urnih časovnih intervalih in pri tem predvidevali enakomerno hitrost njegovega izločanja v vsakem od intervalov. Znotraj večernih (20–24 h) in dopoldanskih (8–12 h) časovnih intervalov je najverjetneje prišlo do velikih sprememb v hitrosti izločanja melatonina, ki se v povprečnih vrednostih niso izražale. Veliko bolj dosledno oceno bi omogočilo pogosto merjenje melatonina v plazmi, ki bi predvidoma pokazalo tudi velika nihanja v hitrosti izločanja melatonina v večernih in dopoldanskih časovnih intervalih (10). Takšna metoda bi omogočila tudi boljše ugotavljanje povezanosti ritma izločanja melatonina z ritmom dejavnosti in počivanja. Ob velikem številu ponovljenih meritev bi namreč lahko določili avtokorelacijo za vsako spremenljivko posebej in potem tudi križno korelacijo med njima. Seveda pa je pogosto merjenje melatonina v plazmi pri dojenčkih etično precej prapršljivo in težko izvedljivo.

Urnavanje cirkadianega ritma izločanja melatonina je relativno enostavno in doslej najboljše raziskano. Urnavanje drugih cirka-

dianih ritmov pa je bolj kompleksno in še ni povsem razjasnjeno. Tudi medsebojno vplivanje in povezanost različnih cirkadianih ritmov je le nakazana. Povsem jasno je le, da ima NCS jedro pri tem pomembno vlogo, saj obojestranska lezija tega parnega jedra povzroči izgubo vseh cirkadianih ritmov (23). Vendar pa zadnje študije kažejo (24), da so tudi znotraj NCS jedra nevroni ozko specializirani. Lezije eferentnih poti iz kavdalnega dela jedra povzročijo izgubo cirkadianega ritma dejavnosti in počivanja, pri tem pa cirkadiani ritem temperature ostane nespremenjen (24). Možno je torej, da tudi ritem dejavnosti in počivanja ter ritem izločanja melatonina uravnavajo ločene nevronske poti znotraj NCS jedra. Vsekakor bi bilo to potrebno natančneje opredeliti z obsežnejšimi longitudinalnimi raziskavami, v katerih bi pri zdravih dojenčkih natančno in enotno opredelili normalne vrednosti tako izločanja 6SMT kot tudi drugih endokrinih in biofizičnih markerjev ter določili tudi povezanost oziroma razmerje med njimi. Tako bi vedeli, ali lahko na podlagi enega kazalca sklepamo na druge, lažje pa bi opredelili tudi njihov klinični pomen.

ZAKLJUČEK

Ontogeneza izločanja melatonina je pri naši skupini dojenčkov z navideznim življenje ogrožajočim dogodkom (NŽOD) v prvih šestih mesecih življenja normalna. 24-urne vrednosti njegovega glavnega razgradnega produkta 6-sulfatoks melatonina (6SMT) v urinu se s starostjo povečujejo, prav tako pa naraščajo tudi razlike v hitrosti njegovega izločanja med posameznimi časovnimi intervali. Cirkadiani ritem z največjo hitrostjo izločanja med polnočjo in 8. uro zjutraj se vzpostavi pri treh mesecih, razlike v hitrosti izločanja med posameznimi časovnimi intervali pa so značilne že pri dveh mesecih starosti.

Ontogeneza ritma dejavnosti in počivanja je v naši skupini dojenčkov z NŽOD v prvih šestih mesecih starosti deloma zakasnjena. 24-urne vrednosti povprečnega indeksa telesne aktivnosti se s starostjo povečujejo, razlike med posameznimi časovnimi intervali pa se ne večajo izrazito. Cirkadiani ritem z najnižjim povprečnim indeksom telesne aktivnosti

med polnočjo in 4. uro zjutraj se vzpostavi pri dveh mesecih, razlike med intervaloma z najmanjšim in največjim povprečnim indeksom telesne aktivnosti pa so statistično značilne že v 1. mesecu starosti.

Ritem izločanja melatonina ter ritem dejavnosti in počivanja pri dojenčkih z NŽOD v prvih šestih mesecih nista povezana. V skoraj vseh starostnih skupinah je nakazano obratno sorazmerje med ritmoma, ki je posledica njunega ujemanja v obdobju od polnoči do 8. ure zjutraj. V večernem in dopoldanskem obdobju ujemanja ni niti pri skupini najstarejših dojenčkov z NŽOD. Na osnovi tega lahko sklepamo, da uravnavanje obeh ritmov poteka po ločenih nevronske poti, ali pa da poti, ki so odgovorne za usklajevanje obeh ritmov, pri dojenčkih z NŽOD v prvih šestih mesecih življenja še niso dovolj razvite.

ZAHVALA

Hvala mentorju prof. dr. Davidu Neubauerju, dr. med., za pomembne usmeritve in napotke. Somentorici asist. dr. Barbari Gnidovec-Štražišar, dr. med., se zahvaljujem za seznanitev z načinom raziskovalnega dela in razmišljanja ter za nasvete, ki so pripomogli k izboljšavi besedila. Hvala vsem dojenčkom in njihovim staršem za sodelovanje v raziskavi. Še posebej hvala Davidu Gosarju, univ. dipl. psih., za poučevanje statistike in za nasvete pri uporabi statističnih metod. Hvala mag. Nani Turk, univ. dipl. bibl., za vztrajnost pri posredovanju literature in mag. Heleni Pečko-Mlekuš, prof. ang., za nasvete pri prevajanju povzetka v angleščino. Iskrena hvala Valentinu Kozamerniku za spodbude, za pomoč pri računalniški obdelavi podatkov ter pomoč pri oblikovanju slik in preglednic.

LITERATURA:

1. Gillette MU, Tischkau SA. Suprachiasmatic nucleus: the brain's circadian clock. *Recent Prog Horm Res* 1999; 54: 33-58.
2. Bellocif S, Guico MJ, Reid KJ, et al. Stability of melatonin and temperature as circadian phase markers and their relation to sleep times in humans. *J Biol Rhythms* 2005; 20: 178-88.
3. Starc V. Cirkadiani ritmi in pripravljenost za delo I. *Biološki ritmi. Zdrav Vestn* 1997; 66: 645-58.
4. Peirano P, Algarin C, Uauy R. Sleep-wake states and their regulatory mechanisms throughout early humandevlopment. *J Pediatr* 2003; 143: S70-9.
5. Coons S, Guilleminault C. Development of consolidated sleep and wakeful periods in relation to the day/night cycle in infancy. *Dev Med Child Neurol* 1984; 26: 169-76.
6. Shimada M, Takahashi K, Segawa M, et al. Emerging and entraining patterns of the sleep-wake rhythm in preterm and term infants. *Brain Dev* 1999; 21: 468-73.
7. Nishihara K, Horiuchi S, Eto H, et al. The development of infants' circadian rest-activity rhythm and mothers' rhythm. *Physiol Behav* 2002; 77: 91-8.
8. Coons S, Guilleminault C. Motility and arousal in near miss sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 1985; 107: 728-32.
9. Gnidovec-Štražišar B. Melatonin in ritem budnosti in spanja pri dojenčkih z navideznim življenje ogrožajočim dogodkom. *Doktorska dizertacija, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani*, 2007: 1-73.
10. Utiger RD. Melatonin-the hormone of darkness. *N Engl J Med* 1992; 327: 1377-9.
11. Weissbluth L, Weissbluth M. Sudden infant death syndrome: a genetically determined impaired maturation of the photoneuroendocrine system. *J Theor Biol* 1994; 167: 13-25.
12. Kennaway DJ, Stamp GE, Goble FC. Development of melatonin production in infants and the impact of prematurity. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 367-9.
13. Attanasio A, Rager K, Gupta D. Ontogeny of circadian rhythmicity for melatonin, serotonin and N-acetyserotonin in humans. *J Pineal Res* 1986; 3: 251-6.
14. Ardura J, Gutierrez R, Andres J, et al. Emergence and evolution of the circadian rhythm of melatonin in children. *Horm Res* 2003; 59: 66-72.
15. Sivan Y, Laudon M, Tauman R, et al. Melatonin production in healthy infants: evidence for seasonal variations. *Pediatr Res* 2001; 49: 63-8.
16. National Institutes of Health. Consensus development conference on infantile apnea and home monitoring, Sept 29 to Oct 1, 1986. Consensus statement. *Pediatrics* 1987; 79: 292-9.
17. Willinger M, James LS, Catz C. Defining the sudden infant death syndrome (SIDS): deliberations of an expert panel convened by the National Institute of Child Health and Human Development. *Pediatr Pathol* 1991; 11: 677-84.

18. Oren J, Kelly D, Shannon DC. Identification of a high-risk group for sudden infant death syndrome among infants who were resuscitated for sleep apnea. *Pediatrics* 1986; 77: 495-9.
19. Sadeh A. Sleep and melatonin in infants: a preliminary study. *Sleep* 1997; 20: 185-91.
20. Bojkowski C, Arendt J, Shih M, et al. Assessment of melatonin secretion in man by measurement of its metabolite: 6-sulphatoxymelatonin. *Clin Chem* 1987; 19: 437-40.
21. So K, Buckley P, Adamson TM, et al. Actigraphy correctly predicts sleep behavior in infants who are younger than six months, when compared with polysomnography. *Pediatr Res* 2005; 58: 761-5.
22. Sadeh A, Lavie P, Scher A, et al. Actigraphic home-monitoring sleep-disturbed and control infants and young children: a new method for pediatric assessment of sleep-wake patterns. *Pediatrics* 1991; 87: 494-9.
23. Moore-Ede MC, Czeisler CA, Richardson GS. Circadian timekeeping in health and disease. Part 1. Basic properties of circadian pacemakers. *N Engl J Med* 1983; 309: 469-76.
24. Abrahamson EE, Moore RY. Lesions of suprachiasmatic nucleus efferents selectively affect rest-activity rhythm. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 252: 46-56.

Prispelo 18. 7. 2008