

**VERENLUOVUTUKSEN VAIKUTUS UNEN LAATUUN JA
UNENAIKAISEEN IHOHIILIDIOKSIDIIN**

Aila Härkönen

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Tampereen yliopisto

Lääketieteen yksikkö

Keuhkosairausoppi

Elokuu 2011

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Keuhkotautioppi

HÄRKÖNEN AILA: VERENLUOVUTUKSEN VAIKUTUS UNEN LAATUUN JA UNENAIKASEEN IHOHIILIDIOKSIDIIIN

Kirjallinen työ, 32 s.
Ohjaaja: professori Olli Polo

Elokuu 2011

Avainsanat: ihohiilidioksidimittaus, unitutkimus, verenluovutus, autonominen hermosto

Tämän tutkimuksen tarkoitus oli tutkia verenluovutuksen mahdollisia vaikutuksia unen laatuun. Uni-valve vaihtelu on autonomisen hermoston säätelemää. Syvän unen aikana on vallalla parasympaattinen tonus, eli parasympaattinen hermosto säätelee sen aikaisia toimintoja. Valveilla ollessa taas vallalla on sympatikotonus, eli verenkiertoa ja hengitystä säätelee sympaattinen hermosto. Koska unen aikana tapahtuu ihoverisuonten laajeneminen (vasodilataatio) sympaattisen hermostosäätelyn hiljentyessä, voidaan sen aiheuttamia hiilidioksidipitoisuuden muutoksia mitata monitoroimalla niitä unenaikaisesti iholta. Kirjallisuudesta ei löydy tutkimuksia, joissa olisi arvioitu verenluovutuksen mahdollisia vaikutuksia unen laatuun.

Tutkimushypoteesimme mukaan verenluovutus vaikuttaa sympaattisen hermoston aktiivisuutta lisäävästi, mikä ilmenee unihäiriönä, lisääntyneenä verisuonten vasokonstriktiona ja ihohiilidioksiditason laskuna. Tutkimuksen tarkoituksena on testata tätä hypoteesia. Samalla pyritään arvioimaan ihohiilidioksidimittauksen herkkyyttä ja käyttökelpoisuutta verenluovutuksen aiheuttaman autonomisen hermoston muutoksen mittaamiseksi. Yöllisestä ihohiilidioksidiprofilista voidaan havaita yöllinen parasympaattinen tonus ja havahdusten aikaiset sympaattiset aktivaatiot. Mittausmenetelmän herkkyys ja käyttökelpoisuus unenaikaisten autonomisen hermoston toimintailmiöiden mittaamisessa vaati kuitenkin lisädokumentointia.

Tutkimukseen rekrytoitiin koehenkilöiksi 12 tervettä 18–35-vuotiasta miestä, jotka kukin nukkuivat unilaboratoriossa kaksi peräkkäistä yötä. Puolet koehenkilöistä kuului verenluovuttajaryhmään, joka luovutti verta tutkimusöiden välissä, ja toinen puoli koehenkilöistä kuului kontrolliryhmään, jonka henkilöt luovuttivat verta tutkimusöiden jälkeen. Molempina tutkimusöinä potilailta tutkittiin laaja unipolygrafia ja lisäksi mitattiin ihohiilidioksidipitoisuudet.

Unen laadun mittarina käytettiin univiivettä ja syvässä unessa esiintyvien delta-aaltojen määrää. Lisäksi mitattiin unenaikaista ihohiilidioksidia, jonka arvoissa toivottiin näkyvän ero tutkimusöiden välillä verenluovuttajaryhmän koehenkilöillä. Tilastollisesti merkitseviä eroja ei kuitenkaan noussut esiin. Tähän vaikutti luultavasti eniten otoskoon pienuus, joten verenluovutuksen vaikutus unen laatuun vaatii vielä lisäselvittelyä.

SISÄLLYS

1 JOHDANTO

- 1.1 Verenluovutuksen vaikutus autonomiseen hermostoon
- 1.2 Ihohiilidioksidimittauksilla voidaan kuvata autonomisen hermoston toimintaa
- 1.3 Verenluovutuksen vaikutusten heijastuminen unenaikaisiin ihohiilidioksidimittauksiin

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

- 2.1 Unen vaiheet ja niiden vaikutus autonomisen hermoston toimintaan
- 2.2 Unta säätelevät välittäjäaineet
- 2.3 Autonomisen hermoston ja unen vaiheiden vaikutus ihon hiilidioksidipitoisuuteen
- 2.4 Autonomisen hermoston vaikutus verisuonten seinämiin
- 2.5 Verenluovutuksen vaikutus autonomiseen hermostoon
- 2.6 Veren koostumuksen normalisoituminen verenluovutuksen jälkeen
- 2.7 Verenluovutuksen vaikutus uneen

3 TUTKIMUSMETODI

- 3.1 Aineisto
- 3.2 Menetelmät
 - 3.2.1 Verenluovutus
 - 3.2.2 Ihohiilidioksidimittaus hermoston tilaa kuvaavana menetelmänä
 - 3.2.3 Unitutkimus
 - 3.2.4 Kaavakkeet

4 TULOKSET

5 POHDINTA

LÄHTEET

1 JOHDANTO

1.1 Verenluovutuksen vaikutus autonomiseen hermostoon

Autonominen hermosto jaetaan sympaattiseen ja parasympaattiseen osaan. Sen tärkeimpiin tehtäviin kuuluu verisuonten, sydämen sykkeen ja aineenvaihduntatoimintojen osittainen säätely. Lisäksi autonominen hermosto vastaa eksokriinisten ja myös joidenkin endokriinisten rauhasten toiminnan säätelystä. Tavallisesti sisäelimeen tulee sekä sympaattisia että parasympaattisia hermosyitä, jotka säätelevät elimen toimintaa.

Verenluovutuksessa aiheutetaan tarkoituksellisesti hypovolemia ja autonominen hermosto reagoi siihen kompensatiomekanismeillaan samalla tavalla kuin akuuttiin verenhukkaan. Kompensatiomekanismien tavoitteena on mahdollisimman nopeasti palauttaa kehon nestetasapaino ja elintoiminnot normaaliin tilaansa.

1.2 Ihohiilidioksidimittauksilla voidaan kuvata autonomisen hermoston toimintaa

Pääosa unenaikaisista tutkimuksista perustuu aivo- ja lihassähkökäyrien tulkitsemiseen. Ne kertovatkin elimistön tilasta, mutta hyvänä lisänä niiden antamaan tietoon voidaan käyttää ihohiilidioksidimittausta, joka antaa tietoa kehon verisuonten tilasta ja näin sympatovagaalisesta tasapainosta. Unen aikana verisuonet laajentuvat parasympatikotonuksen päästessä vallalle, kun sympaattinen hermostoaktiivisuus rauhoittuu. Jotta uni olisi virkistävää, tulee elimistön päästä parasympaattiseen tilaan jossa verisuonisto laajenee ja sydän ja hengitys rauhoittuvat. Jos tasapaino parasympaattisen ja sympaattisen tilan välillä on jostain syystä häiriintynyt eikä

sympaattinen hermostoaktiivisuus pääse rauhoittumaan virkistävän unen edellyttämällä tavalla, voi seurata unen laadun heikkenemistä ja univaikeuksia. Tällaisia tapauksia ovat sympatikotoniaa nostavat tilat, joita ovat esimerkiksi obstruktiivinen uniapnea, sydän- ja verisuonitaudit ja tutkimushypoteesimme mukaan verenluovutus. Näin ollen ihohiilidioksidimittaukset soveltuvat hyvin kuvaamaan verenluovutuksen hermostovaikutuksia.

Ihohiilidioksidimittauksessa ihon pinnalle kiinnitetään elektrodi, jonka avulla saadaan mitattua iholta hiilidioksidiosapaineen muutoksia. Kudoksen ja valtimoveren hiilidioksidiosapaineen muutokset kertovat verisuoniston tilasta. Jotta elektrodin iholta mitaamat hiilidioksidiosapainearvot vastaavat mahdollisimman hyvin kudoksissa ja valtimoveressä esiintyviä arvoja, mittausturi lämmittelee ihon paikallisesti noin 43-asteiseksi. Sympaattisen ja parasympaattisen hermoston toiminnan aktiivisuus vaihtelee yöllä havahdusten ja unen välillä. Ihohiilidioksidipitoisuus myös muuttuu unisykliä ja havahdusten myötä, mikä on huomattu vertaamalla ajanfunktiona saatuja hiilidioksidiarvoja aivosähkökäyristä nähtyihin unen ja valveen vaihteluihin. Sitä, onko ihminen unessa vai valveilla, säätelee autonominen hermosto. Syvän unen aikana on vallalla parasympaattinen tonus, eli parasympaattinen hermosto säätelee sen aikaisia toimintoja. Valveilla ollessa taas vallalla on sympatikotonus, eli verenkiertoa ja hengitystä säätelee sympaattinen hermosto. Ihohiilidioksidin osapainearvot voivat siis kuvastaa myös iho- ja verisuoniston sympaattisen hermoston ja autonomisen hermoston säätelemää iho- ja verisuoniston sisäkerroksen toiminnan aktiivisuutta.

1.3 Verenluovutuksen vaikutusten heijastuminen unenaikaisiin ihohiilidioksidimittauksiin

Kirjallisuudesta ei löydy tutkimuksia, joissa olisi selvitetty verenluovutuksen vaikutusta unen laatuun. Lieväkin hypovolemia johtaa elimistössä sympaattisen hermoston aktivaatioon, jolloin uneen vaipuminen saattaa viivästyä tai unessa pysyminen voi tutkimushypoteesimme mukaan hankaloitua. Verenluovutuksella saattaisi olla myös vaikutusta nukkuessa esiintyvän syvän unen määrään, jota mitataan syvässä unessa

esiintyvien delta-aaltojen avulla. Verenluovutuksesta aiheutuneen verivolyymin laskun kokonaisvaltaiseen palautumiseen voi kulua kokonaisuudessaan jopa kolme kuukautta, joten sillä on mahdollisesti vaikutusta unen laatuun myös pidemmällä aikavälillä.

Ihohiilidioksidipitoisuuksiin sympaattisen hermoston aktiivisuuden nousu vaikuttaa tasoa laskevasti. Näin ollen verenluovutuksen aiheuttama hypovolemia oletettavasti aiheuttaisi myös verenluovutuksen jälkeisenä yönä transkutaanisen hiilidioksidin laskua.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Unen vaiheet ja niiden vaikutus autonomisen hermoston toimintaan

Uni jaetaan viiteen eri vaiheeseen (S1–S4 ja REM-uni) aivojen sähköpotentiaalimuutosten mukaan, joita mitataan elektroenkefalografialla (EEG). Valveilla, silmät auki, olevan ihmisen aivosähkökäyrät ovat tyypiltään beeta-muotoisia. Niille on ominaista korkea EEG-taajuus (15–60 Hz) ja suhteellisen matalat amplitudit. Non-REM-uni jaetaan neljään eri vaiheeseen (S1–S4): S1-vaiheen uni on muodoltaan theta-aaltoista. Sitä ilmenee juuri uneen vaipumisen jälkeen, ja se on luonteeltaan kevyttä unta, josta ihminen on helposti herätettävissä. EEG:n taajuudet laskevat (4–8 Hz) ja aaltojen amplitudit kasvavat valveilla oloon verrattuna. S2-vaiheen unessa voidaan havaita jaksottaisesti ilmeneviä korkeampitaajuuksisia ”unisukkuloita”, jotka ovat kestoltaan muutamia sekunteja. Ne syntyvät talamuksen ja kortikaalisten neuronien vuorovaikutuksen tuloksena. Toisessa unen vaiheessa voidaan myös havaita korkea-amplitudisia K-komplekseja. S3-vaiheen unessa nukkuja vaipuu jo syvempään uneen. S3-vaiheen unen aivosähkökäyrän aallot ovat hitaampia ja taajuudeltaan 2–4 Hz:n luokkaa. Kolmannessa unen vaiheessa voidaan myös havaita suuriamplitudisia K-komplekseja. (1)

S4-vaiheen syvälle unelle ovat tunnusmerkillisiä hitaammat, korkea-amplitudiset delta-aallot, joiden taajuus on 0,5–2 Hz. Hidasaaltouudessa oleva ihminen on vaikeimmin herätettävissä, ja sitä pidetäänkin sikeimmän unen vaiheena. REM-unessa (rapid eye movement) aivosähkökäyrät muistuttavat hereillä olevan ihmisen vastaavia ja nukkujiilla havaitaan nopeita silmänliikkeitä. REM-univaihe kestää tyypillisesti kymmenisen minuuttia, mutta vaiheen pituus kasvaa sykli sykliltä unen edetessä. REM-univaiheen jälkeen sykli non-REM-unen vaiheiden kautta alkaa taas alusta. Nukuttuun yöhön mahtuu yleensä kuitenkin vain kaksi jaksoa syvää, hidasaaltoista unta. Tavallisesti unessa on useita syklejä, jotka vaihtelevat non-REM-unen ja REM-unen välillä, niin että ensin tulevat

vaiheet S1–S4, jonka jälkeen palataan vaiheeseen S2 tai S3, josta sitten siirrytään REM-uneen. REM-unesta palataan taas syklin alkuun. (1)

Normaalisti REM-unta esiintyy eniten aamuyöstä, kun taas syvän unen osuus painottuu alkuyöhön. Keskimäärin unen vaiheissa esiintyy noin 4–5 sykliä, jotka ovat pituudeltaan keskimäärin 90 minuuttia. (1)

2.2 Unta säätelevät välittäjäaineet

Autonomisen hermoston toiminta perustuu parasympaattisten ja sympaattisten hermosolujen erittämien välittäjäaineiden ja niitä vastaan ottavien reseptorien toimintaan ja eroihin. Aivojen vireyttä ylläpitävät solut sijaitsevat pienissä tumakkeissa aivosillassa, ydinjatkeessa ja hypotalamuksessa. Nämä solut lähettävät impulsseja eteenpäin muun muassa aivokuorelle, jossa solujen erittämät välittäjäaineet säätelevät vireystasoa. Kun vireyttä ylläpitävien aineiden pitoisuudet ovat korkeat, on myös aivokuoren reaktiivisuus korkea. Jotta nukahtaminen olisi mahdollista, näiden aineiden erityksen aivokuorelle on vähennyttävä ja solujen sähköisen aktiivisuuden hiljennettävä. Kuitenkin REM-unessa serotoniini-, oreksiini- ja noradrenaliinisolujen toiminta miltei lakkaa ja kolinenergisten solujen aktiivisuus kasvaa miltei yhtä suureksi kuin valveilla. REM-unen EEG muistuttaakin vahvasti valveilla olevan ihmisen EEG:tä. (2)

Noradrenaliini on vireystason säätelyssä tärkeä välittäjäaine. Sitä erittyy locus caeruleuksesta, joka sijaitsee aivorungossa. Noradrenaliinin erityksellä ylläpitää valvetta ja aivokuoren kykyä reagoida aistinärsykkeisiin. (3)

Vireystilaa säätelevää serotoniinia tuottavat solut sijaitsevat suurimmaksi osaksi aivorungon ja ydinjatkeen raphetumakkeissa. Aivojen serotoniinijärjestelmä on hyvin monimutkainen, ja pelkästään erilaisia serotoniinireseptoreita on neljätoista eri tyyppiä. Jos serotoniinin toiminta estetään, esimerkiksi salpaamalla sen reseptoreita lääkeaineilla, uni pitenee ja unenaikaisessa EEG:ssä esiintyy enemmän delta-muotoisia aaltoja, eli syvän unen (vaiheet S3 ja S4) osuus kasvaa. (2)

Asetyylikoliinireseptoreja on keskushermostossa kahta eri tyyppiä: nikotiini- ja muskariinireseptoreita. Erityisesti muskariinireseptorit vaikuttavat vireystilaan ja niiden salpaus lisää aivokuorten hidasaaltoaktiivisuutta. (4) Myös hypotalamuksen posterolateraalisen osan hermosolujen erittämä histamiini ja lateraalisen hypotalamuksen oreksiinijärjestelmä aktivoivat aivoja reseptoriensa välityksellä. (3)

Unta tuottavista välittäjäaineista tärkein on GABA (gamma-aminovoihappo). GABAa välittäjäaineenaan käyttäviä soluja on kaikkialla aivoissa, mutta vireystilan säätelyyn osallistuvia erityisesti etuaivojen pohjaosassa preoptisella alueella, talamuksessa ja aivorungossa. GABAergisten solujen aktiivisuus kasvaa unen ja erityisesti korvausunen aikana. Talamuksen GABAergiset solut aiheuttavat aivosähkökäyrissä unen S2–S4-vaiheissa havaittavia unisukkuloita ja vähentävät aivokuoren aktiivisuutta estämällä talamokortikaalisten neuronien toimintaa. GABA myös aiheuttaa yhdessä glysiinin kanssa REM-unen aikaisen lihaslaman estämällä selkäytimen motoneuronien toimintaa. (2)

Myös adenosiinilla ja typpioksidilla on tärkeä rooli unen homeostaasissa. Niiden unensäätelyä välittää etuaivojen basaalinen valvekeskus. Nousut adenosiinipitoisuus ko. keskuksessa johtaa kasvaneeseen unen intensiteettiin, sitä mitattaessa syvässä unessa aivosähkökäyrissä näkyvien delta-aaltojen määrällä. (5) Näiden välittäjäaineiden pitoisuuksia ja erityistä säätelemällä autonominen hermosto säätelee elimistön vireystilaa ja sitä kautta unta.

2.3 Autonomisen hermoston ja unen vaiheiden vaikutus ihon hiilidioksidipitoisuuteen

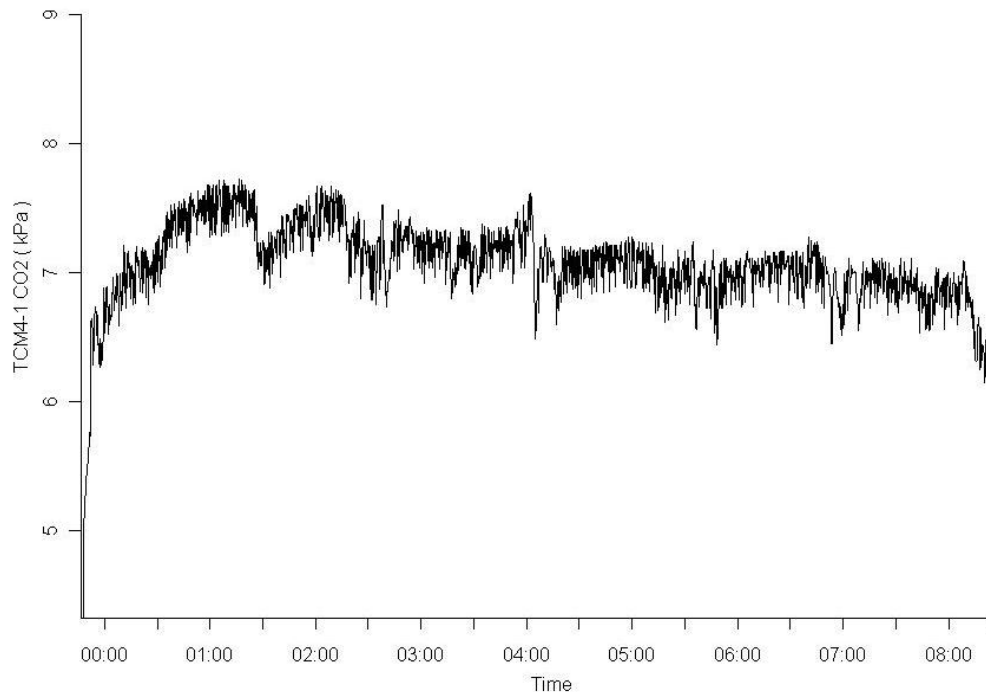
Hiilidioksidia kuljetetaan veressä monessa eri muodossa, josta vallitsevin (noin 90 % valtimoveren hiilidioksidista) on vetykarbonaatti (HCO_3^-). Vain noin 5 % valtimoveren hiilidioksidista on liuennut vereen muuttumattomana hiilidioksidina, ja loput noin 6 % kulkee siinä sitoutuneena hemoglobiiniin tai muihin karbaminoyhdisteisiin.

Hiilidioksidia esiintyy myös hiilihappo- (H_2CO_3) ja karbonaatti- (CO_3^{2-}) muodoissa, mutta näiden osuus kokonaishiilidioksidista on hyvin pieni. (3)

Hiilidioksidia muodostuu soluhengityksessä, ja se diffuntoituu kudospaineen kautta vereen. Valtimoveren hiilidioksidiosapaine on normaalisti 4,5–6 kPa ja hiussuonissa olevan veren noin 5,3 kPa. Ihoihiilidioksidimittauksessa mittauskohta lämmitetään 43-asteiseksi, koska tällöin hiussuonten hiilidioksidiosapaine vastaa paikallisesti mahdollisimman hyvin valtimoveren hiilidioksidiosapainetta. (6, 7)

Useissa tutkimuksissa on osoitettu, että TcCO_2 -mittaus on luotettava keino arvioida valtimoveren hiilidioksidiosapainetta (8, 9). Näissä tutkimuksissa potilaat ovat olleet autonomisen hermoston näkökulmasta stabiilissa tilassa (yleensä valveilla).

Ihoihiilidioksidiarvot muuttuvat herkästi, kun potilaalle kehittyy sydämen vajaatoiminta tai hänelle annetaan verisuonia supistavaa tai laajentavaa lääkitystä. Näin ollen verisuoniston tonuksen muutokset heijastuvat ihoihiilidioksidiarvoihin, joiden avulla voidaan arvioida autonomisen hermoston vallitsevaa tilaa.



Kuva 1: Esimerkkikuva transkutaanisesta hiilidioksidikäyrästä.

Unitutkimuksessa transkutaanista hiilidioksidimittausta ei ole kuitenkaan paljon käytetty, sillä sen ajatellaan reagoivan hengityksessä tapahtuvien nopeiden muutosten aiheuttamiin veren hiilidioksidin osapaineen muutoksiin liian hitaasti ja riittämättömällä herkkyydellä. (10)

Ihohiilidioksidikäyrän perusteella määritellään unen parasympaattisen ja sympaattisen aktiivisuuden välistä suhdetta. Valveilla ollessa hiilidioksidin osapaine on matalampi kuin unessa, sillä valveilla autonomisen hermoston sympaattinen puoli on aktiivisempi. Sympaattisen hermoston aktiivisuus lisää ihooverisuonien supistustilaa alfa-reseptorien kautta: verisuonten supistuminen lisää veren virtausnopeutta suonissa ja tehostaa perfuusiota. Tehostuneesta perfuusiosta johtuen iholta mitattava hiilidioksidipitoisuus on valveilla ollessa matalampi, kun taas uneen vaivuttaessa parasympaattinen hermosto pääsee vallalle: tapahtuu vasodilataatio, perfuusion väheneminen ja valtimohiilidioksidiosapaineen nousu. Yleensä paikallinen vasodilataatio lisää paikallista perfuusiota. Unen aikana vasodilataatio ei kuitenkaan ole paikallinen vaan globaali. Tällöin vasodilataatio aiheuttaa verenkierron hidastumisen ja perfuusion vähenemisen. Etenkin REM-unen aikana transkutaanisen hiilidioksidin pitoisuus laskee sympaattisen hermoston aktiivisuuden noustessa (10). REM-uni onkin univaiheista EEG-toiminnaltaan lähimpänä valvetta.

2.4 Autonomisen hermoston vaikutus verisuonten seinämiin

Autonominen hermosto säätelee verisuoniston tilaa välittäjäaineiden ja niitä välittävien reseptoreiden kautta. Sekä parasympaattisten että sympaattisten hermojen preganglionarisissa hermoissa toimii välittäjäaineena asetyylikoliini.

Postganglionarisissa neuroneissa taas toimii sympaattisessa hermostossa välittäjäaineena noradrenaliini ja parasympaattisessa hermostossa asetyylikoliini.

Noradrenaliini vaikuttaa verisuonistoon pääasiassa α 1- ja β 2-reseptorien kautta.

Noradrenaliinin vaikuttaessa α 1-reseptorien kautta tapahtuu vasokonstriktio. Jos taas vaikutusta välittävät β 2-reseptorit, aiheuttavat ne sydämessä ja tahdonalaisissa

lihaksissa vasodilataation. (4) Näin sympaattinen hermosto varmistaa esimerkiksi stressitilanteissa, että verenkierto sydämessä ja luustolihasissa on riittävä.

Parasympaattisen hermoston välittäjäaine asetyylikoliini sitoutuu endoteelissä asetyylikoliinireseptoreihin ja stimuloi näin typpioksidin (NO) muodostusta.

Typpioksidi on tärkein verisuonten vasodilataattori. Typpioksidia tuotetaan jatkuvasti verisuonten seinämien endoteelisoluissa lähtöaineestaan arginiinista ja se pääsee rasvaliukoisen aineena helposti endoteelisolujen seinämien läpi ympäröiviin lihassoluihin. (3)

Useissa tutkimuksissa kerrotaan, että typpioksidin muodostus riippuu hiilidioksidipitoisuudesta. Luultavasti tämä yhteys aineiden välillä johtuu hiilihappoanhydraasi-entsyymistä (CA), joka katalysoi reaktiota, jossa hiilidioksidista ja vedestä tuotetaan hiilihapon kautta vety- ja bikarbonaatti-ioneja. Hiilihappo ja nitriitti ovat rakenteeltaan samankaltaisia, joten hiilihappoanhydraasi pystyy käyttämään substraattinaan myös nitriittiä. Reaktio, jossa nitriitistä tulee typpioksidia, onkin hiilihappoanhydraasin katalysoima. (11) Hiilidioksidi siis toimii vasodilataattorina typpioksidin kautta. Näin ollen unessa, kun hiilidioksidin osapaine kasvaa, verisuonet laajenevat.

Typpioksidi on tärkeä aine unen homeostaasissa, sillä unen puute lisää typpioksidin tuotantoa etuaivoissa lisäämällä sen synteesiä katalysoivaa entsyymiä (iNOS).

Typpioksidin pitoisuuden lisääntyminen johtaa solunulkoisen adenosiinin lisääntymiseen, joka taas kasvattaa unen tehoa mitattuna NREM-unen delta-aaltojen esiintymistiheydellä. (12) Typpioksidin synteesiä katalysoi typpioksidisyntaasi (eNOS; NOS-3), joka aktivoituu solun kalsiumpitoisuuden kasvusta. Kalsiumin kertymiseen endoteelisoluihin vaikuttaa myös monien säätelyaineiden (asetyylikoliini, bradykiniini, 5-HT, substanssi P ja histamiini) reseptorien stimulaatio ja veren virtauksen aiheuttama endoteeliin kohdistuva kitka. (4)

2.5 Verenluovutuksen vaikutus autonomiseen hermostoon

Verenluovutus vaikuttaa sympaattisen hermoston aktiivisuutta lisäävästi. Tämä mekanismi on tarpeellinen, jotta keho pystyisi mahdollisimman nopeasti ja tehokkaasti

kompensoimaan verenluovutuksen elintoimintoihin aiheuttamat muutokset.

Verenluovutus aiheuttaa kehossa saman vasteen kuin laskimoperäinen akuutti lievä hypovolemia yleensäkin. Vähentynyt verivolyyymi johtaa heikentyneeseen laskimopaluuseen, huonompaan sydämen kammioiden täyttymiseen, tehottomampaan sydämen isku- ja minuuttitulavuuteen ja laskeneeseen keskivaltimoverenpaineeseen. (3) Näitä muutoksia elimistö pyrkii havaitsemaan reseptoreillaan ja reagoimaan muutoksiin autonomisen hermoston välityksellä.

Autonomisen hermoston vasteista verenkierrossa ja sydämen toiminnassa tapahtuviin muutoksiin huolehtii ydinjatkeessa ja aivosillassa sijaitseva vasomotorinen keskus. Se saa tietoa elimistön tilasta niin kemiallisten aineiden kuin hermoimpulssienkin kautta. Vasomotorisen keskuksen käskyt välittyvät autonomisen hermoston kautta verisuonten seinämien lihassyihin ja sydämeen. Keskuksesta lähtevät parasympaattiset impulssit kulkevat vagushermon (10. aivohermo) kautta sydämeen ja sympaattiset hermoimpulssit kulkevat selkäytimen ja perifeeristen sympaattisten hermojen kautta käytännössä kaikkiin elimistön valtimoihin, pikkuvaltimoihin ja laskimoihin. (13)

Verenluovutuksesta aiheutuva verivolyymin lasku johtaa keskimäärin viidessä minuutissa sympaattisen hermoston aktivoitumiseen. Tämä aktivoituminen on havaittavissa kohonneena systolisena ja diastolisena verenpaineena. Lisäksi keskiverenpaine (valtimon keskimääräinen verenpaine) nousee. (14) Verenluovutuksen jälkeen kardiovaskulaariset refleksit reagoivat elimistön sydän- ja verenkiertoelimistössä havaittuihin muutoksiin ja pyrkivät palauttamaan kehon tilan normaaliksi. (13)

Elimistö reagoi akuuttiin sentraaliseen hypovolemiaan kahdessa vaiheessa. Näistä vaiheista toteutuu verenluovutuksen yhteydessä vain ensimmäinen, sillä verenluovutuksessa luovutettava 450 ml:n verenmenetys ei saa aikaan niin vakavaa verivolyymin laskua, että elimistön tarvitsisi käyttää toisen vaiheen vastetta. (15) Ensimmäisessä vaiheessa (baroreflexivaihe) aktivoituvat elimistössä tapahtuvista muutoksista vasomotoriseen keskukseen tietoa välittävät erilaiset baro- eli pressoreseptorit, jotka reagoivat paineen muutoksiin, ja kemoreseptorit, jotka reagoivat elimistön nestetilojen kemiallisiin muutoksiin. Toinen vaihe, jota ei siis verenluovutuksen yhteydessä tule, käynnistyy vasta, kun verivolyyymistä on menetetty

30 %. (3) Tällainen verenhukka tarkoittaisi ihmisellä keskimäärin 1 500 ml:n veren menetystä.

Baro- ja kemoreseptorien funktio on välittää tietoa verenkierron muutoksista, jotta keskushermosto voi muutoksia kompensoimalla säilyttää tilan, joka on mahdollisimman lähellä normaalia. Yhteistä näille reseptoreille on se, että kaikki ne saavat aktivoitumisellaan aikaan reaktiotien, joka johtaa sympaattisen hermoston vasteeseen, joka johtaa noradrenaliinin vapautumiseen postgaglionaarisisista sympaattisista neuroneista. Lisäksi sympaattinen vaste saa munuaisen medullan vapauttamaan noradrenaliinia ja adrenaliinia, jotka vaikuttavat sydämen ja verisuoniston tilaan verivolyymin laskun aiheuttamia elimistölle epäsuotuisia vaikutuksia korjaten. (3)

Baroreseptorirefleksi on parhaiten tunnettu hermostollinen mekanismi, joka säätelee valtimoverenpainetta. Reaktion käynnistävät baroreseptorit, joita on useiden suurten valtimoiden seinämissä, erityisesti karotispoukamassa ja aortankaaressa. Baroreseptorit reagoivat verisuonen venytystilaan ja lähettävät keskushermostoon, pääasiassa vasomotoriseen keskukseen, tiedon tapahtuvista muutoksista. (13)

Baroreseptoreita on kahta tyyppiä: niitä, jotka reagoivat valtimoverenpaineen laskuun ja niitä, jotka reagoivat pienentyneeseen verivolyyymiin. Valtimoverenpaineen laskeminen aiheuttaa impulssitulvan keskushermostoon karotispoukaman ja aortan kaaren baroreseptoreista. Tästä seuraava kasvava sympaattinen aktivaatio ja pienentynyt vagaalinen hermoaktiivisuus johtavat kasvavaan sykkeeseen ja sydämen reaktiivisempaan supistumisvireyteen. Lisäksi laskimot ja valikoidusti valtimot supistuvat, millä yritetään saada palautettua normaalia verenpaineen tasoa.

Pienentynyt verimäärä aiheuttaa eräiden baroreseptorien aktivaation pienenemistä, joka keskushermostossa aiheuttaa sympatikotonisen vasteen. Tämä johtaa erityisesti munuaisten verisuonien supistumiseen, joka vähentää niiden glomerulusten nestefiltraatiota ja virtsan tuottoa. Reseptorit myös vähentävät munuaisten virtsantuottoa, ja näin nesteen siihen menettämistä, aiheuttamalla ADH:n antidiureettisen hormonin vapautumista hypotalamuksesta, mikä estää munuaisten vedeneritystä. Reseptoreilla on myös vaikutusta sydämen syketaajuuteen. (3)

Kemoreseptoreita on perifeerisiä ja sentraalisia. Verenpaineen lasku aiheuttaa paikallista hypoksiaa, johon perifeeristen verisuonten seinämien kemoreseptorit

reagoivat sympaattisen hermoston avulla hengitystaajuutta nostavasti. Tihentynyt hengitystaajuus myös nostaa sydämen sykettä. Sentraaliset kemoreseptorit reagoivat vain verenluovutusta suuremmassa verenhukassa, jolloin verenkierto aivoihin on heikentynyt ja aiheuttaa niihin iskemiaa. (3)

Koska hypovolemia vaikuttaa sympaattista hermostoa aktivoivasti, aiheuttaa se myös ihohiilidioksidin pitoisuuden laskun verenluovutuksen jälkeen. Näin ollen transkutaanisesti mitatut hiilidioksidipitoisuudet olisivat matalammat verrattuna verenluovutusta edeltävään yöhön.

2.6 Veren koostumuksen normalisoituminen verenluovutuksen jälkeen

Verta luovutetaan kerralla 450 ml. Riittävästä nesteytyksestä huolehdittaessa verenluovutuksessa menetetty nestemäärä korvautuu jo noin vuorokauden kuluessa. Muiden elimissä tapahtuvien muutosten palautuminen normaaliksi vie kuitenkin pidempään ja maksimaalisen fyysisen suorituskyvyn palautumiseen voi mennä kuukausikin. Normaali fyysinen suorituskyky palautuu kuitenkin jo kahden vuorokauden kuluessa. Tavallinen veren hemoglobiinipitoisuus on naisilla 125–175 g/l ja miehillä 135–195 g/l. Verenluovutuksen seurauksena hemoglobiini laskee noin 10–15 g/l. (16) Hemoglobiinipitoisuuden lasku heikentää hapen kuljetusta veressä, mikä on osaltaan syyllinen suorituskyvyn hetkelliseen laskuun verenluovutuksen jälkeen. Muita veren koostumuksessa ilmeneviä muutoksia ovat veren hyytymistekijöiden ja vasta-aineiden pitoisuuden lasku, joka palautuu verenluovutusta edeltäviin lukemiin keskimäärin kahdessa vuorokaudessa. Lisäksi menetetyn veren mukana verihiutaleiden ja punasolujen määrä pienenee. Verihiutaleitasojen palautuminen normaaliksi vie noin viikon, kun taas punasolujen tason palautuminen normaaliksi voi viedä yhdestä kolmeen kuukautta. (16)

2.7 Verenluovutuksen vaikutus uneen

Kirjallisuudesta ei löydy tutkimuksia verenluovutuksen vaikutuksia unen laatuun. Kuitenkin verenluovutus ja huonontunut unenlaatu voidaan liittää toisiinsa verenluovutuksen aiheuttaman raudan puutteen kautta. Suurin osa veren sisältämästä raudasta on hemoglobiinissa, jonka pitoisuus ja sen seurauksena veren rautapitoisuus laskee verenluovutuksen yhteydessä. Säännöllisillä verenluovuttajilla, jotka luovuttavat verta vähintään kolme kertaa vuodessa, on useissa tapauksissa todettu huonontunut veren rautatasapaino. Onkin ehdotettu, että henkilöiltä, jotka luovuttavat verta useammin kuin kerran vuodessa, tulisi säännöllisesti tutkia hemoglobiinin lisäksi myös ferritiinitaso (raudan imeytymis- ja varastoitumismuoto) ja rautavarastojen täydentymistehokkuus. (17)

Useissa tutkimuksissa elimistön raudanpuutos on yhdistetty levottomat jalat - syndroomaan. (18, 19, 20) Levottomista jaloista kärsivillä on myös selkäydinnesteen ferritiinipitoisuus huomattavasti pienempi terveisiin verrokkeihin verrattuna (21). Levottomien jalkojen diagnostisia piirteitä ovat jaloissa levon aikana ilmenevä kipu tai muu epämiellyttävä tuntemus, joka helpottuu jalkoja liikuttelemalla. Oireet pahenevat yritettäessä rentoutua ja voimistuvat illalla ja iltayöstä. (22) Henkilöillä, jotka kärsivät levottomista jaloista on usein myös univaikeuksia, sillä oireet voivat vaikeuttaa nukahtamista tai herättää yön aikana. Myös raudanpuutteen ja uniapnean yhteyttä on tutkittu, mutta todistettavaa kytköstä ei ole löytynyt (23).

3 TUTKIMUSMETODI

3.1 Aineisto

Aineistona tutkimuksessa oli 12 tervettä koehenkilöä, jotka soveltuivat verenluovutukseen. Heidät rekrytoitiin tutkijoiden lähipiiristä (tuttavat, ystävät, työ- ja opiskelutoverit). Sisäänottokriteereinä koehenkilöille oli, että heidän tuli olla 18–35-vuotiaita perusterveitä miehiä, jotka täyttivät verenluovutuksen vaatimukset. Tutkittavilta otettiin veren hemoglobiiniarvo, jonka tuli sijoittua välille 135–195 g/l. Tutkimuksen poissulkukriteereinä olivat potilaan obstruktiivinen uniapnea, levottomat jalat -oireyhtymä, tai jokin muu sairaus, joka vaikuttaa nukkumiseen tai vireystilaan. Parasomniat on otettu poissulkukriteereiksi, jotta niiden aiheuttamat uniongelmat eivät sekoittuisi verenluovutuksen mahdollisesti aiheuttamiin univaikeuksiin.

Kukin koehenkilö nukkui kaksi peräkkäistä yötä unitutkimuslaboratoriossa polysomnografisessa unen kartoituksessa. Puolet koehenkilöistä satunnaistettiin verenluovuttajien ryhmään. Nämä kävivät luovuttamassa verta kahden ensimmäisen unitutkimusyön välillä. Toinen puoli koehenkilöistä satunnaistettiin kontrolliryhmään. Kontrolliryhmä luovutti verta vasta kahden perättäisen unilaboratoriossa nukutun yön jälkeen.

3.2 Menetelmät

3.2.1 Verenluovutus

Verenluovutus tapahtui Punaisen ristin Veripalvelun verenluovutuspiisteessä sen

henkilökunnan toimesta. Kultakin koehenkilöltä otettiin laskimosta 450 ml verta. Verenluovutuksen yhteydessä potilailta tutkittiin myös veren hemoglobiinipitoisuus. Tutkimushenkilöt, jotka eivät olleet luovuttamassa verta ensimmäistä kertaa, saivat tietoonsa myös veriryhmänsä.

3.2.2 Ihohiilidioksidimittaus hermoston tilaa kuvaavana menetelmänä

Ihon läpi diffuntoituvan hiilidioksidin pitoisuutta voidaan mitata noninvasiivisella menetelmällä: transkutaanisella hiilidioksidimittauksella (tcCO₂). Kliinisessä käytössä niitä alkoi esiintyä 1980-luvulla, ja niitä on kehitetty edelleen eteenpäin, jotta mittaustulokset olisivat mahdollisimman luotettavia. Ihohiilidioksidimittaus tarjoaa mahdollisuuden jatkuvaan noninvasiiviseen valtimoveren hiilidioksidiosapaineen arviointiin. (24) Hiilidioksidimittauksista on käytetty erityisesti keskosilla ja muilla vastasyntyneillä, joilla on hengitykseen tai hapenottoon liittyviä vaikeuksia (25). Menetelmää on alettu käyttää myös aikuisilla, erityisesti unenaikaisten hengitysvaikeuksien ja kroonisen hengitysvajauksen tutkimisessa (24).

Transkutaaninen hiilidioksidimittaus tapahtuu iholle kiinnitettävällä anturilla, jossa ylläpidetään 42–44 -asteen lämpötilaa. Lämpötilaa nostamalla pyritään laajentamaan (arterialisoimaan) ihonalaiset verisuonet, jotta ihon pinnalta saadut tulokset vastaisivat mahdollisimman hyvin valtimoveren hiilidioksiditasoja.

Ihon verenkierto vaihtelee vireystilan mukaan. Unessa (parasympaattinen tonus) verisuonet ovat dilatoituneet, kun taas valveilla (sympaattinen tonus) verisuonet ovat supistuneessa tilassa. Ihon hiilidioksidipitoisuuden ja verisuonten supistustilan välillä on olemassa yhteys. Valvetilassa verisuonet supistuvat, veri virtaa nopeasti ja huuhtelee tehokkaasti kudosten hiilidioksidia. Tällöin verisuonen hiilidioksidipitoisuus on matala, mikä saattaa osaltaan myös ylläpitää verisuonen supistustilaa. Nukahtamisen yhteydessä sympaattinen aktivaatio vähenee, verisuonet laajenevat, verenvirtaus hidastuu, hiilidioksidin huuhtelu vähenee, kudoksen hiilidioksidipitoisuus nousee ja tämä hiilidioksidin nousu (fysiologinen hyperkapnia) edelleen laajentaa verisuonia.

Hiilidioksidipitoisuuden on osoitettu säätelevän verisuonen laajenemista typpioksidin kautta (3). Näin ollen ihohiilidioksidin mittaaminen unitutkimuksen yhteydessä kertoo ihoverenkierron (perfuusion) muutoksista, kun sympaattisen ja parasympaattisen hermoston tasapaino vaihtelee.

Ihohiilidioksidimittauksen avulla voidaan arvioida elimistön sympatovagaalista tilaa unen aikana. Ihmisen nukahtaessa parasympaattinen hermosto aktivoituu, jolloin tapahtuu vasodilataatio. Tämä näkyy nousevana valtimoveren hiilidioksidiosapaineena, joka siis johtaa transkutaanisesti mitattujen $tcCO_2$ -tasojen nousemiseen nukahtamisen jälkeen. Syvän unen aikana hiilidioksidiosapaineet tasoittuvat tietylle tasolle (plateau). Verisuonten vasokonstriktio, joka ilmenee sympaattisen aktiivisuuden lisääntyessä, taas vastaavasti laskee $tcCO_2$ -tasoja esimerkiksi herätessä tai yöllisten havahtumisten yhteydessä. (26)

Mittausmenetelmänä transkutaaninahiilidioksidimittaus on noninvasiivinen. Mittausanturi kiinnitettiin kaikille koehenkilöille oikealle puolelle rintakehää, ja tutkimushenkilöillä käytettiin peräkkäisinä öinä samaa transkutaanisen hiilidioksidin mittauslaitetta, jotta tuloksen olisivat keskenään mahdollisimman vertailukelpoisia. Koko yön jatkuneesta mittauksesta ainoana haittana esiintyi anturin asennuskohdassa punoitusta ja lievää kutinaa, joka aiheutui anturin lämmityksestä.

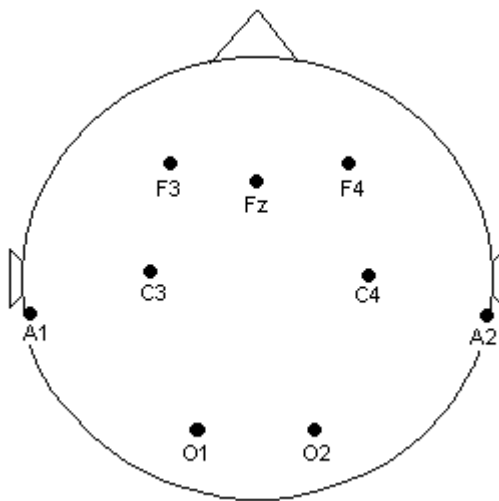
Trankutaanisen hiilidioksidiosapaineen mittaamiseen käytettiin TCM4 – laitetta (Radiometer®; Copenhagen, Denmark) ja mittaustulosten analysointiin käytettiin tutkimusryhmän kehittämää automaattista mittausohjelmaa (Transcient Pattern Analyzer, TPA, Arho Virkki 2008).

3.2.3 Unitutkimus

Tutkimuksemme kuuluvassa unipolygrafiassa mitataan aivosähkökäyrien (EEG) lisäksi silmäsähkökäyrä (EOG), lihassähkökäyrä (EMG), sydänfilmi (EKG), hengitystaajuus rintakehän ja vatsa-alueen liikkeiden perusteella, pulssi ja ihohiilidioksidi ja ihon happipitoisuus koko unen ajan. Myös sormenpäältä optisella pulssioksimetrillä mitattavaa

valtimoveren hemoglobiinin happisaturaatiota rekisteröidään. Nenän kautta hengitystä tutkittiin sieraimiin asetetuilla ilmanpainetta mittaavilla hengitysmitta-antureilla. Näiden mittausten tavoitteena oli saada kartoitettua kunkin tutkittavan nukkumisen aikana tapahtuvat univaiheiden variaatiot ja poissuljettua mahdolliset uniongelmia. Poissulkuun johtavia taudinkuvia olivat esimerkiksi obstruktiivinen uniapnea ja ylähengitystieahtauma, joiden poissulku varmistettiin hengitysmitta-antureiden avulla, ja levottomat jalat -syndrooma, jonka poissulku tapahtui jalkojen lihasliikkeiden mittausten avulla. Ihon hiilidioksiditason oletetaan laskevan unen vaiheissa ilmenevien syklien mukaan, ja tämän yhteyden seuraamiseksi jokaisen nukutun yön univaiheet tutkitaan 30 sekunnin jakso kerrallaan.

Aivosähkökäyrien määrittämiseksi kunkin koehenkilön päähän kiinnitettiin yhdeksän elektrodi (Fz, F3, F4, C3, C4, A1, A2, O1 ja O2), jotka mittasivat aivotoiminnan aiheuttamia sähköisiä potentiaaleja ihon läpi.



Kuva 2: Pääelektrodien kiinnityskohdat.

Silmäsähkökäyrällä kuvataan silmien liikkeitä, jotka vaihtelevat unen vaiheiden mukaan. Lihassähkökäyrien mittaamiseksi kiinnitettiin potilaan molempien jalkojen tibialis anterior-lihasen päälle kaksi ihoelektrodi, joilla kartoitettiin potilaan mahdollisia periodisia jalkojen liikkeitä. Lihassähkökäyriä kuvattiin myös leukaan kiinnitetyillä ihoelektrodeilla, joilla kartoitettiin leuan alueen lihasliikkeitä ja koehenkilön yleistä lihastonusta.

Hengitystä seurattiin, jotta voitiin sulkea pois siihen liittyvät univaikeudet. Hengityksen mittauksessa käytettiin kahta kehon ympärille tulevaa nauhaa, jotka reagoivat venytykseensä eli rintakehän ja vatsan alueen liikkeisiin. Lisäksi sieraimille asetettujen antureiden kautta mitattiin nenän kautta kulkevaa ilmavirtaa, joka osaltaan kertoo potilaan hengityksen laadusta. Ihon happi- ja hiilidioksidipitoisuutta mitattiin traskutaanisella hiilidioksidimittarilla. Kaikki nämä mittaukset kertovat osaltaan potilaan vireystilan tasosta ja unen syvyydestä.

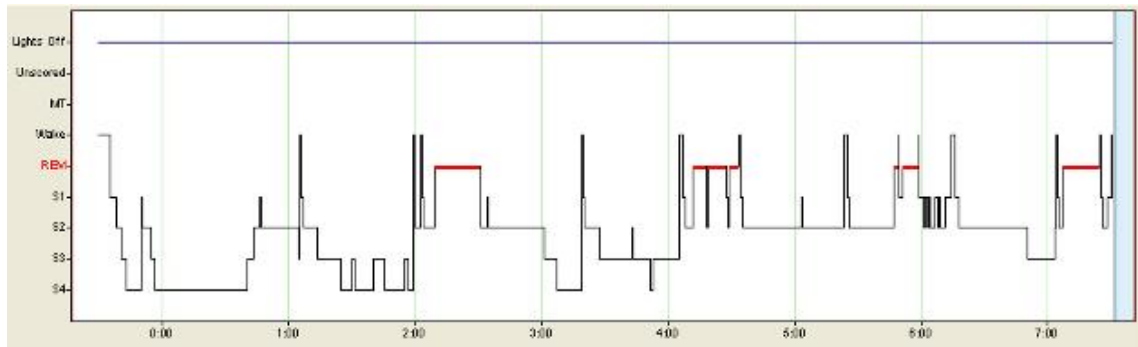
Koehenkilöiden tuli käydä tutkimusöinä nukkumaan mahdollisimman lähellä normaaleja nukkumaanmenoajoja, kuitenkin viimeistään kello 24. Tuona aikana tutkimushenkilön huoneesta sammutettiin valot. Valot sytytettiin ja potilas herätettiin kevyesti puhuttelemalla tasan kahdeksan tuntia valojen sammuttamisesta. Yön aikana potilailla oli mahdollisuus soittaa yövalvoja paikalle esimerkiksi WC-käyntiä varten.

Ihohiilidioksidimittausta jatkettiin vielä kymmenen minuuttia herätyksen jälkeen, jotta voitiin havaita unen ja valveen välillä tapahtuvat ihohiilidioksidipitoisuuden muutokset.

Ennen tutkimusöitä tuli koehenkilöiden noudattaa mahdollisimman normaalia unirytmää vähintään kolmen edeltävän vuorokauden ajan. Tänä aikana koehenkilöt eivät saaneet tupakoida normaalia enempää eivätkä nauttia alkoholia. Myös ruokailuaikataulut ja ruoan määrä tuli pitää mahdollisimman vähän normaalista poikkeavana. Molempina tutkimusöitä edeltävinä päivinä tuli tutkimushenkilön ruokavalion olla identtinen kello 15 jälkeen. Koehenkilöille tarjottiin einesspäivällinen, joka tuli nauttia 4–5 tuntia ennen sovittua nukkumaanmenoaikaa. Lisäksi potilaan mahdollisesti nauttima iltapala kirjattiin ylös ja ensimmäisen illan iltapalan tuli täsmätä toista tutkimusyötä edeltävänä iltana nautittuun iltapalaan. Näin pyrittiin vakioimaan tutkimusöihin mahdollisesti vaikuttavan ravinnon energiamäärä. Kahvia sai juoda enintään viisi kuppia päivässä, mutta ei kuitenkaan klo 13:n jälkeen. Näillä rajoituksilla pyrittiin eliminoimaan unenaikaiseen ihohiilidioksidiin sekoittavasti vaikuttavat tekijät.

Polysomnografia mittaustulosten rekisteröintiin käytettiin Embla® (Medcare Flaga hf. Medical Devices, Reykjavik, Iceland) -laitetta. Aivosähkökäyrät analysointiin Somnologica Studio -ohjelmalla, jolla jokaisesta tutkimusyöstä koottiin hypnogrammi, jossa näkyvät unen vaiheiden variaatiot ajan funktiona. Somnologica Studiolla myös analysoitiin

unitehokkuus, joka kuvaa unessa oloajan suhdetta vuoteessa vietettyyn aikaan, eli tässä tutkimuksessa kahdeksaan tuntiin.



Kuva 3: Esimerkki hypnogrammista.

3.2.4 Kaavakkeet

Aamu- ja iltainenisuutta arvioidaan aamu- tai iltainenisuuskyselykaavakkeella (The Morningness-Eveningness Questionnaire, MEQ, Horne & Ostberg 1976) (27).

Unen laadusta pyritään saamaan tietoja Pohjoismaisen unikyselylomakkeen avulla (Basic Nordic Sleep Questionnaire, BNSQ, Partinen & Gislason 2008) (28). Tällä kartoitetaan, kuinka koehenkilö itse kokee nukkuvansa ja onko unessa häiritseviä elementtejä, esimerkiksi kuorsaus.

Päivällä eri tilanteissa tapahtuvan nukahtamisen todennäköisyyttä arvioitiin

uneliaisuuskyselyn Epworth Sleepiness Scale (ESS) -kaavakkeen perusteella (29).

Kaavakkeesta on mahdollista saada 0–24 pistettä, ja saadun pistemäärän mukaan henkilöt jaetaan kahteen ryhmään: Kun kokonaispistemäärän on enemmän kuin kymmenen, viittaa tulos poikkeavaan väsymykseen. Alle kymmenen pistettä kyselystä saaneiden ajateltiin olevan vireystasoltaan normaalirajoissa.

4 TULOKSET

Tutkimuksen päämuuttuja on unenaikainen ihohiilidioksidipitoisuus ja siinä tapahtuvat muutokset nukahtamisvaiheessa ja yöllisten heräämisten yhteydessä.

Verenluovuttajaryhmä oli samankaltainen kontrolliryhmän kanssa. Koehenkilöryhmien välillä ei tullut ilmi merkitsevää eroa, pituutta lukuun ottamatta ($p < 0.05$).

Tutkimushenkilöt randomoitiin, joten merkitsevä pituusero ryhmien välillä on sattumaa.

Taulukko 1: Tutkimushenkilöiden demografiset tiedot

	verenluovuttajat	kontrollit	p-arvo
	n = 6	n = 6	
ikä	24,5 (1,6)	23,8 (3,7)	0,69
pituus (m)	1,74 (0,04)	1,83 (0,07)	0,02
paino (kg)	76,7 (11,8)	78,6 (8,2)	0,75
BMI (kg/m²)	25,2 (3,2)	23,6 (2,8)	0,38
hemoglobiini	157,7 (12,0)	150,2 (8,2)	0,24
ESS	3,50 (1,38)	6,00 (2,53)	0,06
MEQ	47,0 (9,9)	48,3 (6,2)	0,79

Merkitsevää eroa potilaiden kokemassa uneliaisuudessa ei todettu, kun sitä mitattiin Epworth Sleepiness Scale (ESS) -kaavakkeen avulla. Ryhmien välillä ei myöskään havaittu merkitsevää eroa aamu- ja iltaunisuudessa, jota arvioitiin aamu- tai iltaunisuuskyselykaavakkeella (The Morningness-Eveningness Questionnaire, MEQ, Horne & Ostberg 1976). Taulukossa 1 kuvatuille normaalisti jakaantuneille muuttujille käytettiin riippumattominen otosten t-testiä, jolla saatiin kuvatut p-arvot. Taulukossa on suluissa mainittuna SD eli keskihajonta.

Koehenkilöiden unen laatua tutkittiin nukahtamisviiveen ja unitehokuuden avulla. Nukahtamisviive on kuvattu minuuteissa. Myös ns. delta-poweria eli aivosähkökäyrissä syvässä unessa havaittavien delta-aaltojen määrää mitattiin, jotta saataisiin kuva koehenkilöiden yönaikaisen syvän unen määrästä (univaiheet S3–S4).

Taulukko 2: Tutkimushenkilöiden unen laatua kuvaavat muuttujat, tiedot esitetty keskiarvoina

tutkimusyö		verenluovuttajat (n=6)	kontrollit (n=6)	p-arvo
1	nukahtamisviive	20,6 (13,6)	28,8 (21,5)	0,45
	unitehokkuus	91,1 (5,7)	84,4 (7,6)	0,12
2	nukahtamisviive	13,7 (7,3)	30,3 (32,1)	0,24
	unitehokkuus	96,2 (1,4)	96,2 (1,0)	0,98

Kun mitattiin öiden välillä eroa unitehokkuudessa, havaittiin merkitsevä ero öiden välillä kontrolliryhmässä ($p = 0,01$). Verenluovuttajaryhmässä ($p = 0,06$) merkitsevää eroa öiden välillä ei kuitenkaan huomattu. Unitehokkuus kuvaa nukutun ajan suhdetta vuoteessa oloaikaan. Nukahtamisviiveessä ei havaittu merkitsevää eroa öiden välillä kummassakaan ryhmässä: verenluovuttajat $p = 0,40$, kontrollit $p = 0,87$. Tulokset analysoitiin parillisten otosten T-testillä ja tarkastettiin epäparametrisillä menetelmillä (Mann-Whitneyn U-testi ja Wilcoxon testi), koska otoskoko oli pieni.

Myös delta-aaltojen määrän merkitsevyyden mittaamiseen käytettiin riippumattomien otosten t-testiä. Taulukossa p-arvo vertaa aina samalla rivillä olevia tietoja. Koska otoskoko oli niin pieni, tulokset tarkastettiin vielä epäparametrisillä menetelmillä. Ryhmien väliltä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää eroa. Molempien tutkimusryhmien syvän unen määrä parani toisena yönä mitattuna delta-aaltojen kokonaismäärällä, mutta tämä ero ei ollut kummassakaan ryhmässä tilastollisesti merkitsevä.

Taulukko 3: Tutkimushenkilöiden syvän unen määrä mitattuna delta-aaltojen määrällä ja niiden erotus tutkimusöiden välillä.

Henkilö	Ryhmä	Delta power 1. yö	Delta power 2. yö	Delta power erotus
Veri 3	1	14,1	7,5	6,6
Veri 8	1	17,8	24,3	6,5
Veri 11	1	35,2	31,7	3,5
Veri 12	1	42,4	66,4	23,0
Veri 13	1	11,2	28,8	17,6
Veri 15	1	13,8	8,9	4,9
Veri 1	2	7,4	7,9	0,5
Veri 5	2	27,7	27,5	0,2
Veri 6	2	40,4	38,8	1,6
Veri 9	2	5,3	10,7	5,4
Veri 10	2	24,6	21,0	3,6
Veri 14	2	5,4	6,8	1,4

Taulukossa 3 on kuvattu erikseen kunkin koehenkilön syvän unen määrä, joka on määritelty delta-aaltojen määrällä. Ryhmän 1 koehenkilöt kuuluivat verenluovuttajaryhmään ja ryhmän 2i koehenkilöt kontrolliryhmään. Delta-aaltojen määrässä ei ryhmien välillä tai ryhmien kesken ollut tilastollisesti merkitsevää eroa.

Taulukko 4: Tutkimushenkilöiden delta-aaltojen määrä ja erotus tutkimusöinä ryhmittäin. Suluissa SD (keskihajonta).

	verenluovuttajat (n = 6)	kontrollit (n = 6)
delta power 1. tutkimusyö	22,4 (13,05)	18,5 (14,64)
delta power 2. tutkimusyö	27,9 (21,37)	18,8 (12,72)
p-arvo	0,34	0,81

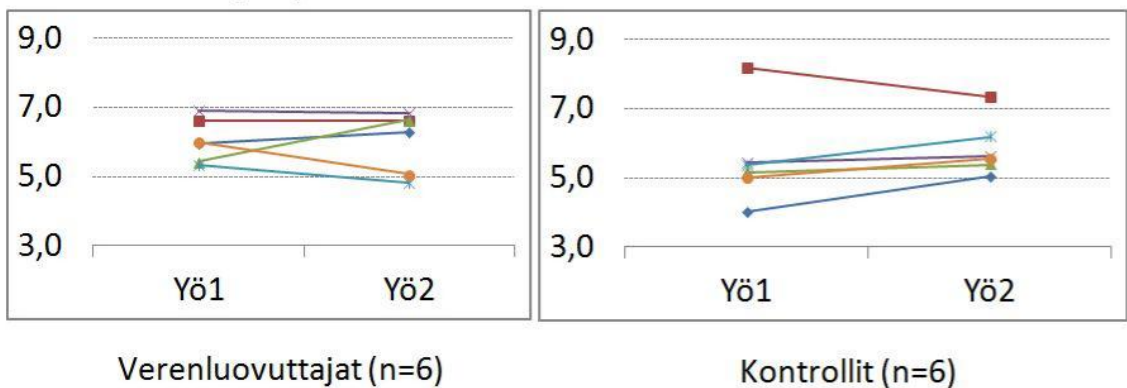
Tutkimushenkilöiltä mitattiin myös unenaikaisen ihohiilidioksidin vaihteluita. Transient Pattern Analyzer (TPA) -ohjelman avulla lasketut arvot koehenkilöiden ihohiilidioksidgeista on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 5: Tutkimushenkilöiden yölliset ihohiilidioksidipitoisuudet.

Tutkimushenkilö	Ryhmä	Tc keskiarvo1	Tc keskiarvo2
Veri 3	1	5,98	6,31
Veri 8	1	6,63	6,63
Veri 11	1	5,44	6,65
Veri 12	1	6,92	6,86
Veri 13	1	5,36	4,84
Veri 15	1	6,01	5,08
Veri 1	2	4,02	5,03
Veri 5	2	8,18	7,34
Veri 6	2	5,16	5,38
Veri 9	2	5,44	5,62
Veri 10	2	5,36	6,19
Veri 14	2	4,99	5,55

Taulukossa 5 esitetyt ihohiilidioksidiarvot ovat keskiarvoja ja niiden yksikkö on kilopascal. Yhden kontrolliryhmäläisen ihohiilidioksidiarvot poikkesivat muiden kontrolliryhmäläisten arvoista huomattavasti (Veri 5). Vaikka vaikutti, että vertaluovuttaneiden ihohiilidioksidiarvot olisivat laskeneet toisena yönä verrattuna ensimmäiseen, tilastollisesti merkitsevää eroa ei löytynyt. Koska otoskoko oli niin pieni, testattiin myös epäparametrisillä menetelmillä, mutta tulokset olivat tilastollisesti samat.

Ihohiilidioksidi (kPa)



Kuva 4: Koehenkilöiden ihohiilidioksidipitoisuudet ryhmittäin.

Kuitenkin kun ihohiilidioksidipitoisuuksista tehtiin kuvaaja (kuva 4), näyttäisivät tulokset noudattavan kummassakin koehenkilöryhmässä tiettyä trendiä, yhtä kontrolliryhmän jäsentä lukuun ottamatta, jolla oli muista poikkeavat arvot.

Teimme ihohiilidioksidiarvojen tulosanalyysin myös niin, että jätimme analyysistä pois kontrolliryhmään kuuluneen selvästi muista poikkeavat arvot saaneen koehenkilön transkutaaniset hiilidioksidiarvot. Taulukoissa 6 ja 7 on esitetty kontrolliryhmän sarakkeessa kontrolliryhmän tulokset sekä ilman poikkeavan koehenkilön arvoja että niiden kanssa. Kontrolliryhmässä havaittiin merkitsevä muutos ensimmäisen ja toisen yön hiilidioksidiarvojen välillä, kun muista poikkeavat arvot jätettiin analysoinnin ulkopuolelle.

Taulukko 6: Ihohiilidioksidiarvot ryhmittäin.

	verenluovuttajat (n = 6)	kontrollit (n = 6/5)
tcCO₂ 1. tutkimusyö	6,054698 (0,62)	5,523606 (1,39)/4,992105 (0,57)
tcCO₂ 2. tutkimusyö	6,062143 (0,87)	5,852893 (0,82)/5,555913 (0,42)
p-arvo	0,981	0,277/ 0,026

Taulukko 7: Muutos keskimääräisessä ihohiilidioksidipitoisuudessa ryhmien välillä.

	verenluovuttajat (n=6)	kontrollit (n=6/5)	p-arvo
muutos keskimääräisessä hiilidioksidipitoisuudessa	0,0074 (0,74)	0,3293 (0,66) / 0,5638 (0,37)	0,444/0,161

Kuten taulukosta 7 ilmenee, merkittävää eroa ihohiilidioksidiarvoissa ryhmien välillä ei havaittu ($p = 0,44$) siinäkin tapauksessa, että kontrolliryhmässä olleen koehenkilön arvot, jotka poikkesivat muista, jätettiin analysoinnista pois ($p = 0,161$).

5 POHDINTA

Aiempien tutkimusten pohjalta näyttäisi olevan mahdollista käyttää ihohiilidioksidimittauksia kuvaamaan verisuonten unenaikaista supistumis- ja laajenemisherkkyyttä (30, 31). Näin ollen se olisi myös hyvä suure kuvaamaan verenluovutuksen vaikutusta kehoon ja sitä kautta uneen.

Tutkittavaksi valitut koehenkilöt kaltaistettiin iän, terveydentilan (perusterveitä), sukupuolen ja verenluovutuskelpoisuuden mukaan, jotta välttyttäisiin mahdollisilta sekoittavilta tekijöiltä.

Unirekisteröinnit tehtiin erityisesti tätä tutkimusta varten Uni- ja hengityskeskus Unestassa. Kaikkien rekisteröintien toteutuksesta huolehtivat samat henkilöt, joten niiden voidaan olettaa olevan tasalaatuisia. Tutkimusöistä vastaava henkilökunta oli myös suorittanut paljon vastaavanlaisia rekisteröintejä aikaisemmissa tutkimuksissa, mikä myös osaltaan takaa rekisteröintien teknistä tasalaatuisuutta.

Tutkimuksen aikana tutkimuksen keskeytti yhteensä kolme koehenkilöä. Kaksi koehenkilöistä jätti tutkimuksen kesken henkilökohtaisista syistä. Yksi koehenkilö taas ei soveltunut verenluovuttajaksi pyörtymistaipumuksen takia, mikä tuli ilmi verenluovutusta edeltävässä verikokeenottotilanteessa. Otoskoon ollessa näin pieni on otettava huomioon myös mahdollisuus tietyyttypisten koehenkilöiden keskeyttämisestä, joka voisi vaikuttaa mittaustuloksiin.

Varsinkin ensimmäisenä koehenkilöiden tutkimusyönä unen laatuun saattoi vaikuttaa myös tutkimustilanteen vieraus (first-night-effect). Molempina tutkimusöinä koehenkilön kehoon kiinnitettiin useita mitta-antureita ja elektrodeja, eikä koehenkilö nukkunut kotonaan vaan tutkimuskeskuksessa. Näin ollen delta-aaltojen näennäiseen määrän nousuun tai ihohiilidioksidiarvoihin toisena yönä voi olla vaikuttanut myös se, että tutkimushenkilöt olivat tuolloin jo toista yötä kiinni mittaustilanteissa, jonka vuoksi tutkimustilanne oli ensimmäiseen yöhön verrattuna tuttu. Delta-aaltojen nousu ei

kuitenkaan lähemmässä tulosten analysoinnissa osoittautunut merkittäväksi kummassakaan ryhmässä ($p > 0.05$). Myöskään mitatuissa ihohiilidioksideissa ei havaittu merkittävää eroa koehenkilöryhmien välillä. Tulokset olivat kuitenkin melko yhteneviä. Tutkimustilanteeseen tottumisen vaikutuksen voitaisiin olettaa olevan sama molemmissa tutkittavissa ryhmissä, jolloin tästä johtuva nousu delta-aaltojen määrässä tai ihohiilidioksidipitoisuudessa olisi molemmissa tutkimusryhmissä sama. Delta-aaltojen määrässä, jotka kuvaisivat unen tehokkuutta, ei tulosanalyseissä havaittukaan eroa ryhmien välillä.

Tutkimustulosten perusteella kävi ilmi, että valittu koehenkilöiden määrä oli liian pieni, jotta olisi voitu osoittaa merkitsevä muutos unen syvyydessä tai ihohiilidioksidissa verenluovutuksen jälkeen. Tulokset olivat kuitenkin varsin yhteneviä, mikä viittaisi siihen, että aineistoa kasvattamalla merkitseviin eroihin päästäisiin jo vähäiselläkin koehenkilöiden määrän kasvattamisella. Pohdittavaksi jääkin, olisiko esimerkiksi delta-aaltojen määrän erot tutkimushenkilöryhmien toisten öiden välillä saatu merkitseväksi ($p < 0.05$) kasvattamalla otoskoko.

Tutkimuksen tärkeimpänä trendinä voidaan pitää sitä, että ihohiilidioksidipitoisuudet nousevat systemaattisesti, kun nukutaan kaksi peräkkäistä yötä unilaboratoriossa. Ihohiilidioksidiarvoissa voidaan siis nähdä ns. ensimmäisen yön vaikutus (first-night-effect). Normaali verenluovutus on kuitenkin toimenpide, jonka jälkeen tämä ensimmäisen yön vaikutus kumoutuu. Näin ollen ei ole poissuljettua, että verenluovutuksen lisäämä sympaattinen aktivaatio näkyy myös seuraavan unen aikana niin, että normaalia ihohiilidioksidipitoisuuden nousua ei havaita. Tämä kehityssuunta on nähtävissä ihohiilidioksidipitoisuuksia esittävässä kuvaajissa (kuva 4). Asia vaatisi lisäkartoitusta.

Nukahtamisviiveessä ei havaittu merkitsevää eroa ryhmien välillä. Tähänkin suureeseen vaikutti varmasti tutkimustilanteeseen totuminen, joka mahdollisesti vaikutti unesta kiinni saamiseen positiivisesti toisena yönä ensimmäiseen yöhön verrattuna. Suuremmalla otoskoolla ryhmien välille olisi kuitenkin saattanut nousta eroa, joka olisi voinut heijastaa verenluovutuksen sympatikotonista vaikutusta.

Ainoaksi merkitseväksi eroksi verenluovuttajien ryhmän ja verrokkiryhmän välillä nousi koehenkilöiden pituus. Kontrolliryhmään kuuluneet koehenkilöt olivat keskimäärin 1,83 metriä pitkiä, kun taas verenluovuttajaryhmään kuuluneet olivat keskimäärin 1,74 metriä pitkiä. Koska koehenkilöt olivat randomoituja, oli pituusero sattumaa. Ei kuitenkaan voida täysin sulkea pois, ettei tällä olisi ollut vaikutusta tutkimustuloksiin. Koehenkilöiden painolla tai painoindeksillä ei kuitenkaan ollut ryhmien välillä merkitsevää eroa, joten tutkittavien ruumiinrakenteet eivät ratkaisevasti eronneet toisistaan ryhmien välillä, vaikka pituusero löytyikin. Näin ollen ei ole todennäköistä, että ryhmien välisellä painoerolla olisi tutkimustuloksiin vääristävää vaikutusta. Koska koehenkilöryhmien välillä ei iässä eikä veren hemoglobiinitasossa löydetty merkitsevää eroa, voidaan todeta, etteivät nämä tekijät vaikuttaneet tuloksia vääristävästi.

Kaikki koehenkilöt täyttivät unitottumuksia ja unenlaatua mittaavat kyselylomakkeet ensimmäistä yötä edeltävänä iltana tutkimuskeskuksella, joten tilanne oli kaikille koehenkilöille jotakuinkin sama. Jatkuva stressi voi pitää yllä sympaattisen hermoston aktiivisuutta, joka voisi vaikuttaa unen laatuun verenluovutuksen lisäksi. Kuitenkaan väsymystä kuvaavassa ESS-indeksissä ei havaittu merkitsevää eroa ryhmien välillä. Myöskään aamu- ja iltanuunisuutta arvioivan MEQ-kyselykaavakkeen tuloksissa ei havaittu merkitsevää eroa ryhmien välillä, joten voidaan olettaa, että ryhmät olivat tässäkin suhteessa homogeeniset.

Yhdellä koehenkilöllä todettiin poikkeavat arvot ihohiilidioksidipitoisuuksissa verrattuna muihin koehenkilöihin. Teimme ihohiilidioksidipitoisuuksien tulosanalyysin myös niin, että karsimme hänet verrokkiryhmästä. Näin tehdyssä tulosanalyysissä ero transkutaanisissa hiilidioksidipitoisuuksissa ensimmäisen ja toisen yön välillä verrokkiryhmässä oli merkitsevä ($p < 0.05$). Supistetussa kontrolliryhmässä siis havaittiin ihohiilidioksidipitoisuuden nousu toisena yönä verrattuna ensimmäiseen yöhön. Merkitsevää eroa ryhmien välillä ei kuitenkaan havaittu siinäkään tapauksessa, että yhden koehenkilön poikkeavat arvot jätettiin tulosanalyysin ulkopuolelle. Merkitsevää eroa ei myöskään havaittu tutkimusöiden välillä ihohiilidioksidiarvoissa, kun analysoitiin vain verenluovuttajaryhmän tuloksia.

Myöhemmin selvisi, että verrokkiryhmän koehenkilöllä, jonka arvot poikkesivat muista, epäiltiin sokeriaineenvaihdunnan häiriötä. Tämä olisi sulkenut hänen pois tutkimuksesta, jos aineenvaihdunnan häiriötä olisi epäilty jo tutkimuksen suoritusvaiheessa. Koska otoskoko kussakin ryhmässä oli vain kuusi koehenkilöä, voivat yhden koehenkilön puuttuvat arvot heijastua tutkimustuloksiin paljonkin. Vaikka analysoimme tulokset myös ilman yhden koehenkilön poikkeavia arvoja, suurempi otoskoko olisi voinut tuoda ryhmien välille eroja, joita ei nyt tullut ilmi.

Kysymykseksi nouseekin, olisiko tutkimushenkilöiden terveydentilaa tullut kartoittaa paremmin. Muun muassa sokeriaineenvaihdunnan häiriöillä on mahdollisesti vaikutusta uneen ja ne voivat toimia tutkimuksessa sekoittavina tekijöinä. Koehenkilöiltä olisi voitu tutkia paastoplasman glukoosi, jolloin poikkeavat verensokeriarvot olisivat saattaneet tulla ilmi. Tässä tutkimuksessa resursseja laajempaan koehenkilöiden terveydentilan kartoitukseen ei kuitenkaan ollut.

Hyötynä tutkimuksesta saatiin tietoa ihohiilidioksidimittauksista ja -mittareista ja siitä, miten verenluovutus mahdollisesti hiilidioksidiarvoihin vaikuttaisi. Saatuja ihohiilidioksidiarvoja voidaan myös mahdollisesti käyttää seuraavissa tutkimuksissa pohjana ja verrokkeina.

Tässä tutkimuksessa ei vielä voitu havaita verenluovutuksen vaikutusta unen laatuun tai unenaikaisiin ihohiilidioksidipitoisuuksiin. Ero verenluovuttajaryhmän ja kontrolliryhmän välille nousi todennäköisemmin suuremmalla otoskolla, joten asia vaatii lisäkartoitusta. Tämä tutkimus kuitenkin toimii hyvänä alustavana tutkimuksena.

LÄHTEET

- (1) Purves D. Neuroscience. 4th edition ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc; 2008.
- (2) Porkka-Heiskanen T, Stenberg D. Unen kemia. *Duodecim* 2008;124:246-253.
- (3) Boron WF, Boulpaep EL. Medical Physiology. 2nd edition ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2009.
- (4) Koulu M, Tuomisto J. Farmakologia ja toksikologia. 6. painos: Medicina Oy 2001.
- (5) Kalinchuk AV, McCarley RW, Porkka-Heiskanen T, Basheer R. The time course of adenosine, nitric oxide (NO) and inducible NO synthase changes in the brain with sleep loss and their role in the non-rapid eye movement sleep homeostatic cascade. *J Neurochem* 2011 Jan;116(2):260-272.
- (6) Vesterager P. Effect of electrode temperatures on monitoring of transcutaneous carbon dioxide (TcPCO₂) in prematures. *Biotelem Patient Monit* 1982;9(1):18-27.
- (7) Wimberley PD, Pedersen KG, Thode J, Fogh-Andersen N, Sorensen AM, Siggaard-Andersen O. Transcutaneous and capillary pCO₂ and pO₂ measurements in healthy adults. *Clin Chem* 1983 Aug;29(8):1471-1473.
- (8) Janssens JP, Perrin E, Bennani I, de Muralt B, Titelion V, Picaud C. Is continuous transcutaneous monitoring of PCO₂ (TcPCO₂) over 8 h reliable in adults? *Respir Med* 2001 May;95(5):331-335.
- (9) Parker SM, Gibson GJ. Evaluation of a transcutaneous carbon dioxide monitor ("TOSCA") in adult patients in routine respiratory practice. *Respir Med* 2007 Feb;101(2):261-264.
- (10) Aittokallio J, Hiissa J, Saaresranta T, Polo-Kantola P, Aittokallio T, Polo O. Nocturnal transcutaneous carbon dioxide tension in postmenopausal estrogen users and non-users. *Menopause International* 2009 Sep;15(3):107-112.
- (11) Aamand R, Dalsgaard T, Jensen FB, Simonsen U, Roepstorff A, Fago A. Generation of nitric oxide from nitrite by carbonic anhydrase: a possible link between metabolic activity and vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009 Dec;297(6):H2068-74.
- (12) Kalinchuk AV, McCarley RW, Porkka-Heiskanen T, Basheer R. The time course of adenosine, nitric oxide (NO) and inducible NO synthase changes in the brain with sleep loss and their role in the non-rapid eye movement sleep homeostatic cascade. *J Neurochem* 2011 Jan;116(2):260-272.
- (13) Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 12th ed ed.: Elsevier Inc.
- (14) Zollei E, Paprika D, Makra P, Gingl Z, Vezendi K, Rudas L. Human autonomic responses to blood donation. *Autonomic Neuroscience-Basic & Clinical* 2004 Feb 27;110(2):114-120.

- (15) Evans RG, Ventura S, Dampney RA, Ludbrook J. Neural mechanisms in the cardiovascular responses to acute central hypovolaemia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001 May-Jun;28(5-6):479-487.
- (16) Verenluovuttajan tietopaketti. 2011; Saatavilla: www.veripalvelu.fi. Tieto haettu 03, 23, 2011.
- (17) Mozaheb Z, Khayami M, Sayadpoor D. Iron Balance in Regular Blood Donors. *Transfus Med Hemother* 2011;38(3):190-194.
- (18) Birgegard G, Schneider K, Ulfberg J. High incidence of iron depletion and restless leg syndrome (RLS) in regular blood donors: intravenous iron sucrose substitution more effective than oral iron. *Vox Sang* 2010 Nov;99(4):354-361.
- (19) Silber MH, Richardson JW. Multiple blood donations associated with iron deficiency in patients with restless legs syndrome. *Mayo Clin Proc* 2003 Jan;78(1):52-54.
- (20) Allen R. Dopamine and iron in the pathophysiology of restless legs syndrome (RLS). *Sleep Med* 2004 Jul;5(4):385-391.
- (21) Earley CJ, Connor JR, Beard JL, Malecki EA, Epstein DK, Allen RP. Abnormalities in CSF concentrations of ferritin and transferrin in restless legs syndrome. *Neurology* 2000 Apr 25;54(8):1698-1700.
- (22) Lauerma H. Levottomat jalat. *Duodecim* 2000;116(21):2351-2354.
- (23) O'Brien LM, Koo J, Fan L, Owusu JT, Chotinaiwattarakul W, Felt BT, et al. Iron stores, periodic leg movements, and sleepiness in obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med* 2009 Dec 15;5(6):525-531.
- (24) Eberhard P. The design, use, and results of transcutaneous carbon dioxide analysis: current and future directions. *Anesth Analg* 2007 Dec;105(6 Suppl):S48-52.
- (25) Rennie JM. Transcutaneous carbon dioxide monitoring. *Arch Dis Child* 1990 Apr;65(4 Spec No):345-346.
- (26) Aittokallio J. Nocturnal transcutaneous carbon dioxide and early changes in atherosclerosis in pre- and postmenopausal women. *Turku: Annales Universitatis Turkuensis D 877*; 2009.
- (27) Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 1976;4(2):97-110.
- (28) Partinen M, Gislason T. Basic Nordic Sleep Questionnaire (BNSQ): a quantitated measure of subjective sleep complaints. *J Sleep Res* 1995 Jun;4(S1):150-155.
- (29) Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991 Dec;14(6):540-545.
- (30) Virkki A, Polo O, Saaresranta T, Laapotti-Salo A, Gyllenberg M, Aittokallio T. Overnight features of transcutaneous carbon dioxide measurements as predictors of individual metabolic status. *Artificial intelligence in medicine*. 2008;42:55-65

(31) Aittokallio J, Polo O, Hiissa J, Virkki A, Toikka J, Raitakari O, Saaresranta T, Aittokallio T. Overnight variability in transcutaneous carbon dioxide predicts vascular impairment in women. *Experimental Physiology* 2008;93:880-91