

Ekku Palmgren

# UNISUKKULOIDEN TOPOGRAFIA ALLE KOULUIKÄISILLÄ LAPSILLA

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta  
Syventävä työ  
Maaliskuu 2020

# Sisällys

<b>JOHDANTO</b> .....	<b>2</b>
<b>AINEISTO JA MENETELMÄT</b> .....	<b>5</b>
<b>TULOKSET</b> .....	<b>6</b>
VISUAALISEN TARKISTUKSEN VAIKUTUS SPINDELIMÄÄRIIN .....	6
VISUAALISEN TARKISTUKSEN JÄLKEISET SPINDELIMÄÄRÄT .....	10
<b>POHDINTA</b> .....	<b>12</b>
<b>LÄHTEET</b> .....	<b>14</b>

## Johdanto

Yöuni voidaan jakaa kahteen vaiheeseen, NREM -ja REM-uneen. NREM-uni muodostaa yönestä noin 80 % (1). NREM--univaihe1 eli lyhyesti N1-uni, vastaa torketta, N2-uni kevyttä unta ja N3-uni puolestaan syvää unta (1). N3-uni ilmenee elektroenkefalografiassa (EEG) hidastajuisina aaltoina ja sen ajatellaan olevan palauttavaa ja virkistävää unta. NREM-unen aikana EEG:ssä voidaan havaita kolme erilaista NREM-unelle tunnusomaista EEG-muutosta: unisukkulat eli spindelit ja K-kompleksit (0,5 – 1 Hz) esiintyvät pääosin N2-unessa ja hitaat aallot (1 – 4 Hz) N3-unessa (1,2).

Yleisen määritelmän mukaan EEG:llä mitatut spindelit kestävät vähintään 0,5 s, ovat taajuudeltaan noin 10 – 15 Hz ja toistuvat enintään noin muutaman kerran minuutissa (1,2). Yksittäinen spindeli muodostuu 5-20:stä toistuvasta poikkeamasta EEG:ssä, jotka tihentyvät kohti spindelin keskikohtaa ja harventuvat edelleen spindelin loppua kohden (1).

Spindelit voidaan jakaa fysiologialtaan kolmeen vaiheeseen: alkuvaiheeseen, synkronoituun ylläpitovaiheeseen (pacemaking) ja loppuvaiheeseen. Unen aikana thalamuksen retikulaariturmakkeen (TRN) solut ovat hyperpolarisoituneet. Alkuvaiheessa TRN-solujen hyperpolarisaatio johtaa ns. T-kanavien aukeamiseen, joiden kautta kalsiumionit depolarisoivat neuronin hetkellisesti niin, että natriumkanavien aktivaatiokynnys saavutetaan ja thalamokortikaaliset solut (TC) inhiboituvat. TC-solujen inhibitio johtaa ns. rebound dischargen syntyyn, jossa TC-solut vastavuoroisesti aktivoivat TRN-soluja ja syntyy itseään vahvistava kierre. Spindeliprosessin loppuvaiheessa suuressa roolissa ovat TRN-solujen välinen GABAerginen inhibitio. Muita loppuprosessiin vaikuttavia tekijöitä ovat mm. TC- ja TRN-solujen aktivaatioherkkyyden heikentyminen ionien kertyessä soluihin ja myös muu kortikaalinen aivotoiminta. (1)

Spindelit voidaan jakaa niiden taajuuden mukaisesti hitaisiin (alle 12 Hz) ja nopeisiin spindeleihin (yli 12 Hz) (1,3). Topografisesti hitaat spindelit esiintyvät pääasiassa frontaalilla aivokuoren alueilla ja nopeat spindelit puolestaan parietaalisilla ja sentraalisilla aivokuoren alueilla (3,4). Hitailta ja nopeilla spindeleillä vaikuttaisi olevan omat syntysijaintinsa ja lisäksi ne aktivoituvat suurimman osan ajasta

samanaikaisesti, jolloin EEG:ssä nähdään sekä hitaita frontaalisia spindeleitä että nopeita parietaali-sentraalisia spindeleitä (2,5).

Spindeleiden merkitys ei ole vielä täysin selvillä. Niiden on kuitenkin havaittu ylläpitävän unta inhiboimalla aisti-informaation siirtymistä aivokuorelle (1) ja korreloivan suoraan hippokampuksen aktiivisuuden ja täten mahdollisesti muistin konsolidaation kanssa (1,6). Nopeat sentraaliset spindelit on yhdistetty muistamiseen ja oppimiseen (3). Lisäksi aikuisilla erityisesti nopeiden sentraalisten spindeleiden esiintyvyyden on havaittu lisääntyvän niillä aivojen alueilla, joita on aiemmin päivällä valvellaoloaikana käytetty runsaasti, viitaten mahdolliseen hermoverkkojen paikalliseen plastisiteettiin (7). Spindeleillä on myös kuvattu olevan solutason vaikutuksia mm. geenitranskriptioon ja proteiinisynteesiin (1).

Lasten spindeleitä on tutkittu vähemmän kuin aikuisten. Muutamit julkaistut tutkimukset kuitenkin osoittavat, että lapsien spindeleiden merkitykset ovat moninaisia. Spindeleiden runsaan lukumäärän on mm. havaittu parantavan lasten kognitiivisia taitoja sekä sosiaalista käyttäytymistä, ja erityisesti nopeat sentraaliset spindelit on lapsilla liitetty parempaan muistikykyyneen ja reaktionopeuteen (8–10). Lisäksi nopeiden sentraalisten spindeleiden ja verbaalisen suorituskyyvyn välillä on havaittu positiivinen korrelaatio, kun vastaavasti hitailla frontaalisilla spindeleillä ja verbaalisella suorituskyyvällä havaittiin negatiivinen korrelaatio (11). Lasten spindelitutkimuksissa on käytetty usein vain yhtä tai kahta EEG-kanavaa (5,8–10). Useissa tutkimuksissa, joissa on käytetty useampia EEG-kanavia, ei ole eroteltu paikallisia ja laaja-alaisia spindeleitä toisistaan (11,12). Lasten paikallisten spindeleiden merkityksiin ja paikallisten eroista laaja-alaisiin spindeleihin ei täten ole kattavasti tietoa. Myös koko yöni tulisi tutkimuksissa analysoida, sillä sentraalisten spindeleiden on havaittu nopeutuvan aamuöistä unta kohden (4).

Spindelitutkimus perustuu spindeleiden visuaaliseen ja automaattiseen luokitteluun. Molemmilla luokittelumenetelmillä on omat vahvuutensa ja heikkoutensa. Kokeneiden EEG-tulkitsijoiden suorittamaa visuaalista luokittelua pidetään spindeliluokittelun kultaisena standardina (13). Visuaalinen luokittelu on kuitenkin hidasta ja riippuvaista luokittelijan subjektiivisesta näkemyksestä, johon vaikuttavat mm. luokittelijan kokemus sekä vireystila.

Automaattinen luokittelu perustuu yleensä spindelin amplitudin ja erityisesti taajuuden tunnistamiseen (3,4,7,13–15). Automaattisella luokittelulla voidaan saada nopeita tuloksia ja löytää mahdollisesti spindeleitä, joita voisi jäädä visuaalisen luokittelun ulkopuolelle. Automaattista luokittelua on kuitenkin pitänyt verrata visuaaliseen luokitteluun, jotta saadut tulokset olisivat luotettavia.

Tämän tutkimuksen tavoitteena on testata Noxturnal-unianalyysiohjelmaan integroitua spindelisovellusta, ja selvittää alustavasti automaattisesti luokiteltujen spindeleiden paikkansapitävyyttä ja luotettavuutta tarkastamalla ohjelmalla havaitut spindelit visuaalisesti.

## Aineisto ja menetelmät

Tutkimus on osa isompaa hanketta (Child Sleep). Tämän tutkimuksen aineisto koostuu noin 5-6 vuotiaista terveistä lapsista (yht. 23), joille tehtiin TAYS:n Kliinisen neurofysiologian yksikön unilaboratoriossa normaali kliininen unipolygrafia. Aineisto on kerätty 2017-2019.

Tutkimukseen osallistuvien lasten unitutkimukset on luokiteltu univaiheisiin ja niistä on arvioitu myös hengitystapahtumat. Lapset, joilla todettiin hengityshäiriö, suljettiin pois tutkimuksesta.

TkT Antti Saastamoinen on ohjelmoinut tutkimusryhmämme pitkään käyttämän spindelitunnistusmenetelmän yleisesti käyttämääme Noxturnal-unianalyysiohjelmaan. Antti Saastamoinen valikoi satunnaisesti 10 rekisteröintiä, jotka hän ajoi spindeliohjelmalla. Ohjelma analysoi spindelit kahdeksalta EEG-kanavalta (Fp1-A2, Fp2-A1, F3-A2, F4-A1, C3-A2, C4-A1, O1-A2 ja O2-A1). Tämän jälkeen automaattisesti havaitut spindelit käytiin visuaalisesti läpi poistaen samalla virheellisesti havaittuja spindeleitä. Kahdelta tutkittavalta ohjelman havaitsemat spindelit katosivat ennen visuaalisen tarkistuksen päättymistä. Kolmelta tutkittavalta spindelimerkintöjä ei löytynyt ja lopulta tutkimukseen päätyi mukaan viisi 6-vuotiasta lasta.

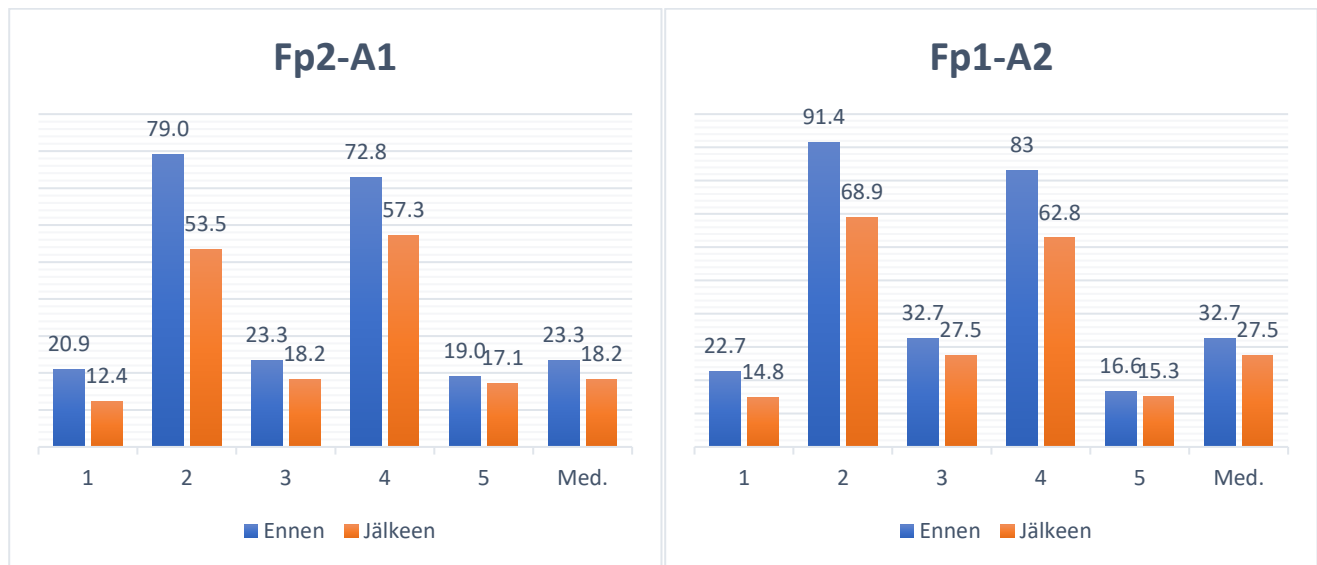
Jokaisesta unirekisteröinnistä kerättiin automaattisesti tunnistettujen unisukkuloiden määrät nukuttua tuntia kohden (spindelitiheys) Exceliin. Keräys uusittiin visuaalisen spindelitarkistuksen jälkeen. Automaattisesti tunnistettujen spindeleiden tiheyttä verrattiin visuaalisen tarkistuksen jälkeisiin tiheyksiin EEG-kanavakohtaisesti Wilcoxonin merkittyjen sijalukujen testillä. Lisäksi visuaalisen tarkistuksen jälkeisten spindeleiden esiintymistä verrattiin toisiinsa saman aivopuoliskon eri aivoalueilla Friedmanin testillä ja aivopuoliskojen välillä Wilcoxonin testillä. Aineiston tilastollinen käsittely tehtiin IBM SPSS Statistics 25 -tietojenkäsittelyohjelmalla. Tulokset osiossa esitetyt taulukot ja kuvat tehtiin Excelillä.

## Tulokset

### Visuaalisen tarkistuksen vaikutus spindelimääriin

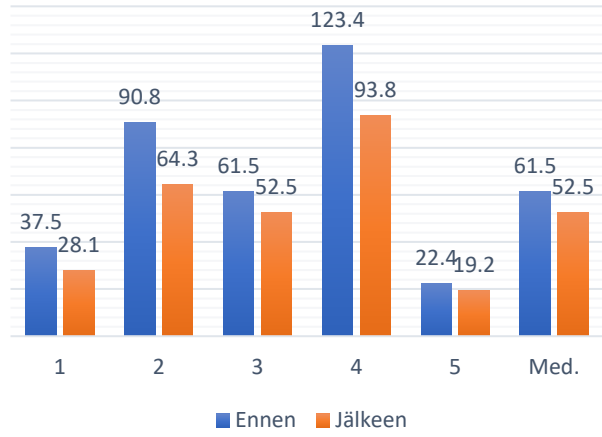
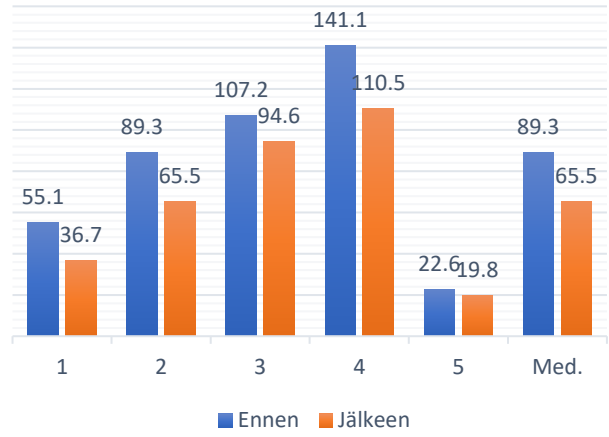
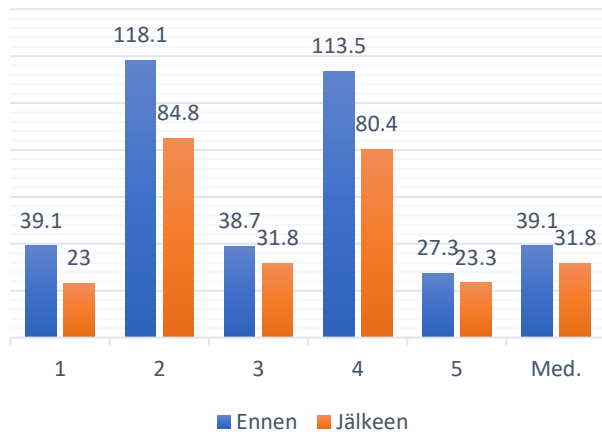
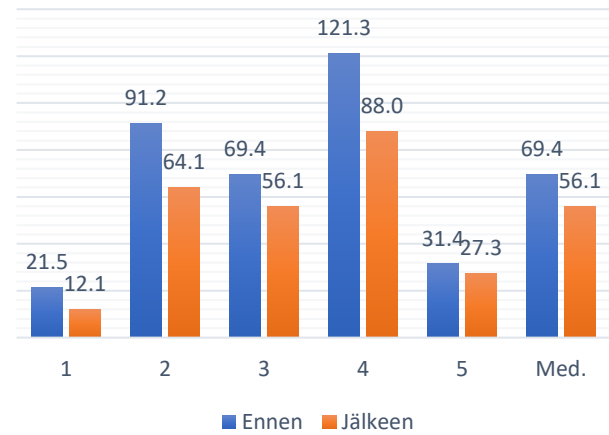
Spindelimäärät vaihtelivat suuresti kanavakohtaisesti ja lasten välillä. Lapsilla, joilla automaattiluokitus tunnisti runsaammin spindeleitä (lapset 2 ja 5), vaikutti olevan runsaammin spindeleitä visuaalisen tarkistuksen jälkeenkin kuin lapsilla, joilla automaattiluokitus tunnisti vähemmän spindeleitä. Näillä lapsilla vaikutti myös olevan enemmän spindeleitä kaikilla kanavilla verrattuna muihin lapsiin, poikkeuksena kuitenkin kanava F4-A1. (Kuvat 1 a-h)

Visuaalisen tarkistuksen jälkeen spindelitiheys pieneni kaikilla lapsilla ja kanavilla verrattuna automaattisen spindelitunnistuksen havaitsemaan tiheyteen (kuvat 1 a-h). Kuvissa esitetään myös koko ryhmän spindelitiheyksien mediaanit.

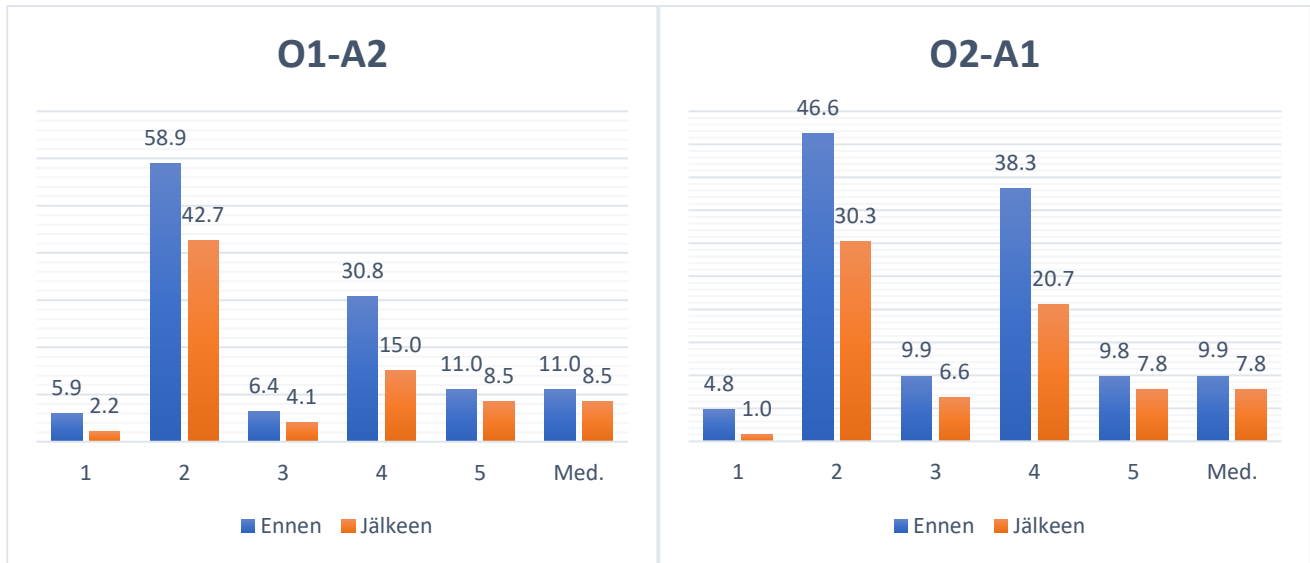


1 a

1 b

**F3-A2***1 c***F4-A1***1 d***C3-A2***1 e***C4-A1***1 f*





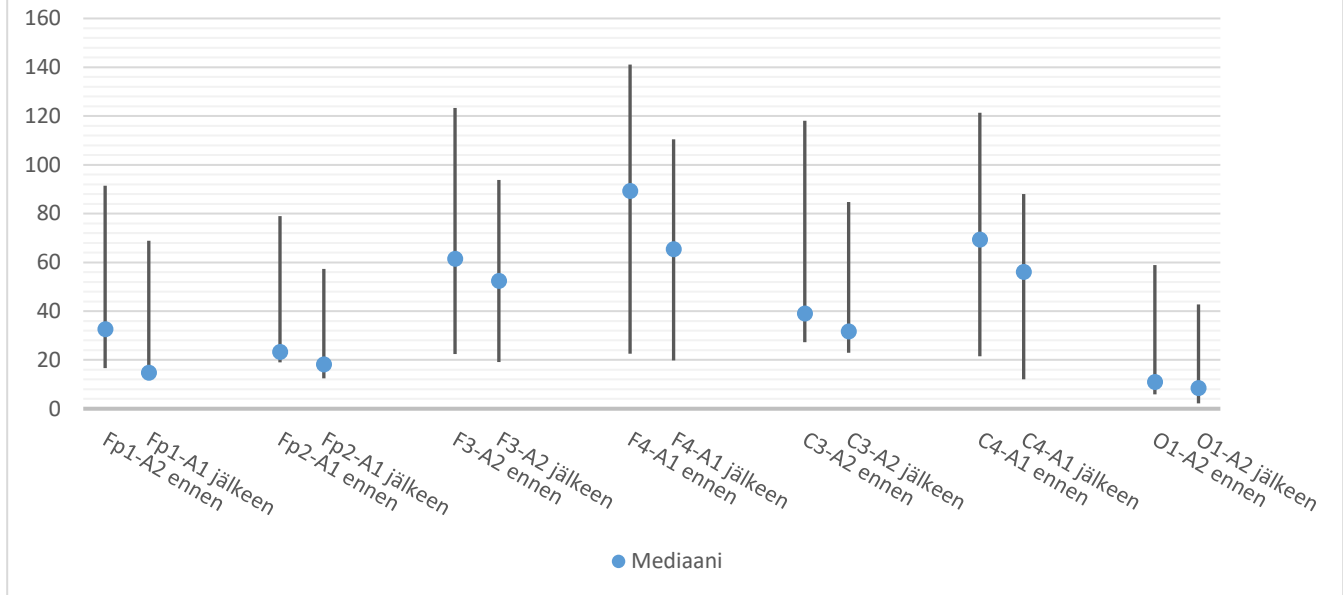
1 g

1 h

Kuvat 1 a-h. Spindelimäärät nukuttua tuntia kohden. Arvot kanavakohtaisesti ennen ja jälkeen visuaalisen tarkistuksen. Numerot 1-5 kuvastavat tutkittavia lapsia. Med kuvastaa koehenkilöiden spindelitiheyden mediaania.

Koehenkilöiden spindelitiheyden mediaanit vaihteluväleineen tutkituilla kanavilla ennen ja jälkeen visuaalisen tarkistuksen on esitetty kuvassa 2 ja taulukossa 1. Kaikilla kanavilla spindelitiheys pieneni tilastollisesti merkitsevästi visuaalisen tarkistuksen jälkeen (kaikki p -arvot 0,043) (taulukko 2).

## EEG-KANAVIEN MAKSIMIT, MINIMIT JA MEDIAANIT



Kuva 2. Spindelimäärät nukuttua tuntia kohden. Ryhmäkohtaiset mediaanit, minimi ja maksimit kanavittain ennen ja jälkeen visuaalisen tarkistuksen.

Taulukko 1. Spindelimäärät nukuttua tuntia kohden. Ryhmäkohtaiset mediaanit, minimi ja maksimit kanavittain ennen ja jälkeen visuaalisen tarkistuksen.

	Mediaani ennen	Mediaani jälkeen	Minimi ennen	Minimi jälkeen	Maksimi ennen	Maksimi jälkeen
<b>Fp1-A2</b>	32,7	27,5	16,6	14,8	91,4	68,9
<b>Fp2-A1</b>	23,3	18,2	19,0	12,4	79,0	57,3
<b>F3-A2</b>	61,5	52,5	22,4	19,2	123,4	93,8
<b>F4-A1</b>	89,3	65,5	22,6	19,8	141,1	110,5
<b>C3-A2</b>	39,1	31,8	27,3	23,0	118,1	84,8
<b>C4-A1</b>	69,4	56,1	21,5	12,1	121,3	88,0
<b>O1-A2</b>	11,0	8,5	5,9	2,2	58,9	42,7
<b>O2-A1</b>	9,9	7,8	4,8	1,0	46,6	30,3

Taulukko 2. Spindelimäärät nukuttua tuntia kohden. Kanavaokohtaisen vertailun p-arvot ennen ja jälkeen visuaalisen tarkistuksen.

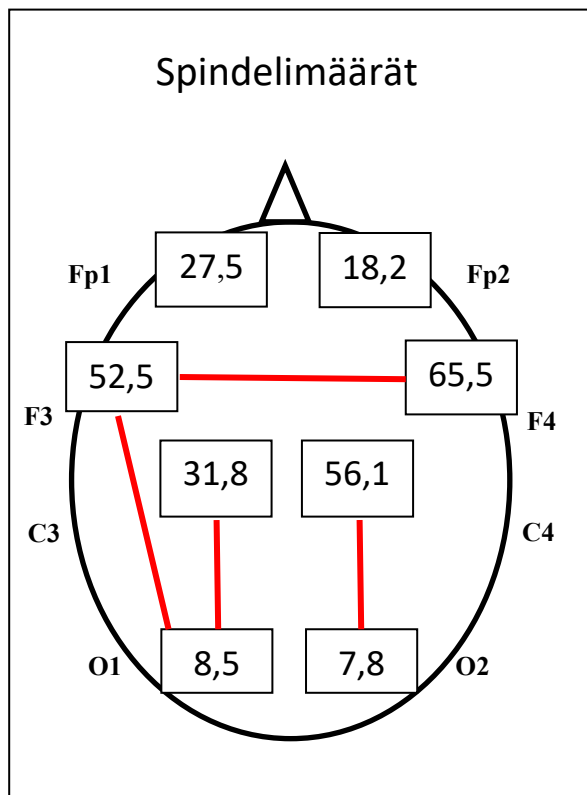
	Fp1-A2	Fp2-A1	F3-A2	F4-A1	C3-A2	C4-A1	O1-A2	O2-A1
<b>p-arvo</b>	0,043	0,043	0,043	0,043	0,043	0,043	0,043	0,043

## Visuaalisen tarkistuksen jälkeiset spindelimäärät

Kanavakohtaisten spindelitiheyksien havaittiin eroavan toisistaan visuaalisen tarkistuksen jälkeen saman aivopuoliskon eri kanavien kesken, ja myös aivopuoliskojen välisten kanavien kesken (kuva 3).

Oikealla aivopuoliskolla C4-A1 -kanavalla oli tilastollisesti merkitsevästi enemmän spindeleitä kuin kanavalla O2-A1 ( $p = 0,004$ , taulukko 3 a). Vasemmalla aivopuoliskolla O1-A2 -kanavalla oli merkitsevästi vähemmän spindeleitä, kuin kanavilla F3-A2 ( $p = 0,020$ ) ja C3-A2 ( $p = 0,020$ , taulukko 3 b).

Aivopuoliskojen välisiä spindelitiheyksiä vertailtaessa todettiin F4-A1 -kanavalla tilastollisesti enemmän spindeleitä kuin kanavalla F3-A2 ( $p = 0,043$ , taulukko 4).



Kuva 3. Visuaalisesti tarkistettujen spindeleiden tiheydet (mediaanit) eri EEG-kanavilla. Tilastollisesti merkitsevät kanavien väliset spindelitiheyserot on merkitty punaisella viivalla.

Taulukot 3 a & b. Spindelitiheyksien vertailujen p-arvot aivopuoliskoittain visuaalisen tarkistuksen jälkeen.

Kanavat	p-arvo
O2-A1 - Fp2-A1	0,850
O2-A1 - F4-A1	0,086
O2-A1 - C4-A1	<b>0,004</b>
Fp2-A1 - F4-A1	1,000
Fp2-A1 - C4-A1	0,300
C4-A1 - F4-A1	1,000

3 a. Oikean aivopuoliskon kanavat

Kanavat	p-arvo
O1-A2 - Fp1-A2	0,850
O1-A2 - F3-A2	<b>0,020</b>
O1-A2 - C3-A2	<b>0,020</b>
Fp1-A2 - F3-A2	0,850
Fp1-A2 - C3-A2	0,850
C3-A2 - F3-A2	1,000

3 b. Vasemman aivopuoliskon kanavat

Taulukko 4. Spindelitiheyksien vertailujen p-arvot aivopuoliskojen välillä visuaalisen tarkistuksen jälkeen.

	Fp1-A2 - Fp2-A1	F3-A2 - F4-A1	C3-A2 - C4-A1	O1-A2 - O2-A1
p-arvo	0,08	<b>0,043</b>	0,893	0,893

## Pohdinta

Tutkimuksemme kaksi pääasiallista tavoitetta oli selvittää alle kouluikäisten lasten spindeleiden topografista jakautumista ja samalla testata Noxturnaliin integroidun spindelitunnistusohjelman toimivuutta, jonka tarkemmat toimintaperiaatteet on selitetty toisaalla (15).

Visuaalisen tarkistuksen tuloksena tutkittavan lapsiryhmän spindelitiheysmäärät vähenivät merkittävästi jokaisella EEG-kanavalla. Ohjelma ei tosin tässä vaiheessa sallinut spindelien lisäämistä manuaalisesti. Tämä viittaa spindelitunnistusohjelman olevan yliherkkä lasten spindelien tunnistamisessa eikä automaattisesti havaittuihin tuloksiin voi vielä täysin luottaa. Lisäksi tutkittavien spindelitiheysmäärät vaihtelivat suuresti keskenään. Tätä vaihteluväliä olisi mahdollisesti voitu tasoittaa käyttämällä suurempaa tutkimusotosta, mutta toisaalta on tiedossa, että spindelien määrissä voi koehenkilöiden välillä olla suuriakin eroja.

Verrattaessa visuaalisen tarkistuksen jälkeisiä spindelitiheyksien mediaaneja, havaittiin oikealla aivopuoliskolla C4-A1 -kanavalla olevan tilastollisesti merkittävästi enemmän spindeleitä kuin kanavalla O2-A1. Vasemmalla aivopuoliskolla kanavilla F3-A2 ja C3-A2 havaittiin olevan merkittävästi enemmän spindeleitä kuin kanavalla O1-A2. Aivopuoliskojen välisten kanavien vertailussa havaittiin kanavalla F4-A1 olevan tilastollisesti merkittävästi enemmän spindeleitä kuin kanavalla F3-A2. Saadut tulokset vahvistavat lasten okkipitaalisten spindeleiden esiintymisen, vaikkakin suhteessa muihin aivoalueisiin niiden määrä on vähäisempi. Tästä syystä spindelitutkimuksissa olisi hyvä tulkita myös okkipitaalisilta kanavilta saatu informaatio, toisin kuin useissa aiemmissa tutkimuksissa on tehty (3–5,7–11). Lisäksi spindelien taajuuden on osoitettu muuttuvan yöunen eri vaiheissa, joka otettiin huomioon tutkimuksemme analysoimalla koko yöni (2,4).

Tutkimuksemme visuaalista tarkistusta suorittaneella henkilöllä ei ollut aikaisempaa kokemusta EEG:n tulkinnasta. Hän tulkitsi yhdessä kokeneen EEG-tulkitsijan kanssa yhden lapsen koko yön spindelit, jonka jälkeen hän suoritti loput tulkinnat itsenäisesti. Spindelitunnistusohjelman luotettavuutta oltaisiin kenties voitu paremmin mitata vertailemalla automaattisen luokittelun tuloksia kokeneemman tulkitsijan subjektiiviseen näkemykseen. Tulkitsijan saaman perehdytyksen pohjalta saatuja tuloksia voidaan kuitenkin pitää luotettavina.

Luotettavalla spindelitunnistusohjelmalla voitaisiin spindelien tunnistusprosessia nopeuttaa huomattavasti ja spindelitutkimukset kyettäisiin asettamaan keskenään vertailukelpoisemmiksi poistamalla visuaalisten tulkintojen mukanaan tuomia epävarmuuksia (mm. subjektiiviset näkemykset tulkitsijoiden välillä ja tulkitsijan kokemus EEG:n tulkinnasta). Spindelitunnistusohjelmaamme täytyy vielä muokata tarkemmaksi ja sen luotettavuutta on testattava uusilla tutkimuksilla, jotta sitä voitaisiin käyttää spindelitutkimuksissa visuaalisen tulkinnan sijasta.

## Lähteet

1. Lüthi A. Sleep spindles: Where they come from, what they do. *Neuroscientist*. 2014;20(3):243–56.
2. Himanen SL, Virkkala J, Huhtala H, Hasan J. Spindle frequencies in sleep EEG show U-shape within first four NREM sleep episodes. *J Sleep Res*. 2002;11(1):35–42.
3. Mölle M, Bergmann TO, Marshall L, Born J. Fast and Slow Spindles during the Sleep Slow Oscillation: Disparate Coalescence and Engagement in Memory Processing. *Sleep*. 2011;34(10):1411–21.
4. Saunamäki T, Huupponen E, Loponen J, Himanen SL. CPAP treatment partly normalizes sleep spindle features in obstructive sleep apnea. *Sleep Disord*. 2017;2017.
5. Chatburn A, Coussens S, Lushington K, Kennedy D, Baumert M, Kohler M. Sleep Spindle Activity and Cognitive Performance in Healthy Children. *Sleep*. 2013;36(2):237–43.
6. Diekelmann S. Sleep for cognitive enhancement. *Front Syst Neurosci*. 2014;8(1 APR):1–12.
7. Nishida M, Walker MP. Daytime naps, motor memory consolidation and regionally specific sleep spindles. *PLoS One*. 2007;2(4).
8. Geiger A, Huber R, Kurth S, Ringli M, Jenni OG, Achermann P. The sleep EEG as a marker of intellectual ability in school age children. *Sleep*. 2011;34(2):181–9.
9. Brockmann PE, Damiani F, Pincheira E, Daiber F, Ruiz S, Aboitiz F, et al. Sleep spindle activity in children with obstructive sleep apnea as a marker of neurocognitive performance: A pilot study. *Eur J Paediatr Neurol*. 2018 May;22(3):434–9.
10. Mikoteit T, Brand S, Perren S, von Wyl A, von Klitzing K, Kurath J, et al. Visually detected non-rapid eye movement stage 2 sleep spindle density at age five years predicted prosocial behavior positively and hyperactivity scores negatively at age nine years. *Sleep Med [Internet]*. 2018;48:101–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2018.03.028>
11. Tessier S, Lambert A, Chicoine M, Scherzer P, Soulières I, Godbout R. Intelligence measures and stage 2 sleep in typically-developing and autistic children. *Int J Psychophysiol [Internet]*. 2015;97(1):58–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.05.003>
12. Doucette MR, Kurth S, Chevalier N, Munakata Y, LeBourgeois MK. Topography of slow sigma power during sleep is associated with processing speed in preschool children. *Brain Sci*. 2015;5(4):494–508.
13. Warby SC, Wendt SL, Welinder P, Munk EGS, Carrillo O, Sorensen HBD, et al. Sleep-spindle detection: Crowdsourcing and evaluating performance of experts, non-experts and automated methods. *Nat Methods*. 2014;11(4):385–92.

14. Barakat M, Doyon J, Debas K, Vandewalle G, Morin A, Poirier G, et al. Fast and slow spindle involvement in the consolidation of a new motor sequence. *Behav Brain Res* [Internet]. 2011;217(1):117–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2010.10.019>
15. Huupponen E, Kulkas A, Tenhunen M, Saastamoinen A, Hasan J, Himanen SL. Diffuse sleep spindles show similar frequency in central and frontopolar positions. *J Neurosci Methods*. 2008;172(1):54–9.