

**VERENLUOVUTUKSEN VAIKUTUS UNENAIKAISEEN
IHOHIILIDIOKSIINIIN**

Suvi-Maria Seppänen
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Keuhkosairausoppi
Maaliskuu 2012

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Keuhkosairausoppi

SEPPÄNEN SUVI-MARIA: VERENLUOVUTUKSEN VAIKUTUS UNENAIKASEEN
IHOHIILIDIOKSIDIIN

Kirjallinen työ, 32 s.
Ohjaaja: professori Olli Polo
Maaliskuu 2012

avainsanat: autonominen hermosto, hypovolemia, polysomnografia, uni, verisuonisto

TIIVISTELMÄ

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää verenluovutuksen vaikutusta autonomisen hermoston tasapainoon ja sitä kautta unen laatuun sekä saada lisää tietoa transkutaanisen ihohiilidioksidipitoisuuden käytöstä mittaamenetelmänä. Tutkimuksen hypoteesina oli, että verenluovutus aiheuttaa sympaattisen hermoston aktivaation, joka voidaan havaita ihohiilidioksidipitoisuuden laskuna.

Tutkimukseen otettiin 12 tervettä vapaaehtoista 18–35-vuotiasta miestä, jotka täyttivät verenluovutuskriteerit. Tutkittavat satunnaistettiin kahteen ryhmään: verenluovuttajiin ja kontroleihin. Kaikki tutkittavat tulivat kahdeksi yöksi unipolygrafiatutkimukseen ja kävivät luovuttamassa verta. Verenluovuttajaryhmässä olevat suorittivat verenluovutuksen tutkimusöiden välissä, kontrolliryhmän tutkittavat kävivät luovuttamassa verta kahden tutkimusyön jälkeen. Unipolygrafiatutkimukseen sisältyi transkutaanisen ihohiilidioksidipitoisuuden mittaaminen.

Keskimääräisten ihohiilidioksidipitoisuuksien muutoksissa ei havaittu merkitsevää eroa ryhmien välillä. Ihohiilidioksidipitoisuudet laskivat verenluovutusryhmässä kolmella ja kontrolliryhmässä yhdellä tutkittavalla. Tutkimuksen otoskoko ei ollut riittävän suuri johtopäätösten tekemiseen. Suuremmalla otoksella ihohiilidioksiditasoissa tapahtunut muutos olisi saattanut olla tilastollisesti merkitsevä.

SISÄLLYS

| | |
|--|----|
| 1 JOHDANTO | 1 |
| 2 KIRJALLISUUSKATSAUS | 3 |
| 2.1 Verenuovutuksen vaikutukset ja fysiologiset vasteet elimistössä | 3 |
| 2.1.1 Verenuovutuksen vaikutukset elimistöön..... | 3 |
| 2.1.2 Hypotension kompensoiminen | 4 |
| 2.1.3 Veritilavuuden palauttaminen | 7 |
| 2.1.4 Veren koostumuksen normalisoituminen..... | 8 |
| 2.2 Transkutaaninen hiilidioksidimittaus | 9 |
| 2.2.1 Ihohiilidioksidimittauksen toimintaperiaate ja menetelmän luotettavuus | 9 |
| 2.2.2 Ihohiilidioksidimittauksen käyttöaiheet..... | 10 |
| 2.2.3 Ihohiilidioksiditasojen vaihtelu vireystilan mukaan | 10 |
| 2.3 Uni ja autonominen hermosto | 11 |
| 2.3.1 Unen vaiheet | 11 |
| 2.3.2 Autonomisen hermoston toiminta unen aikana..... | 12 |
| 2.3.3 Autonomisen hermoston toiminnan häiriöiden vaikutus uneen..... | 12 |
| 3 AINEISTO JA MENETELMÄT | 14 |
| 3.1 Aineisto..... | 14 |
| 3.2 Mittausmenetelmät | 15 |
| 3.2.1 Kyselylomakkeet | 15 |
| 3.2.2 Unipolygrafia | 15 |
| 3.3 Datan analysointi | 16 |
| 3.4 Tilastolliset menetelmät | 16 |
| 4 TULOKSET | 18 |
| 5 POHDINTA | 24 |
| LÄHTEET | 29 |

1 JOHDANTO

Verenluovutus aiheuttaa lievän hypovolemian, joka saa aikaan sympaattisen hermoston aktivoitumisen, kun elimistö pyrkii kompensoimaan verivolyymin vähenemistä (1,2). Veritilavuuden pienentyessä verenpaine laskee. Verenpaineen muutokset aistitaan suonien seinämien venytystä mittaavissa baroreseptoreissa sekä veren happiosapaineen, hiilidioksidiosapaineen ja pH:n muutoksia seuraavissa perifeerisissä kemoreseptoreissa. Verenpaineen laskun takia baroreseptoreista lähtevien ärsykkeiden määrä vähenee, jolloin sympaattisen hermoston aktiivisuus kasvaa ja parasympaattisen hermoston aktivaatio vähenee. Perfuusion vähenemisen aiheuttaman hypoksian takia kemoreseptoreista lähtevien ärsykkeiden määrä kasvaa, mikä myös aktivoi sympaattista hermostoa. Sympaattisen hermoston aktivaation tärkein seuraus on selektiivinen vasokonstriktio, joka ohjaa verenkierron tärkeimpiin elimiin. Valtimot supistuvat kehon ääriosoissa, ihossa, poikkijuovaisissa lihaksissa ja sisäelimissä sekä munuaisissa, jolloin perifeerinen vastus kasvaa. Laskimoiden supistuminen lisää laskimopaluuta ja suurentaa myös osaltaan perifeeristä vastusta. Vasokonstriktion lisäksi sympaattisen hermoston aktivoituminen vapauttaa vasoaktiivisia aineita, jotka tukevat vasokonstriktiota. (3,4)

Ihohiilidioksidipitoisuutta mittaamalla voidaan arvioida elimistön autonomisen hermoston tasapainoa. Transkutaanisen hiilidioksidimittauksen ($tcCO_2$) avulla voidaan noninvasiivisesti mitata ihon läpi diffundoituvan hiilidioksidin määrää.

Verisuonten endoteelin tuottama typpioksidi muodostaa tärkeimmän vastussuonia laajentavan järjestelmän (5). Hiilidioksidi vaikuttaa verisuonten paikalliseen typpioksidin tuottoon, joten sen pitoisuuden muutokset vaikuttavat verisuonten tonukseen (6). Koska ihon hiilidioksidipitoisuus ja verisuonten laajenemisaste ovat verrannollisia toisiinsa, voidaan ihohiilidioksidimittauksen avulla arvioida myös ihoverenkierron muutoksia. Verisuonten laajenemisaste kuvaa elimistön parasympaattisen ja sympaattisen hermoston aktiivisuuden suhdetta. Parasympaattisen hermoston ollessa aktiivinen verisuonisto on laajentunut, kun taas sympaattisen hermoston aktivoituessa verisuonet supistuvat.

Tutkimuksemme hypoteesina on, että verenluovutuksen aiheuttama sympaattisen hermoston aktivaatio voidaan havaita ihohiilidioksiditasojen ($tcCO_2$) laskemisena. Unen ja valveen vaihtelu liittyy tiiviisti autonomisen hermoston toimintaan. Unenaikainen sympatovagaalinen tasapaino on yhteydessä unen eri vaiheisiin ja sitä kautta unen

syvyyteen ja unen laatuun. Valveilla ollessa elimistössä vallitsee sympatikotonus. Nukahtaessa sympaattisen hermoston aktiivisuus vähenee ja elimistö siirtyy parasympaattisen säätelyn alaisuuteen. Parasympaattisen hermoston aktiivisuuden kasvaessa verisuonissa tapahtuu vasodilataatio, joka nostaa hiilidioksidipainetta ja voidaan näin havaita kohonneena $tcCO_2$ -tasona. Syvän unen aikana $tcCO_2$ -pitoisuudet tasoittuvat tietylle tasolle. Sympaattisen aktiivisuuden lisääntyessä tapahtuva vasokonstriktio vastaavasti laskee $tcCO_2$ -tasoja. (7) Autonomisen hermoston tasapainon häiriintyminen vähentää syvän unen määrää ja on yhteydessä heikentyneeseen unen laatuun (8). Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää verenluovutuksen vaikutusta autonomisen hermoston toimintaan ja sitä kautta unen laatuun. Tavoitteena on myös saada lisätietoa transkutaanisesta hiilidioksidimittauksesta tutkimusmenetelmänä, erityisesti sen käytöstä autonomisen hermoston toiminnan unenaikaisessa mittaamisessa.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Verenluovutuksen vaikutukset ja fysiologiset vasteet elimistössä

2.1.1 Verenluovutuksen vaikutukset elimistöön

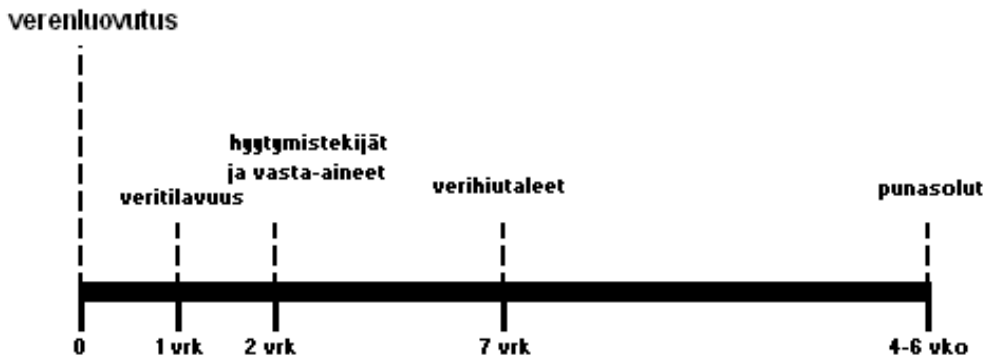
Aikuisen ihmisen kokonaisverimäärä on noin viisi litraa. Kokonaisverimäärän suuruuteen vaikuttavat muun muassa koko ja sukupuoli. Suomessa verenluovutuksessa yhdellä kerralla luovutetaan laskimon kautta 450 ml verta (9). Tämä vastaa hieman alle 10:tä prosenttia aikuisen kokonaisverimäärästä. Verenluovutuksen seurauksena verivolyyymi pienenee ja aiheutuu lievä hypovolemia.

Nopeasti laskimon kautta tapahtuneen verimäärän pienenemisen seurauksena vähenee ensin laskimopaluu, jonka jälkeen järjestyksessä vähenevät eteisiin tulevan veren määrä, sydämen iskutilavuus ja minuuttitulavuus. Lievässä hypovolemiassa elimistö pystyy hyvin kompensoimaan verimäärän vähenemisen eikä verenpaineessa välttämättä havaita laskua. Kun verenvuoto on runsasta (yli 30 % kokonaisverimäärästä), elimistön kompensointimekanismit eivät enää riitä ja seurauksena on hypovoleeminen sokki. (3)

Verenluovutuksen yhteydessä kaikkien veren komponenttien (eri verisolutyypin ja plasman) määrä elimistössä vähenee. Punasolujen mukana elimistöä poistuu hemoglobiinia ja rautaa. Verenluovutuksen jälkeen hemoglobiinipitoisuus laskee keskimäärin noin 10–15 g/l (9), rautaa menetetään verta luovutettaessa jokaisella luovutuskerralla 200–250 mg (10). Happi kulkee punasolujen hemoglobiinin rauta-atomiin sitoutuneena, joten verenluovutus vähentää hapenkuljetuskapasiteettia. Plasman proteiineihin kuuluu vasta-aineita, hyytymistekijöitä ja veren kolloidiosmoottisesta paineesta vastaavia proteiineja, joten niiden määrän väheneminen vaikuttaa esimerkiksi veren hyytymisnopeuteen. (3)

Verenluovutuksen jälkeen elimistö reagoi kolmessa vaiheessa korvatakseen menetetyt verimäärän. Ensimmäisessä vaiheessa elimistö reagoi hyvin nopeasti kompensoidakseen hypotension. Toisessa vaiheessa tapahtuva veritulavuuden palauttaminen on hieman

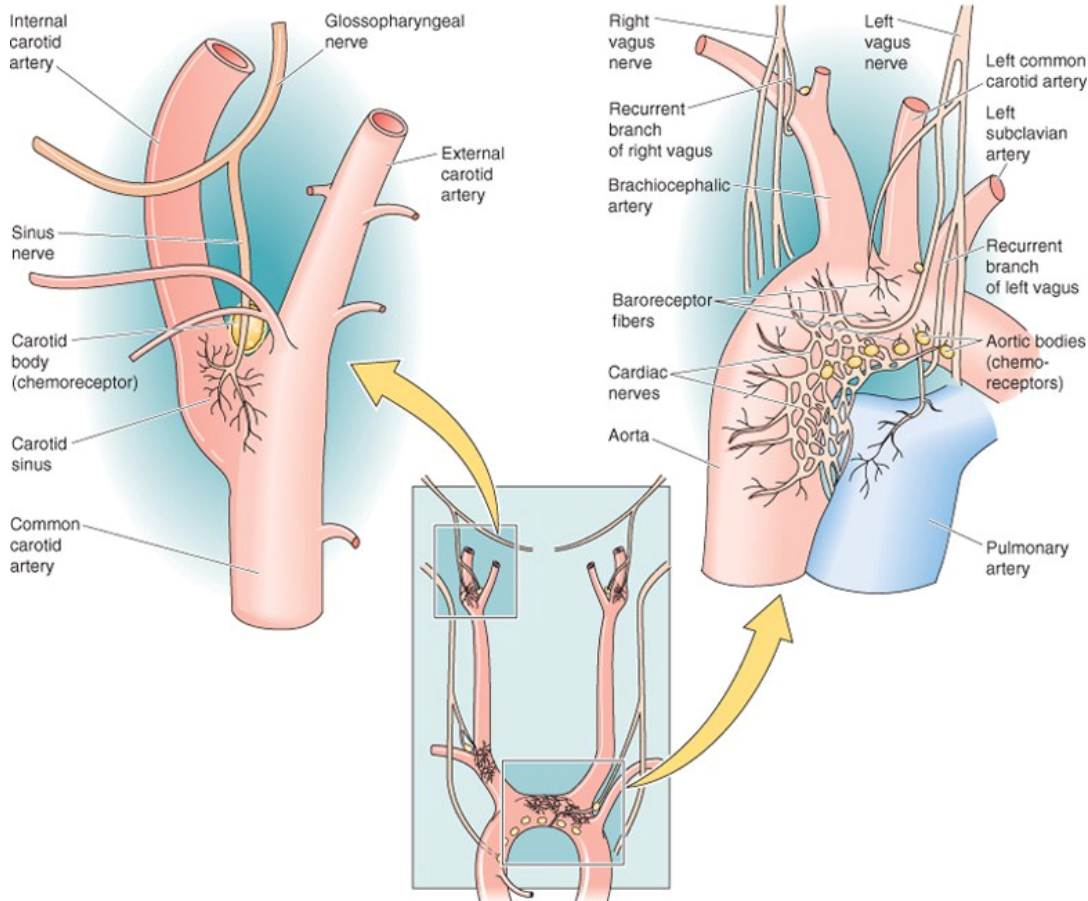
hitaampi tapahtuma, mutta sekin normalisoituu noin vuorokaudessa. Kolmas vaihe, verisolujen palautuminen, vie eniten aikaa, jopa useita viikkoja. (3)



Kuva 1: Elimistön palautuminen verenluovutuksen jälkeen.

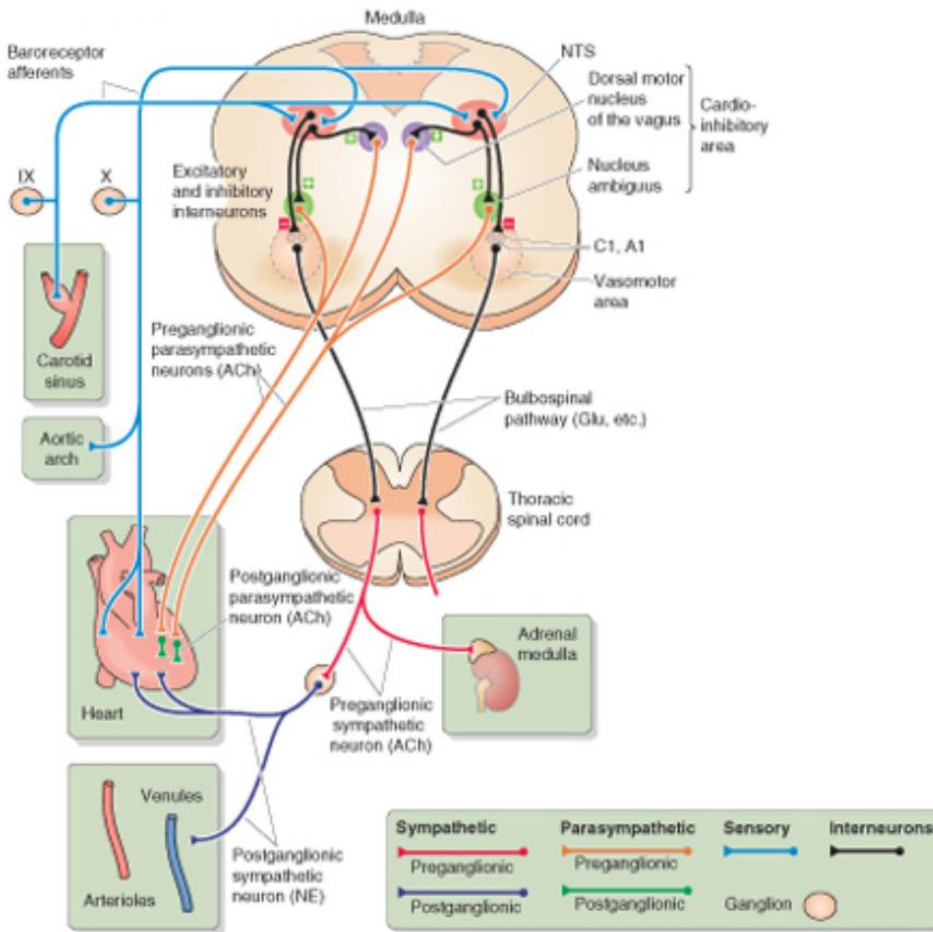
2.1.2 Hypotension kompensoiminen

Baroreseptoreista ja kemoreseptoreista lähtöisin olevat kardiovaskulaariset refleksit pyrkivät kompensoimaan verenpaineen laskua aktivoimalla sympaattista hermostoa. Karotispoukamassa ja aortankaaren seinämissä sijaitsevat baroreseptorit mittaavat verenpaineen aiheuttamaa suonien seinämän venytystä. Aorta- ja karotiskeräisissä sijaitsevat perifeeriset kemoreseptorit mittaavat valtimoveren happiosapaineen, hiilidioksidiosapaineen ja pH:n muutoksia (kuva 2). Myös ydinjatkeen sentraaliset kemoreseptorit voivat osallistua verenpaineen laskun kompensoimiseen, mutta ne aktivoituvat vasta runsaassa verenvuodossa, kun verenpaineen suuri lasku aiheuttaa iskemian aivoissa. (3)



Kuva 2: Baroreseptorien ja kemoreseptorien sijainti. (3)

Reseptoreista lähteviä afferentteja hermosyitä pitkin informaatio kulkee nucleus tractus solitariuksen kautta ydinjatkeessa sijaitsevaan vasomotoriseen keskukseseen, joka ohjaa verenpaineen neuraalista säätelyä autonomisen hermoston kautta. Vasomotorinen keskus saa tietoa verenkierron tilasta myös humoraalisesti. Lisäksi sen toimintaan vaikuttavat myös aivojen ylemmistä osista tulevat impulssit. Vasomotorisesta keskuksesta voidaan erotella edelleen pienempiä toiminnallisia alueita, kuten vasomotorinen alue ja kardioinhibitorinen alue. Vasomotorisen alueen neuronit synapsoivat sympaattisen hermoston kanssa ja kardioinhibitorisen alueen neuronit parasympaattisen hermoston kanssa. (3)



Kuva 3: Ydinjatkeen vasomotorinen keskus ohjaa verenpaineen neuraalista säätelyä autonomisen hermoston kautta. (3)

Baroreseptorien afferentit hermosyyt synapsoivat nucleus tractus solitariuksessa (NTS) vasomotoriselle alueelle projisoivien inhibitoristen interneuronien ja kardioinhibitoriselle alueelle projisoivien eksitatoristen interneuronien kanssa (kuva 3). Suonen seinämän venytyksen pienentyessä baroreseptoreista lähtevien ärsykkeiden määrä vähenee. Vasomotorisen alueen inhibitio vähenee ja sympaattinen hermosto aktivoituu, samalla kun kardioinhibitorinen alue aktivoituu ja parasympaattisen hermoston aktiivisuus vähenee. Parasympaattisen hermoston aktivaation väheneminen on suoraan suhteessa menetetyin verimäärän suuruuteen. Perfuusion väheneminen aiheuttaa paikallisen hypoksian, jolloin kemoreseptoreista lähtevien ärsykkeiden määrä kasvaa aktivoiden sympaattista hermostoa vielä lisää. (3)

Sympaattisen hermoston vaikutukset kohdistuvat pääasiassa sydämeen, verisuoniin ja lisämunuaisen ytimeen. Sympaattisen hermoston aktiivisuuden lisääntyminen ja samanaikainen parasympaattisen aktivaation väheneminen lisäävät sydämen

supistumiskykyä ja sykettä, jolloin sydämen minuuttitilavuus kasvaa. Neuraalisen säätelyn lisäksi myös humoraaliset tekijät vaikuttavat sydämeen. Lisämunuaisytimestä vapautuvat adrenaliini ja noradrenaliini lisäävät minuuttitilavuutta. (3)

Sympaattisen hermoston aktivaatio käynnistää selektiivisen vasokonstriktion, jonka tarkoituksena on ohjata verenkierto tärkeimpiin elimiin. Kehon ääriosiin, ihoon, poikkijuovaisiin lihaksiin ja sisäelimiin menevät valtimot supistuvat, jolloin perifeerinen vastus kasvaa. Munuaisten verenkierto vähenee, kun niihin vievät valtimot supistuvat. Laskimoiden supistuminen lisää laskimopaluuta ja perifeeristä vastusta. Suurimpaan osaan perifeeristen verisuonten seinämistä ei mene juurikaan parasympaattisia hermosyitä, vaan ne saavat hermotuksensa yksinomaan sympaattiselta hermostolta. Sympaattisen hermoston postganglionarisista neuroneista vapautuva noradrenaliini ja lisämunuaisytimen adrenaliini vaikuttavat adrenergisiin α_1 - ja β_2 -reseptoreihin. Noradrenaliinin ja adrenaliinin vaikutukset määräytyvät kohdekudoksissa olevien reseptorityyppien ja niiden keskinäisen suhteen mukaan. α_1 -reseptorien kautta verisuonissa tapahtuu vasokonstriktio, β_2 -reseptorien kautta tapahtuu vasodilataatio. Ihoverisuonissa on vain α_1 -reseptoreja, joten sympaattisen hermoston aktivaatio aiheuttaa niissä vasokonstriktion. (3)

Sympaattisen hermoston aktivoituminen käynnistää myös vasoaktiivisten aineiden vapautumisen, joka tukee edelleen vasokonstriktiota. Lisämunuaisytimestä vapautuu vasokonstriktiota aiheuttavia adrenaliinia ja noradrenaliinia suoraan suhteessa menetetyn veren määrään. Munuaisten granulaarisoluista vapautuu sympaattisen aktivaation seurauksena reniiniä, jonka kautta lopulta plasman vasokonstriktiivisen angiotensiini II:n määrä lisääntyy. Vasokonstriktiota aiheuttavan antidiureettisen hormonin (ADH) erityshypotalamuksesta lisääntyy ja vastaavasti eteisistä erittyvän vasodilataatiota aiheuttavan natriureettisen peptidin (ANP, atrial natriuretic peptide) määrä vähenee. (3) Paikallisen hypoksian seurauksena vasokonstriktiivisen endoteliini-1:n erityshypoksiin verisuoniston seinämistä lisääntyy (11). Sympaattisen hermoston aktivoituminen voidaan havaita verenpaineen nousuna ja plasman katekoliamiinipitoisuuden kasvamisena (2).

2.1.3 Veritilavuuden palauttaminen

Verenluovutuksen jälkeen veritilavuus palautuu normaaliksi noin vuorokauden kuluessa (9). Verenvuodon jälkeen verenpaine kapillaarisuonissa putoaa ja kudosten nestettä siirtyy

nopeasti kudospöitilasta verisuoniin korvaamaan menetettyä verimäärää (autotransfuusio). Solunsisäinen neste siirtyy vuorostaan korvaamaan verisuoniin siirtyneen kudospöiteen. Plasman proteiinien konsentraation väheneminen stimuloi plasman kolloidiosmoottisesta paineesta vastaavan albumiinin synteesiä maksassa.

Munuaisissa veden ja natriumin takaisinotto lisääntyy, minkä vuoksi elimistöstä poistuvan nesteen määrä vähenee. Munuaisten perfuusion väheneminen aiheuttaa erityksen vähenemisen. Reniini-angiotensiini-aldosteroni-järjestelmän aktivoituminen lisää angiotensiini II:n ja aldosteronin määrää. Angiotensiini II vaikuttaa mm. lisäämällä aldosteronin ja ADH:n eritystä. Aldosteroni lisää natriumin reabsorptiota. Lisääntynyt sympaattinen aktiivisuus vaikuttaa munuaisten verenkiertoon sekä lisää reniinin vapautumista ja natriumin reabsorptiota. ADH:n erityksen lisääntyminen lisää veden reabsorptiota. Kiertävän verimäärän väheneminen inhiboi ANP:n eritystä, mikä lisää natriumin retentiota. (3)

Varsinaisesti nestetasapaino palautuu vasta sitten kun juodaan tarpeeksi paljon nestettä korvaamaan menetetty verimäärä. Efektiivisen kiertävän verimäärän väheneminen ja verenpaineen lasku stimuloivat hypotalamuksen osmoreseptoreita ja aiheuttavat janon tunnetta sekä suolan nälkää. Angiotensiini II lisää janon tunnetta, kun taas ANP vähentää sitä. Myös kudospöiteen reabsorption seurauksena aiheutunut veren hyperosmolaliteetti aktivoi osmoreseptoreita, mikä lisää janon tunnetta. (3)

2.1.4 Veren koostumuksen normalisoituminen

Veren normaalin koostumuksen palautumiseen verenluovutuksen jälkeen kuluu noin 3–4 viikkoa (*kuva 1*). Veren hyytymistekijä- ja vasta-ainepitoisuuden palautumisessa kestää noin kaksi vuorokautta. Verihiutaleiden määrä nousee takaisin normaalitasolle viikossa. (9)

Punasolujen keskimääräinen elinikä on 120 päivää. Niiden määrä palautuu verenluovutuksen jälkeen normaalitasolle kuitenkin jo noin 4–6 viikossa, sillä hypovolemia kiihdyttää punasolujen muodostumista. Munuaisiin tulevan hapen määrän väheneminen lisää HIF:n (hypoxia induced factor) määrää, mikä puolestaan stimuloi erythropoietiinin (EPO) tuotantoa peritubulaarisoluissa. Erythropoietiini säätelee erytropoieesia stimuloimalla punasolujen proliferaatiota ja maturaatiota. Elimistön raudan määrä vaikuttaa erytropoieesiin. Raudan puute vähentää punasolujen esiasteiden herkkyttä

erythropoietiinille, joten jos elimistön rautavarastot eivät ole kunnossa, punasolut uusiutuvat hitaammin. Elimistön rautamäärä palautuu verenluovutuksen jälkeen ennalleen parissa kuukaudessa. Rautavarastojen väheneminen ja erythropoieettisen aktiivisuuden kasvaminen lisäävät kumpikin raudan imeytymistä. (3)

2.2 Transkutaaninen hiilidioksidimittaus

2.2.1 Ihohiilidioksidimittauksen toimintaperiaate ja menetelmän luotettavuus

Transkutaaninen hiilidioksidimittaus ($t_c\text{CO}_2$) on noninvasiivinen menetelmä, jonka avulla voidaan pitkäaikaisesti mitata ihon läpi diffundoituvan hiilidioksidin määrää.

Ihohiilidioksidimittauksessa iholle asetetaan elektrodi, joka lämmitetään 42–44-asteiseksi. Lämmityksellä saadaan laajennettua elektrodin alla olevat verisuonet, minkä seurauksena veren virtaus lisääntyy ja ihon läpäisevyys kaasuille suurenee. Yleisimmin käytetyissä elektrodeissa mittausmenetelmä perustuu elektrolyyttikerroksen pH:n määrittämiseen. Elektrodissa on hydrofobinen kalvo, joka erottaa ohuen elektrolyyttikerroksen ihosta. Kun hiilidioksidi diffundoituu kalvon läpi, se reagoi veden kanssa muodostaen vetyä ja bikarbonaattia jolloin elektrolyytin pH muuttuu. Liuoksen pH:n määrittämisellä saadaan epäsuorasti määritettyä ihon läpi diffundoituneen hiilidioksidin määrää. (12)

Normaali hiilidioksidipitoisuus valtimoveressä (PaCO_2) on noin 4.5–6.0 kPa (3).

Ihohiilidioksidimittauksella saadut arvot ovat hieman suurempia kuin valtimoverestä mitatut arvot, sillä lämmitys lisää paikallista verenkiertoa ja kudosten hiilidioksidipitoisuutta. Lisäksi huomioon on otettava ihosolujen metaboliasta aiheutuva komponentti. Useimmissa kaupallisissa laitteissa tämä on otettu huomioon lämpötilasta riippuvaisilla korjauskertoimilla. (13)

Ihohiilidioksidin on useissa tutkimuksissa osoitettu korreloivan hyvin valtimoveren hiilidioksidipitoisuuteen (14,15). On tutkittu, että ihohiilidioksidipitoisuutta voidaan mitata jatkuvasti kahdeksan tunnin ajan ilman rekaliibraatiota tai elektrodin paikan vaihtamista ilman että potilaalle aiheutuu haittaa tai että signaali huononee (16). Menetelmänä ihohiilidioksidimittaus on varsin turvallinen. Pitkään samalla paikalla oleva elektrodi saattaa aiheuttaa lieviä palovammoja, mutta nekin ovat harvinaisia (17).

2.2.2 Ihohiilidioksidimittauksen käyttöaiheet

Ihohiilidioksidimittauksia on käytetty pitkään ventilaation riittävyyden arvioinnissa. Aluksi menetelmä oli käytössä lähinnä vastasyntyneillä, mutta nykyään sitä käytetään kaikenikäisillä potilailla. Ihohiilidioksidimittauksia käytetään esimerkiksi tehohoidossa (18) sekä potilaan monitoroinnissa anestesian aikana (19) ja sen jälkeen. Koska ihohiilidioksidimittaus ei häiritse nukkumista, sitä on mahdollista käyttää myös unitutkimuksissa (20).

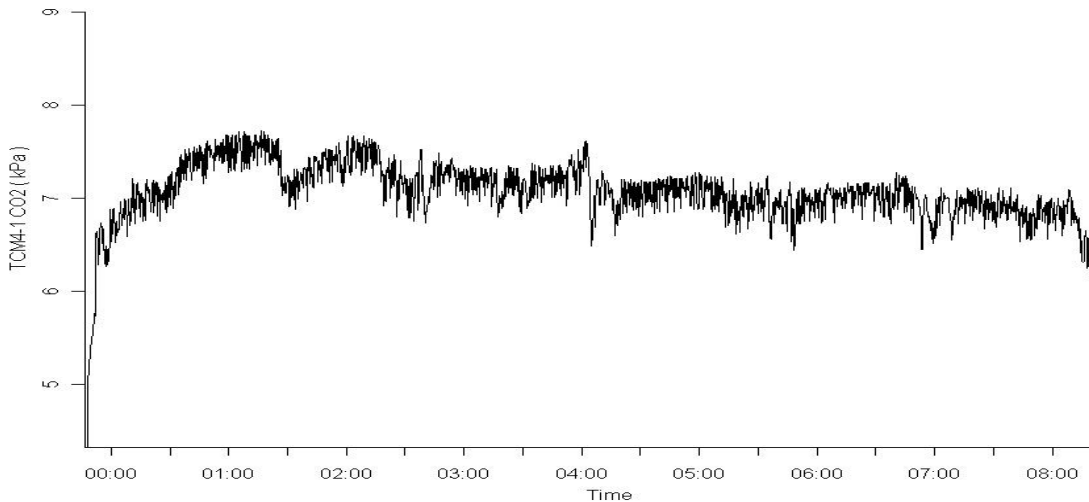
Ihohiilidioksidimittauksia voitaisiin käyttää myös verisuonten toimintakyvyn mittarina (21). Ihon verenkierto määräytyy iho-verisuonien supistustilan mukaan, jota säätelee sympaattisen hermoston aktiivisuus α_1 -reseptorien kautta. Verisuonien supistumisasteesta voidaan saada tietoa hiilidioksidiosapaineen avulla, sillä hiilidioksidi säätelee verisuonten typpioksidituotantoa. Hiilihappoanhydraasi on entsyymi, joka katalysoi hiilidioksidin ja veden reversiibeliä reaktiota bikarbonaatiksi ja vedyksi. Hiilihappoanhydraasilla on useita eri isoentsyymejä, ja niitä on lähes kaikissa elimistön soluissa. Nitriitti muistuttaa rakenteellisesti hyvin paljon bikarbonaattia, joten hiilihappoanhydraasi pystyy reagoimaan nitriitin kanssa, mikä johtaa typpioksidin (NO) muodostumiseen. Hiilidioksidin metabolian lisääntyminen lisää myös typpioksidin muodostumista. (6) Endoteelin tuottama typpioksidi on tärkein vastussuonien vasodilataattori. Typpioksidi laajentaa verisuonia aktivoimalla guanylaattisyklaasin, joka muuttaa guanylaattitriposfaattia (GTP) syklisteksi guanylaattimonofosfaatiksi (cGMP). Syklinen GMP relaksoi verisuonen seinämän sileän lihaksen. (5)

2.2.3 Ihohiilidioksiditasojen vaihtelu vireystilan mukaan

Hereillä oltaessa ihohiilidioksidin pitoisuudet ovat matalammat kuin nukkuessa, koska valveilla sympaattinen hermosto pitää iho-verisuonet supistuneina. Nukahtamisvaiheessa sympaattisen hermoston aktiivisuus vähenee, minkä seurauksena verisuonet pääsevät laajenemaan ja tcCO_2 -tasot nousevat. Unen jatkuessa hiilidioksidipitoisuus tasoittuu vähitellen tietylle tasolle (ns. tasanne eli plateau). Herätessä hiilidioksiditasot putoavat taas takaisin valvetasolle (kuva 4). (7)

Ihohiilidioksidipitoisuudet vaihtelevat paitsi valvetilan ja unen välillä, myös unen aikana. Hiilidioksiditasoissa ilmenee muutoksia eri univaiheiden mukaan. Yölliset havahtumiset

horjuttavat unenaikaista sympatovagaalista tasapainoa ja voivat aiheuttaa nopeita laskuja hiilidioksidipitoisuudessa. Eteenkin REM-unen aikana hiilidioksidipitoisuuksissa on havaittavissa äkillisiä laskuja. (22)



Kuva 4: Normaali yöllinen ihohiilidioksidikäyrä.

2.3 Uni ja autonominen hermosto

2.3.1 Unen vaiheet

Uni jaetaan viiteen eri vaiheeseen elektroenkefalografialla (EEG) mitattavien aivojen sähköpotentiaalimuutosten mukaan. Neljää ensimmäistä univaihetta (S1–S4) kutsutaan yhdessä NREM (non-rapid eye movement) -uneksi. Siirryttäessä syvempään unen vaiheeseen EEG:n taajuudet laskevat ja aaltojen amplitudit kasvavat. Heti nukahtamisen jälkeen alkaa kevyt S1-uni, jossa aivosähkökäyrä on theta-muotoista. S2-unessa esiintyy jaksoittaisesti ilmeneviä korkeampitaajuisia unisukkuloita ja korkea-amplitudisia K-komplekseja. S3-unessa voi esiintyä myös jonkin verran K-komplekseja. S4-unta kutsutaan hidasaaltoneksi tai syväksi uneksi. Sen aikana EEG:ssä nähdään hitaita korkea-amplitudisia delta-aaltoja. Viidennessä univaiheessa eli REM-unessa (rapid eye movement) aivosähkökäyrät muistuttavat hereillä olevan ihmisen vastaavia ja nukkujalla havaitaan nopeita silmänliikkeitä. (23)

Tavallisesti unessa on useita syklejä, jotka vaihtelevat non-REM-unen ja REM-unen välillä. Ensin tulevat vaiheet S1–S4, joiden jälkeen palataan vaiheeseen S3, josta sitten siirrytään

REM-uneen. REM-univaiheen jälkeen sykli non-REM-unen vaiheiden kautta alkaa taas alusta. (23)

2.3.2 Autonomisen hermoston toiminta unen aikana

Uni ja autonomisen hermoston toiminta ovat tiiviissä yhteydessä toisiinsa. Unen ja valveen vaihtelu liittyy muutoksiin elimistön autonomisen hermoston tasapainossa. Valvetila on pääasiassa sympaattisen hermoston hallitsemaa. Unessa elimistö on suurimmaksi osaksi parasympaattisen säätelyn alaisuudessa. Autonomisen hermoston tasapainon muuttuminen unen ja valveen välillä havaitaan sydämen sykkeen hidastumisena, verenpaineen laskuna ja hengityksen rauhoittumisena.

Autonomisen hermoston sympaattisen ja parasympaattisen osan välillä vallitseva tasapaino on yhteydessä paitsi uni- ja valvetilan vaihteluun, myös univaiheiden vaihteluun. Non-REM-unen vaiheiden aikana autonomisen hermoston tasapaino on parasympaattisen hermoston puolella. Suurimmillaan parasympaattisen hermoston aktiivisuus on syvän unen aikana. REM-unen aikana autonomisen hermoston tasapaino muuttuu epävakaaksi ja sympaattinen hermosto aktivoituu jaksoittaisesti. (23)

Muutokset sympaattisen hermoston aktiivisuudessa edeltävät EEG:ssä havaittavia muutoksia (24). Sympaattisen hermoston aktiivisuuden vähentyessä delta-aaltojen määrä kasvaa, eli uni syvenee. Vastaavasti sympaattisen aktiivisuuden kasvaessa delta-aktiivisuus vähenee ja uni kevenee. (25) Sympaattisen aktivaation ja kortisolin erityksen väheneminen ovat edellytyksiä syvän unen alkamiselle (26).

2.3.3 Autonomisen hermoston toiminnan häiriöiden vaikutus uneen

Elimistön sympaattisen ja parasympaattisen hermoston välillä vallitseva tasapainotila vaikuttaa unen säätelyyn ja syvyyteen. Sympatovagaalista tasapainoa häiritsevät tekijät voivat vaikuttaa unen laatuun heikentävästi. Parasympaattisen hermoston aktiivisuuden väheneminen ja samanaikainen sympaattisen hermoston aktiivisuuden lisääntyminen vähentävät syvän unen määrää. (27) Autonomisen hermoston tasapainossa tapahtuvat muutokset voivat aiheuttaa myös unen rakennetta häiritseviä havahtumisia (28).

Autonomisen hermoston aktivaation on havaittu edeltävän periodisia raajojen liikkeitä (29). Periodiset liikkeet voivat aiheuttaa havahtumisia ja pirstaloida unen rakennetta. Unen

virkeittävä vaikutus heikkenee, eikä elimistö pysty lepäämään kunnolla. Huonosti nukutun yön jälkeen sympaattisen hermoston aktiivisuus on koholla myös päivällä (30), mikä voi edelleen vaikuttaa seuraavan yön uneen ja aiheuttaa kierteen.

Stressi (27) ja erilaiset sairaustilat lisäävät sympaattista aktiivisuutta ja häiritsevät näin unta. Esimerkiksi obstruktiivisessa uniapneassa sympaattinen aktiivisuus on lisääntynyt sekä hereillä että nukkuessa. Apneajaksojen aikana hengitysteiden tukkeutuminen aiheuttaa hypoksiaa ja hyperkapniaa. Tällöin elimistön on pakko pitää sympaattista hermostoa aktiivisena turvatakseen elintärkeitä toimintoja, kuten kudosten hapensaannin. (31) Huono unen laatu voikin olla merkki piilevästä sairaudesta.

Sairaudet voivat autonomisen hermoston tasapainotilaa järkyttämällä heikentää unen laatua, ja unen häiriytyminen voi edelleen aiheuttaa sairauksia. Unen puute vaikuttaa haitallisesti aivojen ja muun elimistön toimintaan sekä altistaa erilaisille sairauksille. Univaje lisää sepelvaltimotaudin riskiä, aiheuttaa muutoksia immuunivasteeseen ja altistaa metabolisille sairauksille. Unen häiriöt liittyvät myös psyykkisiin sairauksiin. (32) Univaikeuksien on havaittu usein edeltävän fibromyalgiaan sairastumista (33). Huono unen laatu suurentaa kaikista syistä johtuvaa kuolleisuutta (34).

Autonomisen hermoston tasapainon palauttamiseen pyrkivillä menetelmillä voidaan parantaa unen laatua. Sympaattisen hermoston aktiivisuutta vähentävien ja parasympaattista aktivaatiota lisäävien tekniikoiden (esim. rentoutus) on havaittu olevan tehokkaita unettomuuden hoidossa (35). Obstruktiivisen uniapnean hoidossa käytettävällä CPAP-hoidolla (continuous positive airway pressure) voidaan vähentää sympaattista aktivaatiota ja parantaa unen laatua (31).

3 AINEISTO JA MENETELMÄT

3.1 Aineisto

Tutkimukseen otettiin 12 tervettä vapaaehtoista 18–35-vuotiasta miestä, jotka täyttivät verenluovutuskriteerit. Soveltuvuus verenluovutukseen arvioitiin ennen luovutusta SPR:n Veripalvelun toimipisteessä normaalin käytännön mukaan terveystarkastuksen ja veren hemoglobiinipitoisuuden mittaamisen avulla. Tutkimuksesta suljettiin pois henkilöt, joilla oli jokin nukkumiseen tai vireystilaan vaikuttava sairaus, kuten obstruktiivinen uniapnea, unettomuus tai levottomat jalat -oireyhtymä.

Tutkittavat jaettiin satunnaistetusti kahteen ryhmään, verenluovuttajiin ja kontrolliryhmään. Kaikki tutkimushenkilöt tulivat kahdeksi yöksi nukkumaan unilaboratorioon unipolygrafiamittauksia varten ja kävivät luovuttamassa verta SPR:n Veripalvelun toimipisteessä. Verenluovuttajaryhmässä olevilla verenluovutus tapahtui ensimmäisen tutkimusyön jälkeen, kun taas kontrolliryhmässä olevat henkilöt kävivät luovuttamassa verta vasta kahden tutkimuslaboratoriossa nukutun yön jälkeen. Tutkittavien pituus ja paino mitattiin ensimmäisen unipolygrafiatutkimuksen yhteydessä.

Unenaikaiseen ihohiilidioksiiniin vaikuttavat tekijät pyrittiin rajaamaan pois ohjeistamalla tutkimushenkilöitä noudattamaan säännöllistä unirytmää vähintään kolmen tutkimusta edeltävän vuorokauden ajan. Tänä aikana tutkittavat eivät saaneet käyttää alkoholia tai tupakoida. Kahvia oli sallittua juoda viisi kupillista päivässä, ei kuitenkaan enää klo 13:n jälkeen. Ruokailuaikataulut sekä ruuan määrä ja laatu pyrittiin vakioimaan.

Tutkittavat kävivät luovuttamassa verta Suomen Punaisen Ristin Veripalvelun toimipisteessä normaalin verenluovutuskäytännön mukaisesti. Verestä ei suoritettu tätä tutkimusta varten mitään erityistutkimuksia. Tiedot tutkittavien veren hemoglobiinipitoisuudesta käytettiin osana tutkimusaineistoa.

Tutkittavilta pyydettiin kirjallinen suostumus tutkimukseen osallistumisesta. Tutkimukselle haettiin Pirkanmaan sairaanhoitopiirin eettisen lautakunnan hyväksyntä.

3.2 Mittausmenetelmät

3.2.1 Kyselylomakkeet

Tutkimushenkilöiden subjektiivisesti koetusta unen laadusta hankittiin tietoa Pohjoismaisen unikyselylomakkeen avulla (Basic Nordic Sleep Questionnaire, BNSQ) (36). Epworthin uneliaisuusasteikkoa (Epworth Sleepiness Scale, ESS) käytettiin päiväaikaisen väsymyksen arviointiin. Testin maksimipistemäärä on 24 pistettä. Pisteet välillä 0–9 ovat normaalit. 10–24 pistettä pidetään poikkeavana tuloksena. (37)

Aamu- ja iltanuunisuuden selvittämiseen käytettiin aamu- ja iltanuunisuuskyselylomaketta (Morningness-Eveningness Questionnaire, MEQ). Kaavakkeessa on mahdollista saada pisteitä väliltä 16–86. Testistä saadun pistemäärän mukaan ihmiset voidaan luokitella kolmeen eri luokkaan: korkeat pisteet (59–86) saavat luokitellaan aamuihmiksi, matalat pisteet (16–41) iltaihmiksi ja niiden väliltä (42–58) pistemäärät saavat ihmiset kuuluvat välityyppiin. (38)

3.2.2 Unipolygrafia

Unipolygrafian tietojen rekisteröinti tapahtui Embla®-järjestelmän avulla, jonka kautta ne siirrettiin ja tallennettiin Somnologica®-ohjelmaan käsittelyä varten. Rekisteröinti kesti kahdeksan tuntia, ja se sisälsi aivosähkökäyrien (EEG) lisäksi silmänsähkökäyrän (EOG), lihassähkökäyrän (EMG), sydänsähkökäyrän (EKG), hengitystaajuuden, pulssin, happisaturaation (SaO₂) ja ihohiilidioksidipitoisuuden (tcCO₂) mittaukset.

Aivosähkökäyrien mittaus tapahtui päähän kiinnitettävillä elektrodeilla, jotka mittasivat aivotoiminnan aiheuttamia sähköisiä potentiaaleja. Silmänsähkökäyrällä mitattiin silmien liikkeitä. Lihassähkökäyrillä tutkittiin leuan alueen ja jalkojen lihasten liikkeitä. Molempiin jalkoihin kiinnitettiin etumaisten säärilihasten päälle kaksi elektrodi. Näiden avulla määriteltiin eri univaiheet. Alaraajaelektrodien avulla päätettiin lisäksi, esiintyikö potilaalla unta häiritsevää jalkojen periodista liikehdintää.

Hengitystaajuus määritettiin rintakehän ja vatsa-alueen liikkeiden perusteella.

Hengitysilmavirtausta mitattiin nenäpainetta mittaavalla sierainanturilla. Hengitystä mittaavien anturien perusteella tutkittiin, oliko potilaalla obstruktiivinen uniapnea tai

osittainen unenaikainen ylähengitystieahtauma. Valtimoveren happipitoisuutta ja sykettä mitattiin sormeen asetettavalla pulssioksimetrillä.

Ihohiilidioksidipitoisuuden ($tcCO_2$) mittaamiseen käytettiin TCM4-laitetta (Radiometer®; Kööpenhamina, Tanska). Ennen mittausta mittausanturi kalibroitiin kalibroitikaasulla. Iho puhdistettiin alkoholilla ja elektrodi kiinnitettiin rintalastan viereen ennen nukkumaanmenoa. Elektrodi lämmitettiin 43 °C:n lämpötilaan, jota ylläpidettiin koko yön ajan. Elektrodin annettiin olla paikoillaan vielä kymmenen minuuttia heräämisen jälkeen. Ihohiilidioksidikäyrän perusteella tarkasteltiin elimistön sympaattisen ja parasympaattisen hermoston tasapainoa unen aikana.

3.3 Datan analysointi

Univaiheiden luokitus tapahtui Somnologicalla® kansainvälisen uniluokitusohjeen (39) mukaisesti. Luokittelu tehtiin visuaalisesti 30 sekunnin epokeissa. Unen laatua kuvaavat muuttujat (nukahtamisviive ja unitehokkuus) määritettiin Somnologican® avulla.

EEG:n signaalista muodostettiin tehospektri käyttämällä Somnologicaa®. Tuloksena saadut deltataajuusalueen (0–4 Hz) arvot siirrettiin Microsoft® Excelliin. Häiriöarvot suodatettiin pois käyttämällä mediaanisuodinta sekä määrittämällä manuaalisesti sopiva maksimiarvo erikseen jokaiselle käyrälle. Ohjelman avulla laskettiin koko yön deltateho.

Hiilidioksidimuutoksien seuraamiseen käytettiin Transient Pattern Analyzer (TPA, Arho Virkki, Unesta Oy) -ohjelmaa. Selvästi virheelliset arvot (mittausanturi irti tutkittavasta esimerkiksi tutkimuksen alussa ja lopussa) rajattiin pois manuaalisesti. Ohjelmalla laskettiin hiilidioksidipitoisuuksien koko yön keskiarvot.

3.4 Tilastolliset menetelmät

Tilastolliset analyysit suoritettiin SPSS 17.0 -ohjelmalla. Tulosta pidettiin tilastollisesti merkitsevänä p-arvon ollessa pienempi kuin 0,05. Normaalisti jakautuneiden muuttujien analysointiin käytettiin parametrisiä testejä. Pienen otoskoon vuoksi tulokset tarkastettiin vielä epäparametrisiä testejä käyttäen. Ryhmien keskiarvojen vertailuun käytettiin kahden riippumattoman otoksen t-testiä ja tulokset tarkastettiin Mann-Whitney U-testillä.

Tutkimusöiden välisten keskiarvojen vertailu ryhmittäin tehtiin kahden riippuvan otoksen t-testiä käyttäen. Tarkastamiseen käytettiin Wilcoxonin testiä.

4 TULOKSET

Taulukossa 1 on kuvattu sekä verenluovuttajaryhmään että kontrolliryhmään kuuluvien tutkittavien demografiset tiedot. Ryhmät olivat keskenään hyvin samankaltaisia. Pituus oli ainoa muuttuja, jossa ryhmien väliltä löytyi tilastollisesti merkitsevä ero. Kontrolliryhmässä olevat tutkittavat olivat keskimäärin pidempiä kuin verenluovuttajaryhmässä olevat (verenluovuttajat 1,74 m, kontrollit 1,83 m). Tulokset olivat samankaltaiset myös epäparametristä testiä käyttäen.

Taulukko 1: Tutkimushenkilöiden kuvaus. Tiedot esitetty keskiarvoina, suluissa SD.

| | verenluovuttajat (n = 6) | kontrollit (n = 6) | p-arvo |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------|--------------|
| ikä | 24,50 (1,64) | 23,83 (3,71) | 0,696 |
| pituus (m) | 1,74 (0,038) | 1,83 (0,066) | 0,022 |
| paino (kg) | 76,68 (11,81) | 78,60 (8,24) | 0,751 |
| BMI (kg/m ²) | 25,22 (3,21) | 23,62 (2,84) | 0,382 |
| hemoglobiini | 157,67 (12,04) | 150,17 (8,23) | 0,237 |
| ESS | 3,50 (1,38) | 6,00 (2,53) | 0,059 |
| MEQ | 47,00 (9,94) | 48,33 (6,25) | 0,787 |

Unen laatua kuvaavien muuttujien (nukahtamisviive ja unitehokkuus) vertailu on esitetty taulukoissa 2 ja 3. Ryhmien väliltä ei löytynyt tilastollisesti merkitsevää eroa kummassakaan muuttujassa. Verenluovuttajaryhmässä nukahtamisviive lyheni. Kontrolliryhmässä se pidentyi hieman. Muutokset nukahtamisviiveessä eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. Molemmissa ryhmissä unitehokkuus (nukutun ajan suhde vuoteessaoloaikaan) parantui toisena tutkimusyönä. Ero öiden välisissä unitehokkuuksissa oli tilastollisesti merkitsevä kontrolliryhmässä, mutta ei verenluovuttajaryhmässä. Epäparametrisella testillä tarkistettaessa tulokset olivat yhteneväiset parametrisen testin kanssa.

Taulukko 2: Unen laatua kuvaavien muuttujien vertailu ryhmien välillä. Tiedot esitetty keskiarvoina, suluissa SD.

| tutkimusyö | | verenluovuttajat (n = 6) | kontrollit (n = 6) | p-arvo |
|------------|-----------------------|--------------------------|--------------------|--------|
| 1 | nukahtamisviive (min) | 20,58 (13,61) | 28,83 (21,49) | 0,445 |
| | unitehokkuus (%) | 91,10 (5,69) | 84,37 (7,66) | 0,115 |
| 2 | nukahtamisviive (min) | 13,67 (7,25) | 30,33 (32,09) | 0,243 |
| | unitehokkuus (%) | 96,18 (1,44) | 96,17 (0,96) | 0,982 |

Taulukko 3: Unen laatua kuvaavien muuttujien vertailu öiden välillä. Tiedot esitetty keskiarvoina, suluissa SD.

| | | tutkimusyö 1 | tutkimusyö 2 | p-arvo |
|-----------------------|--------------------------|---------------|---------------|--------------|
| nukahtamisviive (min) | verenluovuttajat (n = 6) | 20,58 (13,61) | 13,67 (7,25) | 0,401 |
| | kontrollit (n = 6) | 28,83 (21,49) | 30,33 (32,09) | 0,874 |
| unitehokkuus (%) | verenluovuttajat (n = 6) | 91,10 (5,69) | 96,18 (1,44) | 0,066 |
| | kontrollit (n = 6) | 84,37 (7,66) | 96,17 (0,96) | 0,010 |

Taulukossa 4 on vertailtu öiden välisiä eroja deltatehossa. Deltatehossa tapahtunut muutos on esitetty myös kuvassa 6. Deltateho mittaa EEG:ssä taajuusalueella 0–4 Hz esiintyvää aktiivisuutta. Delta-aaltojen kokonaismäärä lisääntyi molemmissa ryhmissä, mutta öiden välinen ero ei ollut merkitsevä kummassakaan ryhmässä. Yksilöllinen vaihtelu delta-aktiivisuudessa oli suurta. Epäparametrinen testiä käyttämällä saatiin samanlaiset tulokset.

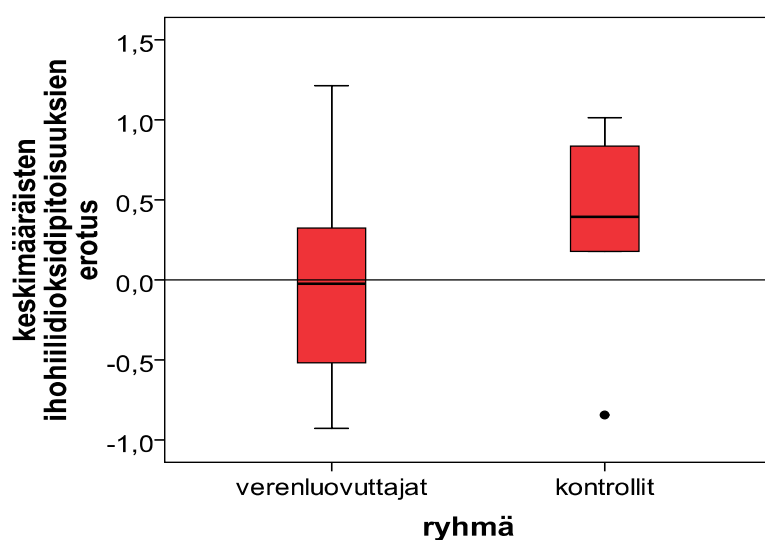
Taulukko 4: Delta-aaltojen kokonaismäärä. Tiedot esitetty keskiarvoina, suluissa SD.

| | verenluovuttajat (n = 6) | kontrollit (n = 6) |
|--|--------------------------|--------------------|
| deltateho (nV ² /Hz) 1. tutkimusyö | 22,42 (13,05) | 18,46 (14,64) |
| deltateho (nV ² /Hz) 2. tutkimusyö | 27,93 (21,37) | 18,78 (12,72) |
| p-arvo | 0,341 | 0,805 |

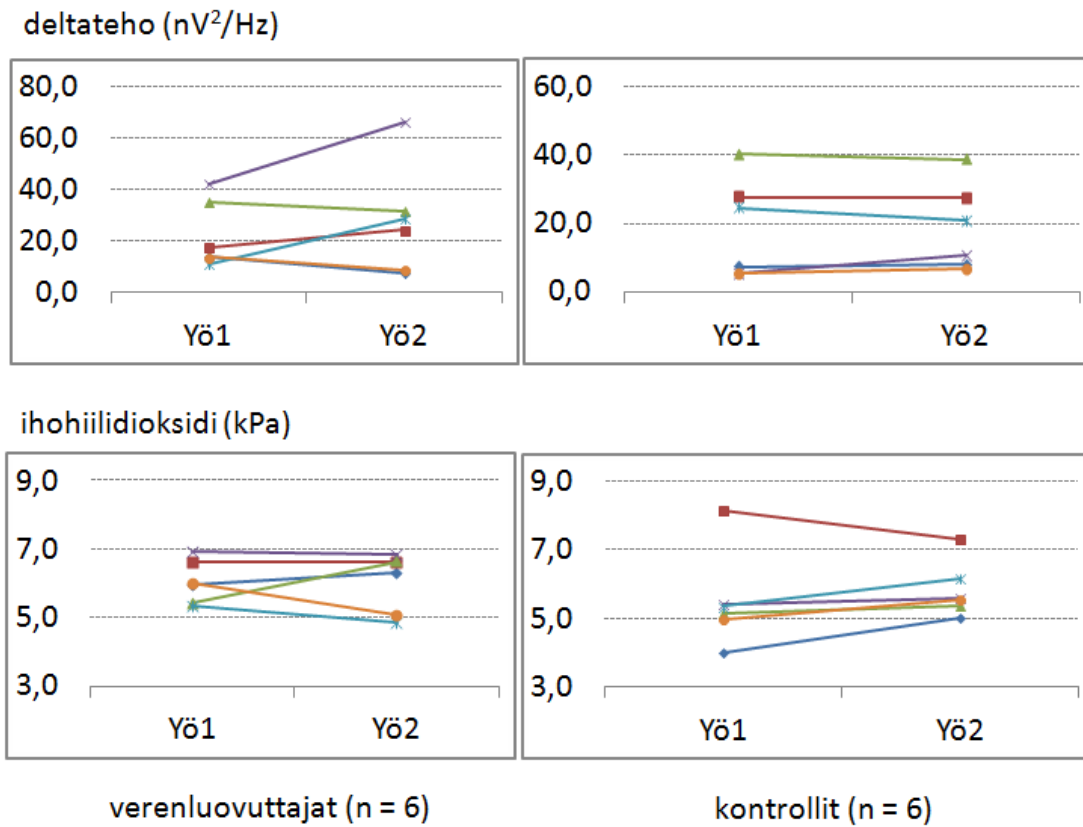
Keskimääräiset yölliset ihohiilidioksidipitoisuudet on kuvattu taulukoissa 5 ja 6. Lisäksi keskimääräisissä hiilidioksidipitoisuuksissa tapahtunutta muutosta on havainnollistettu kuvissa 5 ja 6.

Yhden kontrolliryhmässä olevan tutkittavan hiilidioksidiarvot poikkesivat huomattavasti muista. Hänen ihohiilidioksiditasonsa olivat molempina öinä paljon korkeammat kuin muilla tutkittavilla (1. tutkimusyö 8,18 kPa, 2. tutkimusyö 7,34 kPa). Lisäksi hän oli ainoa kontrolliryhmässä, jolla hiilidioksiditaso laski toisena tutkimusyönä. Koska poikkeavien arvojen taustalla olevasta syystä ei ollut varmuutta, hiilidioksidiarvoja tarkasteltiin sekä ilman poikkeavaa havaintoa että sen kanssa.

Kuva 5: Keskimääräisissä ihohiilidioksidipitoisuuksissa tapahtunut muutos jaoteltuna ryhmän mukaan.



Keskimääräisissä ihohiilidioksiditasoissa tapahtuneessa muutoksessa esiintyi huomattavaa vaihtelua, varsinkin verenuovuttajaryhmässä. Verenuovuttajaryhmässä ihohiilidioksidipitoisuudet laskivat kolmella tutkittavalla. Toisena yönä keskimääräinen hiilidioksidipitoisuus oli molemmissa ryhmissä hieman korkeampi kuin ensimmäisenä. Verenuovuttajaryhmässä ero oli hyvin pieni, eikä se ollut tilastollisesti merkitsevä. Kontrolliryhmässä ero öiden välisissä keskimääräisissä hiilidioksidipitoisuuksissa oli suurempi, ja kun analyysi tehtiin ilman poikkeavaa havaintoa, tapahtunut muutos oli tilastollisesti merkitsevä.



Kuva 6: Deltatehon ja ihohiilidioksidin muutokset yksitellen jokaisella tutkittavalla jaoiteltuna ryhmän mukaan.

Taulukko 5: Keskimääräiset ihohiilidioksidipitoisuudet. Tiedot keskiarvoina, suluissa SD. Tulokset esitetty sekä poikkeavan havainnon kanssa että ilman sitä.

| | verenuovuttajat (n = 6) | kontrollit (n = 6 / 5) |
|--|----------------------------|---------------------------|
| tcCO ₂ (kPa) 1. tutkimusyö | 6,05 (0,62) | 5,52 (1,39) / 4,99 (0,57) |
| tcCO ₂ (kPa) 2. tutkimusyö | 6,06 (0,87) | 5,85 (0,82) / 5,56 (0,42) |
| p-arvo | 0,981 | 0,277 / 0,026 |

Ihohiilidioksiditasot olivat kontrolliryhmässä molempina öinä selvästi matalammat kuin verenuovuttajaryhmässä (taulukko 6). Ensimmäisen yön keskimääräisiä ihohiilidioksidipitoisuuksia vertailtaessa ryhmien välinen ero ei ollut merkitsevä, mutta kun poikkeava havainto jätettiin pois analyysistä, ero muuttui tilastollisesti merkitseväksi.

Taulukko 6: Ensimmäisen yön hohiilidioksiditasojen vertailu ryhmien välillä. Tiedot keskiarvoina, suluissa SD. Tulokset esitetty sekä poikkeavan havainnon kanssa että ilman sitä.

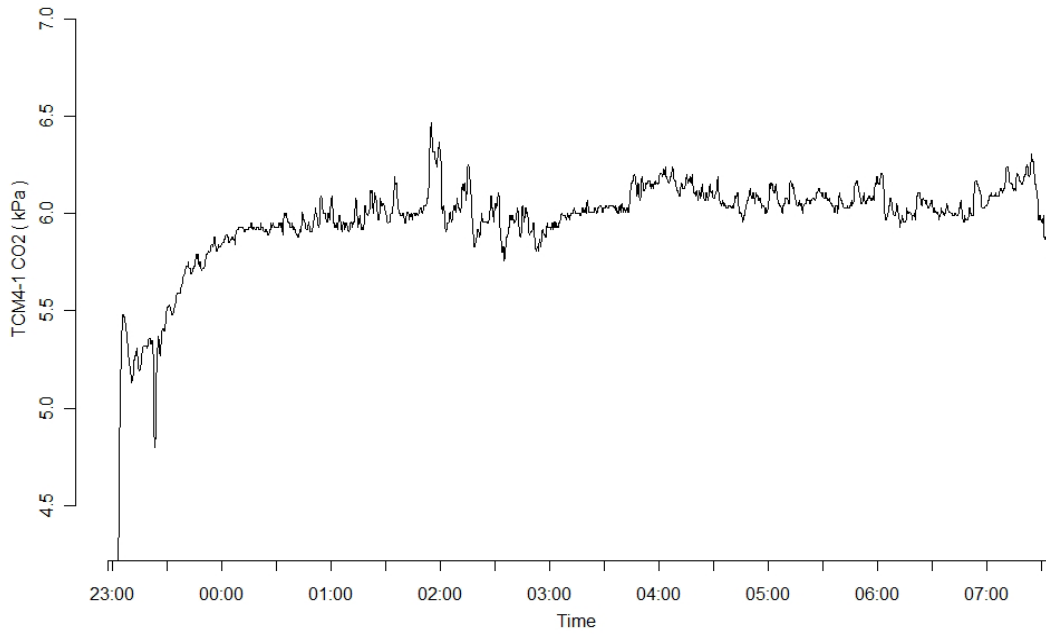
| | verenluovuttajat (n = 6) | kontrollit (n= 6 / 5) | p-arvo |
|--|-----------------------------|------------------------------|----------------------|
| tcCO ₂ (kPa) 1. tutkimusyö | 6,05 (0,62) | 5,52 (1,39) / 4,99 (0,57) | 0,424 / 0,017 |

Keskimääräisten ihohiilidioksidipitoisuuksien erotuksessa ei ollut ryhmien välillä merkitsevää eroa (*taulukko 7*). Vaikka poikkeava havainto jätettiin pois analyysistä, ero ryhmien välillä ei silti ollut merkitsevä. Samat tulokset saatiin myös epäparametrisella testillä.

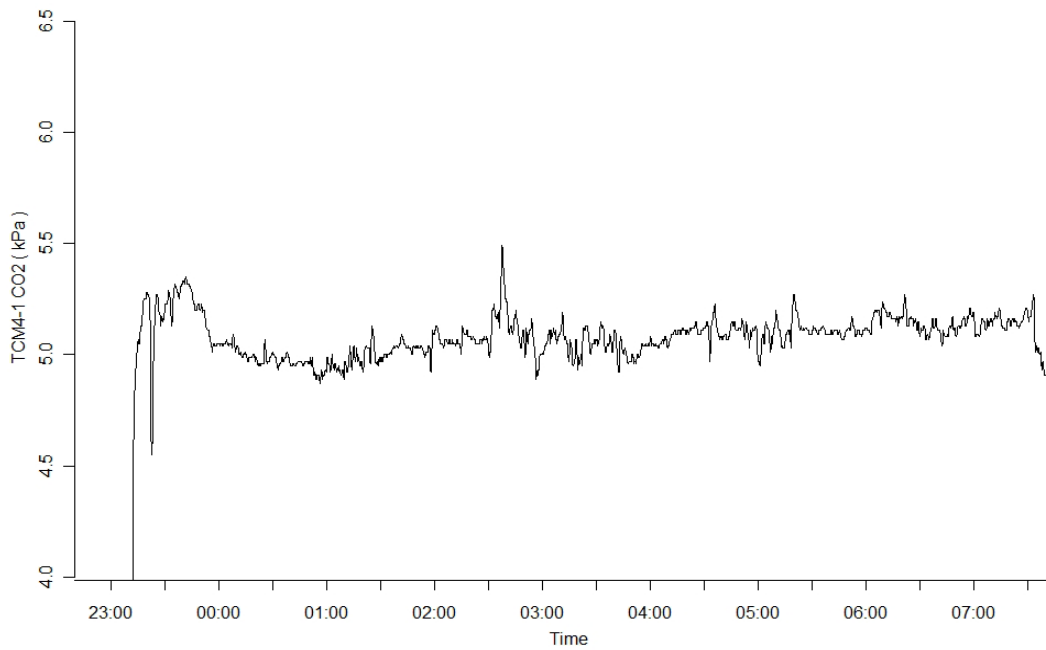
Taulukko 7: Muutos ihohiilidioksidipitoisuuksissa. Tiedot esitetty keskiarvoina, suluissa SD. Tulokset esitetty sekä poikkeavan havainnon kanssa että ilman sitä.

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

Kuvissa 7 ja 8 on esitetty yhden verenluovuttajaryhmässä olleen tutkimushenkilön ihohiilidioksidipitoisuudet ennen verenluovutusta ja verenluovutuksen jälkeisenä yönä. Toisena tutkimusyönä ihohiilidioksiditasot ovat matalammalla kuin ensimmäisenä yönä (1. tutkimusyö 6,01 kPa, 2. tutkimusyö 5,08 kPa).



Kuva 7: Hiilidioksidikäyrä ennen verenluovutusta.



Kuva 8: Hiilidioksidikäyrä verenluovutuksen jälkeen.

5 POHDINTA

Tutkimuksen tarkoitus oli selvittää verenluovutuksen vaikutusta autonomisen hermoston toimintaan unen aikana, jonka mittarina käytettiin ihohiilidioksidipitoisuutta ($tcCO_2$). Lisäksi tavoitteena oli saada lisätietoa transkutaanisesta hiilidioksidimittauksesta. Tutkimuksen hypoteesina oli, että verenluovutus lisää sympaattisen hermoston aktiivisuutta, mikä supistaa perifeerisiä verisuonia ja voidaan havaita ihohiilidioksidipitoisuuksien laskuna. Verenluovuttajaryhmän ja kontrolliryhmän välillä ei havaittu merkitsevää eroa öiden välisten hiilidioksidipitoisuuksien erotuksissa. Kontrolliryhmässä oli tyypillistä, että ihohiilidioksiditaso oli jälkimmäisenä yönä korkeampi, kun taas verenluovutusryhmässä muutosta ei juuri tapahtunut tai ihohiilidioksidi oli jälkimmäisenä yönä matalampi. Nämä trendit ovat tulkittavissa joko niin, että ilman verenluovutusta ihohiilidioksidissa tulee esiin ns. ensimmäisen yön vaikutus (first-night-effect) tai että randomointi ei onnistunut tuottamaan lähtökohtaisesti samanlaisia ryhmiä. Jos kysymyksessä olisi ensimmäisen yön vaikutus, toisena yönä ihohiilidioksidi on korkeampi, koska tutkimusasetelma on jo tuttu ja koehenkilöt olivat ehkä väsyneempiä kuin ensimmäisenä yönä. Randomoinnin epäonnistuminen aiheutti sen, että ihohiilidioksidiarvot olivat kontrolliryhmässä ensimmäisenä yönä matalampia kuin verenluovuttajilla.

Tulosten perusteella tutkimuksen hypoteesia ei voida hyväksyä eikä hylätä, sillä tutkimuksen voima osoittautui riittämättömäksi luotettavien johtopäätöksien tekemiseen. Voima-analyysin suorittaminen ja sopivan otoskoon määrittäminen etukäteen eivät olleet mahdollisia, sillä tutkimuksen päämuuttuja (ihohiilidioksidipitoisuus) oli uusi parametri, jonka varianssia ei tunnettu. Tutkimuksen otos käsitti kaksitoista tutkittavaa, mikä osoittautui liian pieneksi määräksi. Pienen otoskoon vuoksi sattuman vaikutus korostuu ja yksikin poikkeava havainto vaikuttaa merkittävästi tuloksiin. Suuremmalla otoksella ryhmien välinen ero ihohiilidioksidipitoisuuksien muutoksissa olisi saattanut olla tilastollisesti merkitsevä.

Tutkimuksen sisäänottokriteerit olivat tiukat, jotta tutkimusjoukko olisi ollut mahdollisimman tasalaatuinen. Otoksen homogeenisyyden vuoksi tutkimuksen tuloksia ei voida yleistää suoraan koskemaan muita ryhmiä (esim. naisia). Tutkittavat ryhmät olivat keskenään hyvin samankaltaisia. Tilastollisesti merkitsevä ero ryhmien väliltä löytyi pituuden suhteen: kontrolliryhmän tutkittavat olivat keskimäärin pidempiä kuin verenluovuttajaryhmän

henkilöt. Ryhmien välisellä pituuserolla ei todennäköisesti ole vaikutusta tutkimuksen tuloksiin. Ryhmät erosivat toisistaan myös ihohiilidioksiditasojen suhteen.

Ihohiilidioksiditasot olivat kontrolliryhmässä matalammat kuin verenluovuttajaryhmässä. Ensimmäisen yön ihohiilidioksidipitoisuuksia vertailtaessa ryhmien välinen ero ei ollut merkitsevä, mutta kun poikkeava havainto jätettiin pois, ero muuttui tilastollisesti merkitseväksi. Painoindeksissä ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, mutta on huomattava että verenluovuttajat olivat painoindeksin mukaan lievästi ylipainoisia (keskimääräinen BMI 25,22), kun taas kontrollit olivat määritelmän mukaan normaalipainoisia (keskimääräinen BMI 23,62). Tällä saattaa olla jonkin verran vaikutusta tuloksiin, sillä jo lievä ylipaino lisää useiden sairauksien (mm. tyypin 2 diabeteksen sekä sydän- ja verisuonisairauksien) riskiä.

Unirekisteröintien toteutuksesta vastasi unitutkimusyksikön koulutettu ja asiantunteva henkilökunta. Mittaukset olivat laadultaan hyviä. Rekisteröintien univaiheiden luokitteluun osallistui useita henkilöitä. Eri henkilöiden luokittelutavoissa saattaa olla jonkin verran eroavaisuuksia. Tällä voi olla jonkin verran vaikutusta univaiheiden avulla määriteltäviin muuttujiin, joita tässä tutkimuksessa olivat nukahtamisviive ja unitehokkuus (nukutun ajan suhde vuoteessaoloaikaan).

Nukkumisolosuhteet vaikuttavat merkittävästi nukahtamiseen ja unen laatuun.

Unitutkimuslaboratorio on nukkumisympäristönä hyvin epätavallinen, minkä on havaittu aiheuttavan muutoksia unen rakenteeseen. Ensimmäisenä unilaboratoriossa nukuttuna yönä esimerkiksi unitehokkuus on huonompi, nukahtamisviive pidempi ja REM-unen määrä vähentynyt. Ilmiö tunnetaan ns. ensimmäisen yön efektinä. (40) Kaikilta tutkittavilta rekisteröitiin unta kahden yön ajan. Toisena tutkimusyönä tutkittavat olivat mahdollisesti jo tottuneempia erikoisiin nukkumisolosuhteisiin ja nukkuivat sen vuoksi paremmin. Tätä olettamusta tukee se, että unitehokkuus ja deltateho kasvoivat toisena tutkimusyönä molemmissa ryhmissä.

Verenluovutus tapahtui verenluovuttajaryhmän tutkittavilla useita tunteja ennen toista unipolygrafiatutkimusta. Neuraaliset kompensaatiomekanismit käynnistyvät välittömästi verenluovutuksen jälkeen hypotension kompensoimiseksi. Veritilavuus palautuu normaalitasolle nopeasti, jolloin sympaattisen hermoston aktiivisuutta ei enää tarvita verenpaineen kompensointiin ja sen toiminta vaimenee takaisin normaaliksi. Sympaattisen hermoston aktiivisuus saattoi tutkimushetkellä olla jo palautumassa tai jopa palautunut

normaalitasolle, eikä selkeää eroa ryhmien välillä voitu tämän vuoksi havaita. Aika verenluovutuksen ja unirekisteröinnin aloituksen välillä vaihteli tutkittavilla huomattavasti. Joillain tutkittavista oli jopa puolet enemmän aikaa palautua verenluovutuksesta ennen nukkumaanmenoa kuin toisilla.

Verenluovutuksen aiheuttamien vasteiden suuruus saattoi vaihdella verenluovuttajaryhmän tutkimushenkilöiden välillä. Verenluovutuksen käynnistämien elimistön kompensoimismekanismien voimakkuus riippuu menetetyt veren suhteellisesta osuudesta kokonaisverimäärästä. Luovutettavan veren määrä oli vakio, mutta veritilavuus tutkittavien välillä saattoi vaihdella paljonkin. Veritilavuus riippuu sukupuolesta ja koosta. Lisäksi siihen vaikuttaa myös kehon koostumus. Ylipainoisilla henkilöillä veritilavuus painokiloa kohti on pienempi kuin normaalipainoisilla. Naisilla veritilavuus on pienempi kuin miehillä, sillä rasvan suhteellinen osuus kehossa on suurempi. Urheilijoilla ja korkeassa ilmanalassa asuvilla henkilöillä veritilavuus voi olla huomattavasti normaalia suurempi (41). Kompensaatiomekanismien voimakkuuteen vaikuttaa myös verenkiertoelimistön kunto. Esimerkiksi urheilijoilla verenkiertoelimistön suorituskyky on suurempi. Normaalia suurempi iskutilavuus ja matalampi leposyke mahdollistavat voimakkaamman kompensoimisen verenluovutuksen jälkeen.

Transkutaaninen hiilidioksidimittaus on menetelmänä uusi, eikä siihen vaikuttavia tekijöitä tunneta vielä kunnolla. Ihohiilidioksidipitoisuuden vaikuttavat mahdollisesti ainakin sukupuoli ja ikä. Naisilla kuukautiskierto vaikuttaa estrogeenipitoisuuden muutoksien kautta, sillä estrogeeni toimii vasodilataattorina. (7) Autonomisen hermoston säätelyyn mahdollisesti vaikuttavat tekijät ovat melko samoja kuin ihohiilidioksidipitoisuuden vaikuttaviksi arvellut. Sukupuolten välillä on havaittu esiintyvän vaihtelua unenaikaisessa autonomisen hermoston säätelyssä. Miehillä vagaalisen tonuksen vaihtelu vireystilan mukaan on voimakkaampaa kuin naisilla. Sukupuolten väliset erot saattavat olla seurausta hormonaalisten tekijöiden vaikutuksesta. (42) Muita tekijöitä, joilla on arveltu mahdollisesti olevan vaikutusta autonomisen hermoston toiminnan säätelyyn, ovat ikä ja rotu (43). Tässä tutkimuksessa kaikki tutkittavat olivat miehiä, joten sukupuoli ei voi toimia sekoittavana tekijänä. Tutkittavat olivat iältään 20–30-vuotiaita. Iän vaihteluväli oli melko pieni ja kaikki tutkittavat olivat nuoria, joten ikä ei todennäköisesti vaikuta.

Metaboliset häiriötekijät voivat aiheuttaa muutoksia perifeerisessä perfuusiossa. Erilaiset metaboliset sairaudet, esimerkiksi diabetes ja hypotyreoosi, voivat nostaa

ihohiilidioksidipitoisuuksia. (44) Yhdelläkään tutkittavalla ei ollut aikaisemmin todettua metabolista sairautta. Tutkittavia ei kuitenkaan seulottu metabolisten markkerien suhteen, joten saattaa olla että jollakin tutkittavista oli aikaisemmin toteamaton sairaus joka vaikuttaa hiilidioksiditasoihin.

Deltateho mittaa EEG:ssä syvän unen aikana esiintyvien delta-aaltojen määrää ja amplitudia. Sen ajatellaan kuvastavan syvän unen intensiteettiä eli sitä, kuinka tehokasta uni on. Deltateho lisääntyy syvän unen tarpeen kasvaessa. Univajeen jälkeisessä korvausunessa on normaalia enemmän delta-aaltoja (45). Vastaavasti ylimääräinen uni vähentää delta-aktiivisuutta. Myös voimakas fyysinen rasitus (46) ja infektiot (47) saattavat lisätä syvän unen määrää. Useilla aineilla on vaikutusta syvän unen määrään, esimerkiksi suuret alkoholimäärät, kahvi (48) ja bentsodiatsepiinit (49) vähentävät syvää unta. Syvän unen määrä riippuu myös iästä. Lapsilla hidasaaltoa on eniten ja sen määrä vähenee vähitellen vanhentuessa (50). Deltateho lisääntyi toisena yönä jonkin verran molemmissa ryhmissä, mikä viittaa tehokkaampaan uneen.

Kehittämällä ihohiilidioksidimittausta autonomisen hermoston toiminnan unenaikaisessa arvioinnissa voitaisiin saada paremmin tietoa unen laadusta. Unen laadun objektiivinen arviointi on tällä hetkellä melko vaikeaa. Nykyinen unen laadun arviointi perustuu EEG:stä saataviin tietoihin. Potilaan omaa arviota unen laadusta tarvitaan edelleen, sillä subjektiivisen ja objektiivisen arvioinnin välillä on huomattavia eroja. Potilas saattaa esimerkiksi kokea nukkuneensa huonosti, vaikka hän EEG:n mukaan nukkuisikin hyvin. Autonomisen hermoston toiminta liittyy voimakkaasti unen laatuun, ja sympatovagaalisen tasapainon mittaamiseen perustuva menetelmä voisi ehkä toimia tarkemmin unen laadun arvioinnissa kuin EEG.

Ihohiilidioksidimittauksella on mahdollista saada tietoa metabolisista muuttujista. TcCO₂-arvojen avulla pystytään esimerkiksi luokittamaan ihmiset matalan ja korkean HDL-kolesterolin (high-density lipoprotein) luokkiin. (44) Matala HDL-kolesteroli on keskeinen sepelvaltimotaudin riskitekijä, kun taas korkea HDL-kolesterolipitoisuus toimii suojaavana tekijänä. Muita aineenvaihdunnallisia muuttujia, joita ihohiilidioksidimittauksella voidaan arvioida, ovat tyreotropiini ja glykosyloitu hemoglobiini (GHbA1c). Ihohiilidioksidimittausta voitaisiin käyttää sairastumisen riskin arvioinnissa. Metabolisia sairauksia pystyttäisiin mahdollisesti diagnosoimaan nykyistä aikaisemmin, minkä seurauksena tarvittava hoito voitaisiin aloittaa nopeammin ja vaikuttaa näin ennusteeseen.

Yksi mahdollinen käyttötarkoitus ihohiilidioksidimittaukselle voisi olla verenvuotopotilaiden tilan arviointi. Verenvuotopotilaan tilaa arvioidaan vitaalitoimintojen avulla.

Vitaalitoimintojen tarkkaileminen on kuitenkin huono keino, sillä ensimmäiset hypovolemian oireet ilmaantuvat usein vasta elimistön kompensoitumismekanismien pettäessä, jolloin auttaminen voi olla jo liian myöhäistä. Autonominen hermosto toimii hypovolemian kompensoitiossa, ja sen toiminnassa tapahtuvat muutokset voidaan havaita jo ennen selvien hypovolemian merkkien ilmenemistä. Autonominen hermoston toiminnan tutkiminen voisikin auttaa hoitoa vaativien potilaiden tunnistamisessa. (51)

Ihohiilidioksidimittauksesta ja siihen vaikuttavista tekijöistä tarvitaan vielä lisätutkimuksia suuremmalla otoskoolla. Tutkimuksia pitäisi suorittaa myös erilaisilla ryhmillä, jotta tuloksia voitaisiin paremmin yleistää väestötasolla. Tutkimushenkilöiden terveydentilan tarkempi kartoittaminen olisi tärkeää mahdollisten sekoittavien tekijöiden poissulkemisessa, esimerkiksi glukoosirasituskoe ja vyötärönympäryksen mittaaminen voisivat olla hyödyllisiä lisätutkimuksia. Unirekisteröinnit voitaisiin suorittaa kolmena peräkkäisenä yönä, jotta ensimmäisen yön efektin vaikutusta tuloksiin voitaisiin tutkia.

LÄHTEET

- (1) Zollei E, Paprika D, Makra P, Gingl Z, Vezendi K, Rudas L. Human autonomic responses to blood donation. *Auton Neurosci* 2004 Feb 27;110(2):114-120.
- (2) Fortrat JO, Nasr O, Duvareille M, Gharib C. Human cardiovascular variability, baroreflex and hormonal adaptations to a blood donation. *Clin Sci (Lond)* 1998 Sep;95(3):269-275.
- (3) Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2009.
- (4) Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 12th ed.: Elsevier Inc.
- (5) Koulu M, Tuomisto J. *Farmakologia ja toksikologia*. 7. painos. Kuopio: Medicina Oy; 2007.
- (6) 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.
- (7) Aittokallio J, Virkki A, Aittokallio T, Saaresranta T, Polo-Kantola P, Polo O. Non-invasive respiratory monitoring during wakefulness and sleep in pre- and postmenopausal women. *Respir Physiol Neurobiol* 2006 Jan 25;150(1):66-74.
- (8) Irwin MR, Valladares EM, Motivala S, Thayer JF, Ehlers CL. Association between nocturnal vagal tone and sleep depth, sleep quality, and fatigue in alcohol dependence. *Psychosom Med* 2006 Jan-Feb;68(1):159-166.
- (9) Veripalvelu. 2011; Saatavilla: www.veripalvelu.fi. Luettu 6/28, 2011.
- (10) Garry PJ, Koehler KM, Simon TL. Iron stores and iron absorption: effects of repeated blood donations. *Am J Clin Nutr* 1995 Sep;62(3):611-620.
- (11) Alahuhta S, Ala-Kokko T, Kiviluoma K, Perttilä J, Ruokonen E, Silfast T editors. *Nestehoito*. 1. painos. Hämeenlinna: Duodecim; 2006.
- (12) Severinghaus JW, Bradley A. Electrodes for blood PO₂ and PCO₂ determination. *Journal of Applied Physiology* 1958;13:515-520.
- (13) 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.
- (14) Janssens JP, Howarth-Frey C, Chevrolet JC, Abajo B, Rochat T. Transcutaneous PCO₂ to monitor noninvasive mechanical ventilation in adults: assessment of a new transcutaneous PCO₂ device. *Chest* 1998 Mar;113(3):768-773.
- (15) McLellan PA, Goldstein RS, Ramcharan V, Rebeck AS. Transcutaneous carbon dioxide monitoring. *Am Rev Respir Dis* 1981 Aug;124(2):199-201.

- (16) 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.
- (17) Severinghaus JW. The Current Status of Transcutaneous Blood Gas Analysis and Monitoring. *Blood Gas News* 1998;7(2):4.
- (18) Bendjelid K, Schutz N, Stotz M, Gerard I, Suter PM, Romand JA. Transcutaneous PCO₂ monitoring in critically ill adults: clinical evaluation of a new sensor. *Crit Care Med* 2005 Oct;33(10):2203-2206.
- (19) Nosovitch MA, Johnson JO, Tobias JD. Noninvasive intraoperative monitoring of carbon dioxide in children: endtidal versus transcutaneous techniques. *Paediatr Anaesth* 2002 Jan;12(1):48-52.
- (20) Kirk VG, Batuyong ED, Bohn SG. Transcutaneous carbon dioxide monitoring and capnography during pediatric polysomnography. *Sleep* 2006 Dec;29(12):1601-1608.
- (21) Aittokallio J, Polo O, Hiissa J, Virkki A, Toikka J, Raitakari O, et al. Overnight variability in transcutaneous carbon dioxide predicts vascular impairment in women. *Exp Physiol* 2008 Jul;93(7):880-891.
- (22) Aittokallio J, Saaresranta T, Virkki A, Karppinen N, Heinonen OJ, Aittokallio T, et al. Transcutaneous carbon dioxide profile during sleep reveals metabolic risk factors in postmenopausal females. *Eur Respir J* 2009 Nov;34(5):1132-1139.
- (23) Purves D. *Neuroscience*. 4th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc.; 2008.
- (24) Bonnet MH, Arand DL. Heart rate variability: sleep stage, time of night, and arousal influences. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997 May;102(5):390-396.
- (25) Ako M, Kawara T, Uchida S, Miyazaki S, Nishihara K, Mukai J, et al. Correlation between electroencephalography and heart rate variability during sleep. *Psychiatry Clin Neurosci* 2003 Feb;57(1):59-65.
- (26) Gronfier C, Simon C, Piquard F, Ehrhart J, Brandenberger G. Neuroendocrine processes underlying ultradian sleep regulation in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 Aug;84(8):2686-2690.
- (27) Hall M, Vasko R, Buysse D, Ombao H, Chen Q, Cashmere JD, et al. Acute stress affects heart rate variability during sleep. *Psychosom Med* 2004 Jan-Feb;66(1):56-62.
- (28) Gilmartin GS, Thomas RJ. Mechanisms of arousal from sleep and their consequences. *Curr Opin Pulm Med* 2004 Nov;10(6):468-474.
- (29) Guggisberg AG, Hess CW, Mathis J. The significance of the sympathetic nervous system in the pathophysiology of periodic leg movements in sleep. *Sleep* 2007 Jun;30(6):755-766.

- (30) Tochikubo O, Ikeda A, Miyajima E, Ishii M. Effects of insufficient sleep on blood pressure monitored by a new multibiomedical recorder. *Hypertension* 1996 Jun;27(6):1318-1324.
- (31) Somers VK, Dyken ME, Clary MP, Abboud FM. Sympathetic neural mechanisms in obstructive sleep apnea. *J Clin Invest* 1995 Oct;96(4):1897-1904.
- (32) Paunio T, Porkka-Heiskanen T. Unen merkitys sairauksien synnyssä. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 2008;124(6):695-701.
- (33) Mork PJ, Nilsen TI. Sleep problems and risk of fibromyalgia: Longitudinal data from the Norwegian HUNT-study. *Arthritis Rheum* 2011 Nov 11.
- (34) Dew MA, Hoch CC, Buysse DJ, Monk TH, Begley AE, Houck PR, et al. Healthy older adults' sleep predicts all-cause mortality at 4 to 19 years of follow-up. *Psychosom Med* 2003 Jan-Feb;65(1):63-73.
- (35) Means MK, Lineberger MD, Edinger JD. Nonpharmacologic treatment of insomnia. *Curr Treat Options Neurol* 2008 Sep;10(5):342-349.
- (36) 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.
- (37) Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991 Dec;14(6):540-545.
- (38) Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 1976;4(2):97-110.
- (39) Retschaffen A, Kales A. *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects*. Washington: National Institutes of Health; 1968.
- (40) Agnew HW, Jr, Webb WB, Williams RL. The first night effect: an EEG study of sleep. *Psychophysiology* 1966 Jan;2(3):263-266.
- (41) Schmidt W, Heinicke K, Rojas J, Manuel Gomez J, Serrato M, Mora M, et al. Blood volume and hemoglobin mass in endurance athletes from moderate altitude. *Med Sci Sports Exerc* 2002 Dec;34(12):1934-1940.
- (42) Elsenbruch S, Harnish MJ, Orr WC. Heart rate variability during waking and sleep in healthy males and females. *Sleep* 1999 Dec 15;22(8):1067-1071.
- (43) Liao D, Barnes RW, Chambless LE, Simpson RJ, Jr, Sorlie P, Heiss G. Age, race, and sex differences in autonomic cardiac function measured by spectral analysis of heart rate variability--the ARIC study. *Atherosclerosis Risk in Communities*. *Am J Cardiol* 1995 Nov 1;76(12):906-912.
- (44) Virkki A, Polo O, Saaresranta T, Laapotti-Salo A, Gyllenberg M, Aittokallio T. Overnight features of transcutaneous carbon dioxide measurement as predictors of metabolic status. *Artif Intell Med* 2008 Jan;42(1):55-65.

- (45) Borbely AA, Baumann F, Brandeis D, Strauch I, Lehmann D. Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1981 May;51(5):483-495.
- (46) Driver HS, Taylor SR. Exercise and sleep. *Sleep Med Rev* 2000 Aug;4(4):387-402.
- (47) Mullington J, Korth C, Hermann DM, Orth A, Galanos C, Holsboer F, et al. Dose-dependent effects of endotoxin on human sleep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000 Apr;278(4):R947-55.
- (48) Landolt HP, Dijk DJ, Gaus SE, Borbely AA. Caffeine reduces low-frequency delta activity in the human sleep EEG. *Neuropsychopharmacology* 1995 May;12(3):229-238.
- (49) Bastien CH, LeBlanc M, Carrier J, Morin CM. Sleep EEG power spectra, insomnia, and chronic use of benzodiazepines. *Sleep* 2003 May 1;26(3):313-317.
- (50) Gaudreau H, Carrier J, Montplaisir J. Age-related modifications of NREM sleep EEG: from childhood to middle age. *J Sleep Res* 2001 Sep;10(3):165-172.
- (51) Cooke WH, Rickards CA, Ryan KL, Convertino VA. Autonomic compensation to simulated hemorrhage monitored with heart period variability. *Crit Care Med* 2008 Jun;36(6):1892-1899.