

KARELIA-AMMATTIKORKEAKOULU  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Marja Kainulainen  
Jukka Korhonen

ASPARTAAMIN JA SEN HAJOAMISTUOTTEIDEN VAIKUTUS  
TIETTYIHIN VERIARVOIHIN

Opinnäytetyö  
Tammikuu 2013



**OPINNÄYTETYÖ**  
**Tammikuu 2013**  
**Bioanalytiikan koulutusohjelma**  
Tikkarinne 9  
80200 Joensuu  
p. (013) 260 6600

**Tekijät**  
Marja Kainulainen, Jukka Korhonen

**Nimeke**  
Aspartaamin ja sen hajoamistuotteiden vaikutus tiettyihin veriarvoihin

**Toimeksiantaja**  
Karelia-ammattikorkeakoulu, bioanalytiikan koulutusohjelma

**Tiivistelmä**

Aspartaami on yleisesti käytetty keinotekoinen makeutusaine, joka on asparagiinihapon ja fenyylialaniinin metyyliesteri. Sen hajoamistuotteet ihmisen ruoansulatuselimistössä ovat aspartaatti, fenyylialaniini ja metanoli. Aspartaamin vaikutuksia ihmiselimistöön on tutkittu laajalti, kuten kaikilta lisäaineilta edellytetään. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia aspartaamin nauttimisen vaikutusta tiettyihin veriarvoihin.

Tehty tutkimus oli kliininen, vapaaehtoisilla koehenkilöillä tehtävä koe. Tarkoituksena oli tutkia, kuinka lyhyellä ajanjaksolla tapahtuva säännöllinen aspartaamin nauttiminen vaikuttaa tiettyihin veriarvoihin. Koehenkilöt nauttivat kahden viikon ajan aspartaamia päivittäin. Kokeen aikana koehenkilöiltä mitattiin tiettyjä veriarvoja ja niissä mahdollisesti ilmeneviä muutoksia. Kerätty aineisto analysoitiin tilastollisia menetelmiä käyttäen.

Tutkimukseen valittiin neljä plasmasta ja kaksi kokoverestä mitattavaa parametriä, jotka kuvaavat eri elinten toimintaa. Valitut parametrit olivat plasmasta mitattavat alaniiniaminotransferaasi, aspartaattiaminotransferaasi, kreatiniini ja urea, sekä perusverenkuva ja valkosolujen mikroskooppinen erittelylaskenta. Tilastollisen analyysin perusteella voidaan päätellä, ettei lyhytaikainen aspartaamin nauttiminen aiheuta merkittäviä muutoksia valittuihin parametreihin. Tulosten tulkinnessa täytyy ottaa huomioon tutkimuksen pieni otoskoko.

**Kieli**  
suomi

Sivuja 37  
Liitteet 7  
Liitesivumäärä 13

**Asiasanat**  
aspartaami, proteiini, metabolia



**THESIS**  
**January 2013**  
**Degree Programme in Biomedical**  
**Laboratory Sciences**  
Tikkarinne 9  
80200 Joensuu  
FINLAND  
Tel. 358-13-260-6600

**Authors**

Marja Kainulainen, Jukka Korhonen

**Title**

The Effects of Aspartame and Its Metabolic Byproducts on Certain Blood Parameters

**Commissioned by**

Karelia University of Applied Sciences' Degree Programme in Biomedical Laboratory Sciences

**Toimeksiantaja**

**Abstract**

Aspartame is a common artificial sweetener, which is a methyl ester of aspartic acid and phenylalanine. Its metabolic byproducts in human intestine are aspartate, phenylalanine and methanol. Many studies about aspartame's safety as a food additive has been conducted. The purpose of this research was to study the effects of short-term aspartame intake on certain blood parameters.

The research was carried out as a clinical study with volunteering test subjects. Test subjects ingested a daily dose of aspartame for two weeks. Blood samples were taken during the test and analyzed in order to perceive the possible changes. Collected data was then analyzed using certain statistical methods.

A total of six parameters were chosen for the research; four of them measured from plasma and two from whole blood. The parameters chosen were alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, creatinine and urea, measured from plasma, and complete blood count with microscopic differentiation of white blood cells. Statistical comparison of the parameters revealed that a short-term aspartame intake does not affect significantly the parameters chosen. The small amount of test subjects must be taken into account while making conclusions.

**Language**

Finnish

Pages 37

Appendices 7

Pages of Appendices 13

**Keywords**

Aspartame, Protein, Metabolism

# SISÄLTÖ

## TIIVISTELMÄ ABSTRACT

2.1 Proteiinien rakenne.....	7
2.2 Proteiinien tehtävät ja toiminta elimistössä .....	8
2.3 Proteiinien metabolia .....	9
2.4 Ureasykli .....	11
2.5 Proteiiniylimäärä elimistössä .....	14
2.6 Aminohappojen kertymäsairaudet.....	14
3.1 Aspartaami.....	16
3.2 Aspartaamin kemiallinen koostumus .....	17
3.3 Aspartaatti .....	18
3.4 Fenyyialaniini ja PKU .....	19
6.1 Tutkimuksen kuvaus.....	22
6.2 Esitestausta .....	23
6.3 Tutkimuksen toteutus .....	25
7.1 Kemiallisten määritysten tulokset.....	29
7.2 Peruserenkuvan ja valkosolujen erittelylaskennan tulokset .....	29
8.1 Johtopäätökset.....	32
8.2 Pohdinta ja jatkotutkimusaiheet .....	33
9.1 Luotettavuus .....	34
9.2 Eettisyys.....	35

## LIITTEET

Liite 1 Tutkittavat veriarvot ja niiden valintaperusteet

Liite 2	Koehenkilöille asetetut vaatimukset
Liite 3	Aikataulu
Liite 4	Lista tarvittavista reagensseista ja väineistä
Liite 5	Ohjeistus koehenkilöille
Liite 6	Aspartaamia sisältävät tuotteet
Liite 7	Kokeen aikana mahdollisesti esiintyneet oireet

## 1 Johdanto

Aspartaami on yleisesti käytetty makeutusaine. Se on kahden aminohapon, asparagiinihapon ja fenyylialaniinin, metyyliesteri (Magnuson, Burdock, Doull, Kroes, Marsh, Pariza, Spencer, Waddell, Walker & Williams 2007). Aminohapot muodostavat pitkiä ketjurakenteita, jotka laskostuessaan muodostavat valmiin, toimivan proteiinin (Zubay 1998, 65–67). Proteiinit ovat ihmiskehon tärkeitä rakennusainemolekyylejä. Niiden tehtäviä elimistössä ovat rakenteiden muodostaminen sekä erilaisiin biokemiallisiin reaktioihin osallistuminen. (Devlin 2001, 26; Burtis & Ashwood 1999, 477.)

Aspartaamin vaikutuksia ihmiselimistöön on tutkittu laajalti, kuten kaikilta lisäaineilta edellytetään (Törrönen & Mykkänen 2005, 259–260). Useissa tutkimuksissa on kuitenkin saatu viitteitä aspartaamin ja erityisesti sen hajoamistuotteiden mahdollisista haittavaikutuksista. Esimerkiksi on tutkittu aspartaamin käytön yhteyttä syövän kehittymiseen. (Soffritti, Belpoggi, Esposti, Lambertini, Tibaldi & Rigano 2005.)

Aspartaami hajoaa elimistössä lähtöaineikseen asparagiinihapoksi ja fenyylialaniiniksi, mutta hajoamistuotteena syntyy myös jonkin verran metanolia, joka on tunnetusti toksinen yhdiste (Carey & Giuliano 2000, 579–580). Tämän tutkimuksen tarkoitus oli selvittää näiden yhdisteiden vaikutusta ihmiselimistöön. Tutkimuksen koeeasetelma oli ennen-jälkeen -tutkimus, ja siihen osallistui seitsemän vapaaehtoista koehenkilöä, jotka nauttivat kahden viikon ajan aspartaamia. Kokeen aikana koehenkilöiltä otettiin kahdet verikokeet, joista seurattiin tiettyjä veriarvoja ja aspartaamin niissä aiheuttamia muutoksia.

Tutkittavat veriarvot valittiin siten, että ne kuvaavat maksan ja munuaisten toimintaa ylimääräisen aminohappo- ja metanolirasituksen yhteydessä. Lisäksi tutkittiin aspartaamin hajoamistuotteiden mahdollisia vaikutuksia veren puna- ja valkosolufologiaan.

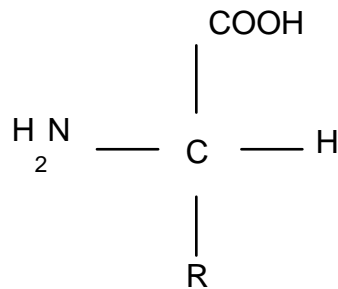
## 2 Proteiinit

Proteiinit ovat hiilihydraattien ja lipidien eli rasva-aineiden ohella yksi ihmiskehon rakennusaineista. Ihmiskehon proteiinit muodostetaan pääasiallisesti ravinnon mukana saatavista proteiineista. Proteiinien rakentuvat aminohapoista, jotka muodostavat pitkiä ketjurakenteita. Ketjurakenteet laskostuvat edelleen kullekin proteiinille ominaisesti kolmiulotteisiksi rakenteiksi ja muodostavat täten toimivan proteiinin. Proteiinien muodostamista eli proteiinisynteesiä ohjaavat geenit. (Lehninger & Cox 2008, 71–72.)

### 2.1 Proteiinien rakenne

Ihmiskehossa esiintyvät proteiinit muodostuvat 20 erilaisesta aminohaposta. Aminohappo koostuu aminoryhmästä, karboksyyliiryhmästä ja sivuketjusta, jonka rakenne vaihtelee aminohapon mukaan. (Lehninger & Cox 2008, 71–72.) Aminohapon keskiosa muodostuu tetraedrisestä hiiliatomista, niinkutsutusta alfa-hiilestä, johon aminoryhmä ja karboksyyliiryhmä sitoutuvat kovalenttisesti vastakkaisille puolille (Garret & Grisham 2010, 70). Kolmanteen sidoskohtaan sitoutuu aina vety, ja sen vastakkaiselle puolelle sitoutuu kullekin aminohapolle ominainen sivuketju. Poikkeuksena on glysiini, jolla ei ole sivuketjua, vaan alfahiileen on liittynyt kaksi vetyä. (Zubay 1998, 60–63.)

Proteiinin perusrakenne on aminohappoketju, jossa aminohapot ovat liittyneet toisiinsa kovalenttisilla peptidisidoksilla. Toisen aminohapon alfa-karboksyyliipää liittyy seuraavan aminohapon alfa-aminopäähän. Sidoksen muodostuessa vapautuu vesimolekyyli. (Garret & Grisham 2010, 70–71.) Aminohappoketjun toinen pää on niinkutsuttu aminoterminaalinen, jolla on vapaa aminoryhmä. Toisessa päässä on vapaa karboksyyliiryhmä. Kuvassa 1 on esitetty aminohapon perusrakenne. Pieni proteiinimolekyyli saattaa sisältää vain 50 aminohapon polypeptidiketjun, suurissa proteiineissa voi olla yli 3000 aminohapon ketjuja. Esimerkiksi lihaksissa esiintyvä myosiini sisältää yhden suurimmista yksittäisistä polypeptidiketjuista, noin 1750 peräkkäistä aminohappoa. (Zubay 1998, 65–67.)



Kuva 1. Aminohapon perusrakenne, (Mukaiillen McKee & McKee 2009, 127).

Polypeptidiketju on proteiinin primäärinen rakenne. Primäärirakenteen aminohappojen järjestys määräytyy kyseistä proteiinia koodaavan geenin mukaan, ja mutaatiot voivat muuttaa proteiinin lopullista rakennetta ratkaisevalla tavalla. Funktionaalinen proteiini muodostuu vasta ketjun laskostuessa sille ominaiseen muotoonsa, mikä määräytyy yksittäisten aminohappojen sivuketjujen välisten vuorovaikutusten mukaan. Sekundäärirakenne syntyy, kun polypeptidiketju muodostaa toistuvia stabiileja rakenteita, joista esimerkkeinä ovat alfa-helix ja beeta-levy. Yksinkertaistettuna proteiinien sekundäärirakenne muodostuu aminohappojen sivuketjujen muodostaessa vetysidoksia ja joissakin tapauksissa myös rikkisiltoja toisten sivuketjujen kanssa. (Zubay 1998, 80–88; Burtis & Ashwood 1999, 478.)

Proteiinin tertiäärirakenne muodostuu, kun sekundäärirakenteinen proteiini laskostuu edelleen stabiileimpaan mahdolliseen muotoon. Tertiäärirakennetta ylläpitävät vetysidokset, disulfidisillat, van Der Waalsin voimat sekä hydrofobiset voimat. (Burtis & Ashwood 1999, 478.) Kvaternäärirakenteinen proteiini muodostuu useamman tertiäärirakenteen liittyessä toisiinsa muodostaen valmiin funktionaalisen proteiinin. (Zubay 1998, 95–102).

## 2.2 Proteiinien tehtävät ja toiminta elimistössä

Proteiinit ovat ihmiskehon tärkeimpiä rakennusaineita. Niiden tehtävät elimistössä voidaan jakaa karkeasti kahteen ryhmään: rakenteiden muodostus ja elimistön erilaisen



biokemiallisten reaktioiden mahdollistaminen. Proteiinit toimivat esimerkiksi aineiden kuljettajina ja reaktioiden katalyytteinä sekä erilaisten kudosten rakennusaineina. Kuljetusproteiineja ovat muunmuassa hemoglobiini ja transferrini, jotka kuljettavat happea ja rautaa verenkierrossa. Myös muut yhdisteet, kuten hormonit ja lääkeaineet, kulkevat elimistössä proteiineihin sitoutuneina. Elimistön immuunipuolustus perustuu pääasiallisesti proteiinien toimintaan, sillä useimmat immuunireaktioihin liittyvät yhdisteet, esimerkiksi immunoglobuliinit, ovat proteiineja. Useimmat hormonit ovat myös proteiineja. Proteiineilla on keskeinen rooli lähes kaikissa metabolisissa reaktioissa, solunjakautumisessa, sekä geenien transkription ja translaation säätelyssä. Teoriassa erilaisia proteiineja ja niiden mahdollisia biokemiallisia sovelluksia on ääretön määrä. (Devlin 2001, 26; Burtis & Ashwood, 1999, 477.)

Proteiinit toimivat elimistössä monin tavoin: toimivat endokrinologisina viestinviejinä, sekä osallistuvat nestetasapainon ja happo-emästasapainon ylläpitoon ja säätelyyn. Proteiinit myös varastoivat molekyylejä ja muodostavat erilaisia elimistön tukirakenteita. (Gropper, Smith & Groff 2009, 179; McKee & McKee 2009, 140–141.)

### **2.3 Proteiinien metabolia**

Proteiinien metabolia jaetaan anaboliaan eli proteiinien rakentamiseen ja kataboliaan eli proteiinien hajotukseen pienemmiksi molekyyleiksi. Proteiineja voidaan syntetisoida, mikäli sopivia aminohappoja on saatavilla. Tarvittavat aminohapot voidaan saada ravinnon mukana, tai niitä voidaan muodostaa elimistön omista molekyyleistä. (McKee & McKee 2009, 507.)

Ravinnosta saatavan proteiinin hajotus tapahtuu mahalaukussa ja ohutsuolessa. Aterian nauttiminen aktivoi tiettyjä hormoneja ja välittäjäaineita, jotka aktivoivat maharauhasia tuottamaan ruoansulatusentsyymejä sekä muita ruoansulatuksessa tarvittavia yhdisteitä. Mahalaukun rauhaset erittävät suolahappoa, joka hajottaa proteiinien kvaternäärisiä, tertiäärisiä ja sekundäärisiä rakenteita. Suolahapon vaikutuksesta proteiinien rakenne muuttuu helpommin hajotettavaksi. Maharauhaset erittävät myös pepsinogeenia, joka

on peptidisidoksia pilkkovan pepsinientsyymin esiaste. Suolahappo katalysoi pepsinogeenin muuttumista pepsiiniksi, joka hajottaa proteiineja edelleen suurikokoisiksi polypeptideiksi. (Gropper ym. 2009, 189–191.)

Pohjukaissuolessa ruokasulaan sekoittuu haimanestettä, joka sisältää useita erilaisia proteiineja hajottavien entsyymien esiasteita, muunmuassa trypsinogeeni, kymotrypsinogeeni. Trypsinogeeni aktivoituu trypsiiniksi, ja trypsiini aktivoi muita entsyymejä. Nämä entsyymit ovat pepsiniä spesifisempiä, esimerkiksi kymotrypsiini katkaisee aromaattisen ryhmän viereisiä peptidisidoksia. Lopullinen pilkkoutuminen tapahtuu suolen epiteelisoluissa imeytymisen aikana. Tällöin polypeptidiketjut pienenevät di- ja tripeptideiksi ja vapaiksi aminohapoiksi ja siirtyvät verenkierron mukana kudoksiin hyödynnettäväksi edelleen. (Gropper ym. 2009, 189–191.)

Ohutsuolessa imeytyneistä aminohapoista 50–60 prosenttia kulkeutuu maksaan, ja tästä osuudesta noin 20 prosenttia käytetään elimistön proteiinien ja muiden tyyppiä sisältävien yhdisteiden, kuten hemoglobiinin hemiryhmän synteisiin. Ylimääräiset aminohapot on muokattava siten, että elimistölle toksinen aminoryhmä ja sen sisältämä tyyppi saadaan poistettua elimistöstä. Maksa detoksifioi typen metabolisesti stabiiliksi ureaksi, joka voidaan erittää virtsan mukana. Aminohappojen aminoryhmä poistetaan joko deaminaatiolla tai transaminaatiolla. (Gropper ym. 2009, 208–209.) Deaminaatio tarkoittaa aminoryhmän irrottamista spesifisten entsyymien eli deaminaasien avulla, ja irrotetun aminoryhmän muokkaamista ammoniakkimolekyyliksi (McKee & McKee 2009, 563–564).

Transaminaatiossa puolestaan aminoryhmä siirretään toiselle molekyylille, joka voi olla esimerkiksi jonkin muun aminohapon hiilirunko tai alfaketohappo eli aminohappo ilman aminoryhmää (Gropper ym. 2009, 208–209). Jäljelle jääneet hiilirungot hajotetaan seitsemäksi erilaiseksi lopputuotteeksi: asetyyli-CoA, asetoasetyyli-CoA, pyruvaatti, alfaketoglutaraatti, sukkinyyli-CoA, fumaraatti ja oksaloasetaatti (McKee & McKee 2009, 562–563). Soluissa aminohapot luovuttavat aminoryhmänsä pääasiallisesti glutamiinille ja alaniinille, jotka kulkeutuvat maksaan, missä typen detoksifikaatio tapahtuu. Maksa detoksifioi typen metabolisesti stabiiliksi ureaksi, joka

voidaan erittää virtsan mukana. Reaktiosarjaa kutsutaan ureasykliksi, joka on energiaa vaativa prosessi. (Mutanen & Voutilainen 2005, 136.)

Aikuisen ihmisen keho kykenee itse syntetisoimaan 12 aminohappoa, joita kutsutaan nonessentiaalisiksi aminohapoiksi. Näiden saanti ravinnosta ei siis ole aikuisille välttämätöntä. Loput kahdeksan ihmisen tarvitsemaa aminohappoa - fenyylialaniini, valiini, treoniini, tryptofaani, isoleusiini, metioniini, leusiini, ja lysini - ovat essentiaalisia, eli niitä on saatava ravinnon mukana tarvittava määrä. (McKee & McKee, 2009, 507.)

Nonessentiaalisia aminohappoja voidaan muodostaa neljästä eri molekyylistä, jotka ovat glyseraatti-3-fosfaatti, pyruvaatti, alfaketoglutaraatti ja oksaloasetaatti. Poikkeuksena on tyrosiini, jota syntetisoidaan fenyylialaniinista. Näistä molekyyleistä muodostuvista aminohapoista voidaan edelleen syntetisoida muita aminohappoja (McKee & McKee 2009, 512–513). Nonessentiaaliset aminohapot muodostetaan yksinkertaisilla reaktioilla muutaman välivaiheen kautta, kun taas essentiaaliset aminohapot vaativat viidestä kuuteentoista välivaihetta (Berg, Tymoczko & Stryer 2002, 671).

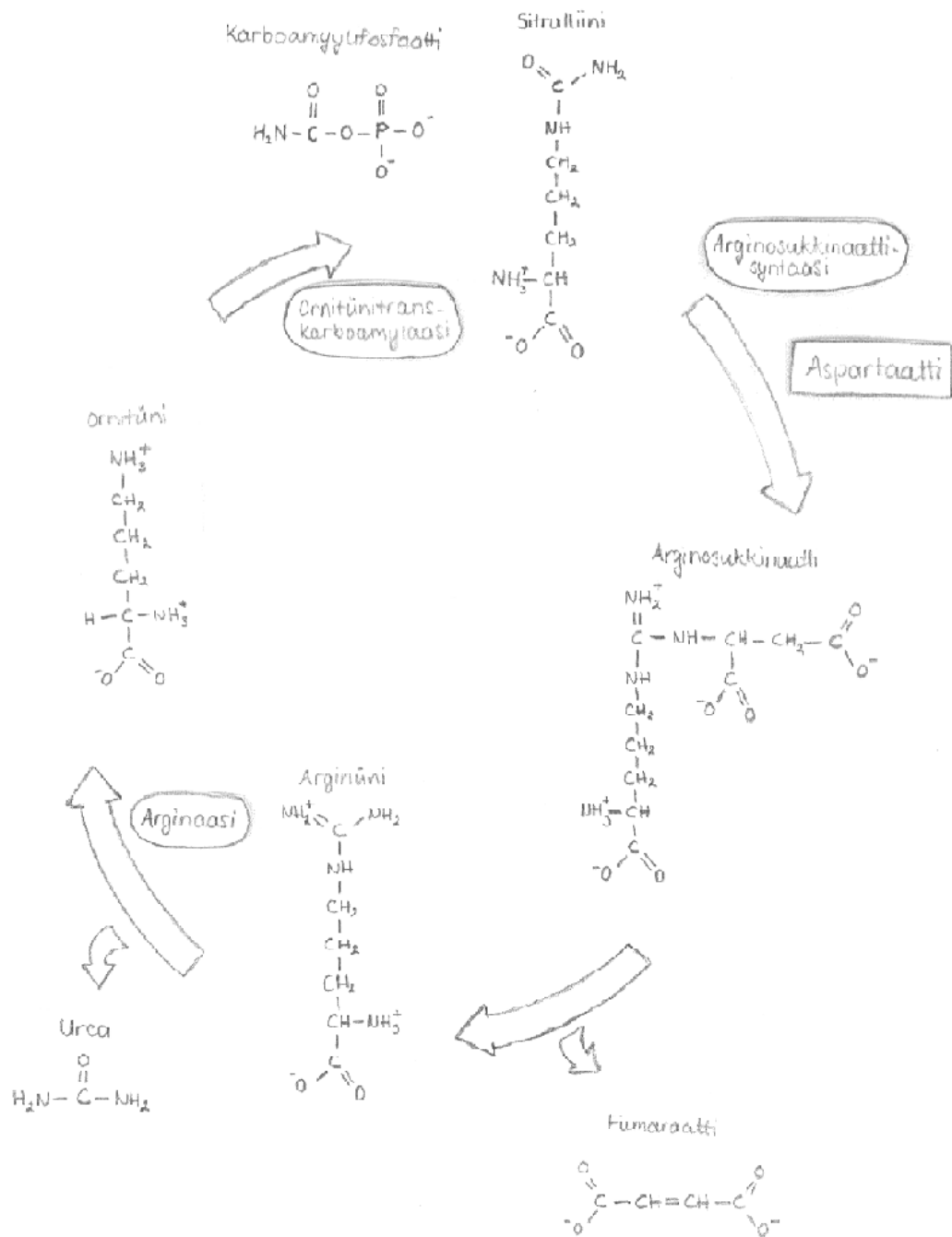
Nonessentiaaliset aminohapot voidaan jakaa ryhmiin niiden esiasteiden eli prekursorien avulla. Esimerkiksi aspartaattiryhmän prekursorina toimii oksaloasetaatista muodostuva aspartaatti, josta syntetisoidaan edelleen asparagiinia, metioniinia, lysiniä ja treoniinia erilaisten biokemiallisten reaktioiden kautta. (McKee & McKee 2009, 507.)

## **2.4 Ureasykli**

Ureasykli on TCA-syklin ohella elimistön tärkeimpiä reaktiosarjoja. Koska aminohappojen sisältämä aminoryhmä on ihmiselle haitallinen, se on eritettävä pois. Erittäminen tapahtuu pääosin maksassa ja jonkin verran munuaisissa juuri ureasyklin kautta, jonka lopputuotteena yksi ammoniumioni saadaan muokattua eritettävään muotoon. Ureasykli koostuu viidestä reaktiosta, joiden lopputuotteena syntyy ihmiselle suhteellisen myrkytön ureamolekyyli, joka eritetään munuaisten kautta. Näistä

reaktioista kaksi tapahtuu mitokondriossa ja kolme sytoplasmassa. (Voet & Voet 2011, 1025.) Kuvassa 2 sivulla on esitetty ureasykli yksinkertaisena kaaviona.

Ureasyklin ensimmäinen reaktio tapahtuu mitokondriossa, ja siinä ammoniumioni ja karbonaatti-ioni liitetään yhteen, jolloin muodostuu karboamyylifosfaattia. Reaktioon osallistuu karboamyylifosfaattisyntaasi, vaikka se ei varsinaisesti ole ureasyklientsyymi. Se katalysoi amino- ja karboksyyliiryhmien aktivaatiota, jolloin ne muodostavat karboamyylifosfaattia, joka on ureasyklin ensimmäinen tyyppiä sisältävä substraatti. (Voet & Voet 2011, 1025.) Karboamyylifosfaatti puolestaan sitoutuu ornitiinimolekyyliin jolloin muodostuu sitrulliinia ornitiinitranskarbomylaasin katalysoidessa reaktiota. Samalla vapautuu fosfaatti. (Zubay 1998, 603–605.) Koska reaktio tapahtuu mitokondrioissa, tarvittava ornitiini on kuljetettava sytoplasmasta mitokondrioon spesifisten kuljettajamolekyyliden avulla. Muodostunut sitrulliini täytyy puolestaan kuljettaa sytoplasmaan, jotta syklin seuraavat reaktio mahdollistuu. (Voet & Voet 2011, 1028.)



Kuva 2. Ureasykli, (Mukaillen Garret & Grisham 2010, 786).

Sitrulliinin siirryttyä mitokondriosta sytoplasmaan siihen liitetään toinen aminoryhmä, jonka luovuttajana toimii aspartaatti. Lopputuotteena on arginosukkinaatti, ja reaktiota katalysoi arginosukkinaattisyntaasi. (Zubay 1998, 603–605.)

Arginosukkinaattia muokataan edelleen entsyymaattisesti arginosukkinaattilyaasin katalysoidessa, jolloin sen rakenteesta irtoaa fumaraattimolekyyli ja arginiini. Muodostunut arginiinimolekyyli reagoi arginaasin kanssa, sen seurauksena vapautuu ureamolekyyli ja muodostuu ornitiinimolekyyli, joka voidaan kierrättää ureasyklin mitokondriaalisissa reaktioissa. Fumaraattimolekyyli puolestaan voidaan kierrättää TCA-syklissä. (Zubay 1998, 603–605.)

Jokaisella ureasyklillä eliminoidaan kaksi typpimolekyyliä, jotka ovat peräisin ammoniumionista ja aspartaatin luovuttamasta aminoryhmästä. Ureasykli vaatii suhteellisen paljon energiaa, 3 ATP-molekyylin verran. Puolet maksan tarvitsemasta hapesta käytetään ureasykliin sekä glukoneogeneesiin eli glukoosin muodostukseen tarvittavan energian tuottoon. Ureasyklissä vapautuva fumaraatti liittyy syklin Krebsin sykliin. Näin ollen syklit täydentävät toisiaan. (Zubay 1998, 603–605; Voet & Voet 2011, 1028.)

## **2.5 Proteiiniylimäärä elimistössä**

Aminohappojen saannille ei ole pystytty määrittämään rajaa, jonka ylittyessä ilmenee haittavaikutuksia (Gropper ym. 2009, 237). Elimistöön ravinnon mukana tuleva ylimääräinen proteiini käytetään hyödyksi solujen erilaisissa metabolisissa prosesseissa. Erilliset aminohapot metaboloituvat niille spesifisten reaktioiden kautta siten, että lopputulos on joko energiaa tuottava glukoneogeneesi tai ketogeneesi. Ketogeenin lopputuloksena syntyy aina ureaa. (Aro, Mutanen & Uusitupa 2005, 130.)

## 2.6 Aminohappojen kertymäsairaudet

Ihmisillä on olemassa useita geneettisiä sairauksia, joihin liittyy solujen kyvyttömyys käyttää tiettyä aminohappoa. Kyseiset sairaudet johtuvat usein tietyn lysosomaalisen entsyymin puutteesta, jolloin aminohappoa ei voida metaboloida vaan se kerääntyy solujen lysosomeihin aiheuttaen oireita. Tämänäyttypiset sairaudet johtavat usein henkiseen jälkeenjääneisyyteen ja ennenaikaiseen kuolemaan, mikäli asianmukaista hoitoa ei ole saatavilla. (Ukkonen, Pihko & Rapola 1995, 111(2):158.)

Kertymäsairaudet johtuvat mutaatiosta entsyymiin valmistusta koodaavassa geenissä. Virheellinen proteiini ja sitä myöten toimimaton entsyymi voi syntyä esimerkiksi pistemutaation seurauksena, jolloin proteiinin primäärirakenteessa yksi aminohappo korvautuu toisella. Tämän seurauksena proteiinin tertiääri- ja kvaternäärirakenne ei muodostu oikeanlaiseksi ja valmis entsyymi ei toimi. (Ukkonen ym. 1995, 111(2):158.)

## 3 Lisäaineet

Lisäaine on Euroopan unionin tämänhetkisessä lainsäädännössä määritelty aineeksi, joka parantaa elintarvikkeen säilyvyyttä, vaikuttaa sen makuun, hajuun, väriin rakenteeseen tai muuhun ominaisuuteen. Lisäaineiden tulee olla terveydelle vaarattomia ja niiden käytölle on oltava peruste. Ne eivät myöskään saa johtaa kuluttajia harhaan. (Garrow, James & Ralph 2000, 401.) Lisäaineet tulee testata ennen niiden laajamittaista käyttöönottoa, ja niille annetaan EU-maissa erityinen E-koodi (Aro ym. 2005, 295). E-koodi on muotoa E-000, missä 000 on juokseva numero, joka annetaan kullekin lisäaineelle erikseen. E-kirjain merkitsee sitä, että Euroopan unioni on arvioinut lisäaineen turvalliseksi ja käyttöön soveltuvaksi. (Evara 2011.)

Lisäaineelle on tehtävä ennen sen hyväksymistä tietyt tutkimukset, joita ovat toksikokinetiikka, subkrooninen toksisuus, krooninen toksisuus ja karsinogeenisuus, lisääntymis- ja kehitystoksisuus sekä genotoksisuus. Nämä tutkimukset suoritetaan yleensä eläinkokein, ja lisätutkimuksia tehdään, mikäli yhdestäkään testistä saatu tulos

on positiivinen. Esimerkkeinä täydentävistä tutkimuksista ovat aineen herkistävyyden, ärsyttävyyden ja neurotoksisuuden selvittely. (Pohjanvirta 2007, 295.)

Tutkimuksissa lisäaineelle määritellään niinsanottu NOAEL-arvo (No Observed Adverse Effect Level) eli maksimikonsentraatio, jolla ei ole havaittu haittavaikutuksia koeorganismissa. Sen avulla aineelle johdetaan turvakerroin, joka vaihtelee 100:n ja 10 000:n välillä, ja ADI-arvo eli Acceptable Daily Intake. Kyseinen arvo kuvaa ainemäärää, joka on todettu elinikäisessä päivittäisessä käytössä turvalliseksi. ADI-arvot eivät ole pysyviä, vaan ne voivat muuttua uusissa toksikologisissa tutkimuksissa saadun tiedon mukaan. (Pohjanvirta 2007, 295–296.)

### **3.1 Aspartaami**

Aspartaami on yleisesti käytetty keinotekoinen makeutusaine. Se keksittiin vuonna 1965, kun G. D. Searle & Companyn alaisuudessa työskennellyt kemisti James M. Schlatter kehitti uutta lääkettä vatsahaavan hoitoa varten. Eräs väliaine lääkkeen valmistuksessa oli aspartyylifenyylialaniinimetyyliesteri. Saatuaan ainetta huomaamatta käsiinsä Schlatter nuolaisi epähuomiossa sormiaan ja havaitsi voimakkaan makean maun. Vakuututtuaan, ettei aine ollut myrkyllistä, hän jatkoi sen tutkimista. (Whitehouse, Boullata & McCauley 2008.) Yhtiö kiinnostui yhdisteen mahdollisista käyttötarkoituksista ja teki useita tutkimuksia selvittääkseen yhdisteen turvallisuutta. Aspartaamin rajattu käyttö hyväksyttiin ensimmäisen kerran vuonna 1974, mutta kliiniset kokeet jatkuivat myös hyväksymisen jälkeen. (Stegink 1987.) Aspartaamin turvallisuus herätti epäilyksiä, mutta niistä huolimatta Yhdysvaltain FDA (Food and Drug Administration) hyväksyi aspartaamin yleisen käytön makeutusaineena vuonna 1981 (Campbell & Farrell 1995, 81).

Aspartaamia käytetään maailmanlaajuisesti yli 6 000 tuotteessa, esimerkiksi light-virvoitusjuomissa, makeisissa, purukumeissa sekä lääkeaineissa. Se on noin 200 kertaa sokeria makeampaa, ja aspartaamia sisältäviä tuotteita käyttää 200 miljoonaa ihmistä ympäri maailman. Aspartaamin E-koodimerkinnäksi on vakiintunut EU-alueella E 951,



ja kaikissa aspartaamia sisältävien tuotteiden tuoteselosteissa on oltava merkintä aspartaamista. (Aspartame Information Center 2011.)

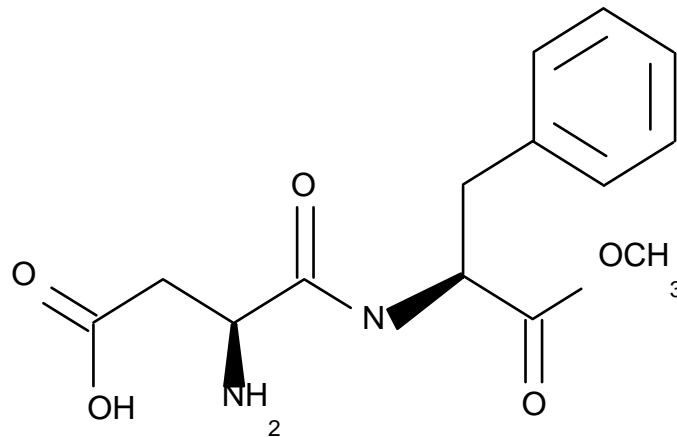
Aspartaamin ADI-annos on Euroopan elintarvikealan tiedekomitea SCF:n (Scientific Committee for Food) mukaan 40 mg painokiloa kohden. ”ADI-arvon perusteella laskien ja olettaen, että juomaan on käytetty suurin sallittu määrä aspartaamia, voi 60 kiloa painava henkilö joka päivä juoda aspartaamilla makeutettu juomaa neljä litraa eli kahdeksan puolen litran pullollista ilman, että ADI-arvo ylittyy.” (Evira 2011.)

Aspartaamin vaikutuksista terveyteen on tehty lukuisia tutkimuksia. Aspartaami koostuu kahdesta ihmiselimestössä esiintyvistä aminohaposta, mutta se hajoaa happamissa oloissa lähtöaineidensa lisäksi myös metanoliksi, joka on tunnetusti myrkyllistä ihmisille. Ennen aspartaamin käytön hyväksymistä Searle teki 11 aspartaamin turvallisuuteen liittyvää koetta. Tosin FDA:n valvontakomitea ei hyväksynyt kaikkia Searlen toiminta- ja tutkimuskäytänteitä. (Stegink 1987.) Aspartaamin käytöllä on epäilty olevan yhteyksiä erilaisten syöpien, muun muassa rinta- ja aivosyöpien sekä leukemioiden, kehittymiseen. Ihmisillä tällaista trendiä ei ole havaittu (Lim, Subar, Mouw, Hartge, Morton, Stolzenberg-Solomon, Campbell, Hollenbeck & Schatzkin 2006). ERF:n (European Ramazzini Foundation) suorittama tutkimus rotilla antoi kuitenkin selviä viitteitä aspartaamin mahdollisista karsinogeenisistä vaikutuksista (Soffritti ym. 2005), joskaan FDA ei ole yhtä mieltä tutkimuksen paikkansapitävyydestä. ERF:n tutkimukset eivät vastanneet FDA:in mukaan Yhdysvaltain hallituksen määräämän toksikologisen aloitteen standardeihin. (Medical News Today 2007.)

### **3.2 Aspartaamin kemiallinen koostumus**

Aspartaami eli aspartyylifenyylialaniinimetyyliesteri on kahden aminohapon, asparagiinihapon ja fenyylialaniinin metyyliesteri. Aspartaamia esiintyy sekä alfa-, että beta-muodossa, joista vain alfa-muoto on makeaa. Aspartaamin kemiallisessa valmistuksessa syntyy kumpaakin isomeeria, jotka erotetaan toisistaan. Entsymaattisella valmistusmenetelmällä saadaan spesifisesti aikaan haluttua alfa-muotoa. Valmis

aspartaami on hajutonta valkeaa jauhetta, joka on erittäin makeaa. (Magnuson ym 2007.) Aspartaamin rakenne on esitetty kuvassa 3.



Kuva 3. Aspartaamin rakenne, (Mukaiillen Stegink 1987).

Aspartaamin hajoamistuotteet elimistössä ovat aspartaatti, fenyylialaniini ja metanoli. Se liukenee hieman veteen ja etanoliin, mutta ei rasvoihin tai öljyihin. Kuivana säilytettynä aspartaami on erittäin stabiilia, mutta hajoaa korkeissa lämpötiloissa ja vesiliuoksissa. Vesiliuoksen hajoamisnopeuteen vaikuttavat sen säilytyslämpötila ja pH. Aspartaamin hajoamistuotteet eivät ole makeita. (Magnuson ym. 2007.)

### 3.3 Aspartaatti

Aspartaatti on yksi aspartaamin hajoamistuotteista. Se on nonessentiaalinen aminohappo. Ihmiselimistö kykenee muodostamaan sitä oksaloasetaatista transaminaatiolla, jossa glutamaatti toimii aminoryhmän luovuttajana. Tarvittava oksaloasetaatti saadaan sitruunahappokierrosta. Aspartaatti on useiden muiden aminohappojen prekursori. Mikäli aspartaattia on ylimäärä, se palautetaan käänteisreaktiolla lähtöaineikseen, eli näin ollen sitruunahappokierto. (Zubay 1998, 576, 626.)

Aspartaatti on eksitatorinen neurotransmitteri eli hermosolujen aktivaatiota lisäävä välittäjäaine, jolla on todettu eksitotoksisia vaikutuksia. Eksitotoksinen yhdiste on hermosoluissa normaalisti esiintyvä yhdiste, joka kuitenkin aiheuttaa korkeina pitoisuuksina hermostovaurioita. (Chamberlin & Brigham 2005, 615–616.) Jos aspartaatin pitoisuus hermosolujen synapseissa on huomattavan korkea, sen eksitotoksiset vaikutukset tulevat esiin, jolloin seurauksena voi olla soluvaurioita (Janssen & van der Heijden 1988).

### **3.4 Fenyylialaniini ja PKU**

Fenyylialaniini on essentiaalinen aminohappo, jota ihmiselimistö ei kykene muodostamaan. Ihmisen on siis saatava fenyylialaniinia ravinnostaan. Aspartaatin tavoin se on muiden aminohappojen, kuten tyrosiinin, prekursori. (Voet & Voet 2011, 1065.)

Fenyyliketonuria (PKU) on geneettinen fenyylialaniinihydroksylaasin puutos, joka aiheuttaa kyvyttömyyden muokata fenyylialaniinia eteenpäin tyrosiiniksi. Tämän vuoksi fenyylialaniinia ja sen metaboliitteja kertyy elimistöön aiheuttaen samalla tyrosiinin puutteen. (Gropper ym 2009, 214.) Ylimääräinen fenyylialaniini transaminoituu fenyylipuryyvaatiksi (Voet & Voet 2011, 1045). Fenyyliketonuria aiheuttaa eriasteisia palautumattomia hermostovaurioita ja asteittain pahenevaa henkistä jälkeenjääneisyyttä, kuten aminohappojen kertymäsairaudet yleensä. Mikäli oireyhtymä todetaan välittömästi syntymän jälkeen ja hoito aloitetaan heti, vakavilta vaurioilta voidaan välttyä. (McKee & McKee 2009, 577.) Fenyyliketonuriaa hoidetaan ruokavaliolla, joka sisältää hyvin vähän proteiinia, tyrosiinilisällä sekä veren fenyylialaniinitason tarkkailulla kymmeneen ikävuoteen asti (Gropper ym 2009, 214; Voet & Voet 2011, 1046). Aspartaami on todistetusti haitallista tätä oireyhtymää sairastaville henkilöille, minkä vuoksi aspartaamia sisältäviin tuotteisiin on lisättävä varoitus fenyylialaniinin lähteestä (Stegink 1987).

## 4 Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelmat

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, muuttuivatko koehenkilöiden veriarvot aspartaamin nauttimisen myötä. Tutkimushypoteesina oli, että merkittävää muutosta ei valituissa veriarvoissa tapahdu.

Opinnäytetyön tutkimusongelmat:

- Vaikuttaako ADI-arvon suuruinen aspartaamin nauttiminen oleellisesti tutkittaviin veriarvoihin?
- Vaikuttaako ADI-arvon suuruinen aspartaamin nauttiminen perusterveiden koehenkilöiden vointiin?

Tutkimushypoteesit:

- H<sub>0</sub>: Aspartaamin nauttiminen ei vaikuta tilastollisesti vähintään melkein merkitsevästi plasman ALAT- arvoon.
- H<sub>0</sub>: Aspartaamin nauttiminen ei vaikuta tilastollisesti vähintään melkein merkitsevästi plasman ASAT-arvoon.
- H<sub>0</sub>: Aspartaamin nauttiminen ei vaikuta tilastollisesti vähintään melkein merkitsevästi plasman Krea-arvoon.
- H<sub>0</sub>: Aspartaamin nauttiminen ei vaikuta tilastollisesti vähintään melkein merkitsevästi plasman Urea-arvoon.
- H<sub>0</sub>: Aspartaamin nauttiminen ei vaikuta tilastollisesti vähintään melkein merkitsevästi pieneen verenkuvaan.

## 5 Tutkimuksen menetelmälliset valinnat

Tehty tutkimus oli kvantitatiivinen. Kaikki saadut tulokset taulukoitiin ja niiden mahdollisia poikkeamia vertailtiin alkuperäisiin arvoihin. Kvantitatiivisessa oppinnäytetyössä tutkitaan saatuja tuloksia tilastollisilla menetelmillä. Jotta tulokset ovat luotettavia, tutkittavia havaintoyksiköitä on oltava riittävän suuri määrä. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkija muuttaa tutkimusongelman kysymyksiksi, joihin hän antaa vastaukset työssään. Tutkimuksen alussa kerätään tarvittava teoriatieto tutkimusongelman ratkaisua varten. (Kananen 2008, 10–15.)

Kvantitatiivinen tutkimus perustuu mittauksiin, joissa mitattavia ominaisuuksia kutsutaan muuttujiksi. Muuttujien saamista arvoista kerätään havaintomatriisi, jota käsitellään tilastollisilla menetelmillä. Mittaaminen tapahtuu käyttämällä mittareita, joiden avulla tilastoyksiköt saavat ominaisuuksiaan vastaavat arvot. Tutkimuksessa tulee määritellä ensin käsitteet, jotta ne voidaan mitata. Tieteellisessä tutkimuksessa kannattaa käyttää ennalta määritettyjä käsitteitä ja mittareita, jotta tulokset ovat vertailukelpoisia keskenään. (Kananen 2008, 16–18.)

Tilastollisissa tutkimuksissa pyritään selvittämään, pitävätkö perusjoukolle asetetut ennako-oletukset, eli hypoteesit, paikkansa. Tutkimukselle asetettavat hypoteesit saadaan kokemuksen ja teorian pohjalta. Saatavien tulosten pohjalta perusteella tutkitaan, ovatko mahdolliset erot tilastollisesti merkitseviä vai sattumasta johtuvia. Tutkimuksessa esitetään nollahypoteesi,  $H_0$ , joka ilmaisee, että tuloksien keskiarvojen välillä ei ole eroa. Lisäksi esitetään vastahypoteesi, joka esittää, että tuloksien keskiarvojen välillä on eroa. Mikäli testissä saadaan pieni merkitsevyystaso, eli p-arvo, jolloin virhepäätelmän mahdollisuus on pieni,  $H_0$  voidaan hylätä. Yleisesti käytetty riskiraja on viisi prosenttia. Näin ollen yli yhden, mutta alle viiden prosentin merkitsevyystason voidaan sanoa olevan tilastollisesti melkein merkitseviä. (Karjalainen 2010, 219 – 221.)

Tutkimuksen otoskoko tarkoittaa tutkittavien arvojen muodostamaa joukkoa. Tilastollisessa tutkimuksessa otoskoko vaikuttaa tutkimuksen luotettavuuteen. Yleisesti

ottaen suuremman otoskoon oletetaan lisäävän luotettavuutta. Otoskoon kasvaessa myös kustannukset lisääntyvät. Otoskoon lisääminen kasvattaa tuloksien luotettavuutta voimakkaasti alussa, mutta tietyn rajan jälkeen tarkkuus ei enää kasva kovinkaan paljoa. (Kananen 2008, 70–72.)

Tutkimusmenetelmäksi valittiin ennen – jälkeen tutkimus, jossa kultakin koehenkilöltä mitattiin tutkittavat veriarvot ennen ja jälkeen aspartaamin nauttimisen. Saatuja tuloksia verrattiin toisiinsa ja näiden perusteella laskettiin tunnusluvut kullekin veriarvolle. Kyseiseen tutkimusmenetelmään päädyttiin otoskoon pienuuden (seitsemän koehenkilöä) vuoksi. Näin pienellä koehenkilömäärällä ei voitu suorittaa luotettavasti klassista koeasetelmaa, jossa on erillinen kontrolliryhmä koehenkilöryhmän ohella, luotettavasti. Aspartaamin nauttimista ennen ja jälkeen tilanteiden välisenä aikana kutsutaan interventioksi. Kaikkia muutoksia tuloksissa ei kuitenkaan voida lukea intervention aiheuttamiksi. Väliaikaiset vaikutukset, mittauksen vaikutukset ja regressio keskiarvoa kohti aiheuttavat myös muutoksia tuloksiin. Väliaikaiset vaikutukset tarkoittavat normaaleja ajasta johtuvia muutoksia intervention aikana. Mittaamistekniikoissa voi olla epätarkkuuksia, jotka osaltaan vaikuttavat tuloksiin. Regressio keskiarvoa kohti tapahtuu mitattavilla suureilla, kun niitä mitataan useammin kuin yhden kerran. Tällöin suuret ja pienet arvot lähestyvät mittauksien keskiarvoa. (Nelson, Dumville & Torgerson 2010, 201 – 203.)

## **6 Tutkimus ja sen toteutus**

Koehenkilöiksi tutkimukseen haettiin täysi-ikäisiä ja perusterveitä henkilöitä. Koehenkilöille ei asetettu varsinaista yläikärajaa, mutta kaikki kokeeseen osallistuneet olivat alle 40-vuotiaita. Myöskään koehenkilöiden sukupuolelle ei asetettu vaatimusta, mutta seitsemästä koehenkilöstä kuusi oli naisia. Tutkimuksen koehenkilöt olivat luokkatovereita ja sukulaisia, joilta kysyttiin joko henkilökohtaisesti tai puhelimitse halukkuutta osallistua tutkimukseen.

## 6.1 Tutkimuksen kuvaus

Tehtävä tutkimus oli kliininen, vapaaehtoisilla koehenkilöillä tehtävä koe. Tarkoituksena oli tutkia, kuinka lyhyellä ajanjaksolla tapahtuva säännöllinen aspartaamin nauttiminen vaikuttaa tiettyihin veriarvoihin. Tutkimuskohde valittiin sen perusteella, että haluttiin tutkia kiinnostavaa asiaa henkilökohtaisesti, ja verrata tuloksia muihin tutkimuksiin. Tutkimukseen valittiin neljä plasmasta ja kaksi kokoverestä mitattavaa parametriä, jotka kuvaavat eri elinten toimintaa. Valitut parametrit olivat plasman alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT), plasman aspartaattiaminotransferaasi (P-ASAT), plasman kreatiniini (P-Krea), plasman urea (P-Urea), perusverenkuva (B-PVK) sekä valkosolujen mikroskooppinen erittelylaskenta (Diffi). Liitteessä 1 on valittujen tutkimusparametrien viitearvot sekä lisätietoa niiden merkityksestä.

P-ALAT- ja P-ASAT -arvot valittiin tutkimukseen sen vuoksi, että ne kuvastavat melko spesifisesti maksan tilaa. Koska aminohappojen ja metanolin hajotus tapahtuu pääasiallisesti maksassa, voidaan olettaa, että ylimääräinen aspartaamiannos saattaa vaikuttaa tähän arvoon, mikäli maksa pääsee rasittumaan liikaa. P-Krea -arvo on munuaisspesifinen. Koska aspartaamin hajoamistuotteet erittyvät pääasiallisesti munuaisten kautta, oli kiintoisaa tutkia, miten ylimääräinen aspartaami vaikuttaa munuaisfunktioon.

P-Urea-arvo valittiin tutkimukseen siksi, että urea on aminohappojen hajoamistuote. Tutkimuksessa haluttiin seurata ylimääräisen aminohappojen saannin vaikutusta plasman ureapitoisuuteen. B-PVK ja B-Diffi valittiin tutkimukseen, koska haluttiin tutkia aspartaamin saannin vaikutusta verisolujen morfologiaan.

## 6.2 Esitestaus

Ennen varsinaisen tutkimuksen suorittamista on suositeltavaa testata valitut menetelmät etukäteen, jotta voidaan arvioida niiden soveltuvuutta tutkimuksen tarpeisiin.

Esitestauksen aikana voi ilmetä seikkoja, joiden perusteella voidaan arvioida valittujen tutkimus- ja tiedonkeruumenetelmien toimivuutta. (Lacey 2010, 22–23.)

Tutkimuksen esitestaus suoritettiin 2.3.2012 ja 14.3.2012. Tarkoituksena oli testata tutkimuksessa käytettävien laitteiden sekä MGG-värjäyksen toimivuutta sekä ratkaista käytännön ongelmia liittyen aspartaamin nauttimiseen. Esitestaus suoritettiin Konelab-analysaattorilla ja Sysmex-analysaattorilla kunkin laitteen käyttöohjeiden mukaan käyttäen kullekin laitteelle hyväksytyjä reagensseja ja laaduntarkkailu- eli kontrollinäytteitä. MGG-värjäyksen kohdalla käytettiin viimeisintä voimassaolevaa värjäysohjetta.

Konelab-analysaattoria varten liuotettiin laaduntarkkailu- eli kontrollinäytteet Abtrol ja Nortrol sekä vakio sCal. Liuotetut kontrollit jaettiin 1,5ml:n Eppendorf-putkiin, jotka pakastettiin myöhempää käyttöä varten esitestauksessa käytettyjä kontrolleja lukuunottamatta. Näytteiden pakastaminen paransi niiden säilyvyyttä. Alaniiniaminotransferaasin ja aspartaattiaminotransferaasin osalta menetelmät kontrolloitiin, ja kontrollit olivat viiterajoissa. Kreatiniini- ja ureamääritysmenetelmien kohdalla vakiointi oli vanhentunut, joten ne vakioitiin. Vakiointi onnistui kummallakin menetelmällä. Kontrollinäytteet edellämäinnittujen menetelmien tapauksissa jouduttiin analysoimaan potilasnäytteinä, koska käyttämiämme kontrolleja ei oltu määritelty analysaattorille. Tulokset jouduttiin tässä tapauksessa tarkastamaan manuaalisesti. Varsinaisen tutkimuksen alkaessa kontrollit oli kuitenkin määritelty, joten ne voitiin analysoida normaaliin tapaan.

Kalibrointi tarkoittaa käytettävän tutkimuslaitteiston säätämistä siten, että laitteiston antamat numeeriset mittaustulokset ovat mahdollisimman oikeellisia (Oxford Dictionaries 2012). Tässä tapauksessa kalibrointiin käytettiin vakionäytettä sCal, jonka pitoisuus mitattavien analyyttien kohdalta tunnetaan.

Kontrollinäytteet sisältävät tunnetun pitoisuuden tutkittavaa ainetta. Yleensä käytetään sekä pitoisuudeltaan normaalia (Nortrol) että epänormaalia (Abtrol) kontrollia. Näin voidaan varmistaa, että analyysi toimii toivotulla tavalla. Vakio on mittaustandardia, jota käytetään kalibraatiossa. (Barwick & Prichard 2011, 10–11.)



Konelab-analysointia varten oli tilattu uudet reagenssit P-ASAT-, P-Krea- ja P-Urea-määrityksiä varten. P-ALAT-määritys päätettiin tehdä vanhentuneella reagenssilla, kun asiasta oli keskusteltu ohjaajan kanssa. Vanhentuneen reagenssin käyttö perusteltiin sillä, että kyseinen reagenssi ei sisällä helposti muuttuvia yhdisteitä kuten entsyymejä ja on siten melko stabiilia. Myös kontrollinäytteen tulokset olivat viiterajoissa.

Sysmex-analysointiin vaihdettiin ennen käyttöönottoa ja kontrollointia kolme uutta reagenssia vanhentuneiden tilalle. Laitteella analysoitiin tämän jälkeen E-Check -kontrolli. E-Check -kontrollin viimeinen käyttöpäivä oli 19.2.2012, ja kontrollipullo oli ollut avattuna 24.2.2012 asti. Ohjaajaa konsultoiduttua päätettiin kuitenkin käyttää kyseistä kontrollia tästä huolimatta. Kontrollin tulos oli hyväksyttävissä rajoissa.

MGG-värjäyksen kontrollointi suoritettiin 14.3.2012 oppilaitoksen ohjeen mukaan. Värjäystulos todettiin hyväksi. Samana päivänä kontrolloitiin myös Sysmex-analysointia ja kontrollin tulos oli hyväksyttävissä rajoissa.

Kaikki esitestauksessa käytetyt reagenssit ja menetelmät ovat samoja kuin varsinaisessa tutkimuksessa käytetyt. Analysointia kontrolloitiin ennen käyttöönottoa kumpanakin koepäivänä (16.3. ja 30.3.). Konelab-analysointimenetelmien laaduntarkkailussa käytettiin 2.3. liuotettuja ja pakastettuja kontrollinäytteitä, jotka sulatettiin ennen käyttöä. Sysmex-analysointilaitteelle avattiin 16.3. uusi kontrollipullo, jota käytettiin analysointia kontrollointiin kumpanakin koepäivänä. Uusi kontrollipullo kuului samaan erään kuin edellinen, joten kontrollin tiedot eivät muuttuneet.

### **6.3 Tutkimuksen toteutus**

Tutkimus toteutettiin kaksivaiheisena, ja sen kesto oli yhteensä kolme viikkoa (21 päivää). Valitut koehenkilöt nauttivat turvalliseksi todetun määrän (40 mg/kg) aspartaamiannoksen päivittäin kahden viikon ajan, ja heistä otettiin verinäytteet ennen aspartaamin nauttimisen aloitusta sekä kahden viikon aspartaamin nauttimisen jälkeen.

Tutkimuksen toteutus tapahtui Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun kemian laboratoriossa, jonka tiloissa käytetyt laitteet ja muu välineistö sijaitsivat.

Tutkimuksen ensimmäinen vaihe käynnistyi 9.3.2012 info-tilaisuudella. Kaikki koehenkilöt eivät päässeet osallistumaan infotilaisuuteen, joten heille toimitettiin tarvittava informaatio joko sähköpostitse tai henkilökohtaisesti. Info-tilaisuudessa koehenkilöille esiteltiin tutkimuksen kulku sekä annettiin ohjeet, kuinka toimia tutkimuksen aikana. Paikalla olleet koehenkilöt myös punnittiin. Poissaolevat koehenkilöt ohjeistettiin punnitsemaan itsensä mahdollisimman luotettavalla vaa'alla ja toimittamaan tuloksen tutkijoille. Koehenkilöiden aspartaamiannokset vuorokautta kohti laskettiin punnitustulosten mukaan. Paikallaoleville koehenkilöille jaettiin aloituspäivänä kaksi informaatiolomaketta (liitteet 5 ja 6), joissa kerrottiin tutkimuksen kulku, ohjeet kuinka tutkimuksen aikana tulee menetellä, sekä tutkimuksen aikana vältettävät elintarvikkeet. He myös allekirjoittivat sopimuksen, jossa vakuuttivat ymmärtävänsä osallistumisehdot. Poissaoleville koehenkilöille toimitettiin samat lomakkeet ja he allekirjoittivat sopimuksen saapuessaan ensimmäiseen näytteenottotilaisuuteen 16.3. Koehenkilöiden tuli ensimmäisen viikon ajan, 9.–16.3., välttää aspartaamia sisältäviä tuotteita sekä alkoholia. Koehenkilöille asetetut vaatimukset ovat esitetty liitteessä 2.

Tutkimuksen toinen vaihe käynnistyi viikon kuluttua infotilaisuudesta 16.3.2012. Tällöin koehenkilöistä otettiin ensimmäiset verikokeet, niinsanotut 0-näytteet. Näytteet otettiin kolmeen näyteputkeen. Koehenkilöt saapuivat näytteenottoon milloin heille itselleen sopi, klo 10.00–18.00. Näytteenoton jälkeen koehenkilöille jaettiin punnitusten tulosten mukaan laskettu määrä aspartaamia päivittäisannoksina, jotka heidän tuli nauttia seuraavan kahden viikon ajan. Tutkimuksessa käytettiin Canderel-makeutusainetta, jonka pääasiallinen ainesosa oli aspartaami. Makeutusaine oli tablettimuodossa, ja se jaettiin folioon pakattuina päivittäisannoksina. Parhaaksi makeutusaineen nauttimismuodoksi havaittiin tablettien nieleminen yhdessä tai kahdessa annoksessa runsaan vesimäärän kera.

Tutkimus päättyi 30.3.2012. Tällöin koehenkilöiltä otettiin toiset verikokeet samalla käytänteellä kuin ensimmäisenä koepäivänä. Tämän jälkeen tutkimus oli

koehenkilöiden osalta ohi. Koehenkilöt täyttivät myös lomakkeen (liite 7), jolla kartoitettiin kokeen aikana mahdollisesti ilmenneitä sivuvaikutuksia.

Koehenkilöistä otettavien näytteiden merkitsemisessä käytettiin seuraavanlaista merkintätapaa: H(n)N(m)

H= lyhenne sanasta ”koehenkilö”

(n) = juokseva numero alkaen (n) = 1, kuvastaa koehenkilön numeroa

N = lyhenne sanasta ”näyte”

(m) = 1 tai 2, kuvastaa näytteen numeroa.

Yllä kuvattu merkintätapa oli valittu siten, että koehenkilöiden identiteettisuoja säilyi.

Kunkin koehenkilön näytteet otettiin kumpanakin koepäivänä laskimoverinäytteinä kahteen litiumhepariini- ja yhteen K2 -EDTA -putkeen. Litiumhepariiniputkiin otettiin KoneLab-analysaattorilla analysoitavat näytteet ja EDTA-putkeen Sysmex-analysaattorilla analysoitavat näytteet. Litiumhepariiniputket sentrifugoitiin mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, ja toisesta putkesta eroteltu plasma pakastettiin mahdollisten laiteongelmien varalta. EDTA-putkeen otetut näytteet analysoitiin kokoverenä mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, ja niistä tehtiin kaksi sivelyvalmistetta yhtä koehenkilöä kohden. Näytteiden kemiallinen analysoiminen (P-ALAT, P-ASAT, P-Krea, P-Urea) suoritettiin KoneLab -analysaattorilla ja hematologinen analysoiminen Sysmex -analysaattorilla (B-PVK) sekä mikroskoopeilla (Diffi).

Hematologiset tutkimukset pyrittiin suorittamaan mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, jotta tulokset olisivat mahdollisimman luotettavia. Sivelyvalmisteet tehtiin näytteenottopäivänä. Ensimmäisenä varsinaisena koepäivänä 16.3. sivelyvalmisteet pystyttiin värjäämään samana päivänä, mutta viimeisenä koepäivänä värjäyksessä tarvittavaa metanolia ei ollut saatavilla. Koevärjäys suoritettiin ilman metanolikiinnitystä, mutta värjäystulos ei ollut tyydyttävä. Tämän vuoksi 30.3. tehdyt sivelyvalmisteet värjättiin 2.4.2012 Lappeenrannan klinisen kemian ja hematologian laboratoriossa työntekijöiden suostumuksella. Sivelyvalmisteiden analysointi mikroskoopilla suoritettiin saman laboratorion tiloissa 3.4.

Kokeen aikana pidettiin laboratoriopäiväkirjaa, johon kirjattiin kaikki työsuoritukset, kontrolli- ja reagenssitiedot, mahdolliset poikkeavuudet käytänteissä sekä muut huomionarvoiset asiat. Analyysien tulokset koottiin erilliseen kansioon.

## 7 Tutkimuksen tulokset

Tutkimuksessa kerättiin aineistoa sekä numeerisessa että kirjallisessa muodossa. Numeeriset tulokset ovat analysaattorien ilmoittamia mittaustuloksia. Kirjalliset tulokset kerättiin koehenkilöiden täyttämän lomakkeen (liite 7) perusteella. Tarkasteltaessa numeerista aineistoa kunkin tutkimusparametrin viitearvojen (liite 1) suhteen voitiin todeta, että kaikkien koehenkilöiden arvot olivat viitearvojen sisällä sekä 0- että 1-näytteiden kohdalla.

Tutkimuksessa kerättyjen numeeristen tulosten analysoinnissa käytettiin tilastollisia tunnuslukuja. Valitut tunnusluvut ovat keskiarvo, mediaani, keskihajonta, variaatiokerroin ja keskiarvon keskivirhe. Keskiarvo lasketaan jakamalla käytettyjen muuttujien arvojen summa niiden lukumäärällä. Mediaani on arvohavaintojen keskikohta, jota suurempia tai yhtä suuria puolet havainnoista on. Näin ollen puolet havainnoista on myös pienempiä. Keskihajonta kuvaa havaintojen poikkeamaa keskiarvoista. Se on tärkein ja käytetyin tunnusluku. Variaatiokerroin lasketaan keskihajonnan ja keskiarvon suhteenä. Yleisimmin se ilmaistaan prosenttilukuna. Keskiarvon keskivirhe on otoskeskiarvojen keskivirhe. (Karjalainen 2010, 87 - 103.)

Tutkimustuloksille tehtiin myös parittainen t-testi. Testillä voidaan selvittää, onko kahdella toisistaan riippuvien ryhmien keskiarvoilla riippuvuutta. Tyypillinen esimerkki parittaisesta t-testistä on samoista tilastoyksiköistä tehty mittaus ennen ja jälkeen hoitajakson. T-testin antaman p-arvon perusteella voidaan tehdä johtopäätökset tutkimushypoteesien toteutumisesta. (Karjalainen 2010, 230 – 231.)

Tutkimuksessa kerätystä aineistosta laskettiin tunnusluvut kullekin veriarvolle, 0- ja 1-näytteille erikseen, minkä jälkeen tunnuslukuja vertailtiin 0- ja 1-näytteiden välillä. Tuloksista laskettiin myös kunkin tutkimusparametrin tulosten keskiarvon prosentuaalinen muutos 0- ja 1-näytteiden välillä. Tilastollisessa analysoinnissa käytettiin Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmaa.

## 7.1 Kemiallisten määritysten tulokset

P-ALAT- ja P-ASAT-arvot ilmoitetaan entsyymiaktiivisuusyksikköinä U/l. Kreatiniiniarvo ilmoitetaan mikromoleina litraa kohden ja Urea-arvo millimoleina litraa kohden.

Taulukko 1. Tilastolliset tunnusluvut P-ALAT-, P-ASAT-, P-Krea- ja P-Urea-määritysten tuloksista

	Keskiarvo		Mediaani		Keskihajonta		Variaatiokerroin		Keskiarvon keskivirhe	
	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte
P-ALAT	23,3	22,4	14,0	20,0	18,5	16,5	79,4	73,7	9,2	8,3
P-ASAT	20,3	20,3	19,0	20,0	7,2	6,8	35,6	33,3	3,6	3,4
P-Krea	86,9	86,4	89,0	88,0	13,3	11,7	15,3	13,5	6,6	5,8
P-Urea	5,7	5,0	5,5	5,0	1,8	1,3	31,8	25,4	0,9	0,6

Taulukko 2. P-ALAT-, P-ASAT-, P-Krea-, ja P-Urea-määritysten tulosten prosentuaalinen muutos 0-näytteen ja 1-näytteen välillä.

P-ALAT	P-ASAT	P-Krea	P-Urea
-3,9	0	-0,6	-12,3

## 7.2 Perusveren kuvan ja valkosolujen erittelylaskennan tulokset

Perusveren kuvaan kuuluu useita erilaisia parametrejä. Tähän tutkimukseen valitut parametrit ovat valkosolujen kokonaismäärä (WBC,  $10^9$  kpl/l), punasolujen kokonaismäärä (RBC,  $10^{12}$  kpl/l), hemoglobiini (HGB, g/l), hematokriitti eli punasolujen osuus veren tilavuudesta (HCT, prosentteina), punasolujen keskitilavuus (MCV, fl), punasolujen keskihemoglobiini (MCH, pg), punasolujen keskimassakonsentraatio (MCHC, g/l) ja verihiutaleiden kokonaismäärä (PLT,  $10^9$  kpl/l).

Taulukko 3. Tilastolliset tunnusluvut B-PVK-määrityksen tuloksille.

	Keskiarvo		Mediaani		Keskiahajonta		Variaatiokerroin		Keskiarvon keskivirhe	
	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte
WBC	7,7	6,9	7,7	7,3	1,8	2,0	24,0	28,5	0,7	0,7
RBC	4,6	4,6	4,5	4,5	0,4	0,3	8,9	7,5	0,1	0,1
HGB	136,0	138,4	134,0	137,0	5,1	4,9	3,8	3,6	1,8	1,7
HCT	40,8	41,3	39,9	40,8	2,2	1,9	5,3	4,6	0,8	0,7
MCV	89,3	89,4	91,1	91,3	3,4	3,4	3,8	3,9	1,2	1,2
MCH	29,8	30,0	30,3	30,5	1,4	1,2	4,7	4,1	0,5	0,4
MCHC	334,0	335,0	336,0	336,0	5,9	6,6	1,8	2,0	2,1	2,3
PLT	279,0	280,4	266,0	286,0	32,6	22,6	11,7	8,1	11,5	8,0

Taulukko 4. B-PVK-määrityksen tulosten prosentuaalinen muutos 0- ja 1-näytteen välillä.

WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT
-10,4	0	1,8	1,2	0,1	0,7	0,3	0,5

Sivelyvalmisteista suoritettiin valkosolujen erittelylaskenta, eli kustakin valmisteesta laskettiin sata solua ja ne samalla eriteltiin eri valkosolutyyppeihin. Kunkin valkosolutyypin prosentuaalinen osuus oli siis yhtä suuri kuin valkosolutyypin määrä sataa solua kohden. Sivelyvalmisteista etsittiin myös normaalista poikkeavia valkosoluja, mutta yhdestäkään valmisteesta ei tällaisia löytynyt.

Taulukko 5. Tilastolliset tunnusluvut valkosolujen erittelylaskennan tuloksille.

	Keskiarvo		Mediaani		Keskiahajonta		Variaatiokerroin		Keskiarvon keskivirhe	
	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte	0-näyte	1-näyte
Neut%	50,4	52,3	50,0	55,0	8,0	6,3	15,9	12,0	3,6	2,8
Lymf%	41,1	39,3	42,0	37,0	5,1	4,2	12,4	10,7	2,3	1,9
Mono%	5,6	5,4	7,0	6,0	3,3	2,9	58,5	54,1	1,5	1,3
Bas%	1,1	0,3	1,0	0,0	0,9	0,5	78,7	170,8	0,4	0,2
Eos%	1,7	2,7	1,0	2,0	2,4	3,4	141,7	123,5	1,1	1,5

Taulukko 6: Valkosolujen erittelylaskennan tulosten prosentuaalinen muutos 0- ja 1-näytteen välillä.

Neut%	Lymf%	Mono%	Bas%	Eos%
3,8	-5,1	-3,6	-72,7	58,8

### 7.3 Parittaisen t-testin tulokset

Taulukossa 7 on esitetty parittaisen t-testin tulokset tärkeimmistä tutkimusparametreista. Taulukosta huomataan, että merkittävyystaso on kaikkien parametrien kohdalla yli 0,05.

Taulukko 7. Parittaisen t-testin tulokset.

	T-testien tulokset
ALAT	0,93
ASAT	1,00
KREA	0,95
UREA	0,43
WBC	0,61
RBC	0,79
HGB	0,38
HCT	0,62
MCV	0,90
MCH	0,83
MCHC	0,46
PLT	0,93

Koehenkilöt täyttivät lomakkeen, jossa kysyttiin, oliko koehenkilöillä esiintynyt tavallista enemmän tiettyjä oireita kokeen toisen vaiheen aikana. Lomakkeessa esitetyt oireet ovat yleisluontoisia. Seitsemästä koehenkilöstä neljä raportoi kokeen aikana esiintyneen tavallista enemmän vatsaoireita, kuten ilmavaivoja, ripulia ja närästystä. Neljä koehenkilöä raportoi lisääntyneestä janontunteesta kokeen aikana. Päänsärkyä, lisääntynttä makeanhimoa ja huonovointisuutta esiintyi kutakin yhdellä koehenkilöllä. Yhdellä koehenkilöllä esiintyi käsien vapinaa, mikä luokiteltiin neurologisiin oireisiin. Iho-oireita, lihaskramppeja ja mielialan vaihteluita ei esiintynyt. Muita koehenkilöiden raportoimia oireita olivat tavallista runsaammat nivelkivut, ruokahaluttomuus sekä epämiellyttävä maku suussa.

## **8 Johtopäätökset ja pohdinta**

Määritettyjen veriarvojen tuloksista laskettujen tunnuslukujen tarkastelussa täytyy ottaa huomioon parametrikohdaisen aineiston yksittäisten tulosten vaihteluvälit sekä mittayksiköt, joina tulokset on ilmoitettu. Joidenkin parametrien kohdalla variaatiokerroin on huomattavan suuri, johtuen suurista vaihteluväleistä. Parhaan kuvan arvojen muutoksista antavat kullekin parametrille laskettu prosentuaalinen muutos 0-näytteen ja 1-näytteen välillä.

### **8.1 Johtopäätökset**

Kun tarkastellaan kemiallisten määritysten tulosten prosentuaalisia muutoksia 0- ja 1-näytteiden välillä huomataan, että ne eivät ole kovin suuria. Esimerkiksi P-ALAT-arvon kohdalla muutos on -3,9 prosenttia, mikä on viitearvot huomioon ottaen varsin pieni muutos. Suurin prosentuaalinen muutos tapahtui P-Urea-arvon kohdalla: tulokset olivat keskimäärin 12,3 prosenttia pienemmät kokeen päättyessä verrattuna kokeen alkuun.



Verenkuvaa tarkasteltaessa on huomioitava, että valkosolujen (WBC) ja verihiutaleiden (PLT) kokonaismäärät voivat olla yksilöiden välillä hyvinkin erilaiset. Näiden arvojen suuri vaihteluväli näkyy kyseisten parametrien tapauksissa keskihajonnan sekä variaatiokertoimen suuruudessa. PLT-arvon prosentuaalinen muutos 0- ja 1-näytteen välillä ei kuitenkaan ole kovin suuri, 0,5 prosenttia. WBC-arvon muutos on melko suuri, -10,4 prosenttia. Tämä selittyy sillä, että yksilöiden PLT-arvo on perusterveillä henkilöillä suhteellisen vakio, kun taas WBC-arvo vaihtelee suurestikin elimistön tilasta riippuen.

Valkosolujen erittelylaskennassa painotettiin valkosolujen prosentuaalisten suhteiden sijaan valkosolumorfologiaa. Kuten aiemmin on jo todettu, koehenkilöiden valkosolumorfologiassa ei esiintynyt muutoksia.

Eri valkosolutyyppeiden prosentuaalinen osuus vaihtelee yksilöiden välillä suurestikin, joten erittelylaskennan tulosten vaihteluvälit olivat melko suuria. Basofiilien ja eosinofiilien kohdalla variaatiokertoimet ovat hämäävän suuria, mikä johtuu kyseisten valkosolutyyppeiden suhteellisen pienistä kokonaisuuksista. Tämän vuoksi myös prosentuaaliset muutokset ovat huomattavan suuria, mutta eivät merkittäviä.

Parittaisen t-testin tulos on melkein merkittävä, mikäli saatu arvo on alle 0,05. Näin ollen parittaisen t-testin tulosten perusteella nollahypoteesit voidaan hyväksyä kullekin veriarvolle.

## **8.2 Pohdinta ja jatkotutkimusaiheet**

Tutkimuksessa saadut tulokset eivät anna viitteitä siitä, että aspartaamin nauttiminen suurina annoksina vaikuttaa merkittävästi valittuihin veriarvoihin. Tämän vuoksi nollahypoteesit voidaan hyväksyä.

Tutkimuksen otoskoko on pieni, mikä heikentää yleistettävyyttä. Tutkimuksessa päädyttiin käyttämään vanhentunutta E-Check-kontrollia sekä vanhentunutta P-ALAT-

reagenssia, sillä ohjaajien kanssa käydyn keskustelun perusteella näin voitiin menetellä. Kontrollinäytteiden tulokset olivat kummallakin menetelmällä viiterajoissa.

Mahdollisia jatkotutkimusaiheita on esimerkiksi tutkimus samantapaisella tutkimusasetelmalla mutta useammalla koehenkilöllä. Myös aspartaamialistuksen kestoä voi pidentää. Tutkimukseen oli alunperin tarkoitus sisällyttää myös P-Alko – tutkimus, joka jouduttiin jättämään pois resurssien ja rahoituksen puutteen vuoksi. Olisi kuitenkin mielekästä tutkia aspartaamin vaikutusta veren metanolipitoisuuteen.

## **9 Tutkimuksen luotettavuus ja eettisyys**

Luotettavuudella tarkoitetaan sitä, että informaatio on perusteltavissa kriittisesti. Kriittisyys tarkoittaa käytettyjen menetelmien arviointia, joita tutkimuksessa käytetään. Mikäli tutkija ei kykene pysty tuottamaan perusteltua informaatiota, tutkimukselle asetetut päämäärät eivät toteudu. (Karjalainen, Launis, Pelkonen & Pietarinen 2002, 59.) Tutkijan ammattietiikan mukaan tutkimukselle on oleellista, että tutkimus on avointa ja rehellistä. Lisäksi tutkimuksen tulokset tulee olla todennattavissa ja toistettavissa. (Simonsuuri-Sorsa 2002, 119.)

### **9.1 Luotettavuus**

Tutkimuksen luotettavuutta ja tulosten yleistettävyyttä rajoittavat kokeen lyhyt kesto, koehenkilöiden mahdolliset terveydentilan muutokset kokeen aikana sekä koehenkilöiden motivaatio ohjeiden noudattamiseen. Aiemmat tutkimukset on suoritettu pääasiassa eläinkokein ja huomattavan erilaisilla ajanjaksoilla ja annostuksilla. Ihmisistä kerättyä aineistoa löytyy vähän, ja tutkimukset ovat usein makeutusaineita valmistavien yhtiöiden rahoittamia. Ongelmana on tutkimusaineiston arvioiminen siten, että mukaan otetaan vain tieteelliset kriteerit täyttävät tutkimukset.

Tutkimuksen päätyttyä tulokset ja niiden luotettavuus arvioidaan kriittisesti. Lisäksi pohditaan myös käytettyjen tutkimuksellisten menetelmien soveltuvuutta juuri tämänlaiseen tutkimukseen.

Tutkimusmenetelmän reliabiliteetilla tarkoitetaan menetelmän toistettavuutta ja sen kykyä antaa mahdollisimman oikeellisia tuloksia. Teoriassa reliabiliteetilla mittausten menetelmällä saadut tulokset eivät siis vaihtelee eri mittauskertojen välillä. Reliabiliteettia voidaan mitata rinnakkaismittauksilla ja toistomittauksilla, sekä mittarin sisäisen konsistenssin avulla. (Metsämuuronen 2005, 64–67.)

Preanalytiikka, eli näytteenotto ja näytteenkäsittely ovat osa bioanalytiikan koulutusta, joten tutkimuksen tekijät osivat ottaa ja jatkokäsitellä näytteet siten, että niiden laatu säilyi. Käyttävät laitekontrollit liuotettiin ja säilytettiin oikeaoppisesti, ja liuotuksen suoritti mahdollisuuksien mukaan sama henkilö. Näin vältettiin erilaisesta pipetointikäsi-alasta johtuvat eroavaisuudet.

Yksinkertaisesti ilmaistuna validiteetti tarkoittaa sitä, että tutkimuksessa käytetyt menetelmät ja mittauslaitteistot mittaavat juuri sitä asiaa, mitä on tarkoituskin. Validiteetti on siis otettava huomioon koko tutkimuksen ajan. (Alkula, Pöntinen, & Ylöstalo 1995, 89–90.) Validiteetin käsite jaetaan kahteen osaan, sisäiseen ja ulkoiseen validiteettiin. Sisäinen validiteetti käsittää tutkimuksen oman luotettavuuden, ulkoinen validiteetti tutkimuksen yleistettävyyden. Tutkimuksen validiteettiin vaikuttavat tutkimusasetelma, käsitteiden muodostus, teorian johtaminen sekä otanta. (Metsämuuronen 2005, 57.)

Tutkimushypoteesi on otettu huomioon tutkimusparametrien valinnassa. Tärkein valintaperuste on ollut parametrin yhteys tutkittavan aineen metaboliaan. Koska koehenkilömäärä on pieni eikä verrokkiryhmiä ole, yleistettävyys ei ole paras mahdollinen.

## 9.2 Eettisyys

Tutkijan tulee noudattaa hyvää tieteellistä käytäntöä, joka pitää sisällään säädettyjen lakien, kansainvälisten sopimuksien ja eettisten ohjeiden ja toimintatapojen noudattamista. Tämä ei tarkoita pelkästään tutkijan vilpittömyyttä, vaan koko prosessin laatua aina ideasta valmiin tutkimuksen julkaisuun. (Pelkonen 2002, 127.) Tutkimuksemme etiikkaa ajatellen tulokset vaikuttavat osaltaan tutkimuksen eettisyyteen, kuin myös tutkijoiden omat ennakkokäsitykset tutkimuksen kulusta.

Tutkimuksessa käytettävä aine (aspartaami) on maailmanlaajuisesti hyväksytty elintarvikkeiden lisäaine. Vaikka aspartaamin vaikutuksesta tehdyistä tutkimuksista on saatu viitteitä sen mahdollisesta haitallisuudesta, voidaan olettaa, että kohtuullisesti nautittuna siitä ei ole koehenkilöille välitöntä hengenvaaraa. Ennen varsinaista tutkimusta suoritetaan esitestaus, jolla selvitetään mahdollisten yllättävien haittavaikutusten esiintyvyyttä perusterveellä yksilöllä.

Tutkimuksessa pyritään välttämään aikaisempien tutkimusten vähättelyä, sekä noudattamaan hyvää tieteellistä käytäntöä ottamalla huomioon kaikki tutkimustulokset sekä raportoimaan ja arkistoimaan saadut tulokset niin, etteivät ne johda lukijoita harhaan. Näin voidaan vähentää tutkijoiden mahdollista puolueellisuutta tutkittavan asian suhteen. (Tuomi 2007, 143–146.)

Tieteelliseen tutkimukseen saattaa osallistua jopa tuhansia tutkimushenkilöitä. Vaikka heidät kuvataan raporteissa yhtenä joukkona ja merkkeinä on muistettava, että kukin heistä on yksilö. Jokaisella on oltava oma valta päättää tutkimukseen osallistumisesta, eikä ketään voi velvoittaa tutkimukseen, oli tutkittava tieto miten tärkeää tahansa. Kun sovitaan tutkimukseen osallistumisesta kukin osapuoli sitoutuu noudattamaan yhdessä sovittuja toimintatapoja, mutta koehenkilöllä on oikeus kieltäytyä tutkimuksen jatkumisesta hänen osaltaan missä tutkimuksen vaiheessa tahansa. (Pelkonen 2002, 129.)

Tässä tutkimuksessa käytetyt koehenkilöt olivat täysi-ikäisiä, perusterveitä ja täydessä ymmärryksessä olevia, ja he antoivat kirjallisen suostumuksensa kokeeseen

osallistumisesta. Kutakin henkilöä informoitiin ennen kokeen aloitusta mahdollisista riskeistä, ja heitä kehoitettiin keskeyttämään koe, mikäli vakavia haittavaikutuksia esiintyisi. Koehenkilöiden oletettiin myös olevan kykeneviä arvioimaan kelpoisuutensa kokeeseen osallistumiseen.

Koehenkilöiltä ei kerätty sellaisia tietoja, jotka voisivat johtaa henkilön tunnistamiseen ja näin ollen identiteettisuoja säilyi. Tutkimuksessa käsiteltävä tieto oli kuitenkin luonteeltaan arkaluontoista, mutta koska henkilötietoja ei kerätty, ulkopuolinen taho ei kykene yhdistämään kerättyä tietoa yksittäiseen henkilöön. Edellä mainitut kirjalliset suostumuslomakkeet, joista käy ilmi kokeeseen osallistujan nimi, hävitettiin kokeen päätyttyä. Lomakkeita ja kokeiden tuloksia ei säilytetty siten, että yksittäisen koehenkilön tulokset pystyttäisiin yhdistämään tiettyyn koehenkilöön. Koehenkilöille annettiin ennen kokeen aloittamista riittävästi informaatiota, kuinka kokeen aikana tulee menetellä, ja koehenkilöiden oletettiin noudattavan annettuja ohjeita.

## LÄHTEET

- Alkula, T., Pöntinen, S. & Ylöstalo, P. 1995. Sosiaalitutkimuksen kvantitatiiviset menetelmät. Juva: WSOYpro.
- Aro, A., Mutanen, M. & Uusitupa, M. 2005. Ravitsemustiede. Helsinki: Duodecim Oy. Aspartame Information Center. 2011.  
[http://www.aspartame.org/aspartame\\_products.html](http://www.aspartame.org/aspartame_products.html). 13.12.2011.
- Barwick, V. & Prichard, E. 2011. Eurachem Guide: Terminology in Analytical Measurement First Edition – Introduction to VIM 3.  
[http://www.eurachem.org/guides/pdf/TAM\\_2011\\_Final\\_web.pdf](http://www.eurachem.org/guides/pdf/TAM_2011_Final_web.pdf). 16.2.2012.
- Berg, J.M., Tymoczko, J., L. & Lubert, S. 2002. Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Company.
- Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. 1999. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. St.Louis: Elsevier Health Sciences.
- Campbell, M. & Farrell, S. 1995. Biochemistry. Belmont: Brooks/Cole.
- Carey, F.A. 2000. Organic Chemistry. Boston: McGraw-Hill
- Chamberlin, S.L. & Brigham, N. 2005. The Gale Encyclopedia of Neurological Disorders. Farmington Hills: Thomson & Gale.
- Devlin, T.M. 2001. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. Philadelphia: Wiley-Liss.
- Evira 2011 Elintarvikkeiden lisäaineet.  
[http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/tietoa\\_elintarvikkeista/koostumus/elintarvikeparanteet/lisaaineet/](http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/tietoa_elintarvikkeista/koostumus/elintarvikeparanteet/lisaaineet/). 16.2.2012.
- Garret, R.H, Grisham, C.M. 2010. Biochemistry. Boston: Brooks/Cole
- Garrow, J.S., James, W.P. & Ralph, A.2000. Human Nutrition and Dietetics. University of Michigan: Churchill Livingstone.
- Gropper, S.S., Smith, J.L. & Groff, J.L. 2009. Advanced Nutrition and Human. Belmont: Wadsworth.
- Huslab 2011a. Alaniiniaminotransferaasi, plasmasta. [http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=1024&terms=p-alat](http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=1024&terms=p-alat). 16.2.2012.
- Huslab 2011b. Aspartaattiaminotransferaasi, plasmasta. [http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=4591&terms=p-alat](http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4591&terms=p-alat). 16.2.2012.
- Huslab 2011c. Kreatiiniini, plasmasta. [http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=4600&terms=p-krea](http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4600&terms=p-krea). 16.2.2012.
- Huslab 2011d. Urea, plasmasta. [http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=4534&terms=p-krea](http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4534&terms=p-krea). 16.2.2012.
- Huslab 2011e. Perusverenkuva. [http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=2475&terms=pvk](http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2475&terms=pvk). 16.2.2012.
- Janssen, P.J. & van der Heijden, C.A. 1988. Aspartame: review of recent experimental and observational data:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3291200?dopt=Abstract>. 13.12.2011.
- Kananen, J. 2008. Kvantti – Kvantitatiivinen tutkimus alusta loppuun. Jyväskylä
- Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Ristiina: Pii-kirjat.
- Karjalainen, S., Launis, V., Pelkonen, R. & Pietarinen, J. 2002. Tutkijan eettiset valinnat. Tampere: Gaudeamus.

- Lacey, A. 2010. The Research Process. Teoksessa Gerrish, K. & Lacey, A. (toim.) The Research Process in Nursing. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 13-26.
- Lehninger, D.L. & Cox, M.M. 2008. Lehninger Principles of Biochemistry. New York: W.H. Freeman and Company.
- Lim, U., Subar, A.F., Mouw, T., Hartge, P., Morton, L.M., Stolzenberg-Solomon, R., Campbell, D., Hollenbeck, A.R. & Schatzkin, A. 2006. Consumption of Aspartame-Containing Beverages and Incidence of Hematopoietic and Brain Malignancies. National Cancer Institute: <http://cebp.aacrjournals.org/content/15/9/1654.long>. 13.12.2011.
- Magnuson, B.A., Burdock G.A., Doull, J., Kroes R.M., Marsh, G.M., Pariza, M.W., Spencer, P.S., Waddell, W.J., Walker, R. & Williams, G.M. 2007. Aspartame: A Safety Evaluation Based on Current Use Levels, Regulations, and Toxicological and Epidemiological Studies. Burdock Group: <http://web.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&hid=125&sid=b6313276-3b1c-4c48-9495-b96883a17279%40sessionmgr110>. 13.12.2011.
- McKee, T. & McKee, J. 2009. Biochemistry - The Molecular Basis of Life. Oxford: University Press.
- Medical News Today. 2007. Overwhelming Scientific Evidence Confirms Aspartame's Safety. <http://www.medicalnewstoday.com/releases/76203.php>. 13.12.2011.
- Metsämuuronen, J. 2005. Tutkimuksen tekeminen ihmistieteissä. Helsinki: International Methelp.
- Mutanen, M & Voutilainen, E. 2005. Energiaravintoaineet, ravintokuidut ja alkoholi. Teoksessa Aro, A., Mutanen, M. & Uusitupa, M. 2005. Ravitsemustiede. Helsinki: Duodecim Oy.
- Nelson, A., Dumville, J. & Torgerson, D. 2010. Experimental Research. Teoksessa Gerrish, K. & Lacey, A. (toim.) The Research Process in Nursing. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 199-215.
- Oxford Dictionaries. 2012. <http://oxforddictionaries.com/definition/english/calibrate>. 18.10.2012.
- Pohjanvirta, R. Elintarvikkeiden lisäaineet. Teoksessa Korkeala, H. 2007 Elintarvikehygienia. Helsinki: WSOY.
- Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. 2007. Veritaudit. Helsinki: Duodecim.
- Simonsuuri-Sorsa, M. 2002. Tutkimusetiikka tutkijakoulutuksessa. Teoksessa Karjalainen, S., Launis, V., Pelkonen, R. & Pietarinen, J. 2002. Tutkijan eettiset valinnat. Tampere: Gaudeamus.
- Soffritti, M., Belpoggi, F., Esposti, D.D., Lambertini, L., Tibaldi, E. & Rigano A. 2005. <http://ehp03.niehs.nih.gov/article/Article.action?articleURI=info:doi/10.1289/ehp.8711>. 13.12.2011.
- Stegink, L.D. 1987, The aspartame story: a model for the clinical testing of a food additive (American Journal of Clinical Nutrition;46:204-215) <http://www.ajcn.org/content/46/1/204.full.pdf+html>. 13.12.2011.
- Tuomi, J. 2007. Tutki ja lue. Helsinki: Tammi.
- Törrönen, R. & Mykkänen, H. Vierasaineet ja lisäaineet. Helsinki: Duodecim Oy

- Kustannus. 239- 253. Teoksessa: Aro, A., Mutanen, M. & Uusitupa, M. 2005. Ravitsemustiede. Helsinki: Duodecim Oy.
- Ukkonen, P., Pihko, H. & Rapola, J. 1995. Pienen lapsen keuhkokuuutokset, iso perna ja taantuva kehitys. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim.  
[http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/etusivu?p\\_p\\_id=dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku&p\\_p\\_action=1&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_\\_spage=%2Fportlet\\_action%2Fdlehtihakuartikkeli%2Fviewarticle%2Faction&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_tunnus=duo50032&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_p\\_frompage=uusinnumero](http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/etusivu?p_p_id=dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku&p_p_action=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku__spage=%2Fportlet_action%2Fdlehtihakuartikkeli%2Fviewarticle%2Faction&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_tunnus=duo50032&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_frompage=uusinnumero). 16.2.2012
- Voet, D. & Voet, J.G. 2011. Biochemistry. Hoboken: John Wiley & Sons, INC.
- Whitehouse, C.R., Boullata, J. & McCauley, L.A. 2008. The Potential Toxicity of Artificial Sweeteners. University of Pennsylvania:  
[http://www.nursing.upenn.edu/gnp/Documents/whitehouse\\_the%20potential%20toxicity%20of%20artificial%20sweeteners.pdf](http://www.nursing.upenn.edu/gnp/Documents/whitehouse_the%20potential%20toxicity%20of%20artificial%20sweeteners.pdf). 13.12.2011.
- Zubay, G.L. 1998. Biochemistry. Boston: WCB/McGraw-Hill.



## Tutkittavat veriarvot ja niiden valintaperusteet

### P-ALAT (Alaniiniaminotransferaasi)

Alaniiniaminotransferaasia eli ALAT:ia ilmenee erityisesti maksan parenkyymisoluisissa, mutta myös pieninä pitoisuuksina lihas-, munuais-, keuhko- ja sydänekudoksissa. Plasmassa oleva ALAT kertoo todennäköisestä maksasoluvauriosta. Akuuttien leukemioiden tapauksissa ALAT-arvot saattavat kohota jopa yli kymmenkertaisiksi normaalista, mononukleosin yhteydessä noin 20-kertaisiksi. Näytteen hemolyysi häiritsee määrittystä aiheuttaen liian korkeita pitoisuusarvoja (Burtis & Ashwood 1999, 652-653.)

P-ALAT-arvo on valittu tutkimukseen sen vuoksi, että se kuvastaa melko spesifisesti maksan tilaa. Koska aminohappojen ja metanolin hajotus tapahtuu pääasiallisesti maksassa, voimme tehdä hypoteesin, että ylimääräinen aspartaamiannos saattaa vaikuttaa tähän arvoon, mikäli maksa pääsee rasittumaan liikaa. (Burtis & Ashwood 1999, 652).

Viitearvot: Huslab, 2011a

Lapset,	0 – 16 v	alle 40	U/l
Pojat,	17 v	10–50	U/l
Tytöt,	17 v	10–40	U/l
Miehet,	18 v lähtien	10–70	U/l
Naiset,	18 v lähtien	10–45	U/l

### P-ASAT (Aspartaattiaminotransferaasi)

Aspartaattiaminotransferaasia (ASAT) on eniten sydänlihaksessa, maksassa sekä luurankolihasissa, joskin sitä esiintyy kohtalaisia määriä munuaisissa sekä punasoluissa. Entsyymien laajasta kudostyypistä johtuen P-ASAT-tutkimus ei ole yhtä spesifinen kuin P-ALAT-tutkimus. Akuutti virushepatiitti ja lääkeaineiden aiheuttamat maksavauriot voivat nostaa P-ASAT-arvot yli kymmenkertaisiksi, kuten P-ALAT-arvot. Vaikeissa hepatiittitapauksissa P-ASAT-arvot voivat nousta P-ALAT-arvoja korkeammiksi. Ne myös normalisoituvat P-ALAT-arvoja nopeammin hepatiittien tapauksissa. P-ASAT -arvot ovat myös P-ALAT-arvoja korkeampia sappi- ja maksametastaasien, lihasdystrofioiden, keuhkoembolioiden ja lihasrasituksen tapauksissa, sekä pankreatiiteissa ja hemolyytisissä tiloissa (Burtis & Ashwood 1999, 652-653).

Viitearvot: Huslab, 2011b

Lapset,	alle 1 kk	alle 80	U/l
Lapset,	1 kk – 16 v	alle 50	U/l
Nuoret	17 v	15–35	U/l
Miehet	18 v lähtien	15–35	U/l
Naiset	18 v lähtien	15–35	U/l

P-Krea (Kreatiniini)

Kreatiniinimäärityksellä arvioidaan ihmiskehon munuaisfunktiota. Kreatiniini on peräisin pääasiallisesti lihaksista, jotka käyttävät energianlähteenään kreatiinia ja kreatiinifosfaattia, mitkä muuttuvat spontaanisti kreatiniiniksi. Henkilön lihasmassa ja lihapitoinen ruokavalio voivat siis vaikuttaa kreatiniiniarvoon. Kreatiniini poistetaan elimistöstä munuaisten kautta lähes täysin, eikä merkittävää reabsorptiota ole havaittavissa. Plasman kreatiniinipitoisuus kohoaa akuutissa ja kroonisessa munuaisinsuffiensienssissa, tai muissa munuaisten toiminnan häiriötiloissa glomerulusfiltraation selvän alentumisen myötä (esim. munuaisten verenkiertohäiriöt, munuaisinfarkti, virtsakivet). Maksan tilalla, elimistön typpitasapainolla tai diureesilla ei ole vaikutusta kreatiniiniarvoon. Tästä johtuen P-Krea-määritys on munuaisspesifisempi kuin ureamääritys. (Burtis & Ashwood 1999, 679–684, 1242–1243.)

Viitearvot: Huslab, 2011c

Lapset	0–2 vrk	37–98	µmol/l
Lapset	3–7 vrk	15–72	µmol/l
Lapset	8 vrk–2 v	10–56	µmol/l
Lapset	3–5 v	10–48	µmol/l
Lapset	6–12 v	10–76	µmol/l
Pojat	13–16 v	20–95	µmol/l
Tytöt	13–16 v	15–90	µmol/l
Pojat	17 v	50–95	µmol/l
Tytöt	17 v	40–90	µmol/l
Miehet	18 v	60–100	µmol/l
Naiset	18 v	50–90	µmol/l

Kreatiniiniarvo on munuaisspesifinen, ja koska aspartaamin hajoamistuotteet erittyvät pääasiallisesti munuaisten kautta, on kiintoisaa tutkia, miten ylimääräinen aspartaami vaikuttaa munuaisfunktioon.

## P-Urea

Plasman ureapitoisuuden määrittystä käytetään kreatiniinin rinnalla munuaisfunktion arvioinnissa. Normaalitilassa urea suodatetaan glomeruluksissa alkuvirtsaan, josta 40–70 prosenttia siitä reabsorboituu takaisin verenkiertoon. Ureapitoisuus kohoaa munuaisinsuffiensienssin yhteydessä nopeammin ja aikaisemmassa vaiheessa kuin kreatiniini, mutta urea-arvoon vaikuttavat muut tekijät, kuten maksan tila, ruokavalio, diureesi ja nestetasapaino. Ureaa muodostuu lähes yksinomaan maksassa aminohappojen hajotuksen yhteydessä nk. ureasyklissä. Runsasproteiininen ruokavalio ja lisääntynyt glukoneogeneesi lisäävät elimistössä urean määrää, mikä näkyy myös P-Urea -arvon kohoamisena. Runsaan diureesin myötä myös ureaa poistuu enemmän, ja diureesin alentuessa sitä poistuu vähemmän. Maksan toimintahäiriöiden yhteydessä P-Urea-arvo alenee. (Burtis & Ashwood 1999, 1239–1240).

Viitearvot: : Huslab, 2011d

Lapset	alle 4 v	1.3–4	mmol/l
	4–10 v	3–5.9	mmol/l
	11–12 v	2.7–4.9	mmol/l
Pojat	13–17 v	3–8.5	mmol/l
Tytöt	13–17 v	2.6–6.4	mmol/l
Miehet	18–49 v	3.2–8.1	mmol/l
Naiset	18–49 v	2.6–6.4	mmol/l
Miehet	alkaan 50 v	3.5–8.1	mmol/l
Naiset	alkaan 50 v	3.1–7.9	mmol/l

Ureamääritys on valittu tutkimukseemme sen vuoksi, että urea on aminohappojen hajoamistuote. Haluamme tutkia ylimääräisen aminohappojen saannin vaikutusta plasman ureapitoisuuteen.

## B-PVK + diffi

Verenkuvalla tarkoitetaan kokoverestä laskettuja punasolu (B-Eryt) ja valkosolu (B-Leuk) sekä trombosyyttimääriä (B-Tromb). Lisäksi siihen kuuluvat hemoglobiinipitoisuus (Hb), punasoluideksit (MCV eli punasolujen keskitilavuus, MCH eli hemoglobiinin keskimassa punasolua kohden, MCHC eli hemoglobiinin keskimassakonsentraatio) ja hematokriitti (Hkr). Diffi tarkoittaa kokoverestä tehdystä sivelyvalmisteesta suoritettavaa valkosolujen erittelylaskentaa ja mikroskooppista tarkastelua. (Ruutu, Rajamäki, Lassila & Porkka 2007, s. 88)

Viitearvot: Huslab, 2011e

	Miehet	Naiset	Kaikki
B-Hb (g/l)	134–167	117–155	
B-Hkr (osuus)	0,39–0,50	0,35–0,46	
B-Eryt (10E12/l)	4,25–5,70	3,90–5,20	
E-MCV (fl)			82–98
E-MCH (pg)			27–33
E-MCHC (g/l)	320–355		
B-Leuk (10E9/l)	3,40–8,2		
B-Trom (10E9/l)	150–360		

Perusverenkuva ja diffi ovat valittu tutkimukseemme sen vuoksi, että haluamme tutkia aspartaamin saannin vaikutusta verisolujen morfologiaan.

Koehenkilöille on asetettu seuraavat vaatimukset:

1. Ei perussairauksia (diabetes, metabolinen oireyhtymä, sydänsairaus, migreeni, rytmihäiriö, epilepsia tai muu neurologinen sairaus)

- Koehenkilön perussairaus saattaa vaikuttaa tutkittaviin veriarvoihin häiritsevästi

- Kokeessa käytetty aspartaami saattaa pahentaa oireita tai aiheuttaa komplikaatioita

- Tulokset ovat paremmin yleistettävissä

2. Koehenkilö hyväksyy koeasetelman, sitoutuu noudattamaan antamiemme ohjeita ja ymmärtää tutkimukseen liittyvät mahdolliset riskit

- Koehenkilö ymmärtää välttää muita aspartaamia sisältäviä tuotteita kokeen aikana ja pidättäytyä alkoholista

Aikataulu 9.3–16.3. 2012

9.3 Kokeen ensimmäinen vaihe (puhdistautumisvaihe)

- Koehenkilöiden punnitus
- Ohjeistus kokeen kulusta

16.3 Kokeen toinen vaihe

- 1. verikoe
- Aspartaamiannosten jako
- Koehenkilöt aloittavat aspartaamin nauttimisen

30.3 Koe päättyy

- 2. verikoe
  - Viimeinen aspartaamiannos on otettu edellisenä päivänä
- Koehenkilöt täyttävät kyselylomakkeen

## Lista tarvittavista reagensseista ja välineistä

## KONELAB

Asat-reagenssi	45,00 € (8 x 20 ml/pkt)
Alat-reagenssi	45,00 € (8 x 20 ml/pkt)
Krea-reagenssi	23,00 € (8 x 20 ml/pkt)
Urea-reagenssi	

Seuraavien kulutus riippuu koneen kalibroinnin, kontrollien ajon onnistumisesta. Koska näitä ei saa tilattua yksittäin, tilaamme 1 paketin jokaista (1 paketti sisältää 8 pientä pulloa).

Abtrol	125,00 € (10 x 5ml)
Nortrol	125,00 € (10 x 5ml)

## SYSMEX

Cellpack PK: 32 ml/tutkimus, eli 8l CELLPACK-reagenssia. Saatavana 20l pulloissa. Tilattava 1 pullo.

Sulfolyser SLS 210A: 0,5 ml/tutkimus, 125ml SULFOLYSER-reagenssi. Saatavana 3 \* 500ml paketissa. Tilattava 1 paketti.

Stromatolyser 4DL / DS: 2 ml/tutkimus. 500ml STROMATOLYSER-reagenssia. Tilattava yksi 1 litran pullo

E-check	4*15ml
Cellclean	50ml

## Näytteenotto:

Vacurette 4 ml Lithium Heparin Sep	300 kpl Kemia
Venosafe 5,9 mg K2EDTA 3 ml	300 kpl PVK
vakuumineula	1*100 kpl Venoject needle quick fit multi sample 21 G
avoneula	1*100 kpl (50kpl)
teippirulla	1 kpl
tufferit	1 rulla
holkit	2 kpl
koeputkiteline	

## Lista tarvittavista reagensseista ja välineistä

desinfointiaine	1 pullo
käsidesi	1 pulloa Erisan
staasit	2 kpl
riskijäteastioita	2kpl
käsitukityyny	2 kpl
kertakäyttöhansikkaat	S 1 paketti Evercare vinyl examgloves L 1 paketti Evercare vinyl examgloves



## Hyvä opinnäytetyöhömme osallistuja

Aspartaami on yleisesti käytetty keinotekoinen makeutusaine, jota lisätään monenlaisiin elintarvikkeisiin, kuten esimerkiksi Light-virvoitusjuomiin. Opinnäytetyömme tarkoitus on tutkia, miten säännöllinen aspartaamin nauttiminen vaikuttaa tiettyihin veriarvoihin. Tutkittavat veriarvot ovat plasman alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT), plasman aspartaattiaminotransferaasi (P-ASAT,) plasman kreatiniini (P-Krea), plasman urea (P-Urea) sekä perusverenkuva (B-PVK) ja valkosolujen erittelylaskenta (B-Diffi). Yllä olevista tutkimuksista on saatavilla lisätietoa esimerkiksi HUSLAB:in verkkosivuilta.

Tutkimuksemme on kaksivaiheinen: ensimmäinen vaihe kestää yhden viikon, ja toinen vaihe kaksi viikkoa. Ensimmäinen vaihe on nk. puhdistautumisvaihe, jonka aikana koehenkilöiden tulee välttää kaikkia aspartaamipitoisia elintarvikkeita sekä alkoholia. Tutkimuksen toinen vaihe alkaa viikon kuluttua ensimmäisen vaiheen alusta, ja tänä aikana koehenkilöt nauttivat päivittäin tietyn määrän aspartaamipitoista makeutusainetta. Makeutusaineen päivittäisannos lasketaan Elintarviketurvallisuusvirasto Eviralta saadun tiedon perusteella kaavalla 40 mg painokiloa kohden, jolloin todellinen aspartaamin päivittäinen saanti jää alle saantisuosituksen. Koehenkilöistä otetaan toisen vaiheen aikana kahdet verikokeet: ennen makeutusaineen nauttimisen aloittamista, ja kahden viikon makeutusaineen nauttimisen jälkeen.

Tutkimuksen ensimmäinen vaihe käynnistyy perjantaina 9.3.2012. Tällöin pidämme infotilaisuuden, jossa kerromme tutkimuksen kulun ja vastaamme mahdollisiin kysymyksiin. Infotilaisuuden jälkeen koehenkilöt punnitaan, ja heille lasketaan painon mukaan päivittäin nautittavan makeutusaineannoksen määrä.

Tutkimuksen toinen vaihe käynnistyy 16.3.2012. Koehenkilöistä otetaan verikokeet (yhteensä kolme putkea), sekä heille jaetaan päivittäiset makeutusaineannokset seuraavan kahden viikon ajalle. Makeutusaine jaetaan päiväannoksina, ja niiden nauttiminen tulee aloittaa samana päivänä verikokeiden ottamisen jälkeen. Makeutusaine on tablettimuodossa, ja suosittelemme niiden nauttimista aamiaisen yhteydessä veden kanssa.

Tutkimus päättyy 30.3.2012. Koehenkilöistä otetaan jälleen verikokeet ja he täyttävät lomakkeen, jossa kysytään tutkimuksen toisen vaiheen aikana mahdollisesti ilmenneitä tuntemuksia tai oireita.

### **Tutkimuksen kulku**

Ensimmäinen koepäivä 9.3.2012

Koehenkilöille kerrotaan tutkimuksen kulku, ja he saavat tarvittavan ohjeistuksen Koehenkilöt allekirjoittavat lomakkeen, jolla he vakuuttavat osallistumiskelpoisuutensa Koehenkilöt punnitaan, punnituksen tulos kirjataan ylös ja sen perusteella lasketaan kullekin koehenkilölle päivittäinen makeutusaineannos

Toinen koepäivä 16.3.2012

Koehenkilöistä otetaan ensimmäiset verikokeet, eli ns. nollanäytteet Koehenkilöille jaetaan painon mukaan lasketut makeutusaineannokset

Kolmas koepäivä 30.3.2012

Koehenkilöistä otetaan toiset verikokeet

Koehenkilöt täyttävät lomakkeen, jolla kartoitetaan kokeen aikana mahdollisesti ilmenneitä oireita

### **Turvallisuus ja tietosuoja kokeen aikana**

Aspartaami on hyväksytty lisäaine, ja sitä lisätään moniin elintarvikkeisiin; myös sellaisiin, joiden ei ensi näkemältä uskoisi sisältävän aspartaamia. Aspartaamin turvallisuudesta ja sen mahdollisista haittavaikutuksista on lukuisia tutkimuksia, joiden

tulokset ovat paikoin hyvinkin ristiriitaisia. Tämän vuoksi olemme suunnitelleet tutkimuksemme siten, että se antaisi tietoa aspartaamin päivittäisen käytön mahdollisista haittavaikutuksista sallitun päivittäiskäytön rajoissa. Olemme kuitenkin rajoittaneet kokeeseen osallistumista tiettyjen perussairauksien osalta.

Opinnäytetyöhöemme EI voi osallistua henkilö, jolla on todettu joku seuraavista sairauksista:

diabetes mellitus

metabolinen oireyhtymä

sydän- ja verisuonisairaus

epilepsia tai muu vastaava neurologinen sairaus

migreeni

fenyyliketouria eli PKU

verenpainetauti

Tutkimuksemme aikana koehenkilöille lasketaan yksilölliset päivittäisannokset makeutusainetta. Tämän vuoksi joudumme merkitsemään muistiin koehenkilön nimen sekä painon. Muita henkilötietoja emme kerää. Noudatamme näytteiden analysoinnissa ja tulosten arkistoisessa merkintätapaa, jolla yksittäisiä tuloksia ei voida yhdistää tiettyyn koehenkilöön. Kaikki keräämämme henkilökohtainen tieto hävitetään asianmukaisella tavalla kokeen päätyttyä.

Vakuutan olevani kelpoinen osallistumaan tutkimukseen aspartaamin vaikutuksista, ja ymmärrän täysin kokeen kulun, sen mahdolliset riskit ja sitoudun noudattamaan annettuja ohjeita kokeen aikana.

Päiväys

Paikka

Allekirjoitus

### **Aspartaamia sisältävät tuotteet**

Tutkimukseen osallistumisen aikana teidän on vältettävä aspartaamin nauttimista. Aspartaami on yleinen lisäaine, ja sen E-koodi on E-951. Aspartaamia sisältävissä tuotteissa on myös merkintä ”Sisältää fenyylialaniinin lähteen”, jotta fenyyliketouriaa eli PKU:ta sairastavat osaavat välttää aspartaamia sisältäviä tuotteita.

Esimerkkejä tuotteista, jotka saattavat sisältää aspartaamia:

- light-virvoitusjuomat (myös energiajuomat, urheilujuomat, siiderit, vissyvedet yms.)
- muut kevyttuotteet (jogurtit, välipalapatukat yms.)
- makeiset
- purukumit (myös xylitolipurukumit saattavat sisältää aspartaamia, joka on sisällysluettelossa merkitty usein aromivahventeeksi)
- kurkkupastillit
- ravintolisät (esim. kalkkitabletit, vitamiini- ja hivenainelisät)

Mikäli epäilet tuotteen sisältävän aspartaamia, lue tuoteseloste huolellisesti. Markkinoilla on kuitenkin monia tuotteita, jotka eivät sisällä lainkaan aspartaamia.

Kokeen aikana mahdollisesti esiintyneet oireet

Onko teillä esiintynyt joitain seuraavista oireista kokeen aikana? (16.3 – 30.3. 2012)

Päänsärky

Lisääntynyt makeanhimo

Lisääntynyt janontunne

Vatsakipu, tai muut vatsaoireet

Huonovointisuus

Neurologiset oireet (esim. näköhäiriöt, käsien vapina), millaiset?

---

Iho-oireet

Lihaskrampit

Mielialan vaihtelut

Muu, mikä?

---