

Jenni Ojatalo

Säilytyksen vaikutus verinäytteen analyysituloksiin kliinisessä kemiassa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Terveys- ja hoitoala

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

3.5.2017

Tekijä(t) Otsikko Sivumäärä Aika	Jenni Ojatalo Säilytyksen vaikutus verinäytteiden analyysituloksiin kliinisessä kemiassa 29 sivua + 2 liitettä 3.5.2017
Tutkinto	Bioanalyttikko AMK
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaaja(t)	lehtori Marjatta Luukkanen, Metropolia AMK laboratoriohoitaja Pia Bäckström, Helsingin Biopankki
<p>Opinnäytetyössä tutkittiin säilytyksen vaikutusta verinäytteiden analyysituloksiin. Työhön valikoitui mukaan kuusi kliinisen kemian tutkimusta (ALAT, CRP, GT, PROT, K ja Na), jotka valittiin yhdessä toimeksiantajan, Helsingin Biopankin kanssa. Verinäytteet otettiin litium-hepariiniputkiin, ja niitä säilytettiin kokoverenä jääkaappilämpötilassa tutkimukseen valikoitujen aikapisteiden määrittelemän ajan. Aikapisteitä oli yhteensä viisi (1,3,8,24 ja 76,5 h näytteenotosta), joista ensimmäinen aikapiste toimi 0-näytteenä.</p> <p>Tutkimusaineisto koostui Metropolia ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoista otetuista verinäytteistä. Työhön osallistui 14 vapaaehtoista näytteenantajaa.</p> <p>Näytteiden tuloksia käsiteltiin analyysikohtaisesti. Analyysituloksista laskettiin aikapisteittäin keskiarvot. Aikapisteiden tuloksia verrattiin toisiinsa hyödyntäen varianssianalyysia. Yksittäisten aikapisteiden tulosten vertailussa käytettiin t-testiä. Aiempien tutkimustulosten perusteella asetettiin hypoteesit, joiden perusteella tuloksia arvioitiin. Tulosten luotettavuutta arvioitiin lisäksi vertaamalla tuloksia HUSLABin viitearvoihin.</p> <p>Kaikissa analyysituloksissa tapahtui pitoisuuden muutoksia säilytysajan pidetessä, mutta muutos oli tilastollisesti merkitsevää kolmen analyysin kohdalla. Viimeisen aikapisteiden kaliumarvot olivat moninkertaiset ensimmäisen aikapisteiden arvoihin verrattuna. Natriumarvojen muutos oli kaliumia maltillisempaa, ja muutos oli tilastollisesti merkitsevää vain kahden viimeisen aikapisteiden kohdalla. ALAT-arvoissa muutos oli merkitsevää kahdessa aikapisteessä (8 ja 76,5 h näytteenotosta).</p> <p>Tässä opinnäytetyössä keskityttiin vain muutamaan näytteeseen ja lyhyeen ajanjaksoon. Opinnäytetyön tuloksia voisi hyödyntää jatkotutkimuksissa laajentamalla tutkimusvalikoimaa ja aikapisteiden määrää. Työhön voisi myös liittää rinnakkaisnäytteet, mikä lisäisi tulosten luotettavuutta. Tutkimusta voi laajentaa muille erikoisaloille tai muihin näytemuotoihin.</p> <p>Herkimpien analyyttien (K, ALAT) kannalta näytteen pakastus 24 tunnin kuluessa näytteenotosta (Biopankin sääntö), on liian pitkä aika analyyttien säilymiselle analyysikelpoisina, mutta stabiilimmat analyytit (GT, proteiini) kestävät hyvin 24 tuntia, ilman että analyyttien pitoisuudet näytteissä muuttuvat.</p>	
Avainsanat	Säilyvyys, kliininen kemia, verinäyte, CRP, GT, natrium, kalium, ALAT, proteiini

Author(s) Title Number of Pages Date	Jenni Ojatalo The effect of storage on the analysis results of blood samples in clinical chemistry 29 pages + 2 appendices 3 May 2017
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical laboratory science
Specialisation option	Biomedical laboratory science
Instructor(s)	Marjatta Luukkanen, senior lecturer, Metropolia UAS Pia Bäckström, biomedical laboratory scientist, Helsinki Biobank
<p>The thesis studied the effect of storage on the analysis results of blood samples. Six studies in clinical chemistry (ALT, CRP, GT, protein, K and Na) were selected for the research together with the client, Helsinki Biobank. The blood samples were taken in lithium-heparin test tubes and stored in whole blood in refrigerator temperatures for a duration determined by time points selected for the study. There were in total five time points (1, 3, 8, 24 and 76,5 hours from taking the samples), of which the first one served as a 0-sample.</p> <p>The study material consisted of blood samples gathered from biomedical laboratory science students from Metropolia UAS. There were 14 voluntary participants.</p> <p>The results of the samples were processed per analysis. Means were calculated from the results per time point and those means were then compared with each other utilizing the analysis of variance (ANOVA). T-test was the used to compare single time points with the 0-samples. The results were then evaluated based on set hypotheses, which were based on prior studies. The reliability of the results was additionally assessed by comparing them with the reference values used at HUSLAB.</p> <p>As the duration of storage extended, there were changes in the content of all analysis results, but they were statistically significant in three cases of analytes. The potassium values of the last time point were multiple compared to the first time-point. The change in the sodium values was more moderate, but still statistically significant. The change in ALT values was significant in two time-points (8 and 76,5 hours from taking the samples).</p> <p>This thesis concentrated on only a few samples and a short time-period. The results could be utilized in further researches by widening the range of tests and adding time points. Parallel samples could also be added to the research, which would enhance its reliability. The research can be expanded to other branches or other forms of samples.</p> <p>Concerning the most delicate analytes (K, ALT), freezing the sample in 24 hours from taking the sample (rule of Helsinki Biobank), is too long a time for keeping the samples analyzable. The more stable analytes (GT, protein) keep well for 24 hours, without a change in the content of the samples.</p>	
Keywords	Shelf life, clinical chemistry, blood sample, CRP, GT, sodium, potassium, ALT, protein

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Biopankki	1
3	Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite	2
4	Laboratoriotutkimusten tuloksiin vaihtelua aiheuttavat tekijät	3
5	Verinäytteiden säilyvyys	4
6	Kliinisen kemian tutkimukset	5
6.1	Vakiot ja kontrollit	6
6.2	Alaniiniaminotransferaasi	6
6.3	Glutamyylitransferaasi	7
6.4	C-Reaktiivinen proteiini	7
6.5	Kalium ja natrium	8
6.5.1	Kalium	8
6.5.2	Natrium	9
6.5.3	Mittausmenetelmä	10
6.6	Proteiini	10
7	Opinnäytetyön toteutus	11
7.1	Tutkimusmenetelmä	11
7.2	Näytteenotto ja näytteiden käsittely	11
7.3	Näytteiden analysointi ja tulosten käsittely	12
7.4	Varianssianalyysi	13
7.5	T-testi	14
8	Työn tulokset	15
8.1	Alaniiniaminotrasferaasi	15
8.2	Glutamyylitransferaasi	16
8.3	Kalium	17
8.4	Natrium	18
8.5	Proteiini	19
8.6	Yhteenveto	21
9	Pohdinta	21

9.1	Opinnäytetyön tulokset suhteessa aikaisempiin tutkimuksiin	21
9.2	Eettisyys	23
9.3	Luotettavuus	23
9.4	Työn arviointi ja jatkotutkimusmahdollisuudet	25
	Lähteet	26

Liitteet

Liite 1. Helsingin Biopankin suostumusasiakirja

Liite 2. Raakadata

1 Johdanto

Verinäytteiden säilyvyyteen vaikuttaa ensisijaisesti se, mitä näytteestä halutaan tutkia. On näytteitä, jotka on säilytettävä ja lähetettävä jääkaappilämpötilassa ja vastaavasti näytteitä, joita ei saa säilyttää huoneenlämpöä kylmemmässä lämpötilassa. Myös näytemuoto, se onko kyseessä plasma-, seerumi- vai kokoverinäyte, vaikuttaa tutkittavien analyyttien säilymiseen näytteessä.

Tässä opinnäytetyössä selvitettiin, missä määrin plasmanäytteiden säilyttäminen näytteenoton jälkeen sentrifugoimattomana jääkaappilämpötilassa vaikuttaa näytteistä tutkittavien analyyttien pitoisuuksiin, vai vaikuttaako ollenkaan. Opinnäytetyö tehtiin Helsingin Biopankille, josta ohjaajana toimi laboratoriohoitaja Pia Bäckström.

Ohjeistuksesta huolimatta, Helsingin Biopankkiin saapuu useita näytteitä, joita on säilytetty yli suositusajan (Huslab 2016a). Opinnäytetyöllä selvitettiin, ovatko jotkin analyytit herkempiä säilytykselle ja voidaanko myöhässä saapuneita näytteitä vielä hyödyntää tutkimuksissa. Valituilla aikapisteillä (1, 3, 8, 24 ja 76,5 tuntia näytteenotosta) selvitettiin sitä kuinka nopeasti analyyttien tulokset laskevat tai nousevat. Opinnäytetyössä pyrittiin jäljittelemään verinäytteen matkaa laboratoriosta Helsingin Biopankkiin.

Opinnäytetyössä käytettiin määrällistä tutkimusmenetelmää. Näytemateriaalina opinnäytetyössä oli Metropolia Ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoista otetut verinäytteet. Analyysitulokset käsiteltiin Microsoft Excel taulukko-ohjelmalla ja IBM SPSS Statistics -ohjelmalla käyttäen varianssianalyysiä ja t-testiä. Opinnäytetyön tulokset olivat yhteneväiset aiheesta aiemmin tehtyjen tutkimusten kanssa pienestä otoskoosta huolimatta.

2 Biopankki

Biopankki on näytteistä ja potilastiedoista koostuva pankki, joka näytteiden keräämisen ja vastaanottamisen lisäksi säilyttää näytteitä ja niihin liittyviä tietoja. Näytteet voivat olla mitä tahansa biologista materiaalia, kuten verinäytteitä tai kudospaloja. Biopankki voi luovuttaa näytteitä biopankkitutkimukseen sekä analysoida, tutkia tai muutoin käsitellä

näytteitä. Biopankki eroaa perinteisistä tutkimuskokoelmista siten, että biopankkiin kootua tietoa ja kerättyjä näytteitä on mahdollista hyödyntää tulevaisuuden tutkimuksissa sen sijaan, että kerättäisiin näytteitä vain tiettyä tutkimusta varten. (Suomen Biopankit c.)

Biopankkitoimintaan osallistuminen on vapaaehtoista. Ennen näytteiden luovuttamista näytteiden luovuttajat saavat tietoa biopankkitoiminnasta, minkä perusteella he voivat päättää, osallistuvatko biopankkitoimintaan. Jo annetun suostumuksen voi perua milloin tahansa. Suostuessaan näytteenluovuttaja allekirjoittaa suostumusasiakirjan. (Suomen Biopankit d.)

Biopankkien toimintaa säätelee 1.9.2013 voimaan tullut biopankkilaki. Lain tarkoituksena on turvata näytteenantajan itsemääräämisoikeus ja yksityisyyden suoja näytteitä käsitellessä. Se myös tukee ihmisperäisiä näytteitä hyödyntävää tutkimusta ja mahdollistaa näytteiden kokoamisen tutkimukseen, jonka kaikki yksityiskohdat eivät ole vielä tiedossa. (Valtioneuvoston asetus biopankkilaista 688/2012 §1; Suomen Biopankit b.) Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto Valvira valvoo biopankkitoimintaa ja ylläpitää valtakunnallista biopankkirekisteriä. Biopankin perustamista varten tulee olla valtakunnallisen lääketieteellisen tutkimuseettisen toimikunnan (TUKIJA) puoltava lausunto. (Suomen Biopankit b; Valvira 2013.)

Suomessa toimii yhteensä kahdeksan biopankkia. Biopankkeja ylläpitävät mm. yliopistot, Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos (THL) sekä eri sairaanhoitopiirit. Helsingin Biopankki on Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin (HUS), Helsingin yliopiston, Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveyspiirin (Eksote) ja Kymenlaakson sairaanhoito- ja sosiaalipalvelujen kuntayhtymän (Carea) yhdessä perustama biopankki. Helsingin Biopankin omistaa HUS, joka myös vastaa tietojen ja näytteiden säilyttämisestä. Biopankin tavoitteena on muun muassa tutkimusalueen väestön terveyden edistäminen sekä sairaanhoidossa käytettävien hoitokäytäntöjen tai tuotteiden kehittäminen. (Suomen Biopankit a.)

3 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite

Tällä opinnäytetyöllä haluttiin selvittää, onko eri pituisilla säilytysajoilla ennen näytteen käsittelyä merkitystä saatuihin analyysituloksiin, kun näytteitä säilytetään jääkaappilämpötilassa sentrifugoimattomissa litium-hepariiniputkissa. Työn toimeksiantajana toimi

Helsingin Biopankki. Näytteiden saapuminen biopankkiin vaihtelee sen mukaan missä ja milloin näyte on otettu. Vaatimuksena kuitenkin on, että näytteen on saavuttava biopankkiin 24 tunnin sisällä näytteenotosta. Ennen lähetystä näytteet säilytetään jääkaapissa, ja ne lähetetään biopankkiin kylmälähetysenä.

Vaatimuksesta huolimatta biopankkiin saapuu näytteitä jotka ovat ylittäneet 24 tunnin määräajan. Näille näytteille merkitään poikkeama, joka kertoo näytteen saapuneen määräajan jälkeen biopankkiin. Tällä opinnäytetyöllä kerättiin tietoa siitä, ovatko jotkin analytit herkempiä pitkälle säilytysajalle kuin toiset, ja selvitettiin ovatko myöhässä saapuneet näytteet vielä käytettävissä tutkimuksissa. Samalla selvitettiin sitä kuinka nopeasti analyttien tulokset lähtevät laskemaan säilytyksen aikana. Työn kulussa pyrittiin jäljittelemään samaa prosessia minkä biopankkiin tuleva näyte käy läpi. Viimeinen aikapiste jäljittelee tilannetta, jossa näyte jostakin syystä saapuu Biopankkiin myöhässä. Tässä opinnäytetyössä keskityttiin säilytyksen mahdollisesti aiheuttamille muutoksille, eikä työssä lähdetty jäljittelemään kuljetuksesta aiheutuvaa värinää tai putkien heilumista.

Opinnäytetyön aikapisteet ja tutkimukset valittiin yhdessä toimeksiantajan, eli Helsingin biopankin kanssa. Aikapisteet määriteltiin biopankin kiinnostuksen mukaan. Koska näytteet analysoitiin Metropolia AMK:n Konelab-analysaattorilla, tutkimusvalikoima oli suunniteltava sen mukaan mitä analyysijä Metropolia AMK:lla oli mahdollista tehdä. Paastonäytteitä ei otettu mukaan siksi, että biopankin näytteet ovat vain harvoin paastonäytteitä. Koska kyseessä oli kemian tutkimukset, valittiin näytemuodoksi plasma ja verinäyteputkeksi litium-hepariiniputki. Myös seerumi olisi ollut mahdollinen näytemuoto kliinisen kemian tutkimuksiin.

4 Laboratoriotutkimusten tuloksiin vaihtelua aiheuttavat tekijät

Laboratorioprosessi jaetaan kolmeen vaiheeseen, jotka ovat preanalyttinen, analyttinen, ja postanalyttinen vaihe. Preanalyttinen vaihe sisältää potilaan ohjauksen, näytteenoton, näytteen säilytyksen ja kuljetuksen analyysilaboratorioon, näytteen vastaanoton analyysilaboratoriossa ja analysointikelpoisuuden toteamisen. Analyttiseen vaiheeseen kuuluu näytteen analysointi ja laadunvarmistus. Postanalyttinen vaihe sisältää saadun analyysituloksen hyväksymisen ja tutkimustulosten toimittamisen tutkimuksen tilaajalle. Suurin osa laboratorioprosessissa esiintyvistä virheistä syntyy preanalyttisessä vaiheessa. (Tuokko - Rautajoki – Lehto 2008: 8–9.)

Laboratoriotutkimuksiin muutoksia aiheuttavat tekijät voidaan jakaa tekijöihin, joihin ei voida vaikuttaa, ja tekijöihin joihin voidaan vaikuttaa. Muutoksia aiheuttavia tekijöitä, joihin ei voida vaikuttaa ovat esimerkiksi potilaan ikä, sukupuoli, rotu, lihasmassa sekä sairaudet ja vammat. Nämä tekijät on huomioitu viitearvojen rajoja määritettäessä ja ne tulee ottaa huomioon myös laboratoriotulosta tulkittaessa. Laboratoriotuloksiin muutoksia aiheuttavia tekijöitä, joihin pyritään vaikuttamaan potilaan ohjauksella, ovat asianmukainen paasto, tutkimustuloksiin vaikuttavien lääkkeiden välttäminen (esimerkiksi kilpirauhasen tutkimukset) sekä tupakoinnin ja alkoholi- tai kofeiinipitoisten aineiden välttäminen ennen näytteenottoa. Myös fyysistä rasitusta tulisi välttää ennen näytteenottoa. Edellä mainittujen lisäksi laboratoriotuloksissa esiintyy sekä yksilöiden välistä, että yksilöiden sisäistä vaihtelua johon ei voida vaikuttaa. (Tuokko – Rautajoki – Lehto 2008: 15–27.)

5 Verinäytteiden säilyvyys

Verinäytteissä tapahtuu muutoksia säilytyksen aikana, sillä näytteet ovat biologista materiaalia. Nämä muutokset johtuvat kemiallisista, fysikaalisista sekä mikrobiologisista perusilmiöistä. Aineenvaihduntareaktiot jatkuvat kehon ulkopuolellakin, tosin hidastuneina. Verinäytteen hyytymisen estämiseksi näyte otetaan antikoagulanttia eli hyytymisenestoainetta sisältävään putkeen. Näytteenoton jälkeen putki on sekoitettava huolellisesti, jotta hyytymisenestoaine pääsee sekoittumaan koko näytteeseen. Plasma- ja seerumiputkissa tapahtuu ainesosien siirtymistä soluista plasmaan ja päinvastoin silloin, kun näytteitä säilytetään sentrifugoimatta. Tällä on merkitystä erityisesti silloin, kun tutkimuksen kohteena on analyytti, jonka pitoisuus solujen sisällä poikkeaa plasmassa olevasta pitoisuudesta. Näyteputken korkki suojaa näytettä haihtumiselta sekä kontaminaatiolta. Haihtuminen voi muuttaa näytteen koostumusta lisäämällä haihtumattomien konsentraattien pitoisuutta. Kontaminaatio voi vaikuttaa näytteen pH:n ja näytteen sameuteen. (Tapola 2003: 29–30; Tuokko – Rautajoki – Lehto 2008: 114–115.)

Verinäytteitä ei yleensä säilytetä kokoverenä, vaan plasma- ja seerumiputket sentrifugoidaan mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen. Kun näyte on sentrifugoitu plasma (tai seerumi) erotellaan omaan putkeen. Näytteitä voidaan säilyttää huoneenlämmössä silloin, kun näytteitä ei ole tarkoitus säilyttää pitkiä aikoja. Pidempää säilytystä varten näytteet tulisi säilyttää jääkaappilämpötilassa. Mitä pidempään näytteitä säilytetään, sitä viileämmässä niitä tulisi pitää. (Tapola 2003: 30.)

Verinäytteiden säilyvyydestä on tehty useita tutkimuksia. Näytteiden säilyvyyttä on tutkittu huoneenlämmössä (+25 °C) sekä jääkaappilämpötilassa (+4 – +8 °C), näytemuotoina plasma, seerumi ja kokoveri. Näytteiden säilytyslämpötilan ei ole todettu juurikaan vaikuttavan analyyttien pitoisuuksiin silloin, kun näyte on sentrifugoitu ja plasma tai seerumi eroteltu omaan putkeen. Boyanton ja Blick tutkivat pitkittyneen solukontaktin vaikutusta plasma- ja seeruminäytteissä vertaamalla huoneenlämmössä säilytettyjen erottellemattomien näytteiden stabiiliutta heti näytteenoton jälkeen sentrifugoituihin ja eroteltuihin plasma- ja seeruminäytepooleihin. Erotellut plasma- ja seeruminäytteet olivat stabiileja vielä 56:n tunnin säilytyksen (+25 °C) jälkeen, kun solukontaktissa säilytetyissä näytteissä 15:stä analyytissä 24:stä havaittiin kliinisesti merkittäviä muutoksia. Leino ja Koivula vertasivat tutkimuksessaan säilytyslämpötilan vaikutusta sentrifugoimattomien plasmaputkien analyyttien säilyvyyteen säilyttämällä osaa näytteistä huoneenlämmössä ja osaa jääkaappilämpötilassa kuuden tunnin ajan. Tutkimuksessa ei havaittu merkittäviä muutoksia tutkittavissa analyyteissä kaliumia lukuun ottamatta. Jääkaapissa säilytettyjen näytteiden keskiarvo kaliumin kohdalla oli 0,8 mmol/l korkeampi kuin huoneenlämmössä säilytettyjen näytteiden ja välittömästi näytteenoton jälkeen sentrifugoitujen ja eroteltujen näytteiden keskiarvojen tulokset. Vaikka näytteet säilyivät stabiilina yhtä lukuun ottamatta, suosittelivat Leino ja Koivula plasmanäytteiden välitöntä sentrifugointia ja erottelua näytteenoton jälkeen aina kun se on mahdollista. (Boyanton Jr – Blick 2002: 2242–2247; Leino – Koivula 2009: 159–161.)

6 Kliinisen kemian tutkimukset

Kliinisen kemian analyyseillä tutkitaan elimistön nesteitä. Näytemateriaali voi olla esimerkiksi verta (yleensä plasmaa tai seerumia), virtsaa, likvoria, askites- tai nivelnestettä tai keuhkokuuhtelunäyte eli BAL-näyte. Näytteistä voidaan analysoida esimerkiksi aineenvaihduntatuotteita, haitallisia aineita, biologista aktiivisuutta omaavia yhdisteitä sekä merkkiaineiden pitoisuutta ja aktiivisuutta. Tutkimusmenetelmiä on useita erilaisia ja ne vaihtelevat sen mukaan, mitä näytteestä halutaan tutkia. Näytteet analysoidaan suurilla kemian analyysointilaitteilla, joilla pystytään nykypäivänä analysoimaan useita eri tutkimuksia samasta näytteestä sekä analysoimaan eri näytteitä samanaikaisesti. (Estridge – Reynolds 2008: 514; Åkerman – Savolainen – Pelliniemi 2014:82–83.) Seuraavaksi esittelen lyhyesti tässä opinnäytetyössä mukana olevat tutkimukset ja niiden analyysimenetelmät.

6.1 Vakiot ja kontrollit

Jotta analysaattorin tuloksia voitaisiin pitää luotettavina ja vertailukelpoisina, tulee analysaattori vakioda ennen käyttöä. Vakiointi on voimassa tietyn aikaa, esimerkiksi kuukauden, jonka jälkeen se on tehtävä uudelleen. Vakioinnin tarkoitus on säätää laboratoriossa käytettävä tutkimusmenetelmä antamaan tunnettua tulostasoa (Åkerman ym 2014: 53.) Kontrollinäytteillä seurataan potilasnäytteiden tulosten oikeellisuutta. Ne ovat näytteitä joiden tulostaso on tiedossa. Kun kontrollinäytteen tulos on sille määriteltujen tavoitearvojen alueella, voidaan olettaa, että myös potilasnäytteen tulos on oikea. (Mattiainen – Miettinen – Wasström 2010: 45.)

6.2 Alaniiniaminotransferaasi

Alaniiniaminotransferaasi eli ALAT on erityisesti maksan parenkyymisoluisissa esiintyvä aminohappojen aineenvaihduntaan liittyvä entsyymi. Sitä esiintyy myös muissa kudoksissa, mutta huomattavasti pienempinä pitoisuuksina. ALAT-entsyymien määrittäminen käytetään maksasairauksien diagnostiikassa ja seurannassa. Lihavuus ja siitä aiheutuva rasvamaksa nostavat ALAT-arvoja. Myös pitkäaikainen, runsas alkoholinkäyttö nostaa ALAT-arvoa. Molemmat edellä mainitut voivat johtaa maksakirroosin muodostumiseen maksan liiallisen rasvoittumisen myötä. Virusten (HBV, HCV) tai lääkeaineiden aiheuttaman akuutin maksatulehduksen eli hepatiitin yhteydessä ALAT-arvo voi kohota monikymmenkertaiseksi. (HUSLAB 2014a; Eskelinen 2016a.)

Alaniiniaminotransferaasin aktiivisuus määritetään kineettisellä entsyymiaktiivisuusmäärittelyllä. Entsyymit ovat biologisia reaktioita katalysoivia proteiineja. Entsyymireaktiossa substraatti kiinnittyy entsyymimolekyyliin muodostaen entsyymi-substraattikompleksin. Entsyymit ja niiden substraatit ovat hyvin spesifisiä. Substraatti sitoutuu entsyymiin juuri tietyllä tavalla ja tiettyyn kohtaan, entsyymien aktiiviseen keskukseen. Entsyymi voi siis katalysoida vain niitä reaktioita, joissa substraatti pystyy sitoutumaan entsyymimolekyyliin. Entsyymit vaativat toimiakseen juuri oikeanlaiset olosuhteet. Entsyymien toimintaan ja reaktionopeuteen vaikuttavia tekijöitä ovat pH, lämpötila, reaktioita aktivoivat tai inhiboivat aineet sekä koentsyymit ja prosteettiset ryhmät. (Åkerman – Jokela 2014: 67–68.)

ALAT-määrittämisessä kyseessä on laskeva reaktio. Laskevassa reaktiossa määritetään substraatin vähenemistä reaktioseoksessa. Analyysissä mitataan NADH:n absorbanssin

alenemista ajan funktiona. Reaktion ensimmäisessä vaiheessa alaniiniaminotransferaasi katalysoi alaniinin aminoryhmän siirtymistä oksoglutaraatille, jolloin muodostuu glutamaattia ja pyruvaattia. Reaktion toisessa vaiheessa pyruvaatti muuttuu laktaatiksi laktaattidehydrogenaasin vaikutuksesta. Samalla NADH hapettuu NAD⁺:ksi. NADH:n määrän vähenemistä mitataan aallonpituudella 340 nm. Tulos on suoraan verrannollinen alaniiniaminotransferaasin aktiivisuuteen näytteessä. Alaniiniaminotransferaasille koentsyyminä toimiva pyridoksaalifosfaatti nopeuttaa reaktiota. (Penttilä 2003: 82–84; Thermo Fisher Scientific Oy 2014a.)

6.3 Glutamyyli transferaasi

Glutamyyli transferaasi (GT) on maksassa, erityisesti sappiteiden epiteelin solukalvoissa esiintyvä entsyymi. Glutamyyli transferaasia esiintyy myös munuaisissa, haimassa, sekä verisuonten endoteelisolujen solukalvoissa. P-GT-määritystä käytetään maksan ja sappiteiden sairauksien diagnostiikassa ja seurannassa, sillä plasman glutamyyli transferaasientsyymi on pääosin maksaperäistä. Munuaisvauriossa entsyymin pitoisuus nousee plasman sijaan virtsassa. P-GT -aktiivisuus kohoaa herkästi useimmissa maksavaurioissa, kuten biliaarisessa kirroosissa, sappitiestaasissa, maksatulehduksissa sekä alkoholia tai tiettyjä lääkkeitä (esim. tri-sykliset antidepressantit, barbituraatit) runsaasti käyttävillä henkilöillä, sillä alkoholi lisää glutamyyli transferaasin tuotantoa maksasoluissa. Alkoholin käytön lopettamisen jälkeen P-GT aktiivisuus laskee muutamassa viikossa normaalille tasolle. (Eskelinen 2016b; Färkkilä 2012; HUSLAB 2016b; Niemelä – Parkkila 2014: 171.)

(Gamma)glutamyyli transferaasin määritysmenetelmä on entsyymiaktiivisuuden määrittäminen, kuten ALAT:kin. Reaktiossa gammaglutamyyli transferaasi katalysoi glutamiinihapon siirtoa glysyyliglysiinille. Reaktion lopputuotteen, 5-amino-2-nitro bentsoatin absorbanssi mitataan aallonpituudella 405 nm. Absorbanssin kasvu on suoraan verrannollinen gammaglutamyyli transferaasin aktiivisuuteen näytteessä. (Thermo Fisher Scientific Oy 2014b.)

6.4 C-Reaktiivinen proteiini

CRP eli C-reaktiivinen proteiini on yksi akuutin faasin proteiineista. Se on osallisena komplementtijärjestelmän aktivaatiossa sitoutumalla sekä mikrobeihin että yhdisteisiin, jotka vapautuvat vaurioituneista soluista. Proteiinimuutoksia tapahtuu kudostuhojen, infektioiden, pahanlaatuisten sairauksien ja autoimmuunitautien yhteydessä. Akuutin

faasin proteiineista CRP nousee ja laskee nopeimmin, minkä takia sitä käytetään akuutin faasin aktivoitumisen mittarina. CRP:tä käytetään bakteeri- ja virusinfektioiden erotusdiagnoosissa ja antibioottihoidon tehon seurannassa, kudostuhoon toteutamisessa ja sen laajuuden arvioinnissa. (Irjala 2014: 137; HUSLAB 2015c.)

CRP määritetään immunoturbidometrisellä menetelmällä. Turbidometria on fotometrian sovellus, jossa määritetään liukenemattomia partikkeleita sisältävän suspension partikkeleiden pitoisuutta. Turbidometriassa mitataan sironneen valon lisäksi absorboituneen ja reflektoituneen valon kokonaismäärää. Kliinisessä kemiassa mittaukseen voidaan käyttää turbidometrin sijaan joko spektrofotometria tai kliinisen kemian analysaattoria. (Halonen 2003: 71–72; Åkerman ym. 2014: 58.)

CRP:n määrittämiseen ensimmäisessä vaiheessa, eli taustamittauksessa, mitataan näytteen ja puskuriliuoksen absorbanssit. Tämän jälkeen spesifistä antiseerumia lisätään ylimäärin puskuroituun näytteeseen. Mitattavan näytteen sekä spesifisen vasta-aineen välille muodostuvat polyetyleeniglykolilla (PEG) vahvistetut immunokompleksit johtavat absorbanssin lisääntymiseen. Absorbanssi mitataan aallonpituudella 340 nm sitten, kun reaktio on saavuttanut päätepisteen. Absorbanssin muutos on suoraan verrannollinen antigenein, eli CRP:n, määrään näytteessä. (Thermo Fisher Scientific Oy 2016.)

6.5 Kalium ja natrium

Kalium ja natrium ovat elimistön keskeisiä elektrolyyttejä. Ne ovat molemmat kationeja eli ovat positiivisesti varautuneita. Negatiivisesti varautuneita elektrolyyttejä kutsutaan anioneiksi. Muita keskeisiä elektrolyyttejä ovat mm. magnesium (Mg^{2+}), kalsium (Ca^{2+}), kloridi (Cl^-) sekä bikarbonaatti (HCO_3^-). Elektrolyytit pitävät yllä elimistön happo-emästasapainoa ja säätelevät sekä lihasten ja hermoston toimintaa, että useita aineenvaihduntareaktioita. (Uotila 2014: 93.)

6.5.1 Kalium

Kalium, K^+ , on elimistön tärkein intrasellulaarinen eli solun sisäinen kationi. 98 % kaliumista sijaitsee intrasellulaaritasossa. Miehillä kaliumin määrä on hieman suurempi kuin naisilla, sillä osa kaliumista on lihaksissa, jolloin lihasmassa vaikuttaa elimistön kaliumin määrään. Haiman tuottama insuliini sekä lisämunuaisen kuorikerroksen tuottama aldosteroni lisäävät Na^+-K^+ -ATPaasin katalysoimaa kaliumin aktiivista kuljetusta solujen

sisään. Aldosteroni myös säätelee natriumin ja kaliumin pitoisuuksia tarvittaessa vähentämällä niiden eritystä munuaisista. Kaliumin erityks munuaisten distaaliossa on suoraan yhteydessä natriumin takaisinottoon. Natriumin reabsorboitua, joko K^+ tai H^+ eritetään. Kaliumin eritykseen vaikuttavat siten natriumin ja kaliumin määrä ravinnossa sekä elimistön happo-emästasapaino. (Mustajoki 2017; Uotila 2014: 103.)

Matala kaliumpitoisuus eli hypokalemia voi olla seurausta pitkään jatkuneesta oksente- lusta tai ripulista. Kaliumia, kuten myös natriumia, voidaan menettää suuria määriä ruo- ansulatuskanavan nesteiden mukana. Hypokalemia voi olla seurausta myös nesteen- poistolääkkeiden eli diureettien käytöstä, jolloin kaliumia menetetään virtsan mukana normaalia enemmän. Hyperkalemia eli korkea kaliumpitoisuus voi olla seurausta mm. munuaisten tai lisämunuaisten vajaatoiminnasta, kudosaivuriosta (esimerkiksi hemolyysi tai raskomyolyysi) tai asidoosista, jolloin kaliumia siirtyy intrasellulaaritalasta ekstrasellu- laaritalaan. Sekä hypo- että hyperkalemia altistavat häiriöille sydämen toiminnassa sekä aiheuttavat lihasheikkoutta. (Eskelinen 2016c; HUSLAB 2015b; Uotila 2014: 103–104.)

6.5.2 Natrium

Natrium, Na^+ , on yksi elimistön yleisimmistä suoloista. Noin 55-60 % natriumista on eli- mistön nesteissä ja loppuosa luustossa. Valtaosa elimistön nesteiden natriumista (yli 97 %) taas sijaitsee ekstrasellulaari- eli solun ulkoisessa tilassa. Natriumin merkitys ekstrasellulaarinesteen tilavuuden ylläpidolle ja osmoottisen paineen säilyttämiselle on- kin keskeinen. Natriumin saanti ei vaikuta elimistön natriumpitoisuuteen, sillä munuaiset erittävät ylimääräisen natriumin virtsaan. Jos natriumia saadaan ravinnosta vain vähän, munuaiset vastaavasti vähentävät natriumin eritystä. Nesteen määrä elimistössä sen si- jaan vaikuttaa suoraan natriumpitoisuuteen. Liiallinen veden nauttiminen voi laimentaa plasman natriumpitoisuutta vaarallisen alhaiseksi. Myös jotkin lääkkeet voivat aiheuttaa nesteen kertymistä elimistöön. Natriumarvon pienetessä syntyy hyponatremia. Hypo- natremia, kuten myös hypokalemia, voi syntyä myös silloin kun elimistöstä menetetään nesteitä liikaa esimerkiksi pitkittyneen ripulin tai oksennustaudin takia. Vastaavasti hy- pernatremia eli elimistön liian korkea natriumpitoisuus johtuu elimistön kuivumisesta. Li- allinen nesteiden menetys johtaa elimistön nesteiden väkevöitymiseen ja normaalia kor- keampaan natriumarvoon. (Eskelinen 2016d; Mustajoki 2015; Uotila 2014: 101.)

6.5.3 Mittausmenetelmä

Kaliumin ja natriumin pitoisuus näytteessä määritetään potentiometrian avulla. Menetelmässä mitataan ionille selektiivisen elektrodin (tässä tapauksessa K^+ ja Na^+) ja referenssielektrodin välistä jännite-eroa. Ioniselektiivisen elektrodin ja näytekammion välillä on tutkittavaa ionia valikoivasti läpäisevä kalvo. Kun referenssielektrodi sekä ioniselektiivinen elektrodi ovat molemmat kosketuksissa näytteeseen, syntyy näiden välille potentiaali- eli jännite-ero. Tämä johtuu ioniselektiivisen elektrodin kyvystä kuljettaa tiettyä ionia näytteestä kalvon läpi. Jännite-ero mitataan ja sitä verrataan Konelab-analysaattorin käyttämän ISE-cal1 -liuoksesta mitattuun jännite-eroon sekä kalibroitokuvaajaan. Mittaus tapahtuu analysaattorin ISE-yksikössä, jossa elektrodit sekä puoliläpäisevät kalvot sijaitsevat. Kyseessä on suora menetelmä eli näytettä ei laimenneta. Suorassa menetelmässä mitataan plasmassa vapaana olevien ionien aktiivisuutta. Tällöin esim. proteiineihin sitoutuneet ionit eivät tule mitatuiksi. (Särkelä 2015; Uotila 2014:106; Åkerman ym. 2014:62–64.)

6.6 Proteiini

Plasmassa on kymmeniä erilaisia proteiineja, joista määrällisesti merkittävistä suurin osa on maksan syntetisoimia. Merkittävin näistä proteiineista on albumiini. Toinen pitoisuutensa puolesta merkittävä proteiiniryhmä on plasmasoluissa tuotettavat immunoglobuliinit. Kokonaisproteiinipitoisuus (TPROT) voidaan määrittää joko plasmasta tai seerumista. Näytteet eroavat toisistaan siinä, että seeruminäytteestä puuttuvat hyytymiseen liittyvät proteiinit, kuten fibrinogeeni. Proteiinimäärittystä käytetään nestetasapainon (kuivuminen tai hydremia), proteiiniaineenvaihdunnan poikkeavuuksien ja paraproteinemioiden seurannassa. Alentunut plasman tai seerumin proteiinipitoisuus voi olla seurausta heikentyneestä proteiinien tuotannosta tai saannista (maksakirroosi, aliravitseminen), proteiinihukasta (verenvuodot, palovammat), tai tilasta jolloin elimistössä on nesteylimäärää (askites, sydämen vajaatoiminta). (HUSLAB 2015c; Irjala 2014: 135; Thermo Fisher Scientific Oy 2015.)

Merkittävä tekijä, joka vaikuttaa verenkierron kokonaisproteiinipitoisuuteen, on elimistön asento. Vuodepotilaita otetuissa näytteissä, jolloin potilas on ollut makuaasennossa näytettä otettaessa, on todettu noin 10 % matalampia proteiinipitoisuuksia verrattuna näytteisiin, jotka on otettu pystyasennossa olleilta potilailta (Irjala 2014: 135).

Proteiinipitoisuuden määrittämisessä hyödynnetään Biuret-reaktiota. Biuret-reaktiossa proteiinit muodostavat emäksisessä liuoksessa värillisiä yhdisteitä kupari-ionien kanssa. Reaktion aiheuttamaa värimuutos mitataan fotometrisesti aallonpituudella 540 nm. Väriin voimakkuus on suoraan verrannollinen proteiinin määrään näytteessä. Menetelmä käyttää EDTA:ta (etyleenidiamiinitetraetikkahappo) kupari-ionien sitomiseen eli kelatointiin proteiinimolekyyleihin ja stabilointiin (Thermo Fisher Scientific Oy 2015; Työterveyslaitos 2015.)

7 Opinnäytetyön toteutus

7.1 Tutkimusmenetelmä

Opinnäytetyössä käytettiin määrällistä tutkimusmenetelmää. Määrällisellä tutkimusmenetelmällä haetaan vastausta kysymykseen ”kuinka paljon”. Sen avulla vertaillaan ja karotetaan numeraalisesti jotakin asiaa, asian vaikutusta toiseen asiaan tai asian muutosta. Keskeisenä osana määrällisessä tutkimuksessa ovat hypoteesien esittäminen, aiemmat teoriat, ja johtopäätökset aiemmista tutkimuksista. (Vilkkä 2007: 14, 19, 175; Hirsjärvi – Remes – Sajavaara 2009: 140.)

Perusjoukkona eli tutkimuksen kohteena toimivat Metropolian bioanalyttikko-opiskelijat, tarkemmin heistä otetut laskimoverinäytteet. Otos koostui 15:stä vapaaehtoisesta bioanalyttikko-opiskelijasta. Kaikki vapaaehtoiset otettiin mukaan tutkimukseen (Vilkkä 2015: 98).

7.2 Näytteenotto ja näytteiden käsittely

Näytteet otettiin helmikuussa Metropolia AMK:n näytteenottoluokassa Vanhalla Viertotiellä. Tutkimukseen lupautui mukaan yhteensä 15 opiskelijaa. Yhden opiskelijan kohdalla näytteenotto ei useista yrityksistä huolimatta onnistunut, jolloin näytteenotosta luovuttiin. Vapaaehtoisilta otettiin yhteensä viisi 5 ml:n litium-hepariiniputkea verta. Opiskelijat ottivat tarvittavat verinäytteet toisiltaan ennalta koodattuihin putkiin. Putket koodattiin aakkostamalla putket. Lisäksi jokainen aikapiste merkittiin putkeen numeroinnilla (esimerkiksi A1, A2, jne.).

Ensimmäisen aikapisteen näytteet sentrifugoitiin, kun kaikki näytteet oli saatu otettua. Näitä näytteitä ei säilytetty ollenkaan jääkaapissa. Metropolia AMK:n näytteenottoluokassa ei ole jääkaappia, jolloin näytteet olisi pitänyt juoksuttaa yksitellen toisessa luokahuoneessa olevaan jääkaappiin. Muiden aikapisteiden näytteet siirrettiin jääkaappiin odottamaan sentrifugointia. Näytteet sentrifugoitiin taulukon 1 mukaisesti.

Taulukko 1. Näytteiden sentrifugoinnin aikapistet.

Aikapisteet	
1. aikapiste	1 tunnin sisällä näytteenotosta
2. aikapiste	3 tuntia näytteenotosta
3. aikapiste	8 tuntia näytteenotosta
4. aikapiste	24 tuntia näytteenotosta
5. aikapiste	76,5 tuntia näytteenotosta

Kolmen ensimmäisen aikapisteen näytteissä ei tapahtunut säilytyksen aikana silminnähtävää muutosta. Neljännen ja viidennen aikapisteen näytteissä solut olivat painuneet säilytyksen aikana putken pohjalle. Solujen pinnalle erottunut plasma oli silminnähten hemolysoitunutta. Ennen sentrifugointia näytteet sekoitettiin kääntelemällä putkia ympäri. Kaikki näytteet sentrifugoitiin Heraeus Instrumentsin valmistamalla Megafuge 1,0 sentrifugilla 2000 rpm nopeudella (n. 700 G), 10 minuutin ajan. Plasma eroteltiin eppendorf-putkiin, jotka siirrettiin pakastimeen $-34\text{ }^{\circ}\text{C}$:seen (Electrolux Medical Refridgeration) odottamaan analysointia.

7.3 Näytteiden analysointi ja tulosten käsittely

Näytteet analysoitiin Konelab 20XTi -analysaattorilla, joka on kliinisen kemian analysaattori. Konelab 20XTi on random-access -periaatteella toimiva analysaattori, joka on erikoistunut rutiini- sekä erikoiskemian analyysihin, kuten proteiinit, elektrolyytit, terapeuttiset lääkeaineet sekä huumeaineet. Random-access -menetelmällä toimivilla analysaattoreilla voidaan tehdä lähes kaikkia peruskemian analyyskejä, riippumatta muista näytteistä tai niistä pyydetyistä analyysistä. Konelab 20XTi -analysaattorilla on 84 rutiininäytepaikkaa kuudessa eri segmentissä, ja viisi paikkaa päivystysnäytteille. Analysaattori pystyy analysoimaan jopa 250 näytettä tunnissa. Sekä näytteitä että reagensseja

voidaan lisätä ja poistaa keskeyttämättä näytteiden analysointia. (Thermo Fisher Scientific Oy 2004; Åkerman – Savolainen – Pelliniemi – Koski 2014: 83.)

Näytteet analysoitiin viikon kuluttua näytteenotosta, maaliskuun ensimmäisellä viikolla. Näytteet otettiin sulamaan hyvissä ajoin, ja niiden annettiin sulaa kokonaan huoneenlämmössä ennen analysointia. Ennen näytteiden analysointia Konelab -analysaattorilla kalibroitiin yllä mainitut tutkimukset, sekä ajettiin tarvittavat kontrollit, ja varmistettiin että kontrollien ja vakioiden arvot ovat hyväksyttävissä rajoissa.

Analyysitulokset eli raakadata (LIITE 2) siirrettiin Microsoft -Excel -taulukko-ohjelmaan tulosten käsittelyä varten. Tulokset käsiteltiin tutkimuskohtaisesti. Jokaisen aikapisteen tuloksista laskettiin keskiarvo, joista piirrettiin taulukko-ohjelmalla kuvaaja. Aikapisteiden mittaustuloksia verrattiin toisiinsa käyttämällä varianssianalyysiä. Yksittäisten aikapisteiden tulosten vertaamiseen käytettiin t-testiä. Kahdessa edellä mainitussa menetelmässä käytettiin IBM SPSS Statistics -ohjelmaa.

CRP-tulokset päätettiin hylätä kokonaan mittavirheestä johtuen. Tulokset olivat negatiivisia, eivätkä siksi luotettavia. Ensimmäisen aikapisteen näytteet laimennettiin ja analysoitiin uudelleen, jolloin näytteille saatiin tulokset. Kaikkien aikapisteiden näytteitä ei kuitenkaan analysoitu uudelleen, sillä reagenssien ja näytteiden riittävydestä ei ollut varmuutta. Myös glutamyyli transferaasin kaksi viimeistä aikapistettä hylättiin ilmeisen mittavirheen takia. Yksittäisten tulosten kohdalla oli poikkeuksellisen matalia tuloksia, joita ei voitu pitää luotettavina. Työn tulokset esitellään kappaleessa kahdeksan.

7.4 Varianssianalyysi

Varianssianalyysi (ANOVA) on menetelmä, joka perustuu ryhmien sisäisen ja ryhmien välisen vaihtelun vertaamiseen. Menetelmä hyödyntää varianssia eli keskihajontojen neliötä muuttujien arvojen vaihtelun arvioinnissa. Jotta varianssianalyysiä voidaan käyttää, tulee tutkittavien arvojen noudattaa normaalijakaumaa. Myös muuttujan varianssien eli keskihajontojen neliöiden tulisi olla eri ryhmissä yhtä suuret, tai ainakin lähellä toisiaan. Tässä työssä käytettiin toistuvien mittausten yksisuuntaista varianssianalyysiä. Yksisuuntaisessa varianssianalyysissä, jossa kiinnostuksen kohteena on yksi muuttuja, kokonaisvaihtelu jaetaan ryhmien väliseen ja ryhmien sisäiseen vaihteluun. (Heikkilä, 2014: 210–211; Yhteiskuntatieteellinen tietokirja 2002.)

Näytteiden säilyvyydestä aiemmin tehtyjen tutkimusten perusteella asetettiin nollahypoteesi, H_0 , jonka mukaan näytteiden säilytys ei vaikuta analyysituloksiin. Vastahypoteesi, H_1 , mukaan näytteiden säilytys vaikuttaa analyysituloksiin merkittävästi. Varianssi-analyysin mukaan H_0 hypoteesi olisi muotoa ”eri aikapisteiden keskiarvot ovat samat” ja vastaavasti vastahypoteesi H_1 , että ”eri aikapisteiden keskiarvot poikkeavat toisistaan merkittävästi”. Merkitsevyystasoksi valittiin 0,05. Tulosten arvioinnissa parametrina käytettiin HUSLABin viitearvoja. (Heikkilä 2014: 184, 210–211.)

Merkitsevyystaso kertoo kuinka suurella todennäköisyydellä saatu riippuvuus tai ero johtuu sattumasta. Sen lyhenteenä käytetään p:tä (probability). Merkitsevyystaso mittaa todennäköisyyttä tehdä virheellinen johtopäätös silloin kun hypoteesi H_0 hylätään. Tulkinnaissa voidaan tehdä joko hylkäämisvirhe, jolloin hylätään oikea nollahypoteesi tai hyväksymisvirhe, jolloin hyväksytään väärä hypoteesi. Käytetty merkitsevyystaso, joka valitaan ennen tulosten analysointia, on se raja mikä riskitason tulee alittaa ennen kuin nollahypoteesi voidaan hylätä. Yleisesti käytetty merkitsevyystaso opinnäytetöissä on ollut 0,05 ($p < 0,05$), ja se valittiin myös tähän opinnäytetyöhön merkitsevyystasoksi. (Heikkilä 2014: 184.)

7.5 T-testi

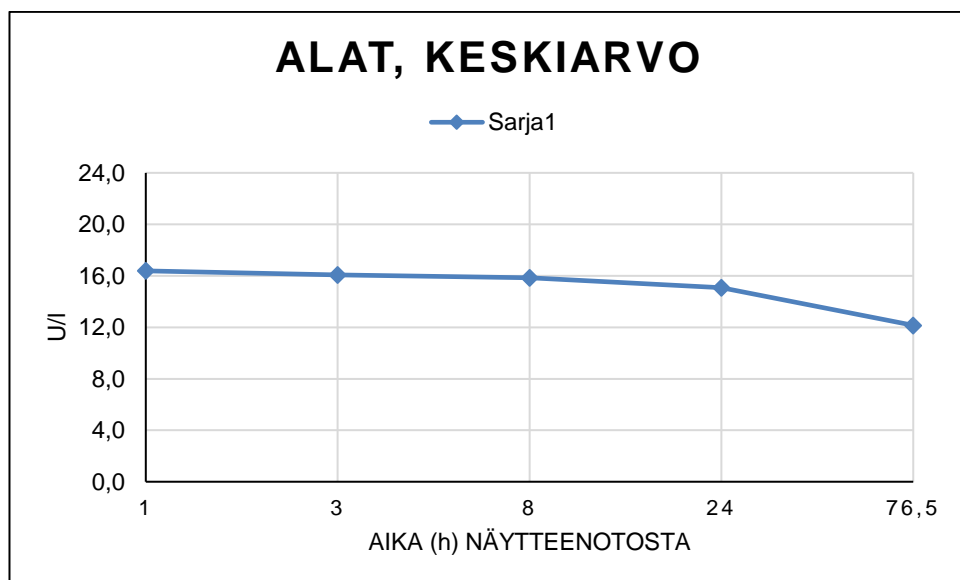
T-testiä käytettiin yksittäisten aikapisteiden vertaamiseen ensimmäisen aikapisteen tuloksiin. Siinä missä varianssianalyysiä käytetään useiden ryhmien vertaamiseen toisiinsa, t-testillä voidaan toisiinsa verrata kahta toisistaan riippumatonta otosta. Kuten varianssianalyysissä, myös t-testissä merkitsevyystasoksi eli p-arvoksi valittiin 0,05 ($p < 0,05$). (Heikkilä 2014: 215; Taanila 2016.)

Niiden analyyttien kohdalla, joiden varianssianalyysin tulos oli merkitsevä, määritettiin yksittäisten aikapisteiden merkitsevyystaso suhteessa ensimmäiseen aikapisteeseen parillisen t-testin avulla. Mikäli tehdään monta t-testiä yhtä aikaa, on hyvin todennäköistä, että jokin niistä todetaan merkittäväksi sattumalta. Tämän riskin pienentämiseksi t-testeissä hyödynnettiin Bonferronin korjausta. Bonferronin korjauksessa p-arvo (α) jaetaan testien määrällä (n) (Armstrong 2014: 502-503).

8 Työn tulokset

8.1 Alaniiniaminotrasferaasi

ALAT-tuloksissa näytteenantaja A:n tulokset poikkesivat huomattavasti sarjan muista tuloksista. Yksittäinen korkea tulossarja vääristi liikaa varianssianalyysin vaatimaa normaalijakaumaa, mistä johtuen A-sarjan tulokset jätettiin pois sekä keskiarvokuvaajalta, että varianssianalyysistä ja t-testeistä. A:ta lukuun ottamatta kaikki näytteet mahtuivat viitearvoihin (taulukko 2). Alaniiniaminotrasferaasin puoliintumisaika on 1–3 vuorokautta (Yhtyneet Medix laboratoriot 2016), mikä on nähtävissä pitoisuuden hienoisena laskuna neljännen ja viidennen aikapisteen kohdalla.



Kuvio 1. Alaniiniaminotrasferaasi, keskiarvokuvaaja.

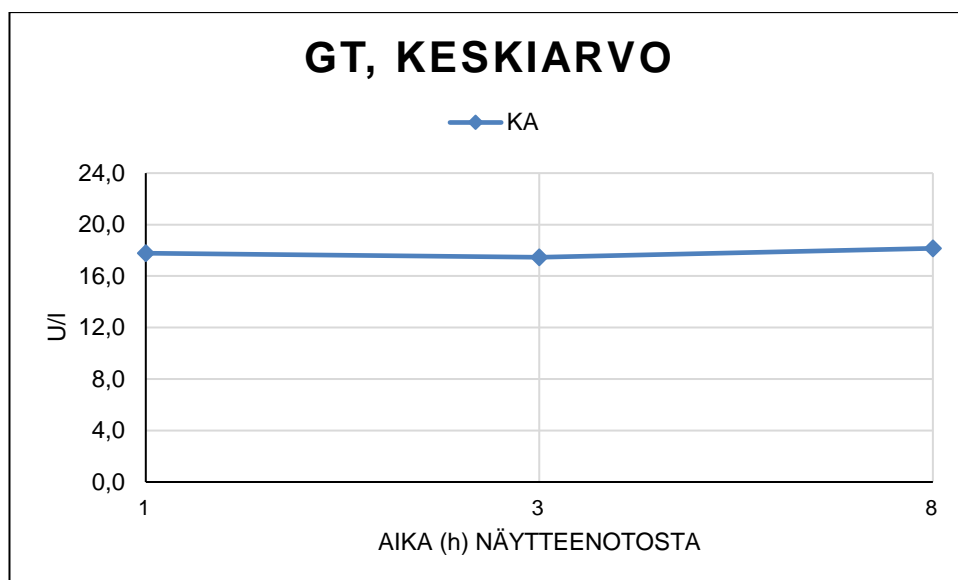
Taulukko 2. P-ALAT-viitearvot (HUSLAB tutkimusohjekirja).

Viitearvot	
	U/I
lapset, 0 - 16 v	alle 40
miehet, 17 v->	alle 50
naiset, 17 v->	alle 35

Varianssianalyysistä saatiin p -arvo $<0,001$, $[F(4,44)=8,895]$, kun A-sarjan tulokset jätettiin huomiotta. Tämän perusteella H_0 -hypoteesi hylätään, ja H_1 -hypoteesi astuu voimaan. T-testit osoittivat, että ALAT-arvot aikapisteissä 8 ja 76,5 h näytteenotosta olivat merkitsevästi pienempiä ($p=0,011$ ja $p=0,003$) kuin tunnin kuluttua näytteenotosta.

8.2 Glutamyylitransferaasi

Glutamyylitransferaasin kaksi viimeistä aikapistettä (aikapisteet 4 ja 5) päätettiin hylätä yksittäisten liian alhaisten tulosten vuoksi. Tulokset poikkesivat muusta sarjasta niin paljon, ettei niitä voitu pitää luotettavina. Ne myös vääristivät keskiarvokuvaajaa (kuvio 2). Glutamyylitransferaasin puoliintumisaika on noin kaksi viikkoa (Eskelinen 2016b), mikä näkyy myös keskiarvokuvaajan (kuvio 2) tasaisuutena. A-sarjan tulokset olivat myös glutamyylitransferaasin kohdalla yli viitearvojen, muiden arvojen ollessa viiterajoissa (taulukko 3). Myös glutamyylitransferaasin kohdalla A-sarjan arvot jätettiin pois sekä keskiarvokuvaajalta että varianssianalyysistä ja t-testistä, samasta syystä kuin alaniiniaminotransferaasin kohdalla.



Kuvio 2. Glutamyylitransferaasi, keskiarvokuvaaja.

Taulukko 3. P-GT viitearvot (HUSLAB tutkimusohjekirja).

Viitearvot	
	U/l
lapset, alle 1 kk	alle 300
1 kk - 16 v	alle 50
miehet, 17 v->	alle 60
naiset, 17 v->	alle 40

Varianssianalyysin p-arvoksi saatiin 0,027 [$F(2,24)=4,231$], kun analyysi tehtiin aikapisteillä 1–3, ilman A-sarjan tuloksia. Jatkotesteissä ei kuitenkaan havaittu eroja verrattaessa 3 ja 8 tunnin aikapisteitä 1 tunnin aikapisteeseen ($p>0,05$). Hypoteesi H_0 jää siis voimaan.

8.3 Kalium

Kalium-tuloksissa havaittiin selvää nousua aikapisteissä 4 ja 5 (kuvio 3). Solujen hajo-
tessa säilytyksen aikana, kalium solunsisäisenä kationina on todennäköisesti vapautunut
plasmaan ja nostanut plasman kalium-pitoisuutta. Solujen hajoaminen oli todettavissa
myös silmämääräisesti neljännen ja viidennen aikapisteen plasmanäytteiden hemolysoi-
tumisena. Aikapisteissä 1–3 kaliumarvot ovat viitearvojen sisällä, mutta aikapisteissä 4
ja 5 viitearvot ylittyvät huomattavasti (taulukko 4).



Kuvio 3. Kalium, keskiarvokuvaaja.

Taulukko 4. P-K viitearvot (Huslab tutkimusohjekirja).

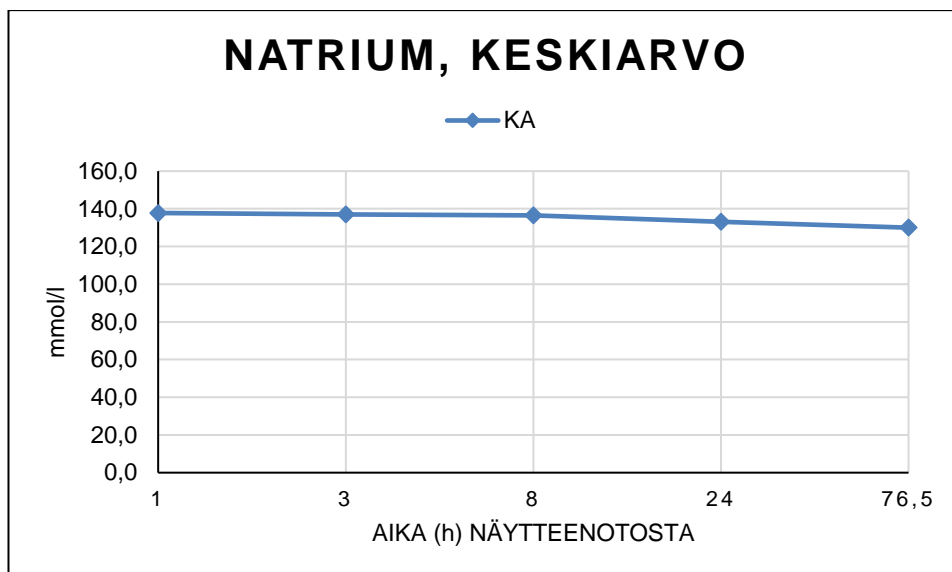
Viitearvot	
	mmol/l
lapset, 0 - 16 v	3.3 - 5.2
aikuiset, yli 16 v	3.3 - 4.9

Varianssianalyysiä laskettaessa huomioitiin kaikkien aikapisteiden kaikki tulokset. P-arvo oli alle 0,001 [$F(4,52)=281,64$]. Koska p-arvo on pienempi kuin 0,05 ($p<0,05$), voidaan keskiarvojen eroa pitää tilastollisesti merkittävänä. Tällöin H_0 -hypoteesi hylätään, ja vaihtoehtoinen H_1 -hypoteesi jonka mukaan keskiarvojen ero on tilastollisesti merkitsevä, astuu voimaan. Kaliumin kohdalla voidaan siis näiden tulosten perusteella todeta, että näytteen säilytysajalla on vaikutusta analyysituloksiin.

Kaksisuuntaisen t-testin avulla saatiin selville, että p-arvo tippui jokaisen parin kohdalla alle 5 %:n. Aikapisteet 1 ja 2: $p=3,3 \cdot 10^{-5}$, aikapisteet 1 ja 3: $p=6,7 \cdot 10^{-8}$, aikapisteet 1 ja 4: $p=6,5 \cdot 10^{-9}$, ja aikapisteet 1 ja 5: $p=5,5 \cdot 10^{-10}$. Vaikka kolmen ensimmäisen aikapisteiden tulokset ovat viitearvojen perusteella hyväksyttäviä, on niissä tilastollisesti merkittävää muutosta.

8.4 Natrium

Natrium-arvoissa on nähtävissä vähäistä muutosta, mutta ei yhtä radikaalia muutosta kuin kaliumin kohdalla (kuvio 4). Natrium on solunulkoinen kationi, eikä solujen hajoaminen vaikuta sen pitoisuuteen samalla tavoin kuin kaliumin kohdalla. Kuten kaliumin kohdalla, natriumin pitoisuudet ovat viitearvojen sisällä aikapisteissä 1-3 (taulukko 5). Siinä missä kaliumin pitoisuudet ovat nousseet kahden viimeisen aikapisteiden kohdalla, ovat natriumin pitoisuudet vastaavasti laskeneet.



Kuvio 4. Natrium, keskiarvokuvaaja.

Taulukko 5. P-Na viitearvot (HUSLAB tutkimusohjekirja).

Viitearvot	
	mmol/l
kaikki	137 - 145

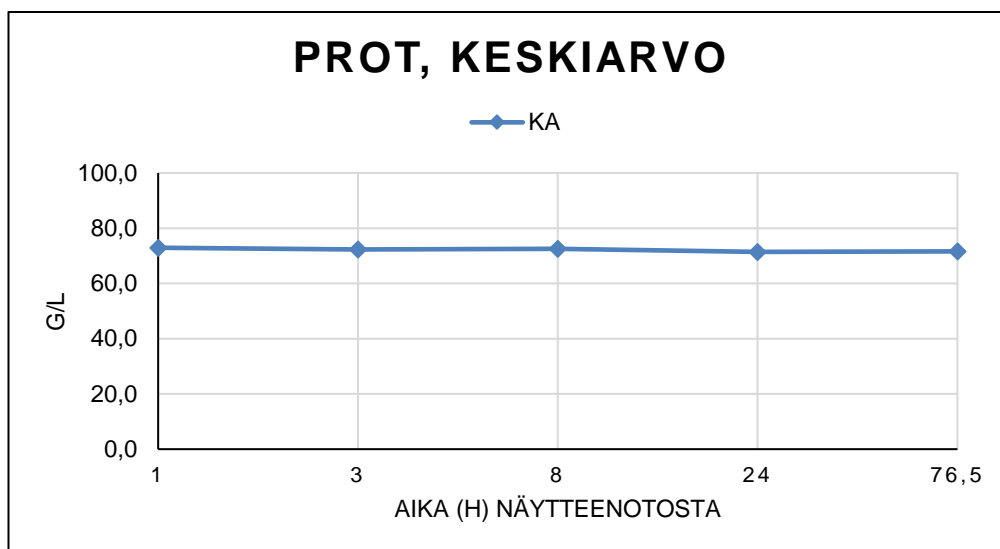
Varianssianalyysin tulokseksi saatiin p-arvo $<0,001$ [$F(4,52)=45,498$]. Varianssianalyysin perusteella H_0 -hypoteesi hylättäisiin ja vaihtoehtoinen H_1 -hypoteesi astuisi voimaan, eli keskiarvojen ero olisi tilastollisesti merkittävä myös natriumin kohdalla.

Vertaamalla muita aikapisteitä yksi kerrallaan 1. aikapisteeseen kaksisuuntaisen t-testin avulla saatiin selville, että aikapisteiden 2 ja 3 kohdalla p-arvo oli suurempi kuin 5 % ja aikapisteiden 4 ja 5 kohdalla pienempi kuin 5 %, eli tulosten välillä ei ollut merkittäviä eroja säilytysajan ollessa 8 tuntia tai sen alle. Aikapisteet 1 ja 2: $p=1,04$, aikapisteet 1 ja 3: $p=0,23$, aikapisteet 1 ja 4: $p=2,23 \cdot 10^{-5}$, ja aikapisteet 1 ja 5: $p=2,42 \cdot 10^{-6}$, jolloin tilastollisesti merkitsevä ero on vain aikapisteiden 4 ja 5 tuloksissa.

8.5 Proteiini

Proteiinipitoisuudet säilyivät tasaisina kaikissa aikapisteissä (kuvio 5). Vaikka neljännen ja viidennen aikapisteiden kohdalla onkin havaittavissa laskua tulostasossa, on se hyvin maltillista. Näin vähäistä muutosta ei voida pitää merkittävänä, vaan sen voidaan katsoa

johtuvaksi mittausepävarmuudesta. Arvot pysyivät viiterajojen sisäpuolella kaikissa aikapisteissä (taulukko 6).



Kuvio 5. Kokonaisproteiini, keskiarvokuvaaja.

Taulukko 6. P-Prot viitearvot (HUSLAB tutkimusohjekirja).

Viitearvot	
	g/l
lapset, 0 - 30 vrk	43 - 75
31 vrk - 12 kk	52 - 73
13 kk - 6 v	60 - 78
7 - 12 v	60 - 84
13 - 16 v	65 - 86
17 v	60 - 85
aikuiset, alkaen 18 v	62 - 78

Varianssianalyysin tulokseksi saatiin p-arvo 0,132 [$F(4,52)=1,855$], joka on suurempi kuin 0,05 ($p>0,05$). Proteiinimääritysten kohdalla H_0 -hypoteesi jää voimaan. Tulosten perusteella voidaan todeta, ettei säilytysajalla ole ollut merkittävää vaikutusta analyysituloksiin.

8.6 Yhteenveto

ALATin kohdalla tuloksissa nähdään vähäistä laskua, mikä on yhtenevää alaniinitransferaasin puoliintumisajan (1–3 vrk) kanssa. Glutamyyli-transferaasin kohdalla samalaista laskua ei nähdä johtuen glutamyyli-transferaasin huomattavasti pidemmästä puoliintumisajasta (1–2 viikkoa).

Kalium-pitoisuudet nousevat huomattavasti kolmannen aikapisteen jälkeen, mikä johtuu solujen hajoamisesta ja solunsisäisen kaliumin vapautumisesta plasmaan. Natriumpitoisuudet lähtevät vähäiseen laskuun kolmannen aikapisteen jälkeen. Koska keskiarvot ovat lähellä viitearvojen alarajaa jo ensimmäisissä aikapisteissä, pienikin lasku pudottaa keskiarvot viitearvojen ulkopuolelle. Merkitsevä tämä pudotus on vain kahden viimeisen aikapisteen kohdalla.

Proteiinipitoisuudet pysyvät tasaisina läpi sarjan. Yksittäiset vaihtelut johtunevat yksilöiden välisistä eroista sekä kaikkeen analytiikkaan liittyvästä mittausepävarmuudesta. Kaikkien aikapisteiden keskiarvot pysyvät viitearvojen sisäpuolella.

9 Pohdinta

9.1 Opinnäytetyön tulokset suhteessa aikaisempiin tutkimuksiin

Opinnäytetyössä saadut tulokset ovat yhteneviä aikaisempien tutkimusten kanssa, vaikka tulosten vertailun tekeekin haasteelliseksi se, että verinäytteiden säilyvyyttä on tutkittu useilla eri tavoilla. Säilytysajan ollessa lyhyt, ei lämpötilalla tai sillä säilytetäänkö näyte kokoverenä, sentrifugoituna mutta plasma erottelematta tai sentrifugoituna ja plasma eroteltuna, vaikuttaisi olevan suurta merkitystä näytteiden analyysituloksiin (pois lukien kalium). Yhdessäkään löytämässäni tutkimuksessa näytteitä ei pakastettu sentrifugoinnin ja analysoinnin välillä. On mahdotonta ottaa kantaa siihen, vaikuttiko näytteiden pakastaminen analyttien tuloksiin. (Jinks – Brooks-White – Bush 2013; Van Vrancken – Briscoe – Anderson – Wians Jr 2012; Henriksen – Faber – Moller – Nexø – Hansen 2014; Leino – Koivula 2009; Boyanton Jr – Blick 2002.)

Kuten tästäkin opinnäytetyöstä käy ilmi, kalium on hyvin epästabiili analytti. Sen pitoisuus nousee herkästi, huolimatta siitä säilytetäänkö näyteputkia jääkaappilämpötilassa

vai huoneenlämmössä. Vaikka kaikki muutokset eivät olleet tilastollisesti merkitseviä, esiintyi kaliumin pitoisuuksissa nousua jokaisen tutkimuksen kohdalla. Kaikissa paitsi yhdessä tutkimuksessa myös ALAT todettiin epästabiiliksi analytyiksi. ALATin pitoisuuden laskun todettiin olevan vähäistä, mutta kliinisesti merkittävää. Natrium vastaavasti oli tutkimusten perusteella stabiilein analytti, säilyen analyysikelpoisena jopa neljä vuorokautta. Vaikka tutkimustuloksissa esiintyi muutosta natriumin tuloksissa, se oli huomattavasti maltillisempaa kuin tässä opinnäytetyössä saaduissa tuloksissa. (Jinks – Brooks-White – Bush 2013; Van Vrancken – Briscoe – Anderson – Wians Jr 2012; Henriksen – Faber – Moller – Nexo – Hansen 2014; Leino – Koivula 2009; Boyanton Jr – Blick 2002.)

GT:n kohdalla kahdessa tutkimuksessa kolmesta ei havaittu merkittävää pitoisuuden muutosta. Boyanton Jr:n ja Blickin tutkimuksessa, jossa verinäytteitä säilytettiin sentrifugoimattomina huoneenlämmössä, GT-pitoisuus nousi tasaisesti jokaisessa aikapisteessä. Vaikka nousu oli maltillista, se poikkeaa kahdesta muusta tutkimuksesta. (Boyanton Jr – Blick 2002: 2245–2246; Leino – Koivula 2009: 160; Henriksen – Faber – Moller – Nexo – Hansen 2014: 607.)

Riippumatta siitä, säilytettiinkö näytteitä huoneenlämmössä vai jääkaappilämpötilassa, kokonaisproteiinipitoisuudessa ei tapahtunut merkittäviä muutoksia pitkilläkään säilytysajoilla. Kun näytettä säilytettiin huoneenlämmössä sentrifugoimattomassa litium-hepariiniputkessa, kokonaisproteiinipitoisuudessa oli havaittavissa hienoista nousua. Nousu oli kuitenkin niin vähäistä, ettei sillä ollut kliinistä tai tilastollista merkitystä. (Boyanton Jr – Blick 2002; Jinks – Brooks-White – Bush 2013; Van Vrancken – Briscoe – Anderson – Wians Jr 2012.)

Opinnäytetyön tulokset ovat pienestä otoskoosta huolimatta saman suuntaisia aiheesta aiemmin tehtyjen tutkimusten kanssa. Tämä lisää osaltaan tulosten luotettavuutta. Yksittäiset erot tutkittavien analytytien kohdalla voivat johtua näytteiden erilaisista säilytystavoista ja lämpötiloista.

Tämän opinnäytetyön sekä aikaisempien tutkimustulosten perusteella Helsingin Biopankin työohje, jonka mukaan näytteen tulee olla 24 tunnin kuluessa näytteenotosta Biopankissa, on mielestäni liian pitkä aika, kun aikarajaa arvioi epästabiilimpien analytytien, kuten kaliumin ja ALATin kannalta (HUSLAB 2016a). Vastaavasti stabiileimmat analytyt kuten proteiini, GT ja natrium säilyvät hyvin analyysikelpoisina. Koska Biopankin näytteistä ei tiedetä etukäteen mihin niitä lopulta käytetään, on

aikarajan määrittäminen haasteellista. Herkimpien analyyttien kannalta näytteen käsittely saman työpäivän aikana, kun näyte on otettu, voisi vähentää epäluotettavia mittaustuloksia. Toinen vaihtoehto analyyttien säilymiselle voisi myös olla näytteiden sentrifugointi ja erottelu heti näytteenoton jälkeen laboratoriossa ennen näytteiden lähettämistä Biopankkiin.

9.2 Eettisyys

Opinnäytetyössä noudatettiin hyvää tieteellistä käytäntöä, joka tarkoittaa eettisesti kestäviä tiedonhankintamenetelmiä ja tutkimusmenetelmiä. Opinnäytetyön tiedonhankinta perustui laboratorioalan kirjallisuuteen ja tieteellisiin julkaisuihin. (Vilkkä 2015: 41–42.) Opinnäytetyössä noudatettiin lähdekritiikkiä ja pyrittiin käyttämään vain uusimpia julkaisuja. Tiedonhaussa käytettiin Cochrane, Medic, ja PubMed -tietokantoja.

Opinnäytetyöhön osallistuminen oli vapaaehtoista. Näytteenantajille kerrottiin sanallisesti sekä annettiin luettavaksi Helsingin Biopankin suostumusasiakirja sekä kerrottiin mahdollisuudesta peruttaa suostumus, milloin tahansa. Näytteenantajien yksityisyyttä kunnioitettiin koodaamalla näytteet. Tuloksia käsiteltiin kokonaisuuksina, eikä yksittäistä näytteenantajaa ole mahdollista tunnistaa tuloksista.

Opinnäytetyötä varten haettiin HUS:n opinnäytetyön tutkimuslupa. Eettisen toimikunnan lausuntoa ei tarvittu, sillä sen korvasi jokaiselta näytteenantajalta vaadittava allekirjoitettu Helsingin Biopankin suostumusasiakirja (LIITE 1). Ennen opinnäytetyön aloittamista Metropolia AMK:n ja Helsingin Biopankin välille solmittiin sopimus opinnäytetyöprojektista.

9.3 Luotettavuus

Tutkimuksen luotettavuuden arvioinnissa hyödynnetään reliabiliteettiä ja validiteettiä. Reliabiliteetilla tarkoitetaan tutkimuksen toistettavuutta ja validiteetilla tutkimuksen kykyä mitata sitä mitä tutkimuksella on tarkoitus mitata. (Vilkkä 2007: 149–150.) Näytteiden käsittelyssä ja analysoinnissa, sekä tulosten kirjaamisessa ja käsittelyssä noudatettiin tarkkuutta ja huolellisuutta. Ennen näytteiden analysointia analysaattoreilla ajettiin kontrollit ja vakiot. Näin varmistettiin tulosten oikeellisuus ja verrattavuus viitearvoihin. Tulosten tulkinnassa otettiin huomioon mahdollinen mittavirhe ja näytteenotosta sekä yksilöiden välisistä eroista mahdollisesti aiheutuvat erot tuloksissa. Opinnäytetyösuunnitelmaa

kirjoitettaessa ja opinnäytetyötä tehtäessä huomioitiin työn toistettavuus. Tulosten luotettavuutta arvioitiin vertaamalla tuloksia viitearvoihin.

Opinnäytetyön luotettavuuteen vaikuttaa se, ettei näytteille tehty rinnakkaismäärittäyksiä. Rinnakkaismittauksia harkittiin työn suunnitelmavaiheessa, mutta ne jätettiin pois koska rinnakkaismittausten mukaan ottaminen olisi kaksinkertaistanut näyteputkien määrän nykyisestä 70:stä 140:en. Biopankin edustaja ja opinnäytetyön työelämäohjaaja ei myöskään katsonut rinnakkaismittauksia tarpeellisiksi. Rinnakkaismittaukset olisivat kuitenkin lisänneet analyysien luotettavuutta, ja mahdollistaneen rinnakkaisen tuloksen hyväksymistä, vaikka toinen tuloksista olisikin epäonnistunut. Jos rinnakkaismittaukset olisi otettu mukaan työhön, olisi tutkittavien analyyttien määrää pitänyt supistaa nykyisestä.

Toinen luotettavuuteen vaikuttava tekijä on pieni otoskoko. Jotta tuloksia voitaisiin pitää tilastollisesti luotettavina, pitäisi otoskoon olla vähintään 50. Pieni otoskoko vaikuttaa myös varianssianalyysin luotettavuuteen. Kun nämä seikat otetaan huomioon, voidaan saatuja tuloksia pitää kuitenkin suuntaa-antavina. Varianssianalyysi valittiin tulosten käsittelemiseksi koska se sopii hyvin ryhmien väliseen vertailuun, ja koska toimeksiantaja sitä erityisesti toivoi.

CRP-analyysit epäonnistuivat kokonaan, eikä sarjalle saatu tulosta. Osa tuloksista oli negatiivisia, mikä johti lopulta koko sarjan hylkäämiseen. Ensimmäisen aikapisteen näytteet laimennettiin ja analysoitiin uudelleen, jolloin negatiivisia tuloksia ei enää esiintynyt. Tämän perusteella kaikki CRP-tulokset olisi pitänyt laimentaa ja analysoida uudelleen. Tähän ei kuitenkaan päädytty, sillä ei ollut varmuutta siitä, että kaikille näytteille olisi laimennuksen jälkeenkään saatu luotettavaa tulosta. Reagenssien ja näytteiden riittävyys oli myös epävarmaa. Näytteiden laimennuksessa käytettiin analysaattorin tarjoamaa ”ylemp.sekund.laim.” -suhdetta 1:2, joka on laitevalmistajan tutkima, luotettava laimennossuhde (Särkelä 2015).

Näytteet olivat silmämääräisesti katsottuna sameita sulatuksen jälkeen. Näytteiden sameus on voinut olla syynä CRP-analyysien epäonnistumiseen, sillä mittausmenetelmä perustuu juuri sameuden ja siitä siroavan valon mittaamiseen.

GT-analyysien yksittäiset matalat tulokset johtuvat mitä ilmeisimmin mittavirheestä tai pipetointivirheestä. Analysaattori ei kuitenkaan antanut mitään hälytystä tai virheilmoitusta matalien tulosten kohdalla. Näytteiden uudelleenanalysointi olisi voinut korjata virheen.

9.4 Työn arviointi ja jatkotutkimusmahdollisuudet

Opinnäytetyön myötä pääsin syventämään kliinisen kemian teoriaosaamistani. Opin soveltamaan kirjoista oppimaani tietoa käytäntöön ja pääsin laajentamaan kliinisen kemian harjoittelujaksolla saamaani käytännön tietoa. Opinnäytetyö kehitti ongelmanratkaisukykyäni ja varmuuttani päätöksenteossa. Yhteistyö toimeksiantajan kanssa sujui hyvin. Sain tämän opinnäytetyön myötä mahdollisuuden työskennellä kiinnostavan ja ajankohtaisen aiheen parissa.

Opinnäytetyön tuloksia voisi hyödyntää jatkotutkimuksissa laajentamalla tutkimusvalikoomaa ja aikapisteiden määrää. Työhön voisi myös liittää rinnakkaisnäytteet, mikä lisäisi tulosten luotettavuutta. Tällöin mahdollisesti kyseenalaisia tuloksia ei välttämättä tarvitsisi hylätä, vaan sen luotettavuutta voitaisiin arvioida vertaamalla saatua tulosta rinnakkaisnäytteen tulokseen.

Lähteet

Armstrong, Richard A. 2014. When to use the Bonferroni correction. *Ophtalmic & Physiological Optics* 34. 502-508.

Boyanton, Bobby L. – Blick, Kenneth E. 2002. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clinical Chemistry* 48 (12). 2242–2247.

Eskelinen, Seija 2016a. Alaniiniaminotransferaasi (P-Alat). Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti.
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03071> Luettu 16.1.2017.

Eskelinen, Seija 2016b. Glutamyyli transferaasi (P-GT). Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti.
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03073> Luettu 1.4.2017.

Eskelinen, Seija 2016c. Kalium (P-K). Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti.
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03062> Luettu 31.3.2017.

Eskelinen, Seija 2016d. Natrium (P-Na). Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti.
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03061> Luettu 21.2.2017.

Estridge, Barbara H. – Reynolds, Anna P. 2008. Basic clinical laboratory techniques. 5th edition. USA: Thomson Delmar Learning.

Färkkilä, Matti 2012. Maksan ja sappiteiden sairaudet. Therapia Fennica. Verkkodokumentti. < <http://archive.is/pqUb> > Luettu 1.4.2017.

Halonen, Toivo 2003. Fotometriset menetelmät. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.): Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY. 66–76.

Heikkilä, Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. 9., uudistettu painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

Henriksen, Linda O. – Faber, Nina R. - Møller, Mette F. – Nexø, Ebba - Hansen, Annebirthe B. 2014. Stability of 35 biochemical and immunological routine tests after 10 hours storage and transport of human whole blood at 21 °C. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 74 (7). 603–610.

Hirsjärvi, Sirkka – Remes, Pirkko – Sajavaara, Paula 2009. Tutki ja kirjoita. 15., uudistettu painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

HUSLAB. 2014a. Tutkimusohjekirja. Alaniiniaminotransferaasi, plasmasta. Verkkodokumentti. < <https://huslab.fi/ohjekirja/1024.html> > Luettu 16.1.2017.

HUSLAB 2014b. Tutkimusohjekirja. Natrium, plasmasta. Verkkodokumentti. <<https://huslab.fi/ohjekirja/3622.html>> Luettu 31.3.2017.

HUSLAB 2015a. Tutkimusohjekirja. C-reaktiivinen proteiini, plasmasta. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/4594.html>> Luettu 16.1.2017.

HUSLAB 2015b. Tutkimusohjekirja. Kalium, plasmasta. Verkkodokumentti. <<https://huslab.fi/ohjekirja/1999.html>> Luettu 31.3.2017.

HUSLAB 2015c. Tutkimusohjekirja. Proteiini, seerumista. Verkkodokumentti. <<https://huslab.fi/ohjekirja/2516.html>> Luettu 31.1.2017.

HUSLAB 2016a. Tutkimusohjekirja. Biopankki, plasmasta. Verkkodokumentti. <http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=21465&terms=p-bio> Luettu 5.1.2017.

HUSLAB 2016b. Tutkimusohjekirja. Glutamyyli transferaasi, plasmasta. Verkkodokumentti. <<https://huslab.fi/ohjekirja/4597.html>> Luettu 31.3.2017.

Irjala, Kerttu 2014. Proteiinitutkimukset. Teoksessa Niemelä, Onni, – Pulkki, Kari (toim.): Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 135–140.

Jinks, Dorothea – Brooks-White, Rebecca – Bush, Valerie 2013. Evaluation of Refrigerated Stability of 15 Analytes in Lithium Heparin Gel Primary Tubes. Lab Medicine 44 (1). 45–51.

Leino, Aila – Koivula, M K 2009. Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples. Annals of Clinical Biochemistry 46. 159–161.

Matikainen, Anna-Mari – Miettinen, Marja – Wasström, Kalle 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: EDITA.

Mustajoki, Pertti 2017. Suolahormonin liikatuotto (hyperaldosteronismi, PHA). Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti. <http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00993> Luettu 31.3.2017.

Mustajoki, Pertti 2015. Veren suolapitoisuuksien muutoksia. Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti. <http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00097> Luettu 21.2.2017

Niemelä, Onni – Parkkila, Seppo 2014. Maksan laboratoriotutkimukset. Teoksessa Niemelä, Onni – Pulkki, Kari (toim.): Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 167–177.

Penttilä, Ilkka 2003. Entsyymianalyysien periaatteet. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY. 82–89.

Suomen Biopankit a. Biopankkien esittely. Verkkodokumentti. <<http://www.biopankki.fi/biopankkien-esittely/>> Luettu 16.11.2016.

Suomen biopankit b. Biopankkilaki ja säätely. Verkkodokumentti. <<http://biopankki.fi/biopankkilaki-ja-saately/>> Luettu 16.11.2016.

Suomen Biopankit c. Mikä on biopankki? Verkkodokumentti.
<<http://www.biopankki.fi/mika-on-biopankki/>> Luettu 16.11.2016.

Suomen Biopankit d. Osallistuminen biopankkitutkimukseen. Verkkodokumentti.
<<http://www.biopankki.fi/osallistuminen-biopankkitutkimukseen/>> Luettu 16.11.2016.

Särkelä, Timo 2015. Konelab-analysaattorit. Thermo Fisher Scientific.
Luentomateriaali. Luento pidetty 4.2.2015.

Tapola, Hilka 2003. Näytteiden käsittely ja lähettäminen sekä kuljetus. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.): Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY. 29–31.

Thermo Fisher Scientific Oy 2004. Konelab Reference Manual. Verkkodokumentti.
<www.yeec.com/uploadimages1/forum/kone/konelabreferencemanual.pdf> Luettu 1.4.2017.

Thermo Fisher Scientific Oy 2014a. ALT/GPT -reagenssin pakkausseloste.

Thermo Fisher Scientific Oy 2014b. Gamma-GT -reagenssin pakkausseloste.

Thermo Fisher Scientific Oy 2015. Total Protein Plus -reagenssin pakkausseloste

Thermo Fisher Scientific Oy 2016. CRP -reagenssin pakkausseloste.

Tuokko, Seija – Rautajoki, Anja – Lehto, Liisa 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Työterveyslaitos 2015. OVA-ohje: EDTA. Verkkodokumentti.
<<http://www.ttl.fi/ova/edta.html>> Luettu 17.4.2017.

Uotila, Lasse 2014. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasapaino. Teoksessa Niemelä, Onni – Pulkki, Kari (toim.): Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 93–120.

Valtioneuvoston asetus biopankkilaista 688/2012. Annettu Helsingissä 30.11.2012.

Valvira 2013. Biopankit. Verkkodokumentti.
<<http://valvira.fi/terveydenhuolto/toimintaluvat/biopankit>> Luettu. 16.11.2016.

Van Vrancken, Michael J. – Briscoe, Donna – Anderson, Katherine M. – Wians Jr, Frank H. 2012. Time-Dependent Stability of 22 Analytes in Lithium-Plasma Specimens Stored At Refrigerator Temperature For Up To 4 Days. Lab Medicine 43 (6). 268–275.

Vilka, Hanna 2015. Tutki ja kehitä. 4., uudistettu painos. Jyväskylä: PS-Kustannus.

Vilka, Hanna 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Yhteiskuntatieteellinen tietovarasto 2002. Varianssianalyysi. Menetelmäopetuksen tietovarasto. Verkkodokumentti.
<<http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/varienssi/anova.html>> Luettu 19.4.2017.

Yhtyneet Medix laboratoriot. 2016. Alaniiniaminotransferaasi. Verkkodokumentti.
<http://www.yml.fi/tuotekuvaus_show.php?tuotenro=8> Luettu 4.4.2017.

Åkerman, Kari – Jokela, Hannu 2014. Entsymaattiset menetelmät. Teoksessa Niemelä, Onni, - Pulkki, Kari (toim.): Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 67–70.

Åkerman, Kari – Jokela, Hannu – Savolainen, Kari – Parviainen, Markku – Savolainen, Eeva-Riitta – Orpana, Arto 2014. Laboratorion perusmenetelmät. Teoksessa Niemelä, Onni – Pulkki, Kari (toim.): Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 49–78.

Åkerman, Kari – Savolainen, Eeva-Riitta – Pelliniemi, Tarja-Terttu – Koski, Tomi 2014. Laboratoriolaitteet. Teoksessa Niemelä, Onni, –, Pulkki, Kari (toim.): Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 79–92.

Helsingin Biopankki, biopankkisuostumus



HELSINGIN BIOPANKKI
HELSINGFORS BIOBANK
HELSINKI BIOBANK

BIOPANKKISUOSTUMUS

Allekirjoittamalla vahvistan, että olen lukenut ja ymmärtänyt oheisen **Helsingin Biopankin selvityksen näytteenantajalle** ja annan sen mukaisesti suostumuksen siihen, että näytteitäni sekä niitä ja minua koskevia henkilötietoja saa

- kerätä biopankkiin ja liittää toisiinsa sekä säilyttää ja käsitellä biopankissa,
- yhdistää muuhun rekisteritietoon selvityksessä kuvatulla tavalla,
- luovuttaa koodattuna biopankkitutkimukseen myös Euroopan Unionin ulkopuolelle,
- luovuttaa tunnistettuna, jos siihen on perusteltu tarve (esim. henkilötunnuksen antaminen toiselle rekisterinpitäjälle aineistojen yhdistämistä varten).

Olen saanut riittävän selvityksen suostumuksen antamisen merkityksestä ja ymmärrän, että suostumus on vapaaehtoinen. Voin perua koska tahansa nyt tai aiemmin antamani suostumuksen sekä kieltää siirrettyjen aineistojen käytön.

Lisäksi suostun siihen, että biopankki voi ottaa minuun yhteyttä seuraavissa tapauksissa (*vastaa kyllä tai ei*):

- ilmoittaakseen minulle näytteestäni selvinneestä, terveyteni kannalta merkittävästä löydöksestä.

☐

Kyllä

☐

Ei

- tiedustellakseen halukkuuttani osallistua sellaiseen tutkimukseen tai näytteenottoon, jota tämä suostumus ei mahdollista.

☐

Kyllä

☐

Ei

Suostumuksen antajan tiedot

Suostumuksen antajan nimi:

Henkilötunnus (tai sen puuttuessa syntymäaika):

Paikka ja päiväys:

Suostumuksen antajan allekirjoitus:

Suostumuksen vastaanotto

Paikka ja päiväys:

Vastaanottajan nimi ja allekirjoitus:

www.helsinginbiopankki.fi
biopankki@hus.fi
p. 050-421 7659

Helsingin Biopankki
PL400
00029 HUS



HBP01-011115

v.1.11.2015

Raakadata

Analyysien raakadata tutkimuksittain. Vaaka-akselilla aikapisteet (1-5) ja pystyakselilla koodatut näytteenantajat (A-O).

ALAT

	1	2	3	4	5
A	72	71	69	71	68
B	7	6	7	6	3
C	12	12	11	13	6
D	19	18	19	19	14
E	14	15	14	15	7
F	17	18	17	17	19
G	25	24	24	24	25
H	11	10	10	11	12
I	14	14	14	14	7
J	23	21	22	24	19
K	19	19	18	19	16
M	16	17	16	10	8
N	15	14	14	8	7
O	21	21	20	16	15
KA	20,4	20	19,6	19,1	16,1

CRP

	1	2	3	4	5
A	10	-15	-6	-7	2
B	12	1	4	3	2
C	12	2	-1	-4	2
D	12	3	3	3	2
E	10	-21	3	-2	2
F	10	-13	-13	-4	-2
G	9	-4	-7	3	2
H	2	3	4	1	2
I	2	-10	-7	-6	5
J	10	2	-10	4	3
K	12	3	3	3	3
M	3	3	4	3	3
N	5	4	3	3	2
O	8	3	4	-3	2
KA	8,4	-2,8	-1,1	-0,2	2,1

Kalium

	1	2	3	4	5
A	3,5	3,7	4,2	8,2	12,8
B	3,8	3,9	4,4	8,5	13,8
C	3,8	4,1	4,9	9,3	16,5
D	3,4	3,6	4,2	7,9	15,4
E	3,8	4,2	4,9	10	16,9
F	4,2	4,2	4,4	5,9	9,3
G	4,1	4,2	4,7	9,2	15,5
H	4	4,1	4,7	10,6	15,1
I	3,8	4,1	4,8	9,1	12,5
J	3,8	4,1	4,5	9	12,4
K	3,6	3,9	4,4	8,2	13,1
M	3,4	3,8	4,4	7,9	13,8
N	3,6	3,9	4,5	8,1	14,6
O	3,7	4,1	4,7	6,9	11,9
KA	3,8	4,0	4,6	8,5	13,8

Natrium

	1	2	3	4	5
A	139	139	138	135	133
B	136	137	137	134	129
C	135	134	132	131	125
D	138	134	136	133	127
E	138	139	136	133	125
F	139	138	136	132	136
G	141	140	140	135	132
H	137	132	137	131	129
I	139	137	137	130	132
J	140	138	139	134	132
K	138	137	132	133	126
M	136	139	139	135	133
N	139	138	136	133	130
O	134	137	136	134	131
KA	137,8	137,1	136,5	133,1	130

Proteiini

	1	2	3	4	5
A	75	74	74	73	76
B	67	69	71	69	68
C	69	71	70	72	72
D	71	68	71	69	71
E	71	72	69	70	68
F	77	76	76	72	78
G	75	75	74	71	74
H	73	71	74	71	74
I	79	79	80	75	72
J	78	72	75	76	73
K	67	69	66	68	65
M	68	70	69	68	68
N	73	70	70	71	69
O	78	76	76	75	74
KA	72,9	72,3	72,5	71,4	71,6

GT

	1	2	3	4	5
A	77	75	77	77	78
B	14	15	15	15	14
C	15	16	16	16	16
D	16	16	17	17	18
E	16	17	17	18	2
F	24	23	24	23	2
G	24	24	25	23	2
H	17	16	17	17	3
I	18	17	18	13	1
J	23	21	23	3	3
K	19	18	19	3	3
M	14	13	13	3	13
N	12	11	11	3	12
O	19	20	21	3	21
KA	22	21,6	22,4	16,7	13,4