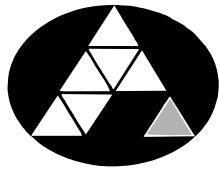


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Milla Saukkola

NIKOTIINIPURUKUMIN VAIKUTUKSET GLUTAMYYLITRANSFERAASIN (GT) JA ALKAALISEN FOSFATAASIN (AFOS) ENTSYYMIAKTIIVISUUKSIIN

Opinnäytetyö  
Syyskuu 2011



POHJOIS-KARJALAN  
AMMATTIKORKEAKOULU

**OPINNÄYTETYÖ**  
**Syyskuu 2011**  
**Bioanalytiikan koulutusohjelma**  
Tikkarinne 9  
80200 JOENSUU  
p. (013) 260 6600 tai 050 405 4816

Tekijä

Milla Saukkola

Nimeke

Nikotiinipurukumin vaikutukset glutamyyli transferaasin (GT) ja alkaalisen fosfataasin (AFOS) entsyymiaktiivisuuksiin

Toimeksiantaja

Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelma

Tiivistelmä

Ihmisen toiminnan vaikutus laboratoriotutkimuksen tuloksiin vakioidaan asiakkaan oikealla valmistautumisella näytteenottoon. Ennen näytteenottoa tupakointi ja lääke- tuotteiden, kuten nikotiinipurukumin, käyttö ovat kiellettyjä. Jo kahden tunnin tupakoinnattomuus voi aiheuttaa vieroitusoireita nikotiiniriippuvaisille. Tutkimus oli perustutkimus nikotiinipurukumin vaikutuksista glutamyyli transferaasin (GT) ja alkaalisen fosfataasin (AFOS) entsyymiaktiivisuuksiin. Jos vaikutuksia ei olisi, voitaisiin purukumin käyttö mahdollisesti sallia ennen kyseisiä tutkimuksia.

Tutkimus suoritettiin kvantitatiivisena tutkimuksena, jonka koeasetelma oli ennenjälkeen -koeasetelma. Yhteensä kahdeksalta vapaaehtoiselta koehenkilöltä mitattiin verinäytteistä tutkittavien entsyymien arvot kolme kertaa: lähtötaso sekä tunnin ja kahden tunnin kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta. Tuloksista laskettiin useita eri tunnuslukuja. Tilastollisena testinä tehtiin parittaisten otosten t-testi.

Tunnuslukujen vertailun mukaan nikotiinipurukumin käyttö aiheuttaa vain pieniä muutoksia entsyymiaktiivisuuksiin. Tilastollisen testin mukaan mikään entsyymiaktiivisuus ei muuttunut tilastollisesti melkein merkittäväksi. Siten nikotiinipurukumin käyttö voitaisiin sallia ennen GT:n ja AFOS:n tutkimista. Epäedustavan otoksen takia tulokset ovat enintään suuntaa antavia. Jatkotutkimusaiheita ovat tulosten varmistaminen, vastaava tutkimus vahvemmalla nikotiinipurukumilla, vaikutukset muihin maksaentsyymeihin sekä nikotiinipurukumin pitkäaikaisen käytön vaikutukset.

Kieli

suomi

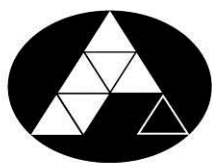
Sivuja 47

Liitteet 8

Liitesivumäärä 13

Asiasanat

nikotiini, glutamyyli transferaasi (GT), alkaalinen fosfataasi (AFOS), preanalytiikka



NORTH KARELIA  
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**THESIS**  
**September 2011**  
**Degree Programme in Biomedical  
Laboratory Sciences**

Tikkarinne 9  
80200 JOENSUU  
FINLAND  
Tel. 358-13-260-6600 or 358-50-405-4816

Author

Milla Saukkola

Title

The Effects of Nicotine Gum on the Enzyme Activities of Glutamyl Transferase (GT) and Alkaline Phosphatase (ALP)

Commissioned by

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

Abstract

The effects of human's actions on laboratory test results are standardized by customer's correct preparation for sample taking. Smoking and the use of the medicine, such as nicotine gum, is forbidden before sample taking. Already two hours without smoking could cause withdrawal symptoms for nicotine addicts. The research was a basic research of the effects of nicotine gum on the enzyme activities of glutamyl transferase (GT) and alkaline phosphatase (ALP). If there are no effects, the use of the gum could possibly be permitted before the examinations.

The research was conducted as a quantitative research, whose experimental design was a pre-post -design. The values of the enzymes were measured three times from altogether eight volunteer testees: baseline and one and two hours after they started chewing the nicotine gum. Multiple different parameters were calculated from the results. Paired sample t-test was done as a statistical test.

According to the comparison of the parameters, the use of nicotine gum causes only small changes in enzyme activities. According to the statistical test, none of the enzyme activities changed to almost significant. Therefore the usage of nicotine gum could be permitted before the examination of GT and ALP. Due to unrepresentative sample, the results are suggestive at most. Subjects for further studies are the double-checking of the results, a similar study with a stronger nicotine gum, effects on other liver enzymes and the effects of the long-term use of the nicotine gum.

Language

Finnish

Pages 47

Appendices 8

Pages of Appendices 13

Keywords

Nicotine, Glutamyl transferase (GT), Alkaline Phosphatase (ALP), Pre-analytics

# Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto .....	6
2	Preanalytiikka .....	7
2.1	Preanalytiikka .....	7
2.2	Asiakkaan näytteenottoon valmistautumisen vakiointi .....	7
3	Nikotiini .....	8
3.1	Lähteet ja kemialliset ominaisuudet .....	8
3.2	Metabolia ja vaikutukset elimistössä .....	9
3.3	Nikotiiniriippuvuus, ja sen mittaaminen .....	10
4	Nikotiinipurukumi.....	11
4.1	Käyttö ja sisältö.....	11
4.2	Käytön haittavaikutukset.....	12
4.3	Käytön vasta-aiheet ja käyttöön liittyvät varoitukset ja varotoimet .....	13
5	Entsyymiaktiivisuus ja tutkittavat entsyymit.....	14
5.1	Entsyymit ja entsyymiaktiivisuus.....	14
5.2	Glutamyyli transferaasi (GT) .....	15
5.2.1	GT:n toiminta elimistössä ja kliininen merkitys.....	15
5.2.2	GT:n entsyymiaktiivisuuden mittaaminen .....	16
5.3	Alkaalinen fosfataasi (AFOS).....	17
5.3.1	AFOS:n toiminta elimistössä ja kliininen merkitys.....	17
5.3.2	AFOS:n entsyymiaktiivisuuden mittaaminen.....	18
6	Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelmat .....	18
7	Tutkimuksen menetelmälliset valinnat .....	19
7.1	Tutkimusmenetelmä .....	19
7.2	Aineiston hankinta .....	20
7.2.1	Tutkimuksen perusjoukko ja otoskoko .....	20
7.2.2	Tutkimuksen koeasetelma .....	21
7.2.3	Tutkimuksen koehenkilöt .....	22
7.2.4	Koehenkilöiden haku .....	23
7.2.5	Tutkimukseen osallistuvien ohjaus ja tutkimuksen esivalmistelu .....	24
7.2.6	Näytteiden otto tutkimuspäivänä.....	25
7.2.7	Näytteiden analysointi tutkimuspäivänä .....	26
7.2.8	Esitutkimuksen suorittaminen .....	28
7.3	Aineiston analysointi .....	29
7.3.1	Tutkimuksen tunnusluvut .....	29
7.3.2	Tutkimuksen hypoteesit .....	30
7.3.3	Tutkimuksessa käytetty tilastollinen testi .....	31
8	Tutkimuksen tulokset .....	32
8.1	Nikotiinipurukumin vaikutus GT:n entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.....	32
8.2	Nikotiinipurukumin vaikutus GT:n entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.....	33
8.3	Nikotiinipurukumin vaikutus AFOS:in entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.....	33
8.4	Nikotiinipurukumin vaikutus AFOS:in entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.....	34
9	Pohdinta.....	35

9.1	Tutkimuksen tulokset .....	35
9.2	Tutkimuksen luotettavuus .....	36
9.2.1	Hyvän tieteellisen käytännön noudattaminen .....	36
9.2.2	Validiteetti .....	37
9.2.3	Reliabiliteetti .....	38
9.2.4	Luotettavuus kokonaisuudessaan.....	40
9.3	Tutkimuksen eettisyys .....	40
9.4	Ammatillinen kasvu oppimisprosessin aikana.....	42
9.5	Tutkimuksen jatkokehitysmahdollisuudet.....	43
	Lähteet.....	44

## Liitteet

Liite 1	Fagerströmin nikotiiniriippuvuustesti
Liite 2	Rekrytointi-ilmoitus
Liite 3	Tutkittavan tiedote
Liite 4	Suostumusasiakirja
Liite 5	Esivalmistautumisohjeet ja ohjeet tutkimuspäivälle
Liite 6	Tutkimuspäivän kulku
Liite 7	Reagenssien ja laaduntarkkailunäytteiden tiedot sekä laaduntarkkailunäytteiden tulokset
Liite 8	Tuloslomake

## 1 Johdanto

Tupakoivia ihmisiä oli Suomessa vuonna 2008 viidennes väestöstä (Tilastokeskus 2009). Tupakointi ja lääkkeiden käyttö ovat kiellettyjä ennen verinäytteenottoa (Matikainen, Miettinen & Wasström 2010,18). Tupakkatuotteiden sisältämä nikotiini on keskeinen fyysisen riippuvuuden synnyssä tupakointiin (Huovinen 2004, 28), ja jo kahden tunnin tupakoimattomuus aiheuttaa vieroitusoireita nikotiiniriippuvaisille (Patja, Iivola & Aatela 2005, 79). Nikotiinikorvaushoitotuotteista, jotka ovat lääkkeitä ja joista nikotiinipurukumi on käytetyin (Hildén 2004, 77), saatavan nikotiinin avulla voidaan vieroitusoireilta jopa välttyä (Huovinen 2004, 94).

Nikotiini aiheuttaa maksakudoksessa maksasolujen vähenemisen ja pienten rasvapisaroiden lisääntymisen (Valenca, Gouveia, Pimenta & Porto 2008, 1018). Tupakan pitkäaikainen käyttö kohottaa alkaalisen fosfataasin (AFOS) entsyymiaktiivisuutta (Panuru, Vaddi & Nallanchakravarthula 2009, 265). Tämä entsyymi kohoo erityisesti maksan, sappirakon ja sappiteiden muodostaman elimistön sairauksissa. Glutamyylitransferaasin (GT:n) entsyymiaktiivisuus kohoo kaikenlaisissa maksasairauksissa.(Moss & Henderson 1999, 676, 687.) Näiden entsyymien tutkiminen verestä on kahdenkymmenen Suomessa yleisimmin tehtävän tutkimuksen joukossa (Sosiaali- ja terveysministeriö 2006, 15, 30).

Tämä tutkimus oli suunnattu perustutkimus nikotiinipurukumin vaikutuksesta ennen verinäytteenottoa otettuna GT:n ja AFOS:n entsyymiaktiivisuuksiin plasmaplasta määritettynä. Siinä tutkittiin myös aikaa, jossa muutoksia ilmenee. Jos nikotiinipurukumin käytöllä ei ole vaikutuksia, sen käyttö voitaisiin mahdollisesti sallia ennen kyseisiä tutkimuksia. Tämä voisi helpottaa nikotiiniriippuvaisten vieroitusoireita. Tutkimus suoritettiin kvantitatiivisena tutkimuksena, jonka koeeasetelma oli ennen-jälkeen -koeasetelma ja toimeksiantaja Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelma.

## 2 Preanalytiikka

### 2.1 Preanalytiikka

Kliinisessä laboratoriotutkimusprosessissa on kolme eri vaihetta: preanalyttinen, analyttinen ja postanalyttinen vaihe. Ensimmäinen vaihe, preanalyttinen vaihe, tarkoittaa näytteenanalysointia edeltäviä tutkimusprosessin vaiheita, ja se on perustana laboratoriotutkimusten tulosten luotettavuudelle. (Matikainen ym. 2010, 12.) Vaihe on virheherkkä: jopa 32–75 prosenttia kaikista laboratoriotutkimusprosessin virheistä (Bonini, Plebani, Ceriotti & Rubboli 2002, 693).

Preanalytiikkaan kuuluu lukuisia erilaisia osa-alueita, joita ovat laboratoriotutkimustarpeen määrittely ja lähetteen eli tutkimuspyynnön kirjoittaminen. Asiakkaan ohjaaminen ja tämän valmistautuminen näytteenottoa tai potilastutkimusta varten ovat myös osa tätä tutkimusprosessin vaihetta, kuten myös tutkimusympäristön ja laitteiden valmistelutyö. Näiden lisäksi näytteiden otto, käsittely, säilyttäminen, kuljetus, vastaanotto tutkimuslaboratoriossa sekä näytteiden dokumentointi ja edustavuuden arviointi ovat preanalytiikan osa-alueita. (Matikainen ym. 2010, 12.)

### 2.2 Asiakkaan näytteenottoon valmistautumisen vakiointi

Asiakkaan oikealla valmistautumisella näytteenottoon pyritään vakioimaan ihmisen toiminnan vaikutus laboratoriotutkimuksen tuloksiin. Näin tehdään, jotta tuloksia voitaisiin verrata viitearvoihin, jotka on määritetty vakioiduissa olosuhteissa. (Matikainen ym. 2010, 18–19.) Viitearvot on laadittu mittaamalla tutkittavan suureen arvot suurelta määrältä terveitä henkilöitä (Penttilä 2004, 18). On tärkeää, että asiakasta ohjeistetaan valmistautumaan tutkimuksiin oikein, ja että hän myös noudattaa saamiaan ohjeita (Matikainen ym. 2010, 17). Näytteenottajan on varmistettava, että annettuja ohjeita on noudatettu, ja hän päättää asiakkaalta saamansa tiedon perusteella, voidaanko näyte ottaa (Tapola 2004, 22).

Näytteenottoon valmistautumiseen on laadittu yleisohjeet, joiden avulla minimoidaan potilaasta tai näytteenotosta riippuvaiset, laboratoriotuloksia häiritsevät tekijät (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 30). Ohjeiden mukaan näytteenottoa edeltävänä päivänä potilas saa syödä ja juoda normaaliin tapaan, mutta alkoholin käyttö on kielletty edellisenä päivänä ja tutkimuspäivän aamuna. Runsas alkoholin käyttö näytteenottoa edeltävinä päivinä voi vaikuttaa joidenkin tutkimusten tuloksiin. Näytteenottoa edeltävä iltana on kello 22:n jälkeen vältettävä tupakointia sekä kahvin ja teen juomista. Koska voimakas fyysinen rasitus vaikuttaa useiden tutkimusten tuloksiin, sitä on vältettävä ennen näytteenottoa. Kaikkien lääkkeiden ottoa pyritään myös välttämään näytteenottopäivän aamuna, jos se vain on potilaan hoidon kannalta mahdollista. Ennen näytteenottoa potilaan pitää olla hereillä ainakin yhden tunnin ajan. Lisäksi hänen on suositeltavaa istua ainakin 15 minuuttia juuri ennen näytteenottoa, jotta verenkierto taasaantuisi. (Yhtyneet Laboratoriot Oy 2007, 12.)

### 3 Nikotiini

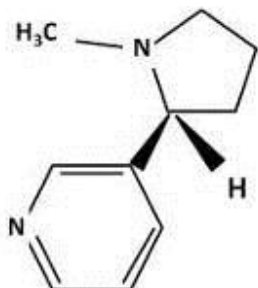
#### 3.1 Lähteet ja kemialliset ominaisuudet

Tupakkakasvi eli *Nicotiana tabacum* on tupakkatuotannon raaka-aine (Hildén 2004, 7). Nikotiini on tupakkakasvin lehtien luonnollinen ainesosa, ja se toimii lehdissä kasviperäisenä hyönteismyrkkinä (Benowitz, Hukka & Jacobs 2009, 30). Tupakka on eniten tuotettu ja kulutettu tupakkatuote (Mackay & Eriksen 2002, 30). Muita tupakkatuotteita ovat nuuska, piipputupakka, sikarit ja purutupakka (Benowitz ym. 2009, 30). Myös nikotiinikorvaushoitotuotteet – purukumi, laastari, nenäsuihke, inhalaattori ja kielenalus- tai imeskelytabletit – sisältävät nikotiinia. Nikotiinia on käytetty myös hyönteismyrkkinä. (Patja ym. 17, 101.)

Nikotiinin kemiallinen kaava on  $C_{10}H_{14}N_2$ . Nikotiini on väritön, hygroskooppinen eli vettä sitova ja olomuodoltaan nestemäinen aine, jolla on tunnusomainen haju. (International Chemical Safety Cards 2006.) Nikotiini on myrkyllinen ja öljymäinen yhdiste. Lievän nikotiinimyrkytyksen oireita ovat muun muassa pään-



särky ja pahoinvointi. Vaikea myrkytyksessä ilmenevä kouristelu voi pahimmillaan johtaa hengityksen lamaantumiseen ja kuolemaan. (Vierola 2010, 47–49.) Kuviossa 1 on kaavakuva nikotiinin rakenteesta.



Kuvio 1. Nikotiinin rakenne (Mukaillen Hukkanen, Jacob & Benowitz 2005, 90).

### 3.2 Metabolia ja vaikutukset elimistössä

Nikotiini hajoaa pääosin maksassa, mutta myös jonkin verran munuaisissa ja keuhkoissa (Lääketietokeskus Oy 2010, 2043). Sen puoliintumisaika on kahdesta neljään tuntia. Sytokromi-P2A6, CYP2A6, on maksassa toimiva entsyymi, joka hajottaa 80–90 prosenttia nikotiinista. (Vierola 2004, 61.) Tämä entsyymi hajottaa myös muutamia lääkeaineita sekä kofeiinia. Nikotiinia erittyy elimistöstä munuaisten kautta. (Patja ym.2005,76.) Mahan limakalvon kautta verenkierrosta sekä niellyn savun mukana nikotiinia siirtyy suolistoon (Vierola 2004, 62).

Nikotiini sitoutuu elimistössä reseptoreihin, jotka on nimetty nikotiinin mukaan nikotiinireseptoreiksi. Niitä on kaikkialla elimistössä, mutta erityisesti aivoissa niillä aivojen alueilla, joissa syntyvät nautinnon kokemukset. Nikotiinin sitoutuminen reseptoriin vapauttaa välittäjäaineita, jotka saavat aikaan nautinnon kokemuksen. Nikotiini auttaa säätelemään erityisesti negatiivisia tunnetiloja, mutta se myös vähentää serotoniini nimiseen välittäjäaineen pitoisuutta, mikä voi johtaa masentumiseen. Aine lievittää lievää ja keskivaikeaa stressiä, mutta uhkaavan, äkillisen tai pitkäkestoisen stressin sietoa se heikentää. (Patja ym. 2005, 16–17, 19, 77–78.)

Aivojen nikotiinireseptorit toimivat nopeasti, mutta muualla elimistössä nikotiinipitoisuuden täytyy nousta tarpeeksi korkeaksi ennen kuin ne aktivoituvat.

Vaikutukset ilmenevätkin hitaasti, mutta ne kestävät kauemmin kuin aivoissa. (Patja ym. 2005, 75.) Nikotiini lisää adrenaliinin ja noradrenaliinin eritystä, mikä kohottaa sydämen sykettä ja supistaa verisuonia kohottaen verenpainetta (Vierola 2010, 48, 65). Ihoa ruokkivien pienten pintasuonten supistuminen tuo ihoon usein hieman harmahtavan tai kellertävän värin. Aine kiihdyttää myös verisuonten kalkkeutumista ja hyytymistäipumusta. (Patja ym. 2005, 75–77.) Nikotiini kasvattaa kolesterolin, triglyseridien ja vapaiden rasvahappojen määrää veressä (Kavitharaj & Vijayammal 1999, 2) sekä lisää vahingollisia muutoksia keuhkoissa (Valença, de Souza da Fonseca, da Hora, Santos & Porto 2004, 393). Lihaksissa insuliinin imeytyminen soluihin estyy, ja munuaiset rasittuvat nikotiinin vaikutuksesta. Ainetta erittyy myös kehon eritteisiin, esimerkiksi äidinmaittoon. (Patja ym. 2005, 76.)

Maksakudoksessa nikotiini aiheuttaa maksasolujen vähenemisen ja pienten rasvapisaroiden lisääntymisen (Valença ym. 2008, 1018). Aineen vaikutuksista maksan entsyymeihin ei löytynyt aikaisempia tutkimuksia, mutta nikotiinia sisältävän tupakan vaikutuksista oli. Krooninen tupakointi kohottaa alkaalinen fosfaatti -, aspartaatti aminotransferaasi -, alaniini aminotransferaasi - ja laktaatti-dehydrogenaasi -entsyymien entsyymiaktiivisuuksia. Glutamyyli transferaasiin sillä ei ole vaikutusta. (Panuru ym. 2009, 265.)

### **3.3 Nikotiiniriippuvuus, ja sen mittaaminen**

Tupakka on nautintoaine, joka aiheuttaa fyysistä, psyykkistä ja sosiaalista riippuvuutta. Tupakkatuotteiden sisältämä nikotiini on keskeinen fyysisen riippuvuuden synnyssä. (Huovinen 2004, 28.) Nikotiinin vaikutukset hermostossa muistuttavat huumeiden vaikutuksia, ja nikotiiniriippuvuus voi olla vaikeudeltaan heroini- ja kokaiiniriippuvuuden luokkaa (Vierola 2010, 49). Perimä vaikuttaa nikotiinireseptorien määrään ja muotoon, mikä vaikuttaa yksilön herkkyyteen tulla nikotiinista riippuvaiseksi. Aivojen tottuminen nikotiiniin näkyy nikotiinireseptorien määrän lisääntymisenä, ja reseptorien herkistymisenä nikotiinille. Nikotiinin väheneminen aivoissa johtaa siihen tottuneella epämiellyttävän olon ja vieroitusoireiden syntymiseen. (Patja ym. 2005, 17–18). Tavallisimpia

fyysisiä vieroitusoireita ovat hermostuneisuus, päänsärky ja voimakas tupakointitarve. Nikotiinikorvaushoitotuotteista saatavan nikotiinin avulla vieroitusoireita voidaan lievittää merkittävästi tai jopa välttää ne. (Huovinen 2004, 29, 94.)

Ruotsalaistutkija K.-O. Fagerström on kehittänyt nikotiiniriippuvuusasteikon, jolla voidaan arvioida tupakoitsijoiden nikotiiniriippuvuuden voimakkuutta (Vierola 2010, 300). Testistä on olemassa kahden ja kuuden kysymyksen versiot (Huovinen 2004, 45) sekä versio nuuskan käyttäjille (Ebbert, Patten & Schroeder 2006, 1716). Tupakoijille tarkoitettu Fagerströmin nikotiiniriippuvuustestin kuuden kysymyksen versio on liitteessä 1. Tämän testin korkein pistemäärä on kymmenen pistettä (Heatherton, Kozlowski, Frecker & Fagerström 1991, 1125), mutta testin nikotiiniriippuvuusasteen luokittelussa on eroja eri lähteiden välillä. Enimmillään käytetään viittä ja vähimmillään kolmea nikotiiniriippuvuusluokkaa. Erilaiset luokittelut on esitetty kuviossa 2.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Demiralay	Hyvin matala		Matala		Keski-suuri	Korkea		Hyvin korkea			
Nova South-eastern University	Ei	Vähäinen		Keskinkertainen		Voimakas		Hyvin voimakas			
Huovinen	Vähäinen		Keskinkertainen		Voimakas						
Oulun kaupunki	Alhainen		Keskisuuri				Merkittävä				
Terry 2000, AAFP – The American Academy of Family Physician mukaan	Vähäinen				Keskinkertainen		Voimakas				

Kuvio 2. Nikotiiniriippuvuuden luokittelu (Demiralay 2002, 322; Nova Southeastern University 2007; Huovinen 2004, 46; Oulun kaupunki 2010; Terry 2000, AAFP – American Academy of Family Physicians mukaan).

## 4 Nikotiinipurukumi

### 4.1 Käyttö ja sisältö

Nikotiinipurukumin käyttö lievittää tupakoinnin lopettamisesta syntyviä vieroitusoireita ja siten helpottaa tupakoinnin lopettamista (Lääketietokeskus Oy

2010, 2042). Tuotteesta on olemassa kahta eri vahvuutta, kaksi milligrammaa ja neljä milligrammaa nikotiinia, sekä eri makuisia vaihtoehtoja (Vierola 2010, 303). Tutkimuksessa käytetään Nicorette®-lääkepurukumia, joka on vahvuudeltaan kaksi milligrammaa ja maultaan nikotiinin makuinen (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042). Nicorette®:n nikotiinipurukumi on vanhin ja edelleen käytetyin nikotiinikorvaushoitovalmiste (Hildén 2004, 77).

Nikotiinipurukumi maistuu epätavalliselta sisältämänsä nikotiinin vuoksi. Yhdestä purukumista saatava nikotiinimäärä vaihtelee pureskelutekniikasta, joka vaikuttaa purukumin luovuttamaan nikotiinimäärään, sekä nielemisen ja sylkemisen vuoksi tapahtuvasta hukasta riippuen. Nikotiinipurukumia pureskellaan jaksoittain yhteensä noin 30 minuutin ajan. Kun purukumin maku on voimakas tai suuta kihelmöi hieman, pureskelu keskeytetään, ja purukumi siirretään poskeen tai ikenen väliin odottamaan voimakkaan maun tai kihelmöinnin häviämistä. Tämän jälkeen pureskelua taas jatketaan hitaasti jaksoittain. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042–2043.) Nikotiini imeytyy parhaiten suun limakalvoilta, joten suuhun erittyvää sylkeä ei kannata niellä heti kuten tavallista purukumia pureskellessä. Purukumia pureskellessä ei saa tupakoida. (Hildén 2004, 78.) Samanlaisesti nautitut kahvi, tee, tuoremehut, hapolliset virvokejuomat, sokeri tai sokeripitoinen purukumi vähentävät nikotiinin imeytymistä (Vierola 2010, 304).

Nikotiinia kaksi milligrammaa sisältävä Nicorette®-lääkepurukumi sisältää vaikuttavana aineena 10 milligrammaa 20 prosenttista nikotiinihartsiyhdistettä, mikä vastaa kahta milligrammaa nikotiinia. Muita ainesosia ovat purukumipohjan butyylihydroksiditolueeni eli E321, sorbitoli ja vedetön natriumvetykarbonaatti. Purukumipohjassa on myös glyserolia sekä makuaineita, joita ovat Harvestro flavour zd 49284 ja naarden. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042–2043.)

## 4.2 Käytön haittavaikutukset

Nikotiinipurukumin haittavaikutukset voivat olla samanlaisia kuin muillakin tavoilla saadulla nikotiinilla, ja ne johtuvat virheellisestä pureskelutekniikasta tai nikotiinin paikallisista tai koko elimistöön liittyvistä, annosriippuvaisista haittavaiku-

tuksista. Jotkin oireista, esimerkiksi huimaus ja päänsärky, voivat liittyä tupakoinnin lopettamisesta aiheutuviin vieroitusoireisiin. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2043.)

Purukumin käytön lieviä haittavaikutuksia voivat olla kurkkukipu ja närästys, jos ihmisellä on muutenkin taipumusta niihin (Huovinen 2004, 97). Yleisiä haittavaikutuksia, esiintyvyys yli yksi sataa käyttäjää kohden, ovat huimaus, päänsärky, pahoinvointi ja maha-suolikanavan vaivat. Lisäksi hikka, oksentelu, leukalihaskipu sekä suuontelon ja nielun arkuus ovat yleisiä haittavaikutuksia. Melko harvinaisia, esiintyvyys 1/100 – 1/1000, haittoja taas ovat sydämentykytys, eryteema sekä urtikaria, ja harvinaisia, alle 1/1000, korjautuva eteisvärinä. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2043.) Eryteema on ihon tila, jossa iho punoittaa ja siinä on ihottumaa (Ehrlich 2008). Urtikariassa eli nokkosrokossa iholle ilmaantuu nopeasti kutisevia, kahdesta millimetristä 10–20 senttimetriin kokoisia paukamia (Livanainen 2010a, 753).

### **4.3 Käytön vasta-aiheet ja käyttöön liittyvät varoitukset ja varotoimet**

Tupakoimattomuus on vasta-aihe nikotiinipurukumin käytölle (Lääketietokeskus Oy, 2042), koska vaikka tuotteen nikotiinipitoisuus on huomattavasti alhaisempi kuin tupakan, sen käyttäjä on silti vaarassa tulla riippuvaiseksi nikotiinista (McNeil a Division of Janssen-Cilag Oy). Äskettäinen, kolmen kuukauden sisällä ollut sydäninfarkti, epävakaa tai paheneva rasisurintakipu ja prinzmetalnin angina ovat myös käytön vasta-aiheita (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042). Prinzmetalnin anginassa sydänlihaksen verensaannista huolehtivassa sepelvaltimossa tapahtuu kouristus, joka aiheuttaa angina pectoriksen eli rasisurintakivun (Syväoja 2010, 178, 210 ). Muita käytön vasta-aiheita ovat yliherkkyys nikotiinille tai nikotiinipurukumin sisältämille apuaineille, vaikeat sydämen rytmihäiriöt sekä aivohalvauksen akuuttivaihe (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042).

Hammasproteesin käyttäjän voi olla hankala pureskella nikotiinipurukumia, koska se voi tarttua proteesiin ja harvinaisissa tapauksissa jopa vahingoittaa sitä. Lisäksi purukumin käytössä on oltava varovainen, jos potilaalla on vaikea sy-

dän- tai verisuonisairaus, kontrolloimaton verenpainetauti tai vasospasmeja eli verisuonten kouristuksia. Vaikea tai keskivaikea maksan vajaatoiminta, vaikea munuaisten vajaatoiminta, kilpirauhasen liikatoiminta, aktiivisessa vaiheessa oleva peptinen haava eli maha- tai pohjukaissuolihaava tai feokromosytooma edellyttävät myös varovaisuutta lääkkeen käytössä. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042.) Feokromosytooma on lisämunuaisen ydinosassa oleva, yleensä hyvänlaatuinen kasvain (Mustajoki 2010).

Raskauden aikana nikotiini kulkeutuu sikiöön vaikuttaen sen liikkeisiin ja verenkiertoon. Imettäessä nikotiini kulkeutuu rintamaitoon määrinä, jotka voivat vaikuttaa imeväiseen. Raskaana olevien tai imettävien tupakoitsijoiden olisikin keskusteltava lääkärin kanssa ennen nikotiinipurukumin käyttöä. Alle 18-vuotiaat saavat käyttää nikotiinipurukumia vain lääkärin määräyksestä. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042.)

## **5 Entsyymiaktiivisuus ja tutkittavat entsyymit**

### **5.1 Entsyymit ja entsyymiaktiivisuus**

Entsyymit ovat elimistön katalysaattoreita. Katalysaattori pienentää aktivaatioenergiaa, joka on energiaa, jota tarvitaan kemiallisen reaktioiden käynnistämiseksi, ja tämä nopeuttaa reaktioita. Joitakin RNA-nukleiinihappoja lukuun ottamatta entsyymit ovat rakenteeltaan valkuaisaineita eli proteiineja. Entsyymit ovat hyvin spesifisiä substraateille eli aineille, joita ne katalysoivat. Kun substraatti sitoutuu entsyymiin, reaktioon osallistuvat atomiryhmät joutuvat parhaaseen läheisyyteen ja asentoon toisiinsa nähden, mikä nopeuttaa reaktiota. (Campbell 1995, 137–138, 141–142.)

Entsyymien katalysoiman reaktion nopeus on suoraan verrannollinen siihen osallistuvan entsyymien määrään. Reaktion nopeus voidaan määrittää mittaamalla joko substraatin pitoisuuden vähenemistä tai reaktiotuotteiden pitoisuuden lisääntymistä esimerkiksi spektrofotometrisellä menetelmällä. (Moss & Hender-

son 1999, 645.) Siinä mitataan halutulla valon aallonpituudella näytteeseen absorboituneen eli imeytyneen tai transmitoituneen eli näytteen läpäisseen valon määrää. Absorboituneen valon määrä eli absorbanssi on verrannollinen näytteessä olevan mitatun aineen pitoisuuteen. (Halonen 2004, 66–67.)

Entsyimin määrää tai toimivuutta mitataan perinteisesti sen aktiivisuutena. Mittauksissa käytetään yksikköä U/l, joka ilmaisee entsyymimäärää, joka muuttaa yhden mikromoolin substraattia minuutissa reaktion lopputuotteiksi. Spektrofotometrisissa mittauksissa käytetään lähes pelkästään kineettisiä mittauksia, mutta vanhoja päätepistemittaukseen perustuvia menetelmiäkin käytetään vielä. (Penttilä 2004, 82–84.) Kineettisessä mittauksessa mitataan kiintein aikavälein substraatin tai reaktion lopputuotteen absorbanssia. Päätepistemittauksessa taas entsyymaattisen reaktion annetaan jatkua ennen absorbanssin mittausta niin kauan, että kaikki seoksessa oleva substraatti on muuttunut reaktion lopputuotteeksi. (Moss & Henderson 1999, 648–649.)

## **5.2 Glutamyylitransferaasi (GT)**

### **5.2.1 GT:n toiminta elimistössä ja kliininen merkitys**

Glutamyylitransferaasi (GT) entsyymi siirtää  $\gamma$ -glutamyyliiryhmän lähtöaineesta vastaanottavaan kohteeseen. Sitä esiintyy kaikissa muissa soluissa paitsi lihasoluissa. GT:a on eniten solukalvoissa, joissa sen arvellaan toimivan aminohappojen ja peptidien kuljettajana sekä liittyvän jollakin tavoin glutathionin metaboliaan. Entsyymien pitoisuus on suurin munuaiskudoksessa, mutta seerumissa se on ensisijaisesti peräisin maksan, sappirakon ja sappiteiden muodostamasta elimistöstä. (Moss & Henderson 1999, 686–687.)

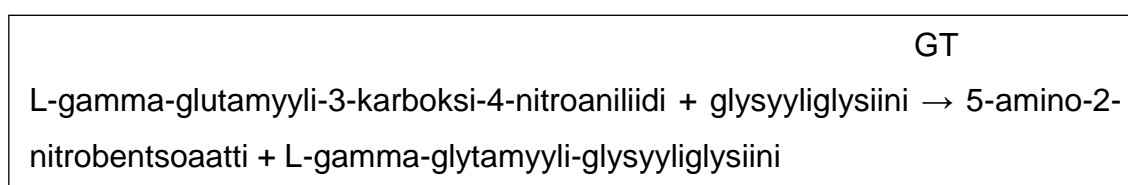
GT kohoaa kaikenlaisissa maksataudeissa, mutta erityisesti intra- ja posthepaattisessa tukoksessa eli maksansisäisessä tukoksessa ja tukoksessa sappiteissä. Silloin entsyymien aktiivisuus voi kohota 5–30 kertaa normaalia suuremmaksi. Korkeita arvoja esiintyy myös maksan ensi- ja toissijaisissa kasvaimissa

sekä akuutissa ja kroonisessa haimatulehduksessa. Lisäksi eturauhassyöpä ja tietyt haimaan liittyvät pahanlaatuiset tilat kohottavat GT:n entsyymiaktiivisuutta. Vähäistä GT:n kohoamista, kahdesta viisinkertaiseksi, esiintyy potilailla, joilla on rasvamaksa sekä tilapäisesti lääkemyrkytyksissä. Lisäksi kohoamista esiintyy alkoholin aiheuttamassa maksakirroosissa, runsaasti alkoholia käyttävillä sekä tiettyjen lääkeaineiden, kuten kouristuksia estävän fenytoiinin, käyttäjillä. Kystisessä fibroosissa esiintyvät maksaan liittyvät komplikaatiot ja syöpäpotilaiden kasvaimien sädehoito voivat myös kohottaa GT:n entsyymiaktiivisuutta. (Moss & Henderson 1999, 687–688.)

### 5.2.2 GT:n entsyymiaktiivisuuden mittaus

IFCC eli International Federation of Clinical Chemistry on kansainvälinen toimija, joka on vakioinut glutamyyli-3-transferraasin entsyymiaktiivisuusmittauksen. Reaktio on nouseva kineettinen reaktio, jossa substraatin – L-gamma-glutamyyli-3-karboksi-4-nitroaniliidi – hajotessa GT:n katalysoimana muodostuu värillistä yhdistettä. Yhdiste mitataan fotometrisesti 410 nanometrin aallonpituudella. (Thermo Scientific 2009.)

Glutamyyli-3-transferraasitutkimuksen näytteeksi sopii hemolyysiton seerumi, EDTA-plasma (Moss & Henderson 1999, 688) ja hepariiniplasma (Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2008). Hemolyysi tarkoittaa punasolujen hajoamista (Matikainen ym. 2010, 76). Mittauksen kemiallisen reaktion kaava on esitetty kuviossa 3.



Kuvio 3. Glutamyyli-3-transferraasin entsyymiaktiivisuusmittauksen reaktiokaava (Thermo Scientific 2009).



### 5.3 Alkaalinen fosfataasi (AFOS)

#### 5.3.1 AFOS:n toiminta elimistössä ja kliininen merkitys

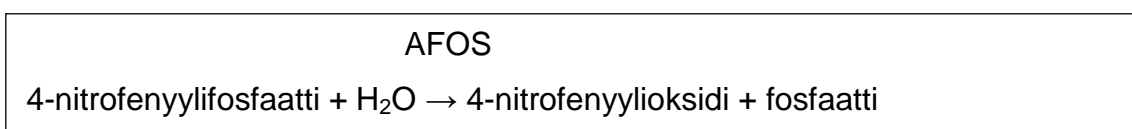
Alkaalisella fosfataasilla on useita eri entsyymimuotoja, isoentsyymejä, jotka toimivat useisiin erilaisiin substraatteihin. AFOS:ia esiintyy kaikissa kehon kudoksissa, mutta erityisesti suoliston epiteelikudoksessa, munuaistubuluksissa, luissa, maksassa ja istukassa. Sen arvellaan liittyvän lipidien kuljetukseen suolistossa ja kalsifikaatioprosessiin luissa eli luiden kalkkiutumiseen. Seerumissa esiintyessään entsyymi on pääosin peräisin maksasta; enimmillään puolet siitä on peräisin luustosta. (Moss & Henderson 1999, 676.)

AFOS:ia tutkitaan erityisesti epäiltäessä maksan, sappirakon ja sappiteiden muodostaman elimistön sairauksia. Sappikivi, haiman kärjen syöpä tai muu maksan ulkopuolinen sapen kulun este kohottaa arvoa enemmän, 10–12 -kertaiseksi, kuin maksan sisäinen tukos sappitiessä. Maksan sisäinen tukos, esimerkiksi tunkeutuva syöpäkudos, kohottaa AFOS:ia enintään 2,5-kertaiseksi. Maksan parenkymaalisiin eli toiminnallisiin soluihin vaikuttavat maksasairaudet, esimerkiksi hepatiitit, kohottavat entsyymiaktiivisuutta enintään kolminkertaiseksi. (Moss & Henderson 1999, 676–677.)

AFOS on kohonnut luutaudeissa eniten Pagetin taudissa, joka johtuu luuta hajottavien osteoklastisolujen hallitsemattomasta aktiivisuudesta. Siinä arvo on 10–25 -kertainen normaalista. AFOS on korkea myös luusyövässä, mutta vain lievästi kohonnut riisitaudissa, osteomalasiassa, Fanconin oireyhtymässä sekä primäärisessä ja sekundaarisessa hyperparatyreoidismissa eli lisäkilpirauhasen liikatoiminnassa. (Moss & Henderson 1999, 677.) D-vitamiinin puutte aiheuttaa kasvuikäisille riisitautia, ja aikuisille osteomalasiaa (Iivanainen 2010b, 633). Fanconin oireyhtymässä munuaistiehyiden toimintahäiriön takia muun muassa aminohappoja ja fosfaattia menetetään virtsan mukana (Darwin Media Oy 2010).

### 5.3.2 AFOS:n entsyymiaktiivisuuden mittaus

International Federation of Clinical Chemistry:n -asiantuntijaneelin ja American Assosiation for Clinical Chemistry:n alkaalinen fosfataasi -tutkimusryhmän kehittämässä menetelmässä 4-nitrofenyylifosfaatti on reaktion ensimmäinen substraatti (Moss & Henderson 1999, 679). AFOS katalysoi fosfaattiryhmien siirron substraatilta vedelle, jolloin muodostuu värillistä 4-nitrofenyylioksidia ja fosfaattia. Värillinen yhdiste voidaan mitata fotometrisesti 405 nanometrin aallonpituudella. (Tietz, Rinker & Shaw 1983, 732–733.) Reaktioyhtälö on esitetty kuviossa 4.



Kuvio 4. Alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuusmittauksen reaktiokaava (Tietz ym. 1983, 732).

Menetelmässä näytteen tulee olla hemolyysitonta seerumia tai heparinisoitua plasmaa. Näyte säilytetään huoneenlämmössä ja analysoidaan mahdollisimman nopeasti. Jäädetyssä seerumissa entsyymiaktiivisuus vähenee, jonka takia sulatettu näyte täytyy pitää huoneenlämmössä 18–24 tuntia ennen mittausta. (Moss & Henderson 1999, 679.)

## 6 Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelmat

Tutkimuksen tarkoituksena oli tuottaa perustietoa siitä, vaikuttaako nikotiinipurukumin käyttö ennen näytteenottoa GT:n ja AFOS:n entsyymiaktiivisuuksiin plasmasta määritettynä. Tutkimuksen tarkoituksena oli myös saada suuntaa antavaa tietoa ajasta, jota ennen nikotiinipurukumia voidaan käyttää niin, ettei se vaikuttaisi tutkittujen entsyymien entsyymiaktiivisuuksiin. Tutkimusongelmia on yhteensä neljä, koska nikotiinipurukumin vaikutusta tarkastellaan erikseen kumpaankin entsyymiin:

- 1) Vaikuttaako nikotiinipurukumi tilastollisesti merkittävästi GT:n entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta?
- 2) Vaikuttaako nikotiinipurukumi tilastollisesti merkittävästi GT:n entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta?
- 3) Vaikuttaako nikotiinipurukumi tilastollisesti merkittävästi AFOS:n entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta?
- 4) Vaikuttaako nikotiinipurukumi tilastollisesti merkittävästi AFOS:n entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta?

## **7 Tutkimuksen menetelmälliset valinnat**

### **7.1 Tutkimusmenetelmä**

Määrällistä eli kvantitatiivista tutkimusta voidaan kutsua myös tilastolliseksi tutkimukseksi. Sen avulla selvitetään tutkittavassa ilmiössä tapahtuneita muutoksia tai eri asioiden välisiä riippuvuuksia. (Heikkilä 2001, 16.) Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkittavaa ominaisuutta voidaan mitata käyttämällä välimatka- tai suhdeasteikkoa, jotka ovat eräitä mittaamisen tasoa kuvaavia mitta-asteikkoja. Välimatka-asteikolla voidaan mitata yksittäisten havaintoarvojen etäisyyksien ero. Suhdeasteikolla taas on tietty absoluuttinen nollapiste, ja sillä voidaan laskea lukujen suhteita. Kokeellisella tutkimuksella tutkitaan vain tietyn, tutkitun muuttujan, esimerkiksi jonkin aineen, vaikutusta johonkin ilmiöön vakioimalla kaikki muut tekijät. (Nummenmaa 2010, 33, 42–43.)

Tutkimus suoritetaan kvantitatiivisena, kokeellisena tutkimuksena, koska glutamyyli transferaasin ja alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuudet plasmassa ovat selkeästi kokeellisesti mitattavia asioita. Ne ovat myös suhdeasteikollisia, sillä niillä on absoluuttinen nollapiste eli ei ollenkaan entsyymiaktiivisuutta. Täl-

löin kvantitatiivinen ja kokeellinen tutkimusmenetelmä on oikea valinta tutkimusmenetelmäksi.

## **7.2 Aineiston hankinta**

### **7.2.1 Tutkimuksen perusjoukko ja otoskoko**

Tutkimuksen kohteena olevaa joukkoa kutsutaan perusjoukoksi (Holopainen & Pulkkinen 2002, 12). Tämän tutkimuksen perusjoukkoa ovat kaikki henkilöt, jotka voivat käyttää nikotiinipurukumia ennen näytteenottoa. Nikotiinista riippuvaiset tupakkatuotteiden käyttäjät, jotka ovat lopettaneet tupakkatuotteiden käytön ja käyttävät nikotiinikorvaustuotteita, kuuluvat tutkimuksen perusjoukkoon. Siihen kuuluvat myös henkilöt, jotka ovat nikotiinista riippuvaisia, mutta eivät vielä käytä nikotiinikorvaustuotteita. He voisivat periaatteessa milloin tahansa lopettaa tupakkatuotteiden käytön ja siirtyä käyttämään nikotiinikorvaustuotteita. Lisäksi osa nikotiinipurukumin käyttäjistä käyttää tuotetta väärin, ja hekin kuuluvat tutkimuksen perusjoukkoon.

Kokonaistutkimus voidaan tehdä, jos perusjoukko ei ole hyvin suuri: esimerkiksi alle sata jäsentä. Otos on perusjoukon osajoukko, jota tutkitaan otantatutkimuksessa. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 27–28.) Kun otosyksiköt on valittu perusjoukosta satunnaisesti arpoen eikä harkintaa käyttäen, otanta on edustava, ja sen avulla voidaan estimoida eli arvioida otoksesta laskettujen tunnuslukujen avulla vastaavia suureita perusjoukossa (Heikkilä 2001, 33–35). Jos otos on valittu harkintaa käyttäen, sitä kutsutaan näytteeksi (Holopainen & Pulkkinen 2002, 27). Tupakoivia ihmisiä oli Suomessa vuonna 2008 viidennes väestöstä (Tilastokeskus 2009), joten perusjoukon suuren koon takia tutkimusta ei voitu suorittaa kokonaistutkimuksena. Tutkimuksessa ei voitu käyttää satunnaisesti valittua otosta. Tutkimukseen otettavia henkilöitä varten oli tutkimuksessa asetettu tiukat rajat, jolloin otoksen valintaan joudutaan käyttämään harkintaa. Tämän tutkimuksen otosta kutsuttiinkin näytteeksi.

Otoskoon valinnassa on tehtävä usein kompromissi tulosten tarkkuuden, aikataulun ja kustannusten välillä. Otoskoon on oltava sitä isompi, mitä varmemmin halutaan saatujen tulosten pätevän koko perusjoukossa. Otantavirhe on otannasta aiheutuva satunnaisvirhe. (Heikkilä 2001, 41–42, 186.) Otoskoon kasvattaminen vähentää otantavirheen määrää, mikä lisää tulosten tarkkuutta (Bryman 2008, 179). Tämän tutkimuksen näytteen koon tärkein rajoitus oli henkilöstöresurssi, koska tutkijoita oli vain yksi ja näytteiden otto koehenkilöitä kesti suhteellisen pitkään. Aikaa tutkimuksen suorittamiseen oli vain 13 päivää. Jos yhtenä päivänä olisi ollut kolme koehenkilöä eikä tutkimuksen suorittaminen epäonnistuisi, tutkimuksen näytteen koko olisi voinut olla enintään 39 ihmistä.

### **7.2.2 Tutkimuksen koeasetelma**

Klassisessa koeasetelmassa on erillinen kontrolliryhmä, joka saa vaihtoehdoisen käsittelyn ja jonka tuloksia verrataan koeryhmän tuloksiin. Koeryhmä saa tutkimuksen kohteena olevan intervention eli käsittelyn. Molempien ryhmien tulee olla samanlaisia esimerkiksi tutkittavien iän, sukupuolen tai lääketieteellisen historian perusteella. Tehokkain keino jakaa ihmiset samanlaisiin ryhmiin on satumanvarainen arpominen. (Nelson, Dumville & Torgerson 2010, 203–204.)

Ennen-jälkeen -koeasetelmassa interventio suoritetaan kaikille tutkimukseen osallistuville koehenkilöille, ja tätä tulosta verrataan ennen käsittelyä mitattuun tulokseen. Väliaikaiset vaikutukset, mittauksen vaikutukset ja regressio kohti keskiarvoa voivat aiheuttaa sen, että muutos tulosten välillä ei johdu interventiosta. Väliaikaisena vaikutuksena tuloksen muutos ajan myötä voi aiheutua normaalista tuloksen vaihtelusta. (Nelson ym. 2010, 201.) Mittaaminen itsessään, esimerkiksi tutkimuslomakkeen tekeminen uudelleen, voi auttaa tunnistamaan aukot tiedoissa, ja siten muuttaa tuloksia (Jones & Nelson 1997, 342–343). Regressio kohti keskiarvoa on ilmiö, jossa peräkkäisissä mittauksissa korkeilla arvoilla on tapana ”regressoitua” alaspäin ja matalilla arvoilla ylöspäin kohti keskiarvoa (Bland & Altman 1994, 1499).

Tutkimuksessa ei käytetty klassista koeasetelmaa, koska pienen näytteen koon, enimmillään 39 ihmistä, takia koeryhmässä ja testiryhmässä olisi kummassakin ollut vain noin 18 henkilöä. Tällöin otantavirhe olisi ollut suurempi kuin käytettäessä noin 39 henkilön otosta, ja siksi tutkimuksessa käytettiin ennen-jälkeen-koeasetelmaa. Se ei osoita nikotiinipurukumin vaikutuksia yhtä yksiselitteisesti kuin klassinen koeasetelma, mutta tutkimuksen pienen otoskoon takia se antoi oletettavasti otantavirheeltään pienempiä ja siten tarkempia tuloksia.

### **7.2.3 Tutkimuksen koehenkilöt**

Tutkimukseen osallistuvien vapaaehtoisten tuli olla täysi-ikäisiä, koska alaikäisiä voidaan lain mukaan voida tutkia kuin vain silloin, kun samoja tieteellisiä tuloksia ei voida saavuttaa muilla tutkittavilla. Samasta syystä tutkimukseen eivät voineet osallistua vajaakykyiset eli henkilöt, jotka eivät mielenterveyden häiriön, kehitysvammaisuuden tai muun vastaavan syyn takia kykene antamaan pätevästi suostumustaan tutkimukseen. (Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 448/1999.)

Tutkimukseen osallistuvien tuli olla päivittäin tupakoivia ja ainakin keskimukaisesti nikotiinista riippuvaisia. Keskimukainen nikotiiniriippuvuus tarkoitti tässä tutkimuksessa sitä, että koehenkilö sai ainakin kolme pistettä Fagerströmin kuuden kysymyksen nikotiiniriippuvuustestistä. Tämä pistemäärä on useimmissa nikotiiniriippuvuuden luokitteluissa merkki keskimukaisesta riippuvuudesta (kuvio 2). Menettelytavalla varmistettiin, ettei tutkimus synnytä nikotiiniriippuvuutta koehenkilöille eli ehkäistiin tutkittavalle tutkimuksesta mahdollisesti syntyviä haittoja (Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 448/1999). Tutkimukseen ei otettu mukaan nikotiinipurukumia käyttäviä tai muiden tupakkatuotteiden kuin tupakan käyttäjiä. Nikotiinipurukumin käyttäjien nikotiiniriippuvuuden arviointiin ei ole olemassa validia eli pätevää kyselylomaketta (Etter 2007), kuten ei myöskään muille nikotiinikorvaustuotteille, sikareille tai purutupakalle Internetin hakukoneiden tulosten perusteella. Nuuskan käyttäjille on olemassa pätevä kyselylomake (Ebbert ym. 2006, 1721), mutta tutkimushenkilöiden hakeminen oli yksinkertaisempaa, kun haettiin vain tupakoitsijoita.

Tutkimukseen osallistuvilla ei saanut olla mitään nikotiinipurukumin käytön es-tettä eikä mitään tilaa, joka on mainittu tuotteeseen liittyvissä varoituksissa ja käytön varotoimissa (Lääketietokeskus Oy 2042). Näissä tiloissa tarvitaan to-dennäköisesti keskustelua lääkärin kanssa ennen tuotteen käytön aloitusta. Koska tutkimuksessa ei ole mukana lääkäreitä, tällaisia tiloja potevat eivät voineet osallistua tutkimukseen. Tutkimukseen osallistuvalla ei saanut olla mitään pit-käaikaislääkityksiä. Useita lääkkeitä tulisi välttää ennen näytteenottoa, mutta yksityiskohtaisten ohjeiden antaminen on potilasta hoitavan lääkärin tehtävä (Matikainen ym. 2010, 21). Nämä ehkäisivät tutkittavalle tutkimuksesta mahdol-lisesti syntyviä haittoja (Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 448/1999).

#### **7.2.4 Koehenkilöiden haku**

Tutkimushenkilöitä haettiin Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun opiskelijoista, jotka ovat valtaosin nuoria aikuisia, joilla on todennäköisesti vanhempia ikäryh-miä vähemmän todettuja ja lääkitystä vaativia perussairauksia tai muita esteitä tutkimukseen osallistumiseen. Heihin otettiin yhteyttä lähettämällä rekrytointi-ilmoitus sähköpostiviestillä siihen sähköpostiosoitteeseen, jonka he ovat ilmoit-taneet oppilaitokseen. Tähän tarvittiin oppilaitokselta haettu ja saatu tutkimuslu-pa, jonka numero ilmoitettiin sähköpostiviestissä. Tutkimuslupaa varten vaadit-tiin hyväksytty opinnäytetyösuunnitelma.

Rekrytointi-ilmoituksessa kuvattiin lyhyesti tutkijan nimi ja tutkimuspaikka yh-teystietoineen, toimeksiantaja, tutkimuksen sisältö, tutkimusvalmiste ja tutkitta-van ryhmän valintaperusteet. Lisäksi siinä kuvattiin tutkimuksen kesto sekä tie-to, että yhteydenotto ei sido yhteydenottajaa mihinkään. Rekrytointi-ilmoituksen mallina käytettiin Turun kliinisen tutkimuskeskuksen laatimaa rekrytointi-ilmoituksen runkoa (Turun kliininen tutkimuskeskus 2010, 55). Rekrytointi-ilmoitus on esitetty liitteessä 2. Sähköpostin liitteeksi laitettiin Fagerströmin kuu-den kysymyksen nikotiiniriippuvuudesta (liite 1). Sähköpostin lisäksi koehenkilöi-tä etsittiin suullisesti.

Aluksi tutkimuksessa luvattiin koehenkilöille tiedot vain tutkittavista entsyymeistä. Koska koehenkilöitä ei saatu ensimmäisen sähköpostin lähettämisen jälkeen ja suullisen haun jälkeen tarpeeksi, koehenkilöille luvattiin lisäksi tiedot samalla kertaa otetusta, EDTA-koeputkesta analysoitavasta perusveren kuvasta. Tieto tutkittavasta veren kuvasta lisättiin rekrytointi-ilmoitukseen, sitä muokattiin alkuperäisestä ja se lähetettiin uudelleen Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun opiskelijoille.

### **7.2.5 Koehenkilöiden ohjaus ja tutkimuksen esivalmistelu**

Tutkijaan yhteyttä ottaneille lähetettiin sähköpostilla luettavaksi tutkittavan tiedote (liite 3), jossa kerrottiin riittävällä tarkkuudella ja selkeällä kielellä tutkimukseen liittyvistä seikoista. Tutkittavan tiedote laadittiin Turun klinisen tutkimuskeskuksen (2010, 59–60) ohjeistuksen mukaisesti. Ilmoittautuneiden kanssa sovittiin henkilökohtainen tapaaminen, jossa käytiin suullisesti läpi tutkittavan tiedote ja vastattiin tutkittavien kysymyksiin.

Vasta, kun koehenkilöt olivat varmasti ymmärtäneet tutkimuksen sisällön, he saivat allekirjoittaa suostumusasiakirjan, joka oli kirjallisen suostumus tutkimukseen osallistumiseen. Suostumusasiakirjassa koehenkilöt vakuuttivat osallistuvansa tutkimukseen vapaaehtoisesti, olevansa täysi-ikäisiä ja vailla tutkimukseen osallistumisen estäviä tekijöitä. Siinä myös kerrottiin tietojen käsittelyn anonymiteetistä ja ehdottomasta luottamuksellisuudesta. Koekoehenkilöt saivat myös missä tahansa tutkimuksen vaiheessa peruuttaa suostumuksensa tutkimukseen ilman seuraamuksia ja tarvetta selitellä irtautumisen syytä. Suostumusasiakirja on esitetty liitteessä 4, ja se on laadittu Turun klinisen tutkimuskeskuksen ohjeistuksen mukaisesti (Turku Clinical Research Centre 2011).

Lain mukaan tutkimukseen osallistuvien tulee saada suostumusasiakirjasta tulostettu jäljennös itselleen (Laki sosiaali- ja terveydenhuollon asiakastietojen sähköisestä käsittelystä 159/2007), mutta tapaamispaikoissa oppilaitoksessa ei ollut mahdollisuutta papereiden kopiointiin. Siksi tutkimuksessa koehenkilöt allekirjoittivat kaksi identtistä suostumusasiakirjaa, joista toinen jäi tutkijalle ja toi-



nen koehenkilölle itselleen. Tapaamisessa sovittiin koehenkilölle sopiva näytteenottopäivä ja kellonaika, jolloin hän saapui näytteenottoon, sekä annettiin mukaan kirjallinen ohje tutkimukseen valmistautumisesta ja koepäivän sisällöstä (liite 5). Osa koehenkilöistä ei päässyt tapaamiseen ennen tutkimusta, joten he saivat ohjeistuksen ja mahdollisuuden esittää kysymyksiä sähköpostitse. He al-lekirjoittivat suostumuslomakkeen vasta tutkimuksen yhteydessä.

Tutkimukseen osallistujat noudattivat liitteen 5 mukaisia esivalmistautumisohejeita. GT ja AFOS eivät vaadi paastonäytettä (Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2008; 2010), eikä niitä tutkimuksessakaan vaadittu. Näin tutkimus ei ollut niin raskas osallistujille, mikä saattoi helpottaa myös koehenkilöiden löytämistä tutkimukseen. Kahvin ja muiden kofeiinipitoisten valmisteiden käyttäminen oli tutkimuksessa kielletty, koska nikotiinia hajottava entsyymi hajottaa myös kofeiinia (Patja ym. 2005, 76).

### **7.2.6 Näytteiden otto tutkimuspäivänä**

Näytteiden otto ja analysointi tapahtuivat Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Biokemian opetuslaboratoriossa. Kunakin tutkimuspäivänä kutsuttiin enintään kolme koehenkilöä, ja heille kullekin oli varattu aika pääosin 20 minuutin välein toisistaan. Aluksi heiltä varmistettiin, että he olivat noudattaneet tutkimuksen esivalmisteluohjeita, jonka jälkeen heiltä otettiin verinäytteet entsyymien entsyymiaktiivisuuksien lähtötason määrittämiseksi. Lähtötasonäytteen yhteydessä otettiin myös EDTA-koeputki perusveren kuvan määrittämiseksi.

Tutkimuksessa käytettävä näytemuoto oli geelilliseen litiumhepariinikoeputkeen otettu plasma, koska se sopii tutkittavien entsyymien määrittämiseen (Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri 2008 ja 2010). Plasmaa ei myöskään tarvitse seisoittaa 30 minuutin ajan ennen näytteiden sentrifugointia kuten seeruminäytteitä (Mekalasi Oy 2010, 6), jolloin tutkimuksen suorittaminen nopeutui. Verta otettiin kullakin näytteenotokerralla kahteen näyteputkeen, koska tällöin voitiin näytteen analysointia varten valita näyte, joka oli vähemmän hemolysoitunut. Hemolyysi häiritsee molempien entsyymien määrittämistä (Moss & Henderson 1999,

679, 688). Koehenkilöiden anonymiteetin varmistamiseksi koeputkiin kiinnitettävii tarroihin ei kirjoitettu heidän nimiään vaan ensimmäisenä tutkimukseen tuleva oli henkilö 1, ja koeputkeen laitettiin tästä lyhenteenä H1. Samasta henkilöstä eri aikoina otetut näyteputket erotettiin toisistaan lyhenteellä N, ja N0 oli lähtötason näytteiden näytetarraan merkittävä lyhenne.

Kun lähtötason määrittämiseen käytettävä näyte oli otettu, osallistujille annettiin kaksi milligrammaa nikotiinia sisältävä nikotiinipurukumi. He pureskelivat purukumia pureskeluohjeiden mukaisesti 30 minuutin ajan, jonka jälkeen he ottivat purukumin pois suustaan. Tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloituksesta otettiin uudet verikokeet, jotka numeroitiin lyhenteellä N1, ja kahden tunnin kuluttua viimeiset verikokeet, numero N2. Tutkittavat eivät saaneet mittausten välisenä aikana syödä eivätkä juoda muuta kuin hieman vettä tutkimuksen vakioimiseksi. Samasta syystä myös tupakointi, ylimääräisten nikotiinikorvaustuotteiden käyttö tai itsensä rasittaminen olivat kiellettyjä. Kaikki mahdolliset poikkeamat tutkimuksen ohjeista, esimerkiksi näytteenottoajankohdan viivästyminen, kirjattiin tutkimuspäivien aikana ylös tutkijan laboratoriopäiväkirjaan, ja ne huomioitiin tutkimuksen tulosten tulkinnassa. Näytteiden otto ja sentrifugointi tapahtui liitteen 6 mukaisesti. Liitteessä käytetään esimerkkinä ensimmäisen koepäivän henkilöitä.

### **7.2.7 Näytteiden analysointi tutkimuspäivänä**

Näytteiden analysointi suoritettiin tässä tutkimuksessa Konelab i60-analysaattorilla. Ennen koehenkilöiden näytteiden analysointia tutkittiin laaduntarkkailunäytteet. Laaduntarkkailunäytteissä on tunnettu pitoisuus tutkittua ainetta, ja laaduntarkkailunäytteiden avulla varmistetaan, että analyysimenetelmä toimii kunnollisesti. Sekä pitoisuuksiltaan normaaleja että epänormaaleja laaduntarkkailunäytteitä tulisi käyttää. (Westgard & Klee 1994, 559, 561–562.) Laaduntarkkailunäytteet liotettiin lisäämällä kylmäkuivattuun valmisteseeseen steriiliä vettä, ja ne pakastettiin kerta-annoksiin. Pakastettujen näytteiden annettiin lämmitä huoneenlämpöiseksi noin 40 minuutin ajan ennen niiden käyttöä. Tutkimuksessa käytettiin epänormaalin pitoisuuden laaduntarkkailunäytteenä Abtrol-

laaduntarkkailunäytettä, ja normaalin pitoisuuden Nortrol-laaduntarkkailunäytettä. Niiden valmistaja on Thermo Scientific. Laaduntarkkailunäytteiden tulokset kirjattiin erilliseen taulukkoon, jonka avulla seurattiin niiden tason säilymistä. Liitteessä 7 on esitetty käytettyjen reagenssien ja laaduntarkkailunäytteiden tiedot sekä laaduntarkkailunäytteiden analysoinnista saadut tulokset. Tässä tutkimuksessa käytetyn GT-reagenssin viimeinen käyttöpäivä oli ylittynyt, mutta opinnäytetyötä ohjaavan opettajan luvalla sitä voitiin käyttää. Perusteena oli se, että reagenssi ei sisällä herkästi muuttuvia ainesosia, kuten entsyymejä. Tällöin reagenssin antamat tuloksetkin olisivat luotettavia. Abtrol-laaduntarkkailunäytteestä tutkitun AFOS:n tulokset ovat liian matalia. Tämä johtuu analysaattorissa olevasta viasta, jonka takia kyseisen tutkimuksen ja kyseisen laaduntarkkailunäytteen tulos on aina ollut liian matala. Vika ei ollut korjattavissa, joten opinnäytetyötä ohjaavan opettajan luvalla tutkimus voitiin suorittaa tästä huolimatta.

Koehenkilöiden näytteet analysoitiin vasta, kun laaduntarkkailunäytteiden tulokset olivat niille asetetuissa rajoissa. Liitteessä 6 on kuvio näytteiden analysoinnista. Näytteiden tulokset kirjattiin sekä laboratoriopäiväkirjaan että Microsoft Office Excel 2007 -taulukkolaskentaohjelmalla luotuun taulukkoon, jota käytettiin myös tulosten analysoinnissa. Vastausten manuaalisessa siirrossa on riski tehdä kirjausvirheitä, vaikka tulokset varmistettaisiinkin kahdesti (Westgard & Klee 1994, 555). Analysaattorin tulosvalikosta ei kuitenkaan ollut mahdollista siirtää tuloksia sähköisesti suoraan taulukkolaskentaohjelman taulukkoon, joten tutkimuksessa oli käytettävä manuaalista tulostensiirtoa. Jotta tiedot siirtyisivät oikein, siirretyt vastaukset varmistettiin yhteensä kolme kertaa. Kun kaikki tulokset oli kirjattu, poistettiin kaikki liuokset analysaattorista ja tehtiin analysaattorin sulkemiseen kuuluvia toimintoja, kuten analysaattorin pesu pesuliuksella. Lisäksi laboratorio siistittiin alkuperäiseen kuntoonsa. Kun kaikki koehenkilöiden näytteet oli saatu analysoitua, ne voitiin hävittää. Analysoinnin estyessä näytteet olisi pakastettu ja analysoitu heti, kun ongelma olisi saatu ratkaistua.

Koehenkilöiltä otettu EDTA-koeputki perusveren kuvan määrittämiseksi analysoitiin samanaikaisesti kuin lähtötasonäytteet. Analysoinnissa käytettiin Sysmex XS 100i -analysaattoria. Ennen potilasnäytteiden analysointia määritettiin laaduntarkkailunäyte. Sen tuloksen piti olla näytteelle asetetuissa rajoissa, ennen

kuin potilasnäytteet voitiin analysoida. Näytteiden tulokset kirjattiin suoraan koehenkilölle annettavaan tuloslomakkeeseen (liite 8), johon kirjattiin myös tutkittujen entsyymien arvot lähtötasonäytteistä. Tulokset annettiin koehenkilöille henkilökohtaisesti näytteiden oton välisenä aikana luokkahuoneessa, jossa ulkopuoliset eivät päässeet niitä kuulemaan. Kaikkien koehenkilöiden tulokset olivat viiterajoissa, joten ketään ei tarvinnut ohjata jatkoselvityksiin. Jatkoselvityksenä koehenkilö olisi ohjattu lievästi poikkeavien arvojen takia terveyden- tai sairaanhoitajan vastaanotolle, ja huomattavasti poikkeavien arvojen takia lähimpään terveyskeskuspäivystykseen.

### **7.2.8 Esitutkimuksen suorittaminen**

Esitutkimuksen suorittaminen on aina suositeltavaa ennen tutkimuksen suorittamista. Sillä voidaan testata koko koehenkilöiden hakemisprosessin tai yksinkertaisesti pelkän tiedonkeruuvälineen toimivuutta. (Lacey 2010, 22.) Tässä tutkimuksessa suoritettiin esitutkimus ennen koehenkilöiden hakua varsinaiseen tutkimukseen. Esitutkimuksessa testattiin koko tutkimusprosessin toimivuus, ja siihen osallistui kolme tutkimuksen koehenkilöiden kriteerit täyttävää henkilöä. Koehenkilöitä pyydettiin arvioimaan tutkimushenkilöiden hakuun käytettävien rekrytointi-ilmoituksen (liite 2), tutkittavan tiedotteen (liite 3) ja suostumusasiakirjan (liite 4) sisällön selkeys, kattavuus ja kiinnostavuus. Saadun palautteen mukaan tekstit olivat kiinnostavia ja selkeitä, mutta sen mukaan tutkittavan tiedotteeseen lisättävä väliotsikointi helpottaisi sen lukemista. Väliotsikointi lisättiin tutkittavan tiedotteeseen. Esitutkimukseen osallistuneiden mielestä rekrytointi-ilmoitus oli hyvä, vaikka sen avulla ei saatu tutkimukseen tarpeeksi koehenkilöitä. Toisaalta koehenkilöiden vähäisyyteen vaikutti varmasti myös näytteenotto-kertojen runsaus sekä tutkimuksen ajankohta useiden opiskelijoiden harjoittelujen aikaan.

Esitutkimuksessa testattiin lisäksi koehenkilöiden ohjausta, tutkimuksen suorittamista ja tutkimukseen kokonaisuudessaan kuluvaan aikaa. Esitutkimuksen koehenkilöt olivat bioanalytiikan opiskelijoita. Heille näytteenottoon valmistautuminen on tuttua, eivätkä he tarvinneet niin paljon ohjeistusta kuin koehenkilöt

tarvitsivat varsinaisessa tutkimuksessa. Esivalmistautumisohjeiden noudattamisen varmistaminen olisi pitänyt suorittaa esitutkimuksessa huolellisemmin, sillä siinä muistettiin varmistaa vain tupakoimattomuuden ja kahvin välttäminen, mutta ei muita esivalmistautumisohjeita. Varsinainen näytteenotto sujui esitutkimuksessa hyvin, mutta ensimmäiselle koehenkilölle unohdettiin laittaa hälytys soimaan tunnin kuluttua pureskelun aloituksesta. Oikea aloitusaika saatiin kuitenkin varmistettua kyseiseltä koehenkilöltä.

Laaduntarkkailunäytteiden antamat virrehälytykset käsiteltiin esitutkimuksessa väärin: analysoitaville suoritettiin turhaan Shut down -pesu, ja laaduntarkkailunäytteet sulatettiin ja analysoitiin turhaan uudelleen. Tulosten kirjaaminen kahteen paikkaan samanaikaisesti oli haastavaa, ja ensimmäisessä kirjauksessa tapahtui kirjausvirheitä, mutta huolellisesti tarkistamalla esitutkimuksen tulokset saatiin kirjattua oikein. Esitutkimuksessa selvisi, että nikotiinipurukumi oli koehenkilöiden mielestä todella pahanmakuinen. Tästä mainittiin varsinaiseen tutkimukseen osallistuville koehenkilöille heitä ohjeistaessa. Tulosten analysointivaihekin testattiin esitutkimuksesta saadulla aineistolla.

## **7.3 Aineiston analysointi**

### **7.3.1 Tutkimuksen tunnusluvut**

Tunnusluvut sisältävät aineiston havaintojen pelkistetyt informaation. Keskiarvo ja mediaani ovat tällaisia tunnuslukuja. Mediaani on se aineiston havainto, jonka ylä- ja alapuolella on yhtä paljon havaintoja. Sitä kannattaa käyttää vinoissa jakaumissa, jotka ovat epäsymmetrisiä keskiarvoon nähden, sekä jakaumissa, joissa on suuri hajonta eli havainnot ovat kaukana toisistaan tai keskimääräisestä arvosta. (Heikkilä 2001, 82–84.)

Hajontaluvuilla kuvataan hajonnan määrää, ja käytetyin ja tärkein hajontaluku on keskihajonta. Se kuvaa havaintojen hajaantuneisuutta keskiarvon ympärillä ja sitä kasvattavat keskiarvosta huomattavasti eroavat havainnot. Tilasto-

ohjelmissa keskihajonnan laskemiseen käytetään otoskeskihajontaa, jonka laskukaava on erilainen kuin keskihajonnalla. Variaatiokertoimella kuvataan havaintoarvojen suhteellista hajontaa. Arvo osoittaa, kuinka monta prosenttia keskihajonta on keskiarvosta, ja se on erityisen hyödyllinen silloin, kun havaintoarvot ovat eri suuruusluokkaa. (Heikkilä 2001, 85–88.) Otantavirhettä mitataan keskiarvon keskivirhe -tunnusluvulla, joka on arvio siitä, kuinka paljon otannan keskiarvo todennäköisesti eroaa perusjoukon keskiarvosta (Bryman 2010, 178).

Tämän tutkimuksen aineistosta määritettiin kunkin muuttujan otoskeskiarvo. Koska tutkimusaineisto oli pieni, siinä voi esiintyä paljon hajontaa ja vinoutta, jolloin myös mediaani, otoskeskihajonta, variaatiokerroin ja keskiarvon keskivirhe määritettiin. Tutkimuksessa tunnuslukujen analysointiin käytettiin Microsoft Excel 2007 -taulukkolaskentaohjelmaa.

### 7.3.2 Tutkimuksen hypoteesit

Tilastollisen testauksen ensimmäinen vaihe on hypoteesien eli tiettyjen perusteltujen ennakkokäsitysten asettaminen. Hypoteesit perustuvat teoriaan tai aikaisempiin tutkimuksiin, ja niiden avulla pyritään ratkaisemaan tutkimusongelma. Hypoteesin tulee esittää kahden tai useamman muuttujan välinen yhteys yksiselitteisesti, olla testattavissa empiirisen aineiston avulla sekä olla lyhyt ja termeiltään selkeä. Hypoteeseja asetetaan kaksi, joista toinen hylätään testauksen tuloksen perusteella. Nollahypoteesi,  $H_0$ , väittää, että muuttujien välillä ei ole riippuvuutta eikä keskiarvojen välillä eroa. Vastahypoteesi tai vaihtoehtoinen hypoteesi,  $H_1$ , väittää eroa tai riippuvuutta olevan keskiarvojen välillä. Riippuvuuden tai erojen tulee olla suuria, jotta nollahypoteesista voidaan luopua ja vaihtoehtoinen hypoteesi hyväksyä. (Heikkilä 2001, 189–191.) Tutkimuksessa tutkittiin kahta eri entsyymiä kahtena eri aikana purukumin pureskelun aloituksesta, jolloin tutkimuksessa oli neljä nollahypoteesia:

- 1)  $H_0$ : Nikotiinipurukumi ei vaikuta vähintään tilastollisesti melkein merkittävästi glutamyyli transferaasin entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.

- 2)  $H_0$ : Nikotiinipurukumi ei vaikuta vähintään tilastollisesti melkein merkittävästi glutamyylitransferaasin entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.
- 3)  $H_0$ : Nikotiinipurukumi ei vaikuta vähintään tilastollisesti melkein merkittävästi alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.
- 4)  $H_0$ : Nikotiinipurukumi ei vaikuta vähintään tilastollisesti melkein merkittävästi alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuuksiin kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta.

Tässä tutkimuksessa lähtökohtana on, että lääkkeet, mukaan lukien nikotiinipurukumit, ovat kiellettyjä ennen näytteenottoa, koska ne voivat vaikuttaa laboratoriokokeiden tuloksiin (Yhtyneet Laboratoriot Oy 2007, 12). Lisäksi pitkäaikainen tupakointi vaikuttaa alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuuteen (Panuru ym. 2009, 265), mikä myös voi selittyä nikotiinin aiheuttamalla muutoksella. Täten vastahypoteesit olisivat hyväksyttäviä hypoteeseja.

### 7.3.3 Tutkimuksessa käytetty tilastollinen testi

Tutkimuksen johtopäätökset perustuvat tilastollisiin testeihin, joilla selvitetään hypoteesien paikkansapitävyyttä. Tilastollisen testin avulla arvioidaan riskiä sille, että otoksen perusteella perusjoukosta tehty johtopäätös on virheellinen. Tilasto-ohjelma ilmoittaa testin tuloksena merkitsevyytason eli riskitason. Se ilmoittaa, kuinka suuri riski on, että saatu riippuvuus tai ero johtuu sattumasta. Merkitsevyytason avulla voidaan tulkita tulosta. Viiden prosentin eli 0,05:n merkitsevyytaso on usein käytetty ja yleensä riittävä opinnäytetöissä. Yli yhden, mutta alle viiden prosentin merkitsevyytason sanotaan olevan tilastollisesti melkein merkitsevä. (Heikkilä 2001, 189–191, 195.)

Samojen tilastoyksiköiden tutkiminen ennen ja jälkeen jonkin toimenpiteen aiheuttaa riippuvuutta tutkittavien muuttujien välille. Tällöin voidaan käyttää paritusten otosten t-testiä. (Heikkilä 2001, 224.) Sillä selvitetään, onko kahden toisistaan riippuvaisen ryhmän keskiarvoilla tilastollisesti merkittävää eroa (Free-

man & Walters 2010, 464). Tässä tutkimuksessa käytettiin tilastollisena testinä parittaisten otosten t-testiä, jonka perusteella voidaan hylätä joko nollahypoteesi tai vastahypoteesi. Testi suoritettiin kaksisuuntaisena testinä, koska muutos voi olla joko positiivinen, kohonnut entsyymiaktiivisuus, tai negatiivinen, laskenut entsyymiaktiivisuus. Tutkimuksen tilastollisen testin tekemiseen käytettiin SPSS Statistics 18.0 -tietojenanalysointiohjelmaa.

## 8 Tutkimuksen tulokset

### 8.1 Nikotiinipurukumin vaikutus GT:n entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta

Taulukossa 1 on esitetty tunnusluvut GT:lle ennen, 0 h, ja yhden tunnin, 1 h, kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta. Keskiarvo on 1,8 prosenttia suurempi tunnin kuluttua kuin lähtötasossa, ja mediaani on kohonnut jo 9,3 prosenttia. Keskihajonta taas on 2,2 prosenttia pienempi tunnin kuluttua kuin tutkimuksen alussa, ja variaatiokerroinkin on alentunut 4,0 prosenttia. Keskiarvon keskivirhe on alentunut 3,3 prosenttia lähtötasosta.

Taulukko 1. Tunnusluvut GT:lle ennen, 0 h, ja 1 h kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta

Tunnusluku	GT 0 h	GT 1 h
Keskiarvo U/l	28,25	28,75
Mediaani U/l	21,50	23,50
Otoskeskihajonta	14,71	14,38
Variaatiokerroin	52,08	50,01
Keskiarvon keskivirhe %	35,58	34,41

Tilastollisena testinä tehtiin kaksisuuntainen parittaisten otosten t-testi, jossa merkitsevyystaso on 0,451. Se on tilastollisesti yli viiden prosentin, joten tulos ei ole tilastollisesti melkein merkitsevä, ja siksi hypoteesi  $H_0$  voidaan hyväksyä.



## 8.2 Nikotiinipurukumin vaikutus GT:n entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta

Tunnusluvut GT:lle ennen, 0 h, ja kahden tunnin, 2 h, kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta on esitetty taulukossa 2. Keskiarvo on 0,9 prosenttia pienempi kahden tunnin kuluttua kuin tutkimuksen alussa, mutta mediaani taas on 7 prosenttia suurempi. Kahden tunnin kuluttua keskihajonta on 5,7 prosenttia pienempi kuin alussa, ja variaatiokerroin on myös alentunut 4,9 prosenttia. Keskiarvon keskivirhekin on 5,6 prosenttia pienempi.

Taulukko 2. Tunnusluvut GT:lle ennen, 0 h, ja kahden tunnin, 2 h, kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta

Tunnusluku	GT 0 h	GT 2 h
Keskiarvo U/l	28,25	28,00
Mediaani U/l	21,50	23,00
Otoskeskihajonta	14,71	13,87
Variaatiokerroin	52,08	49,52
Keskiarvon keskivirhe %	35,58	33,59

Kaksisuuntaisessa parittaisten otosten t-testissä merkitsevyystaso on 0,769. Tämä on yli viiden prosentin merkitsevyystason, eikä tulos ole tilastollisesti melkein merkitsevää. Täten hypoteesi  $H_0$  voidaan hyväksyä.

## 8.3 Nikotiinipurukumin vaikutus AFOS:in entsyymiaktiivisuuteen yhden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta

Taulukossa 3 ovat tunnusluvut AFOS:ille ennen, 0 h, ja yhden tunnin, 1 h, kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta. Tunnin kuluttua keskiarvo on 3,6 prosenttia suurempi kuin tutkimuksen alussa, ja mediaani on 4,5 prosenttia suurempi. Keskihajonta taas on 29,0 prosenttia pienempi kuin tutkimuksen alussa, ja variaatiokerroin on 31,6 prosenttia alentunut lähtötasosta. Keskiarvon keskivirhe on 30,4 prosenttia pienempi kuin tutkimuksen alussa.

Taulukko 3. Tunnusluvut AFOS:ille ennen, 0 h, ja yhden tunnin, 1 h, kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta

Tunnusluku	AFOS 0 h	AFOS 1 h
Keskiarvo U/l	65,75	68,13
Mediaani U/l	66,5	69,5
Otoskeskihajonta	11,71	8,31
Variaatiokerroin	17,81	12,19
Keskiarvon keskivirhe %	18,11	12,60

Merkitsevyystaso kaksisuuntaisessa parittaisten otosten t-testissä on 0,264. Tämä on yli viiden prosentin merkitsevyystason, eikä siis ole tilastollisesti melkein merkitsevä. Tämän perusteella hypoteesi  $H_0$  voidaan hyväksyä.

#### 8.4 Nikotiinipurukumin vaikutus AFOS:in entsyymiaktiivisuuteen kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloittamisesta

Tunnusluvut AFOS:ille ennen, 0 h, ja kahden tunnin, 2 h, kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta on kuvattu taulukossa 4. Keskiarvo on yhden prosentin suurempi kahden tunnin kuluttua kuin tutkimuksen alussa, mutta mediaani on 2,3 prosenttia pienempi kuin tutkimuksen alussa. Keskihajonta on 29,5 prosenttia pienempi kahden tunnin kuluttua kuin tutkimuksen alussa, ja variaatiokerroinkin on alentunut 28,7 prosenttia. Myös keskiarvon keskivirhe on peräti 29,9 prosenttia pienempi kuin tutkimuksen alussa.

Taulukko 4. Tunnusluvut AFOS:ille ennen, 0 h ja 2 h kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta

Tunnusluku	AFOS 0 h	AFOS 2 h
Keskiarvo U/l	65,75	66,38
Mediaani U/l	66,50	65,00
Otoskeskihajonta	11,71	8,26
Variaatiokerroin	17,81	12,70
Keskiarvon keskivirhe %	18,11	12,70

Tilastollisen testin, parittaisten otosten t-testin, merkitsevyystaso on 0,838. Se on tilastollisesti yli viiden prosentin merkitsevyystason, eikä siis ole tilastollisesti melkein merkitsevä. Tämän perusteella hypoteesi  $H_0$  voidaan hyväksyä.

## 9 Pohdinta

### 9.1 Tutkimuksen tulokset

Tutkimuksen tunnuslukujen vertailun perusteella nikotiinipurukumin käyttö aiheuttaa vain pieniä muutoksia tutkittujen entsyymien entsyymiaktiivisuuksiin. Keskiarvon mukaan verrattuna GT kohoaa 1,8 prosenttia tunnin kuluttua tutkimuksen alusta, mutta on kahden tunnin kuluttua 0,9 prosenttia pienempi kuin tutkimuksen alussa. AFOS taas kohoaa 3,6 prosenttia tutkimuksen alusta, ja on kahden tunnin kuluttuakin vielä yhden prosentin korkeampi kuin tutkimuksen alussa. Tutkimusaineiston pienuuden takia tulosten hajonta on suurta, mutta lähtötason jälkeen tehdyissä mittauksissa hajonnat ovat pienentyneet. Variaatiokerroimen mukaan verrattuna GT:n kohdalla pienentymä on vähäisempi, variaatiokerroin 4 prosenttia pienempi tunnin ja 4,9 prosenttia kahden tunnin kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta, kuin alkaalisen fosfataasin kohdalla. Sen variaatiokerroin on 31,6 prosenttia pienempi tunnin ja 28,7 prosenttia pienempi kahden tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloituksesta. Tutkimusaineiston suuren hajonnan takia keskiarvosta tehtävä vaikutusten arviointi on epävarmaa.

Tutkimuksen tilastollisen testin, kaksisuuntaisen parittaisten otosten t-testin, mukaan mikään tutkittujen entsyymien entsyymiaktiivisuus ei muuttu tilastollisesti melkein merkittäväksi. Tilastollisesti melkein merkittävä testin merkitsevyystaso olisi ollut alle viiden prosentin eli 0,05:n, mutta nyt testien merkitsevyystasot ovat glutamyylitransferaasille 0,461 tunnin ja 0,769 kahden tunnin kuluttua tutkimuksen aloittamisesta. Alkaalisella fosfataasilla luvut ovat 0,264 ja 0,838. Täten tutkimuksen nollahypoteesit jäävät voimaan.

Tutkimuksen tulokset ovat vastoin tutkimuksen lähtökohtia, jonka mukaan lääkkeet, joihin nikotiinipurukumi kuuluu, ovat kiellettyjä ennen näytteenottoa, koska ne voivat vaikuttaa laboratorionkokeiden tuloksiin (Yhtyneet Laboratoriot Oy 2007, 12). Lisäksi pitkäaikainen tupakointi vaikuttaa alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuuteen (Panuru ym. 2009, 265), mikä myös voisi selittyä nikotiinin aiheuttamalla muutoksella. Tämän tutkimuksen tulosten perusteella näyttäisi kuitenkin siltä, että nikotiinipurukumia voidaan käyttää niin yksi kuin kaksi tuntia ennen näytteenottoa ilman merkittäviä vaikutuksia GT:n ja AFOS:n entsyymiaktiivisuuksiin.

## **9.2 Tutkimuksen luotettavuus**

### **9.2.1 Hyvän tieteellisen käytännön noudattaminen**

Tutkimusten tekeminen tieteelliselle tutkimukselle asetettujen kriteerien mukaan on ensimmäinen edellytys niiden luotettavuudelle (Heikkilä 2001, 185). Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluvat rehellisyys, avoimuus, huolellisuus ja tarkkuus sekä tutkimustyössä, raportoinnissa että tulosten tallentamisessa, esittämisessä ja arvioinnissa. Tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmien tulee olla tieteellisen työn kriteerien mukaisia ja eettisesti kestäviä. Muiden tutkijoiden työ tulee huomioida asiallisesti. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2011 a.) Hyvän tieteellisen käytännön loukkaaminen esiintyy piittaamattomuutena hyvästä tieteellisestä käytännöstä ja vilpistä. Piittaamattomuus ilmenee hyvien tieteellisten tutkimuskäytäntöjen laiminlyönteinä ja yleisenä holtittomuutena. Vilppi tulee ilmi tulosten sepittämisenä ja vääristelynä, tutkimussuunnitelman tai muun tekstin luvattomana lainaamisena eli plagiointina. Vilppiä on myös anastaminen, jossa jonkun toisen tutkimusideaa, -suunnitelmaa tai -havaintoja esitetään kuin ne olisivat omia. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2011 b.)

Tutkimuksessa otettiin huomioon hyvä tieteellinen käytäntö kaikissa tutkimuksen vaiheissa. Tutkimusaihe oli täysin tutkijan itsensä keksimä, eikä tutkimuksessa siten ollut anastamista. Tutkimuksen tiedonhankinnassa kiinnitettiin huo-

miota lähteiden käytössä siihen, että tekstin lähde mainittiin aina ja viittauksessa tekstin sisältö järjesteltiin uudelleenlaisiksi lauseiksi plagioinnin välttämiseksi. Tiedonhankinnassa perehdyttiin tutkimus-, aineistonhankinta- ja analysointimenetelmiin, jotta niiden perusteella voitiin valita tutkimukseen soveltuvimmat menetelmät. Tutkimuksen vaiheiden huolellisella raportoinnilla pyrittiin tutkimuksen avoimuuteen. Tietojen raportoinnissa oltiin rehellisiä, eikä mitään tuloksia muutteltu, lisätty tai jätetty pois tutkimuksesta. Tietojen siirrossa oltiin huolellisia ja käytettiin siirron onnistumisen varmistusta, jotta tulkintaan vaikuttavia virheitä ei syntyisi. Tulosten tulkinnassa valittiin tutkimukseen tilastollinen testi lähdekirjallisuuden huolellisesti perehtyen, ja tulosten tulkinta suoritettiin myös harkiten ja lähdekirjallisuutta hyödyntäen.

### **9.2.2 Validiteetti**

Validiteetti eli pätevyys ja reliabiliteetti eli luotettavuus muodostavat yhdessä mittarin kvantitatiivisen tutkimuksen kokonaisluotettavuudelle. Validiteetti eli pätevyys kuvaa, miten tutkimuksessa on onnistuttu mittaamaan sitä, mitä siinä pitiikin mitata. Tutkimuksen epätasälliset tavoitteet johtavat helposti siihen, että tutkitaan vääriä asioita. Validius liittyy aina tutkimuksen aihealueen teorian tietoon ja sen käsitteisiin. Sisäinen validiteetti tarkoittaa sitä, vastaavatko mittauksen tulokset tutkimuksen teoriaosassa esitettyjä käsitteitä. Ulkoinen validius taas edellyttää, että myös muut tutkijat tulkitsevat tutkimustulokset samalla tavalla. Mittarin validius varmistetaan huolellisella etukäteissuunnittelulla ja tarkoin harkitulla tiedonkeruulla. Lisäksi perusjoukon tarkka määrittely ja edustavan otoksen saaminen edesauttavat tutkimuksen validiutta. (Heikkilä 2001, 29, 186.)

Tämän tutkimuksen suunnittelussa pyrittiin mahdollisimman suureen validiteettiin. Tutkimuksessa pohdittiin tarkasti, minkälaisia tutkimuksen tulokset olisivat, ja pyrittiin käsittelemään tutkimuksen teoriaosassa tuloksissa esiintyviä käsitteitä. Teoriaosassa käsiteltiin myös aineiston hankinnan kannalta tärkeitä asioita, vaikka ne eivät suoraan esiinny tutkimusten tuloksissa. Näitä olivat esimerkiksi nikotiinin metabolia, nikotiiniriippuvuus ja nikotiiniriippuvuuden mittaaminen. Tutkimuksen tavoitteet ja perusjoukko määritettiin mahdollisimman tarkasti

mahdollisemman suuren validiuden saavuttamiseksi. Edustavan otoksen ottaminen ei kuitenkaan ollut mahdollista käytettävien resurssien vähäisyyden takia, mikä heikensi tutkimuksen validiutta. Tutkimuksen ulkoinen validius varmistettiin opinnäytetyön ohjaajien ja vertaisopponeijan tekemän opinnäytetyön arvioinnin kautta.

Tässä tutkimuksessa hyödynnettiin runsaasti Internetiä sen tiedonmäärän ja tietohakujen helppouden takia, mutta sen lähteiden luotettavuutta arvioitiin hyvin kriittisesti. Luotettavuuden arvioinnissa käytettiin Brymanin (2008, 97–98) ohjeistusta. Yleisesti tunnettujen järjestöjen sivustoja, esimerkiksi WHO:n, sekä valtioiden virallisia julkaisuja hyödynnettiin. Myös tieteellisten lehtien elektronisia versioita käytettiin tutkimuksessa lähteinä. Tutkimuksessa käytettiin mahdollisimman uusia lähteitä, joissa tieto oletettavasti olisi uusimmilla teknisillä menetelmillä tutkittua ja mahdollisimman monia tieteellisiä tutkimuksia hyödyntävää. Yksittäisiä vanhojakin lähteitä käytettiin, esimerkiksi tietoa entsyymien toiminnasta Campbellin vuodelta 1995 olevasta kirjasta. Tällöin katsottiin kyseessä olevan sellainen aineen fyysiseen olemukseen liittyvä tieto, joka säilyy muuttumattomana ajasta toiseen.

### **9.2.3 Reliabiliteetti**

Reliabiliteetti eli luotettavuus tarkoittaa tutkimuksen tulosten tarkkuutta eli sitä, että ne eivät ole sattumanvaraisia. Tutkimuksen sisäinen reliabiliteetti voidaan varmistaa mittaamalla sama tilastoyksikkö usean kerran, jolloin mittaustulosten ollessa samat mittaus on reliaabeli. Luotettavuuteen liittyy tutkimuksen toistettavuus eli se, että se voidaan suorittaa milloin tahansa, missä tahansa ja kenen tahansa tekemänä samanlaisin tuloksin. Tämä on myös tutkimuksen ulkoista reliabiliteettia. Luotettavuus edellyttää tutkijalta tarkkuutta ja kriittisyyttä koko tutkimuksen ajan, ja virheitä voi sattua esimerkiksi tietoja kerättyäessä, syöttyäessä, käsiteltäessä ja tuloksia tulkittaessa. Jos otoskoko on tutkimuksessa pieni, sen tulokset ovat sattumanvaraisia. Luotettavuutta heikentää tutkimuksen kohdejoukon vinous eli se, että se ei edusta koko tutkittavaa perusjoukkoa. Reliabi-

liteetin puutteellisuus johtuu myös satunnaisvirheistä, joita aiheuttavat otanta-, mittaus- ja käsittelyvirheet. (Heikkilä 2001, 30, 187.)

Tässä tutkimuksessa ei käytetty rinnakkaisia määrytyksiä. Ne olisivat kuitenkin hyväksi mittauksen reliabiliteetin varmistamiseksi, ja siten tutkimuksen reliabiliteetissa on puutetta. Reliabiliteettiin pyrittiin tässä tutkimuksessa varmistamalla työmenetelmien oikeellisuus. Analysointivälineiden käyttöön saatiin perehdytys ja sekä analysointivälineiden että reagenssien oikea toiminta varmistettiin laaduntarkkailunäytteitä käyttämällä, ja laaduntarkkailunäytteiden tulostasoa seuraamalla. Esitutkimuksen suorittaminen myös varmisti, että itse tutkimuksen suoritus onnistui. Laboratoriopäiväkirjan käytöllä myös pyrittiin hyvään reliabiliteettiin, sillä sen avulla tutkimuksessa sattuneet virheet voitiin ottaa huomioon tulosten luotettavuuden arvioinnissa. Kahdella näyteputken otolla yhdellä näytteenotokerralla estettiin hemolyysin vaikutus tutkimuksen tuloksiin. Tulosten siirrossa tapahtuvat virheet pyrittiin poissulkemaan varmistamalla tulosten siirtyminen kolmeen kertaan.

Selkeä virhe tässä tutkimuksessa tapahtui näytteenotossa, kun kahden näytteen ottoajankohdat viivästyivät suunnitellusta. Toinen näistä oli ensimmäisen tunnin näyte, ja sen näytteenotto myöhästyi 15 minuuttia. Toinen näyte oli toisen tunnin näyte, ja se myöhästyi 20 minuuttia. Haastavaa näytteenottoa ei kuitenkaan tutkimusta suunnitellessa ja toteuttaessa voi täysin poissulkea, vaikka näytteenottaja olisikin todella kokenut. Mahdollinen virhetekijä tutkimuksessa oli lisäksi se, että useat koehenkilöistä eivät olleet aikaisemmin pureskelleet nikotiinipurukumia. Siksi he saattoivat pureskella purukumia hitaammin tai nopeammin kuin sitä oli tarkoitus. Oikea purukumin pureskelutekniikka on tärkeä, jotta nikotiinia imeytyisi purukumista oikealla tavalla ja jotta se ei aiheuttaisi haittavaikutuksia (Lääketietokeskus Oy 2010, 2042–2043). Suurempi koehenkilöiden määrä vähentäisi pureskelutekniikan eroavaisuuksista aiheutuvaa GT- ja AFOS-entsyymien arvojen hajontaa.

Merkittävin tutkimuksen reliabiliteettia heikentävä tekijä oli tutkimuksen äärimmäisen pieni otoskoko. Otoksen pienuus aiheutti myös sen vinouden eli sen, että se ei edusta koko tutkittavaa perusjoukkoa. Nämä tekijät heikensivät mer-

kittävästi tutkimuksen reliabiliteettia. Tutkimuksen toistettavuus oli hyvä, koska tutkimuksen vaiheet kuvattiin tarkasti ja niitä seuraamalla tutkimuksen toistaminen samankaltaisin tuloksin on varmasti mahdollista. Tutkimuksen ulkoinen reliabiliteetti siis oli kunnossa.

#### **9.2.4 Luotettavuus kokonaisuudessaan**

Tämä tutkimus ei itsessään anna luotettavaa tieteellistä tietoa tutkittavasta aiheesta. Tutkimus tehtiin niin pienelle määrälle koehenkilöitä, että sen antamat tulokset olivat enemmän tai vähemmän satunnaisia. Otoksen pienuus teki siitä myös vinon eli se ei edustanut koko tutkimuksen perusjoukkoa. Otoksen epäedustavuus heikensi sekä validiteettia että reliabiliteettia, eli koko tutkimuksen luotettavuutta. Tutkimuksen koeasetelmana olisi pitänyt olla satunnaistettu koeasetelma, jotta nyt käytettävän koeasetelman virhelähteinä olevien väliaikaisten vaikutusten, mittauksen vaikutukset ja regressio kohti keskiarvoa voitaisiin esittää. Väliaikaiset vaikutukset, mittauksen vaikutukset ja regressio kohti keskiarvoa ovat voineet vaikuttaa tutkimuksen tuloksiin.

Tutkimuksessa oli osa-alueita sisäisestä validiteetista ja reliabiliteetista, jotka ovat kunnossa. Myös ulkoinen validiteetti ja ulkoinen reliabiliteetti olivat hyvin huomioitu tutkimuksessa. Tutkimuksen tulokset ovatkin enintään suuntaantavia, ja ne tulee varmistaa isommilla ja luotettavilla tutkimuksilla ennen niiden mahdollista hyödyntämistä käytännössä.

### **9.3 Tutkimuksen eettisyys**

Tutkimuksen suorittaminen hyvän tieteellisen käytännön edellytysten mukaisesti on yksi tutkimuksen eettisen hyväksyttävyyden edellytys (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002). Tutkimuksen kaikissa vaiheissa otettiin huomioon vaiheissa hyvän tieteellisen tutkimuskäytännön noudattaminen. Lisäksi bioanalytiikan eettinen ohjeistus ohjasi tämän tutkimuksen toteuttamista. Ohjeistuksen mukaisesti tutkimuksessa otettiin huomioon potilaan tai tässä tapauksessa koe-



henkilön hyvinvointi, oikeuksien kunnioitus ja tämän itsemääräämisoikeus (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2006). Nämä tulivat tutkimuksessa ilmi siinä, että tutkimuksessa pyrittiin estämään kaikki mahdolliset haitat koehenkilöille asettamalla tiukat rajat tutkimukseen osallistumiselle. Koehenkilön itsemääräämisoikeus taas näkyy tämän oikeutena kieltäytyä tutkimuksesta milloin vain.

Bioanalytikon tulee noudattaa salassapitovelvollisuutta, hyväksytyjen menettelytapojen käyttöä sekä huolehtia laboratoriotutkimusprosessin laadusta ja luotettavuudesta. Hänen tulee myös kantaa vastuu toiminnastaan ja antaa tai hankkia tarvittaessa kiireellinen apu sen tarpeessa olevalle. (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2006.) Koehenkilöiden tulokset säilytettiin huolellisesti, eikä niitä kerrottu kuin koehenkilöille itselleen muilta suljetussa tilassa. Laboratoriotutkimuksen laadusta huolehdittiin analysaattorin käyttöön perehtymisellä, käyttöohjeiden noudattamisella, laaduntarkkailunäytteiden käytöllä sekä vähemmän hemolyytisen näytteen käytöllä. Näytteitä käsiteltiin tutkimuksessa näytteen luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia kunnioittaen, mikä näkyi tutkimuksessa näytteiden merkitsemistavasta ilman koehenkilöiden henkilötietoja. Kiireellistä apua tarvittiin tutkimuksessa, kun yhden koehenkilön näytteenottoa alkoi vuotaa uudelleen. Tällöin tutkija antoi velvollisuutensa mukaisesti ensiapuna sideharsolla sidotut haavataitokset ja ohjeistuksen haavakohdan painamiseen voimakkaasti toisella kädellä.

Tutkimusten eettisyyteen liittyvistä kysymyksistä, kuten siitä, tarvitaanko tutkimukseen eettisen toimikunnan lupa, keskusteltiin tutkijan ja opinnäytetyön ohjaajien kanssa useasti. Koska kyseessä on marketeissa myytävä tuote ja tutkimuksessa käytettävä annosmäärä on pieni, keskusteluissa päädyttiin siihen, että eettisen toimikunnan lupaa ei tarvita. Nikotiinipurukumilla on kuvattu haittavaikutuksia, jotka ovat yleensä kuitenkin melko lieviä. Esimerkiksi huimaus, päänsärky ja pahoinvointi ovat nikotiinipurukumin käytön yhteydessä kuvattuja yleisiä haittavaikutuksia. Lääkevalmisteella voi tosin olla harvinaisia, vakavia haittavaikutuksiaakin kuten korjautuva eteisvärinä. (Lääketietokeskus Oy 2010, 2043.) Koehenkilöihin kohdistuvien haittojen ja riskien vähentämiseksi mahdollisimman pieneksi koehenkilöille oli määritetty tarkat kriteerit, jotka heidän tulee täyttää. Lisäksi haittojen vähäisyyden takaamiseksi tutkittiin miedomman, kaksi

milligrammaa nikotiinia sisältävän nikotiinipurukumin vaikutuksia vahvemman, neljä milligrammaa nikotiinia sisältävän nikotiinipurukumin sijasta.

Eettisyys oli tutkimuksessa huomioitu myös sillä, että koehenkilöiksi ilmoittautuvat saivat tarkan selvityksen tutkimuksen suorituksesta, kuten nikotiinipurukumin aiheuttamista haitoista. Kirjallisen selostuksen lisäksi heille annettiin suullisesti sama ohjeistus ja mahdollisuus kysyä tutkimukseen liittyviä kysymyksiä. Vasta kun tutkittavat olivat täysin tietoisia, mihin ovat suostumassa, he pystyivät allekirjoittamaan suostumusasiakirjan, jossa he varmistivat osallistumisensa tutkimukseen. Menettely oli eettisesti hyväksyttävää, koska koehenkilöille selvittäään rehellisesti kaikki vähäisetkin tutkimukseen liittyvät riskit ja haitat.

#### **9.4 Ammatillinen kasvu oppimisprosessin aikana**

Opinnäytetyöprosessi opetti runsaasti uusia asioita tieteellisen tutkimuksen suorittamisesta. Tutkimusmenetelmien ja erilaisten tutkimusasetelmien erityispiirteet tulivat tutuiksi kirjallisuuteen tutustuessani ja valitessani tutkimukseen soveltuvia menetelmiä. Tutkimuksen tekeminen edisti itsenäistä suoriutumista, sillä tutkimuksessa jouduin ensimmäistä kertaa aivan yksin huolehtimaan koko laboratorioprosessista ja sen laadukkuudesta. Esimerkiksi näytteenoton suorittaminen täysin itsenäisesti ilman mahdollisuutta toisen näytteenottajan käyttöön oli henkisesti haastavaa ja ammatti-identiteettiä vahvistavaa. Tutkimuksessa opin lisäksi kliinisen kemian analyysoijan sekä verenkuvan analyysoijan käyttöä, mikä voi edesauttaa perehtymistä vastaavanlaisten analyysoijien käyttöön tulevilla työpaikoilla.

Koehenkilöiden saamisessa tutkimukseen ja heidän ohjaamisessaan jouduin hyödyntämään kaikkia sosiaalisia taitojani, jolloin myös ne kehittyivät työtä tehdessä. Koehenkilöiden saamisen vaikeus oli suuri yllätys, minkä takia tutkimuksen aineisto jäi pieneksi. Tämä heikensi merkittävästi tutkimuksen tulosten luotettavuutta. Opinnäytetyön tekemisessä ei kuitenkaan edellytetä tieteellisten tutkimustulosten saamista, vaan sen tekemisen tarkoituksena on kehittää ja osoittaa opiskelijan kykyä soveltaa tutkimustietoa. Opinnäytetyö myös osoittaa ja

valmistaa opiskelijaa itsenäiseen asiantuntijatyöhön. (Pohjois-Karjalan ammatti-korkeakoulu 2010.) Opinnäytetyön tekeminen oli haastavaa ja asiantuntemusta edellyttävää ja kehittävää, joten tältä osin opinnäytetyön tavoitteet täyttyivät.

## **9.5 Tutkimuksen jatkokehitysmahdollisuudet**

Tutkimuksen jatkokehitysmahdollisuuksia on lukuisia. Ensinnäkin nikotiinipurukumin lyhytaikainen vaikutus GT:iin ja AFOS:iin tulisi varmistaa tekemällä tutkimus suurella otoksella koehenkilöitä, jotka jaettaisiin satunnaistetun klassisen koeasetelman mukaisesti kontrolli- ja invertoryhmään. Mielenkiintoista olisi myös tutkia vahvemman, neljä milligrammaa nikotiinia sisältävän nikotiinipurukumin lyhytaikaisia vaikutuksia näihin entsyymeihin.

Tieteellisiä tutkimuksia ei tehtyjen tietohakujen perusteella löytynyt myöskään nikotiinipurukumin pitkäaikaisen käytön vaikutuksista GT:iin ja AFOS:iin, joten nämäkin olisivat hyviä jatkotutkimusaiheita. Lisäksi samankaltaisia tutkimuksia voisi suorittaa myös nikotiinipurukumin vaikutuksista muiden pääosin maksassa vaikuttavien entsyymien, kuten alaniiniaminotransferaasin ja aspartaattiaminotransferaasin, toimintaan.

## Lähteet

- AAFP – American Academy of Family Physician. Assessing nicotine dependence. <http://www.aafp.org/afp/20000801/579.html>. 19.9.2011.
- Benowitz, N., Hukkanen, J. & Jacobs, III P. 2009. Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. Teoksessa Henningfield J., London, E. & Pogun, S. (toim.). Nicotine Psychopharmacology. Verlag Berlin Heidelberg: Springer, 29–60.
- Bland, J. & Altman, D. 1994. Regression towards the mean. *British Medical Journal* 1994 (308), 1499.
- Bonini, P., Plebani, M., Ceriotti, F. & Rubboli, F. 2002. Errors in Laboratory Medicine. *Clinical Chemistry* 48 (5), 691–698.
- Bryman, A. 2008. *Social Research Methods*. New York: Oxford University Press.
- Campbell, M. 1995. *Biochemistry*. Philadelphia: Saunders College Publishing.
- Darwin Media Oy. 2010. Fanconin oireyhtymä. <http://www.tohtori.fi/?page=4069997&search=Fanconin%20oireyhtym%C3%A4>. 19.9.2011.
- Demiralay, R. 2002. Nicotine Dependence in Medical Student and Physicians in the Lakes Region. *Turkey Journal of Medical Science* 2003 (33), 321–327.
- Ebbert, J., Patten, C. & Schroeder, D. 2006. The Fagerström Test for Nicotine Dependence-Smokeless Tobacco. *Addictive Behaviors* 31 (9), 1716–1721.
- Ehrlich, S. 2008. Erythema. University of Maryland Medical Centre. <http://www.umm.edu/altmed/articles/erythema-000154.htm>. 19.9.2011.
- Etter, J.-F. 2007. Addiction to the nicotine gum in never smokers. *BioMed Central Ltd*. <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2458-7-159.pdf>. 19.9.2011.
- Freeman, J. & Walters, S. 2010. Examining Relationships in Quantitative Data. Teoksessa Gerrish, K. & Lacey, A. (toim.). *The Research Process in Nursing*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 437–454.
- Halonen, T. 2004. Fotometriset menetelmät. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) 2004. *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 66–76.
- Heatherston, T., Kozlowski, L., Frecker, R. & Fagerström, K. 1991. The Fagerström Test for Nicotine Dependency: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *British Journal of Addiction* 1991 (86), 1119–1127.
- Heikkilä, T. 2001. *Tilastollinen tutkimus*. Helsinki: Edita.
- Hildén, S.-M. 2004. *Tupakasta vieroittajan opas – motiivoinnin avulla eroon tupakkariippuvuudesta*. Helsinki: WSOY.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2002. *Tilastolliset menetelmät*. Helsinki: WSOY
- Hukkanen, J., Jacob, III P. & Benowitz, N. 2005. Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *Pharmacological Review* 57 (1), 79–115.
- Huovinen, M. 2004. *Tupakka*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Iivanainen, A. 2010a. *Ihon sairaudet*. Teoksessa Iivanainen, A., Jauhiainen, M. & Syväoja, P. 2010. *Sairauksien hoitaminen – Terveyttä edistäen*. Helsinki: Tammi, 733–754.

- livanainen, A. 2010b. Tuki- ja liikuntaelinten sairaudet. Teoksessa livanainen, A., Jauhiainen, M. & Syväoja, P. 2010. Sairauksien hoitaminen – Terveyttä edistäen. Helsinki: Tammi, 625–682.
- International Chemical Safety Cards (ICSCs). 2006. Nikotiini. <http://kappa.ttl.fi/kemikaalikortit/khtml/nfin0519.htm>. 19.9.2011.
- Jones, J. & Nelson, E. 1997. Evaluation of an educational package in leg ulcer management. *Journal of Wound Care* 6 (7), 342–343.
- Kavitharaj, N. & Vijayammal, P. 1999. Nicotine Administration Induced Changes in the Gonadal Function in Male Rats. *Pharmacology* 58 (1), 2–7.
- Lacey, A. 2010. The Research Process. Teoksessa Gerrish, K. & Lacey, A. (toim.). *The Research Process in Nursing*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 13–26.
- Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 448/1999.
- Laki sosiaali- ja terveydenhuollon asiakastietojen sähköisestä käsittelystä 159/2007.
- Laki toimenpiteistä tupakoinnin vähentämiseksi annetun lain muuttamisesta 698/2010.
- Lääketietokeskus Oy. 2010. *Pharmaca Fennica 2010*. Helsinki: Lääketietokeskus Oy.
- Mackay, J. & Eriksen, M. 2002. *The Tobacco Atlas*. World Health Organization.
- Matikainen, M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. *Näytteenottajan käsikirja*. Helsinki: Edita.
- McNeil a Division of Janssen-Cilag Oy. Kysymyksiä ja vastauksia. McNeil a Division of Janssen-Cilag Oy. <http://www.nicorette.fi/Kysymyksiavastauksia>. 19.9.2011.
- Mekalasi Oy. 2010. Verinäytteenotto. [http://www.mekalasi.fi/Tuotekuvat/veriesite8\\_2010.pdf](http://www.mekalasi.fi/Tuotekuvat/veriesite8_2010.pdf). 19.9.2011.
- Moss, D. & Henderson, R. 1999. *Clinical Enzymology*. Teoksessa Burtis, C. & Ashwood, E. (toim.). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 617–721.
- Mustajoki, P. 2010. Feokromosytooma (lisämunuaisen ydinosan kasvain). Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00991&p\\_haku=feokromosytooma](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00991&p_haku=feokromosytooma). 19.9.2010.
- 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.
- Nova Southeastern University. 2007. *Assess Your Risk – Fagerström Test for Nicotine Dependency on Cigarettes*. [http://www.nova.edu/gsc/nicotine\\_risk.html](http://www.nova.edu/gsc/nicotine_risk.html). 19.9.2011.
- Nummenmaa, L. 2010. *Käyttätymistieteiden tilastolliset menetelmät*. Helsinki: Tammi.
- Oulun kaupunki. 2010. Fagerströmin testi. <http://www.ouka.fi/sote/paihteet/ennaltaehkaisy/fagerstrom.htm>. 19.9.2011.
- Panuru, P., Vaddi, D. & Nallanchakravarthula, V. 2009. Influence of Chronic Cigarette Smoking on Serum Biochemical Profile in Male Human volunteers. *Journal of Health Science* 55 (2), 265–270.
- Patja, K., Iivonen, K. & Aatela, E. 2005. *Pystyt kyllä – eroon tupakasta*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

- Penttilä, I. (toim.) 2004. Entsyymianalyysien periaatteet. Teoksessa Penttilä, I. (toim.). Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 82–89.
- Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu. 2010. Tutkintosäntö (15 § Opinnäytesyö).  
<http://student.pkamk.fi/mod/book/view.php?id=334&chapterid=65>.  
19.9.2011.
- Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri. 2008. Glutamyyli transferaasi, plasmasta.  
<http://oyslab.fi/ohjekirja/4597.html>. 19.9.2011.
- Pohjois-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri. 2010. Alkaalinen fosfataasi, plasmasta.  
<http://oyslab.fi/ohjekirja/4587.html>. 19.9.2011.
- Sosiaali- ja terveysministeriö. 2006. Kliinisten laboratoriodien korvausten määräysperustetta selvittävän työryhmän raportti. Helsinki: Sosiaali- ja terveysministeriö.  
<http://pre20090115.stm.fi/pr1151325062930/passthru.pdf>.  
22.8.2011.
- Suomen Bioanalytikkoliitto Ry. 2006. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet.  
<http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/28024/Eettiset+ohjeet+suomi.pdf>. 22.8.2011.
- Syväoja, P. 2010. Sydämen ja verisuonten sairaudet. Teoksessa Iivanainen, A., Jauhiainen, M. & Syväoja, P. Sairauksien hoitaminen – Terveyttä edistäen. Helsinki: Tammi, 175–362.
- Tapola, H. 2004. Tutkimuspyyntö ja potilaan valmistautuminen tutkimuksiin ja toimenpiteisiin. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 20–24.
- Thermo Scientific Inc. 2009. Gamma GT Reagent – IFCC Standardized for Beckman Coulter™ SYNCRON<sup>‡</sup> and Unicell<sup>‡</sup> Systems<sup>‡</sup>.  
[http://www.thermo.fr/eThermo/CMA/PDFs/Various/File\\_1479.pdf](http://www.thermo.fr/eThermo/CMA/PDFs/Various/File_1479.pdf).  
19.9.2011.
- Tietz, N., Rinker, A. & Shaw, L. 1983. IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes – Part 5. IFCC Method for Alkaline Phosphatase. *Journal of Chemistry and Clinical Biochemistry* 21 (11), 731–748.
- Tilastokeskus. 2009. Tupakointi vähenee hitaasti.  
[http://www.stat.fi/til/tup/2008/tup\\_2008\\_2009-12-04\\_tie\\_001.html](http://www.stat.fi/til/tup/2008/tup_2008_2009-12-04_tie_001.html).  
19.9.2011.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteen – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki; WSOY.
- Turku Clinical Research Centre 2011. Tutkittavan tiedote ja tutkimuslomake.  
<http://www.turkucrc.fi/index.phtml?s=77>. 19.9.2011.
- Turun kliininen tutkimuskeskus. 2010. Kliinisen tutkimuksen ohjeisto.  
[http://www.turkucrc.fi/files/117/KLIINISEN\\_TUTKIMUKSEN\\_OHJEI\\_STO\\_2010\\_10\\_01.pdf](http://www.turkucrc.fi/files/117/KLIINISEN_TUTKIMUKSEN_OHJEI_STO_2010_10_01.pdf). 19.9.2011.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2011a. Hyvä tieteellinen käytäntö.  
[http://www.tenk.fi/hyva\\_tieteellinen\\_kaytanto/kaytanto.html](http://www.tenk.fi/hyva_tieteellinen_kaytanto/kaytanto.html).  
19.9.2011.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2011b. Hyvän tieteellisen käytännön loukkauksen käsitteleminen.  
[http://www.tenk.fi/hyva\\_tieteellinen\\_kaytanto/loukkaukset.html](http://www.tenk.fi/hyva_tieteellinen_kaytanto/loukkaukset.html).  
19.9.2011.

- Valença, S., de Souza da Fonseca, A., da Hora, K., Santos, R. & Porto, L. 2004. Lung morphometry and MMP-12 expression in rats treated with intraperitoneal nicotine. *Experimental and toxicologic pathology* 55 (5), 393–400.
- Valença, S., Gouveia, L., Pimenta, W. & Porto, L. 2008. Effects of Oral Nicotine on Rat Liver Stereology. *International Journal of Morphology* 26 (4), 1013–1022.
- Vierola, H. 2004. *Tupakka – miehen tietokirja*. Helsinki: Terra Cognita.
- Vierola, H. 2010. *Tyttöjen ja naisten tupakkatietokirja*. Helsinki: Tietosanoma Oy.
- Westgard, J. & Klee, G. 1999. Quality management. Teoksessa Burtis, C. & Ashwood, E. (toim.). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 384–418.
- Yhtyneet Laboratoriot Oy. 2007. *Laboratoriokäsikirja 2008–2009*. Helsinki: Yhtyneet Laboratoriot Oy.

**Fagerströmin nikotiiniriippuvuustesti**

Kysymykset	Vastaukset	Pisteet
1. Kuinka pian heräämisesi jälkeen poltat ensimmäisen savukkeen?	5 minuutin kuluessa	3
	6–30 minuutissa	2
	31–60 minuutissa	1
	60 minuutin jälkeen	0
2. Koetko vaikeaksi olla tupakoimatta paikoissa, joissa se on kiellettyä, esimerkiksi kirkoissa, kirjastoissa, elokuvateatterissa ja niin edelleen?	Kyllä	1
	En	0
3. Mistä tupakasta luopumista inhoaisit eniten?	Aamun ensimmäisestä	1
	Mistä tahansa	0
4. Kuinka monta tupakkaa poltat päivittäin?	10 tai vähemmän	0
	11–20	1
	21–30	2
	31 tai enemmän	3
5. Poltatko useammin ensimmäisinä tunteina heräämisestäsi kuin loppupäivän aikana?	Kyllä	1
	En	0
6. Poltatko, jos olet niin kipeä, että olet vuoteessa suuren osan päivästä?	Kyllä	1
	En	0

**Lähde**

Heatherton, T., Kozlowski, L., Frecker, R. & Fagerström, K. 1991. The Fagerström Test for Nicotine Dependency: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *British Journal of Addiction* 1991 (86), 1119–1127.



## **Rekrytointi-ilmoitus**

**Mietitkö kuinka alkoholinkäyttösi vaikuttaa maksaasi? Tai sitä, piilekö maksassasi muuta haitallista, kuten sappikiviä tai maksasyöpää? Entä haluaisitko tietää verenkuvasi (hemoglobiini, puna- ja valkosolujen määrät ym.)?**

**Nyt voit saada tietoosi nämä elimistösi arvot osallistumalla opinnäytetyötutkimukseen, jossa tutkitaan 2 mg:n nikotiinipurukumin vaikutuksia kahteen entsyymiin, glutamyyli transferaasiin ja alkaaliseen fosfataasiin. Näitä entsyymejä tutkitaan selvittäessä erilaisia maksasairauksia kuten alkoholin liikkäyttöä ja maksasyöpää. Verokuva tutkitaan tutkimukseen liittymättömänä, kiitoksena tutkimukseen osallistumisesta.**

**Tutkimuksen toimeksiantaja on Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Bioanalytiikan koulutusohjelma, ja tutkimus suoritetaan Sosiaali- ja terveysalan Keskuksessa Tikkarinteen kampuksella arkisin 7.2–25.2. Näytteenotto tapahtuu aamupäivisin, sopimuksen mukaan kello 7.30 alkaen. Tutkimuksessa otetaan verinäytteitä yhteensä kuuteen koeputkeen (2 kerrallaan): ennen nikotiinipurukumin pureskelua sekä tunnin ja kahden tunnin kuluttua pureskelun aloituksesta. Tutkimuksen kokonaiskesto koehenkilöä kohden on noin 3 tuntia kahtena eri päivänä, josta noin 30 minuuttia kuluu tutkimukseen ohjeistukseen ja loput itse tutkimuksessa.**

**Koehenkilöiden tulee olla täysi-ikäisiä, tupakoivia ja nikotiinista vähintään keskinkertaisesti riippuvaisia (3 pistettä tai enemmän Fagerströmin nikotiiniriippuvuustestistä) sekä terveitä, vailla pitkäaikaisia lääkityksiä.**

**Yhteydenotto ja tarkemmat tiedot tutkimuksesta: tutkija Milla Saukkola, [Milla.Saukkola@edu.pkamk.fi](mailto:Milla.Saukkola@edu.pkamk.fi). Yhteydenotto ei sido yhteydenottajaa mihinkään.**

## Tutkittavan tiedote

Tutkimus on tieteellinen opinnäytetyötutkimus, ja sen toimeksiantaja ja rahoittaja on Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Bioanalytiikan koulutusohjelma. Tutkimuksen tarkoituksena on tuottaa perustietoa nikotiinipurukumin vaikutuksista pääosin maksassa toimiviin glutamyylitransferaasi ja alkaalinen fosfataasi entsyymeihin. Vaikutusta tutkitaan vertaamalla ennen nikotiinipurukumin pureskelua otetun verinäytteen entsyymiaktiivisuuksia yhden tunnin ja kahden tunnin kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloittamisesta otettuihin verinäytteisiin. Tutkimuksen tarkoituksena on myös saada suuntaa antavaa tietoa ajasta, jota ennen nikotiinipurukumia voidaan käyttää ilman, että sillä olisi vaikutusta tutkittujen entsyymien entsyymiaktiivisuuksiin.

## Tutkimukseen osallistumisen ehdot ja rajoitukset

Tutkimukseen voi osallistua enimmillään 39 ihmistä. Tutkittavien tulee olla täysikäisiä, tupakoivia ja nikotiinista vähintään keskinkertaisesti riippuvaisia (3 pisnettä tai enemmän Fagerströmin kuuden kysymyksen nikotiiniriippuvuustestistä). Tutkittavien tulee olla terveitä, vailla pitkäaikaisia lääkityksiä. Esteitä tutkimukseen osallistumiselle ovat ala-ikäisyys, pitkäaikaislääkitys ja yliherkkyys nikotiinille tai jollekin nikotiinipurukumin sisältämällä apuaineelle (butyylihydroksiditolueeni eli E321, sorbitoli, natriumvetykarbonaatti, glyseroli, Harvestro flavour zd 49284, naarden). Myös tupakoimattomuus, kolmen kuukauden sisällä ollut sydäninfarkti, epävakaata tai paheneva rasisrintakipu, prinzmetalin angina, vaikeat sydämen rytmihäiriöt sekä aivohalvauksen akuuttivaihe estävät tutkimukseen osallistumisen. Esteitä ovat lisäksi hammasproteesin käyttö, vaikea sydän- tai verisuonisairaus, kontrolloimaton verenpainetauti, vasospasmit, vaikea tai keskivaikea maksan vajaatoiminta, vaikea munuaisten vajaatoiminta,

kilpirauhasen liikatoiminta, aktiivisessa vaiheessa oleva peptinen haava, feokromosytooma, raskaus ja imetys. Tutkimukseen osallistuminen on vapaaehtoista ja tutkimukseen osallistuvalla on oikeus keskeyttää tutkimukseen osallistuminen milloin tahansa ja syytä ilmoittamatta. Osallistumisen keskeyttämisestä ei tule tutkittavalle mitään seuraamuksia. Tutkimus voidaan keskeyttää myös tutkijan taholta, jolloin syynä voi olla esimerkiksi tutkijan sairastuminen tai tutkimuslaitteiston äkillinen rikkoutuminen.

### **Tutkimukseen valmistautuminen ja tutkimuksen suorituspaikka**

Tutkimukseen liittyy esivalmisteluohjeita, joita täytyy noudattaa, jotta tutkimukseen voi osallistua. Näytteenottoa edeltävänä päivänä saa syödä ja juoda normaaliin tapaan, mutta alkoholin käyttö on kielletty edellisenä päivänä ja tutkimuspäivän aamuna. Näytteenottoa edeltävä iltana on kello 22:n jälkeen ja tutkimuspäivän aamulla on oltava tupakoimatta ja juomatta kahvia tai muuta kofeiinia sisältävää valmistetta. Nikotiinikorvaustuotteita tai reseptittömiä lääkkeitä ja luontaistuotevalmisteita ei saa nauttia tutkimuspäivän aamuna. Aamulla ennen tutkimukseen tuloa on suositeltavaa syödä aamupala, koska tutkimuksen aikana ei saa syödä mitään. Aamupalalla ei saa juoda kahvia tai muita kofeiinipitoisia juomia. Hereillä tulee olla ainakin yhden tunnin ajan ennen näytteenottoa ja voimakasta fyysistä rasitusta on vältettävä ennen näytteenottoa. Välittömästi ennen näytteenottoa on istuttava 15 minuuttia. Näytteenotto tapahtuu Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Tikkamäen kampuksella osoitteessa Tikkarinne 9, tarkemmin A-talon kolmannen kerroksen Biokemian laboratoriossa. Tutkittava kutsutaan näytteenottoon kutsumalla tiettyyn kellonaikaan tullutta. Tutkittavalta kysytään, onko hän noudattanut esivalmisteluohjeita. Jos tutkittava ei ole noudattanut esivalmisteluohjeita, hän ei voi osallistua tutkimukseen ja hänen on poistuttava näytteenotosta. Jos tutkittava on noudattanut esivalmisteluohjeita, voi hän osallistua ja verinäytteet voidaan ottaa.

## **Tutkimuksen suoritus**

Verinäytteitä otetaan kolme kertaa yhteensä kuuteen näyteputkeen. Ensin otetaan yhdestä näytteenotossa kaksi koeputkea, jonka jälkeen tutkittavalle annetaan pureskeltavaksi kahden milligramman nikotiinipurukumi. Tätä pureskellaan jaksoittain yhteensä 30 minuutin ajan. Kun sen maku on voimakas tai suuta kihelmöi hieman, pureskelu keskeytetään ja purukumi siirretään suussa poskeen tai ikenen väliin odottamaan voimakkaan maun tai kihelmöinnin häviämistä. Tämän jälkeen pureskelua jatketaan hitaasti jaksoittain.

Nikotiini imeytyy paremmin suun kuin mahan limakalvoilta, joten suuhun erittyvää sylkeä ei kannata niellä heti kuten tavallista purukumia pureskellessa. Tutkimuksen aikana ei saa syödä mitään tai juoda muuta kuin hieman vettä, tupakoida tai käyttää muita nikotiinikorvaustuotteita. Myös liikkuminen tutkimuksen olisi oltava mahdollisimman vähäistä. Tutkittavan tulee laittaa hälytys matkapuhelimeen tai vastaavaan 30 minuutin päähän pureskelun aloituksesta tai seurata tarkasti kellosta, että aika tulee täyteen. Tämän jälkeen purukumin pureskelu tulee lopettaa ja poistaa purukumi suusta.

Tutkittava kutsutaan uudelleen näytteenottoon tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloituksesta, ja tällöin otetaan uudet verikokeet, yhteensä kaksi koeputkellista. Viimeiset verinäytteet otetaan kahden tunnin kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta, jonka jälkeen tutkittavan kannattaa vielä hetkeksi jäädä painamaan verikokeen ottokohtaa mustelmien ja verenvuodon ehkäisemiseksi. Tämän jälkeen tutkittava voi poistua tutkimuksen suorituspaikasta. Tutkittavan tulee pysytellä koko tutkimuksen ajan lähellä näytteenottoa, jotta hän kuulisi kutsun tulla näytteenottoon.

## **Tutkimuksen koeasetelma ja tutkimuksen luotettavuus**

Tutkimuksessa ei käytetä vertailuryhmää, jolle suoritettaisiin tutkimus ilman purukumin pureskelua, vaan kaikki tutkimukseen osallistujat pureskelevat niko-

tiinipurukumia. Tutkimuksessa käytetty koeasetelma onkin ennen-jälkeen - koeasetelma. Tutkimus ei osoita nikotiinipurukumin vaikutuksia yhtä yksiselitteisesti kuin klassinen koeasetelma, jossa käytetään vertailuryhmää, mutta koska tutkimukseen osallistuvien henkilöiden kokonaismäärä on pieni, antaa tutkimus oletettavasti luotettavampia tuloksia kuin käytettäessä klassista koeasetelmaa.

### **Tutkimuksen hyödyt ja haitat koehenkilölle**

Tutkimuksessa käytetyn nikotiinipurukumin hyötynä on se, että se helpottaa nikotiiniriippuvaisilla tupakoimattomuudesta johtuvia vieroitusoireita kuten hermostuneisuutta, päänsärkyä ja voimakasta tupakointitarvetta. Nikotiinipurukumin haittavaikutukset voivat olla samanlaisia kuin muillakin tavoilla saadulla nikotiinilla. Haittavaikutukset johtuvat virheellisestä pureskelutekniikasta, nikotiinin paikallisista ja koko elimistöön liittyvistä haittavaikutuksista tai tupakoimattomuuden aiheutumista vieroitusoireista.

Yleisiä haittavaikutuksia, esiintyvyys yli yksi sataa käyttäjää kohden, ovat huihaus, päänsärky, pahoinvointi, maha-suolikanavan vaivat, hikka ja oksentelu. Lisäksi leukalihaskipu sekä suuontelon ja nielun arkuus ovat yleisiä haittavaikutuksia. Melko harvinaisia, esiintyvyys 1/100–1/1000, haittoja taas ovat sydämentykytykset, eryteema sekä urtikaria, ja harvinaisia, alle 1/1000, korjautuva eteisvärinä. Eryteema on ihon tila, jossa iho punoittaa ja siinä on ihottumaa. Urtikariassa eli nokkosrokossa iholle ilmaantuu nopeasti kutisevia ja vaihtelevan kokoisia, kahdesta millimetristä 10–20 senttimetriin, paukumia. Jos nikotiinipurukumia pureskelee liian nopeasti, voi se aluksi ärsyttää nielua ja aiheuttaa hikkaa tai pahoinvointia. Lievänä haittavaikutuksena voi olla myös kurkkukipua. Jos ihmisellä on muutenkin taipumusta ruuansulatusvaikeuksiin ja närästykseseen, voi niitä ilmetä myös nikotiinipurukumia käytettäessä.

Verinäytteenotossa haittavaikutuksena voi aiheutua pistämisestä kipua ja verinäytteenoton jälkeen pistokohtaan voi ilmaantua mustelma. Pistokohta voi myös

vuotaa verta pistämisen jälkeen, jonka takia pistokohtaa kannattaa painaa napakasti muutamien minuuttien ajan. Painaminen ehkäisee myös mustelmien syntymistä. Tutkimuksen hyötynä tutkittavalle on se, että tutkittava voi halutesaan ja näytteenoton ja näytteiden tutkimisen onnistuessa saada tietoonsa oman näytteensä alkaalisen fosfataasin ja glutamyyli transferaasin arvot sekä tiedon, onko arvo terveiden henkilöiden arvojen eli viitearvojen sisällä.

### **Tutkittavien näytteiden ja henkilötietojen käsittely**

Tutkimukseen osallistujien näytteitä ja henkilötietoja käsitellään ehdottoman luottamuksellisesti. Henkilöiden nimiä, ikiä, sukupuolia tai mitään muitakaan tietoja ei tulla mainitsemaan opinnäytetyössä eikä tulla mitenkään levittämään muiden kuin tutkijan tietoon. Kerätyt verinäytteet erotetaan toisistaan kirjaimista ja numeroista koostuvilla tunnisteilla, joista esimerkkinä H2N1 tarkoittaa henkilö 2, näyte 1. Tunnisteiden liittyminen tutkittaviin on vain tutkijan tiedossa huolellisesti suojattuna ja säilytettynä, ja tunnistetietojen avulla tutkija voi myöhemmin kertoa tutkittaville näiden näin halutessa tutkittavien entsyymien arvot.

### **Tutkittavien vakuutusurva tutkimuksen aikana**

Tutkija on vakuutettu oppilaitoksen puolesta, ja tutkijan mahdollisesti aiheuttamat hoitokuluja vaativat haitat korvataan tästä vakuutuksesta koehenkilöille. Tutkittaville tutkimukseen osallistumisesta mahdollisesti aiheutuvia ansionmenetyksiä, matkakuluja tai muita menoja ei ole mahdollista korvata.

## Suostumusasiakirja

*Nikotiinipurukumin vaikutus glutamyylitransferaasin ja alkaalisen fosfataasin entsyymiaktiivisuuksiin ennen verinäytteenottoa käytettynä*

Olen ilmoittautunut vapaaehtoisesti tutkijalle, Milla Saukkola, osallistuakseni nikotiinipurukumilla (Nicorette® 2 mg lääkepurukumi), suoritettavaan lääketieteelliseen opinnäytetyötutkimukseen. Tutkimuksen toimeksiantaja on Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Bioanalytiikan koulutusohjelma.

Olen saanut, lukenut ja ymmärtänyt tutkimuksesta kertovan tiedotteen, josta olen saanut riittävän selvityksen tutkimuksesta ja sen yhteydessä suoritettavasta tietojen keräämisestä, käsittelystä ja luovuttamisesta. Tiedotteen sisältö on kerrottu minulle myös suullisesti ja olen saanut riittävän vastauksen kaikkiin tutkimusta koskeviin kysymyksiini. Vakuutan olevani täysi-ikäinen, ikäni \_\_\_\_\_ vuotta, ja vakuutan, ettei minulla ole mitään estettä tutkimukseen osallistumille. Minulle on kerrottu ja olen ymmärtänyt tutkimuksen kohteena olevan lääkkeen ja verinäytteenoton mahdolliset haittavaikutukset sekä tutkimuksen esivalmisteluohjeiden ja tutkimuspäivän aiheuttamat rajoitteet normaaliin toimintaani. Tiedot tutkimuksesta minulle antoi \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 20 \_\_\_\_\_. Minulla on ollut tarpeeksi aikaa harkita osallistumistani tutkimukseen.

Kaikki minusta tutkimuksen aikana kerättävät tiedot käsitellään luottamuksellisesti. Tutkimuksessa kerätyt tiedot koodataan niin, ettei henkilöllisyyden selvittäminen ole myöhemmin mahdollista ilman purkukoodia. Purkukoodi säilytetään suljettuna tutkijan arkistossa. Ymmärrän, että osallistumiseni tähän tutkimukseen on täysin vapaaehtoista. Minulla on oikeus milloin tahansa tutkimuksen aikana ja syytä ilmoittamatta keskeyttää tutkimukseen osallistuminen. Tutkimuksesta kieltäytyminen tai sen keskeyttäminen ei aiheuta minulle mitään haittaa.

**Allekirjoituksellani vahvistan osallistumiseni tähän tutkimukseen ja suostun vapaaehtoisesti tutkittavaksi.**

---

Allekirjoitus

---

Päiväys

---

Nimen selvennys

---

Syntymäaika

**Suostumus vastaanotettu**

---

Tutkijan allekirjoitus

---

Päiväys

---

Nimen selvennys

**Tutkittavan suostumuksesta on kaksi identtistä kopiota, joista toinen jää tutkijan arkistoon ja toinen annetaan tutkittavalle.**



## **Esivalmistautumisohjeet ja ohjeet tutkimuspäivälle**

### **Esivalmistautumisohjeet**

Tutkimuksen esivalmisteluohjeita täytyy noudattaa, jotta tutkimukseen voi osallistua. Näytteenottoa edeltävänä päivänä saa syödä ja juoda normaaliin tapaan, mutta alkoholin käyttö on kielletty edellisenä päivänä ja tutkimuspäivän aamuna. Näytteenottoa edeltävä iltana on kello 22:n jälkeen ja tutkimuspäivän aamulla on oltava tupakoimatta ja juomatta kahvia tai muuta kofeiinia sisältävää valmistetta. Nikotiinikorvaustuotteita tai reseptittömiä läike- ja luontaistuotevalmisteita ei saa nauttia tutkimuspäivän aamuna. Aamulla ennen tutkimukseen tuloa on suositeltavaa syödä aamupala, koska tutkimuksen aikana ei saa syödä mitään. Aamupalalla ei saa juoda kahvia tai muita kofeiinipitoisia juomia. Hereillä tulee olla ainakin yhden tunnin ajan ennen näytteenottoa ja voimakasta fyysistä rasitusta on vältettävä ennen näytteenottoa. Välittömästi ennen näytteenottoa on istuttava 15 minuuttia.

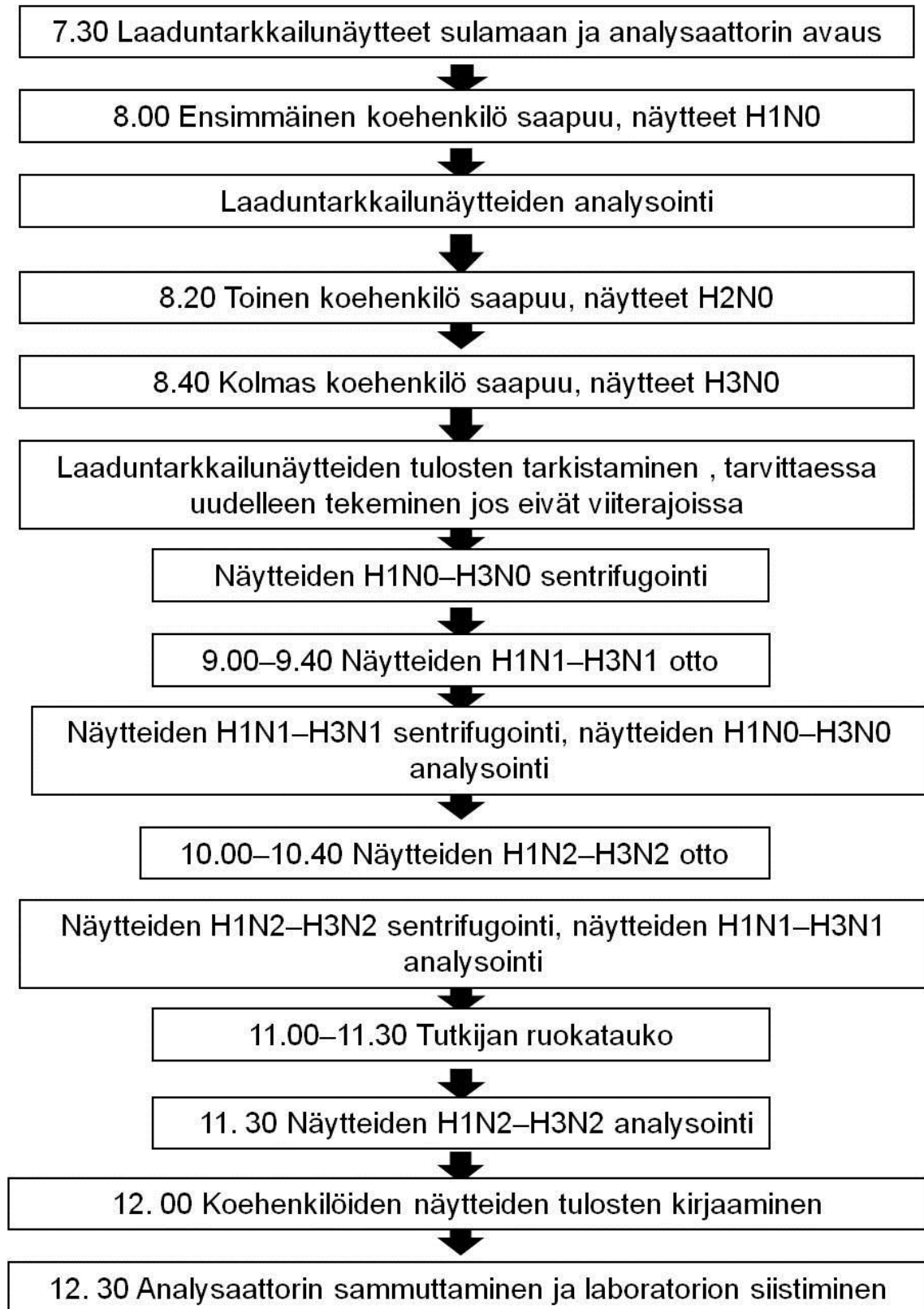
### **Ohjeita tutkimuspäivälle**

Näytteenotto tapahtuu Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Tikkamäen kampuksella osoitteessa Tikkarinne 9, tarkemmin A-talon kolmannen kerroksen Biokemian laboratoriossa. Tutkittava kutsutaan näytteenottoon kutsumalla tiettyyn kellonaikaan tullutta. Tutkittavalta kysytään, onko hän noudattanut esivalmisteluohjeita. Jos tutkittava on noudattanut esivalmisteluohjeita, voi hän osallistua tutkimukseen ja verinäytteet voidaan ottaa.

Verinäytteitä otetaan kolme kertaa yhteensä kuuteen näyteputkeen. Ensin otetaan yhdestä näytteenotossa kaksi koeputkea, jonka jälkeen tutkittavalle annetaan pureskeltavaksi 2 mg nikotiinipurukumi. Tätä pureskellaan jaksoittain yhteensä 30 minuutin ajan. Kun purukumin maku on voimakas tai suuta kihelmöi hieman, pureskelu keskeytetään ja purukumi siirretään suussa poskeen tai iken väliin odottamaan voimakkaan maun tai kihelmöinnin häviämistä. Tämän jälkeen pureskelua jatketaan hitaasti jaksoittain. Nikotiini imeytyy paremmin suun kuin mahan limakalvoilta, joten suuhun erittyvää sylkeä ei kannata niellä heti kuten tavallista purukumia pureskellessa.

Tutkimuksen aikana ei saa syödä mitään tai juoda muuta kuin hieman vettä, tupakoida tai käyttää muita nikotiinikorvaustuotteita. Myös liikkuminen tutkimuksen aikana olisi oltava mahdollisimman vähäistä. Tutkittavan tulee laittaa hälytys matkapuhelimeen tai vastaavaan 30 minuutin päähän pureskelun aloituksesta tai seurata tarkasti kellosta, että aika tulee täyteen. Tämän jälkeen purukumin pureskelu tulee lopettaa ja poistaa purukumi suusta. Tutkittava kutsutaan uudelleen näytteenottoon tunnin kuluttua purukumin pureskelun aloituksesta, ja tällöin otetaan uudet verikokeet, yhteensä kaksi koeputkellista. Viimeiset verinäytteet otetaan kahden tunnin kuluttua nikotiinipurukumin pureskelun aloituksesta, jonka jälkeen tutkittavan kannattaa vielä hetkeksi jäädä painamaan verikokeen ottokohtaa mustelmien ja verenvuodon ehkäisemiseksi. Tämän jälkeen tutkittava voi poistua tutkimuksen suorituspaikasta. Tutkittavan tulee pysytellä koko tutkimuksen ajan lähellä näytteenottopaikkaa, jotta hän kuulisi kutsun tulla näytteenottoon.

## Tutkimuspäivän kulku



## Reagenssien ja laaduntarkkailunäytteiden tiedot sekä laaduntarkkailunäytteiden tulokset

Taulukko 5. Reagenssien ja laaduntarkkailunäytteiden tiedot

	Valmistaja	REF	LOT	Viimeinen käyttöpäivä	Viiterajat
Alkaline Phosphatase (IFCC) Plus	Thermo Scientific	981832	F813	09.2011	-
Gamma-GT (IFCC)	Thermo Scientific	981377	D407	10.2009	-
Abtrol	Thermo Scientific	981044	F114A	12.2012	AFOS 273–369 U/l, GT 121–155 U/l
Nortrol	Thermo Scientific	981043	F113A	12.2012	AFOS 84–106 U/l, GT 39–49 U/l

Taulukko 6. Laaduntarkkailunäytteiden tulokset

Päivä	Abtrol, AFOS	Abtrol, GT	Nortrol, AFOS	Nortrol, GT
5.1.2011	244, 250, 257	125	79, 78, 80	41
5.1.2011 (uusi näyte)	267	124	83	40
8.2.2011	257	126, 127	80	35, 41
9.2.2011	246	124	81	41
16.2.2011	237	124	79	41
22.2.2011	242	123	79	41
24.2.2011	257	122	74	41

**Tuloslomake**

Nimi \_\_\_\_\_

**Maksaentsyymit**

P-GT \_\_\_\_\_ U/l  
(Glutamyylitransferaasi)

**Viitearvot**

*miehet, 18 - 39 v 10 - 80 U/l*  
*naiset, 18 - 39 v 10 - 45 U/l*  
*miehet, yli 40 v 15 - 115 U/l*  
*naiset, yli 40 v 10 - 75 U/l*

P-AFOS \_\_\_\_\_ U/l  
(Alkaalinen fosfataasi)

35 - 105 U/l

**Perusverenkuva**

B-Leuk \_\_\_\_\_  $\times 10^9$  /l  
(Valkosolut)

**Viitearvot**3,4-8,2  $\times 10^9$  /l

B-Tromb \_\_\_\_\_  $\times 10^9$  /l  
(Verihiutaleet)

150-360  $\times 10^9$  /l

B-Eryt \_\_\_\_\_  $\times 10^{12}$  /l  
(Punasolut)

*Naiset: 3,90-5,20  $\times 10^{12}$*   
*Miehet: 4,25-5,70  $\times 10^{12}$*

B-HKR \_\_\_\_\_  
(Hematokriitti)

*Naiset: 0,35-0,46 (35-46 %)*  
*Miehet: 0,39-0,50 (39-50 %)*

B-Hb \_\_\_\_\_ g/l  
(Hemoglobiini)

*Naiset: 117-155 g/l*  
*Miehet: 134-167 g/l*

***Punasoluindeksit*****Viitearvot**

E-MCV \_\_\_\_\_ fl  
(Punasolujen keskitilavuus)

82-98 fl

E-MCH \_\_\_\_\_ pg  
(Punasolujen keskimäärin sisältämä hemoglobiini)

27-33 pg

E-MCHC \_\_\_\_\_ g/l  
(Punasolujen keskimääräinen hemoglobiinipitoisuus)

320-355 g/l