

MARJA-ATERIAN VAIKUTUS POSTPRANDIAALISEEN
AINEENVAIHDUNTAAN METABOLOMIKKA-
ANALYTIKALLA TUTKIEN

Anja-Liisa Killenberger

Kandidaatin tutkielma

Ravitsemustiede

Lääketieteen laitos

Terveystieteiden tiedekunta

Itä-Suomen Yliopisto

Elokuu 2019

Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta
Kansanterveystieteen ja kliinisen ravitsemustieteen yksikkö
Ravitsemustiede
KILLENBERGER ANJA-LIISA: Marja-aterian vaikutus postprandiaaliseen
aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkien
Kandidaatin tutkielma, 23 sivua
Ohjaaja: FT Kati Hanhineva
Elokuu 2019

Avainsanat: Marjat, metabolomiikka

MARJA-ATERIAN VAIKUTUS POSTPRANDIAALISEEN AINEENVAIHDUNTAAN METABOLOMIIKKA-ANALYTIKALLA TUTKIEN

Kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli keskittyä tutkimuksiin, joissa marjojen vaikutusta elimistön aterianjälkeiseen aineenvaihduntaan on tutkittu metaboliittiprofiloinnin eli metabolomiikka-analytiikan avulla. Marjojen terveysvaikutukset ovat yleisesti tiedossa, mutta metabolomiikka-analyysin keinoin marja-aterian postprandiaalisia vaikutuksia aineenvaihduntatuotteisiin on tutkittu niukasti.

Kirjallisuuskatsaukseen sisältyvissä tutkimuksissa oli hyvin samankaltaiset tutkimusrakenteet. Tutkimuksissa tutkittava nautti tutkittavaa marjaa sisältävän tutkimusaterian. Tutkimusateriaa ennen ja jälkeen tutkittavilta otettiin biologisia näytteitä, usein virtsanäytteitä. Näytteitä analysoitiin metabolomiikan menetelmin. Näytteistä määriteltiin niiden metaboliittiprofiili, ja paastotilan sekä postprandiaalitalan näytteitä verrattiin keskenään, sekä marjoja nauttineiden metaboliittiprofiilia verrattiin verrokkiryhmän profiiliin.

Kirjallisuuskatsaukseen sisältyvissä tutkimuksissa tutkittavina marjoina olivat vadelma, tyrni, puolukka, mansikka sekä metsämustikka. Kaikkien marjojen postprandiaalitalan biologisissa näytteissä havaittiin paljon erilaisia yhdisteitä. Suurinta osaa havaituista yhdisteistä ei pystytty tunnistamaan. Osa havaituista yhdisteistä oli tunnettuja, ja osa raportoitiin ensimmäistä kertaa kyseisen marjan yhteyteen. Eräs yhdiste, hippurihappo tai sen aineenvaihduntatuotteet (3-hydroksihippurihappo, 4-hydroksihippurihappo) havaittiin kaikkien marjojen postprandiaalitalan näytteissä. Tyrnin sekä puolukan havaittiin myös vaikuttavan endogeenisten aineenvaihduntatuotteiden, erityisesti kreatiniin pitoisuuksiin.

SISÄLTÖ

1. JOHDANTO.....	4
2. MARJAT RAVITSEMUKSESSA.....	5
2.1 Marjojen sisältämät yhdisteet.....	5
2.2 Marjojen terveysvaikutukset.....	6
3. METABOLOMIIKKA.....	6
3.1 Metabolomiikan menetelmät.....	7
3.1.1 Kohdistettu metabolomiikka.....	7
3.1.2 Ei-kohdistettu metabolomiikka.....	7
3.1.3 Data-analyysi.....	8
3.2 Metabolomiikan käyttö ravitsemustutkimuksissa.....	8
4. METABOLOMIIKKA-ANALYTIIKALLA TUTKITTU MARJA-ATERIAN VAIKUTUS POSTPRANDIAALISEEN AINEENVAIHDUNTAAN.....	10
4.1 Vadelma-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka- analytiikalla tutkittuna.....	10
4.2 Tyrni-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka- analytiikalla tutkittuna.....	11
4.3 Mansikka-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka- analytiikalla tutkittuna.....	14
4.4 Metsämustikka-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkittuna.....	15
4.5 Puolukka-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka- analytiikalla tutkittuna.....	17
5. POHDINTA.....	18
6. JOHTOPÄÄTÖKSET.....	19
LÄHTEET.....	23

1. JOHDANTO

Metabolomiikka on tutkimusmenetelmä, jonka avulla tutkitaan aineenvaihduntatuotteita. Metabolomiikka-analytiikkaa hyödyntäen voidaan tutkia aineenvaihduntatuotteiden lisäksi niiden rakennetta sekä toimintaa (Hänninen ym. 2007).

Metabolomiikan menetelmiä voidaan käyttää apuna ravitsemustieteen tutkimuksissa selvittämään ravinnosta peräisin olevien aineenvaihduntatuotteiden vaikutuksia elimistön metaboliittiprofiileihin. Ravitsemustieteissä metabolomiikka-analytiikkaa voidaan hyödyntää muun muassa interventiotutkimuksissa sekä käyttää apuna biomarkkerien havaitsemisessa. Interventiotutkimusten pohjalta voidaan pyrkiä selvittämään ravinnon vaikutusta aineenvaihduntaan, ja tutkimuksissa, jossa pyritään havaitsemaan biomarkkereita, voidaan pyrkiä löytämään spesifejä biomarkkereita, jotka kertovat tietyn ruoka-aineen nauttimisesta. Metabolomiikka-analytiikan keinoin voidaan tutkia aineenvaihduntatuotteiden lisäksi erilaisia aineenvaihduntareittejä, ja tietoa voidaan hyödyntää ravitsemustieteiden tutkimusten lisäksi eri tieteenalojen muun muassa toksikologian tutkimuksissa (Brennan 2013).

Marjat ovat oleellinen osa terveellistä ruokavaliota. Tunnetuin marjojen terveysvaikutus lienee niiden antioksidatiivinen vaikutus, eli marjojen nauttimisella on oksidatiiviselta stressiltä suojaava vaikutus (Nile ja Park 2014). Marjoilla on lukuisia muita terveysvaikutuksia, mutta marjojen vaikutuksesta aterianjälkeiseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikan keinoin tutkittuna on niukasti tietoa. Kirjallisuuskatsaukseen sisältyvissä tutkimuksissa tutkittiin marja-aterian vaikutusta postprandiaaliseen eli aterianjälkeiseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analyysiä hyödyntäen. Tutkimukset käsittelivät joko yksittäisiä marjoja, tai muutamaa marjaa samanaikaisesti. Katsaukseen sisälletyt marjat ovat vadelma, tyrni, mansikka, metsämustikka sekä puolukka.

Kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli selvittää mitä kirjallisuus kertoo eri marjojen aterianjälkeisestä aineenvaihduntatuotteiden muutoksista kiinnittämättä huomiota marjojen terveysvaikutuksiin.

2. MARJAT RAVITSEMUKSESSA

Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että marjojen syömisellä on lukuisia terveysvaikutuksia (Seeram 2008). Tunnetuin marjojen terveysvaikutuksista lienee marjojen sisältämien yhdisteiden antioksidatiivinen vaikutus (Nile ja Park 2014). Marjat ovat erinomainen kuidun sekä C-vitamiinin lähde, erityisesti mansikat sekä mustaherukat sisältävät runsaasti C-vitamiinia (Yang ja Kortnesniemi 2015). Marjojen siemenet sisältävät myös runsaasti hyviä monityydyttymättömiä rasvahappoja. Marjat sisältävät makro- sekä mikroravintoaineiden lisäksi myös runsaasti kasvien bioaktiivisia sekundaarimetaboliitteja, joiden ajatellaan osaltaan olevan marjojen positiivisten terveysvaikutusten takana (Seeram 2008, Yang ja Kortnesniemi 2015).

2.1 Marjojen sisältämät yhdisteet

Marjojen sisältämät bioaktiiviset sekundaarimetaboliitit ovat kasvien tuottamia yhdisteitä, joita kasvi käyttää kasvuunsa sekä ulkoisten uhkien torjumiseen (D'Urso ym. 2018). Erilaiset marjat sisältävät erilaisia yhdisteitä ja marjan metaboliittiprofiili vaihtelee muun muassa marjan kasvuolosuhteiden sekä esimerkiksi säilöntätavan mukaan. Marjojen sisältämät sekundaarimetaboliitit ovat fytokeemikaaleja, joista yleisin marjoissa esiintyvä yhdisteryhmä on fenoliset yhdisteet (Seeram 2008).

Eri marjat sisältävät eri fytokeemikaaleja, antaen kyseiselle marjalla sille ominaiset biologiset ominaisuudet, esimerkiksi karhunvatukka, mansikka sekä vadelma sisältävät runsaasti ellagitanniinia kun taas mustikat sekä karpalot sisältävät enimmäkseen proantosyanidiinia (Seeram 2008, Nile ja Park 2014). Edellä mainitut tanniinit antavat marjoille ominaisen kirpeän maun sekä voivat toimia elimistössä entsyymi-inhibiittorina, samoin stabiloiden antosyaaneja, jos kyseinen marja sisältää myös niitä (Nile ja Park 2014). Antosyaanit ovat flavonoidien alaryhmä, joita erityisesti tummat marjat sisältävät, antosyaanit antavat punaisille, violeteille sekä sinisille marjoille tyypillisen värinsä. Muita marjojen sisältämiä yhdisteitä ovat esimerkiksi katekiinit, galliinihappo sekä kversetiini. Katekiinit ovat polyfenolisia yhdisteitä, jotka toimivat antioksidantteina, katekiineja on useita erilaisia, joita marjat voivat sisältää, esimerkkinä gallokatekiini sekä epikatekiini. Katekiinien tapaan myös galliinihappo jota vadelmat sisältävät runsaasti toimii vahvana antioksidanttina. Galliinihapon lisäksi vadelmat sisältävät runsaasti kversetiinia (Nile ja Park 2014).

2.2 Marjojen terveysvaikutukset

Marjojen tunnetuimmat terveysvaikutukset liittyvät marjojen antioksidatiiviseen vaikutukseen, eli puolustukseen vapaita radikaaleja vastaan (Seeram 2008). Antioksidatiivisen vaikutuksen lisäksi marjoilla on todettu lukuisia muita biologisia vaikutuksia liittyen mm. tumareseptoreihin sekä geeniekspressioon. Tutkimukset ovat osoittaneet, että marjoilla on positiivinen vaikutus postprandiaaliseen inflammaatioon sekä insuliinivasteeseen (Yang ja Kortensniemi 2015). Marjoilla on myös vaikutusta terveeseen ikääntymiseen sekä mahdollisesti atopian puhkeamiseen. Positiivisia vaikutuksia on myös nähty liittyen sydän- ja verisuoni terveyteen sekä sokeritasapainon ylläpitoon. Marjojen suotuisat terveysvaikutukset välittyvät marjojen sekundaarimetaboliittien elimistössä tapahtuvan metabolian kautta, esimerkiksi suolistomikrobiston välityksellä. Imeytymättömäksi jäävät metaboliitit erittyvät virtsaan, jolloin niiden mittaaminen on mahdollista (Yang ja Kortensniemi 2015).

3. METABOLOMIikka

Metaboliitit eli aineenvaihduntatuotteet ovat aineenvaihdunnan muokkaamia pieniä kemiallisia yhdisteitä, jotka kertovat solun biokemiallisesta aktiivisuudesta (Patti ym. 2012). Metaboliitit toimivat aineenvaihdunnan substraatteina sekä lopputuotteina, ja ajavat solun tärkeitä aineenvaihdunnallisia reaktioita, kuten esimerkiksi energiaineenvaihduntaa (Johnson ym. 2016). Kaikkia aineenvaihduntatuotteiden kokonaisuutta kutsutaan metabolomiksi, eli ihmiselimistön metabolomi muodostuu kaikista elimistön sisältämistä aineenvaihduntatuotteista, tämä kattaa elimistöperäiset aineenvaihduntatuotteet eli endogeeniset aineenvaihduntatuotteet kuten myös ravinnosta saatavat sekä muualta ympäristöstä saatavat aineenvaihduntatuotteet eli eksogeeniset aineenvaihduntatuotteet.

Metabolomiikka on menetelmä, jonka avulla tutkitaan biologisten näytteiden aineenvaihduntatuotteiden kokonaisuutta sekä pyritään määrittämään näiden perusteella metaboliaprofiileja (Hänninen ym. 2007). Eri kudosten sekä näytteiden sisältämien aineenvaihduntatuotteiden pitoisuudet sekä kemialliset ominaisuudet vaihtelevat, eikä tällä hetkellä millään metabolomiikan menetelmällä pystytä havaitsemaan kaikkia näytteiden sisältämiä aineenvaihduntatuotteita, joten on tarpeen yhdistellä erilaista dataa sekä menetelmiä, jotta saataisiin mahdollisimman kattava kuva metabolomista (Hänninen ym. 2007, Brennan 2013, O'Gorman ja Brennan 2015).

3.1 Metabolomiikan menetelmät

Metabolomiikkatutkimus alkaa biologisesta näytteestä, näytteeksi kelpaa esimerkiksi virtsa-, plasma- tai kudoksenäyte (Patti ym. 2012, Brennan 2013). Metabolomiikkatutkimus jaetaan kahteen pääkategoriaan, eli kohdistettuun- (targeted metabolomics) sekä ei-kohdistettuun (untargeted metabolomics) metabolomiikkaan. Tutkimuksen tavoitteiden perusteella valitaan joko kohdistetun- tai ei-kohdistetun metabolomiikan menetelmät. Jos tutkimuksen tavoitteena on määrittää näytteestä tietyt valmiiksi tiedossa olevat aineenvaihduntatuotteet, valitaan kohdistetun metabolomiikan menetelmät, jos taas näytteestä halutaan määrittää kaikki sen sisältämät aineenvaihduntatuotteet yhtäaikaisesti, valitaan ei-kohdistetut metabolomiikan menetelmät. Massaspektrometri usein yhdistettynä kromatograafiseen erotteluun on metabolomiikka-analyysissa yleisimmin käytetty tekniikka, mutta massaspektrometrin lisäksi käytetään myös muita tekniikoita, kuten esimerkiksi magneettispektroskopia, kukin käytettävistä tekniikoista omaa omat vahvuutensa sekä heikkoutensa, jolloin useiden tekniikoiden yhdistely on joskus tarpeen. Analysoinnin tuloksena syntyy suuri määrä dataa, joka on analysoitava bioinformatiikan sekä tilastotieteiden keinoin, hyödyntäen erilaisia metabolomiikalle spesifisiä tietokoneohjelmistoja sekä tietokantoja (Patti ym. 2012).

3.1.1 Kohdistettu metabolomiikka

Kohdistetun metabolomiikan keinoin pyritään havaitsemaan biologisesta näytteestä tiettyjä ennalta määrättyjä aineenvaihduntatuotteita. Kohdistetun metabolomiikan tutkimuksissa on usein valmiina jo hypoteesi, ja tavoitteena on usein keskittyä tiettyyn aineenvaihduntatuotteeseen tai aineenvaihduntareittiin, joten menetelmät on optimoitu juurikin näiden analysointia varten. Kohdistetun metabolomiikka tutkimuksen käytetyimmät tekniikat perustuvat massaspektrometriaan sekä magneettispektroskopiaan, mutta myös muitakin tekniikoita voidaan hyödyntää (Patti ym. 2012).

3.1.2 Ei-kohdistettu metabolomiikka

Ei-kohdistetun metabolomiikan keinoin pyritään havaitsemaan yhtäaikaisesti näytteen kaikki aineenvaihduntatuotteet, ilman aikaisempaa tietoa mitä aineenvaihduntatuotteita näyte sisältää (Patti ym. 2012, Johnson ym. 2016). Ei-kohdistetussa metabolomiikassa voidaan hyödyntää

samoja tekniikoita kuten kohdistetussa metabolomiikassa, mutta yleisin käytetty tekniikka on LC/MS eli nestekromatografinen erottelu yhdistettynä massaspektrometrimittaukseen. LC/MS käyttäen saadaan havaittua mahdollisimman suuri määrä aineenvaihduntatuotteita näytteestä, jonka takia se on ei-kohdistetun metabolomiikan tekniikoista suosituin. Näytettä analysoidessa LC/MS:lla saadaan tietoon yhdisteiden eli aineenvaihduntatuotteiden tai aineenvaihduntatuotteiden fragmenttien massat, jotka ilmenevät massaspektrometrin signaaleina eli spektreinä. Kukin havaittu signaali kuvaa aineenvaihduntatuotteen ominaispiirrettä, vaikkakin jotkut aineenvaihduntatuotteet ilmenevät useina signaaleina. Näytteistä havaittujen tuhansien signaalien analysointiin tarvitaan nykyaikaisia bioinformatiikan menetelmiä (Patti ym. 2012).

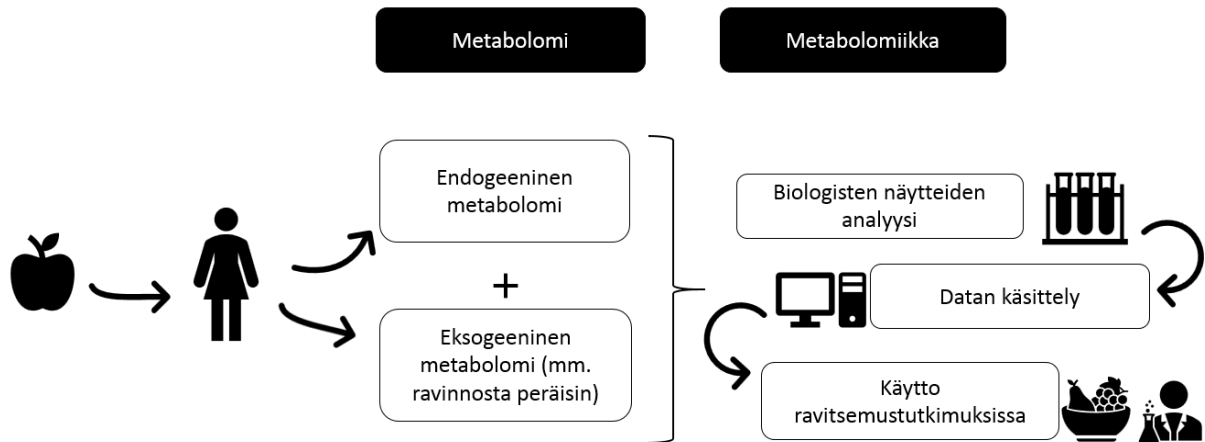
3.1.3 Data-analyysi

Kohdistettu- sekä ei-kohdistettu metabolomiikka tuottaa suuren määrän dataa, jota on syytä analysoida tarkemmin eri bioinformatiikan menetelmin (Hänninen ym. 2007, Patti ym. 2012). Löytyy useita erilaisia tietokoneohjelmistoja sekä tietokantoja, joiden avulla voidaan analysoida metabolomiikka tutkimuksen tuottamaa dataa. Tietokoneohjelmistot tarjoavat lähinnä tilastollisia testejä analysoinnin avuksi, kun taas tietokannat tarjoavat tietoa aineenvaihduntatuotteiden tunnistamiseksi. Aineenvaihduntatuotteen tunnistamiseksi on verrattava sitä tietokannasta löytyviin tunnettuihin aineenvaihduntatuotteisiin, vertaus tapahtuu alustavasti massan avulla, jonka jälkeen verrataan vielä tietokannan sekä oman tutkimuksessa löytyneen aineenvaihduntatuotteen muita tarkentavia tietoja kuten kromatografista retentioaikaa sekä vertaillaan pilkkoutumisspektrin fragmenttija varmuuden saamiseksi. Vaikka tietokannat kuten METLIN sekä the Human Metabolome Database tarjoavat paljon tietoa tunnetuista aineenvaihduntatuotteista, kaikkia aineenvaihduntatuotteita ei siltikään tietokannoista löydy, joten tuntemattomat aineenvaihduntatuotteet jäävät usein ilman tunnistusta (Patti ym. 2012).

3.2 Metabolomiikan käyttö ravitsemustutkimuksissa

Ravitsemuksen ja aineenvaihdunnan välinen yhteys on mahdollistanut metabolomiikan hyödyntämisen ravitsemustieteen tutkimuksissa (O'Gorman ja Brennan 2015). Kuva 1 kattaa yleiskatsauksen metabolomiikka-analyysin käyttöön ravitsemustieteiden tutkimuksissa.

Kuvassa näkyy kaavamaisesti metabolomin muodostumisen sekä selkeytettynä metabolomiikka-tutkimuksen työkulku.



Kuva 1. Metabolomiikka-analyysin käyttö ravitsemustutkimuksessa. (Muokattu O'Gorman ja Brennan 2015).

Metabolomiikan soveltaminen ravitsemustieteiden tutkimuksissa voidaan jakaa kahteen pääkategoriaan, käyttö interventiotutkimuksissa sekä biomarkkerin tunnistamisessa, mutta myös itse ruoka-aineiden analysointiin (Brennan 2013, D'Urso ym. 2018). Metabolomiikkaa hyödyntämällä interventiotutkimuksissa voidaan pyrkiä ymmärtämään tiettyjen ruoka-aineiden tai yleisesti ravitsemuksen vaikutusta aineenvaihduntaan sekä aineenvaihduntatuotteisiin että -reitteihin. Interventiotutkimuksissa voidaan esimerkiksi tutkia tietyn ruoka-aineen postprandiaalista vaikutusta muun muassa virtsan tai plasman metaboliittiprofiileihin, eli selvittämään mitkä ovat intervention aineenvaihdunnallisest vaikutukset. Interventiotutkimusten lisäksi metabolomiikan menetelmiä voidaan käyttää biomarkkerien tunnistamiseen, voidaan pyrkiä esimerkiksi tunnistamaan tietyn ruoka-aineen tai ruokavalion nauttimisesta kertovia spesifisiä biomarkkereita tai pyrkiä biomarkkereiden avulla validoimaan ravitsemustutkimuksissa käytettäviä ruoankäyttötutkimusten (dietary assessment) menetelmiä. Ruoka-aineita analysoidessa biologisen nesteen sijaan itse ruoka-aine esimerkiksi marja analysoidaan, jolloin marjan metaboliittiprofiili selviää. Ruoka-aineiden tutkimista metabolomiikan menetelmin hyödynnetään muun muassa tutkittaessa ruoka-aineiden alkuperää sekä tutkittaessa elintarvikevääreännöksiä (D'Urso ym. 2018). Vaikka metabolomiikan käyttö ravitsemustieteiden tutkimuksissa on suhteellisen uutta ja käyttö vähäistä, käyttö lisääntyy koko ajan ja on nähty jo kyseisten menetelmien merkittävät hyödyt (Brennan 2013).

4. METABOLOMIikka-ANALYTIKALLA TUTKITTU MARJA-ATERIAN VAIKUTUS POSTPRANDIAALISEEN AINEENVAIHDUNTAAN

Postprandiaalisella tilalla tarkoitetaan aterian jälkeistä tilaa. Aterian jälkeen postprandiaalisessa tilassa tapahtuu elimistössä paljon aineenvaihdunnallisia muutoksia ja kyseiselle tilalle on ominaista runsas oksidatiivinen stressi, eli tilaa voisi kutsua oksidatiiviseksi tilaksi. Postprandiaalitalan oksidatiivinen luonne näkyy muun muassa aterianjälkeisenä postprandiaalisena inflammaationa, jonka ajatellaan olevan yhteydessä mahdollisesti useisiin terveysongelmiin (Burton-Freeman 2010). On havaittu, että marjoilla esimerkiksi mansikoilla on suotuisa vaikutus postprandiaalisen tilan insuliinitasapainoon. Marjojen on havaittu muokkaavan elimistön metabolomia eli aineenvaihduntatuotteiden poolia. Marjojen postprandiaaliset vaikutukset aineenvaihduntareittien modulaattoreina voidaan havaita muun muassa virtsan muuttuneena metaboliittiprofiilina, esimerkiksi puolukoiden nauttimisella on havaittu olevan vaikutus virtsan kreatiniini pitoisuuksiin (Medina ym. 2013).

4.1 Vadelma-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkittuna

Vadelma-aterian jälkeistä aineenvaihduntaa on tutkittu muutaman muun ruoka-aineen ohella metabolomiikka-analyysiä käyttäen (Lloyd ym. 2011). Tutkimuksen tavoitteena oli kehittää tehokas menetelmä, jonka avulla virtsan aineenvaihduntatuotteista voitaisiin löytää tutkittujen ruoka-aineiden nauttimisesta kertovia biomarkkereita. Kyseisen tutkimuksen perusteella mahdollisia vadelman biomarkkereita voisi olla sulfonoitu kahvihappo (sulphonated caffeic acid) sekä sulfonoitu metyyli-epikatekiini (sulphonated methyl-epicatechin), sillä molempien konsentraatio virtsassa nousee runsaasti vadelmien nauttimisen jälkeen.

Tutkimus toteutettiin mittaamalla 24 koehenkilön postprandiaaliset virtsan aineenvaihduntatuotteet koeaterian jälkeen. Tutkittuja ruoka-aineita oli vadelman lisäksi parsakaali, täysjyvävilja tuote sekä lohi. Tutkittavat söivät tutkimuskäyntiä edeltävänä iltana standardoidun aterian, joka sisälsi niukasti kasveista peräisin olevia fenolisia yhdisteitä ja aterian jälkeen paastosivat vähintään 12 tuntia ennen tutkimuskäyntiä. Tutkimuskäynnillä tutkittavilta otettiin paasto virtsanäytteet, jonka jälkeen tutkittavat söivät standardoidun koeaamiaisen. Standardoitu aamupala sisälsi appelsiinimehua, kahvin tai teen maidolla sekä sokerilla, voicroissantin sekä maissihiutale muroja (corn flakes) maidon kera. Koe-aamiaisen

sisälsi standardoidun aamiaisen tuotteet, paitsi maissihiutale murot maidolla korvattiin tutkittavalla ruoka-aineella, eli koeaamiainen sisälsi murojen sijaan joko vadelmia (200 g), parsakaalia (200 g höyrytettyinä), täysjyvä viljamuroketta (37,5 g) tai lohta (60 g). Koeaamiaisen jälkeen kultakin tutkittavalta otettiin paasto virtsanäytteen lisäksi kolme muuta virtsanäytettä, eli näytteitä puolentoista, kolmen sekä neljän tunnin jälkeen aterista. Virtsanäytteet analysoitiin ja näytteiden metabolinen koostumus määritettiin massaspektrometrin keinoin (FIE-MS, GC-tof-MS).

Virtsanäytteiden perusteella sekä vadelma että parsakaali sisälsivät samoja aineenvaihduntatuotteita, jotka erosivat lohien sekä täysjyvävilja-tuotteen aineenvaihduntatuotteista. Vadelman sekä parsakaalin postprandiaaliset virtsanäytteet sisälsivät runsaasti askorbaattia, joka korreloi hyvin kasvisten nauttimista. Spesifisiä vadelman postprandiaalisia aineenvaihduntatuotteita oli muun muassa polyfenoleiden faasin II metabolian kautta syntyneitä yhdisteitä kuten kahvihappoa, joka on klorogeenihapon aineenvaihduntatuote sekä metyyli-epikatekiinia, joka on epikatekiinin aineenvaihduntatuote. Muita vadelman postprandiaalisia aineenvaihduntatuotteita joita näytteistä löytyi, oli muun muassa 3-hydroksihippurihappo sekä naringeniini glukuroniidi, näiden lisäksi näytteistä löytyi runsaasti tuntemattomia aineenvaihduntatuotteita. Syanidiinia, kversitiinia sekä ellagihapon sokeri konjugaatteja on havaittu muissa tutkimuksissa. Tämän tutkimuksen perusteella erityisesti sulfonoidun kahvihapon, askorbiinihapon sekä sulfunoidun metyyli-epikatekiinin voisi mahdollisesti ajatella toimivan vadelman postprandiaalisina biomarkkereina (Lloyd ym. 2011).

4.2 Tyrni-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkittuna

Tyrni-aterian jälkeistä aineenvaihtuntaa on tutkittu niin yksin kuin muiden marjojen ohella metabolomiikka-analyysin keinoin. Lindstedt tutkimusryhmineen (2014) tutki tyrnin postprandiaalista vaikutusta rasvaisen aterian yhteydessä tavoitteena tutkia erityisesti muutaman tietyn sokerin imeytymistä sekä erityistä (Lindstedt ym. 2014) . Cuperencu ym. (2016) tutki virtsan biomarkkereita tyrnin sekä mansikan nauttimisen jälkeen.

Lindstedt ym. (2014) tutkimuksen yhteydessä analysoitiin tyrnin vaikutusta postprandiaaliseen lipemiaan sekä analysoitiin biologisten näytteiden aineenvaihduntatuotteita, joissa havaittiin muutoksia kontrolliin verrattuna muun muassa endogeenisten metaboliittien kuten kreatiniinin

pitoisuuksissa. Tutkimus toteutettiin analysoimalla neljäntoista terveen miehen postprandiaaliset virtsa- sekä plasmanäytteiden aineenvaihduntatuotteet. Tutkimuskäyntiä edeltävänä iltana tutkittavia pyydettiin nauttimaan standardoitu matalan flavanoidi pitoisuuden sisältämä ilta-ateria, jota seurasi vähintään kahdentoista tunnin paasto. Tutkimuskäynnin yhteydessä tutkittavat jaettiin satunnaisesti tyrni- sekä kontrolliryhmään, tutkittavilta otettiin myös paastovirtsa- sekä plasmanäytteet. Koeateria sisälsi rypsiöljyä (35 g), maustamatonta luonnonjogurttia (200 g) sekä tyrniryhmän ateria sisälsi myös kuivattua tyrnijauhetta (80 g). Koeaterian jälkeen paastoa jatkettiin vielä kuusi tuntia, jonka aikana plasmanäytteitä otettiin 30, 90 sekä 180 minuuttia aterian jälkeen ja virtsa kerättiin kolmen tunnin ajalta. Tutkimus toteutettiin käyttäen ei-kohdistettua NMR (*nuclear magnetic resonance*) analytiikkaa, jolloin tavoitteena oli tutkia kaikkia mahdollisia muutoksia kontrolliryhmän sekä tyrniryhmän välillä virtsa- sekä plasmanäytteissä. Tyrnijauhetta myös analysoitiin, jotta sen sisältämät yhdisteet voitaisiin tunnistaa. Näytteiden analysoinnin jälkeen dataa testattiin tilastollisin menetelmin.

Aterianjälkeiset virtsa- sekä plasmanäytteiden sisältämät metaboliittiprofiilit erosivat selkeästi paastonäytteiden metaboliittiprofiileista. Plasmassa havaittiin muutama tyrnin sisältämä sokeri rakenteeltaan muuttumattomana (ethyl-O- β -D-glucopyranoside, methyl-O- β -D-glucopyranoside) sekä myös konsentraatio muutoksia muutamassa endogeenisessä metaboliitissa. Kyseisten sokereiden havaitseminen plasmanäytteissä kieli siitä, että nämä vähän tutkitut sokerit imeytyvät suolistosta muuttumattomina. Endogeenisistä metaboliiteista havaittiin 3-hydroksivoihapon sekä erään glykoproteiinin (N-acetyl-glycoprotein) konsentraatioiden vähenevän tyrnin nauttimisen seurauksena. Plasmanäytteissä havaittiin myös etikkahapon konsentraation kasvavan tyrnin nauttimisen seurauksena. Plasmasta havaittiin kaksi tyrnin sisältämää sokeria, virtsasta vain toinen näistä oli havaittavissa (ethyl-O- β -D-glucopyranoside), plasman tapaan virtsassa nähtiin myös muutoksia endogeenisissä metaboliiteissa. Virtsassa havaittiin dimetyyliamiinin sekä kreatiinin vähentyneet konsentraatiot tyrnin nauttimisen seurauksena. Virtsasta havaittiin myös hippuhappoa. Molemmissa näytetyypeissä havaittiin runsaasti tuntemattomia metaboliitteja. Tutkimuksen yhteydessä havaittiin myös vähentynyttä postprandiaalista lipemiaa tyrnin seurauksena.

Cuparencu ym. (2016) tutkimuksessa tarkasteltiin sekä tyrnin että mansikan vaikutusta virtsan metaboliittiprofiileihin metabolomiikka-analyysin keinoin. Tutkimuksen tavoitteena oli tutkia kahta hyvin erilaista marjaa (tyrni ja mansikka) ja pyrkiä tunnistamaan kyseisille marjoille spesifisiä biomarkkereita postprandiaali tilan virtsasta. Näytteistä pystyttiin havaitsemaan useita yhdisteitä, joista vain yksi ilmeni sekä mansikan että tyrnin postprandiaali virtsanäytteissä.

Tutkimukseen osallistui 18 tervettä ylipainoista vapaaehtoista, jotka satunnaistettiin marjaa sisältävien aterioiden suhteen (tutkimus sisälsi mansikka-, tyrni- sekä kontrolliaterian). Kunkin kolmen interventioaterian välillä oli kahden päivän tauko. Tutkittavia pyydettiin välttämään muun muassa marjoja tutkimuksen ajaksi. Ennen tutkimuskäyntejä tutkittavat suorittavat 12 tunnin paaston, ja tutkimuskäynnin yhteydessä tutkittavilta otettiin sekä paastovirtsan että -plasma näytteet. Sekä marja että kontrolliateriat olivat standardoituja energian sekä veden määrän suhteen, marja-ateriat sisälsivät marjaa soseen muodossa (150 g pakastetyrniä tai 150 g tuoretta mansikkaa). Aterian jälkeen jatkettiin virtsanäytteiden ottoa, niin että näytteitä otettiin kolme 24 tunnin sisään paastonäytteen oton jälkeen. Näytteet analysoitiin massaspektrometrisin menetelmin (LC(ESI)-QTOF-MS) ja datalle suoritettiin multivarianttiansalyysi.

Virtsanäytteiden metaboliittiprofiilin perusteella pystyttiin havaitsemaan eroja paasto- ja postprandiaalinäytteiden välillä. Marjojen välillä havaituissa yhdisteissä nähtiin eroja muun muassa yhdistein erityksessä, mansikan metaboliitit erittyivät nopeammin kuin tyrnin. Erot erityisajoissa heijastavat luultavasti marjojen sisältämien yhdisteiden erilaista aineenvaihduntaa elimistössä. Näytteistä havaittiin yhteensä 47 yhdistettä, joista yksi oli yhteinen mansikalle sekä tyrnille. Yhteinen yhdiste tunnistettiin katekiini sulfaatiksi. Mansikalle spesifisiä yhdisteitä havaittiin 25, joista yhdeksän tunnistettiin (4-hydroxyhippuric acid, furaneol glucuronide, pelargonidin glucuronide, p-coumaric acid sulphate, dihydrokaempferol glucuronide, furaneol sulphate, mesifurane sulphate, leucopelargonidin sulphate, dihydrokaempferol glucuronide isomer) sekä useita tunnistamattomia yhdisteitä. Mansikan tunnistamattomista yhdisteistä neljä oli sulfaatti-yhdisteitä, kahdeksan glukuroniidi-yhdisteitä ja loput neljä kokonaan tunnistamattomia. Tyrnille spesifisiä yhdisteitä havaittiin 21, joista 11 tunnistettiin (5-hydroxyindole-3-acetic acid, xi-2,3-dihydro-2-oxo-1H-indole-3-acetic acid, hippuric acid, cyclohexane carboxylic acid glycine, 1-cyclohexane carboxylic acid glycine, cyclohexadiene carboxylic acid glycine, N-methyl hippuric acid, isorhamnetin glucuronide, pyrocatechol sulphate, dihydroxycyclohexane carboxylic acid, protocatechuic acid glucoside) sekä kymmenen tunnistamattomaa yhdistettä. Tyrnin tunnistamattomista yhdisteistä kaksi oli sulfaatti-yhdisteitä, viisi glukuroniidi-yhdisteitä ja kolme kokonaan tunnistamattomia. Spesifisimmät havaituista yhdisteistä olivat endogeenisen metabolian tuottamia konjugaatteja marjoille tyypillisiä aromi- sekä väriyhdisteistä (Cuparencu ym. 2016).

4.3 Mansikka-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkittuna

Mansikan vaikutusta aterianjälkeiseen metaboliaprofiiliin on tutkittu muutamaan otteeseen ei-kohdistetun metabolomiikan keinoin. Banaszewski tutkimusryhmineen (2013) tutki plasman metaboliittiprofiilia ja Andersen tutkimusryhmineen (2014) tutki virtsasta muiden ruoka-aineiden ohella myös mansikka-aterian postprandiaalisia biomarkkereita (Banaszewski ym. 2013, Andersen ym. 2014).

Banaszewskin ym. (2013) tutkimuksen tavoitteena oli karakterisoida plasman mansikasta peräisin olevien antosyaanien, erityisesti pelargonidiin, profiilia neljän eri suuruisen mansikka annoksen jälkeen. Tutkimuksen yhteydessä havaittiin plasmasta 33 yhdistettä, joista seitsemästä ei oltu aiemmin raportoitu mansikan yhteydessä. Tutkimukseen osallistui viisi tutkittavaa, jotka tutkimuskäyntejä edeltävänä viikkona välttelivät marjatuotteita muuten pitäen elintapansa tavanomaisina. Tutkimuskäyntejä edelsi vähintään 12 tunnin paasto, ennen jokaista tutkimusateriaa tutkittavilta otettiin paastoplasmanäytteet. Koe-ateriassa mansikka sisältyi juomaan, juomat sisälsivät pakastekuivattua mansikkajauhetta joko 0 g (kontrolli), 10 g, 20 g tai 40 g. Kukin tutkittava joi kullakin tutkimuskäynneillä yhden juoman, jonka vahvuus vaihtui tutkimuskerran mukaan. Marjajuoman lisäksi tutkimusateria sisälsi standardoidun aamiaisen. Tutkittavilta otettiin plasmanäytteitä koeaterian jälkeen 30-60 minuutin välein kuuden tunnin ajan. Näytteet analysoitiin massaspektrometrin menetelmin (LC-MS/MS sekä Q-TOF LC/MS). Analysoinnin tuloksena syntyneitä dataa testattiin tilastollisesti.

Plasman postprandiaali tilan näytteistä havaittiin 33 fenolista yhdistettä sekä niiden metaboliittia (p-coumaric acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, kaempferol-glucuronide, 4-hydroxybenzoic acid, syringic acid, kaempferol-3-glucoside, pelargonidin-3,5-diglucoside, pelargonidin-3-glucuronide, cyanidin-3,5-diglucoside, quercetin-3-glucoside, quercetin-3-galactoside, cyanidin-3-O-glucoside, pelargonidin-3-sambubioside, (+) catechin, pelargonidin-3-O-glucoside, fisetin, pelargonidin-sulfate, quercetin-rutinoside, quercetin, pelargonidin-3-(6''-malonylglucoside), pelargonidin-3-O-6''-rhamnosylglucoside, quercetin-glucuronide, quercetin-sulfate, 5-carboxypyranopelargonidin-3-O-beta-glucopyranoside, kaempferol-3-Q-sulfate, kaempferol-3-coumaroylglucoside, fisetin-3-rutinoside, methylquercetin, kaempferol-3-(6''-malonylglucoside), quercetin-3(6''-caffeylgalactoside), kaempferol 3(6''-caffeoylglucosyl)-(1->2)-galactoside, quercetin 3-(2'',6''-digalloylgalactoside, pelargonidin-3-(6''-caffeoylglucoside). 26 havaituista yhdisteistä on aiemmin raportoitu mansikan postprandiaalisen metabolomiikan yhteydessä, kun taas seitsemää havaittua yhdistettä muun

muassa fisetiinia sekä fisetiini-3-rutinosidia ei ole aiemmin raportoitu esiintyvän plasmassa mansikan nauttimisen jälkeen, vaikka onkin tunnistettu aiemmin mansikassa esiintyviksi yhdisteiksi. Havaituista yhdisteistä pelargonidiini-3-glukuronidia esiintyi runsaiten plasmanäytteissä verrattuna muihin yhdisteisiin. Kyseisen metaboliitti on myös mansikan runsain antosyaani. Kyseisen antosyaanin konsentraation nähtiin kasvavan mansikan annoskoon kasvaessa tiettyyn pisteeseen saakka, joka kielii mahdollisesta saturaatiosta. Eri yhdisteiden konsentraatiot plasmassa vaihtelivat suhteessa aikaan sekä mansikka-annokseen (Banaszewski ym. 2013).

Toisessa mansikkaa käsittelevässä tutkimuksessa pystyttiin identifioimaan virtsasta yksi biomarkkeri mansikalle (Andersen ym. 2014). Tutkimuksessa tarkasteltiin mansikan lisäksi runsaasti erilaisia ruoka-aineita. Tutkimus ei sisältänyt varsinaista tutkimusateriaa, vaan tutkittavat söivät haluamansa ruoka-aineita tietyn listan mukaan, ja pitivät ruokapäiväkirjaa syömisistään. Ruokapäiväkirjojen perusteella pyrittiin määrittelemään biomarkkereiden yhteys tutkittaviin ruokiin. Tutkittavilta kerättiin useita virtsanäytteitä, joita analysoitiin massaspektrometrin menetelmin (UPLC-QTOF-MS), jonka jälkeen tuotettu data tilastollisesti testattiin. Ainoa biomarkkeri, joka pystyttiin havaitsemaan postprandiaalisista virtsanäytteistä mansikalle oli eräs sulfaatti esteri (*2,5-dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone sulphate*). Kyseistä yhdistettä ei ole aiemmin raportoitu mansikan postprandiaalisen metabolomiikan yhteydessä, vaikka onkin tunnettu yhdiste mansikassa (Andersen ym. 2014).

4.4 Metsämustikka-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkittuna

Mustikoista vain metsämustikan (*Vaccinium myrtillus*) vaikutusta aterianjälkeiseen aineenvaihduntaan on tutkittu hyödyntäen meabolomiikka-analyysiä. Kyseisen tutkimuksen tavoitteena oli tutkia metsämustikan polyfenolien metaboliitteja biologisista näytteistä (Ancillotti ym. 2019). Tutkimus toteutettiin mittaamalla tutkittavien postprandiaali virtsa- sekä plasmanäytteistä metaboliitteja massaspektrometrisiä menetelmiä käyttäen pakastekuivatun metsämustikka jauheen nauttimisen jälkeen. Tutkimus toteutettiin ei-kohdistetun metabolomiikan menetelmin ja useita metaboliitteja havaittiin tutkittavien biologisista näytteistä. Suurin osa havaituista metaboliiteista oli happojen kuten bentsoehapon johdannaisia, mutta myös muutamia antosyaani-, katekoli-, sekä flavonolijohdannaisia tunnistettiin.

Muutama tunnistetuista yhdisteistä havaittiin ensimmäistä kertaa metsämustikan nauttimisen yhteydessä.

Tutkimukseen osallistui kymmenen tervettä vapaaehtoista, jotka paastosivat ennen tutkimuskäyntiä yön yli, eli vähintään kymmenen tuntia. Tutkimuskäynnin yhteydessä tutkittavilta otettiin paasto virtsa- sekä plasmanäytteet, jonka jälkeen tutkittavat joivat tutkittavaa marjajuomaa. Marjajuoma koostui 25 grammasta jauhettua pakastekuivattua metsämustikkaa sekoitettuna 500 millilitraan vettä. Marjajuoman nauttimisen jälkeen tutkittavan jatkoivat paastoaan kuudella tunnilla, puolen tunnin välein 100 millilitraa vettä tarpeen mukaan juoden. Virtsa- ja plasmanäytteitä otettiin kultakin tutkittavalta paastonäytteiden lisäksi 30, 60, 120, 240 sekä 300 minuuttia marjajuoman nauttimisen jälkeen. Eli kultakin tutkittavalta otettiin kuusi virtsa- sekä plasmanäytettä, joista yksi oli paastonäyte ja loput postprandiaalinäytteitä. Tutkittavilta kerättiin myös 24:n sekä 48:n tunnin virtsanäytteet, jonka aikana tutkittavia oli pyydetty välttämään kasvien syöntiä. Biologiset näytteet analysoitiin massaspektrometriaa käyttäen (LC-MS sekä LC-MS/MS).

Biologisten näytteiden sisältämän datan perusteella havaittiin 36 eri metaboliittia, joiden paasto- sekä postprandiaalinäytteiden välillä havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja. Havaituista metaboliiteista kolme pystyttiin havaitsemaan vain seeruminäytteissä, 24 vain virtsanäytteissä ja yhdeksän molemmissa näytteissä. Biologisista näytteistä ennakoitiin löytyvän tiettyjä antosyaanien metaboliitteja, mutta kyseisiä metaboliitteja ei kyetty havaitsemaan virtsa- tai plasmanäytteistä. Tunnettuja metaboliitteja joita näytteistä havaittiin olivat happojen (benzoic acid, hydroxyhippuric acid, cinnamic acid, phenylpropionic acid, phenylvaleric acid, phenylpentenoic acid, abscisic acid) konjugaatteja. Tunnettuja metaboliitteja joita näytteistä havaittiin oli myös kaksi hedelmien nauttimiselle tyypillistä antosyaania, yksi flavonoli metaboliitti sekä kaksi katekoli johdannaista. Tutkimuksen ollessa ei-kohdistetun metabolomiikan tutkimus, havaittiin myös tuntemattomia yhdisteitä, eli yhdisteitä, joita ei ole havaittu aikaisemmissa tutkimuksissa olevan metsämustikka-aterian biomarkkereita. Tuntemattomien yhdisteiden (hydroxy-(hydroxy-methoxyphenyl)-pentenoic acid glucuronide, hydroxy-(hydroxy-methoxyphenyl)-pentenoic acid sulphate) biologisesta aktiivisuudesta ei ole tietoa (Ancillotti ym. 2019).

4.5 Puolukka-aterian vaikutus postprandiaaliseen aineenvaihduntaan metabolomiikka-analytiikalla tutkittuna

Puolukan vaikutusta aterianjälkeiseen metaboliittiprofiiliin on tutkittu rasvaisen aterian yhteydessä käyttäen metabolomiikka-analyysiä (Lehtonen ym. 2013). Lehtosen ym. (2013) tutkimuksen tavoitteena oli tutkia muuttaako puolukan nauttiminen rasvaisen aterian yhteydessä virtsan postprandiaaliasta metaboliittiprofiilia. Tutkimuksessa havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja virtsan metaboliiteissa verrattuna kontrolliin. Tulosten perusteella voidaan arvella puolukan muokkaavan virtsan metaboliittiprofiilia.

Tutkimukseen osallistui 14 tervettä miestä, jotka kukin söivät tutkimuskertoja edeltävinä iltoina standardoidun matalan flavonoidi pitoisuuden omaavan aterian, jonka jälkeen suoritettiin kahdentoista tunnin paasto. Tutkimuskäyntien yhteydessä tutkittavilta kerättiin paastovirtsanäytteet ja tutkittavat satunnaistettiin nauttimaan joko puolukkaa sisältävää koeateriaa tai kontrolliateriaa. Kontrolliateria sisälsi maustamatonta luonnonjogurttia (200 g) sekä rypsiöljyä (35 g). Puolukkaa sisältävä ateria sisälsi näiden lisäksi jauhettua puolukkaa (60 g, vastaa noin 270 g tuoretta puolukkaa). Puolukkajauhe oli valmistettu puolukkamehun puristuksessa jääneestä ylijäämästä, joka kuivattiin ja jauhettiin. Kukin tutkittava söi kummatkin koeateriat, aterioiden välissä oli kuuden päivän wash-out jakso. Tutkimusaterioiden jälkeen paastoa jatkettiin kolme tuntia, jonka ajalta virtsaa kerättiin. Näytteet analysoitiin ydinmagneettisen resonanssispektroskopian avulla (^1H NMR). Kerätylle datalle suoritettiin multivariaatti- sekä tilastollista testausta.

Analyysin perusteella havaittiin selkeä ero puolukka-aterian postprandiaali näytteissä verrattuna kontrolli- sekä paastonäytteisiin. Selkeimmät erot metaboliiteissa näkyivät hippurihapon sekä kreatiniinin osalta. Tilastollisesti merkitseviä eroja nähtiin hippurihapon sekä 4-hydroksihippurihapon pitoisuuksissa. Postprandiaali virtsassa molempien yhdisteisen konsentraatio oli korkeampi verrattuna paastovirtsaan. Hippurihappoa ei esiinny puolukassa, vaan on polyfenolisten yhdisteiden aineenvaihduntatuote, 4-hydroksihippurihappo on taas hippurihapon eräs aineenvaihduntatuotteista. Tilastollisesti merkitseviä eroja nähtiin myös 3-hydroksivoihapon, *''4-deoxythreonic acid''*:in, sitruunahapon, dimetyyliamiinin sekä kreatiniin pitoisuuksissa, yhdisteiden konsentraatiot olivat alemmat postprandiaali virtsassa verrattuna kontrolli- sekä paastovirtsaan. Tutkimuksen tulosten perusteella nähdään muutoksia sekä endogeenisissä- että eksogeenisissä metaboliiteissa puolukan nauttimisen jälkeen.

5. POHDINTA

Kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli selvittää marjojen postprandiaalista vaikutusta elimistön metaboliittiprofiileihin. Tutkimuksia aiheesta on niukasti rajoittuen muutamiin yleisimpiin marjalajeihin. Katsauksessa tarkasteltiin viittä eri marjaa, vadelmaa, tyrniä, mansikkaa, puolukkaa sekä metsämustikkaa, mutta muista marjoista ei löytynyt katsaukseen sopivia tutkimuksia. Esimerkiksi mustaa vatukkaa (*Rubus occidentalis*) on tutkittu runsaasti suolistosyövän yhteydessä, mutta kyseistä marjaa ei ole metabolomiikka-analyysin avulla tutkittu ihmisissä, vaan tutkimuksen perustuvat eläinkokeisiin, siten mustan vatukan metabolomiikka käsitteleviä tutkimuksia ei sisällytetty kirjallisuuskatsaukseen.

Katsaukseen sisällytetyt tutkimukset olivat rakenteeltaan hyvin samankaltaisia ja näytteiden analysointiin käytettiin samanlaisia menetelmiä. Tutkimusten otoskoko oli hyvin pieni ja erilaiset massaspektrometrimittaukset olivat suosituin analysointimenetelmä. Muoto missä marja nautittiin, vaihteli tutkimuksesta toiseen. Usein tutkimusaterian sisältämä marja oli kokonaisena kuivattu ja jauhettu, eli tutkimuksissa tarkasteltiin kokonaisen marjan vaikutuksia. Tutkimuksissa käytettiin usein biologisena näytteenä virtsaa, mutta myös plasmaa tutkittiin. Muutamassa tutkimuksessa, jossa tutkittavilta otettiin sekä virtsa- että plasmanäytteet, havaittiin näytteiden välillä hyvinkin erilaisen metaboliset profiilit.

Marja-aterioiden postprandiaalitalan näytteistä havaittiin paljon erilaisia metaboliitteja, joista suuri osa pysyi tunnistamattomina yhdisteinä. Osa havaituista metaboliiteista oli aiemmin raportoituja kyseisen marjan yhteydessä, kun taas osa metaboliiteista raportoitiin ensi kertaa kyseisen marjan yhteydessä. Tutkimuksissa eniten esille tuleva yhdiste oli hippurihappo tai sen aineenvaihduntatuotteet (3-hydroksihippurihappo, 4-hydroksihippurihappo). Itse hippurihappoa havaittiin puolukan sekä tyrnin postprandiaalitalan näytteissä, kun taas sen aineenvaihduntatuotteita havaittiin puolukan ja tyrnin lisäksi myös vadelman sekä metsämustikan näytteissä. Usein marjalle oli hyvin spesifinen aineenvaihduntatuotteiden profiili, ja marjojen profiilit usein erosivat paljonkin toisistaan, mutta esimerkiksi tyrnin sekä puolukan postprandiaalitalan näytteissä havaittiin samankaltaisuuksia. Molempien näytteissä havaittiin vähäisempi konsentraatio endogeenisiä metaboliitteja, kuten dimetyyliamiinia, kreatiniinia sekä hydroksivoihappoa, verrattuna paasto- sekä kontrollinäytteisiin.

6. JOHTOPÄÄTÖKSET

Kirjallisuuskatsauksen johtopäätöksenä voidaan todeta marja-aterialla olevan selkeä vaikutus metabolomiikka-analyysin tutkittuun aineenvaihduntaan. Tutkimuksissa havaittiin paasto- sekä postprandiaalinäytteiden välillä selkeitä eroja metaboliittiprofiileissa. Selkeitä eroja havaittiin myös marjaa-ateriaa nauttineiden sekä kontrolliaterian nauttineiden välillä. Muutoksia havaitaan sekä endogeenisten- että eksogeenisten metaboliittien yhteydessä. Eri marjoilla voidaan myös todeta olevan erilainen vaikutus elimistön metaboliittiprofiiliin. Vaikutus johtuu luultavasti eri marjojen sisältämistä erilaisista yhdisteistä, ja niiden erilaisesta metaboliasta.

Vaikka katsaukseen sisältyviä tutkimuksia oli niukasti, ja tutkimusten otoskoot olivat pienet, tutkimuksissa havaittiin runsaasti erilaisia aineenvaihduntatuotteita. Taulukkoon 1. on koottu kaikki tutkimuksissa havaitut yhdisteet. Taulukko esittää kunkin marjan kohdalla, kaikki kyseisen marja-aterian postprandiaalinäytteistä havaitut yhdisteet, taulukkoon on myös sisälletty tuntemattomaksi jääneet yhdisteet.

Taulukko 1. Tutkimuksissa havaitut yhdisteet.

Marja	Havaitut yhdisteet (engl.)	Viite
Vadelma	Caffeoyl sulphate Ascorbate Methyl-epicatechin sulphate Unknown glucuronide 3-Hydroxyhippuric acid Naringenin glucuronide Several unknown	Lloyd ym. 2011
Tyrni	Catechin sulphate 5-Hydroxyindole-3-acetic acid xi-2,3-Dihydro-2-oxo-1H-indole-3-acetic acid Hippuric acid Cyclohexane carboxylic acid glycine 1-Cyclohexene carboxylic acid glycine N-Methyl hippuric acid Isorhamnetin glucuronide Pyrocatechol sulphate Unknown sulphate 5 Unknown sulphate 6 Unknown glucuronide 9 Unknown glucuronide 10 Unknown glucuronide 11 Unknown glucuronide 12 Unknown glucuronide 13 Dihydrocyclohexane carboxylic acid Protocatechuic acid glucoside Unknown 5 Unknown 6 Unknown 7 Unidentified 5 Ethyl-0-β-D-glucopyranoside	Cuparencu ym. 2016, Lindstedt ym. 2014

	<p>3-Hydroxybutanoic acid Acetic acid N-Acetyl glycoprotein Unidentified compound from sea buckthorn berry Methyl-0-β-D-glucopyranoside Unidentified 27 Unidentified 1 Unidentified 2 Unidentified 9 Unidentified 10 Unidentified 11 Dimethylamine Creatinine Hippuric acid</p>	
Mansikka	<p>P-coumaric acid 3,4-Dihydrobenzoic acid Kaempferol-glucuronide 4-Hydroxybenzoic acid Syringic acid Kaempferol-3-glucoside Pelargonidin-3,5-diglucoside Pelargonidin-3-glucuronide Cyanidin-3,5-diglucoside Quercetin-3-glucoside Quercetin-3-galactoside Cyanidin-3-O-glucoside Pelargonidin-3-sambubioside (+) Catechin Pelargonidin-3-O-glucoside Fisetin Pelargonidin-sulphate Quercetin-rutinoside Quercetin Pelargonidin-3-(6''-malonylglucoside) Pelargonidin-3-O-6''-rhamnosylglucoside Quercetin-glucuronide Quercetin-sulphate 5-Carboxypyranopelargonidin-3-O-beta-glucopyranoside Kaempferol-3-O-sulphate Kaempferol-3-coumaroylglucoside Fisetin-3-rutinoside Methylquercetin Kaempferol-3-(6''-malonylglucoside) Quercetin-3-(6''-caffeoylgalactoside) Kaempferol 3-(6''-caffeoylglucosyl)-(1->2)-galactoside Quercetin 3-(2'',6''-digalloylgalactoside) Pelargonidin3-(6''-caffeoylglucoside) 2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone sulphate Catechin Sulphate 4-Hydroxyhippuric acid Furaneol glucuronide Pelargonidin glucuronide P-coumaric acid sulphate Dihydrokaemperol glucuronide Furaneol sulphate Mesifurane sulphate Leucopelargonidin sulphate Unknown sulphate 1 Unknown sulphate 2 Unknown sulphate 3 Unknown sulphate 4 Dihydrokaempferol glucuronide isomer</p>	<p>Andersen ym. 2014, Banaszewski ym. 2013, Cuparencu ym. 2016</p>

	<p>Unknown glucuronide 1 Unknown glucuronide 2 Unknown glucuronide 3 Unknown glucuronide 4 Unknown glucuronide 5 Unknown glucuronide 6 Unknown glucuronide 7 Unknown glucuronide 8 Unknown 1 Unknown 2 Unknown 3 Unknown 4</p>	
Metsämustikka	<p>Hydroxy-methoxy benzoic acid glucuronide I (vanillic acid glucuronide I) o-Hydroxyhippuric acid sulphate Hydroxy-dimethoxy benzoic acid sulphate (syringic acid sulphate) Hydroxy-dimethoxy benzoic acid glucuronide I (syringic acid glucuronide I) Catechol sulphate Hydroxy-methoxy benzoic acid hexoside (vanillic acid glucoside) Hydroxy-methoxy benzoic acid glucuronide II (vanillic acid glucuronide II) Hydroxy-(dihydroxyphenyl) pentenoic acid glucuronide Hydroxy-(dihydroxyphenyl) valeric acid glucuronide I Hydroxy-dimethoxy benzoic acid glucuronide II (syringic acid glucuronide I) Hydroxy-methoxy hippuric acid Hydroxy-(dihydroxyphenyl) pentenoic acid sulphate Hydroxy-(dihydroxyphenyl) valeric acid glucuronide II Delphinidin-hexoside Trimethoxy-hydrocinnamic acid glucuronide or hydroxy-(hydroxy-methoxyphenyl) valeric acid glucuronide Hydroxy-(dihydroxyphenyl) valeric acid sulphate Catechol glucuronide Hydroxy-metoxycinnamic acid glucuronide I (ferulic acid glucuronide I) Cyanidin-hexoside Hydroxy-(hydroxyphenyl) pentenoic acid sulphate I Chlorogenic acid, hydroxy-(hydroxy-methoxyphenyl)-pentenoic acid sulphate Hydroxy-dimethoxy cinnamic acid glucuronide (sinapic acid glucuronide) Hydroxy-(hydroxy-methoxyphenyl)-pentenoic acid glucuronide I Hydroxy-(hydroxyphenyl) pentenoic acid glucuronide Hydroxy-methoxycinnamic acid glucuronide II (ferulic acid glucuronide II) Hydroxy-(hydroxy-methoxyphenyl)-pentenoic acid glucuronide II Hydroxy-(hydroxyphenyl) pentenoic acid sulphate II Dihydroxyphenyl propionic acid glucuronide Hydroxy-abscisic acid glucuronide Feruloylquinic acid Abscisic acid glucuronide Methyl-dihydromyricetin Hydroxy-abscisic acid Hydroxyphenyl propionic acid sulphate Abscisic acid</p>	Ancilotti ym. 2019
Puolukka	<p>3-Hydroxybutanoic acid 4-Deoxythreonic acid Citric acid Dimethylamine Creatinine</p>	Lehtonen ym. 2013

	Hippuric acid 4-Hydroxyhippuric acid	
--	---	--

Kuten yllä olevasta taulukosta (Taulukko 1) näkee, vain viidestä eri marjasta löytyy tutkimuksia, joissa marja-aterian vaikutusta postprandiaaliseen aineenvaihduntaan on tutkittu metabolomiikka-analyysin keinoin. Taulukosta myös näkee, kuinka laajasti eri marjoja koskevissa tutkimuksissa on havaittu yhdisteitä, esimerkiksi puolukan yhteydessä havaittuja yhdisteitä on vain seitsemän, kun taas metsämustikan yhteydessä 36. Kokonaiskuvan saamiseksi voisi olla hyvä, jos näiden viiden marjan lisäksi, tutkittaisiin muita yleisiä marjoja samanlaisin tutkimusasetelmin. Kustakin marjasta voisi tutkimusten perusteella määritellä spesifin metaboliittiprofiilin. Profiileja tarkastelemalla voisi mahdollisesti karttaa ymmärrystä marjojen terveysvaikutuksista tarkastelemalla marjan elimistössä muokkaamia aineenvaihduntareittejä.

LÄHTEET

- Ancillotti C, Ulaszewska M, Mattivi F, Del Bubba M. Untargeted Metabolomics Analytical Strategy Based on Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Linear Ion Trap Quadrupole/Orbitrap Mass Spectrometry for Discovering New Polyphenol Metabolites in Human Biofluids after Acute Ingestion of *Vaccinium myrtillus* Berry Supplement. *J Am Soc Mass Spectrom* 2019;30:381-402.
- Andersen MS, Kristensen M, Manach C, Pujos-Guillot E, Poulsen SK, Larsen TM, Astrup A, Dragsted L. Discovery and validation of urinary exposure markers for different plant foods by untargeted metabolomics. *Anal Bioanal Chem* 2014;406:1829-1844.
- Banaszewski K ym. :A pilot study to investigate bioavailability of strawberry anthocyanins and characterize postprandial plasma polyphenols absorption patterns by Q-TOF LC/MS in humans. 2013 .
- Brennan L. Metabolomics in nutrition research: current status and perspectives. *Biochem Soc Trans* 2013;41:670-673.
- Burton-Freeman B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: A review of the science. *British Journal of Nutrition* 2010;104:S14.
- Cuparencu C, Andersen M, Gürdeniz G, Schou S, Mortensen M, Raben A, Astrup A, Dragsted L. Identification of urinary biomarkers after consumption of sea buckthorn and strawberry, by untargeted LC–MS metabolomics: a meal study in adult men. *Metabolomics* 2016;12:1-20.
- D'Urso G, Piacente S, Pizza C, Montoro P. Metabolomics of Healthy Berry Fruits. *Curr Med Chem* 2018;25:4888-4902.
- Hänninen V, Pietiläinen K, Oresic M. Metabolomiikka – lääketieteellisen tutkimuksen uusi työkalu. *Duodecim* 2007;.
- Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016;17:451-459.
- Lehtonen HM, Lindstedt A, Jarvinen R, Sinkkonen J, Graca G, Viitanen M, Kallio H, Gil AM. ¹H NMR-based metabolic fingerprinting of urine metabolites after consumption of lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea*) with a high-fat meal. *Food Chem* 2013;138:982-990.
- Lindstedt A, Järvinen R, Sinkkonen J, Lehtonen H-, Graça G, Viitanen M, Gil AM, Kallio H. Postprandial response on fatty meal is affected by sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) supplementation: NMR metabolomics study. *Food Research International* 2014;58:23-34.
- Lloyd AJ, Favé G, Beckmann M, Lin W, Tailliant K, Xie L, Mathers JC, Draper J. Use of mass spectrometry fingerprinting to identify urinary metabolites after consumption of specific foods. *Am J Clin Nutr* 2011;94:981-991.
- Medina S, Domínguez-Perles R, Ferreres F, Tomás-Barberán FA, Gil-Izquierdo Á. The effects of the intake of plant foods on the human metabolome. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2013;52:88-99.

Nile SH, Park SW. Edible berries: bioactive components and their effect on human health. *Nutrition* 2014;30:134-144.

O'Gorman A, Brennan L. Metabolomic applications in nutritional research: a perspective. *J Sci Food Agric* 2015;95:2567-2570.

Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13:263-269.

Seeram NP. Berry Fruits: Compositional Elements, Biochemical Activities, and the Impact of Their Intake on Human Health, Performance, and Disease. *J Agric Food Chem* 2008;56:627-629.

Yang B, Kortessniemi M. Clinical evidence on potential health benefits of berries. *Current Opinion in Food Science* 2015;2:36-42.