

Tia-Mari Peltomaa

SEKRETIININ MUNUAISVAIKUTUKSET TERVEILLÄ MIEHILLÄ

Syventävien opintojen kirjallinen työ
Kevätlukukausi 2021

Tia-Mari Peltomaa

SEKRETIININ MUNUAISVAIKUTUKSET TERVEILLÄ MIEHILLÄ

Sisätautioppi
Kevätlukukausi 2021
Vastuhenkilö: Pirjo Nuutila

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä

TIIVISTELMÄ

Peltomaa, Tia-Mari:

Sekretiinin munuaisvaikutukset terveillä miehillä

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 23 s.

Sisätautioppi

Kevätlukukausi 2021

Sekretiini on hormoni, jonka merkitys ruoansulatuksessa on tunnettu jo yli sadan vuoden ajan. Viime aikoina tutkijat ovat kiinnostuneet sekretiinin vaikutuksista myös muihin elinjärjestelmiin, kuten munuaisiin ja nestetasapainoon. Riippuen sekretiinin diureettisista tai antidiureettisista vaikutuksista sillä voisi olla tulevaisuudessa myös klinisiä sovelluskohteita, kuten diabetes insipiduksen tai erinäisten turvotustilojen lääkehoidossa. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on saada enemmän tietoa sekretiinin munuaisvaikutuksista ihmisillä ja täten selvittää, voisiko sillä olla klinisiä sovelluksia sairauksien ja tautitilojen hoidossa tulevaisuudessa.

Tässä sokkoutetussa ja lumekontrolloidussa crossover-tutkimuksessa tutkittiin sekretiinin munuaisvaikutuksia 15 terveellä koehenkilöllä. Tarkastelun kohteena olivat muutokset glomerulusten suodatusnopeudessa (GFR), virtsaneritysnopeudessa, merkkiainepuhdistumassa ja munuaisten glukoosinkäytössä. Tutkittavat saivat satunnaistetusti ja sokkoutetusti eri päivinä suonensisäisesti lumelääkettä (0,9% NaCl) tai sekretiinihydrokloridia. Lääkkeenannon jälkeen tutkittavat kuvattiin kumpanakin päivänä positroniemissiotomografialla (PET) ja merkkiaineena käytettiin fluorileimattua deoksiglukoosia [¹⁸F]-FDG. Glukoosinkäytön selvittämiseksi koehenkilöiden PET-kuvat analysoitiin Carimas-ohjelmalla. Tilastolliset analyysit tehtiin parittaisella T-testillä käyttäen SPSS-ohjelmaa.

Tutkimuksessa todettiin, että sekretiini nosti GFR-arvoa enemmän kuin lume ($p=0.001$). Sekretiini nosti GFR:ää arvosta $123 \text{ ml/min/1.73m}^2$ arvoon $141 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ($p<0.001$) ja lume arvosta $123 \text{ ml/min/1.73m}^2$ arvoon $129 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ($p=0.005$). Virtsaneritysmäärissä ei havaittu eroja, mutta tutkimusasetelma ei mahdollistanut tarkkaa virtsanerityksen mittaamista. Sekretiinin päivänä [¹⁸F]-FDG -puhdistuma oli lumepäivää suurempi ($44.5\pm 5.4 \text{ ml/min}$ vs. $39.5\pm 8.5 \text{ ml/min}$, $p=0.004$). Munuaisten glukoosinkäytössä ei havaittu eroa sekretiinin ja lumen välillä.

Yhteenvetona voidaan todeta, että sekretiini toimi heikkona diureettina terveillä miehillä, mutta tehon varmistamiseksi tarvitaan vielä lisätutkimuksia isommilla ja monipuolisemmilla aineistoilla, joissa nesteytysmäärä on vakioitu.

Avainsanat: sekretiini, munuaiset

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO.....	6
2. TUTKIMUSAINEISTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT	8
2.1 TUTKIMUSHENKILÖT	8
2.1.1. Sisäänottokriteerit.....	8
2.1.2. Poissulkukriteerit.....	8
2.2 MENETELMÄT.....	9
2.2.1 Glomerulusten suodatusnopeus GFR.....	10
2.2.2 Virtsan erittymisnopeus ja FDG-puhdistuma.....	11
2.2.3 Munuaisten glukoosinkäyttö.....	11
2.2.4. Tilastolliset analyysit.....	12
3. TULOKSET	13
3.1. GLOMERULUSTEN SUODATUSNOPEUS GFR	13
3.2. VIRTSAN ERITYMISNOPEUS JA FDG-PUHDISTUMA	14
3.3. MUNUAISTEN GLUKOOSINKÄYTTÖ	15
4. POHDINTA.....	17
LÄHDELUETTELO.....	21

1. JOHDANTO

Vuonna 1902 tutkijat Bayliss ja Starling selvittivät happaman suolinesteen ja haiman erityksen yhteyttä. He saivat selville, että on olemassa molekyyli, joka erittyy suoletta happamissa olosuhteissa ja joka kulkeutuu verenkierron mukana haimaan aikaansaaden siellä haimanesteen erittymisen. He nimesivät löytämänsä yhdisteen **sekretiiniksi**¹. Sekretiini on ensimmäinen löydetty hormoni. Se erittyy S-soluista, jotka sijaitsevat ohutsuolen limakalvolla Lieberkühnin kryptissa² ja lukeutuu maha-suolikanavan hormoneihin: se lisää ohutsuolen³, haiman⁴ ja sappitiehyiden⁵ bikarbonaattieritystä ja lisää mahalaukun pepsiinituotantoa⁶. Sekretiini myös vähentää mahalaukun suolahapon⁷ ja aterian jälkeisen gastriinin eritystä⁸. Täten sekretiinin tärkein tehtävä maha-suolikanavassa on happaman ruokamassan neutraloiminen sen tultua ohutsuoleen.

Myöhemmissä tutkimuksissa on havaittu, että sekretiini on paljon muutakin kuin ruoansulatushormoni. Sen reseptoreita on ruoansulatuskanavan lisäksi mm. aivoissa, jossa sillä on keskushermoston toimintaa sääteleviä ominaisuuksia⁹⁻¹¹. On myös osoitettu, että sekretiinillä on yksilönkehityksen aikana vaikutusta keskushermoston rakentumiseen¹². Hiirillä tehdyssä tutkimuksessa pystyttiin osoittamaan, että sekretiinillä oli vaikutusta synapsien plastisuuteen ja sosiaalisiin taitoihin: sekretiinireseptoripoistogeeniset hiiret olivat sosiaalisilta taidoiltaan verrokkeja huonompia¹¹. Sekretiinin on todettu toimivan paitsi hormonina, myös hermovälittäjäaineena. On myös ajateltu, että autonomisen hermoston kautta sekretiini mm. lisää sydämen minuuttitulavuutta.¹³⁻¹⁵

Sekretiinin osuudesta vesitasapainon säätelyssä kiinnostuttiin 1970-luvulla, kun sekretiinin havaittiin lisäävän diureesia koirilla¹⁶. Yli kymmenen vuotta tämän jälkeen sekretiinin havaittiin toimivan antidiureettina rotilla¹⁷. Jo varhain sekretiinin vaikutuksia tutkittiin myös ihmisellä ja havaittiin diureesin lisääntyvän¹⁸⁻²⁰. Merkittävä edistysaskel vaikutusten ymmärtämiseen saatiin vasta 2000-luvulla Jessica Chu:n sekretiinireseptoripoistogeenisillä hiirillä tehdyissä tutkimuksissa. Niiden avulla havaittiin, että on olemassa antidiureettisesta hormonista (Anti-Diuretic Hormone, ADH) eli vasopressiinistä riippumaton munuaisten veden takaisinoton mekanismi, joka käyttää samoja akvaporiniikanavia kuin ADH ja jonka sekretiini aktivoi. Sekretiini toimi hiirillä antidiureettina.²¹

Sekretiinin munuaisvaikutukset ihmisellä tunnetaan edelleen huonosti, vaikka sekretiinistä voisi olla hyötyä kliiniseen työhön vesitasapainon sairauksien hoitamisessa. X-kromosomissa periytyvä renaalinen *diabetes insipidus* on esimerkki tällaisesta sairaudesta. Periytyvässä renaalisessa diabetes insipiduksessa vasopressiinireseptori on viallinen, mikä johtaa vasopressiinin toimimattomuuden myötä polyuriaan ja edelleen nestehukkaan, jos potilas ei huolehdi riittävästä juomisesta. Mikäli viallinen vasopressiinireseptori voitaisiin ohittaa ja aktivoita akvaporinikanavat vaihtoehtoisella reitillä, kuten sekretiinillä tai sen agonistilla, voitaisiin tämän reitin aktivointia hyödyntää potilaiden hoidossa. Mikäli sekretiinin edelleen havaitaan toimivan ihmisellä diureettina, voitaisiin sen potentiaalia sydämen ja munuaisten vajaatoiminnan ja verenpainetaudin hoitamisessa tutkia tarkemmin tulevaisuudessa.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää lisää sekretiinin munuaisvaikutuksia ja niiden mekanismeja ihmisellä. Diureesin lisäksi mitattiin munuaisten merkkiainepuhdistumaa, glomerulussuodatusnopeutta (glomerular filtration rate, GFR) ja glukoosin ottoa munuaisten kuori- ja ydinkerroksen soluihin sekretiini- ja lumeinterventioiden aikana.

2. TUTKIMUSAINEISTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT

Tutkimuksen aineistona käytettiin PET-keskuksessa vuosina 2016-2017 tehtyä GUTBAT tutkimusta (NCT03290846). Siitä on julkaistu 2018 Cell-lehdessä artikkeli "Secretin-Activated Brown Fat Mediates Prandial Thermogenesis to Induce Satiation" ²². Aineistosta on myös hyväksytty painettavaksi lähiohjaajani, kardiologian erikoislääkäri Sanna Laurilan tutkimus sekretiinin vaikutuksesta ruskeaan rasvaan ja ruokahaluun ²³. Tässä tutkimuksessa analysoidaan aiemmin raportoimatonta aineistoa keskittyen sekretiinin munuaisvaikutuksiin. Kyseessä on **sokkoutettu, lumekontrolloitu cross-overtutkimus**. Munuaisvaikutuksia tarkasteltiin glomerulusten suodatusnopeuden (GFR), virtsaneritysnopeuden, merkkiainepuhdistuman ja munuaisten glukoosinkäytön kannalta.

2.1 Tutkimushenkilöt

Tutkimukseen otettiin mukaan 15 tervettä ja normaalipainoista miestä. Sisäänotto- ja poissulkukriteerit esitettynä alla.

2.1.1. Sisäänottokriteerit

- 1) Miessukupuoli
- 2) BMI 20-26 kg/m²
- 3) Ikä: 18-65 vuotta
- 4) Normaali glukoosinsieto

2.1.2. Poissulkukriteerit

- 1) BMI < 20 kg/m² tai BMI > 26 kg/m²
- 2) Matala tai korkea verenpaine
- 3) Astma tai muu obstruktiivinen keuhkosairaus
- 4) Sairas sinus -oireyhtymä, pidentynyt QT-aika tai mikä tahansa muu sydänsairaus
- 5) Mikä tahansa krooninen sairaus (mm. tulehdukselliset suolistosairaudet tai pankreatiittitaipumus) tai käytössä olevat lääkkeet (mm. estrogeeni- tai progesteronivalmisteet, beetasalpaaja, kortisoni, tyroksiini tai antikolinergit), jotka vaikuttaisivat tutkimuksen tuloksiin tai aiheuttaisivat riskin koehenkilölle
- 6) Mielenterveyden häiriö, alkoholin liiakäyttö, tupakointi tai huumeiden käyttö

- 7) Huono komplianssi
- 8) Kehossa metalliosia (esimerkiksi sydämen tahdistin tai tekonivel)
- 9) Edeltävä altistuminen säteilylle muissa PET-tutkimuksissa
- 10) Mikä tahansa muu tila, jonka katsotaan olevan haitallinen koehenkilön terveydelle, tutkimuksen vaiheille tai tutkimuksessa saataville tuloksille.

Koehenkilöt rekrytoitiin tutkimukseen ilmoittamalla tutkimuksesta paikallislehdissä, ilmoitustauluilla ja sähköpostilistoilla. Ennen hyväksymistä tutkimukseen suoritettiin jokaiselle koehenkilölle lääkärintarkastus laboratoriotutkimuksiin ja varmistettiin sopivuus tutkimukseen. Koehenkilöitä ohjeistettiin paastoamaan ennen molempia tutkimuspäiviä. Myös nesteiden nauttimista rajoitettiin yhteen vesilasilliseen kuvauksia edeltävästi. Aineiston ominaisuuksia ja niiden tilastollisia tunnuslukuja on taulukoituna taulukossa 1.

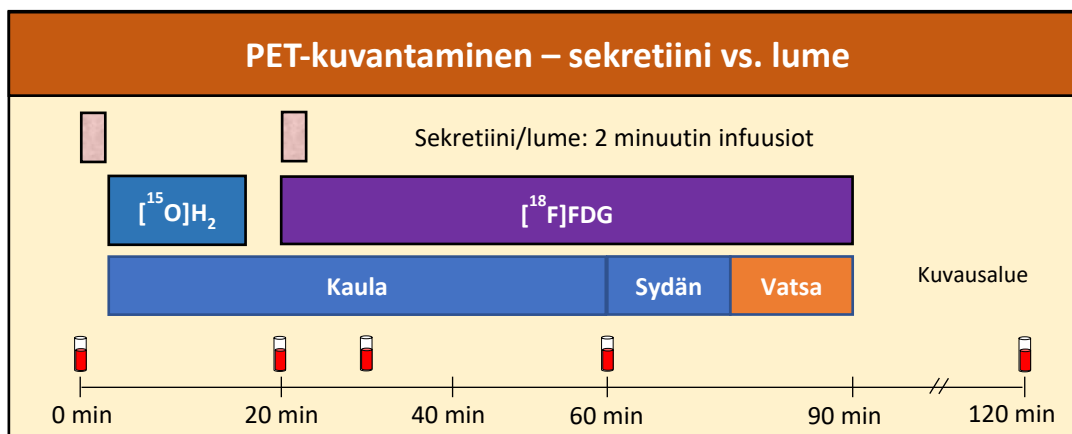
Taulukko 1. Tutkitut 15 miestä

	Ikä (v)	Pituus (cm)	Paino (kg)	BMI (kg/m ²)
Lukumäärä	15	15	15	15
Keskiarvo	42	180,7	79,5	24,0
Mediaani	37	181,5	78,1	24,1
Minimi	25	167,0	70,3	21,4
Maksimi	63	200,0	100,0	27,0

2.2 Menetelmät

Koehenkilöt kuvattiin positroniemissiotomografialla (PET) kahdesti. Merkkiaineena käytettiin [¹⁸F]-fluorilla leimattua deoksiglukoosia [¹⁸F]-FDG. Ennen FDG-injektiota tutkittaville annettiin sokkoutetusti ja satunnaistetusti 2 minuutin laskimoinfuusiona joko sekretiiniä tai lumelääkettä. Sama infuusio toistettiin noin 20 minuutin jälkeen ja verikokeita otettiin useassa aikapisteessä. Munuaiset sisältyivät vatsan kuvausalueeseen, joka alkoi FDG-injektion alusta n. 65 minuutin kohdalla. Tutkimusasetelma PET-kuvantamisen osalta on havainnollistettu kuvassa 2. Yhden sekretiini-infuusion annos oli 1 IU/kg. Lumelääkkeenä tässä tutkimuksessa käytettiin 0.9 % natriumkloridiliuosta.

Munuaisfunktiota arvioitiin glomerulusten suodatusnopeudessa, virtsan eritysnopeudessa, merkkiainepuhdistumassa ja munuaisten glukoosinkäytössä havaittujen muutosten avulla. Aiemmin GUTBAT-aineiston tutkimuksissa on raportoitu sekretiinin lisäävän glukoosin soluun ottoa eri elimiin. Tässä tutkimuksessa selvitettiin, lisääkö sekretiini glukoosinottoa munuaisen kuori- ja ydinkerrokseen.



Kuva 2. Kuvantamisen aikana annettujen infuusioiden ja otettujen verikokeiden aikapisteet sekä kaulan, sydämen ja vatsan alueen kuvausajankohdat. Munuaiset sisältyivät vatsan kuvausalueeseen.

2.2.1 Glomerulusten suodatusnopeus GFR

PET-kuvantamisen aikana koehenkilöistä otettiin verikokeita juuri ennen kuvantamista (aikapiste 0 minuuttia) sekä sen aikana (aikapiste 30 minuuttia). Kymmenestä tutkimushenkilöstä teetettiin Nightingalen metaboliapaketti, joka sisälsi myös kreatiniinin, jota GFR-määrityksissä käytettiin. Yhdessä koehenkilön painon ja iän kanssa GFR määritettiin em. aikapisteissä käyttämällä sekä Cockcroft-Gault²⁴ että MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)²⁵ -kaavaa. GFR laskettiin ennen (0 min) ja jälkeen (30 min) intervention ja laskettiin niiden välinen erotus GFR:ssä tapahtuneen muutoksen selvittämiseksi. Sekretiiinin ja lumelääkkeen aikaansaamia GFR-muutoksia verrattiin toisiinsa.

2.2.2 Virtsan erittymisnopeus ja FDG-puhdistuma

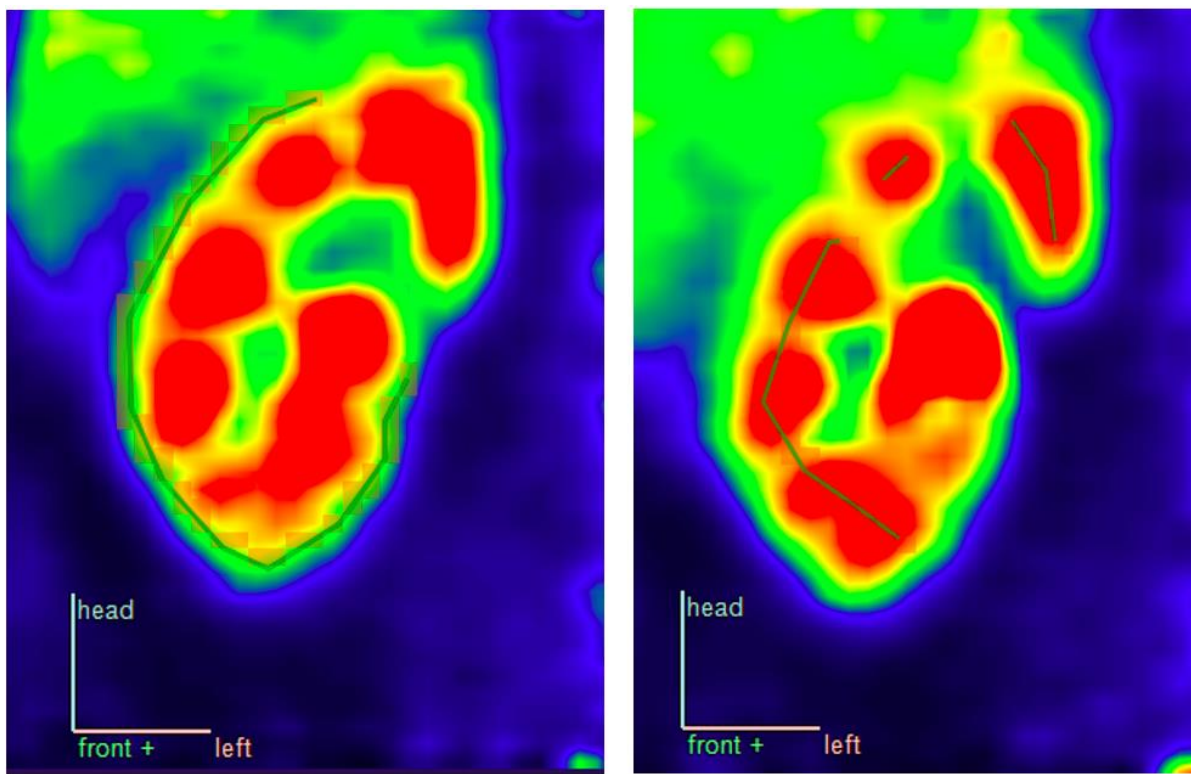
Koehenkilöt tyhjensivät rakkonsa ennen PET/CT-kameraan asettelua. Kuvauksen päätyttyä koehenkilöt tyhjensivät rakkonsa uudestaan ja virtsan määrä punnittiin grammoissa. Virtsamisten kellonajat kirjattiin. Saatu grammamäärä virtsaa muutettiin millilitroiksi (virtsan tiheys 1,01 g/ml) ja jaettiin kellonaikojen välisellä ajalla, jotta saatiin virtsan erittymisnopeus kuvauksen ajalta. Mikäli koehenkilö joutui tyhjentämään rakkonsa PET/CT-kuvauksen aikana, kirjattiin kuvauksen aikainen virtsamäärä ja se lisättiin kuvauksen lopussa virtsattuun määrään. Munuaisissa FDG erittyy kuten glukoosi, mutta SGLT-2-reseptorit eivät ota sitä takaisin virtsasta. FDG-puhdistuma laskettiin aikaisemmin kuvatulla kaavalla²⁶ :

$$Puhdistuma_{FDG} = \frac{FDG_{kerätyn\ virtsan\ aktiivisuus}}{AUC_{0 \rightarrow keräysaika}}$$

2.2.3 Munuaisten glukoosinkäyttö

Tutkimuksessa selvitettiin, lisääntyykö munuaisten energiantarve ja -käyttö sekretiini-infusion aikana verrattuna lumelääkkeeseen. Verensokerin vaikutuksen eliminoimiseksi koehenkilöt paastosivat ennen kuvantamista ja glukoosia seurattiin kuvauksen ajan. Glukoositaso pysyi kuvauksen ajan paastotasolla. PET-kuvantamisessa käytimme [¹⁸F]-FDG -merkkiainetta, jonka solut ottavat sisäänsä kuten glukoosin. Täten merkkiaineen lisääntynyt kertyminen munuais kudokseen kertoisi munuaisten lisääntyneestä glukoosintarpeesta. Merkkiaineen kertyminen kudokseen ja edelleen lisääntynyt glukoosin soluun otto selvitettiin analysoimalla PET-kuvia Carimas 2.8. ohjelmistolla (Turku PET-keskus, Turku, Suomi). Mielenkiinnon kohteena olevat alueet (Regions Of Interest = ROI) rajattiin manuaalisesti ja sokkoutetusti [¹⁸F]-FDG-kuvista. ROI-alueet piirrettiin erikseen molempien munuaisten kuori- ja ydinkerrokselle (kuva 3). Jokaiselle ROI:lle laskettiin merkkiaineen nettovirtaus (Net Influx Rate eli K_i) käyttämällä FUR-mallinnusta. Kudosten aktiivisuuskäyrät (Tissue Time Activity Curve = TTAC) muodostettiin huomioimalla arterialisoidun plasman radioaktiivisuus. Munuais kudoksen glukoosinotto (glucose uptake eli GU) laskettiin kertomalla K_i plasman glukoosikonsentraatiolla ja jakamalla kudoksen LC-arvolla (Lumped Constant). Munuais kudokselle käytettiin poikkijuovaisen lihaksen LC-

arvoa 1.2. Koehenkilön molempien munuaisten kuori- ja ydinkerrosten GU-arvot analysoitiin ja alueita verrattiin toisiinsa interventioiden välillä.



Kuva 3. Kuvat Carimas-ohjelmasta, jolla ROI-alueet piirrettiin munuaisten kuori- ja ydinkerrokseen. Kuorikerrokseen (vasemmalla) ja ydinkerrokseen (oikealla) piirrettiin erilliset ROI-alueet kumpaankin munuaiseen.

2.2.4. Tilastolliset analyysit

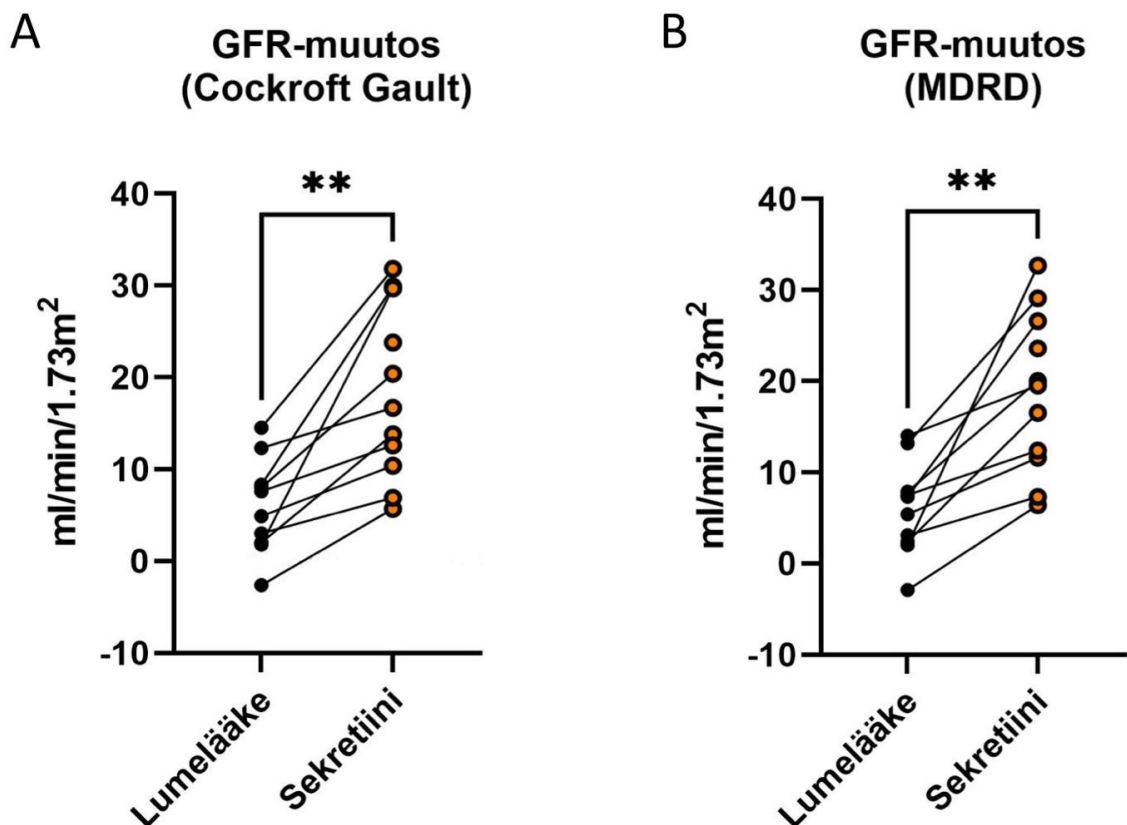
Aineiston muuttujien tilastolliseen kuvaamiseen käytettiin keskiarvoa ja keskihajontaa (\pm). Lisäksi parittaisten testien muutosten keskiarvoille laskettiin 95 % luottamusväli (Confidence Interval, CI). Aineiston normaalius testattiin käyttäen Shapiro-Wilksin testiä, sillä aineiston koko oli pieni ($N < 25$). Kaikki tilastolliset analyysit tehtiin käyttäen parittaista T-testiä, sillä muuttujien normaali oletus toteutui ja muuttujat olivat toisistaan riippuvaisia kyseessä ollen cross-over-tutkimus. Tilastollisesti merkitsevänä p-arvona käytettiin $p < 0.05$. Tulososion kuvissa p-arvot on kuvattu symbolein (ns = Non-Significant, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$). Tilastolliset analyysit suoritettiin käyttäen IBM SPSS Statistics -ohjelmaa, ohjelmistoversio 25 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA). Analyysit suoritettiin verraten kahta altistuspäivää (sekretiiniä ja lumetta) toisiinsa.

3. TULOKSET

3.1. Glomerulusten suodatusnopeus GFR

Sekretiinikuvauksen aikana koehenkilöiden Cockroft-Gaultin kaavalla laskettu GFR nousi arvosta 138 ml/min/1.73m² arvoon 155 ml/min/1.73m², jolloin keskiarvoinen muutos GFR:ssä oli +17 ml/min/1.73m² (± 9.8). GFR-nousu oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0.001$, CI 95% 12.0 - 24.7). Lumelääkkeen aikana GFR nousi arvosta 137 ml/min/1.73m² arvoon 143 ml/min/1.73m², jolloin keskiarvoinen muutos GFR:ssä oli +6,0 ml/min/1.73m² (± 5.2). GFR-nousu oli tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.005$, CI 95% 2.3 - 9.7). Sekretiini nosti siis GFR-arvoa 11 yksikköä (± 8.2) enemmän kuin lume ja tämä ero oli tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.001$, CI 95% 6.0 - 17.7). Tulokset ovat esitettynä kuvassa 3 (A).

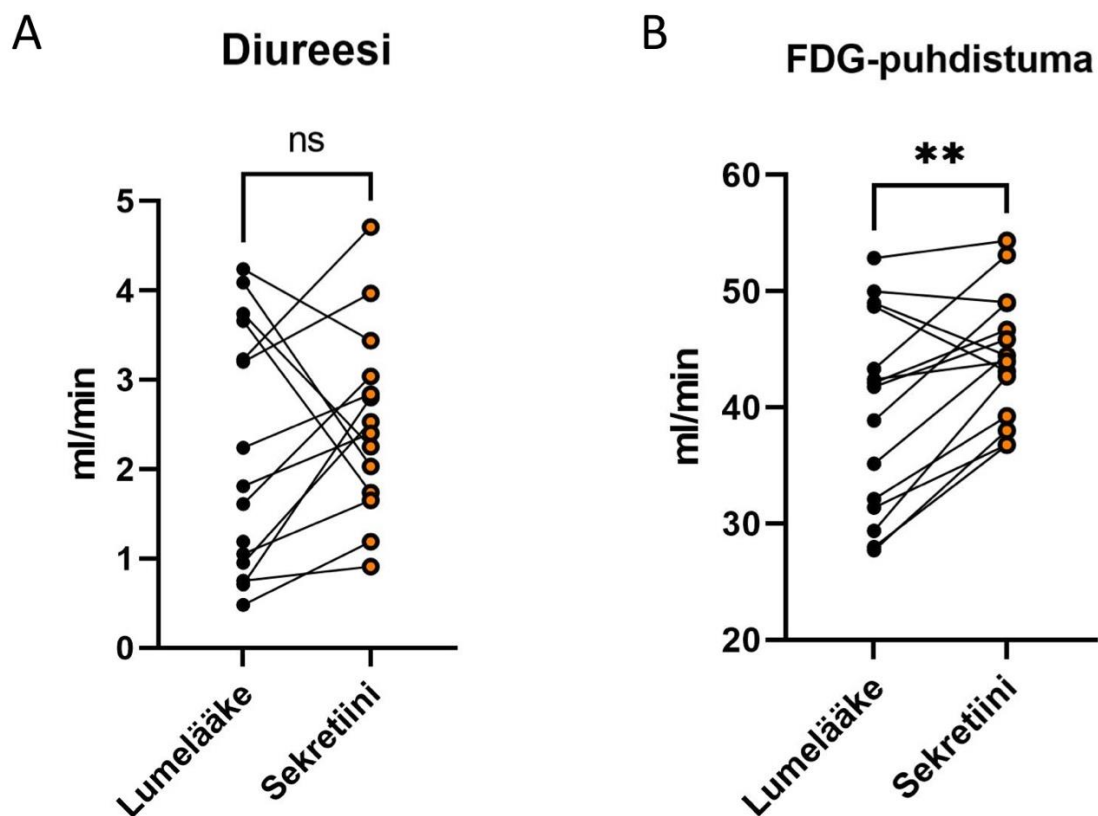
Yhtenevä tulos saatiin myös käyttäen MDRD-kaavaa GFR laskemiseksi. Sekretiinikuvauksen aikana GFR nousi arvosta 123 ml/min/1.73m² arvoon 141 ml/min/1.73m², jolloin keskiarvoinen muutos GFR:ssä oli +18 ml/min/1.73m² (± 9.1). GFR-nousu oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0.001$, CI 95% 12.8 - 24.6). Lumelääkkeen aikana GFR nousi arvosta 123 ml/min/1.73m² arvoon 129 ml/min/1.73m², jolloin keskiarvoinen muutos GFR:ssä oli +6.0 ml/min/1.73m² (± 5.2). GFR-nousu oli tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.005$, CI 95% 2.3 - 9.7). Sekretiini siis nosti GFR-arvoa 12.2 yksikköä (± 8.3) enemmän kuin lume ja tämä ero oli myös tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.001$, CI 95% 6.3 - 18.1). Tulokset ovat esitettynä kuvassa 3 (B).



Kuva 3. Keskimääräinen GFR-muutos lumelääke- ja sekretiini-infuusion aikana. Yksittäinen pallo kuvaa sitä muutosta GFR:ssä, joka on tapahtunut aikapisteiden 0 min ja 30 min välillä. A: GFR laskettu Cockcroft-Gault kaavalla. B: GFR laskettu MDRD-kaavalla.

3.2. Virtsan erittymisnopeus ja FDG-puhdistuma

Sekretiinikuvauksen aikainen koehenkilöiden virtsan erittymisnopeus oli keskiarvoltaan 2.5 ml/min (± 1.0), kun taas lumelääkkeen aikana keskiarvo oli 2.3 ml/min (± 1.4). Ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ($p=0.467$, CI 95% -1.0 - 0.5). Virtsamäärää tarkemmassa suureessa, FDG-puhdistumassa, havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero sekretiinin ja lumeen välillä: sekretiinin aikainen FDG puhdistuma oli 44.5 ml/min (± 5.4), kun lumeella se oli 39.5 ml/min (± 8.5). Sekretiinin aikainen FDG-puhdistuma oli siis 5 yksikköä suurempi lumeeseen verrattuna ($p=0.004$). Tulokset ovat esitettyinä kuvassa 4.



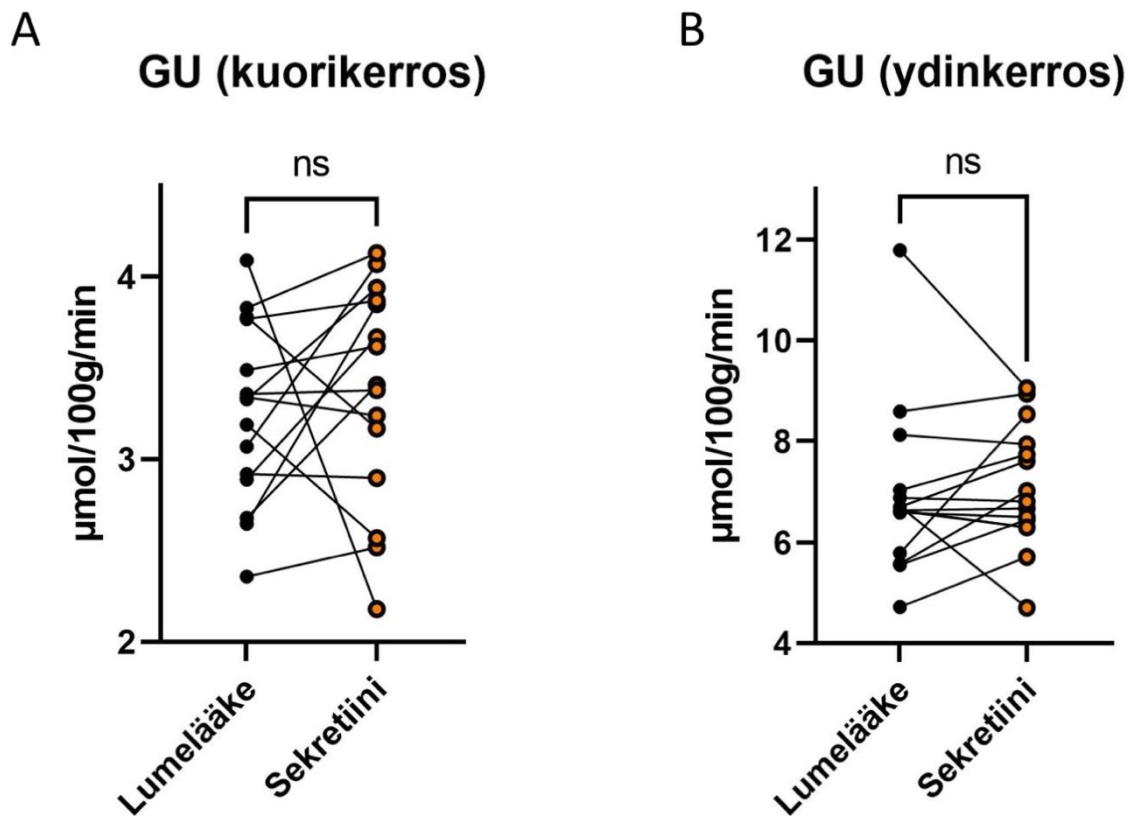
Kuva 4. Keskimääräinen diureesi (A) ja FDG-puhdistuma (B) lumelääke- ja sekretiini-infuusion aikana.

3.3. Munuaisten glukoosinkäyttö

Munuaiskudoksen glukoosin soluunottoa (glucose uptake, GU) ydin- ja kuorikerrokseen tutkittiin erikseen. Sekretiinin vaikutuksesta munuaisten **kuorikerrosten** GU ($\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$) oli tutkimuksen koehenkilöillä keskiarvoltaan $3.37 (\pm 0.60)$, kun taas lumelääkkeen aikana keskiarvo oli $3.25 (\pm 0.50)$. Täten sekretiinin aikainen GU oli hieman suurempi lumelääkkeeseen verrattuna ero ollen $0.12 (\pm 0.77)$. Ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.56$, CI 95% $-0.55 - 0.31$). Kuorikerroksen tulokset havainnollistettuna kuvassa 5 (A).

Samanlaiset analyysit tehtiin tarkastellen munuaisten **ydinkerrosten** glukoosinkäyttöä. Sekretiinin vaikutuksesta munuaisten ydinkerrosten GU oli tutkimuksen koehenkilöillä keskiarvoltaan $7.09 (\pm 1.2)$, kun taas lumelääkkeen aikana keskiarvo oli $6.93 (\pm 1.7)$. Eroa

sekretiinin ja lumeen välillä oli siis $0.16 (\pm 1.32)$, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ($p = 0.65$, CI 95% $-0.89 - 0.57$). Ydinkerroksen tulokset havainnollistettuna kuvassa 5 (B).



Kuva 5. Keskimääräinen munuaisten kuorikerrosten (A) ja ydinkerrosten (B) glukoosin solunotto lumelääke- ja sekretiini-infuusion aikana.

4. POHDINTA

Sekretiinin munuaisvaikutuksia on tutkittu jo kauan, mutta nyt ensimmäistä kertaa myös modernein kuvantamismenetelmin. Tässä tutkimuksessa hyödynnettiin PET-kuvantamista tutkittaessa sekretiinin vaikutuksia munuaisiin, mikä on ennennäkemätöntä. Munuaisten glukoosimetabolia on ylipäätään vaikeasti tutkittava kohde eikä siitä ole ennen julkaistu tämän tutkimuksen kaltaisia julkaisuja.

GFR on hyvä tapa arvioida munuaisten toimintaa, sillä se kertoo, kuinka nopeasti munuaiset suodattavat verestä kuona-aineita. GFR voidaan siis ajatella eräänlaiseksi munuaisten tehokkuuden mittariksi. GFR-arvoon vaikuttaa poistumisen lisäksi myös kreatiniinin muodostus. Se on luotettava ja paljon käytetty munuaisten toiminnan mittari. Tarkasteltaessa glomerulusfiltraation muutoksia todettiin, että sekretiini lisää ihmisillä glomerulusfiltraatiota enemmän kuin lume. Myös lumelääkkeen havaittiin lisänneen glomerulusfiltraatiota, vaikkei yhtä paljon kuin sekretiinin. Tämä johtunee kuvauksen aikana annetusta nesteytyksestä. Tosin koehenkilöitä nesteytettiin kuvauksen aikana vain sen verran, että laskimoyhteys merkkiainetta varten pysyi avoimena. Sekretiinin ja GFR-arvon nousun yhteys on löydetty myös koirilla tehdyssä tutkimuksessa²⁷, kun taas ihmisillä tehdyissä tutkimuksissa sekretiinin vaikutusta glomerulusfiltraatioon ei ole joko tarkasteltu tai sen suurentuminen ei ole ollut tilastollisesti merkitsevä²⁸.

Tarkasteltaessa **diureesia** huomattiin, että virtsaa erittyi koehenkilöillä sekretiinin vaikutuksesta jonkin verran nopeammin kuin lumelääkkeen aikana, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Tulos on kuitenkin samansuuntainen aiempien tutkimusten kanssa, joissa on havaittu tilastollisesti merkitsevä virtsavolyymien suurentuminen sekretiini-injektion jälkeen ihmisillä^{18,20,28,29}. Koska alkujaan kyseessä oli monia kudoksia ja elimiä ja niiden toimintaa kartoittava tutkimus, ei ollut mahdollista kartoittaa virtsamääriä tarkasti ja siksi diureesiefektiä ei raportoitu. Koska diureesia tarkemmassa suuressa, **merkkiainepuhdistumassa**, havaittiin tilastollisesti merkitsevä nousu sekretiinin aikana, tukee myös tämä havainto sitä hypoteesia, että sekretiini toimii ihmisellä diureettina.

Sekretiini ei tämän tutkimuksen perusteella lisää **glukoosinottoa** munuaisten kuori- tai ydinkerrokseen. On kuitenkin huomioitava, että sekretiinin puoliintumisaika on lyhyt (noin neljä minuuttia³⁰) ja että PET-kuvauksissa koehenkilöiden munuaiset kuvattiin vasta noin

yhden tunnin kohdalla, jolloin sekretiini on jo puoliintunut merkittävästi. Näin ollen valtaosaa sekretiinin mahdollisista vaikutuksista munuaisten glukoosinottoon ei tuloksissa välttämättä havaita ja tulokset siis saattavat aliarvioida sekretiinin todellista vaikutusta. Kenties merkitseviä tuloksia glukoosinotossa olisi saatu, mikäli olisi kuvattu ainoastaan munuaisia, jolloin muiden elinryhmien kuvaamiseen ei olisi kulunut aikaa. Sekretiini-infuusio olisi myös pitänyt ajoittaa juuri ennen munuaisten kuvantamista. Sekretiinin vaikutuksia munuaisten glukoosinkäyttöön ei ole ennen vastaavalla tavalla tutkittu ja sekretiinin vaikutukset yleisestikin kehon glukoosimetaboliaan ovat yhä selvittämättä³¹.

Koska [¹⁸F]-FDG kilpailee veren glukoosin kanssa samoista entsyymeistä ja reseptoreista³², koehenkilön kuvauksen aikainen korkea verensokeri vähentäisi merkkiaineen kertymistä. Tästä syystä koehenkilöiden verensokeritasoja kuvauksen aikana monitoroitiin ja se pidettiin paastotasolla. Suurin glukoosin käytön mittaamisen ongelma, joka kohdattiin, oli PET-kuvantamisessa käytetty merkkiaine eli [¹⁸F]-FDG. Tämä merkkiaine erittyy munuaisissa tubuluksiin kuten glukoosi, mutta toisin kuin glukoosi, sitä ei enää oteta takaisin, vaan se poistuu elimistöstä virtsan mukana. Tämä merkkiaineen ominaisuus vaikeuttaa spillover-efektin vuoksi paitsi munuaiskuoren, myös munuaisytimen todellisten arvojen mittaamista. Mitattaessa merkkiainekertymää itse munuaiskudoksessa tulee PET-leikkeisiin siis väistämättä myös munuaisten alkuvirtsan erittämän merkkiaineen aktiivisuutta³³. Virhettä oli vaikea eliminoida, sillä virheen korjaamiseksi ei vielä toistaiseksi ole kehitetty mallia, jolla tämä tapahtuisi. Toinen vaihtoehto olisi ollut valita tutkimukseen alkuvirtsan suodattumaton merkkiaine, joka sitoutuisi FDG:n tavoin munuaisten glukoositransporttereihin (GLUT). Kuitenkaan tällaista merkkiainetta ei vielä ole kehitetty. PET-kuvantamista munuaisten energiankäytön tutkimisessa voisi tulevaisuudessa hyödyntää vasta sitten, kun FDG-merkkiaineen munuaisissa suodattumisen aiheuttaman virheen eliminoiva malli kehitetään tai kun sopiva, kokonaan eri merkkiaine tähän tarkoitukseen kehitetään.

Kliinisiin, suuren aineistomäärän vaativiin seurantatyyppeihin lääketutkimuksiin PET-kuvantaminen ei luonnollisestikaan sovi, sillä olisi raskasta, kallista ja turhaakin kuvata PET:illa tuhansia ihmisiä. PET on tarkka menetelmä silloin, kun sitä hyödynnetään asetelmissa, joissa merkkiaineen mallinnus on toimiva. Tämä mahdollistaa pienen otoskoon käytön, mikä ei puolestaan tässä asetelmassa pätenyt toimivan mallin puuttuessa. PET-kuvantamisen sijaan olisi tässä tapauksessa hyödyllistä seuraavaksi tutkia puhtaasti

sekretiinin vaikutusta pelkkään glomerulusfiltraatioon ja diureesin määrään, jolloin koehenkilöitä voitaisiin rekrytoida huomattavasti enemmän ja tilastollista voimaa saataisiin näin kasvatettua.

Koska tämän tutkielman aineistona käytettiin GUTBAT-aineistoa, jonka tavoite oli selvittää sekretiinin vaikutuksia ruskeaan rasvaan, on selvää, että eräitä tuloksiin tai niiden yleistettävyyteen potentiaalisesti vaikuttavia tekijöitä ei voitu ottaa tässä tutkimuksessa huomioon, sillä aineisto oli jo määräytynyt tietynlaiseksi. Aineistossa oli tutkittavia vain 15, jolloin tuloksia on vaikea soveltaa koko populaatioon. Lisäksi koehenkilöiksi oli valittu vain terveitä miehiä, jolloin yleistettävyyys naisiin on tietenkin huono. Toisaalta aineiston ikäskala oli leveä (18–65v) ja tasaisesti jakautunut, joten pelkän iän tuoma vaihtelu oli pienempää kuin mitä se olisi ollut iältään homogeenisemmässä aineistossa. Jos aineisto olisi rekrytoitu nimenomaan tähän tutkimukseen, olisi aineiston valinnassa voitu ottaa huomioon eri asioita kuin nyt otettiin. Ihanteellisessa tilanteessa aineisto olisi esimerkiksi ollut laajempi, sillä eräissä muuttujissa havaittiin lähtöhypoteesin suuntaisia muutoksia, jotka eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä. PET-kuvantaminen on kuitenkin tutkimusmenetelmänä kallis ja siihen liittyvät analyysit työläitä, mikä asettaa rajoituksia aineistokokoon. Toisaalta realistisia asioita, joita olisi voinut ottaa aineiston valinnassa huomioon olisi ollut esimerkiksi molempien sukupuolien rekrytoiminen tutkimukseen, jolloin tulosten yleistäminen myös naissukupuoleen olisi ollut jossain määrin mahdollista.

Tämä *post hoc* -tutkimus toteutettiin aiemmin kerätyllä aineistolla, jonka ennalta määritetyt päätemuuttujat raportoidaan Nature Metabolism -lehdessä²³. Aloitettaessa tätä tutkimusta oli siis mahdotonta enää vaikuttaa esimerkiksi tutkimusasetelmaan, tutkimusmenetelmiin, aineiston keräämiseen ja riittävään dokumentointiin. Esimerkiksi koehenkilöiden kuvauksen aikana saamaa nesteytysmäärää ei kuvausten aikana ollut vakioitu eikä lopullista tiputettua nestemäärää dokumentoitu. On selvää, että diureesia ja muutakin munuaisten toimintaa tarkasteltaessa nesteytysmäärä on oleellinen tieto ja potentiaalinen virhelähde. PET-kuvausten kesto ei ollut aina sama, joten tutkimuksessa päädyttiin virheen minimoimiseksi pelkän erittyneen virtsamäärän sijaan laskemaan virtsan erittymisnopeus. Tämä tehtiin myös siksi, että eräiden koehenkilöiden kesken kuvausten virtsattua virtsamäärää ei ollut epähuomiossa merkitty. Virtsaneritysnopeuden sai tästä huolimatta laskettua kuvauksen loppupuoliskolle, sillä tiedossa olivat välivirtsauksen kellonaika, kuvausten loppuajankohta ja loppuvirtsan määrä. Yhden koehenkilön kuvauksen loppuajankohtaa ei ollut merkitty eikä

näin ollen tiedetty, millä aikavälillä koehenkilön virtsa on erittynyt. Tiedettiin kuitenkin kellonaika, jolloin erittyneen virtsan aktivaatiomittaus oli tehty kuvauksen jälkeen. Koko aineistolle laskettiin kuvausten loppuajankohdasta virtsan aktivaatiomittaukseen kuluneen ajan mediaani, joka oli 4 minuuttia ja tämän avulla laskettiin koehenkilön kuvauksen arvioitu kesto. Kolme virtsamäärää oli arvioitu silmämääräisesti virtsauspullosta millilitroina ja nämä muutettiin grammoiksi käyttämällä virtsan tiheytenä 1,01 g/ml.

Tutkimuksen vahvuus oli crossover-tutkimusasetelma. Se palveli tämän tutkimuksen tarkoituksia erinomaisesti, sillä cross-over-tutkimusasetelmassa jokainen koehenkilö toimii omana kontrollinaan. Lisäksi tutkimus oli lumekontrolloitu. Yksilön oma vaihtelu ja sen vaikutus tuloksiin oli siis pyritty minimoimaan. Täten esimerkiksi koehenkilön mahdollisesti jo ennestään koholla olleet Krea-arvot eivät tuoneet virhettä GFR-muutoksiin ja edelleen saatuihin tuloksiin. Ottaen huomioon edellisissä kappaleissa mainitut virhelähteet, onnistuttiin tässä tutkimuksessa parhaiten juuri GFR- ja merkkiainepuhdistumamäärityksissä. Koska näissä molemmissa havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero sekretiinin ja lumeen välillä, on mahdollista, että myös diureesissa ja munuaisten glukoosinkäytössä on luonnossa olemassa ero, jota tässä tutkimuksessa ei virhelähteiden vuoksi onnistuttu havaitsemaan.

Tämän tutkimuksen perusteella ei valitettavasti voida varmistua siitä, että sekretiini toimii ihmisellä antidiureettina tai diurettina. Tulokset kuitenkin viittaavat diureettiseen vaikutukseen. Tässä vaiheessa kliiniset sovellukset eivät vielä ole ajankohtaisia, mutta mikäli tulevaisuudessa saadaan enemmän tutkimusnäyttöä sekretiinin diureettisista vaikutuksista, niin sen lääkekäyttöä turvotustiloissa, kuten munuaisten ja sydämen vajaatoiminnassa voisi olla mielenkiintoista tutkia jatkossa. Näissä sairauksissa usein hyödyttään useamman lääkkeen yhdistelmästä, jolloin sekretiini voisi tulevaisuudessa tuoda oman osansa helpottamaan näiden potilaiden nestetaakkaa. Ennen kuin päästään näihin kliinisiin sovelluksiin, tarvitaan vielä lisää tutkimusta sekretiinin perusmekanismeista ihmisen munuaisissa.

LÄHDELUETTELO

1. Bayliss, W. M. & Starling, E. H. The mechanism of pancreatic secretion. *J. Physiol.* **28**, 325–53 (1902).
2. Häcki, W. H. Secretin. *Clin. Gastroenterol.* **9**, 609–32 (1980).
3. Isenberg, J. I. *et al.* Secretin, VIP, and PHI stimulate rat proximal duodenal surface epithelial bicarbonate secretion in vivo. *Regul. Pept.* **8**, 315–20 (1984).
4. Christodoulopoulos, J. B., Jacobs, W. H. & Klotz, A. P. Action of secretin on pancreatic secretion. *Am. J. Physiol. Content* **201**, 1020–1024 (1961).
5. Jones, R. S., Geist, R. E. & Hall, A. D. The choleric effects of glucagon and secretin in the dog. *Gastroenterology* **60**, 64–8 (1971).
6. Sanders, M. J., Amirian, D. A., Ayalon, A. & Soll, A. H. Regulation of pepsinogen release from canine chief cells in primary monolayer culture. *Am. J. Physiol.* **245**, G641-6 (1983).
7. Mate, L., Sakamoto, T., Greeley, G. H. & Thompson, J. C. Regulation of gastric acid secretion by secretin and serotonin. *Am. J. Surg.* **149**, 40–5 (1985).
8. Straus, E., Greenstein, A. J. & Yalow, R. S. Effect of secretin on release of heterogeneous forms of gastrin. *Gut* **16**, 999–1005 (1975).
9. WH, Y. *et al.* Secretin Facilitates GABA Transmission in the Cerebellum. *J. Neurosci.* **21**, (2001).
10. Ohta, M., Funakoshi, S., Kawasaki, T. & Itoh, N. Tissue-specific expression of the rat secretin precursor gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **183**, 390–5 (1992).
11. Nishijima, I. *et al.* Secretin receptor-deficient mice exhibit impaired synaptic plasticity and social behavior. *Hum. Mol. Genet.* **15**, 3241–50 (2006).
12. Lossi, L. *et al.* Transient expression of secretin in serotonergic neurons of mouse brain during development. *Eur. J. Neurosci.* **20**, 3259–69 (2004).
13. Campbell, G. Cotransmission. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **27**, 51–70 (1987).
14. I, G. & DE, B. VIP: Molecular Biology and Neurobiological Function. *Mol. Neurobiol.* **3**, (1989).
15. G, R. Cardiovascular Effects of Secretin. *Am. J. Physiol.* **218**, (1970).
16. Barbezat, G. O., Isenberg, J. I. & Grossman, M. I. Diuretic action of secretin in dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **139**, 211–5 (1972).
17. CG, C. *et al.* Secretin Receptors in the Rat Kidney: Adenylate Cyclase Activation

- and Renal Effects. *Peptides* **7**, (1986).
18. W, L., V, L., R, M. & A, K. Pharmacological Effects of Secretin and Somatostatin on Gastric and Renal Function in Man. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* **139**, (1987).
 19. AL, V., JW, P., JM, L. & WP, D. Renal Response to Secretin. *J. Appl. Physiol.* **38**, (1975).
 20. Baron, D. N., Newman, F. & Warrick, A. The effects of secretin on urinary volume and electrolytes in normal subjects and patients with chronic pancreatic disease. *Experientia* **14**, 30–32 (1958).
 21. Chu, J. Y. S. *et al.* Phenotypes developed in secretin receptor-null mice indicated a role for secretin in regulating renal water reabsorption. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 2499–511 (2007).
 22. Li, Y. *et al.* Secretin-Activated Brown Fat Mediates Prandial Thermogenesis to Induce Satiating. *Cell* **175**, 1561-1574.e12 (2018).
 23. Laurila, S. *et al.* Secretin Activates Brown Fat and Induces Satiating in Humans. *Nat. Metab.* **In Press** (2021).
 24. Cockcroft, D. W. & Gault, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* **16**, 31–41 (1976).
 25. Levey, A. S. *et al.* A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann. Intern. Med.* **130**, 461–70 (1999).
 26. Latva-Rasku, A. *et al.* The SGLT2 Inhibitor Dapagliflozin Reduces Liver Fat but Does Not Affect Tissue Insulin Sensitivity: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study With 8-Week Treatment in Type 2 Diabetes Patients. *Diabetes Care* **42**, 931–937 (2019).
 27. Marchand, G. R. Effect of secretin on glomerular dynamics in dogs. *Am. J. Physiol.* **250**, F256-60 (1986).
 28. Waldum, H. L., Sundsfjord, J. A., Aanstad, U. & Burhol, P. G. The effect of secretin on renal haemodynamics in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **40**, 475–478 (1980).
 29. Viteri, A. L., Poppell, J. W., Lasater, J. M. & Dyck, W. P. Renal response to secretin. *J. Appl. Physiol.* **38**, 661–4 (1975).
 30. Kolts, B. E. & McGuigan, J. E. Radioimmunoassay measurement of secretin half-life in man. *Gastroenterology* **72**, 55–60 (1977).
 31. Sekar, R. & Chow, B. K. C. Metabolic effects of secretin. *Gen. Comp. Endocrinol.* **181**, 18–24 (2013).

32. Torizuka, T., Clavo, A. C. & Wahl, R. L. Effect of hyperglycemia on in vitro tumor uptake of tritiated FDG, thymidine, L-methionine and L-leucine. *J. Nucl. Med.* **38**, 382–386 (1997).
33. Szabo, Z., Xia, J., Mathews, W. B. & Brown, P. R. Future direction of renal positron emission tomography. *Semin. Nucl. Med.* **36**, 36–50 (2006).