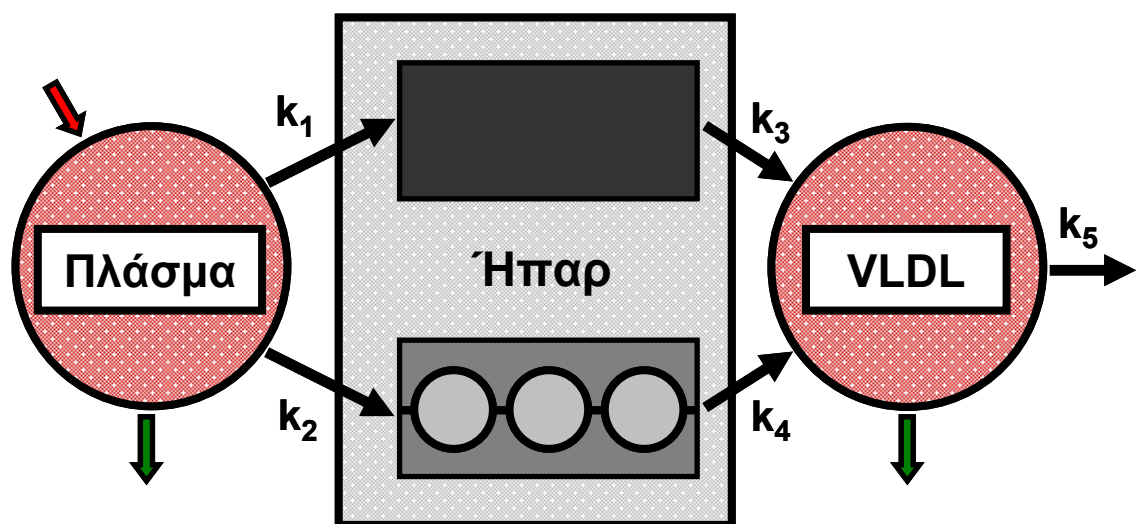


Ρύθμιση του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας στον άνθρωπο: ο ρόλος του φύλου, της παχυσαρκίας και της άσκησης

Φαίδων Μάγκος



Διδακτορική Διατριβή

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής
Αθήνα, 2007

*It is better to be a small part of one great whole,
rather than the whole of one small part.*

Πρόλογος

Δε μπορώ να πω ότι φανταζόμουν ποτέ ότι θα έρθουν έτσι τα πράγματα ... Ήταν Ιούνιος του 2000 και μόλις είχα πάρει το πτυχίο μου από το Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Ωραία, λοιπόν, τι κάνουμε τώρα; Ομολογώ ότι δεν το σκέφτηκα και πολύ, καθώς το καλοκαίρι ήταν προ των πυλών ... Και τι καλοκαίρι, διαρκείας! Τόσο παρατεταμένο που μπήκαμε ξαφνικά (!) στη χειμερινή περίοδο και εγώ ακόμα να σκεφτώ το τι μέλλει γενέσθαι ... Ε, που να βρεις χρόνο να σκεφτείς όταν τρέχεις από τα νησιά του Αιγαίου στον Παρνασσό και τα Καλάβρυτα.

Χρόνο, όμως, βρήκα άφθονο από τα μέσα Ιανουαρίου και ύστερα, όταν μια μερική ρήξη του έσω πλαγίου συνδέσμου, μετά από ένα άλμα με το snowboard που μάλλον δεν είχε την επιθυμητή προσγείωση, διέκοψε άκομψα τη χειμερινή μου «ρουτίνα». Θυμάμαι σα χθες να πασχίζω να βρω κάτι να κάνω για να περάσουν οι βασανιστικά ατελείωτες ώρες στο σπίτι, ώσπου να μπορέσω να ξαναπερπατήσω. Με τηλέφωνο και «αργό» internet δε γινόταν τίποτα ... Ωσπου έπεσε στα χέρια μου εκείνο το βιβλίο με το σκληρό κοκκινωπό εξώφυλλο με τα χρυσά γράμματα σε μαύρο φόντο: η δεύτερη έκδοση του Advanced Nutrition and Human Metabolism των J. L. Groff, S. S. Gropper και S. M. Hunt. Όχι ότι δεν το είχα ξανανοίξει ποτέ, αλλά ήταν τότε, στα πανεπιστημιακά χρόνια, τότε που τα μεγάλα αγγλικά βιβλία χρησίμευαν κυρίως ως βιβλιοστάτες, τότε που το PubMed ήταν ένας μυθικός, δυσπρόσιτος και προπαντός δυσνόητος δικτυακός τόπος. Αυτή τη φορά, όμως, όταν έκλεισα το οπισθόφυλλο, έχοντας διαβάσει το βιβλίο «from cover to cover», ήμουν συνεπαρμένος και σίγουρος πια για το τι ήθελα να κάνω στο μέλλον. Μου πήρε ένα χρόνο περίπου αλλά τελικά τα κατάφερα. Ήθελα να ασχοληθώ με το μεταβολισμό! Να μάθω περισσότερα για το πώς λειτουργούν και πώς ρυθμίζονται όλα αυτά τα πολύπλοκα μεταβολικά μονοπάτια.

Το φυσικό επόμενο βήμα ήταν η παρακολούθηση του αντίστοιχου μεταπτυχιακού προγράμματος στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο (Σεπτέμβριος 2001 – Φεβρουάριος 2004), κατά τη διάρκεια του οποίου διάβασα και έμαθα πολλά, απομυθοποίησα επιτέλους το PubMed, ταξίδεψα στις ΗΠΑ και πέρασα έναν αποκαλυπτικό μήνα σε ένα μεταβολικό εργαστήριο (Center for Human Nutrition), ήρθα σε επαφή με την έρευνα και τα «papers» ... Δεν ήθελα και πολύ για να το καταλάβω: θέλω να κάνω έρευνα, δική μου έρευνα, να ανακαλύπτω νέα γνώση και τη μεταδίδω στους άλλους! Διδακτορικό, λοιπόν ... Που αλλού, στο Χαροκόπειο, αλλά μέσω Αμερικής αυτή τη φορά! Η απόφαση να πάω στο Center for Human Nutrition της

Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου του Washington στο Saint Louis του Μιζούρι των ΗΠΑ ήταν εύκολη ... Μα είναι μόνο 9.169 χιλιόμετρα μακριά, 8 ώρες πίσω και χρειάζονται 3 αεροπλάνα και περίπου 24 ώρες ταξίδι από πόρτα σε πόρτα! Και έχω ξαναπάει!

Ο χρόνος εκεί (Απρίλιος 2004 – Μάιος 2007) πέρασε γρήγορα, πολύ γρηγορότερα από ό,τι φανταζόμουν. Σα να άρχισα τις έρευνες για το Διδακτορικό εχθές το πρωί και να τις τελείωσα εχθές το βράδυ. Και σήμερα πρέπει να τις βάλω στο χαρτί. Θυμάμαι, όμως, ξεκάθαρα τις ατελείωτες ώρες στο νοσοκομείο για τη διεκπεραίωση των μεταβολικών μελετών, τις ατελείωτες ώρες στο εργαστήριο για την ανάλυση των δειγμάτων, τις ατελείωτες ώρες στο «σπίτι» για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, τις ημέρες που δεν έβλεπα ήλιο γιατί «έμπαινα» προτού ξημερώσει και «έβγαινα» αφού βραδιάσει, τα Σαββατοκύριακα που δε διέφεραν από τις καθημερινές. Αυτό που κατάλαβα, όμως, είναι ότι εάν κάνεις αυτό που πραγματικά σου αρέσει, αυτό που σε γεμίζει, τότε η έλλειψη χρόνου, η δουλειά και η κούραση δεν έχουν πια σημασία – κάνεις το χόμπι σου!

Αρκετά με εμένα ... Οφείλω τώρα να αναφερθώ σε όλους εκείνους τους ανθρώπους που γνώρισα όλα αυτά τα χρόνια και που με βοήθησαν με τον έναν ή τον άλλο τρόπο να φτάσω εδώ που είμαι τώρα. Η συμβολή καθενός είναι ξεχωριστή και, επομένως, δε μπορώ να βάλω κάποια σειρά προτεραιότητας.

Λάμπρος Συντώσης. Ο επιβλέπων της διδακτορικής μου διατριβής και όχι μόνο. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα γιατί η δική του ερευνητική δουλειά μου κέντρισε το ενδιαφέρον, γιατί με έφερε σε επαφή με τους «Αμερικάνους» (και ό,τι αυτό συνεπάγεται), γιατί με υποστήριξε σε κάθε βήμα με τον τρόπο του και, προπαντός, γιατί ανέχτηκε τα τερτίπια μου και τις ενίοτε «παράλογες» απαιτήσεις μου όλα αυτά τα χρόνια.

Bettina Mittendorfer. Η μέντοράς μου, όπως θέλουν να το λένε εκεί, στις ΗΠΑ. Την ευχαριστώ καταρχάς που δέχτηκε να συνεργαστεί μαζί μου, για τις ατελείωτες ερευνητικές μας συζητήσεις σε οποιοδήποτε χώρο και χρόνο και, ιδιαίτερα, για την καθολική της υποστήριξη για όσο διάστημα παρέμεινα εκεί, από τα ψώνια στο super market μέχρι την παροχή των ερευνητικών πόρων για να κάνω ό,τι πραγματικά μου περνάει από το μυαλό.

Samuel Klein. Ο διευθυντής του τμήματος. Τον ευχαριστώ που με δέχτηκε στο εργαστήριό του και για την υποστήριξή του όσες φορές τη χρειάστηκα.

Bruce Patterson. Ο άνθρωπος-εργαστήριο. Τον ευχαριστώ για την πολύτιμη καθοδήγηση και τις υποδείξεις του, που μου προσέφερε απλόχερα. Ιδιαίτερα, μάλιστα, για τις ατελείωτες ώρες που ξόδεψε για να απαντήσει στις απορίες μου περί modeling.

Selma Mohammed. Η γιατρός για όλες τις δουλειές. Την ευχαριστώ πολύ για την κάλυψη όλων των ιατρικών αναγκών των μελετών, αλλά ιδιαίτερα γιατί υπήρξε μία πραγματική φίλη που στάθηκε δίπλα μου σε κάθε στιγμή της καθημερινότητάς μου στις ΗΠΑ.

Elisa Fabbri. Η ενδοκρινολόγος που βρισκόταν στην ίδια κατάσταση με εμένα. Την ευχαριστώ γιατί στάθηκε δίπλα μου, βελτίωσε την καθημερινότητά μου και ήταν από τους λίγους ανθρώπους που είχαν παρόμοιες ερευνητικές αναζητήσεις, τις οποίες μοιραζόμασταν σε καθημερινή βάση.

Freida Custodio, Megan Steward, David Wright, Junyoung Kwon, Adewole Okunade. Τους ευχαριστώ όλους θερμά για τη βοήθειά τους στη διεκπεραίωση των μελετών της διδακτορικής μου διατριβής, καθώς και για το ότι η επαφή μαζί τους έκανε τη διαμονή μου εκεί πιο ευχάριστη και ενδιαφέρουσα.

Adam Saleh, Dominic Reeds, Bernard Miller, Jennifer McCrea, Erik Kirk, Gordon Smith, Selby Sullivan, Sheela Deivanayagam. Τους ευχαριστώ πολύ όλους γιατί έδωσαν, ο καθένας με τον τρόπο του, έναν ξεχωριστό και ευχάριστο τόνο στη ζωή μου στις ΗΠΑ.

Ειρήνη Μπαθρέλλου και Ελένη Σοφού. Οι φύλακες-άγγελοί μου στο Χαροκόπειο. Τις ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου για τη διαρκή υποστήριξη που μου προσέφεραν, για το συνεχές τους ενδιαφέρον και για τη διατήρηση της επαφής μου με την καθημερινότητα της Ελλάδας.

Οφείλω, ακόμα, να ευχαριστήσω θερμά όλους τους εθελοντές που έλαβαν μέρος στις μελέτες της διδακτορικής μου διατριβής.

Επιπλέον, οφείλω να αναγνωρίσω τη συμβολή του American Heart Association που με υποστήριξε οικονομικά (επιχορήγηση # 0510015Z) για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα της παραμονής μου στις ΗΠΑ.

Πρέπει ακόμα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στα μέλη της εξεταστικής επιτροπής του Διδακτορικού μου για το χρόνο που αφιέρωσαν, καθώς και σε όλους εκείνους που με υποστήριξαν – είτε γνωρίζοντάς το είτε όχι – με οποιονδήποτε τρόπο όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω το Θεό που μου έδωσε δύναμη να αντέξω και, προπάντων, την οικογένειά μου που με στήριξε αδιάλειπτα σε όλη αυτήν την προσπάθεια.

Περιεχόμενα

Πρόλογος	iii
Περίληψη	ix
Summary	xvii
1. Εισαγωγή	1
2. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας	4
2.1. Τριακυλογλυκερόλες και λιποπρωτεΐνες	4
2.2. Μεταβολισμός των VLDL	5
2.3. Μέτρηση του μεταβολισμού των VLDL	14
2.4. Φύλο, ορμόνες του φύλου, εμμηνόπαυση και μεταβολισμός των VLDL	25
2.5. Άσκηση και μεταβολισμός των VLDL	29
3. Ερευνητικά κενά και στόχοι της διατριβής	33
4. Μεθοδολογία	35
4.1. Εθελοντές	35
4.2. Προκαταρτικές δοκιμασίες	36
4.3. Ερευνητικό πρωτόκολλο	37
4.4. Αναλυτικοί προσδιορισμοί	40
4.5. Υπολογισμοί	50
4.6. Στατιστική επεξεργασία	59
5. Ερευνητικές μελέτες	61
5.1. Μελέτη #1: Επαναληψιμότητα των μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των VLDL in vivo	62
5.2. Μελέτη #2: Η επίδραση του έμμηνου κύκλου στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	80
5.3. Μελέτη #3: Η επίδραση φυσιολογικών διακυμάνσεων στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	96
5.4. Μελέτη #4: Η επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL	109

5.5. Μελέτη #5: Η επίδραση του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL	125
5.6. Μελέτη #6: Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες	140
5.7. Μελέτη #7: Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες	155
5.8. Μελέτη #8: Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	171
6. Σύνοψη και μελλοντικές κατευθύνσεις	186
7. Επίλογος	192
8. Βιβλιογραφία	193
9. Δημοσιεύσεις	231

Περίληψη

Η συγκέντρωση των τριακυλογλυκερολών (ή τριγλυκεριδίων, TG) στο πλάσμα είναι χαμηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες, χαμηλότερη στις προεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και χαμηλότερη σε άτομα που ασκούνται από ό,τι σε μη αθλούμενους. Αυτό πιθανό να σχετίζεται με διαφορές στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών. Ωστόσο, οι υποκείμενοι μηχανισμοί που ευθύνονται για την επίδραση του φύλου, της εμμηνόπαυσης και της άσκησης στη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα δεν είναι γνωστοί.

Προς αυτήν την κατεύθυνση, προσδιορίστηκε η κινητική (δηλ. οι ρυθμοί παραγωγής και απομάκρυνσης) των TG στις λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) κατά το στάδιο της νηστείας με τη χρήση σταθερών ισοτόπων ιχνηθέτησης και μαθηματικών μοντέλων προσομοίωσης. Προσδιορίστηκαν ακόμα η κινητική της VLDL-απολιποπρωτεΐνης B-100 (apoB-100, που είναι η βασική δοκιμή απολιποπρωτεΐνη των σωματιδίων VLDL) και των ελεύθερων λιπαρών οξέων του πλάσματος (FFA, που αποτελούν τον κυριότερο πρόδρομο των VLDL-TG). Μελετήθηκαν η επαναληψιμότητα αυτών των μεθόδων, οι διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών, οι επιδράσεις των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις ορμόνες του φύλου κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου, οι διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, καθώς και οι επιδράσεις της άσκησης.

Η *in vivo* επαναληψιμότητα των μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των FFA του πλάσματος, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 αξιολογήθηκε σε 8 υγιείς άνδρες σε δύο διαφορετικές ημέρες. Δεν υπήρχε καμία συστηματική διαφορά στις συγκεντρώσεις και τις κινητικές παραμέτρους των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 μεταξύ των δύο δοκιμών (όλες οι τιμές $P > 0,05$). Η ενδοατομική διακύμανση από ημέρα σε ημέρα για τις διάφορες κινητικές παραμέτρους κυμάνθηκε από 15% έως 25% και σχεδόν όλη ήταν βιολογικής προέλευσης. Οι πιο επαναλήψιμες παράμετροι ήταν ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα και οι ρυθμοί έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, ενώ οι ρυθμοί κάθαρσης και οι μέσοι χρόνοι παραμονής στην κυκλοφορία των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 είχαν μεγαλύτερη διακύμανση. Υπολογίστηκε ότι η ανίχνευση φυσιολογικά σημαντικών διαφορών στους μέσους (δηλ. της τάξης του 20-30%) σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 95% (σφάλμα τύπου I ίσο με 0,05) και με στατιστική δύναμη του ελέγχου ίση με 80% (σφάλμα τύπου II ίσο με 0,20) απαιτεί ένα δείγμα 6-10 ατόμων για συζευγμένες μελέτες και 12-20 ατόμων ανά ομάδα για διατμηματικές μελέτες.

Οι επιδράσεις των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις συγκεντρώσεις των βασικών ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 διερευνήθηκαν σε υγιείς, προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχαν φυσιολογικό έμμηνο κύκλο και δεν έκαναν χρήση εξωγενών ορμονών. Για την αξιολόγηση του ρόλου της προγεστερόνης, 7 γυναίκες μελετήθηκαν δύο φορές, μία κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς φάσης (χαμηλή προγεστερόνη) και μία κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (υψηλή προγεστερόνη) του κύκλου. Οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης δε διέφεραν μεταξύ των δύο δοκιμών. Οι συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στο πλάσμα, οι ρυθμοί παραγωγής τους από το ήπαρ, οι ρυθμοί κάθαρσης και οι μέσοι χρόνοι παραμονής στην κυκλοφορία των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, το μέσο μέγεθος των σωματιδίων VLDL και η κατανομή των επιμέρους υποπληθυσμών των VLDL, η συγκέντρωση και ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα, ο ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων σε ολόκληρο το σώμα, καθώς και οι συγκεντρώσεις της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) και της ηπατικής λιπάσης στο πλάσμα δεν ήταν διαφορετικές ανάμεσα στη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του κύκλου (όλες οι τιμές $P > 0,05$). Η ενδοατομική διακύμανση για τις διάφορες κινητικές παραμέτρους μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου κυμάνθηκε από 10% έως 30% και δεν ήταν ουσιαστικά διαφορετική από αυτή που παρατηρήθηκε στους άνδρες. Για την αξιολόγηση του ρόλου της οιστραδιόλης, 36 γυναίκες μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς φάσης του κύκλου (χαμηλή προγεστερόνη) και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες (καθεμία με $N = 18$) με κριτήριο τη διάμεσο της συγκέντρωσης της οιστραδιόλης στο πλάσμα (πάνω ή κάτω από 38 pg/ml). Οι δύο ομάδες είχαν παρόμοια ηλικία, δείκτη μάζας σώματος και ποσοστό λίπους στο σώμα. Δε βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (όλες οι τιμές $P > 0,05$) στις συγκεντρώσεις της γλυκόζης, της ινσουλίνης και των FFA στο πλάσμα, το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, αλλά ούτε και στις συγκεντρώσεις, τους ρυθμούς παραγωγής από το ήπαρ, τους ρυθμούς κάθαρσης και τους μέσους χρόνους παραμονής στην κυκλοφορία των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, παρόλο που υπήρχε μια διαφορά της τάξης του $>200\%$ στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο πλάσμα ($P < 0,001$). Δεν υπήρχαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης και στη συγκέντρωση και τις κινητικές παραμέτρους των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Τα αποτελέσματα από αυτές τις δύο μελέτες υποδεικνύουν ότι οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των βασικών ορμονών του φύλου (οιστραδιόλη και προγεστερόνη) δεν έχουν καμία επίδραση στο μεταβολισμό των VLDL στις γυναίκες. Επομένως, δεν απαιτείται αυστηρός έλεγχος για τη συγκεκριμένη φάση του κύκλου σε μελέτες που αξιολογούν την κινητική των VLDL.

Η επίδραση της εμμηνόπαυσης στην κινητική των FFA του πλάσματος, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 αξιολογήθηκε σε 8 παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μέσης ηλικίας και 8 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με παρόμοιο δείκτη μάζας σώματος και ποσοστό λίπους στο σώμα. Η συγκέντρωση και ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα και οι συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 δε διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων (όλες οι τιμές $P > 0,05$). Ο ρυθμός έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ ήταν διπλάσιος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($P = 0,023$) ενώ ο ρυθμός έκκρισης VLDL-apoB-100 (δηλ. VLDL σωματιδίων) δε διέφερε ($P = 0,648$). Κατά συνέπεια, ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 (που υποδηλώνει τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL) ήταν παραπάνω από διπλάσιος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($P = 0,024$). Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ήταν ~135% υψηλότερος και ο μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία ήταν ~50% συντομότερος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (και οι δύο τιμές $P < 0,05$), ενώ ο ρυθμός κάθαρσης και ο μέσος χρόνος παραμονής της VLDL-apoB-100 δεν ήταν διαφορετικοί (και οι δύο τιμές $P > 0,8$). Παρατηρήθηκε μία αρνητική καμπυλόγραμμη σχέση ανάμεσα στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 και το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία ($R^2 = 0,583$, $P = 0,001$, $N = 16$), που συνιστά ότι όσο πιο πλούσια είναι τα νεο-εκκρινόμενα σωματίδια VLDL σε TG τόσο συντομότερος είναι ο χρόνος παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία (δηλ. τόσο ταχύτερη η απομάκρυνσή τους). Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η ένδεια των ορμονών του φύλου μετά την εμμηνόπαυση σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ, υπό τη μορφή μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL, γεγονός που είναι εν μέρει υπεύθυνο για την ταχύτερη απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και τη διατήρηση της ομοιόστασης των TG στο πλάσμα.

Η επίδραση του φύλου αξιολογήθηκε προσδιορίζοντας την κινητική των FFA του πλάσματος, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε 26 υγιείς νεαρούς ενήλικες: 13 νορμοβαρείς άνδρες και 13 νορμοβαρείς γυναίκες. Οι συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στο πλάσμα ήταν χαμηλότερες στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες ($P < 0,05$). Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα ήταν υψηλότερος στις γυναίκες έναντι των ανδρών ($P < 0,05$) αλλά η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα μόνο έτεινε να είναι υψηλότερη ($P = 0,124$). Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG ήταν ~70% υψηλότερος ενώ ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 (δηλ. VLDL σωματιδίων) ήταν ~20% χαμηλότερος στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες (και οι δύο τιμές $P < 0,05$). Έτσι, ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG

προς VLDL-apoB-100 ήταν παραπάνω από διπλάσιος στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες ($P = 0,004$). Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ήταν ~70% υψηλότερος στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες ($P = 0,019$) ενώ ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100 δεν ήταν διαφορετικός. Ωστόσο, οι μέσοι χρόνοι παραμονής των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία ήταν συντομότεροι (κατά 45% και 25%, αντίστοιχα, $P < 0,05$) στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Παρατηρήθηκε μία αρνητική καμπυλόγραμμη σχέση ανάμεσα στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 και το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία ($R^2 = 0,684$, $P < 0,001$, $N = 26$), που υποδηλώνει ταχύτερη απομάκρυνση των VLDL-TG από τον πυρήνα πλουσιότερων σε TG νεο-εκκρινόμενων σωματιδίων VLDL. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η συγκέντρωση της VLDL-apoB-100 είναι χαμηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες λόγω χαμηλότερης έκκρισης VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, ενώ η συγκέντρωση των VLDL-TG είναι χαμηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες λόγω ταχύτερης απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία, η οποία υπερκεράζει τον επίσης αυξημένο ρυθμό ηπατικής παραγωγής VLDL-TG στις γυναίκες. Μεταξύ νορμοβαρών ατόμων, το ήπαρ των γυναικών παράγει λιγότερα σε αριθμό αλλά πλουσιότερα σε TG σωματίδια VLDL από ό,τι το ήπαρ των ανδρών.

Είναι γνωστό ότι η υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης οφείλεται στην τελευταία συνεδρία άσκησης και δεν είναι αποτέλεσμα επαναλαμβανόμενων συνεδριών (δηλ. προπόνησης). Για τη διερεύνηση των αλλαγών στο μεταβολισμό των λιπιδίων που οδηγούν στην υποτριγλυκεριδαιμία μετά από άσκηση, προσδιορίστηκε η κινητική των FFA του πλάσματος, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε 7 υγιείς νορμοβαρείς άνδρες σε δύο διαφορετικές περιστάσεις: το πρωί μετά από 2 ώρες ποδηλασίας στο 60% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO_{2peak}) και το πρωί μετά από μία αντίστοιχη περίοδο ανάπαυσης. Σε σχέση με την ανάπαυση, η άσκηση προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσης και του ρυθμού εμφάνισης FFA στο πλάσμα καθώς και του ρυθμού οξείδωσης λιπαρών οξέων σε ολόκληρο το σώμα κατά 40-65% (όλες οι τιμές $P < 0,05$). Η συγκέντρωση των VLDL-TG ήταν χαμηλότερη μετά την άσκηση έναντι της ανάπαυσης ($P = 0,018$), λόγω αυξημένου ρυθμού κάθαρσης VLDL-TG και συντομότερου χρόνου παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία (και οι δύο τιμές $P < 0,01$), χωρίς ωστόσο μεταβολή στο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ ($P = 0,786$). Από την άλλη, η άσκηση προκάλεσε μείωση της συγκέντρωσης της VLDL-apoB-100 στο πλάσμα ($P = 0,011$ έναντι της ανάπαυσης), ελαττώνοντας το ρυθμό ηπατικής παραγωγής της VLDL-apoB-100 ($P = 0,016$), χωρίς ωστόσο να επηρεάσει το ρυθμό κάθαρσης και το μέσο χρόνο παραμονής της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία (και οι δύο τιμές $P > 0,05$). Η συγκέντρωση των VLDL σωματιδίων ήταν χαμηλότερη μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση, αλλά η

συγκέντρωση των λιποπρωτεϊνών ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL, που προέρχονται από τον ενδοαγγειακό καταβολισμό των VLDL) ήταν σχεδόν διπλάσια μετά την άσκηση ($P < 0,05$). Η συγκέντρωση της LPL στο πλάσμα ήταν υψηλότερη μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, η συγκέντρωση της ηπατικής λιπάσης δεν ήταν διαφορετική και οι συγκεντρώσεις των άλλων ενζύμων μεταφοράς λιπιδίων στο πλάσμα (ακυλο-τρανσφεράση της λεκιθίνης-χοληστερόλης και μεταφορική πρωτεΐνη εστέρων χοληστερόλης) ήταν ή έτειναν να είναι χαμηλότερες μετά την άσκηση. Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα ήταν χαμηλότερες (και οι δύο τιμές $P < 0,05$), ενώ η συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης δεν ήταν διαφορετική μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση. Η συγκέντρωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν υψηλότερη μετά την άσκηση ($P = 0,012$ έναντι της ανάπαυσης), αλλά οι συγκεντρώσεις άλλων κυτοκινών (παράγοντας νέκρωσης όγκου α , ιντερλευκίνη 6) και αντιποκινών (λεπτίνη, ολική αντιπονεκτίνη και αντιπονεκτίνη υψηλού μοριακού βάρους) δε διέφεραν. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η υποτριγλυκεριδαιμία της άσκησης προκαλείται από αυξημένο ρυθμό απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία, πιθανόν λόγω ταχύτερης ενδοαγγειακής λιπόλυσης από την LPL που επιτείνεται από την έκκριση λιγότερων σε αριθμό αλλά πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL μετά την άσκηση. Ωστόσο, τα παρακάτω βήματα του λιπολυτικού μονοπατιού, τα οποία φέρνει σε πέρας η ηπατική λιπάση, δεν επιταχύνονται ανάλογα με αποτέλεσμα τη συσσώρευση σωματιδίων IDL στο πλάσμα. Οι επιδράσεις της άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL δε φαίνεται να οφείλονται σε αλλαγές στη διαθεσιμότητα FFA και ινσουλίνης στο πλάσμα.

Για να διερευνηθεί ο ρόλος της ενεργειακής δαπάνης στην απόκριση του μεταβολισμού των VLDL στην άσκηση, προσδιορίστηκε η κινητική των FFA του πλάσματος, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε 7 υγιείς νορμοβαρείς άνδρες σε δύο διαφορετικές περιστάσεις: το πρωί μετά από 1 ώρα ποδηλασίας στο 60% της VO_{2peak} και το πρωί μετά από μία αντίστοιχη περίοδο ανάπαυσης. Η άσκηση προκάλεσε αύξηση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα κατά ~55% σε σχέση με την ανάπαυση (και οι δύο τιμές $P < 0,05$), αλλά δεν επηρέασε το ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων σε ολόκληρο το σώμα, τη συγκέντρωση της γλυκόζης, της ινσουλίνης και της αυξητικής ορμόνης, τις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, τους ρυθμούς παραγωγής τους από το ήπαρ, τους ρυθμούς κάθαρσης και τους μέσους χρόνους παραμονής στην κυκλοφορία των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, ή τις συγκεντρώσεις των διαφόρων κυτοκινών και αντιποκινών (όλες οι τιμές $P > 0,05$). Επομένως, οι αλλαγές στο μεταβολισμό των VLDL που οδηγούν σε υποτριγλυκεριδαιμία μετά από αερόβια άσκηση είναι δοσοεξαρτώμενες, με ένα κατώφλιο ενεργειακής δαπάνης πάνω από 500 kcal, καθώς παρατηρούνται μετά από μία παρατεταμένη συνεδρία (2 ώρες) αλλά όχι μετά από μία

συνεδρία μέσης διάρκειας (1 ώρα). Ωστόσο, η άσκηση αυξάνει σημαντικά τη λιπόλυση στο λιπώδη ιστό ανεξαρτήτως διάρκειας και αυτό φανερώνει μια διάσταση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα και την παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Η λιπολυτική δράση της άσκησης δεν οφείλεται σε αλλαγές σε συστηματικούς παράγοντες με λιπολυτική ή αντιλιπολυτική δράση (π.χ. ινσουλίνη και αυξητική ορμόνη).

Συγκριτικά με τους άνδρες, οι γυναίκες χρησιμοποιούν σημαντικά περισσότερα ενδομυϊκά TG ως πηγή ενέργειας κατά την άσκηση μέτριας έντασης και η αύξηση της δραστηριότητας της LPL στο σκελετικό μυ μετά από τέτοια άσκηση έχει συσχετιστεί με την εξάντληση των μυϊκών αποθηκών TG. Επομένως, οι γυναίκες ενδέχεται να είναι περισσότερο ευαίσθητες στην αύξηση της LPL στο σκελετικό μυ μετά από άσκηση, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ταχύτερη απομάκρυνση των TG από τον πυρήνα των κυκλοφορούντων VLDL και να ελαττώσει τη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα, πιο εύκολα στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Για να αξιολογηθεί αυτή η υπόθεση, προσδιορίστηκε η κινητική των FFA του πλάσματος, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε 8 υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (4 νορμοβαρείς και 4 παχύσαρκες) σε δύο διαφορετικές περιστάσεις: το πρωί μετά από 1 ώρα ποδηλασίας στο 60% της VO_2peak και το πρωί μετά από μία αντίστοιχη περίοδο ανάπαυσης. Σε σχέση με την ανάπαυση, η άσκηση δεν προκάλεσε καμία μεταβολή στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, το ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων σε ολόκληρο το σώμα, τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης, της ινσουλίνης και της αυξητικής ορμόνης, τις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, τους ρυθμούς παραγωγής από το ήπαρ, τους ρυθμούς κάθαρσης και τους μέσους χρόνους παραμονής στην κυκλοφορία των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, ή τις συγκεντρώσεις διαφόρων κυτοκινών και αντιποκινών (όλες οι τιμές $P > 0,05$). Επομένως, το φύλο δεν είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει την απόκριση του μεταβολισμού των VLDL στην άσκηση, ωστόσο, τροποποιεί τις επιδράσεις της άσκησης στο μεταβολισμό των FFA, καθώς 1 ώρα ποδηλασίας σε μέτρια ένταση προκάλεσε αύξηση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα στους άνδρες αλλά όχι στις γυναίκες. Αναλύοντας τα δεδομένα από όλες τις μελέτες με άσκηση και ανάπαυση ταυτόχρονα (άνδρες και γυναίκες, 1 και 2 ώρες), προέκυψε ότι το μέγεθος της αύξησης στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα μετά την άσκηση συσχετιζόταν αρνητικά με τη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα κατά την ανάπαυση, αντίστοιχα, γεγονός που υποδηλώνει ότι όσο μεγαλύτερη είναι η διαθεσιμότητα FFA σε κατάσταση ηρεμίας τόσο μικρότερη είναι η επίδραση της άσκησης. Επομένως, η φαινομενικά μικρότερη ευαισθησία των γυναικών στη λιπολυτική δράση της άσκησης δεν οφείλεται σε μια επίδραση του φύλου αυτού καθεαυτού, αλλά απορρέει από το γεγονός ότι η διαθεσιμότητα FFA κατά την

ηρεμία είναι πολύ υψηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες και, επομένως, το ερέθισμα της άσκησης ίσως να μην είναι αρκετό για να προκαλέσει αύξηση της διαθεσιμότητας των FFA πάνω από τα ήδη υψηλά επίπεδα που παρατηρούνται στις γυναίκες κατά την ηρεμία.

Τα δεδομένα από αυτές τις μελέτες διαλευκάνουν πολλές μέχρι σήμερα άγνωστες πτυχές του μεταβολισμού των VLDL, αναφορικά με τις επιδράσεις του φύλου, των ενδογενών ορμονών του φύλου, της εμμηνόπαυσης και της άσκησης. Συνολικά, οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στο πλάσμα δεν επηρεάζουν το μεταβολισμό των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Ωστόσο, καταστάσεις που σχετίζονται με χρόνιες διαφορές στις ορμόνες του φύλου, π.χ. άνδρες έναντι γυναικών και προεμμηνοπαυσιακές έναντι μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, συνοδεύονται από σημαντικές διαφορές στην κινητική των λιπιδίων του πλάσματος. Εντούτοις, οι παρατηρούμενες διαφορές στο μεταβολισμό των VLDL δε μπορούν να εξηγηθούν εύκολα από την άμεση δράση των ορμονών του φύλου, ή από διαφορές στην ινσουλινοευαισθησία, τη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα, ή άλλες παραμέτρους που επηρεάζουν το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Άλλοι παράγοντες, λοιπόν, πιθανώς εγγενείς στο ήπαρ, όπως το μέγεθος και ο ρυθμός ανακύκλωσης των ενδοηπατικών αποθηκών TG και η κατανομή των ενδοηπατικών λιπαρών οξέων προς οξειδωτικά ή εκκριτικά μονοπάτια, ενδέχεται να ευθύνονται για τις παρατηρούμενες διαφορές. Το περιεχόμενο των νεο-εκκρινόμενων σωματιδίων VLDL σε TG διαφαίνεται ως ένας κυρίαρχος παράγοντας που καθορίζει τη μεταβολική μοίρα των VLDL-TG στην κυκλοφορία. Για παράδειγμα, η έκκριση λιγότερων σε αριθμό αλλά πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL φαίνεται ότι είναι ο βασικός μηχανισμός μέσω του οποίου μία συνεδρία αερόβιας άσκησης οδηγεί σε υποτριγλυκεριδαιμία. Οι επιδράσεις αυτές, όμως, είναι δοσοεξαρτώμενες και απαιτούν ενεργειακή δαπάνη που μάλλον είναι αδύνατο να επιτευχθεί από απροπόνητα άτομα σε μία συνεδρία άσκησης (>500 kcal ή 60-90 λεπτά σε μέτρια ένταση). Από την άλλη, η άσκηση αποτελεί ένα πολύ ισχυρό λιπολυτικό ερέθισμα για άτομα με χαμηλή αρχική διαθεσιμότητα FFA, για λόγους που παραμένουν άγνωστοι προς το παρόν. Σε κάθε περίπτωση, όμως, η περίοδος μετά την άσκηση αναδεικνύει τη διάσταση ανάμεσα στην παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ και τη διαθεσιμότητα FFA και ινσουλίνης στο πλάσμα, υπογραμμίζοντας και πάλι τη σημασία άλλων παραγόντων στη ρύθμιση της ηπατικής έκκρισης VLDL. Ο ακριβής μηχανισμός με το οποίο η άσκηση ελαττώνει την παραγωγή VLDL-apoB-100 από το ήπαρ χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Οι μελλοντικές έρευνες πρέπει ακόμα να αποσαφηνίσουν το ρόλο του τύπου της άσκησης, της διάρκειας, της έντασης και της συχνότητας, έτσι ώστε να αναπτυχθούν αποτελεσματικά προγράμματα φυσικής δραστηριότητας για την πρόληψη και τη θεραπεία της υπερτριγλυκεριδαιμίας. Αν και πολλά

έγιναν γνωστά σχετικά με τη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL στον άνθρωπο, πολλά νέα ερωτήματα παραμένουν αναπάντητα.

Summary

Plasma triacylglycerol (or triglyceride, TG) concentrations are lower in women than men, lower in premenopausal than postmenopausal women, and lower in people who exercise regularly than those who are sedentary. This likely contributes to differences in cardiovascular disease risk. However, the mechanisms responsible for the effects of sex, menopause, and exercise on plasma TG concentrations are not known.

To this end, very low density lipoprotein (VLDL) TG kinetics (i.e. production and removal rates) were determined in the fasting state by using stable isotope tracers and mathematical modeling. The kinetics of VLDL-apolipoprotein B-100 (apoB-100, which is the major structural apolipoprotein of VLDL particles) and plasma free fatty acids (FFA, which are the major precursor of VLDL-TG) were also measured. The reproducibility of these methods, the differences between men and women, the effects of physiological fluctuations in ovarian hormones, the differences between premenopausal and postmenopausal women, and the effects of acute exercise were studied.

The repeatability of plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 kinetics in vivo was determined in 8 healthy men on two different days. There were no systematic differences in plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 concentrations and kinetics between the two studies (all $P > 0.05$). Intra-individual day-to-day variability for lipid kinetic parameters ranged from 15% to 25%, almost all of which was of biological origin. The most robust outcome variables were FFA rate of appearance in plasma and hepatic VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates, while VLDL-TG and VLDL-apoB-100 plasma clearance rates and mean residence times were more variable. Overall, physiologically meaningful differences in mean values (i.e. 20-30% in magnitude) can be obtained with a sample size of 6-10 subjects for paired studies and 12-20 subjects per group for cross-sectional studies, assuming a type-I error rate of 0.05 and a type-II error rate of 0.20 (i.e. 80% power).

The effects of physiological fluctuations in the concentrations of sex hormones on plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 kinetics were studied in healthy, eumenorrheic, premenopausal women not taking exogenous hormones. To assess the role of progesterone, 7 women were studied twice, once during the follicular (low progesterone) and once during the luteal (high progesterone) phase of the menstrual cycle. Estradiol concentrations were not

different on the two study days. VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations in plasma, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates, plasma clearance rates and mean residence times, average VLDL particle size and VLDL subclass distribution, FFA concentration and rate of appearance in plasma, whole-body substrate oxidation, and lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase concentrations in plasma were not different during the follicular and the luteal phase (all $P > 0.05$). The intra-individual variability for lipid kinetic parameters between the two menstrual cycle days ranged from 10% to 30% and was not substantially different than that observed in men. To access the role of estradiol, 36 women were studied during the follicular phase of the menstrual cycle (low progesterone), and were divided in two age- and adiposity-matched groups ($N = 18$ each) on the basis of median plasma estradiol concentration (below and above 38 pg/ml). There were no significant differences between the two groups (all $P > 0.05$) in plasma glucose, insulin and FFA concentrations, FFA rate of appearance in plasma, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations and hepatic VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates, and plasma clearance rates and mean residence times of VLDL-TG and VLDL-apoB-100, despite there being a $>200\%$ difference in plasma estradiol concentration ($P < 0.001$). There were no significant associations between plasma estradiol concentration and FFA, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations and kinetics. The results from these two studies strongly suggest that physiological fluctuations in predominant sex hormones (estradiol and progesterone) have no effect on VLDL kinetics in women. Hence there is no need to control for menstrual cycle phase in studies designed to access VLDL metabolism.

The effects of menopause on plasma FFA, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 kinetics were studied in 8 obese, middle-aged premenopausal and 8 postmenopausal women who were matched for body mass index and percent body fat. FFA concentration and rate of appearance in plasma, and VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations did not differ between groups (all $P > 0.05$). VLDL-TG secretion rate was twice as high in postmenopausal than in premenopausal women ($P = 0.023$) whereas the secretion rate of VLDL-apoB-100 (i.e. VLDL particles) was not different ($P = 0.648$). Hence the molar ratio of VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates (indicating the average TG content of VLDL particles secreted by the liver) was more than double in postmenopausal than in premenopausal women ($P = 0.024$). VLDL-TG plasma clearance rate was $\sim 135\%$ greater and VLDL-TG mean residence time was $\sim 50\%$ shorter in postmenopausal than in premenopausal women (both $P < 0.05$), whereas VLDL-apoB-100 plasma clearance rate and mean residence time were not different (both $P > 0.8$). There was an inverse curvilinear relation between the molar ratio of VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates and VLDL-TG mean residence time ($R^2 = 0.583$, $P = 0.001$, $N = 16$), suggesting

that the greater the content of nascent VLDL in TG the shorter the VLDL-TG residence time in the circulation (i.e. the faster their removal). These data indicate that ovarian hormone deficiency after menopause is associated with increased VLDL-TG secretion from the liver, in the form of large and TG-rich VLDL particles, and this is responsible, at least in part, for the faster removal of VLDL-TG from the circulation in postmenopausal than in premenopausal women and the maintenance of plasma TG homeostasis.

The effect of sex was studied by measuring plasma FFA, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 kinetics in 26 healthy young adults: 13 lean men and 13 lean women. VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations were both lower in women than in men ($P < 0.05$). FFA rate of appearance in plasma was greater in women than in men ($P < 0.05$) but FFA concentration only tended to be greater ($P = 0.124$). The secretion rate of VLDL-TG was ~70% greater whereas the secretion rate of VLDL-apoB-100 (i.e. VLDL particles) was ~20% lower in women than in men (both $P < 0.05$). The molar ratio of VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates was therefore more than double in women than in men ($P = 0.004$). VLDL-TG plasma clearance rate was ~70% greater in women than in men ($P = 0.019$) whereas VLDL-apoB-100 plasma clearance rate was not different between sexes. However, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 mean residence times in plasma were both shorter (by 45% and 25%, respectively, $P < 0.05$) in women than in men. There was an inverse curvilinear relation between the molar ratio of VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates and VLDL-TG mean residence time ($R^2 = 0.684$, $P < 0.001$, $N = 26$), suggesting faster removal of VLDL-TG from the core of TG-richer nascent VLDL. These data illustrate that VLDL-apoB-100 concentration is lower in women than in men due to lower hepatic secretion of VLDL-apoB-100, whereas VLDL-TG concentration is lower in women than in men due to increased removal of VLDL-TG from the circulation which offsets the also greater hepatic secretion of VLDL-TG in women. Among lean people, the liver in women secretes fewer but TG-richer VLDL particles than the liver in men.

The hypotriglyceridemic effect of exercise is known to be an acute rather than a chronic effect resulting from repeated exercise sessions (i.e. training). To elucidate the alterations in lipid metabolism that are responsible for post-exercise hypotriglyceridemia, plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 kinetics were studied in 7 healthy lean men on two occasions: once the day after 2 hours of cycling at 60% of peak oxygen consumption (VO_2 peak) and once the day after an equivalent period of rest. Exercise increased FFA concentration, FFA rate of appearance in plasma and whole-body fatty acid oxidation rate by 40-65% compared with rest

(all $P < 0.05$). VLDL-TG concentration was lower after exercise than rest ($P = 0.018$), due to increased VLDL-TG plasma clearance rate and shorter VLDL-TG mean residence time (both $P < 0.01$), with no changes in VLDL-TG secretion by the liver ($P = 0.786$). On the other hand, exercise lowered VLDL-apoB-100 concentration in plasma ($P = 0.011$ versus rest) by reducing hepatic VLDL-apoB-100 secretion rate ($P = 0.016$), without affecting VLDL-apoB-100 plasma clearance rate and mean residence time (both $P > 0.05$). The concentration of VLDL particles was lower after exercise than rest but the concentration of intermediate density lipoproteins (IDL, arising from intravascular VLDL catabolism) was almost double after exercise compared with rest ($P < 0.05$). Exercise also increased the concentration of LPL in plasma but did not affect hepatic lipase concentration, and reduced or tended to reduce the concentration of other plasma lipid transfer enzymes (lecithin:cholesterol acyl-transferase and cholesterol ester transfer protein). Plasma glucose and insulin concentrations were lower (both $P < 0.05$) but growth hormone concentration was not different after exercise than rest. The concentration of C-reactive protein was higher after exercise ($P = 0.012$ versus rest), but the concentrations of other cytokines (tumor necrosis factor alpha and interleukin 6) and adipokines (leptin, total and high molecular weight adiponectin) were not different. These data indicate that exercise-induced hypotriglyceridemia results from increased removal rates of VLDL-TG from the circulation, possibly due to increased intravascular lipolysis from LPL, which is further augmented by the secretion of fewer but TG-rich VLDL particles after exercise. However, subsequent steps of the delipidation cascade, likely mediated by hepatic lipase, are not similarly accelerated and this leads to accumulation of IDL particles in plasma. The effects of exercise on VLDL metabolism do not appear to be mediated by changes in FFA availability and insulin.

To access the role of energy expenditure in mediating the VLDL metabolism response to acute exercise, plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 kinetics were studied in 7 healthy lean men on two occasions: once the day after 1 hour of cycling at 60% of $\text{VO}_{2\text{peak}}$ and once the day after an equivalent period of rest. Exercise increased FFA concentration and FFA rate of appearance in plasma by ~55% compared with rest (both $P < 0.05$), but had no effect on whole-body fatty acid oxidation rate, plasma glucose, insulin and growth hormone concentrations, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations, hepatic VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates, plasma clearance rates and mean residence times of VLDL-TG and VLDL-apoB-100, as well as plasma cytokine and adipokine concentrations (all $P > 0.05$). Therefore, exercise-induced alterations in VLDL metabolism leading to hypotriglyceridemia are dose-dependent, with an energy expenditure threshold above 500 kcal, since they manifest after a prolonged session (2 hours) but not after a session of shorter duration (1 hour). However,

exercise significantly augments adipose tissue lipolysis regardless of duration, and this clearly illustrates a dissociation between plasma FFA availability and VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion by the liver. The lipolytic effect of exercise is not likely mediated by changes in known systemic regulators of lipolysis (e.g. insulin and growth hormone).

Compared with men, women use significantly more intramuscular TG as a fuel during moderate-intensity exercise, and post-exercise increases in muscle LPL have been associated with depletion of skeletal muscle TG stores. Therefore, women may be more prone to exercise-induced increases in muscle LPL, which could lead to faster removal of TG from circulating VLDL, hence lowering plasma TG concentrations more readily in women than in men. To evaluate this possibility, plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 kinetics were studied in 8 healthy premenopausal women (4 lean and 4 obese) on two occasions: once the day after 1 hour of cycling at 60% of VO_2peak and once the day after an equivalent period of rest. Compared with rest, exercise had no effect on FFA concentration and rate of appearance in plasma, whole-body fatty acid oxidation rate, plasma glucose, insulin and growth hormone concentrations, VLDL-TG and VLDL-apoB-100 concentrations, hepatic VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates, plasma clearance rates and mean residence times of VLDL-TG and VLDL-apoB-100, as well as plasma cytokine and adipokine concentrations (all $P > 0.05$). Therefore, sex does not mediate exercise-induced effects on VLDL metabolism, but it does appear to mediate exercise-induced changes in FFA metabolism, since 1 hour of cycling at moderate intensity increased FFA concentration and rate of appearance in plasma in men but not in women. By analyzing the data from all exercise studies together (men and women, 1 and 2 hours), it turned out that the magnitude of exercise-induced increases in plasma FFA concentration and FFA rate of appearance was strongly and inversely related to resting plasma FFA concentration and FFA rate of appearance, respectively, indicating that the higher the FFA availability at rest the smaller the effect of exercise. Therefore, the apparent lower sensitivity of women to the lipolytic effect of exercise is not likely due to an effect of sex per se, but instead due to the fact that basal FFA availability is much higher in women than in men, hence the exercise stimulus may not have been adequate to drive FFA availability above the already high resting levels in women.

Data from these studies shed light to several previously unknown aspects of VLDL metabolism, with respect to the effects of sex, endogenous sex hormones, menopause, and exercise. Overall, the physiological fluctuations in the concentrations of estradiol and progesterone do not

influence plasma FFA, VLDL-TG, and VLDL-apoB-100 metabolism. Although, situations associated with chronic differences in sex hormones, e.g. men versus women and premenopausal versus postmenopausal women, are accompanied by significant differences in plasma lipid kinetics. Nonetheless, observed alterations in VLDL metabolism cannot be readily explained by a direct effect of sex hormones, or by differences in whole-body insulin sensitivity, plasma FFA availability, or other known regulators of VLDL-TG and VLDL-apoB-100 metabolism. Other factors, therefore, perhaps intrinsic to the liver, such as the size and turnover rate of intrahepatic TG stores or the channeling of intrahepatic fatty acids towards oxidative or secretory pathways, might be responsible for the observed differences. The TG content of nascent VLDL (at the time of secretion) emerges as a major factor determining the metabolic fate of VLDL-TG in the circulation. Indeed, with respect to the effects of exercise, secretion of fewer but TG-rich VLDL particles appears to be the predominant mechanism by which a single session of aerobic exercise leads to hypotriglyceridemia. These effects are dose-dependent, though, and likely require an unfeasible amount of exercise for most sedentary individuals (>500 kcal energy expenditure or 60-90 min at moderate intensity). On the other hand, exercise is a very potent lipolytic stimulus for people with low initial FFA availability, for reasons as yet unknown. Whatever the case, the post-exercise period highlights the dissociation of hepatic VLDL-TG and VLDL-apoB-100 secretion rates from plasma insulin and FFA availability, again suggesting that other factors are likely responsible for regulating hepatic VLDL secretion. The exact mechanism of exercise-induced reduction in VLDL-apoB-100 secretion by the liver remains to be elucidated. Future studies should also aim at determining the most appropriate mode of exercise, in respect to type, duration, intensity, frequency, etc., in order to develop efficient exercise programs for the prevention and treatment of hypertriglyceridemia. Though much has been learned regarding VLDL metabolism in man, still, many more new questions remain to be answered.

1. Εισαγωγή

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν μία από τις βασικότερες αιτίες θανάτου στις κοινωνίες Δυτικού τύπου, τόσο μεταξύ των ανδρών όσο και μεταξύ των γυναικών [1]. Στην Ελλάδα, μάλιστα, η θνησιμότητα από καρδιαγγειακές νόσους παρουσιάζει ανοδική τάση κατά τις τελευταίες δεκαετίες σε αντίθεση με τις υπόλοιπες ανεπτυγμένες χώρες [2,3]. Η συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών είναι σημαντικά χαμηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες [4,5], αλλά η διαφορά μεταξύ των δύο φύλων ελαττώνεται στις μεγαλύτερες ηλικίες, λόγω της αύξησης του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση [6,7]. Μια ανασκόπηση των επιδημιολογικών δεδομένων από 52 χώρες υποδεικνύει ότι η θνησιμότητα από καρδιαγγειακές νόσους είναι, κατά μέσο όρο, περισσότερο από 2 φορές μεγαλύτερη στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες [5] ενώ, τα αποτελέσματα της μελέτης Framingham Heart Study συνιστούν διπλασιασμό ή και τριπλασιασμό της συχνότητας εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών στις γυναίκες αμέσως μετά την εμμηνόπαυση [6]. Παραμένει, όμως, ακόμα άγνωστο αν και με ποιόν τρόπο οι παρατηρήσεις αυτές σχετίζονται με τις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών και μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στις συγκεντρώσεις των βασικών ορμονών του φύλου [5,8]. Ανεξαρτήτως φύλου και ηλικίας, όμως, κεντρικό σημείο για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι η αυξημένη φυσική δραστηριότητα [9]. Πλήθος από επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών είναι σημαντικά μικρότερος σε άνδρες και γυναίκες όλων των ηλικιών που ασκούνται τακτικά σε σχέση με άτομα που ακολουθούν καθιστική ζωή [10,11,12,13].

Διαταραχές στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών είναι πιθανό να συνδέονται αιτιολογικά με την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νόσων. Αυξημένες συγκεντρώσεις τριακυλογλυκερολών (triacylglycerol, TG) στο πλάσμα και χοληστερόλης στις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (low density lipoproteins, LDL) και μειωμένη συγκέντρωση χοληστερόλης στις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (high density lipoproteins, HDL) αποτελούν αδιαμφισβήτητους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα [14]. Η υπερτριγλυκεριδαιμία νηστείας, ιδιαίτερα, αποτελεί και ένα από τα ευρύτερα αποδεκτά κριτήρια που χρησιμοποιούνται σήμερα από όλους τους επιστημονικούς φορείς για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου [15], μιας ομάδας ισχυρών προδιαθεσικών παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών ασθενειών με μεταβολική αιτιολογία [16]. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες καταδεικνύουν ότι υψηλές

συγκεντρώσεις TG στο πλάσμα αυξάνουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις [17,18,19]. Τα αποτελέσματα μιας μετα-ανάλυσης των δεδομένων από περίπου 46.000 άνδρες και 11.000 γυναίκες υπέδειξαν ότι μια αύξηση στη συγκέντρωση των TG νηστείας κατά 1 mmol/L (86 mg/dl) συνεπάγεται αύξηση του σχετικού κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα κατά 30% στους άνδρες και 75% στις γυναίκες [20]. Η αύξηση του σχετικού κινδύνου ελαττώνεται περίπου στο μισό αν ληφθούν υπόψη και τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης, ωστόσο παραμένει στατιστικά σημαντική και για τα δύο φύλα [20]. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης Framingham Heart Study, όπου προοδευτικά αυξανόμενες συγκεντρώσεις TG στις λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (very low density lipoproteins, VLDL) σχετιζόνταν με προοδευτικά αυξανόμενο σχετικό κίνδυνο για στεφανιαία νόσο μεταξύ των ανδρών και ιδιαίτερα μεταξύ των γυναικών [21].

Η συγκέντρωση των TG νηστείας είναι σημαντικά χαμηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες [22,23,24,25], χαμηλότερη στις προεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [26,27] και χαμηλότερη σε άτομα που ασκούνται σε σχέση με μη αθλούμενους [28]. Επομένως, οι διαφορές στη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων μεταξύ των δύο φύλων αλλά και μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, όπως επίσης και η καρδιοπροστατευτική δράση της άσκησης, ενδέχεται να οφείλονται εν μέρει σε διαφορές ή επιδράσεις στο μεταβολισμό των TG. Κατά το μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία), το μεγαλύτερο μέρος των TG στο πλάσμα βρίσκεται στις VLDL (65-70%), ενώ τα υπόλοιπα TG μεταφέρονται στις LDL (15-20%) και τις HDL (10-15%) [29,30]. Έτσι, διαφορές ή μεταβολές στη συγκέντρωση των ολικών TG στο πλάσμα αντανακλούν εν πολλοίς διαφορές ή μεταβολές στη συγκέντρωση των VLDL-TG. Για παράδειγμα, η χαμηλότερη συγκέντρωση TG στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες οφείλεται αποκλειστικά και μόνο σε χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG [29,31], ενώ επίσης, η υποτριγλυκεριδική δράση της άσκησης οφείλεται σχεδόν εξολοκλήρου σε ελαττωμένη συγκέντρωση VLDL-TG [32,33,34,35,36,37]. Η συγκέντρωση των VLDL-TG στο αίμα προσδιορίζεται κάθε στιγμή από το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ και το ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία. Επομένως, αυξομειώσεις στη συγκέντρωση των VLDL-TG στο αίμα μπορούν να προκληθούν είτε από αλλαγές στο ρυθμό παραγωγής, είτε από αλλαγές στο ρυθμό απομάκρυνσης, είτε από αλλαγές και στους δύο αυτούς ρυθμούς.

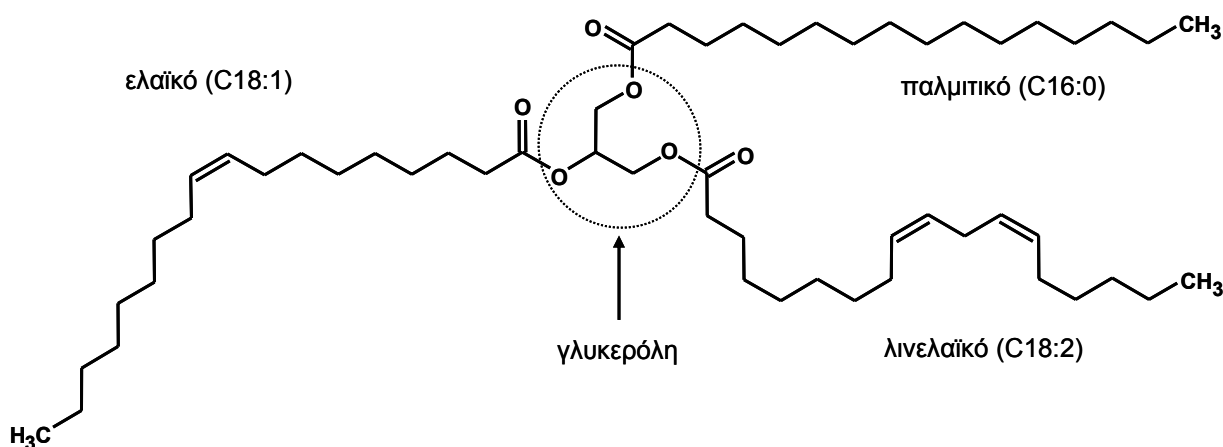
Σκοπός, λοιπόν, της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση της κινητικής (δηλαδή, των ρυθμών παραγωγής και απομάκρυνσης) των VLDL-TG με τη χρήση σταθερών ισοτόπων ιχνηθέτησης,

έτσι ώστε να αναγνωριστούν οι υποκείμενοι μηχανισμοί που ευθύνονται για τις παρατηρούμενες διαφορές ή μεταβολές στις συγκεντρώσεις των TG στο πλάσμα. Για την αποκομιδή μιας ολοκληρωμένης εικόνας του μεταβολισμού των VLDL, θα προσδιοριστούν ακόμα η κινητική της απολιποπρωτεΐνης B-100 (apolipoprotein B-100, apoB-100, που αποτελεί το δομικό σκελετό των σωματιδίων VLDL) καθώς και των ελεύθερων λιπαρών οξέων (free fatty acids, FFA, που αποτελούν τον κυριότερο πρόδρομο για την παραγωγή VLDL-TG). Θα μελετηθούν πιθανές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων (ΜΕΛΕΤΗ #5) και μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (ΜΕΛΕΤΗ #4), θα αξιολογηθούν οι επιδράσεις των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις συγκεντρώσεις των βασικών ορμονών του φύλου στις γυναίκες (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3) και θα διερευνηθεί ο ρόλος της άσκησης (ΜΕΛΕΤΕΣ #6, #7 και #8). Τέλος, θα αξιολογηθεί η επαναληψιμότητα των χρησιμοποιούμενων τεχνικών για τον προσδιορισμό του μεταβολισμού των VLDL (ΜΕΛΕΤΗ #1).

2. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

2.1 Τριακυλογλυκερόλες και λιποπρωτεΐνες

Τα TG συντίθενται από τρία μόρια λιπαρών οξέων εστεροποιημένα σε ένα μόριο γλυκερόλης (ΕΙΚΟΝΑ 2.1) και αποτελούν μακράν την πιο συγκεντρωμένη βιολογική πηγή διαθέσιμης ενέργειας. Η υψηλή ενεργειακή πυκνότητα τα καθιστά ιδανική μορφή αποθήκευσης ενέργειας στα ανώτερα ζώα συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Ένα επιπρόσθετο πλεονέκτημα των TG είναι η βιολογική τους αδράνεια σε αντίθεση, για παράδειγμα, με τα FFA, σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις των οποίων είναι τοξικές για τον οργανισμό. Ωστόσο, το μεγαλύτερο βιολογικό μειονέκτημα των TG είναι ότι αποτελούν εξαιρετικά υδρόφοβες ενώσεις, γεγονός που αποτελεί πρόβλημα για την ελεγχόμενη μεταφορά τους στο υδατικό και πολικό περιβάλλον του αίματος.



Εικόνα 2.1. Η χημική δομή των τριακυλογλυκερολών (TG). Κάθε μόριο TG αποτελείται από τρία μόρια λιπαρών οξέων (π.χ. παλμιτικό, ελαϊκό και λινελαϊκό) εστεροποιημένα σε ένα μόριο γλυκερόλης.

Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, ο οργανισμός χρησιμοποιεί τις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (triglyceride-rich lipoproteins, TRLP), οι οποίες είναι δύο τύπων: i) τα χυλομικρά, που εκκρίνονται από τα εντεροκύτταρα και μεταφέρουν εξωγενή (διαιτητικά) TG και, ii) οι VLDL, που εκκρίνονται από τα ηπατοκύτταρα και μεταφέρουν ενδογενή TG, δηλαδή αυτά που συντίθενται ενδογενώς στο ήπαρ. Η συγκέντρωση των χυλομικρών στο αίμα αυξάνεται σημαντικά κατά το μεταγευματικό στάδιο (έως και 10-12 ώρες μετά την κατανάλωση ενός γεύματος), ενώ αντίθετα, τα επίπεδα τους στο αίμα είναι σχεδόν μη ανιχνεύσιμα κατά το

μεταπορροφητικό στάδιο (10-12 ώρες μετά την κατανάλωση ενός γεύματος και ύστερα) [38]. Κατά τη φάση αυτή της νηστείας, το μεγαλύτερο μέρος των TG στο αίμα (65-70%) βρίσκεται στις VLDL, ενώ τα υπόλοιπα βρίσκονται στις LDL (15-20%) και τις HDL (10-15%) [29,30].

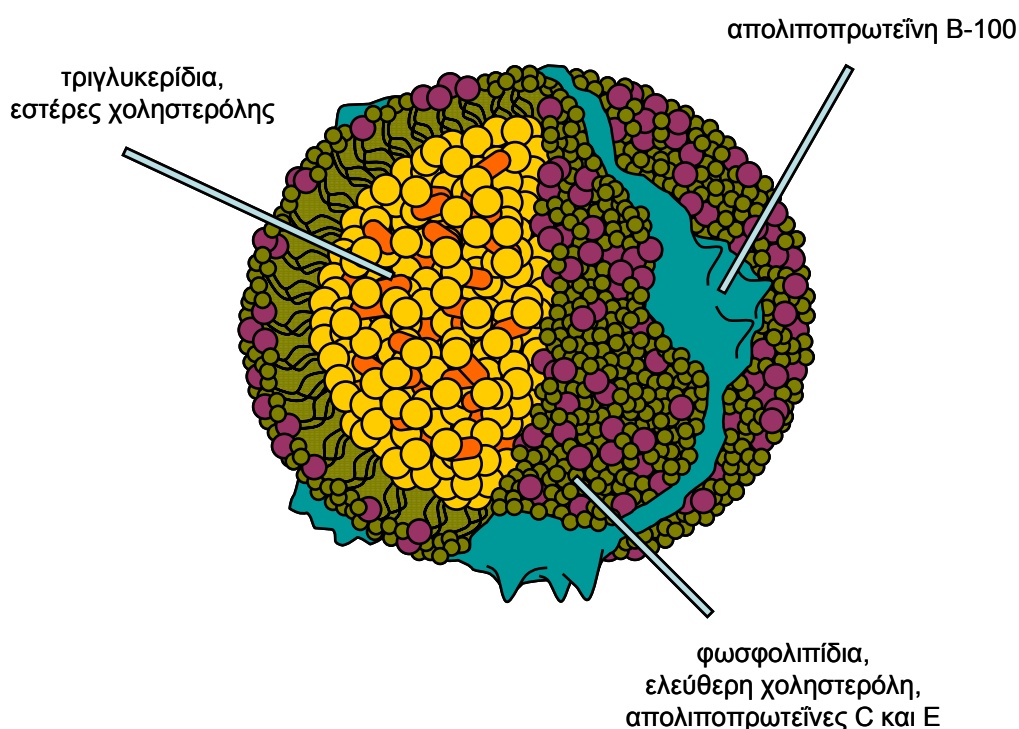
Η μη αποτελεσματική ρύθμιση του μεταβολισμού των TG μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση υπερτριγλυκεριδαιμίας, που αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα [17,18,19]. Η συγκέντρωση των TG στο αίμα αντανακλά κάθε στιγμή τη δυναμική ισορροπία μεταξύ της παραγωγής τους από το ήπαρ υπό τη μορφή VLDL και της απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία. Δυσλειτουργία σε οποιοδήποτε επίπεδο μπορεί να οδηγήσει σε υπερτριγλυκεριδαιμία, π.χ. λόγω αυξημένης παραγωγής, μειωμένης απομάκρυνσης, ή συνδυασμού των δύο αυτών μηχανισμών. Πέρα όμως από τη συγκέντρωση των TG αυτή καθαυτή, σύγχρονα δεδομένα υποδεικνύουν ότι διαταραχές στη σύνθεση των VLDL από το ήπαρ που οδηγούν στην έκκριση πλούσιων σε TG και μεγάλων σε μέγεθος VLDL, συσχετίζονται με πλήθος άλλων προβλημάτων στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών με δυνητικά αρνητικές συνέπειες όσον αφορά στον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα [39]. Για παράδειγμα, οι μεγάλες σε μέγεθος και πλούσιες σε TG VLDL οδηγούν στο σχηματισμό μικρών και πυκνών LDL που συνωστιάζονται στην κυκλοφορία [39] και αποτελούν έναν ακόμα σημαντικό παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακές νόσους [40]. Ακόμα, δυσλειτουργία στη ρύθμιση του μεταβολισμού των TG που οδηγεί σε υπερτριγλυκεριδαιμία προκαλεί ελάττωση της συγκέντρωσης της HDL-χοληστερόλης, η οποία έχει καρδιοπροστατευτική δράση [41]. Επομένως, η αποτελεσματική ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL αποτελεί κεντρικό σημείο για τη διατήρηση της ομοιόστασης όλων των λιπιδίων του πλάσματος.

2.2 Μεταβολισμός των VLDL

Σύνθεση των VLDL στο ήπαρ και έκκριση στην κυκλοφορία

Οι VLDL είναι σφαιρικά σωματίδια με διάμετρο 30–80 nm και πυκνότητα 0,95–1,006 g/ml. Στο εξωτερικό τους καλύπτονται από μια μονή αμφολυτική στοιβάδα που αποτελείται από φωσφολιπίδια, ελεύθερη χοληστερόλη και τις απολιποπρωτεΐνες B-100, C-I, C-II, C-III και E, ενώ στο υδρόφοβο εσωτερικό τους (πυρήνας) περιέχουν TG και εστέρες χοληστερόλης (ΕΙΚΟΝΑ 2.2). Τα περισσότερα συστατικά των VLDL, όπως η ελεύθερη χοληστερόλη, τα φωσφολιπίδια,

τα μη πολικά λιπίδια (TG και εστέρες χοληστερόλης), αλλά και οι περισσότερες απολιποπρωτεΐνες, μπορούν να ανταλλάσσονται σχετικά εύκολα με συστατικά άλλων λιποπρωτεϊνών ή με λιπιδιακές επιφάνειες (π.χ. αγγειακό ενδοθήλιο), ενώ αντίθετα, η apoB-100 παραμένει προσδεμένη στο σωματίδιο VLDL και δε συμμετέχει ενεργά σε αυτή τη μεταφορά λιπιδίων και πρωτεϊνών [42].



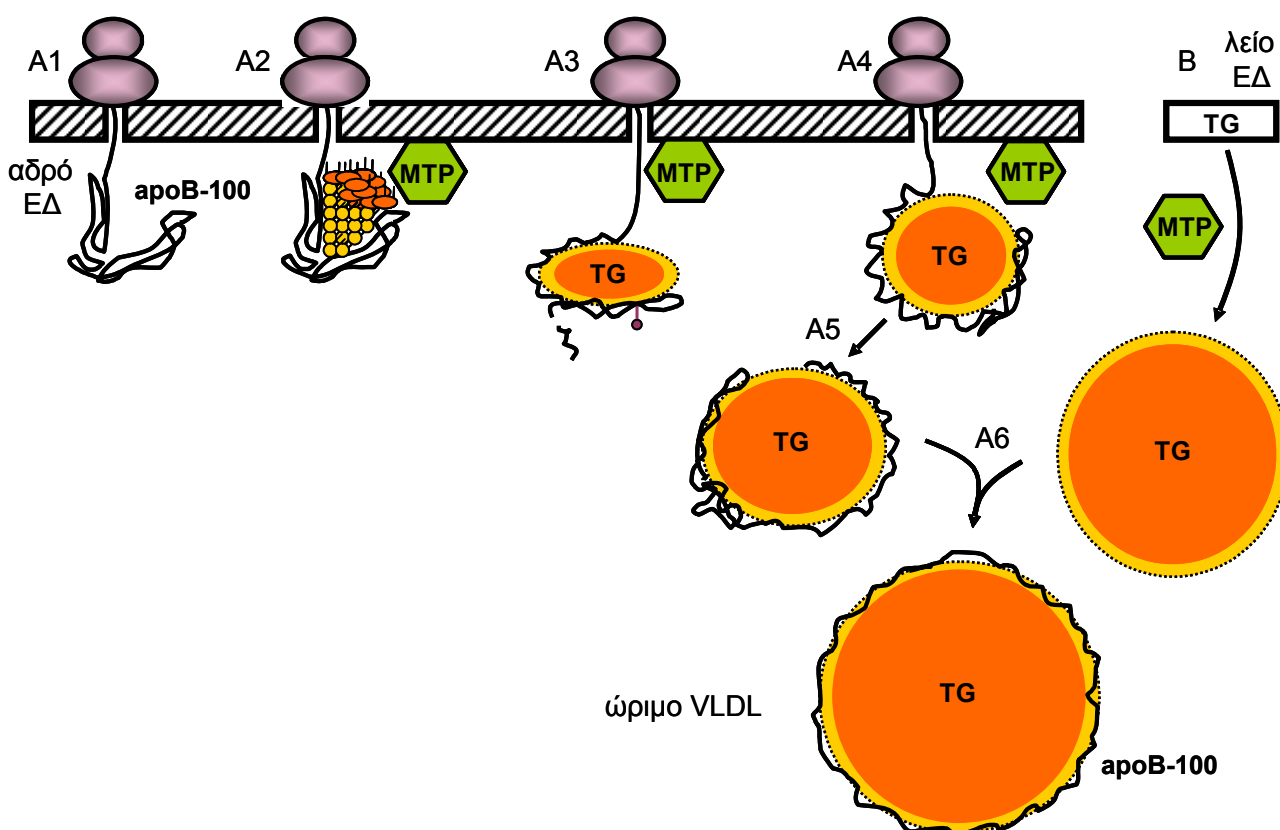
Εικόνα 2.2. Τα συστατικά ενός σωματιδίου λιποπρωτεΐνης πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) όπως εκκρίνεται από το ήπαρ. Οι απολιποπρωτεΐνες C και E ενσωματώνονται στην επιφάνεια της λιποπρωτεΐνης αργότερα, κατά την κυκλοφορία της στο αίμα.

Στον άνθρωπο, κάθε σωματίδιο VLDL περιέχει ένα και μόνο μόριο apoB-100 [43], με 4.345 αμινοξέα και μοριακό βάρος 512.713 [44], η οποία και αποτελεί το δομικό σκελετό πάνω στον οποίο ενσωματώνονται στη συνέχεια τα διάφορα λιπίδια κατά την παραγωγή των VLDL στο ηπατοκύτταρο. Το βασικό πλαίσιο του μηχανισμού σύνθεσης των VLDL προτάθηκε περίπου τρεις δεκαετίες πριν και περιλαμβάνει τη σύντηξη (συγχώνευση) ενός νεο-συντιθέμενου μορίου apoB-100 με ένα σταγονίδιο λιπιδίων το οποίο παράγεται στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο [45]. Από τότε και μέχρι σήμερα έχουν προκύψει πολλές λεπτομέρειες αυτής της διαδικασίας οι οποίες και επέτρεψαν τη διαμόρφωση ενός χρήσιμου μοντέλου σύνθεσης των VLDL στο ήπαρ (ΕΙΚΟΝΑ 2.3) [46].

Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, τα TG ενσωματώνονται στην apoB-100 σε τουλάχιστον δύο διακριτά στάδια του μονοπατιού σύνθεσης των VLDL, κάθε ένα από τα οποία λαμβάνει χώρα σε ξεχωριστά σημεία του κυττάρου (ΕΙΚΟΝΑ 2.3). Στο πρώτο στάδιο, μια μικρή ποσότητα TG και φωσφολιπιδίων ενσωματώνεται στην apoB-100 κατά τη διαδικασία της σύγχρονης μετάφρασης και μετακίνησης της τελευταίας κατά μήκος του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου (βήμα A1 στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3), οδηγώντας στο σχηματισμό ενός μικρού, πυκνού, πρόδρομου σωματιδίου VLDL (βήμα A2 στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3). Η αρχική αυτή συγχώνευση εξαρτάται από τη δράση του ενζύμου μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριακυλογλυκερολών (microsomal triglyceride transfer protein, MTP), γενετική έλλειψη του οποίου παρεμποδίζει σε μεγάλο βαθμό ή αναστέλλει πλήρως την έκκριση VLDL στην κυκλοφορία [47]. Η προσθήκη λιπιδίων στη νεο-συντιθέμενη apoB-100 φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για την αποφυγή πρωτεόλυσης της τελευταίας [48,49]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η ποσότητα της apoB-100 που παράγεται στο ηπατοκύτταρο είναι πολύ περισσότερη από αυτή που απαιτείται για την έκκριση των διαθέσιμων TG: περίπου 30–80% της νεο-συντιθέμενης apoB-100 ανακυκλώνεται [49,50]. Το μόριο της apoB-100 υφίσταται ακόμα πολλές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, όπως γλυκοζυλίωση, φωσφορυλίωση και ακυλίωση από λιπαρές ακυλομάδες, που θεωρούνται ότι επιτελούν σημαντικό μεταβολικό ρόλο [51]. Για παράδειγμα, η παλμιτοϋλίωση (ακυλίωση από παλμιτικό οξύ) σε ορισμένες θέσεις της πρωτεϊνικής αλυσίδας της apoB-100 είναι μια δομική τροποποίηση που αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη μετέπειτα δημιουργία του υδρόφοβου πυρήνα ουδετέρων λιπών των VLDL [52]. Η συνεχιζόμενη μετάφραση της apoB-100 κατά μήκος των μεμβρανών του ενδοπλασματικού δικτύου σε συνδυασμό με την ταυτόχρονη μεταφορά λιπιδίων μέσω της MTP οδηγεί στο σχηματισμό του υδρόφοβου πυρήνα ουδετέρων λιπών (βήμα A3 στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3) και τελικά στη μετατροπή σε σφαιρικό σωματίδιο (βήμα A4 στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3).

Το μικρό πρόδρομο σωματίδιο VLDL παραμένει συνδεδεμένο με τις μεμβράνες ή αποκολλάται και κυκλοφορεί ελεύθερο στον αυλό του ενδοπλασματικού δικτύου (βήμα A5 στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3), αν και φαίνεται ότι μόνο τα σωματίδια που παραμένουν προσκολλημένα στις μεμβράνες θα μετατραπούν στη συνέχεια σε ώριμα σωματίδια VLDL [53]. Η προσθήκη της πλειονότητας των TG στο πρόδρομο σωματίδιο VLDL γίνεται κατά το δεύτερο στάδιο της σύνθεσης των VLDL (στάδιο ωρίμανσης), το οποίο περιλαμβάνει τη σύντηξη του προδρόμου σωματιδίου VLDL με ένα μεγάλο σταγονίδιο TG (βήμα A6 στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3), το οποίο έχει σχηματιστεί προηγουμένως στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο μέσω της δράσης της MTP (βήμα B στην ΕΙΚΟΝΑ 2.3). Η ακριβής προέλευση αυτών των TG παραμένει άγνωστη, αλλά έχει προταθεί η

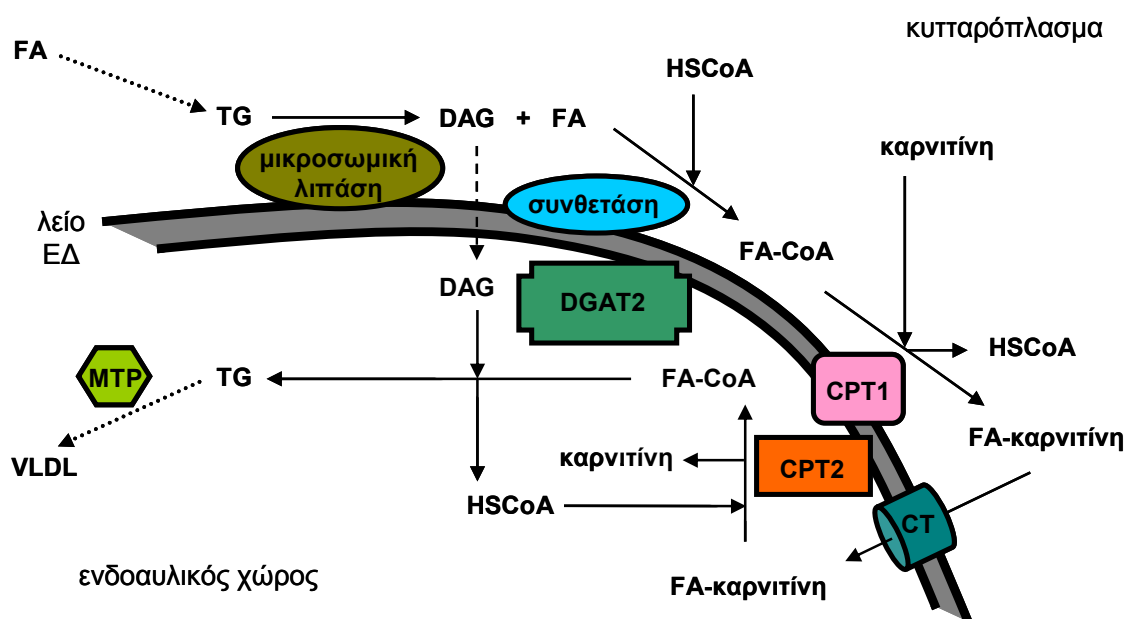
ύπαρξη μιας ενδοκυτταρικής δεξαμενής TG που προορίζονται για έκκριση, η οποία είναι ξεχωριστή από τις κυτταροπλασματικές δεξαμενές αποθήκευσης TG και το μέγεθος της οποίας καθορίζει το μέγεθος των VLDL που θα εκκριθούν τελικά από το ηπατοκύτταρο [54,55]. Τα νεο-συντιθέμενα TG από λιπαρά οξέα που προέρχονται από εξωκυτταρικές πηγές (π.χ. FFA του πλάσματος) ή από ενδοκυτταρικές πηγές (π.χ. de novo λιπογένεση) δεν αποτελούν άμεσους προδρόμους αυτής της δεξαμενής έκκρισης [56]. Αντίθετα, φαίνεται ότι η δεξαμενή αυτή προκύπτει έμμεσα από τη λιπολυτική κινητοποίηση των κυτταροπλασματικών δεξαμενών TG και τη μετέπειτα επανεστεροποίησή τους σε άλλα μέρη του ηπατοκυττάρου [57].



Εικόνα 2.3. Μονοπάτι σύνθεσης VLDL στο ηπατικό κύτταρο (βλ. κείμενο για λεπτομέρειες). TG = τριακυλογλυκερόλες, MTP = μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριακυλογλυκερολών, VLDL = λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας.

Πιο συγκεκριμένα, έχει προταθεί [58] ότι τα κυτταροπλασματικά TG αρχικά υδρολύονται σε λιπαρά οξέα και διακυλογλυκερόλες από τη μικροσωμική λιπάση, η οποία βρίσκεται στην κυτταροπλασματική πλευρά της λιπιδιακής διπλοστοιβάδας του λείου ενδοπλασματικού δικτύου (ΕΙΚΟΝΑ 2.4). Η διακυλογλυκερόλη διαπερνά τη μεμβράνη προς το εσωτερικό του αυλού με απλή διάχυση. Τα λιπαρά οξέα που παράγονται, όμως, ενεργοποιούνται από το συνένζυμο A

(HSCoA) προς σχηματισμό ακυλοσυνένζυμου Α με τη δράση της ακυλο-CoA συνθετάσης. Η λιπαρή ακυλομάδα, στη συνέχεια, μεταφέρεται στην καρνιτίνη (αναγεννώντας HSCoA) μέσω της παλμιτοϋλο-τρανσφεράσης της καρνιτίνης 1 (carnitine palmitoyl transferase 1, CPT 1). Η ακυλοκαρνιτίνη διαπερνά τη λιπιδιακή διπλοστοιβάδα του λείου ενδοπλασματικού δικτύου προς το εσωτερικό του αυλού μέσω ενός πρωτεϊνικού πόρου (τρανσλοκάση της καρνιτίνης, carnitine translocase, CT). Εκεί, ανασυντίθεται το ακυλο-συνένζυμο Α με τη δράση της παλμιτοϋλο-τρανσφεράσης της καρνιτίνης 2 (carnitine palmitoyl transferase 2, CPT 2). Τέλος, το ένζυμο ακυλο-τρανσφεράση των διακυλογλυκερολών 2 (diacylglycerol acyl transferase 2, DGAT 2) μεταφέρει τη λιπαρή ακυλομάδα στη διακυλογλυκερόλη (αναγεννώντας HSCoA), παράγοντας έτσι TG στο εσωτερικό του αυλού (ΕΙΚΟΝΑ 2.4). Αυτά τα TG στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθούν για έκκριση στις VLDL [58]. Τα δεδομένα πολλών άλλων μελετών συνηγορούν στο ότι η διαθεσιμότητα TG σε συγκεκριμένες μόνο θέσεις της γραμμής παραγωγής VLDL καθορίζει τον αριθμό και το μέγεθος των VLDL που θα εκκριθούν τελικά από το ήπαρ [57].



Εικόνα 2.4. Παραγωγή TG για έκκριση στις VLDL (βλ. κείμενο για λεπτομέρειες). TG = τριακυλογλυκερόλη, DAG = διακυλογλυκερόλη, DGAT 2 = ακυλο-τρανσφεράση των διακυλογλυκερολών 2, FA = λιπαρό οξύ, HSCoA = συνένζυμο Α, CPT 1/2 = παλμιτοϋλο-τρανσφεράση της καρνιτίνης 1/2, CT = τρανσλοκάση της καρνιτίνης, MTP = μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριακυλογλυκερολών, VLDL = λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας.

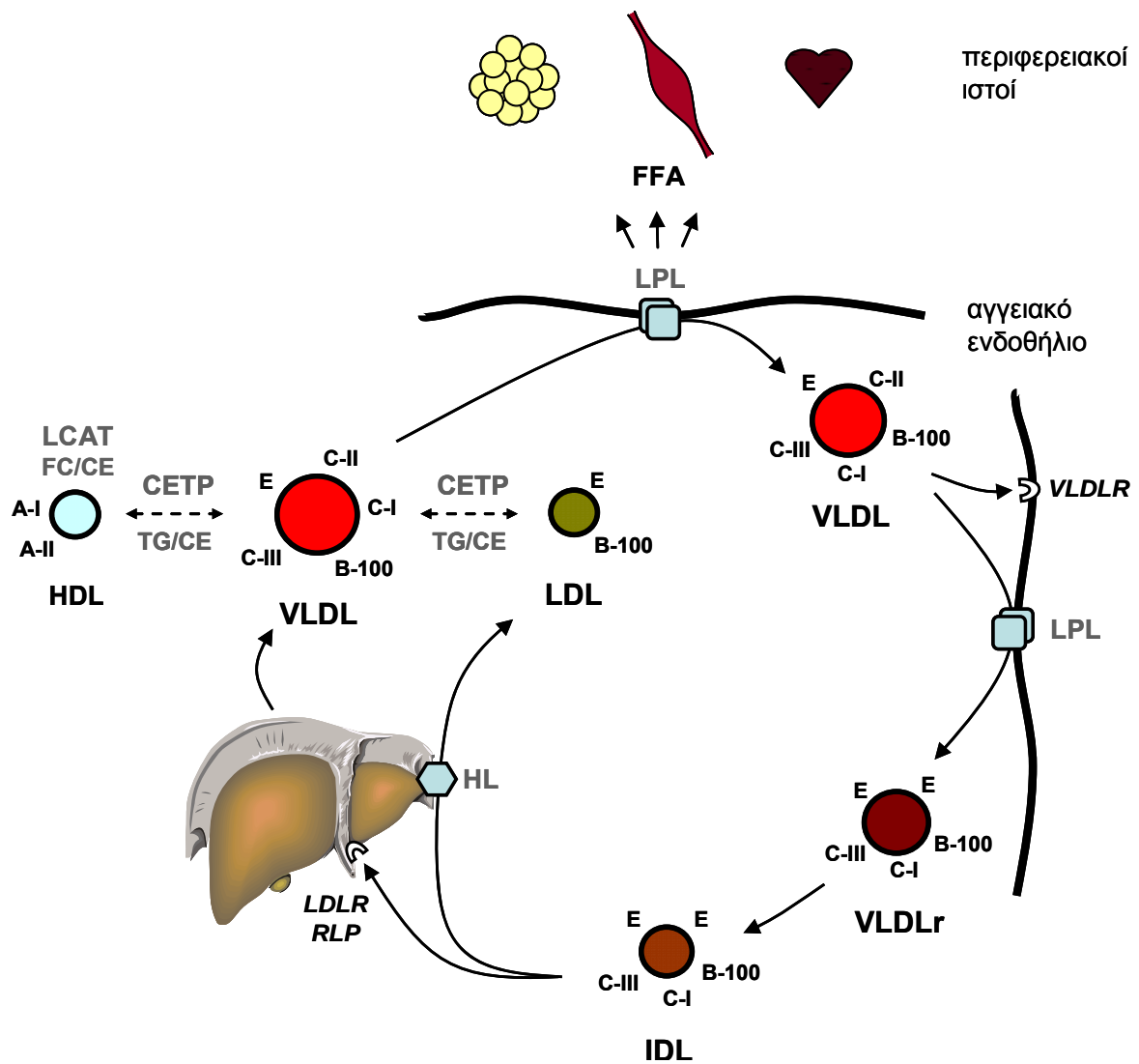
Από τα παραπάνω καθίσταται προφανές ότι, η σύνθεση VLDL-TG και VLDL-apoB-100 αποτελούν λειτουργικά συνδεδεμένες, αλλά σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες μεταβολικές πορείες. Με τον τρόπο αυτό, το ήπαρ μπορεί να μεταβάλλει την ποσότητα TG που εκκρίνονται σε κάθε

σωματίδιο VLDL και έτσι, μπορεί να ανταποκρίνεται αποτελεσματικά σε καταστάσεις αυξημένης ή μειωμένης διαθεσιμότητας ενδοηπατικών TG. Ο αριθμός, το μέγεθος και η σύσταση σε TG των VLDL που εκκρίνονται στην κυκλοφορία καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό και τη μετέπειτα μεταβολική τους μοίρα [59].

Καταβολισμός των VLDL και απομάκρυνση από την κυκλοφορία

Ο καταβολισμός των VLDL χαρακτηρίζεται από αρκετά σημεία διακλάδωσης και το τελικό αποτέλεσμα εξαρτάται από το ακριβές μονοπάτι που θα ακολουθήσουν τα διάφορα σωματίδια VLDL (ΕΙΚΟΝΑ 2.5). Η apoB-100 δε συμμετέχει ενεργά στο μεγαλύτερο μέρος αυτής της διαδικασίας, ωστόσο, σε ορισμένα σημεία του καταβολισμού των VLDL, ενδεχομένως να έχει καθοριστικό ρόλο. Οι υπόλοιπες απολιποπρωτεΐνες των VLDL, δηλαδή οι apoC-I, apoC-II, apoC-III και apoE, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορα στάδια του καταβολισμού των VLDL, μέσω της αλληλεπίδρασής τους με ένζυμα, πρωτεογλυκάνες κυτταρικών επιφανειών και εξειδικευμένους υποδοχείς. Ακόμα και η σύσταση του σωματιδίου σε λιπίδια επιδρά στη μεταβολική του μοίρα.

Η αλληλεπίδραση με τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (lipoprotein lipase, LPL), που βρίσκεται στο αγγειακό ενδοθήλιο των διαφόρων περιφερειακών ιστών όπως ο σκελετικός μυς και ο λιπώδης ιστός (αλλά και άλλων ιστών όπως ο καρδιακός μυς, το διάφραγμα του πνεύμονα, κλπ.), αποτελεί το εναρκτήριο βήμα του καταβολισμού των VLDL. Η LPL συντίθεται στα παρεγχυματικά κύτταρα των περιφερειακών ιστών και στη συνέχεια μεταφέρεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Εκεί, μετατοπίζεται από την ενδοκυτταρική προς στην εξωκυτταρική πλευρά της μεμβράνης (η οποία βρίσκεται σε άμεση επαφή με τον αυλό του αγγείου), όπου και προσδένεται με τη βοήθεια πρωτεογλυκανών ηπαρίνης ως ομοδιμερές (σύμπλοκο 2 μορίων LPL), που αποτελεί και την καταλυτικά ενεργή μορφή του ενζύμου [60,61]. Η apoE επίσης προσδένεται σε πρωτεογλυκάνες των κυτταρικών επιφανειών και διευκολύνει την προσέγγιση των VLDL στην LPL. Διάφορες άλλες λιπάσες του ενδοθηλίου με δραστηριότητα φωσφολιπάσης A1 και A2 φαίνεται ότι βοηθούν την πρόσβαση της LPL στον υδρόφοβο πυρήνα των VLDL, μέσω υδρόλυσης των φωσφολιπιδίων της επιφάνειας του σωματιδίου [62].



Εικόνα 2.5. Καταβολισμός των VLDL στην κυκλοφορία (βλ. κείμενο για λεπτομέρειες). VLDL = λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, VLDLr = υπολείμματα VLDL, IDL = λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας, LDL = λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας, HDL = λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας, LDLR = υποδοχέας LDL, RLP = εξειδικευμένος υποδοχέας απολιποπρωτεΐνης E, VLDLR = υποδοχέας VLDL, FFA = ελεύθερα λιπαρά οξέα, LPL = λιποπρωτεϊνική λιπάση, HL = ηπατική λιπάση, TG = τριακυλογλυκερόλες, FC = ελεύθερη χοληστερόλη, CE = εστέρας χοληστερόλης, LCAT = ακυλο-τρανσφεράση της λεκιθίνης-χοληστερόλης, CETP = μεταφορική πρωτεΐνη εστέρων χοληστερόλης.

Η LPL έχει μεγαλύτερη ειδικότητα για την υδρόλυση του sn-2 εστερικού δεσμού των TG (του μεσαίου δεσμού στο μόριο της γλυκερόλης), αλλά υδρολύει αποτελεσματικά και τους εστερικούς δεσμούς στις δι- και μονοακυλογλυκερόλες [63]. Τα τελικά προϊόντα της δράσης της LPL στα VLDL-TG είναι κυρίως FFA και μονοακυλογλυκερόλες. Τα περισσότερα από τα λιπαρά οξέα που απελευθερώνονται προσλαμβάνονται από τους γειτονικούς περιφερειακούς ιστούς, όπου και αποθηκεύονται ως ενδοκυτταρικά TG ή χρησιμοποιούνται για παραγωγή

ενέργειας, ενώ ορισμένα από τα λιπαρά οξέα ξεφεύγουν στην κυκλοφορία και συνεισφέρουν στη δεξαμενή FFA του πλάσματος [64]. Η αύξηση στην τοπική συγκέντρωση των FFA επιδρά ανασταλτικά στην περαιτέρω καταλυτική δράση της LPL στα VLDL-TG, παρέχοντας έτσι ένα μηχανισμό αναδραστικής συναγωνιστικής αναστολής που εξασφαλίζει ότι τα προϊόντα (FFA) δεν παράγονται γρηγορότερα από όσο χρησιμοποιούνται [65]. Η αναστολή της υδρόλυσης των VLDL-TG γίνεται σε πολλαπλά στάδια. Έχει προταθεί ότι τα FFA παρεμποδίζουν την πρόσδεση της LPL στις πρωτεογλυκάνες της κυτταρικής μεμβράνης, παρεμποδίζουν την αλληλεπίδραση του ενζύμου με το υπόστρωμα (VLDL-TG) και, τέλος, παρεμποδίζουν την αλληλεπίδραση της LPL με την apoC-II, η οποία και αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την καταλυτική δράση του ενζύμου [66].

Η λιπολυτική δράση της LPL ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό από τις απολιποπρωτεΐνες C. Η apoC-II που βρίσκεται στην επιφάνεια των VLDL αποτελεί έναν υποχρεωτικό συμπράγοντα για την ενεργοποίηση της LPL [67,68]. Για παράδειγμα, άτομα με έλλειψη apoC-II παρουσιάζουν σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία, ακριβώς γιατί οι VLDL χωρίς apoC-II δε μπορούν να αποτελέσουν υπόστρωμα για την LPL [69,70]. Αντίθετα, η apoC-III φαίνεται ότι αναστέλλει τη δράση της LPL, πιθανόν γιατί παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση του ενζύμου με την apoC-II [68,71,72]. Έτσι, άτομα με έλλειψη apoC-III έχουν πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις VLDL-TG, που οφείλονται σε επιτάχυνση των ρυθμών απομάκρυνσης των VLDL από την κυκλοφορία [73]. Τέλος, η apoC-I επίσης επιβραδύνει την απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία, μέσω διαφόρων μηχανισμών που όλοι οδηγούν σε παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης των VLDL με μια ποικιλία ενζύμων και υποδοχέων [74]. Η apoC-I, για παράδειγμα, αποτελεί τον κυριότερο αναστολέα της μεταφορικής πρωτεΐνης εστέρων χοληστερόλης (cholesterol ester transfer protein, CETP) στο πλάσμα [74].

Η CETP είναι μια υδρόφοβη γλυκοπρωτεΐνη που διευκολύνει την ανταλλαγή ουδέτερων λιπιδίων (TG, εστέρες χοληστερόλης, εστέρες ρετινόλης) αλλά και πολικών λιπιδίων (φωσφολιπίδια) μεταξύ των διαφόρων λιποπρωτεϊνών του πλάσματος [75,76]. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης της CETP δεν είναι γνωστός, αν και έχουν προταθεί διάφορα πιθανά μοντέλα [77]. Η CETP φέρνει σε πέρας μια σχεδόν ισομοριακή ανταλλαγή TG από τις VLDL και εστέρων χοληστερόλης από τις HDL [78]. Αυτή η μεταφορά έχει ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό των VLDL σε εστέρες χοληστερόλης με ταυτόχρονη εξάντληση των VLDL-TG και, αντίστοιχα, τον εμπλουτισμό των HDL σε TG με ταυτόχρονη εξάντληση των εστέρων χοληστερόλης [79]. Οι εστέρες χοληστερόλης που μεταφέρονται από τις HDL προς τις VLDL

σχηματίζονται στην επιφάνεια των HDL μέσω της δράσης της ακυλο-τρανσφεράσης της λεκιθίνης-χοληστερόλης (lecithin:cholesterol acyltransferase, LCAT), η οποία καταλύει τη μεταφορά ακυλομάδων από τη φωσφατιδυλοχολίνη στη χοληστερόλη προς σχηματισμό λυσοφωσφατιδυλοχολίνης και εστέρων χοληστερόλης [80]. Εκτός από τις HDL, η ανταλλαγή TG και εστέρων χοληστερόλης λαμβάνει χώρα με τον ίδιο τρόπο και μεταξύ VLDL και LDL [78]. Ποσοτικά, όμως, η μεταφορά ουδετέρων λιπιδίων στο πλάσμα συμβαίνει κυρίως μεταξύ VLDL και HDL. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, περισσότερο από 80% της CETP στο πλάσμα βρίσκεται προσδεμένη στις HDL [81]. Στην πραγματικότητα, η πρόσδεση αυτή γίνεται με παρόμοια χημική συγγένεια για τις VLDL, τις LDL και τις HDL, αλλά λόγω του πολύ μεγαλύτερου αριθμού των HDL σωματιδίων στο πλάσμα (της τάξης των $\mu\text{mol/L}$) σε σχέση με τις VLDL και τις LDL (της τάξης των nmol/L), η πλειοψηφία της CETP εντοπίζεται στις HDL [82]. Έτσι λοιπόν, αρκετά TG απομακρύνονται από τον πυρήνα των VLDL προς τις HDL (και τις LDL) μέσω της δράσης της CETP.

Η βαθμιαία ελάττωση του περιεχομένου των VLDL σε TG, κυρίως λόγω της συνεχιζόμενης λιπόλυσης των VLDL-TG από την LPL αλλά και λόγω μεταφοράς των TG από τον πυρήνα των VLDL σε άλλες λιποπρωτεΐνες μέσω της CETP, έχει ως αποτέλεσμα τα σωματίδια VLDL να γίνονται μικρότερα και πυκνότερα και να μετατρέπονται αρχικά σε υπολείμματα VLDL (VLDL remnants, VLDLr) και τελικά σε λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας (intermediate density lipoproteins, IDL). Τα δύο αυτά σωματίδια διατηρούν το ένα και μοναδικό μόριο apoB-100 στην επιφάνειά τους και, είτε απομακρύνονται απευθείας από την κυκλοφορία του αίματος μέσω αλληλεπίδρασης με εξειδικευμένους ηπατικούς υποδοχείς, είτε μετατρέπονται σε LDL. Η σχετική συνεισφορά της μίας ή της άλλης πορείας στην απομάκρυνση των VLDL από την κυκλοφορία φαίνεται ότι εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σύσταση του πυρήνα των λιποπρωτεϊνικών αυτών σωματιδίων σε ουδέτερα λιπίδια (TG και εστέρες χοληστερόλης) αλλά και την ποσότητα σε επιφανειακές απολιποπρωτεΐνες (κυρίως apoE αλλά και apoC) [66]. Το μονοπάτι για την πρόσληψη των VLDLr και IDL από το ήπαρ (αλλά και άλλους περιφερειακούς ιστούς) περιλαμβάνει τους υποδοχείς LDL που αναγνωρίζουν την apoB και την apoE (LDL receptors, LDLR), τους εξειδικευμένους υποδοχείς της apoE (lipoprotein-related protein, LRP), τους υποδοχείς VLDL (VLDL receptor, VLDLR) καθώς και διάφορες πρωτεογλυκάνες των κυτταρικών επιφανειών που μπορούν να προσδένουν την apoE. Η παρουσία της apoC-I φαίνεται ότι παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση των λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων με όλους αυτούς τους τύπους υποδοχέων και έτσι, καθυστερεί την απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία [74]. Η ηπατική λιπάση (hepatic lipase, HL) ενδεχομένως να δρα ως γέφυρα διευκολύνοντας την πρόσδεση των VLDLr και των IDL στους υποδοχείς των ηπατικών

κυττάρων [83]. Ο κυριότερος ρόλος της HL, όμως, είναι η υδρόλυση των TG στα VLDL₁ προς σχηματισμό IDL και στις IDL προς σχηματισμό LDL [84].

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο ενδοαγγειακός καταβολισμός των VLDL-TG είναι λειτουργικά συνδεδεμένος αλλά παραμένει σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητος από τον καταβολισμό της VLDL-apoB-100. Επομένως, η παρακολούθηση της μεταβολικής πορείας της VLDL-apoB-100 παρέχει πληροφόρηση για τη συμπεριφορά του VLDL σωματιδίου αυτού καθεαυτού, ενώ αντίθετα, η παρακολούθηση της μεταβολικής πορείας των VLDL-TG παρέχει πληροφόρηση για τη συμπεριφορά των TG στον πυρήνα των VLDL.

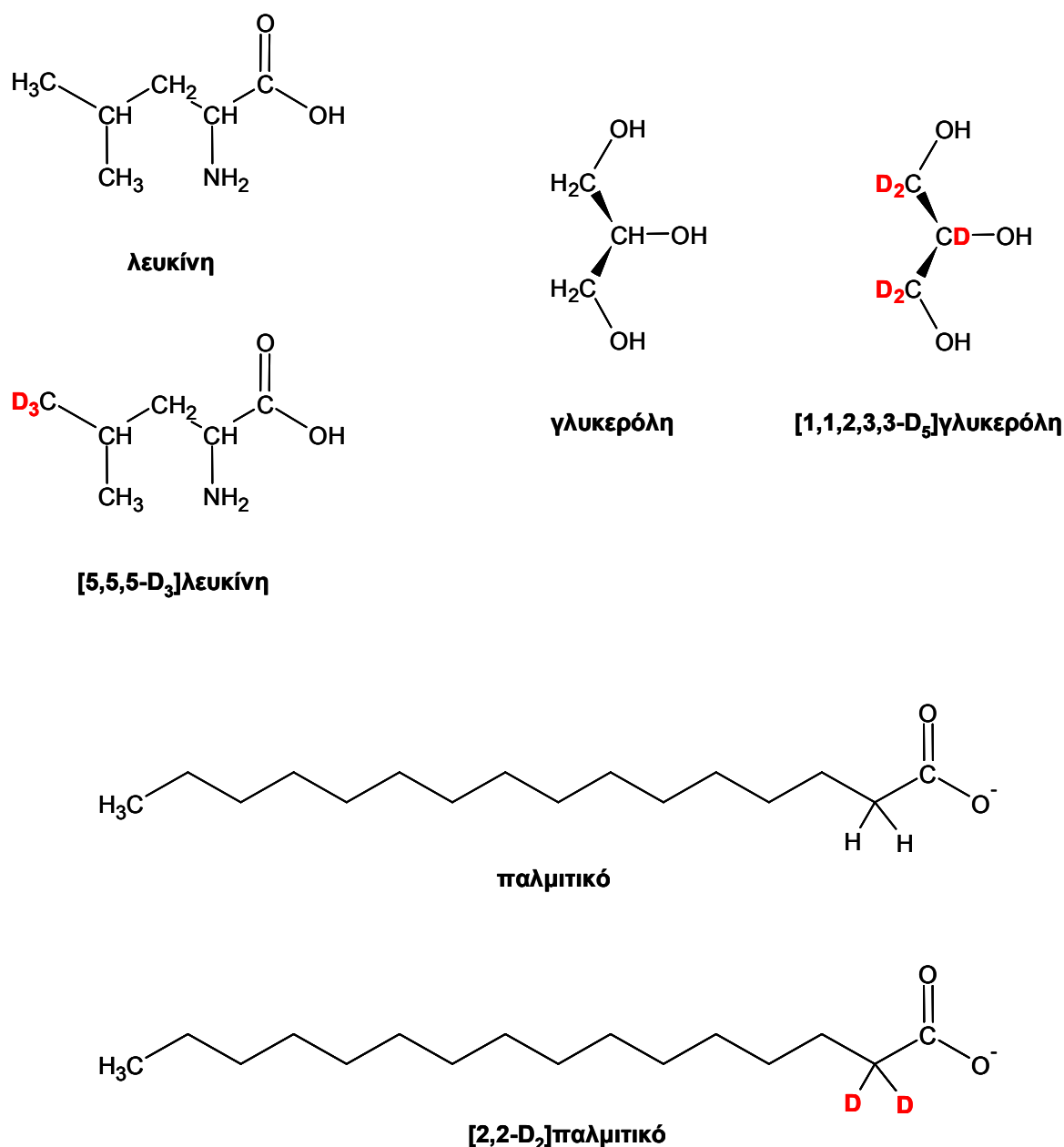
2.3 Μέτρηση του μεταβολισμού των VLDL

Βιολογικά συστήματα, ισοτοπικοί ιχνηλάτες και μαθηματικά μοντέλα

Η στατική μέτρηση της συγκέντρωσης των διαφόρων λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την αναγνώριση και το χαρακτηρισμό μιας διαταραχής στο λιπιδαιμικό προφίλ, ωστόσο, δε μπορεί να υποδείξει τους μηχανισμούς εκείνους που είναι υπεύθυνοι για αυτήν τη διαταραχή. Για παράδειγμα, μία αύξηση στη συγκέντρωση των VLDL-TG ή της VLDL-apoB-100 στο αίμα μπορεί να οφείλεται σε αυξημένη παραγωγή και έκκρισή τους στην κυκλοφορία, σε μειωμένη απομάκρυνσή τους, ή σε συνδυασμό και των δύο μηχανισμών. Προς αυτήν την κατεύθυνση, οι πρώτες μελέτες κινητικής των λιποπρωτεϊνών άρχισαν ήδη από τη δεκαετία του 1950, χρησιμοποιώντας μεθόδους ενδογενούς [85] ή εξωγενούς [86] ιχνηθέτησης με ισοτοπικούς ιχνηλάτες, με σκοπό τον ποσοτικό προσδιορισμό μεταβολικών παραμέτρων όπως οι ρυθμοί παραγωγής και καταβολισμού.

Το βασικό χαρακτηριστικό των μελετών αυτών είναι η χρήση ενός επισημασμένου εξωγενούς υποστρώματος (ιχνηλάτης) για τη διερεύνηση της μεταβολικής πορείας ενός ενδογενούς υποστρώματος (ιχνηλατούμενος). Ο όρος ιχνηλάτης αναφέρεται σε μια σεσημασμένη μορφή μιας ένωσης, που χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει ορισμένες ιδιότητες της ένωσης αυτής στα βιολογικά συστήματα [87]. Οι ιδιότητες αυτές περιλαμβάνουν την ανταλλάξιμη μάζα ή όγκο της ένωσης, την εντόπισή της, την πορεία της μέσα από χημικές αντιδράσεις και τους ρυθμούς μεταφοράς της προς, από και διαμέσου των συστατικών του συστήματος [87]. Ένας

ιδανικός ιχνηλάτης είναι χημικά και δομικά πανομοιότυπος με το ιχνηλατούμενο υπόστρωμα, ωστόσο διαφέρει σε ορισμένα χαρακτηριστικά, που επιτρέπουν την ανίχνευσή του με μεγάλη ακρίβεια. Η δημιουργία ενός ιχνηλάτη περιλαμβάνει την αντικατάσταση ενός ή περισσότερων ατόμων που βρίσκονται φυσιολογικά σε μία ή περισσότερες θέσεις μέσα στο μόριο του ιχνηλατούμενου, με ένα ισότοπο αυτού του ατόμου που συναντάται πολύ πιο σπάνια στη φύση (ΕΙΚΟΝΑ 2.6).



Εικόνα 2.6. Ορισμένοι κοινά χρησιμοποιούμενοι ιχνηλάτες στη μεταβολική έρευνα (σεσημασμένοι με δευτέριο, D, που είναι το βαρύτερο σταθερό ισότοπο του υδρογόνου, βλ. παρακάτω στο κείμενο) και τα αντίστοιχα μόρια των ενώσεων που ιχνηλατούνται.

Τα άτομα ενός χημικού στοιχείου υπάρχουν στη φύση με διάφορες μορφές. Όλα τα άτομα του ίδιου στοιχείου έχουν εξορισμού τον ίδιο αριθμό πρωτονίων στον πυρήνα τους (ατομικός αριθμός, Z). Ωστόσο, ο αριθμός των νετρονίων μπορεί να διαφέρει, γεγονός που οδηγεί σε διαφορετικό άθροισμα πρωτονίων και νετρονίων (μαζικός αριθμός, A). Επομένως, όλα τα άτομα ενός χημικού στοιχείου με ίδιο αριθμό πρωτονίων αλλά διαφορετικό αριθμό νετρονίων καλούνται ισότοπα. Ο όρος ισότοπα προέρχεται από το γεγονός ότι αυτά καταλαμβάνουν την ίδια θέση (ίσος τόπος) στον Περιοδικό Πίνακα των στοιχείων. Τα ισότοπα διακρίνονται σε δύο είδη, τα ραδιενεργά και τα σταθερά. Τα ραδιενεργά ισότοπα διασπώνται με την πάροδο του χρόνου και σχηματίζουν άτομα ενός άλλου στοιχείου. Για τα ραδιενεργά ισότοπα που χρησιμοποιούνται συνηθέστερα στη μεταβολική έρευνα, όπως το τρίτιο (^3H) και ο άνθρακας-14 (^{14}C), η ραδιενεργός διάσπαση λαμβάνει χώρα με μετατροπή ενός νετρονίου σε ένα πρωτόνιο και ένα ηλεκτρόνιο (β διάσπαση). Το ηλεκτρόνιο εκπέμπεται υπό μορφή ακτίνων β και η ιδιότητα αυτή χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και τη μέτρηση των ραδιενεργών ισοτόπων [88]. Αντίθετα, τα σταθερά ισότοπα δε διασπώνται με την πάροδο του χρόνου και η ποσότητά τους στη φύση παραμένει σχετικά σταθερή (ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1).

Τα σταθερά ισότοπα του ίδιου στοιχείου έχουν διαφορετικό αριθμό νετρονίων στον πυρήνα τους και ως εκ τούτου διαφορετική μάζα, γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευση και τη μέτρησή τους [88]. Προφανώς, σταθερά ισότοπα είναι όλα τα άτομα ενός στοιχείου που δεν είναι ραδιενεργά, αλλά στα πλαίσια της χρήσης τους στη μεταβολική έρευνα, ο όρος σταθερό ισότοπο αναφέρεται στο ισότοπο εκείνο που συναντάται πολύ πιο σπάνια στη φύση, δηλαδή σε αυτό με τη μικρότερη περιεκτικότητα [90]. Τα πιο συνηθισμένα σταθερά ισότοπα ιχνηθέτησης που χρησιμοποιούνται σήμερα για μεταβολικές έρευνες είναι ο άνθρακας-13 (^{13}C), το δευτέριο (^2H), το άζωτο-15 (^{15}N) και το οξυγόνο-18 (^{18}O), που είναι και τα βαρύτερα ισότοπα των αντίστοιχων στοιχείων. Αφού τα σταθερά ισότοπα αποτελούν μέρος του φυσικού περιβάλλοντος, επόμενο είναι ο ανθρώπινος οργανισμός να εκτίθεται συνεχώς σε αυτά μέσω της τροφής, του νερού και του αέρα. Στον ΠΙΝΑΚΑ 2.2 δίνονται η περιεκτικότητα των πιο συνηθισμένων σταθερών ισοτόπων στη φύση και στο ανθρώπινο σώμα, η τυπική πρόσληψή τους από το περιβάλλον και οι τυπικές δόσεις που χορηγούνται στον οργανισμό ως ιχνηλάτες, κατά τη διεκπεραίωση μιας πειραματικής μελέτης.

Πίνακας 2.1. Ορισμένα από τα σταθερά ισότοπα που υπάρχουν στη φύση [89].

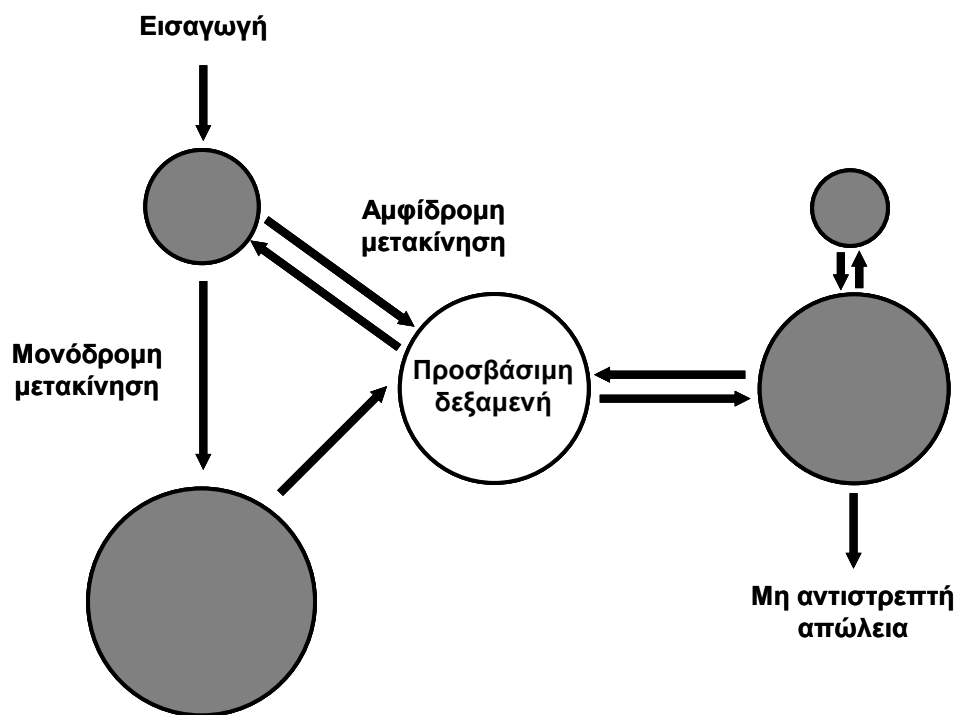
Στοιχείο	Μαζικός αριθμός (Α)	Αφθονία στη φύση (%)	Στοιχείο	Μαζικός αριθμός (Α)	Αφθονία στη φύση (%)
H	1	99,985	Fe	54	5,820
	2	0,015		56	91,660
				57	2,190
C	12	98,890		58	0,330
	13	1,110	Zn		
N				64	48,890
	14	99,630		66	27,810
	15	0,370	67	4,110	
			68	18,570	
O	16	99,760		70	0,620
	17	0,037	Se		
	18	0,204		74	0,870
		76		9,020	
S	32	95,00		77	7,580
	33	0,760		78	23,520
	34	4,220		80	49,820
				82	9,19

Πίνακας 2.2. Περιεκτικότητα των σταθερών ισωτόπων στη φύση και το ανθρώπινο σώμα, καθημερινές προσλήψεις και τυπικές δόσεις ως ιχνηλάτες [91,92].

Στοιχείο	Αφθονία στη φύση (%)	Αφθονία στο ανθρώπινο σώμα*	Πρόσληψη (τροφή, νερό, αέρας)*	Ποσότητα ως ιχνηλάτες*
² H	0,015	15	6,90	1–80
¹³ C	1,110	2000	99,90	1–25
¹⁵ N	0,370	110	0,15	10–40
¹⁸ O	0,204	1300	127,40	60–180

* mg / kg σωματικού βάρους.

Οι ισοτοπικοί ιχνηλάτες χρησιμοποιούνται για να «σημαδέψουν» μία βιολογική ένωση (ιχνηθέτηση) και να ανιχνεύσουν την πορεία της μέσα σε ένα βιολογικό σύστημα. Τα βιολογικά συστήματα αντιπροσωπεύουν ένα σύνολο από υποστρώματα και μεταβολικές διεργασίες που βρίσκονται συνδεδεμένα μεταξύ τους, όπως για παράδειγμα είναι η μετατροπή των VLDL σε IDL και LDL. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της κινητικής ενός υποστρώματος, ή του ρυθμού με τον οποίο λαμβάνουν χώρα διάφορα μεταβολικά φαινόμενα μέσα στο σύστημα, απαιτεί τη χρήση ενός ιχνηλάτη και την ανάπτυξη ενός μοντέλου του υπό μελέτη βιολογικού συστήματος [93]. Η ΕΙΚΟΝΑ 2.7 αποτελεί τη σχηματική αναπαράσταση ενός πολύπλοκου βιολογικού συστήματος, στο οποίο οι κύκλοι αντιπροσωπεύουν ξεχωριστές οντότητες (διαμερίσματα ή δεξαμενές στο σώμα), που μπορεί να έχουν ανατομική, λειτουργική, ή βιοχημική σχέση. Στις *in vivo* μελέτες, υπάρχουν λίγα μόνο μέρη από όπου μπορεί να γίνει δειγματοληψία του συστήματος υπό μελέτη. Γενικά, το προσβάσιμο διαμέρισμα είναι το αίμα, τα ούρα ή η αναπνοή, δηλαδή τα διαμερίσματα εκείνα που παρεμβάλλονται ως όρια μεταξύ των διαφόρων οργάνων (αίμα) ή μεταξύ του σώματος και του περιβάλλοντος (ούρα, αναπνοή). Αναπόφευκτα, όμως, τα λειτουργικά ή βιοχημικά γεγονότα που μελετώνται λαμβάνουν χώρα εκτός των διαμερισμάτων αυτών, σε περιοχές μη προσβάσιμες για δειγματοληψία, π.χ. μέσα στα κύτταρα. Αυτά τα διαμερίσματα, καθώς και τα γεγονότα που συμβαίνουν μέσα σε αυτά, είναι επομένως κρυφά από τον παρατηρητή και απεικονίζονται με γκρι χρώμα στην ΕΙΚΟΝΑ 2.7. Υπάρχει ένα πλήθος από προσεγγίσεις στο πρόβλημα της περιγραφής της δυναμικής του συστήματος [89,94], που όλες όμως βασίζονται στη χρήση ενός ισοτοπικού ιχνηλάτη και ενός μαθηματικού μοντέλου του βιολογικού συστήματος. Τα πιο απλά μοντέλα, π.χ. για τον προσδιορισμό ορισμένων παραμέτρων του μεταβολισμού της γλυκόζης, περιλαμβάνουν ένα ή λίγα μόνο διαμερίσματα [95], ενώ υπάρχουν περιπτώσεις, π.χ. για την περιγραφή του μεταβολισμού της λευκίνης, όπου ο αριθμός ανέρχεται έως και σε 16 διαμερίσματα [96].



Εικόνα 2.7. Σχηματική αναπαράσταση ενός βιολογικού συστήματος. Οι δεξαμενές μπορεί να αντιπροσωπεύουν δομικές, λειτουργικές ή βιοχημικές οντότητες. Η άσπρη δεξαμενή αντιπροσωπεύει μία περιοχή (π.χ. φλέβα) που είναι προσβάσιμη για την πρακτική ή ηθική δειγματοληψία του συστήματος. Οι γκρι δεξαμενές αντιπροσωπεύουν τις περιοχές εκείνες του συστήματος που δεν είναι προσβάσιμες για άμεση δειγματοληψία (π.χ. ενδοκυτταρικά διαμερίσματα). Τα βέλη ανατανακλούν την κίνηση υποστρωμάτων μεταξύ των δεξαμενών (αμφίδρομες ή μονόδρομες) καθώς και μέσα (εισαγωγή) και έξω (μη αντιστρεπτή απώλεια) από το σύστημα. Ένα από αυτά τα βέλη συνήθως αντιπροσωπεύει και τη μεταβολική διαδικασία υπό μελέτη, δηλαδή, το ρυθμό με τον οποίο λαμβάνει χώρα μια μετακίνηση υλικού στο σύστημα.

Ο βασικός κανόνας για την περιγραφή ενός βιολογικού συστήματος είναι η ανάπτυξη του απλούστερου δυνατού μοντέλου, δηλαδή, μιας υπόθεσης για τον τρόπο λειτουργίας του συστήματος που θα βασίζεται σε γνωστές ιδιότητες του συστήματος και θα συνάδει με τη φύση του πειράματος [97]. Αν το μοντέλο είναι πολύ απλό, δεν πρόκειται να προσφέρει ικανοποιητική προσομοίωση (fit) των πειραματικών δεδομένων, ενώ αν είναι πολύ περίπλοκο, τότε οι εκτιμήσεις των τιμών των παραμέτρων θα στερούνται στατιστικής εμπιστοσύνης [97]. Η περιγραφή των δεδομένων μπορεί να γίνει με ένα σύστημα μαθηματικών εξισώσεων σε συνδυασμό με ένα μηχανιστικό μοντέλο. Η αμιγής μαθηματική προσέγγιση μπορεί να περιγράψει τα πειραματικά δεδομένα χωρίς, ωστόσο, να λαμβάνει υπόψη τις μηχανιστικές ιδιότητες του συστήματος, ενώ αντίθετα, το μηχανιστικό μοντέλο βασίζεται σε γνωστούς φυσιολογικούς ή βιοχημικούς μηχανισμούς και έτσι οριοθετεί τη μαθηματική περιγραφή του

συστήματος. Για παράδειγμα, αν υποθεθεί ότι οι LDL παράγονται αποκλειστικά και μόνο στο πλάσμα από το σταδιακό καταβολισμό των VLDL (υπόθεση που μάλλον δεν ευσταθεί στην πράξη, καθώς υπάρχουν ενδείξεις ότι οι LDL μπορούν να παραχθούν και απευθείας από το ήπαρ), η μαθηματική περιγραφή αυτού του συστήματος θα υπόκειται στον απλό περιορισμό ότι ο ρυθμός παραγωγής LDL (από VLDL) δε μπορεί να είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό παραγωγής VLDL (από το ήπαρ). Η περίπλοκη φύση του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών καθιστά αναγκαία τη χρήση μηχανιστικών μοντέλων και, πιο συγκεκριμένα, πολυδιαμερισματικών μοντέλων για την ικανοποιητική περιγραφή του [98]. Σε ένα πολυδιαμερισματικό μοντέλο (όπως αυτό της ΕΙΚΟΝΑΣ 2.7), κάθε διαμέρισμα αντιπροσωπεύει μία ποσότητα κινητικά ομογενούς υλικού (π.χ. παλμιτικό στο πλάσμα, παλμιτικό στα VLDL-TG, γλυκερόλη στο πλάσμα, γλυκερόλη στα VLDL-TG, λευκίνη στο πλάσμα, λευκίνη στη VLDL-apoB-100, κλπ.). Κάθε πολυδιαμερισματικό μοντέλο αποτελείται από έναν πεπερασμένο αριθμό τέτοιων διαμερισμάτων τα οποία συνδέονται μεταξύ τους, υποδηλώνοντας τη μετακίνηση ή ανταλλαγή υλικού από το ένα διαμέρισμα στο άλλο (π.χ. γλυκερόλη του πλάσματος προσλαμβάνεται από το ήπαρ και μετατρέπεται τελικά σε γλυκερόλη των VLDL-TG). Πολύ συχνά στην περίπτωση των λιποπρωτεϊνών, παρατηρείται κινητική ετερογένεια μέσα σε κάθε λιποπρωτεϊνικό κλάσμα (π.χ. τα VLDL-TG και η VLDL-apoB-100 έχουν διαφορετική μεταβολική συμπεριφορά ανάλογα με το αν πρόκειται για μεγάλα ή μικρά σωματίδια VLDL), γεγονός που μπορεί να περιγραφεί με πολύπλοκες δομές στο μοντέλο, το άθροισμα των οποίων ισούται με το μετρούμενο λιποπρωτεϊνικό κλάσμα.

Η μαθηματική περιγραφή ενός βιολογικού συστήματος μπορεί να γίνει με τη χρήση μιας ομάδας διαφορικών εξισώσεων, που επιλύονται με τη βοήθεια κατάλληλου λογισμικού [99,100]. Οι μεταβλητές σε αυτές τις εξισώσεις αντιστοιχούν στα υποστρώματα, ενώ οι σταθεροί όροι (παράμετροι) αντιστοιχούν στους ρυθμούς με τους οποίους λαμβάνουν χώρα οι μεταβολικές διαδικασίες μέσα στο σύστημα. Στην ουσία, η κινητική ενός βιολογικού συστήματος σπανίως είναι σταθερή (τα περισσότερα συστήματα, δηλαδή, συμπεριφέρονται με μη γραμμικό τρόπο), ωστόσο στην πράξη, μικρές μεταβολές στο σύστημα μπορούν να περιγραφούν με αποδεκτή ακρίβεια με τη χρήση μιας ομάδας γραμμικών διαφορικών εξισώσεων με σταθερούς όρους [101,102]. Κάτω από αυτές τις συνθήκες σταθερής κατάστασης (steady state), τα δεδομένα που αποκομίζονται από τους ιχνηλάτες δίνουν τη δυνατότητα άμεσου προσδιορισμού των τιμών των παραμέτρων των διαφορικών εξισώσεων και, κατά συνέπεια, παρέχουν μια εκτίμηση των ρυθμών με τους οποίους λαμβάνει χώρα η μετακίνηση υλικού μέσα στο σύστημα. Όταν, όμως, ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών βρίσκεται κάτω από μη σταθερές συνθήκες (non-steady state), όπως π.χ. μετά από ένα γεύμα πλούσιο σε λίπος όπου οι μεταβολές που συμβαίνουν στο

σύστημα είναι μεγάλες, τότε η κινητική του συστήματος είναι μη γραμμική και η «λύση» γίνεται πολύ περίπλοκη. Για το λόγο αυτό, οι μελέτες με ιχνηλάτες για τον προσδιορισμό των κινητικών παραμέτρων του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 πραγματοποιούνται κατά κανόνα σε κατάσταση νηστείας, όταν δηλαδή οι μεταβολές στο σύστημα είναι μικρές και μπορεί να γίνει παραδοχή σταθερής κατάστασης [98,103].

Μία σημαντική έλλειψη στη μεθοδολογική βιβλιογραφία είναι η πλήρης απουσία δεδομένων σχετικά με την επαναληψιμότητα των ισοτοπικών μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Η επαναληψιμότητα και το μέγεθος της ενδοατομικής διακύμανσης καθορίζουν τη δύναμη του στατιστικού ελέγχου μιας μελέτης καθώς και το μέγεθος του δείγματος που απαιτείται για την ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών. Επομένως, ένας από τους στόχους της παρούσας διατριβής είναι ο προσδιορισμός της επαναληψιμότητας των ρυθμών παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 στο μεταποροφορικό στάδιο (MELETH #1).

Κινητική της VLDL-apoB-100

Οι μελέτες κινητικής της VLDL-apoB-100 μπορούν να πραγματοποιηθούν χρησιμοποιώντας είτε εξωγενή είτε ενδογενή ιχνηθέτηση. Κάθε προσέγγιση έχει τόσο πλεονεκτήματα όσο και μειονεκτήματα. Η εξωγενής ιχνηθέτηση περιλαμβάνει την απομόνωση του υπό μελέτη λιποπρωτεϊνικού κλάσματος (π.χ. VLDL) και την άμεση ιχνηθέτηση της apoB-100 σε συνθήκες *ex vivo* για τη δημιουργία του ιχνηλάτη, συνηθέστερα με χρήση ραδιενεργού ιωδίου [104]. Στη συνέχεια, ο ιχνηλάτης επανεισάγεται στο σώμα (*in vivo*) και παρακολουθείται η μεταβολική του πορεία. Η τεχνική αυτή επιτρέπει την άμεση μελέτη του καταβολισμού, ωστόσο, ο ρυθμός παραγωγής μπορεί να εκτιμηθεί μόνο με έμμεσο τρόπο. Στα μειονεκτήματα αυτής της τεχνικής περιλαμβάνονται αφενός το γεγονός ότι η διαδικασία απομόνωσης και ραδιενεργούς ιχνηθέτησης μπορεί να τροποποιήσει τη χημική δομή της apoB-100 ή/και του λιποπρωτεϊνικού σωματιδίου αυτού καθεαυτού, με αποτέλεσμα την πιθανή αλλαγή της κινητικής συμπεριφοράς *in vivo* [105] και, αφετέρου, ηθικοί περιορισμοί σχετικά με τη χρήση ραδιενεργών ισοτόπων σε μελέτες με ανθρώπους [106]. Επιπλέον, η απομόνωση και η *ex vivo* ιχνηθέτηση μιας λιποπρωτεΐνης (π.χ. VLDL) που κυκλοφορεί στο πλάσμα σε μια δεδομένη χρονική στιγμή, κάτω από ορισμένες συνθήκες, ενδέχεται να μην παρέχουν έναν ιχνηλάτη που να αντανακλά με ρεαλιστικό τρόπο την κινητική όλων των λιποπρωτεϊνικών υποπληθυσμών (π.χ. μεγάλες και μικρές VLDL) αυτής της λιποπρωτεΐνης σε συνθήκες *in vivo* [107,108].

Η ενδογενής ιχνηθέτηση γίνεται με τη χρήση αμινοξέων [109,110,111]. Η λευκίνη έχει πολλά πλεονεκτήματα ως ιχνηθέτης πρωτεϊνών, ιδιαίτερα της apoB-100 [112], ωστόσο και άλλα αμινοξέα έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς [113,114]. Η λευκίνη είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ και ως εκ τούτου δε συντίθεται ενδογενώς, ενώ τα προϊόντα αποικοδόμησής της δεν ενσωματώνονται σε άλλα αμινοξέα. Με την ενδογενή ιχνηθέτηση, το υπόστρωμα υπό μελέτη (apoB-100) «σημαδεύεται» από ένα αμινοξύ, δηλαδή από έναν ιχνηλάτη που αποτελεί πρόδρομο της πρωτεΐνης και επομένως αντανακλά τη σύνθεσή της. Ωστόσο, η άμεση εισαγωγή στο σύστημα (δηλαδή, η ποσότητα του αμινοξέος που θα ενσωματωθεί στην πρωτεΐνη) είναι πολύ δύσκολο να προσδιοριστεί λόγω της πολυπλοκότητας των μηχανισμών σύνθεσης και έκκρισης της apoB-100 στις VLDL μέσα στο ηπατοκύτταρο. Παρόλα αυτά, η τεχνική αυτή επιτρέπει τον ταυτόχρονο προσδιορισμό της κινητικής μιας σειράς απολιποπρωτεϊνών που ιχνηθετούνται ενδογενώς από το χορηγούμενο αμινοξύ (π.χ. apoB, apoC, apoE) και επομένως επιτρέπει τη μελέτη του μεταβολισμού τους στο ίδιο άτομο [113,115,116]. Στα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου περιλαμβάνονται η πολύπλοκη κινητική των αμινοξέων προδρόμων και οι δυσκολίες στον ποσοτικό προσδιορισμό της μετακίνησης του ιχνηλάτη από και προς απολιποπρωτεΐνες με σχετικά αργό ρυθμό ανακύκλωσης [101,117], γεγονός που προϋποθέτει τη συλλογή πολλών δειγμάτων σε διάστημα πολλών ωρών ή και ημερών [114,118,119,120]. Η μελέτη της κινητικής της apoB-100 στις VLDL μπορεί να γίνει ικανοποιητικά με τη χρήση ενός και μόνο ιχνηλάτη σε διάστημα περίπου 8-12 ωρών [121,122], ενώ η μελέτη της apoB-100 σε περισσότερα του ενός λιποπρωτεϊνικά κλάσματα (π.χ. VLDL, IDL και LDL) προϋποθέτει την επέκταση της πειραματικής περιόδου για αρκετές ημέρες και ενδεχομένως τη χρήση πολλαπλών ιχνηλατών [123]. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι VLDL στο πλάσμα ανακυκλώνονται περίπου 20 φορές γρηγορότερα από ό,τι οι LDL [124,125].

Στην προσπάθειά τους να προσδιορίσουν τις πιο κατάλληλες πειραματικές συνθήκες, οι Parhofer *et al* [114] διεξήγαγαν μία μελέτη στην οποία χρησιμοποίησαν [$1\text{-}^{13}\text{C}$]λευκίνη (ένα απαραίτητο αμινοξύ) και [^{15}N]γλυκίνη (ένα μη απαραίτητο αμινοξύ). Οι ιχνηλάτες χορηγήθηκαν είτε ως ένεση είτε ως συνεχής έγχυση με σταθερό ρυθμό, ενώ τρεις διαφορετικές προσεγγίσεις χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή του μεταβολισμού της apoB-100. Οι δύο από αυτές, η γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης και η μονοεκθετική ανάλυση, έκαναν χρήση των λόγων ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο (tracer to tracee ratio, TTR) κατά τη διάρκεια της συνεχούς έγχυσης για τον προσδιορισμό των κινητικών παραμέτρων της VLDL-apoB-100. Η τρίτη προσέγγιση έκανε χρήση ενός πολύδιαμερισματικού μοντέλου για τον προσδιορισμό των παραμέτρων κινητικής της apoB-100 στις VLDL, τις IDL και τις LDL, χρησιμοποιώντας τους

TTR τόσο από την ένεση όσο και από τη συνεχή έγχυση των ιχνηλατών. Σε αντίθεση με τις άλλες μεθόδους, το πολυδιαμερισματικό μοντέλο χρησιμοποιεί τις πληροφορίες που παρέχονται από τον ιχνηλάτη σε ολόκληρη τη διάρκεια του πειραματικού πρωτοκόλλου, δηλαδή τόσο κατά την αύξηση όσο και κατά την πτώση του TTR (εμπλουτισμού) σε όλα τα λιποπρωτεϊνικά κλάσματα. Τα αποτελέσματα από αυτή τη μελέτη υπέδειξαν ότι οι κινητικές παράμετροι του μεταβολισμού της apoB-100 είναι ανεξάρτητες από τον ιχνηλάτη (λευκίνη ή γλυκίνη) και τον τρόπο χορήγησής του (ένεση ή συνεχής έγχυση). Επιπλέον, το πολυδιαμερισματικό μοντέλο, λόγω της ικανότητάς του να αντανακλά την πολυπλοκότητα του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών, παρέχει επιπρόσθετες πληροφορίες που δε μπορούν να αποκομιστούν από τις άλλες μεθόδους.

Για τους λόγους αυτούς, στην παρούσα διατριβή θα χρησιμοποιηθεί η μέθοδος της ενδογενούς ιχνηθέτησης της VLDL-apoB-100 με δευτεριωμένη λευκίνη, που θα χορηγηθεί στην αρχή της μελέτης ως ένεση και μετά ως συνεχής έγχυση με σταθερό ρυθμό για διάστημα 12 ωρών, ενώ τα δεδομένα θα αναλυθούν με τη χρήση ενός πολυδιαμερισματικού μοντέλου [121,122].

Κινητική των VLDL-TG

Οι πρώτες μελέτες του μεταβολισμού των VLDL-TG έκαναν χρήση ιχνηλατών με ραδιενεργά ισότοπα, συνηθέστερα γλυκερόλη ή λιπαρά οξέα ιχνηθετημένα με ^{14}C ή ^3H . Μια προσέγγιση ήταν η συνεχής έγχυση ενός ιχνηθετημένου λιπαρού οξέος και η παρακολούθηση της εκπομπής ραδιενέργειας (εμπλουτισμός) από τα λιπαρά οξέα που ενσωματώνονταν στα VLDL-TG για διάστημα 4-8 ωρών [126,127,128,129,130]. Ο εμπλουτισμός των λιπαρών οξέων στα VLDL-TG αυξανόταν προοδευτικά έως ένα σημείο plateau και η ανάλυση των δεδομένων γινόταν με μονοεκθετική συνάρτηση. Πιο συχνά, όμως, χορηγούνταν μία ένεση ραδιενεργούς γλυκερόλης και τα πειραματικά δεδομένα, που συλλέγονταν για μια περίοδο 6-18 ωρών, χρησιμοποιούνταν για τον προσδιορισμό της κλίσης της ευθείας που περιέγραφε την ελάττωση του εμπλουτισμού της γλυκερόλης στα VLDL-TG [131,132,133,134, 135,136,137,138,139,140]. Η παρουσία μιας «καμπούρας» στην ουρά της καμπύλης που παρατηρήθηκε από ορισμένους ερευνητές μετά από περίπου 6-12 ώρες [136,139,140] ήταν αποτέλεσμα ανακύκλωσης του ιχνηλάτη, δηλαδή ιχνηλάτη που αποθηκευόταν αρχικά στο ήπαρ και εκκρινόταν αργότερα στα VLDL-TG με καθυστέρηση κάποιων ωρών, ή ιχνηλάτη που εκκρινόταν άμεσα στα VLDL-TG, απελευθερώνονταν κατά τη διάρκεια της λιπόλυσης των VLDL-TG στην κυκλοφορία, επαναπροσλαμβάνονταν από το ήπαρ και εκκρινόταν ξανά στα VLDL-TG. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα

τα δεδομένα να μη μπορούν να προσομοιωθούν ικανοποιητικά με τη χρήση μονοεκθετικών ή γραμμικών λογαριθμικών συναρτήσεων και οδήγησε στην επέκταση του πειραματικού πρωτοκόλλου για 24 ώρες ή και περισσότερο και τη χρήση πολυδιαμερισματικών μοντέλων, χρησιμοποιώντας είτε γλυκερόλη [141,142,143] είτε λιπαρά οξέα [144,145] ιχνηθετημένα με ραδιενεργά ισότοπα.

Οι περισσότερες σύγχρονες μελέτες χρησιμοποιούν ιχνηλάτες με σταθερά ισότοπα για τον προσδιορισμό των κινητικών παραμέτρων του μεταβολισμού των VLDL-TG. Μια ποικιλία από μεθόδους έχουν αναπτυχθεί, όπως η συνεχής έγχυση λιπαρών οξέων ή γλυκερόλης με ^{13}C σε συνδυασμό με μονοεκθετική ανάλυση των δεδομένων [146,147,148], η συνεχής έγχυση οξικού οξέος με ^{13}C για τον υπολογισμό του ρυθμού της de novo λιπογένεσης στο ήπαρ και της ενσωμάτωσης των νεοσυντιθέμενων λιπαρών οξέων στα VLDL-TG [149], καθώς και η χορήγηση ένεσης γλυκερόλης με ^2H σε συνδυασμό με μονοεκθετική ανάλυση των δεδομένων [150]. Πιο πρόσφατα, αναπτύχθηκαν δύο μέθοδοι που βασίζονται στη χορήγηση ένεσης δευτεριωμένης γλυκερόλης και κάνουν χρήση πολυδιαμερισματικών μοντέλων για τον προσδιορισμό των κινητικών παραμέτρων του μεταβολισμού των TG στις VLDL [151] ή στους υποπληθυσμούς των VLDL [152]. Με βάση συγκριτικά αποτελέσματα από τις μελέτες αυτές, προέκυψε ότι οι άλλες τεχνικές που βασίζονται σε διαφορετικούς ιχνηλάτες, διαφορετικές μεθόδους χορήγησης και διαφορετική μαθηματική προσέγγιση για την ανάλυση των δεδομένων, οδηγούν σε υποεκτίμηση των ρυθμών ανακύκλωσης των VLDL-TG σε σχέση με την ένεση δευτεριωμένης γλυκερόλης σε συνδυασμό με το πολυδιαμερισματικό μοντέλο [151].

Όλες οι παραπάνω τεχνικές χρησιμοποιούν έναν ιχνηθετημένο πρόδρομο των TG (γλυκερόλη, λιπαρά οξέα, οξικό οξύ) που τελικά ενσωματώνεται στη δομή των VLDL-TG μέσα από διάφορα βιοχημικά μονοπάτια. Έχουν γίνει ορισμένες προσπάθειες για την ανάπτυξη πιο άμεσων μεθόδων για τον προσδιορισμό της κινητικής των VLDL-TG, αλλά δυστυχώς αυτές δεν είναι εύκολα εφαρμόσιμες στις μελέτες με ανθρώπους. Μια τέτοια τεχνική είναι η εξωγενής ιχνηθέτηση των VLDL-TG (όπως ακριβώς και στην περίπτωση της VLDL-apoB-100) με ραδιενεργά ισότοπα και η επαναχορήγησή τους με ένεση ή συνεχή έγχυση [136,144,153,154]. Η μέθοδος αυτή συνδυάστηκε με μια ποικιλία προσεγγίσεων για την ανάλυση των δεδομένων, όπως εκθετικές συναρτήσεις πρώτου και δευτέρου βαθμού και πολυδιαμερισματικά μοντέλα [136,144,153,154]. Πρόσφατα, περιγράφηκε μια ανάλογη μέθοδος για τον προσδιορισμό του ρυθμού παραγωγής των VLDL-TG χρησιμοποιώντας σταθερά ισότοπα. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει την *in vivo* ιχνηθέτηση της γλυκερόλης των VLDL-TG με χορήγηση [$^{13}\text{C}_3$]γλυκε-

ρόλης, πλασμαφαίρεση για την απομόνωση των ήδη ιχνηθετημένων VLDL-TG και ομόλογη επαναχορήγηση με συνεχή έγχυση [155]. Η ανάλυση των δεδομένων στην περίπτωση αυτή γίνεται με βάση την πολύ απλή αρχή της διάλυσης του ισοτοπικού ιχνηλάτη ($^{13}\text{C}_3$ -VLDL-TG-γλυκερόλη) στο πλάσμα [155]. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα απαιτητική, καθώς η *in vivo* ιχνηθέτηση των VLDL-TG πρέπει να γίνει στις ίδιες ακριβώς συνθήκες κάτω από τις οποίες θα πραγματοποιηθεί και η μεταβολική μελέτη (δηλαδή, πρέπει να πραγματοποιηθούν διπλές δοκιμές). Ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα όλων αυτών των μεθόδων είναι η πιθανή τροποποίηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των σωματιδίων VLDL κατά την απομόνωσή τους και την κατεργασία τους προς παραγωγή του ιχνηλάτη, γεγονός που ενδέχεται να διαφοροποιήσει την κινητική τους σε συνθήκες *in vivo*, όταν δηλαδή επανεισαχθούν στον οργανισμό.

Για τους λόγους αυτούς, στην παρούσα διατριβή θα χρησιμοποιηθεί η μέθοδος της ένεσης δευτεριωμένης γλυκερόλης για την ιχνηθέτηση των VLDL-TG και τα πειραματικά δεδομένα θα αναλυθούν με τη χρήση ενός πολυδιαμερισματικού μοντέλου [151]. Επιπλέον, με την ταυτόχρονη συνεχή έγχυση ιχνηθετημένων λιπαρών οξέων και τη χρήση του ίδιου πολυδιαμερισματικού μοντέλου, θα γίνει και ο διαχωρισμός της σχετικής συνεισφοράς των λιπαρών οξέων από το πλάσμα (FFA της συστηματικής κυκλοφορίας) και των λιπαρών οξέων από άλλες, μη συστηματικές πηγές (π.χ. από *de novo* λιπογένεση στο ήπαρ ή από λιπόλυση των ενδοηπατικών αποθηκών TG) στη συνολική παραγωγή VLDL-TG [121,122].

2.4 Φύλο, ορμόνες του φύλου, εμμηνόπαυση και μεταβολισμός των VLDL

Οι γυναίκες στην αναπαραγωγική ηλικία έχουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις TG και apoB-100 στο πλάσμα από ό,τι οι άνδρες παρόμοιας ηλικίας, όπως έχει παρατηρηθεί σε μια πληθώρα επιδημιολογικών μελετών, π.χ. Framingham Heart Study [22,23,156,157], Lipid Research Clinics Study [158,159,160], Atherosclerosis Risk in Communities Study [161,162] και άλλες [24,25]. Μάλιστα, μελέτες στις οποίες πραγματοποιήθηκε απομόνωση με υπερφωγοκέντρηση των επιμέρους λιποπρωτεϊνών του πλάσματος, υποδεικνύουν ότι οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στη συγκέντρωση των ολικών TG οφείλονται αποκλειστικά και μόνο σε χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες, ενώ οι συγκεντρώσεις των TG στις LDL και τις HDL δε διαφέρουν [29,31].

Οι υποκείμενοι μηχανισμοί που ευθύνονται για τη διαφορά μεταξύ των δύο φύλων στη συγκέντρωση των VLDL-TG δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένοι. Λίγες μόνο μελέτες έχουν αξιολογήσει την επίδραση του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL-TG [138,139,163]. Περισσότερο από 30 χρόνια πριν, αναφέρθηκε ότι η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία στις γυναίκες, χωρίς όμως να υπάρχουν διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ [138,139]. Ωστόσο, οι εθελοντές σε αυτές τις μελέτες είχαν ποικίλο σωματικό βάρος και μεγάλο εύρος στις συγκεντρώσεις των διαφόρων λιπιδίων στο πλάσμα [138,139], γεγονός που από μόνο του επηρεάζει την κινητική των VLDL-TG [142] και, επομένως, αποτελεί ένα συγχυτικό παράγοντα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σχετικά με το ρόλο του φύλου. Επιπλέον, αποδείχθηκε πρόσφατα ότι οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτές τις μελέτες υποεκτιμούν το ρυθμό ανακύκλωσης των VLDL-TG σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό [151]. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη, όπου αξιολογήθηκαν οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων ανάμεσα σε νορμοβαρή και νορμολιπιδαιμικά μόνο άτομα, παρατηρήθηκε ότι η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες οφείλεται μεν σε υψηλότερο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία, ο οποίος όμως υπερκεράζει τον επίσης υψηλότερο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ στις γυναίκες [163]. Στην ίδια μελέτη, παρατηρήθηκε ότι η παχυσαρκία έχει διαφορετική επίδραση στο μεταβολισμό των VLDL-TG στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες [163], κάτι που υποδεικνύει ότι τα αποτελέσματα των παλαιότερων μελετών που αναφέρονταν σε άνδρες και γυναίκες με ποικίλο σωματικό βάρος και συγκεντρώσεις λιπιδίων στο πλάσμα [138,139] ίσως να μην είναι απολύτως έγκυρα.

Ανεξάρτητα από την παραπάνω αβεβαιότητα, καμία μελέτη μέχρι σήμερα δεν έχει αξιολογήσει αυτοτελώς τις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό της VLDL-apoB-100 [164]. Αυτό το γεγονός αποτελεί μία σημαντική παράλειψη, καθώς, ο μεταβολισμός των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 αποτελούν συνδεδεμένες αλλά σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες μεταβολικές πορείες (*Κεφάλαιο 2.2*). Κατά συνέπεια, διαφορές στην κινητική των VLDL-TG δεν αντικατοπτρίζουν απαραίτητα και διαφορές στην κινητική της VLDL-apoB-100, όπως έχει δειχθεί προηγουμένως κάτω από άλλες συνθήκες, π.χ. μετά από μια δίαιτα πλούσια σε υδατάνθρακες [165], μετά από απώλεια βάρους [121,122] ή στην περίπτωση συγγενούς υπερτριγλυκεριδαιμίας [166]. Επομένως, ένας από τους στόχους της παρούσας διατριβής είναι ο ταυτόχρονος προσδιορισμός των ρυθμών παραγωγής και απομάκρυνσης των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στο μεταπορροφητικό στάδιο σε υγιείς (νορμοβαρείς και νορμολιπιδαιμι-

κούς) άνδρες και γυναίκες, έτσι ώστε να αξιολογηθεί η επίδραση του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL (ΜΕΛΕΤΗ #5).

Οι συγκεντρώσεις των TG και της apoB-100 στο πλάσμα συνήθως αυξάνονται στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση [156,157,159], με αποτέλεσμα να είναι γενικά υψηλότερες στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [26,27,167]. Ωστόσο, αρκετές μελέτες παρέχουν δεδομένα που υποστηρίζουν την πιθανότητα ότι αυτές οι διαφορές στο λιπιδαιμικό προφίλ ίσως να μην οφείλονται στην εμμηνόπαυση αυτή καθαυτή – δηλαδή στη σχετική ένδεια των ορμονών του φύλου – αλλά αντίθετα, να σχετίζονται με ένα πλήθος άλλων φυσιολογικών αλλαγών που λαμβάνουν χώρα μετά την εμμηνόπαυση, όπως είναι η αυξανόμενη ηλικία, η «φυσιολογική» αύξηση του σωματικού βάρους ή και του ποσοστού λίπους, η ανακατανομή του σωματικού λίπους, κ.α. [168,169,170,171,172,173, 174]. Παρόλα αυτά, ακόμα δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 κατά το μεταπορροφητικό στάδιο. Έτσι λοιπόν, ένας από τους στόχους της παρούσας διατριβής είναι ο ταυτόχρονος προσδιορισμός των ρυθμών παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία) σε προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με παρόμοιο σωματικό βάρος και ποσοστό λίπους, έτσι ώστε να αξιολογηθεί η επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL (ΜΕΛΕΤΗ #4).

Το ευνοϊκότερο λιπιδαιμικό προφίλ των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών σε σχέση με τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και τους άνδρες παραπέμπει στις βασικές ορμόνες του φύλου ως πιθανώς υπεύθυνες για τις παρατηρούμενες διαφορές στη συγκέντρωση των TG και της apoB-100 στο πλάσμα. Οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης είναι υψηλότερες στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες από ό,τι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και στους άνδρες. Δύο είναι οι βασικές προσεγγίσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση του ρόλου των ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100: η μελέτη των επιδράσεων που έχουν οι εξωγενώς χορηγούμενες ορμόνες (οιστρογόνα και προγεστίνες) και η μελέτη των αλλαγών που συνοδεύουν τις φυσιολογικές διακυμάνσεις στις ενδογενείς ορμόνες (οιστραδιόλη και προγεστερόνη) κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου. Ανεξάρτητα από το είδος της προσέγγισης, τα αποτελέσματα των μελετών που αξιολόγησαν τις επιδράσεις των ορμονών του φύλου στη συγκέντρωση και την κινητική των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 είναι διφορούμενα. Η λήψη οιστρογόνων από το στόμα έχει αναφερθεί ότι αυξάνει το ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [175,176,177] και ότι δεν

επηρεάζει [175,176] ή ότι αυξάνει το ρυθμό απομάκρυνσής της από την κυκλοφορία [177]. Η συνδυασμένη χορήγηση οιστρογόνων και προγεστινών έχει παρατηρηθεί να αυξάνει το ρυθμό έκκρισης VLDL-αποΒ-100 από το ήπαρ χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό απομάκρυνσης [178], να αυξάνει το ρυθμό απομάκρυνσης χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό έκκρισης [179], ή να μη μεταβάλλει ούτε το ρυθμό απομάκρυνσης ούτε το ρυθμό έκκρισης της VLDL-αποΒ-100 [180,181]. Όσον αφορά στα VLDL-TG, φαίνεται ότι τα οιστρογόνα, όταν λαμβάνονται από το στόμα είτε μόνα τους είτε σε συνδυασμό με προγεστίνες, αυξάνουν το ρυθμό ηπατικής παραγωγής, ενώ ο ρυθμός απομάκρυνσης από την κυκλοφορία παραμένει αμετάβλητος ή αυξάνεται ελαφρώς [182,183,184,185]. Δεν αποτελεί έκπληξη, λοιπόν, το γεγονός ότι η χρήση εξωγενών ορμονών του φύλου οδηγεί σε ποικίλες μεταβολές στις συγκεντρώσεις των TG και της αποΒ-100 στο πλάσμα, ανάλογα με τον τύπο των οιστρογόνων και των προγεστινών, τη δοσολογία και την οδό χορήγησης [186]. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί ότι τα από του στόματος χορηγούμενα οιστρογόνα αυξάνουν τη συγκέντρωση των ολικών TG και των VLDL-TG στο πλάσμα, ενώ τα παρεντερικώς χορηγούμενα οιστρογόνα έχουν διαμετρικά αντίθετες επιδράσεις και ελαττώνουν τη συγκέντρωση των ολικών TG και των VLDL-TG [187]. Ακόμη, το εύρημα ότι τα οιστρογόνα αυξάνουν το ρυθμό παραγωγής της VLDL-αποΒ-100 από το ήπαρ όταν λαμβάνονται από το στόμα αλλά όχι όταν λαμβάνονται διαδερμικά (παρεντερική χορήγηση), παρόλο που και οι δύο τρόποι χορήγησης οδηγούν σε παρόμοια αύξηση των επιπέδων των οιστρογόνων στη συστηματική κυκλοφορία [176], υποδηλώνει ότι οι παρατηρούμενες επιδράσεις των εξωγενών ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL είναι αποτέλεσμα άμεσων επιδράσεων στις μεταβολικές λειτουργίες του ήπατος μετά τη λήψη από το στόμα και την απορρόφηση από το γαστρεντερικό σωλήνα και δεν αντανακλούν απαραίτητως το ρόλο των ορμονών αυτών υπό φυσιολογικές συνθήκες [188].

Καμία μελέτη μέχρι σήμερα δεν έχει αξιολογήσει τις πιθανές αλλαγές στην κινητική των VLDL-TG και της VLDL-αποΒ-100 που ενδεχομένως λαμβάνουν χώρα ως αποτέλεσμα των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου. Βέβαια, πολλοί ερευνητές στο παρελθόν έχουν μετρήσει τις συγκεντρώσεις των TG και της αποΒ-100 σε διάφορες φάσεις του κύκλου. Οι περισσότεροι δεν παρατήρησαν σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα [189,190,191,192] και τις VLDL [193,194,195] και στη συγκέντρωση της αποΒ-100 στο πλάσμα [190,196,197], αν και υπάρχουν ορισμένες αναφορές περί σημαντικών διακυμάνσεων, π.χ. κατά την ωορρηξία [198,199,200,201]. Είναι προφανές ότι τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την επίδραση των ορμονών του φύλου στην κινητική των VLDL-TG και της VLDL-αποΒ-100 (μελέτες με εξωγενείς ορμόνες) και αυτά σχετικά με την επίδραση των διακυμάνσεων των ενδογενών

ορμονών του φύλου στις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 (μελέτες κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου) δεν επαρκούν για να ερμηνευθεί ικανοποιητικά ο ρόλος της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στο μεταβολισμό των VLDL. Επομένως, ένας από τους στόχους της παρούσας διατριβής είναι ο προσδιορισμός των ρυθμών παραγωγής και απομάκρυνσης των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 κατά το στάδιο της νηστείας σε διαφορετικές φάσεις του έμμηνου κύκλου που χαρακτηρίζονται από διαφορετικές συγκεντρώσεις οιστραδιόλης και προγεστερόνης (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3).

2.5 Άσκηση και μεταβολισμός των VLDL

Υπάρχει πλήθος δεδομένων που υποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι η τακτική αερόβια άσκηση (προπόνηση) έχει ευεργετικές επιδράσεις στο λιπιδαιμικό προφίλ σε σχέση με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, ορισμένες από τις οποίες είναι ορατές ήδη μετά από μία και μόνο συνεδρία άσκησης (οξεία άσκηση) [28,202,203,204,205,206]. Οι κυριότερες από τις επιδράσεις αυτές συνοψίζονται στον ΠΙΝΑΚΑ 2.3. Είναι προφανές ότι, οι μεταβολές στις συγκεντρώσεις των διαφόρων λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών του πλάσματος που παρατηρούνται μετά από τακτική προπόνηση είναι, τουλάχιστον εν μέρει, αποτέλεσμα καθεμιάς από τις επαναλαμβανόμενες συνεδρίες αερόβιας άσκησης [202,206].

Πίνακας 2.3. Οι επιδράσεις της άσκησης στο λιπιδαιμικό προφίλ.

Λιπίδιο / Λιποπρωτεΐνη	Επίδραση τακτικής αερόβιας άσκησης (προπόνηση)	Επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης
Ολικά TG	Μείωση από 4 έως 37% Μέση μείωση κατά ~24%	Μείωση από 14 έως 50% Μέση μείωση κατά ~20%
Ολική χοληστερόλη	Καμία αλλαγή*	Καμία αλλαγή
LDL-χοληστερόλη	Καμία αλλαγή*	Καμία αλλαγή**
HDL-χοληστερόλη	Αύξηση από 4 έως 18% Μέση αύξηση κατά ~8%	Αύξηση από 4 έως 18% Μέση αύξηση κατά ~10%

* Καμία αλλαγή εφόσον το σωματικό βάρος και η διαίτα δεν αλλάζουν.

** Καμία αλλαγή εφόσον η συνεδρία άσκησης δεν είναι σημαντικά μεγάλης διάρκειας.

TG = τριακυλογλυκερόλες, LDL = λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας, HDL = λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας.

Τακτική και οξεία αερόβια άσκηση

Τόσο οι διατμηματικές μελέτες μεταξύ αθλουμένων και μη αθλουμένων όσο και οι προοπτικές μελέτες με προπόνηση υποδεικνύουν ότι η τακτική αερόβια άσκηση οδηγεί σε ελάττωση των συγκεντρώσεων των TG στο πλάσμα, το μέγεθος της οποίας φαίνεται ότι σχετίζεται με τις αρχικές συγκεντρώσεις TG [207,208,209]. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρείται σε άτομα που προηγουμένως ήταν εντελώς απροπόνητα καθώς και σε αυτά με υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις TG [208,210,211,212]. Αντίθετα, η μείωση είναι μικρότερου μεγέθους όταν οι αρχικές συγκεντρώσεις TG στο αίμα είναι σχετικά χαμηλές [213,214]. Οι επιδράσεις της προπόνησης στη συγκέντρωση της apoB-100 στο πλάσμα είναι αμφιλεγόμενες: ορισμένες μελέτες αναφέρουν μειώσεις [212,215,216] ενώ άλλες δεν παρατήρησαν αλλαγές [213,214,217,218] μετά την προπόνηση. Σε μια προοπτική μελέτη με προπονητικό πρόγραμμα διάρκειας 1 έτους, δεν αναφέρθηκε σημαντική αλλαγή στη μέση συγκέντρωση της apoB στο πλάσμα, ωστόσο, διαπιστώθηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ του όγκου της προπόνησης και της ελάττωσης της συγκέντρωσης της apoB [213].

Αξίζει να αναφερθεί ότι, οι συγκεντρώσεις των TG στο πλάσμα είναι σημαντικά χαμηλότερες σε προπονημένα άτομα από ό,τι σε απροπόνητα, μόνο όμως όταν οι μετρήσεις γίνουν εντός 1–2 ημερών από την τελευταία συνεδρία άσκησης [219,220]. Αν οι μετρήσεις γίνουν μετά το πέρας της περιόδου αυτής, τότε δεν παρουσιάζονται διαφορές στα επίπεδα TG μεταξύ αθλουμένων και μη αθλουμένων [219,220,221]. Αυτό το εύρημα αποτελεί μία ισχυρή ένδειξη ότι η υποτριγλυκεριδαιμική επίδραση της άσκησης είναι αποτέλεσμα της τελευταίας συνεδρίας και όχι αποτέλεσμα μακροχρόνιων μεταβολικών προσαρμογών στην τακτική προπόνηση. Αυτή η πιθανότητα διαφαίνεται ξεκάθαρα και στα αποτελέσματα προοπτικών μελετών που πραγματοποιήθηκαν ήδη τέσσερις δεκαετίες πριν [222].

Πολλές μελέτες συνηγορούν στο ότι μία και μόνο συνεδρία αερόβιας άσκησης 10–20 ώρες πριν από την κατανάλωση ενός γεύματος πλούσιου σε λιπαρά μειώνει σημαντικά τη μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία, σε βαθμό που εξαρτάται άμεσα από την ενεργειακή δαπάνη της άσκησης [223,224,225,226,227]. Η επίδραση αυτή, μάλιστα, είναι μεγαλύτερου μεγέθους από την αντίστοιχη επίδραση μιας παρόμοιας ενεργειακής δαπάνης που προκαλείται ως αποτέλεσμα υποθερμιακής δίαιτας [228,229,230] ή προπόνησης [219,228,231]. Ωστόσο, μία συνεδρία άσκησης μικρής διάρκειας (π.χ. μισή ώρα) και χαμηλής έντασης δεν επιφέρει αλλαγές στη συγκέντρωση των TG νηστείας του πλάσματος, είτε αμέσως μετά την άσκηση είτε κατά τις

ημέρες που ακολουθούν [232,233]. Όταν, όμως, η διάρκεια της άσκησης ξεπερνά τη 1 ώρα ή όταν η ενεργειακή δαπάνη ξεπερνά κάποιο κατώφλιο, η συγκέντρωση των TG νηστείας στο πλάσμα, αν και δε μεταβάλλεται αμέσως μετά το τέλος της άσκησης, εμφανίζεται σημαντικά μειωμένη περίπου 15–20 ώρες αργότερα [234,235, 236]. Τα δεδομένα από πολλές μελέτες υποδεικνύουν την ύπαρξη μιας υποτριγλυκεριδαιμικής περιόδου η οποία ξεκινά με καθυστέρηση περίπου 12 ωρών μετά το τέλος της άσκησης και διαρκεί 36–48 ώρες [32,36,222,231,237,238,239,240,241]. Είναι σημαντικό ότι, η μείωση στη συγκέντρωση των ολικών TG στο αίμα που παρατηρείται τόσο κατά το μεταγευματικό όσο και κατά το μεταπορροφητικό (νηστεία) στάδιο μετά από μία συνεδρία άσκησης οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά σε μειωμένη συγκέντρωση TG στις VLDL [36,238].

Πιθανοί μηχανισμοί υποτριγλυκεριδαιμίας λόγω άσκησης

Δύο είναι οι μηχανισμοί που πιθανολογούνται από τους περισσότερους ερευνητές ως υπεύθυνοι για την υποτριγλυκεριδαιμική επίδραση της άσκησης: αφενός, αυξημένη απομάκρυνση TG από την κυκλοφορία του αίματος λόγω αυξημένης δραστηριότητας της LPL στο σκελετικό μυ και, αφετέρου, μειωμένη έκκριση VLDL-TG από το ήπαρ [219,220,221,223,224,225,226,227,229, 238].

Η LPL είναι ένα ένζυμο που βρίσκεται στο αγγειακό ενδοθήλιο των περιφερειακών ιστών (κυρίως στο σκελετικό μυ και το λιπώδη ιστό) και είναι σε μεγάλο βαθμό υπεύθυνο για τη λιπόλυση των TG στον πυρήνα των VLDL (*Κεφάλαιο 2.2*). Άσκηση επαρκούς έντασης και διάρκειας που να εξαντλεί τα ενδομυϊκά TG φαίνεται ότι οδηγεί σε αύξηση της σύνθεσης LPL από το μυϊκό κύτταρο, με απώτερο σκοπό την αναπλήρωση των ενδομυϊκών αποθηκών TG [242]. Είναι ενδιαφέρον ότι, η αρχική φάση της υποτριγλυκεριδαιμικής περιόδου μετά την άσκηση σχεδόν συμπίπτει χρονικά με την περίοδο κατά την οποία παρατηρείται αυξημένη δραστηριότητα της LPL στο σκελετικό μυ [243,244,245]. Τα αποτελέσματα μελετών σε ανθρώπους υποδεικνύουν ότι η άσκηση προκαλεί μια παροδική αύξηση στα επίπεδα του μεταφορικού RNA, της πρωτεΐνης και της δραστηριότητας της LPL στο σκελετικό μυ, αλλά όχι στο λιπώδη ιστό [244]. Η αύξηση αυτή παρατηρείται περίπου 4 ώρες μετά το πέρας της συνεδρίας και διαρκεί για 15–20 ώρες [243,245]. Ωστόσο, από τη χρονική αυτή στιγμή και ύστερα, δεν παρατηρούνται αλλαγές στα επίπεδα της LPL στο σκελετικό μυ [243,245]. Αντίθετα, η συγκέντρωση των TG στο πλάσμα εμφανίζεται μειωμένη 15–20 ώρες μετά το τέλος της άσκησης και παραμένει μειωμένη για 36–48 ώρες [32,36,222,231,237,238,239, 240,241].

Ενδέχεται, λοιπόν, η υποτριγλυκεριδαιμία νηστείας μετά από αερόβια άσκηση να μην είναι αποτέλεσμα αυξημένης απομάκρυνσης TG από την κυκλοφορία (λόγω αυξημένης ενδοαγγειακής λιπόλυσης), αλλά να προκαλείται λόγω μειωμένης σύνθεσης και έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ. Αυτή η πιθανότητα υποστηρίζεται από το εύρημα ότι η πρόσληψη ολικών TG και VLDL-TG από το σκελετικό μυ (η οποία μετρήθηκε με τη βοήθεια αρτηριοφλεβικών διαφορών κατά μήκος του ιστού) στο στάδιο της νηστείας παραμένει αμετάβλητη περίπου 15 ώρες μετά το πέρας μίας παρατεταμένης συνεδρίας αερόβιας άσκησης, ενώ η συγκέντρωση των ολικών TG και των VLDL-TG στο αίμα είναι σημαντικά μειωμένες [37]. Επίσης, τα αποτελέσματα μελετών που αξιολόγησαν την ικανότητα κάθαρσης εξωγενών TG, με τη χρήση της ενδοφλέβιας δοκιμασίας ανοχής λίπους, είναι διφορούμενα: ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν αυξημένους ρυθμούς απομάκρυνσης TG μετά από μία συνεδρία άσκησης [230] ενώ άλλοι όχι [238]. Παράλληλα, πειράματα σε ζώα παρέχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η υποτριγλυκεριδαιμική επίδραση της άσκησης είναι αποτέλεσμα μειωμένης ηπατικής έκκρισης TG [246,247,248]. Είναι ακόμα πιθανό να λειτουργούν ταυτόχρονα και οι δύο μηχανισμοί (μειωμένη ηπατική παραγωγή και αυξημένη απομάκρυνση από την κυκλοφορία). Είναι προφανές ότι ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο η άσκηση οδηγεί σε ελάττωση της συγκέντρωσης των TG στο πλάσμα παραμένει ακόμα άγνωστος.

Επομένως, ένας από τους στόχους της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση του μηχανισμού μέσω του οποίου μία συνεδρία αερόβιας άσκησης οδηγεί σε υποτριγλυκεριδαιμία νηστείας (ΜΕΛΕΤΗ #6). Ακόμα, θα αξιολογηθεί εάν και με ποιο τρόπο η ενεργειακή δαπάνη της άσκησης (ΜΕΛΕΤΕΣ #6 και #7) και το φύλο (ΜΕΛΕΤΕΣ #7 και #8) επηρεάζουν την απόκριση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στην άσκηση.

3. Ερευνητικά κενά και στόχοι της διατριβής

Με βάση τα ερευνητικά κενά που προαναφέρθηκαν, οι στόχοι της παρούσας διατριβής μπορούν να συνοψισθούν ως εξής:

1. Να αξιολογηθεί in vivo η επαναληψιμότητα των μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των VLDL

Αν και η μελέτη της κινητικής (δηλαδή, των ρυθμών παραγωγής και απομάκρυνσης) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας για περισσότερο από 50 χρόνια [98,103], η επαναληψιμότητα των χρησιμοποιούμενων μεθόδων, το μέγεθος της ενδοατομικής διακύμανσης, καθώς και το δείγμα που απαιτείται για την ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών στις διάφορες κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL, παραμένουν ακόμα άγνωστα. Ο στόχος αυτός αποτελεί αντικείμενο της ΜΕΛΕΤΗΣ #1.

2. Να αξιολογηθούν οι επιδράσεις του φύλου, των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις ενδογενείς ορμόνες του φύλου και της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL

Οι συγκεντρώσεις των TG και της apoB-100 στο πλάσμα είναι χαμηλότερες στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες από ό,τι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [26,27] και στους άνδρες [23,24,25]. Οι υποκείμενοι μηχανισμοί που ευθύνονται για αυτές τις διαφορές δεν είναι γνωστοί, ενώ παραμένει ακόμα ασαφές αν και με ποιον τρόπο ο μεταβολισμός των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 επηρεάζεται από τις φυσιολογικές διακυμάνσεις στις βασικές ορμόνες του φύλου. Ο στόχος αυτός αποτελεί αντικείμενο της ΜΕΛΕΤΗΣ #2 (ρόλος της προγεστερόνης), της ΜΕΛΕΤΗΣ #3 (ρόλος της οιστραδιόλης), της ΜΕΛΕΤΗΣ #4 (ρόλος της εμμηνόπαυσης) και της ΜΕΛΕΤΗΣ #5 (ρόλος του φύλου).

3. Να αξιολογηθούν οι επιδράσεις μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL

Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης επαρκούς έντασης και διάρκειας προκαλεί ελάττωση στη συγκέντρωση των VLDL-TG την επόμενη ημέρα το πρωί (νηστεία) [36, 238]. Ωστόσο, ο μηχανισμός που ευθύνεται για την υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης

παραμένει ακόμα άγνωστος. Ο στόχος αυτός αποτελεί αντικείμενο της ΜΕΛΕΤΗΣ #6. Επιπρόσθετα, όταν η ένταση και η διάρκεια της άσκησης είναι ανεπαρκείς, δεν παρατηρούνται αλλαγές στη συγκέντρωση των TG του πλάσματος [232,233]. Η απόκριση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε άσκηση διαφορετικής ενεργειακής δαπάνης δεν είναι γνωστή. Ο στόχος αυτός αποτελεί αντικείμενο της ΜΕΛΕΤΗΣ #7 (σε συνδυασμό με τη ΜΕΛΕΤΗ #6). Ακόμα, οι πιθανολογούμενες διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο μεταβολισμό των VLDL-TG [138,139,163] εγείρουν την πιθανότητα ότι οι άνδρες και οι γυναίκες ίσως ανταποκρίνονται με διαφορετικό τρόπο στην άσκηση, κάτι που δεν έχει εξεταστεί ποτέ μέχρι σήμερα. Ο στόχος αυτός αποτελεί αντικείμενο της ΜΕΛΕΤΗΣ #8 (σε συνδυασμό με τη ΜΕΛΕΤΗ #7).

4. Μεθοδολογία

4.1 Εθελοντές

Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά 107 εθελοντές (35 άνδρες και 72 γυναίκες). Όλοι τους ήταν υγιείς, ενήλικες (ηλικία: 18-50 ετών), νορμοβαρείς (με δείκτη μάζας σώματος, body mass index, BMI: 18,5-25 kg/m²) ή παχύσαρκοι (BMI: 30-45 kg/m²). Όλες οι γυναίκες ήταν προεμμηνοπαυσιακές, με φυσιολογικό έμμηνο κύκλο και δεν έκαναν χρήση εξωγενών ορμονών του φύλου (π.χ. αντισυλληπτικών). Στη μελέτη συμμετείχαν ακόμα 8 παχύσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 50-60 ετών, οι οποίες είχαν περιέλθει σε εμμηνόπαυση με φυσιολογικό τρόπο (λόγω ηλικίας) για ≥ 12 μήνες και δε βρίσκονταν σε ορμονική θεραπεία αντικατάστασης.

Η διαλογή περιελάμβανε τη συμπλήρωση ιατρικού ιστορικού, φυσική εξέταση από γιατρό, ηλεκτροκαρδιογράφημα ηρεμίας (Q-710 Stress Monitor and Resting ECG, Quinton, Bothell, Γουάσινγκτον, ΗΠΑ) και συλλογή δείγματος αίματος νηστείας για τη διεξαγωγή βιοχημικών και αιματολογικών εξετάσεων. Οι εθελοντές αποκλείστηκαν από τη μελέτη εάν έπασχαν από οποιαδήποτε χρόνια ασθένεια (π.χ. υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης) και εάν παρουσίαζαν μη φυσιολογικές τιμές στις αναλύσεις αίματος (όπως αυτές αξιολογήθηκαν από τον υπεύθυνο γιατρό). Όλοι τους είχαν φυσιολογικές τιμές γλυκόζης νηστείας (<100 mg/dl) και ολικών TG πλάσματος (<150 mg/dl) και φυσιολογική αρτηριακή πίεση (<140/90 mmHg). Οι παχύσαρκοι εθελοντές υποβλήθηκαν ακόμα σε δοκιμασία ανοχής γλυκόζης από το στόμα (oral glucose tolerance test, OGTT, 75 g) και όλοι τους είχαν φυσιολογική ανοχή (συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα πριν και 2 ώρες μετά τη δοκιμασία <100 και <140 mg/dl, αντίστοιχα). Άλλα κριτήρια αποκλεισμού περιελάμβαναν το κάπνισμα, την κατανάλωση αλκοόλ (>1 μονάδα την ημέρα), τη συστηματική άσκηση (>2 ώρες την εβδομάδα), το μη φυσιολογικό έμμηνο κύκλο (για τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), καθώς και τη χρήση οποιωνδήποτε φαρμακευτικών σκευασμάτων (με την εξαίρεση των σκευασμάτων μικροθρεπτικών στοιχείων και τη μη συστηματική λήψη αντιαλλεργικών και αναλγητικών φαρμάκων).

Πριν από τη συμμετοχή τους στη μελέτη, οι εθελοντές ενημερώθηκαν προφορικά και γραπτώς για το σκοπό της μελέτης, τις πειραματικές διαδικασίες και τους πιθανούς κινδύνους και υπέγραψαν συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής, το οποίο είχε εγκριθεί από την Επιτροπή

Ανθρωπίνων Μελετών (Human Studies Committee) και τη Συμβουλευτική Επιτροπή του Γενικού Κέντρου Κλινικών Ερευνών (General Clinical Research Center Advisory Committee) της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Washington στο St. Louis, Μιζούρι, ΗΠΑ.

4.2 Προκαταρτικές δοκιμασίες

Ανθρωπομετρία

Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρήθηκε με τα εσώρουχα και χωρίς παπούτσια, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας (Detecto CN20, Cardinal Scale Manufacturing, Webb City, Μιζούρι, ΗΠΑ) και καταγράφηκε με ακρίβεια 0,1 kg. Το ύψος μετρήθηκε με τη χρήση εντοιχισμένου αναστημόμετρου (Seca, Αμβούργο, Γερμανία) και καταγράφηκε με ακρίβεια 0,1 cm. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν εις διπλούν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος του βάρους και του ύψους για κάθε εθελοντή, από όπου και στη συνέχεια υπολογίστηκε το BMI ως ο λόγος του βάρους (σε kg) δια το ύψος (σε m) εις το τετράγωνο.

Σύσταση σώματος

Η σύσταση του σώματος σε άλιπη και λιπώδη μάζα προσδιορίστηκε περίπου 2 εβδομάδες πριν από την έναρξη της μελέτης, με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτίνων X διπλής ενέργειας (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA), χρησιμοποιώντας το σκάνερ σώματος Delphi-W (Hologic, Waltham, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ). Ο συνολικός χρόνος σκαναρίσματος ήταν περίπου 10 λεπτά. Οι εθελοντές προσήλθαν για τη μέτρηση αυτή χωρίς να έχουν καταναλώσει τίποτα (φαγητό ή ποτό) κατά τις προηγούμενες 3 ώρες.

Μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου

Η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου (peak oxygen consumption, VO_2peak) προσδιορίστηκε περίπου 2 εβδομάδες πριν από την έναρξη της μελέτης (ΜΕΛΕΤΕΣ #6, #7 και #8). Αρχικά, οι εθελοντές εξοικειώθηκαν με την ποδηλασία στο στατικό κυκλοεργόμετρο (Ergoline 800S ergometer, SensorMedics, Yorba Linda, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) και τη χρήση της συσκευής μέσω της οποίας θα γινόταν η συλλογή αναπνευστικών αερίων (TrueOne 2400 Metabolic Measurement System, ParvoMedics, Salt Lake City, Γιούτα, ΗΠΑ) [249] συνεχώς κατά τη διάρκεια της άσκησης για

τον προσδιορισμό του ρυθμού πρόσληψης οξυγόνου (VO_2) και παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα (VCO_2), χρησιμοποιώντας μέσους όρους 15 sec. Η δοκιμασία ξεκίνησε με ελαφρά ποδηλασία για 4 λεπτά έναντι αντίστασης 50 W (ζέσταμα). Στη συνέχεια, η αντίσταση στο κυκλοεργόμετρο αυξανόταν με ρυθμό 25 W (για τους άνδρες) ή 20 W (για τις γυναίκες) ανά λεπτό μέχρι εκούσιας εξάντλησης ή μέχρις ότου παρατηρούταν σταθεροποίηση (plateau) στο ρυθμό πρόσληψης οξυγόνου παρόλη την αυξανόμενη αντίσταση, ενώ παράλληλα το αναπνευστικό πηλίκο (respiratory quotient, RQ, που ισούται με το λόγο VCO_2/VO_2) υπερέβαινε τη μονάδα για περισσότερο από 1 λεπτό [250]. Η καρδιακή λειτουργία παρακολουθούταν συνεχώς κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας από τον υπεύθυνο γιατρό μέσω ηλεκτροκαρδιογράφου (Q-710 Stress Monitor and Resting ECG, Quinton, Bothell, Γουάσινγκτον, ΗΠΑ). Οι εθελοντές παρέμειναν υπό παρακολούθηση για 10-15 λεπτά μετά το τέλος της δοκιμασίας.

4.3 Ερευνητικό πρωτόκολλο

Μελέτες - Δοκιμές

Οι εθελοντές που συμμετείχαν στις ΜΕΛΕΤΕΣ #3, #4 και #5 (διατμηματικές) πραγματοποίησαν μία δοκιμή, ενώ αυτοί που συμμετείχαν στις ΜΕΛΕΤΕΣ #1, #2, #6, #7 και #8 (συζευγμένες) πραγματοποίησαν δύο δοκιμές σε τυχαιοποιημένη σειρά. Για κάθε δοκιμή, οι εξεταζόμενοι προσήλθαν στη μεταβολική μονάδα το απόγευμα (17:00), αφού για τις τρεις προηγούμενες ημέρες είχαν αποφύγει κάθε είδους έντονη φυσική δραστηριότητα και είχαν ακολουθήσει μια τυπική για αυτούς δίαιτα. Στη συνέχεια, πραγματοποίησαν μία συνεδρία αερόβιας άσκησης (1 ή 2 ώρες) σε μέτρια ένταση (60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή απλά παρέμειναν καθισμένοι σε μια καρέκλα ή ξαπλωμένοι στο κρεβάτι (ανάπαυση), ανάλογα με το πρωτόκολλο της μελέτης στην οποία συμμετείχαν (ΕΙΚΟΝΑ 4.1). Η άσκηση (ΜΕΛΕΤΕΣ #6, #7 και #8) περιελάμβανε ποδηλασία σε στατικό ημικλινές κυκλοεργόμετρο (EC-C400R Ergometer, Cateye Fitness, Source Distributors, Dallas, Τέξας, ΗΠΑ), έναντι αντίστασης που αντιστοιχούσε στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$. Αναπνευστικά αέρια συλλέχθηκαν (TrueOne 2400 Metabolic Measurement System, ParvoMedics, Salt Lake City, Γιούτα, ΗΠΑ) [249] για 10 λεπτά στην αρχή της άσκησης και ανά τακτά χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκειά της (κάθε 15 λεπτά για τη συνεδρία 1 ώρας και κάθε 30 λεπτά για τη συνεδρία 2 ωρών). Η αντίσταση στο κυκλοεργόμετρο προσαρμοζόταν ανάλογα, εφόσον χρειαζόταν, έτσι ώστε να διατηρείται η απαιτούμενη VO_2 (εντός ορίων $\pm 5\%$).

Μετά το πέρας της άσκησης ή της περιόδου ανάπαυσης (19:30), οι εθελοντές έλαβαν ένα τυποποιημένο βραδινό γεύμα (περίπου 15 θερμίδες ανά κιλό σωματικού βάρους, περιεκτικότητας 55% σε υδατάνθρακες, 30% σε λίπος και 15% σε πρωτεΐνη) και στη συνέχεια κοιμήθηκαν. Μετά την κατανάλωση του βραδινού (20:00) και μέχρι το τέλος της μεταβολικής μελέτης την επόμενη ημέρα το απόγευμα (19:00), οι εθελοντές δεν κατανάλωσαν τίποτα άλλο εκτός από νερό ή αναψυκτικά χωρίς θερμίδες και καφεΐνη (νηστεία).

Τυπική διαίτα και αποχή από άσκηση για 3 ημέρες	Ημέρα 1			Ημέρα 2
	Εισαγωγή (17:00)	Δοκιμές (17:30-19:30)		Μεταβολική μελέτη (07:00-19:00)
		Μελέτη #1	Ανάπαυση	
			Ανάπαυση	
		Μελέτη #2	Ανάπαυση	
			Ανάπαυση	
		Μελέτη #3	Ανάπαυση	
		Μελέτη #4	Ανάπαυση	
		Μελέτη #5	Ανάπαυση	
		Μελέτη #6	Ανάπαυση	
			Άσκηση 2h	
		Μελέτη #7	Ανάπαυση	
			Άσκηση 1h	
		Μελέτη #8	Ανάπαυση	
			Άσκηση 1h	

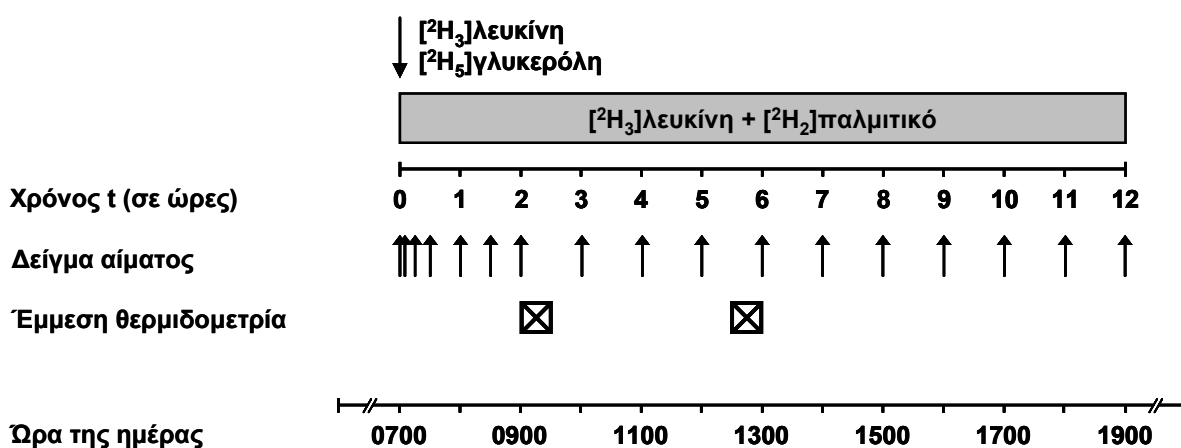
Εικόνα 4.1. Σύνοψη του ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Πειραματικό πρωτόκολλο - Μεταβολική μελέτη

Την επόμενη ημέρα το πρωί (06:00), ένας καθετήρας εισήχθηκε σε μια φλέβα του ενός χεριού για τη χορήγηση σταθερών ισοτόπων ιχνηθέτησης και ένας δεύτερος καθετήρας εισήχθηκε σε μια φλέβα του άλλου χεριού (στο ύψος του καρπού) για τη συλλογή δειγμάτων αίματος. Η διατήρηση του καθετήρα αυτού ανοιχτού επιτεύχθηκε με τη συνεχή έγχυση φυσιολογικού ορού (0,9% χλωριούχο νάτριο, NaCl) σε αργό ρυθμό (30 ml/h). Δειγματοληψία γινόταν αφού προηγουμένως το χέρι του εθελοντή θερμαινόταν στους 55°C για 15-20 λεπτά με τη χρήση ειδικής συσκευής για την αρτηριοποίηση του φλεβικού αίματος (με την τεχνική αυτή

ελαττώνονται οι αρτηριοφλεβικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των διαφόρων υποστρωμάτων) [251,252].

Στις 07:00 ($t = 0$) συλλέχθηκε ένα δείγμα αίματος και, αμέσως μετά, χορηγήθηκε ενδοφλέβια ένεση $[1,1,2,3,3\text{-}^2\text{H}_5]$ γλυκερόλης (75 $\mu\text{mol/kg}$ σωματικού βάρους, σε φυσιολογικό ορό) και $[5,5,5\text{-}^2\text{H}_3]$ λευκίνης (7,2 $\mu\text{mol/kg}$ σωματικού βάρους, σε φυσιολογικό ορό) και ξεκίνησαν συνεχείς εγχύσεις $[2,2\text{-}^2\text{H}_2]$ παλμιτικού οξέος (0,03 $\mu\text{mol/kg}$ σωματικού βάρους ανά λεπτό, σε διάλυμα 25% αλβουμίνης) και $[5,5,5\text{-}^2\text{H}_3]$ λευκίνης (0,12 $\mu\text{mol/kg}$ σωματικού βάρους ανά λεπτό, σε φυσιολογικό ορό) οι οποίες και συνέχισαν για 12 ώρες, με τη χρήση ογκομετρικών περισταλτικών αντλιών 2 ή 4 καναλιών (Gemini PC-2TX και Gemini PC-4, IMED, San Diego, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) [253]. Όλοι οι ισοτοπικοί ιχνηλάτες προήλθαν από την Cambridge Isotope Laboratories (Andover, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ). Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν στα 5, 15, 30, 60, 90, και 120 λεπτά και μετά κάθε ώρα μέχρι την ολοκλήρωση της μελέτης στις 19:00 ($t = 12$). Συλλογή αναπνευστικών αερίων (Deltatrac Metabolic Monitor, SensorMedics, Yorba Linda, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) έγινε για 30 λεπτά μεταξύ 2-2½ ωρών και 5½-6 ωρών μετά την έναρξη της μελέτης και υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι. Η σύνοψη του πειραματικού πρωτοκόλλου δίνεται στην ΕΙΚΟΝΑ 4.2. Μετά το πέρας της μεταβολικής μελέτης (19:00), οι εθελοντές έλαβαν γεύμα της επιλογής τους και πήραν εξιτήριο από τη μεταβολική μονάδα.



Εικόνα 4.2. Σύνοψη του πρωτοκόλλου της μεταβολικής μελέτης.

4.4 Αναλυτικοί προσδιορισμοί

Επεξεργασία δειγμάτων αίματος

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε φιαλίδια υπό κενό, τα οποία περιείχαν αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό (ethylenediaminetetraacetic, EDTA) άλας με κάλιο ως αντιπηκτικό (όγκου 3 ml με K_2EDTA , #367856 και όγκου 10 ml με K_3EDTA , #366457, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, Νιού Τζέρσεϋ, ΗΠΑ). Για τον προσδιορισμό της ινσουλίνης, τα φιαλίδια περιείχαν και απροτινίνη (αναστολέας πρωτεασών) εκτός από EDTA. Αμέσως μετά τη συλλογή, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πάγο και, εντός μισής ώρας, φυγοκεντρήθηκαν στις 3.000 rpm για 15 λεπτά στους 4°C (GS-6KR Centrifuge, Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) για διαχωρισμό του πλάσματος. Ένα μέρος του πλάσματος (~2 ml) φυλάχθηκε στους 4°C για την άμεση απομόνωση των VLDL και τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της apoB-100 στο πλάσμα, ενώ το υπόλοιπο φυλάχθηκε στους -80°C για τις περαιτέρω αναλύσεις. Για τον προσδιορισμό της γλυκόζης, τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε φιαλίδια χωρητικότητας 1,5 ml που περιείχαν ηπαρίνη ως αντιπηκτικό. Τα δείγματα αυτά φυγοκεντρήθηκαν επιτόπου σε μικροφυγόκεντρο (MiniSpin plus, Eppendorf AG, Αμβούργο, Γερμανία) και η συγκέντρωση της γλυκόζης προσδιορίστηκε άμεσα.

Για την απομόνωση των VLDL, περίπου 1,5 ml φρέσκου πλάσματος μεταφέρθηκε με αποστειρωμένη σύριγγα των 3 ml και βελόνας 21G1½ (DG507701, 0,8 × 40 mm, #309577, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, Νιού Τζέρσεϋ, ΗΠΑ) σε φιαλίδια πολυαλλομερούς OptiSeal (13 × 48 mm, χωρητικότητας 4,7 ml, Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ). Το πλάσμα επικαλύφθηκε προσεκτικά με διάλυμα NaCl/EDTA (πυκνότητας $d = 1,006 \text{ g/ml}$) και φυγοκεντρήθηκε στα 100.000 g (45.000 rpm για 16 ώρες) στους 10°C, χρησιμοποιώντας το ρότορα σταθερής γωνίας Type 50.4 Ti και την υπερφυγόκεντρο δαπέδου Optima LE-80K (Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ). Το υπερκείμενο στρώμα (1,2-1,5 ml), που περιείχε τις VLDL, περισυλλέχθηκε ποσοτικά με αποστειρωμένη σύριγγα των 3 ml και βελόνας 21G1½ (DG507701, 0,8 × 40 mm, #309577, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, Νιού Τζέρσεϋ, ΗΠΑ), ύστερα από τεμαχισμό του φιαλιδίου με τη χρήση ειδικού κόφτη (CentriTube slicer, Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ). Ένα μέρος (~100 μl) του ανακτημένου διαλύματος VLDL φυλάχθηκε στους 4°C για τον άμεσο προσδιορισμό της συγκέντρωσης της VLDL-apoB-100, ενώ το υπόλοιπο φυλάχθηκε στους -80°C για περαιτέρω αναλύσεις.

Προσδιορισμοί συγκεντρώσεων

Γλυκόζη

Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της οξειδάσης της γλυκόζης σε αυτόματο αναλυτή (YSI 2300 STAT plus, Yellow Spring Instrument Company, Yellow Springs, Οχάιο, ΗΠΑ) [254,255]. Με τη μέθοδο αυτή, η D-γλυκόζη οξειδώνεται παρουσία της οξειδάσης της γλυκόζης σε D-γλυκονο-δ-λακτόνη, παράγοντας ταυτόχρονα υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Το H_2O_2 περνά στη συνέχεια από ένα ηλεκτρόδιο πλατίνας (άνοδος) όπου και οξειδώνεται σε οξυγόνο, απελευθερώνοντας ταυτόχρονα πρωτόνια και ηλεκτρόνια. Η ροή ηλεκτρονίων (ρεύμα) είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης H_2O_2 , η οποία είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αρχικό δείγμα (25 μ l). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (σε mg/dl) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά εξωτερικών προτύπων γλυκόζης. Η μετατροπή σε mmol/l έγινε πολλαπλασιάζοντας τα mg/dl με το συντελεστή 0,05551 [256]. Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα μετρήθηκε κάθε 2 ώρες κατά τη διάρκεια της 12-ωρης μελέτης (0, 2, 4, 6, 8, 10 και 12 ώρες) και υπολογίστηκε ο μέσος όρος. Κατά τη διάρκεια της μεταβολικής μελέτης, οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης παρουσίαζαν, όπως ήταν αναμενόμενο, μια ελαφρά πτωτική τάση, ως αποτέλεσμα της παράτασης της νηστείας από 12 ($t = 0$) σε 24 ($t = 12$) ώρες. Ωστόσο, οι τάσεις αυτές ήταν κοινές για όλους τους εθελοντές και παρατηρήθηκαν σε όλες τις δοκιμές, με αποτέλεσμα να μην επηρεάσουν τη σύγκριση των αποτελεσμάτων (τα αποτελέσματα ήταν τα ίδια είτε συγκρίθηκαν οι μέσοι όροι, είτε ολόκληρη η χρονική πορεία, είτε μόνο οι τιμές νηστείας σε $t = 0$).

Ινσουλίνη

Η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα προσδιορίστηκε με ραδιοανοσολογική δοκιμασία, χρησιμοποιώντας τυποποιημένα αντιδραστήρια (Linco Research, St. Louis, Μιζούρι, ΗΠΑ) [257,258]. Με τη μέθοδο αυτή, η ινσουλίνη στο δείγμα ανταγωνίζεται με ινσουλίνη ιχνηθετημένη με ραδιενεργό ιώδιο (125 I-Ινσουλίνη) για τις θέσεις πρόσδεσης σε ένα ειδικό αντίσωμα κατά τη διάρκεια μιας περιόδου επώασης (18 ώρες στους 4°C). Το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος κατακρημνίζεται με ειδικό φορέα και, έπειτα από φυγοκέντρωση για 25 λεπτά στις 3.000 rpm (J-6B Centrifuge, Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ), σχηματίζεται ραδιενεργό ίζημα, η εκπομπή ακτινοβολίας του οποίου μετρήθηκε σε αυτοματοποιημένο μετρητή ακτινών γ (Micromedic Systems 10/600 gamma counter, ICN Biomedical, Costa Mesa, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) και η οποία είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη συγκέντρωση της μη σηματοδοτημένης ινσουλίνης στο αρχικό δείγμα (100 μ l). Για τον

προσδιορισμό της συγκέντρωσης (σε $\mu\text{U/ml}$) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά εξωτερικών προτύπων ινσουλίνης (Linco Research, St. Louis, Μιζούρι, ΗΠΑ). Η μετατροπή σε pmol/l έγινε πολλαπλασιάζοντας τα $\mu\text{U/ml}$ με το συντελεστή 6 [259]. Η συγκέντρωση της ινουλίνης στο πλάσμα μετρήθηκε κάθε 4 ώρες κατά τη διάρκεια της 12-ωρης μελέτης (0, 4, 8 και 12 ώρες) και υπολογίστηκε ο μέσος όρος. Όπως η γλυκόζη, έτσι και οι συγκεντρώσεις της ινσουλίνης παρουσίαζαν μια ελαφρά πτωτική τάση κατά τη διάρκεια της μεταβολικής μελέτης, η οποία επίσης ήταν κοινή για όλες τις δοκιμές και όλους τους εξεταζόμενους και δεν επηρέασε τη σύγκριση των αποτελεσμάτων.

Ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA)

Η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/l}$) προσδιορίστηκε με αέρια χρωματογραφία (gas chromatography, GC), χρησιμοποιώντας δεκαεπτανοϊκό οξύ ($\text{C}_{17:0}$, κορεσμένο λιπαρό οξύ που δεν υπάρχει στον οργανισμό) ως εσωτερικό πρότυπο [260]. Τα FFA στο δείγμα (250 μl) αρχικά μεθυλιώθηκαν από ιωδομεθάνιο (CH_3I). Οι μεθυλεστέρες που σχηματίστηκαν απομονώθηκαν στη συνέχεια με εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction, SPE, φασίγγια LC-Si χωρητικότητας 3 ml, Supelco, Bellefonte, Πενσυλβάνια, ΗΠΑ) και το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό (Automatic Environmental SpeedVac AES2000 και AES2010, Savant Instruments, Holbrook, Νέα Υόρκη, ΗΠΑ) και έπειτα ανασυστάθηκε με επτάνιο. Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση έγινε με αέριο χρωματογράφο (Hewlett-Packard 5890 Series II GC, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) εξοπλισμένο με στήλη Omegawax 250 (30 m $\times$ 0,32 mm, Supelco, Bellefonte, Πενσυλβάνια, ΗΠΑ) και ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Με τη μέθοδο αυτή, προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 7 διαφορετικών FFA ($\text{C}_{14:0}$, $\text{C}_{16:0}$, $\text{C}_{16:1}$, $\text{C}_{18:0}$, $\text{C}_{18:1}$, $\text{C}_{18:2}$, $\text{C}_{18:3}$) που συνολικά αποτελούν >95% όλων των FFA του πλάσματος [260]. Η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα μετρήθηκε σε όλα τα δείγματα που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια της 12-ωρης μελέτης και υπολογίστηκε ο μέσος όρος από 0 έως 4 ώρες. Η συγκέντρωση των FFA αυξάνεται σημαντικά μετά από 16-18 ώρες νηστείας λόγω της αυξανόμενης λιπόλυσης των TG του λιπώδους ιστού και εμφάνισης των FFA στο πλάσμα [261], κάτι που παρατηρήθηκε και στην παρούσα μελέτη και για το λόγο αυτό δε λήφθηκαν υπόψη οι συγκεντρώσεις των FFA από $t > 4$ ώρες.

Τριακυλογλυκερόλες (τριγλυκερίδια, TG)

Η συγκέντρωση των TG στο πλάσμα και τις VLDL προσδιορίστηκε με τυποποιημένη ενζυμική δοκιμασία χρωματομετρίας (TR0100 Serum Triglyceride Determination Kit, Sigma-Aldrich, St. Louis, Μιζούρι, ΗΠΑ) [262]. Με τη μέθοδο αυτή, τα TG υδρολύονται αρχικά παρουσία LPL σε

γλυκερόλη και FFA. Η γλυκερόλη φωσφορυλιώνεται παρουσία γλυκεροκινάσης σε 1-φωσφο-γλυκερόλη, η οποία στη συνέχεια οξειδώνεται παρουσία της οξειδάσης της φωσφο-γλυκερόλης σε φωσφο-διυδροξυ-ακετόνη και H_2O_2 . Η υπεροξειδάση καταλύει τη σύζευξη του H_2O_2 με την 4-αμινο-αντιπυρίνη και το άλας με νάτριο της Ν-αιθυλ-Ν-(3-θειο-προπυλ) m-ανισιδίνης προς παραγωγή μιας κινόνης που παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 540 nm (μωβ-κόκκινο χρώμα). Η απορρόφηση στα 540 nm μετρήθηκε με φασματοφωτόμετρο (DU 520 General Purpose UV/Vis Spectrophotometer, Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) και είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση της γλυκερόλης και άρα των TG (αφού ένα μόριο TG περιέχει ένα μόριο γλυκερόλης) στο αρχικό δείγμα (20 μ l). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (σε mmol/l) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά εξωτερικών προτύπων γλυκερόλης. Η συγκέντρωση των TG στο πλάσμα και τις VLDL μετρήθηκε κάθε 2 ώρες κατά τη διάρκεια της 12-ωρης μελέτης (0, 2, 4, 6, 8, 10 και 12 ώρες) και υπολογίστηκε ο μέσος όρος.

Απολιποπρωτεΐνη B-100 (apoB-100)

Η συγκέντρωση της apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL προσδιορίστηκε με τυποποιημένη ανοσολογική δοκιμασία νεφελομετρίας (#993-27401 Autokit Apo B, Wako Pure Chemical Industries, Chuo-Ku, Οσάκα, Ιαπωνία) [263]. Με τη μέθοδο αυτή, η apoB-100 στο δείγμα προσδένεται σε μονόκλωνο αντίσωμα, ειδικό για την ανθρώπινη apoB, σχηματίζοντας αδιάλυτο σύμπλοκο το οποίο προκαλεί αυξημένη θολότητα στο διάλυμα. Ο βαθμός της θολότητας μετρήθηκε οπτικά στα 350 nm με φασματοφωτόμετρο (DU 520 General Purpose UV/Vis Spectrophotometer, Beckman Instruments, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) και είναι ευθέως ανάλογος με την ποσότητα της apoB-100 στο δείγμα (25 μ l). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (σε mg/dl) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά εξωτερικών προτύπων apoB (#992-27591 Apolipoprotein Calibrator, Wako Pure Chemical Industries, Chuo-Ku, Οσάκα, Ιαπωνία). Η μετατροπή σε nmol/l έγινε χρησιμοποιώντας τα 512.723 g/mol ως μοριακό βάρος της apoB-100 [44]. Η συγκέντρωση της apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL μετρήθηκε κάθε 2 ώρες κατά τη διάρκεια της 12-ωρης μελέτης (0, 2, 4, 6, 8, 10 και 12 ώρες) και υπολογίστηκε ο μέσος όρος. Αν και η μέθοδος αυτή δεν είναι ειδική για την apoB-100, υποτέθηκε ότι όλη η μετρούμενη apoB είναι apoB-100 και όχι apoB-48, διότι η παρουσία χυλομικρών (λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων πυκνότητας ίσης και μικρότερης από τις VLDL τα οποία περιέχουν apoB-48) στην κυκλοφορία 12-24 ώρες μετά από ένα γεύμα (περίοδος κατά την οποία έγιναν όλες οι μετρήσεις) είναι αμελητέα [264].

Ορμόνες του φύλου

Οι συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου στο πλάσμα και, πιο συγκεκριμένα, της τεστοστερόνης, της οιστραδιόλης, της προγεστερόνης, της οιστρονής και της ωοθηλακιοτρόπου ορμόνης (follicle-stimulating hormone, FSH), προσδιορίστηκαν με τυποποιημένη ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), με ειδικότητα στην τεστοστερόνη (#IB79106), την οιστραδιόλη (#IB79103), την προγεστερόνη (#IB79105), την οιστρονή (#IB59105) και την FSH (#IB19103) (IBL Immuno-Biological Laboratories GmbH, Αμβούργο, Γερμανία). Με τη μέθοδο αυτή, 25-50 μl πλάσματος επωάζονται με κατάλληλο αντίσωμα για 1 ή 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, για την πρόσδεση του αντιγόνου (εκάστοτε ορμόνη στο δείγμα) με το ειδικό αντίσωμα. Στη συνέχεια, προστίθεται και δεύτερο αντίσωμα που προσδένει το αντιγόνο σε δεύτερη θέση (sandwich). Τέλος, προστίθεται υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το εναπομένον αντίσωμα προς παραγωγή προϊόντος με χρώμα που απορροφά έντονα στα 450 nm. Η συγκέντρωση της εκάστοτε ορμόνης είναι αντιστρόφως ανάλογη του βαθμού απορρόφησης, ο οποίος και μετρήθηκε οπτικά με φασματοφωτόμετρο μικροπλακών ELISA (PowerWave XS, BioTek Instruments, Winooski, Βερμόντ, ΗΠΑ). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (τεστοστερόνη και προγεστερόνη σε ng/ml, οιστραδιόλη και οιστρονή σε pg/ml, FSH σε U/L) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά κατάλληλων εξωτερικών προτύπων (IBL Immuno-Biological Laboratories GmbH, Αμβούργο, Γερμανία). Οι συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου στο πλάσμα μετρήθηκαν σε ένα δείγμα νηστείας στην αρχή ($t = 0-30$ min) της 12-ωρης μελέτης.

Αυξητική ορμόνη

Η συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης στο πλάσμα προσδιορίστηκε με ένα τυποποιημένο σύστημα ELISA (#22-HGH-E022, American Laboratory Products Company, Windham, New Hampshire, ΗΠΑ). Με τη μέθοδο αυτή, 100 μl πλάσματος (1:25) επωάζονται με κατάλληλο αντίσωμα για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, για την πρόσδεση του αντιγόνου (αυξητική ορμόνη στο δείγμα) με ειδικό αντίσωμα. Στη συνέχεια, προστίθεται και δεύτερο αντίσωμα που προσδένει το αντιγόνο σε δεύτερη θέση (sandwich). Τέλος, προστίθεται υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το εναπομένον αντίσωμα προς παραγωγή προϊόντος με χρώμα που απορροφά έντονα στα 450 nm. Η συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης είναι ευθέως ανάλογη του βαθμού απορρόφησης, ο οποίος και μετρήθηκε οπτικά με φασματοφωτόμετρο μικροπλακών ELISA (PowerWave XS, BioTek Instruments, Winooski, Βερμόντ, ΗΠΑ). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (σε pg/ml) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά κατάλληλων εξωτερικών προτύπων (ALPCO, Windham, New Hampshire, ΗΠΑ). Η συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης στο πλάσμα μετρήθηκε σε ένα δείγμα νηστείας στην αρχή ($t = 0-30$ min) της 12-ωρης μελέτης.

Κυτοκίνες

Οι συγκεντρώσεις διαφόρων κυτοκινών στο πλάσμα και, πιο συγκεκριμένα, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (C-reactive protein, CRP), του παράγοντα νέκρωσης όγκου άλφα (tumor necrosis factor alpha, TNF-α) και της ιντερλευκίνης 6 (interleukin 6, IL-6), προσδιορίστηκαν με τυποποιημένα συστήματα ELISA υψηλής ευαισθησίας, με ειδικότητα στη CRP (#DSL-10-42100, Diagnostic Systems Laboratories, Webster, Τέξας, ΗΠΑ), τον TNF-α (#KHC3014, BioSource International, Camarillo, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) και την IL-6 (#KHC0064, BioSource International, Camarillo, Καλιφόρνια, ΗΠΑ). Για την πρόσδεση του αντιγόνου (εκάστοτε κυτοκίνη στο δείγμα) με το κατάλληλο αντίσωμα, μια ποσότητα πλάσματος (10 μl 1:50 για τη CRP, 50 μl για τον TNF-α και 100 μl για την IL-6) επωάζεται για ένα ορισμένο χρονικό διάστημα σε κάποια θερμοκρασία (30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου για τη CRP, 2 ώρες στους 37°C για τον TNF-α και 3 ώρες στους 37°C για την IL-6). Στη συνέχεια, προστίθεται και δεύτερο αντίσωμα που προσδένει το αντιγόνο σε δεύτερη θέση (sandwich). Τέλος, προστίθεται υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το εναπομένον αντίσωμα προς παραγωγή προϊόντος με χρώμα που απορροφά έντονα στα 450 nm. Η συγκέντρωση της εκάστοτε κυτοκίνης είναι ευθέως ανάλογη του βαθμού απορρόφησης, ο οποίος και μετρήθηκε οπτικά με φασματοφωτόμετρο μικροπλακών ELISA (PowerWave XS, BioTek Instruments, Winooski, Βερμόντ, ΗΠΑ). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (CRP σε μg/ml, TNF-α και IL-6 σε pg/ml) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά κατάλληλων εξωτερικών προτύπων από τον κατασκευαστή. Οι συγκεντρώσεις των κυτοκινών στο πλάσμα μετρήθηκαν σε ένα δείγμα νηστείας στην αρχή (t = 0-30 min) της 12-ωρης μελέτης.

Αντιποκίνες

Οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης και της ολικής αντιπονεκτίνης στο πλάσμα προσδιορίστηκαν με τυποποιημένα συστήματα ELISA, με ειδικότητα στη λεπτίνη (#DSL-10-23100, Diagnostic Systems Laboratories, Webster, Τέξας, ΗΠΑ) και την αντιπονεκτίνη (#36-BV-23100, ALPCO American Laboratory Products Company, Windham, New Hampshire, ΗΠΑ). Η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης υψηλού μοριακού βάρους (high molecular weight, HMW), που θεωρείται ως η βιολογικά ενεργή μορφή της αντιπονεκτίνης [265], προσδιορίστηκε επίσης με τυποποιημένο σύστημα ELISA (#47-ADPH-9755, ALPCO Diagnostics, Windham, New Hampshire, ΗΠΑ), το οποίο περιλαμβάνει ένα βήμα προεργασίας μιας ποσότητας πλάσματος (10 μl), κατά το οποίο γίνεται πέψη όλων των συμπλόκων αντιπονεκτίνης στο δείγμα πλην της HMW, με τη χρήση κατάλληλης πρωτεάσης [266]. Για την πρόσδεση του αντιγόνου (εκάστοτε αντιποκίνη στο δείγμα) με το κατάλληλο αντίσωμα, μια ποσότητα πλάσματος (25 μl για τη λεπτίνη και 50 μl 1:3 για την ολική αντιπονεκτίνη) επωάζεται για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (για την HMW

αντιγονεκτίνη, 50 µl προκατεργασμένου δείγματος 1:5151 επωάζονται για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου). Στη συνέχεια, προστίθεται και δεύτερο αντίσωμα που προσδένει το αντιγόνο σε δεύτερη θέση (sandwich). Τέλος, προστίθεται υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το εναπομένον αντίσωμα προς παραγωγή προϊόντος με χρώμα που απορροφά έντονα στα 450 nm (λεπτίνη και ολική αντιγονεκτίνη) ή 492 nm (HMW αντιγονεκτίνη). Οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης και της HMW αντιγονεκτίνης είναι ευθέως ανάλογες του βαθμού απορρόφησης και η συγκέντρωση της ολικής αντιγονεκτίνης είναι αντιστρόφως ανάλογη του βαθμού απορρόφησης, ο οποίος και μετρήθηκε οπτικά με φασματοφωτόμετρο μικροπλακών ELISA (PowerWave XS, BioTek Instruments, Winooski, Βερμόντ, ΗΠΑ). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (λεπτίνη σε ng/ml, αντιγονεκτίνη σε µg/ml) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά κατάλληλων εξωτερικών προτύπων από τον κατασκευαστή. Οι συγκεντρώσεις των αντιποκινών στο πλάσμα μετρήθηκαν σε ένα δείγμα νηστείας στην αρχή ($t = 0-30$ min) της 12-ωρης μελέτης.

Ένζυμα μεταβολισμού λιπιδίων

Τα κυριότερα ένζυμα που εμπλέκονται άμεσα ή έμμεσα στο μεταβολισμό των VLDL είναι η λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL), η ηπατική λιπάση (HL), η ακυλο-τρανσφεράση της λεκιθίνης-χοληστερόλης (LCAT) και η μεταφορική πρωτεΐνη εστέρων χοληστερόλης (CETP) (Κεφάλαιο 2.2). Οι συγκεντρώσεις των LPL, LCAT και CETP στο πλάσμα προσδιορίστηκαν με τυποποιημένα συστήματα ELISA (Daiichi Pure Chemicals, Τόκυο, Ιαπωνία) με ειδικότητα στην LPL (#231049), την LCAT (#288258) και τη CETP (#278181). Η συγκέντρωση της HL στο πλάσμα προσδιορίστηκε με μη τυποποιημένη μέθοδο ELISA [267]. Τα αντισώματα για την LPL και την HL είναι ειδικά για τα συγκεκριμένα ένζυμα και δεν αντιδρούν με την HL και την LPL, αντιστοίχως. Με τη μέθοδο αυτή, 50 µl πλάσματος (1:20 για την LPL, 1:100 για την LCAT, 1:80 για τη CETP) επωάζονται με κατάλληλο αντίσωμα για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, για την πρόσδεση του αντιγόνου με το ειδικό αντίσωμα. Στην περίπτωση της HL, 42,5 µl πλάσματος επωάζονται αρχικά παρουσία κατάλληλων αντιδραστηρίων για 1 ώρα στους 37°C και 200 µl από το κατεργασμένο δείγμα επωάζονται στη συνέχεια για 12-16 ώρες στους 4°C για την πρόσδεση του αντιγόνου με το αντίσωμα. Στη συνέχεια, προστίθεται και δεύτερο αντίσωμα που προσδένει το αντιγόνο σε δεύτερη θέση (sandwich). Τέλος, προστίθεται υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το εναπομένον αντίσωμα προς παραγωγή προϊόντος με χρώμα που απορροφά έντονα στα 492 nm. Η συγκέντρωση του εκάστοτε ενζύμου είναι ευθέως ανάλογη του βαθμού απορρόφησης, ο οποίος και μετρήθηκε οπτικά με φασματοφωτόμετρο μικροπλακών ELISA (PowerWave XS, BioTek Instruments, Winooski, Βερμόντ, ΗΠΑ). Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης (LPL και HL σε ng/ml, LCAT και CETP σε µg/ml) χρησιμοποιήθηκε μια σειρά

κατάλληλων εξωτερικών προτύπων. Οι συγκεντρώσεις των ενζύμων μεταφοράς λιπιδίων στο πλάσμα μετρήθηκαν σε ένα δείγμα νηστείας στην αρχή ($t = 0-30 \text{ min}$) της 12-ωρης μελέτης.

NMR λιποπρωτεϊνών

Οι συγκεντρώσεις και το μέγεθος των διαφόρων λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων στο πλάσμα προσδιορίστηκαν με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (nuclear magnetic resonance, NMR) πρωτονίων (LipoScience, Raleigh, Βόρεια Καρολίνα, ΗΠΑ) [23,268,269,270], χρησιμοποιώντας τον αναλυτή AVANCE INCA NMR Chemical Analyzer εξοπλισμένο με τον υπεραγώγιμο μαγνήτη UltraShield (Bruker BioSpin, Billerica, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ). Τα δείγματα πλάσματος αραιώθηκαν 1:2 και 600 μl εισήχθησαν στο φασματογράφο NMR (400 MHz, 47°C). Πολλαπλά φάσματα λήφθηκαν για κάθε δείγμα, από τα οποία προέκυψαν τελικά οι μέσοι όροι για κάθε μετρούμενη παράμετρο. Οι συγκεντρώσεις και το μέγεθος των διαφόρων λιποπρωτεϊνών προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια κατάλληλου λογισμικού ανάλυσης φάσματος. Οι συγκεντρώσεις των σωματιδίων των διαφόρων λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα υπολογίστηκαν από τη μετρούμενη ένταση του σήματος NMR που εκπέμπει η χαρακτηριστική για κάθε λιποπρωτεΐνη μεθυλομάδα ($-\text{CH}_3$). Κάθε λιποπρωτεΐνη περιέχει πολλές μεθυλομάδες που βρίσκονται στο άκρο των λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, της ελεύθερης χοληστερόλης, των εστέρων χοληστερόλης και των TG. Τα σήματα NMR που εκπέμπονται από τις μεθυλομάδες κάθε λιποπρωτεΐνης είναι διαφορετικά μεταξύ τους λόγω της διαφορετικής σύστασης του κάθε λιποπρωτεϊνικού σωματιδίου. Τα σήματα NMR των διαφορετικών λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων ξεχωρίστηκαν από το συνολικό σήμα που εκπέμπει το πλάσμα (που περιέχει όλες τις λιποπρωτεΐνες) με τη χρήση ενός ειδικού αλγορίθμου διαχωρισμού φάσματος, ο οποίος επιτρέπει την ανάλυση >30 υποπληθυσμών λιποπρωτεϊνών και αντιπροσωπεύει έτσι ρεαλιστικά το συνεχόμενο και επικαλυπτόμενο μέγεθος των διαφόρων λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων που υπάρχουν στο πλάσμα. Για τη βελτίωση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων, γειτονικοί υποπληθυσμοί λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων ομαδοποιήθηκαν σε ένα μικρότερο αριθμό κατηγοριών, έτσι ώστε όλες οι μετρήσεις να έχουν αποδεκτή ακρίβεια (συντελεστής μεταβλητότητας, $\text{CV} < 10\%$). Με τη μέθοδο αυτή, προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των ακόλουθων εννέα λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων (διάμετρος σε παρένθεση): μεγάλα VLDL (>60 nm), μεσαία VLDL (35-60 nm), μικρά VLDL (27-35 nm), IDL (23-27 nm), μεγάλα LDL (21,2-23 nm), μικρά LDL (18-21,2 nm), μεγάλα HDL (8,8-13 nm), μεσαία HDL (8,2-8,8 nm) και μικρά HDL (7,3-8,2 nm). Η μέση διάμετρος των VLDL, των LDL και των HDL (σε nm) υπολογίστηκε ως το άθροισμα της διαμέτρου κάθε υποπληθυσμού σωματιδίων

της συγκεκριμένης λιποπρωτεΐνης, ζυγισμένης ως προς τη σχετική συμμετοχή του συγκεκριμένου υποπληθυσμού στη συνολική συγκέντρωση της λιποπρωτεΐνης. Για παράδειγμα, η μέση διάμετρος των VLDL υπολογίστηκε ως: $\text{διάμετρος μεγάλων VLDL} \times \text{ποσοστό μεγάλων VLDL στη συνολική συγκέντρωση VLDL} + \text{διάμετρος μεσαίων VLDL} \times \text{ποσοστό μεσαίων VLDL στη συνολική συγκέντρωση VLDL} + \text{διάμετρος μικρών VLDL} \times \text{ποσοστό μικρών VLDL στη συνολική συγκέντρωση VLDL}$. Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων NMR (CV) ήταν <4% για την ολική συγκέντρωση των VLDL, των LDL και των HDL, <2% για το μέγεθος των VLDL, <0,5% για το μέγεθος των LDL και των HDL, <10% για τη συγκέντρωση των μεγάλων, μεσαίων και μικρών VLDL, <8% για τη συγκέντρωση των μεγάλων και μικρών LDL και <5% για τη συγκέντρωση των μεγάλων και μικρών HDL. Υψηλότεροι ήταν οι CV για τη συγκέντρωση των IDL (<20%) και των μεσαίων HDL (<35%), λόγω των τυπικά πολύ χαμηλών τους συγκεντρώσεων στο πλάσμα.

Προσδιορισμοί εμπλουτισμού

Ο εμπλουτισμός, δηλαδή ο γραμμομοριακός λόγος ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο (tracer to tracee ratio, TTR) της ελεύθερης γλυκερόλης, του παλμιτικού και της λευκίνης στο πλάσμα, καθώς και της γλυκερόλης και του παλμιτικού των VLDL-TG και της λευκίνης της VLDL-apoB-100, προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (gas chromatography – mass spectrometry, GCMS) [121,122,151,260]. Όλοι οι ποσοτικοί προσδιορισμοί έγιναν σε σύστημα GC (Agilent Technologies/HP 6890 Series GC System, Hewlett-Packard, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) εξοπλισμένο με στήλη DB-17 (30 m × 0,25 mm, Supelco, Bellefonte, Πενσυλβάνια, ΗΠΑ) και φασματογράφο μάζας ως ανιχνευτή (Agilent Technologies/HP 5973 Mass Selective Detector, Hewlett-Packard, Palo Alto, Καλιφόρνια, ΗΠΑ).

Πλάσμα

Για τον προσδιορισμό των TTR της ελεύθερης γλυκερόλης, του παλμιτικού και της λευκίνης στο πλάσμα, οι πρωτεΐνες σε μια ποσότητα πλάσματος (250 μ l) μετουσιώθηκαν και κατακρυμνήθηκαν προσθέτοντας ακετόνη σε χαμηλή θερμοκρασία, το υπερκείμενο συλλέχθηκε, αναμίχθηκε με ίσους όγκους νερού και εξανίου και φυγοκεντρήθηκε για το διαχωρισμό των δύο φάσεων (υδατική φάση και φάση διαλύτη). Το υποκείμενο (υδατική φάση, νερό) που περιείχε τη γλυκερόλη και τη λευκίνη του πλάσματος, ξηράνθηκε υπό κενό. Ο TTR της γλυκερόλης του πλάσματος προσδιορίστηκε σχηματίζοντας το αντίστοιχο επτα-φθορο-

βουτύριλο (heptafluorobutyl, HFB) παράγωγο και παρακολουθώντας επιλεκτικά τα ιοντικά θραύσματα με λόγο μάζας προς φορτίο (mass to charge ratio, m/z) 253 ($m+0$) και 257 ($m+4$) με GCMS. Ο TTR της λευκίνης του πλάσματος προσδιορίστηκε σχηματίζοντας το αντίστοιχο τριτοταγές βουτυλ-διμεθυλο-πυριτικό (tert-butyl dimethylsilyl, tBDMS) παράγωγο και παρακολουθώντας επιλεκτικά τα ιοντικά θραύσματα με m/z 200 ($m+0$) και 203 ($m+3$) με GCMS. Το υπερκείμενο (φάση διαλύτη, εξάνιο) που περιείχε τα διάφορα λιπίδια του πλάσματος, ξηράνθηκε υπό κενό και τα λιπαρά οξέα μετατράπηκαν στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες (fatty acid methylesters, FAME) με ιωδομεθάνιο. Οι FAME εκχυλίστηκαν με εξάνιο και απομονώθηκαν με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Στη συνέχεια, το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό, ανασυστάθηκε με επτάνιο και αναλύθηκε με GCMS παρακολουθώντας επιλεκτικά τα ιοντικά θραύσματα του μεθυλο-παλμιτικού με m/z 270 ($m+0$) και 272 ($m+2$) για τον προσδιορισμό του TTR του ελεύθερου παλμιτικού στο πλάσμα.

VLDL

Για τον προσδιορισμό των TTR της γλυκερόλης και του παλμιτικού στα VLDL-TG και της λευκίνης στη VLDL-apoB-100, μια ποσότητα διαλύματος VLDL (750 μ l) υπέστη επεξεργασία με πρόσφατα παρασκευασμένο μίγμα κανονικής βουτανόλης και ισοπροπυλαιθέρα, για την επιλεκτική κατακρύμνηση της VLDL-apoB-100 στο ενδιάμεσο στρώμα μεταξύ της υδατικής φάσης και της φάσης του διαλύτη, ύστερα από φυγοκέντρωση [271]. Το υπερκείμενο και το υποκείμενο στρώμα, που περιείχαν τα λιπίδια και τις διαλυτές απολιποπρωτεΐνες των VLDL, συλλέχθηκαν και αναμίχθηκαν. Προστέθηκε, στη συνέχεια, μίγμα χλωροφορμίου και μεθανόλης και το δείγμα αναμίχθηκε και φυγοκεντρήθηκε. Η υποκείμενη φάση, που περιείχε τα λιπίδια των VLDL, συλλέχθηκε και ξηράνθηκε υπό κενό. Τα VLDL-TG απομονώθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (thin-layer chromatography, TLC), εκχυλίστηκαν και υδρολύθηκαν με μίγμα χλωροφορμίου και μεθανόλης και το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό. Τα λιπαρά οξέα των VLDL-TG μετατράπηκαν στους αντίστοιχους FAME κατά την επώαση παρουσία ακετυλο-χλωριδίου σε μεθανόλη και το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό. Η γλυκερόλη που απελευθερώθηκε από την αντίδραση τρανσμεθυλίωσης μετατράπηκε στο αντίστοιχο HFB παράγωγο παρουσία ανυδρίτη HFB σε αιθυλοξικό οξύ. Το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό και ανασυστάθηκε με επτάνιο. Οι TTR της HFB-γλυκερόλης και του μεθυλο-παλμιτικού των VLDL-TG προσδιορίστηκαν παρακολουθώντας επιλεκτικά τα ιοντικά θραύσματα με m/z 467 ($m+0$) και 472 ($m+5$) για τη γλυκερόλη και 270 ($m+0$) και 272 ($m+2$) για το παλμιτικό. Η VLDL-apoB-100 (που απομονώθηκε αρχικά) υδρολύθηκε παρουσία υδροχλωρίου (HCl, 6N) σε υψηλή θερμοκρασία ($\sim 110^\circ\text{C}$) και το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό. Τα αμινοξέα επώαστηκαν με ακετυλο-χλωρίδιο σε προπανόλη και το δείγμα ξηράνθηκε ξανά υπό κενό. Ακολούθησε νέα

επώαση παρουσία ανυδρίτη HFB σε αιθυλοξικό για να σχηματιστεί τελικά ο N-επτα-φθορο-βουτύριλο n-προπυλ-εστέρας των αμινοξέων. Το παράγωγο αυτό συλλέχθηκε στο υπερκείμενο (επτάνιο), έπειτα από μίξη με αλατόνερο και επτάνιο και φυγοκέντρωση. Το δείγμα ξηράνθηκε υπό κενό, ανασυστάθηκε με επτάνιο και παρακολουθήθηκαν επιλεκτικά τα ιοντικά θραύσματα με m/z 282 (m+0) και 285 (m+3) με GCMS για τον προσδιορισμό του TTR της λευκίνης στη VLDL-apoB-100.

4.5 Υπολογισμοί

Ο ρυθμός εμφάνισης (rate of appearance, Ra, σε μmol ανά λεπτό, $\mu\text{mol}/\text{min}$) του παλμιτικού οξέος στο πλάσμα υπολογίστηκε ως ο λόγος του ρυθμού έγχυσης του ιχνηθετημένου παλμιτικού (σε $\mu\text{mol}/\text{min}$) προς τον TTR του παλμιτικού στο πλάσμα μεταξύ 60 και 240 λεπτών από την έναρξη της έγχυσης [122,272]. Κατά την περίοδο αυτή, η συγκέντρωση και ο TTR του παλμιτικού οξέος στο πλάσμα δεν υφίστανται σημαντικές μεταβολές, δηλαδή παραμένουν σε σταθερή κατάσταση (steady state). Ο ρυθμός εμφάνισης των FFA στο πλάσμα υπολογίστηκε διαιρώντας το ρυθμό εμφάνισης του παλμιτικού προς την ποσοστιαία (%) συνεισφορά του παλμιτικού στην ολική συγκέντρωση FFA του πλάσματος [122,272]. Ο ρυθμός εμφάνισης των FFA εκφράστηκε ως συνολικός ρυθμός εμφάνισης ($\mu\text{mol}/\text{min}$), αλλά και ανά μονάδα πλάσματος ($\mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$), ανά κιλό σωματικού βάρους, λιπώδους μάζας, ή και άλιπης μάζας. Κάθε μονάδα μέτρησης έχει διαφορετική φυσιολογική σημασία [273] και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ιδιαίτερα μάλιστα στην περίπτωση μελετών όπου υπάρχουν διαφορές ή μεταβολές στο μέγεθος ή και τη σύσταση του σώματος (σε αντίθετη περίπτωση, τα αποτελέσματα δεν εξαρτώνται από τις μονάδες).

$$\text{Ρυθμός εμφάνισης παλμιτικού } (\mu\text{mol}/\text{min}) = \frac{\text{Ρυθμός έγχυσης } [^2\text{H}_2]\text{παλμιτικού } (\mu\text{mol}/\text{min})}{\text{TTR παλμιτικού στο πλάσμα μεταξύ 60-240 min}}$$

$$\text{Ρυθμός εμφάνισης FFA } (\mu\text{mol}/\text{min}) = \frac{\text{Ρυθμός εμφάνισης παλμιτικού } (\mu\text{mol}/\text{min})}{\text{Σχετική συνεισφορά παλμιτικού στη συγκέντρωση FFA}}$$

Ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας (resting metabolic rate, RMR, σε θερμίδες/min) [274] και οι ρυθμοί οξειδωσης υδατανθράκων (CHOX) και λιπών (FOX) σε ολόκληρο το σώμα (σε g/min)

[275] υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τυποποιημένες εξισώσεις έμμεσης θερμιδομετρίας, με βάση τις μετρήσεις VO_2 και VCO_2 μεταξύ 2–2½ και 5½–6 ωρών από την έναρξη ($t = 0$) της έγχυσης.

$$\text{RMR (kcal/min)} = 3,941 \cdot \text{VO}_2 \text{ (L/min)} + 1,106 \cdot \text{VCO}_2 \text{ (L/min)} - 2,17 \cdot n$$

$$\text{CHOX (g/min)} = 4,55 \cdot \text{VCO}_2 \text{ (L/min)} - 3,21 \cdot \text{VO}_2 \text{ (L/min)} - 2,87 \cdot n$$

$$\text{FOX (g/min)} = 1,67 \cdot \text{VO}_2 \text{ (L/min)} - 1,67 \cdot \text{VCO}_2 \text{ (L/min)} - 1,92 \cdot n$$

Ο συντελεστής n στις παραπάνω εξισώσεις εισάγεται για τη διόρθωση των τιμών λόγω του μεταβολισμού των πρωτεϊνών και ισούται με την ποσότητα του αζώτου στα ούρα ανά λεπτό. Υποτέθηκε ότι, κατά μέσο όρο, η απέκκριση αζώτου στα ούρα σε υγιείς ενήλικες ισούται με 135 μg ανά κιλό σωματικού βάρους ανά λεπτό [276].

Ο ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων (FAOX, σε $\mu\text{mol/min}$) υπολογίστηκε υποθέτοντας ότι όλο το λίπος που οξειδώνεται από τον οργανισμό είναι υπό τη μορφή TG με μοριακό βάρος 861 g/mol [275] και ότι για κάθε μόριο TG που οξειδώνεται, οξειδώνονται 3 μόρια λιπαρών οξέων [276].

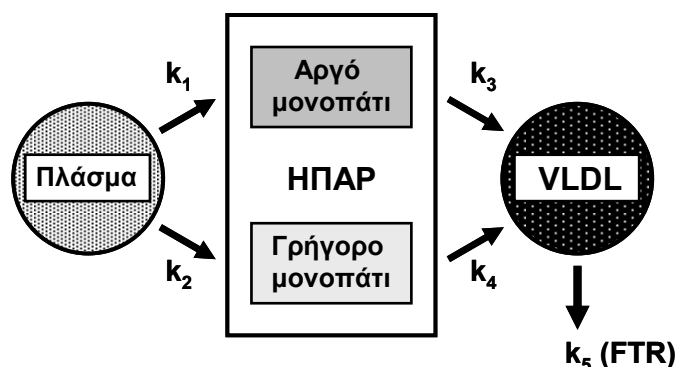
$$\text{Οξείδωση λιπαρών οξέων (}\mu\text{mol/min)} = 3 \cdot 10^6 \mu\text{mol/mol} \cdot \frac{\text{Οξείδωση λίπους (g/min)}}{861 \text{ g/mol}}$$

Η αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης σε επίπεδο ολόκληρου του σώματος υπολογίστηκε από τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα (μέσοι όροι κατά τη διάρκεια των 12 ωρών της μεταβολικής μελέτης), χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο που βασίζεται στο ομοιοστατικό μοντέλο (Homeostatis Model Assessment, HOMA) [277]:

$$\text{HOMA} = \frac{\text{Ινσουλίνη (}\mu\text{U/ml)}}{22,5 \cdot e^{-\ln \text{ Γλυκόζη (mmol/L)}}} = \frac{\text{Ινσουλίνη (}\mu\text{U/ml)} \cdot \text{Γλυκόζη (mmol/L)}}{22,5}$$

Ο ρυθμός κλασματικής ανακύκλωσης (fractional turnover rate, FTR) των VLDL-TG προσδιορίστηκε προσαρμόζοντας τη 12-ωρη τροχιά του TTR της ελεύθερης γλυκερόλης στο πλάσμα και του TTR της γλυκερόλης των VLDL-TG σε ένα πολυδιαμερισματικό μοντέλο (ΕΙΚΟΝΑ 4.3), χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό (SAAM II, version 1.1, Simulation, Analysis and Modeling Software for Kinetic Analysis, SAAM Institute, University of Washington, Seattle,

Γουάσινγκτον, ΗΠΑ) [99,100,151]. Με τον τρόπο αυτό, υπολογίστηκε ο FTR (δεξαμενές ανά ώρα ή λεπτό) των VLDL-TG κατά τις 12 ώρες της μελέτης, που υποδηλώνει το κλάσμα της δεξαμενής των VLDL-TG που ανακυκλώνεται στη μονάδα του χρόνου. Η εγκυρότητα της μεθόδου αυτής προϋποθέτει ότι η δεξαμενή των VLDL-TG στο πλάσμα παραμένει σχετικά σταθερή κατά τη διάρκεια της μελέτης, κάτι που έχειδειχθεί σε προηγούμενες μελέτες [163] και επαληθεύτηκε στη ΜΕΛΕΤΗ #1 (Κεφάλαιο 5.1, ΕΙΚΟΝΑ 5.1.2).



Εικόνα 4.3. Το πολυδιαμερισματικό μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των κινητικών παραμέτρων του μεταβολισμού των VLDL. Ο ιχνηλάτης εισάγεται στο πλάσμα, προσλαμβάνεται από το ήπαρ και ενσωματώνεται στα VLDL-TG (γλυκερόλη και παλμιτικό) ή τη VLDL-apoB-100 (λευκίνη). Η ενσωμάτωση του ιχνηλάτη μπορεί να λάβει χώρα μέσω δύο μονοπατιών: το γρήγορο μονοπάτι, με μια μικρή μόνο χρονική καθυστέρηση (30-60 min) μέχρι την εμφάνιση του ιχνηλάτη στις VLDL (π.χ. άμεση ενσωμάτωση μετά την πρόσληψη του ιχνηλάτη από το πλάσμα) και το αργό μονοπάτι, με μια παρατεταμένη χρονική καθυστέρηση (4-10 h) μέχρι την εμφάνιση του ιχνηλάτη στις VLDL, που περιγράφει την ανακύκλωση του ιχνηλάτη (tracer recycling) [122,143,151]. Τα βέλη υποδηλώνουν μετακίνηση του ιχνηλάτη μεταξύ των δεξαμενών και οι σταθερές k_i ($i = 1,2,3,4,5$) περιγράφουν ποσοτικά αυτή τη μετακίνηση, ως το κλάσμα της προηγούμενης δεξαμενής που μετακινείται στην επόμενη στη μονάδα του χρόνου. Η σταθερά k_5 αναφέρεται στη μη αντιστρεπτή απώλεια του ιχνηλάτη από το σύστημα και ουσιαστικά είναι ο ρυθμός κλασματικής ανακύκλωσης (FTR). Με τη χρήση του κατάλληλου λογισμικού (SAAM II), το παραπάνω σύστημα λύνεται δίνοντας ποικίλους συνδυασμούς τιμών στις σταθερές k_i και συγκρίνοντας κάθε φορά την προβλεπόμενη 12-ωρη τροχιά του TTR (λόγος ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο) με την πειραματική τροχιά του TTR. Η επιλογή του επιθυμητού συνδυασμού τιμών k_i (δηλαδή, η λύση του συστήματος των διαφορικών εξισώσεων που περιγράφουν τη μετακίνηση του ιχνηλάτη μέσα και έξω στο σύστημα) βασίζεται στη μέθοδο του αθροίσματος των ελάχιστων τετραγώνων (κάτι ανάλογο με την ανάλυση παλινδρόμησης) και αποτελεί τη λύση εκείνη για την οποία η προβλεπόμενη 12-ωρη τροχιά του TTR προσομοιάζει όσο το δυνατόν περισσότερο στην πειραματική τροχιά του TTR. Ένα παράδειγμα δίνεται στη ΜΕΛΕΤΗ #1 (Κεφάλαιο 5.1, ΕΙΚΟΝΑ 5.1.3). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ο σχετικός ρυθμός έκκρισης των VLDL-TG από το ήπαρ (σε μmol ανά λίτρο πλάσματος ανά λεπτό, $\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$), που υποδηλώνει την ποσότητα VLDL-TG που παράγονται από το ήπαρ και εκκρίνονται στη μονάδα του πλάσματος ανά μονάδα χρόνου, υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τον FTR των VLDL-TG με τη συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/L}$) [122,163,278]. Ο απόλυτος ρυθμός έκκρισης των VLDL-TG από το ήπαρ (σε μmol ανά λεπτό, $\mu\text{mol/min}$), που υποδηλώνει τη συνολική ποσότητα VLDL-TG που παράγονται από το ήπαρ και εκκρίνονται στην κυκλοφορία ανά μονάδα χρόνου, υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τον FTR των VLDL-TG με τη δεξαμενή των VLDL-TG στο πλάσμα (σε μmol) [122,163,278]. Η δεξαμενή των VLDL-TG υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τη συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/L}$) με τον όγκο κατανομής (volume of distribution) των VLDL-TG (σε λίτρα, L). Ο όγκος κατανομής θεωρήθηκε ότι ισούται με τον όγκο του πλάσματος, καθώς οι VLDL περιορίζονται στο πλάσμα αφού, λόγω μεγέθους, δεν περνούν στο διάμεσο χώρο ή στο λεμφικό σύστημα [279]. Ο όγκος του πλάσματος (σε λίτρα, L) υπολογίστηκε ως 0,055 λίτρα ανά κιλό άλιπης μάζας [280].

$$\text{Σχετικός ρυθμός έκκρισης VLDL-TG (}\mu\text{mol/L}\cdot\text{min)} = \text{FTR}_{\text{VLDL-TG}} (1/\text{min}) \cdot \text{Συγκέντρωση VLDL-TG (}\mu\text{mol/L)}$$

$$\text{Απόλυτος ρυθμός έκκρισης VLDL-TG (}\mu\text{mol/min)} = \text{FTR}_{\text{VLDL-TG}} (1/\text{min}) \cdot \text{Δεξαμενή VLDL-TG (}\mu\text{mol)}$$

$$\text{Δεξαμενή VLDL-TG (}\mu\text{mol)} = \text{Συγκέντρωση VLDL-TG (}\mu\text{mol/L)} \cdot \text{Όγκος κατανομής (L)}$$

$$\text{Όγκος κατανομής} = \text{όγκος πλάσματος} = 0,055 \text{ L ανά kg άλιπης μάζας}$$

Ο ρυθμός κάθαρσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία (σε ml/min) υπολογίστηκε διαιρώντας τον απόλυτο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG (σε $\mu\text{mol/min}$) με τη συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/ml}$) [122,163,278]. Ο απόλυτος ρυθμός απομάκρυνσης VLDL-TG από το πλάσμα ισούται με τον απόλυτο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ, καθώς η συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα παραμένει σταθερή. Ο ρυθμός κάθαρσης υποδηλώνει τον όγκο του πλάσματος που καθαρίζεται από VLDL-TG στη μονάδα του χρόνου (έννοια αντίστοιχη του ρυθμού νεφρικής κάθαρσης).

$$\text{Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG (ml/min)} = \frac{\text{Απόλυτος ρυθμός έκκρισης VLDL-TG (}\mu\text{mol/min)}}{\text{Συγκέντρωση VLDL-TG (}\mu\text{mol/ml)}}$$

Ο μέσος χρόνος παραμονής (mean residence time, MRT, σε λεπτά) των VLDL-TG στην κυκλοφορία υπολογίστηκε ως $1/\text{FTR}$ και υποδηλώνει τη μέση χρονική διάρκεια για την οποία

τα VLDL-TG κυκλοφορούν στο αίμα, από τη στιγμή που θα εκκριθούν από το ήπαρ έως ότου απομακρυνθούν. Ένας σύντομος MRT υποδεικνύει γρήγορη απομάκρυνση των TG από τα κυκλοφορούντα σωματίδια VLDL, ενώ ένας παρατεταμένος MRT υποδεικνύει ότι τα TG παραμένουν στον πυρήνα των VLDL χωρίς να απομακρυνθούν για αρκετό χρονικό διάστημα μετά την έκκρισή τους από το ήπαρ.

$$\text{Μέσος χρόνος παραμονής VLDL-TG (min)} = \frac{1}{\text{FTR}_{\text{VLDL-TG}} (1/\text{min})}$$

Πρέπει να τονιστεί ότι ο ρυθμός κάθαρσης και ο MRT των VLDL-TG αναφέρονται στην απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία του αίματος με οποιοδήποτε τρόπο, π.χ. λόγω υδρόλυσης από την LPL (ή την HL), λόγω μεταφοράς σε άλλες λιποπρωτεΐνες μέσω της CETP, ή ακόμα και λόγω μετάπτωσης ολόκληρου του σωματιδίου VLDL σε άλλο λιποπρωτεϊνικό σωματίδιο (π.χ. IDL και LDL). Η έννοια αυτών των δύο παραμέτρων μπορεί να γίνει εύκολα κατανοητή αν ο ρυθμός κάθαρσης αντιστοιχηθεί στην ταχύτητα με την οποία ένας κολυμβητής διανύει («καθαρίζει») την απόσταση μέσα σε μια πισίνα και ο MRT αντιστοιχηθεί στο χρόνο που κάνει ο κολυμβητής για να διασχίσει όλο το μήκος της πισίνας (παραμονή στο νερό). Προφανώς, στην αναλογία αυτή, η δεξαμενή του πλάσματος αντιστοιχεί στην πισίνα του νερού. Όταν ο ίδιος κολυμβητής κολυμπάει στην ίδια πισίνα με διαφορετική ταχύτητα, έστω υψηλότερη, τότε ο ρυθμός κάθαρσης θα είναι αυξημένος και ο MRT θα είναι ελαττωμένος (συντομότερος). Ωστόσο, για την ερμηνεία των επιδόσεων δύο κολυμβητών, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη τόσο η ταχύτητά τους όσο και το μήκος της πισίνας μέσα στην οποία κολυμπούν. Για παράδειγμα, ο ένας κολυμβητής μπορεί να κολυμπάει γρηγορότερα (υψηλότερος ρυθμός κάθαρσης), αλλά ο MRT να μη διαφέρει εφόσον ο δεύτερος κολυμβητής κολυμπάει σε μικρότερη πισίνα. Από την άλλη, οι δύο κολυμβητές μπορεί να κολυμπούν με την ίδια ταχύτητα (ίδιος ρυθμός κάθαρσης), αλλά οι MRT να είναι διαφορετικοί εφόσον οι δύο πισίνες έχουν διαφορετικό μήκος.

Η σχετική, ποσοστιαία (%) συμμετοχή των FFA του πλάσματος (συστηματική κυκλοφορία) στην ολική παραγωγή VLDL-TG προσδιορίστηκε προσαρμόζοντας τη 12-ωρη τροχιά του TTR του ελεύθερου (μη εστεροποιημένου) παλμιτικού οξέος στο πλάσμα και του TTR του εστεροποιημένου παλμιτικού στα VLDL-TG σε ένα πολυδιαμερισματικό μοντέλο (ΕΙΚΟΝΑ 4.3), χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό (SAAM II, version 1.1, Simulation, Analysis and Modeling Software for Kinetic Analysis, SAAM Institute, University of Washington, Seattle, Γουάσινγκτον, ΗΠΑ) [122,151]. Τα συστηματικά λιπαρά οξέα αντιπροσωπεύουν FFA από τη

συστηματική κυκλοφορία που προσλαμβάνονται από το ήπαρ και ενσωματώνονται στα VLDL-TG, είτε απευθείας είτε μετά από προσωρινή ενσωμάτωση σε ταχύτατα ανακυκλούμενες ενδοηπατικές ή ενδοπεριτοναϊκές αποθήκες TG. Τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα των VLDL-TG προέρχονται από μη συστηματικές δεξαμενές λιπαρών οξέων που δεν ιχνηθετούνται από τον ιχνηλάτη κατά τη διάρκεια της έγχυσης και περιλαμβάνουν: i) λιπαρά οξέα που απελευθερώνονται με αργό ρυθμό από προϋπάρχουσες λιπαροθήκες στο ήπαρ και τους ιστούς με απευθείας φλεβική παροχέτευση στην πυλαία φλέβα (π.χ. ιστοί του γαστρεντερικού συστήματος, σπλήνα, πάγκρεας), ii) λιπαρά οξέα που προέρχονται από τη λιπόλυση λιποπρωτεϊνών του πλάσματος που προσλαμβάνονται από το ήπαρ και, iii) λιπαρά οξέα που συντίθενται στο ήπαρ μέσω de novo λιπογένεσης [281]. Οι απόλυτοι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG από συστηματικά και μη συστηματικά λιπαρά οξέα υπολογίστηκαν πολλαπλασιάζοντας το συνολικό ρυθμό έκκρισης VLDL-TG με την αντίστοιχη ποσοστιαία συμμετοχή των λιπαρών οξέων από κάθε πηγή.

$$\text{Ρυθμός έκκρισης VLDL-TG από συστηματικά λιπαρά οξέα (}\mu\text{mol/min)} = \text{Απόλυτος ρυθμός έκκρισης VLDL-TG (}\mu\text{mol/min)} \cdot \text{Σχετική συνεισφορά των συστηματικών FFA στην παραγωγή VLDL-TG (\%)}$$

$$\text{Ρυθμός έκκρισης VLDL-TG από μη συστηματικά λιπαρά οξέα (}\mu\text{mol/min)} = \text{Απόλυτος ρυθμός έκκρισης VLDL-TG (}\mu\text{mol/min)} \cdot [1 - \text{Σχετική συνεισφορά των συστηματικών FFA στην παραγωγή VLDL-TG (\%)}]$$

Ο FTR της VLDL-apoB-100 προσδιορίστηκε προσαρμόζοντας τη 12-ωρη τροχιά του TTR της ελεύθερης λευκίνης στο πλάσμα και του TTR της λευκίνης της VLDL-apoB-100 σε ένα πολυδιαμερισματικό μοντέλο (ΕΙΚΟΝΑ 4.3), χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό (SAAM II, version 1.1, Simulation, Analysis and Modeling Software for Kinetic Analysis, SAAM Institute, University of Washington, Seattle, Γουάσινγκτον, ΗΠΑ) [122,143]. Ο σχετικός και ο απόλυτος ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ (σε nmol/L·min και nmol/min, αντίστοιχα), ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100 από το πλάσμα (σε ml/min) και ο MRT της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία (σε min) υπολογίστηκαν με εξισώσεις αντίστοιχες με αυτές που αναφέρθηκαν παραπάνω για τα VLDL-TG, χρησιμοποιώντας τον FTR και τη συγκέντρωση της VLDL-apoB-100. Πρέπει να τονιστεί ότι ο ρυθμός κάθαρσης και ο MRT της VLDL-apoB-100 αναφέρονται στην απομάκρυνση της VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία του αίματος με οποιοδήποτε τρόπο, π.χ. λόγω μετάπτωσης των VLDL σε λιποπρωτεϊνικά σωματίδια υψηλότερης πυκνότητας (π.χ. IDL και LDL) ή λόγω πρόσληψης του σωματιδίου VLDL από εξειδικευμένους υποδοχείς. Επειδή κάθε σωματίδιο VLDL έχει ένα και μόνο μόριο apoB-100 [43], οι μεταβολικοί ρυθμοί της VLDL-apoB-100 αντικατοπτρίζουν το ρυθμό ηπατικής

έκκρισης, την κάθαρση και το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL σωματιδίων στην κυκλοφορία.

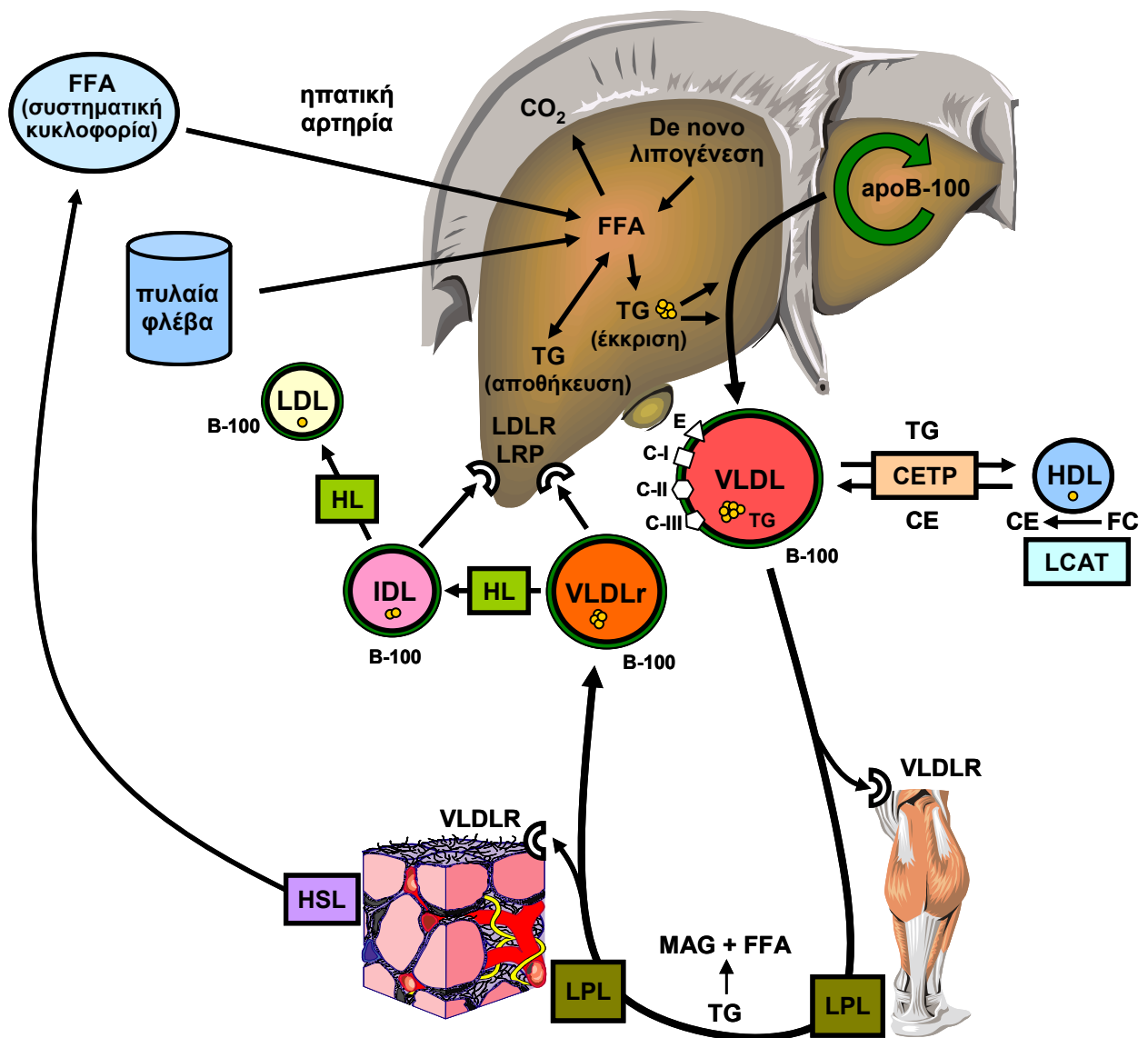
Τέλος, ο λόγος του ρυθμού έκκρισης VLDL-TG προς το ρυθμό έκκρισης VLDL-αποB-100 από το ήπαρ παρέχει μία εκτίμηση του μέσου αριθμού των μορίων TG που βρίσκονται σε κάθε νεοεκκρινόμενο σωματίδιο VLDL [122]. Έτσι, ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποB-100 αποτελεί ένα δείκτη της μέσης ποσότητας των TG ανά VLDL (και άρα, του μέσου μεγέθους των VLDL) ακριβώς τη στιγμή που το σωματίδιο εκκρίνεται στην κυκλοφορία (προτού, δηλαδή, υποστεί οποιαδήποτε τροποποίηση λόγω ενδοαγγειακού μεταβολισμού).

Συνοψίζοντας, σε σχέση με το μεταβολισμό των VLDL (ΕΙΚΟΝΑ 4.4), που αποτελεί και το κεντρικό σημείο ενδιαφέροντος της παρούσας διατριβής, θα υπολογιστούν οι ακόλουθες παράμετροι:

1. Ο ρυθμός με τον οποίο εκκρίνονται τα VLDL-TG από το ήπαρ.
2. Η συνεισφορά των FFA από τη συστηματική κυκλοφορία και των λιπαρών οξέων από μη συστηματικές πηγές στην παραγωγή VLDL.
3. Ο ρυθμός με τον οποίο εκκρίνεται η VLDL-αποB-100 από το ήπαρ, δηλαδή ο ρυθμός έκκρισης VLDL σωματιδίων.
4. Το μέσο περιεχόμενο σε TG των σωματιδίων VLDL τη στιγμή ακριβώς που εκκρίνονται από το ήπαρ.
5. Ο ρυθμός κάθαρσης πλάσματος από VLDL-TG, που αντιπροσωπεύει το ρυθμό με τον οποίο τα VLDL-TG χάνονται από την κυκλοφορία με οποιονδήποτε τρόπο.
6. Ο ρυθμός κάθαρσης πλάσματος από VLDL-αποB-100, που αντιπροσωπεύει το ρυθμό με τον οποίο ολόκληρα τα σωματίδια VLDL χάνονται από την κυκλοφορία με οποιονδήποτε τρόπο.
7. Ο μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία.
8. Ο μέσος χρόνος παραμονής της VLDL-αποB-100 στην κυκλοφορία.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία περιλαμβάνει οποιονδήποτε τρόπο απώλειας TG από τις VLDL. Έτσι, εκτός από υδρόλυση των VLDL-TG μέσω της δράσης της LPL και της HL ή μεταφοράς των VLDL-TG προς άλλες λιποπρωτεΐνες (HDL αλλά και LDL) μέσω της δράσης της CETP, τα VLDL-TG απομακρύ-

νονται και όταν ολόκληρο το σωματίδιο VLDL χαθεί από την κυκλοφορία, π.χ. λόγω πρόσληψης μέσω υποδοχέων αλλά και λόγω μετάπτωσης προς λιποπρωτεϊνικά σωματίδια υψηλότερης πυκνότητας (IDL και LDL), αφού και την τελευταία περίπτωση τα TG δε θα βρίσκονται πια σε σωματίδια VLDL. Με τον ταυτόχρονο προσδιορισμό του ρυθμού απομάκρυνσης της VLDL-apoB-100, που αναφέρεται στην απομάκρυνση ολόκληρου του σωματιδίου VLDL από την κυκλοφορία, μπορεί να γίνει ένας μερικός διαχωρισμός των παραπάνω διαδικασιών.



Εικόνα 4.4. Σχηματική αναπαράσταση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Τα λιπαρά οξέα γίνονται διαθέσιμα στο ήπαρ από τη συστηματική κυκλοφορία (FFA του πλάσματος) και από μη συστηματικές πηγές (π.χ. de novo λιπογένεση, λιπόλυση ενδοηπατικών TG, μέσω της πυλαίας φλέβας από λιπόλυση του ενδοκοιλιακού λίπους). Εκεί, οξειδώνονται προς παραγωγή ενέργειας ή

εστεροποιούνται προς TG (ή και φωσφολιπίδια), ορισμένα από τα οποία προορίζονται για έκκριση. Αυτά τα TG συντήκονται με ένα νεοσυντιθέμενο μόριο apoB-100 και τελικά εκκρίνεται ένα ώριμο σωματίδιο VLDL. Τα TG των VLDL χάνονται από την κυκλοφορία μέσω υδρόλυσης από την LPL των περιφερειακών ιστών, μέσω της CETP που τα μεταφέρει σε άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. HDL) ή, προφανώς, όταν ολόκληρο το σωματίδιο VLDL χάνεται από την κυκλοφορία (π.χ. λόγω πρόσληψης από υποδοχείς ή λόγω μετάπτωσης προς άλλες λιποπρωτεΐνες όπως οι IDL και LDL). Οι απολιποπρωτεΐνες E, C-I, C-II, C-III (και άλλες) βρίσκονται στην επιφάνεια των VLDL και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των VLDL μέσω αλληλεπίδρασης με μια ποικιλία ενζύμων και υποδοχέων και μπορούν να μετακινούνται ελεύθερα μεταξύ των διαφόρων λιποπρωτεϊνών. Η apoB-100 παραμένει συνεχώς προσκολλημένη στο σωματίδιο VLDL και χάνεται από την κυκλοφορία μόνο όταν ολόκληρο το σωματίδιο VLDL χάνεται από την κυκλοφορία. VLDL = λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG = τριακυλογλυκερόλες, apoB-100 = απολιποπρωτεΐνη B-100, FFA = ελεύθερα λιπαρά οξέα, MAG = μονοακυλογλυκερόλες, LPL = λιποπρωτεϊνική λιπάση, HSL = ορμονο-ευαίσθητη λιπάση, HL = ηπατική λιπάση, CETP = μεταφορική πρωτεΐνη εστέρων χοληστερόλης, LCAT = ακυλο-τρανσφεράση της λεκιθίνης-χοληστερόλης, FC = ελεύθερη χοληστερόλη, CE = εστέρες χοληστερόλης, VLDL_r = υπολείμματα VLDL, IDL = λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας, LDL = λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας, HDL = λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας, LDLR = υποδοχέας LDL, LRP = εξειδικευμένος υποδοχέας απολιποπρωτεΐνης E, VLDLR = υποδοχέας VLDL.

4.6 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό (SPSS 13.0, SPSS Inc, Chicago, Ιλλινόις, ΗΠΑ).

Αρχικά, όλες οι κατανομές δεδομένων υπέστησαν έλεγχο κανονικότητας σύμφωνα με τη δοκιμασία των Kolmogorov-Smirnov. Παραμετρικές δοκιμασίες χρησιμοποιήθηκαν για όσες μεταβλητές βρέθηκαν να ακολουθούν την κανονική κατανομή και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις (SD). Όσες μεταβλητές δεν κατανέμονταν κανονικά, υπέστησαν αρχικά λογαριθμική μετατροπή και επαναλήφθηκε ο έλεγχος της κανονικότητας. Εφόσον η λογαρίθμηση εξασφάλιζε την κανονικότητα, χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές δοκιμασίες για τους λογαρίθμους των κατανομών και τα αποτελέσματα υπέστησαν αντιστοίχιση για την παρουσίασή τους τελικά ως μέσοι και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95%CI) [282]. Αν η λογαρίθμηση δεν εξασφάλιζε την κανονικότητα, τότε χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές δοκιμασίες για την αρχική κατανομή τιμών (πριν τη λογαρίθμηση) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως διάμεσοι και εκατοστημόρια 25-75%.

Οι μεταβλητές που κατανέμονταν κανονικά συγκρίθηκαν με το t τεστ του Student για ζεύγη παρατηρήσεων στην περίπτωση των συζευγμένων μελετών (ΜΕΛΕΤΕΣ #1, #2, #6, #7 και #8) και με το t τεστ του Student για ανεξάρτητες παρατηρήσεις στην περίπτωση των διατμηματικών μελετών (ΜΕΛΕΤΕΣ #3, #4 και #5).

Οι μεταβλητές που δεν κατανέμονταν κανονικά συγκρίθηκαν με το signed ranks τεστ του Wilcoxon για ζεύγη παρατηρήσεων στην περίπτωση των συζευγμένων μελετών (ΜΕΛΕΤΕΣ #1, #2, #6, #7 και #8) και με το U τεστ των Mann-Whitney για ανεξάρτητες παρατηρήσεις στην περίπτωση των διατμηματικών μελετών (ΜΕΛΕΤΕΣ #3, #4 και #5).

Ο βαθμός γραμμικής συσχέτισης μεταξύ διαφόρων μεταβλητών προσδιορίστηκε υπολογίζοντας το συντελεστή συσχέτισης r του Pearson (για κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές) ή ρ του Spearman (για μη κανονικά κατανεμημένες μεταβλητές).

Απλή (γραμμική και μη γραμμική) και πολλαπλή (γραμμική κατά βήμα) παλινδρόμηση χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ δύο ή περισσότερων κανονικά κατανοημένων μεταβλητών.

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν σε επίπεδο σημαντικότητας 95% (τιμές $P \geq 0,05$).

5. Ερευνητικές μελέτες

- | | | |
|------------|------------------|---|
| 5.1 | Μελέτη #1 | Επαναληψιμότητα των μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των VLDL in vivo |
| 5.2 | Μελέτη #2 | Η επίδραση του έμμηνου κύκλου στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες |
| 5.3 | Μελέτη #3 | Η επίδραση φυσιολογικών διακυμάνσεων στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες |
| 5.4 | Μελέτη #4 | Η επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL |
| 5.5 | Μελέτη #5 | Η επίδραση του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL |
| 5.6 | Μελέτη #6 | Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες |
| 5.7 | Μελέτη #7 | Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες |
| 5.8 | Μελέτη #8 | Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες |

5.1 Μελέτη #1

Επαναληψιμότητα των μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των VLDL in vivo

Η παρούσα εργασία δημοσιεύτηκε ως:

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B. Reproducibility of stable isotope-labeled tracer measures of VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics. *Journal of Lipid Research* 2007, **48** (5): 1204-1211.

Εισαγωγή

Οι VLDL είναι σφαιρικά, μακρομοριακά σύμπλοκα που αποτελούνται από απολιποπρωτεΐνες και λιπίδια. Τα κυριότερα δομικά συστατικά των VLDL είναι η apoB-100 που βρίσκεται στην υδρόφιλη επιφάνεια του σωματιδίου και τα TG που βρίσκονται στο υδρόφοβο εσωτερικό. Οι VLDL συντίθενται στο ήπαρ και εκκρίνονται στην κυκλοφορία του αίματος. Εκεί, ανταλλάσσουν TG για εστέρες χοληστερόλης με άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. με τις HDL) και δρουν ως αποδέκτες επιφανειακών απολιποπρωτεϊνών (π.χ. apoC-II και apoE από τις HDL). Κατά τη διάρκεια της παραμονής τους στην κυκλοφορία, οι VLDL υπόκεινται στη δράση της LPL η οποία βρίσκεται στο αγγειακό ενδοθήλιο περιφερειακών ιστών όπως ο σκελετικός και ο καρδιακός μυς και ο λιπώδης ιστός. Η LPL υδρολύει το μεγαλύτερο μέρος των VLDL-TG απελευθερώνοντας έτσι FFA για αποθήκευση ή παραγωγή ενέργειας. Η σταδιακή λιπόλυση των TG στον πυρήνα των VLDL έχει ως αποτέλεσμα τη βαθμιαία μείωση του όγκου του σωματιδίου προς σχηματισμό υπολειμμάτων VLDL και IDL. Τα λιποπρωτεϊνικά αυτά σωματίδια είτε προσλαμβάνονται από ειδικούς υποδοχείς του ήπατος και απομακρύνονται από την κυκλοφορία είτε υπόκεινται σε περαιτέρω υδρόλυση των TG τους από την LPL και την HL και μεταπίπτουν έτσι σε ακόμα μικρότερες και πυκνότερες λιποπρωτεΐνες, τις LDL. Οι VLDL, λοιπόν, αποτελούν κεντρικό σημείο στην ομοιοστάση των λιπιδίων του πλάσματος. Η δυσλειτουργία των μηχανισμών ρύθμισης του μεταβολισμού των VLDL έχει συσχετιστεί με αθηρογόνες αλλαγές στο λιπιδαιμικό προφίλ (αυξημένη συγκέντρωση TG, μειωμένη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης, αυξημένη συγκέντρωση LDL-χοληστερόλης και αυξημένο αριθμό VLDL και LDL σωματιδίων στην κυκλοφορία) και αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακές νόσους [20,21,

283]. Η μελέτη του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, λοιπόν, εκτός από φυσιολογική σημασία, ενδέχεται να έχει και ιδιαίτερες κλινικές προεκτάσεις.

Οι ισοτοπικοί ιχνηλάτες χρησιμοποιούνται ήδη εδώ και περίπου πέντε δεκαετίες για τη μελέτη του μεταβολισμού των VLDL [98,103,151,152,155,284]. Μια ποικιλία από μεθόδους έχουν αναπτυχθεί, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους στην επιλογή του ιχνηλάτη και τη μαθηματική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων [98,103,151,152,155,284]. Οι περισσότερες σύγχρονες μέθοδοι κάνουν χρήση σταθερών ισοτόπων και μετρούν το ρυθμό ενσωμάτωσης του ιχνηλάτη στα TG ή την apoB-100 των VLDL, σε συνδυασμό με μαθηματικά πολυδιαμερισματικά μοντέλα προσομοίωσης των αντίστοιχων μεταβολικών μονοπατιών [103,151,152]. Η σχετικά μεγάλη διάρκεια του πειραματικού πρωτοκόλλου (6-12 ώρες) και η αναγκαιότητα για αποφυγή πιθανής ισοτοπικής επιμόλυνσης (λόγω παραμονής υπολειμμάτων του ιχνηλάτη στο σώμα για αρκετές ημέρες) καθιστούν αδύνατη τη μελέτη των επιδράσεων μιας φυσιολογικής παρέμβασης (π.χ. μίας συνεδρίας άσκησης, της υπεργλυκαιμίας, της υπερινσουλιαιμίας, κλπ.) σε μία επίσκεψη, αλλά απαιτούν τη διεξαγωγή πολλαπλών πειραμάτων στα ίδια άτομα με απόσταση αρκετών ημερών ή μερικών εβδομάδων. Λόγω του υψηλού κόστους των ισοτοπικών ιχνηλατών και της πολυπλοκότητας των αναλυτικών προσδιορισμών, οι σχετικές μελέτες πραγματοποιούνται συνήθως σε μικρά δείγματα, τυπικά 5 έως 10 ατόμων [121,122,146,285,286, 287,288,289,290]. Ο σχεδιασμός και η αξιολόγηση αυτών των μελετών (ιδιαίτερα σε περίπτωση «αρνητικών» ευρημάτων) είναι ιδιαίτερα δύσκολοι, καθώς, δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την επαναληψιμότητα των ισοτοπικών μεθόδων προσδιορισμού της κινητικής των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100.

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας και του μεγέθους της ενδοατομικής διακύμανσης στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100, αλλά και στο ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα (τα οποία αποτελούν τον κυριότερο πρόδρομο για τη σύνθεση VLDL-TG), σε κατάσταση νηστείας. Οι πληροφορίες που αποκομίστηκαν χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια για τον υπολογισμό του απαιτούμενου μεγέθους δείγματος για την ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών, καθώς και για τον προσδιορισμό της ελάχιστης ανιχνεύσιμης διαφοράς για κάθε μέγεθος δείγματος, τόσο για συζευγμένες (paired) όσο και για διατμηματικές (cross-sectional) μελέτες.

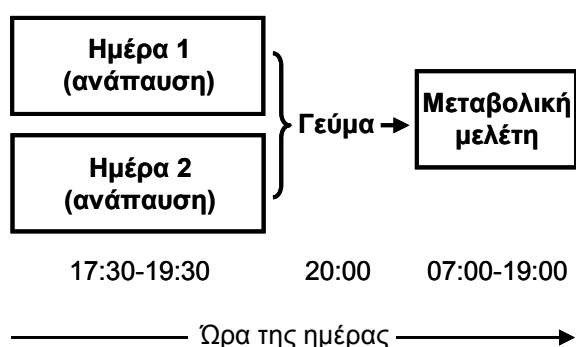
Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 8 υγιείς, νορμοβαρείς άνδρες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.1), καθένας από τους οποίους πραγματοποίησε δύο πανομοιότυπες δοκιμές μέσα σε διάστημα μεγαλύτερο των 2 εβδομάδων. Όλες οι μετρήσεις έγιναν στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία), αφού προηγήθηκε ανάπαυση κατά το προηγούμενο απόγευμα (ΕΙΚΟΝΑ 5.1.1). Το πειραματικό πρωτόκολλο και η μεταβολική μελέτη περιγράφονται λεπτομερώς στη γενική μεθοδολογία της παρούσας διατριβής (Κεφάλαιο 4.3).

Πίνακας 5.1.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντών (N = 8).

Ηλικία	(έτη)	30 ± 6
Βάρος	(kg)	76 ± 6
Ύψος	(cm)	181 ± 5
BMI	(kg/m ²)	$23,5 \pm 2,0$
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	16 ± 5
Λιπώδης μάζα	(kg)	12 ± 4
Άλιπη μάζα	(kg)	64 ± 5

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος.



Εικόνα 5.1.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Ο υπολογισμός των στατιστικών παραμέτρων επαναληψιμότητας (*αλλαγή στο μέσο, ολικό σφάλμα, τυπικό σφάλμα*) και οι εκτιμήσεις του απαιτούμενου μεγέθους δείγματος έγιναν σύμφωνα με το Hopkins [291]. Η *αλλαγή στο μέσο* αντιπροσωπεύει τη μέση διαφορά ανάμεσα στις συζευγμένες παρατηρήσεις για κάθε άτομο και εμπεριέχει δύο συστατικά: την τυχαία αλλαγή και τη συστηματική αλλαγή. Το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95%CI) για την *αλλαγή στο μέσο* υπολογίστηκε έτσι ώστε να διαπιστωθεί η απουσία (όταν το 95%CI περιλαμβάνει το μηδέν) ή η παρουσία (όταν το 95%CI δεν περιλαμβάνει το μηδέν) συστηματικής αλλαγής. Το

ολικό σφάλμα της μέτρησης εκφράστηκε με βάση το συντελεστή μεταβλητότητας (CV) και εμπεριέχει τη συνολική διακύμανση της μέτρησης (αναλυτική και βιολογική). Ο ολικός CV (σε %) υπολογίστηκε ως ο μέσος όρος των λόγων των SD για τις συζευγμένες παρατηρήσεις σε κάθε άτομο προς τις αντίστοιχες μέσες τιμές.

Η βιολογική διακύμανση μπορεί να υπολογιστεί από την ολική διακύμανση της μέτρησης και την αναλυτική διακύμανση ως εξής: βιολογικός CV = τετραγωνική ρίζα του (ολικός CV² – αναλυτικός CV²) [292,293]. Η πραγματική αναλυτική διακύμανση δε μπορεί να προσδιοριστεί εύκολα για τις διάφορες κινητικές παραμέτρους, καθώς κάτι τέτοιο θα απαιτούσε τη συλλογή απαγορευτικά μεγάλης ποσότητας αίματος από επαρκή αριθμό εθελοντών, έτσι ώστε να γίνει επαναληπτική (4-5 φορές) κατεργασία και ανάλυση όλων των δειγμάτων κάθε 12-ωρης μεταβολικής μελέτης, γεγονός που είναι αδύνατο όχι μόνο για ηθικούς, αλλά και για πρακτικούς λόγους (π.χ. κόστος των ισοτοπικών ιχνηλατών, πολυπλοκότητα των αναλυτικών προσδιορισμών, κλπ.). Επομένως, υποτέθηκε ότι ο αναλυτικός CV για τον προσδιορισμό μίας παραμέτρου που προκύπτει από πολλά συνεχόμενα δείγματα κατά τη διάρκεια των 12 ωρών της μεταβολικής μελέτης (π.χ. η συγκέντρωση των VLDL-TG προσδιορίζεται ως ο μέσος όρος 7 δειγμάτων – ένα κάθε 2 ώρες) ισούται με τον αναλυτικό CV για τον προσδιορισμό της παραμέτρου αυτής σε ένα μόνο τυχαίο δείγμα (δηλαδή, με τον αναλυτικό CV για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των VLDL-TG σε ένα δείγμα), ο οποίος και υπολογίστηκε όπως περιγράφεται παρακάτω. Αυτός ο CV μάλλον αποτελεί μια μέγιστη εκτίμηση του μεγέθους της αναλυτικής διακύμανσης, διότι η ανάλυση μιας σειράς δειγμάτων τείνει να μειώνει τη μεταβλητότητα και να περιορίζει τα όρια του 95%CI των αναλυτικών προσδιορισμών [293,294,295]. Επομένως, ο πραγματικός αναλυτικός CV για τον υπολογισμό των κινητικών παραμέτρων που προκύπτουν από μία σειρά τιμών συγκεντρώσεων ή/και εμπλουτισμού αναμένεται να είναι τουλάχιστον ίσος ή και μικρότερος από τον αναλυτικό CV που προκύπτει από την επαναληπτική ανάλυση ενός και μόνο δείγματος.

Ο αναλυτικός CV υπολογίστηκε ως ο μέσος του λόγου της SD των πολλαπλών τιμών που προέκυψαν για κάθε δείγμα από τις επαναληπτικές μετρήσεις, προς το μέσο όρο των τιμών αυτών. Για τον προσδιορισμό της αναλυτικής διακύμανσης στις μετρήσεις των συγκεντρώσεων (FFA, VLDL-TG και VLDL-apoB-100) και του εμπλουτισμού (παλμιτικό στο πλάσμα και τα VLDL-TG, γλυκερόλη στο πλάσμα και τα VLDL-TG και λευκίνη στο πλάσμα και τη VLDL-apoB-100) των διαφόρων υποστρωμάτων, πραγματοποιήθηκε μία 6-ωρη έγχυση ισοτοπικών ιχνηλατών σε έναν άνδρα που δε συμμετείχε στη μελέτη. Τα δείγματα αίματος που συλλέχθη-

καν φυγοκεντρήθηκαν αμέσως για το διαχωρισμό του πλάσματος και αναμίχθηκαν όπως κρίθηκε αναγκαίο, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί επαρκής ποσότητα πλάσματος από 5 διαφορετικά δείγματα για 4-5 επαναληπτικές μετρήσεις. Για τον προσδιορισμό της αναλυτικής διακύμανσης στις μετρήσεις της συγκέντρωσης των FFA και του εμπλουτισμού του παλμιτικού, της γλυκερόλης και της λευκίνης στο πλάσμα, κάθε δείγμα καταψύχθηκε αμέσως μετά τη συλλογή (-80°C για τουλάχιστον 7 ημέρες) και μετά υπέστη κατεργασία και ανάλυση σε 4 επαναλήψεις, όπως ακριβώς περιγράφεται στη γενική μεθοδολογία της παρούσας διατριβής (Κεφάλαιο 4.4). Για τον προσδιορισμό της αναλυτικής διακύμανσης στις μετρήσεις της συγκέντρωσης των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, διαλύματα VLDL από κάθε φρέσκο δείγμα πλάσματος απομονώθηκαν με υπερφυγοκέντρωση σε 5 επαναλήψεις, όπως ακριβώς περιγράφεται στη γενική μεθοδολογία της παρούσας διατριβής (Κεφάλαιο 4.4). Η συγκέντρωση της VLDL-apoB-100 μετρήθηκε σε φρέσκο δείγμα αμέσως μετά την απομόνωση των VLDL, ενώ το υπόλοιπο διάλυμα VLDL καταψύχθηκε (-80°C για τουλάχιστον 7 ημέρες) και μετά μετρήθηκε η συγκέντρωση των VLDL-TG. Για τον προσδιορισμό της αναλυτικής διακύμανσης στις μετρήσεις του εμπλουτισμού στα VLDL-TG (γλυκερόλη και παλμιτικό) και τη VLDL-apoB-100 (λευκίνη), τα 5 διαλύματα VLDL που απομονώθηκαν από κάθε δείγμα πλάσματος καταψύχθηκαν αμέσως μετά τη συλλογή (-80°C για τουλάχιστον 7 ημέρες) και μετά υπέστησαν κατεργασία και ανάλυση, όπως ακριβώς περιγράφεται στη γενική μεθοδολογία της παρούσας διατριβής (Κεφάλαιο 4.4). Η διακύμανση του οργάνου GCMS στις μετρήσεις του εμπλουτισμού των διαφόρων υποστρωμάτων αξιολογήθηκε πραγματοποιώντας πολλαπλές (περίπου 5-10) ενέσεις από το ίδιο δείγμα.

Το τυπικό σφάλμα της μέτρησης χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για την ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ποικίλες κινητικές παραμέτρους, στην περίπτωση μελετών με συζευγμένο αλλά και διατμηματικό σχεδιασμό. Όλοι οι υπολογισμοί έγιναν υποθέτοντας επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ίσο με $\alpha = 0,05$ και σφάλμα τύπου II ίσο με $\beta = 0,2$ (δύναμη του ελέγχου ίση με 80%). Το τυπικό σφάλμα αντιπροσωπεύει την ενδοατομική διακύμανση, περιλαμβάνει όλες τις πηγές σφάλματος και υπολογίστηκε ως η SD της αλλαγής στο μέσο δια την τετραγωνική ρίζα του 2.

Αποτελέσματα

Αναλυτική διακύμανση

Η αναλυτική διακύμανση για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στο πλάσμα ήταν <5% και αυτή για τον προσδιορισμό του εμπλουτισμού (TTR) του παλμιτικού στο πλάσμα και τα VLDL-TG, της γλυκερόλης στα VLDL-TG και της λευκίνης στο πλάσμα και τη VLDL-apoB-100 ήταν <4,5% (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.2). Η αναλυτική διακύμανση για τον προσδιορισμό του TTR της γλυκερόλης στο πλάσμα ήταν ελαφρώς υψηλότερη (<8%), λόγω των τυπικά πολύ χαμηλών τιμών εμπλουτισμού περίπου 1 ώρα και ύστερα μετά την ένεση γλυκερόλης (TTR < 0,015). Η διακύμανση του οργάνου GCMS για τον προσδιορισμό των επιμέρους TTR ήταν 0,6% για το παλμιτικό του πλάσματος, 2,4% για το παλμιτικό των VLDL-TG, 3,3% για τη γλυκερόλη του πλάσματος, 3,6% για τη γλυκερόλη των VLDL-TG, 0,9% για τη λευκίνη του πλάσματος και 2,4% για τη λευκίνη της VLDL-apoB-100.

Πίνακας 5.1.2. Αναλυτική διακύμανση για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων και του εμπλουτισμού των διαφόρων υποστρωμάτων.

	Αναλυτικός CV (%)
Συγκεντρώσεις	
Ελεύθερο παλμιτικό στο πλάσμα	3,5
FFA στο πλάσμα	3,6
VLDL-TG	4,9
VLDL-apoB-100	3,5
Εμπλουτισμός (TTR)	
Ελεύθερο παλμιτικό στο πλάσμα	1,3
Ελεύθερη γλυκερόλη στο πλάσμα	7,8
Ελεύθερη λευκίνη στο πλάσμα	1,6
Παλμιτικό στα VLDL-TG	4,0
Γλυκερόλη στα VLDL-TG	4,0
Λευκίνη στη VLDL-apoB-100	4,3

FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ενεργειακός μεταβολισμός

Η πρόσληψη οξυγόνου, η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα, το αναπνευστικό πηλίκο, ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας και οι ρυθμοί οξείδωσης λιπών και υδατανθράκων δε διέφεραν κατά τη διάρκεια των δύο διαφορετικών ημερών (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.3). Οι μέσες ενδοατομικές διακυμάνσεις (ολικός CV) κυμάνθηκαν από 2% έως 22% (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.3).

Πίνακας 5.1.3. Έμμεση θερμιδομετρία το πρωί κατά τη διάρκεια δύο διαφορετικών ημερών.

		Ημέρα 1	Ημέρα 2	Τιμή P	CV (%)
VO ₂	(ml/min)	243 ± 20	242 ± 14	0,820	3,4
VCO ₂	(ml/min)	198 ± 12	199 ± 13	0,861	4,2
RQ		0,82 ± 0,04	0,82 ± 0,04	0,581	2,2
RMR	(kcal/min)	1,16 ± 0,09	1,16 ± 0,07	0,876	3,6
FOX	(mg/min)	56 ± 20	52 ± 16	0,500	15,9
CHOX	(mg/min)	90 ± 37	98 ± 42	0,521	22,4

Οι τιμές για τις δύο δοκιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. VO₂: ρυθμός πρόσληψης οξυγόνου, VCO₂: ρυθμός παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, RQ: αναπνευστικό πηλίκο, RMR: μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας, FOX: ρυθμός οξείδωσης λίπους, CHOX: ρυθμός οξείδωσης υδατανθράκων.

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης, της ινσουλίνης, των FFA, των TG και της apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL δε διέφεραν κατά τη διάρκεια των δύο διαφορετικών ημερών (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.4). Οι μέσες ενδοατομικές διακυμάνσεις κυμάνθηκαν από 2% έως 25% (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.4).

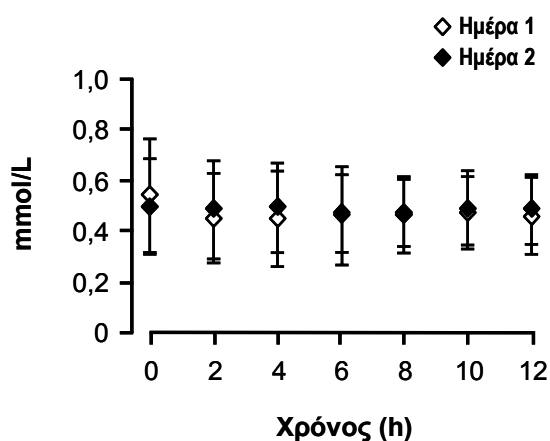
Οι συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στο πλάσμα παρέμειναν σταθερές κατά τη διάρκεια της 12-ωρης μελέτης (ΕΙΚΟΝΑ 5.1.2). Οι τιμές P για την επίδραση του χρόνου (P = 0,583 για τα VLDL-TG και P = 0,776 για τη VLDL-apoB-100), την επίδραση της ημέρας (P = 0,929 για τα VLDL-TG και P = 0,976 για τη VLDL-apoB-100) και την αλληλεπίδραση μεταξύ ημέρας και χρόνου (P = 0,752 για τα VLDL-TG και P = 0,559 για τη VLDL-apoB-100) δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Πίνακας 5.1.4. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα το πρωί κατά τη διάρκεια δύο διαφορετικών ημερών.

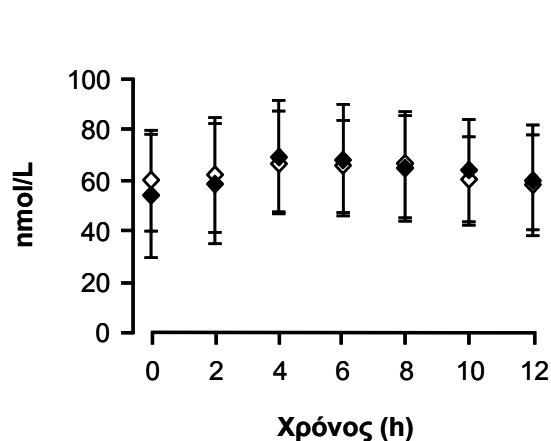
		Ημέρα 1	Ημέρα 2	Τιμή P	CV (%)
Γλυκόζη	(mmol/L)	4,9 ± 0,4	4,9 ± 0,3	0,844	2,4
Ινσουλίνη	(pmol/L)	21 ± 8	20 ± 5	0,688	8,1
FFA	(μmol/L)	302 ± 102	334 ± 163	0,426	24,1
Ολικά TG	(mmol/L)	0,81 ± 0,18	0,77 ± 0,20	0,365	9,8
VLDL-TG	(mmol/L)	0,47 ± 0,14	0,48 ± 0,15	0,861	14,4
Ολική apoB-100	(μmol/L)	1,20 ± 0,22	1,25 ± 0,17	0,414	9,1
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	62 ± 17	62 ± 21	0,985	12,7

Οι τιμές για τις δύο δοκιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Συγκέντρωση VLDL-TG



Συγκέντρωση VLDL-apoB-100

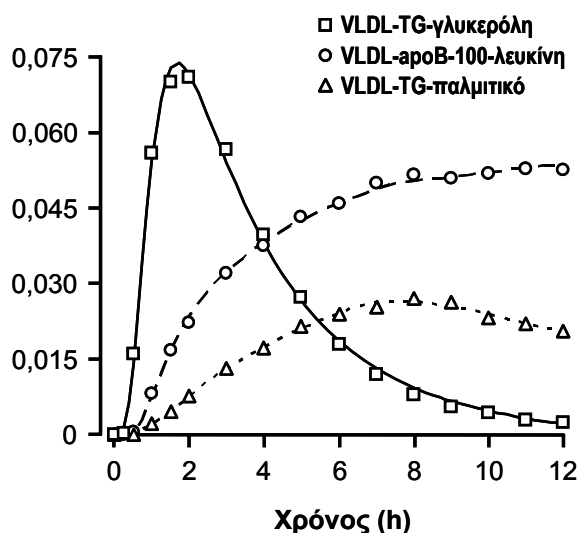


Εικόνα 5.1.2. Συγκεντρώσεις VLDL-TG (επάνω) και VLDL-apoB-100 (κάτω) στο πλάσμα κατά τη διάρκεια των 12 ωρών της μεταβολικής μελέτης σε δύο διαφορετικές ημέρες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA, VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Το μαθηματικό μοντέλο παρείχε καλή προσομοίωση στα πειραματικά δεδομένα. Ένα παράδειγμα δίνεται στην ΕΙΚΟΝΑ 5.1.3.

TTR



Εικόνα 5.1.3. Αντιπροσωπευτική προσομοίωση του μαθηματικού μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα από έναν εθελοντή για τον εμπλουτισμό (TTR) της γλυκερόλης στα VLDL-TG (έχει πολλαπλασιαστεί με το 15 για λόγους παρουσίασης), του παλμιτικού στα VLDL-TG και της λευκίνης στη VLDL-apoB-100. TTR: λόγος ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο (εμπλουτισμός), VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

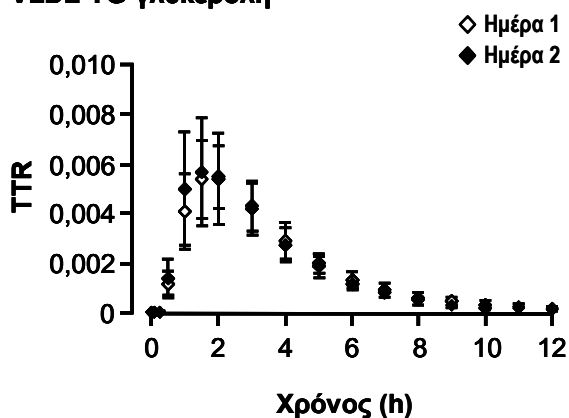
Οι μέσοι όροι για τους TTR της γλυκερόλης και του παλμιτικού στα VLDL-TG και της λευκίνης στη VLDL-apoB-100 κατά τη διάρκεια των δύο διαφορετικών ημερών δίνονται στην ΕΙΚΟΝΑ 5.1.4. Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ημερών στους TTR της VLDL-TG-γλυκερόλης ($P = 0,947$), του VLDL-TG-παλμιτικού ($P = 0,473$) και της VLDL-apoB-100-λευκίνης ($P = 0,781$). Οι τιμές P για την αλληλεπίδραση μεταξύ ημέρας και χρόνου ($P = 0,480$ για τη VLDL-TG-γλυκερόλη, $P = 0,447$ για το VLDL-TG-παλμιτικό και $P = 0,747$ για τη VLDL-apoB-100-λευκίνη) δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Κατά συνέπεια, δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ημερών στο ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα ($P = 0,269$), ούτε και στον FTR των VLDL-TG ($P = 0,938$) και της VLDL-apoB-100 ($P = 0,853$), το ρυθμό παραγωγής των VLDL-TG ($P = 0,662$) και της VLDL-apoB-100 ($P = 0,901$) από το ήπαρ, την κάθαρση των VLDL-TG ($P = 0,892$) και της VLDL-apoB-100 ($P = 0,767$), τον MRT των VLDL-TG ($P = 0,816$) και της VLDL-apoB-100 ($P = 0,646$), όπως επίσης και στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 ($P = 0,506$), που αντανάκλα τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.5). Σε όλες τις περιπτώσεις, το 95%CI για την αλλαγή στο μέσο περιελάμβανε το μηδέν, υποδεικνύοντας την απουσία συστηματικών διαφορών, ενώ οι μέσες ενδοατομικές διακυμάνσεις κυμάνθηκαν από 15% έως 25% περίπου (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.5).

Με βάση το μέγεθος της συνολικής και της αναλυτικής διακύμανσης, εκτιμήθηκε η βιολογική διακύμανση για τις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.6). Σε

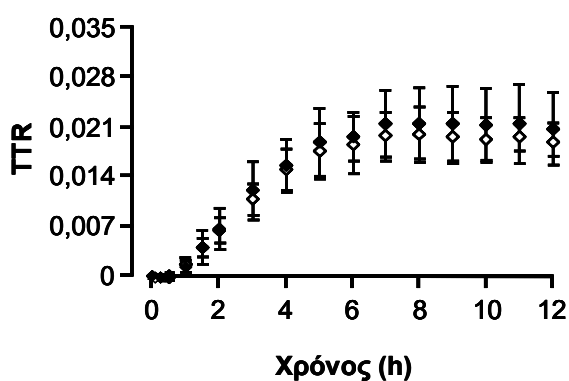
κάθε περίπτωση, η συνολική διακύμανση ήταν στο μεγαλύτερο μέρος της βιολογικής προέλευσης (> 90%). Με άλλα λόγια, ο βιολογικός CV ήταν λιγότερο από 1 μονάδα μικρότερος του ολικού CV (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.6).

VLDL-TG-γλυκερόλη

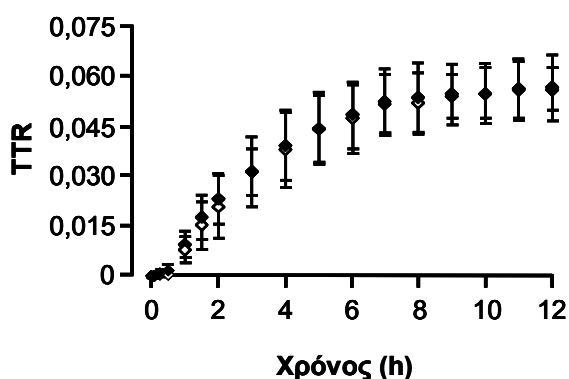


Εικόνα 5.1.4. Μέσοι $\pm$ SD για τον εμπλουτισμό (TTR) της γλυκερόλης στα VLDL-TG (επάνω), του παλμιτικού στα VLDL-TG (μέσο) και της λευκίνης στη VLDL-αποΒ-100 (κάτω) κατά τη διάρκεια των 12 ωρών της μεταβολικής μελέτης σε δύο διαφορετικές ημέρες. TTR: λόγος ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο (εμπλουτισμός), VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, αποΒ-100: απολιποπρωτεΐνη Β-100.

VLDL-TG-παλμιτικό



VLDL-αποΒ-100-λευκίνη



Πίνακας 5.1.5. Επαναληψιμότητα των διαφόρων παραμέτρων του μεταβολισμού των VLDL κατά τη διάρκεια δύο διαφορετικών ημερών.

		<i>Αλλαγή στο μέσο</i>				
		Ημέρα 1	Ημέρα 2	Μέσος όρος	(95%CI)	CV (%)
Ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα	($\mu\text{mol}/\text{min}$)	207 ± 63	235 ± 79	28	(-27, 83)	21,1
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) των VLDL-TG	(δεξαμενές/h)	$0,451 \pm 0,124$	$0,456 \pm 0,093$	0,005	(-0,138, 0,148)	22,2
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ	($\mu\text{mol}/\text{min}$)	$11,8 \pm 2,3$	$12,4 \pm 2,8$	0,6	(-2,5, 3,7)	15,5
Συνεισφορά των FFA από τη συστηματική κυκλοφορία στην παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ	(%)	77 ± 17	74 ± 12	-3	(-17, 10)	10,1
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG	(ml/min)	$26,5 \pm 7,8$	$27,0 \pm 6,7$	0,5	(-8,0, 9,0)	22,7
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία	(min)	141 ± 35	137 ± 30	-4	(-46, 37)	22,2
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) της VLDL-apoB-100	(δεξαμενές/h)	$0,342 \pm 0,107$	$0,353 \pm 0,143$	0,011	(-0,121, 0,143)	24,3
Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ	(nmol/min)	$1,19 \pm 0,32$	$1,20 \pm 0,43$	0,01	(-0,24, 0,27)	15,3
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100	(ml/min)	$19,9 \pm 5,7$	$20,9 \pm 8,8$	1,0	(-6,5, 8,5)	23,9
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία	(min)	195 ± 76	211 ± 139	16	(-63, 94)	24,3
Γραμμομοριακός λόγος των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100		10.408 ± 2.569	11.815 ± 6.363	1.407	(-3.335, 6.148)	18,5

Οι τιμές για τις δύο δοκιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Πίνακας 5.1.6. Συνολική, αναλυτική και βιολογική διακύμανση στις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL.

	Ολικός CV (%)	Αναλυτικός CV (%)	Βιολογικός CV (%)	% συνολικής διακύμανσης από βιολογική προέλευση
Συγκέντρωση FFA	24,1	3,6	23,8	99
Ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα	21,1	3,5	20,8	99
Συγκέντρωση VLDL-TG	14,4	4,9	13,6	94
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) των VLDL-TG	22,2	4,1	21,8	98
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ	15,5	4,5	14,8	96
Συνεισφορά των FFA από τη συστηματική κυκλοφορία στην παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ	10,1	4,0	9,3	92
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG	22,7	4,1	22,3	98
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία	22,2	4,1	21,8	98
Συγκέντρωση VLDL-apoB-100	12,7	3,5	12,2	96
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) της VLDL-apoB-100	24,3	3,0	24,2	99
Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ	15,3	3,2	15,0	98
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100	23,9	3,0	23,7	99
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία	24,3	3,0	24,2	99
Γραμμομοριακός λόγος των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100	18,5	3,9	18,1	98

Οι διάφοροι αναλυτικοί CV εκτιμήθηκαν με βάση τα δεδομένα του ΠΙΝΑΚΑ 5.1.2. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

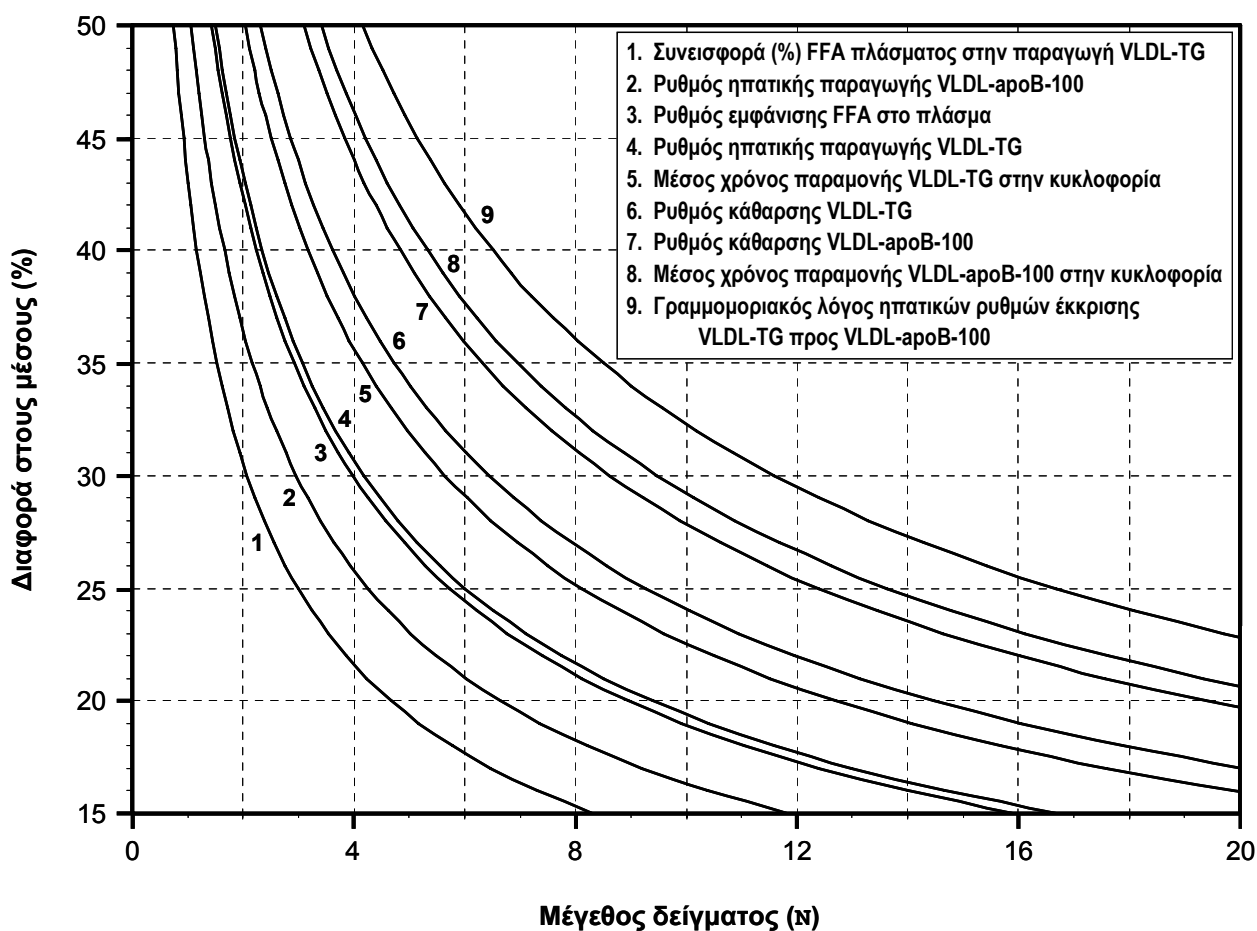
Υπολογισμός μεγέθους δείγματος και ελάχιστες ανιχνεύσιμες διαφορές

Το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για μελέτες με συζευγμένες παρατηρήσεις (δηλαδή, για μελέτες στις οποίες το ίδιο άτομο συμμετέχει σε δύο δοκιμές) που αποσκοπούν στην ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών ποικίλου μεγέθους (ως % διαφορά μεταξύ των μέσων) σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και με σφάλμα τύπου II ίσο με $\beta = 0,2$ (δύναμη του ελέγχου ίση με 80%) δίνεται στον ΠΙΝΑΚΑ 5.1.7. Το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για διατμηματικές μελέτες (δηλαδή, για μελέτες με δύο ομάδες ατόμων στις οποίες το κάθε άτομο συμμετέχει σε μία δοκιμή) είναι τετραπλάσιο από αυτό που απαιτείται για συζευγμένες μελέτες, μοιρασμένο εξίσου στις δύο ομάδες. Για παράδειγμα, αν απαιτούνται 7 άτομα σε μία συζευγμένη μελέτη, θα απαιτούνται $4 \times 7 = 28$ άτομα σε μία διατμηματική μελέτη (14 άτομα ανά ομάδα).

Τα δεδομένα του ΠΙΝΑΚΑ 5.1.7 μπορούν να αναπροσαρμοστούν κατάλληλα, έτσι ώστε να μπορεί εύκολα να υπολογιστεί το μέγεθος της ελάχιστης ανιχνεύσιμης διαφοράς (ως % διαφορά μεταξύ των μέσων) σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και με δύναμη του ελέγχου ίση με 80% για συζευγμένες μελέτες (ΕΙΚΟΝΑ 5.1.5). Στην περίπτωση διατμηματικών μελετών με δύο ομάδες, το συνολικό μέγεθος δείγματος θα πρέπει πρώτα να διαιρεθεί με το 4.

Η παράμετρος εκείνη που απαιτεί το μικρότερο μέγεθος δείγματος για την ανίχνευση μιας διαφοράς ορισμένου μεγέθους είναι ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, ακολουθούμενη από το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα και το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.7 και ΕΙΚΟΝΑ 5.1.5). Η ανίχνευση μιας διαφοράς στους μέσους της τάξης του $\geq 25\%$ για αυτές τις τρεις παραμέτρους απαιτεί περίπου 6 άτομα σε μια μελέτη με συζευγμένο σχεδιασμό. Για την ανίχνευση διαφορών παρόμοιου μεγέθους στους ρυθμούς απομάκρυνσης (κάθαρση και MRT), χρειάζονται 8-9 άτομα στην περίπτωση των VLDL-TG και 13-14 άτομα στην περίπτωση της VLDL-apoB-100 (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.7 και ΕΙΚΟΝΑ 5.1.5). Η παράμετρος εκείνη που απαιτεί το μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος είναι ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, κάτι που είναι αναμενόμενο καθώς, ο λόγος αυτός προκύπτει μαθηματικά από τέσσερις ανεξάρτητες παραμέτρους (συγκέντρωση και FTR των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100) και, επομένως, εμπεριέχει σφάλμα από όλους τους επιμέρους προσδιορισμούς. Το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για διατμηματικές μελέτες είναι σε κάθε περίπτωση τετραπλάσιο αυτού για τις συζευγμένες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1.7 και ΕΙΚΟΝΑ 5.1.5), εξίσου μοιρασμένο στις δύο ομάδες.

Από τα αποτελέσματα αυτά, είναι προφανές ότι ο εντοπισμός στατιστικά σημαντικών διαφορών στους μέσους της τάξης του $\leq 15\%$ είναι πρακτικά αδύνατος, αν αναλογιστεί κανείς το υψηλό κόστος των ισοτοπικών ιχνηλατών και την πολυπλοκότητα των αναλυτικών προσδιορισμών. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη το μέγεθος της ενδοατομικής διακύμανσης στις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL (15-25%), προκύπτει ότι ο εντοπισμός φυσιολογικά σημαντικών διαφορών στους μέσους ($\geq 25-30\%$) είναι εφικτός με ένα δείγμα 6-10 ατόμων για συζευγμένες μελέτες και 12-20 ατόμων ανά ομάδα για διατμηματικές μελέτες. Διαφορές μικρότερου μεγέθους ($< 20\%$) στο μεταβολισμό των VLDL δεν αναμένεται να έχουν ιδιαίτερη φυσιολογική σημασία, καθώς οι ενδοατομικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση των ολικών TG στο πλάσμα στη βιβλιογραφία κυμαίνονται από 20% έως 30% [292,293,295,296,297,298,299].



Εικόνα 5.1.5. Ελάχιστες ανιχνεύσιμες διαφορές στις παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και με σφάλμα τύπου II ίσο με $\beta = 0,20$ (δύναμη = 80%) για συζευγμένες μελέτες ως συνάρτηση του μεγέθους του δείγματος. Για διατμηματικές μελέτες με δύο ομάδες, το συνολικό μέγεθος δείγματος (πειραματική ομάδα και ομάδα ελέγχου) πρέπει πρώτα να διαιρεθεί με το 4. FFA, ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, αποΒ-100: απολιποπρωτεΐνη Β-100.

Πίνακας 5.1.7. Απαιτούμενο μέγεθος δείγματος (N) για την ανίχνευση διαφορών στο μεταβολισμό των VLDL.

Αλλαγή στο μέσο της τάξης του:		5%	10%	15%	20%	25%	30%	40%	50%
Ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα	N	143	36	16	9	6	4	2	1
	d	0,2	0,3	0,5	0,6	0,8	0,9	1,2	1,6
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) των VLDL-TG	N	227	57	25	14	9	6	4	2
	d	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,7	2,1
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ	N	150	38	17	9	6	4	2	2
	d	0,2	0,5	0,7	0,9	1,2	1,4	1,9	2,4
Συνεισφορά των FFA από τη συστηματική κυκλοφορία στην παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ	N	75	19	8	5	3	2	1	1
	d	0,3	0,5	0,8	1,1	1,3	1,6	2,1	2,6
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG	N	232	58	26	15	9	6	4	2
	d	0,2	0,4	0,6	0,7	0,9	1,1	1,5	1,8
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία	N	203	51	23	13	8	6	3	2
	d	0,2	0,4	0,6	0,9	1,1	1,3	1,7	2,2
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) της VLDL-apoB-100	N	332	83	37	21	13	9	5	3
	d	0,1	0,3	0,4	0,5	0,7	0,8	1,1	1,4
Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ	N	106	27	12	7	4	3	2	1
	d	0,2	0,3	0,5	0,6	0,8	0,9	1,3	1,6
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100	N	310	78	34	19	12	9	5	3
	d	0,1	0,3	0,4	0,6	0,7	0,8	1,1	1,4
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία	N	341	85	38	21	14	10	5	3
	d	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,5	0,7	0,9
Γραμμομοριακός λόγος των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100	N	417	104	46	26	17	12	7	4
	d	0,1	0,2	0,3	0,5	0,6	0,7	0,9	1,1

FFA, ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Οι υπολογισμοί έχουν γίνει για συζευγμένες μελέτες, σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και με δύναμη του ελέγχου ίση με 80%. Για διατμηματικές μελέτες, το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος είναι τετραπλάσιο (βλ. κείμενο για λεπτομέρειες). Η τιμή d είναι η τυποποιημένη διαφορά (*effect size*) και ισούται με τη διαφορά μεταξύ των μέσων προς τη μέση SD των τιμών για τις δύο δοκιμές (δηλαδή είναι η διαφορά των μέσων ως κλάσμα της μέσης SD).

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Οι ενδοατομικές διακυμάνσεις (ολικός CV) στις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 κυμαίνονται από 15% έως 25% και, επομένως, είναι παρόμοιου μεγέθους με αυτές που παρατηρούνται σε άλλες βιολογικές παραμέτρους.
2. Ο εντοπισμός φυσιολογικά σημαντικών διαφορών στις παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL (δηλαδή, της τάξης του 20-30% και άνω), σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ και με δύναμη του ελέγχου ίση με 80%, απαιτεί 6-10 άτομα για μελέτες με συζευγμένες παρατηρήσεις και 12-20 άτομα ανά ομάδα για διατμηματικές μελέτες με δύο ομάδες.
3. Οι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ έχουν παρόμοια διακύμανση με το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, η οποία είναι αρκετά χαμηλότερη από τη διακύμανση των ρυθμών απομάκρυνσης (κάθαρση και MRT) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία. Οι λόγοι για τους οποίους συμβαίνει αυτό είναι άγνωστοι, αλλά ενδέχεται να σχετίζονται με τους δυνητικά περισσότερους παράγοντες που επιδρούν στους ρυθμούς απομάκρυνσης των υποστρωμάτων αυτών από την κυκλοφορία σε σχέση με αυτούς που επηρεάζουν το ρυθμό παραγωγής τους από το ήπαρ.

Συζήτηση

Στη μελέτη αυτή εξετάστηκε η επαναληψιμότητα της κινητικής των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία). Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η ενδοατομική ημερήσια διακύμανση κυμαίνεται από περίπου 15% για τις πιο επαναλήψιμες παραμέτρους (ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα και ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ) έως 25% για τις υπόλοιπες (ρυθμοί κάθαρσης και MRT των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100). Ο εντοπισμός φυσιολογικά σημαντικών διαφορών (μεγέθους 20-30% και άνω) με σφάλμα τύπου I ίσο με $\alpha = 0,05$ και σφάλμα τύπου II ίσο με $\beta = 0,2$ απαιτεί 6-10 άτομα για συζευγμένες μελέτες και 12-20 άτομα ανά ομάδα για διατμηματικές μελέτες.

Δεν υπάρχουν προηγούμενες μελέτες που να έχουν εξετάσει την επαναληψιμότητα του μεταβολισμού των VLDL-TG. Ωστόσο, η υψηλή ενδοατομική διακύμανση των μετρήσεων της συγκέντρωσης των ολικών TG πλάσματος που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία (20-30%) [292,293,295,296,297,298,299] θα μπορούσε να αποτελέσει σημαντικό πρόβλημα για την αξιολόγηση των κινητικών παραμέτρων του μεταβολισμού των VLDL-TG. Για παράδειγμα, οι Jacobs *et al* [295] διερεύνησαν την εγκυρότητα των μετρήσεων των ολικών TG πλάσματος σε κατάσταση νηστείας σε περισσότερους από 7.000 άνδρες και ανέφεραν ότι το 95%CI για μία και μόνο μέτρηση TG με αληθινό μέσο ίσο με 175 mg/dl κυμαινόταν από 88 έως 262 mg/dl. Παρομοίως, οι Brenner *et al* [294] αξιολόγησαν την ενδοατομική διακύμανση της συγκέντρωσης των ολικών TG νηστείας σε περισσότερους από 2.000 άνδρες και διαπίστωσαν ότι το 95%CI για μία και μόνο μέτρηση TG με αληθινό μέσο ίσο με 150 mg/dl κυμαινόταν από 93 έως 243 mg/dl. Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε ότι η διακύμανση των μετρήσεων της συγκέντρωσης ολικών TG και VLDL-TG ήταν πολύ χαμηλότερη, μόνο 10-15%. Αυτή η διαφορά μάλλον οφείλεται στις περισσότερο ελεγχόμενες πειραματικές συνθήκες της παρούσας μελέτης, η οποία διεξήχθη σε περιβάλλον μεταβολικής μονάδας, σε αντίθεση με κλινικές ή επιδημιολογικές μελέτες που πραγματοποιούνται κάτω από λιγότερο αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καθώς, για παράδειγμα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η φυσική δραστηριότητα [229,300,301] και η διαιτητική πρόσληψη [302,303] στις ημέρες αμέσως πριν τη δειγματοληψία μπορούν να έχουν σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση TG του πλάσματος. Σε μία άλλη πρόσφατη μελέτη [304], στην οποία η διαιτητική πρόσληψη και η φυσική δραστηριότητα ελέγχθηκαν αυστηρά πριν από τη δειγματοληψία, η επαναληψιμότητα των μετρήσεων της συγκέντρωσης των ολικών TG στο πλάσμα ήταν παρομοίως χαμηλή όπως στην παρούσα μελέτη.

Υπάρχει μόνο μία μελέτη στη διαθέσιμη βιβλιογραφία όπου παρατίθενται ορισμένα στοιχεία για την επαναληψιμότητα των μετρήσεων του ρυθμού ανακύκλωσης της VLDL-apoB-100 [176]. Οι ερευνητές αυτοί ανέφεραν ότι ο μέσος ενδοατομικός CV (που αντιπροσωπεύει το ολικό σφάλμα της μέτρησης) για τον προσδιορισμό του FTR της VLDL-apoB-100 ήταν 23% όταν 6 υγιείς, προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μελετήθηκαν κατά την ίδια ημέρα του έμμηνου κύκλου με απόσταση ενός μήνα [176]. Δεν παρατέθηκαν άλλα στοιχεία καθώς η συγκεκριμένη αξιολόγηση είχε πιλοτικό χαρακτήρα. Ωστόσο, το μέγεθος αυτό της ενδοατομικής διακύμανσης είναι παρόμοιο με τις εκτιμήσεις του σφάλματος που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη για τον FTR της VLDL-apoB-100 (περίπου 24%) καθώς και για τις υπόλοιπες κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL.

Οι πιο επαναλήψιμες μεταβολικές παράμετροι στην παρούσα μελέτη ήταν ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα και οι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, ενώ το μέγεθος της διακύμανσης του ρυθμού κάθαρσης και του MRT των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 ήταν σχεδόν διπλάσιο. Το γεγονός αυτό ενδέχεται να υποδηλώνει ότι οι παράγοντες εκείνοι που εμπλέκονται στη ρύθμιση της ηπατικής έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 είναι λιγότερο ευμετάβλητοι από αυτούς που εμπλέκονται στον ενδοαγγειακό μεταβολισμό και την απομάκρυνση των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία. Εναλλακτικά, η παρατήρηση αυτή είναι πιθανό να οφείλεται στο γεγονός ότι ο ενδοαγγειακός μεταβολισμός και η απομάκρυνση των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία εμπεριέχει συνολικά πολύ περισσότερα βήματα από όσα η διαδικασία παραγωγής και έκκρισης από το ήπαρ και, κατά συνέπεια, πολύ περισσότερους παράγοντες που δύνανται να τροποποιηθούν και να οδηγήσουν σε μεγαλύτερη συνολική διακύμανση της μέτρησης.

Με βάση τις εκτιμήσεις για την επαναληψιμότητα των κινητικών παραμέτρων των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος, υπολογίστηκε το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για τον εντοπισμό διαφορών στους μέσους σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95% και με δύναμη του ελέγχου ίση με 80%. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι ο εντοπισμός διαφορών της τάξης μεγέθους $< 15\%$ απαιτεί ένα απαγορευτικά μεγάλο αριθμό εθελοντών, λαμβάνοντας υπόψη το υψηλό χρηματικό κόστος των μελετών και της χρονοβόρας διαδικασίας των αναλυτικών προσδιορισμών. Εντούτοις, φυσιολογικά σημαντικές διαφορές στους μέσους (της τάξης του 20-30% και άνω) μπορούν να εντοπιστούν με επαρκή δύναμη του ελέγχου ($\beta = 0,2$) και σφάλμα τύπου I ίσο με $\alpha = 0,05$ με ένα δείγμα 6-10 ατόμων για μελέτες με συζευγμένο σχεδιασμό ή 12-20 ατόμων ανά ομάδα για μελέτες με διατμηματικό σχεδιασμό.

Συνοψίζοντας, λοιπόν, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι οι μέσες ενδοατομικές διακυμάνσεις των κινητικών παραμέτρων του μεταβολισμού των λιπιδίων του πλάσματος κυμαίνονται από 15% έως 25%, από κοινού με άλλες βιολογικές μετρήσεις. Με βάση αυτά τα ευρήματα, εκτιμήθηκε το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για τον εντοπισμό φυσιολογικά σημαντικών διαφορών στους μέσους. Οι πληροφορίες αυτές θα αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο για τις μελέτες που σκοπεύουν να αξιολογήσουν το μεταβολισμό των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος σε διαφορετικές υποομάδες του πληθυσμού ή στην ίδια πληθυσμιακή ομάδα κάτω από διαφορετικές συνθήκες ή πριν και μετά από μία παρέμβαση.

5.2 Μελέτη #2

Η επίδραση του έμμηνου κύκλου στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Η παρούσα εργασία δημοσιεύτηκε ως:

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B. No effect of menstrual cycle phase on basal very-low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B-100 kinetics. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 2006, **291** (6): E1243-1249.

Εισαγωγή

Η συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι σημαντικά μικρότερη στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες από ό,τι στους άνδρες παρόμοιας ηλικίας [5], αλλά αυτή η διαφορά μεταξύ των φύλων ελαττώνεται μετά την εμμηνόπαυση [6]. Μεταξύ άλλων παραγόντων, η καρδιοπροστατευτική επίδραση του γυναικείου φύλου πριν από την εμμηνόπαυση έχει αποδοθεί και σε διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο λιπιδαιμικό προφίλ [7]. Υψηλές συγκεντρώσεις TG νηστείας σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακές νόσους και στα δύο φύλα [20,21]. Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις TG νηστείας από συνομήλικους άνδρες [23,24,158,161,305], αλλά αυτή η διαφορά εξαλείφεται σε μεγάλο βαθμό μετά την εμμηνόπαυση λόγω μιας σχετικά οξείας αύξησης στη συγκέντρωση των TG στις γυναίκες κατά τη διάρκεια και λίγο μετά την έναρξη της εμμηνόπαυσης [26,27,167]. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν ότι το διαφορετικό ορμονικό περιβάλλον μεταξύ των δύο φύλων αλλά και μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών επηρεάζει το μεταβολισμό των TG. Καθώς η πλειοψηφία των TG σε κατάσταση νηστείας βρίσκεται στον πυρήνα των VLDL, είναι πιθανό οι ορμόνες του φύλου να επηρεάζουν το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100.

Τα αποτελέσματα μελετών στις οποίες χορηγήθηκαν εξωγενώς ορμόνες του φύλου (οιστρογόνα ή/και προγεστίνες) συνιστούν ότι τα οιστρογόνα αυξάνουν τη συγκέντρωση των VLDL (τόσο των VLDL-TG όσο και της VLDL-apoB-100) λόγω αύξησης της παραγωγής VLDL από το

ήπαρ χωρίς όμως να επηρεάζουν (ή να αυξάνουν ελαφρώς) τους ρυθμούς απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία, ενώ οι προγεστίνες μειώνουν τις συγκεντρώσεις των VLDL λόγω αύξησης των ρυθμών απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία χωρίς όμως να επηρεάζουν (ή να μειώνουν ελαφρώς) τους ρυθμούς παραγωγής τους από το ήπαρ [306,307]. Ωστόσο, υπάρχουν διάφοροι λόγοι για τους οποίους τα αποτελέσματα αυτά δε μπορούν να γενικευθούν για τις φυσιολογικές διακυμάνσεις στα επίπεδα των ενδογενών ορμονών, οι πιο σημαντικοί από τους οποίους είναι ο μη φυσιολογικός τρόπος εισόδου στον οργανισμό (και πιο συγκεκριμένα, η χορήγηση από το στόμα που έχει άμεση επίδραση στο ήπαρ) και η επίτευξη επιπέδων στο αίμα που υπερβαίνουν κατά πολύ τα φυσιολογικά και διατηρούνται σταθερά για σχετικά μεγάλα χρονικά διαστήματα (σε αντίθεση με τις φυσιολογικές διακυμάνσεις) [176,188].

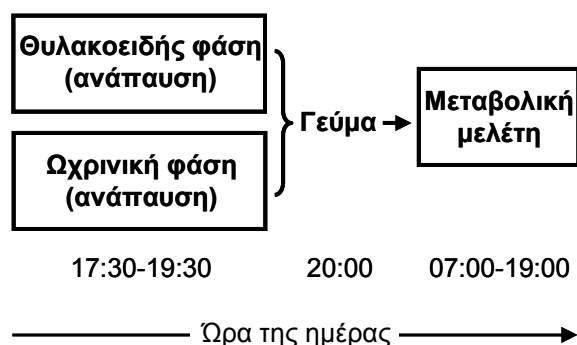
Η μελέτη αυτή αποτελεί την πρώτη από μία σειρά μελετών (ΜΕΛΕΤΕΣ #2, #3, #4 και #5) που σκοπό έχουν να διερευνήσουν τις επιδράσεις του διαφορετικού ορμονικού περιβάλλοντος κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού έμμηνου κύκλου (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3), μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (ΜΕΛΕΤΗ #4) και μεταξύ ανδρών και γυναικών (ΜΕΛΕΤΗ #5), στο μεταβολισμό των VLDL σε κατάσταση ηρεμίας.

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση των επιδράσεων που έχει ο φυσιολογικός έμμηνος κύκλος στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 7 υγιείς (5 νορμοβαρείς και 2 παχύσαρκες), προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.1), καθεμία από τις οποίες πραγματοποίησε δύο δοκιμές σε τυχαioποιημένη σειρά: μία δοκιμή κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς φάσης (πριν την ωορρηξία) και μία δοκιμή κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (μετά την ωορρηξία) του έμμηνου κύκλου (ΕΙΚΟΝΑ 5.2.1).



Εικόνα 5.2.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Πίνακας 5.2.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντριών (N = 7).

Ηλικία	(έτη)	27 ± 6
Βάρος	(kg)	67 ± 12
Ύψος	(cm)	164 ± 7
BMI	(kg/m ²)	25,0 ± 4,4
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	31 ± 8
Λιπώδης μάζα	(kg)	22 ± 9
Άλιπη μάζα	(kg)	46 ± 5

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος.

Όλες οι μετρήσεις έγιναν στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία) αφού προηγήθηκε ανάπαυση κατά το προηγούμενο απόγευμα. Οι εθελόντριες είχαν τακτικό έμμηνο κύκλο (11-13 ανά έτος) με διάρκεια 28-34 ημέρες και καμία δεν έκανε χρήση εξωγενών ορμονών (είτε για τη ρύθμιση του κύκλου είτε για αντισύλληψη).

Αποτελέσματα

Στεροειδείς ορμόνες στις δύο φάσεις του κύκλου

Οι δοκιμές της θυλακοειδούς φάσης πραγματοποιήθηκαν μεταξύ 5 και 9 ημέρες μετά την έναρξη της εμμηνορρυσίας (πριν την ωορρηξία) και οι δοκιμές της ωχρινικής φάσης πραγματοποιήθηκαν μεταξύ 2 και 6 ημέρες πριν από την έναρξη της εμμηνορρυσίας (μετά την ωορρηξία).

Η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο πλάσμα ήταν πολλές φορές υψηλότερη κατά την ωχρινική (7,4 ng/ml, 95%CI: 3,2 - 17,2 ng/ml) από ό,τι κατά τη θυλακοειδή (0,3 ng/ml, 95%CI:

0,2 - 0,6 ng/ml) φάση του κύκλου ($P = 0,001$). Ωστόσο, η συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο πλάσμα δε διέφερε (θυλακοειδής: 51 pg/ml, 95%CI: 30 - 87 pg/ml και ωχρινική: 76 pg/ml, 95%CI: 47 - 123 pg/ml, $P = 0,253$).

Ενεργειακός μεταβολισμός

Η πρόσληψη οξυγόνου, η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα, το αναπνευστικό πηλίκο, ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας και οι ρυθμοί οξείδωσης λιπών και υδατανθράκων δε διέφεραν κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του κύκλου (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.2).

Πίνακας 5.2.2. Έμμεση θερμιδομετρία κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου.

		Θυλακοειδής	Ωχρινική	Τιμή P
VO ₂	(ml/min)	195 ± 19	198 ± 13	0,511
VCO ₂	(ml/min)	157 ± 15	162 ± 14	0,293
RQ		0,81 ± 0,03	0,82 ± 0,05	0,508
RMR	(kcal/min)	0,93 ± 0,09	0,94 ± 0,06	0,436
FOX	(mg/min)	45 ± 9	42 ± 17	0,635
CHOX	(mg/min)	63 ± 23	76 ± 45	0,396

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. VO₂: ρυθμός πρόσληψης οξυγόνου, VCO₂: ρυθμός παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, RQ: αναπνευστικό πηλίκο, RMR: μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας, FOX: ρυθμός οξείδωσης λιπών, CHOX: ρυθμός οξείδωσης υδατανθράκων.

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.3) και, κατά συνέπεια, ο δείκτης HOMA (θυλακοειδής: 0,85 ± 0,37 και ωχρινική: 0,83 ± 0,35, $P = 0,808$) δε διέφεραν κατά τη διάρκεια των δύο φάσεων του κύκλου. Η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα και των TG και apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL επίσης δε διέφεραν (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.3).

Πίνακας 5.2.3. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου.

		Θυλακοειδής	Ωχρινική	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	4,8 ± 0,2	4,6 ± 0,2	0,143
Ινσουλίνη	(pmol/L)	24 ± 11	24 ± 10	0,891
FFA	(μmol/L)	366 ± 119	352 ± 83	0,685
Ολικά TG	(mmol/L)	0,57 ± 0,12	0,58 ± 0,13	0,946
VLDL-TG	(mmol/L)	0,28 ± 0,08	0,29 ± 0,09	0,769
Ολική apoB-100	(μmol/L)	0,95 ± 0,22	1,04 ± 0,21	0,092
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	35 ± 13	35 ± 14	0,872

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA, VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα δε διέφερε (P = 0,543) μεταξύ θυλακοειδούς και ωχρινικής φάσης του κύκλου (ΕΙΚΟΝΑ 5.2.2).

Ο FTR των VLDL-TG (θυλακοειδής: 0,864 δεξαμενές/h, 95%CI: 0,491 - 1,523 δεξαμενές/h και ωχρινική: 0,720 δεξαμενές/h, 95%CI: 0,528 - 0,984 δεξαμενές/h, P = 0,350) και ο FTR της VLDL-apoB-100 (θυλακοειδής: 0,422 ± 0,092 δεξαμενές/h και ωχρινική: 0,472 ± 0,150 δεξαμενές/h, P = 0,463) δε διέφεραν κατά τις δύο φάσεις του κύκλου.

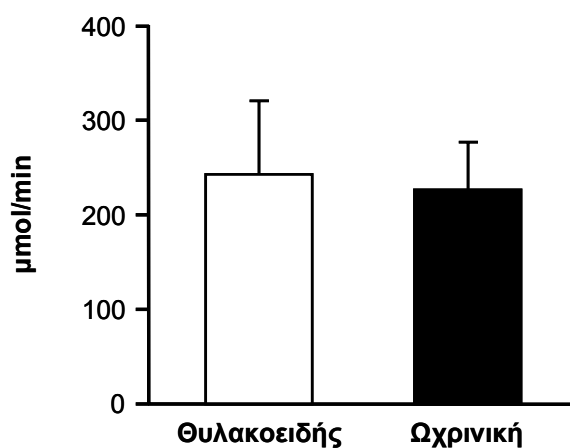
Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ δεν ήταν διαφορετικός μεταξύ θυλακοειδούς και ωχρινικής φάσης (P = 0,499, ΕΙΚΟΝΑ 5.2.3). Η φάση του κύκλου δεν επηρέασε τη σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (θυλακοειδής: 71 ± 7% και ωχρινική: 75 ± 9%, P = 0,121) και από μη συστηματικές πηγές (θυλακοειδής: 29 ± 7% και ωχρινική: 25 ± 9%, P = 0,121) στην παραγωγή VLDL-TG, ούτε τους απόλυτους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG (διάμεσος [εκατοστημόρια 25-75%]) από συστηματικά FFA (θυλακοειδής: 6,1 [4,8 - 7,6] μmol/min και ωχρινική: 6,0 [5,1 - 6,9] μmol/min, P = 0,553) και μη συστηματικά λιπαρά οξέα (θυλακοειδής: 2,4 [1,9 - 4,4] μmol/min και ωχρινική: 2,0 [1,4 - 3,2] μmol/min, P = 0,116).

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-αποΒ-100 από το ήπαρ δεν επηρεάστηκε από τη φάση του έμμηνου κύκλου ($P = 0,787$, ΕΙΚΟΝΑ 5.2.3).

Ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-αποΒ-100, που αντανakλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, δεν ήταν διαφορετικός κατά τη διάρκεια των δύο φάσεων του κύκλου ($P = 0,398$, ΕΙΚΟΝΑ 5.2.3).

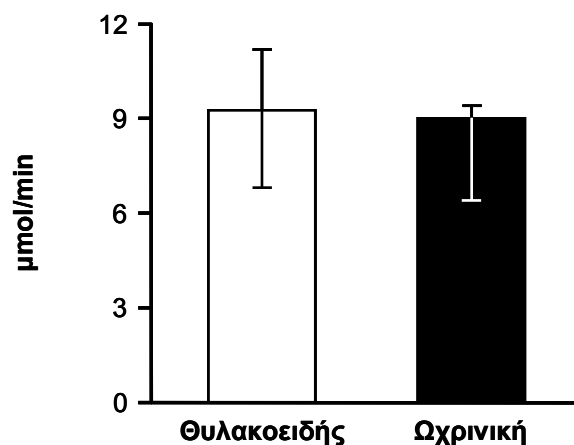
Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ($P = 0,173$) και VLDL-αποΒ-100 ($P = 0,547$) και ο MRT των VLDL-TG ($P = 0,602$) και της VLDL-αποΒ-100 ($P = 0,741$) δε διέφεραν κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του κύκλου (ΕΙΚΟΝΑ 5.2.4).

Ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα

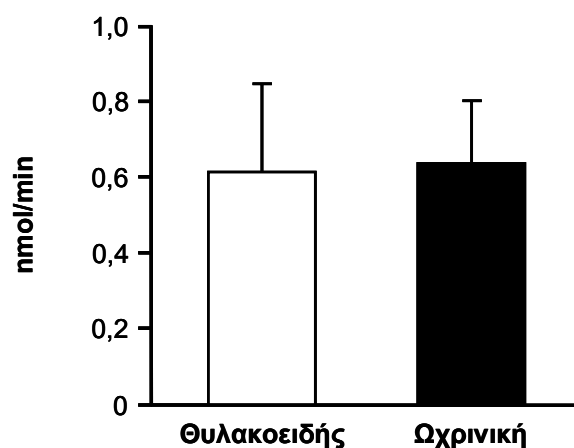


Εικόνα 5.2.2. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA) στο πλάσμα κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD.

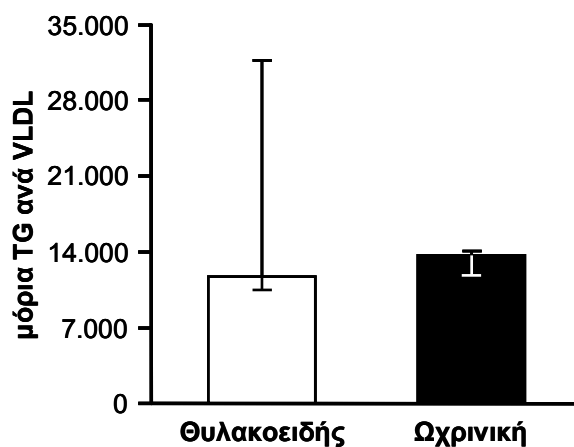
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG



Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100

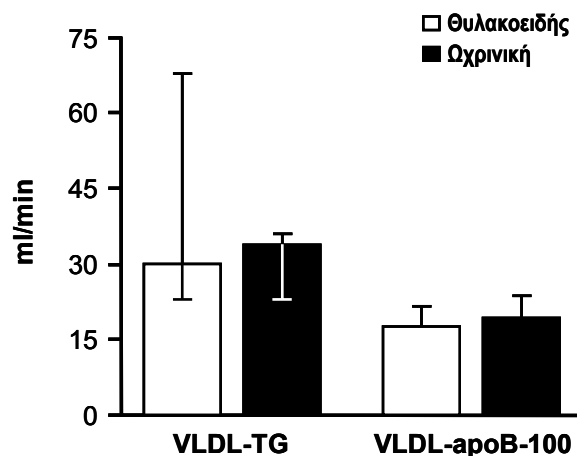


Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100

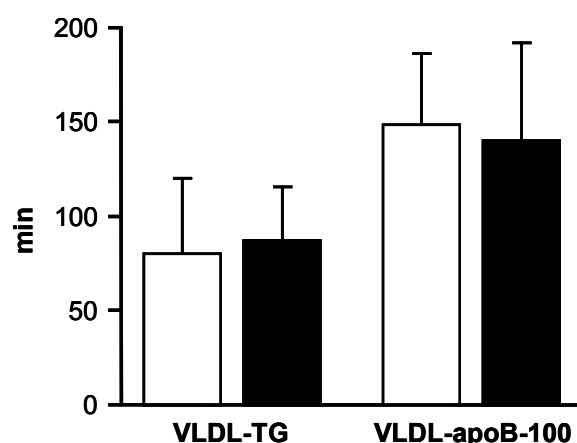


Εικόνα 5.2.3. Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG (επάνω) και VLDL-apoB-100 (μέσο) από το ήπαρ και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 (κάτω) κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD για το ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 και ως διάμεσοι και εκατοστημόρια 25-75% για το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG και για το γραμμομοριακό λόγο των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 (στις περιπτώσεις αυτές, η ανάλυση έγινε με το μη παραμετρικό έλεγχο *Wilcoxon signed ranks test*, καθώς η λογαριθμική μετατροπή δεν εξασφάλιζε την κανονικότητα των κατανομών). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος



Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία



Εικόνα 5.2.4. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD για το ρυθμό κάθαρσης VLDL-apoB-100 και τους MRT των VLDL-TG και VLDL-apoB-100 και ως διάμεσοι και εκατοστημόρια 25-75% για το ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε με το μη παραμετρικό έλεγχο *Wilcoxon signed ranks test*, καθώς η λογαριθμική μετατροπή δεν εξασφάλιζε την κανονικότητα των κατανομών). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

LPL και HL

Οι συγκεντρώσεις της LPL (θυλακοειδής: 46 ng/ml, 95%CI: 38 – 55 ng/ml και ωχρινική: 42 ng/ml, 95%CI: 31 – 56 ng/ml], $P = 0,265$) και της HL (θυλακοειδής: $5,9 \pm 1,7$ ng/ml και ωχρινική: $5,7 \pm 1,0$ ng/ml, $P = 0,507$) στο πλάσμα μετρήθηκαν σε 6 από τις 7 εθελόντριες και δε διέφεραν μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου.

NMR των VLDL

Οι συγκεντρώσεις των VLDL σωματιδίων καθώς και των υποπληθυσμών VLDL διαφορετικού μεγέθους (μεγάλης, μεσαίας και μικρής διαμέτρου) μετρήθηκαν σε 6 από τις 7 εθελόντριες και δεν ήταν διαφορετικές κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2.4). Η μέση διάμετρος των VLDL (θυλακοειδής: $45,3 \pm 1,8$ nm και ωχρινική: $46,0 \pm 2,9$ nm, $P = 0,646$) επίσης δε διέφερε κατά τις δύο φάσεις του κύκλου.

Πίνακας 5.2.4. Συγκεντρώσεις VLDL σωματιδίων κατά τη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου.

		Θυλακοειδής	Ωχρινική	Τιμή P
VLDL	(nmol/L)	40,7 ± 17,1	43,1 ± 18,2	0,624
Μεγάλα	(nmol/L)	0,26 (0,17 - 0,53)	0,27 (0,19 - 0,76)	0,249
Μεσαία	(nmol/L)	16,1 ± 6,3	16,9 ± 12,3	0,863
Μικρά	(nmol/L)	24,2 ± 12,3	25,8 ± 10,3	0,392

Όλες οι τιμές είναι για N = 6 και παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD, πλην των συγκεντρώσεων VLDL μεγάλης διαμέτρου, οι οποίες παρουσιάζονται ως διάμεσοι και εκατοστημόρια 25-75% (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε με το μη παραμετρικό έλεγχο *Wilcoxon signed ranks test*, καθώς η λογαριθμική μετατροπή δεν εξασφάλιζε την κανονικότητα των κατανομών). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας.

Ενδοατομική διακύμανση στο μεταβολισμό των VLDL

Το μέγεθος της ενδοατομικής διακύμανσης στις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL εκφράστηκε ως συντελεστής μεταβλητότητας (CV σε %, που υπολογίστηκε ως η SD προς τον αριθμητικό μέσο των τιμών για τις δύο φάσεις του κύκλου) και δίνεται στον ΠΙΝΑΚΑ 5.2.5. Για λόγους σύγκρισης, παρατίθενται και οι αντίστοιχοι CV από τη ΜΕΛΕΤΗ #1 στους άνδρες.

Πίνακας 5.2.5. Ενδοατομική διακύμανση (CV, %) στο μεταβολισμό των VLDL στις γυναίκες κατά τη διάρκεια των δύο φάσεων του έμμηνου κύκλου και στους άνδρες κατά τη διάρκεια δύο διαφορετικών ημερών.

	Γυναίκες	Άνδρες
Συγκέντρωση FFA στο πλάσμα	11,6	24,1
Ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα	14,5	21,1
Συγκέντρωση VLDL-TG	12,5	14,4
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) των VLDL-TG	25,3	22,2
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ	27,5	15,5
Συνεισφορά των FFA του πλάσματος στην παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ	5,7	10,1
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG	25,3	22,7
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία	25,3	22,2
Συγκέντρωση VLDL-αποB-100	13,7	12,7
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) της VLDL-αποB-100	23,4	24,3
Ρυθμός παραγωγής VLDL-αποB-100 από το ήπαρ	25,2	15,3
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-αποB-100	22,9	23,9
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) της VLDL-αποB-100 στην κυκλοφορία	23,4	24,3
Γραμμομοριακός λόγος των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποB-100	31,2	18,5

FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, αποB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Η διαφορετική φάση του έμμηνου κύκλου (θυλακοειδής ή ωχρινική) στις γυναίκες δεν επηρεάζει το μεταβολισμό των VLDL. Οι ενδοατομικές διακυμάνσεις στις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL κατά τη διάρκεια των δύο φάσεων του κύκλου στις γυναίκες είναι παρόμοιου μεγέθους με αυτές που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια δύο διαφορετικών ημερών στους άνδρες στη ΜΕΛΕΤΗ #1. Επομένως, δεν απαιτείται έλεγχος για τη συγκεκριμένη φάση του κύκλου στις γυναίκες σε μελέτες που διερευνούν το μεταβολισμό των VLDL σε κατάσταση ηρεμίας.
2. Οι ενδογενείς φυσιολογικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της προγεστερόνης στο πλάσμα δεν επηρεάζουν το μεταβολισμό των VLDL στις γυναίκες, αλλά αν και κατά πόσο συμβαίνει το ίδιο και με την οιστραδιόλη παραμένει ακόμα άγνωστο.

Συζήτηση

Στη μελέτη αυτή αξιολογήθηκαν ο ρυθμός οξείδωσης υποστρωμάτων, καθώς και οι συγκεντρώσεις και οι κινητικές παράμετροι του μεταβολισμού των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς και της ωχρινικής φάσης του έμμηνου κύκλου σε υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η οποίες δεν έκαναν χρήση εξωγενών ορμονών. Δε βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου όσον αφορά στο ρυθμό οξείδωσης υδατανθράκων και λιπών, στις συγκεντρώσεις των διαφόρων υποστρωμάτων, στο ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, στους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, στους ρυθμούς κάθαρσης και τους μέσους χρόνους παραμονής των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία, στις συγκεντρώσεις LPL και HL στο πλάσμα, καθώς και στις συγκεντρώσεις VLDL σωματιδίων διαφορετικού μεγέθους και στο μέσο μέγεθος των VLDL. Επομένως, η συγκεκριμένη φάση του κύκλου, με ό,τι φυσιολογικές διακυμάνσεις αυτή συνεπάγεται, δε φαίνεται να επηρεάζει το μεταβολισμό των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100.

Το εύρημα ότι η συγκέντρωση και ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα δε διαφέρει ανάμεσα στη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες που αξιολόγησαν την επίδραση του έμμηνου κύκλου στο μεταβολισμό των FFA στο πλάσμα σε κατάσταση νηστείας και επίσης δε βρήκαν διαφορές [308,309]. Είναι, λοιπόν, μάλλον απίθανο αυτή η συνεχής απουσία διαφορών να οφείλεται σε έλλειψη δύναμης του στατιστικού ελέγχου στις επιμέρους μελέτες ή στις διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των αναπαραγωγικών ορμονών μέσα σε κάθε φάση του κύκλου. Επίσης, μελέτες στις οποίες χορηγήθηκε εξωγενώς ορμονική θεραπεία υποκατάστασης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν παρατήρησαν καμία επίδραση των οιστρογόνων ή των προγεστινών, ξεχωριστά ή σε συνδυασμό, στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα στο μεταπορροφητικό στάδιο [182]. Παράλληλα, άλλοι ερευνητές δε βρήκαν διαφορές στο βασικό λιπολυτικό ρυθμό που μετρήθηκε *in vitro* σε λιποκύτταρα τα οποία συλλέχθηκαν με βιοψία λιπώδους ιστού από υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς ή της ωχρινικής φάσης του κύκλου [310]. Τα αποτελέσματα όλων αυτών των μελετών συνηγορούν στο ότι η διαθεσιμότητα FFA στη συστηματική κυκλοφορία δεν επηρεάζεται από διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου.

Η απουσία διαφορών στις συγκεντρώσεις και τις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 ανάμεσα στη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του κύκλου δεν ήταν αναμενόμενη, τουλάχιστον με βάση τα αποτελέσματα μελετών στις οποίες χορηγήθηκαν εξωγενώς ορμόνες του φύλου σε προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [306,307]. Η χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα αυξάνει τη συγκέντρωση και το ρυθμό έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [177,306,307], ενώ η χορήγηση προγεστινών από το στόμα προκαλεί αντίθετα αποτελέσματα και ελαττώνει τις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 και μειώνει την έκκριση VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [306,307,311], αν και δε φαίνεται να επηρεάζει τον ηπατικό ρυθμό έκκρισης VLDL-TG [182]. Μία βασική διαφορά ανάμεσα σε αυτές τις μελέτες και την παρούσα μελέτη έχει να κάνει με την ποσότητα των διαθέσιμων ορμονών του φύλου: η εξωγενής χορήγηση στις προηγούμενες μελέτες οδήγησε σε σχετικά υψηλές – άνω του φυσιολογικού – και διαχρονικά σταθερές και μη κυμαινόμενες συγκεντρώσεις των ορμονών στη συστηματική κυκλοφορία για αρκετές εβδομάδες. Εκτός από αυτό, η οδός χορήγησης φαίνεται ότι αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα για τις επιδράσεις των ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL. Σε αντίθεση, για παράδειγμα, με τη χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα, η διαδερμική χορήγηση οιστρογόνων (που αποτελεί έναν πιο φυσιολογικό τρόπο εισόδου στο σώμα) δεν έχει καμία επίδραση στις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 και δεν επηρεάζει το

ρυθμό έκκρισης VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [176]. Παρόμοια δεδομένα αναφορικά με τις επιδράσεις στη συγκέντρωση των VLDL-TG ή/και της VLDL-apoB-100 υπάρχουν για όλες σχεδόν τις ορμόνες του φύλου, συμπεριλαμβανομένων των οιστρογόνων, των προγεστινών και των ανδρογόνων, οι οποίες φαίνεται ότι επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων μόνο όταν λαμβάνονται από το στόμα, ακριβώς γιατί μέσω αυτής της οδού έχουν άμεση επίδραση στο ήπαρ [186,188]. Ωστόσο, η επίδραση των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL δεν είχε μελετηθεί ποτέ μέχρι σήμερα.

Το γεγονός ότι ο μεταβολισμός των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 δε διέφερε μεταξύ της θυλακοειδούς και της ωχρινικής φάσης του έμμηνου κύκλου είναι σύμφωνο και με τα αποτελέσματα σχετικά με τη συγκέντρωση των FFA και της ινσουλίνης και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, που επίσης δε διέφεραν. Η ινσουλίνη και η διαθεσιμότητα FFA θεωρούνται ως οι κυριότεροι ρυθμιστικοί παράγοντες του ρυθμού έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [281,312]. Στο μεταπορροφητικό στάδιο, περίπου τα δύο τρίτα των λιπαρών οξέων στα VLDL-TG προέρχονται από τα FFA του πλάσματος [122,313], γεγονός που επαληθεύτηκε και στην παρούσα μελέτη, ενώ τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα στα VLDL-TG (μη συστηματικά λιπαρά οξέα) προέρχονται από πηγές λιπαρών οξέων οι οποίες δε σηματοδοτούνται με ιχνηλάτη κατά τη διάρκεια της έγχυσης. Αυτές περιλαμβάνουν λιπαρά οξέα που απελευθερώνονται από προϋπάρχουσες αποθήκες λίπους στο ήπαρ (ενδοηπατικά TG που ανακυκλώνονται με αργό ρυθμό), λιπαρά οξέα που απελευθερώνονται από τη λιπόλυση του ενδοκοιλιακού λίπους (τα οποία φτάνουν στο ήπαρ διαμέσου της πυλαίας φλέβας), λιπαρά οξέα που προέρχονται από την υδρόλυση υπολειμμάτων λιποπρωτεϊνών που προσλαμβάνονται από το ήπαρ και λιπαρά οξέα που συντίθενται de novo στο ήπαρ [281]. Τα αποτελέσματα μελετών που αξιολόγησαν την επίδραση των ορμονών του φύλου στην ηπατική παραγωγή λιπαρών οξέων σε πειραματόζωα και απομονωμένα ηπατοκύτταρα δεν είναι καταληκτικά: τόσο τα οιστρογόνα όσο και οι προγεστίνες έχουν αναφερθεί ότι έχουν διεγερτική, κατασταλτική ή και καμία επίδραση στη de novo λιπογένεση [314,315,316]. Τα αποτελέσματα από μια διατμηματική μελέτη, στην οποία χρησιμοποιήθηκαν σταθεροί ισοτοπικοί ιχνηλάτες για τον προσδιορισμό του ρυθμού de novo λιπογένεσης στο ήπαρ, συνιστούν ότι η σχετική συνεισφορά του μονοπατιού de novo σύνθεσης λιπαρών οξέων στην παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ (αλλά όχι και οι απόλυτοι ρυθμοί παραγωγής, οι οποίοι δε μετρήθηκαν) ήταν σημαντικά υψηλότερη σε γυναίκες που βρίσκονταν στη θυλακοειδή φάση του κύκλου από ό,τι σε γυναίκες που βρίσκονταν στην ωχρινική φάση [317]. Η συνεισφορά της ηπατικής de novo λιπογένεσης στο συνολικό ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ κατά το μεταπορροφητικό στάδιο είναι πολύ μικρή, συνήθως < 5% σε υγιείς ανθρώπους [149,313,318] και, κατά συνέπεια, ο εντοπισμός μικρών διαφορών μεταξύ των δύο

φάσεων του κύκλου στην παραγωγή VLDL-TG από αυτό το μονοπάτι, π.χ. 4,2% στη θυλακοειδή φάση έναντι 1,5% στην ωχρινική [317], είναι πολύ δύσκολος έως αδύνατος με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Ωστόσο, ακόμα και αν υπάρχει μια διαφορά αυτής της τάξης μεγέθους μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου, είναι μάλλον απίθανο αυτή να έχει κάποια φυσιολογική σημασία για τη ρύθμιση της ηπατικής έκκρισης VLDL-TG στην πράξη, ειδικά αν αναλογιστεί κανείς το μέγεθος των αλλαγών στο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ (της τάξης του 30-50% και άνω) που λαμβάνουν χώρα ως αποτέλεσμα διαφόρων φυσιολογικών παρεμβάσεων, π.χ. ύστερα από κατανάλωση μιας δίαιτας πλούσιας σε υδατάνθρακες [289], μετά από απώλεια βάρους [122] ή μετά από πειραματική μεταβολή της διαθεσιμότητας ορμονών και υποστρωμάτων (π.χ. υπερινσουλιναμία, υπεργλυκαιμία, κ.α.) [278,319].

Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν ακόμα διαφορές μεταξύ θυλακοειδούς και ωχρινικής φάσης στο ρυθμό κάθαρσης και το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με την απουσία διαφορών στη συγκέντρωση της LPL στο πλάσμα. Η δραστικότητα της HL στο πλάσμα μετά από ένεση ηπαρίνης είναι χαμηλότερη στην ωχρινική από ό,τι στη θυλακοειδή φάση του κύκλου, ενώ η δραστικότητα της LPL δε διαφέρει [195]. Επίσης, πλήθος μελετών υποδεικνύουν ότι η χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα ελαττώνει τη δραστικότητα της HL στο πλάσμα μετά από έγχυση ηπαρίνης, αλλά όχι τη δραστικότητα της LPL [320,321]. Οι προγεστίνες, από την άλλη, αυξάνουν τη δραστικότητα της HL στο πλάσμα χωρίς να έχουν ξεκάθαρη επίδραση στην LPL [321,322]. Αν και η συγκέντρωση της HL δε διέφερε στην παρούσα μελέτη, πιθανές διαφορές στη δραστικότητα της HL δεν αναμένεται να έχουν σημαντική επίδραση στη λιπόλυση των VLDL-TG και, κατά συνέπεια, στο ρυθμό απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία, διότι η HL συνεισφέρει πολύ λίγο στην υδρόλυση των TG που βρίσκονται στον πυρήνα των VLDL – το μεγαλύτερο μέρος της λιπόλυσης των VLDL-TG φέρεται εις πέρας από την LPL [84]. Μια μελέτη που αξιολόγησε τη δραστικότητα της LPL στο λιπώδη ιστό μέσω βιοψιών, σε αντίθεση με τη δραστικότητα του ενζύμου στο πλάσμα έπειτα από ένεση ηπαρίνης (μέτρηση με όχι ιδιαίτερα ξεκάθαρη φυσιολογική σημασία), ανέφερε ότι η χορήγηση οιστρογόνων από το στόμα σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες προκαλεί αύξηση της δραστικότητας της LPL στον υποδόριο λιπώδη ιστό του μηρού αλλά όχι της κοιλιακής χώρας, ενώ η χορήγηση προγεστινών είχε ανταγωνιστικές επιδράσεις [323]. Παρόλα αυτά, η διαδερμική χορήγηση ορμονών, είτε οιστρογόνων είτε προγεστινών, ξεχωριστά ή σε συνδυασμό, δεν επέφερε καμία αλλαγή στη δραστικότητα της LPL στο λιπώδη ιστό σε καμία περιοχή του σώματος [323], υποδηλώνοντας και πάλι τη σημασία της οδού χορήγησης για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Η μία και

μοναδική μελέτη που αξιολόγησε την επίδραση του έμμηνου κύκλου στη δραστηριότητα της LPL στον υποδόριο λιπώδη ιστό υγιών προεμμηνοπαυσιακών γυναικών δε βρήκε καμία σημαντική διαφορά ανάμεσα στη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση [310]. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα αναφορικά με τις ορμόνες του φύλου και τη δραστηριότητα της LPL στο σκελετικό μυ.

Αν και δεν υπάρχουν άλλες μελέτες που να έχουν αξιολογήσει την επίδραση του έμμηνου κύκλου στις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, υπάρχουν ορισμένα δεδομένα σχετικά με την επίδραση των εξωγενώς χορηγούμενων ορμονών στους ρυθμούς απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία. Για παράδειγμα, σε μια μελέτη, η λήψη προγεστινών από το στόμα δεν είχε καμία επίδραση στο ρυθμό κάθαρσης της VLDL-apoB-100 σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [311]. Σε μια άλλη μελέτη, με διατηρηματικό σχεδιασμό, γυναίκες που έκαναν χρήση αντισυλληπτικών από το στόμα τα οποία περιείχαν μόνο προγεστίνες ή προγεστίνες και οιστρογόνα είχαν υψηλότερους ρυθμούς απομάκρυνσης ολικών TG από το πλάσμα (η μέθοδος δεν ήταν ειδική για τα VLDL-TG) σε σχέση με γυναίκες που δεν έκαναν χρήση αντισυλληπτικών ή λάμβαναν αντισυλληπτικά που περιείχαν μόνο οιστρογόνα [182]. Τα αποτελέσματα των υπολοίπων μελετών είναι διφορούμενα και δύσκολο να αξιολογηθούν, καθώς αφορούν στην επίδραση συνδυασμών διαφόρων ειδών και δόσεων οιστρογόνων και προγεστινών έναντι της μη λήψης ορμονών, αλλά όχι σε σχέση με τη χρήση μόνο οιστρογόνων ή μόνο προγεστινών [178,179,184].

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης υπόκειται σε διάφορους περιορισμούς. Πρώτον, οι εθελόντριες μελετήθηκαν στο μέσο περίπου της θυλακοειδούς και της ωχρινικής φάσης με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της οιστραδιόλης να μη διαφέρει μεταξύ των δύο φάσεων. Αυτό είναι απόρροια της μεγάλης διακύμανσης μεταξύ των ατόμων στη συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου: σε ορισμένες γυναίκες, η συγκέντρωση οιστραδιόλης είναι υψηλότερη κατά την ωχρινική φάση, σε άλλες όμως δε διαφέρει ή είναι υψηλότερη κατά τη θυλακοειδή [324]. Επομένως, δε μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα ύπαρξης διαφορών στο μεταβολισμό των λιπιδίων σε άλλα χρονικά σημεία του κύκλου, π.χ. κατά τη διάρκεια της ωορρηξίας ή της έμμηνης ρύσης. Ωστόσο, τα περισσότερα διαθέσιμα δεδομένα δεν υποδεικνύουν διαφορές στη συγκέντρωση VLDL-TG [193,194,195], ολικών TG στο πλάσμα [189,190,191] και ολικής apoB-100 στο πλάσμα [190,196,197] σε διάφορες χρονικές στιγμές (τρεις ή και περισσότερες) του έμμηνου κύκλου (δεν υπάρχουν δεδομένα για τη VLDL-apoB-100). Κάποιες μελέτες ανέφεραν ότι οι συγκεντρώσεις ολικών

TG και VLDL-TG είναι υψηλότερες κατά την ωορρηξία από ό,τι στην ωχρινική φάση [198,199], αλλά αυτό μπορεί να οφείλεται σε άλλους παράγοντες, για παράδειγμα, την κορύφωση στη συγκέντρωση της ωχρινοτρόπου (LH) και της ωοθυλακιοτρόπου (FSH) ορμόνης που λαμβάνουν χώρα τη χρονική στιγμή της ωορρηξίας. Δεύτερον, με βάση τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #1 για την επαναληψιμότητα των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν, το σχετικά μικρό μέγεθος του δείγματος ενδεχομένως να μην επέτρεψε τον εντοπισμό μικρών διαφορών στις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου. Ωστόσο, από τα αποτελέσματα που προέκυψαν δε διαφάνηκε καμία τάση για ύπαρξη πιθανών διαφορών. Ακόμα, το μέγεθος των ενδοατομικών διακυμάνσεων στις διάφορες κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου δεν ήταν ουσιαστικά διαφορετικό από αυτό που παρατηρήθηκε προηγουμένως στους άνδρες (ΜΕΛΕΤΗ #1) ή σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που μελετήθηκαν δύο φορές στην ίδια ημέρα του κύκλου με απόσταση ενός μήνα [176]. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, η παρούσα μελέτη είχε επαρκή στατιστική δύναμη (80%) για να εντοπίσει διαφορές της τάξης του 15-20% και άνω για τους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 και 20-30% και άνω για τους ρυθμούς απομάκρυνσης. Λαμβάνοντας υπόψη το μέγεθος της βιολογικής διακύμανσης στη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα (20-30%) [293], μικρότερες διαφορές στις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL έχουν μάλλον αμφίβολη φυσιολογική σημασία.

Συμπερασματικά, οι συγκεντρώσεις και οι ρυθμοί παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG, VLDL-apoB-100 και FFA δε διαφέρουν ανάμεσα στη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν προηγούμενες μελέτες σχετικά με το μεταβολισμό των FFA και επιπλέον, παρέχουν νέα δεδομένα σχετικά με το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Κατά συνέπεια, η μελέτη του μεταβολισμού των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά το μεταπορροφητικό στάδιο δεν προϋποθέτει τον αυστηρό έλεγχο για τη συγκεκριμένη φάση του κύκλου.

5.3 Μελέτη #3

Η επίδραση φυσιολογικών διακυμάνσεων στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Η παρούσα εργασία βρίσκεται σε στάδιο δημοσίευσης ως:

Magkos F, Fabbrini E, Patterson BW, Klein S, Mittendorfer B. Endogenous estradiol variability does not affect basal plasma free fatty acid turnover and very low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B-100 kinetics.

Εισαγωγή

Στην προηγούμενη μελέτη (ΜΕΛΕΤΗ #2), διερευνήθηκε ο μεταβολισμός των VLDL σε κατάσταση ηρεμίας κατά τη διάρκεια των δύο βασικών φάσεων του έμμηνου κύκλου στις γυναίκες: τη θυλακοειδή φάση (πριν την ωορρηξία), κατά την οποία η συγκέντρωση της προγεστερόνης είναι χαμηλή και η συγκέντρωση της οιστραδιόλης διακυμαίνεται από χαμηλά έως υψηλά επίπεδα και την ωχρινική φάση (μετά την ωορρηξία), κατά την οποία οι συγκεντρώσεις τόσο της προγεστερόνης όσο και της οιστραδιόλης είναι υψηλές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ καθώς και οι ρυθμοί απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία δε διέφεραν μεταξύ των δύο φάσεων του κύκλου. Ωστόσο, μόνο η συγκέντρωση της προγεστερόνης ήταν σημαντικά υψηλότερη κατά την ωχρινική φάση σε σχέση με τη θυλακοειδή, ενώ η συγκέντρωση της οιστραδιόλης δε διέφερε. Επομένως, η πιθανότητα ότι φυσιολογικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο πλάσμα επηρεάζουν το μεταβολισμό των VLDL δε μπορεί να αποκλειστεί.

Αν και υπάρχουν ορισμένα δεδομένα αναφορικά με την επίδραση των εξωγενώς χορηγούμενων οιστρογόνων στο μεταβολισμό των VLDL-TG [182,183,325] και VLDL-apoB-100 [175,176, 177], έχει δειχθεί ότι η οδός χορήγησης είναι υπεύθυνη για τις παρατηρούμενες δράσεις. Η χορήγηση από το στόμα αυξάνει τη συγκέντρωση των VLDL και το ρυθμό παραγωγής τους από το ήπαρ, ενώ η διαδερμική χορήγηση (που αποτελεί ένα πιο φυσιολογικό τρόπο εισόδου στο

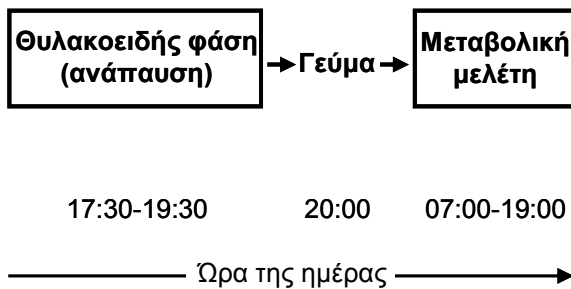
σώμα) δεν έχει καμία τέτοια επίδραση, παρόλο που οι συγκεντρώσεις των οιστρογόνων στη συστηματική κυκλοφορία αυξάνονται σε παρόμοια επίπεδα [176], υποδηλώνοντας έτσι ότι τα από του στόματος χορηγούμενα οιστρογόνα έχουν άμεση επίδραση στο ήπαρ που δεν προσομοιάζει στις φυσιολογικές συνθήκες. Επομένως, η επίδραση των φυσιολογικών διακυμάνσεων στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο μεταβολισμό των VLDL παραμένει άγνωστη.

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση των επιδράσεων που έχουν οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της ενδογενούς οιστραδιόλης στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 36 υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με BMI μεταξύ 20 και 41 kg/m² (μέσος όρος 30,8 kg/m²) καθεμία από τις οποίες πραγματοποίησε μία δοκιμή σε κατάσταση ηρεμίας. Αν και, όπως δείχθηκε στη ΜΕΛΕΤΗ #2, η προγεστερόνη δεν επηρεάζει το μεταβολισμό των VLDL, όλες οι δοκιμές έλαβαν χώρα κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς φάσης του έμμηνου κύκλου (πριν την ωορρηξία, συγκέντρωση προγεστερόνης στο πλάσμα ≤ 2 ng/ml), έτσι ώστε να αποφευχθούν σημαντικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της προγεστερόνης ή και άλλων ορμονών του φύλου. Όλες οι μετρήσεις έγιναν στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία) αφού προηγήθηκε ανάπαυση κατά το προηγούμενο απόγευμα (ΕΙΚΟΝΑ 5.3.1). Οι εθελόντριες είχαν τακτικό έμμηνο κύκλο και καμία δεν έκανε χρήση εξωγενών ορμονών (είτε για τη ρύθμιση του κύκλου είτε για αντισύλληψη).



Εικόνα 5.3.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Με βάση τη διάμεσο της συγκέντρωσης της οιστραδιόλης στο πλάσμα την ημέρα της μεταβολικής μελέτης (38 pg/ml), οι εθελόντριες χωρίστηκαν σε δύο ισάριθμες ομάδες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.1): μία με χαμηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης (< 38 pg/ml, εύρος: 10 - 37 pg/ml) και μία με υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης (> 38 pg/ml, εύρος: 39 - 203 pg/ml). Το ορμονικό περιβάλλον των δύο αυτών ομάδων μπορεί, λοιπόν, να προσομοιαστεί με αυτό που επικρατεί κατά το πρώτο μισό (χαμηλή προγεστερόνη και χαμηλή οιστραδιόλη) και δεύτερο μισό (χαμηλή προγεστερόνη και υψηλή οιστραδιόλη) της θυλακοειδούς φάσης του κύκλου.

Πίνακας 5.3.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντριών (N = 36).

		Χαμηλή οιστραδιόλη (N = 18)	Υψηλή οιστραδιόλη (N = 18)	Τιμή P
Ηλικία	(έτη)	33 ± 10	33 ± 10	0,878
Βάρος	(kg)	84 ± 20	87 ± 19	0,739
Ύψος	(cm)	167 ± 6	166 ± 8	0,640
BMI	(kg/m ²)	30,3 ± 7,1	31,4 ± 5,9	0,617
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	40 ± 11	40 ± 10	0,960
Λιπώδης μάζα	(kg)	35 ± 16	36 ± 14	0,927
Άλιπη μάζα	(kg)	49 ± 6	51 ± 8	0,480

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος.

Αποτελέσματα

Στεροειδείς ορμόνες

Η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο πλάσμα δεν ήταν διαφορετική στην ομάδα με χαμηλή οιστραδιόλη από ό,τι στην ομάδα με υψηλή οιστραδιόλη ($0,7 \pm 1,2$ έναντι $0,7 \pm 0,8$ ng/ml,

αντίστοιχα, $P = 0,976$). Όπως αναμενόταν από το σχεδιασμό της μελέτης, η συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο πλάσμα ήταν περίπου τριπλάσια στην ομάδα με υψηλή οιστραδιόλη σε σχέση με την ομάδα με χαμηλή οιστραδιόλη (81 ± 42 έναντι 26 ± 9 pg/ml, αντίστοιχα, $P < 0,001$).

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.2) και, κατά συνέπεια, ο δείκτης HOMA (χαμηλή οιστραδιόλη: $2,22 \pm 1,67$ και υψηλή οιστραδιόλη: $1,93 \pm 0,87$, $P = 0,512$) δε διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων. Ακόμα, δε βρέθηκαν διαφορές στις συγκεντρώσεις των FFA στο πλάσμα, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.2).

Πίνακας 5.3.2. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα στις ομάδες γυναικών με χαμηλή και υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης.

		Χαμηλή οιστραδιόλη	Υψηλή οιστραδιόλη	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	$5,0 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,3$	0,572
Ινσουλίνη	(pmol/L)	59 ± 40	53 ± 24	0,610
FFA	(μmol/L)	466 ± 263	453 ± 113	0,849
VLDL-TG	(mmol/L)	$0,55 \pm 0,34$	$0,54 \pm 0,37$	0,927
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	58 ± 35	57 ± 32	0,894

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA

Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα δε διέφερε μεταξύ των ομάδων με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης, ανεξάρτητα από τις μονάδες μέτρησης, δηλαδή σε επίπεδο σώματος, ανά μονάδα πλάσματος, ή ανά κιλό σωματικού βάρους, λιπώδους μάζας, ή άλιπης μάζας (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.3).

Πίνακας 5.3.3. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων στο πλάσμα στις ομάδες γυναικών με χαμηλή και υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης.

		Χαμηλή οιστραδιόλη	Υψηλή οιστραδιόλη	Τιμή P
Σε επίπεδο σώματος	($\mu\text{mol}/\text{min}$)	304 ± 83	314 ± 129	0,778
Ανά μονάδα πλάσματος	($\mu\text{mol}/\text{L} \cdot \text{min}$)	112 ± 25	111 ± 37	0,943
Ανά κιλό σωματικού βάρους	($\mu\text{mol}/\text{kg BW} \cdot \text{min}$)	$3,6 \pm 0,8$	$3,6 \pm 1,2$	0,961
Ανά κιλό λιπώδους μάζας	($\mu\text{mol}/\text{kg FM} \cdot \text{min}$)	$10,2 \pm 4,8$	$10,0 \pm 5,9$	0,912
Ανά κιλό άλιπης μάζας	($\mu\text{mol}/\text{kg FFM} \cdot \text{min}$)	$6,2 \pm 1,4$	$6,1 \pm 2,0$	0,943

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BW: σωματικό βάρος, FM: λιπώδης μάζα, FFM: άλιπη μάζα.

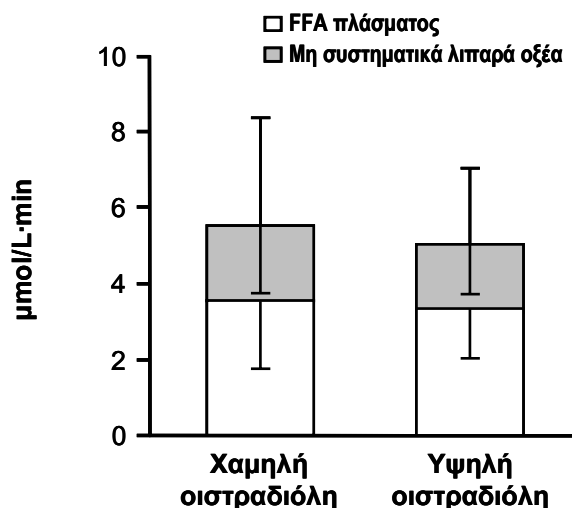
Μεταβολισμός VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο FTR των VLDL-TG (χαμηλή οιστραδιόλη: $0,707 \pm 0,396$ δεξαμενές/h και υψηλή οιστραδιόλη: $0,758 \pm 0,505$ δεξαμενές/h, $P = 0,737$) και ο FTR της VLDL-apoB-100 (χαμηλή οιστραδιόλη: $0,436 \pm 0,189$ δεξαμενές/h και υψηλή οιστραδιόλη: $0,370 \pm 0,121$ δεξαμενές/h, $P = 0,216$) δε διέφεραν ανάμεσα στις δύο ομάδες.

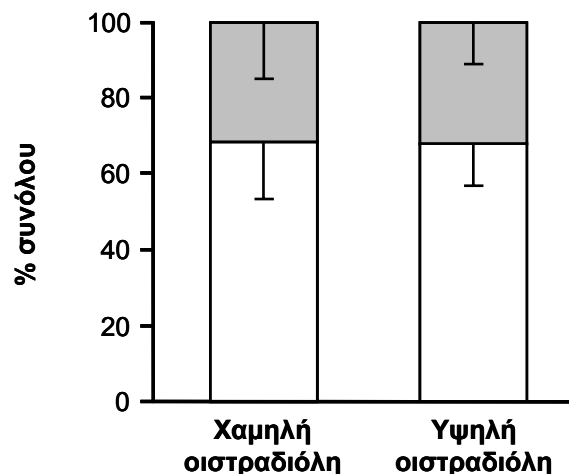
Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ ($P = 0,552$), η σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία και από μη συστηματικές πηγές στην παραγωγή VLDL-TG ($P = 0,915$) και οι απόλυτοι ρυθμοί ηπατικής έκκρισης VLDL-TG από συστηματικές ($P = 0,667$) και μη συστηματικές ($P = 0,576$) πηγές λιπαρών οξέων δεν ήταν διαφορετικές μεταξύ των ομάδων με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα (ΕΙΚΟΝΑ 5.3.2).

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ επίσης δε διάφερε ανάμεσα στις δύο ομάδες ($P = 0,480$, ΕΙΚΟΝΑ 5.3.2).

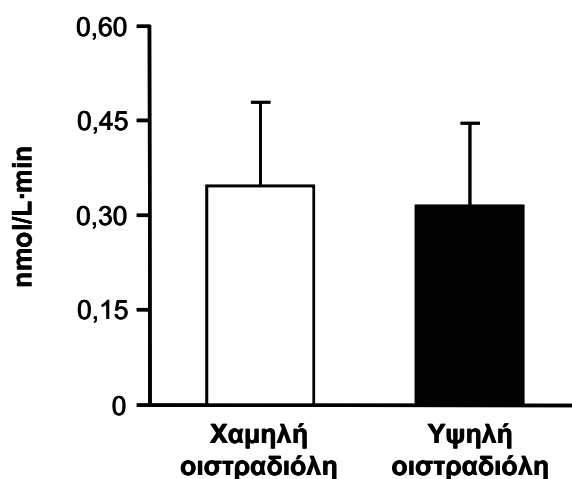
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG



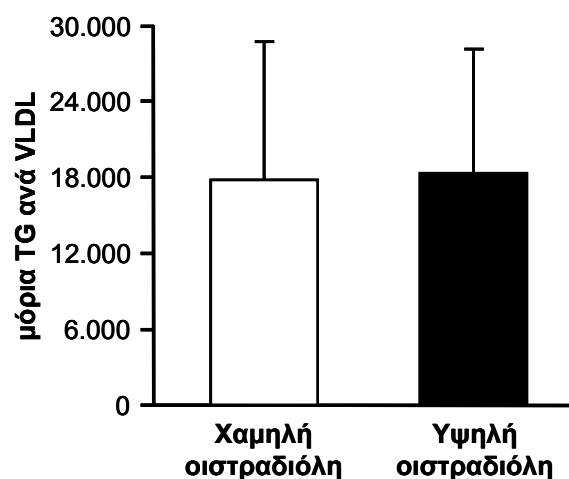
Σχετική συνεισφορά λιπαρών οξέων στην παραγωγή VLDL-TG



Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100



Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100



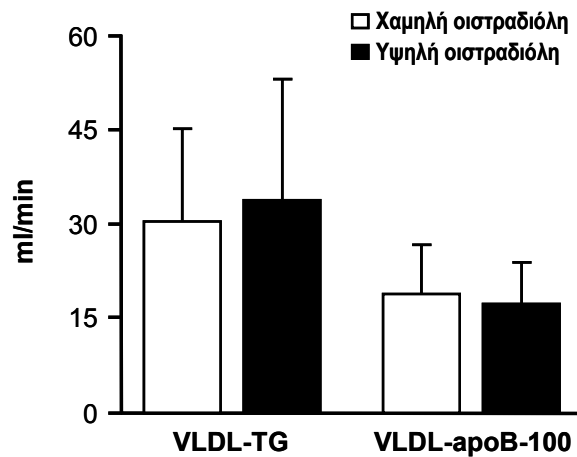
Εικόνα 5.3.2. Συνολικός ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ και επιμέρους απόλυτοι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας και λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές (επάνω αριστερά), σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από συστηματικές και μη συστηματικές πηγές στην παραγωγή VLDL-TG (επάνω δεξιά), ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ (κάτω αριστερά) και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 (κάτω δεξιά) στις ομάδες γυναικών με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. Για τα VLDL-TG, οι γραμμές σφάλματος που στρέφονται προς τα επάνω απεικονίζουν την SD του συνολικού ρυθμού παραγωγής, ενώ αυτές που στρέφονται προς τα κάτω απεικονίζουν τις SD των επιμέρους ρυθμών παραγωγής από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας και λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, FFA, ελεύθερα λιπαρά οξέα, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Τα αποτελέσματα για τους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 ήταν τα ίδια ανεξάρτητα από τις μονάδες μέτρησης, δηλαδή ανεξάρτητα από το εάν εκφράστηκαν σε επίπεδο ολόκληρου του σώματος ($\mu\text{mol}/\text{min}$) ή ανά μονάδα πλάσματος ($\mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$).

Ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανακλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, δεν ήταν διαφορετικός μεταξύ των ομάδων με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα ($P = 0,876$, ΕΙΚΟΝΑ 5.3.2).

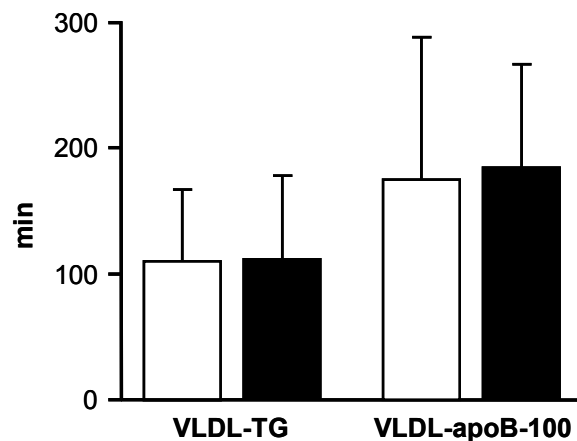
Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ($P = 0,551$) και VLDL-apoB-100 ($P = 0,449$) και ο MRT των VLDL-TG ($P = 0,920$) και της VLDL-apoB-100 ($P = 0,772$) δε διέφεραν ανάμεσα στις δύο ομάδες γυναικών με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα (ΕΙΚΟΝΑ 5.3.2).

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος



Εικόνα 5.3.2. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στις ομάδες γυναικών με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία



Σχέση οιστραδιόλης με το μεταβολισμό των VLDL

Η σχέση μεταξύ της οιστραδιόλης στο πλάσμα και του μεταβολισμού των VLDL εξετάστηκε για όλο το δείγμα ($N = 36$) με ανάλυση γραμμικής συσχέτισης του Pearson (όλες οι πειραματικές κατανομές ακολουθούσαν την κανονική κατανομή κατά τους Kolmogorov-Smirnov). Δε βρέθηκε καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης οιστραδιόλης στο πλάσμα και των διαφόρων παραμέτρων του μεταβολισμού των VLDL (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.4).

Πίνακας 5.3.4. Σχέση ανάμεσα στη συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα και τις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (N = 36).

	r	P
Συγκέντρωση FFA στο πλάσμα	-0,116	0,500
Ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα	-0,136	0,429
Συγκέντρωση VLDL-TG	-0,212	0,215
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) των VLDL-TG	0,096	0,577
Συνολικός ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ	-0,235	0,168
Σχετική συμμετοχή των FFA του πλάσματος στην παραγωγή VLDL-TG	0,084	0,628
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από FFA του πλάσματος	-0,165	0,338
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές	-0,227	0,183
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG	0,102	0,554
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία	-0,051	0,770
Συγκέντρωση VLDL-apoB-100	-0,171	0,319
Κλασματικός ρυθμός ανακύκλωσης (FTR) της VLDL-apoB-100	-0,126	0,463
Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ	-0,274	0,106
Ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100	-0,102	0,555
Μέσος χρόνος παραμονής (MRT) της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία	-0,030	0,862
Γραμμομοριακός λόγος των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL- apoB-100	-0,034	0,846

Δίνονται οι τιμές του συντελεστή γραμμικής συσχέτισης Pearson (r) μαζί με τις αντίστοιχες τιμές P.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο πλάσμα κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς φάσης του έμμηνου κύκλου δεν επηρεάζουν τη συγκέντρωση των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, τους ρυθμούς παραγωγής τους από το ήπαρ καθώς και τους ρυθμούς απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

2. Σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #2, οι βασικές ορμόνες του γυναικείου φύλου (προγεστερόνη και οιστραδιόλη) δεν επηρεάζουν στην πράξη το μεταβολισμό των VLDL και, επομένως, η διερεύνηση του μεταβολισμού των VLDL στις γυναίκες δεν προϋποθέτει τον έλεγχο για τη συγκεκριμένη ημέρα ή φάση του έμμηνου κύκλου.

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε ο ρόλος της ενδογενούς οιστραδιόλης στη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος σε υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με φυσιολογικό και υπερβάλλον σωματικό βάρος. Δε βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, στις συγκεντρώσεις και τους ρυθμούς έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, καθώς και στους ρυθμούς κάθαρσης και τους μέσους χρόνους παραμονής των VLDL-TG και VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία, μεταξύ γυναικών με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα. Επίσης, για όλες τις γυναίκες μαζί, δε βρέθηκε καμία σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης και τις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η διαθεσιμότητα ενδογενούς οιστραδιόλης (χαμηλή ή υψηλή) δεν επηρεάζει το μεταβολισμό των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA στο μεταπορροφητικό στάδιο σε υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Η συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα στην παρούσα μελέτη κυμάνθηκε από 10 έως 203 pg/ml και, επομένως, ήταν αντιπροσωπευτική του εύρους που τυπικά παρατηρείται σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά τη θυλακοειδή φάση του έμμηνου κύκλου [324]. Επιπρόσθετα, η διάμεσος των 38 pg/ml προσομοιάζει στη μέση συγκέντρωση οιστραδιόλης στο πλάσμα κατά την πρώτη εβδομάδα της θυλακοειδούς φάσης [324], με αποτέλεσμα οι διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων της παρούσας μελέτης να αντανakλούν μάλλον μέγιστες διαφορές στη συγκέντρωση οιστραδιόλης που δύνανται να παρατηρηθούν κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς φάσης του κύκλου. Ωστόσο, παρά την ύπαρξη μιας διαφοράς της τάξης μεγαλύτερης του 200% στη συγκέντρωση οιστραδιόλης μεταξύ των δύο ομάδων, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στη συγκέντρωση και τις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA στο μεταπορροφητικό στάδιο.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σύμφωνα με αυτά από τη ΜΕΛΕΤΗ #2, όπου προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μελετήθηκαν στη θυλακοειδή και την ωχρινική φάση του

κύκλου και μαζί συνιστούν ότι οι ενδογενείς διακυμάνσεις στις βασικές ορμόνες του φύλου (οιστραδιόλη και προγεστερόνη) δεν έχουν καμία επίδραση στο μεταβολισμό των VLDL. Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά έρχονται σε αντιδιαστολή με τις παρατηρήσεις μελετών στις οποίες χορηγήθηκαν εξωγενώς οιστρογόνα και προγεστίνες σε προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [306,307]. Ορισμένοι αναφέρουν ότι η λήψη οιστρογόνων από το στόμα (χωρίς προγεστίνη) αυξάνει τη συγκέντρωση και το ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, αλλά αυξάνει ακόμα και το ρυθμό απομάκρυνσής της από την κυκλοφορία (σε μικρότερο βαθμό, έτσι ώστε το συνολικό αποτέλεσμα να προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης στο αίμα) [177], ενώ άλλοι αναφέρουν ότι τα από του στόματος χορηγούμενα οιστρογόνα αυξάνουν μόνο την ηπατική παραγωγή της VLDL-apoB-100, χωρίς να επηρεάζουν τους ρυθμούς απομάκρυνσης [175,176]. Η ταυτόχρονη λήψη οιστρογόνων και προγεστινών έχει οδηγήσει σε ποικίλα αποτελέσματα: έχουν αναφερθεί αύξηση της συγκέντρωσης της VLDL-apoB-100 οφειλόμενη σε αύξηση του ρυθμού ηπατικής παραγωγής χωρίς αλλαγές στην απομάκρυνση [178], μείωση της συγκέντρωσης της VLDL-apoB-100 οφειλόμενη σε αύξηση του ρυθμού απομάκρυνσης χωρίς αλλαγές στην ηπατική παραγωγή [179], ή και καμία αλλαγή στη συγκέντρωση και τις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού της VLDL-apoB-100 [180,181]. Οι μελέτες που αξιολόγησαν το μεταβολισμό των VLDL-TG συνολικά υποδεικνύουν ότι τα από του στόματος χορηγούμενα οιστρογόνα, από μόνα τους ή σε συνδυασμό με προγεστίνες, οδηγούν σε αύξηση της συγκέντρωσης των VLDL-TG στο πλάσμα κυρίως λόγω αύξησης του ρυθμού ηπατικής παραγωγής, ενώ δεν επηρεάζουν ή ακόμα και αυξάνουν ελαφρώς το ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG από την κυκλοφορία [182,183,184,185]. Οι επιδράσεις των εξωγενών ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 παρατηρούνται κυρίως, αν όχι αποκλειστικά, στα μεγαλύτερα και πλούσια σε TG σωματίδια VLDL [176,177]. Παρόλα αυτά, ο ρόλος των φυσιολογικών διακυμάνσεων στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου δε μπορεί να περιγραφεί με βάση τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών, καθώς η χορήγηση εξωγενών ορμονών οδήγησε σε υψηλές συγκεντρώσεις (άνω του φυσιολογικού εύρους) στη συστηματική κυκλοφορία, οι οποίες και διατηρήθηκαν σταθερές, χωρίς διακυμάνσεις, για περιόδους αρκετών εβδομάδων. Μάλιστα, η χορήγηση από το στόμα ενδέχεται να ευθύνεται για τις παρατηρούμενες επιδράσεις των ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL, καθώς η διαδερμική χορήγηση, που αποτελεί μια πιο φυσιολογική οδό για την είσοδο στον οργανισμό, δεν έχει καμία επίδραση στη συγκέντρωση και τις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL, ακόμα και αν προκαλεί παρόμοιες αυξήσεις στη συγκέντρωση των ορμονών του φύλου στο αίμα [176].

Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στους ρυθμούς έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ μεταξύ γυναικών με χαμηλές ή υψηλές συγκεντρώσεις οιστραδιόλης στο πλάσμα. Η ηπατική παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 θεωρείται ότι είναι κατά κύριο λόγο εξαρτώμενη από τη διαθεσιμότητα υποστρωμάτων, τα πιο σημαντικά από τα οποία είναι τα λιπαρά οξέα [281,326]. Η κυριότερη πηγή λιπαρών οξέων για τα VLDL-TG σε στάδιο νηστείας είναι η δεξαμενή FFA στη συστηματική κυκλοφορία, η οποία και συνεισφέρει περίπου 70% των λιπαρών οξέων στη συνολική παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα των ΜΕΛΕΤΩΝ #1, #2 και #3 αλλά και από προηγούμενες μελέτες [122,313]. Στην παρούσα μελέτη, δε βρέθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα υποδηλώνοντας ότι η διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία στο ήπαρ δεν ήταν διαφορετική μεταξύ των γυναικών με χαμηλή ή υψηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #2 αλλά και με τις παρατηρήσεις άλλων ερευνητών [308,309], που ομόφωνα συνιστούν ότι η συγκέντρωση και οι ρυθμοί εμφάνισης λιπαρών οξέων στη συστηματική κυκλοφορία δεν επηρεάζονται από τις διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των βασικών ορμονών του φύλου σε διαφορετικές φάσεις του έμμηνου κύκλου. Σε άλλα πειράματα, δε βρέθηκαν διαφορές στους ρυθμούς λιπόλυσης, οι οποίοι προσδιορίστηκαν με βάση την απελευθέρωση γλυκερόλης *in vitro*, τόσο σε βασική κατάσταση όσο και ύστερα από διέγερση με νοραδρεναλίνη, από λιποκύτταρα που συλλέχθηκαν με βιοψία από τον υποδόριο λιπώδη ιστό του μηρού και της κοιλιακής χώρας από υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε διαφορετικές φάσεις του κύκλου [310]. Επίσης, φαίνεται ότι και η εξωγενής χορήγηση ορμονών του φύλου, είτε οιστρογόνων είτε προγεστινών ξεχωριστά ή σε συνδυασμό, δεν έχει σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα [182], αν και σε μία μελέτη παρατηρήθηκε ότι η λήψη οιστρογόνων από το στόμα σχετίζεται με ελαφρώς μειωμένο (10-20%) ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα σε σχέση με τη μη λήψη ορμονών [327]. Συνολικά, τα αποτελέσματα που παρατέθηκαν παραπάνω συνιστούν ότι οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των ενδογενών ορμονών του φύλου δεν επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα FFA στη συστηματική κυκλοφορία, δηλαδή την κυριότερη πηγή λιπαρών οξέων για την παραγωγή VLDL-TG.

Επίσης, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στους ρυθμούς κάθαρσης πλάσματος και τους μέσους χρόνους παραμονής VLDL-TG και VLDL-apoB-100, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο ενδοαγγειακός καταβολισμός των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 και η ικανότητα απομάκρυνσης TG από τον πυρήνα των VLDL καθώς και των VLDL σωματιδίων αυτών καθεαυτών από την κυκλοφορία δεν επηρεάστηκε από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις

οιστραδιόλης. Αυτό συμφωνεί με τα ευρήματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #2 και με την παρατήρηση ότι η δραστικότητα της LPL στο πλάσμα έπεται από ένεση ηπαρίνης δε διαφέρει στις δύο φάσεις του έμμηνου κύκλου [195], ούτε επηρεάζεται από τη λήψη οιστρογόνων από το στόμα [325]. Λίγες μόνο μελέτες έχουν αξιολογήσει την επίδραση των εξωγενώς χορηγούμενων ορμονών του φύλου στη δραστικότητα της LPL στο λιπώδη ιστό γυναικών και τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα, καθώς τα οιστρογόνα έχουν αναφερθεί ότι καταστέλλουν [328,329,330], διεγείρουν [323] ή δεν επηρεάζουν [320,330] τη δραστικότητα του συγκεκριμένου ενζύμου. Διφορούμενα είναι και τα αποτελέσματα μελετών που εξέτασαν συνδυασμούς οιστρογόνων και προγεστινών [323,331]. Η ασυμφωνία των διαθέσιμων δεδομένων ίσως οφείλεται εν μέρει στο είδος και τη δόση των οιστρογόνων ή/και των προγεστινών, την αναπαραγωγική κατάσταση των γυναικών (προεμμηνοπαυσιακές ή μετεμμηνοπαυσιακές), την τοπολογία του υποδόριου λιπώδους ιστού (μηριαίος, γλουτιαίος, ή κοιλιακός), καθώς και σε άλλους παράγοντες. Παραμένει, λοιπόν, άγνωστο αν και κατά πόσο οι εξωγενώς χορηγούμενες ορμόνες του φύλου επηρεάζουν τη δραστικότητα της LPL και, ακόμα πιο σημαντικό, ποια η σημασία αυτών των αλλαγών αναφορικά με την ικανότητα απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία. Στη μία και μοναδική μελέτη όπου εξετάστηκε η δραστικότητα της LPL στο μηριαίο και τον κοιλιακό υποδόριο λιπώδη ιστό, που συλλέχθηκε με βιοψία από υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς και της ωχρινικής φάσης του έμμηνου κύκλου, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε καμία ανατομική θέση [310]. Τα ευρήματα από την παρούσα μελέτη, σε συνδυασμό με αυτά από τη ΜΕΛΕΤΗ #2 και τις μελέτες άλλων ερευνητών [195,310], υποδεικνύουν ότι οι φυσιολογικές, ενδογενείς, κυκλικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των βασικών ορμονών του φύλου δεν επηρεάζουν τον ενδοαγγειακό μεταβολισμό και τους ρυθμούς απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από την κυκλοφορία.

Συμπερασματικά, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις και τις κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA μεταξύ υγιών προεμμηνοπαυσιακών μελετών με διαφορετικές συγκεντρώσεις οιστραδιόλης κατά τη θυλακοειδή φάση του έμμηνου κύκλου. Ούτε και παρατηρήθηκαν οποιεσδήποτε σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης στο πλάσμα και τις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL όταν τα δεδομένα για όλες τις γυναίκες εξετάστηκαν ταυτόχρονα. Επομένως, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης συνιστούν ότι οι διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου δεν επηρεάζουν το μεταβολισμό νηστείας των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

5.4 Μελέτη #4

Η επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL

Η παρούσα εργασία βρίσκεται σε στάδιο δημοσίευσης ως:

Magkos F, Fabbrini E, Saleh A, Patterson BW, Klein S, Mittendorfer B. Ovarian hormone deficiency after menopause is associated with accelerated VLDL-triglyceride but not VLDL-apolipoprotein B-100 turnover.

Εισαγωγή

Στις προηγούμενες μελέτες (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3), διερευνήθηκε ο ρόλος των βασικών ορμονών του φύλου (προγεστερόνη και οιστραδιόλη) στη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL σε κατάσταση ηρεμίας σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ καθώς και οι ρυθμοί απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία δεν επηρεάζονται από φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της προγεστερόνης και της οιστραδιόλης. Ωστόσο, οι διακυμάνσεις αυτές είναι κυκλικές και έχουν βραχεία διάρκεια. Αν και κατά πόσο η χρόνια απουσία ορμονών του φύλου, όπως για παράδειγμα μετά την εμμηνόπαυση ή μεταξύ ανδρών και γυναικών, επηρεάζει το μεταβολισμό των VLDL παραμένει ακόμα άγνωστο.

Η λειτουργία των ωοθηκών ελαττώνεται σε μεγάλο βαθμό μετά την εμμηνόπαυση, με αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις των οιστρογόνων να μειώνονται σημαντικά. Οι φυσιολογικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά την περίοδο αυτή σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης κοιλιακής παχυσαρκίας, υπέρτασης, ινσουλινοαντίστασης και δυσλιπιδαιμίας, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις TG και LDL-χοληστερόλης στο πλάσμα και μειωμένη συκέντρωση HDL-χοληστερόλης [26,27,167]. Αυτές οι μεταβολικές αλλαγές και, ειδικά η δυσλιπιδαιμία, θεωρούνται εν μέρει υπεύθυνες για την αύξηση του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [7].

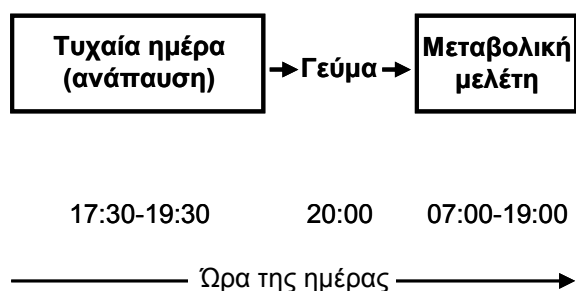
Παρά τις φαινομενικά μεγάλες διαφορές στις συγκεντρώσεις των διαφόρων λιπιδίων στο πλάσμα όπως αυτές περιγράφονται στη βιβλιογραφία [26,27], ελάχιστες μελέτες έχουν διερευνήσει την επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, π.χ. της HDL [332,333,334]. Οι πιθανές διαφορές μεταξύ μετεμμηνοπαυσιακών και προεμμηνοπαυσιακών γυναικών στη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε κατάσταση νηστείας δεν έχουν μελετηθεί ποτέ μέχρι σήμερα.

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση των επιδράσεων που έχει η εμμηνόπαυση στο μεταβολισμό των VLDL.

Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 8 παχύσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές και 8 παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.1), καθεμία από τις οποίες πραγματοποίησε μία δοκιμή σε κατάσταση ηρεμίας. Όλες οι μετρήσεις έγιναν στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία) αφού προηγήθηκε ανάπαυση κατά το προηγούμενο απόγευμα (ΕΙΚΟΝΑ 5.4.1). Οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είχαν φυσική εμμηνόπαυση, με απουσία εμμηνορρυσίας για ≥ 12 μήνες, βρίσκονταν σε εμμηνόπαυση για ≤ 15 χρόνια και δε λάμβαναν ορμονική θεραπεία αντικατάστασης. Όλες οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είχαν τακτικό έμμηνο κύκλο και δεν έκαναν χρήση εξωγενών ορμονών (είτε για τη ρύθμιση του κύκλου είτε για αντισύλληψη). Με βάση τα αποτελέσματα των ΜΕΛΕΤΩΝ #2 και #3, οι εθελόντριες αυτές μελετήθηκαν σε μία τυχαία ημέρα του έμμηνου κύκλου.



Εικόνα 5.4.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Πίνακας 5.4.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντριών (N = 16).

		Προεμμηνοπαυσιακές (N = 8)	Μετεμμηνοπαυσιακές (N = 8)	Τιμή P
Ηλικία	(έτη)	43 ± 8	55 ± 4	0,002
Βάρος	(kg)	99 ± 14	95 ± 13	0,588
Ύψος	(cm)	168 ± 5	166 ± 6	0,493
BMI	(kg/m ²)	34,7 ± 4,5	34,2 ± 4,1	0,812
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	45 ± 7	43 ± 4	0,555
Λιπώδης μάζα	(kg)	44 ± 11	41 ± 9	0,524
Άλιπη μάζα	(kg)	54 ± 8	54 ± 5	0,889

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος.

Αποτελέσματα

Ηλικία και σύσταση σώματος

Οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ήταν κατά περίπου 12 χρόνια μεγαλύτερες από τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, αλλά δε διέφεραν στο σωματικό βάρος και το BMI, τη λιπώδη μάζα και το ποσοστό λίπους στο σώμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.1).

Στεροειδείς ορμόνες

Όπως αναμενόταν, η συγκέντρωση της FSH στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης, της οιστρονής και της τεστοστερόνης ήταν χαμηλότερες και η συγκέντρωση της προγεστερόνης έτεινε να είναι χαμηλότερη (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.2).

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα έτεινε να είναι υψηλότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.3), αλλά η συγκέντρωση της ινσουλίνης (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.3) και ο δείκτης HOMA (προεμμηνοπαυσιακές: $2,56 \pm 1,86$ και μετεμμηνοπαυσιακές: $3,17 \pm 2,19$, $P = 0,562$) δε διέφεραν. Δε βρέθηκαν επίσης διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων γυναικών στις συγκεντρώσεις των FFA στο πλάσμα, των TG στο πλάσμα και τις VLDL και της VLDL-apoB-100 (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.4.3).

Πίνακας 5.4.2. Ορμόνες του φύλου στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

		Προεμμηνοπαυσιακές	Μετεμμηνοπαυσιακές	Τιμή P
FSH	(U/L)	8,7 ± 5,8	38,4 ± 21,7	0,010
Οιστραδιόλη	(pg/ml)	53 (32 - 78)	24 (20 - 49)	0,038
Οιστρόνη	(pg/ml)	106 ± 31	56 ± 21	0,006
Προγεστερόνη	(ng/ml)	0,26 (0,18 - 1,01)	0,16 (0,13 - 0,20)	0,072
Τεστοστερόνη	(ng/ml)	0,55 ± 0,17	0,33 ± 0,08	0,004

Οι τιμές για την FSH, την οιστρόνη και την τεστοστερόνη παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD, ενώ οι τιμές για την οιστραδιόλη και την προγεστερόνη παρουσιάζονται ως διάμεσοι και εκατοστημόρια 25-75% (στις περιπτώσεις αυτές, η ανάλυση έγινε με το μη παραμετρικό έλεγχο *Mann-Whitney U test*, καθώς η λογαριθμική μετατροπή δεν εξασφάλιζε την κανονικότητα των κατανομών). FSH: ωοθηλακιοτρόπος ορμόνη.

Πίνακας 5.4.3. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

		Προεμμηνοπαυσιακές	Μετεμμηνοπαυσιακές	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	4,8 ± 0,6	5,4 ± 0,5	0,068
Ινσουλίνη	(pmol/L)	68 ± 40	77 ± 51	0,698
FFA	(μmol/L)	433 ± 94	512 ± 181	0,289
Ολικά TG	(mmol/L)	1,03 ± 0,15	1,05 ± 0,31	0,900
VLDL-TG	(mmol/L)	0,51 ± 0,23	0,44 ± 0,22	0,546
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	61 ± 15	62 ± 34	0,942

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA

Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα δε διέφερε μεταξύ των προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, ανεξάρτητα από τις μονάδες μέτρησης, δηλαδή σε επίπεδο σώματος, ανά μονάδα πλάσματος, ή ανά κιλό σωματικού βάρους, λιπώδους μάζας, ή άλιπης μάζας (Πίνακας 5.4.4).

Πίνακας 5.4.4. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA Ra) στο πλάσμα στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

		Προεμμηνο- παυσιακές	Μετεμμηνο- παυσιακές	Τιμή P
Σε επίπεδο σώματος	($\mu\text{mol}/\text{min}$)	380 ± 102	361 ± 125	0,750
Ανά μονάδα πλάσματος	($\mu\text{mol}/\text{L} \cdot \text{min}$)	128 ± 26	123 ± 42	0,791
Ανά κιλό σωματικού βάρους	($\mu\text{mol}/\text{kg BW} \cdot \text{min}$)	$3,8 \pm 0,8$	$3,8 \pm 1,2$	0,958
Ανά κιλό λιπώδους μάζας	($\mu\text{mol}/\text{kg FM} \cdot \text{min}$)	$8,8 \pm 2,3$	$8,9 \pm 2,8$	0,952
Ανά κιλό άλιπης μάζας	($\mu\text{mol}/\text{kg FFM} \cdot \text{min}$)	$7,0 \pm 1,4$	$6,8 \pm 2,3$	0,791

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BW: σωματικό βάρος, FM: λιπώδης μάζα, FFM: άλιπη μάζα.

Μεταβολισμός VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο FTR των VLDL-TG ήταν παραπάνω από διπλάσιος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($1,286 \pm 0,841$ έναντι $0,531 \pm 0,260$ δεξαμενές/h, αντίστοιχα, $P = 0,026$), ενώ ο FTR της VLDL-apoB-100 (προεμμηνοπαυσιακές: $0,360 \pm 0,124$ δεξαμενές/h και μετεμμηνοπαυσιακές: $0,359 \pm 0,099$ δεξαμενές/h, $P = 0,988$) δεν ήταν διαφορετικός.

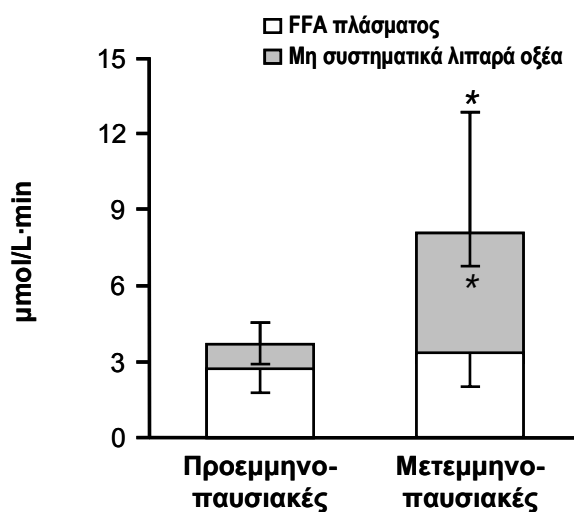
Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ ήταν περίπου 120% υψηλότερος στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($P = 0,023$), ενώ ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 δε διέφερε ($P = 0,648$), με αποτέλεσμα ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανakλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, ήταν περισσότερο από 2 φορές μεγαλύτερος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($P = 0,024$) (ΕΙΚΟΝΑ 5.4.2).

Η σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (FFA του πλάσματος) στην παραγωγή VLDL-TG ήταν σημαντικά χαμηλότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($46 \pm 17\%$ έναντι $72 \pm 14\%$, αντίστοιχα, $P = 0,004$) και, ανάλογα, η σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από μη συστηματικές πηγές ήταν σημαντικά υψηλότερη ($54 \pm 17\%$ έναντι $28 \pm 14\%$, αντίστοιχα, $P = 0,004$) (ΕΙΚΟΝΑ 5.4.2). Κατά συνέπεια,

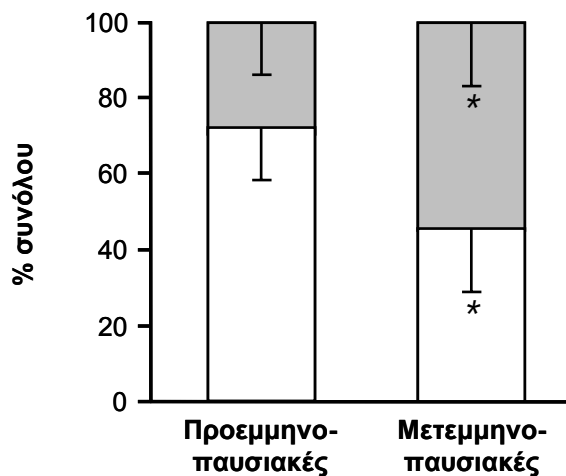
ο απόλυτος ρυθμός ηπατικής έκκρισης VLDL-TG από μη συστηματικές πηγές ήταν περίπου 5 φορές υψηλότερος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ($4,7 \pm 3,9$ έναντι $1,0 \pm 0,3$ $\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$, αντίστοιχα, $P = 0,018$), ενώ ο απόλυτος ρυθμός ηπατικής έκκρισης VLDL-TG από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας δεν ήταν διαφορετικός ($3,4 \pm 1,4$ έναντι $2,7 \pm 1,0$ $\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$, αντίστοιχα, $P = 0,306$) (ΕΙΚΟΝΑ 5.4.2).

Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ήταν σημαντικά υψηλότερος ($P = 0,042$) και ο MRT των VLDL-TG ήταν σημαντικά μικρότερος ($P = 0,039$) στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ ο ρυθμός κάθαρσης ($P = 0,831$) και ο MRT ($P = 0,877$) της VLDL-apoB-100 δε διέφεραν (ΕΙΚΟΝΑ 5.4.3).

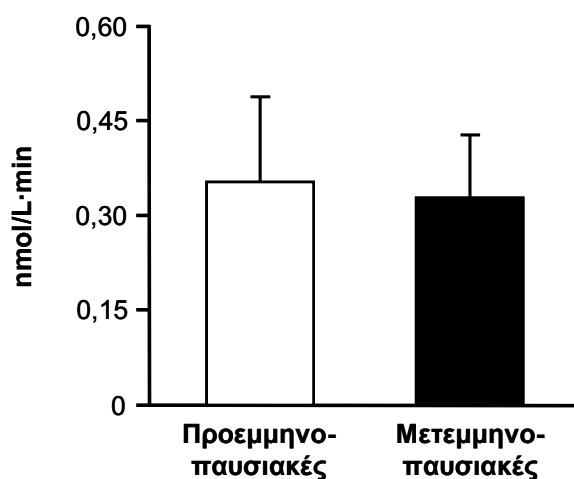
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG



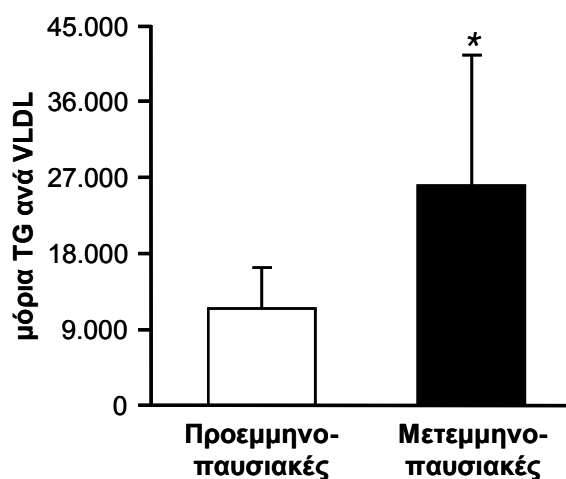
Σχετική συνεισφορά λιπαρών οξέων στην παραγωγή VLDL-TG



Ρυθμός παραγωγής VLDL-αποΒ-100

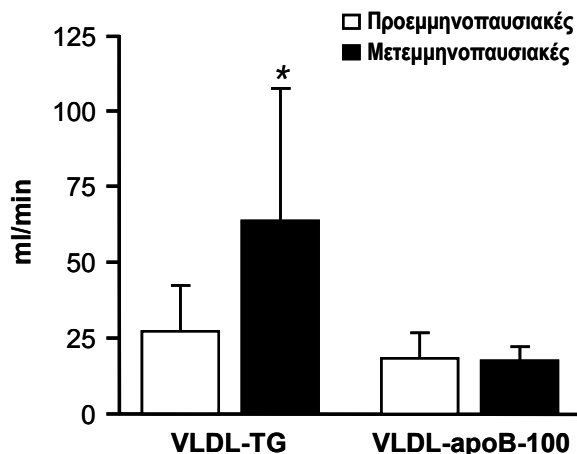


Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποΒ-100



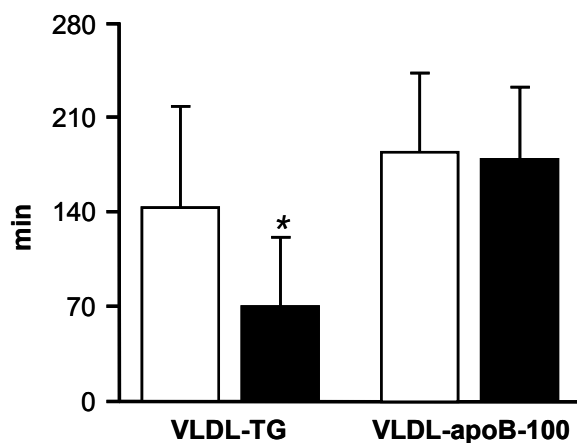
Εικόνα 5.4.2. Συνολικός ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ και επιμέρους απόλυτοι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας και λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές (επάνω αριστερά), σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από συστηματικές και μη συστηματικές πηγές στην παραγωγή VLDL-TG (επάνω δεξιά), ρυθμός παραγωγής VLDL-αποΒ-100 από το ήπαρ (κάτω αριστερά) και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποΒ-100 (κάτω δεξιά) στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. Για τα VLDL-TG, οι γραμμές σφάλματος που στρέφονται προς τα επάνω απεικονίζουν την SD του συνολικού ρυθμού παραγωγής, ενώ αυτές που στρέφονται προς τα κάτω απεικονίζουν τις SD των επιμέρους ρυθμών παραγωγής από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας και λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές. * $P < 0,05$ έναντι των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, FFA, ελεύθερα λιπαρά οξέα, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος



Εικόνα 5.4.3. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * $P < 0,05$ έναντι των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

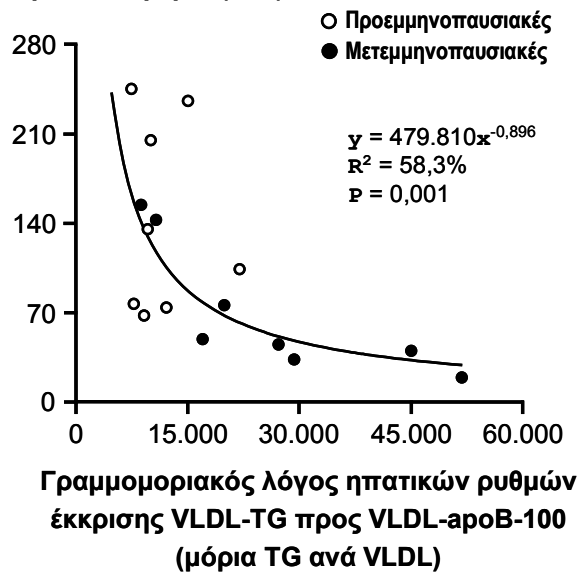
Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία



Σχέση μεταξύ του περιεχομένου των VLDL σε TG και του ρυθμού απομάκρυνσης VLDL-TG

Όταν τα δεδομένα για όλες τις εθελόντριες εξετάστηκαν μαζί ($N = 16$), παρατηρήθηκε μια αρνητική καμπυλόγραμμη σχέση ανάμεσα στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανακλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL και το μέσο χρόνο παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία του αίματος (ΕΙΚΟΝΑ 5.4.4). Η σχέση αυτή υποδηλώνει ότι όσο πιο πλούσιο σε TG είναι το νεο-εκκρινόμενο σωματίδιο VLDL, τόσο συντομότερη είναι η παραμονή των VLDL-TG στην κυκλοφορία (δηλαδή, τόσο γρηγορότερη η απομάκρυνσή τους).

Μέσος χρόνος παραμονής VLDL-TG στην κυκλοφορία (min)



Εικόνα 5.4.4. Σχέση ανάμεσα στο περιεχόμενο των νεο-εκκρινόμενων VLDL σε TG και στο μέσο χρόνο παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία του αίματος (N = 16).

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Η σχετική ανεπάρκεια των ορμονών του φύλου σε χρόνια βάση, όπως παρατηρείται κατά την εμμηνόπαυση, σχετίζεται με σημαντικά υψηλότερους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ. Η περίσσεια των VLDL-TG στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχηματίζονται από λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές, όπως είναι τα λιπαρά οξέα που φθάνουν στο ήπαρ από την πυλαία φλέβα (π.χ. από τη λιπόλυση των TG στο ενδοκοιλιακό λίπος), τα λιπαρά οξέα που παράγονται de novo στο ήπαρ και εκείνα που απελευθερώνονται από τη λιπόλυση των ενδοηπατικών αποθηκών TG.
2. Παράλληλα, όμως, η χρόνια ανεπάρκεια ορμονών του φύλου στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζεται και με σημαντικά αυξημένους ρυθμούς απομάκρυνσης VLDL-TG, πιθανόν ως αποτέλεσμα της έκκρισης VLDL σωματιδίων τα οποία είναι πλουσιότερα σε TG και κατά συνέπεια μεγαλύτερα σε μέγεθος από αυτά που παράγονται από το ήπαρ των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών και τα οποία έχουν μεγαλύτερη χημική συγγένεια και πιθανό να υδρολύονται ταχύτερα από την LPL των περιφερειακών ιστών. Με αυτόν τον τρόπο αποφεύγεται η αύξηση της συγκέντρωσης των VLDL-TG και διατηρείται η ομοιόσταση των TG στο αίμα.

3. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι οι υψηλότερες συγκεντρώσεις TG νηστείας που παρατηρούνται ορισμένες φορές μετά την εμμηνόπαυση είναι μάλλον αποτέλεσμα της μη αποτελεσματικής απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία, η οποία καθίσταται ανεπαρκής και δε μπορεί να αντισταθμίσει την ήδη αυξημένη ηπατική παραγωγή.
4. Οι αλλαγές στο ορμονικό περιβάλλον κατά την εμμηνόπαυση δεν έχουν καμία επίδραση στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης της VLDL-apoB-100, δηλαδή των VLDL σωματιδίων αυτών καθεαυτών.
5. Τα δεδομένα από την παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ότι η ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες, καθώς σημαντικές αλλαγές στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης των VLDL-TG δε συνεπάγονται αντίστοιχες αλλαγές στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης της VLDL-apoB-100.

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε ο μεταβολισμός των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA σε κατάσταση νηστείας σε παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι οποίες δεν έκαναν χρήση εξωγενών ορμονών του φύλου. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι, σε παχύσαρκες γυναίκες, η εμμηνόπαυση σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ, χωρίς αντίστοιχες αλλαγές στο ρυθμό έκκρισης VLDL-apoB-100. Το γεγονός αυτό συνιστά ότι το ήπαρ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών παράγει παρόμοιο αριθμό VLDL σωματιδίων, τα οποία είναι πλουσιότερα σε TG και επομένως είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα σωματίδια VLDL που παράγει το ήπαρ των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Η έκκριση τέτοιων VLDL σωματιδίων φαίνεται ότι ευθύνεται και για τη σημαντικά υψηλότερη κάθαρση και το συντομότερο μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, γιατί η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα των VLDL είναι πιο αποτελεσματική και ταχύτερη στην περίπτωση μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων (στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες) από ό,τι στην περίπτωση μικρών και φτωχών σε TG σωματιδίων (στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες) [108,335,336,337]. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη μεταβολική συμπεριφορά του σωματιδίου VLDL αυτού καθεαυτού, όπως φαίνεται από την απουσία διαφορών στο ρυθμό κάθαρσης και το μέσο χρόνο παραμονής της VLDL-apoB-100. Επομένως, η αυξημένη απομάκρυνση VLDL-TG από την κυκλοφορία στις μετεμμηνοπαυσιακές

γυναίκες αντισταθμίζει τον αυξημένο ρυθμό ηπατικής παραγωγής και αποτρέπει την αύξηση στη συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα, διατηρώντας έτσι την ομοιόσταση των TG στο αίμα.

Δεν υπάρχουν προηγούμενες μελέτες που να έχουν διερευνήσει την επίδραση της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL-TG ή/και της VLDL-apoB-100 κατά το μεταπορροφητικό στάδιο. Ενώ, μελέτες στις οποίες χορηγήθηκαν εξωγενώς ορμόνες του φύλου από το στόμα παρέχουν διφορούμενα αποτελέσματα. Ορισμένες αναφέρουν ότι τα οιστρογόνα αυξάνουν τη συγκέντρωση και τους ρυθμούς ανακύκλωσης (κυρίως την ηπατική παραγωγή, αλλά και σε μικρότερο βαθμό την απομάκρυνση από την κυκλοφορία) της VLDL-apoB-100 [177], ενώ άλλες παρατήρησαν αύξηση στο ρυθμό παραγωγής από το ήπαρ χωρίς αλλαγές στην απομάκρυνση [175,176]. Οι προγεστίνες έχουν αναφερθεί ότι ασκούν ακριβώς αντίθετη δράση [311]. Ο συνδυασμός οιστρογόνων και προγεστινών ενδέχεται να προκαλέσει αύξηση στη συγκέντρωση της VLDL-apoB-100 λόγω αύξησης στο ρυθμό ηπατικής παραγωγής χωρίς αλλαγή του ρυθμού απομάκρυνσης [178], ελάττωση στη συγκέντρωση της VLDL-apoB-100 λόγω αύξησης στο ρυθμό απομάκρυνσης από την κυκλοφορία χωρίς αλλαγή του ρυθμού παραγωγής [179], ή και καμία μεταβολή στο μεταβολισμό της VLDL-apoB-100 [180,181]. Όσον αφορά στα VLDL-TG, τα διαθέσιμα δεδομένα συνιστούν ότι τα οιστρογόνα από το στόμα αυξάνουν τη συγκέντρωση και το ρυθμό έκκρισης από το ήπαρ χωρίς να επηρεάζουν το ρυθμό απομάκρυνσης [182,183], ενώ οι προγεστίνες ελαττώνουν τη συγκέντρωση των VLDL-TG λόγω αύξησης του ρυθμού απομάκρυνσης από την κυκλοφορία χωρίς αλλαγές στην ηπατική παραγωγή [184]. Ο συνδυασμός οιστρογόνων και προγεστινών έχει σχετιστεί με ελαφρά αύξηση στη συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα λόγω του συνδυασμού αυξημένης παραγωγής από το ήπαρ και αυξημένης απομάκρυνσης από την κυκλοφορία [182,184]. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών, ωστόσο, δε μπορούν να ερμηνευθούν στα πλαίσια της εμμηνόπαυσης, καθώς οι παρατηρούμενες επιδράσεις των εξωγενών ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL φαίνεται ότι οφείλονται σε απευθείας επίδραση στο ήπαρ μετά την πρόσληψη από το στόμα και την απορρόφηση από τη γαστρεντερική οδό [176].

Πρόσφατα, οι Matthan *et al* [333] μελέτησαν διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στο μεταβολισμό και την κινητική συμπεριφορά της apoB-100 στα διάφορα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια (δηλαδή, τις TRLP, τις IDL και τις LDL) στο μεταγευματικό στάδιο, που προσομοιάστηκε με την ωριαία κατανάλωση μικρών γευμάτων. Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις apoB-100 σε όλα τα κλάσματα

λιποπρωτεϊνών που εξετάστηκαν (δηλαδή, μεγαλύτερο αριθμό σωματιδίων) στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, γεγονός που οφειλόταν σε σημαντικά χαμηλότερους ρυθμούς κλασματικής ανακύκλωσης και επομένως απομάκρυνσης των σωματιδίων από την κυκλοφορία, χωρίς όμως διαφορές στους αντίστοιχους ρυθμούς παραγωγής [333]. Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στο ρυθμό παραγωγής της VLDL-apoB-100 από το ήπαρ στο στάδιο της νηστείας, αλλά η κάθαρση και ο μέσος χρόνος παραμονής της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία επίσης δε διέφερε. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η λιγότερη αποτελεσματική απομάκρυνση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά το μεταγευματικό στάδιο [333] δεν οφείλεται σε ήδη διαταραγμένη απομάκρυνση των σωματιδίων VLDL κατά το μεταπορροφητικό στάδιο. Αντίθετα, το φαινόμενο αυτό είναι πιθανό να αντανακλά την αδυναμία αντιμετώπισης του φορτίου διαιτητικού λίπους μετά την κατανάλωση ενός γεύματος, ενδεχομένως λόγω αυξημένου ανταγωνισμού μεταξύ ενδογενών (VLDL) και εξωγενών (χυλομικρά) TRLP που οδηγεί σε κορεσμό των κοινών μηχανισμών απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία [338,339]. Η υπόθεση αυτή είναι σύμφωνη με την παρατήρηση ότι η αυξημένη μεταγευματική τριγλυκεριδαμία στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά σε ελαττωμένη απομάκρυνση των χυλομικρών που μεταφέρουν τα διαιτητικά TG (και άρα όχι των VLDL που μεταφέρουν ενδογενή TG) [340,341].

Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στις συγκεντρώσεις VLDL-TG και VLDL-apoB-100, κάτι που δεν ήταν αναμενόμενο λαμβάνοντας υπόψη τα περισσότερα δεδομένα από επιδημιολογικές μελέτες, οι οποίες υποδεικνύουν ότι η εμμηνόπαυση σχετίζεται με υψηλότερη συγκέντρωση TG στο πλάσμα [26,27,167]. Ωστόσο, καλύτερα ελεγχόμενες μεταβολικές μελέτες αναφέρουν ότι όταν η ηλικία, το βάρος, το BMI ή/και το ποσοστό και η κατανομή λίπους στο σώμα δε διαφέρουν στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, τότε η ανεξάρτητη επίδραση της εμμηνόπαυσης στη συγκέντρωση των ολικών TG στο πλάσμα και των VLDL-TG είναι πολύ μικρή ή και ανύπαρκτη [168,169,170,171,172, 173,174]. Στην παρούσα μελέτη, οι δύο ομάδες γυναικών είχαν παρόμοιο βάρος, BMI και ποσοστό λίπους στο σώμα, ενώ η διαφορά ηλικίας (περίπου 12 έτη), αν και στατιστικά σημαντική, ήταν σχετικά μικρή σε σχέση με τη συνήθη διαφορά ηλικίας (περίπου 40 έτη) μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών σε άλλες παρόμοιες μεταβολικές μελέτες [333]. Αυτές οι λεπτομέρειες του πειραματικού σχεδιασμού, λοιπόν, ίσως να ευθύνονται για την απουσία

διαφορών μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στις συγκεντρώσεις VLDL-TG και VLDL-apoB-100 στο πλάσμα.

Παρόλο που η συγκέντρωση των VLDL-TG δε διέφερε, ο συνολικός ρυθμός έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ ήταν διπλάσιος στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Αυτή η διαφορά οφειλόταν αποκλειστικά στην έκκριση περισσότερων VLDL-TG από μη συστηματικές πηγές λιπαρών οξέων (5 φορές περισσότερα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), χωρίς όμως να διαφέρει ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας. Η συγκέντρωση και ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα δε διέφερε ανάμεσα στις δύο ομάδες, υποδηλώνοντας ότι η διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία προς το ήπαρ δεν επηρεάζεται από την εμμηνόπαυση. Το συμπέρασμα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα των ΜΕΛΕΤΩΝ #2 και #3 καθώς και αυτά από άλλες μελέτες [308,309] που συνιστούν ότι οι διακυμάνσεις στη διαθεσιμότητα των βασικών ορμονών του φύλου δεν επηρεάζουν το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα κατά το μεταπορροφητικό στάδιο. Τα FFA από τη συστηματική κυκλοφορία θεωρούνται ως ο κυριότερος ρυθμιστικός παράγοντας της ηπατικής παραγωγής και έκκρισης VLDL-TG [281] και VLDL-apoB-100 [326]. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα από τις ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3, περίπου το 70-75% του συνόλου των λιπαρών οξέων στα VLDL-TG προέρχονταν από τη συστηματική κυκλοφορία στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Ωστόσο, η συνεισφορά τους είναι πολύ χαμηλότερη στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, στις οποίες περισσότερα από τα μισά λιπαρά οξέα των VLDL-TG προέρχονταν από μη συστηματικές πηγές. Αυτά τα λιπαρά οξέα (μη συστηματικά) απελευθερώνονται κατά τη λιπόλυση των TG του ενδοκοιλιακού λιπώδους ιστού και φτάνουν στο ήπαρ μέσω της πυλαίας φλέβας, ή απελευθερώνονται από τη λιπόλυση των ενδοηπατικών αποθηκών TG, ή συντίθενται *de novo* στο ήπαρ [281]. Η απουσία διαφορών μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στη διαθεσιμότητα FFA από τη συστηματική κυκλοφορία είναι σύμφωνη με το γεγονός ότι δε βρέθηκαν διαφορές στους ηπατικούς ρυθμούς παραγωγής VLDL-apoB-100 αλλά και VLDL-TG από συστηματικά λιπαρά οξέα. Καθίσταται, λοιπόν, προφανές ότι άλλοι παράγοντες, πέραν της διαθεσιμότητας FFA στο πλάσμα, ευθύνονται για το σημαντικά υψηλότερο συνολικό ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Ένας παράγοντας ενδέχεται να είναι η διαφορετική κατανομή του λίπους στην κοιλιακή χώρα: η εμμηνόπαυση έχει συσχετιστεί με αυξημένη ενδοκοιλιακή συσσώρευση λίπους σε σχέση με την αναπαραγωγική ηλικία κατά την οποία το κοιλιακό λίπος εντοπίζεται κυρίως στον υποδόριο ιστό [27,342]. Η συσσώρευση του κοιλιακού λίπους γύρω από τα σπλαχνικά όργανα και όχι υποδορίως συντελεί σε υψηλότερη ροή λιπαρών οξέων από την πυλαία φλέβα προς το ήπαρ [343]. Ακόμα, υπάρχουν ενδείξεις ότι ο ρυθμός

λιπόλυσης TG από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό (που προσδιορίστηκε με βάση το ρυθμό απελευθέρωσης γλυκερόλης *ex vivo*) τόσο κάτω από βασικές συνθήκες όσο και μετά από διέγερση των α - και β -αδρενεργικών υποδοχέων είναι υψηλότερος από λιποκύτταρα μετεμμηνοπαυσιακών από ό,τι από λιποκύτταρα προεμμηνοπαυσιακών γυναικών [344]. Αυτό σημαίνει ότι η απελευθέρωση μη συστηματικών λιπαρών οξέων από το ενδοκοιλιακό λίπος στην πυλαία φλέβα πιθανώς να είναι μεγαλύτερη μετά την εμμηνόπαυση, ανεξάρτητα από την ποσότητα του σπλαχνικού λίπους αυτού καθεαυτού. Τέλος, έχει αναφερθεί ότι η συχνότητα εμφάνισης λιπώδους διήθησης του ήπατος είναι σημαντικά υψηλότερη μετά την εμμηνόπαυση [345,346] και, η αυξημένη ποσότητα ενδοηπατικών TG έχει με τη σειρά της συσχετιστεί θετικά με την παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ [347]. Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις, πιθανές διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στην ποσότητα και τη λιπολυτική ευαισθησία του ενδοκοιλιακού λιπώδους ιστού ή/και στο μέγεθος των ενδοηπατικών αποθηκών λίπους ενδεχομένως να ευθύνονται για το σημαντικά αυξημένο ρυθμό ηπατικής έκκρισης VLDL-TG από μη συστηματικά λιπαρά οξέα στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες εκκρίνουν πλουσιότερα σε TG σωματίδια VLDL από ό,τι οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Το γεγονός αυτό μπορεί να ευθύνεται για το σημαντικά υψηλότερο ρυθμό κάθαρσης και το συντομότερο μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Δεδομένα από μελέτες *in vitro* και *in vivo* σε πειραματόζωα και ανθρώπους υποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα των μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL είναι πιο αποτελεσματική και λαμβάνει χώρα με ταχύτερο ρυθμό από ό,τι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα των μικρών και φτωχών σε TG σωματιδίων VLDL [108,335,336,337]. Το περιεχόμενο σε TG – και άρα το μέγεθος – των VLDL που παράγονταν από το ήπαρ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών ήταν 2-3 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο περιεχόμενο σε TG των VLDL που παράγονταν από το ήπαρ των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών, όπως προκύπτει από το γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100. Τα πλούσια σε TG σωματίδια VLDL στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είναι λοιπόν πιθανό να υδρολύονται γρηγορότερα από τα φτωχά σε TG σωματίδια VLDL στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, συμβάλλοντας έτσι σε αυξημένο ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG που αντισταθμίζει τον αυξημένο ρυθμό ηπατικής παραγωγής και αποτρέπει την αύξηση στη συγκέντρωση, διατηρώντας έτσι την ομοιόσταση των VLDL-TG στο πλάσμα. Η υπόθεση αυτή στηρίζεται και από την αρνητική σχέση που διαπιστώθηκε ανάμεσα στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG

προς VLDL-apoB-100 και το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία, που συνιστά ταχύτερη απομάκρυνση των VLDL-TG από τον πυρήνα των πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL. Πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι τα διαθέσιμα δεδομένα δεν επιτρέπουν να διευκρινιστεί αν η ταχύτερη απομάκρυνση TG από τον πυρήνα των VLDL στις μετεμμηνοπαυσιακές από ό,τι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οφείλεται αποκλειστικά και μόνο σε αυξημένη λιπόλυση TG από την LPL ή και σε αυξημένο ρυθμό ουδέτερης μεταφοράς λιπιδίων (δηλαδή, αυξημένη μεταφορά TG από τις VLDL προς άλλες λιποπρωτεΐνες σε ανταλλαγή με εστέρες χοληστερόλης μέσω της CETP). Η ταχύτερη μετατροπή του σωματιδίου VLDL προς λιποπρωτεϊνικά σωματίδια υψηλότερης πυκνότητας (IDL και LDL) και η μη αντιστρεπτή απομάκρυνση των VLDL από την κυκλοφορία (πρόσληψη του σωματιδίου από τους περιφερικούς ιστούς και το ήπαρ μέσω ειδικών υποδοχέων) είναι μάλλον απίθανο να συνεισφέρουν στην ταχύτερη απομάκρυνση των VLDL-TG στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, καθώς δε βρέθηκαν διαφορές στην κινητική συμπεριφορά της VLDL-apoB-100 (δηλαδή, του σωματιδίου VLDL αυτού καθαυτού) μεταξύ των δύο ομάδων. Αυτές οι παρατηρήσεις συνιστούν ακόμα ότι οι υψηλότερες συγκεντρώσεις TG που διαπιστώνονται συχνά στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [26,27,167] μάλλον οφείλονται σε διαταραγμένη και μη αποτελεσματική απομάκρυνση VLDL-TG από την κυκλοφορία (αφού η ηπατική παραγωγή είναι ήδη σημαντικά αυξημένη). Στηρίζοντας αυτήν την υπόθεση, η αύξηση του ρυθμού παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ κατά περίπου 2,5 φορές άνω του φυσιολογικού με φαρμακολογικά μέσα σε τρωκτικά, υπό τη μορφή μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL, οδηγεί στην εμφάνιση υπερτριγλυκεριδαιμίας μόνο σε εκείνα τα στελέχη που πάσχουν από γενετικές ανωμαλίες στους μηχανισμούς κάθαρσης των VLDL-TG (π.χ. αυτά με μη λειτουργική LPL ή πλήρη απουσία υποδοχέων apoB), αλλά όχι σε στελέχη με ανέπαφους μηχανισμούς κάθαρσης [348].

Οι διαφορές στο μεταβολισμό και την κινητική συμπεριφορά των VLDL μεταξύ των προεμμηνοπαυσιακών και των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών έρχονται σε αντιδιαστολή με τα αποτελέσματα των ΜΕΛΕΤΩΝ #2 και #3, όπου δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση των βασικών ορμονών του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Είναι άγνωστο αν η σχεδόν ολοκληρωτική, «χρόνια» απουσία των ορμονών του φύλου ευθύνεται για τις επιδράσεις της εμμηνόπαυσης στο μεταβολισμό των VLDL. Εναλλακτικά, οι παρατηρούμενες διαφορές ενδεχομένως να οφείλονται στην πιθανολογούμενη διαφορετική ποσότητα ενδοκοιλιακού και ενδοηπατικού λίπους ανάμεσα στις προεμμηνοπαυσιακές και τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ίσως δευτερογενώς του διαφορετικού ορμονικού περιβάλλοντος ή άλλων παραγόντων. Έχει αναφερθεί ότι η συγκέντρωση VLDL-TG νηστείας σχετίζεται

ισχυρά με τα ενδογενή ανδρογόνα στις μετεμμηνοπαυσιακές αλλά όχι στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [174], γεγονός που υποδηλώνει ότι η ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL-TG στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ίσως να προσομοιάζει με τη ρύθμιση στους άνδρες. Στην περίπτωση αυτή, οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών μπορεί να μην οφείλονται στο διαφορετικό ορμονικό περιβάλλον, αλλά στη διαφορετική επίδραση της παχυσαρκίας ανάλογα με την αναπαραγωγική ηλικία. Συγκεκριμένα, στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με μειωμένη απομάκρυνση VLDL-TG από την κυκλοφορία χωρίς αλλαγές στο ρυθμό έκκρισης από το ήπαρ, ενώ αντίθετα, στους άνδρες, η παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με αυξημένο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ χωρίς αλλαγές στο ρυθμό απομάκρυνσης από την κυκλοφορία [163]. Ο ρυθμός κάθαρσης και ο μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία στις παχύσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες της παρούσας μελέτης είναι παρόμοιοι με αυτούς που διαπιστώθηκαν από άλλους ερευνητές για νορμοβαρείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [163], αλλά ο ρυθμός ηπατικής παραγωγής VLDL-TG είναι σχεδόν διπλάσιος. Αυτό είναι δυνατό να συμβαίνει εφόσον η παχυσαρκία στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχει ακριβώς την ίδια επίδραση με αυτή που έχει παρατηρηθεί στους άνδρες, δηλαδή αν αυξάνει την ηπατική έκκριση VLDL-TG χωρίς να επηρεάζει την απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία. Ο έλεγχος της υπόθεσης αυτής απαιτεί την εξέταση μιας ομάδας νορμοβαρών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

Συμπερασματικά, σε παχύσαρκες γυναίκες, η εμμηνόπαυση σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ, που προέρχονται από πηγές λιπαρών οξέων εκτός της δεξαμενής FFA στη συστηματική κυκλοφορία. Ωστόσο, η εμμηνόπαυση δεν επηρεάζει το ρυθμό ηπατικής έκκρισης VLDL-apoB-100. Ταυτόχρονα, όμως, ο αυξημένος ρυθμός απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, πιθανώς λόγω της παραγωγής πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL, αντισταθμίζει την αυξημένη ηπατική παραγωγή και τελικά διατηρεί την ομοιόσταση των VLDL-TG στο αίμα.

5.5 Μελέτη #5

Η επίδραση του φύλου στο μεταβολισμό των VLDL

Η παρούσα εργασία δημοσιεύτηκε ως:

Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Klein S, Mittendorfer B. Women produce fewer but triglyceride-rich very low-density lipoproteins than men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007, **92** (4): 1311-1318.

Εισαγωγή

Στις προηγούμενες μελέτες, διερευνήθηκε ο ρόλος των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις βασικές ορμόνες του φύλου στη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κατά τη διάρκεια του κύκλου (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3), καθώς και ο ρόλος της χρόνιας ανεπάρκειας ορμονών του φύλου που σχετίζεται με την εμμηνόπαυση (ΜΕΛΕΤΗ #4). Συνολικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι κυκλικές διακυμάνσεις βραχείας διάρκειας στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης δεν επηρεάζουν το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, ενώ αντίθετα, η σχεδόν πλήρης απουσία της λειτουργίας των ωοθηκών συνεπάγεται σημαντικές αυξήσεις στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG χωρίς όμως συνακόλουθες αλλαγές στο μεταβολισμό της VLDL-apoB-100.

Το ορμονικό περιβάλλον είναι επίσης χρόνια διαφορετικό μεταξύ γυναικών και ανδρών και, έχει θεωρηθεί εν μέρει υπεύθυνο για το σημαντικά μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας από ό,τι σε συνομήλικους άνδρες [5]. Αυτό το γυναικείο πλεονέκτημα χάνεται μετά την εμμηνόπαυση [6] και ενδέχεται να οφείλεται σε διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL. Σε νεαρά άτομα, οι συγκεντρώσεις των TG και των VLDL σωματιδίων στο αίμα είναι σημαντικά χαμηλότερες στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες [22,23,24,25] και, υψηλές συγκεντρώσεις TG και VLDL αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακές νόσους [20,21,59,349,350]. Μάλιστα, η διαφορά μεταξύ των φύλων στη συγκέντρωση των ολικών TG νηστείας στο πλάσμα οφείλεται αποκλειστικά και μόνο σε διαφορές στη συγκέντρωση των VLDL-TG [29,31].

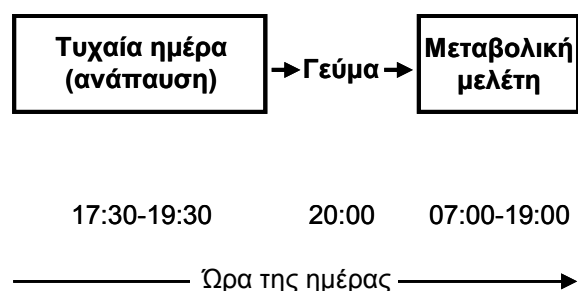
Λίγες μόνο μελέτες έχουν διερευνήσει τις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL-TG [138,139,163] και της VLDL-apoB-100 [164] στο στάδιο της νηστείας. Σε καμία προηγούμενη μελέτη, όμως, δεν έχουν αξιολογηθεί ταυτόχρονα ο μεταβολισμός και των δύο συστατικών των VLDL, γεγονός που επιτρέπει την καλύτερη και πιο ολοκληρωμένη κατανόηση του μεταβολισμού των TG στον πυρήνα των VLDL καθώς και των VLDL σωματιδίων αυτών καθεαυτών. Όπως δείχθηκε στη ΜΕΛΕΤΗ #4, για παράδειγμα, η ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 μπορεί να είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητη. Διαφορές στη μεταβολική συμπεριφορά των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 οδηγούν σε διαφορές στη σύσταση και το μέγεθος των σωματιδίων VLDL, που αποτελούν έναν από τους κυριότερους παράγοντες καθορισμού της περαιτέρω μεταβολικής πορείας αυτών των λιποπρωτεϊνών [59].

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση των διαφορών μεταξύ των δύο φύλων στο μεταβολισμό των VLDL σε νορμοβαρή άτομα.

Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 26 νεαρά άτομα με φυσιολογικό βάρος: 13 άνδρες και 13 προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.1). Κάθε εθελοντής και εθελόντρια πραγματοποίησε μία δοκιμή σε κατάσταση ηρεμίας. Όλες οι μετρήσεις έγιναν στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία) αφού προηγήθηκε ανάπαυση κατά το προηγούμενο απόγευμα (ΕΙΚΟΝΑ 5.5.1). Όλες οι γυναίκες είχαν τακτικό έμμηνο κύκλο και δεν έκαναν χρήση εξωγενών ορμονών (είτε για τη ρύθμιση του κύκλου είτε για αντισύλληψη). Με βάση τα αποτελέσματα των ΜΕΛΕΤΩΝ #2 και #3, οι εθελόντριες αυτές μελετήθηκαν σε μία τυχαία ημέρα του έμμηνου κύκλου.



Εικόνα 5.5.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Πίνακας 5.5.1. Βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων (N = 26).

		Άνδρες (N = 13)	Γυναίκες (N = 13)	Τιμή P
Ηλικία	(έτη)	29 ± 5	28 ± 6	0,685
Βάρος	(kg)	71 ± 7	61 ± 8	0,003
Ύψος	(cm)	179 ± 5	167 ± 7	< 0,001
BMI	(kg/m ²)	22,0 ± 1,7	22,0 ± 1,5	0,983
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	13 ± 5	27 ± 4	< 0,001
Λιπώδης μάζα	(kg)	10 ± 4	17 ± 4	< 0,001
Άλιπη μάζα	(kg)	61 ± 7	45 ± 5	< 0,001

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος.

Αποτελέσματα

Ηλικία και σύσταση σώματος

Οι άνδρες και οι γυναίκες είχαν παρόμοια ηλικία και BMI, αλλά οι άνδρες ήταν βαρύτεροι και ψηλότεροι και είχαν λιγότερη λιπώδη και περισσότερη άλιπη μάζα στο σώμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.1).

Στεροειδείς ορμόνες

Όπως αναμενόταν, οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερες στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες, ενώ η συγκέντρωση της τεστοστερόνης ήταν χαμηλότερη (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.2).

Πίνακας 5.5.2. Ορμόνες του φύλου στους άνδρες και τις γυναίκες.

		Άνδρες	Γυναίκες	Τιμή P
Οιστραδιόλη	(pg/ml)	20 ± 9	62 ± 54	0,017
Προγεστερόνη	(ng/ml)	0,29 ± 0,12	2,88 ± 3,74	0,028
Τεστοστερόνη	(ng/ml)	5,59 ± 1,10	0,75 ± 1,05	< 0,001

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD.

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.3) και, κατά συνέπεια, ο δείκτης HOMA (άνδρες: $1,13 \pm 0,56$ και γυναίκες: $1,15 \pm 0,72$, $P = 0,940$) δε διέφεραν ανάμεσα στα δύο φύλα. Οι γυναίκες έτειναν να έχουν υψηλότερη συγκέντρωση FFA και χαμηλότερη συγκέντρωση ολικών TG στο πλάσμα και είχαν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις VLDL-TG, ολικής apoB-100 και VLDL-apoB-100 από ό,τι οι άνδρες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.3).

Πίνακας 5.5.3. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα στους άνδρες και τις γυναίκες.

		Άνδρες	Γυναίκες	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	$5,0 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,3$	0,346
Ινσουλίνη	(pmol/L)	30 ± 13	32 ± 19	0,813
FFA	(μmol/L)	397 ± 154	574 ± 371	0,124
Ολικά TG	(mmol/L)	$0,73 \pm 0,20$	$0,64 \pm 0,15$	0,180
VLDL-TG	(mmol/L)	$0,38 \pm 0,13$	$0,29 \pm 0,09$	0,036
Ολική apoB-100	(μmol/L)	$1,25 \pm 0,21$	$0,93 \pm 0,25$	0,002
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	55 ± 16	32 ± 11	< 0,001

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA

Ο συνολικός ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα σε επίπεδο σώματος δε διέφερε μεταξύ των δύο φύλων, αλλά οι γυναίκες είχαν σημαντικά υψηλότερο ρυθμό εμφάνισης FFA ανά μονάδα πλάσματος, ανά κιλό σωματικού βάρους και ανά κιλό άλιπης μάζας και σημαντικά χαμηλότερο ρυθμό εμφάνισης FFA ανά κιλό λιπώδους μάζας (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.4).

Πίνακας 5.5.4. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων στο πλάσμα στους άνδρες και τις γυναίκες.

		Άνδρες	Γυναίκες	Τιμή P
Σε επίπεδο σώματος	($\mu\text{mol}/\text{min}$)	216 ± 61	244 ± 72	0,285
Ανά μονάδα πλάσματος	($\mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$)	64 ± 19	101 ± 31	0,002
Ανά κιλό σωματικού βάρους	($\mu\text{mol}/\text{kg BW}\cdot\text{min}$)	$3,0 \pm 0,8$	$4,1 \pm 1,4$	0,032
Ανά κιλό λιπώδους μάζας	($\mu\text{mol}/\text{kg FM}\cdot\text{min}$)	$25,5 \pm 10,5$	$15,8 \pm 7,2$	0,011
Ανά κιλό άλιπης μάζας	($\mu\text{mol}/\text{kg FFM}\cdot\text{min}$)	$3,5 \pm 1,0$	$5,5 \pm 1,7$	0,002

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BW: σωματικό βάρος, FM: λιπώδης μάζα, FFM: άλιπη μάζα.

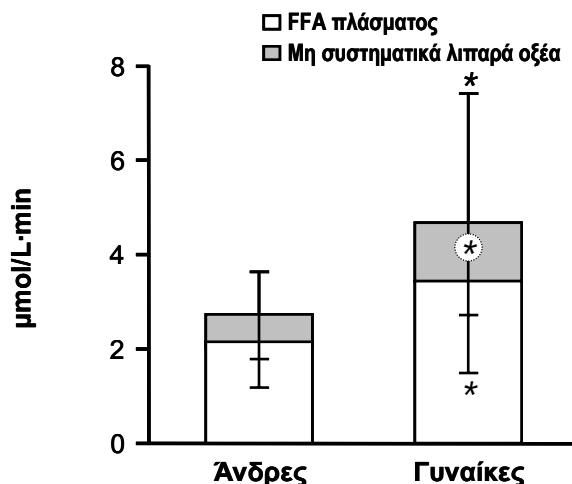
Μεταβολισμός VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο FTR των VLDL-TG ήταν περίπου 140% υψηλότερος στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες ($1,030 \pm 0,580$ έναντι $0,436 \pm 0,113$ δεξαμενές/h, αντίστοιχα, $P = 0,003$) και ο FTR της VLDL-apoB-100 ήταν περίπου 40% υψηλότερος (γυναίκες: $0,490 \pm 0,163$ δεξαμενές/h και άνδρες: $0,353 \pm 0,072$ δεξαμενές/h, $P = 0,013$).

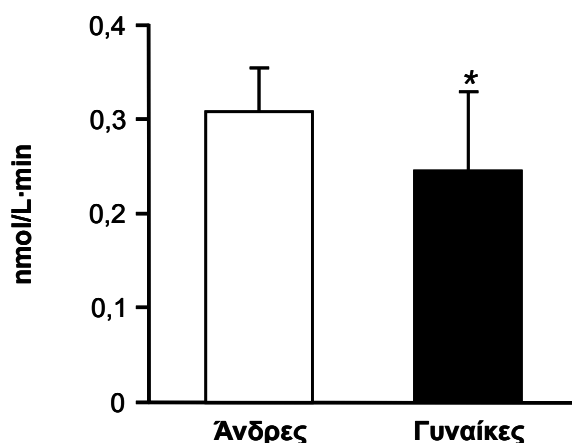
Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ ήταν σημαντικά υψηλότερος στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες ($P = 0,029$), ενώ ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 ήταν σημαντικά χαμηλότερος ($P = 0,030$), με αποτέλεσμα ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανακλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, να είναι περίπου διπλάσιος στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες ($P = 0,004$) (ΕΙΚΟΝΑ 5.5.2).

Η σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (FFA του πλάσματος) στην παραγωγή VLDL-TG δε διέφερε μεταξύ των δύο φύλων (άνδρες: $78 \pm 15\%$ και γυναίκες: $75 \pm 7\%$, $P = 0,541$) και, ανάλογα, η σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από μη συστηματικές πηγές ήταν $22 \pm 15\%$ για τους άνδρες έναντι $25 \pm 7\%$ για τις γυναίκες ($P = 0,541$). Κατά συνέπεια, οι απόλυτοι ρυθμοί ηπατικής έκκρισης VLDL-TG τόσο από συστηματικές (άνδρες: $2,2 \pm 0,9 \mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$ και γυναίκες: $3,5 \pm 1,9 \mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$, $P = 0,044$) όσο και από μη συστηματικές (άνδρες: $0,6 \pm 0,4 \mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$ και γυναίκες: $1,2 \pm 1,0 \mu\text{mol}/\text{L}\cdot\text{min}$, $P = 0,035$) πηγές λιπαρών οξέων ήταν σημαντικά υψηλότεροι στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες (ΕΙΚΟΝΑ 5.5.2).

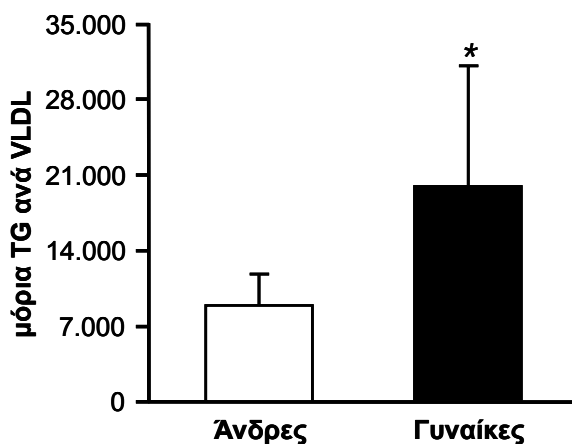
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG



Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100



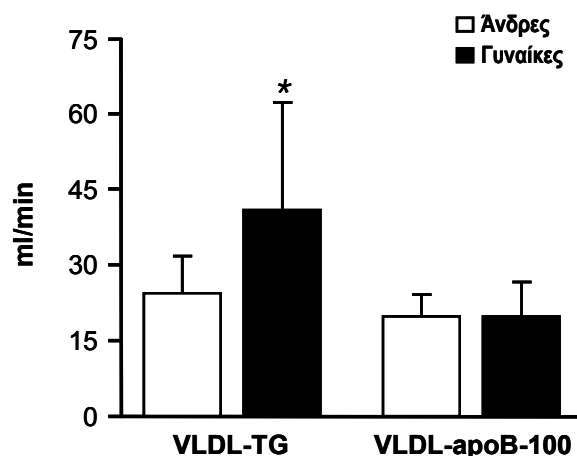
Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100



Εικόνα 5.5.2. Συνολικός ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ και επιμέρους απόλυτοι ρυθμοί παραγωγής VLDL-TG από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας και λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές (επάνω), ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ (μέσο) και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 (κάτω) στους άνδρες και τις γυναίκες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. Για τα VLDL-TG, οι γραμμές σφάλματος που στρέφονται προς τα επάνω απεικονίζουν την SD του συνολικού ρυθμού παραγωγής, ενώ αυτές που στρέφονται προς τα κάτω απεικονίζουν τις SD των επιμέρους ρυθμών παραγωγής από FFA της συστηματικής κυκλοφορίας και λιπαρά οξέα από μη συστηματικές πηγές. * $P < 0,05$ έναντι των ανδρών. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100, FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα.

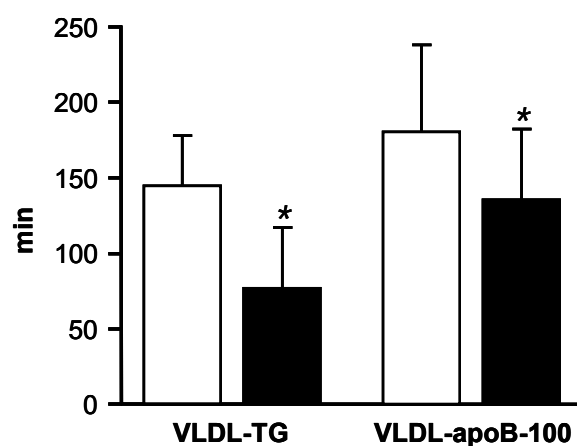
Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ήταν σημαντικά υψηλότερος στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες ($P = 0,019$) ενώ ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-apoB-100 δε διέφερε ($P = 0,943$) ανάμεσα στα δύο φύλα (ΕΙΚΟΝΑ 5.5.3). Ωστόσο, τόσο ο MRT των VLDL-TG ($P < 0,001$) όσο και ο MRT της VLDL-apoB-100 ($P = 0,041$) ήταν σημαντικά συντομότεροι στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες (ΕΙΚΟΝΑ 5.5.3).

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος



Εικόνα 5.5.3. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στους άνδρες και τις γυναίκες. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * $P < 0,05$ έναντι των ανδρών. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία

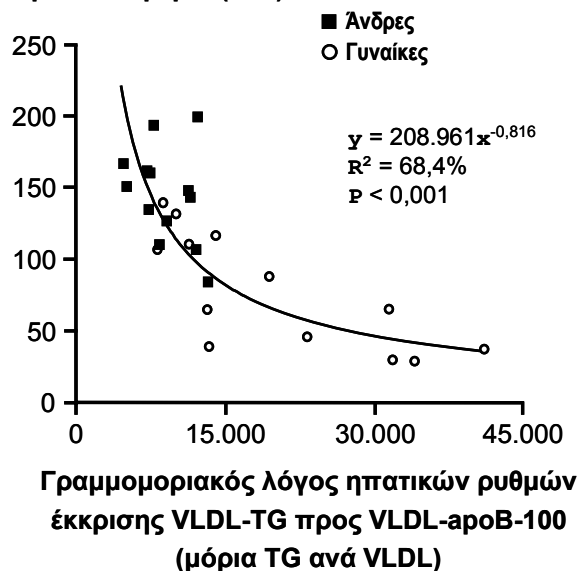


Σχέση μεταξύ του περιεχομένου των VLDL σε TG και του ρυθμού απομάκρυνσης VLDL-TG

Όταν τα δεδομένα για τους άνδρες και τις γυναίκες εξετάστηκαν μαζί ($N = 26$), παρατηρήθηκε μια αρνητική καμπυλόγραμμη σχέση ανάμεσα στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανακλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL και το μέσο χρόνο παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία του αίματος (ΕΙΚΟΝΑ 5.5.4). Η σχέση αυτή υποδηλώνει ότι όσο πιο πλούσιο σε TG

είναι το νεο-εκκρινόμενο σωματίδιο VLDL, τόσο συντομότερη είναι η παραμονή των VLDL-TG στην κυκλοφορία (δηλαδή, τόσο γρηγορότερη η απομάκρυνσή τους).

Μέσος χρόνος παραμονής VLDL-TG στην κυκλοφορία (min)



Εικόνα 5.5.4. Σχέση ανάμεσα στο περιεχόμενο των νεο-εκκρινόμενων VLDL σε TG και στο μέσο χρόνο παραμονής (MRT) των VLDL-TG στην κυκλοφορία του αίματος (N = 26).

Ένζυμα μεταβολισμού λιπιδίων στο αίμα

Οι συγκεντρώσεις της LPL, της HL και της CETP δε διέφεραν ανάμεσα στα δύο φύλα, αλλά η συγκέντρωση της LCAT ήταν σημαντικά χαμηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5.5).

Πίνακας 5.5.5. Συγκεντρώσεις ενζύμων μεταφοράς λιπιδίων στο πλάσμα στους άνδρες και τις γυναίκες.

		Άνδρες	Γυναίκες	Τιμή P
LPL	(ng/ml)	34 (21 - 54)	36 (28 - 46)	0,822
HL	(ng/ml)	6,4 ± 4,0	6,3 ± 4,1	0,957
LCAT	(μg/ml)	584 ± 66	507 ± 89	0,029
CETP	(μg/ml)	195 ± 90	178 ± 35	0,545

Οι τιμές για τις HL, LCAT και CETP παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD, ενώ αυτές για την LPL παρουσιάζονται ως μέσοι και 95%CI (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε μετά από λογαριθμική μετατροπή των τιμών). LPL: λιποπρωτεϊνική λιπάση, HL: ηπατική λιπάση, LCAT: ακυλο-τρανσφεράση της λεκιθίνης-χοληστερόλης, CETP: μεταφορική πρωτεΐνη εστέρων χοληστερόλης.

NMR των VLDL

Οι συγκεντρώσεις των VLDL σωματιδίων καθώς και των υποπληθυσμών VLDL διαφορετικού μεγέθους (μεγάλης, μεσαίας και μικρής διαμέτρου) ήταν σημαντικά χαμηλότερες στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες (Πίνακας 5.5.6). Η μέση διάμετρος των VLDL, όμως, δεν ήταν διαφορετική (άνδρες: $47,4 \pm 4,6$ nm και γυναίκες: $47,0 \pm 3,7$ nm, $P = 0,819$).

Πίνακας 5.5.6. Συγκεντρώσεις VLDL σωματιδίων στους άνδρες και τις γυναίκες.

		Άνδρες	Γυναίκες	Τιμή P
VLDL	(nmol/L)	$51,7 \pm 7,3$	$35,6 \pm 10,6$	< 0,001
Μεγάλα	(nmol/L)	0,77 (0,45 - 1,30)	0,32 (0,18 - 0,55)	0,020
Μεσαία	(nmol/L)	$17,7 \pm 2,5$	$10,7 \pm 6,9$	0,006
Μικρά	(nmol/L)	$33,0 \pm 6,9$	$24,4 \pm 8,4$	0,014

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD, πλην των συγκεντρώσεων VLDL μεγάλης διαμέτρου, οι οποίες παρουσιάζονται ως μέσοι και 95%CI (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε μετά από λογαριθμική μετατροπή των τιμών). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες οφείλεται σε ταχύτερη απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία, η οποία και αντισταθμίζει την αυξημένη παραγωγή τους από το ήπαρ. Αυτό ενδέχεται να είναι αποτέλεσμα της έκκρισης VLDL σωματιδίων από το ήπαρ των γυναικών τα οποία είναι πλουσιότερα σε TG και κατά συνέπεια μεγαλύτερα σε μέγεθος από αυτά που παράγονται από το ήπαρ των ανδρών και τα οποία έχουν μεγαλύτερη χημική συγγένεια και πιθανό να υδρολύονται ταχύτερα από την LPL των περιφερειακών ιστών. Για το λόγο αυτό, το μέσο μέγεθος των VLDL στη συστηματική κυκλοφορία δε διαφέρει μεταξύ των δύο φύλων.
2. Η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-apoB-100 στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες οφείλεται σε μειωμένη παραγωγή τους από το ήπαρ, χωρίς σημαντικές διαφορές στην απομάκρυνση των VLDL σωματιδίων από την κυκλοφορία. Σε σχέση με τους άνδρες, οι

γυναίκες έχουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις VLDL σωματιδίων όλων των μεγεθών.

3. Οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στους γνωστούς παράγοντες που θεωρούνται σημαντικοί για τη ρύθμιση της ηπατικής παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100, όπως η διαθεσιμότητα FFA και η ινσουλινοαντίσταση, δε μπορούν να εξηγήσουν τις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL. Αυτό υποδηλώνει αφενός ότι τα FFA του πλάσματος και η ευαισθησία στην ινσουλίνη δεν έχουν πρωταρχικό ρόλο στη ρύθμιση της έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 και, αφετέρου, ότι η παραγωγή των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 από το ήπαρ είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες διαδικασίες.
4. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, σε συνδυασμό με αυτά από τις ΜΕΛΕΤΕΣ #2, #3 και #4, υποδεικνύουν ότι οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 δεν οφείλονται στις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου αυτές καθεαυτές. Είναι, λοιπόν, πιθανό άλλοι παράγοντες να είναι πρωταρχικής σημασίας για τη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL.

Συζήτηση

Τα δεδομένα από την παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο μεταβολισμό των VLDL. Η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες οφείλεται στον υψηλότερο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία, που υπερκεράζει τον επίσης αυξημένο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ. Αντίθετα, η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-apoB-100 οφείλεται αποκλειστικά και μόνο σε ελαττωμένο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες. Ο μεγαλύτερος γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 στις γυναίκες συνιστά ότι το ήπαρ των γυναικών παράγει σωματίδια VLDL τα οποία είναι πλουσιότερα σε TG – και άρα είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος – από τις VLDL που παράγει το ήπαρ των ανδρών. Αυτό το γεγονός αποτελεί ένα πιθανό μηχανισμό για την αυξημένη κάθαρση VLDL-TG και για το συντομότερο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία των γυναικών, γιατί αποτελέσματα από μελέτες *in vitro* και *in vivo* *in* σε πειραματόζωα και ανθρώπους αναφέρουν ότι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL (στις γυναίκες) είναι πιο αποτελεσματική και ταχύτερη από

ό,τι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα μικρών και φτωχών σε TG σωματιδίων VLDL (στους άνδρες) [108,335,336, 337].

Τα αποτελέσματα από αυτήν τη μελέτη υποδηλώνουν ότι η σχέση ανάμεσα στους ρυθμούς έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ κατά το μεταπορροφητικό στάδιο διαφέρει μεταξύ των δύο φύλων. Διάσταση ανάμεσα στην ηπατική παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 έχει αναφερθεί προηγουμένως από άλλους ερευνητές, ύστερα από διάφορες φυσιολογικές παρεμβάσεις, όπως π.χ. η κατανάλωση μιας δίαιτας πλούσιας σε υδατάνθρακες [165], η απώλεια βάρους [121,122] και η πειραματική αύξηση της διαθεσιμότητας FFA στο πλάσμα [286]. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, οι προκαλούμενες μεταβολές στο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ δεν συνεπάγονταν αντίστοιχες αλλαγές στο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 και αντίστροφα [121,122,165,286]. Καθίσταται, επομένως, προφανές ότι διαφορετικοί φυσιολογικοί μηχανισμοί πρέπει να είναι υπεύθυνοι για τη ρύθμιση της έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ, οι οποίες – ως εκ τούτου – είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες η μία από την άλλη. Αυτή η μεταβολική ευλυγισία ενδέχεται να παρέχει ένα μηχανισμό που να επιτρέπει στο ήπαρ να διαχειρίζεται με ασφάλεια την αυξημένη εισροή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία ή από άλλες πηγές (π.χ. από τις ενδοηπατικές αποθήκες λίπους), μεταβάλλοντας αντίστοιχα το περιεχόμενο σε TG (αλλά όχι τον αριθμό) των εκκρινόμενων VLDL. Αυτή η λειτουργία έχει μεγάλη φυσιολογική σημασία, καθώς η περίσσεια λιπαρών οξέων είναι τοξική για τον οργανισμό και η παραγωγή TG από το ήπαρ είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος με τον οποίο εξουδετερώνονται τα πλεονάζοντα λιπαρά οξέα και διαμοιράζονται με ασφάλεια στους περιφερειακούς ιστούς [351]. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που υποδεικνύει ότι ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 είναι μεγαλύτερος στις νορμοβαρείς γυναίκες από ότι στους νορμοβαρείς άνδρες, υποδηλώνοντας ότι οι VLDL που παράγει το ήπαρ των γυναικών είναι πλουσιότερες σε TG και μεγαλύτερες σε μέγεθος από τις VLDL που παράγει το ήπαρ των ανδρών. Αν και δεν αξιολογήθηκαν ξεχωριστά οι υποπληθυσμοί των VLDL σωματιδίων (π.χ. VLDL1 που είναι μεγάλα και πλούσια σε TG και VLDL2 που είναι μικρά και φτωχά σε TG), το μεγαλύτερο, αν όχι όλο, το μέρος της επιπλέον παραγωγής VLDL-TG στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες θα πρέπει να οφείλεται σε αυξημένο περιεχόμενο των VLDL1 σε TG, παρά σε αυξημένο αριθμό σωματιδίων VLDL1, διότι η πλειοψηφία των VLDL-TG (~90%) και της VLDL-apoB-100 (60-80%) εκκρίνεται υπό τη μορφή VLDL1 [152,352] και στην παρούσα μελέτη, το ήπαρ των γυναικών παρήγαγε συνολικά μικρότερο αριθμό σωματιδίων VLDL (VLDL1 και VLDL2) από όσα το ήπαρ των ανδρών. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με τις παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο μέγεθος των σωματιδίων VLDL

(μεγαλύτερο στα θηλυκά) που παράγονται από το ήπαρ των τρωκτικών *in vivo* [353] και *ex vivo* [354,355].

Τα δεδομένα κινητικής από την παρούσα μελέτη συνιστούν ότι οι νορμοβαρείς γυναίκες εκκρίνουν μεγαλύτερα και πλουσιότερα σε TG σωματίδια VLDL από τους νορμοβαρείς άνδρες. Ωστόσο, η μέση διάμετρος των VLDL στη συστηματική κυκλοφορία δε διέφερε, σε συμφωνία με ορισμένες πληθυσμιακές μελέτες [356] αλλά όχι με άλλες [23,24,357], που μάλιστα έχουν δείξει ότι το μέσο μέγεθος των VLDL στη συστηματική κυκλοφορία είναι μικρότερο στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι απαραίτητως αντικρουόμενα. Το μέσο μέγεθος των VLDL στη συστηματική κυκλοφορία αντανακλά κάθε στιγμή την ισορροπία μεταξύ του αριθμού και του περιεχομένου σε TG των VLDL που εκκρίνονται από το ήπαρ και του ρυθμού απομάκρυνσης TG από τον πυρήνα των κυκλοφορούντων VLDL μέσω λιπόλυσης από την LPL, ουδέτερης μεταφοράς λιπιδίων με άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. HDL), μετατροπή του σωματιδίου VLDL σε μικρότερες λιποπρωτεΐνες (π.χ. IDL και LDL) και άμεση πρόσληψη του σωματιδίου VLDL από ιστούς μέσω υποδοχέων. Με βάση τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη, το μέσο μέγεθος των κυκλοφορούντων VLDL μπορεί να είναι ίδιο [356] ή και μικρότερο [23,24,357] στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες όχι γιατί το ήπαρ των γυναικών παράγει εξ αρχής VLDL με ίδιο ή μικρότερο μέγεθος, αλλά λόγω του σημαντικά αυξημένου ρυθμού απομάκρυνσης VLDL-TG από τον πυρήνα των κυκλοφορούντων VLDL στις γυναίκες, όπως φαίνεται από την παρούσα μελέτη αλλά και από τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών [138,139,163], που τουλάχιστον εν μέρει οφείλεται στην έκκριση μεγαλύτερων και πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL από το ήπαρ. Η ισχυρή αρνητική σχέση ανάμεσα στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανακλά το περιεχόμενο των νεο-εκκρινόμενων VLDL σε TG και το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία στηρίζει αυτήν την υπόθεση. Μελέτες *in vitro* και *in vivo* σε πειραματόζωα και ανθρώπους έχουν δείξει ότι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL είναι πιο αποτελεσματική και ταχύτερη από ό,τι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα μικρών και φτωχών σε TG σωματιδίων VLDL [108,335,336,337].

Πιθανές διαφορές στη δραστηριότητα της LPL επίσης ενδέχεται να ευθύνονται μερικώς για τις διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο ρυθμό κάθαρσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία. Αν και στην παρούσα μελέτη η συγκέντρωση της LPL στο πλάσμα δεν ήταν διαφορετική, άλλοι ερευνητές έχουν αναφέρει ότι η δραστηριότητα της LPL που απελευθερώνεται μετά από

κατεργασία με ηπαρίνη (μέτρηση που αποτελεί δείκτη της λιπολυτικά ενεργής LPL που βρίσκεται στο αγγειακό ενδοθήλιο και όχι της λιπολυτικά ανενεργής LPL που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα) τόσο στο λιπώδη ιστό [358,359,360, 361] όσο και το σκελετικό μυ [362] είναι υψηλότερη στις νορμοβαρείς γυναίκες από ό,τι στους νορμοβαρείς άνδρες. Επιπρόσθετα, δε μπορεί να αποκλειστεί με βεβαιότητα η πιθανότητα ότι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο ρυθμό της ουδέτερης μεταφοράς λιπιδίων στο πλάσμα, όπου TG από τον πυρήνα των VLDL μεταφέρονται προς άλλες λιποπρωτεΐνες (κυρίως την HDL αλλά και την LDL) σε ανταλλαγή με εστέρες χοληστερόλης, μπορούν να συμβάλλουν και αυτές στις διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στο ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG. Ωστόσο, μια πιθανή εντονότερη ουδέτερη μεταφορά λιπιδίων στις γυναίκες θα προκαλούσε εμπλουτισμό των HDL σε TG, με συνέπεια τη γρηγορότερη κάθαρση των HDL σωματιδίων και την ελάττωση της HDL-χοληστερόλης στο πλάσμα [41, 363], κάτι που είναι ασύμβατο με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις της HDL-χοληστερόλης που παρατηρούνται τυπικά στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες [22,23,24]. Το γεγονός ότι η συγκέντρωση της LCAT ήταν χαμηλότερη και η συγκέντρωση της CETP δεν ήταν διαφορετική μεταξύ ανδρών και γυναικών στην παρούσα μελέτη (τα ένζυμα αυτά εμπλέκονται στην ουδέτερη μεταφορά λιπιδίων), καθώς και ο συντομότερος μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία στις γυναίκες, συνιστούν ότι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα των VLDL μέσω αυτού του μονοπατιού όχι μόνο δεν ήταν διαφορετική, αλλά ίσως μάλιστα να ήταν λιγότερο έντονη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες.

Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για τις διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στους ρυθμούς έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 δεν είναι ξεκάθαροι. Η διαθεσιμότητα FFA και ινσουλίνης θεωρούνται ως οι κυριότεροι ρυθμιστικοί παράγοντες της παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [281,312]. Για παράδειγμα, η αύξηση της συγκέντρωσης των FFA στο πλάσμα (μέσω έγχυσης ενός παρεντερικού διαλύματος συνθετικών TG σε συνδυασμό με ηπαρίνη) διεγείρει, ενώ η έγχυση ινσουλίνης καταστέλλει, τόσο την έκκριση VLDL-TG όσο και VLDL-apoB-100 [286]. Σε αυτήν τη μελέτη, οι γυναίκες έτειναν να έχουν υψηλότερη συγκέντρωση FFA στο πλάσμα από τους άνδρες και είχαν σημαντικά υψηλότερο ρυθμό εμφάνισης FFA ανά μονάδα πλάσματος, ανά κιλό σωματικού βάρους και ανά κιλό άλιπης μάζας, γεγονός που μάλλον υποδηλώνει υψηλότερη διαθεσιμότητα FFA από τη συστηματική κυκλοφορία προς το ήπαρ. Αυτό ενδεχομένως να σχετίζεται με τον υψηλότερο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG αλλά δε μπορεί να εξηγήσει το χαμηλότερο ρυθμό έκκρισης VLDL-apoB-100 στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Αν και οι ρυθμοί οξείδωσης λιπαρών οξέων δεν προσδιορίστηκαν, άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι ο ρυθμός οξείδωσης λίπους σε ολόκληρο το σώμα ή και ανά κιλό σωματικού βάρους ή άλιπης μάζας δε διαφέρει μεταξύ ανδρών και

γυναικών ή είναι χαμηλότερος στις γυναίκες [364]. Το εύρημα αυτό συνιστά ότι η μη οξειδωτική διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων (δηλαδή, η διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων για μεταβολικές πορείες εκτός της οξείδωσης, όπως είναι για παράδειγμα η εστεροποίηση προς σχηματισμό TG) είναι μεγαλύτερη στις γυναίκες. Επομένως, είναι μάλλον απίθανο η περίσσεια των FFA στις γυναίκες να εξουδετερώνεται στο ήπαρ μέσω οξείδωσης. Επιπλέον, αν και τυπικά, οι γυναίκες έχουν πολύ λιγότερο ενδοκοιλιακό λίπος από τους άνδρες [365], η παραγωγή VLDL-TG από μη συστηματικά λιπαρά οξέα (που προέρχονται εν μέρει από τη λιπόλυση των TG του σπλαχνικού λίπους) ήταν πολύ υψηλότερη στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Συνολικά, τα δεδομένα αυτά έρχονται σε αντίθεση με την πεποίθηση ότι η διαθεσιμότητα FFA είναι ένας σημαντικός παράγοντας που ρυθμίζει την παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ [281, 285, 286, 312, 366], αλλά βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματα από πολλές μελέτες που δε βρήκαν κάποια σχέση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA και τους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG [182, 352, 367, 368, 369] και VLDL-apoB-100 [370, 371] από το ήπαρ. Επίσης, είναι μάλλον απίθανο διαφορές μεταξύ των φύλων στην ινσουλινοευαισθησία να ευθύνονται για τις διαφορές στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, καθώς η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα και η ινσουλινοαντοχή σε ολόκληρο το σώμα (δείκτης HOMA) δε διέφεραν ανάμεσα στους άνδρες και τις γυναίκες της παρούσας μελέτης. Αν και δε μπορούν να αποκλειστούν πιθανές διαφορές στην ινσουλινοευαισθησία του ήπατος συγκεκριμένα, η ινσουλίνη έχει αποδειχθεί ότι καταστέλλει τόσο την έκκριση VLDL-TG όσο και VLDL-apoB-100 in vivo [286], ενώ ο ρυθμός έκκρισης VLDL-TG ήταν υψηλότερος και ο ρυθμός έκκρισης VLDL-apoB-100 ήταν χαμηλότερος στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες.

Η απουσία ξεκάθαρων διαφορών μεταξύ των δύο φύλων σε γνωστές παραμέτρους (FFA και ινσουλίνη) που θεωρούνται ότι ρυθμίζουν την έκκριση VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ και η αδυναμία τους να εξηγήσουν τις παρατηρούμενες διαφορές στο μεταβολισμό των VLDL μεταξύ ανδρών και γυναικών παραπέμπουν στις βασικές ορμόνες του φύλου ως πιθανώς υπεύθυνες. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των ΜΕΛΕΤΩΝ #2, #3 και #4 δε στηρίζουν αυτήν την πιθανότητα. Οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δε σχετίζονται με αλλαγές στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3), ενώ η «χρόνια» απουσία ορμονών του φύλου στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG αλλά αμετάβλητο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 (ΜΕΛΕΤΗ #4). Ενώ αντίθετα, στην παρούσα μελέτη, η χρόνια απουσία οιστραδιόλης και προγεστερόνης στους άνδρες σχετίστηκε με μειωμένο ρυθμό παραγωγής

VLDL-TG και αυξημένο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100. Το μέγεθος των διαφορών στη συγκέντρωση της τεστοστερόνης μεταξύ ανδρών και γυναικών και μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών επίσης δε συμβαδίζουν με το μέγεθος των αντίστοιχων διαφορών στους ρυθμούς έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100. Είναι επομένως πιθανό άλλοι παράγοντες, οι οποίοι ενδεχομένως να σχετίζονται με βαθμιαίες κυτταρικές ή μεταβολικές προσαρμογές στο χρόνια διαφορετικό ορμονικό περιβάλλον, να ευθύνονται εν μέρει για τις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL. Αυτή η πιθανότητα διαφαίνεται από τα ευρήματα πολλών *in vitro* μελετών σε τρωκτικά, που εξέτασαν απομονωμένο ηπατικό ιστό: το απομονωμένο ήπαρ θηλυκών ζώων παράγει περισσότερα VLDL-TG από όσα το ήπαρ αρσενικών ζώων ακόμα και όταν το ορμονικό και μεταβολικό περιβάλλον είναι το ίδιο [354,355,372,373]. Ακόμα, η γονιδιακή έκφραση ηπατικών ενζύμων που εμπλέκονται στην ενδοκυτταρική σύνθεση λιπαρών οξέων και TG είναι αυξημένη, ενώ η έκφραση αυτών που εμπλέκονται στην οξείδωση λιπαρών οξέων είναι μειωμένη, σε δείγματα ήπατος από θηλυκά σε σχέση με αρσενικά ζώα [374,375,376].

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη διαλευκάνουν τους μεταβολικούς εκείνους μηχανισμούς που ευθύνονται για τις διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στις συγκεντρώσεις VLDL-TG και VLDL-apoB-100 που παρατηρούνται συχνά σε υγιή, νορμοβαρή άτομα. Η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία που αντισταθμίζει τον αυξημένο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ, ενώ η χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-apoB-100 στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες οφείλεται σε μειωμένο ρυθμό έκκρισης VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Η παραγωγή πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL από τις γυναίκες ενδέχεται να ευθύνεται για την πιο αποτελεσματική απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία. Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ δε μπορούν να εξηγηθούν εύκολα από τη διαθεσιμότητα FFA, την ινσουλινοευαισθησία, ή την άμεση δράση των βασικών ορμονών του φύλου, υποδηλώνοντας ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών σε ρυθμιστικούς παράγοντες εγγενείς στο ήπαρ.

5.6 Μελέτη #6

Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες

Η παρούσα εργασία δημοσιεύτηκε ως:

Magkos F, Wright DC, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer B. Lipid metabolism response to a single, prolonged bout of endurance exercise in healthy young men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 2006, **290** (2): E355-362.

Εισαγωγή

Αυξημένες συγκεντρώσεις TG στο αίμα, όπως για παράδειγμα παρατηρούνται στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες [23,24], τις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [167] και τα παχύσαρκα σε σχέση με τα νορμοβαρή άτομα [377], σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων [20,21]. Η αερόβια άσκηση οδηγεί σε ελάττωση της συγκέντρωσης των TG νηστείας, γεγονός που ενδέχεται να έχει καρδιοπροστατευτική επίδραση [28,378,379,380]. Πολλά δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι η υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά στην τελευταία συνεδρία άσκησης και δεν είναι αποτέλεσμα επαναλαμβανόμενων συνεδριών, δηλαδή προπόνησης [222,381]. Πλήθος μελετών έχουν δείξει ότι μία συνεδρία άσκησης σε μέτρια ένταση μειώνει τη συγκέντρωση των TG νηστείας κατά 20-40% περίπου 12 ώρες μετά το τέλος της άσκησης και η επίδραση αυτή διαρκεί για περίπου 2 ημέρες [32, 34,236,237,382,383]. Η μείωση της συγκέντρωσης των ολικών TG στο αίμα μετά την άσκηση οφείλεται σχεδόν εξολοκλήρου σε μείωση της συγκέντρωσης των VLDL-TG [32,33, 34,35,36,37].

Ο μηχανισμός με τον οποίο η άσκηση προκαλεί ελάττωση της συγκέντρωσης των VLDL-TG δεν είναι γνωστός. Οι περισσότεροι ερευνητές θεωρούν ότι η άσκηση οδηγεί σε αυξημένη ενδοαγγειακή λιπόλυση των VLDL-TG, ως αποτέλεσμα αυξημένης δραστηριότητας της LPL στο σκελετικό μυ μετά την άσκηση, γεγονός που αναμένεται να επιταχύνει την απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία [32,223,224,225,226,227,230]. Ωστόσο, ενδείξεις από

ορισμένες μελέτες σε ανθρώπους [37,238,384] καθώς και δεδομένα από μελέτες σε πειραματόζωα [246,247,248] κάνουν άλλους να προτείνουν ότι η υποτριγλυκεριδαιμία της άσκησης οφείλεται σε μειωμένη έκκριση VLDL-TG από το ήπαρ. Είναι, επίσης, πιθανό να λειτουργούν ταυτόχρονα και οι δύο παραπάνω μηχανισμοί [229,384].

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση του μηχανισμού μέσω του οποίου μία συνεδρία άσκησης μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας οδηγεί σε ελάττωση της συγκέντρωσης των VLDL-TG στο αίμα.

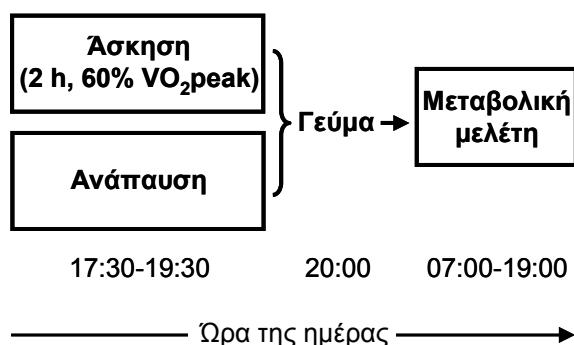
Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 7 υγιείς, νορμοβαρείς άνδρες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.1), καθένας από τους οποίους πραγματοποίησε δύο δοκιμές σε τυχαιοποιημένη σειρά: μία δοκιμή με άσκηση το προηγούμενο απόγευμα και μία δοκιμή με ανάπαυση κατά την αντίστοιχη χρονική περίοδο (ΕΙΚΟΝΑ 5.6.1). Η άσκηση περιελάμβανε ποδηλασία σε στατικό ημικλινές κυκλοεργόμετρο για 2 h στο 60% της VO_2peak .

Πίνακας 5.6.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντών (N = 7).

Ηλικία	(έτη)	28 ± 6
Βάρος	(kg)	71 ± 10
Ύψος	(cm)	180 ± 5
BMI	(kg/m^2)	$21,9 \pm 1,9$
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	14 ± 4
Λιπώδης μάζα	(kg)	10 ± 4
Άλιπη μάζα	(kg)	61 ± 8
VO_2peak	(L/min)	$3,35 \pm 0,81$
	($\text{ml}/\text{kg} \cdot \text{min}$)	47 ± 12

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος, VO_2peak : μέγιστη προσληψη οξυγόνου.



Εικόνα 5.6.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Αποτελέσματα

Άσκηση

Οι εθελοντές ποδηλάτησαν έναντι αντίστασης 117 ± 32 W, με μέση VO_2 ίση με $2,02 \pm 0,45$ L/min, η οποία αντιστοιχούσε στο $61 \pm 9\%$ της $\text{VO}_{2\text{peak}}$. Η ολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης ήταν 1.206 ± 261 kcal.

Ενεργειακός μεταβολισμός

Η πρόσληψη οξυγόνου και ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας ήταν σημαντικά αυξημένοι το πρωί μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, ενώ η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα έτεινε να είναι υψηλότερη και το αναπνευστικό πηλίκο ήταν σημαντικά μειωμένο (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.2). Επομένως, ο ρυθμός οξείδωσης λίπους ήταν σημαντικά υψηλότερος και ο ρυθμός οξείδωσης υδατανθράκων έτεινε να είναι χαμηλότερος μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.2).

Πίνακας 5.6.2. Έμμεση θερμιδομετρία το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
VO_2	(ml/min)	222 ± 29	244 ± 33	0,019
VCO_2	(ml/min)	176 ± 20	185 ± 22	0,093
RQ		$0,79 \pm 0,04$	$0,76 \pm 0,03$	0,050
RMR	(kcal/min)	$1,06 \pm 0,14$	$1,15 \pm 0,15$	0,022
FOX	(mg/min)	59 ± 20	81 ± 20	0,023
CHOX	(mg/min)	58 ± 35	33 ± 21	0,098

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. VO_2 : ρυθμός πρόσληψης οξυγόνου, VCO_2 : ρυθμός παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, RQ: αναπνευστικό πηλίκο, RMR: μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας, FOX: ρυθμός οξείδωσης λίπους, CHOX: ρυθμός οξείδωσης υδατανθράκων.

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Οι συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα ήταν σημαντικά μειωμένες μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.3) και, ως αποτέλεσμα, ο δείκτης HOMA ήταν ελαττωμένος κατά περίπου 35% (άσκηση: $0,50 \pm 0,10$ και ανάπαυση: $0,83 \pm 0,32$, $P = 0,019$). Η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερη το πρωί μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση, ενώ οι συγκεντρώσεις TG και apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL ήταν σημαντικά χαμηλότερες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.3).

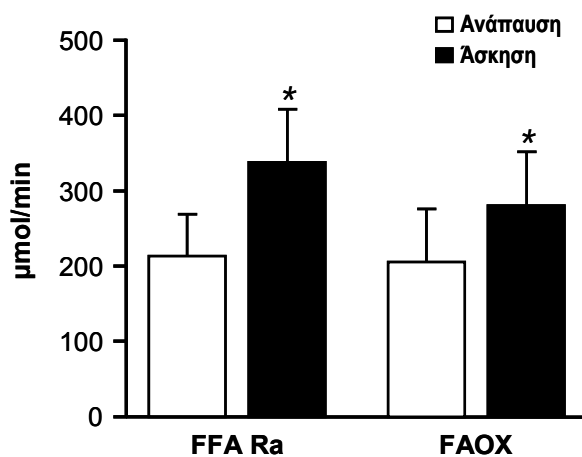
Πίνακας 5.6.3. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	$4,8 \pm 0,4$	$4,5 \pm 0,4$	0,001
Ινσουλίνη	(pmol/L)	23 ± 8	15 ± 2	0,028
FFA	(μ mol/L)	330 ± 84	513 ± 159	0,021
Ολικά TG	(mmol/L)	$0,69 \pm 0,13$	$0,54 \pm 0,08$	0,007
VLDL-TG	(mmol/L)	$0,35 \pm 0,10$	$0,23 \pm 0,08$	0,018
Ολική apoB-100	(μ mol/L)	$1,27 \pm 0,28$	$1,13 \pm 0,23$	0,035
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	54 ± 17	39 ± 13	0,011

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA, VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα ήταν υψηλότερος κατά περίπου 65% μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση ($P = 0,002$) και το μέγεθος αυτής της αύξησης ήταν αρκετά μεγαλύτερο από το μέγεθος της αύξησης στο ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων (περίπου 40%, $P = 0,023$, ΕΙΚΟΝΑ 5.6.2).



Εικόνα 5.6.2. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA Ra) στο πλάσμα και ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων (FAOX) το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της $\dot{V}O_{2peak}$) ή ανάπαυσης. Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * $P < 0,05$ έναντι της ανάπαυσης.

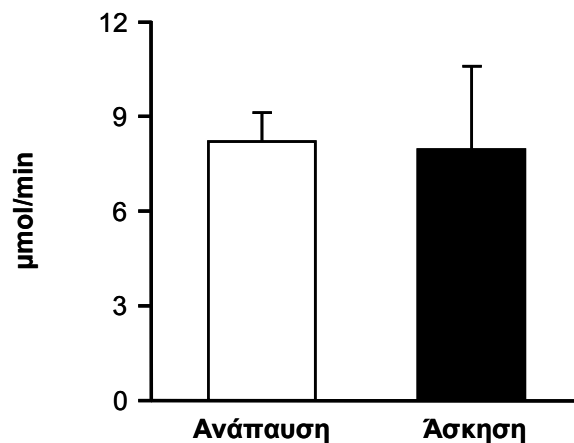
Ο FTR των VLDL-TG ήταν σημαντικά υψηλότερος μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση ($0,636 \pm 0,197$ έναντι $0,441 \pm 0,080$ δεξαμενές/h, αντίστοιχα, $P = 0,008$), ενώ ο FTR της VLDL-apoB-100 δεν ήταν διαφορετικός (άσκηση: $0,381 \pm 0,099$ δεξαμενές/h και ανάπαυση: $0,348 \pm 0,091$ δεξαμενές/h, $P = 0,270$).

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ δε διέφερε μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση ($P = 0,786$, ΕΙΚΟΝΑ 5.6.3). Η άσκηση δεν επηρέασε τη σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (άσκηση: $68 \pm 7\%$ και ανάπαυση: $76 \pm 13\%$, $P = 0,124$) και από μη συστηματικές πηγές (άσκηση: $32 \pm 7\%$ και ανάπαυση: $24 \pm 13\%$, $P = 0,124$) στην παραγωγή VLDL-TG, ούτε τους απόλυτους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG από συστηματικές (άσκηση: $5,5 \pm 1,9$ $\mu\text{mol/min}$ και ανάπαυση: $6,3 \pm 1,5$ $\mu\text{mol/min}$, $P = 0,388$) και μη συστηματικές (άσκηση: $2,5 \pm 0,9$ $\mu\text{mol/min}$ και ανάπαυση: $1,9 \pm 1,0$ $\mu\text{mol/min}$, $P = 0,213$) πηγές λιπαρών οξέων.

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ ήταν σημαντικά μειωμένος το πρωί μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση ($P = 0,016$, ΕΙΚΟΝΑ 5.6.3).

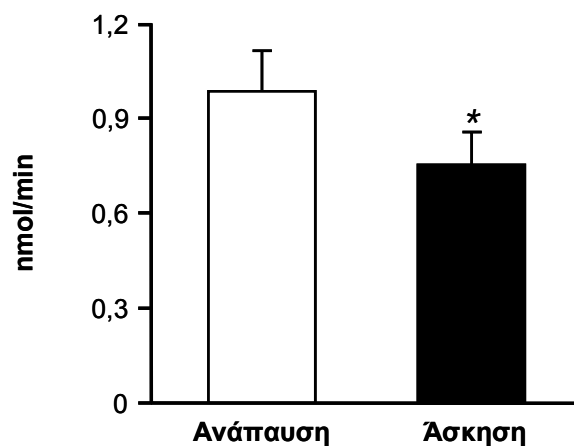
Ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανakλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, ήταν κατά περίπου 25% μεγαλύτερος μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, αλλά η διαφορά αυτή δεν έφτασε σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ($P = 0,169$, ΕΙΚΟΝΑ 5.6.3). Με βάση τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #1, η παρούσα μελέτη δεν είχε επαρκή δύναμη για να εντοπίσει διαφορές στο γραμμομοριακό λόγο των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 μικρότερες του ~40%. Για τον εντοπισμό μιας διαφοράς της τάξης του 25%, θα χρειαζόταν δείγμα περίπου 17 ατόμων.

Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG

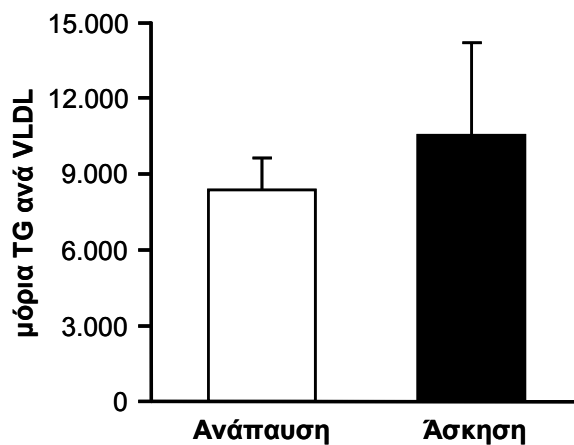


Εικόνα 5.6.3. Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG (επάνω) και VLDL-apoB-100 (μέσο) από το ήπαρ και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100 (κάτω) το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της $VO_2\text{peak}$) ή ανάπαυσης. Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * $P < 0,05$ έναντι της ανάπαυσης. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100

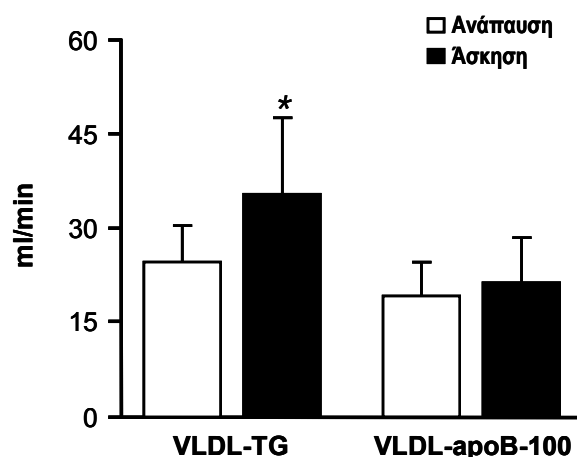


Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100



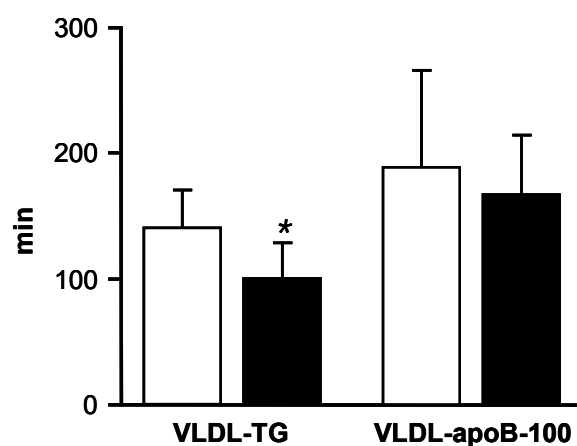
Ο ρυθμός κάθαρσης των VLDL-TG ήταν σημαντικά υψηλότερος ($P = 0,009$) και ο MRT των VLDL-TG ήταν σημαντικά μειωμένος ($P < 0,001$) μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση, ενώ ο ρυθμός κάθαρσης ($P = 0,232$) και ο MRT ($P = 0,249$) της VLDL-apoB-100 δε διέφεραν (ΕΙΚΟΝΑ 5.6.4).

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος



Εικόνα 5.6.4. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης. Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * $P < 0,05$ έναντι της ανάπαυσης. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία



Ένζυμα μεταβολισμού λιπιδίων στο αίμα

Η συγκέντρωση της LPL στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερη μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, ενώ η συγκέντρωση της LCAT ήταν σημαντικά χαμηλότερη και οι συγκεντρώσεις των HL και CETP δε διέφεραν (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.4).

NMR λιποπρωτεϊνών

Η συγκέντρωση των VLDL σωματιδίων μετά την άσκηση ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ό,τι μετά την ανάπαυση και αυτό οφειλόταν αποκλειστικά και μόνο σε μειωμένη συγκέντρωση των

VLDL μέσης διαμέτρου (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.5). Η συγκέντρωση IDL σωματιδίων στο πλάσμα, ωστόσο, ήταν περίπου διπλάσια μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, ενώ οι συγκεντρώσεις LDL και HDL σωματιδίων δεν ήταν διαφορετικές (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.5).

Η μέση διάμετρος των VLDL (άσκηση: $46,2 \pm 3,3$ nm και ανάπαυση: $47,8 \pm 4,9$ nm, $P = 0,252$), των LDL (άσκηση: $21,2 \pm 0,4$ nm και ανάπαυση: $21,2 \pm 0,1$ nm, $P = 0,789$) και των HDL (άσκηση: $9,1 \pm 0,4$ nm και ανάπαυση: $9,0 \pm 0,3$ nm, $P = 0,265$) δεν επηρεάστηκαν από την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση.

Πίνακας 5.6.4. Συγκεντρώσεις ενζύμων μεταφοράς λιπιδίων στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
LPL	(ng/ml)	38 (21 - 66)	41 (24 - 70)	0,029
HL	(ng/ml)	$4,9 \pm 2,9$	$4,3 \pm 2,0$	0,277
LCAT	(μg/ml)	635 ± 58	567 ± 49	0,022
CETP	(μg/ml)	228 ± 22	212 ± 39	0,107

Οι τιμές για τις HL, LCAT και CETP παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD, ενώ αυτές για την LPL παρουσιάζονται ως μέσοι και 95%CI (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε μετά από λογαριθμική μετατροπή των τιμών). LPL: λιποπρωτεϊνική λιπάση, HL: ηπατική λιπάση, LCAT: ακυλο-τρανσφεράση της λεκιθίνης-χοληστερόλης, CETP: μεταφορική πρωτεΐνη εστέρων χοληστερόλης.

Πίνακας 5.6.5. Συγκεντρώσεις λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
VLDL	(nmol/L)	$52,0 \pm 8,1$	$41,0 \pm 7,6$	0,016
Μεγάλα	(nmol/L)	$1,1 \pm 1,0$	$0,7 \pm 0,5$	0,300
Μεσαία	(nmol/L)	$17,3 \pm 2,4$	$8,2 \pm 4,1$	0,003
Μικρά	(nmol/L)	$33,6 \pm 7,5$	$32,0 \pm 8,1$	0,543
IDL	(nmol/L)	$23,6 \pm 18,8$	$39,6 \pm 21,4$	0,036
LDL	(nmol/L)	773 ± 169	750 ± 127	0,611
Μεγάλα	(nmol/L)	316 ± 59	329 ± 92	0,501
Μικρά	(nmol/L)	457 ± 115	421 ± 122	0,556
HDL	(μmol/L)	$23,3 \pm 3,4$	$23,7 \pm 4,1$	0,618
Μεγάλα	(μmol/L)	$4,8 \pm 1,9$	$4,9 \pm 2,0$	0,288
Μεσαία	(μmol/L)	$1,4 \pm 1,4$	$1,5 \pm 1,0$	0,811
Μικρά	(μmol/L)	$17,1 \pm 3,7$	$17,2 \pm 3,3$	0,899

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, IDL: λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας, LDL: λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας, HDL: λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας.

Αυξητική ορμόνη, κυτοκίνες και αντιποκίνες

Η συγκέντρωση της CRP ήταν σχεδόν τριπλάσια το πρωί μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση, ενώ οι συγκεντρώσεις της αυξητικής ορμόνης, της λεπτίνης, της αντιπονεκτίνης (συνολική και HMW), του TNF-α και της IL-6 δεν ήταν διαφορετικές (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.6.6).

Πίνακας 5.6.6. Συγκεντρώσεις αυξητικής ορμόνης, κυτοκινών και αντιποκινών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (2 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
Αυξητική ορμόνη	(pg/ml)	76 (24 - 240)	118 (23 - 611)	0,330
Λεπτίνη	(ng/ml)	$4,6 \pm 2,0$	$3,6 \pm 1,9$	0,299
Αντιπονεκτίνη	(μg/ml)	$7,9 \pm 2,4$	$7,4 \pm 2,0$	0,198
HMW		$3,2 \pm 1,5$	$2,9 \pm 1,3$	0,143
αντιπονεκτίνη	(μg/ml)			
	(% συνόλου)	39 ± 8	38 ± 9	0,276
CRP	(μg/ml)	0,53 (0,15 - 1,91)	1,53 (0,71 - 3,30)	0,012
TNF-α	(pg/ml)	$0,86 \pm 0,10$	$0,86 \pm 0,11$	0,894
IL-6	(pg/ml)	$0,33 \pm 0,12$	$0,40 \pm 0,08$	0,201

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD, πλην αυτών για την αυξητική ορμόνη και τη CRP, που παρουσιάζονται ως μέσοι και 95%CI (στις περιπτώσεις αυτές, η ανάλυση έγινε μετά από λογαριθμική μετατροπή των τιμών). HMW: υψηλού μοριακού βάρους, CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου, IL: ιντερλευκίνη.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Η μείωση της συγκέντρωσης των VLDL-TG μετά από μία συνεδρία αερόβιας άσκησης οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό κάθαρσης πλάσματος από VLDL-TG, δηλαδή σε αυξημένη απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία. Η μεταφορά TG από τις VLDL προς άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. HDL ή LDL) δε φαίνεται πιθανή.
2. Η άσκηση δεν επηρεάζει το ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ, παρόλο που προκαλεί σημαντική αύξηση στη διαθεσιμότητα των FFA στο πλάσμα, δηλαδή του βασικού

υποστρώματος για σύνθεση VLDL-TG. Ένα μέρος της περίσσειας των FFA οξειδώνονται προς παραγωγή ενέργειας, ενώ τα υπόλοιπα μάλλον χρησιμοποιούνται για την αναπλήρωση των ενδοκυτταρικών αποθηκών TG (π.χ. στο σκελετικό μυ, το ήπαρ) τα οποία και εξαντλήθηκαν από την άσκηση.

3. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης της VLDL-αpoB-100 στο πλάσμα, δηλαδή του αριθμού των VLDL σωματιδίων, η οποία οφείλεται σε ελαττωμένο ρυθμό έκκρισης VLDL-αpoB-100 από το ήπαρ. Αυτό ίσως να σχετίζεται με αυξημένη κατάσταση φλεγμονής στο ήπαρ μετά την άσκηση (όπως υποδηλώνει η αυξημένη συγκέντρωση CRP).
4. Το ήπαρ μετά την άσκηση παράγει τον ίδιο αριθμό TG και μικρότερο αριθμό VLDL σωματιδίων. Αυτό σημαίνει ότι παράγει λιγότερες VLDL σε σχέση με την ανάπαυση, οι οποίες όμως είναι πλουσιότερες σε TG και μάλλον είναι μεγαλύτερες σε μέγεθος. Αυτές οι VLDL έχουν μεγαλύτερη χημική συγγένεια και πιθανό να υδρολύονται ταχύτερα από την LPL των περιφερειακών ιστών, χωρίς να προαπαιτείται σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση της LPL.
5. Η αυξημένη ενδοαγγειακή λιπόλυση των VLDL-TG μετά την άσκηση οδηγεί σε συσσώρευση σωματιδίων IDL στο πλάσμα, πιθανόν διότι τα περαιτέρω βήματα της λιπολυτικού μονοπατιού (π.χ. λιπόλυση των TG στις IDL από την HL προς παραγωγή LDL) δε διεγείρονται σε ανάλογο βαθμό.
6. Άμεσα, λοιπόν, η άσκηση έχει τόσο θετικές (μείωση της συγκέντρωσης των VLDL-TG και της VLDL-αpoB-100, δηλαδή των VLDL σωματιδίων) όσο και αρνητικές (αύξηση της συγκέντρωσης των FFA και των IDL σωματιδίων) επιδράσεις στο λιπιδαιμικό προφίλ σε σχέση με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές νόσους.

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας, που προκάλεσε σημαντική ελάττωση στη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα το επόμενο πρωί, στην κινητική συμπεριφορά των VLDL-TG και της

VLDL-apoB-100, στη διαθεσιμότητα των FFA στο πλάσμα, στον ενεργειακό μεταβολισμό και την οξείδωση υποστρωμάτων, στο λιποπρωτεϊνικό προφίλ και στις συγκεντρώσεις των βασικών ενζύμων του μεταβολισμού των λιπιδίων, σε υγιείς, απροπόνητους νεαρούς άνδρες. Τα πιο σημαντικά ευρήματα μπορούν να συνοψισθούν ως εξής: 1) η άσκηση δεν είχε καμία επίδραση στο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ παρόλη τη σημαντική αύξηση στη διαθεσιμότητα των FFA στο πλάσμα, πιθανόν λόγω της συνακόλουθης αύξησης στο ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων αλλά ίσως και λόγω χρήσης των επιπλέον λιπαρών οξέων για την αναπλήρωση των ενδοκυτταρικών αποθηκών TG στους διάφορους ιστούς, 2) η άσκηση προκάλεσε ελάττωση του ρυθμού έκκρισης VLDL-apoB-100 από το ήπαρ και ως εκ τούτου, οδήγησε σε μείωση του αριθμού των VLDL σωματιδίων στην κυκλοφορία, 3) η άσκηση βελτίωσε σημαντικά την ικανότητα απομάκρυνσης VLDL-TG από το πλάσμα, πιθανόν λόγω αυξημένης δραστηριότητας της LPL, 4) ο ταχύτερος ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG μετά την άσκηση ευθύνεται για τη χαμηλότερη συγκέντρωση TG στο πλάσμα, αλλά δε συνεπάγεται ανάλογη αύξηση στα περαιτέρω βήματα του λιπολυτικού μονοπατιού (π.χ. μετατροπή IDL προς LDL), με αποτέλεσμα τη συσσώρευση IDL στην κυκλοφορία μετά την άσκηση.

Η διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων στο πλάσμα θεωρείται ως ένας από τους κυριότερους ρυθμιστικούς παράγοντες την παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ [281]. Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη, δεν εντοπίστηκε καμία αλλαγή στο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG το πρωί μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, παρόλο που η συγκέντρωση και ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα αυξήθηκαν σε σημαντικό βαθμό και, η αύξηση αυτή δεν αντισταθμίστηκε από ανάλογη αύξηση στο ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων, η οποία ήταν μικρότερου βαθμού. Αν το σύνολο της μη οξειδωτικής διαθεσιμότητας λιπαρών οξέων (δηλαδή, ο ρυθμός εμφάνισης FFA μείον το ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων) κατευθυνόταν προς παραγωγή VLDL-TG, θα προκαλούσε παραπάνω από διπλασιασμό του ρυθμού έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ. Ακόμα και αν η ποσότητα των λιπαρών οξέων που ήταν διαθέσιμα για σύνθεση VLDL-TG μετά την άσκηση ήταν μικρότερη, λαμβάνοντας υπόψη ότι ένα μέρος της περίσσειας των λιπαρών οξέων θα χρησιμοποιούταν από άλλους ιστούς, πλην του ήπατος, ή διότι μπορεί να υπερεκτιμήθηκε η διαφορά μεταξύ του ρυθμού εμφάνισης των FFA και του ρυθμού οξείδωσης των λιπαρών οξέων (λόγω διαφορών στην ακρίβεια μεταξύ της μεθόδου των ιχνηλατών και της μεθόδου της έμμεσης θερμιδομετρίας), θα περίμενε κανείς το μέγεθος της μεταβολής στο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG – αν όντως υπήρχε – να είναι μετρήσιμο. Ακόμα, είναι μάλλον απίθανο η άσκηση να προκάλεσε μια επιλεκτική αναδιανομή στην πρόληψη λιπαρών οξέων του πλάσματος, με περισσότερα λιπαρά οξέα να κατευθύνονται προς το σκελετικό μυ για την αναπλήρωση των ενδομυϊκών αποθηκών TG που μάλλον ελαττώθηκαν σημαντικά από τη συγκεκριμένη συνεδρία

άσκησης [385]. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι η αιματική ροή και η εξαγωγή λιπαρών οξέων από το σκελετικό μυ (και γενικά, τους περιφερειακούς ιστούς) είναι υψηλότερες την ημέρα μετά την άσκηση (ύστερα από 12-24 ώρες), καθώς επιστρέφουν στις αρχικές τιμές μέσα σε 3 ώρες από το τέλος της άσκησης [386]. Τέλος, είναι απίθανο η άσκηση να προκάλεσε διέγερση της οξείδωσης των λιπών στο ήπαρ σε μεγαλύτερο βαθμό από ό,τι στους άλλους ιστούς (κάτι που δε θα ήταν ορατό με την έμμεση θερμιδομετρία). Φαίνεται, λοιπόν, ότι η περίσσεια των λιπαρών οξέων που διατίθενται στο ήπαρ μετά την άσκηση χρησιμοποιούνται – κατά πάσα πιθανότητα – για την αναπλήρωση των ενδοηπατικών αποθηκών TG που επίσης πρέπει να ελαττώθηκαν σημαντικά έπειτα από μία παρατεταμένη συνεδρία άσκησης [387]. Ενδιαφέρον είναι ακόμα το γεγονός ότι, εκτός από την απουσία μεταβολής στο συνολικό ρυθμό έκκρισης VLDL-TG, δεν παρατηρήθηκε επίσης καμία μεταβολή στη σχετική συνεισφορά λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (FFA του πλάσματος) και από άλλες, μη συστηματικές πηγές (από τη λιπόλυση του σπλαχνικού και του ενδοηπατικού λίπους) στην παραγωγή VLDL-TG, παρόλη τη σημαντικά αυξημένη διαθεσιμότητα FFA στη συστηματική κυκλοφορία μετά την άσκηση. Τα ευρήματα αυτά συνιστούν ότι δεν υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων στο πλάσμα και την έκκριση VLDL-TG από το ήπαρ. Αυτή η σχέση – που αποτελεί σήμερα μια ευρύτερα αποδεκτή πεποίθηση – βασίστηκε αρχικά στα αποτελέσματα μελετών όπου μετρήθηκε η ανακύκλωση VLDL-TG κατά τη διάρκεια έγχυσης Intralipid (παρεντερικό διάλυμα συνθετικών TG) και ηπαρίνης [281]. Ωστόσο, η ηπαρίνη απελευθερώνει την LPL από το αγγειακό ενδοθήλιο (με σκοπό να υδρολυθούν τα εξωγενή TG ώστε να αυξηθεί τεχνητά η συγκέντρωση FFA στο πλάσμα), κάτι όμως που από μόνο του μπορεί να αυξήσει το ρυθμό ανακύκλωσης VLDL-TG [154], ενώ και οι συγκεντρώσεις FFA που επιτεύχθηκαν στις μελέτες αυτές ήταν πολύ υψηλές, άνω του «φυσιολογικού» (~1 mmol/L). Σε συμφωνία με τα ευρήματα από την παρούσα μελέτη, οι Carpentier *et al* [367] δε βρήκαν καμία σχέση ανάμεσα στην ικανότητα της ινσουλίνης να ελαττώνει τη συγκέντρωση FFA στο πλάσμα και το ρυθμό έκκρισης VLDL-TG. Υπάρχουν και άλλες διαθέσιμες μελέτες που συνιστούν ότι δεν υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA και το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ [182,352,368,369]. Επομένως, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η ροή FFA από τη συστηματική κυκλοφορία προς το ήπαρ δε φαίνεται να αποτελεί κλειδί για τη ρύθμιση της έκκρισης VLDL-TG.

Η ελάττωση του ρυθμού έκκρισης VLDL-apoB-100 μετά από μια συνεδρία αερόβιας άσκησης είναι σύμφωνη με την επίδραση της χρόνιας άσκησης (προπόνηση) που έχει περιγραφεί προηγουμένως σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 [388], με τη διαφορά ότι το μέγεθος της μείωσης στην ηπατική παραγωγή VLDL-apoB-100 φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερο μετά από 6-μηνη

προπόνηση (μείωση κατά περίπου 50%) [388] παρά μετά από μία συνεδρία άσκησης (μείωση κατά περίπου 25%). Ωστόσο, η απώλεια σωματικού βάρους και λίπους μετά το πρόγραμμα προπόνησης [388] μάλλον ευθύνεται για ένα μέρος της παρατηρούμενης επίδρασης καθώς, όπως αναφέρουν άλλες μελέτες [389,390,391], η παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένους ρυθμούς παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Οι μηχανισμοί εκείνοι που είναι υπεύθυνοι για την ελάττωση του ρυθμού έκκρισης VLDL-apoB-100 μετά την άσκηση δεν είναι γνωστοί. Η αυξημένη ευαισθησία του ήπατος στη δράση της ινσουλίνης ως αποτέλεσμα της άσκησης [392,393] αποτελεί μια πιθανότητα. Μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η παραγωγή VLDL-apoB-100 από το ήπαρ αναστέλλεται από πειραματική υπερινσουλιναιμία [286] και αυξάνεται σε καταστάσεις ινσουλिनoαντοχής [394]. Εναλλακτικά, η αυξημένη συγκέντρωση CRP μετά την άσκηση υποδηλώνει ότι το ήπαρ αντιμετωπίζει μια κατάσταση αυξημένης φλεγμονής ή/και προ-οξειδωτικού στρες ως αποτέλεσμα της άσκησης. Δεδομένα από *in vitro* και *in vivo* μελέτες σε πειραματόζωα συνιστούν ότι τέτοιες συνθήκες επιτείνουν την πρωτεόλυση της νεοσυντιθέμενης apoB-100 στο ηπατοκύτταρο και προκαλούν ελάττωση του ρυθμού έκκρισης VLDL [395,396]. Οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων η άσκηση ελαττώνει το ρυθμό έκκρισης VLDL-apoB-100 στον άνθρωπο χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

Η άσκηση προκάλεσε σημαντική αύξηση στο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία σε σχέση με την ανάπαυση, κάτι που μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες. Η συγκέντρωση της LPL στο πλάσμα ήταν υψηλότερη μετά την άσκηση, γεγονός που συνιστά αυξημένη ενδοαγγειακή λιπόλυση VLDL-TG. Η αερόβια άσκηση διεγείρει τη σύνθεση της LPL στο σκελετικό μυ εντός 4 ωρών από το τέλος της άσκησης, ενώ η δραστηριότητα του ενζύμου φτάνει στο μέγιστο περίπου 8 ώρες μετά το τέλος της άσκησης [242]. Οι αυξήσεις αυτές έχουν παροδικό χαρακτήρα, έτσι ώστε μετά από 24 ώρες δεν είναι πια ορατές [242]. Σε ορισμένες μελέτες, η πρωτεϊνική μάζα και η δραστηριότητα της LPL στο σκελετικό μυ παραμένουν αυξημένες για 12-20 ώρες μετά το τέλος της άσκησης [243,244,397], αν και αυτό δε συμβαίνει πάντα [245,398]. Η μάζα και η δραστηριότητα της LPL στο λιπώδη στο δε φαίνεται να επηρεάζεται από μία συνεδρία αερόβιας άσκησης στον άνθρωπο [244,399]. Μετά τη σύνθεσή της στο κυτταρόπλασμα, η LPL μετατοπίζεται στο αγγειακό ενδοθήλιο των ιστών, όπου ασκεί τη δράση της (υδρόλυση των TG στις κυκλοφορούντες λιποπρωτεΐνες) και μετά απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος και τελικά προσλαμβάνεται από το ήπαρ, όπου και αποικοδομείται [400,401, 402,403]. Επομένως, η αυξημένη συγκέντρωση της LPL στο πλάσμα (χωρίς τη χορήγηση ηπαρίνης) μετά την άσκηση αποτελεί ένα έμμεσο δείκτη αυξημένης ενδοαγγειακής λιπόλυσης VLDL-TG, πιθανότητα λόγω αυξημένης δραστηριότητας της LPL στο σκελετικό μυ. Βέβαια, το μέγεθος της αύξησης στη συγκέντρωση της LPL

(περίπου 10%) ήταν πολύ μικρότερο σε σχέση με το μέγεθος της αύξησης στο ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG (περίπου 45%) ως αποτέλεσμα της άσκησης, υποδηλώνοντας ότι και άλλοι παράγοντες πρέπει να εμπλέκονται.

Ένας άλλος μηχανισμός που μπορεί να ευθύνεται για την αυξημένη κάθαρση VLDL-TG μετά την άσκηση, ανεξάρτητα από πιθανές αλλαγές στην LPL, σχετίζεται με το περιεχόμενο των VLDL σε TG. Ο μειωμένος ρυθμός έκκρισης VLDL-apoB-100 σε συνδυασμό με τον αμετάβλητο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG συνιστά ότι, μετά την άσκηση, το ήπαρ παράγει την ίδια ποσότητα TG σε μικρότερο αριθμό VLDL σωματιδίων. Δηλαδή, παράγονται λιγότερα σωματίδια VLDL, τα οποία όμως είναι πλουσιότερα σε TG και άρα είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα σωματίδια VLDL που παράγονται μετά την ανάπαυση. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η απομάκρυνση TG από τον πυρήνα των VLDL είναι ταχύτερη στην περίπτωση μεγάλων και πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών (μετά την άσκηση) από ό,τι στην περίπτωση μικρών και φτωχών σε TG λιποπρωτεϊνών (μετά την ανάπαυση) [108,335,336,337]. Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη, ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανακλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, δεν ήταν διαφορετικός το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση. Με βάση τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #1, η παρούσα μελέτη δεν είχε επαρκή δύναμη να εντοπίσει διαφορές σε αυτήν την παράμετρο μικρότερες του 40%. Για τον εντοπισμό μιας διαφοράς της τάξης του 25%, όπως αυτή που παρατηρήθηκε μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση, θα χρειαζόταν ένα δείγμα 17 ατόμων. Η πιθανότητα ότι η αυξημένη απομάκρυνση VLDL-TG από την κυκλοφορία μετά την άσκηση οφείλεται εν μέρει και σε αυξημένο ρυθμό ουδέτερης μεταφοράς λιπιδίων στο πλάσμα (όπου TG από τον πυρήνα των VLDL μεταφέρονται προς άλλες λιποπρωτεΐνες) είναι μικρή έως ανύπαρκτη, καθώς οι συγκεντρώσεις των βασικών ενζύμων που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία (LCAT και CETP) ήταν ή έτειναν να είναι χαμηλότερες μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση. Τέλος, μέρος της αυξημένης κάθαρσης VLDL-TG θα μπορούσε να οφείλεται και σε ταχύτερη απομάκρυνση του σωματιδίου VLDL αυτού καθεαυτού από την κυκλοφορία (π.χ. ταχύτερη μετατροπή προς IDL ή απευθείας πρόσληψη από ιστούς μέσω υποδοχέων), αλλά αυτή η πιθανότητα είναι επίσης αμελητέα καθώς η άσκηση δεν είχε καμία επίδραση στο ρυθμό κάθαρσης και το μέσο χρόνο παραμονής της VLDL-apoB-100 στην κυκλοφορία. Σε κάθε περίπτωση, η συσσώρευση σωματιδίων IDL στο πλάσμα μετά την άσκηση συνιστά ότι η αυξημένη ενδοαγγειακή λιπόλυση των VLDL-TG δεν ακολουθείται από ανάλογες αυξήσεις στα περαιτέρω βήματα του λιπολυτικού μονοπατιού και, πιο συγκεκριμένα, στη λιπόλυση των TG στις IDL. Το γεγονός αυτό μάλλον οφείλεται στο ότι η άσκηση δε μεταβάλλει τη συγκέντρωση ή/και τη δραστηριότητα της HL, όπως παρατηρήθηκε

σε αυτή αλλά και σε προηγούμενες μελέτες [234,404], ένζυμο που είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνο για τη μετατροπή των IDL σε LDL [84,405].

Η ερμηνεία των ευρημάτων της παρούσας μελέτης σχετικά με την επίδραση της άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL πρέπει να γίνει λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η ενεργειακή δαπάνη της άσκησης δεν αντισταθμίστηκε από ανάλογη αύξηση στην πρόσληψη ενέργειας (στο δείπνο μετά την άσκηση) και, κατά συνέπεια, οι εθελοντές στη δοκιμή της άσκησης βρίσκονταν σε αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο σε σχέση με τη δοκιμή της ανάπαυσης. Δε μπορεί, λοιπόν, να διαχωριστεί η πιθανή επίδραση του αρνητικού ισοζυγίου ενέργειας από την επίδραση της άσκησης αυτής καθαυτής. Ωστόσο, η μεγάλη πλειοψηφία των μελετών που διερεύνησαν διάφορες πτυχές της υποτριγλυκεριδαιμικής δράσης της άσκησης είχαν παρόμοιο σχεδιασμό (δηλαδή, δεν αντικατέστησαν τις θερμίδες που καταναλώθηκαν κατά τη συνεδρία της άσκησης). Επίσης, παρόλο που τα διαθέσιμα δεδομένα είναι λίγα, η υποτριγλυκεριδαιμική επίδραση της άσκησης παρατηρείται ακόμα και αν αντισταθμιστεί η ενέργεια που καταναλώθηκε κατά την άσκηση (μέσω αυξημένης πρόσληψης τροφής) [36], ενώ αντίθετα, η μείωση της πρόσληψης τροφής έτσι ώστε να επιτευχθεί αντίστοιχο αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο (μέσω υποθερμιδικής δίαιτας) δεν επιφέρει τις ίδιες μεταβολές στη συγκέντρωση των TG όπως η άσκηση [229]. Κατά συνέπεια, λοιπόν, τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη διαλευκάνουν το μηχανισμό μέσω του οποίου ελαττώνεται η συγκέντρωση των TG στο αίμα μετά από μία συνεδρία αερόβιας άσκησης.

Συνοπτικά, οι κυριότερες αλλαγές που λαμβάνουν χώρα το πρωί μετά από μία παρατεταμένη συνεδρία αερόβιας άσκησης σε μέτρια ένταση περιλαμβάνουν μειωμένο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ χωρίς μεταβολή του ρυθμού παραγωγής VLDL-TG παρόλη την αυξημένη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα. Η σημαντική ελάττωση της συγκέντρωσης των TG οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία, πιθανώς λόγω αυξημένης ενδοαγγειακής λιπόλυσης. Ωστόσο, αναφορικά με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, οι άμεσες θετικές επιδράσεις της άσκησης στο λιπιδαιμικό προφίλ (μείωση της συγκέντρωσης των TG και του αριθμού των σωματιδίων VLDL στο πλάσμα) αντισταθμίζονται από φαινομενικά αρνητικές επιδράσεις (συσσώρευση IDL και υψηλότερη συγκέντρωση FFA στο πλάσμα).

5.7 Μελέτη #7

Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες

Η παρούσα εργασία δημοσιεύτηκε ως:

Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer B. A single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 2007, **292** (6): E1568-1574.

Εισαγωγή

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι μία συνεδρία αερόβιας άσκησης οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης των TG νηστείας για 1-2 ημέρες μετά το τέλος της άσκησης [32,34,236, 237,382,383]. Αυτό οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά στα VLDL-TG [32,33,34,35,36,37]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η υποτριγλυκεριδαιμική αυτή δράση εξαρτάται από την ενεργειακή δαπάνη της άσκησης. Μελέτες στις οποίες οι εθελοντές πραγματοποίησαν μία συνεδρία άσκησης παρατεταμένης διάρκειας (≥ 2 h) αναφέρουν μειώσεις στη συγκέντρωση των TG νηστείας της τάξης του 20-40% [32,226,236,237,383,406], ενώ συνεδρίες παρόμοιας άσκησης αλλά μικρότερης διάρκειας (≤ 30 min) δεν επηρεάζουν τη συγκέντρωση των TG στο αίμα [407,408]. Η ένταση της άσκησης αυτή καθεαυτή δε φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο, καθώς η επίδραση συνεδριών άσκησης διαφορετικής έντασης και διάρκειας στη συγκέντρωση των TG είναι παρόμοια όταν η ολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης παραμένει σταθερή [215,225, 232,409].

Η επίδραση της ποσότητας της άσκησης που συστήνεται σήμερα για τη διατήρηση της καρδιαγγειακής και μεταβολικής υγείας (δηλαδή, 30-60 λεπτά αερόβιας άσκησης σε μέτρια ένταση) [410] στη συγκέντρωση των TG στο αίμα δεν είναι ξεκάθαρη, καθώς τα αποτελέσματα των μελετών στις οποίες η άσκηση είχε ενδιάμεση διάρκεια (45-90 min) είναι διφορούμενα [236,240,241,404,409,411]. Στη ΜΕΛΕΤΗ #6, δείχθηκε ότι μία συνεδρία άσκησης μέτριας

έντασης και παρατεταμένης διάρκειας (2 h στο 60% της VO_{2peak}) προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης των VLDL-TG νηστείας λόγω αυξημένης απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία, χωρίς όμως να επηρεάζει το ρυθμό παραγωγής τους από το ήπαρ. Ωστόσο, η παρατεταμένη άσκηση προκάλεσε ελάττωση του ρυθμού ηπατικής έκκρισης VLDL-apoB-100, δηλαδή, VLDL σωματιδίων. Οι επιδράσεις μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης αλλά μικρότερης διάρκειας, σαν αυτή που συστήνεται στο γενικό πληθυσμό [410], στο μεταβολισμό των VLDL δεν είναι γνωστές, γεγονός που έχει ιδιαίτερη πρακτική σημασία καθώς τα περισσότερα απροπύνητα άτομα δε μπορούν εύκολα να ασκούνται σε μέτρια ένταση για περισσότερο από 1 ώρα [237].

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση των επιδράσεων που έχει μία συνεδρία άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπύνητους άνδρες.

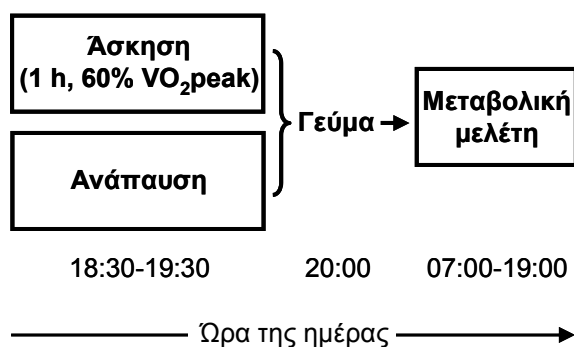
Μεθοδολογία

Στη μελέτη συμμετείχαν 7 υγιείς, νορμοβαρείς άνδρες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.7.1), καθένας από τους οποίους πραγματοποίησε δύο δοκιμές σε τυχαιοποιημένη σειρά: μία δοκιμή με άσκηση το προηγούμενο απόγευμα και μία δοκιμή με ανάπαυση κατά την αντίστοιχη χρονική περίοδο (ΕΙΚΟΝΑ 5.7.1). Η άσκηση περιελάμβανε ποδηλασία σε στατικό ημικλινές κυκλοεργόμετρο για 1 h στο 60% της VO_{2peak} .

Πίνακας 5.7.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντών (N = 7).

Ηλικία	(έτη)	30 ± 7
Βάρος	(kg)	75 ± 5
Ύψος	(cm)	182 ± 4
BMI	(kg/m ²)	$22,9 \pm 1,8$
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	15 ± 5
Λιπώδης μάζα	(kg)	11 ± 4
Άλιπη μάζα	(kg)	64 ± 5
VO_{2peak}	(L/min)	$3,18 \pm 0,64$
	(ml/kg·min)	43 ± 10

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος, VO_{2peak} : μέγιστη προσληψη οξυγόνου.



Εικόνα 5.7.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Αποτελέσματα

Άσκηση

Οι εθελοντές ποδηλάτησαν έναντι αντίστασης 137 ± 32 W, με μέση VO_2 ίση με $1,91 \pm 0,38$ L/min, η οποία αντιστοιχούσε στο $60 \pm 2\%$ της $\text{VO}_{2\text{peak}}$. Η ολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης ήταν 570 ± 112 kcal.

Ενεργειακός μεταβολισμός

Η πρόσληψη οξυγόνου, η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα, το αναπνευστικό πηλίκο, ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας και οι ρυθμοί οξείδωσης λιπών και υδατανθράκων το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση δεν ήταν διαφορετικοί (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.7.2).

Πίνακας 5.7.2. Έμμεση θερμιδομετρία το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
VO_2	(ml/min)	235 ± 21	245 ± 17	0,114
VCO_2	(ml/min)	195 ± 18	201 ± 11	0,158
RQ		$0,83 \pm 0,04$	$0,82 \pm 0,03$	0,573
RMR	(kcal/min)	$1,13 \pm 0,10$	$1,17 \pm 0,08$	0,109
FOX	(mg/min)	48 ± 18	54 ± 14	0,383
CHOX	(mg/min)	101 ± 44	99 ± 26	0,864

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. VO_2 : ρυθμός πρόσληψης οξυγόνου, VCO_2 : ρυθμός παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, RQ: αναπνευστικό πηλίκο, RMR: μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας, FOX: ρυθμός οξείδωσης λιπών, CHOX: ρυθμός οξείδωσης υδατανθράκων.

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα ήταν σημαντικά μειωμένη μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.7.3), αλλά η συγκέντρωση της ινσουλίνης (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.7.3) και ο δείκτης HOMA (άσκηση: $0,78 \pm 0,36$ και ανάπαυση: $0,83 \pm 0,35$, $P = 0,224$) δεν ήταν διαφορετικοί. Η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερη το πρωί μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση, ενώ οι συγκεντρώσεις TG και apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL δε διέφεραν (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.7.3).

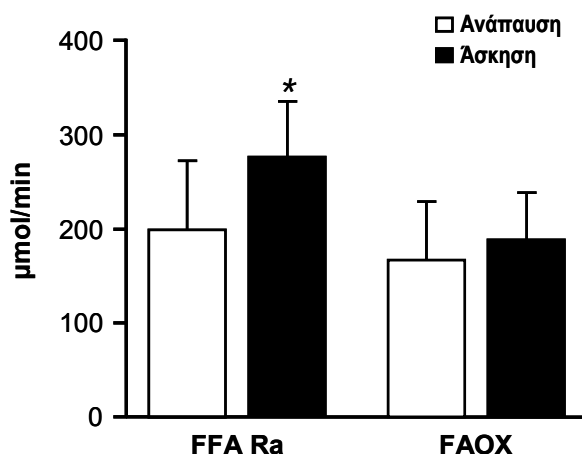
Πίνακας 5.7.3. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	$4,9 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,4$	0,034
Ινσουλίνη	(pmol/L)	23 ± 9	22 ± 9	0,580
FFA	(μ mol/L)	264 ± 127	353 ± 122	0,049
Ολικά TG	(mmol/L)	$0,79 \pm 0,16$	$0,76 \pm 0,13$	0,702
VLDL-TG	(mmol/L)	$0,49 \pm 0,15$	$0,46 \pm 0,13$	0,622
Ολική apoB-100	(μ mol/L)	$1,34 \pm 0,22$	$1,38 \pm 0,33$	0,518
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	61 ± 23	57 ± 14	0,606

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μεταβολισμός FFA, VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα ήταν υψηλότερος κατά περίπου 55% μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση ($P = 0,013$), ενώ ο ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων δεν ήταν διαφορετικός ($P = 0,383$, ΕΙΚΟΝΑ 5.7.2).



Εικόνα 5.7.2. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA Ra) στο πλάσμα και ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων (FAOX) το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή ανάπαυσης. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * $P < 0,05$ έναντι της ανάπαυσης.

Ο FTR των VLDL-TG (άσκηση: $0,524 \pm 0,127$ δεξαμενές/h και ανάπαυση: $0,423 \pm 0,081$ δεξαμενές/h, $P = 0,094$) και ο FTR της VLDL-apoB-100 (άσκηση: $0,345 \pm 0,068$ δεξαμενές/h και ανάπαυση: $0,339 \pm 0,118$ δεξαμενές/h, $P = 0,921$) δεν επηρεάστηκαν από την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση.

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ δε διέφερε μετά την άσκηση ή την ανάπαυση ($P = 0,604$, ΕΙΚΟΝΑ 5.7.3). Η άσκηση δεν επηρέασε τη σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (άσκηση: $80 \pm 10\%$ και ανάπαυση: $72 \pm 15\%$, $P = 0,335$) και από μη συστηματικές πηγές (άσκηση: $20 \pm 10\%$ και ανάπαυση: $28 \pm 15\%$, $P = 0,335$) στην παραγωγή VLDL-TG, ούτε τους απόλυτους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG από συστηματικές (άσκηση: $10,9 \pm 3,1$ $\mu\text{mol/min}$ και ανάπαυση: $8,9 \pm 4,2$ $\mu\text{mol/min}$, $P = 0,371$) και μη συστηματικές (άσκηση: $2,9 \pm 1,7$ $\mu\text{mol/min}$ και ανάπαυση: $3,2 \pm 2,1$ $\mu\text{mol/min}$, $P = 0,737$) πηγές λιπαρών οξέων.

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ δεν επηρεάστηκε από την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση ($P = 0,723$, ΕΙΚΟΝΑ 5.7.3).

Ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανakλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, δεν ήταν διαφορετικός το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση ($P = 0,820$, ΕΙΚΟΝΑ 5.7.3).

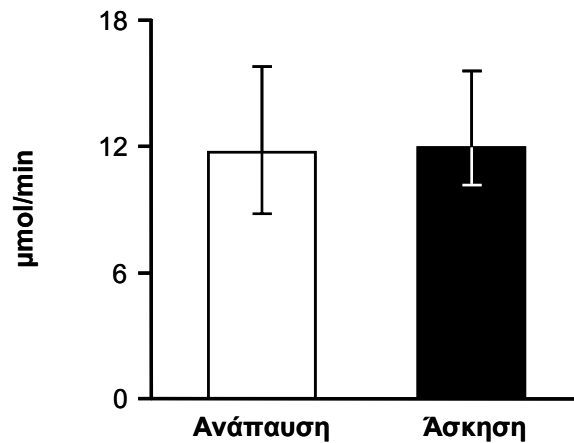
Αν και ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG έτεινε να είναι υψηλότερος ($P = 0,090$) και ο MRT των VLDL-TG έτεινε να είναι μειωμένος ($P = 0,094$) μετά την άσκηση από ό,τι μετά την ανάπαυση, οι διαφορές αυτές δεν έφτασαν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (ΕΙΚΟΝΑ 5.7.4), καθώς

υπήρξε κάποιου βαθμού ενδοατομική διακύμανση στις αποκρίσεις αυτές (ΕΙΚΟΝΑ 5.7.5). Με βάση τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #1, η παρούσα μελέτη είχε επαρκή δύναμη για να εντοπίσει διαφορές στο ρυθμό κάθαρσης και τον MRT των VLDL-TG ίσες ή μεγαλύτερες του ~30% (οι διαφορές μεταξύ άσκησης και ανάπαυσης ήταν της τάξης του 20%) . Ο ρυθμός κάθαρσης ($P = 0,853$) και ο MRT ($P = 0,685$) της VLDL-apoB-100 δε διέφεραν μετά την άσκηση ή την ανάπαυση (ΕΙΚΟΝΑ 5.7.4).

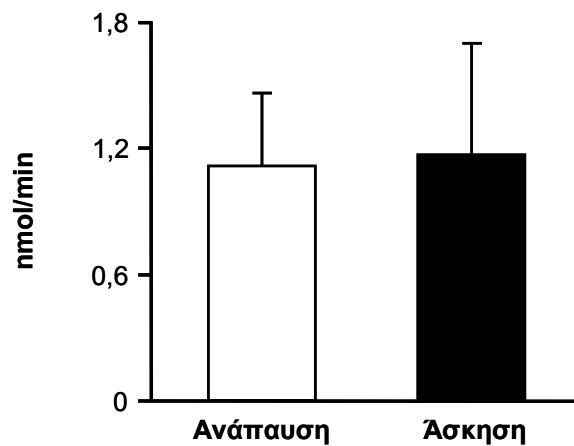
Αυξητική ορμόνη, κυτοκίνες και αντιποκίνες

Οι συγκεντρώσεις της αυξητικής ορμόνης, της λεπτίνης, της αντιπονεκτίνης (συνολική και HMW), της CRP, του TNF- α και της IL-6 δε διέφεραν το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.7.4).

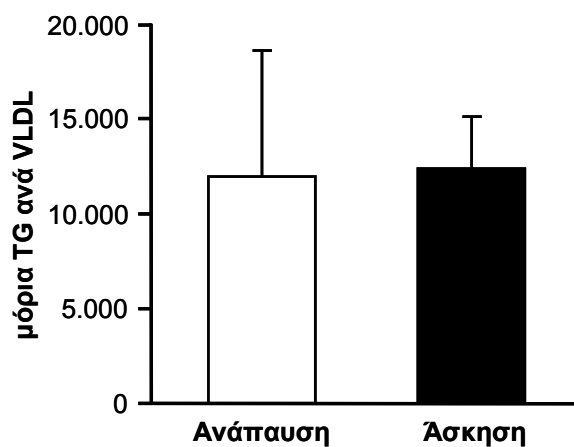
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG



Ρυθμός παραγωγής VLDL-αποB-100

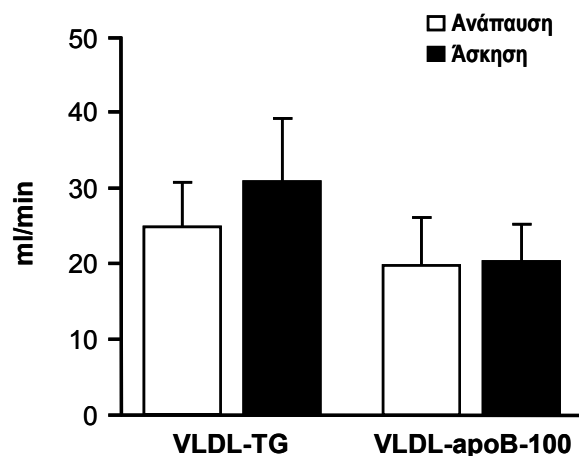


Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποB-100

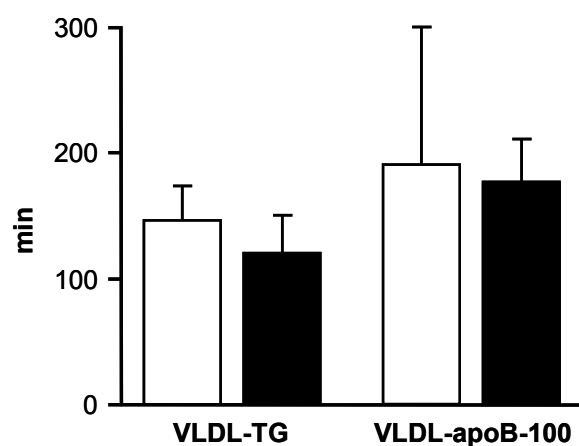


Εικόνα 5.7.3. Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG (επάνω) και VLDL-αποB-100 (μέσο) από το ήπαρ και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποB-100 (κάτω) το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD για το ρυθμό παραγωγής VLDL-αποB-100 και το γραμμομοριακό λόγο των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αποB-100 και ως μέσοι και 95%CI για το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε έπειτα από λογαριθμική μετατροπή). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος

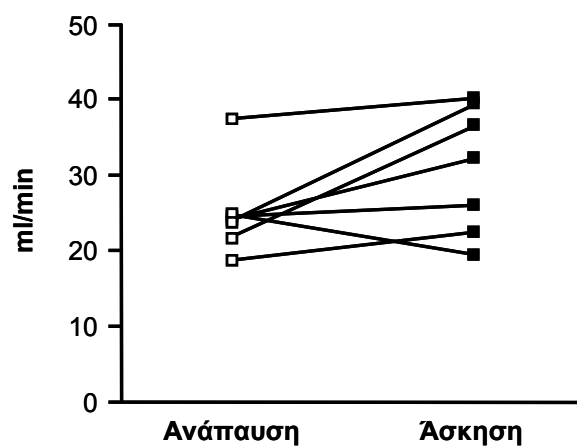


Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία



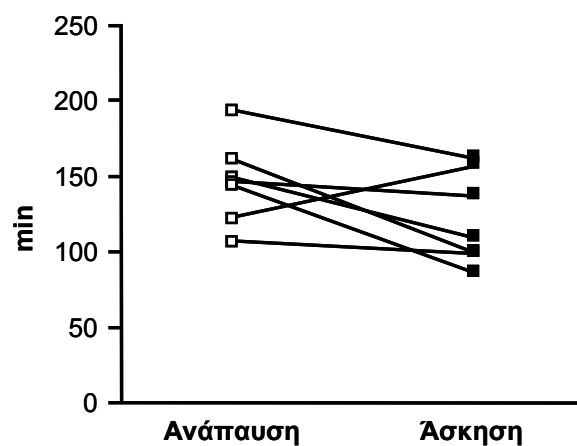
Εικόνα 5.7.4. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD για τους ρυθμούς κάθαρσης και για τον MRT των VLDL-TG και ως μέσοι και 95%CI για τον MRT της VLDL-apoB-100 (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε έπειτα από λογαριθμική μετατροπή). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG



Εικόνα 5.7.5. Ατομικές τιμές (N = 7) για το ρυθμό κάθαρσης (επάνω) και το μέσο χρόνο παραμονής (MRT, κάτω) των VLDL-TG το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή ανάπαυσης. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες.

Μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία



Πίνακας 5.7.4. Συγκεντρώσεις αυξητικής ορμόνης, κυτοκινών και αντιποκινών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO₂peak) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
Αυξητική ορμόνη	(pg/ml)	53 (26 - 111)	55 (14 - 218)	0,928
Λεπτίνη	(ng/ml)	5,7 ± 4,2	6,0 ± 3,8	0,479
Αντιπονεκτίνη	(μg/ml)	8,3 ± 3,0	8,7 ± 3,3	0,305
HMW		3,2 ± 1,8	3,2 ± 1,8	0,960
αντιπονεκτίνη	(μg/ml)			
	(% συνόλου)	37 ± 10	34 ± 10	0,308
CRP	(μg/ml)	0,52 (0,19 - 1,42)	0,52 (0,31 - 0,86)	0,989
TNF-α	(pg/ml)	0,79 ± 0,04	0,78 ± 0,06	0,640
IL-6	(pg/ml)	0,39 ± 0,09	0,37 ± 0,14	0,671

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD, πλην αυτών για την αυξητική ορμόνη και τη CRP, που παρουσιάζονται ως μέσοι και 95%CI (στις περιπτώσεις αυτές, η ανάλυση έγινε μετά από λογαριθμική μετατροπή των τιμών). HMW: υψηλού μοριακού βάρους, CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου, IL: ιντερλευκίνη.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας, σαν αυτή που συστήνεται σήμερα στο γενικό πληθυσμό για τη διατήρηση της καρδιαγγειακής υγείας, δεν έχει καμία επίδραση στις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και VLDL-apoB-100, καθώς και τους ρυθμούς παραγωγής τους από το ήπαρ και απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία. Σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #6, φαίνεται ότι η επίδραση της άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL εξαρτάται άμεσα από την ενεργειακή δαπάνη της άσκησης.
2. Οι ενδοατομικές διακυμάνσεις στην απόκριση του μεταβολισμού των VLDL-TG στην άσκηση μέσης διάρκειας υποδηλώνουν ότι υπάρχει διαφορετική ευαισθησία των ατόμων στην ίδια ποσότητα άσκησης, για λόγους που δεν είναι ακόμα γνωστοί.

3. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας οδηγεί σε αύξηση της διαθεσιμότητας των FFA στο πλάσμα, σε βαθμό παρόμοιο με αυτόν που παρατηρήθηκε στη ΜΕΛΕΤΗ #6 έπειτα από μία συνεδρία παρόμοιας άσκησης αλλά διπλάσιας διάρκειας. Επομένως, η αερόβια άσκηση αποτελεί ένα πολύ δυνατό ερέθισμα που διεγείρει τη λιπόλυση των TG στο λιπώδη ιστό προς απελευθέρωση FFA για πολλές ώρες μετά το τέλος της άσκησης, χωρίς ωστόσο να υπάρχει άμεση δοσοεξαρτώμενη σχέση με την ενεργειακή δαπάνη της άσκησης. Αυτό δε φαίνεται να σχετίζεται με την απόκριση στην άσκηση ορμονών που ρυθμίζουν τη λιπόλυση στο λιπώδη ιστό, όπως η ινσουλίνη, η αυξητική ορμόνη και οι κυτοκίνες.
4. Η αυξημένη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα έπειτα από μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας, χωρίς ταυτόχρονες αλλαγές στο ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων ή την ευαισθησία στην ινσουλίνη (HOMA), δεν προκάλεσε καμία μεταβολή στο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ, γεγονός που υποδηλώνει ότι κάτω από αυτές τις συνθήκες, η διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα δεν αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της ηπατικής έκκρισης VLDL-TG.

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις μίας συνεδρίας μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στην κινητική συμπεριφορά των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, στη διαθεσιμότητα των FFA στο πλάσμα και στον ενεργειακό μεταβολισμό και την οξείδωση υποστρωμάτων σε υγιείς, απροπόνητους νεαρούς άνδρες. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι μια τέτοια συνεδρία αερόβιας άσκησης, που συνίσταται σήμερα στο γενικό πληθυσμό για τη διατήρηση και βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας [410], προκαλεί σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα το επόμενο πρωί, αλλά δεν επιφέρει καμία μεταβολή στο ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων, ούτε και στις συγκεντρώσεις και το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε διάσταση με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #6, όπου μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης αλλά παρατεταμένης διάρκειας (2 ώρες) προκάλεσε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα και το ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων, μείωση στις συγκεντρώσεις VLDL-TG και VLDL-apoB-100, αύξηση στο ρυθμό απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία και μείωση στο ρυθμό έκκρισης της VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Επομένως, φαίνεται ότι οι επιδράσεις της απογευματινής άσκησης στον

ενεργειακό μεταβολισμό και το συνολικό ρυθμό οξείδωσης λίπους στο σώμα, αλλά και αυτές στις συγκεντρώσεις και την κινητική συμπεριφορά των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100, εξαρτώνται άμεσα από τη διάρκεια και άρα την ενεργειακή δαπάνη της άσκησης. Κατά συνέπεια, οι τυπικές καθημερινές δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένων των αθλητικών δραστηριοτήτων με σκοπό την αναψυχή, είναι μάλλον απίθανο να έχουν σημαντική επίδραση στη ρύθμιση της ομοιόστασης των TG στο πλάσμα στο μεταπορροφητικό στάδιο (νηστεία). Ακόμα, τα δεδομένα από την παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι τουλάχιστον 12-24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης, υπάρχει διάσταση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA στη συστηματική κυκλοφορία και την παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ.

Οι βραχυπρόθεσμες επιδράσεις της άσκησης στο ρυθμό λιπόλυσης TG στο λιπώδη ιστό έχουν περιγραφεί με αρκετές λεπτομέρειες [412]. Η λιπόλυση αυξάνεται πολλές φορές (σε σχέση με την ηρεμία) σχεδόν αμέσως μετά την έναρξη της άσκησης [412] και μετά υπαναχωρεί όταν σταματά η άσκηση και σταθεροποιείται σε επίπεδα περίπου διπλάσια (σε σχέση με την ηρεμία) για τουλάχιστον 3 ώρες κατά τη διάρκεια της ανάνηψης [413]. Ωστόσο, πολύ λίγα είναι γνωστά αναφορικά με τις μακροβιότερες επιδράσεις της άσκησης στο ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα και τους μηχανισμούς που ελέγχουν τη λιπόλυση περίπου 12-24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα κατά το μεταπορροφητικό στάδιο είναι σχεδόν διπλάσιος σε αθλητές από ό,τι σε απροπόνητα άτομα [414]. Ωστόσο, αυτή η διαφορά δεν παρατηρείται 2-4 ημέρες μετά από διακοπή της προπόνησης [415,416], γεγονός που υποδηλώνει ότι οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ αθλητών και μη αθλουμένων στο ρυθμό εμφάνισης FFA οφείλονται αποκλειστικά και μόνο στην επίδραση της τελευταίας συνεδρίας άσκησης στους αθλητές και δεν είναι αποτέλεσμα μακροχρόνιων προσαρμογών στην προπόνηση. Στη ΜΕΛΕΤΗ #6, διαπιστώθηκε ότι 2 ώρες ποδηλασίας σε μέτρια ένταση το προηγούμενο απόγευμα οδηγούν σε αύξηση του ρυθμού εμφάνισης FFA στο πλάσμα το επόμενο πρωί κατά περίπου 65%. Είναι πολύ ενδιαφέρον ότι η απόκριση αυτή είναι παρόμοιου μεγέθους με την αύξηση στο ρυθμό εμφάνισης FFA στην παρούσα μελέτη (περίπου 55%), ύστερα από τη μισή ποσότητα άσκησης (1 ώρα ποδηλασίας στην ίδια ένταση). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα ευρήματα σε επαγγελματίες αθλητές των Romijn *et al* [414], οι οποίοι ανέφεραν ότι μία συνεδρία άσκησης αυξάνει το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα την επόμενη ημέρα και ότι το μέγεθος της αύξησης είναι ανεξάρτητο από τη διάρκεια και την ένταση (και επομένως, την ενεργειακή δαπάνη) της άσκησης.

Η ινσουλίνη αποτελεί ίσως τον κυριότερο ρυθμιστικό παράγοντα του ρυθμού εμφάνισης FFA στο πλάσμα σε κατάσταση νηστείας, μέσω της ανασταλτικής της δράσης στην ορμονοευαίσθητη λιπάση (HSL) του λιπώδους ιστού [417,418]. Η συγκέντρωση της ινσουλίνης ήταν μειωμένη στους αθλητές σε σχέση με τους μη αθλούμενους [414] και μειώθηκε από την παρατεταμένη άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση στη ΜΕΛΕΤΗ #6, γεγονός που μπορεί να συνέβαλε στην αύξηση της λιπόλυσης και του ρυθμού εμφάνισης FFA στο πλάσμα (λιγότερη ινσουλίνη θα προκαλούσε λιγότερη αναστολή στη λιπόλυση και άρα θα επέτρεπε μεγαλύτερο ρυθμό απελευθέρωσης FFA). Ωστόσο, στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στη συγκέντρωση της ινσουλίνης το πρωί μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση. Ο ρόλος των κατεχολαμινών (αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη) κάτω από αυτές τις συνθήκες επίσης δε φαίνεται να είναι σημαντικός. Οι κατεχολαμίνες ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για την άμεση διέγερση της λιπόλυσης κατά τη διάρκεια της άσκησης και λίγο μετά [419], αλλά οι συγκεντρώσεις τους επιστρέφουν σε επίπεδα ηρεμίας μέσα σε περίπου 2 ώρες (συνήθως, πολύ νωρίτερα) από το τέλος της άσκησης [420]. Επίσης, ο αυξημένος ρυθμός εμφάνισης FFA στους αθλητές σε σχέση με τους μη αθλούμενους παρατηρήθηκε απουσία διαφορών στις συγκεντρώσεις των κατεχολαμινών [414]. Τα παραπάνω δεδομένα συνιστούν ότι η ινσουλίνη και οι κατεχολαμίνες δεν ευθύνονται για την αυξημένη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα 12-24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Επίσης, η πιθανότητα αυξημένης αιματικής ροής στο λιπώδη ιστό μετά την άσκηση είναι αμελητέα, καθώς παρόλο που αυτή αυξάνεται άμεσα από την άσκηση [413], δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι συμβαίνει κάτι τέτοιο το επόμενο πρωί (12-16 ώρες μετά την άσκηση) [37]. Άλλοι παράγοντες που θα μπορούσαν ενδεχομένως να συμβάλλουν στη διέγερση της λιπόλυσης, όπως η αυξητική ορμόνη και οι διάφορες κυτοκίνες [421], δε μεταβλήθηκαν από την άσκηση στην παρούσα μελέτη (ούτε και στη ΜΕΛΕΤΗ #6). Επομένως, οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων μία απογευματινή συνεδρία άσκησης αυξάνει τη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα το επόμενο πρωί χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

Στην παρούσα μελέτη, σε αντίθεση με τη ΜΕΛΕΤΗ #6 όπου εξετάστηκε η επίδραση μιας συνεδρίας παρατεταμένης άσκησης (2 ώρες) σε μέτρια ένταση, δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στις συγκεντρώσεις και το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 ως αποτέλεσμα της άσκησης μέσης διάρκειας (1 ώρα). Αν και διαπιστώθηκε μια τάση για ελαφρώς αυξημένο ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG και συντομότερο μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TG στην κυκλοφορία μετά την άσκηση, η τάση αυτή δεν ήταν καθολική, καθώς ορισμένοι εθελοντές είχαν αμετάβλητη ή και ελαττωμένη κάθαρση VLDL-TG σε σχέση με την ανάπαυση. Πρέπει, ωστόσο, να αναφερθεί ότι με βάση τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #1, η παρούσα μελέτη είχε επαρκή δύναμη για να εντοπίσει διαφορές στο ρυθμό κάθαρσης και το μέσο χρόνο

παραμονής των VLDL-TG ίσες ή μεγαλύτερες του 30%, ενώ οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ άσκησης και ανάπαυσης ήταν της τάξης του 20%. Βέβαια, η παντελής απουσία οποιασδήποτε μεταβολής στη συγκέντρωση των VLDL-TG συνηγορεί στο ότι η παρατηρούμενη τάση στο ρυθμό κάθαρσης VLDL-TG μάλλον ήταν τυχαία παρά είχε φυσιολογική βάση (σε αντίθετη περίπτωση, η συγκέντρωση των VLDL-TG θα έπρεπε να ήταν ή να έτεινε να είναι μειωμένη μετά την άσκηση). Εναλλακτικά, η ετερογενής απόκριση της συγκέντρωσης και του ρυθμού κάθαρσης VLDL-TG στην άσκηση μπορεί να οφείλεται σε βαθμιαία επαναφορά στην κατάσταση ηρεμίας: αμέσως μετά από 45 λεπτά ποδηλασίας σε μέτρια ένταση, έχει αναφερθεί αυξημένη κάθαρση VLDL-TG χωρίς ωστόσο μεταβολή στη συγκέντρωση VLDL-TG [422]. Επομένως, τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη και αυτά από τη ΜΕΛΕΤΗ #6 μάλλον αντανακλούν πραγματικές διαφορές στην απόκριση του μεταβολισμού των VLDL-TG σε μία συνεδρία άσκησης διαφορετικής διάρκειας (1 και 2 ώρες). Συνολικά, οι δύο αυτές μελέτες συνιστούν ότι η απόκριση του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στην άσκηση είναι άμεσα εξαρτώμενη από τη διάρκεια και κατά συνέπεια, την ενεργειακή δαπάνη της άσκησης, με ένα κατώφλιο υψηλότερο από 500 kcal (σε μία συνεδρία) για την παρατήρηση αλλαγών. Ωστόσο, αυτό το κατώφλιο ενεργειακής δαπάνης φαίνεται ότι είναι χαμηλότερο στην περίπτωση του μεταγευματικού μεταβολισμού των TG (που μεταφέρονται κατά κύριο λόγο στον πυρήνα των χυλομικρών), καθώς 1 ώρα αερόβιας άσκησης σε μέτρια ένταση προκαλεί ελάττωση της συγκέντρωσης των TG στο μεταγευματικό στάδιο παρόλο που δε μεταβάλλει τη συγκέντρωση TG νηστείας [241,411]. Καθώς η υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης στο στάδιο της νηστείας δε μπορεί να αναπαραχθεί από ένα αντίστοιχο αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας μέσω υποθερμιδικής διαίτας [229], ούτε μπορεί να αποφευχθεί με αναπλήρωση των θερμίδων που καταναλώθηκαν κατά την άσκηση μέσω αυξημένης πρόσληψης τροφής [36], οι εμπλεκόμενοι μηχανισμοί πιθανότατα σχετίζονται με τη μυϊκή δραστηριότητα αυτή καθεαυτή και όχι με το αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο.

Τα δεδομένα από την παρούσα μελέτη υποδηλώνουν είτε ότι ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα (δηλαδή, η λιπόλυση στο λιπώδη ιστό) είναι πιο ευαίσθητος στην άσκηση από ό,τι ο μεταβολισμός των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 είτε ότι η άσκηση προκαλεί μια μακροβιότερη απόκριση στη λιπόλυση από ό,τι στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100. Σε κάθε περίπτωση, όμως, είναι εμφανής η διάσταση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα και το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Αυτό είναι ιδιαίτερα προφανές στην παρούσα μελέτη, όπου δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στο ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων μετά την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση. Το εύρημα αυτό είναι σύμφωνο με τις παρατηρήσεις άλλων ερευνητών που δε βρήκαν κάποια

σχέση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα και το ρυθμό έκκρισης VLDL-TG [182,352,367,368,369] και VLDL-apoB-100 [370,371] από το ήπαρ. Ωστόσο, βρίσκεται σε αντίθεση με την κοινή πεποίθηση ότι η συγκέντρωση FFA στο πλάσμα αποτελεί ένα βασικό ρυθμιστή της ηπατικής έκκρισης VLDL-TG και VLDL-apoB-100, πιθανώς λόγω αυξημένης διαθεσιμότητας και παράδοσης FFA στο ήπαρ [281,286,312,326]. Ακόμα και αν ένα μικρό μόνο μέρος (10-30%) της περίσσειας των FFA μετά την άσκηση (περίπου 77 $\mu\text{mol/min}$) κατευθυνόταν στο ήπαρ για παραγωγή VLDL-TG, εκτίμηση που βασίζεται στο γεγονός ότι οι σπλαχνικοί ιστοί ευθύνονται για το 30-50% της συνολικής απομάκρυνσης FFA από την κυκλοφορία στο στάδιο της νηστείας [413,423] και ότι περίπου τα μισά από τα διαθέσιμα FFA στη σπλαχνική περιοχή προσλαμβάνονται από το ήπαρ [424,425], εύκολα προκύπτει ότι η άσκηση θα έπρεπε να είχε προκαλέσει μία αύξηση στο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG της τάξης του 25-50%, κάτι που προφανώς δεν έγινε. Οι μελέτες σε ανθρώπους που αναφέρουν μια άμεση σχέση ανάμεσα στα FFA και την έκκριση VLDL-TG και VLDL-apoB-100 *in vivo* προέβησαν σε τεχνητή μεταβολή της συγκέντρωσης των FFA στο πλάσμα είτε εγχύοντας διάλυμα εξωγενών TG σε συνδυασμό με ηπαρίνη για να αυξήσουν τη συγκέντρωση των FFA [286], είτε χορηγώντας νικοτινικό οξύ [148] ή acipimox (παράγωγο νικοτινικού οξέος) [371] για να μειώσουν τη συγκέντρωση των FFA. Ωστόσο, η ηπαρίνη [154,370], το νικοτινικό οξύ [148] και το acipimox [426] επηρεάζουν τους ρυθμούς ανακύκλωσης των VLDL-TG ή/και της VLDL-apoB-100 ανεξάρτητα από τις μεταβολές που προκαλούν στη συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα και, επομένως, οι παρατηρούμενες επιδράσεις στο μεταβολισμό των VLDL δε μπορούν να αποδοθούν με σιγουριά στις αλλαγές της συγκέντρωσης των FFA ή σε κάποιο άλλο παράγοντα. Η διάσταση ανάμεσα στη διαθεσιμότητα FFA και την παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ συνιστά ότι η ενδοηπατική διάθεση των λιπαρών οξέων προς αποθήκευση ή έκκριση βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο άγνωστων μέχρι σήμερα μηχανισμών. Η μεταβολική μοίρα της περίσσειας των FFA μετά την άσκηση είναι αβέβαιη. Πιθανότατα, τα επιπλέον FFA κατευθύνονται προς αποθήκευση, για την αναπλήρωση των αποθηκών TG στους διάφορους ιστούς, καθώς η οξείδωση λιπαρών οξέων δεν επηρεάστηκε από την άσκηση στην παρούσα μελέτη. Οι συγκεντρώσεις TG στο σκελετικό μυ [243,385] και πιθανόν στο ήπαρ [387] ελαττώνονται σημαντικά ύστερα από μία συνεδρία άσκησης και επιστρέφουν σε επίπεδα ηρεμίας 18-24 ώρες αργότερα [243], μια χρονική στιγμή που συμπίπτει με το χρόνο που έγιναν οι μετρήσεις στην παρούσα μελέτη.

Συμπερασματικά, σε νεαρούς απροπόνητους άνδρες, μία συνεδρία άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας (1 ώρα) δεν έχει καμία επίδραση στις συγκεντρώσεις και την κινητική συμπεριφορά των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 το επόμενο πρωί. Ωστόσο, προκαλεί

σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα, αλλά δεν επηρεάζει το ρυθμό οξείδωσης λιπαρών οξέων. Λαμβάνοντας υπόψη και τα αποτελέσματα από τη ΜΕΛΕΤΗ #6, προτείνεται ότι η άσκηση επηρεάζει το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στο στάδιο της νηστείας με δοσοεξαρτώμενο τρόπο και ότι η ελάχιστη ποσότητα άσκησης (κατώφλιο) που πρέπει να πραγματοποιηθεί υπερβαίνει τη 1 ώρα σε μέτρια ένταση.

5.8 Μελέτη #8

Η επίδραση μίας συνεδρίας αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Η παρούσα εργασία βρίσκεται σε στάδιο δημοσίευσης ως:

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B. Plasma FFA, VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics are not affected by a single 1-h exercise bout of moderate intensity in sedentary women.

Εισαγωγή

Υψηλές συγκεντρώσεις TG νηστείας σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακές νόσους και ο επιπλέον κίνδυνος είναι πολύ μεγαλύτερος για τις γυναίκες από ό,τι για τους άνδρες [20,21]. Επομένως, παρεμβάσεις που οδηγούν σε μείωση της συγκέντρωσης των TG στο αίμα, όπως για παράδειγμα η αερόβια άσκηση [28,379], ενδέχεται να έχουν περισσότερη σημασία για τις γυναίκες. Πλήθος από μελέτες έχουν δείξει ότι μία συνεδρία αερόβιας άσκησης σε μέτρια ένταση προκαλεί ελάττωση της συγκέντρωσης των TG νηστείας [32,34,236,237,382,383], η οποία οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά σε μειωμένη συγκέντρωση VLDL-TG [32,33,34,35,36,37]. Στις ΜΕΛΕΤΕΣ #6 και #7, δείχθηκε ότι η υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης οφείλεται σε αυξημένη απομάκρυνση VLDL-TG από την κυκλοφορία και ότι οι επιδράσεις της άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL που οδηγούν σε ελάττωση της συγκέντρωσης των TG στο αίμα είναι δόσοεξαρτώμενες.

Ωστόσο, οι προηγούμενες μελέτες διεξήχθησαν σε άνδρες και, επομένως, παραμένει άγνωστο αν το φύλο αποτελεί ένα παράγοντα που διαφοροποιεί την απόκριση του μεταβολισμού των VLDL στην άσκηση. Στη ΜΕΛΕΤΗ #5 δείχθηκε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε κατάσταση ηρεμίας. Ακόμα, πλήθος δεδομένων συνηγορούν στο ότι οι γυναίκες διαφοροποιούνται από τους άνδρες σε πολλούς από τους μηχανισμούς που ρυθμίζουν την ενεργειακή ομοιόσταση και την οξειδωση των υποστρωμάτων κατά την άσκηση [427]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η σημαντικά μεγάλυ-

τερη εξάρτηση των γυναικών σε σχέση με τους άνδρες στα ενδομυϊκά TG ως πηγή ενέργειας κατά τη διάρκεια άσκησης σε μέτρια ένταση [428,429,430,431]. Η εξάντληση των αποθηκών TG στο σκελετικό μυ έπεται από την άσκηση έχει συσχετιστεί ισχυρά με παράλληλες αυξήσεις στη δραστηριότητα της μυϊκής LPL, δηλαδή του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για την υδρόλυση των TG στις κυκλοφορούντες λιποπρωτεΐνες (κυρίως στις VLDL σε κατάσταση νηστείας), με σκοπό να διευκολυνθεί η αναπλήρωση των ενδομυϊκών TG [243].

Είναι, λοιπόν, πιθανό η μεγαλύτερη εξάντληση των αποθηκών TG στο σκελετικό μυ στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες έπεται από μία συνεδρία άσκησης να οδηγεί σε μεγαλύτερη αύξηση στη δραστηριότητα της LPL και, κατά συνέπεια, να επιταχύνει τη λιπόλυση των VLDL-TG και τελικά την απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία πιο εύκολα στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες. Δηλαδή, οι γυναίκες ενδέχεται να είναι περισσότερο ευαίσθητες στην άσκηση όσον αφορά στους μηχανισμούς που οδηγούν σε υποτριγλυκεριδαμία. Αν και η πιθανότητα αυτή δεν έχει διερευνηθεί ποτέ άμεσα, μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας, με μέτρια ενεργειακή κατανάλωση (350-550 kcal), έχει αποδειχθεί αρκετή για να προκαλέσει μείωση στη συγκέντρωση των TG νηστείας στις γυναίκες [227,239,406] αλλά όχι στους άνδρες [240,241,408,432].

Σκοπός

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση των επιδράσεων που έχει μία συνεδρία άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας στο μεταβολισμό των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Μεθοδολογία

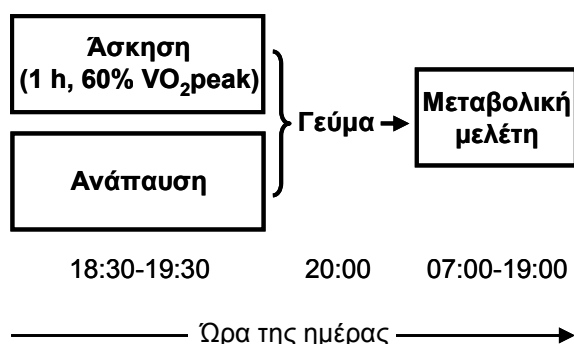
Στη μελέτη συμμετείχαν 8 υγιείς (4 νορμοβαρείς και 4 παχύσαρκες), προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.8.1), καθεμία από τις οποίες πραγματοποίησε δύο δοκιμές σε τυχαιοποιημένη σειρά: μία δοκιμή με άσκηση το προηγούμενο απόγευμα και μία δοκιμή με ανάπαυση κατά την αντίστοιχη χρονική περίοδο (ΕΙΚΟΝΑ 5.8.1). Η άσκηση περιελάμβανε ποδηλασία σε στατικό ημικλινές κυκλοεργόμετρο για 1 h στο 60% της VO_{2peak} . Αν και όπως δείχθηκε στις ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3, ο μεταβολισμός των VLDL δεν επηρεάζεται από τον έμμηνο κύκλο, είναι άγνωστο αν και κατά πόσο οι αποκρίσεις στην άσκηση διαφοροποιούνται. Για το

λόγο αυτό, οι δύο δοκιμές (ανάπαυση και άσκηση) διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια της θυλακοειδούς (πριν την ωορρηξία) φάσης του κύκλου (συγκέντρωση προγεστερόνης στο πλάσμα ≤ 2 ng/ml).

Πίνακας 5.8.1. Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντριών (N = 8).

Ηλικία	(έτη)	28 ± 8
Βάρος	(kg)	74 ± 14
Ύψος	(cm)	165 ± 6
BMI	(kg/m ²)	$27,1 \pm 5,3$
Ποσοστό λίπους	(% βάρους)	34 ± 8
Λιπώδης μάζα	(kg)	26 ± 10
Άλιπη μάζα	(kg)	48 ± 5
VO ₂ peak	(L/min)	$2,05 \pm 0,37$
	(ml/kg·min)	29 ± 6

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. BMI: δείκτης μάζας σώματος, VO₂peak: μέγιστη προσληψη οξυγόνου.



Εικόνα 5.8.1. Ερευνητικό πρωτόκολλο.

Αποτελέσματα

Στεροειδείς ορμόνες

Οι συγκεντρώσεις της προγεστερόνης (ανάπαυση: $0,6 \pm 0,5$ ng/ml και άσκηση: $0,5 \pm 0,6$ ng/ml, $P = 0,238$) και της οιστραδιόλης (ανάπαυση: 60 ± 49 pg/ml και άσκηση: 62 ± 38 pg/ml, $P = 0,926$) στο πλάσμα δε διέφεραν κατά τη διάρκεια των δύο δοκιμών.

Άσκηση

Οι εθελόντριες ποδηλάτησαν έναντι αντίστασης 83 ± 19 W, με μέση VO_2 ίση με $1,22 \pm 0,18$ L/min, η οποία αντιστοιχούσε στο $60 \pm 5\%$ της $\text{VO}_{2\text{peak}}$. Η ολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης ήταν 363 ± 53 kcal.

Ενεργειακός μεταβολισμός

Η πρόσληψη οξυγόνου, η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα, το αναπνευστικό πηλίκο, ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας και οι ρυθμοί οξείδωσης λιπών και υδατανθράκων το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση δεν ήταν διαφορετικοί (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.8.2).

Πίνακας 5.8.2. Έμμεση θερμιδομετρία το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
VO_2	(ml/min)	206 ± 20	206 ± 26	0,928
VCO_2	(ml/min)	167 ± 15	170 ± 24	0,433
RQ		$0,81 \pm 0,03$	$0,82 \pm 0,02$	0,339
RMR	(kcal/min)	$0,98 \pm 0,09$	$0,99 \pm 0,13$	0,824
FOX	(mg/min)	46 ± 10	41 ± 9	0,378
CHOX	(mg/min)	69 ± 23	83 ± 27	0,252

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. VO_2 : ρυθμός πρόσληψης οξυγόνου, VCO_2 : ρυθμός παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, RQ: αναπνευστικό πηλίκο, RMR: μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας, FOX: ρυθμός οξείδωσης λίπους, CHOX: ρυθμός οξείδωσης υδατανθράκων.

Συγκεντρώσεις μεταβολιτών

Η συγκέντρωση της γλυκόζης της ινσουλίνης στο πλάσμα (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.8.3) και, κατά συνέπεια, ο δείκτης HOMA (άσκηση: $1,24 \pm 0,82$ και ανάπαυση: $1,26 \pm 0,91$, $P = 0,797$) δε διέφεραν μετά την άσκηση ή την ανάπαυση. Η συγκέντρωση των FFA στο πλάσμα και των TG και apoB-100 στο πλάσμα και τις VLDL επίσης δε διέφεραν (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.8.3).

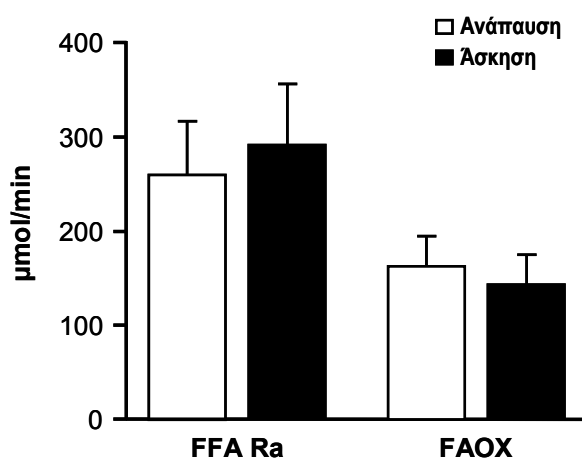
Μεταβολισμός FFA, VLDL-TG και VLDL-apoB-100

Ο ρυθμός εμφάνισης FFA στο πλάσμα ($P = 0,321$) και ο ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων ($P = 0,378$) δεν ήταν διαφορετικοί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση (ΕΙΚΟΝΑ 5.8.2).

Πίνακας 5.8.3. Συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO₂peak) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
Γλυκόζη	(mmol/L)	4,8 ± 0,2	4,7 ± 0,3	0,451
Ινσουλίνη	(pmol/L)	36 ± 26	35 ± 21	0,807
FFA	(μmol/L)	388 ± 98	436 ± 97	0,390
Ολικά TG	(mmol/L)	0,71 ± 0,31	0,74 ± 0,29	0,595
VLDL-TG	(mmol/L)	0,35 ± 0,17	0,36 ± 0,14	0,740
Ολική apoB-100	(μmol/L)	1,05 ± 0,27	1,11 ± 0,40	0,588
VLDL-apoB-100	(nmol/L)	46 ± 23	49 ± 22	0,636

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. FFA: ελεύθερα λιπαρά οξέα, TG: τριακυλογλυκερόλες, VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.



Εικόνα 5.8.2. Ρυθμός εμφάνισης ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA Ra) στο πλάσμα και ρυθμός οξείδωσης λιπαρών οξέων (FAOX) το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO₂peak) ή ανάπαυσης. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD.

Ο FTR των VLDL-TG (άσκηση: 0,706 δεξαμενές/h, 95%CI: 0,516 - 0,966 δεξαμενές/h και ανάπαυση: 0,728 δεξαμενές/h, 95%CI: 0,406 - 1,304 δεξαμενές/h, P = 0,883) και ο FTR της VLDL-apoB-100 (άσκηση: 0,448 ± 0,089 δεξαμενές/h και ανάπαυση: 0,432 ± 0,094 δεξαμενές/h, P = 0,649) δεν επηρεάστηκαν από την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση.

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ δε διέφερε μετά την άσκηση ή την ανάπαυση (P = 0,996, ΕΙΚΟΝΑ 5.8.3). Η άσκηση δεν επηρέασε τη σχετική συμμετοχή λιπαρών οξέων από τη συστηματική κυκλοφορία (άσκηση: 76 ± 7% και ανάπαυση: 71 ± 10%, P = 0,241) και από μη συστηματικές πηγές (άσκηση: 24 ± 7% και ανάπαυση: 29 ± 10%, P = 0,241) στην παραγωγή VLDL-TG, ούτε τους απόλυτους ρυθμούς παραγωγής VLDL-TG από συστηματικές (άσκηση:

$8,2 \pm 2,8$ $\mu\text{mol/min}$ και ανάπαυση: $7,9 \pm 5,2$ $\mu\text{mol/min}$, $P = 0,909$) και μη συστηματικές (άσκηση: $2,6 \pm 1,1$ $\mu\text{mol/min}$ και ανάπαυση: $2,9 \pm 1,1$ $\mu\text{mol/min}$, $P = 0,416$) πηγές λιπαρών οξέων.

Ο ρυθμός παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ δεν επηρεάστηκε από την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση ($P = 0,401$, ΕΙΚΟΝΑ 5.8.3).

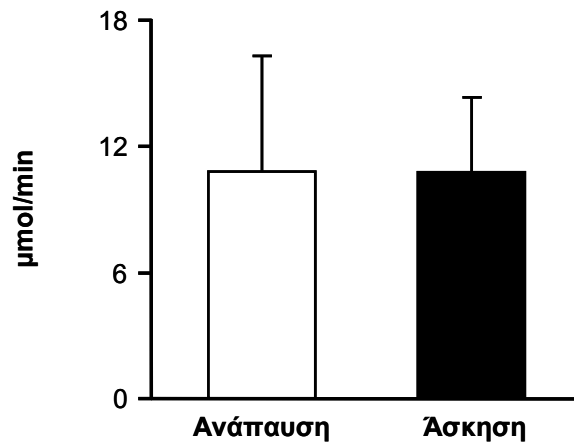
Ο γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών παραγωγής VLDL-TG προς VLDL-apoB-100, που αντανakλά τον αριθμό των μορίων TG ανά σωματίδιο νεο-εκκρινόμενης VLDL, δεν ήταν διαφορετικός το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση ($P = 0,883$, ΕΙΚΟΝΑ 5.8.3).

Ο ρυθμός κάθαρσης VLDL-TG ($P = 0,500$) και VLDL-apoB-100 ($P = 0,649$) και ο MRT των VLDL-TG ($P = 0,647$) και της VLDL-apoB-100 ($P = 0,554$) δε διέφεραν μετά την άσκηση ή την ανάπαυση (ΕΙΚΟΝΑ 5.8.4).

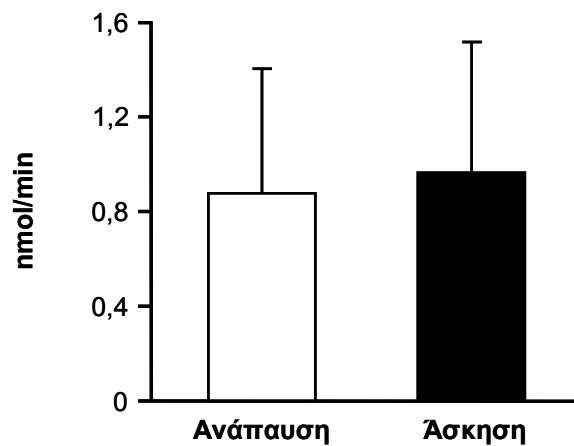
Αυξητική ορμόνη, κυτοκίνες και αντιποκίνες

Οι συγκεντρώσεις της αυξητικής ορμόνης, της λεπτίνης, της αντιπονεκτίνης (συνολική και HMW), της CRP, του TNF- α και της IL-6 δε διέφεραν το πρωί μετά την άσκηση ή την ανάπαυση (ΠΙΝΑΚΑΣ 5.8.4).

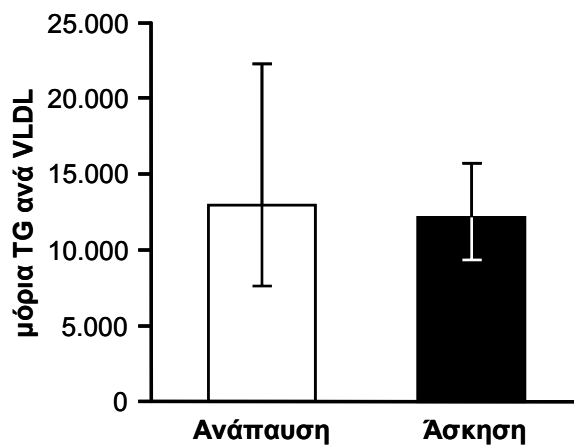
Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG



Ρυθμός παραγωγής VLDL-αpoB-100

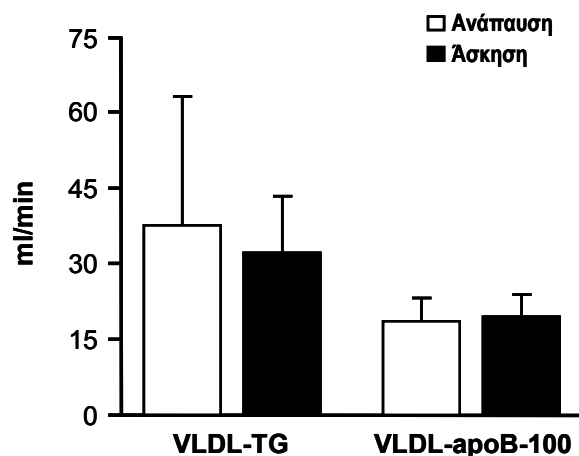


Γραμμομοριακός λόγος ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αpoB-100



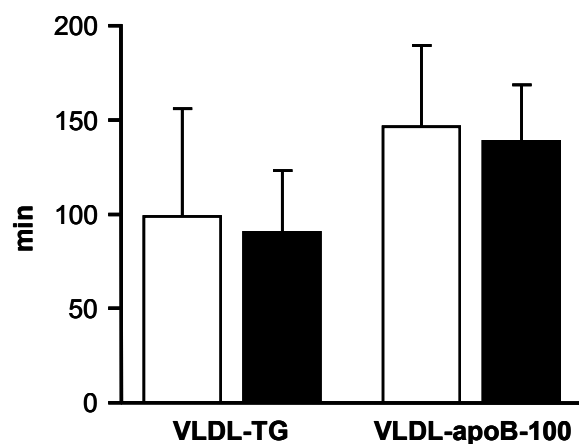
Εικόνα 5.8.3. Ρυθμός παραγωγής VLDL-TG (επάνω) και VLDL-αpoB-100 (μέσο) από το ήπαρ και γραμμομοριακός λόγος των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αpoB-100 (κάτω) το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της $VO_2\text{peak}$) ή ανάπαυσης. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD για το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG και VLDL-αpoB-100 και ως μέσοι και 95%CI για το γραμμομοριακό λόγο των ρυθμών έκκρισης VLDL-TG προς VLDL-αpoB-100 (στην περίπτωση αυτή, η ανάλυση έγινε έπειτα από λογαριθμική μετατροπή). VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Ρυθμός κάθαρσης πλάσματος



Εικόνα 5.8.4. Ρυθμός κάθαρσης (επάνω) και μέσος χρόνος παραμονής (MRT) στην κυκλοφορία (κάτω) των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO_{2peak}) ή ανάπαυσης. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. VLDL: λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας, TG: τριακυλογλυκερόλες, apoB-100: απολιποπρωτεΐνη B-100.

Μέσος χρόνος παραμονής στην κυκλοφορία



Πίνακας 5.8.4. Συγκεντρώσεις αυξητικής ορμόνης, κυτοκινών και αντιποκινών στο πλάσμα το πρωί μετά από μία απογευματινή συνεδρία άσκησης (1 h στο 60% της VO₂peak) ή ανάπαυσης.

		Ανάπαυση	Άσκηση	Τιμή P
Αυξητική ορμόνη	(pg/ml)	342 (88 - 1332)	251 (92 - 685)	0,595
Λεπτίνη	(ng/ml)	43,8 ± 29,8	46,8 ± 23,8	0,459
Αντιπονεκτίνη	(μg/ml)	8,5 ± 2,5	9,1 ± 2,4	0,309
HMW		3,7 ± 1,8	3,7 ± 1,5	0,860
αντιπονεκτίνη	(μg/ml)			
	(% συνόλου)	41 ± 9	40 ± 8	0,698
CRP	(μg/ml)	2,39 (0,98 - 5,84)	1,84 (0,57 - 5,93)	0,728
TNF-α	(pg/ml)	0,84 ± 0,09	0,81 ± 0,09	0,313
IL-6	(pg/ml)	0,40 ± 0,11	0,47 ± 0,12	0,370

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD, πλην αυτών για την αυξητική ορμόνη και τη CRP, που παρουσιάζονται ως μέσοι και 95%CI (στις περιπτώσεις αυτές, η ανάλυση έγινε μετά από λογαριθμική μετατροπή των τιμών). HMW: υψηλού μοριακού βάρους, CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου, IL: ιντερλευκίνη.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

1. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας δεν έχει καμία επίδραση στις συγκεντρώσεις των VLDL-TG και VLDL-apoB-100, καθώς και τους ρυθμούς παραγωγής τους από το ήπαρ και απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #7, φαίνεται ότι το φύλο δεν αποτελεί παράγοντα που τροποποιεί την απόκριση του μεταβολισμού των VLDL στην άσκηση.
2. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας δεν προκαλεί αλλαγές στη διαθεσιμότητα των FFA στο πλάσμα σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #7, φαίνεται ότι οι γυναίκες είναι λιγότερες ευαίσθητες στη λιπολυτική δράση της άσκησης από ό,τι οι άνδρες, για λόγους που δεν είναι

ακόμα γνωστοί. Ωστόσο, η ινσουλίνη, η αυξητική ορμόνη, ή άλλες κυτοκίνες με λιπολυτική δράση δε φαίνεται να εμπλέκονται σε αυτή τη διαφορετική απόκριση των δύο φύλων.

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις μίας απογευματινής συνεδρίας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας (1 ώρα ποδηλασία στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) στο μεταβολισμό των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος σε απροπόνητες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τα αποτελέσματα συνιστούν ότι, σε σχέση με μια αντίστοιχη περίοδο ανάπαυσης, αυτή η ποσότητα άσκησης δεν έχει καμία επίδραση στις διάφορες παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL. Επομένως, σε συμφωνία με τα ευρήματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #7 στους άνδρες, το είδος και η ποσότητα άσκησης που συνιστάται σήμερα στο γενικό πληθυσμό για τη διατήρηση και βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας [410] δεν έχει καμία ωφέλιμη επίδραση στην ομοιοστάση των TG στο πλάσμα σε νορμοβαρείς και παχύσαρκες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Στη ΜΕΛΕΤΗ #6, παρατηρήθηκε ότι η υποτριγλυκεριδαιμική δράση μίας συνεδρίας παρατεταμένης άσκησης (2 ώρες) οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία, που πιθανώς σχετίζεται με την έκκριση λιγότερων αλλά πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL μετά την άσκηση. Αυτό το συμπέρασμα προέκυψε έμμεσα, από τη μειωμένη παραγωγή VLDL-apoB-100 και την αμετάβλητη παραγωγή VLDL-TG από το ήπαρ το πρωί μετά την άσκηση και λαμβάνοντας υπόψη ότι κάθε σωματίδιο VLDL περιέχει ένα μόνο μόριο apoB-100 [43]. Η έκκριση πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL ενδέχεται να διευκολύνει την ενδοαγγειακή λιπόλυση και κατά συνέπεια να επιταχύνει την απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία [108,335,336,337]. Ωστόσο, όπως προέκυψε από τη ΜΕΛΕΤΗ #7, οι επιδράσεις εκείνες της άσκησης που οδηγούν σε ελάττωση της συγκέντρωσης των TG στο πλάσμα φαίνεται ότι είναι δοσοεξαρτώμενες, καθώς η μισή ποσότητα άσκησης (1 ώρα) στην ίδια ένταση δεν επέφερε καμία μεταβολή στο μεταβολισμό των VLDL σε απροπόνητους άνδρες.

Η παρούσα μελέτη βασίστηκε στην υπόθεση ότι η καταγεγραμμένη μεγαλύτερη χρήση ενδομυϊκών TG ως πηγή ενέργειας κατά τη διάρκεια άσκησης μέτριας έντασης στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες [428,429,430,431] θα καθιστούσε τις γυναίκες πιο ευαίσθητες από τους άνδρες στην υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης, καθώς η εξάντληση των ενδομυϊκών αποθηκών TG σχετίζεται με παράλληλες αυξήσεις στη δραστηριότητα της LPL στο σκελετικό μυ

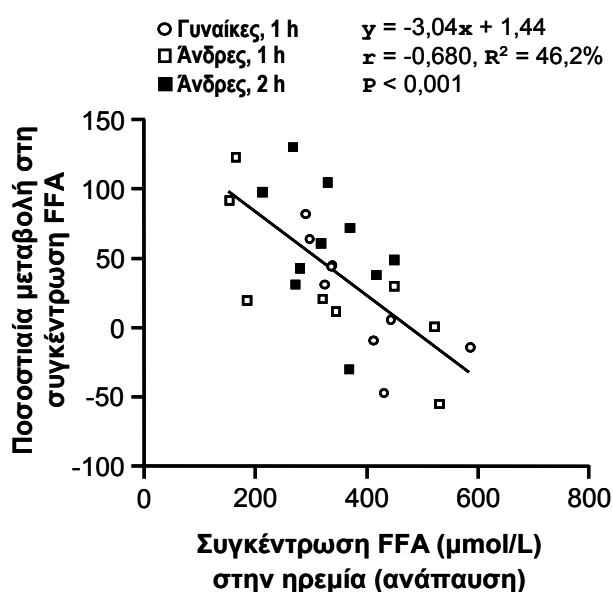
[243]. Έτσι, η LPL διευκολύνει τη λιπόλυση των TG στις κυκλοφορούντες λιποπρωτεΐνες με απώτερο σκοπό την αναπλήρωση των ενδομυϊκών αποθηκών TG. Ωστόσο, αντίθετα με την υπόθεση της παρούσας μελέτης, μία συνεδρία άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας δεν επέφερε καμία μεταβολή στις συγκεντρώσεις και το μεταβολισμό των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 στις γυναίκες, ακριβώς όπως παρατηρήθηκε στη ΜΕΛΕΤΗ #7 στους άνδρες. Βέβαια, το εάν και κατά πόσο η εξάντληση των ενδομυϊκών αποθηκών TG κατά την άσκηση σχετίζεται με την υποτριγλυκεριδαμία που παρατηρείται 1-2 ημέρες μετά την άσκηση παραμένει άγνωστο. Στην παρούσα μελέτη δεν προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις TG στο σκελετικό μυ. Επομένως, η πιθανότητα ότι τα άτομα εκείνα που χρησιμοποιούν περισσότερα ενδομυϊκά TG ως πηγή ενέργειας κατά την άσκηση είναι περισσότερο ευαίσθητα στην υποτριγλυκεριδαμική δράση της άσκησης, μέσω αυξημένης λιπόλυσης των VLDL-TG από την LPL με σκοπό την αναπλήρωση των TG του σκελετικού μυ, δε μπορεί να αποκλειστεί.

Αν και δεν υπάρχουν άλλες διαθέσιμες μελέτες που να έχουν αξιολογήσει τις αλλαγές στην κινητική συμπεριφορά των VLDL ως αποτέλεσμα της άσκησης, πολλοί ερευνητές στο παρελθόν έχουν αναφέρει τις μεταβολές που προκαλούνται στο λιπιδαιμικό προφίλ στο στάδιο της νηστείας ύστερα από μία συνεδρία άσκησης σε μέτρια ένταση και μέση διάρκεια (περίπου 1 ώρα στο 50-70% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$): ορισμένοι δεν παρατήρησαν αλλαγές στη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα [232,240,241,411,432,433], ωστόσο άλλοι κατέγραψαν σημαντικές μειώσεις [236,237,404,406,409,434]. Οι λόγοι που ευθύνονται για αυτή την ετερογένεια στα αποτελέσματα δεν είναι προφανείς, αλλά πιθανό να σχετίζονται με παράγοντες που ρυθμίζουν την ατομική ευαισθησία στην υποτριγλυκεριδαμική δράση της άσκησης. Η παρούσα μελέτη σε συνδυασμό με τη ΜΕΛΕΤΗ #7 αποκλείουν το φύλο ως έναν τέτοιο παράγοντα. Τα ευρήματα από προοπτικές μελέτες που έχουν εξετάσει τις διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στην απόκριση της συγκέντρωσης των TG στο πλάσμα μετά από μακροχρόνια προπόνηση είναι διφορούμενα, με κάποιες μελέτες να αναφέρουν ότι οι γυναίκες είναι πιο ευαίσθητες στην υποτριγλυκεριδαμική δράση της άσκησης και άλλες να αναφέρουν το αντίθετο [435]. Παραμένει να διευκρινιστεί αν άλλοι παράγοντες, όπως η συγκέντρωση TG στο πλάσμα κατά την ηρεμία, οι συγκεντρώσεις των άλλων λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών, η πρότερη φυσική κατάσταση, κ.α., μπορούν να τροποποιήσουν την ατομική ευαισθησία στην υποτριγλυκεριδαμική δράση της άσκησης.

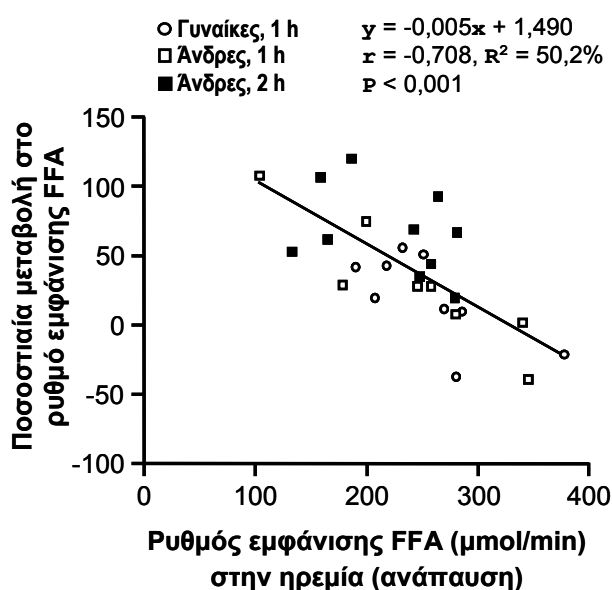
Αν και το φύλο δε φαίνεται να είναι ένας σημαντικός παράγοντας που να επηρεάζει την απόκριση του μεταβολισμού των VLDL στην άσκηση, προκύπτει ως τέτοιος ρυθμιστικός παράγοντας για το μεταβολισμό των FFA. Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκε καμία

μεταβολή στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα ύστερα από την άσκηση σε σχέση με την ανάπαυση. Από τις 8 εθελόντριες, 4 είχαν υψηλότερες τιμές μετά την άσκηση, 2 είχαν ίδιες και 2 είχαν χαμηλότερες (πάντα σε σχέση με την ανάπαυση). Δεν παρατηρήθηκε κάποια διαφορά σε αυτήν την απόκριση μεταξύ των νορμοβαρών και των παχύσαρκων γυναικών. Αντίθετα, στη ΜΕΛΕΤΗ #7, παρατηρήθηκε ότι μία συνεδρία άσκησης στην ίδια ένταση και με την ίδια διάρκεια (1 ώρα στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$) είχε ως αποτέλεσμα μια αύξηση της τάξης του 55% στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στους άνδρες. Οι λόγοι για τους οποίους μία συνεδρία απογευματινής άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας επιτείνει το λιπολυτικό ρυθμό το επόμενο πρωί στους άνδρες αλλά όχι στις γυναίκες δεν είναι γνωστοί. Έχει αναφερθεί ότι μία συνεδρία αερόβιας άσκησης (90 λεπτά ποδηλασίας σε μέτρια ένταση) αυξάνει την ινσουλινοευαισθησία (η οποία μετρήθηκε με ευγλυκαιμικό-υπερινσουλιναϊμικό clamp βραχείας διάρκειας) για 3-4 ώρες μετά το τέλος της άσκησης στις γυναίκες αλλά όχι στους άνδρες, πιθανώς λόγω βελτιωμένης δράσης της ινσουλίνης στην περιφέρεια στις γυναίκες μετά την άσκηση [436]. Αν, λοιπόν, οι γυναίκες γίνονται περισσότερο ινσουλινοευαίσθητες μετά την άσκηση αλλά οι άνδρες όχι, θα περίμενε κανείς μεγαλύτερη καταστολή της λιπόλυσης στο λιπώδη ιστό από την ινσουλίνη στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες και άρα, μικρότερη απελευθέρωση FFA στην κυκλοφορία. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να εξηγήσει την αύξηση στο ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα το πρωί μετά την άσκηση στους άνδρες (ΜΕΛΕΤΗ #7) αλλά όχι στις γυναίκες (παρούσα μελέτη). Μια ένδειξη που υποστηρίζει αυτήν την υπόθεση είναι η σχετικά μεγαλύτερη πτώση στις συγκεντρώσεις ελεύθερης γλυκερόλης και FFA στο πλάσμα υπό την επίδραση εξωγενούς ινσουλίνης στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες (γεγονός που υποδηλώνει ότι οι γυναίκες είναι πιο ινσουλινοευαίσθητες και η λιπόλυση καταστέλλεται σε μεγαλύτερο βαθμό), λίγες ώρες μετά το τέλος μιας συνεδρίας άσκησης [436,437]. Αυτός ο υποθετικός μηχανισμός, βέβαια, δεν προϋποθέτει διαφορές μεταξύ των φύλων στη συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα αυτής καθεαυτής, η οποία άλλωστε δεν επηρεάστηκε από την άσκηση ούτε στους άνδρες (ΜΕΛΕΤΗ #7) ούτε και στις γυναίκες (παρούσα μελέτη). Είναι ενδιαφέρον ότι, σε αναλογία με την «αδυναμία» της άσκησης να διεγείρει τη λιπόλυση στις γυναίκες, άλλοι ερευνητές έχουν παρατηρήσει μια αντίστοιχη «αδυναμία» της παρατεταμένης νηστείας να διεγείρει τη λιπόλυση στις γυναίκες [438], πάντα σε σχέση με τους άνδρες. Μια άλλη πιθανή εξήγηση για τη διαφορετική λιπολυτική επίδραση της άσκησης μεταξύ των δύο φύλων μπορεί να είναι το γεγονός ότι οι ρυθμοί εμφάνισης FFA (ΜΕΛΕΤΗ #5) και γλυκερόλης [438] στο πλάσμα κατά το μεταπορροφητικό στάδιο, που αποτελούν δείκτες της λιπόλυσης στο λιπώδη ιστό και της διαθεσιμότητας FFA προς τους άλιπους ιστούς, είναι σημαντικά υψηλότεροι στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες (κατά 40-60%) και, κατά συνέπεια, το ερέθισμα της άσκησης μπορεί να μην ήταν αρκετό για να διεγείρει

παραιτέρω τους ήδη υψηλούς λιπολυτικούς ρυθμούς στις γυναίκες. Η τελευταία πιθανότητα στηρίζεται από τη συνολική θεώρηση των δεδομένων από τις ΜΕΛΕΤΕΣ #6, #7 και #8 (ΕΙΚΟΝΑ 5.8.5).



Εικόνα 5.8.5. Σχέση μεταξύ των ποσοστιαίων αλλαγών στη συγκέντρωση (επάνω) και το ρυθμό εμφάνισης (κάτω) ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) στο πλάσμα με τις αντίστοιχες τιμές των παραμέτρων αυτών κατά την ηρεμία (το πρωί μετά από ανάπαυση).



Για την ανάλυση αυτή, χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα των 22 εθελοντών που συμμετείχαν στις ΜΕΛΕΤΕΣ #6, #7 και #8 και επιπλέον τα δεδομένα από 3 παχύσαρκους άνδρες που ασκήθηκαν για 2 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$, 1 παχύσαρκο άνδρα που ασκήθηκε για 1 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$ και 1 μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα που ασκήθηκε για 1 h στο 60% της $\text{VO}_{2\text{peak}}$ (συνολικό N = 27). Για να διαπιστωθεί εάν και κατά πόσο ο μεταβολισμός των FFA κατά την ηρεμία (δηλαδή, το πρωί μετά από ανάπαυση) επηρεάζει την απόκριση στην άσκηση, διερευνήθηκαν οι σχέσεις μεταξύ της ποσοστιαίας διαφοράς στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης των FFA στο

πλάσμα (% διαφορά = [τιμή μετά από άσκηση – τιμή μετά από ανάπαυση] / τιμή μετά από ανάπαυση) με τη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης των FFA στο πλάσμα το πρωί μετά από ανάπαυση. Όπως φαίνεται, παρατηρήθηκαν σημαντικές αρνητικές συσχετίσεις που υποδηλώνουν ότι όσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση και ο ρυθμός εμφάνισης των FFA στο πλάσμα κατά την ηρεμία τόσο μικρότερες είναι οι αυξήσεις που προκαλεί η άσκηση. Μάλιστα, τα αποτελέσματα από ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης κατά βήμα (stepwise) υπέδειξαν ότι ο μεταβολισμός των FFA κατά την ηρεμία (μετά από ανάπαυση) – και όχι το φύλο ή η ενεργειακή δαπάνη της άσκησης – είναι ο σπουδαιότερος παράγοντας που καθορίζει την απόκριση στην άσκηση. Με βάση τον ίδιο συλλογισμό, ενδιαφέρουσες είναι και οι προεκτάσεις για το ρόλο του φύλου ως παράγοντα που μπορεί να επηρεάσει την απόκριση του μεταβολισμού των VLDL στην άσκηση. Στη ΜΕΛΕΤΗ #5 διαπιστώθηκε ότι, μεταξύ νορμοβαρών ατόμων, οι γυναίκες έχουν σημαντικά υψηλότερους ρυθμούς κάθαρσης VLDL-TG (κατά 50-70%) από την κυκλοφορία [138,139,163] και σημαντικά χαμηλότερους ρυθμούς παραγωγής VLDL-αποΒ-100 από το ήπαρ (κατά περίπου 20%) σε σχέση με τους άνδρες. Αναλύοντας τη σχέση μεταξύ των ηπατικών ρυθμών έκκρισης VLDL-TG και VLDL-αποΒ-100 προέκυψε ότι το περιεχόμενο των νεο-εκκρινόμενων σωματιδίων VLDL σε TG είναι παραπάνω από διπλάσιο στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες, υποδεικνύοντας ότι το ήπαρ των γυναικών παράγει λιγότερα σε αριθμό αλλά πλουσιότερα σε TG σωματίδια VLDL. Είναι ενδιαφέρον ότι, φαινοτυπικά, ο μεταβολισμός των VLDL στις γυναίκες κατά την ηρεμία (χαμηλότερες συγκεντρώσεις VLDL-TG και VLDL-αποΒ-100, υψηλότερη κάθαρση VLDL-TG, χαμηλότερος ρυθμός έκκρισης VLDL-αποΒ-100 και παραγωγή λιγότερων αλλά πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL) προσομοιάζει ακριβώς στις αλλαγές εκείνες που παρατηρήθηκαν στους άνδρες έπειτα από παρατεταμένη άσκηση (ΜΕΛΕΤΗ #6). Με βάση αυτό το σκεπτικό, μπορεί να υποθεθεί ότι οι γυναίκες θα είναι λιγότερο – και όχι περισσότερο – ευαίσθητες στην άσκηση, τουλάχιστον όσον αφορά σε εκείνες τις αλλαγές στο μεταβολισμό των VLDL που οδηγούν στην υποτριγλυκεριδαιμία. Ωστόσο, δεδομένα από μελέτες – οι οποίες όμως δε σχεδιάστηκαν για να απαντήσουν συγκεκριμένα σε αυτό το ερώτημα – συνιστούν ότι εφόσον το ερέθισμα της απογευματινής άσκησης είναι αρκετό, τότε η συγκέντρωση των TG νηστείας στο πλάσμα το επόμενο πρωί μειώνεται εξίσου και στα δύο φύλα [384,439]. Ίσως, λοιπόν, η υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης στις γυναίκες να έχει διαφορετική μηχανιστική βάση από αυτήν που περιγράφηκε στη ΜΕΛΕΤΗ #6 για τους άνδρες, για παράδειγμα, ενδεχομένως να οφείλεται σε ελαττωμένο ρυθμό έκκρισης VLDL-TG από το ήπαρ μετά την άσκηση. Αυτή η πιθανότητα δεν έχει εξεταστεί μέχρι σήμερα.

Συμπερασματικά, μία απογευματινή συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας δεν έχει καμία επίδραση στις συγκεντρώσεις και την κινητική συμπεριφορά των

VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος σε υγιείς, προεμμηνοπαυσιακές, απροπόνητες γυναίκες. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της ΜΕΛΕΤΗΣ #7 στους άνδρες, αυτή η ποσότητα άσκησης, που συνάδει με τις υπάρχουσες συστάσεις [410] δεν είναι αρκετή για να εγείρει εκείνες τις αλλαγές στο μεταβολισμό των VLDL που οδηγούν σε ελάττωση της συγκέντρωσης TG νηστείας στο πλάσμα.

6. Σύνοψη και μελλοντικές κατευθύνσεις

Στην παρούσα διατριβή, προσδιορίστηκε ο μεταβολισμός των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος κατά το μεταπορροφητικό στάδιο με τη χρήση σταθερών ισοτόπων ιχνηθέτησης. Διερευνήθηκε η εγκυρότητα αυτών των μεθόδων (ΜΕΛΕΤΗ #1), η επίδραση των φυσιολογικών διακυμάνσεων στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου στις γυναίκες (ΜΕΛΕΤΕΣ #2 και #3), η επίδραση των χρόνιων διαφορών στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (ΜΕΛΕΤΗ #4), αλλά και μεταξύ ανδρών και γυναικών (ΜΕΛΕΤΗ #5) και, τέλος, αξιολογήθηκε ο ρόλος της ενεργειακής δαπάνης και του φύλου στην απόκριση του μεταβολισμού των VLDL σε μία συνεδρία αερόβιας άσκησης (ΜΕΛΕΤΕΣ #6, #7 και #8).

Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών παρέχουν νέα δεδομένα σχετικά με τη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL, που μπορούν να συνοψισθούν ως εξής:

1. Η μέθοδος προσδιορισμού της κινητικής των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος με τη χρήση σταθερών ισοτόπων ιχνηθέτησης και ενός κοινού πολυδιαμερισματικού μοντέλου είναι επαρκώς επαναλήψιμη in vivo. Η μέση ενδοατομική διακύμανση στις διάφορες κινητικές παραμέτρους του μεταβολισμού των VLDL από ημέρα σε ημέρα κυμαίνεται μεταξύ 15% και 25% και είναι παρόμοιου μεγέθους με αυτή που έχει διαπιστωθεί για τη συγκέντρωση των TG στο πλάσμα (20-30%). Έτσι, για την ανεύρεση στατιστικά σημαντικών διαφορών στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 με φυσιολογική σημασία, απαιτούνται περίπου 6-10 άτομα για μελέτες με συζευγμένες παρατηρήσεις και 12-20 άτομα ανά ομάδα για διατμηματικές μελέτες με δύο ομάδες.
2. Οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στο πλάσμα κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου δεν έχουν καμία επίδραση στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης VLDL-TG και VLDL-apoB-100 και στο ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα. Επομένως, η μελέτη του μεταβολισμού των VLDL σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έχουν με φυσιολογικό έμμηνο κύκλο και

δεν κάνουν χρήση εξωγενών ορμονών, δεν προϋποθέτει αυστηρό έλεγχο για τη συγκεκριμένη φάση του κύκλου.

3. Σε παχύσαρκες γυναίκες, η εμμηνόπαυση σχετίζεται με σημαντικά αυξημένο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG, χωρίς ωστόσο μεταβολές στο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 ή το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα. Τα επιπρόσθετα VLDL-TG στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες παράγονται από λιπαρά οξέα που προέρχονται από μη συστηματικές πηγές (π.χ. λιπόλυση ενδοηπατικών TG, λιπόλυση των λιπαροθηκών στον ενδοκοιλιακό λιπώδη ιστό, ηπατική de novo λιπογένεση) και εκκρίνονται υπό τη μορφή μεγάλων και πλούσιων σε TG σωματιδίων VLDL. Το γεγονός αυτό μάλλον ευθύνεται και για το σημαντικά υψηλότερο ρυθμό απομάκρυνσης των VLDL-TG από την κυκλοφορία στις μετεμμηνοπαυσιακές σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, γιατί οι μεγάλες και πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες χάνουν TG με πολύ γρηγορότερο ρυθμό από ό,τι οι μικρές και φτωχές σε TG λιποπρωτεΐνες, κυρίως μέσω της δράσης της LPL. Ο αυξημένος ρυθμός απομάκρυνσης των VLDL-TG μετά την εμμηνόπαυση αντισταθμίζει τον επίσης αυξημένο ρυθμό ηπατικής παραγωγής VLDL-TG και έτσι, διατηρεί την ομοιόσταση στη συγκέντρωση των VLDL-TG στο πλάσμα. Διαταραγμένοι και ανεπαρκείς μηχανισμοί κάθαρσης VLDL-TG πιθανώς να ευθύνονται για τις γενικά υψηλότερες συγκεντρώσεις TG που παρατηρούνται στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Σε κάθε περίπτωση, η διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα, η ινσουλίνη και οι συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου δε φαίνεται να ευθύνονται, τουλάχιστον άμεσα, για τις διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL.
4. Μεταξύ ατόμων με φυσιολογικό βάρος, οι γυναίκες έχουν χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-apoB-100 από ό,τι οι άνδρες λόγω μειωμένης έκκρισης VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Ακόμα, οι γυναίκες έχουν χαμηλότερη συγκέντρωση VLDL-TG σε σχέση με τους άνδρες λόγω αυξημένης απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία, η οποία όχι μόνο αντισταθμίζει αλλά και υπερκεράζει τον επίσης υψηλότερο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ στις γυναίκες. Η πιο αποτελεσματική απομάκρυνση VLDL-TG στις γυναίκες μάλλον σχετίζεται με την έκκριση λιγότερων σε αριθμό αλλά πλουσιότερων σε TG σωματιδίων VLDL, τα οποία πιθανώς να υδρολύονται ταχύτερα από την LPL του λιπώδους ιστού και του σκελετικού μυ σε σχέση με τους άνδρες. Αν και η διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα είναι μεγαλύτερη στις γυναίκες από ό,τι στους

άνδρες, αυτό μόνο εν μέρει μπορεί να εξηγήσει τον υψηλότερο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG, ενώ μάλιστα έρχεται σε αντίθεση με το μειωμένο ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100. Η ινσουλίνη και οι ορμόνες του φύλου επίσης δε φαίνεται να σχετίζονται άμεσα με τις διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στο μεταβολισμό των VLDL.

5. Η υποτριγλυκεριδαιμική δράση της αερόβιας άσκησης, που παρατηρείται συνηθέστερα 1 ημέρα μετά το τέλος μίας και μόνο συνεδρίας άσκησης, οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG από την κυκλοφορία, χωρίς μεταβολή στο ρυθμό παραγωγής VLDL-TG από το ήπαρ. Ωστόσο, η άσκηση ελαττώνει το ρυθμό ηπατικής παραγωγής VLDL-apoB-100, κάτι που ενδεχομένως να σχετίζεται με αυξημένη φλεγμονή στο ήπαρ. Η υψηλότερη συγκέντρωση της LPL και η έκκριση λιγότερων σωματιδίων VLDL με περισσότερα TG μετά την άσκηση (γεγονός που ευνοεί τη δράση της LPL), πιθανώς να ευθύνονται για την ταχύτερη απομάκρυνση των VLDL-TG από την κυκλοφορία λόγω αυξημένης ενδοαγγειακής λιπόλυσης. Ωστόσο, τα παρακάτω βήματα του λιπολυτικού μονοπατιού δεν επιταχύνονται ανάλογα, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση σωματιδίων IDL στο πλάσμα.
6. Οι επιδράσεις της άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL είναι δοσοεξαρτώμενες, καθώς παρατηρούνται μετά από μία παρατεταμένη συνεδρία άσκησης σε μέτρια ένταση (2 ώρες στο 60% της VO_{2peak}) αλλά όχι μετά από μία συνεδρία στην ίδια ένταση αλλά με τη μισή μόνο διάρκεια (1 ώρα στο 60% της VO_{2peak}). Έτσι, το κατώφλιο ενέργειας που πρέπει να δαπανηθεί σε μία συνεδρία άσκησης για την πρόκληση όλων εκείνων των μεταβολών στην κινητική των VLDL που οδηγούν σε υποτριγλυκεριδαιμία βρίσκεται άνω των 500 kcal.
7. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης σε μέτρια ένταση προκαλεί σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση και το ρυθμό εμφάνισης FFA στο πλάσμα το επόμενο πρωί σε απροπύνητους άνδρες, ανεξάρτητα από τη διάρκειά της (1 ή 2 ώρες στο 60% της VO_{2peak}). Επομένως, η παρατεταμένη λιπολυτική δράση της άσκησης δεν είναι δοσοεξαρτώμενη, ούτε και φαίνεται να σχετίζεται με αλλαγές στις συγκεντρώσεις διαφόρων ορμονών, κυτοκινών και αντιποκινών με λιπολυτική ή αντιλιπολυτική δράση. Η αυξημένη διαθεσιμότητα FFA στο πλάσμα μετά την άσκηση δεν επηρεάζει το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ.

8. Μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας (1 ώρα στο 60% της VO_{2peak}) δεν έχει καμία επίδραση στο μεταβολισμό των FFA, των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε απροπόνητες προεμμηνοπαυσιακές, νορμοβαρείς και παχύσαρκες γυναίκες. Οι γυναίκες, λοιπόν, είναι λιγότερο ευαίσθητες στη λιπολυτική δράση της άσκησης από ό,τι οι άνδρες, αλλά αυτό μάλλον είναι απόρροια της ήδη υψηλότερης διαθεσιμότητας FFA στο πλάσμα στις γυναίκες (κατά την ηρεμία, πριν από την άσκηση).

Αν και τα αποτελέσματα αυτά παρέχουν σημαντικές νέες πληροφορίες σχετικά με τη ρύθμιση του μεταβολισμού των VLDL στον άνθρωπο, παράλληλα, γεννούν πλήθος νέων ερωτημάτων που πρέπει να αποτελέσουν αντικείμενο μελλοντικών ερευνών.

Οι φυσιολογικές διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου στις γυναίκες δε συνεπάγονται αλλαγές στο μεταβολισμό των VLDL-TG, της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος. Αν και αυτό το εύρημα έχει ιδιαίτερη πρακτική σημασία, είναι πιθανό οι ορμονικές αυτές διακυμάνσεις να μην είναι αρκετά μεγάλες ώστε να προκαλέσουν μετρήσιμες μεταβολές. Οι χρόνιες διαφορές στις συγκεντρώσεις των ορμονών του φύλου μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών συνυπάρχουν με σημαντικές διαφορές στο μεταβολισμό των VLDL-TG, αλλά όχι της VLDL-apoB-100 και των FFA του πλάσματος. Μία εναλλακτική προσέγγιση που μπορεί να ακολουθηθεί στο μέλλον είναι η χρήση ανταγωνιστών της εκλυτικής γοναδοτρόπου ορμόνης (GnRH) σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Οι ανταγωνιστές της GnRH καταστέλλουν άμεσα την παραγωγή ενδογενών ορμονών του φύλου και προκαλούν έτσι υπογοναδισμό παρόμοιο με αυτόν της εμμηνόπαυσης, επιτρέποντας τη μελέτη των επιδράσεων της έλλειψης οιστραδιόλης και προγεστερόνης στο μεταβολισμό [440]. Μπορεί, λοιπόν, να διερευνηθεί αν και με ποιο τρόπο η σχεδόν ολοκληρωτική απουσία των ορμονών του φύλου στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες επηρεάζει το μεταβολισμό των VLDL και να ερμηνευθούν οι επιδράσεις της ένδειας των ορμονών αυτών στα πλαίσια της εμμηνόπαυσης, κάτω από πιο ελεγχόμενες πειραματικές συνθήκες (σε σχέση με τις φυσιολογικές διακυμάνσεις στις ορμόνες του φύλου κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου ή λόγω εμμηνόπαυσης).

Ένα ερώτημα που παραμένει να απαντηθεί είναι το εάν οι διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης των VLDL-TG οφείλονται στο διαφορετικό ορμονικό περιβάλλον, ή εάν οφείλονται στη

διαφορετική επίδραση της παχυσαρκίας πριν και μετά την εμμηνόπαυση. Δεδομένα από προηγούμενες μελέτες υποδεικνύουν ότι, στους άνδρες, η παχυσαρκία αυξάνει το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό απομάκρυνσης ενώ, στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η παχυσαρκία ελαττώνει το ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό παραγωγής [163]. Επομένως, οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών μπορούν να εξηγηθούν εύκολα αν η παχυσαρκία μετά την εμμηνόπαυση αυξάνει το ρυθμό παραγωγής VLDL-TG (όπως στους άνδρες), ενώ πριν την εμμηνόπαυση μειώνει το ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TG (όπως έχει ήδη δειχθεί). Η υπόθεση αυτή μπορεί να ελεγχθεί μελετώντας το μεταβολισμό των VLDL σε νορμοβαρείς προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Είναι γεγονός ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις VLDL-TG και VLDL-apoB-100 στο πλάσμα [377]. Ωστόσο, οι μηχανισμοί που οδηγούν σε υπερτριγλυκεριδαιμία είναι διαφορετικοί μεταξύ ανδρών και γυναικών [163]. Παραμένει, όμως, ακόμα άγνωστο αν οι αυξημένες συγκεντρώσεις VLDL σωματιδίων (δηλαδή, VLDL-apoB-100) στα παχύσαρκα άτομα οφείλονται στους ίδιους υποκείμενους μηχανισμούς και στα δύο φύλα. Για να απαντηθεί αυτό το ερώτημα, θα πρέπει να προσδιοριστεί η κινητική της VLDL-apoB-100 σε παχύσαρκα άτομα και των δύο φύλων. Επιπρόσθετα, σε όλες αυτές τις διατμηματικές μελέτες, ο προσδιορισμός του ενδοκοιλιακού λίπους και του ενδοηπατικού λίπους με τεχνικές MRI (απεικόνιση NMR) και MRS (φασματοσκοπία NMR), αντίστοιχα, θα επιτρέψει την πιο λεπτομερή διερεύνηση του ρόλου των μη συστηματικών πηγών λιπαρών οξέων στην παραγωγή VLDL-TG και VLDL-apoB-100 από το ήπαρ.

Αναφορικά με την άσκηση, ένα ενδιαφέρον ερώτημα που γεννάται έχει να κάνει με τον ακριβή μηχανισμό με τον οποίο η άσκηση ελαττώνει το ρυθμό παραγωγής VLDL-apoB-100 από το ήπαρ. Αν δηλαδή αυτό οφείλεται σε αυξημένη φλεγμονή του ήπατος μετά την άσκηση ή σε άλλους παράγοντες (π.χ. αυξημένη ηπατική ινσουλινοευαισθησία). Ο προσδιορισμός μιας ποικιλίας φλεγμονωδών παραγόντων και δεικτών οξειδωτικού στρες ενδέχεται να βοηθήσει προς αυτήν την κατεύθυνση. Επίσης, η διερεύνηση των χαρακτηριστικών εκείνων που καθιστούν ορισμένα άτομα περισσότερο ή λιγότερο ευαίσθητα στην υποτριγλυκεριδαιμική δράση της άσκησης (π.χ. αρχικές συγκεντρώσεις λιπιδίων, φυσική κατάσταση, κλπ.) καθώς και των χαρακτηριστικών της άσκησης (π.χ. αερόβια άσκηση έναντι άσκησης με αντιστάσεις, συνδυασμός έντασης και διάρκειας, οξεία άσκηση έναντι τακτικής άσκησης, κλπ.) είναι πρωταρχικής σημασίας για το σχεδιασμό προγραμμάτων άσκησης που στοχεύουν στην

αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας. Ακόμα, παραμένει άγνωστο αν και κατά πόσον το αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο που προκαλεί η άσκηση είναι αυτό καθαυτό υπεύθυνο για τις αλλαγές στο μεταβολισμό των VLDL. Η διερεύνηση αυτής της πιθανότητας μπορεί να γίνει μελετώντας την επίδραση ενός ισόποσου θερμιδικού ελλείμματος λόγω δίαιτας σε σχέση με την επίδραση της άσκησης, καθώς και την επίδραση της άσκησης όταν οι θερμίδες που δαπανώνται αναπληρώνονται με αυξημένη πρόσληψη τροφής. Τέλος, οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την παρατεταμένη λιπολυτική δράση της άσκησης και την αυξημένη διαθεσιμότητα FFA χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης, καθώς δε φαίνεται να σχετίζονται με αλλαγές στις συγκεντρώσεις μιας ποικιλίας γνωστών παραγόντων με λιπολυτική ή αντιλιπολυτική δράση, όπως η ινσουλίνη, η αυξητική ορμόνη, διάφορες κυτοκίνες και αντιποκίνες.

7. Επύλογος

Τα αποτελέσματα από τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής απαντούν σε αρκετά μέχρι σήμερα άγνωστα ερωτήματα σχετικά με το ρόλο του φύλου, των ορμονών του φύλου, της εμμηνόπαυσης και της άσκησης στο μεταβολισμό των VLDL, ενώ γεννούν πλήθος νέων. Αναμένεται, λοιπόν, να βοηθήσουν σημαντικά στην περαιτέρω κατανόηση της ρύθμισης του μεταβολισμού των VLDL-TG και της VLDL-apoB-100 σε μια ποικιλία φυσιολογικών καταστάσεων. Οι VLDL αποτελούν κομβικό σημείο για την ομοιοστάση των διαφόρων λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα. Για το λόγο αυτό, η αποκρυπτογράφηση και η κατανόηση της ρύθμισης του μεταβολισμού των VLDL αποτελεί όχι μόνο μια ενδιαφέρουσα ερευνητική πρόκληση, αλλά παράλληλα, ενδέχεται να έχει και χρήσιμες κλινικές προεκτάσεις.

8. Βιβλιογραφία

- 1 Kochanek KD, Murphy SL, Anderson RN, Scott C. Deaths: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep* 2004, **53** (5): 1-115.
- 2 Chimonas ET. The treatment of coronary heart disease: an update. Part 2: Mortality trends and main causes of death in the Greek population. *Curr Med Res Opin* 2001, **17** (1): 27-33.
- 3 Kafatos A, Papoutsakis G. Mortality rates in Greece and their relationship to the mediterranean diet and to health and nutrition education. *Iatriki* 1998, **73** (4): 287-301.
- 4 Pilote L, Dasgupta K, Guru V, Humphries KH, McGrath J, Norris C, Rabi D, Tremblay J, Alamian A, Barnett T, Cox J, Ghali WA, Grace S, Hamet P, Ho T, Kirkland S, Lambert M, Libersan D, O'Loughlin J, Paradis G, Petrovich M, Tagalakakis V. A comprehensive view of sex-specific issues related to cardiovascular disease. *CMAJ* 2007, **176** (6): S1-44 [Διόρθωση: *CMAJ* 2007, **176** (9): 1310].
- 5 Kalin MF, Zumoff B. Sex hormones and coronary disease: a review of the clinical studies. *Steroids* 1990, **55** (8): 330-352.
- 6 Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, Gordon T. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *Ann Intern Med* 1976, **85** (4): 447-452.
- 7 Kannel WB, Wilson PW. Risk factors that attenuate the female coronary disease advantage. *Arch Intern Med* 1995, **155** (1): 57-61.
- 8 Barrett-Connor E. Sex differences in coronary heart disease. Why are women so superior? The 1995 Ancel Keys Lecture. *Circulation* 1997, **95** (1): 252-264.
- 9 Wannamethee SG, Shaper AG. Physical activity in the prevention of cardiovascular disease: an epidemiological perspective. *Sports Med* 2001, **31** (2): 101-114.
- 10 Berlin JA, Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 1990, **132** (4): 612-628.
- 11 Powell KE, Thompson PD, Caspersen CJ, Kendrick JS. Physical activity and the incidence of coronary heart disease. *Annu Rev Public Health* 1987, **8**: 253-287.
- 12 Manson JE, Hu FB, Rich-Edwards JW, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of walking as compared with vigorous exercise

- in the prevention of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1999, **341** (9): 650-658.
- 13 US Department of Health and Human Services. Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 1996.
 - 14 National Cholesterol Education Program. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002, **106** (25): 3143-3421.
 - 15 Demacker PN. The metabolic syndrome: definition, pathogenesis and therapy. *Eur J Clin Invest* 2007, **37** (2): 85-89.
 - 16 Grundy SM. Does a diagnosis of metabolic syndrome have value in clinical practice? *Am J Clin Nutr* 2006, **83** (6): 1248-1251.
 - 17 Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991, **11** (1): 2-14.
 - 18 Austin MA. Plasma triglyceride as a risk factor for cardiovascular disease. *Can J Cardiol* 1998, **14** (Suppl B): 14B-17B.
 - 19 Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 1998, **81** (4A): 7B-12B.
 - 20 Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996, **3** (2): 213-219.
 - 21 Castelli WP. Epidemiology of triglycerides: a view from Framingham. *Am J Cardiol* 1992, **70** (19): 3H-9H.
 - 22 Contois JH, McNamara JR, Lammi-Keefe CJ, Wilson PW, Massov T, Schaefer EJ. Reference intervals for plasma apolipoprotein B determined with a standardized commercial immuno-turbidimetric assay: results from the Framingham Offspring Study. *Clin Chem* 1996, **42** (4): 515-523.
 - 23 Freedman DS, Otvos JD, Jeyarajah EJ, Shalurova I, Cupples LA, Parise H, D'Agostino RB, Wilson PW, Schaefer EJ. Sex and age differences in lipoprotein subclasses measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy: the Framingham Study. *Clin Chem* 2004, **50** (7): 1189-1200.

- 24 Johnson JL, Slentz CA, Duscha BD, Samsa GP, McCartney JS, Houmard JA, Kraus WE. Gender and racial differences in lipoprotein subclass distributions: the STRRIDE study. *Atherosclerosis* 2004, **176** (2): 371-377.
- 25 Jungner I, Marcovina SM, Walldius G, Holme I, Kolar W, Steiner E. Apolipoprotein B and A-I values in 147576 Swedish males and females, standardized according to the World Health Organization-International Federation of Clinical Chemistry First International Reference Materials. *Clin Chem* 1998, **44** (8 Pt 1): 1641-1649.
- 26 Gaspard UJ, Gottal JM, van den Brule FA. Postmenopausal changes of lipid and glucose metabolism: a review of their main aspects. *Maturitas* 1995, **21** (3): 171-178.
- 27 Gorodeski GI. Impact of the menopause on the epidemiology and risk factors of coronary artery heart disease in women. *Exp Gerontol* 1994, **29** (3-4): 357-375.
- 28 Durstine JL, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, DuBose KD. Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. *Sports Med* 2001, **31** (15): 1033-1062.
- 29 Wahl PW, Warnick GR, Albers JJ, Hoover JJ, Walden CE, Bergelin RO, Ogilvie JT, Hazzard WR, Knopp RH. Distribution of lipoproteins triglyceride and lipoprotein cholesterol in an adult population by age, sex, and hormone use. The Pacific Northwest Bell Telephone Company health survey. *Atherosclerosis* 1981, **39** (1): 111-124.
- 30 Phillips NR, Havel RJ, Kane JP. Sex-related differences in the concentrations of apolipoprotein E in human blood plasma and plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 1983, **24** (11): 1525-1531.
- 31 Carlson LA, Ericsson M. Quantitative and qualitative serum lipoprotein analysis. Part 1. Studies in healthy men and women. *Atherosclerosis* 1975, **21** (3): 417-433.
- 32 Annuzzi G, Jansson E, Kaijser L, Holmquist L, Carlson LA. Increased removal rate of exogenous triglycerides after prolonged exercise in man: time course and effect of exercise duration. *Metabolism* 1987, **36** (5): 438-443.
- 33 Carlson LA, Mossfeldt F. Acute effects of prolonged, heavy exercise on the concentration of plasma lipids and lipoproteins in man. *Acta Physiol Scand* 1964, **62** (1): 51-59.
- 34 Frey I, Baumstark MW, Berg A. Acute and delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. I. Composition and distribution of high density lipoprotein subfractions. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1993, **66** (6): 521-525.

- 35 Gill JM, Frayn KN, Wootton SA, Miller GJ, Hardman AE. Effects of prior moderate exercise on exogenous and endogenous lipid metabolism and plasma factor VII activity. *Clin Sci (Lond)* 2001, **100** (5): 517-527.
- 36 Gynzelberg F, Brennan R, Holloszy JO, Schonfeld G, Rennie MJ, Weidman SW. Plasma triglyceride lowering by exercise despite increased food intake in patients with type IV hyperlipoproteinemia. *Am J Clin Nutr* 1977, **30** (5): 716-720.
- 37 Malkova D, Evans RD, Frayn KN, Humphreys SM, Jones PR, Hardman AE. Prior exercise and postprandial substrate extraction across the human leg. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000, **279** (5): E1020-1028.
- 38 Weintraub MS, Eisenberg S, Breslow JL. Different patterns of postprandial lipoprotein metabolism in normal, type IIa, type III, and type IV hyperlipoproteinemic individuals. Effects of treatment with cholestyramine and gemfibrozil. *J Clin Invest* 1987, **79** (4): 1110-1119.
- 39 Millar JS, Packard CJ. Heterogeneity of apolipoprotein B-100-containing lipoproteins: what we have learnt from kinetic studies. *Curr Opin Lipidol* 1998, **9** (3): 197-202.
- 40 Packard CJ. Small dense low-density lipoprotein and its role as an independent predictor of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006, **17** (4): 412-417.
- 41 Rashid S, Watanabe T, Sakaue T, Lewis GF. Mechanisms of HDL lowering in insulin resistant, hypertriglyceridemic states: the combined effect of HDL triglyceride enrichment and elevated hepatic lipase activity. *Clin Biochem* 2003, **36** (6): 421-429.
- 42 Schaefer EJ, Eisenberg S, Levy RI. Lipoprotein apoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1978, **19** (6): 667-687.
- 43 Elovson J, Chatterton JE, Bell GT, Schumaker VN, Reuben MA, Puppione DL, Reeve JR, Jr., Young NL. Plasma very low density lipoproteins contain a single molecule of apolipoprotein B. *J Lipid Res* 1988, **29** (11): 1461-1473.
- 44 Law SW, Grant SM, Higuchi K, Hospattankar A, Lackner K, Lee N, Brewer HB, Jr. Human liver apolipoprotein B-100 cDNA: complete nucleic acid and derived amino acid sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986, **83** (21): 8142-8146.
- 45 Alexander CA, Hamilton RL, Havel RJ. Subcellular localization of B apoprotein of plasma lipoproteins in rat liver. *J Cell Biol* 1976, **69** (2): 241-263.
- 46 Shelness GS, Sellers JA. Very-low-density lipoprotein assembly and secretion. *Curr Opin Lipidol* 2001, **12** (2): 151-157.

- 47 Gordon DA, Wetterau JR, Gregg RE. Microsomal triglyceride transfer protein: a protein complex required for the assembly of lipoprotein particles. *Trends Cell Biol* 1995, **5** (8): 317-321.
- 48 Brodsky JL, Gusarova V, Fisher EA. Vesicular trafficking of hepatic apolipoprotein B100 and its maturation to very low-density lipoprotein particles; studies from cells and cell-free systems. *Trends Cardiovasc Med* 2004, **14** (4): 127-132.
- 49 Yao Z, Tran K, McLeod RS. Intracellular degradation of newly synthesized apolipoprotein B. *J Lipid Res* 1997, **38** (10): 1937-1953.
- 50 Shelness GS, Ingram MF, Huang XF, DeLozier JA. Apolipoprotein B in the rough endoplasmic reticulum: translation, translocation and the initiation of lipoprotein assembly. *J Nutr* 1999, **129** (2S Suppl): 456S-462S.
- 51 Gibbons GF. Assembly and secretion of hepatic very-low-density lipoprotein. *Biochem J* 1990, **268** (1): 1-13.
- 52 Zhao Y, McCabe JB, Vance J, Berthiaume LG. Palmitoylation of apolipoprotein B is required for proper intracellular sorting and transport of cholesteryl esters and triglycerides. *Mol Biol Cell* 2000, **11** (2): 721-734.
- 53 Hebbachi AM, Gibbons GF. Microsomal membrane-associated apoB is the direct precursor of secreted VLDL in primary cultures of rat hepatocytes. *J Lipid Res* 2001, **42** (10): 1609-1617.
- 54 Gibbons GF, Khurana R, Odwell A, Seelaender MC. Lipid balance in HepG2 cells: active synthesis and impaired mobilization. *J Lipid Res* 1994, **35** (10): 1801-1808.
- 55 Wu X, Shang A, Jiang H, Ginsberg HN. Low rates of apoB secretion from HepG2 cells result from reduced delivery of newly synthesized triglyceride to a "secretion-coupled" pool. *J Lipid Res* 1996, **37** (6): 1198-1206.
- 56 Gibbons GF, Bartlett SM, Sparks CE, Sparks JD. Extracellular fatty acids are not utilized directly for the synthesis of very-low-density lipoprotein in primary cultures of rat hepatocytes. *Biochem J* 1992, **287** (Pt 3): 749-753.
- 57 Gibbons GF, Islam K, Pease RJ. Mobilisation of triacylglycerol stores. *Biochim Biophys Acta* 2000, **1483** (1): 37-57.
- 58 Abo-Hashema KA, Cake MH, Power GW, Clarke D. Evidence for triacylglycerol synthesis in the lumen of microsomes via a lipolysis-esterification pathway involving carnitine acyltransferases. *J Biol Chem* 1999, **274** (50): 35577-35582.

- 59 Packard CJ. Understanding coronary heart disease as a consequence of defective regulation of apolipoprotein B metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1999, **10** (3): 237-244.
- 60 Garfinkel AS, Kempner ES, Ben-Zeev O, Nikazy J, James SJ, Schotz MC. Lipoprotein lipase: size of the functional unit determined by radiation inactivation. *J Lipid Res* 1983, **24** (6): 775-780.
- 61 Otarod JK, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and its role in regulation of plasma lipoproteins and cardiac risk. *Curr Atheroscler Rep* 2004, **6** (5): 335-342.
- 62 Rader DJ, Dugi KA. The endothelium and lipoproteins: insights from recent cell biology and animal studies. *Semin Thromb Hemost* 2000, **26** (5): 521-528.
- 63 Breckenridge WC. The catabolism of very low density lipoproteins. *Can J Biochem Cell Biol* 1985, **63** (8): 890-897.
- 64 Miles JM, Park YS, Walewicz D, Russell-Lopez C, Windsor S, Isley WL, Coppack SW, Harris WS. Systemic and forearm triglyceride metabolism: fate of lipoprotein lipase-generated glycerol and free fatty acids. *Diabetes* 2004, **53** (3): 521-527.
- 65 Bengtsson G, Olivecrona T. Lipoprotein lipase. Mechanism of product inhibition. *Eur J Biochem* 1980, **106** (2): 557-562.
- 66 Ginsberg HN. Lipoprotein physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998, **27** (3): 503-519.
- 67 LaRosa JC, Levy RI, Herbert P, Lux SE, Fredrickson DS. A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 1970, **41** (1): 57-62.
- 68 Le NA, Gibson JC, Ginsberg HN. Independent regulation of plasma apolipoprotein C-II and C-III concentrations in very low density and high density lipoproteins: implications for the regulation of the catabolism of these lipoproteins. *J Lipid Res* 1988, **29** (5): 669-677.
- 69 Breckenridge WC, Little JA, Steiner G, Chow A, Poapst M. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Engl J Med* 1978, **298** (23): 1265-1273.
- 70 Saku K, Cedres C, McDonald B, Hynd BA, Liu BW, Srivastava LS, Kashyap ML. C-II anapolipoproteinemia and severe hypertriglyceridemia. Report of a rare case with absence of C-II apolipoprotein isoforms and review of the literature. *Am J Med* 1984, **77** (3): 457-462.

- 71 Wang CS, McConathy WJ, Kloer HU, Alaupovic P. Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III. *J Clin Invest* 1985, **75** (2): 384-390.
- 72 Brown WV, Baginsky ML. Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochem Biophys Res Commun* 1972, **46** (2): 375-382.
- 73 Ginsberg HN, Le NA, Goldberg IJ, Gibson JC, Rubinstein A, Wang-Iverson P, Norum R, Brown WV. Apolipoprotein B metabolism in subjects with deficiency of apolipoproteins CIII and AI. Evidence that apolipoprotein CIII inhibits catabolism of triglyceride-rich lipoproteins by lipoprotein lipase in vivo. *J Clin Invest* 1986, **78** (5): 1287-1295.
- 74 Shachter NS. Apolipoproteins C-I and C-III as important modulators of lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2001, **12** (3): 297-304.
- 75 Hesler CB, Swenson TL, Tall AR. Purification and characterization of a human plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Biol Chem* 1987, **262** (5): 2275-2282.
- 76 Hesler CB, Tall AR, Swenson TL, Weech PK, Marcel YL, Milne RW. Monoclonal antibodies to the Mr 74,000 cholesteryl ester transfer protein neutralize all of the cholesteryl ester and triglyceride transfer activities in human plasma. *J Biol Chem* 1988, **263** (11): 5020-5023.
- 77 Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res* 1993, **34** (8): 1255-1274.
- 78 Yen FT, Deckelbaum RJ, Mann CJ, Marcel YL, Milne RW, Tall AR. Inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity by monoclonal antibody. Effects on cholesteryl ester formation and neutral lipid mass transfer in human plasma. *J Clin Invest* 1989, **83** (6): 2018-2024.
- 79 Morton RE, Zilversmit DB. Inter-relationship of lipids transferred by the lipid-transfer protein isolated from human lipoprotein-deficient plasma. *J Biol Chem* 1983, **258** (19): 11751-11757.
- 80 Glomset JA. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res* 1968, **9** (2): 155-167.
- 81 Cheung MC, Wolf AC, Lum KD, Tollefson JH, Albers JJ. Distribution and localization of lecithin:cholesterol acyltransferase and cholesteryl ester transfer activity in A-I-containing lipoproteins. *J Lipid Res* 1986, **27** (11): 1135-1144.

- 82 Morton RE. Binding of plasma-derived lipid transfer protein to lipoprotein substrates. The role of binding in the lipid transfer process. *J Biol Chem* 1985, **260** (23): 12593-12599.
- 83 Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta* 1999, **286** (1-2): 243-255.
- 84 Zambon A, Bertocco S, Vitturi N, Polentarutti V, Vianello D, Crepaldi G. Relevance of hepatic lipase to the metabolism of triacylglycerol-rich lipoproteins. *Biochem Soc Trans* 2003, **31** (Pt 5): 1070-1074.
- 85 Volwiler W, Goldsworthy PD, Macmartin MP, Wood PA, Mackay IR, Fremont-Smith K. Biosynthetic determination with radioactive sulfur of turnover rates of various plasma proteins in normal and cirrhotic man. *J Clin Invest* 1955, **34** (7 Pt 1): 1126-1146.
- 86 Gitlin D, Cornwell DG, Nakasato D, Oncley JL, Hughes WL, Janeway CA. Studies on the metabolism of plasma proteins in nephrotic syndrome. II. The lipoproteins. *J Clin Invest* 1958, **37** (5): 720-729.
- 87 Young VR, Ajami A. The Rudolf Schoenheimer Centenary Lecture. Isotopes in nutrition research. *Proc Nutr Soc* 1999, **58** (1): 15-32.
- 88 Rennie MJ. An introduction to the use of tracers in nutrition and metabolism. *Proc Nutr Soc* 1999, **58** (4): 935-944.
- 89 Wolfe RR. Radioactive and Stable Isotope Tracers in Biomedicine: Principles and Practice of Kinetic Analysis. New York, NY: Wiley-Liss, 1992.
- 90 Patterson BW. Use of stable isotopically labeled tracers for studies of metabolic kinetics: an overview. *Metabolism* 1997, **46** (3): 322-329.
- 91 Jones PJ, Leatherdale ST. Stable isotopes in clinical research: safety reaffirmed. *Clin Sci (Lond)* 1991, **80** (4): 277-280.
- 92 Klein PD, Klein ER. Stable isotopes: origins and safety. *J Clin Pharmacol* 1986, **26** (6): 378-382.
- 93 Wilson PD, Dainty JR. Modelling in nutrition: an introduction. *Proc Nutr Soc* 1999, **58** (1): 133-138.
- 94 Cobelli C, Foster D, Toffolo G. Tracer Kinetics in Biomedical Research: From Data to Model. New York, NY: Plenum Publications 2001.

- 95 Sakurai Y, Ochiai M, Funabiki T. Assessment of in vivo glucose kinetics using stable isotope tracers to determine their alteration in humans during critical illness. *Surg Today* 2000, **30** (1): 1-10.
- 96 Carraro F, Rosenblatt J, Wolfe RR. Isotopic determination of fibronectin synthesis in humans. *Metabolism* 1991, **40** (6): 553-561.
- 97 Berman M. Kinetic modeling in physiology. *FEBS Lett* 1969, **2** (Suppl 1): S56-S57.
- 98 Burnett JR, Barrett PH. Apolipoprotein B metabolism: tracer kinetics, models, and metabolic studies. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2002, **39** (2): 89-137.
- 99 Cobelli C, Foster DM. Compartmental models: theory and practice using the SAAM II software system. *Adv Exp Med Biol* 1998, **445**: 79-101.
- 100 Barrett PH, Bell BM, Cobelli C, Golde H, Schumitzky A, Vicini P, Foster DM. SAAM II: Simulation, Analysis, and Modeling Software for tracer and pharmacokinetic studies. *Metabolism* 1998, **47** (4): 484-492.
- 101 Berman M. Kinetic analysis of turnover data. *Prog Biochem Pharmacol* 1979, **15**: 67-108.
- 102 Berman M. Kinetic analysis and modeling: theory and applications to lipoproteins. Στο: Berman M, Grundy SM, Howard BV, eds. *Lipoprotein Kinetics and Modeling*. New York, NY: Academic Press, 1982: 3-36.
- 103 Magkos F, Sidossis LS. Measuring very low density lipoprotein-triglyceride kinetics in man in vivo: how different the various methods really are. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004, **7** (5): 547-555.
- 104 McFarlane AS. Efficient trace-labelling of proteins with iodine. *Nature* 1958, **182** (4627): 53.
- 105 Ramakrishnan R, Arad Y, Wong S, Ginsberg HN. Nonuniform radiolabeling of VLDL apolipoprotein B: implications for the analysis of studies of the kinetics of the metabolism of lipoproteins containing apolipoprotein B. *J Lipid Res* 1990, **31** (6): 1031-1042.
- 106 Beckers EJ, Halliday D, Wagenmakers AJ. Glucose metabolism and radioactive labeling: what are the real dangers? *Med Sci Sports Exerc* 1994, **26** (11): 1316-1318.
- 107 Beltz WF, Kesaniemi YA, Howard BV, Grundy SM. Development of an integrated model for analysis of the kinetics of apolipoprotein B in plasma very low density lipoproteins, intermediate density lipoproteins, and low density lipoproteins. *J Clin Invest* 1985, **76** (2): 575-585.

- 1108 Streja D, Kallai MA, Steiner G. The metabolic heterogeneity of human very low density lipoprotein triglyceride. *Metabolism* 1977, **26** (12): 1333-1344.
- 1109 Schaefer JR, Rader DJ, Brewer HB, Jr. Investigation of lipoprotein kinetics using endogenous labeling with stable isotopes. *Curr Opin Lipidol* 1992, **3** (3): 227-232.
- 1110 Watson TD. New in-vivo techniques for measuring lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1995, **6** (3): 182-186.
- 1111 Ramakrishnan R. Studying apolipoprotein turnover with stable isotope tracers: correct analysis is by modeling enrichments. *J Lipid Res* 2006, **47** (12): 2738-2753.
- 1112 Fisher WR, Venkatakrishnan V, Fisher ES, Stacpoole PW, Zech LA. The ³H-leucine tracer: its use in kinetic studies of plasma lipoproteins. *Metabolism* 1997, **46** (3): 333-342.
- 1113 Lichtenstein AH, Cohn JS, Hachey DL, Millar JS, Ordovas JM, Schaefer EJ. Comparison of deuterated leucine, valine, and lysine in the measurement of human apolipoprotein A-I and B-100 kinetics. *J Lipid Res* 1990, **31** (9): 1693-1701.
- 1114 Parhofer KG, Hugh P, Barrett R, Bier DM, Schonfeld G. Determination of kinetic parameters of apolipoprotein B metabolism using amino acids labeled with stable isotopes. *J Lipid Res* 1991, **32** (8): 1311-1323.
- 1115 Patterson BW, Hachey DL, Cook GL, Amann JM, Klein PD. Incorporation of a stable isotopically labeled amino acid into multiple human apolipoproteins. *J Lipid Res* 1991, **32** (7): 1063-1072.
- 1116 Cohn JS, Wagner DA, Cohn SD, Millar JS, Schaefer EJ. Measurement of very low density and low density lipoprotein apolipoprotein (Apo) B-100 and high density lipoprotein Apo A-I production in human subjects using deuterated leucine. Effect of fasting and feeding. *J Clin Invest* 1990, **85** (3): 804-811.
- 1117 Barrett PH, Parhofer KG, Schonfeld G. Postmenopausal estrogen and the metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 1992, **326** (14): 954-955.
- 1118 Aguilar-Salinas CA, Barrett PH, Parhofer KG, Young SG, Tessereau D, Bateman J, Quinn C, Schonfeld G. Apoprotein B-100 production is decreased in subjects heterozygous for truncations of apoprotein B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995, **15** (1): 71-80.
- 1119 Elias N, Patterson BW, Schonfeld G. In vivo metabolism of ApoB, ApoA-I, and VLDL triglycerides in a form of hypobetalipoproteinemia not linked to the ApoB gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, **20** (5): 1309-1315.

- 120 Parhofer KG, Barrett PH, Demant T, Richter WO, Schwandt P. Effects of weekly LDL-apheresis on metabolic parameters of apolipoprotein B in heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1996, **37** (11): 2383-2393.
- 121 Klein S, Mittendorfer B, Eagon JC, Patterson B, Grant L, Feirt N, Seki E, Brenner D, Korenblat K, McCrea J. Gastric bypass surgery improves metabolic and hepatic abnormalities associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2006, **130** (6): 1564-1572.
- 122 Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S. Effect of weight loss on VLDL-triglyceride and apoB-100 kinetics in women with abdominal obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003, **284** (3): E549-556.
- 123 Barrett PHR, Foster DM. Design and analysis of lipid tracer kinetic studies. *Curr Opin Lipidol* 1996, **7** (3): 143-148.
- 124 Marsh JB, Welty FK, Lichtenstein AH, Lamon-Fava S, Schaefer EJ. Apolipoprotein B metabolism in humans: studies with stable isotope-labeled amino acid precursors. *Atherosclerosis* 2002, **162** (2): 227-244.
- 125 Parhofer KG, Barrett PH. What we have learned about VLDL and LDL metabolism from human kinetics studies. *J Lipid Res* 2006, **47** (8): 1620-1630.
- 126 Barter PJ, Nestel PJ. Plasma free fatty acid transport during prolonged glucose consumption and its relationship to plasma triglyceride fatty acids in man. *J Lipid Res* 1972, **13** (4): 483-490.
- 127 Barter PJ, Nestel PJ. Precursors of plasma triglyceride fatty acids in obesity. *Metabolism* 1973, **22** (6): 779-783.
- 128 Ryan WG, Schwartz TB. Dynamics of plasma triglyceride turnover in man. *Metabolism* 1965, **14** (12): 1243-1254.
- 129 Miller HI, Bortz WM, Durham BC. The rate of appearance of FFA in plasma triglyceride of normal and obese subjects. *Metabolism* 1968, **17** (6): 515-521.
- 130 Nestel PJ, Carroll KF, Havenstein N. Plasma triglyceride response to carbohydrates, fats and caloric intake. *Metabolism* 1970, **19** (1): 1-18.
- 131 Sane T, Nikkila EA. Very low density lipoprotein triglyceride metabolism in relatives of hypertriglyceridemic probands. Evidence for genetic control of triglyceride removal. *Arteriosclerosis* 1988, **8** (3): 217-226.

- 132 Kekki M. Plasma triglyceride turnover in 92 adult normolipemic and 30 hypertriglyceridaemic subjects: the effect of age, synthesis rate and removal capacity on plasma triglyceride concentration. *Ann Clin Res* 1980, **12** (2): 64-76.
- 133 Steiner G, Murase T. Triglyceride turnover: a comparison of simultaneous determinations using the radioglyceride and the lipolytic rate procedures. *Fed Proc* 1975, **34** (13): 2258-2262.
- 134 Reaven GM, Hill DB, Gross RC, Farquhar JW. Kinetics of triglyceride turnover of very low density lipoproteins of human plasma. *J Clin Invest* 1965, **44** (11): 1826-1833.
- 135 Reaven GM, Lerner RL, Stern MP, Farquhar JW. Role of insulin in endogenous hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1967, **46** (11): 1756-1767.
- 136 Farquhar JW, Gross RC, Wagner RM, Reaven GM. Validation of an incompletely coupled two-compartment nonrecycling catenary model for turnover of liver and plasma triglyceride in man. *J Lipid Res* 1965, **6** (1): 119-134.
- 137 Farquhar JW, Frank A, Gross RC, Reaven GM. Glucose, insulin, and triglyceride responses to high and low carbohydrate diets in man. *J Clin Invest* 1966, **45** (10): 1648-1656.
- 138 Olefsky J, Farquhar JW, Reaven GM. Sex difference in the kinetics of triglyceride metabolism in normal and hypertriglyceridaemic human subjects. *Eur J Clin Invest* 1974, **4** (2): 121-127.
- 139 Nikkila EA, Kekki M. Polymorphism of plasma triglyceride kinetics in normal human adult subjects. *Acta Med Scand* 1971, **190** (1-2): 49-59.
- 140 Nikkila EA, Kekki M. Measurement of plasma triglyceride turnover in the study of hyperglyceridemia. *Scand J Clin Lab Invest* 1971, **27** (2): 97-104.
- 141 Harris WS, Connor WE, Illingworth DR, Rothrock DW, Foster DM. Effects of fish oil on VLDL triglyceride kinetics in humans. *J Lipid Res* 1990, **31** (9): 1549-1558.
- 142 Grundy SM, Mok HY, Zech L, Steinberg D, Berman M. Transport of very low density lipoprotein triglycerides in varying degrees of obesity and hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1979, **63** (6): 1274-1283.
- 143 Zech LA, Grundy SM, Steinberg D, Berman M. Kinetic model for production and metabolism of very low density lipoprotein triglycerides. Evidence for a slow production pathway and results for normolipidemic subjects. *J Clin Invest* 1979, **63** (6): 1262-1273.
- 144 Eaton RP, Berman M, Steinberg D. Kinetic studies of plasma free fatty acid and triglyceride metabolism in man. *J Clin Invest* 1969, **48** (8): 1560-1579.

- 145 Quarfordt SH, Frank A, Shames DM, Berman M, Steinberg D. Very low density lipoprotein triglyceride transport in type IV hyperlipoproteinemia and the effects of carbohydrate-rich diets. *J Clin Invest* 1970, **49** (12): 2281-2297.
- 146 Parks EJ, Krauss RM, Christiansen MP, Neese RA, Hellerstein MK. Effects of a low-fat, high-carbohydrate diet on VLDL-triglyceride assembly, production, and clearance. *J Clin Invest* 1999, **104** (8): 1087-1096.
- 147 Siler SQ, Neese RA, Parks EJ, Hellerstein MK. VLDL-triglyceride production after alcohol ingestion, studied using [2-¹³C₁] glycerol. *J Lipid Res* 1998, **39** (12): 2319-2328.
- 148 Wang W, Basinger A, Neese RA, Shane B, Myong SA, Christiansen M, Hellerstein MK. Effect of nicotinic acid administration on hepatic very low density lipoprotein-triglyceride production. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001, **280** (3): E540-547.
- 149 Aarsland A, Chinkes D, Wolfe RR. Contributions of de novo synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/hyperinsulinemia in normal man. *J Clin Invest* 1996, **98** (9): 2008-2017.
- 150 Lemieux S, Patterson BW, Carpentier A, Lewis GF, Steiner G. A stable isotope method using a [²H₅]glycerol bolus to measure very low density lipoprotein triglyceride kinetics in humans. *J Lipid Res* 1999, **40** (11): 2111-2117.
- 151 Patterson BW, Mittendorfer B, Elias N, Satyanarayana R, Klein S. Use of stable isotopically labeled tracers to measure very low density lipoprotein-triglyceride turnover. *J Lipid Res* 2002, **43** (2): 223-233.
- 152 Adiels M, Packard C, Caslake MJ, Stewart P, Soro A, Westerbacka J, Wennberg B, Olofsson SO, Taskinen MR, Boren J. A new combined multicompartmental model for apolipoprotein B-100 and triglyceride metabolism in VLDL subfractions. *J Lipid Res* 2005, **46** (1): 58-67.
- 153 Friedberg SJ, Klein RF, Trout DL, Bogdonoff MD, Estes EH, Jr. The incorporation of plasma free fatty acids into plasma triglycerides in man. *J Clin Invest* 1961, **40**: 1846-1855.
- 154 Havel RJ, Kane JP. Quantification of triglyceride transport in blood plasma: a critical analysis. *Fed Proc* 1975, **34** (13): 2250-2257.
- 155 Sidossis LS, Magkos F, Mittendorfer B, Wolfe RR. Stable isotope tracer dilution for quantifying very low-density lipoprotein-triacylglycerol kinetics in man. *Clin Nutr* 2004, **23** (4): 457-466.

- 156 Lyu LC, Shieh MJ, Ordovas JM, Lichtenstein AH, Wilson PW, Schaefer EJ. Plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in Taipei and Framingham. *Arterioscler Thromb* 1993, **13** (10): 1429-1440.
- 157 Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Cohn SD, Schaefer MM, Ordovas JM, Castelli WP, Wilson PW. Effects of age, gender, and menopausal status on plasma low density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B levels in the Framingham Offspring Study. *J Lipid Res* 1994, **35** (5): 779-792.
- 158 The Lipid Research Clinics Program Epidemiology Committee. Plasma lipid distributions in selected North American populations: the Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* 1979, **60** (2): 427-439.
- 159 Heiss G, Tamir I, Davis CE, Tyroler HA, Rifkind BM, Schonfeld G, Jacobs D, Frantz ID, Jr. Lipoprotein-cholesterol distributions in selected North American populations: the lipid research clinics program prevalence study. *Circulation* 1980, **61** (2): 302-315.
- 160 Cowan LD, Wilcosky T, Criqui MH, Barrett-Connor E, Suchindran CM, Wallace R, Laskarzewski P, Walden C. Demographic, behavioral, biochemical, and dietary correlates of plasma triglycerides. Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Arteriosclerosis* 1985, **5** (5): 466-480.
- 161 Brown SA, Hutchinson R, Morrisett J, Boerwinkle E, Davis CE, Gotto AM, Jr., Patsch W. Plasma lipid, lipoprotein cholesterol, and apoprotein distributions in selected US communities. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb* 1993, **13** (8): 1139-1158.
- 162 Sharrett AR, Patsch W, Sorlie PD, Heiss G, Bond MG, Davis CE. Associations of lipoprotein cholesterol, apolipoproteins A-I and B, and triglycerides with carotid atherosclerosis and coronary heart disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb* 1994, **14** (7): 1098-1104.
- 163 Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S. Effect of sex and obesity on basal VLDL-triacylglycerol kinetics. *Am J Clin Nutr* 2003, **77** (3): 573-579.
- 164 Watts GF, Moroz P, Barrett PH. Kinetics of very-low-density lipoprotein apolipoprotein B-100 in normolipidemic subjects: pooled analysis of stable-isotope studies. *Metabolism* 2000, **49** (9): 1204-1210.
- 165 Melish J, Le NA, Ginsberg H, Steinberg D, Brown WV. Dissociation of apoprotein B and triglyceride production in very-low-density lipoproteins. *Am J Physiol* 1980, **239** (5): E354-362.

- 166 Chait A, Brunzell JD. Very low density lipoprotein kinetics in familial forms of hypertriglyceridemia. Στο: Berman M, Grundy SM, Howard BV, eds. *Lipoprotein Kinetics and Modeling*. New York, NY: Academic Press, 1982: 69-75.
- 167 Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, **88** (6): 2404-2411.
- 168 Campos H, McNamara JR, Wilson PW, Ordovas JM, Schaefer EJ. Differences in low density lipoprotein subfractions and apolipoproteins in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988, **67** (1): 30-35.
- 169 Mauriege P, Imbeault P, Prud'Homme D, Tremblay A, Nadeau A, Despres JP. Subcutaneous adipose tissue metabolism at menopause: importance of body fatness and regional fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab* 2000, **85** (7): 2446-2454.
- 170 Ozbey N, Sencer E, Molvalilar S, Orhan Y. Body fat distribution and cardiovascular disease risk factors in pre- and postmenopausal obese women with similar BMI. *Endocr J* 2002, **49** (4): 503-509.
- 171 Peters HW, Westendorp IC, Hak AE, Grobbee DE, Stehouwer CD, Hofman A, Witteman JC. Menopausal status and risk factors for cardiovascular disease. *J Intern Med* 1999, **246** (6): 521-528.
- 172 Torng PL, Su TC, Sung FC, Chien KL, Huang SC, Chow SN, Lee YT. Effects of menopause and obesity on lipid profiles in middle-aged Taiwanese women: the Chin-Shan Community Cardiovascular Cohort Study. *Atherosclerosis* 2000, **153** (2): 413-421.
- 173 Tremollieres FA, Pouilles JM, Cauneille C, Ribot C. Coronary heart disease risk factors and menopause: a study in 1684 French women. *Atherosclerosis* 1999, **142** (2): 415-423.
- 174 van Beek AP, de Ruijter-Heijstek FC, Jansen H, Erkelens DW, de Bruin TW. Sex steroids and plasma lipoprotein levels in healthy women: The importance of androgens in the estrogen-deficient state. *Metabolism* 2004, **53** (2): 187-192.
- 175 Schaefer EJ, Foster DM, Zech LA, Lindgren FT, Brewer HB, Jr., Levy RI. The effects of estrogen administration on plasma lipoprotein metabolism in premenopausal females. *J Clin Endocrinol Metab* 1983, **57** (2): 262-267.
- 176 Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnkar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 1991, **325** (17): 1196-1204.

- 177 Campos H, Walsh BW, Judge H, Sacks FM. Effect of estrogen on very low density lipoprotein and low density lipoprotein subclass metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, **82** (12): 3955-3963.
- 178 Walsh BW, Sacks FM. Effects of low dose oral contraceptives on very low density and low density lipoprotein metabolism. *J Clin Invest* 1993, **91** (5): 2126-2132.
- 179 Wolfe BM, Huff MW. Effects of combined estrogen and progestin administration on plasma lipoprotein metabolism in postmenopausal women. *J Clin Invest* 1989, **83** (1): 40-45.
- 180 Wolfe BM, Barrett PH, Laurier L, Huff MW. Effects of continuous conjugated estrogen and micronized progesterone therapy upon lipoprotein metabolism in postmenopausal women. *J Lipid Res* 2000, **41** (3): 368-375.
- 181 Wolfe BM, Huff MW. Effects of continuous low-dosage hormonal replacement therapy on lipoprotein metabolism in postmenopausal women. *Metabolism* 1995, **44** (3): 410-417.
- 182 Kissebah AH, Harrigan P, Wynn V. Mechanism of hypertriglyceridaemia associated with contraceptive steroids. *Horm Metab Res* 1973, **5** (3): 184-190.
- 183 Glueck CJ, Fallat RW, Scheel D. Effects of estrogenic compounds on triglyceride kinetics. *Metabolism* 1975, **24** (4): 537-545.
- 184 Kekki M, Nikkila EA. Plasma triglyceride turnover during use of oral contraceptives. *Metabolism* 1971, **20** (9): 878-889.
- 185 Hazzard WR, Brunzell JD, Notter DT, Spiger MJ, Bierman EL. Estrogens and triglyceride transport: increased endogenous production as the mechanism for the hypertriglyceridemia of oral contraceptive therapy. Στο: Scow RO, Ebling FJG, Henderson IW, eds. *Endocrinology: Proceedings of the Fourth International Congress of Endocrinology* (International Congress Series No. 273). Amsterdam: Excerpta Medica Foundation, 1973: 1006-1012.
- 186 Godsland IF. Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on lipid, lipoprotein, and apolipoprotein (a) concentrations: analysis of studies published from 1974-2000. *Fertil Steril* 2001, **75** (5): 898-915.
- 187 Basdevant A, De Lignieres B, Guy-Grand B. Differential lipemic and hormonal responses to oral and parenteral 17 beta-estradiol in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 1983, **147** (1): 77-81.

- 188 LaRosa JC. Androgens and women's health: genetic and epidemiologic aspects of lipid metabolism. *Am J Med* 1995, **98** (1A): 22S-26S.
- 189 Lyons Wall PM, Choudhury N, Gerbrandy EA, Truswell AS. Increase of high-density lipoprotein cholesterol at ovulation in healthy women. *Atherosclerosis* 1994, **105** (2): 171-178.
- 190 Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Desmarais JL, Davignon J, Kafrissen ME, Chapdelaine A. Cyclic fluctuations in human serum lipid and apolipoprotein levels during the normal menstrual cycle: comparison with changes occurring during oral contraceptive therapy. *Metabolism* 1991, **40** (8): 849-854.
- 191 Brideau NA, Forest JC, Lemay A, Dodin S. Correlation between ovarian steroids and lipid fractions in relation to age in premenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992, **37** (5): 437-444.
- 192 Barnett JB, Woods MN, Lamon-Fava S, Schaefer EJ, McNamara JR, Spiegelman D, Hertzmark E, Goldin B, Longcope C, Gorbach SL. Plasma lipid and lipoprotein levels during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **89** (2): 776-782.
- 193 Ahumada Hemer H, Valles de Bourges V, Juarez Ayala J, Brito G, Diaz-Sanchez V, Garza-Flores J. Variations in serum lipids and lipoproteins throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril* 1985, **44** (1): 80-84.
- 194 Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Spiegelman D, Dwyer JT, Lichtenstein AH, McNamara JR, Goldin BR, Woods MN, Morrill-LaBrode A, Hertzmark E, et al. Changes in plasma lipoprotein concentrations and composition in response to a low-fat, high-fiber diet are associated with changes in serum estrogen concentrations in premenopausal women. *Metabolism* 1995, **44** (6): 749-756.
- 195 Tikkanen MJ, Kuusi T, Nikkila EA, Stenman UH. Variation of postheparin plasma hepatic lipase by menstrual cycle. *Metabolism* 1986, **35** (2): 99-104.
- 196 Azogui G, Ben-Shlomo I, Zohar S, Kook A, Presser S, Aviram M. High density lipoprotein concentration is increased during the ovulatory phase of the menstrual cycle in healthy young women. *Gynecol Endocrinol* 1992, **6** (4): 253-257.
- 197 Muesing RA, Forman MR, Graubard BI, Beecher GR, Lanza E, McAdam PA, Campbell WS, Olson BR. Cyclic changes in lipoprotein and apolipoprotein levels during the menstrual cycle in healthy premenopausal women on a controlled diet. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81** (10): 3599-3603.

- 198 Mattsson LA, Silfverstolpe G, Samsioe G. Lipid composition of serum lipoproteins in relation to gonadal hormones during the normal menstrual cycle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1984, **17** (5): 327-335.
- 199 Woods M, Schaefer EJ, Morrill A, Goldin BR, Longcope C, Dwyer JD, Gorbach SL. Effect of menstrual cycle phase on plasma lipids. *J Clin Endocrinol Metab* 1987, **65** (2): 321-323.
- 200 De Leon RG, Austin KL, Richards L, Guerrero F. Lipid and hormonal profile of Panamanian women during the menstrual cycle. *Int J Gynaecol Obstet* 1992, **39** (3): 219-226.
- 201 Pahwa MB, Seth S, Seth RK. Lipid profile in various phases of menstrual cycle and its relationship with percentage plasma volume changes. *Clin Chim Acta* 1998, **273** (2): 201-207.
- 202 Haskell WL. The influence of exercise on the concentrations of triglyceride and cholesterol in human plasma. *Exerc Sport Sci Rev* 1984, **12**: 205-244.
- 203 Moffatt RJ, Gilliam TB. Serum lipids and lipoproteins as affected by exercise: A review. *Artery* 1979, **6** (1): 1-19.
- 204 Durstine JL, Thompson PD. Exercise in the treatment of lipid disorders. *Cardiol Clin* 2001, **19** (3): 471-488.
- 205 Leon AS, Sanchez OA. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33** (6 Suppl): S502-515.
- 206 Pronk NP. Short term effects of exercise on plasma lipids and lipoproteins in humans. *Sports Med* 1993, **16** (6): 431-448.
- 207 Grandjean PW, Crouse SF, O'Brien BC, Rohack JJ, Brown JA. The effects of menopausal status and exercise training on serum lipids and the activities of intravascular enzymes related to lipid transport. *Metabolism* 1998, **47** (4): 377-383.
- 208 Kokkinos PF, Holland JC, Narayan P, Collieran JA, Dotson CO, Papademetriou V. Miles run per week and high-density lipoprotein cholesterol levels in healthy, middle-aged men. A dose-response relationship. *Arch Intern Med* 1995, **155** (4): 415-420.
- 209 Kokkinos PF, Narayan P, Collieran J, Fletcher RD, Lakshman R, Papademetriou V. Effects of moderate intensity exercise on serum lipids in African-American men with severe systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1998, **81** (6): 732-735.
- 210 Thompson PD, Yurgalevitch SM, Flynn MM, Zmuda JM, Spannaus-Martin D, Saritelli A, Bausserman L, Herbert PN. Effect of prolonged exercise training without weight loss

- on high-density lipoprotein metabolism in overweight men. *Metabolism* 1997, **46** (2): 217-223.
- 211 Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998, **97** (18): 1837-1847.
 - 212 Seip RL, Moulin P, Cocke T, Tall A, Kohrt WM, Mankowitz K, Semenkovich CF, Ostlund R, Schonfeld G. Exercise training decreases plasma cholesteryl ester transfer protein. *Arterioscler Thromb* 1993, **13** (9): 1359-1367.
 - 213 Wood PD, Haskell WL, Blair SN, Williams PT, Krauss RM, Lindgren FT, Albers JJ, Ho PH, Farquhar JW. Increased exercise level and plasma lipoprotein concentrations: a one-year, randomized, controlled study in sedentary, middle-aged men. *Metabolism* 1983, **32** (1): 31-39.
 - 214 Marti B, Suter E, Riesen WF, Tschopp A, Wanner HU, Gutzwiller F. Effects of long-term, self-monitored exercise on the serum lipoprotein and apolipoprotein profile in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1990, **81** (1): 19-31.
 - 215 Crouse SF, O'Brien BC, Grandjean PW, Lowe RC, Rohack JJ, Green JS. Effects of training and a single session of exercise on lipids and apolipoproteins in hypercholesterolemic men. *J Appl Physiol* 1997, **83** (6): 2019-2028.
 - 216 Despres JP, Tremblay A, Moorjani S, Lupien PJ, Theriault G, Nadeau A, Bouchard C. Long-term exercise training with constant energy intake. 3: Effects on plasma lipoprotein levels. *Int J Obes* 1990, **14** (1): 85-94.
 - 217 Despres JP, Moorjani S, Tremblay A, Poehlman ET, Lupien PJ, Nadeau A, Bouchard C. Heredity and changes in plasma lipids and lipoproteins after short-term exercise training in men. *Arteriosclerosis* 1988, **8** (4): 402-409.
 - 218 Tanabe Y, Sasaki J, Urata H, Kiyonaga A, Tanaka H, Shindo M, Arakawa K. Effect of mild aerobic exercise on lipid and apolipoprotein levels in patients with essential hypertension. *Jpn Heart J* 1988, **29** (2): 199-206.
 - 219 Hardman AE, Lawrence JE, Herd SL. Postprandial lipemia in endurance-trained people during a short interruption to training. *J Appl Physiol* 1998, **84** (6): 1895-1901.
 - 220 Herd SL, Hardman AE, Boobis LH, Cairns CJ. The effect of 13 weeks of running training followed by 9 d of detraining on postprandial lipaemia. *Br J Nutr* 1998, **80** (1): 57-66.

- 221 Herd SL, Lawrence JE, Malkova D, Murphy MH, Mastana S, Hardman AE. Postprandial lipemia in young men and women of contrasting training status. *J Appl Physiol* 2000, **89** (5): 2049-2056.
- 222 Holloszy JO, Skinner JS, Toro G, Cureton TK. Effects of a six month program of endurance exercise on the serum lipids of middle-aged man. *Am J Cardiol* 1964, **14** (6): 753-760.
- 223 Gill JM, Murphy MH, Hardman AE. Postprandial lipemia: effects of intermittent versus continuous exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1998, **30** (10): 1515-1520.
- 224 Tsetsonis NV, Hardman AE. The influence of the intensity of treadmill walking upon changes in lipid and lipoprotein variables in healthy adults. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **70** (4): 329-336.
- 225 Tsetsonis NV, Hardman AE. Reduction in postprandial lipemia after walking: influence of exercise intensity. *Med Sci Sports Exerc* 1996, **28** (10): 1235-1242.
- 226 Tsetsonis NV, Hardman AE. Effects of low and moderate intensity treadmill walking on postprandial lipaemia in healthy young adults. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1996, **73** (5): 419-426.
- 227 Tsetsonis NV, Hardman AE, Mastana SS. Acute effects of exercise on postprandial lipemia: a comparative study in trained and untrained middle-aged women. *Am J Clin Nutr* 1997, **65** (2): 525-533.
- 228 Ziogas GG, Thomas TR, Harris WS. Exercise training, postprandial hypertriglyceridemia, and LDL subfraction distribution. *Med Sci Sports Exerc* 1997, **29** (8): 986-991.
- 229 Gill JM, Hardman AE. Postprandial lipemia: effects of exercise and restriction of energy intake compared. *Am J Clin Nutr* 2000, **71** (2): 465-471.
- 230 Sady SP, Thompson PD, Cullinane EM, Kantor MA, Domagala E, Herbert PN. Prolonged exercise augments plasma triglyceride clearance. *JAMA* 1986, **256** (18): 2552-2555.
- 231 Borsheim E, Knardahl S, Hostmark AT. Short-term effects of exercise on plasma very low density lipoproteins (VLDL) and fatty acids. *Med Sci Sports Exerc* 1999, **31** (4): 522-530.
- 232 Davis PG, Bartoli WP, Durstine JL. Effects of acute exercise intensity on plasma lipids and apolipoproteins in trained runners. *J Appl Physiol* 1992, **72** (3): 914-919.

- 233 Durstine JL, Ferguson MA, Szymanski LM, Davis PG, Alderson NL, Trost SG, Pate RR. Effect of a single session of exercise on lipoprotein(a). *Med Sci Sports Exerc* 1996, **28** (10): 1277-1281.
- 234 Kantor MA, Cullinane EM, Sady SP, Herbert PN, Thompson PD. Exercise acutely increases high density lipoprotein-cholesterol and lipoprotein lipase activity in trained and untrained men. *Metabolism* 1987, **36** (2): 188-192.
- 235 Durstine JL, Miller W, Farrell S, Sherman WM, Ivy JL. Increases in HDL-cholesterol and the HDL/LDL cholesterol ratio during prolonged endurance exercise. *Metabolism* 1983, **32** (10): 993-997.
- 236 Ferguson MA, Alderson NL, Trost SG, Essig DA, Burke JR, Durstine JL. Effects of four different single exercise sessions on lipids, lipoproteins, and lipoprotein lipase. *J Appl Physiol* 1998, **85** (3): 1169-1174.
- 237 Cullinane E, Siconolfi S, Saritelli A, Thompson PD. Acute decrease in serum triglycerides with exercise: is there a threshold for an exercise effect? *Metabolism* 1982, **31** (8): 844-847.
- 238 Gill JM, Mees GP, Frayn KN, Hardman AE. Moderate exercise, postprandial lipaemia and triacylglycerol clearance. *Eur J Clin Invest* 2001, **31** (3): 201-207.
- 239 Weise SD, Grandjean PW, Rohack JJ, Womack JW, Crouse SF. Acute changes in blood lipids and enzymes in postmenopausal women after exercise. *J Appl Physiol* 2005, **99** (2): 609-615.
- 240 Zhang JQ, Smith B, Langdon MM, Messimer HL, Sun GY, Cox RH, James-Kracke M, Thomas TR. Changes in LPLa and reverse cholesterol transport variables during 24-h postexercise period. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, **283** (2): E267-274.
- 241 Zhang JQ, Thomas TR, Ball SD. Effect of exercise timing on postprandial lipemia and HDL cholesterol subfractions. *J Appl Physiol* 1998, **85** (4): 1516-1522.
- 242 Seip RL, Semenkovich CF. Skeletal muscle lipoprotein lipase: molecular regulation and physiological effects in relation to exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 1998, **26**: 191-218.
- 243 Kiens B, Richter EA. Utilization of skeletal muscle triacylglycerol during postexercise recovery in humans. *Am J Physiol* 1998, **275** (2 Pt 1): E332-337.
- 244 Seip RL, Angelopoulos TJ, Semenkovich CF. Exercise induces human lipoprotein lipase gene expression in skeletal muscle but not adipose tissue. *Am J Physiol* 1995, **268** (2 Pt 1): E229-236.

- 245 Seip RL, Mair K, Cole TG, Semenkovich CF. Induction of human skeletal muscle lipoprotein lipase gene expression by short-term exercise is transient. *Am J Physiol* 1997, **272** (2 Pt 1): E255-261.
- 246 Simonelli C, Eaton RP. Reduced triglyceride secretion: a metabolic consequence of chronic exercise. *Am J Physiol* 1978, **234** (3): E221-227.
- 247 Mondon CE, Dolkas CB, Tobey T, Reaven GM. Causes of the triglyceride-lowering effect of exercise training in rats. *J Appl Physiol* 1984, **57** (5): 1466-1471.
- 248 Fukuda N, Tojho M, Hidaka T, Sho H, Sugano M. Reciprocal responses to exercise in hepatic ketogenesis and lipid secretion in the rat. *Ann Nutr Metab* 1991, **35** (4): 233-241.
- 249 Crouter SE, Antczak A, Hudak JR, DellaValle DM, Haas JD. Accuracy and reliability of the ParvoMedics TrueOne 2400 and MedGraphics VO2000 metabolic systems. *Eur J Appl Physiol* 2006, **98** (2): 139-151.
- 250 Howley ET, Bassett DR, Jr., Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc* 1995, **27** (9): 1292-1301.
- 251 Brooks DC, Black PR, Arcangeli MA, Aoki TT, Wilmore DW. The heated dorsal hand vein: an alternative arterial sampling site. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1989, **13** (1): 102-105.
- 252 Jensen MD, Heiling VJ. Heated hand vein blood is satisfactory for measurements during free fatty acid kinetic studies. *Metabolism* 1991, **40** (4): 406-409.
- 253 Mohammed BS, Fields DA, Mittendorfer B, Coggan AR, Klein S. Are peristaltic pumps as reliable as syringe pumps for metabolic research? Assessment of accuracy, precision, and metabolic kinetics. *Metabolism* 2004, **53** (7): 875-878.
- 254 Astles JR, Sedor FA, Toffaletti JG. Evaluation of the YSI 2300 glucose analyzer: algorithm-corrected results are accurate and specific. *Clin Biochem* 1996, **29** (1): 27-31.
- 255 Chua KS, Tan IK. Plasma glucose measurement with the Yellow Springs Glucose Analyzer. *Clin Chem* 1978, **24** (1): 150-152.
- 256 Young DS. Implementation of SI units for clinical laboratory data. Style specifications and conversion tables. *Ann Intern Med* 1987, **106** (1): 114-129.
- 257 Hales CN, Randle PJ. Immunoassay of insulin with insulin-antibody precipitate. *Biochem J* 1963, **88** (1): 137-146.
- 258 Morgan CR, Lazarow A. Immunoassay of insulin using a two-antibody system. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962, **110**: 29-32.

- 259 Volund A. Conversion of insulin units to SI units. *Am J Clin Nutr* 1993, **58** (5): 714-715.
- 260 Patterson BW, Zhao G, Elias N, Hachey DL, Klein S. Validation of a new procedure to determine plasma fatty acid concentration and isotopic enrichment. *J Lipid Res* 1999, **40** (11): 2118-2124.
- 261 Klein S, Sakurai Y, Romijn JA, Carroll RM. Progressive alterations in lipid and glucose metabolism during short-term fasting in young adult men. *Am J Physiol* 1993, **265** (5 Pt 1): E801-806.
- 262 McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, Zak B. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 1983, **29** (3): 538-542.
- 263 Rifai N, King ME. Immunturbidimetric assays of apolipoproteins A, AI, AII, and B in serum. *Clin Chem* 1986, **32** (6): 957-961.
- 264 Hidaka H, Kojima H, Nakajima Y, Aoki T, Nakamura T, Kawabata T, Nakano T, Harano Y, Shigeta Y. Apolipoprotein B-48 analysis by high-performance liquid chromatography in VLDL: a sensitive and rapid method. *Clin Chim Acta* 1990, **189** (3): 287-296.
- 265 Magkos F, Sidossis LS. Recent advances in the measurement of adiponectin isoform distribution. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007, **10** (5): 571-575.
- 266 Ebinuma H, Miyazaki O, Yago H, Hara K, Yamauchi T, Kadowaki T. A novel ELISA system for selective measurement of human adiponectin multimers by using proteases. *Clin Chim Acta* 2006, **372** (1-2): 47-53.
- 267 Bensadoun A. Sandwich immunoassay for measurement of human hepatic lipase. *Methods Enzymol* 1996, **263**: 333-338.
- 268 Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. Quantification of plasma lipoproteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Chem* 1991, **37** (3): 377-386.
- 269 Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW, Krauss RM. Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma lipoprotein concentrations and subspecies distributions from a single, rapid measurement. *Clin Chem* 1992, **38** (9): 1632-1638.
- 270 Festa A, Williams K, Hanley AJ, Otvos JD, Goff DC, Wagenknecht LE, Haffner SM. Nuclear magnetic resonance lipoprotein abnormalities in prediabetic subjects in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2005, **111** (25): 3465-3472.
- 271 Klein RL, Zilversmit DB. Direct determination of human and rabbit apolipoprotein B selectively precipitated with butanol-isopropyl ether. *J Lipid Res* 1984, **25** (12): 1380-1386.

- 272 Mittendorfer B, Liem O, Patterson BW, Miles JM, Klein S. What does the measurement of whole-body fatty acid rate of appearance in plasma by using a fatty acid tracer really mean? *Diabetes* 2003, **52** (7): 1641-1648.
- 273 Koutsari C, Jensen MD. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J Lipid Res* 2006, **47** (8): 1643-1650.
- 274 Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol* 1949, **109** (1-2): 1-9.
- 275 Frayn KN. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *J Appl Physiol* 1983, **55** (2): 628-634.
- 276 Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Rosenblatt J, Wolfe RR. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *J Appl Physiol* 2000, **88** (5): 1707-1714.
- 277 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985, **28** (7): 412-419.
- 278 Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S, Sidossis LS. VLDL-triglyceride kinetics during hyperglycemia-hyperinsulinemia: effects of sex and obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003, **284** (4): E708-715.
- 279 Reichl D. Lipoproteins of human peripheral lymph. *Eur Heart J* 1990, **11** (Suppl E): 230-236.
- 280 Boer P. Estimated lean body mass as an index for normalization of body fluid volumes in humans. *Am J Physiol* 1984, **247** (4 Pt 2): F632-636.
- 281 Lewis GF. Fatty acid regulation of very low density lipoprotein production. *Curr Opin Lipidol* 1997, **8** (3): 146-153.
- 282 Bland JM, Altman DG. Transformations, means, and confidence intervals. *BMJ* 1996, **312** (7038): 1079.
- 283 Krauss RM, Siri PW. Metabolic abnormalities: triglyceride and low-density lipoprotein. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004, **33** (2): 405-415.
- 284 Barrett PH, Chan DC, Watts GF. Thematic review series: patient-oriented research. Design and analysis of lipoprotein tracer kinetics studies in humans. *J Lipid Res* 2006, **47** (8): 1607-1619.

- 285 Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Steiner G. Effects of acute hyperinsulinemia on VLDL triglyceride and VLDL apoB production in normal weight and obese individuals. *Diabetes* 1993, **42** (6): 833-842.
- 286 Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J Clin Invest* 1995, **95** (1): 158-166.
- 287 Lewis GF, Zinman B, Uffelman KD, Szeto L, Weller B, Steiner G. VLDL production is decreased to a similar extent by acute portal vs. peripheral venous insulin. *Am J Physiol* 1994, **267** (4 Pt 1): E566-572.
- 288 Malmstrom R, Packard CJ, Caslake M, Bedford D, Stewart P, Yki-Jarvinen H, Shepherd J, Taskinen MR. Defective regulation of triglyceride metabolism by insulin in the liver in NIDDM. *Diabetologia* 1997, **40** (4): 454-462.
- 289 Mittendorfer B, Sidossis LS. Mechanism for the increase in plasma triacylglycerol concentrations after consumption of short-term, high-carbohydrate diets. *Am J Clin Nutr* 2001, **73** (5): 892-899.
- 290 Reeds DN, Mittendorfer B, Patterson BW, Powderly WG, Yarasheski KE, Klein S. Alterations in lipid kinetics in men with HIV-dyslipidemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003, **285** (3): E490-497.
- 291 Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Med* 2000, **30** (1): 1-15.
- 292 Smith SJ, Cooper GR, Myers GL, Sampson EJ. Biological variability in concentrations of serum lipids: sources of variation among results from published studies and composite predicted values. *Clin Chem* 1993, **39** (6): 1012-1022.
- 293 Schectman G, Sasse E. Variability of lipid measurements: relevance for the clinician. *Clin Chem* 1993, **39** (7): 1495-1503.
- 294 Brenner H, Heiss G. The intraindividual variability of fasting triglyceride: a challenge for further standardization. *Eur Heart J* 1990, **11** (12): 1054-1058.
- 295 Jacobs DR, Jr., Barrett-Connor E. Retest reliability of plasma cholesterol and triglyceride. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Am J Epidemiol* 1982, **116** (6): 878-885.
- 296 Wasenius A, Stugaard M, Otterstad JE, Froyshov D. Diurnal and monthly intraindividual variability of the concentration of lipids, lipoproteins and apoproteins. *Scand J Clin Lab Invest* 1990, **50** (6): 635-642.

- 297 Kafonek SD, Derby CA, Bachorik PS. Biological variability of lipoproteins and apolipoproteins in patients referred to a lipid clinic. *Clin Chem* 1992, **38** (6): 864-872.
- 298 Marcovina SM, Gaur VP, Albers JJ. Biological variability of cholesterol, triglyceride, low- and high-density lipoprotein cholesterol, lipoprotein(a), and apolipoproteins A-I and B. *Clin Chem* 1994, **40** (4): 574-578.
- 299 Mjos OD, Rao SN, Bjorv L, Henden T, Thelle DS, Forde OH, Miller NE. A longitudinal study of the biological variability of plasma lipoproteins in healthy young adults. *Atherosclerosis* 1979, **34** (1): 75-81.
- 300 Hardman AE, Aldred HE. Walking during the postprandial period decreases alimentary lipaemia. *J Cardiovasc Risk* 1995, **2** (1): 71-78.
- 301 Murphy MH, Nevill AM, Hardman AE. Different patterns of brisk walking are equally effective in decreasing postprandial lipaemia. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000, **24** (10): 1303-1309.
- 302 Koutsari C, Malkova D, Hardman AE. Postprandial lipemia after short-term variation in dietary fat and carbohydrate. *Metabolism* 2000, **49** (9): 1150-1155.
- 303 Robertson MD, Henderson RA, Vist GE, Rumsey RD. Extended effects of evening meal carbohydrate-to-fat ratio on fasting and postprandial substrate metabolism. *Am J Clin Nutr* 2002, **75** (3): 505-510.
- 304 Gill JM, Malkova D, Hardman AE. Reproducibility of an oral fat tolerance test is influenced by phase of menstrual cycle. *Horm Metab Res* 2005, **37** (5): 336-341.
- 305 Wood PD, Stern MP, Silvers A, Reaven GM, von der Groeben J. Prevalence of plasma lipoprotein abnormalities in a free-living population of the Central Valley, California. *Circulation* 1972, **45** (1): 114-126.
- 306 Sacks FM, Walsh BW. Sex hormones and lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1994, **5** (3): 236-240.
- 307 Fallat R, Glueck CJ. Effects of anabolic and progestational agents upon triglycerides and triglyceride kinetics in normals and hyperlipemic patients. *Lipids* 1974, **9** (2): 117-120.
- 308 Heiling VJ, Jensen MD. Free fatty acid metabolism in the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, **74** (4): 806-810.
- 309 Horton TJ, Miller EK, Bourret K. No effect of menstrual cycle phase on glycerol or palmitate kinetics during 90 min of moderate exercise. *J Appl Physiol* 2006, **100** (3): 917-925.

- 310 Rebuffe-Scrive M, Enk L, Crona N, Lonnroth P, Abrahamsson L, Smith U, Bjorntorp P. Fat cell metabolism in different regions in women. Effect of menstrual cycle, pregnancy, and lactation. *J Clin Invest* 1985, **75** (6): 1973-1976.
- 311 Wolfe BM, Huff MW. Effects of low dosage progestin-only administration upon plasma triglycerides and lipoprotein metabolism in postmenopausal women. *J Clin Invest* 1993, **92** (1): 456-461.
- 312 Gibbons GF, Brown AM, Wiggins D, Pease R. The roles of insulin and fatty acids in the regulation of hepatic very-low-density lipoprotein assembly. *J R Soc Med* 2002, **95** (Suppl 42): 23-32.
- 313 Barrows BR, Parks EJ. Contributions of different fatty acid sources to very low-density lipoprotein-triacylglycerol in the fasted and fed states. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, **91** (4): 1446-1452.
- 314 Hewitt KN, Pratis K, Jones ME, Simpson ER. Estrogen replacement reverses the hepatic steatosis phenotype in the male aromatase knockout mouse. *Endocrinology* 2004, **145** (4): 1842-1848.
- 315 Joles JA, Bijleveld C, van Tol A, Geelen MJ, Koomans HA. Ovariectomy decreases plasma triglyceride levels in analbuminaemic rats by lowering hepatic triglyceride secretion. *Atherosclerosis* 1995, **117** (1): 51-59.
- 316 Roncero C, Lorenzo M, Fabregat I, Benito M. Rates of lipogenesis in fetal hepatocytes in suspension and in primary culture: hormonal effects. *Biochim Biophys Acta* 1989, **1012** (3): 320-324.
- 317 Faix D, Neese R, Kletke C, Wolden S, Cesar D, Coutlangus M, Shackleton CH, Hellerstein MK. Quantification of menstrual and diurnal periodicities in rates of cholesterol and fat synthesis in humans. *J Lipid Res* 1993, **34** (12): 2063-2075.
- 318 Hellerstein MK, Christiansen M, Kaempfer S, Kletke C, Wu K, Reid JS, Mulligan K, Hellerstein NS, Shackleton CH. Measurement of de novo hepatic lipogenesis in humans using stable isotopes. *J Clin Invest* 1991, **87** (5): 1841-1852.
- 319 Sidossis LS, Mittendorfer B, Walser E, Chinkes D, Wolfe RR. Hyperglycemia-induced inhibition of splanchnic fatty acid oxidation increases hepatic triacylglycerol secretion. *Am J Physiol* 1998, **275** (5 Pt 1): E798-805.
- 320 Applebaum DM, Goldberg AP, Pykalisto OJ, Brunzell JD, Hazzard WR. Effect of estrogen on post-heparin lipolytic activity. Selective decline in hepatic triglyceride lipase. *J Clin Invest* 1977, **59** (4): 601-608.

- 321 Tikkanen MJ, Nikkila EA, Kuusi T, Sipinen SU. High density lipoprotein-2 and hepatic lipase: reciprocal changes produced by estrogen and norgestrel. *J Clin Endocrinol Metab* 1982, **54** (6): 1113-1117.
- 322 Colvin PL, Jr., Auerbach BJ, Case LD, Hazzard WR, Applebaum-Bowden D. A dose-response relationship between sex hormone-induced change in hepatic triglyceride lipase and high-density lipoprotein cholesterol in postmenopausal women. *Metabolism* 1991, **40** (10): 1052-1056.
- 323 Lindberg UB, Crona N, Silfverstolpe G, Bjorntorp P, Rebuffe-Scrive M. Regional adipose tissue metabolism in postmenopausal women after treatment with exogenous sex steroids. *Horm Metab Res* 1990, **22** (6): 345-351.
- 324 Giardina EG, Chen HJ, Sciacca RR, Rabbani LE. Dynamic variability of hemostatic and fibrinolytic factors in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **89** (12): 6179-6184.
- 325 Tikkanen MJ, Kuusi T, Nikkila EA, Sane T. Very low density lipoprotein triglyceride kinetics during hepatic lipase suppression by estrogen. Studies on the physiological role of hepatic endothelial lipase. *FEBS Lett* 1985, **181** (1): 160-164.
- 326 Sniderman AD, Cianflone K. Substrate delivery as a determinant of hepatic apoB secretion. *Arterioscler Thromb* 1993, **13** (5): 629-636.
- 327 Jensen MD, Martin ML, Cryer PE, Roust LR. Effects of estrogen on free fatty acid metabolism in humans. *Am J Physiol* 1994, **266** (6 Pt 1): E914-920.
- 328 Iverius PH, Brunzell JD. Relationship between lipoprotein lipase activity and plasma sex steroid level in obese women. *J Clin Invest* 1988, **82** (3): 1106-1112.
- 329 Price TM, O'Brien SN, Welter BH, George R, Anandjiwala J, Kilgore M. Estrogen regulation of adipose tissue lipoprotein lipase: possible mechanism of body fat distribution. *Am J Obstet Gynecol* 1998, **178** (1 Pt 1): 101-107.
- 330 Pedersen SB, Kristensen K, Hermann PA, Katzenellenbogen JA, Richelsen B. Estrogen controls lipolysis by up-regulating α 2A-adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor α . Implications for the female fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **89** (4): 1869-1878.
- 331 Rebuffe-Scrive M, Lonnroth P, Marin P, Wesslau C, Bjorntorp P, Smith U. Regional adipose tissue metabolism in men and postmenopausal women. *Int J Obes* 1987, **11** (4): 347-355.

- 332 De Oliveira e Silva ER, Kong M, Han Z, Starr C, Kass EM, Juo SH, Foster D, Dansky HM, Merkel M, Cundey K, Brinton EA, Breslow JL, Smith JD. Metabolic and genetic determinants of HDL metabolism and hepatic lipase activity in normolipidemic females. *J Lipid Res* 1999, **40** (7): 1211-1221.
- 333 Matthan NR, Jalbert SM, Lamon-Fava S, Dolnikowski GG, Welty FK, Barrett HR, Schaefer EJ, Lichtenstein AH. TRL, IDL, and LDL apolipoprotein B-100 and HDL apolipoprotein A-I kinetics as a function of age and menopausal status. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, **25** (8): 1691-1696.
- 334 Velez-Carrasco W, Lichtenstein AH, Li Z, Dolnikowski GG, Lamon-Fava S, Welty FK, Schaefer EJ. Apolipoprotein A-I and A-II kinetic parameters as assessed by endogenous labeling with [²H₃]leucine in middle-aged and elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, **20** (3): 801-806.
- 335 Streja DA. Triglyceride removal from very low density lipoproteins in vivo as a function of their triglyceride content. *Atherosclerosis* 1979, **32** (1): 57-67.
- 336 Fisher RM, Coppack SW, Humphreys SM, Gibbons GF, Frayn KN. Human triacylglycerol-rich lipoprotein subfractions as substrates for lipoprotein lipase. *Clin Chim Acta* 1995, **236** (1): 7-17.
- 337 Verschoor L, Chen YD, Reaven EP, Reaven GM. Glucose and fructose feeding lead to alterations in structure and function of very low density lipoproteins. *Horm Metab Res* 1985, **17** (6): 285-288.
- 338 Brunzell JD, Hazzard WR, Porte D, Jr., Bierman EL. Evidence for a common, saturable, triglyceride removal mechanism for chylomicrons and very low density lipoproteins in man. *J Clin Invest* 1973, **52** (7): 1578-1585.
- 339 Zheng C, Ikewaki K, Walsh BW, Sacks FM. Metabolism of apoB lipoproteins of intestinal and hepatic origin during constant feeding of small amounts of fat. *J Lipid Res* 2006, **47** (8): 1771-1779.
- 340 Masding MG, Stears AJ, Burdge GC, Wootton SA, Sandeman DD. Premenopausal advantages in postprandial lipid metabolism are lost in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003, **26** (12): 3243-3249.
- 341 van Beek AP, de Ruijter-Heijstek FC, Erkelens DW, de Bruin TW. Menopause is associated with reduced protection from postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999, **19** (11): 2737-2741.

- 342 Zamboni M, Armellini F, Milani MP, De Marchi M, Todesco T, Robbi R, Bergamo-Andreis IA, Bosello O. Body fat distribution in pre- and post-menopausal women: metabolic and anthropometric variables and their interrelationships. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1992, **16** (7): 495-504.
- 343 Bjorntorp P. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis* 1990, **10** (4): 493-496.
- 344 Rebuffe-Scrive M, Andersson B, Olbe L, Bjorntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabolism* 1989, **38** (5): 453-458.
- 345 Volzke H, Schwarz S, Baumeister SE, Wallaschofski H, Schwahn C, Grabe HJ, Kohlmann T, John U, Doren M. Menopausal status and hepatic steatosis in a general female population. *Gut* 2007, **56** (4): 594-595.
- 346 Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002, **122** (6): 1649-1657.
- 347 Adiels M, Taskinen MR, Packard C, Caslake MJ, Soro-Paavonen A, Westerbacka J, Vehkavaara S, Hakkinen A, Olofsson SO, Yki-Jarvinen H, Boren J. Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia* 2006, **49** (4): 755-765.
- 348 Grefhorst A, Elzinga BM, Voshol PJ, Plosch T, Kok T, Bloks VW, van der Sluijs FH, Havekes LM, Romijn JA, Verkade HJ, Kuipers F. Stimulation of lipogenesis by pharmacological activation of the liver X receptor leads to production of large, triglyceride-rich very low density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2002, **277** (37): 34182-34190.
- 349 Carmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation* 2004, **109** (23 Suppl 1): III2-7.
- 350 Olofsson SO, Boren J. Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *J Intern Med* 2005, **258** (5): 395-410.
- 351 Gibbons GF, Wiggins D, Brown AM, Hebbachi AM. Synthesis and function of hepatic very-low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans* 2004, **32** (Pt 1): 59-64.
- 352 Adiels M, Boren J, Caslake MJ, Stewart P, Soro A, Westerbacka J, Wennberg B, Olofsson SO, Packard C, Taskinen MR. Overproduction of VLDL1 driven by hyperglycemia is a dominant feature of diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, **25** (8): 1697-1703.

- 353 Soler-Argilaga C, Danon A, Wilcox HG, Heimberg M. Effects of sex on formation and properties of plasma very low density lipoprotein in vivo. *Lipids* 1976, **11** (7): 517-525.
- 354 Soler-Argilaga C, Wilcox HG, Heimberg M. The effect of sex on the quantity and properties of the very low density lipoprotein secreted by the liver in vitro. *J Lipid Res* 1976, **17** (2): 139-145.
- 355 Wilcox HG, Woodside WF, Breen KJ, Knapp HR, Jr., Heimberg M. The effect of sex on certain properties of the very low density lipoprotein secreted by the liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1974, **58** (4): 919-926.
- 356 Colhoun HM, Otvos JD, Rubens MB, Taskinen MR, Underwood SR, Fuller JH. Lipoprotein subclasses and particle sizes and their relationship with coronary artery calcification in men and women with and without type 1 diabetes. *Diabetes* 2002, **51** (6): 1949-1956.
- 357 Lai CQ, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Adiconis X, Zhu Y, Parnell LD, Tucker KL, Ordovas JM. Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerides, remnant lipoprotein concentrations, and lipoprotein particle size: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2006, **113** (17): 2062-2070.
- 358 Nikkila EA, Taskinen MR, Kekki M. Relation of plasma high-density lipoprotein cholesterol to lipoprotein-lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of man. *Atherosclerosis* 1978, **29** (4): 497-501.
- 359 Pedersen SB, Jonler M, Richelsen B. Characterization of regional and gender differences in glucocorticoid receptors and lipoprotein lipase activity in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1994, **78** (6): 1354-1359.
- 360 Taskinen MR, Kuusi T. High density lipoproteins in postprandial lipemia. Relation to sex and lipoprotein lipase activity. *Atherosclerosis* 1986, **59** (2): 121-130.
- 361 Votruba SB, Jensen MD. Sex differences in abdominal, gluteal, and thigh LPL activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007, **292** (6): E1823-1828.
- 362 Simoneau JA, Veerkamp JH, Turcotte LP, Kelley DE. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *FASEB J* 1999, **13** (14): 2051-2060.
- 363 Lamarche B, Uffelman KD, Carpentier A, Cohn JS, Steiner G, Barrett PH, Lewis GF. Triglyceride enrichment of HDL enhances in vivo metabolic clearance of HDL apo A-I in healthy men. *J Clin Invest* 1999, **103** (8): 1191-1199.

- 364 Blaak E. Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001, **4** (6): 499-502.
- 365 Williams CM. Lipid metabolism in women. *Proc Nutr Soc* 2004, **63** (1): 153-160.
- 366 Malmstrom R, Packard CJ, Watson TD, Rannikko S, Caslake M, Bedford D, Stewart P, Yki-Jarvinen H, Shepherd J, Taskinen MR. Metabolic basis of hypotriglyceridemic effects of insulin in normal men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997, **17** (7): 1454-1464.
- 367 Carpentier A, Patterson BW, Leung N, Lewis GF. Sensitivity to acute insulin-mediated suppression of plasma free fatty acids is not a determinant of fasting VLDL triglyceride secretion in healthy humans. *Diabetes* 2002, **51** (6): 1867-1875.
- 368 Gormsen LC, Jensen MD, Schmitz O, Moller N, Christiansen JS, Nielsen S. Energy expenditure, insulin, and VLDL-triglyceride production in humans. *J Lipid Res* 2006, **47** (10): 2325-2332.
- 369 Vogelberg KH, Gries FA, Moschinski D. Hepatic production of VLDL-triglycerides. Dependence of portal substrate and insulin concentration. *Horm Metab Res* 1980, **12** (12): 688-694.
- 370 Malmstrom R, Packard CJ, Caslake M, Bedford D, Stewart P, Shepherd J, Taskinen MR. Effect of heparin-stimulated plasma lipolytic activity on VLDL apo B subclass metabolism in normal subjects. *Atherosclerosis* 1999, **146** (2): 381-390.
- 371 Malmstrom R, Packard CJ, Caslake M, Bedford D, Stewart P, Yki-Jarvinen H, Shepherd J, Taskinen MR. Effects of insulin and acipimox on VLDL1 and VLDL2 apolipoprotein B production in normal subjects. *Diabetes* 1998, **47** (5): 779-787.
- 372 Soler-Argilaga C, Heimberg M. Comparison of metabolism of free fatty acid by isolated perfused livers from male and female rats. *J Lipid Res* 1976, **17** (6): 605-615.
- 373 Watkins ML, Fizette N, Heimberg M. Sexual influences on hepatic secretion of triglyceride. *Biochim Biophys Acta* 1972, **280** (1): 82-85.
- 374 Ameen C, Linden D, Larsson BM, Mode A, Holmang A, Oscarsson J. Effects of gender and GH secretory pattern on sterol regulatory element-binding protein-1c and its target genes in rat liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004, **287** (6): E1039-1048.
- 375 Ameen C, Oscarsson J. Sex difference in hepatic microsomal triglyceride transfer protein expression is determined by the growth hormone secretory pattern in the rat. *Endocrinology* 2003, **144** (9): 3914-3921.

- 376 Stahlberg N, Rico-Bautista E, Fisher RM, Wu X, Cheung L, Flores-Morales A, Tybring G, Norstedt G, Tollet-Egnell P. Female-predominant expression of fatty acid translocase/CD36 in rat and human liver. *Endocrinology* 2004, **145** (4): 1972-1979.
- 377 Grundy SM. Metabolic complications of obesity. *Endocrine* 2000, **13** (2): 155-165.
- 378 Durstine JL, Haskell WL. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins. *Exerc Sport Sci Rev* 1994, **22**: 477-521.
- 379 Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B, Kelley D, Moyna N, Pescatello L. The acute versus the chronic response to exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33** (6 Suppl): S438-445.
- 380 Jennings GL. Mechanisms for reduction of cardiovascular risk by regular exercise. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995, **22** (3): 209-211.
- 381 Durstine JL, Grandjean PW, Cox CA, Thompson PD. Lipids, lipoproteins, and exercise. *J Cardiopulm Rehabil* 2002, **22** (6): 385-398.
- 382 Dufaux B, Order U, Muller R, Hollmann W. Delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. *Metabolism* 1986, **35** (2): 105-109.
- 383 Thompson PD, Cullinane E, Henderson LO, Herbert PN. Acute effects of prolonged exercise on serum lipids. *Metabolism* 1980, **29** (7): 662-665.
- 384 Gill JM, Herd SL, Tsetsonis NV, Hardman AE. Are the reductions in triacylglycerol and insulin levels after exercise related? *Clin Sci (Lond)* 2002, **102** (2): 223-231.
- 385 van Loon LJ. Use of intramuscular triacylglycerol as a substrate source during exercise in humans. *J Appl Physiol* 2004, **97** (4): 1170-1187.
- 386 van Hall G, Sacchetti M, Radegran G, Saltin B. Human skeletal muscle fatty acid and glycerol metabolism during rest, exercise and recovery. *J Physiol* 2002, **543** (Pt 3): 1047-1058.
- 387 Straczkowski M, Kowalska I, Gorski J, Kinalska I. The effect of a single bout of exhaustive exercise on muscle carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2000, **37** (1): 47-53.
- 388 Alam S, Stolinski M, Pentecost C, Boroujerdi MA, Jones RH, Sonksen PH, Umpleby AM. The effect of a six-month exercise program on very low-density lipoprotein apolipoprotein B secretion in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **89** (2): 688-694.

- 389 Egusa G, Beltz WF, Grundy SM, Howard BV. Influence of obesity on the metabolism of apolipoprotein B in humans. *J Clin Invest* 1985, **76** (2): 596-603.
- 390 Howard BV, Abbott WG, Egusa G, Taskinen MR. Coordination of very low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B metabolism in humans: effects of obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am Heart J* 1987, **113** (2 Pt 2): 522-526.
- 391 Cummings MH, Watts GF, Pal C, Umpleby M, Hennessy TR, Naoumova R, Sonksen PH. Increased hepatic secretion of very-low-density lipoprotein apolipoprotein B-100 in obesity: a stable isotope study. *Clin Sci (Lond)* 1995, **88** (2): 225-233.
- 392 Devlin JT, Hirshman M, Horton ED, Horton ES. Enhanced peripheral and splanchnic insulin sensitivity in NIDDM men after single bout of exercise. *Diabetes* 1987, **36** (4): 434-439.
- 393 Mikines KJ, Sonne B, Farrell PA, Tronier B, Galbo H. Effect of physical exercise on sensitivity and responsiveness to insulin in humans. *Am J Physiol* 1988, **254** (3 Pt 1): E248-259.
- 394 Cummings MH, Watts GF, Umpleby AM, Hennessy TR, Naoumova R, Slavin BM, Thompson GR, Sonksen PH. Increased hepatic secretion of very-low-density lipoprotein apolipoprotein B-100 in NIDDM. *Diabetologia* 1995, **38** (8): 959-967.
- 395 Pan M, Cederbaum AI, Zhang YL, Ginsberg HN, Williams KJ, Fisher EA. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. *J Clin Invest* 2004, **113** (9): 1277-1287.
- 396 Uchiyama S, Shimizu T, Shirasawa T. CuZn-SOD deficiency causes ApoB degradation and induces hepatic lipid accumulation by impaired lipoprotein secretion in mice. *J Biol Chem* 2006, **281** (42): 31713-31719.
- 397 Greiwe JS, Holloszy JO, Semenkovich CF. Exercise induces lipoprotein lipase and GLUT-4 protein in muscle independent of adrenergic-receptor signaling. *J Appl Physiol* 2000, **89** (1): 176-181.
- 398 Herd SL, Kiens B, Boobis LH, Hardman AE. Moderate exercise, postprandial lipemia, and skeletal muscle lipoprotein lipase activity. *Metabolism* 2001, **50** (7): 756-762.
- 399 Seip RL. Endurance exercise effects on adipose tissue lipoprotein lipase. Στο: Nicklas B, ed. *Endurance Exercise and Adipose Tissue*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2002: 31-53.
- 400 Hanyu O, Miida T, Obayashi K, Ikarashi T, Soda S, Kaneko S, Hirayama S, Suzuki K, Nakamura Y, Yamatani K, Aizawa Y. Lipoprotein lipase (LPL) mass in preheparin serum reflects insulin sensitivity. *Atherosclerosis* 2004, **174** (2): 385-390.

- 401 Peterson J, Bihain BE, Bengtsson-Olivecrona G, Deckelbaum RJ, Carpentier YA, Olivecrona T. Fatty acid control of lipoprotein lipase: a link between energy metabolism and lipid transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990, **87** (3): 909-913.
- 402 Saxena U, Witte LD, Goldberg IJ. Release of endothelial cell lipoprotein lipase by plasma lipoproteins and free fatty acids. *J Biol Chem* 1989, **264** (8): 4349-4355.
- 403 Shirai K, Itoh Y, Sasaki H, Totsuka M, Murano T, Watanabe H, Miyashita Y. The effect of insulin sensitizer, troglitazone, on lipoprotein lipase mass in preheparin serum. *Diabetes Res Clin Pract* 1999, **46** (1): 35-41.
- 404 Grandjean PW, Crouse SF, Rohack JJ. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. *J Appl Physiol* 2000, **89** (2): 472-480.
- 405 Demant T, Carlson LA, Holmquist L, Karpe F, Nilsson-Ehle P, Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein metabolism in hepatic lipase deficiency: studies on the turnover of apolipoprotein B and on the effect of hepatic lipase on high density lipoprotein. *J Lipid Res* 1988, **29** (12): 1603-1611.
- 406 Gill JM, Herd SL, Hardman AE. Moderate exercise and post-prandial metabolism: issues of dose-response. *J Sports Sci* 2002, **20** (12): 961-967.
- 407 Altena TS, Michaelson JL, Ball SD, Thomas TR. Single sessions of intermittent and continuous exercise and postprandial lipemia. *Med Sci Sports Exerc* 2004, **36** (8): 1364-1371.
- 408 Cullinane E, Lazarus B, Thompson PD, Saratelli A, Herbert PN. Acute effects of a single exercise session on serum lipids in untrained men. *Clin Chim Acta* 1981, **109** (3): 341-344.
- 409 Crouse SF, O'Brien BC, Rohack JJ, Lowe RC, Green JS, Tolson H, Reed JL. Changes in serum lipids and apolipoproteins after exercise in men with high cholesterol: influence of intensity. *J Appl Physiol* 1995, **79** (1): 279-286.
- 410 American College of Sports Medicine. Position Stand: The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998, **30** (6): 975-991.
- 411 Thomas TR, Horner KE, Langdon MM, Zhang JQ, Krul ES, Sun GY, Cox RH. Effect of exercise and medium-chain fatty acids on postprandial lipemia. *J Appl Physiol* 2001, **90** (4): 1239-1246.
- 412 Horowitz JF. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. *Trends Endocrinol Metab* 2003, **14** (8): 386-392.

- 413 van Hall G, Bulow J, Sacchetti M, Al Mulla N, Lyngso D, Simonsen L. Regional fat metabolism in human splanchnic and adipose tissues; the effect of exercise. *J Physiol* 2002, **543** (Pt 3): 1033-1046.
- 414 Romijn JA, Klein S, Coyle EF, Sidossis LS, Wolfe RR. Strenuous endurance training increases lipolysis and triglyceride-fatty acid cycling at rest. *J Appl Physiol* 1993, **75** (1): 108-113.
- 415 Horowitz JF, Leone TC, Feng W, Kelly DP, Klein S. Effect of endurance training on lipid metabolism in women: a potential role for PPAR α in the metabolic response to training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000, **279** (2): E348-355.
- 416 Martin WH, 3rd, Coyle EF, Joyner M, Santeusanio D, Ehsani AA, Holloszy JO. Effects of stopping exercise training on epinephrine-induced lipolysis in humans. *J Appl Physiol* 1984, **56** (4): 845-848.
- 417 Horowitz JF, Klein S. Whole body and abdominal lipolytic sensitivity to epinephrine is suppressed in upper body obese women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000, **278** (6): E1144-1152.
- 418 Jensen MD, Caruso M, Heiling V, Miles JM. Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects. *Diabetes* 1989, **38** (12): 1595-1601.
- 419 Jensen MD. Fate of fatty acids at rest and during exercise: regulatory mechanisms. *Acta Physiol Scand* 2003, **178** (4): 385-390.
- 420 Desgorces FD, Chennaoui M, Gomez-Merino D, Drogou C, Bonneau D, Guezennec CY. Leptin, catecholamines and free fatty acids related to reduced recovery delays after training. *Eur J Appl Physiol* 2004, **93** (1-2): 153-158.
- 421 Stich V, Berlan M. Physiological regulation of NEFA availability: lipolysis pathway. *Proc Nutr Soc* 2004, **63** (2): 369-374.
- 422 Morio B, Holmback U, Gore D, Wolfe RR. Increased VLDL-TAG turnover during and after acute moderate-intensity exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2004, **36** (5): 801-806.
- 423 Sidossis LS, Mittendorfer B, Chinkes D, Walser E, Wolfe RR. Effect of hyperglycemia-hyperinsulinemia on whole body and regional fatty acid metabolism. *Am J Physiol* 1999, **276** (3 Pt 1): E427-434.
- 424 Basso LV, Havel RJ. Hepatic metabolism of free fatty acids in normal and diabetic dogs. *J Clin Invest* 1970, **49** (3): 537-547.
- 425 Jensen MD, Cardin S, Edgerton D, Cherrington A. Splanchnic free fatty acid kinetics. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003, **284** (6): E1140-1148.

- 426 Hannah JS, Bodkin NL, Paidi MS, Anh-Le N, Howard BV, Hansen BC. Effects of Acipimox on the metabolism of free fatty acids and very low lipoprotein triglyceride. *Acta Diabetol* 1995, **32** (4): 279-283.
- 427 Tarnopolsky MA. Gender differences in substrate metabolism during endurance exercise. *Can J Appl Physiol* 2000, **25** (4): 312-327.
- 428 Roepstorff C, Donsmark M, Thiele M, Vistisen B, Stewart G, Vissing K, Schjerling P, Hardie DG, Galbo H, Kiens B. Sex differences in hormone-sensitive lipase expression, activity, and phosphorylation in skeletal muscle at rest and during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006, **291** (5): E1106-1114.
- 429 Roepstorff C, Steffensen CH, Madsen M, Stallknecht B, Kanstrup IL, Richter EA, Kiens B. Gender differences in substrate utilization during submaximal exercise in endurance-trained subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, **282** (2): E435-447.
- 430 Roepstorff C, Vistisen B, Kiens B. Intramuscular triacylglycerol in energy metabolism during exercise in humans. *Exerc Sport Sci Rev* 2005, **33** (4): 182-188.
- 431 Steffensen CH, Roepstorff C, Madsen M, Kiens B. Myocellular triacylglycerol breakdown in females but not in males during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, **282** (3): E634-642.
- 432 Thomas TR, Smith BK, Donahue OM, Altena TS, James-Kracke M, Sun GY. Effects of omega-3 fatty acid supplementation and exercise on low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfractions. *Metabolism* 2004, **53** (6): 749-754.
- 433 Pronk NP, Crouse SF, O'Brien BC, Rohack JJ. Acute effects of walking on serum lipids and lipoproteins in women. *J Sports Med Phys Fitness* 1995, **35** (1): 50-58.
- 434 Kolifa M, Petridou A, Mougios V. Effect of prior exercise on lipemia after a meal of moderate fat content. *Eur J Clin Nutr* 2004, **58** (10): 1327-1335.
- 435 Wilmore JH. Dose-response: variation with age, sex, and health status. *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33** (6 Suppl): S622-634.
- 436 Perreault L, Lavery JM, Bergman BC, Horton TJ. Gender differences in insulin action after a single bout of exercise. *J Appl Physiol* 2004, **97** (3): 1013-1021.
- 437 Perreault L, Lavery JM, Kittelson JM, Horton TJ. Gender differences in lipoprotein lipase activity after acute exercise. *Obes Res* 2004, **12** (2): 241-249.
- 438 Mittendorfer B, Horowitz JF, Klein S. Gender differences in lipid and glucose kinetics during short-term fasting. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001, **281** (6): E1333-1339.

- 439 Aldred HE, Perry IC, Hardman AE. The effect of a single bout of brisk walking on postprandial lipemia in normolipidemic young adults. *Metabolism* 1994, **43** (7): 836-841.
- 440 Day DS, Gozansky WS, Van Pelt RE, Schwartz RS, Kohrt WM. Sex hormone suppression reduces resting energy expenditure and β -adrenergic support of resting energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, **90** (6): 3312-3317.

9. Δημοσιεύσεις

Από την παρούσα διδακτορική διατριβή, έχουν δημοσιευθεί οι ακόλουθες αυτοτελείς πρωτότυπες ερευνητικές εργασίες:

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: Reproducibility of stable isotope-labeled tracer measures of VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics. *Journal of Lipid Research* 2007, **48** (5): 1204-1211.

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: No effect of menstrual cycle phase on basal very-low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B-100 kinetics. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 2006, **291** (6): E1243-1249.

Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Klein S, Mittendorfer B: Women produce fewer but triglyceride-rich very low-density lipoproteins than men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007, **92** (4): 1311-1318.

Magkos F, Wright DC, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer B: Lipid metabolism response to a single, prolonged bout of endurance exercise in healthy young men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 2006, **290** (2): E355-362.

Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer B: A single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 2007, **292** (6): E1568-1574.

Οι ακόλουθες αυτοτελείς πρωτότυπες ερευνητικές εργασίες βρίσκονται σε στάδιο δημοσίευσης:

Magkos F, Fabbrini E, Patterson BW, Klein S, Mittendorfer B: Endogenous estradiol variability does not affect basal plasma free fatty acid turnover and very low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B-100 kinetics.

Magkos F, Fabbrini E, Saleh A, Patterson BW, Klein S, Mittendorfer B: Ovarian hormone deficiency after menopause is associated with accelerated VLDL-triglyceride but not VLDL-apolipoprotein B-100 turnover.

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: Plasma FFA, VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics are not affected by a single 1-h exercise bout of moderate intensity in sedentary women.

Δεδομένα από την παρούσα διδακτορική διατριβή έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δημοσίευση της ακόλουθης πρωτότυπης ερευνητικής εργασίας:

Magkos F, Tsekouras Y, Kavouras SA, Mittendorfer B, Sidossis LS: Improved insulin sensitivity after a single bout of exercise is curvilinearly related to exercise energy expenditure. *Clinical Science (London)* 2008, **114** (1): 59-64.

Δεδομένα από την παρούσα διδακτορική διατριβή έχουν παρουσιαστεί ως γραπτές ανακοινώσεις στα ακόλουθα συνέδρια:

Magkos F, Mittendorfer B: Lipoprotein profile in men and women with varying degrees of adiposity [Abstract 653-P]. *Obesity Research* 2005, **13** (Supplement): A169-170.

NAASO's 2005 Annual Scientific Meeting, 15-19 Οκτωβρίου, Vancouver, Βρετανική Κολούμπια, Καναδάς.

Mittendorfer B, Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS: Very low density lipoprotein and fatty acid kinetics in response to prolonged and short-duration cycling exercise [Abstract 3856]. *Circulation* 2005, **112** (17 Supplement II): II-835.

American Heart Association Scientific Sessions 2005, 13-16 Νοεμβρίου, Dallas, Τέξας, ΗΠΑ.

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: No effect of menstrual cycle phase on VLDL-triglyceride and apoB-100 kinetics [Abstract 926.8]. *FASEB Journal* 2006, **20** (5 Pt II): A1467.

Experimental Biology 2006, 1-5 Απριλίου, San Francisco, Καλιφόρνια, ΗΠΑ.

Δεδομένα από την παρούσα διδακτορική διατριβή έχουν παρουσιαστεί ως προφορική ανακοίνωση στο ακόλουθο συνέδριο:

Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: Differential effects of sex on VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 metabolism [Abstract O001]. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2006, **1** (2): 12.

28th ESPEN Congress, 19-22 Οκτωβρίου 2006, Κωνσταντινούπολη, Τουρκία.