

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Επίδραση Ενεργειακού Ισοζυγίου στην Κινητική των
Τριακυλογλυκερολών στις Λιποπρωτεΐνες Πολύ
Χαμηλής Πυκνότητας: Δίαιτα έναντι Άσκησης.**



ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΑ Χ. ΣΙΩΠΗ

Τριμελής Επιτροπή:

Επιβλέπων: Λάμπρος Συντώσης, Καθηγητής Διατροφής - Διαιτολογίας

Σμαραγδή Αντωνοπούλου, Καθηγήτρια Βιοχημείας

Σταύρος Κάβουρας, Επίκουρος Καθηγητής Εργοφυσιολογίας &
Διατροφικής Αγωγής Αθλουμένων

ΑΘΗΝΑ, 2011

Τίτλος

Επίδραση Ενεργειακού Ισοζυγίου στην Κινητική των
Τριακυλογλυκερολών στις Λιποπρωτεΐνες Πολύ
Χαμηλής Πυκνότητας: Δίαιτα έναντι Άσκησης.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνετέλεσαν στο να πραγματοποιηθεί η παρούσα μελέτη. Ευχαριστώ την τριμελή επιτροπή και ιδιαίτερα τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Λάμπρο Συντώση, για την καθοδήγηση, τις συμβουλές, αλλά και γενικά για όλες τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσε όλα αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τη διδακτορική φοιτήτρια και φίλη, κ. Έλενα Μπέλλου, για την οργάνωση της μελέτης, την υποστήριξη, τις συμβουλές, τις συζητήσεις και την παρέα, καθόλη της διάρκεια αυτής της προσπάθειας.

Μεγάλο ευχαριστώ στη Δρ. Μαρία Μαράκη για την αμέριστη βοήθεια της, χωρίς την οποία δεν θα ήταν εφικτή η πραγματοποίηση της μελέτης.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τη συμφοιτήτρια μου, κ. Μαρία Γαλάνη, για την άριστη συνεργασία και αλληλοϋποστήριξη.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω, τον Δρ. Γιάννη Τσεκούρα και τον Δρ. Φαίδωνα Μάγκο, για τη πολύτιμη συμμετοχή στο σχεδιασμό της μελέτης, την καθοδήγηση σε όσα αφορούν τις αναλύσεις και τη βοήθεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ευχαριστώ την κ. Αντιγόνη Τσιαφίτσα για την πραγματοποίησης των αιμοληψιών, την κ. Ελένη Σοφού για τη γραμματειακή υποστήριξη και τον διδακτορικό φοιτητή κ. Κώστα Μπάρδη για την υποστήριξη και παρέα.

Ευχαριστώ θερμά τις εθελόντριες της μελέτης για το χρόνο που διέθεσαν, την υπομονή τους και την άψογη συνεργασία.

Τέλος, ευχαριστώ την αδερφή μου, Άννα και τους φίλους μου, για την ψυχολογική υποστήριξη. Τεράστιο ευχαριστώ στους γονείς μου, Χρήστο και Τατιάνα, στους οποίους οφείλω τα πάντα....

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	6
Abstract.....	7
1.Εισαγωγή.....	8
2.Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.....	11
2.1. Τριακυλογλυκερόλες και λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας.....	11
2.2. Μεταβολισμός των VLDL-TAG.....	13
2.2.1. Σύνθεση και έκκριση των VLDL-TAG στην κυκλοφορία.....	13
2.2.2. Καταβολισμός των VLDL-TAG.....	15
2.3. Μελέτη της κινητικής των VLDL-TAG.....	19
2.4. Ρύθμιση των επιπέδων VLDL-TAG.....	22
2.4.1. Κλινική σημασία.....	22
2.4.2. Η επίδραση της διαίτας.....	24
2.4.3. Η επίδραση της άσκησης.....	26
2.4.4. Η επίδραση του αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου: δίαιτα έναντι άσκησης.....	28
2.5 Μηχανισμοί υπεύθυνοι για την εμφάνιση υποτριακυλογλυκερολαιμίας.....	32
2.5.1. Μηχανισμοί υπεύθυνοι για την επίδραση της διαίτας.....	32
2.5.2. Μηχανισμοί υπεύθυνοι για την επίδραση της άσκησης.....	33
3. Σκοπός και υπόθεση μελέτης.....	37
3.1 Ερευνητικά κενά.....	37
3.2. Σκοπός μελέτης.....	37
3.3. Ερευνητική υπόθεση.....	37
4. Μεθοδολογία.....	38
4.1. Κριτήρια επιλογής εθελοντών.....	38
4.2. Ανθρωπομετρία.....	39
4.3. Σύσταση σώματος.....	39
4.4. Μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας.....	39
4.5. Υπολογισμός μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου.....	40
4.6. Παρασκευή και έγχυση διαλύματος [1,1,2,3,3- ² H ₅] γλυκερόλης.....	40
4.7. Ερευνητικό πρωτόκολλο.....	41
4.8. Διαιτολογική ανάλυση.....	44
4.9. Επεξεργασία δειγμάτων αίματος.....	45

4.10. Προσδιορισμός συγκεντρώσεων τριακυλογλυκερολών.....	45
4.11. Απομόνωση VLDL-TAG από το πλάσμα.....	46
4.12. Απομόνωση γλυκερόλης από τα VLDL-TAG.....	47
4.13. Ανάλυση GC-MS.....	48
4.14. Υπολογισμοί.....	49
4.15. Στατιστική επεξεργασία.....	52
5. Αποτελέσματα.....	54
5.1 Χαρακτηριστικά δείγματος.....	54
5.2 Χαρακτηριστικά άσκησης και διαιτητικής πρόσληψης.....	55
5.3 Επίδραση στις εξεταζόμενες μεταβλητές.....	56
5.4 Κινητική των VLDL-TAG κατά το μεταπορροφητικό στάδιο.....	58
6. Συζήτηση.....	62
7. Συμπέρασμα.....	67
8. Βιβλιογραφία.....	68

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Τα τριγλυκερίδια (TAG) αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Το ενεργειακό έλλειμμα μίας συνεδρίας άσκησης έχει φανεί πως οδηγεί σε μείωση των VLDL-TAG, μέσω αύξησης του ρυθμού απομάκρυνσής τους από το πλάσμα, σε άντρες, ενώ ο μηχανισμός αυτός δεν έχει επιβεβαιωθεί σε γυναίκες. Από την άλλη δεν έχει διερευνηθεί ποτέ ο μηχανισμός επίδρασης του οξέος ενεργειακού ελλείμματος μέσω δίαιτας στο μεταβολισμό των VLDL-TAG.

Σκοπός: Να εκτιμηθούν οι επιδράσεις μιας ημέρας, μετρίου ενεργειακού ελλείμματος (-500 kcal), προκαλούμενου από δίαιτα ή αερόβια άσκηση, στην κινητική των VLDL-TAG νηστείας, σε νέες υγιείς μη-δραστήριες γυναίκες.

Μέθοδοι: Στη μελέτη έλαβαν μέρος 8 γυναίκες ($23,5 \pm 2,7$ ετών, ΔΜΣ $22,1 \pm 1,2$ kg/m²). Οι εθελόντριες ολοκλήρωσαν 3 δοκιμασίες: τη δοκιμασία ελέγχου, τις παρεμβάσεις δίαιτας και άσκησης. Την επόμενη ημέρα κάθε δοκιμασίας πραγματοποιήθηκε η μελέτη κινητικής των VLDL-TAG, μετά από με ενδοφλέβια έγχυση επισημασμένης [1,1,2,3,3-²H₅] γλυκερόλης και λήψη δειγμάτων αίματος ανά ώρα, για 8 ώρες.

Αποτελέσματα: Σε σύγκριση με τη δοκιμασία ελέγχου, η άσκηση μείωσε τη συγκέντρωση των VLDL-TAG νηστείας κατά $28,7 \pm 5,8\% \pm (p=0.015)$, αύξησε τον ρυθμό κάθαρσης των VLDL-TAG από το πλάσμα κατά $22 \pm 6,4\% (p=0,033)$ και μείωσε το μέσο χρόνο παραμονής των VLDL-TAG στο πλάσμα κατά $17 \pm 4,3$ min ($p=0.030$). Η δίαιτα δεν είχε κανένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

Συμπεράσματα: Ενεργειακό έλλειμμα ~500 kcal, προκαλούμενο από μία συνεδρία άσκησης, οδηγεί σε μείωση των VLDL-TAG νηστείας των γυναικών την επόμενη ημέρα, μέσω αύξησης της απομάκρυνσής τους από το πλάσμα. Από την άλλη, ισόποσο έλλειμμα προκαλούμενο από μιας ημέρας δίαιτα, δεν επιδρά σημαντικά στη συγκέντρωση των VLDL-TAG νηστείας.

ABSTRACT

Introduction: Elevated triacylglycerol (TAG) levels are an independent risk factor for cardiovascular disease. Energy deficit, induced by a single bout of aerobic exercise, has been found to reduce VLDL-TAG, by increasing VLDL-TAG plasma clearance rate, in men, while this mechanism has never been confirmed in women. Moreover, the mechanism behind the acute TAG lowering effect, observed after one day of diet, has never been investigated. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of acute (1 day), moderate (500 kcal) energy deficit of similar magnitude, induced by caloric restriction or aerobic exercise, on fasting VLDL-TAG kinetics, in healthy, young, sedentary women.

Methods: 8 healthy, sedentary, non-smoking premenopausal women participated in the study. All subjects participated in 3 trials, in random order: control trial, diet (caloric restriction ~500 kcal) and aerobic exercise (at 60% $\text{VO}_{2\text{peak}}$, NET ~500 kcal). The morning after each trial, all subjects completed a stable-isotope tracer infusion study.

Results: Compared to control, exercise reduced fasting VLDL-TAG by $28,7 \pm 5,8\%$ ($p=0.015$), increased VLDL-TAG plasma clearance rate by $22 \pm 6,4\%$ ($p=0,033$) and reduced VLDL-TAG plasma mean resident time (MRT) by $17 \pm 4,3$ min ($p=0.030$). Diet had no significant effect ($p>0.05$).

Discussion: Energy deficit ~500 kcal, induced by a single bout of aerobic exercise, reduced fasting VLDL-TAG in women, the next day, by increasing VLDL-TAG plasma clearance rate. On the contrary, equal energy deficit, induced by one day of diet, had no effect on fasting VLDL-TAG.

1. Εισαγωγή

Παρά τις φαρμακολογικές και άλλες παρεμβάσεις που είναι πλέον διαθέσιμες τα τελευταία χρόνια, τα καρδιαγγειακά νοσήματα παραμένουν από τις κυριότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στις βιομηχανικές χώρες [1,2]. Αυξημένες συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων, ή αλλιώς τριακυλογλυκερολών (triacylglycerols, TAG) στο πλάσμα και χοληστερόλης στις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (low density lipoprotein, LDL), καθώς και μειωμένες συγκεντρώσεις χοληστερόλης στις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (high density lipoprotein, HDL), αποτελούν αδιαμφισβήτητους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα [3]. Η χρήση των αναστολέων της HMG-CoA αναγωγάσης (στατίνες) έχει οδηγήσει σε εντυπωσιακή μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης, ωστόσο έχει επιτευχθεί μόνο μέτρια μείωση της συνολικής θνητότητας [4]. Ως εκ τούτου, οι ισχύουσες θεραπευτικές οδηγίες θέτουν πιο αυστηρούς στόχους για την LDL χοληστερόλη, καθώς και επιπρόσθετο στόχο για τα άτομα που έχουν επίπεδα τριγλυκεριδίων πάνω από 200 mg/dl, την non-HDL χοληστερόλη [5]. Έτσι ονομάζεται η ολική χοληστερόλη μείον της HDL χοληστερόλης, δηλαδή η LDL χοληστερόλη συν τη χοληστερόλη των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (very low density lipoprotein, VLDL) [3]. Ο επιπλέον αυτός στόχος έχει τεθεί γιατί όταν τα επίπεδα των TAG είναι αυξημένα, η VLDL χοληστερόλη συσχετίζεται ισχυρά με αθηρογόνα υπολείμματα λιποπρωτεϊνών και συμβάλει στον κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο [3].

Τα αυξημένα επίπεδα τριακυλογλυκερολών (triacylglycerols, TAG) αποτελούν ένα από τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται πλέον για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, μιας ομάδας ισχυρών προδιαθεσικών παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων με μεταβολική αιτιολογία [6]. Η υπερτριγλυκεριδαιμία νηστείας έχει αναγνωριστεί από μετανάλυση των Hokanson και Austin, ως ανεξάρτητος παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου, από το 1996 [7]. Έκτοτε, έχει ακολουθήσει μία σειρά πληθυσμιακών μελετών. Η προοπτική μελέτη PROCAM (Prospective Cardiovascular Munster) έδειξε σε 4850 άνδρες μέσης ηλικίας, οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 8 χρόνια, πως τα επίπεδα TAG νηστείας αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου (coronary heart disease, CHD), ανεξάρτητα από τα επίπεδα ορού της HDL χοληστερόλης (HDL-C) και της LDL χοληστερόλης (LDL-C) [8]. Στην προοπτική μελέτη

Copenhagen Male Study, όπου παρακολουθήθηκαν, για 8 χρόνια, 2900 άνδρες χωρίς αρχικά εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο, βρέθηκε πως ο κίνδυνος για ισχαιμική καρδιοπάθεια ήταν 50% υψηλότερος για τα άτομα με συγκέντρωση TAG στο μεσαίο τεταρτημόριο και 120% υψηλότερος για αυτούς με συγκέντρωση TAG στο υψηλότερο τεταρτημόριο, έναντι αυτών στο χαμηλότερο τεταρτημόριο, έπειτα από προσαρμογή για τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, όπως ηλικία, δείκτης μάζας σώματος (BMI), πρόσληψη αλκοόλ, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, υπέρταση, διαβήτης και επίπεδα HDL-C και LDL-C [9]. Στην ίδια κατεύθυνση κινούνται και τα αποτελέσματα μελέτης σε 13953 νεαρούς άντρες, όπου μετά από περίπου 10,5 χρόνια παρακολούθησης, τα άτομα που ανήκαν στο πέμπτο και υψηλότερο πεμπτημόριο των συγκεντρώσεων TAG εμφάνιζαν σχετικό κίνδυνο για καρδιαγγειακά 4.1 (310% μεγαλύτερος κίνδυνος), έναντι αυτών στο χαμηλότερο πεμπτημόριο, μετά από διόρθωση για τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου [10]. Η ίδια μελέτη ανέδειξε τη συγκέντρωση TAG και ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση διαβήτη τύπου 2 [11].

Την ανεξάρτητη σχέση μεταξύ επιπέδων TAG και καρδιαγγειακών νοσημάτων, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της HDL-C, επιβεβαιώνουν δημοσιευμένες μεταanalύσεις [7,12,13]. Υπολογίζεται πως για κάθε αύξηση της συγκέντρωσης TAG νηστείας κατά 1 mmol/L (86 mg/dl), ο σχετικός κίνδυνος για καρδιαγγειακή νόσο αυξάνεται κατά 32% στους άντρες και 76% στις γυναίκες [7]. Η αύξηση του σχετικού κινδύνου ελαττώνεται περίπου στο μισό όταν λαμβάνονται υπόψη τα επίπεδα της HDL-C (14% και 37% αντίστοιχα), ωστόσο παραμένει στατιστικά σημαντική και για τα δύο φύλα [7]. Κύρια διαταραχή υπεύθυνη για την παραπάνω συσχέτιση TAG και καρδιαγγειακής νόσου, φαίνεται να είναι η παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων των αθηρογόνων υπολειμμάτων των λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε TAG (triacylglycerol rich lipoproteins, TRL) [14,15].

Επομένως παρεμβάσεις οι οποίες μειώνουν ή προλαμβάνουν την αύξησή της συγκέντρωσης των TAG και των TRL-TAG στο πλάσμα του αίματος μπορεί να βοηθήσουν στη μείωση του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Η επίδραση του ενεργειακού ισοζυγίου στο μεταβολισμό των TRL-TAG δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί πάνω στο συγκεκριμένο αντικείμενο, εξέτασαν τις επιδράσεις κυρίως της αύξησης της ενεργειακής δαπάνης

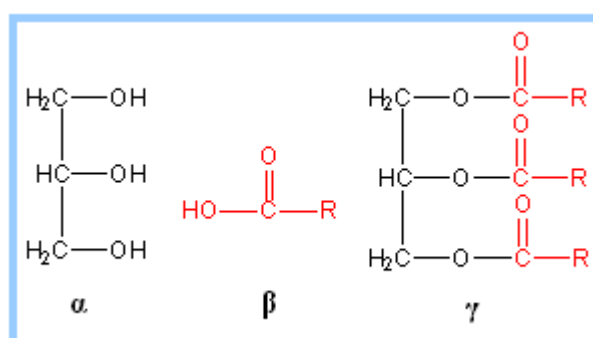
(άσκηση) ή/ και της μείωσης της ενεργειακής πρόληψης (υποθερμιδική διαίτα), σε βραχυχρόνιο ή μακροχρόνιο επίπεδο.

Στο μεταπορροφητικό στάδιο, το μεγαλύτερο μέρος των TAG στο αίμα (65-70%) βρίσκεται στις λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (very low density lipoproteins, VLDL) [16]. Επομένως, σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μελέτη της επίδρασης του βραχυχρόνιου (μίας ημέρα) αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου, που προκαλείται είτε με υποθερμιδική διαίτα, είτε με άσκηση, στο μεταβολισμό των VLDL-TAG, κατά το μεταπορροφητικό στάδιο, σε νεαρές γυναίκες.

2. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας

2.1 Τριακυλογλυκερόλες και λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας

Οι τριακυλογλυκερόλες ή τριγλυκερίδια (triacylglycerols, TAG) είναι μία κατηγορία λιποειδών. Δομικά αποτελούνται από την τριυδροξυ-αλκοόλη γλυκερόλη, με την οποία είναι ενωμένα τρία λιπαρά οξέα με εστερικούς δεσμούς (Εικόνα 1). Τα λιπαρά οξέα στο μόριο μπορεί να είναι ίδια (απλή τριακυλογλυκερόλη) ή διαφορετικά (μικτή τριακυλογλυκερόλη) [17].

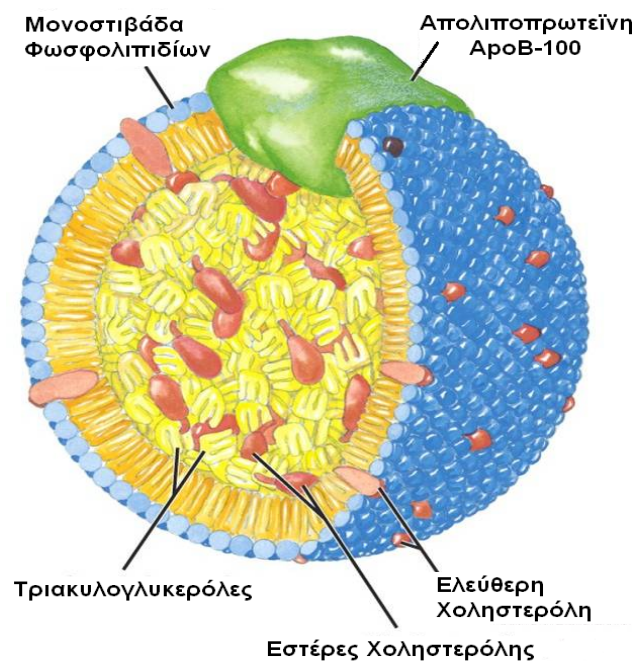


Εικόνα 1. Το μόριο της γλυκερόλης (α), ενός λιπαρού οξέος (β) και μιας τριακυλογλυκερόλης (γ).

Οι TAG αντιπροσωπεύουν μια πολύ συμπαγωμένη μορφή ενέργειας και αποτελούν ιδανική μορφή αποθήκευσης ενέργειας στα ανώτερα ζώα, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Είναι ουδέτερες ενώσεις (δεν εμφανίζουν όξινες ή βασικές ιδιότητες) και επιπλέον έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι βιολογικά αδρανείς, σε αντίθεση με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (free fatty acids, FFA), τα οποία σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις είναι πιθανώς τοξικά για τον οργανισμό [18]. Όταν οι ενεργειακές ανάγκες το απαιτήσουν, οι TAG του λιπώδους ιστού υδρολύονται με τη δράση των λιπασών και τα FFA που απελευθερώνονται, μεταφέρονται από την αλβουμίνη στους διάφορους ιστούς για οξείδωση [19].

Οι TAG είναι υδρόφοβα μόρια και έτσι δεν μπορούν να μετακινηθούν στο υδατικό περιβάλλον του πλάσματος του αίματος. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά τους οι πλούσιες σε TAG λιποπρωτεΐνες (triglyceride-rich lipoproteins, TRL), οι οποίες είναι δύο ειδών: α) τα χυλομικρά, τα οποία εκκρίνονται από τα

εντεροκύτταρα και μεταφέρουν τις εξωγενείς TAG (από την τροφή), και β) οι λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (very low density lipoproteins, VLDL), οι οποίες εκκρίνονται από τα ηπατοκύτταρα και μεταφέρουν τις ενδογενείς TAG, δηλαδή αυτές που συντίθενται ενδογενώς στο ήπαρ (Εικόνα 2). Οι τριγλυκεριδοφόρες λιποπρωτεΐνες TRL ονομάζονται έτσι καθώς το μεγαλύτερο μέρος του υδρόφοβου πυρήνα τους (90% για τα χυλομικρά και 65% για τις VLDL) αποτελείται από TAG [17]. 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 μετά) [20]. Κατά το μεταπορροφητικό στάδιο, το μεγαλύτερο μέρος των TAG του αίματος (65-70%) βρίσκεται στις VLDL, ενώ οι υπόλοιπες βρίσκονται στις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (low density lipoproteins, LDL) (15-20%) και στις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (high density lipoproteins, HDL) (10-15%) [16].



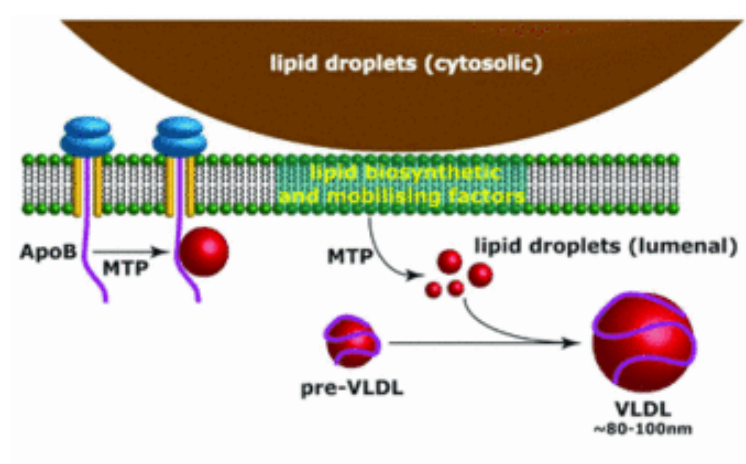
Εικόνα 2. Η δομή μιας VLDL λιποπρωτεΐνης.

2.2 Μεταβολισμός των VLDL-TAG

2.2.1 Σύνθεση και έκκριση των VLDL-TAG στην κυκλοφορία

Τα VLDL σωματίδια εκκρίνονται συνεχώς από το ήπαρ και μεταφέρουν τις ενδογενώς παραγόμενες TAG από το ήπαρ στους περιφερικούς ιστούς [17]. Η σύνθεση των VLDL εξαρτάται κυρίως από τη διαθεσιμότητα των λιπαρών οξέων του ήπατος. Τα λιπαρά οξέα προέρχονται από τους υδατάνθρακες (de novo σύνθεση λιπαρών οξέων στο ήπαρ), το λιπώδη ιστό (ελεύθερα λιπαρά οξέα πλάσματος) και τα υπολείμματα των λιποπρωτεϊνών που παραλαμβάνονται από το ήπαρ (μέσω υποδοχέων) [17].

Κάθε σωματίδιο VLDL περιέχει ένα και μόνο μόριο απολιποπρωτεΐνης αποB-100, η οποία και αποτελεί το δομικό σκελετό πάνω στον οποίο ενσωματώνονται στη συνέχεια τα διάφορα λιποειδή κατά την παραγωγή των VLDL στο ηπατοκύτταρο [17]. Το βασικό πλαίσιο του μηχανισμού σύνθεσης των VLDL περιλαμβάνει τη σύντηξη (συγχώνευση) ενός νεοσυντιθέμενου μορίου αποB-100, που παράγεται στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, με ένα σταγονίδιο λιποειδών (TAG αλλά και φωσφολιποειδή), το οποίο παράγεται στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο (Εικόνα 3) [18]. Το ώριμο σωματίδιο VLDL που σχηματίζεται εκκρίνεται στη συνέχεια στην κυκλοφορία του αίματος [17].



Εικόνα 3. Σύνθεση VLDL στο ηπατοκύτταρο. MTP = μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριακυλογλυκερολών.

Από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί φαίνεται πως στις περισσότερες περιπτώσεις, τα επίπεδα VLDL-TAG στο πλάσμα καθορίζονται, κυρίως, από τον ρυθμό της ηπατικής τους σύνθεσης και έκκρισης στην κυκλοφορία [21]. Διάφοροι παράγοντες μπορεί να επηρεάζουν τον ρυθμό έκκρισης των VLDL-TAG. Ανάμεσα σε αυτούς περιλαμβάνονται το συνολικό ποσοστό σωματικού λίπους, καθώς και τα επίπεδα της κεντρικής παχυσαρκίας [21], η διαθεσιμότητα των ενεργειακών υποστρωμάτων (επίπεδα γλυκόζης και ελεύθερων λιπαρών οξέων στο αίμα) και ορμονών (ινσουλίνης) [22-24], η ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας (REE) [25] και ο βαθμός ινσουλινοευαισθησίας [26,27].

Η έκκριση των VLDL υπόκειται σε ορμονικό έλεγχο από την ινσουλίνη. Στο μεταγευματικό στάδιο η υψηλή συγκέντρωση της ινσουλίνης παρεμποδίζει την έκκριση των VLDL αφού οι ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού καλύπτονται από την τροφή (τριάκυλογλυκερόλες χυλομικρών) [17]. Η αύξηση στη συγκέντρωση της ινσουλίνης στο αίμα επιφέρει αύξηση του ρυθμού αποδόμησης της apoB-100 στο ήπαρ, αναστολή της έκκρισης των VLDL-TAG και προαγωγή της ενδοηπατικής σύνθεσης και αποθήκευσης λιποειδών [18]. Η δράση της ινσουλίνης στη μείωση του ρυθμού έκκρισης των VLDL-TAG λαμβάνει χώρα ανεξάρτητα από την παρουσία αυξημένων συγκεντρώσεων γλυκόζης στο αίμα [22]. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ανασταλτικής δράσης της ινσουλίνης στην περιφερική λιπόλυση, ελαττώνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα των FFA για απορρόφηση από το ήπαρ [22].

Ωστόσο, σε καταστάσεις χρόνιας υπεργλυκαιμίας – υπερινσουλιναιμίας, ο ρυθμός παραγωγής των VLDL-TAG φαίνεται πως αυξάνεται, ακόμα και όταν τα FFA του πλάσματος διατηρούνται σε φυσιολογικά επίπεδα [28,29]. Σε άτομα που έχουν αναπτύξει αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης, η αναστολή της δράσης της ορμονοευαίσθητης λιπάσης (hormone sensitive lipase, HSL) στο λιπώδη ιστό από την ινσουλίνη δεν γίνεται αποτελεσματικά, κι έτσι προκαλείται αύξηση της συγκέντρωσης των FFA στο αίμα [30]. Τα FFA της κυκλοφορίας προσλαμβάνονται από το ήπαρ, εστεροποιούνται και ενσωματώνονται στις VLDL, η οποίες εκκρίνονται στην κυκλοφορία με σκοπό την επιστροφή των FFA στο λιπώδη ιστό [30]. Έχει προταθεί επίσης, πως η αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης, η οποία παρατηρείται σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης και διαβήτη, αναστέλλει την είσοδο των λιπαρών οξέων στο μιτοχόνδριο για οξείδωση [23]. Έτσι η μείωση της ηπατικής οξείδωσης

των FFA μειώνεται κατά 50% [23], με αποτέλεσμα τα επιπλέον διαθέσιμα FFA να είναι οδηγούνται προς τη σύνθεση και έκκριση περισσότερων ηπατικών VLDL-TAG. Στην αύξηση των διαθέσιμων FFA στο ήπαρ συμβάλλει από την άλλη και η μη αποτελεσματική καταστολή της de novo λιπογένεσης στο ήπαρ από την ινσουλίνη, σε καταστάσεις ινσουλινοαντίστασης [23].

2.2.2 Καταβολισμός των VLDL-TAG

Το εναρκτήριο βήμα του καταβολισμού των VLDL, αποτελεί η αλληλεπίδρασή τους 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) [17]. Τα χυλομικρά αποτελούν, όπως και οι VLDL, υπόστρωμα της LPL των περιφερικών ιστών και ανταγωνίζονται τις VLDL για την απόσυρση των TAG τους. Το ένζυμο αυτό όμως εμφανίζει μεγαλύτερη συγγένεια για τα μεγαλύτερου μεγέθους σωματίδια με αποτέλεσμα η πλασματοκάθαρση των χυλομικρών να είναι γρηγορότερη και τα επίπεδα των VLDL να εμφανίζονται αυξημένα μεταγευματικά. Καθώς στη συνέχεια η έκκριση της ινσουλίνης ελαττώνεται, η έκκριση των VLDL αυξάνεται για να αντικαταστήσουν τα χυλομικρά ως πηγή λιπαρών οξέων για τους ιστούς [17].

Τα τελικά προϊόντα της δράσης της LPL στις VLDL-TAG είναι κυρίως λιπαρά οξέα και μονοακυλογλυκερόλες. Τα περισσότερα από τα λιπαρά οξέα που απελευθερώνονται προσλαμβάνονται από τους περιφερειακούς ιστούς, όπου και αποθηκεύονται ως ενδοκυττάρια TAG ή χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενέργειας, ενώ ορισμένα ξεφεύγουν στην κυκλοφορία και συνεισφέρουν στη δεξαμενή των ελεύθερων λιπαρών οξέων [31].

Η λιπολυτική δράση της LPL ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό από αρκετές πρωτεΐνες που βρίσκονται στην επιφάνεια των VLDL σωματιδίων, όπως η apoC-II [32,33], και η apoA-V [34,35], οι οποίες ενεργοποιούν την LPL, και η apoC-III [33,36,37] και η apoE [38], οι οποίες αναστέλλουν την LPL. Η apoC-I και η apoE επιπλέον διαμορφώνουν την αλληλεπίδραση των VLDL με έναν αριθμό περιφερικών και

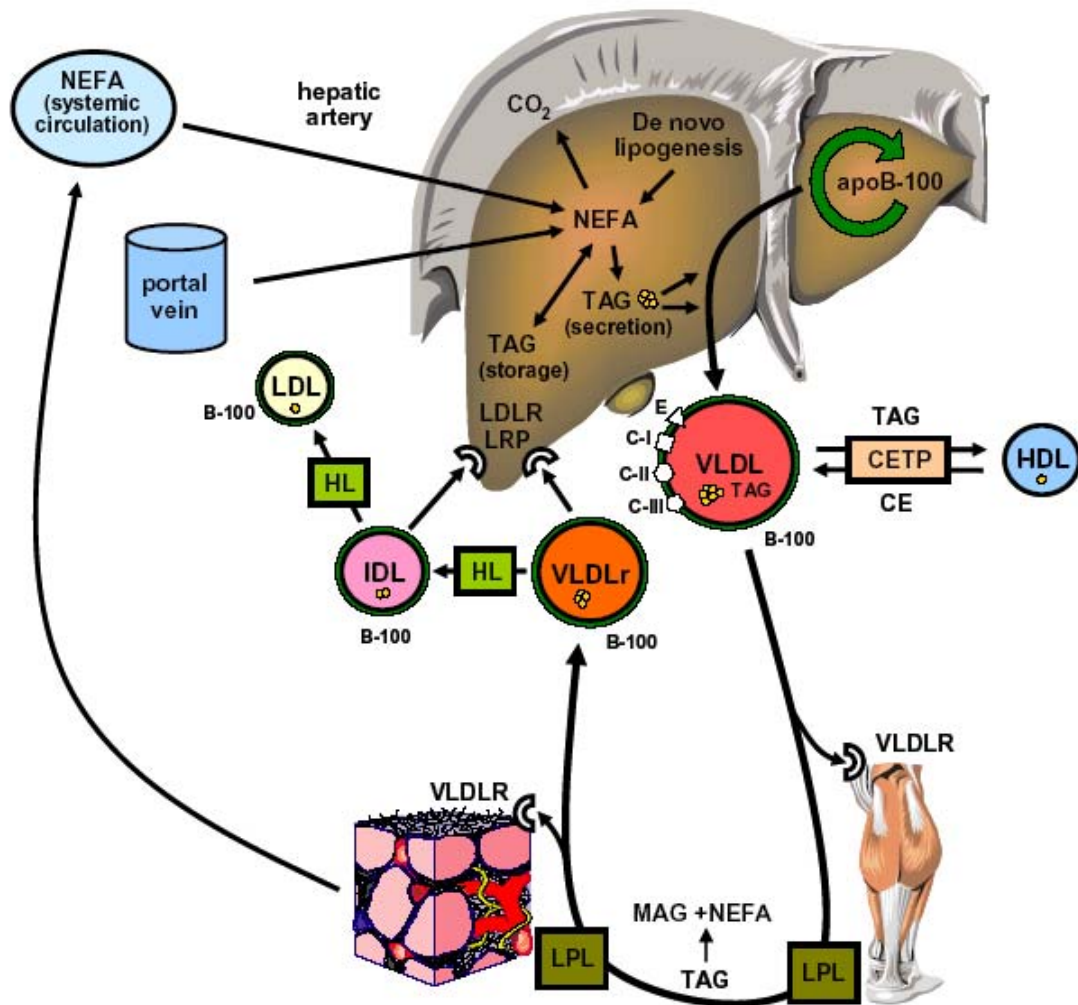
ηπατικών υποδοχέων (γενικά η αποC-I αναστέλλει, ενώ η αποE προωθεί την αλληλεπίδραση), π.χ. τον VLDL υποδοχέα (VLDL receptor, VLDLR), τους εξειδικευμένους υποδοχείς της αποE (low density lipoprotein-receptor related protein, LRP) και τον υποδοχέα της LDL (LDL receptor, LDLR) [39].

Πέρα από την υδρόλυση από την LPL, οι TAG μπορούν να εξέλθουν από τον πυρήνα των VLDL μέσω της δράσης της μεταφορικής πρωτεΐνης εστέρων χοληστερόλης (Cholesterol ester transfer protein, CETP), η οποία είναι μία υδρόφοβη γλυκοπρωτεΐνη που διευκολύνει την ανταλλαγή ουδέτερων λιποειδών (TAG, εστέρες χοληστερόλης, εστέρες ρετινόλης) αλλά και πολικών λιποειδών (φωσφολιποειδή) μεταξύ των διαφόρων λιποπρωτεϊνών του πλάσματος [17]. Η CETP φέρνει εις πέρας μια σχεδόν ισομοριακή ανταλλαγή TAG από τις VLDL και εστέρων χοληστερόλης από τις HDL. Αυτή η μεταφορά έχει ως αποτέλεσμα των εμπλουτισμό των VLDL σε εστέρες χοληστερόλης με ταυτόχρονη εξάντληση των TAG και, αντίστοιχα τον εμπλουτισμό των HDL σε TAG με ταυτόχρονη εξάντληση των εστέρων χοληστερόλης. Οι εστέρες χοληστερόλης που μεταφέρονται από τις HDL προς τις VLDL σχηματίζονται στην επιφάνεια των HDL μέσω της δράσης της ακυλοτρανσφεράσης της λεκιθίνης – χοληστερόλης (lecithin cholesterol acylotransferase, LCAT), η οποία καταλύει τη μεταφορά ακυλομάδων από τη λεκιθίνη στη χοληστερόλη, προς σχηματισμό λυσολεκιθίνης και εστέρων χοληστερόλης [17]. Εκτός από τις HDL, η ανταλλαγή TAG και εστέρων χοληστερόλης λαμβάνει χώρα με τον ίδιο τρόπο και μεταξύ VLDL και LDL. Έτσι λοιπόν, αρκετές TAG απομακρύνονται από τον πυρήνα των VLDL προς τις HDL (και τις LDL) μέσω της δράσης της CETP. Η CEPT αναστέλλεται από την αποC-I και ενεργοποιείται από την αποC-II [40].

Η βαθμιαία ελάττωση του περιεχομένου των VLDL σε TAG, κυρίως λόγω της συνεχιζόμενης λιπόλυσης των VLDL-TAG από την LPL, αλλά και λόγω μεταφοράς των TAG από τον πυρήνα των VLDL σε άλλες λιποπρωτεΐνες μέσω της CEPT, 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) [17]. Τα δύο αυτά σωματίδια διατηρούν το ένα και μοναδικό μόριο αποB-100 στην επιφάνειά τους και, είτε απομακρύνονται απευθείας από την κυκλοφορία του αίματος,

μέσω αλληλοεπίδρασης με εξειδικευμένους ηπατικούς υποδοχείς, είτε μετατρέπονται σε LDL. Το μονοπάτι για την πρόσληψη των VLDLr και IDL από το ήπαρ (αλλά και τους περιφερικούς ιστούς) περιλαμβάνει τους υποδοχείς LDL που αναγνωρίζουν την αποB και την αποE (LDL receptor, LDLR), τους εξειδικευμένους υποδοχείς της αποE (low density lipoprotein-receptor related protein, LRP), τους υποδοχείς VLDL (VLDL receptor, VLDLR), καθώς και διάφορες πρωτεογλυκάνες των κυτταρικών επιφανειών που μπορούν να προσδένουν την αποE. Η ηπατική λιπάση (hepatic lipase, HL) ενδεχομένως να δρα ως γέφυρα διευκολύνοντας την πρόσδεση των VLDLr και των IDL, στους υποδοχείς των ηπατικών κυττάρων. Ο κυριότερος ρόλος της HL, είναι η υδρόλυση των TAG στο VLDLr προς το σχηματισμό IDL, και στις IDL προς το σχηματισμό LDL (Εικόνα 4). Οι LDL είναι ο κύριος φορέας της χοληστερόλης του πλάσματος και η οξειδωτική τροποποίησή της αποτελεί τα ον κύριο παράγοντα για την εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης [17].

Το περιεχόμενο των VLDL σε TAG παίζει ρόλο κλειδί στον καθορισμό της πορείας τους. Γενικά, πλούσια σε TAG νεοσυντιθέμενα σωματίδια VLDL (γνωστά ως VLDL₁) αδειάζουν από λιπίδια γρηγορότερα από φτωχά σε TAG σωματίδια VLDL (γνωστά ως VLDL₂), αλλά κάποια δεν υφίστανται ποτέ πλήρη απομάκρυνση των λιπιδίων και μπορεί να απομακρυνθούν από το πλάσμα ως VLDLr, πριν μετατραπούν σε LDL, ενώ σχεδόν όλα τα VLDL₂ σωματίδια μετατρέπονται αποτελεσματικά σε LDL [39,41].

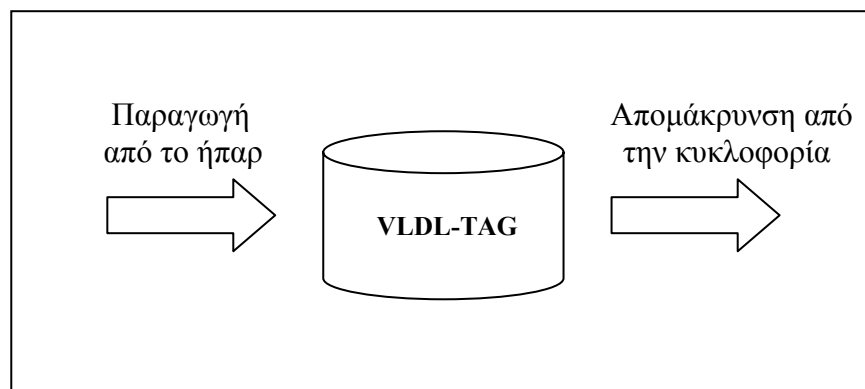


Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση του μεταβολισμού των VLDL. Τα λιπαρά οξέα γίνονται διαθέσιμα στο ήπαρ από τη συστηματική κυκλοφορία (FFA του πλάσματος) και από μη συστηματικές πηγές (π.χ. de novo λιπογένεση, λιπόλυση ενδοηπατικών TAG, μέσω της πυλαίας φλέβας από λιπόλυση του ενδοκοιλιακού λίπους). Εκεί οξειδώνονται προς παραγωγή ενέργειας ή εστεροποιούνται προς TAG (ή και φωσφολιποειδή), ορισμένα από τα οποία προορίζονται για έκκριση. Αυτές οι TAG συντήκονται με ένα νεοσυντιθέμενο μόριο apoB-100 και τελικά εκκρίνεται ένα ώριμο σωματίδιο VLDL. Τα TAG και οι VLDL χάνονται από την κυκλοφορία μέσω υδρόλυσης από την LPL των περιφερικών ιστών, μέσω της CETP που τα μεταφέρει σε άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. HDL) ή 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 μία ποικιλία ενζύμων

και υποδοχέων και μπορούν να μετακινούνται ελεύθερα μεταξύ των διαφόρων λιποπρωτεϊνών. Η απο-B παραμένει συνεχώς προσκολλημένη στο σωματίδιο VLDL και χάνεται από την κυκλοφορία, μόνο όταν ολόκληρο το σωματίδιο VLDL χάνεται από την κυκλοφορία. **CETP**: cholesterol ester transfer protein (πρωτεΐνη μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης), **FFA**: free fatty acids (ελεύθερα λιπαρά οξέα), **HL**: hepatic lipase (ηπατική λιπάση), **HSL**: hormone sensitive lipase (ορμονοευαίσθητη λιπάση), **IDL**: intermediate density lipoproteins (λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας), **LCAT**: lecithin cholesterol acyl-transferase (ακυλοτρανσφεράση λεκιθίνης-χοληστερόλης), **LDL**: low density lipoproteins (λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας), **LPL**: lipoprotein lipase (λιποπρωτεϊνική λιπάση), **MAG**: monoacylglycerols (μονοακυλογλυκερόλες), **TAG**: triacylglycerols (τριακυλογλυκερόλες), **VLDL**: very low density lipoproteins (λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας), **VLDLr**: very low density lipoprotein remnants (υπολείμματα λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας) [17].

2.3 Μελέτη της κινητικής των VLDL-TAG

Η συγκέντρωση των VLDL-TAG στο αίμα αντανακλά κάθε στιγμή τη δυναμική ισορροπία μεταξύ της παραγωγής τους από το ήπαρ υπό τη μορφή VLDL και της απομάκρυνσής του από την κυκλοφορία (Εικόνα 5). Ο όρος «κινητική» αναφέρεται ακριβώς στους ρυθμούς παραγωγής και απομάκρυνσης, που αποτελούν δυναμικές παραμέτρους του μεταβολισμού, σε αντιδιαστολή με τη συγκέντρωση, που αποτελεί μία «στατική» μεταβολική παράμετρο [17].

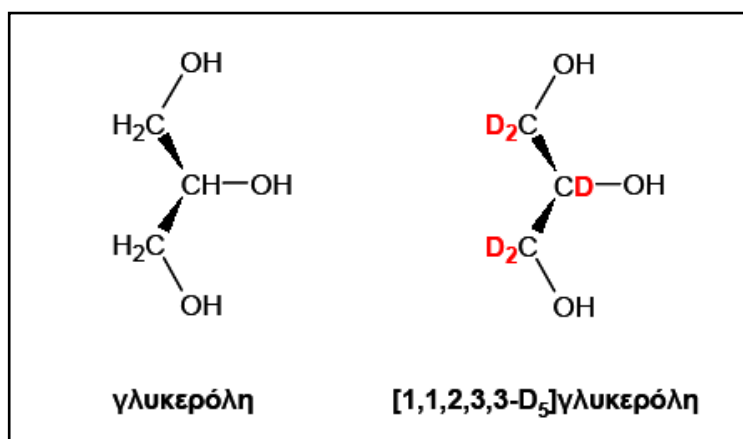


Εικόνα 5. Η συγκέντρωση των VLDL-TAG στο αίμα προσδιορίζεται κάθε στιγμή από τους ρυθμούς παραγωγής από το ήπαρ και απομάκρυνσης από την κυκλοφορία.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των διαφόρων λιποειδών στο πλάσμα (π.χ. ολικών TAG) παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την αναγνώριση και το χαρακτηρισμό μιας διαταραχής στο λιπιδαιμικό προφίλ (π.χ. υπερτριακυλογλυκερολαιμίας), ωστόσο από μόνη της δεν μπορεί να υποδείξει του μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για αυτή τη διαταραχή [17]. Για να γίνει αυτό, είναι απαραίτητη μια μελέτη κινητικής.

Το βασικό χαρακτηριστικό των μελετών κινητικής είναι η χρήση ενός σημασμένου εξωγενούς υποστρώματος (ιχνηλάτης, tracer) για τη διερεύνηση της μεταβολικής πορείας ενός ενδογενούς υποστρώματος (ιχνηλατούμενο, trace). Ο όρος ιχνηλάτης αναφέρεται σε μια σημασμένη μορφή μιας ένωσης, που χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει ορισμένες ιδιότητες της ένωσης αυτής στα βιολογικά συστήματα [42]. 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 [42]. 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. [17]. Η δημιουργία ενός ιχνηλάτη περιλαμβάνει την αντικατάσταση ενός ή περισσότερων ατόμων, που βρίσκονται φυσιολογικά σε μία ή και περισσότερες θέσεις μέσα στο μόριο του ιχνηλατούμενου, με ένα ισότοπο αυτού του ατόμου, που απαντάται πολύ πιο σπάνια στη φύση [17].

Η διαδικασία παρακολούθησης της κινητικής των VLDL-TAG, με ισότοπα ιχνηθέτησης, βασίζεται στην ενδοφλέβια έγχυση επισημασμένης ουσίας που α) ενσωματώνεται άμεσα στα VLDL-TAG, β) δεν εμπλέκεται σε άλλες μεταβολικές οδούς και γ) η μέτρηση του εμπλουτισμού της στις VLDL λιποπρωτεΐνες είναι εφικτή για χρονικό διάστημα αρκετών ωρών [43]. Μία τέτοια ουσία μπορεί να είναι η επισημασμένη γλυκερόλη. Η επισημασμένη $[1,1,2,3,3\text{-}^2\text{H}_5]$ γλυκερόλη (Εικόνα 6), η οποία δεν ανακυκλώνεται μέσα από τα μονοπάτια της γλυκόλυσης και της γλυκονεογένεσης, έχει αποδώσει αρκετά αξιόπιστα αποτελέσματα στις μελέτες κινητικής των VLDL-TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο [44,45].



Εικόνα 6. Αριστερά απεικονίζεται το μόριο της γλυκερόλης που απαντάται συνηθέστερα στη φύση και στο ανθρώπινο σώμα (ιχνηλατούμενο), ενώ δεξιά απεικονίζεται η γλυκερόλη που θα χρησιμοποιηθεί ως ιχνηλάτης, η οποία είναι σημασμένη με δευτέριο (D) στη θέση του πρώτιου.

Μία απλή μέθοδος που έχει εφαρμοστεί για τη μελέτη του ρυθμού ηπατικής έκκρισης, αλλά και της περιφερικής απομάκρυνσης των VLDL-TAG από το αίμα, θεωρεί την ύπαρξη ενός και μόνο διαμερίσματος, το πλάσμα του αίματος (μονοδιαμερισματικό μοντέλο βιολογικού συστήματος), μέσα στο οποίο πραγματοποιείται ο μεταβολισμός των VLDL λιποπρωτεϊνών. Κατά τη διαδικασία αυτή, η γλυκερόλη που εισάγεται ενδοφλεβίως στην κυκλοφορία του αίματος, προσλαμβάνεται από το ήπαρ και το μεγαλύτερο μέρος αυτής εντάσσεται στη διαδικασία εστεροποίησης και σύνθεσης των VLDL σωματιδίων [46]. Στη συνέχεια η κινητική των VLDL-TAG προσδιορίζεται κατά την παρακολούθηση των αλλαγών που σημειώνονται στο λόγο του ιχνηλάτη προς την ιχνηλατούμενη ουσία (tracer to trace ratio, TTR). Είναι προφανές ότι με τη μέθοδο αυτή, προσδιορίζεται βασικά η κινητική της γλυκερόλης των VLDL-TAG, που ισοδυναμεί όμως με την κινητική των VLDL-TAG αυτών καθαυτών, αφού κάθε μόριο TAG αποτελείται από ένα μόριο γλυκερόλης.

2.4 Ρύθμιση των επιπέδων των VLDL-TAG

2.4.1 Κλινική σημασία

Τα επίπεδα των TAG στο αίμα αντανακλούν κάθε στιγμή τη δυναμική ισορροπία μεταξύ της παραγωγής τους από το ήπαρ υπό τη μορφή VLDL και της απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία [39]. Δυσλειτουργία σε οποιοδήποτε επίπεδο μπορεί να οδηγήσει σε υπετριγλυκεριδαιμία. Είναι πλέον γνωστό πως η υπετριγλυκεριδαιμία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα [8,47-50]. Αυτό υποδεικνύει πως κάποιες πλούσιες σε TAG λιποπρωτεΐνες (triglyceride-rich lipoproteins, TRL) έχουν αθηρογόνο δράση. Αυτές οι λιποπρωτεΐνες περιλαμβάνουν τις VLDL₁ και τις IDL, οι οποίες είναι εμπλουτισμένες σε χοληστερόλη κι έχουν πολλές κοινές ιδιότητες με την LDL [3]. Η αθηρογόνος δράση αυτών των υπολειμμάτων υποστηρίζεται από μια σειρά ανεξάρτητων δεδομένων [51-53].

Τα υψηλά επίπεδα των TAG του πλάσματος σχετίζονται και με αυξημένη τάση για θρόμβωση. Συγκεκριμένα οι TAG του πλάσματος αυξάνουν τη δραστικότητα του παράγοντα VII (ενός εναρκτήριου παράγοντα της πήξης) καθώς και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor, PAI-1) με αποτέλεσμα η υψηλή συγκέντρωση TAG να θεωρείται ως προθρομβωτική κατάσταση [17].

Πέραν όμως από τη συγκέντρωση των TAG αυτή καθαυτή, διαταραχές στη σύνθεση των VLDL από το ήπαρ που οδηγούν στην έκκριση πλούσιων σε TAG και μεγάλων σε μέγεθος VLDL, συσχετίζονται με πλήθος άλλων προβλημάτων στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών με δυνητικά αρνητικές συνέπειες [39,54]. Για παράδειγμα, οι μεγάλες σε μέγεθος και πλούσιες σε TAG VLDL (VLDL₁) οδηγούν στο σχηματισμό μικρών και πυκνών LDL [54], οι οποίες θεωρείται ότι κατέχουν κυρίαρχο ρόλο στη διαδικασία της αθηρογένεσης [55]. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα TAG οδηγούν σε εμπλουτισμό των HDL λιποπρωτεϊνών με TAG και αυτό έχει συσχετιστεί με μείωση της συγκέντρωσης της HDL, η οποία έχει καρδιοπροστατευτική δράση, πιθανόν λόγω αύξησης του καταβολισμού της [56]. Συνεπώς, η ρύθμιση των επιπέδων των VLDL-TAG έχει μεγάλη κλινική σημασία.

Οι ακριβείς λόγοι που συντελούν στην εμφάνιση της υπερτριακυλογλυκερολαιμίας είναι αμφιλεγόμενοι. Αυξημένα επίπεδα TAG νηστείας στο αίμα μπορεί να οφείλονται είτε σε αυξημένη παραγωγή VLDL-TAG από το ήπαρ [57-59], είτε σε μειωμένη απομάκρυνση του από τους περιφερειακούς ιστούς [60-63] ή και στους δύο μηχανισμούς ταυτόχρονα [64-66]. Παρόλα αυτά ο ακριβής μηχανισμός αύξησης των TAG στο αίμα παραμένει άγνωστος [67].

Πέρα από την ενδογενή επίδραση που ασκεί το γονιδίωμα του κάθε ατόμου στον καθορισμό του λιπιδαιμικού του προφίλ [68], υπάρχουν και εξωγενείς παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των TAG νηστείας στο αίμα, όπως για παράδειγμα το υπέρβαρο και η παχυσαρκία, η μειωμένη φυσική δραστηριότητα, το κάπνισμα, η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ, μία δίαιτα πολύ υψηλή σε υδατάνθρακες (>60% της συνολικής ημερήσιας προσλαμβανόμενης ενέργειας), ασθένειες (διαβήτης τύπου 2, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, νεφρωτικό σύνδρομο), συγκεκριμένα φάρμακα (κορτικοστεροειδή, αναστολείς πρωτεασών για HIV, παράγοντες αναστολής β-αδρενεργικών υποδοχέων, οιστρογόνα) [3] (Πίνακας 1). Επομένως, αλλαγές είτε στη διατροφή [69], είτε στη φυσική δραστηριότητα [70], μπορούν να συμβάλλουν στη ρύθμιση των επιπέδων TAG νηστείας, μειώνοντάς τα ή προλαμβάνοντας την αύξησή τους, κι επομένως να βοηθήσουν στη μείωση του κινδύνου για καρδιαγγειακά.

Πίνακας 1. Παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των TAG νηστείας στο αίμα:

1) Ύπαρξη υπέρβαρου και παχυσαρκίας.
2) Μειωμένη φυσική δραστηριότητα.
3) Κάπνισμα.
4) Αυξημένη πρόσληψη αλκοόλ.
5) Δίαιτα πολύ υψηλή σε υδατάνθρακες (>60% προσλαμβανόμενης ενέργειας).
6) Ασθένειες (διαβήτης τύπου 2, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, νεφρωτικό σύνδρομο).
7) Συγκεκριμένα φάρμακα (κορτικοστεροειδή, αναστολείς πρωτεασών για HIV, παράγοντες αναστολής β-αδρενεργικών υποδοχέων, οιστρογόνα).
8) Γονιδιακοί παράγοντες.

2.4.2. Η επίδραση της δίαιτας

Έχει φανεί πως η ρύθμιση της ενεργειακής πρόσληψης, η οποία επιτυγχάνεται μέσω μακροχρόνιας υποθερμιδικής δίαιτας και οδηγεί σε απώλεια σωματικού βάρους, επιφέρει σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση των TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο [71-74]. Σε μία μετα-ανάλυση 70 μελετών βρέθηκε πως η απώλεια 1 kg σωματικού βάρους σχετίζεται με μείωση των TAG νηστείας κατά 0.015 mmol/l [74]. Από την άλλη, υπάρχουν και μελέτες που δεν βρήκαν αποτέλεσμα [75-78] ή βρήκαν το αντίθετο αποτέλεσμα [79], ίσως λόγω σημαντικών μεθοδολογικών διαφορών.

Σημαντικό ρόλο στην υποτρίακυλογλυκερολαιμική επίδραση της δίαιτας, φαίνεται να έχει, πέρα από την απώλεια βάρους, το ενεργειακό έλλειμμα αυτό καθαυτό (όπως θα αναλυθεί στο κεφάλαιο 2.4.4). Πολύ λίγες μελέτες μέχρι σήμερα έχουν μελετήσει την επίδραση της βραχυχρόνιας μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης στα επίπεδα TAG. Σε μία από αυτές, μίας ημέρας μείωση της ενεργειακής πρόσληψης κατά 340 kcal, δεν επέφερε μείωση των TAG σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [80]. Από την άλλη, σε μεταγενέστερη έρευνα σε υγιείς άνδρες, 5 ημέρες υποθερμιδικής δίαιτας (-880 kcal/ ημέρα) οδήγησε σε μείωση των επιπέδων TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο [81]. Το ίδιο αποτέλεσμα είχε και μία πρόσφατη μελέτη σε υγιείς πρόεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [82], όπου μίας ημέρας υποθερμιδική δίαιτα (-480 kcal) μείωσε στατιστικά σημαντικά τα TAG νηστείας κατά 15 %. Σε αυτή τη μελέτη φάνηκε επίσης, για πρώτη φορά, πως η οξεία μείωση της ενεργειακής πρόσληψης οδηγεί σε μείωση των TAG στις TRL (δηλαδή στις VLDL στο μεταπορροφητικό στάδιο) κατά 37%, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (ισοθερμιδική δίαιτα).

Όσον αφορά την επίδραση της σύστασης της δίαιτας στα επίπεδα των TAG, είναι γνωστό πλέον πως αυξημένη πρόσληψη υδατανθράκων προκαλεί αύξηση στη συγκέντρωση των TAG [83,84], ενδεχομένως λόγω αύξησης της παραγωγής των VLDL-TAG [83,85], εξαιτίας μειωμένης ηπατικής οξείδωσης των λιπαρών οξέων [83] ή λόγω μειωμένης απομάκρυνσης των VLDL-TAG από την κυκλοφορία [86,87]. Έτσι, ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στις δίαιτες χαμηλού λίπους και υψηλών υδατανθράκων, που συστήνονται συνήθως για την αντιμετώπιση της υπερχοληστερολαιμίας [88,89]. Μία πιθανή λύση, είναι αντί για μεγάλη μείωση του ποσοστού λίπους της δίαιτας, να γίνει αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών με

πολυακόρεστα [90] και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα [91]. Επιδημιολογικά δεδομένα αναδεικνύουν την ευεργετική δράση των πολυακόρεστων ω -3 και ω -6 λιπαρών οξέων (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFA), όσον αφορά τη μείωση του κινδύνου για καρδιοπάθειες [92]. Η δράση αυτή φαίνεται να οφείλεται στις θετικές επιδράσεις που έχουν στην αθηροθρόμβωση, στη ρύθμιση της έκφρασης διαφόρων προ-αθηρογόνων γονιδίων, στη μειωμένη σύνθεση VLDL σωματιδίων από το ήπαρ [93,94] και στη επίδραση τους στις καρδιακές αρρυθμίες [94]. Επιπλέον, έχει βρεθεί πως μία μέτρια αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών με μονοακόρεστα λιπαρά (Monounsaturated Fatty Acids, MUFA) και συμπλήρωμα ω -3 PUFA, μειώνει σημαντικά τα TAG νηστείας [95], ενώ έχει επίσης φανεί πως μία δίαιτα πλούσια σε MUFA αυξάνει την απομάκρυνση των TRL από την κυκλοφορία και μειώνει το ποσοστό των TRL που μετατρέπεται σε LDL [96].

Τα παραπάνω στοιχεία που αφορούν τη διατροφή, είναι όλα σημαντικά, κι ως εκ τούτου θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τη διάρκεια διεξαγωγής μελετών της κινητικής των VLDL-TAG.

2.4.3. Η επίδραση της άσκησης

Έχει πλέον αναγνωριστεί πως η άσκηση έχει υποτρίακυλογλυκερολαιμική δράση, η οποία εμφανίζεται έντονα περίπου 12 ώρες μετά το πέρας μίας συνεδρίας άσκησης, διαρκεί 1 – 2 ημέρες και δεν είναι αποτέλεσμα μεταβολικών προσαρμογών σε επαναλαμβανόμενες συνεδρίες άσκησης (προπόνηση) [97,98]. Συγκεκριμένα, η μείωση στα επίπεδα TAG έπειτα από μία συνεδρία άσκησης και έπειτα από προπόνηση, είναι η ίδια (π.χ. 15-50%) [97]. Επιπλέον, η μείωση της συγκέντρωσης των TAG νηστείας 15 ώρες μετά από την τελευταία συνεδρία άσκησης, ύστερα από μία περίοδο προπόνησης, παύει να παρατηρείται μετά από 48-60 ώρες από το πέρας αυτής [99-101], και δεν υπάρχουν άλλες αλλαγές μετά από μία επιπλέον εβδομάδα χωρίς προπόνηση [99,100]. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν πως η χρόνια άσκηση δεν έχει κάποιο επιπλέον αποτέλεσμα στα επίπεδα των TAG, πέρα από τη συμβολή της οξείας άσκησης, κι επομένως η άσκηση θα πρέπει να επιτελείται σε συστηματική και αδιάλειπτη βάση έτσι ώστε να διατηρείται η υποτρίακυλογλυκερολαιμική της επίδραση [39].

Μία και μόνο συνεδρία αερόβιας άσκησης, παρατεταμένης διάρκειας (≥ 90 min) και μέτριας έντασης, προκαλεί μία καθυστερημένη εμφάνιση υποτρίακυλογλυκερολαιμίας [39]. Πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση των TAG στο πλάσμα δεν αλλάζει με κάποιο συγκεκριμένο τρόπο κατά τη διάρκεια, αμέσως μετά, ή και για αρκετές ώρες μετά την άσκηση [102-104], αλλά μειώνεται σημαντικά 12-18 ώρες μετά το πέρας της άσκησης, παραμένοντας χαμηλότερη από την αρχική για 2 - 3 ημέρες [102,104-109].

Η υποτρίακυλογλυκερολαιμία που παρατηρείται μετά από οξεία άσκηση φαίνεται πως εξαρτάται από την συνολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης, η οποία πρέπει να ξεπερνά τις 500 kcal [105,110-115]. Πλήθος μελετών έχει δείξει πως, σε υγιή άτομα, με φυσιολογικά επίπεδα TAG, μια και μόνο συνεδρία αερόβιας άσκησης, παρατεταμένης διάρκειας και μέτριας έντασης (90 min στο 60% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, VO_{2max}) οδηγεί σε μείωση των συγκεντρώσεων TAG νηστείας την επόμενη ημέρα κατά 15-30% [101,105,110-112,116-123]. Το ίδιο αποτέλεσμα έχει και μία συνεδρία αερόβιας άσκησης, χαμηλής έντασης αλλά πολύ παρατεταμένης διάρκειας (3 h στο 30% της VO_{2max}), που αντιστοιχεί σε ενεργειακή

δαπάνη πάνω από 600 – 700 kcal [111,124,125]. Από την άλλη, όταν η συνολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης είναι $\leq 400 - 500$ kcal, οι συγκεντρώσεις των TAG νηστείας δεν επηρεάζονται [112,126-138]. Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι έχει παρατηρηθεί σε άτομα με υπερτριγλυκεριδαιμία [139,140] ή υπερχοληστερολαιμία [141], το κατώφλι της ενεργειακής δαπάνης που απαιτείται για την εμφάνιση υποτριάκυλογλυκερολαιμίας μετά από άσκηση, να είναι χαμηλότερο (350-500 kcal). Η απαιτούμενη ενεργειακή δαπάνη σε κάθε περίπτωση, μπορεί να επιτευχθεί σε μία ενιαία συνεδρία ή σε πολλαπλές συνεδρίες μικρότερης διάρκειας, με τα αποτελέσματα στα επίπεδα των TAG νηστείας να είναι όμοια [127,129,142-144] έπειτα από διαλειμματική άσκηση σε σύγκριση με τη συνεχόμενη άσκηση. Επιπλέον άσκηση, με ενεργειακή δαπάνη μεγαλύτερη από το απαιτούμενο ενεργειακό κατώφλι, δεν φαίνεται να οδηγεί σε μεγαλύτερη μείωση των TAG νηστείας [113].

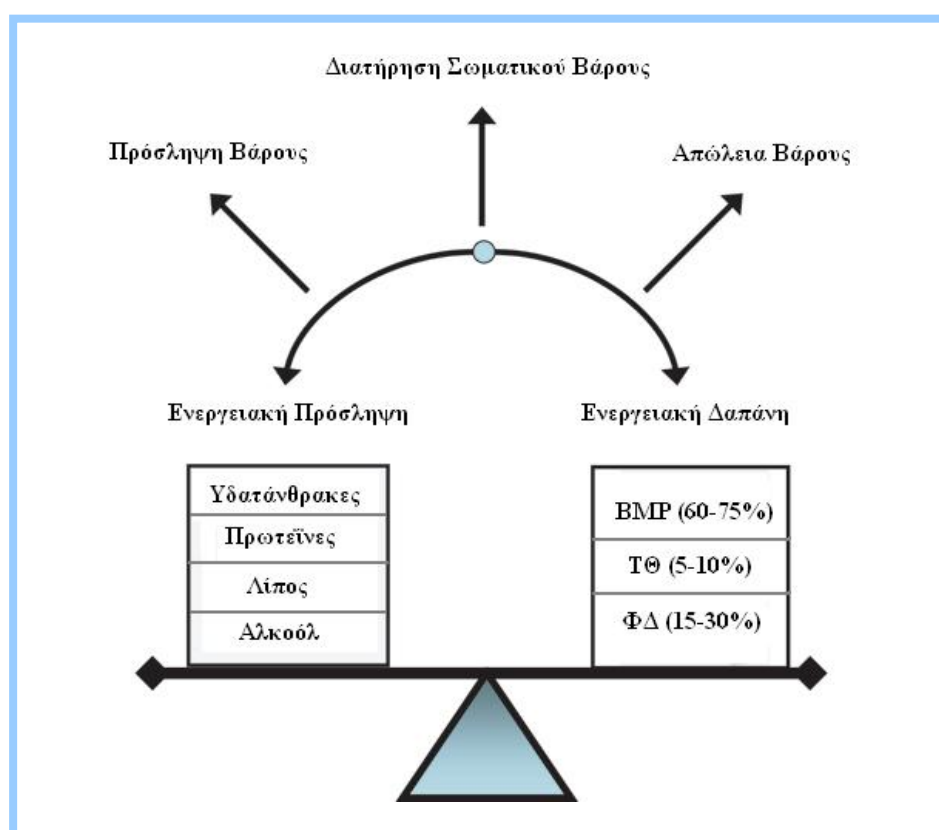
Η μείωση της συγκέντρωσης των ολικών TAG νηστείας 1 ημέρα μετά από έντονη άσκηση, οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση της συγκέντρωσης των VLDL-TAG, με πολύ μικρή ή και καθόλου αλλαγή στη συγκέντρωση άλλων λιποπρωτεϊνικών κλασμάτων [105,106,117,118,139,145-147]. Ως εκ τούτου, οι VLDL παίζουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση των επιπέδων TAG μέσω άσκησης [39]. Τα κύρια χαρακτηριστικά της υποτριάκυλογλυκερολαιμικής επίδρασης της άσκησης συνοψίζονται στον Πίνακα 2 .

Η υποτριάκυλογλυκερολαιμική επίδραση της άσκησης:
1) Δεν οφείλεται στη χρόνια άσκηση.
2) Εμφανίζεται καθυστερημένα, είναι οξεία και διαρκεί λίγο.
3) Απαιτεί ένα συγκεκριμένο κατώφλι ενεργειακής δαπάνης.
4) Πάνω από αυτό το ενεργειακό κατώφλι σταθεροποιείται και δεν αυξάνεται περαιτέρω.
5) Δεν εξαρτάται από την ένταση ή τη διάρκεια της άσκησης, αρκεί η ενεργειακή δαπάνη να παραμένει σταθερή.
6) Αντανακλά κυρίως τη μείωση στη συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα.

Πίνακας 2. Κύρια χαρακτηριστικά της υποτριάκυλογλυκερολαιμικής επίδρασης της άσκησης [39] .

2.4.4. Η επίδραση του αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου: δίαιτα έναντι άσκησης

Το ενεργειακό ισοζύγιο ενός ατόμου διαμορφώνεται από δύο συνιστώσες: την ενεργειακή πρόσληψη (ΕΠ) και την ενεργειακή δαπάνη (ΕΔ). Η ΕΠ είναι η ενέργεια που προσλαμβάνει το άτομο από όλα τα τρόφιμα και ποτά που καταναλώνει, ενώ η ΕΔ αποτελείται από τις ενεργειακές απαιτήσεις του οργανισμού, δηλαδή το βασικό μεταβολικό ρυθμό (ΒΜΡ), την τροφογενή θερμογένεση (ΤΘ) και την ενεργειακή δαπάνη της φυσικής δραστηριότητας (ΦΔ) του ατόμου. Η διατήρηση του σωματικού βάρους εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ ΕΠ και ΕΔ. Αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας διαμορφώνεται όταν η ΕΔ είναι μεγαλύτερη από την ΕΠ ($EΔ > EΠ$), ενώ θετικό, όταν ισχύει το αντίθετο ($EΔ < EΠ$) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Οι παράγοντες που επηρεάζουν το ενεργειακό ισοζύγιο, επομένως και το σωματικό βάρος ενός ατόμου.

Η επίδραση του ενεργειακού ισοζυγίου στο μεταβολισμό των TAG δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί πάνω στο συγκεκριμένο αντικείμενο, εξέτασαν τις επιδράσεις της αύξησης της ΕΔ (άσκηση), της μείωσης της

ΕΠ (υποθερμιδική δίαιτα) ή του συνδυασμού τους, σε βραχυχρόνιο ή μακροχρόνιο επίπεδο.

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 2.4.2, μακροχρόνια μέτρια μείωση της ενεργειακής πρόσληψης, η οποία οδηγεί σε απώλεια βάρους, φαίνεται πως μειώνει τα επίπεδα TAG πλάσματος [75,76,148,149]. Το κατά πόσο αυτό οφείλεται στο αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο ή στην απώλεια βάρους που το συνοδεύει, δεν είναι ξεκάθαρο. Σε μελέτες όπου ο προσδιορισμός των TAG έγινε έπειτα από μία περίοδο σταθεροποίησης του σωματικού βάρους, δηλαδή όταν η επίδραση του αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου έπαυσε να υφίσταται, η μείωση των TAG νηστείας ήταν σχετικά μικρή (~20-29%) [71,150] και κάποιες φορές μη στατιστικά σημαντική [151-153]. Αντίστοιχα η μείωση των TAG μεταγευματικά δεν ήταν στατιστικά σημαντική [150,151], ενώ σε μία πιο πρόσφατη μελέτη βρέθηκε σημαντική [153]. Η ασυνέπεια των παραπάνω αποτελεσμάτων μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την απώλεια βάρους (είδος δίαιτας και φυσική δραστηριότητα). Αντίθετα, όταν ο προσδιορισμός των TAG πραγματοποιήθηκε κατά την περίοδο της ενεργούς απώλειας βάρους, όταν δηλαδή συνυπήρχε η επίδραση του οξέος ενεργειακού ελλείμματος, η μείωση των TAG, τόσο στο μεταποροφητικό (~28-55%) όσο και στο μεταγευματικό στάδιο (~19-48%) ήταν στατιστικά σημαντική και πολύ μεγαλύτερη [75,148,149,152].

Σε πρόσφατη μελέτη [82], όπου εξετάστηκε συγκεκριμένα μόνο η επίδραση του οξέος ενεργειακού ελλείμματος, μέσω μίας ημέρας μέτριας υποθερμιδικής δίαιτας, βρέθηκε πως οι TAG νηστείας και μεταγευματικά μειώθηκαν σημαντικά κατά 15% και 12% αντίστοιχα. Αυτό μπορεί να εξηγεί τη διαφορά της υποτρίακυλογλυκερολαιμικής επίδρασης της απώλειας βάρους όταν αυτή εξετάζεται κατά την ενεργή φάση απώλειας βάρους ή μετά από μια περίοδο σταθεροποίησης του, και υποδεικνύει ότι η απώλεια βάρους από τη μία και το οξύ ενεργειακό έλλειμμα από την άλλη, ίσως ασκούν ξεχωριστές και επιπρόσθετες επιδράσεις στο μεταβολισμό των TAG, με έναν τρόπο παρόμοιο με τις επιδράσεις τους στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης [82].

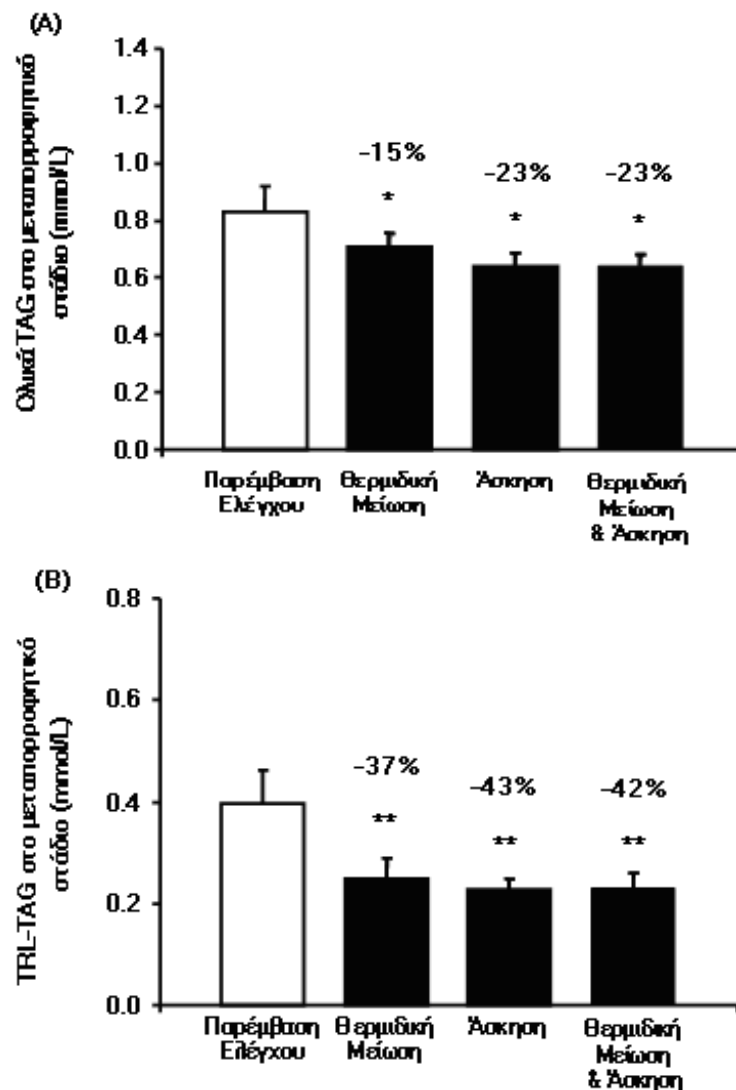
Όσον αφορά την επίδραση της άσκησης, όπως αναπτύχθηκε στο κεφάλαιο 2.4.3, πολλές είναι οι μελέτες που δείχνουν ότι η επακόλουθη υποτρίακυλογλυκερολαιμία

εξαρτάται από την συνολική ενέργεια που δαπανάται κατά τη διάρκεια της άσκησης [105,110-115] ή ίσως από το συνολικό ενεργειακό έλλειμμα λόγω άσκησης, αφού στις μελέτες αυτές η καθαρή ενεργειακή δαπάνη της άσκησης δεν αντισταθμίστηκε από επιπλέον ενεργειακή πρόσληψη μέσω δίαιτας, οδηγώντας έτσι σε αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών δείχνουν πως το κατώφλι του ενεργειακού ελλείμματος λόγω άσκησης, για να επιτευχθεί μείωση των TAG, είναι περίπου 500 kcal, ή και λιγότερο, όπως φάνηκε σε μελέτη όπου συνδυάστηκε το ενεργειακό έλλειμμα μέσω άσκησης, με ελαφριά μείωση της ενεργειακής πρόσληψης, ώστε να επιτευχθεί αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο περίπου 600 kcal [154].

Πολύ λίγες μελέτες εξέτασαν την επίδραση της άσκησης, ως ενεργειακό έλλειμμα, με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Σε μία παλαιότερη μελέτη σε ασθενείς με υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου IV, 4 καθημερινές συνεδρίες άσκησης μείωσαν τα επίπεδα των TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο, ανεξάρτητα από το εάν έγινε αντιστάθμιση της ενέργειας που δαπανήθηκε, μέσω της ενεργειακής πρόσληψης, ή όχι [139]. Σε δύο πιο πρόσφατες μελέτες όμως, όταν το ποσό της ενέργειας που δαπανήθηκε κατά την άσκηση, καταναλώθηκε ως επιπλέον τροφή, η υποτρίακυλογλυκερολαιμική επίδραση της άσκησης εξαλείφθηκε, τόσο σε υπέρβαρους/παχύσαρκους [155], όσο και σε νορμοβαρείς/ελαφρά υπέρβαρους άνδρες [156].

Πολύ λίγες είναι επίσης οι μελέτες που διερεύνησαν την επίδραση του ενεργειακού ελλείμματος στα επίπεδα TAG, ανεξάρτητα από τον τρόπο με τον οποίο αυτό επιτυγχάνεται (άσκηση, υποθερμιδική δίαιτα ή συνδυασμός τους). Η πρώτη από αυτές πραγματοποιήθηκε σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και έδειξε πως μια συνεδρία άσκησης μείωσε τα επίπεδα TAG νηστείας, ενώ η υποθερμιδική δίαιτα δεν προκάλεσε σημαντική διαφορά. Βέβαια, το ενεργειακό έλλειμμα της δίαιτας ήταν ~17% μικρότερο από αυτό της άσκησης και το μέγεθος του (340 kcal) ίσως δεν ήταν αρκετό για να προκαλέσει μείωση των επιπέδων TAG [80]. Από την άλλη, σε μεταγενέστερη έρευνα σε υγιείς άνδρες, 5 ημέρες αερόβιας άσκησης ή υποθερμιδικής δίαιτας (-880 kcal/ ημέρα) οδήγησαν σε σημαντική μείωση των επιπέδων TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο σε σύγκριση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου [81]. Η άσκηση φάνηκε να έχει μεγαλύτερη επίδραση σε σχέση με τη δίαιτα, όταν συγκρίθηκαν απευθείας οι συγκεντρώσεις των TAG νηστείας έπειτα από κάθε

παρέμβαση. Όταν όμως έγινε σύγκριση των μεταβολών των συγκεντρώσεων των TAG σε σχέση με τις αντίστοιχες ομάδες ελέγχου, τότε η διαφορά αυτή εξαλείφθηκε. Σε μία πιο πρόσφατη μελέτη [82] εξετάστηκαν οι επιδράσεις βραχυχρόνιου (μιας ημέρας) ισόποσου ενεργειακού ελλείμματος (~500 kcal), το οποίο προκλήθηκε από άσκηση, υποθερμιδική δίαιτα ή συνδυασμό και των δύο, στο μεταβολισμό των ολικών TAG και των TRL-TAG στο μεταπορροφητικό και μεταγευματικό στάδιο σε νέες, υγιείς, μη-δραστήριες γυναίκες. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις των ολικών TAG και των TRL-TAG (κατά περίπου 12-43%), τόσο στο μεταπορροφητικό όσο και στο μεταγευματικό στάδιο, μετά από όλες τις παρεμβάσεις αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου σε σύγκριση με την παρέμβαση ελέγχου (μηδενικό ισοζύγιο ενέργειας) (Διάγραμμα 1).



Διάγραμμα 1. Οι επιδράσεις του βραχυχρόνιου ενεργειακού ελλείμματος (~500 kcal) που προκλήθηκε ύστερα από θερμιδική μείωση, άσκηση ή θερμιδική μείωση και άσκηση, (A) στα επίπεδα των ολικών τριακυλογλυκερολών (triacylglycerol, TAG)

και (B) στα επίπεδα των TAG στις λιποπρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε τριακυλογλυκερόλες (TAG-rich lipoproteins, TRL) στο μεταπορροφητικό στάδιο.

* Στατιστικά σημαντική διαφορά από την παρέμβαση ελέγχου (μηδενικό ενεργειακό ισοζύγιο), $P < 0.05$. ** $P < 0.01$. Και στις δύο περιπτώσεις δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών παρεμβάσεων ενεργειακού ελλείμματος [82].

2.5. Μηχανισμοί υπεύθυνοι για την εμφάνιση υποτρίακυλογλυκερολαιμίας

Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενα κεφάλαια, τα επίπεδα των TAG στο αίμα αντανakλούν κάθε στιγμή τη δυναμική ισορροπία μεταξύ της παραγωγής τους από το ήπαρ υπό τη μορφή VLDL και της απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία [39]. Κατά συνέπεια η εμφάνιση υποτρίακυλογλυκερολαιμίας μπορεί να οφείλεται είτε στη μείωση της παραγωγής των VLDL-TAG από το ήπαρ [57-59], είτε στην αύξηση της απομάκρυνσής τους από τους περιφερειακούς ιστούς [60-63] ή και στους δύο μηχανισμούς ταυτόχρονα [64-66].

2.5.1. Μηχανισμοί υπεύθυνοι για την επίδραση της δίαιτας

Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την υποτρίακυλογλυκερολαιμική επίδραση της δίαιτας (μείωση της ενεργειακής πρόσληψης) δεν είναι ακόμα ξεκάθαροι. Μία από τις υποθέσεις έχει να κάνει με τη δραστηριότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (lipoprotein lipase, LPL), του βασικού ενζύμου που βρίσκεται στο αγγειακό ενδοθήλιο των διαφόρων περιφερειακών ιστών και είναι υπεύθυνο για την υδρόλυση των TAG των λιποπρωτεϊνών. Παρατεταμένη μείωση της ενεργειακής πρόσληψης (-400 kcal/ ημέρα, για μία περίοδο 10 ημερών) έχει βρεθεί πως μειώνει τη δραστηριότητα της LPL στο λιπώδη ιστό κατά το μεταπορροφητικό στάδιο [157]. Αντίστοιχη οξεία μείωση της ενεργειακής πρόσληψης (-400 kcal/ ημέρα, για 2 ημέρες) οδήγησε σε μείωση της δραστηριότητας της LPL στο λιπώδη ιστό, αλλά αύξησή της στο μυϊκό ιστό, κατά το μεταπορροφητικό στάδιο, πιθανόν με σκοπό την αύξηση της παροχής ενέργειας στους μυς [158]. Όμοια αποτελέσματα παρουσιάζουν μελέτες σε τρωκτικά έπειτα από παρατεταμένη μείωση της ενεργειακής πρόσληψης [159].

Τα παραπάνω στοιχεία οδηγούν στην υπόθεση πως η υποτρίακυλογλυκερολαιμική επίδραση της δίαιτας ίσως οφείλεται σε αύξηση της απομάκρυνσης των TAG από το πλάσμα προς τους μυς. Αντιθέτως όμως, μελέτες κινητικής που έχουν πραγματοποιηθεί στον άνθρωπο έπειτα από απώλεια βάρους, δείχνουν πως η μείωση των επιπέδων TAG νηστείας, έπειτα από μακροχρόνια υποθερμιδική δίαιτα, οφείλεται σε μείωση της ηπατικής έκκρισής τους, χωρίς να επηρεάζεται η απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία [71,160,161]. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι μελέτες κινητικής πραγματοποιήθηκαν μετά από ένα χρονικό διάστημα σταθεροποίησης του σωματικού βάρους, χωρίς δηλαδή να συνυπάρχει η επίδραση του οξέως ενεργειακού ελλείμματος. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν παρόμοιες μελέτες για την επίδραση βραχυχρόνιας οξείας μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης στην κινητική των TAG [154].

2.5.1. Μηχανισμοί υπεύθυνοι για την επίδραση της άσκησης

Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την υποτρίακυλογλυκερολαιμική επίδραση της άσκησης, από την άλλη, έχουν μελετηθεί εκτενέστερα κι έχουν έως ένα βαθμό αποσαφηνιστεί. Από προηγούμενες μελέτες έχει φανεί πως η οξεία άσκηση προκαλεί αύξηση στο ρυθμό εκκαθάρισης των VLDL-TAG από την κυκλοφορία, χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό έκκρισής τους [121,122,162,163]. Η εκκαθάριση των ολικών VLDL-TAG από την κυκλοφορία αφορά όλες τις πιθανές οδούς απομάκρυνσής τους από το πλάσμα, οι οποίες περιλαμβάνουν: α) υδρόλυσή τους από την LPL, και πιθανόν και από την ηπατική λιπάση (hepatic lipase, HL), β) μεταφορά των TAG σε άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. HDL), γ) μετατροπή των VLDL λιποπρωτεϊνών σε λιποπρωτεΐνες υψηλότερης πυκνότητας (IDL και LDL), καθώς και δ) απομάκρυνση ολόκληρου του σωματιδίου της VLDL από το πλάσμα, μέσω ηπατικών και/ή περιφερειακών υποδοχέων [39].

Ο κύριος μηχανισμός πίσω από την προκαλούμενη από άσκηση υποτρίακυλογλυκερολαιμία, αφορά την αύξηση της δραστηριότητας της LPL [164]. Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι η δραστηριότητά της LPL στους σκελετικούς μυς, αλλά όχι στο λιπώδη ιστό [165], αυξάνεται παροδικά, μέσα σε 4-8 ώρες μετά το πέρας της άσκησης και παραμένει αυξημένη για 16-20 ώρες μετά την άσκηση [165-167].

167], ή και περισσότερο [168]. Η αυξημένη λιπόλυση από την LPL πιθανόν αυξάνει την εκκαθάριση των VLDL-TAG [167], με σκοπό την αναπλήρωση των ενδοκυττάρων αποθηκών σε TAG, οι οποίες εξαντλήθηκαν κατά την άσκηση [168,169].

Από την άλλη, έχει προταθεί ένας μηχανισμός ο οποίος δεν προϋποθέτει αλλαγές στη μάζα ή τη δραστικότητα της LPL στους ιστούς, ως απόκριση στην άσκηση [163]. Υπάρχουν δεδομένα τα οποία δείχνουν ότι έπειτα από άσκηση αντοχής, το ήπαρ εκκρίνει λιγότερα, αλλά πιο πλούσια σε TAG, κι επομένως πιθανόν μεγαλύτερα σε μέγεθος, VLDL σωματίδια [122]. Έχει φανεί από in vivo μελέτες στον άνθρωπο [170-172], ότι η μεταφορά TAG από τον πυρήνα πλουσιότερων σε TAG και μεγαλύτερων σε μέγεθος VLDL σωματιδίων γίνεται πιο αποτελεσματικά σε σύγκριση με τα μικρότερα και φτωχότερα σε TAG VLDL, πιθανόν γιατί η αύξηση των περιεχόμενων στη λιποπρωτεΐνη TAG και η αύξηση του μεγέθους της διευκολύνει την υδρόλυσή τους από την LPL [173]. Κατά συνέπεια, μπορεί να αυξάνεται και η απομάκρυνση των VLDL-TAG από την κυκλοφορία, λόγω αύξησης της υδρόλυσης τους από την LPL [163].

Οι υπόλοιπες οδοί απομάκρυνσης των VLDL-TAG δεν φαίνεται να είναι πολύ πιθανό να συμβάλουν στην παρατηρούμενη υποτρίακυλογλυκερολαιμία μετά από άσκηση [163]. Η αύξηση της μεταφοράς TAG από τις VLDL στις HDL θα οδηγούσε σε εμπλουτισμό των HDL σε TAG, κάτι που έχει φανεί ότι αυξάνει τον καταβολισμό τους [56,174] και επομένως οι συγκεντρώσεις των HDL θα μειώνονταν, κάτι που δεν έχει παρατηρηθεί. Αντιθέτως, έχει παρατηρηθεί η οξεία άσκηση να αυξάνει τις συγκεντρώσεις των HDL [97]. Από την άλλη, ούτε η αύξηση της απομάκρυνσης ολόκληρων των VLDL σωματιδίων από την κυκλοφορία είναι πολύ πιθανή, καθώς έχει φανεί πως μετά από μία συνεδρία άσκησης αντοχής, μέτριας έντασης και ενεργειακής δαπάνης 600-1200 kcal, ο ρυθμός εκκαθάρισης πλάσματος και ο μέσος χρόνος παραμονής της απολιποπρωτεΐνης B-100 (που αντιστοιχεί στα σωματίδια VLDL) στην κυκλοφορία, δεν μεταβάλλεται [122,138].

Ένα άλλος μηχανισμός υπεύθυνος για την υποτρίακυλογλυκερολαιμική επίδραση της άσκησης, θα μπορούσε να είναι η μειωμένη παραγωγή και έκκριση των VLDL-TAG από το ήπαρ. Το πρωί έπειτα από μία συνεδρία άσκησης έχουν παρατηρηθεί σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις κετονοσωμάτων (3-υδροξυβουτυρικού)

[117,118,121], γεγονός που υποδεικνύει αυξημένη οξείδωση λιπαρών οξέων στο ήπαρ και πιθανόν μειωμένη διαθεσιμότητα λιπαρών οξέων για σύνθεση TAG. Έτσι, έχει προταθεί ότι η άσκηση μπορεί να καταστέλλει την ηπατική παραγωγή TAG [147]. Ωστόσο, αυτή η υπόθεση δεν είναι πολύ πιθανή, καθώς έχει αναφερθεί αύξηση στην οξείδωση λίπους την ημέρα μετά από άσκηση, χωρίς όμως να συνδυάζεται με αλλαγές στις συγκεντρώσεις των TAG μεταπορροφητικά ή μεταγευματικά [155], και από την άλλη, μείωση των TAG χωρίς αλλαγές στην οξείδωση των υποστρωμάτων [175]. Τέλος, παρότι σε ζώα έχει παρατηρηθεί μείωση της ηπατικής έκκρισης TAG έπειτα από άσκηση, η οποία έχει αποδοθεί στην αυξημένη ηπατική οξείδωση των λιπαρών οξέων [176-178], κάτι τέτοιο δεν έχει επαληθευτεί στον άνθρωπο, έπειτα από μελέτες κινητικής με χρήση σταθερών ισοτόπων [121,122].

Όπως αναφέρθηκε στην αρχή της παραγράφου, προηγούμενες μελέτες κινητικής έχουν δείξει πως η οξεία άσκηση προκαλεί μείωση των επιπέδων των VLDL-TAG, αυξάνοντας το ρυθμό εκκαθάρισης τους από την κυκλοφορία [121,122,162,163]. Το δείγμα των μελετών αυτών αποτέλεσαν άντρες. Μόνο μία μελέτη κινητικής των VLDL-TAG έχει πραγματοποιηθεί σε γυναίκες, μετά από μία συνεδρία άσκησης (ποδηλασία 60 min/ 60% VO₂peak), στην οποία το ενεργειακό έλλειμμα ήταν αρκετά μικρό (240 kcal) και δεν είχε κάποια επίδραση [179].

Οι γυναίκες, σε κατάσταση ηρεμίας, παρουσιάζουν μικρότερες συγκεντρώσεις VLDL-TAG και VLDL-apoB-100, σε σχέση με τους άντρες [170]. Μελέτη κινητικής έδειξε πως οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις VLDL-TAG στις γυναίκες οφείλονται σε μεγαλύτερη πλασματική εκκαθάρισή τους (κατά 70%) σε σχέση με τους άντρες, ενώ οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις VLDL-apoB-100 (που αντιστοιχεί στα VLDL σωματίδια) οφείλονται σε μειωμένη ηπατική έκκριση της VLDL-apoB-100 (κατά περίπου 20%) [170]. Οι γυναίκες εμφανίζουν μεγαλύτερο μοριακό λόγο του ρυθμού ηπατικής έκκρισης των VLDL-TAG προς αυτόν της VLDL-apoB-100 (≥ 2), και αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως το ήπαρ των γυναικών εκκρίνει λιγότερα, αλλά πιο πλούσια σε TAG, VLDL σωματίδια, σε σχέση με τους άντρες [170]. Το γεγονός αυτό πιθανόν να εξηγεί εν μέρη, τον παρατηρούμενο αυξημένο ρυθμό πλασματικής εκκαθάρισής των VLDL-TAG στις γυναίκες, καθώς όπως έχει αναφερθεί, πλουσιότερα σε TAG και μεγαλύτερα σε μέγεθος VLDL σωματίδια υδρολύονται πιο εύκολα από την LPL [173].

Λόγω των παραπάνω διαφορών μεταξύ των δύο φύλων στο μεταβολισμό των VLDL, κρίνεται σκόπιμο να διερευνηθεί το κατά πόσο η οξεία άσκηση επιδρά στα VLDL-TAG των γυναικών, με τον ίδιο, ή διαφορετικό τρόπο, από αυτόν που έχει παρατηρηθεί στους άντρες.

3. Σκοπός και υπόθεση μελέτης

3.1 Ερευνητικά κενά

Όπως αναφέρθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια, μέχρι σήμερα δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες κινητικής των VLDL-TAG στον άνθρωπο, έπειτα από οξεία μέτρια μείωση της ενεργειακής πρόσληψης. Επομένως, δεν υπάρχουν και δεδομένα που να συγκρίνουν τις επιδράσεις της οξείας άσκησης και της οξείας μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης στο μεταβολισμό των VLDL-TAG.

Τα τελευταία χρόνια έχει φανεί ότι, ιδιαίτερα στις γυναίκες, τα αυξημένα επίπεδα TAG αποτελούν ισχυρό παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων, ανεξάρτητα από την ηλικία και άλλους γνωστούς παράγοντες κινδύνου [180,181]. Παρόλα αυτά, οι γυναίκες αποτελούν το λιγότερο εξεταζόμενο δείγμα σε σχετικές μελέτες και, δεδομένων των διαφορών στο μεταβολισμό των VLDL-TAG μεταξύ των δύο φύλων, μένει να διερευνηθεί το κατά πόσο η οξεία άσκηση (500 kcal) επιδρά στα VLDL-TAG των γυναικών, με τον ίδιο, ή διαφορετικό τρόπο, από αυτόν που έχει παρατηρηθεί στους άντρες.

3.2 Σκοπός μελέτης

Συνεπώς, βάση όλων των παραπάνω, η παρούσα μελέτη έχει ως σκοπό να εκτιμήσει τις επιδράσεις του βραχυχρόνιου (μιας ημέρας), μετρίου βαθμού ισόποσου ενεργειακού ελλείμματος (-500 kcal), που προκαλείται από μείωση της ενεργειακής πρόσληψης (υποθερμιδική δίαιτα) ή αύξηση της ενεργειακής δαπάνης (αερόβια άσκηση), στην κινητική των VLDL-TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο, σε νέες υγιείς μη φυσικά δραστήριες γυναίκες.

3.3 Ερευνητική Υπόθεση

Σε νέες, υγιείς γυναίκες, μιας ημέρας ενεργειακό έλλειμμα της τάξης των 500 kcal, προκαλούμενο είτε με άσκηση, είτε με οξεία μείωση της ενεργειακής πρόσληψης (δίαιτα), μειώνει τη συγκέντρωση των VLDL-TAG, λόγω αύξησης της απομάκρυνσής τους από το πλάσμα.

4. Ερευνητική Μεθοδολογία

4.1 Κριτήρια Επιλογής Εθελοντών

Η προσέλευση εθελοντών στην παρούσα μελέτη έγινε μετά από ανάρτηση ενημερωτικού φυλλαδίου στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, με αποστολή ενημερωτικού φυλλαδίου μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου στους φοιτητές του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου και άλλων Πανεπιστημιακών Ιδρυμάτων της Αθήνας, καθώς και με διαπροσωπική επικοινωνία.

Στη μελέτη έλαβαν μέρος 8 εθελόντριες, ηλικίας 19-26 ετών, φυσιολογικού βάρους [δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) $<30 \text{ kg/m}^2$ και $>18,5 \text{ kg/m}^2$], οι οποίες δεν συμμετείχαν σε συστηματική άσκηση για περισσότερες από 2 ώρες την εβδομάδα. Πριν τη συμμετοχή τους στις μελέτες, πραγματοποιήθηκαν εργαστηριακές εξετάσεις που περιλάμβαναν α) ανάλυση σύστασης σώματος, β) αξιολόγηση φυσικής κατάστασης, γ) βιοχημικές εξετάσεις αίματος (συγκεντρώσεις γλυκόζης, ολικών τριγλυκεριδίων και χοληστερόλης στο μεταπορροφητικό στάδιο) και δ) εξέταση των επιπέδων θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH). Τα κριτήρια αποκλεισμού των ατόμων από τη μελέτη ήταν τα ακόλουθα: αυξημένα επίπεδα γλυκόζης (επίπεδα νηστείας $>110 \text{ mg/dL}$) υπερχοληστερολαιμία (επίπεδα νηστείας $>200 \text{ mg/dL}$), ή υπερτριακυλογλυκερολαιμία (επίπεδα νηστείας $>150 \text{ mg/dL}$) και μη φυσιολογικά επίπεδα TSH. Επίσης, από τη μελέτη αποκλείστηκαν άτομα τα οποία είχαν ακολουθήσει κάποια φαρμακευτική αγωγή, έπαιρναν αντισυλληπτικά, έκαναν λήψη διατροφικών συμπληρωμάτων, δεν είχαν φυσιολογικό έμμηνο κύκλο, είχαν πολυκυστικές ωοθήκες, είχαν οποιαδήποτε αντένδειξη για αερόβια άσκηση, ακολουθούσαν κάποια διαιτολογική αγωγή ή είχαν διακύμανση σωματικού βάρους $>2 \text{ kg}$ για 6 μήνες πριν την έναρξη της μελέτης, υπήρξαν καπνίστριες τα τελευταία 2 χρόνια, είχαν οποιαδήποτε χρόνια ασθένεια, είχαν προβλήματα στη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος (υπερθυρεοειδισμό ή υποθυρεοειδισμό) ή είχαν διαπιστωμένες αλλεργίες στη λήψη ενδοφλέβιων σκευασμάτων. Πριν από την έναρξη της μελέτης, όλες οι εθελόντριες συμπλήρωσαν ένα έντυπο ιατρικό ιστορικό και υπέγραψαν το συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής, με το οποίο ενημερώθηκαν για τον σκοπό της μελέτης, τις πειραματικές διαδικασίες και τους πιθανούς κινδύνους. Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου.

4.2 Ανθρωπομετρία

Το σωματικό βάρος των εθελοντριών μετρήθηκε χωρίς υποδήματα και με ελαφρύ ρουχισμό, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας (SECA scale, Αμβούργο, Γερμανία) και καταγράφηκε με ακρίβεια 0,1 kg. Το ύψος μετρήθηκε με τη χρήση εντοιχισμένου αναστημόμετρου (SECA stadiometer, 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 εθελόντρια και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο ΔΜΣ ως το πηλίκο του βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m).

4.3 Σύσταση σώματος

Η σύσταση σώματος σε άλιπη και λιπώδη μάζα προσδιορίστηκε περίπου 1 εβδομάδα πριν από την έναρξη της μελέτης, για κάθε εθελόντρια ξεχωριστά, με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτινών X διπλής ενέργειας (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA), χρησιμοποιώντας τον σαρωτή σώματος (model DPX-MD, Lunar Corp., Madison, WI, USA, software version 4.6). Ο συνολικός χρόνος σάρωσης ήταν 15 λεπτά. Οι εθελόντριες προσήλθαν για τη μέτρηση αυτή πρωί, χωρίς να έχουν καταναλώσει φαγητό ή ποτό κατά τις προηγούμενες 12 ώρες.

4.4 Μεταβολικός Ρυθμός Ηρεμίας

Ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας (resting metabolic rate, RMR) υπολογίστηκε με τη μέθοδο της έμμεσης θερμιδομετρίας. Πιο συγκεκριμένα, η πρόσληψη οξυγόνου των εξεταζόμενων (VO_2) και η έκλυση διοξειδίου του άνθρακα (VCO_2) μετρήθηκαν για 30 λεπτά χρησιμοποιώντας τη συσκευή dilution canopy (Sensormedics, Vmax229, Yorba Linda, CA) υπό τις κατάλληλες συνθήκες (12 ώρες νηστεία, κατάσταση ηρεμίας, θερμοκρασιακά ουδέτερο περιβάλλον) και αφού είχε προηγηθεί ανάπαυση της εθελόντριας για περίπου ~ 30 λεπτά. Ο RMR προσδιορίστηκε από την εξίσωση Weir [182] και τον πίνακα για το μη-πρωτεϊνικό αναπνευστικό πηλίκο [183], θεωρώντας αμελητέα την απέκκριση αζώτου στα ούρα.

4.5 Υπολογισμός Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου

Η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου (peak oxygen consumption, $\text{VO}_{2\text{peak}}$) των εθελοντριών υπολογίστηκε έπειτα από υπομέγιστο τεστ σε δαπεδοεργόμετρο [184]. Μετά από προθέρμανση λίγων λεπτών, η κάθε εθελόντρια ακολούθησε ένα πρωτόκολλο αυξανόμενης κλίσης και παράλληλα μετρήθηκε η πρόσληψη οξυγόνου (Sensormedics, Vmax229, Yorba Linda CA) καθώς και η καρδιακή της συχνότητα σε κάθε στάδιο (καρδιοσυχνόμετρο Suunto, t3c, Finland). Η ταχύτητα του δαπεδοεργόμετρου (Technogym Runrace, Gambettola, Italy) ρυθμίστηκε ανάλογα με τον βηματισμό της κάθε εθελόντριας και στη συνέχεια παρέμεινε σταθερή (5.0-6.5 km/h) για όλη τη διάρκεια της μέτρησης, ενώ αυξάνονταν η κλίση κατά 2% κάθε 3 λεπτά. Η δοκιμασία σταμάτησε όταν η καρδιακή συχνότητα της εθελόντριας έφτασε το 80% της θεωρητικής μέγιστης συχνότητας (maximum heart rate, HRmax). Η μέγιστη καρδιακή συχνότητα υπολογίστηκε από τον τύπο $\text{HRmax} = (220 - \text{ηλικία})$ [185] και έτσι προσδιορίστηκε η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου από τη γραφική παράσταση της καρδιακής συχνότητας ως προς την πρόσληψη οξυγόνου.

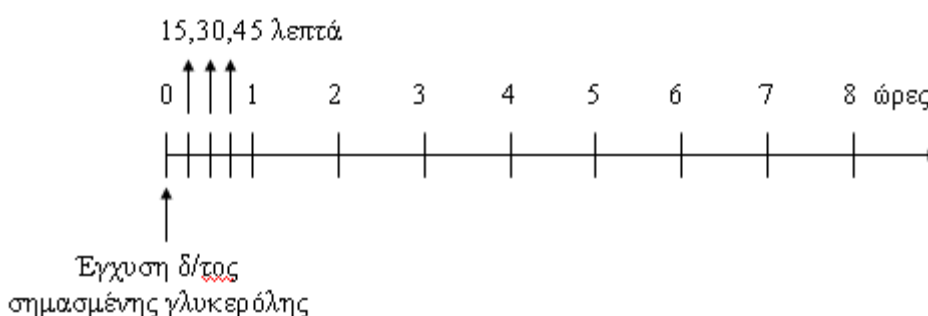
4.6 Παρασκευή, έγχυση διαλύματος $[1,1,2,3,3\text{-}^2\text{H}_5]$ γλυκερόλης και αιμοληψίες.

Το ειδικά αποστειρωμένο και σφραγισμένο φιαλίδιο που περιείχε το σταθερό ισότοπο ιχνηθέτησης $[1,1,2,3,3\text{-}^2\text{H}_5]$ γλυκερόλη (γλυκερόλη $1,1,2,3,3\text{-D}_5$, 99%) χρησιμοποιήθηκε ολόκληρο για την παρασκευή του διαλύματος επισημασμένη γλυκερόλης. Σε αποστειρωμένη σύριγγα των 10 ml προσλήφθηκε μικρή ποσότητα φυσιολογικού ορού και προστέθηκε στο φιαλίδιο με τη γλυκερόλη για να αυξηθεί η ρευστότητά της. Στη συνέχεια αναρροφήθηκε το διάλυμα γλυκερόλης και εγχύθηκε μέσω αποστειρωμένου φίλτρου (με διάμετρο πόρων 0,22 μm , Millex-GV, Millipore, Ireland) σε αποστειρωμένη και σφραγισμένη φιάλη που περιείχε 500 ml φυσιολογικού ορού (0,9% χλωριούχο νάτριο, NaCl). Η φιάλη που περιείχε το τελικό διάλυμα σφραγίστηκε με parafilm, ώστε το στόμιό της να μην έρχεται καθόλου σε επαφή με το περιβάλλον με κίνδυνο επιμόλυνσης. Το διάλυμα αποθηκεύτηκε στο ψυγείο.

Η εθελόντρια ερχόταν στο εργαστήριο το επόμενο πρωί μετά την ημέρα κάθε δοκιμασίας και έπειτα από ολονύκτια νηστεία (12 ώρες). Ένας καθετήρας εισάγονταν

σε μία φλέβα του ενός χεριού (στο ύψος του πήχης) για τη χορήγηση σταθερών ισοτόπων ιχνηθέτησης και ένας δεύτερος καθετήρας εισάγονταν σε μία φλέβα του άλλου χεριού (στο ύψος του πήχης) για τη συλλογή δειγμάτων αίματος. Η διατήρηση του καθετήρα αυτού ανοιχτού, επιτυγχάνονταν με τη χορήγηση μικρής ποσότητας (~ 2-3 ml) φυσιολογικού ορού (0,9% χλωριούχο νάτριο, NaCl) έπειτα από κάθε αιμοληψία και κάθε μισή ώρα μετά.

Έπειτα από μισή ώρα σε κατάσταση ηρεμίας ($t=0$), πραγματοποιούνταν η πρώτη αιμοληψία και αμέσως μετά χορηγούνταν με ενδοφλέβια ένεση η $[1,1,2,3,3\text{-}^2\text{H}_5]$ γλυκερόλη (75 $\mu\text{mol/kg}$ σωματικού βάρους, σε φυσιολογικό ορό). Η χορήγηση πραγματοποιούνταν μέσω αποστειρωμένου φίλτρου (διάμετρος πόρων 0,22 μm), το οποίο παρεμβάλλονταν μεταξύ της αποστειρωμένης σύριγγας και της βελόνας. Στη συνέχεια, δείγματα αίματος (~10 ml) συλλέγονταν στα 15, 30, 45 και 60 λεπτά, κι έπειτα κάθε μία ώρα μέχρι την ολοκλήρωση της μελέτης (για 8 ώρες). Κατά τη διάρκεια της μελέτης, η εθελόντρια έπρεπε να παραμένει ξαπλωμένη ή καθιστή στο χώρο του εργαστηρίου, ωστόσο μπορούσε να επισκεφτεί την τουαλέτα (όχι όμως στα 15 λεπτά που προηγούνταν κάθε αιμοληψίας) και να καταναλώνει μικρές ποσότητες νερού, στο σύνολό του ίδιες σε κάθε μία από τις τρεις δοκιμασίες. Μία σχηματική περιγραφή του πειραματικού πρωτοκόλλου δίνεται στην Εικόνα 8.

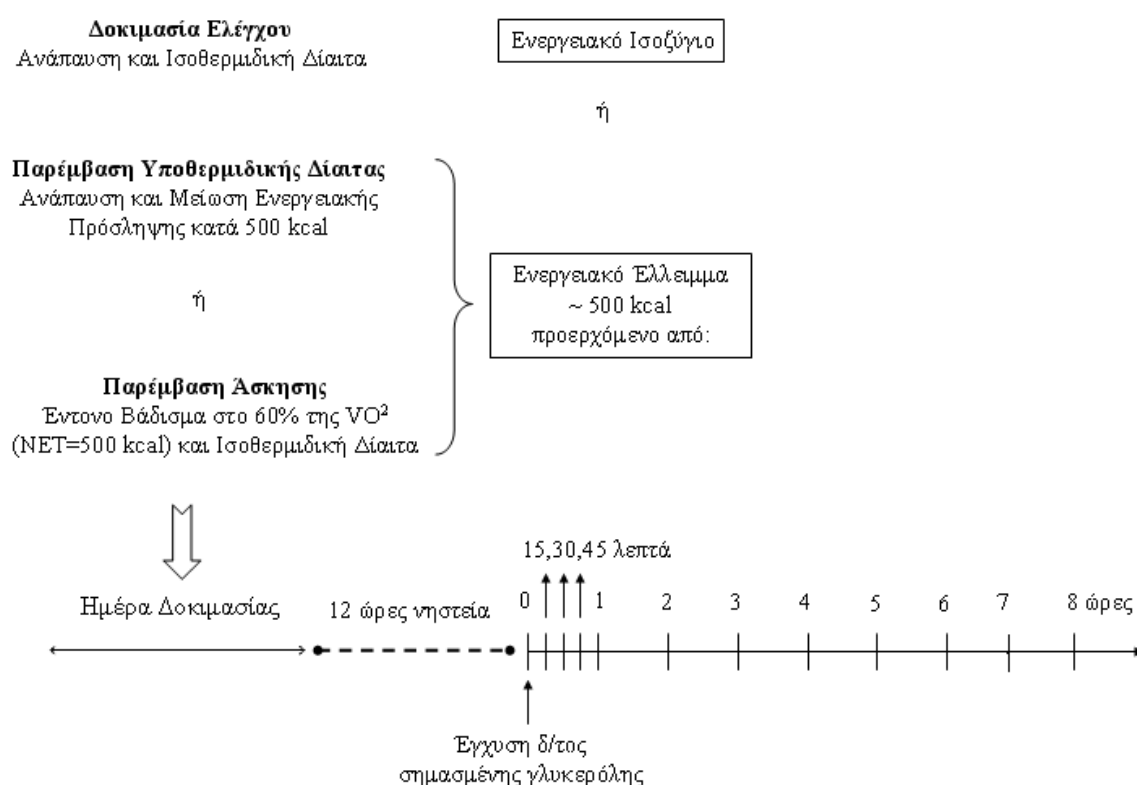


Εικόνα 8. Συνοπτική περιγραφή του πειραματικού πρωτοκόλλου – αιμοληψίες.

4.7 Ερευνητικό πρωτόκολλο

Όλες οι εθελόντριες που έλαβαν μέρος στην παρούσα μελέτη υποβλήθηκαν στη διαδικασία μελέτης της κινητικής των VLDL-TAG τρεις φορές, με διαφορά τουλάχιστον μίας εβδομάδας ανάμεσά τους. Τη μια φορά για τη δοκιμασία ελέγχου (control, CON) και τις άλλες δύο για τις παρεμβάσεις διαίτας (diet, DIET) και

άσκησης (exercise, EXE). Οι τρεις αυτές δοκιμασίες έλαβαν χώρα με τυχαιοποιημένη σειρά. Πριν την έναρξη της πρώτης δοκιμασίας, ζητήθηκε από τις εθελόντριες να καταγράψουν τη διαιτητική τους πρόσληψη για 2 ημέρες πριν την ημέρα τις δοκιμασίας. Στη συνέχεια τους ζητήθηκε να επαναλάβουν τη διατροφή αυτών των δύο ημερών και πριν τις άλλες δύο δοκιμασίες. Επίσης, ζητήθηκαν από τις εθελόντριες να απέχουν από κάθε μορφή άσκησης και να αποφύγουν κάθε μορφή έντονης φυσικής δραστηριότητας για δύο ημέρες πριν από κάθε δοκιμασία. Οι τρεις δοκιμασίες διέφεραν μόνο στο ενεργειακό ισοζύγιο. Σε σύγκριση με την δοκιμασία ελέγχου, οι εθελόντριες βρίσκονταν σε ισόποσο αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας (περίπου 500 kcal έλλειμμα) και στις δύο παρεμβάσεις, προκαλούμενο όμως τη μία φορά από μείωση της θερμιδικής πρόσληψης (δίαιτα) και την άλλη από αύξηση της ενεργειακής δαπάνης (αερόβια άσκηση) (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Σχηματική αναπαράσταση του ερευνητικού πρωτοκόλλου. NET: Net Energy Expenditure, καθαρή ενεργειακή δαπάνη της άσκησης (η ενεργειακή δαπάνη πέρα από την ενεργειακή δαπάνη ανάπαυσης).

Η φάση του έμμηνου κύκλου στην οποία βρίσκονται οι εθελόντριες την ημέρα της κάθε δοκιμασίας, δεν συμπεριλήφθηκε στους συγχυτικούς παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν το μεταβολισμό των VLDL-TAG, καθώς συγκεκριμένη μελέτη έχει δείξει πως η φάση του έμμηνου κύκλου δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση ή την κινητική των VLDL-TAG, αλλά ούτε και τη συγκέντρωση ή την κινητική της VLDL-apoB-100 [186].

Δοκιμασία Ελέγχου (Control)

Οι εθελόντριες απέφυγαν κάθε είδους έντονη φυσική δραστηριότητα καθόλη τη διάρκεια της ημέρας της δοκιμασίας. Το απόγευμα πριν τις αιμοληψίες, όλες οι εθελόντριες παρέμειναν σε κατάσταση ηρεμίας, ακολουθώντας καθιστικές δραστηριότητες. Παράλληλα, την ημέρα της δοκιμασίας ελέγχου, κάθε εθελόντρια ακολούθησε ένα συνταγογραφημένο ισοθερμικό διαιτολόγιο το οποίο παρείχε ενέργεια ίση με τις εκτιμώμενες ημερήσιες ενεργειακές της ανάγκες για σταθερό σωματικό βάρος. Αυτές υπολογίστηκαν πολλαπλασιάζοντας το μετρούμενο RMR με παράγοντα φυσικής δραστηριότητας 1.3 – 1.5, που αντιπροσωπεύει την πολύ χαμηλή έως χαμηλή φυσική δραστηριότητα των εθελοντριών της συγκεκριμένης μελέτης [187]. Έτσι, η κάθε εθελόντρια κατά την ημέρα δοκιμασία ελέγχου βρισκόταν σε ισοζύγιο ενέργειας.

Παρέμβαση Δίαιτας (Diet)

Οι εθελόντριες απέφυγαν κάθε είδους έντονης φυσικής δραστηριότητας καθόλη τη διάρκεια της ημέρας δοκιμασίας της δίαιτας. Το απόγευμα πριν τις αιμοληψίες, όλες οι εθελόντριες παρέμειναν σε κατάσταση ηρεμίας, ακολουθώντας καθιστικές δραστηριότητες. Παράλληλα, την ημέρα παρέμβασης με θερμιδική μείωση, κάθε εθελόντρια ακολούθησε ένα συνταγογραφημένο υποθερμιδικό διαιτολόγιο το οποίο παρείχε ενέργεια ίση με τις εκτιμώμενες ημερήσιες ενεργειακές της ανάγκες για σταθερό σωματικό βάρος, μείον 500 kcal. Η μείωση της ενεργειακής πρόσληψης έγινε από το μεσημεριανό, απογευματινό και βραδινό γεύμα, δηλαδή κατά το ίδιο χρονικό διάστημα της ημέρας που προκλήθηκε το ενεργειακό έλλειμμα στην παρέμβαση άσκησης [80]. Έτσι, η κάθε εθελόντρια, κατά την ημέρα της παρέμβασης

με δίαιτα, βρισκόταν σε αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας, λόγω της μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης.

Παρέμβαση Άσκησης (Exercise)

Οι εθελόντριες απέφυγαν κάθε είδους έντονης φυσικής δραστηριότητας καθόλη τη διάρκεια της ημέρας παρέμβασης με άσκηση, με εξαίρεση τη συνεδρία αερόβιας άσκησης στο εργαστήριο του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου, το απόγευμα πριν τις αιμοληψίες. Κάθε εθελόντρια προσήλθε στο εργαστήριο το απόγευμα (17:00 μμ, μεταξύ μεσημεριανού και βραδινού γεύματος) και περπάτησε με έντονο ρυθμό σε δαπεδοεργόμετρο (Techogym Runrace, Gambettola, Italy) στο 60% της VO_{2peak} της. Κατά τη διάρκεια της άσκησης, η πρόσληψη οξυγόνου μετριόταν κάθε 15 λεπτά και η κλίση προσαρμοζόταν, αν ήταν αναγκαίο, έτσι ώστε κάθε εθελόντρια να ασκείται στο $60 \pm 5 \%$ της VO_{2peak} της. Η συνεδρία άσκησης ολοκληρώνονταν όταν η προκαλούμενη καθαρή ενεργειακή δαπάνη της άσκησης (δηλαδή η ενεργειακή δαπάνη πέρα από την ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας) έφτανε τις 500 kcal. Η διάρκεια της συνεδρίας άσκησης ήταν κατά μέσο όρο 120 λεπτά. Μετά τη συνεδρία άσκησης η κάθε εθελόντρια έφυγε από το εργαστήριο και επέστρεψε το επόμενο πρωί για τις αιμοληψίες. Παράλληλα, την ημέρα παρέμβασης, κάθε εθελόντρια ακολούθησε ένα συνταγογραφημένο ισοθερμιδικό διαιτολόγιο, το οποίο παρείχε ενέργεια ίση με τις εκτιμώμενες ενεργειακές της ανάγκες για σταθερό βάρος, μη λαμβάνοντας υπόψη την αύξηση στην ενεργειακή δαπάνη λόγω της συνεδρίας άσκησης, δηλαδή ακολουθούσε την ίδια δίαιτα με την ημέρα της δοκιμασίας ελέγχου. Έτσι, η κάθε εθελόντρια, κατά την ημέρα παρέμβασης με άσκηση, βρισκόταν σε αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας, λόγω αύξησης την ενεργειακής δαπάνης.

4.8 Διαιτολογική ανάλυση

Στις εθελόντριες ζητήθηκε να ακολουθήσουν κάθε ημέρα δοκιμασίας συνταγογραφημένο διαιτολόγιο, το οποίο σχεδιάστηκε έτσι ώστε να παρέχει 50% της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας από υδατάνθρακες, 30% από λίπη και 20% από πρωτεΐνες. Για να ελεγχθεί η συμμόρφωση των εθελοντριών στις συνταγογραφούμενες δίαιτες, τους ζητήθηκε να καταγράψουν την διατροφική τους πρόσληψη σε ειδικά ημερολόγια καταγραφής διαιτητικής πρόσληψης. Επιπλέον, το

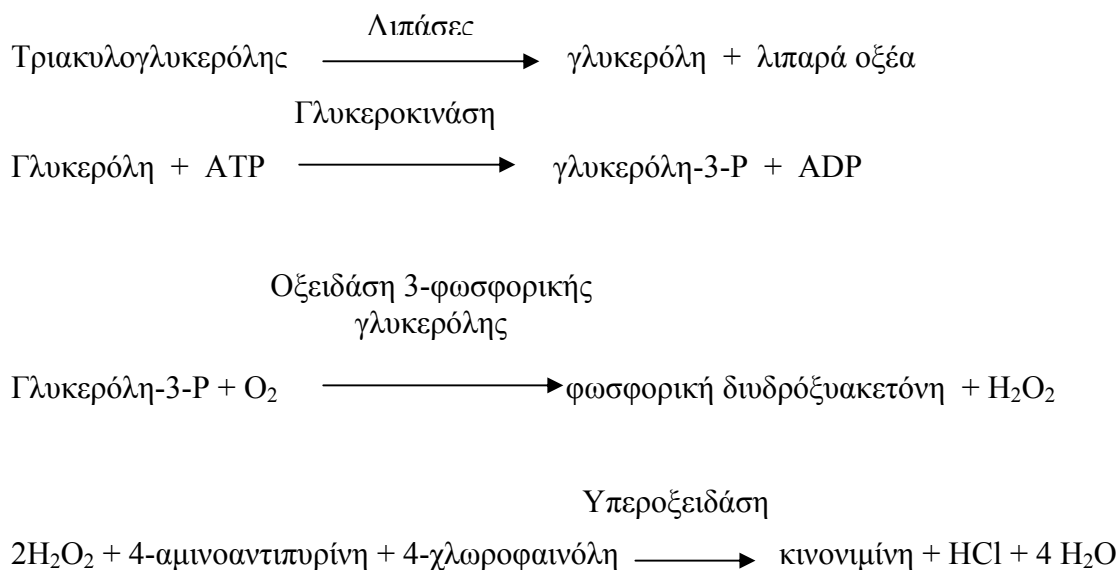
πρωί των αιμοληψιών, πριν την έναρξη των μετρήσεων, λαμβάνονταν από διαιτολόγο, διατροφική ανάκληση 24ώρου για την ημέρα της δοκιμασίας. Τα ημερολόγια αυτά για κάθε ημέρα δοκιμασίας, αλλά και για τις δύο προηγούμενες ημέρες της δοκιμασίας, καθώς και οι ανακλήσεις 24ώρου για την ημέρα της δοκιμασίας, αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό πρόγραμμα για διαιτολογική ανάλυση (Diet Analysis Plus 8.0).

4.9 Επεξεργασία δειγμάτων αίματος

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε φιαλίδια υπό κενό τα οποία περιείχαν αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό (athylenediamineretraacetic, EDTA) άλας με κάλιο ως αντιπηκτικό (BD Vacutainer), για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των μεταβολικών παραμέτρων. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πάγο αμέσως μετά τη λήψη και ακολούθησε διαχωρισμός πλάσματος μέσω φυγοκέντρησης (φυγόκεντρος Hettick Zentrifugen, 2001, Germany) εντός 30 λεπτών από τη λήψη (φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές/λεπτό για 10 λεπτά και σε θερμοκρασία 4°C). Ένα μέρος πλάσματος (~3 mL) διατηρήθηκε στην ψύξη για άμεση απομόνωση των VLDL. Τα υπόλοιπα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε μικρά σωληνάκια (eppendorfs) στους -80°C για τον προσδιορισμό συγκέντρωσης ολικών TAG, και γλυκόζης. Ο προσδιορισμός των παραπάνω έγινε με ενζυμική, χρωματομετρική μέθοδο, χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα διαγνωστικά αντιδραστήρια (Alfa Wassermann Diagnostics, West Caldwell, NJ, USA) σε αυτόματο βιοχημικό αναλυτή (ACE Schiapparelli Biosystems, Fairfield, NJ, USA). Η συγκέντρωση ινσουλίνης προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της ανοσοενζυμικής φθορισμομετρίας (immunofluorescence enzymatic assay), χρησιμοποιώντας τον κατάλληλο αναλυτή (ST AIA pack IRI, TOSOH AIA System Analyzers, San Francisco, CA) και εμπορικά διαθέσιμα διαγνωστικά αντιδραστήρια (Alfa Wassermann Diagnostics, West Caldwell, NJ, USA)

4.10 Προσδιορισμοί συγκεντρώσεων Τριακυλογλυκερολών (TAG)

Η συγκέντρωση των TAG στο πλάσμα και στις VLDL προσδιορίστηκε με ενζυμική δοκιμασία χρωματομετρίας [188]. Με τη μέθοδο αυτή, τα TG υδρολύονται αρχικά παρουσία LPL σε γλυκερόλη και FFA. Στην συνέχεια ακολουθούν οι παρακάτω αντιδράσεις:



Η κινονιμίνη παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 540 nm (μωβ-κόκκινο χρώμα), μετριέται με φασματοφωτόμετρο και είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση της γλυκερόλης και άρα των TG (εφόσον 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. Το κάθε δείγμα μετρήθηκε δύο φορές και υπολογίστηκε ο μέσος όρος των τιμών.

4.11 Απομόνωση VLDL-TAG από το πλάσμα

Για την απομόνωση των VLDL λιποπρωτεϊνών, περίπου 2,2 ml πλάσματος από τα 3 ml που είχαν παραμείνει σε θερμοκρασία 4°C για μία ώρα το πολύ, διαλύθηκαν σε ειδικά πλαστικά φυαλίδια όγκου 4,7 ml (16 x 38 mm, Quick seal - Beckman centrifuge tubes) με 2,5 ml διαλύματος NaCl-EDTA (1.006 kg/L). Στη συνέχεια τα φυαλίδια αυτά τοποθετήθηκαν σε ρότορα (Beckman TLN 100) και υπερφυγοκεντρήθηκαν (Beckman Optima LE-80K, Palo Alto, CA, USA) σε θερμοκρασία 4°C, στις 74.000 στροφές για 90 λεπτά. Το κλάσμα των VLDL λιποπρωτεϊνών συλλέχθηκε (με αποστειρωμένη σύριγγα των 3 ml, LuerLok Tip, BD, Ireland, βελόνα 22G2'', BD Microlance, Ireland), έπειτα από την ποσοτική απομόνωσης του υπερκείμενου τμήματος, που ακολούθησε τη διχοτόμηση του φυαλιδίου υπερφυγοκέντρισης με ειδικό κοπτικό εξάρτημα (Beckman CentriTube slicer). Το υπερκείμενο (1,2 – 1,5 ml) αποθηκεύτηκε σε σωληνάκια (eppendorfs, Starstedt, Germany) στους -80°C για μετέπειτα ανάλυση. Η συγκέντρωση των VLDL-

TAG μετρήθηκε μέσω της μεθόδου που περιγράφηκε παραπάνω χρησιμοποιώντας τα ακόλουθα αντιδραστήρια: Alfa Wassermann Diagnostics, West Caldwell, NJ και τον αυτόματο αναλυτή Schiapparelli Biosystems, Fairfield, NJ. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, προσδιορίζονται οι TAG του κλάσματος, που απομονώθηκε. Από τη συγκέντρωση των TAG στο κλάσμα (C_f), τη μάζα του πλάσματος ($m_p = m_2 - m_1$) και τη μάζα του κλάσματος ($m_f = m_4 - m_3$), θεωρώντας την πυκνότητα του πλάσματος και του κλάσματος ίση με 1g/ml για να απλοποιηθούν οι υπολογισμοί, προσδιορίζεται η συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα (C_p): $C_p \text{ (mg/dl)} = C_f \text{ (mg/dl)} m_f/m_p$.

4.12 Απομόνωση γλυκερόλης από τα VLDL-TAG

Ένα μέρος (750 μ l) των απομονωμένων VLDL λιποπρωτεϊνών διαλύεται σε 3 ml ακετόνης (η οποία διατηρείται στην κατάψυξη στους -20°C) για την κατακρήμνιση των πρωτεϊνών. Το διάλυμα τοποθετείται σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες, αναδεύεται σε ειδικό μηχάνημα Vortex και τοποθετείται για 10 λεπτά στους -20°C . Έπειτα, το διάλυμα φυγοκεντρείται στις 3000 στροφές/λεπτό για 15 λεπτά και σε θερμοκρασία 5°C , και το υπερκείμενο λαμβάνεται με γυάλινη πιπέτα και τοποθετείται σε νέους γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου προστίθενται 3 ml εξάνιο και 3 ml νερό (Water for Injection). Στη συνέχεια, οι σωλήνες τοποθετούνται σε ειδικό μηχάνημα ανάδευσης (platform shaker), για 15 λεπτά, στις 460 στροφές/λεπτό. Έπειτα, το διάλυμα φυγοκεντρείται για 10 λεπτά, στις 3.000 στροφή/λεπτό και στους 5°C . Με γυάλινη πιπέτα και μεγάλη προσοχή, λαμβάνεται το υπερκείμενο, τοποθετείται σε νέους γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες και αυτοί τοποθετούνται σε αφυγραντήρα υπό συνθήκες κενού (AES1010 Speedvac, Thermosavant, Holbrook, NY), σε αντιδιαμετρική διάταξη, για 45 λεπτά, χωρίς θερμότητα. Τα δείγματα που έχουν υποστεί ξήρανση επαναιωρούνται σε διάλυμα χλωροφόρμιο:μεθανόλης (3:1) και εφαρμόζονται με λεπτή σύριγγα (50 μ L) σε πλάκες πυριτικής πηκτής (LK6D silica gel plate, $60\text{\AA}$ και πάχους 250 μ m, Whatman, Maidstone, UK). Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) πραγματοποιείται για τον διαχωρισμό των λιπιδίων, μέσα σε γυάλινο θάλαμο ανάπτυξης και ως κινητή φάση χρησιμοποιείται επτάνιο:διεθυλ-εθέρας:φορμικό οξύ σε αναλογία 80:20:2. Στη γυάλινη πλάκα ψεκάζεται διάλυμα ροδαμίνης 6G 0.01% για τον εντοπισμό των κηλίδων που αντιστοιχούν στα TAG.

Στη συνέχεια πραγματοποιείται απόξεση της ζώνης των TAG και τα ξύσματα μεταφέρονται σε 13 x 159 γυάλινους σωλήνες όπου επανεκχυλίζονται σε διάλυμα (1 ml) χλωροφόρμιου:μεθανόλης (3:1), ανακινούνται για 10 min σε Vortex, κι έπειτα φυγοκεντρούνται για 5 λεπτά, στις 3.000 στροφές/ λεπτό και στους 5°C. Το υπερκείμενο αναρροφάται με γυάλινη πιπέτα και τοποθετείται σε νέα γυάλινα φιαλίδια. Αυτά εισέρχονται στον αφυγραντήρα, για 45 λεπτά. Τα αποξηραμένα δείγματα υδρολύονται με επαναιώρηση σε διάλυμα (500μl) ακετυλοχλωρίδιου:μεθανόλης 10% (1:9 κατ' όγκο, εξώθερμη αντίδραση), τα φιαλίδια βιδώνονται καλά, ανακινούνται ελαφρά και στη συνέχεια επωάζονται για 30 λεπτά στους 70°C και ανατοποθετούνται σε αφυγραντήρα υπό συνθήκες κενού, για 90 λεπτά. Έπειτα, σχηματίζεται το παράγωγο της γλυκερόλης με τον επταφθοροβουτιρικό ανυδρίτη (HFBA, 100μl σε κάθε φιαλίδιο), τα φιαλίδια αναδεύονται για 1 λεπτό σε Vortex και επωάζονται στους 70°C και για 30 λεπτά. Στη συνέχεια τα διαλύματα αποξηραίνονται υπό συνθήκες κενού για 3 ώρες. Τέλος, η αποξηραμένη γλυκερόλη διαλύεται σε 200μl επτάνιου, το διάλυμα τοποθετείται σε ειδικά για το GC-MS γυάλινα φιαλίδια, τα οποία σφραγίζονται και αποθηκεύονται στους -40°C.

4.13 Ανάλυση GC-MS

Ο λόγος του ιχνηλάτη προς την ιχνηλατούμενη ουσία (TTR) προσδιορίζεται μέσα από τη διαδικασία συζευγμένης τεχνικής αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (gas chromatography – mass spectrometry, GC-MS). Για τη συγκεκριμένη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε το σύστημα GC-MSD 5973 (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA). Για την ακριβή λειτουργία του οργάνου έγινε χρήση καμπύλης βαθμονόμησης πρότυπων ουσιών με γνωστό ισοτοπικό εμπλουτισμό. Τα χαρακτηριστικά της μεθόδου είναι τα εξής:

- Στήλη DB-17, μήκους 30 cm και πάχους 0,25 mm.
- Ιοντισμός με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων (EI ενέργειας 70 eV).
- Θερμοκρασία πηγής = 100°C, θερμοκρασία εισαγωγής = 250°C, θερμοκρασία γραμμών μεταφοράς = 250°C.
- Ροή ηλίου στο σύστημα ~ 1 ml/min.
- Ένεση με split ratio 100:1.

- Επιλεκτική παρακολούθηση (SIM) των ιόντων με λόγους μάζας προς φορτίο m/z 467 (ιχνηλατούμενο) και 472 (ιχνηλάτης με 5 άτομα δευτέρου).

4.14 Υπολογισμοί

Η ινσουλινοαντίσταση σε επίπεδο ολόκληρου του σώματος υπολογίστηκε από τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο πλάσμα, χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο του ομοιοστατικού μοντέλου (Homeostatis Model Assessment, HOMA) [189]:

$$\text{HOMA} = \text{Συγκέντρωση Ινσουλίνης (}\mu\text{U/ml)} \cdot \text{Γλυκόζη (mmol/L)} / 22,5$$

Τα πρωτογενή πειραματικά δεδομένα που προκύπτουν από την ανάλυση GC-MS είναι η επιφάνεια της χρωματογραφικής κορυφής για τον ιχνηλάτη και το ιχνηλατούμενο, η οποία υπολογίζεται αυτόματα από το λογισμικό του συστήματος (με χρήση μαθηματικού ολοκληρώματος) [17]. Η επιφάνεια αυτή αντιπροσωπεύει τον αριθμό των ιοντικών θραυσμάτων που μετρήθηκαν, που με τη σειρά του ισοδυναμεί με τον αριθμό των μορίων του ιχνηλάτη και του ιχνηλατούμενου πριν τον ιοντισμό. Το δείγμα στο χρόνο $t = 0$ μετριέται αρκετές φορές για να προσδιοριστεί με ακρίβεια ο εμπλουτισμός της VLDL-TAG-γλυκερόλης πριν τη χορήγηση του ιχνηλάτη (καθώς όπως αναφέρθηκε τα σταθερά ισότοπα υπάρχουν φυσιολογικά στο σώμα). Τα υπόλοιπα δείγματα μετρούνται εις διπλούν. Επίσης, μετριέται ένα κενό δείγμα (το οποίο δεν περιέχει βιολογικό υλικό αλλά αντίστοιχη ποσότητα αποσταγμένου νερού και υφίσταται όλη την επεξεργασία που αναφέρθηκε παραπάνω) για να διαπιστωθεί η απουσία ισοτοπικής μόλυνσης κατά την ανάλυση των δειγμάτων. Στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος της επιφάνειας για τον ιχνηλάτη προς την επιφάνεια για το ιχνηλατούμενο, ο οποίος αντιστοιχεί στον πρωτογενή λόγο ιχνηλάτη/ ιχνηλατούμενο ($m+5/ m+0$). Από το λόγο αυτό σε κάθε χρονική στιγμή αφαιρείται ο μέσος όρος του λόγου για το δείγμα στο χρόνο $t = 0$ και προκύπτει έτσι ο TTR (tracer to trace ratio) [17].

Στη συνέχεια υπολογίζεται ο φυσικός λογάριθμος ($\ln$) σε κάθε χρονική στιγμή και προσδιορίζεται με παλινδρόμηση η ευθεία εκείνη που προσομοιάζει καλύτερα στα πειραματικά δεδομένα. Για την ανάλυση αυτή επιλέγεται ως αρχικό σημείο αυτό με

τη μεγαλύτερη τιμή $\ln$ (συνήθως το δείγμα μεταξύ 30 min και 2 ωρών, ανάλογα με το πόσο γρήγορα γίνεται η ανακύκλωση των VLDL-TAG) και περιλαμβάνονται όλα τα υπόλοιπα σημεία που φαίνεται ότι ορίζουν μία ευθεία. Η απόλυτη τιμή της κλίσης της ευθείας αυτής αντιστοιχεί στον Κλασματικό Καταβολικό Ρυθμός (Fractional Catabolic Rate, FCR) των VLDL-TAG, που υποδηλώνει το μέρος εκείνο της δεξαμενής των VLDL-TAG του πλάσματος που ανακυκλώνεται στη μονάδα του χρόνου [17].

Ο FCR των VLDL-TG προσδιορίστηκε παρακολουθώντας τη 8-ωρη τροχιά του TTR, της γλυκερόλης των VLDL-TAG, κάνοντας χρήση του μονοεκθετικού μοντέλου καταβολισμού των VLDL-TAG [44,46]. Με τον τρόπο αυτό, υπολογίστηκε ο FCR των VLDL-TAG κατά τις 8 ώρες μελέτης της κινητικής των VLDL-TAG, που υποδηλώνει το κλάσμα της δεξαμενής των VLDL-TAG που ανακυκλώνεται στη μονάδα του χρόνου. Η εγκυρότητα της μεθόδου αυτής προϋποθέτει ότι η δεξαμενή των VLDL-TAG στο πλάσμα παραμένει σχετικά σταθερή κατά τη διάρκεια της μελέτης, κάτι που έχει διερευνηθεί από προηγούμενες μελέτες και φαίνεται πως ισχύει [21].

Ο σχετικός ρυθμός έκκρισης των VLDL-TAG από το ήπαρ (σε μmol ανά λίτρο πλάσματος ανά λεπτό, $\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$), που υποδηλώνει την ποσότητα VLDL-TAG που παράγονται από το ήπαρ και εκκρίνονται στη μονάδα του πλάσματος ανά μονάδα χρόνου, υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τον FCR των VLDL-TAG με τη συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/L}$) [21,44,46,71,83]. Ο απόλυτος ρυθμός έκκρισης των VLDL-TAG από το ήπαρ (σε μmol ανά λεπτό, $\mu\text{mol/min}$), που υποδηλώνει τη συνολική ποσότητα VLDL-TAG που παράγονται από το ήπαρ και εκκρίνονται στην κυκλοφορία ανά μονάδα χρόνου, υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τον FCR των VLDL-TAG με τη δεξαμενή των VLDL-TAG στο πλάσμα (σε μmol). Η δεξαμενή των VLDL-TAG υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τη συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/L}$) με τον όγκο κατανομής (volume of distribution) των VLDL-TAG (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 στον διάμεσο χώρο ή στο λεμφικό σύστημα [190]. Ο όγκος του πλάσματος (σε λίτρα, L) υπολογίστηκε ως 0,055 λίτρα

ανά κιλό άλιπης μάζας [191]. Επομένως, οι υπολογισμοί κινητικής των VLDL-TAG, έχουν ως εξής:

Σχετικός ρυθμός έκκρισης VLDL-TAG ($\mu\text{mol/L}\cdot\text{min}$) =

$$\text{FCR}_{\text{VLDL-TAG}} (1/\text{min}) \cdot \text{Συγκέντρωση VLDL-TAG } (\mu\text{mol/L})$$

Απόλυτος ρυθμός έκκρισης VLDL-TAG ($\mu\text{mol/min}$) =

$$\text{FCR}_{\text{VLDL-TAG}} (1/\text{min}) \cdot \text{Δεξαμενή VLDL-TAG } (\mu\text{mol})$$

Δεξαμενή VLDL-TAG (μmol) =

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

Όγκος κατανομής = όγκος πλάσματος = 0,055 L ανά kg άλιπης μάζας

Ο ρυθμός κάθαρσης των VLDL-TAG από την κυκλοφορία (σε ml/min) υπολογίστηκε διαιρώντας τον απόλυτο ρυθμό απομάκρυνσης VLDL-TAG (σε $\mu\text{mol/min}$) με τη συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα (σε $\mu\text{mol/ml}$). Ο απόλυτος ρυθμός απομάκρυνσης VLDL-TAG από το πλάσμα ισούται με τον απόλυτο ρυθμό έκκρισης VLDL-TAG από το ήπαρ, καθώς η συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα παραμένει σταθερή κάτω από συνθήκες ανάπαυσης. Ο ρυθμός κάθαρσης υποδηλώνει τον όγκο του πλάσματος που καθαρίζεται από VLDL-TAG στη μονάδα του χρόνου.

Ρυθμός κάθαρσης VLDL-TAG (ml/min) =

$$\text{Απόλυτος ρυθμός έκκρισης VLDL-TAG } (\mu\text{mol/min}) / \text{Συγκέντρωση VLDL-TAG } (\mu\text{mol/ml})$$

Ο μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TAG στην κυκλοφορία του αίματος (mean residence time, MRT, σε λεπτά) υπολογίστηκε ως $1/\text{FCR}$ και υποδηλώνει τη μέση χρονική διάρκεια κατά την οποία τα VLDL-TAG κυκλοφορούν στο αίμα, από τη στιγμή που θα εκκριθούν από το ήπαρ έως ότου απομακρυνθούν από τους περιφερικούς ιστούς. Ένας σύντομος MRT υποδεικνύει γρήγορη απομάκρυνση των TAG από τα κυκλοφορούντα σωματίδια VLDL, ενώ ένας παρατεταμένος MRT υποδεικνύει ότι τα TAG παραμένουν στον πυρήνα των VLDL χωρίς να απομακρυνθούν για αρκετό χρονικό διάστημα μετά την έκκρισή τους από το ήπαρ.

$$\text{Μέσος χρόνος παραμονής VLDL-TAG (min)} = 1 / \text{FCRVLDL-TAG (1/min)}$$

Ο ρυθμός κάθαρσης και ο MRT των VLDL-TAG αντιπροσωπεύουν την απομάκρυνση των VLDL-TAG από την κυκλοφορία του αίματος με οποιοδήποτε τρόπο, π.χ. λόγω υδρόλυσης από την LPL (ή την HL), λόγω μεταφοράς σε άλλες λιποπρωτεΐνες (HDL, LDL) μέσω της CETP, ή ακόμα και λόγω μετάπτωσης ολόκληρου του σωματιδίου VLDL σε άλλο λιποπρωτεϊνικό σωματίδιο (π.χ. IDL και LDL).

Συνοψίζοντας, όσον αφορά την κινητική των VLDL-TAG, η οποία αποτελεί και το κεντρικό σημείο ενδιαφέροντος της παρούσας μελέτης, θα υπολογιστούν οι ακόλουθες παράμετροι:

1. Ο ρυθμός με τον οποίο εκκρίνονται τα VLDL-TAG από το ήπαρ.
2. Ο ρυθμός εκκαθάρισης των VLDL-TAG, που αντιπροσωπεύει τον ρυθμό με τον οποίο τα VLDL-TAG χάνονται από την κυκλοφορία μέσω οποιουδήποτε τρόπου.
3. Ο μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TAG στην κυκλοφορία του αίματος.

4.15 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας κατάλληλο λογισμικό (PASW STATISTICS 18.0, SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA). 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. Η σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ τους έγινε με το Student-t τεστ για ζεύγη παρατηρήσεων. Η συγκέντρωση VLDL-TAG στην παρέμβαση δίαιτας, η ινσουλίνη και ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR στην παρέμβαση δίαιτας, ο FCR στην παρέμβαση άσκησης και ο ρυθμός έκκρισης των VLDL-TAG στις παρεμβάσεις δίαιτας και άσκησης, δεν ακολούθησαν κανονική κατανομή. Μη παραμετρικές δοκιμασίες χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση των παραπάνω μεταβλητών και συγκεκριμένα Wilcoxon τεστ για δύο συσχετιζόμενα δείγματα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπική απόκλιση (SD). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν σε

επίπεδο σημαντικότητας 95% (τιμές $P \leq 0,05$). Στο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p-value) έγινε διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές (επαναλαμβανόμενες) μετρήσεις (πολλαπλασιασμός επί το συνολικό αριθμό των ελέγχων, $n=3$). Βάση μελέτης επαναληψιμότητα που έχει πραγματοποιηθεί σε νορμολιπιδαιμικούς μη παχύσαρκους άντρες [45], μέγεθος δείγματος 8 ατόμων επιτρέπει τον εντοπισμό βιολογικά σημαντικών διαφορών στις παραμέτρους της κινητικής των VLDL-TAG τάξης ≥ 22 % για το ρυθμό έκκρισης, ≥ 27 % για το ρυθμό απομάκρυνσης και ≥ 25 % για το μέσο χρόνο παραμονής στο πλάσμα, για $\alpha = 5\%$ (σφάλμα τύπου I) και $\beta = 0,20$ (σφάλμα τύπου II, ισχύς 80%).

5. Αποτελέσματα

5.1 Χαρακτηριστικά δείγματος

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 8 νέες, νορμοβαρείς και υγιείς γυναίκες. Τα χαρακτηριστικά των εθελοντριών παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.1.1 Βασικά χαρακτηριστικά εθελοντριών (n=8).

Ηλικία (έτη)	23,5 ± 2,7
Σωματικό βάρος (kg)	61,3 ± 8,7
Δ.Μ.Σ. (kg/m ²)	22,1 ± 1,2
Λιπώδης Μάζα (%)	33,7 ± 5,0
VO ₂ peak (l/min)	1,6 ± 0,4
VO ₂ peak (ml/min/kg σωματικού βάρους)	26,7 ± 3,1
RMR (kcal/24h)	1276,3 ± 213,3

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. Δ.Μ.Σ.: Δείκτης Μάζας Σώματος, VO₂ peak: μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου, RMR: μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας (resting metabolic rate).

Πίνακας 5.1.2 Βασικές βιοχημικές παράμετροι νηστείας εθελοντριών (n=8).

Γλυκόζη (mg/dl)	86,1 ± 4,5
TAG (mg/dl)	53,6 ± 4,8
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	169,5 ± 27,4
HDL-χοληστερόλη (mg/dl)	54,1 ± 14,9
LDL-χοληστερόλη (mg/dl)	102,8 ± 17,3

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. TAG: τριακυλογλυκερόλες, HDL: λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (high density lipoprotein), LDL: λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (low density lipoprotein).

5.2 Χαρακτηριστικά άσκησης και διαιτητικής πρόσληψης

Κατά τη διάρκεια της προγραμματισμένης συνεδρίας άσκησης μέτριας έντασης (παρέμβαση άσκησης) οι εθελόντριες περπάτησαν με έντονο ρυθμό στο δαπεδοεργόμετρο, με μέση πρόσληψη οξυγόνου (VO_2) ίση με $0,95 \pm 0,15 \text{ l/min}$, η οποία αντιστοιχούσε στο $59 \pm 4\%$ της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου τους ($\text{VO}_{2\text{peak}}$). Η μέση διάρκεια της άσκησης ήταν 125 ± 19 λεπτά. Ο μέσος όρος του αναπνευστικού πηλίκου (respiratory quotient, RQ) ήταν $0,92 \pm 0,03$ και η ολική ενεργειακή δαπάνη της άσκησης ήταν $600 \pm 19,4 \text{ kcal}$, με το $74 \pm 8\%$ να προέρχεται από την οξείδωση των υδατανθράκων και το $26 \pm 8\%$ από την οξείδωση των λιπών (θεωρήθηκε ότι δεν υπάρχει συμμετοχή πρωτεϊνών στην παραγωγή ενέργειας κατά την άσκηση [183]).

Η καθαρή ενεργειακή δαπάνη της άσκησης και η ενεργειακή πρόσληψη από τη δίαιτα, την ημέρα των παρεμβάσεων, φαίνονται στον Πίνακα 5.2. Σε σύγκριση με την δοκιμασία ελέγχου (μηδενικό ισοζύγιο ενέργειας), την ημέρα μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης (υποθερμιδική δίαιτα) και την ημέρα αύξησης της ενεργειακής δαπάνης (αερόβια άσκηση), οι εθελόντριες βρίσκονταν σε αρνητικό ισοζύγιο ενέργειας, κατά $\sim 500 \text{ kcal}$. Το ενεργειακό έλλειμμα της δίαιτας και το ενεργειακό έλλειμμα της άσκησης δεν διέφεραν μεταξύ τους (Πίνακας 5.2).

Πίνακας 5.2 Καθαρή ενεργειακή δαπάνη άσκησης (net energy expenditure, NET), ενεργειακή πρόσληψη από τη δίαιτα και ενεργειακό ισοζύγιο ($n=8$).

	Δοκιμασία Ελέγχου	Παρέμβαση Υποθερμιδικής Δίαιτας	Παρέμβαση Άσκησης
NET (kcal)	—	—	492 ± 21
Ενεργειακή Πρόσληψη (kcal)	1697 ± 275	$1232 \pm 281^{* \dagger}$	1708 ± 319
Ενεργειακό Ισοζύγιο (kcal)	0	$-465 \pm 89^{*}$	$-480 \pm 106^{*}$

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * Στατιστικά σημαντικά διαφορετική τιμή από την αντίστοιχη της δοκιμασίας ελέγχου, $P < 0,001$. $\dagger$ Στατιστικά σημαντικά διαφορετική τιμή από την αντίστοιχη της παρέμβασης άσκησης, $P < 0,001$.

Τα ποσοστά μακροθρεπτικών συστατικών της διαίτας για την ημέρα της δοκιμασίας ελέγχου ($50,0 \pm 5,1\%$ υδατάνθρακες, $20,0 \pm 1,4\%$ πρωτεΐνες, $30,7 \pm 5,1$ λιπίδια), την ημέρα της παρέμβασης με δίαιτα ($49,9 \pm 3,8\%$ υδατάνθρακες, $20,5 \pm 2,5\%$ πρωτεΐνες, $30,1 \pm 4,1$ λιπίδια) και την ημέρα της παρέμβασης με άσκηση ($49,0 \pm 2,9\%$ υδατάνθρακες, $19,8 \pm 2,1\%$ πρωτεΐνες, $31,5 \pm 3,9$ λιπίδια), δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

5.3 Επίδραση στις εξεταζόμενες μεταβλητές

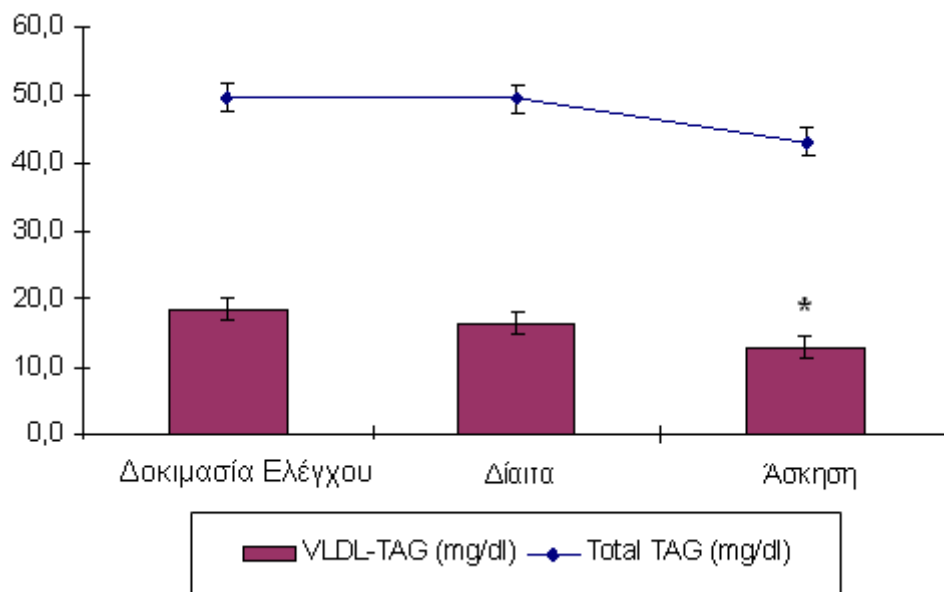
Η συγκέντρωση των VLDL-TAG στο πλάσμα κατά το μεταπορροφητικό στάδιο, ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη μετά την άσκηση, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου, κατά $29\% \pm 16\%$ ($P=0,015$). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις VLDL-TAG μετά τη δίαιτα, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου ή σε σχέση με την παρέμβαση άσκησης (Πίνακας 5.3, Εικόνα 5.3).

Πίνακας 5.3 Συγκεντρώσεις τριακυλογλυκερολών και γλυκόζης στο πλάσμα, ινσουλίνης στον ορό και δείκτης HOMA-IR, στο μεταπορροφητικό στάδιο την ημέρα μετά από κάθε παρέμβαση ($n=8$).

	Δοκιμασία Ελέγχου	Παρέμβαση Υποθερμιδικής Δίαιτας	Παρέμβαση Άσκησης
VLDL-TAG, mmol/l	$0,20 \pm 0,06$	$0,19 \pm 0,10$	$0,14 \pm 0,05$ *
(mg/dl)	$(18,2 \pm 5,3)$	$(16,4 \pm 9,1)$	$(12,7 \pm 4,1)$ *
Ολικά TAG, mmol/l	$0,56 \pm 0,11$	$0,56 \pm 0,11$	$0,49 \pm 0,06$
(mg/dl)	$(49,7 \pm 9,3)$	$(49,5 \pm 9,9)$	$(43,1 \pm 5,0)$
Γλυκόζη, mmol/l	$5,37 \pm 0,23$	$5,33 \pm 0,32$	$5,31 \pm 0,46$
(mg/dl)	$(96,9 \pm 4,1)$	$(96,0 \pm 5,7)$	$(95,6 \pm 8,2)$
Ινσουλίνη, (μU/ml)	$6,6 \pm 2,0$	$4,8 \pm 1,8$	$4,7 \pm 1,7$
HOMA-IR	$1,6 \pm 0,5$	$1,2 \pm 0,5$	$1,1 \pm 0,5$

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SD. * Στατιστικά σημαντικά διαφορετική τιμή από την αντίστοιχη της παρέμβασης ελέγχου, $P=0,015$ μετά από διόρθωση κατά Bonferroni.

Οι συγκεντρώσεις των ολικών TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο, δεν άλλαξε στατιστικά σημαντικά σε καμία από τις παρεμβάσεις (Πίνακας 5.3). Παρατηρήθηκε μία τάση μείωσης στα ολικά TAG μετά από την παρέμβαση άσκησης, σε σχέση με την δοκιμασία ελέγχου, η οποία πριν από τη διόρθωση Bonferroni βρέθηκε σημαντική ($P=0.045$), η στατιστική σημαντικότητα όμως εξαλείφθηκε μετά τη διόρθωση για πολλαπλές συγκρίσεις ($P=0,135$) (Εικόνα 5.3).

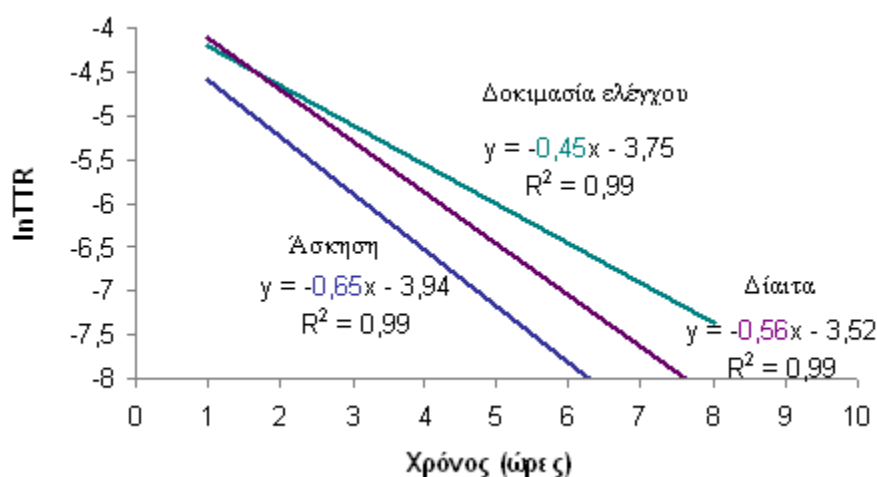


Εικόνα 5.3 Οι επιδράσεις του βραχυχρόνιου ελλείμματος (~500 kcal) που προκλήθηκε από υποθερμιδική δίαιτα ή άσκηση στα επίπεδα των ολικών (Total) και VLDL τριακυλογλυκερολών (TAG), στο μεταπορροφητικό στάδιο. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SEM. *Στατιστικά σημαντικά διαφορετικό από την παρέμβαση ελέγχου (μηδενικό ισοζύγιο ενέργειας), $p<0,05$.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στις συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης νηστείας, συνεπώς ούτε στο δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA ανάμεσα στις τρεις δοκιμασίες (Πίνακας 5.3).

5.4 Κινητική των VLDL-TAG κατά το μεταπορροφητικό στάδιο

Στην Εικόνα 5.4.1 παρατίθεται ένα ενδεικτικό διάγραμμα των λογαριθμημένων μέσων όρων των TTRs (λόγοι ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο, Tracer to Tracee Ratios) της γλυκερόλης για τις 3 δοκιμασίες: ελέγχου, δίαιτας και άσκησης, για μια εθελόντρια, με τις κλίσεις των ευθειών να αντιστοιχούν στον FCR τις κάθε παρέμβασης. Ο κλασματικός καταβολικός ρυθμός (FCR) των VLDL-TAG ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερος την ημέρα μετά την άσκηση σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (κατά $22 \pm 18\%$, $P=0,036$). Μετά την παρέμβαση της δίαιτας ο VLDL-FCR δεν άλλαξε στατιστικά σημαντικά ($P=0,99$) (Πίνακας 5.4).



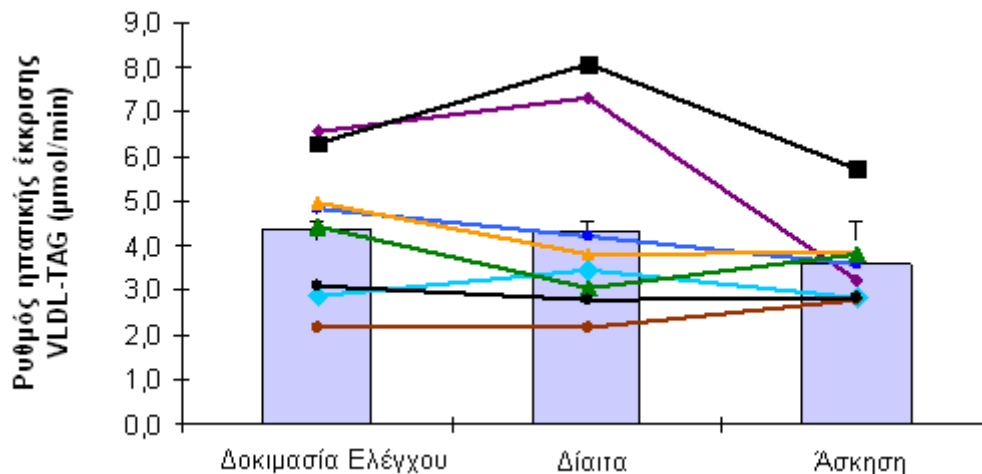
Εικόνα 5.4.1 Ενδεικτικό διάγραμμα των λογαριθμημένων μέσων όρων των TTRs (λόγοι ιχνηλάτη προς ιχνηλατούμενο, Tracer to Tracee Ratios) της γλυκερόλης για τις 3 δοκιμασίες: ελέγχου, δίαιτας και άσκησης, για μια εθελόντρια

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στον ρυθμό ηπατικής έκκρισης ανάμεσα στις τρεις δοκιμασίες (Πίνακας 5.4). Ο ρυθμός πλασματικής εκκαθάρισης των VLDL-TAG ήταν σημαντικά υψηλότερος μετά την παρέμβαση της άσκησης σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (κατά $22 \pm 18\%$, $P=0,033$), ενώ δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά μετά την παρέμβαση δίαιτας, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου ή την άσκηση ($P=0,99$) (Εικόνα 5.4.2).

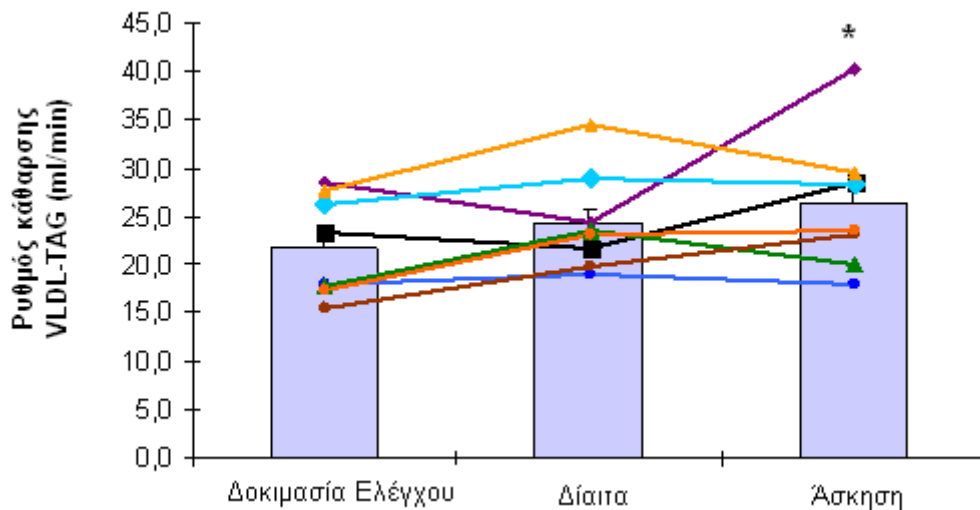
Πίνακας 5.4 Κινητική των VLDL-TAG το πρωί μετά από τις παρεμβάσεις έλεγχου, διαίτας και άσκησης (n=8).

	Δοκιμασία Ελέγχου	Παρέμβαση Υποθερμιδικής Δίαιτας	Παρέμβαση Άσκησης
VLDL-TAG FCR (pools/h)	0,59 ± 0,13	0,66 ± 0,09	0,72 ± 0,07 *
Έκκριση VLDL-TAG (μmol/min)	4,41 ± 1,59	4,36 ± 2,16	3,5 ± 0,96
Έκκριση VLDL-TAG (μmol/L/min)	1.99 ± 0.73	1.98 ± 1.01	1.61 ± 0,40
Κάθαρση VLDL-TAG (ml/min)	21,76 ± 5,26	24,40 ± 5,11	26,42 ± 6,96 *
VLDL-TAG MRT (min)	106 ± 21	93 ± 14	88 ± 22 *

FCR: κλασματικός καταβολικός ρυθμός (fractional catabolic rate), MRT: μέσος χρόνος παραμονής στο πλάσμα (mean residence time). Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SD. * Στατιστικά σημαντικά διαφορετική τιμή από την αντίστοιχη της παρέμβασης ελέγχου, P<0.05 μετά από διόρθωση κατά Bonferroni.



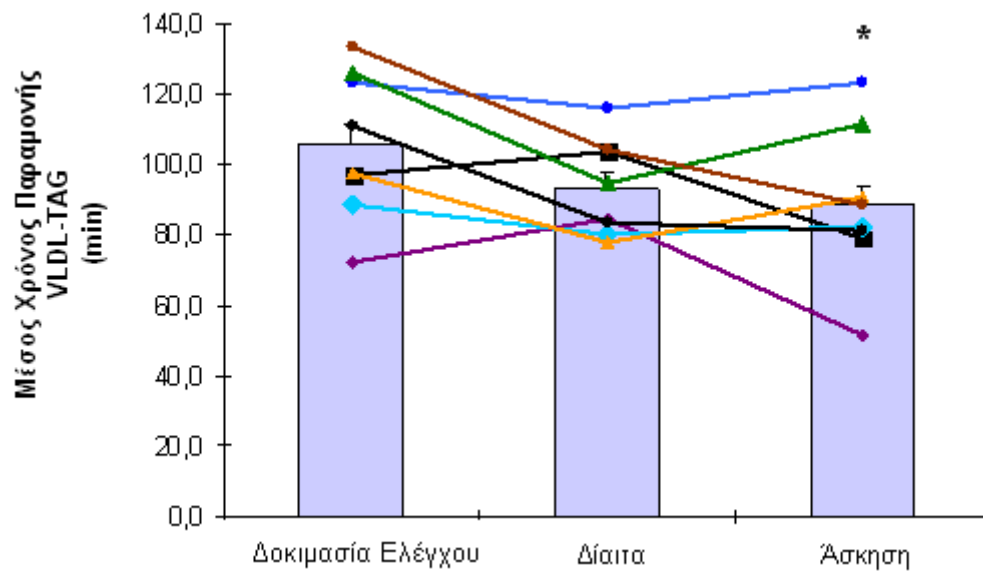
Εικόνα 5.4.2 Ο ρυθμός ηπατικής έκκρισης των VLDL-TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο, το πρωί μετά από τη δοκιμασία ελέγχου, την παρέμβαση διαίτας (μείωση της θερμιδικής πρόσληψης, ~500 kcal) και την παρέμβαση άσκησης (αύξηση ενεργειακής δαπάνης, ~500 kcal). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι ± SEM. Οι εξατομικευμένες τιμές συνδέονται με γραμμές.



Εικόνα 5.4.3 Ο ρυθμός κάθαρσης των VLDL-TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο, το πρωί μετά από τη δοκιμασία ελέγχου, την παρέμβαση δίαιτας (μείωση της θερμιδικής πρόσληψης, ~500 kcal) και την παρέμβαση άσκησης (αύξηση ενεργειακής δαπάνης, ~500 kcal). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SEM. Οι εξατομικευμένες τιμές συνδέονται με γραμμές. *Στατιστικά σημαντικά διαφορετικό από την παρέμβαση ελέγχου (μηδενικό ισοζύγιο ενέργειας), $p < 0,05$.

Ο μέσος χρόνος παραμονής (MRT) των VLDL-TAG στην κυκλοφορία του αίματος ήταν σημαντικά βραχύτερος έπειτα από την παρέμβαση άσκησης (κατά 18 ± 14 min, $P=0,03$) σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (Εικόνα 5.4.4). Έπειτα από την παρέμβαση της δίαιτας, ο MRT δεν άλλαξε στατιστικά σημαντικά, σε σχέση με τις άλλες δύο δοκιμασίες.

Μετά από την παρέμβαση άσκησης, όλες οι εθελόντριες είχαν αυξημένα επίπεδα πλασματικής εκκαθάρισης των VLDL-TAG και βραχύτερους χρόνους παραμονής VLDL-TAG στην κυκλοφορία του αίματος, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (Εικόνα 5.4.3 και Εικόνα 5.4.4). Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε σε 6 από τις 8 εθελόντριες στην περίπτωση της δίαιτας, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (Εικόνα 5.4.3 και Εικόνα 5.4.4). Οι μεταβολές στον ρυθμό έκκρισης των VLDL-TAG ανάμεσα στις τρεις δοκιμασίες ήταν ακανόνιστες (Εικόνα 5.4.2).



Εικόνα 5.4.4 Ο μέσος χρόνος παραμονής των VLDL-TAG στο μεταπορροφητικό στάδιο, το πρωί μετά από τη δοκιμασία ελέγχου, την παρέμβαση δίαιτας (μείωση της θερμιδικής πρόσληψης, ~500 kcal) και την παρέμβαση άσκησης (αύξηση ενεργειακής δαπάνης, ~500 kcal). Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι $\pm$ SEM. Οι εξατομικευμένες τιμές συνδέονται με γραμμές. *Στατιστικά σημαντικά διαφορετικό από την παρέμβαση ελέγχου (μηδενικό ισοζύγιο ενέργειας), $p < 0,05$.

6. Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν οι επιδράσεις του βραχυχρόνιου (μιας ημέρας) ενεργειακού ελλείμματος (~500 kcal), το οποίο προκλήθηκε από μείωση της ενεργειακής πρόσληψης (υποθερμιδική δίαιτα) ή αύξηση της ενεργειακής δαπάνης (αερόβια άσκηση), στα επίπεδα και την κινητική των VLDL-TAG, στο μεταπορροφητικό στάδιο, σε νέες, υγιείς, μη φυσικά δραστήριες γυναίκες. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στη συγκέντρωση των VLDL-TAG (κατά περίπου 29%) και στο μέσο χρόνο παραμονής τους στο πλάσμα (κατά περίπου 17%), μετά την παρέμβαση άσκησης, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (μηδενικό ενεργειακό ισοζύγιο), ενώ ταυτόχρονα αυξήθηκαν σημαντικά ο FCR (κατά περίπου 22%) και ο ρυθμός πλασματικής εκκαθάρισης των VLDL-TAG (κατά περίπου 22%). Επιβεβαιώθηκε έτσι για πρώτη φορά στις γυναίκες, πως, όμοια με τους άντρες, μία συνεδρία αερόβιας άσκησης μειώνει τα επίπεδα των VLDL-TAG την επόμενη ημέρα, μέσω αύξησης της απομάκρυνσης τους από το πλάσμα. Όσον αφορά την παρέμβαση της μίας ημέρας υποθερμιδικής διαίτας, αυτή δε βρέθηκε να προκαλεί σημαντικές αλλαγές σε κάποια από τις εξεταζόμενες παραμέτρους.

Η επίδραση του ενεργειακού ισοζυγίου στο μεταβολισμό των VLDL-TAG δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Το αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο, ή αλλιώς ενεργειακό έλλειμμα, προκαλούμενο από υποθερμιδική δίαιτα, όταν αυτή είναι μακροχρόνια και οδηγεί σε απώλεια βάρους, προκαλεί μείωση των επιπέδων TAG του πλάσματος [75,76,148,149]. Το κατά πόσο αυτό οφείλεται στην απώλεια βάρους αυτή καθαυτή, ή στο ενεργειακό έλλειμμα, δεν είναι γνωστό. Είναι πιθανό, η απώλεια βάρους από τη μία και το οξύ ενεργειακό έλλειμμα από την άλλη, να ασκούν ξεχωριστές και επιπρόσθετες επιδράσεις στο μεταβολισμό των TAG [82]. Η παραπάνω υπόθεση προκύπτει από την παρατήρηση ότι μελέτες, όπου ο προσδιορισμός των TAG πραγματοποιήθηκε κατά την περίοδο της ενεργούς απώλειας βάρους, όταν δηλαδή συνυπήρχε η επίδραση του οξέως ενεργειακού ελλείμματος, βρήκαν πολύ μεγαλύτερη μείωση των TAG νηστείας (~28-55%) [75,148,149,152], σε σχέση με αυτές, στις οποίες η μέτρηση των TAG έγινε έπειτα από μία περίοδο σταθεροποίησης του σωματικού βάρους. Στη δεύτερη περίπτωση, όταν η επίδραση του οξέως ενεργειακού ελλείμματος έπαυσε να υφίσταται, η μείωση των TAG νηστείας ήταν σχετικά μικρή (~20-29%) [71,150] και κάποιες φορές μη στατιστικά σημαντική [151-

153]. Συγκεκριμένα μόνο η επίδραση του οξέος ενεργειακού ελλείμματος, εξετάστηκε σε πρόσφατη μελέτη και βρέθηκε πως αυτό οδηγεί σε μείωση κατά 15% των TAG νηστείας [82], κάτι που μπορεί να εξηγεί τις παραπάνω διαφορές.

Στην παραπάνω μελέτη [82], εξετάστηκε η επίδραση της οξείας (1 ημέρας) μέτριας μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης (ενεργειακό έλλειμμα αντίστοιχο με αυτό της παρούσας μελέτης, ~500 kcal), σε γυναίκες, και βρέθηκε πως οι TAG νηστείας μειώθηκαν σημαντικά κατά 15%, ενώ οι VLDL-TAG κατά 37%. Σε αντίθεση με τα παραπάνω αποτελέσματα, στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στα ολικά TAG ή στα VLDL-TAG νηστείας, έπειτα από την παρέμβαση μίας ημέρας δίαιτας αντίστοιχου ενεργειακού ελλείμματος, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (μηδενικό ενεργειακό ισοζύγιο). Το δείγμα και των δύο μελετών αποτέλεσαν υγιείς, προεμμηνοπαυσιακές, μη φυσικά δραστήριες γυναίκες (n=6 και n=8 αντίστοιχα). Οι διαφορές στους δύο πληθυσμούς εντοπίζονται στην μέση ηλικία (28,3 και 23,5 έτη αντίστοιχα) και στο αρχικά επίπεδα TAG νηστείας (69,1 και 53,6 mg/dl αντίστοιχα), με τις εθελόντριες της παρούσας μελέτης να έχουν αρκετά χαμηλότερα, και γενικά χαμηλά, αρχικά επίπεδα TAG νηστείας, γεγονός που ενδέχεται να εξηγεί τη διαφορά των αποτελεσμάτων των δύο μελετών.

Όσον αφορά την επίδραση της άσκησης, πολλές είναι οι μελέτες που δείχνουν ότι η επακόλουθη υποτριάκυλογλυκερολαιμία εξαρτάται από την συνολική ενέργεια που δαπανάται κατά τη διάρκεια της άσκησης [105,110-115] ή ίσως από το συνολικό ενεργειακό έλλειμμα λόγω άσκησης, αφού στις μελέτες αυτές η καθαρή ενεργειακή δαπάνη της άσκησης δεν αντισταθμίστηκε από επιπλέον ενεργειακή πρόσληψη μέσω δίαιτας, οδηγώντας έτσι σε αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο. Το κατώφλι του ενεργειακού ελλείμματος λόγω άσκησης, πάνω από το οποίο επιτυγχάνεται μείωση των TAG έχει βρεθεί πως είναι γύρω στις 500 kcal για υγιή άτομα. Στην παρούσα μελέτη ωστόσο, έλλειμμα 500 kcal, προκαλούμενο από μία συνεδρία αερόβιας άσκησης, δεν φάνηκε να μειώνει στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα ολικών TAG, παρά μόνο τα επίπεδα VLDL-TAG. Βέβαια παρατηρήθηκε μία μείωση και των ολικών TAG, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου, αλλά η στατιστική σημαντικότητά της ($P=0,045$) εξαλείφθηκε έπειτα από την αναγκαία στατιστική διόρθωση για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (κατά Bonferroni, $P=0.90$).

Πολύ λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει το κατά πόσο είναι το ενεργειακό έλλειμμα αυτό καθαυτό που οδηγεί στη μείωση των TAG, ανεξάρτητα από τον τρόπο με τον οποίο αυτό επιτυγχάνεται (μέσω άσκησης, υποθερμιδικής διαίτας ή συνδυασμού τους). Στις μελέτες όπου το ενεργειακό έλλειμμα της άσκηση και της διαίτας ήταν ίδιο (81,82) και οι δύο παρεμβάσεις οδήγησαν σε σημαντική μείωση των TAG νηστείας. Στη μελέτη [82] όπου εξετάσθηκαν οι επιδράσεις βραχυχρόνιου (μιας ημέρας) ενεργειακού ελλείμματος (~500 kcal), το οποίο προκλήθηκε από άσκηση, υποθερμιδική διαίτα ή συνδυασμό και των δύο, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις των ολικών TAG και των VLDL-TAG νηστείας (κατά περίπου 12-43%), μετά από όλες τις παρεμβάσεις αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου σε σύγκριση με την παρέμβαση ελέγχου (μηδενικό ισοζύγιο ενέργειας). Άσκηση και διαίτα δεν φάνηκαν να έχουν διαφορετική επίδραση στην τριακυλογλυκερολαιμία κατά το μεταπορροφητικό στάδιο. Αντίθετα, στην παρούσα μελέτη, η άσκηση βρέθηκε να έχει επίδραση στα ολικά και VLDL-TAG νηστείας, ενώ η διαίτα ίδιου ενεργειακού ελλείμματος δεν είχε καμία επίδραση.

Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα γλυκόζης, ινσουλίνης και στο δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA, στο μεταπορροφητικό στάδιο, γεγονός που είναι σε συμφωνία με μελέτες που εξέτασαν την επίδραση παρόμοιας άσκησης και έδειξαν πως η υποτριάκυλογλυκερολαιμική επίδραση της άσκησης δεν σχετίζεται με αλλαγές στο μεταβολισμό της γλυκόζης ή της ινσουλίνης [82,192]. Το ίδιο ισχύει και για την παρέμβαση διαίτας [82].

Το οξύ ενεργειακό έλλειμμα προκαλούμενο από μίας ημέρας υποθερμιδική διαίτα, στην παρούσα μελέτη, δεν είχε καμία επίδραση στις συγκεντρώσεις των ολικών και VLDL TAG, κι επομένως ούτε και στις παραμέτρους κινητικής των VLDL-TAG. Αντίθετα, στην παρέμβαση της άσκησης, η οποία οδήγησε σε μείωση των VLDL-TAG και αλλαγή στις παραμέτρους κινητικής τους, μπορεί να γίνει λόγος για τους μηχανισμούς που κρύβονται πίσω από την παρατηρούμενη υποτριάκυλογλυκερολαιμία. Σε προηγούμενες μελέτες έχει φανεί πως η οξεία άσκηση, μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας, μειώνει τη συγκέντρωση των VLDL-TAG νηστείας, μέσω αύξησης στο ρυθμό εκκαθάριση τους από την κυκλοφορία, χωρίς να επηρεάζει την ηπατική παραγωγή τους [121,122,162,163]. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνεται και στη παρούσα μελέτη. Πρέπει να σημειωθεί πως η εκκαθάριση των

ολικών VLDL-TAG από την κυκλοφορία αφορά όλες τις πιθανές οδούς απομάκρυνσής τους από το πλάσμα, οι οποίες περιλαμβάνουν: α) υδρόλυσή τους από την LPL, και πιθανόν και από την ηπατική λιπάση (hepatic lipase, HL), β) μεταφορά των TAG σε άλλες λιποπρωτεΐνες (π.χ. HDL), γ) μετατροπή των VLDL λιποπρωτεϊνών σε λιποπρωτεΐνες υψηλότερης πυκνότητας (IDL και LDL), καθώς και δ) απομάκρυνση ολόκληρου του σωματιδίου της VLDL από το πλάσμα, μέσω ηπατικών και/ή περιφερειακών υποδοχέων [39].

Η υποτρίακυλογλυκερολαιμία που παρατηρείται έπειτα από άσκηση παρατεταμένης διάρκειας και μέτριας έντασης, αποδίδεται εν μέρει στην αυξημένη δραστικότητα της LPL στο μυϊκό, αλλά όχι το λιπώδη ιστό [164]. Η αυξημένη λιπόλυση από την LPL πιθανόν αυξάνει την εκκαθάριση των VLDL-TAG από το μυϊκό ιστό, στο μεταπορροφητικό στάδιο [167], με σκοπό την αναπλήρωση των ενδομυϊκών αποθεμάτων σε TAG, τα οποία εξαντλήθηκαν κατά τη διάρκεια της άσκησης [168,169]. Από την άλλη, έχει προταθεί ένας μηχανισμός ο οποίος δεν προϋποθέτει αλλαγές στη μάζα ή τη δραστικότητα της LPL στους ιστούς, ως απόκριση στην άσκηση [163]. Η απομάκρυνση των VLDL-TAG από την κυκλοφορία μπορεί να αυξάνεται λόγω διευκόλυνσης, κι επομένως αύξησης, της υδρόλυσής τους από την LPL [163]. Έπειτα από άσκηση αντοχής, έχει φανεί πως το ήπαρ εκκρίνει λιγότερα, αλλά πιο πλούσια σε TAG, κι επομένως πιθανόν μεγαλύτερα σε μέγεθος, VLDL σωματίδια [122]. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μεταφορά TAG από τον πυρήνα πλουσιότερων σε TAG και μεγαλύτερων σε μέγεθος VLDL σωματιδίων γίνεται πιο αποτελεσματικά σε σύγκριση με τα μικρότερα και φτωχότερα σε TAG VLDL [170-172], πιθανόν γιατί η αύξηση των περιεχόμενων στη λιποπρωτεΐνη TAG και η αύξηση του μεγέθους της διευκολύνει την υδρόλυσή τους από την LPL [173].

Οι υπόλοιπες οδοί απομάκρυνσης των VLDL-TAG δεν φαίνεται να είναι πολύ πιθανό να συμβάλουν στην παρατηρούμενη υποτρίακυλογλυκερολαιμία μετά από άσκηση [163]. Η αύξηση της μεταφοράς TAG από τις VLDL στις HDL θα οδηγούσε σε εμπλουτισμό των HDL σε TAG, κάτι που έχει φανεί ότι αυξάνει των καταβολισμό τους [56,174] και επομένως οι συγκεντρώσεις των HDL θα μειώνονταν, κάτι που δεν έχει παρατηρηθεί. Αντιθέτως, έχει παρατηρηθεί η οξεία άσκηση να αυξάνει τις συγκεντρώσεις των HDL [97]. Από την άλλη, ούτε η αύξηση της απομάκρυνσης ολόκληρων των VLDL σωματιδίων από την κυκλοφορία είναι πολύ πιθανή, καθώς

έχει φανεί πως μετά από μία συνεδρία άσκησης αντοχής, μέτριας έντασης και ενεργειακής δαπάνης 600-1200 kcal, ο ρυθμός εκκαθάρισης πλάσματος και ο μέσος χρόνος παραμονής της απολιποπρωτεΐνης B-100 (που αντιστοιχεί στα σωματίδια VLDL) στην κυκλοφορία, δεν μεταβάλλεται [122,138].

Στους περιορισμούς της μελέτης, περιλαμβάνεται ο σχετικά μικρός αριθμός εθελοντριών (n=8), αν και άλλες μελέτες, που έδειξαν μείωση των ολικών και VLDL-TAG, έπειτα από αντίστοιχες παρεμβάσεις άσκησης ή/και δίαιτας, είχαν μικρότερο αριθμό ατόμων [82]. Επομένως, η πολύ χαμηλή αρχική συγκέντρωση TAG νηστείας, που παρουσίασαν οι εθελόντριες της παρούσας μελέτης, ίσως είναι ο κύριος περιοριστικός παράγοντας που εμπόδιζε την ανίχνευση στατιστικά σημαντικών διαφορών στα ολικά TAG, έπειτα και από τις δύο παρεμβάσεις και στα VLDL-TAG έπειτα από την παρέμβαση δίαιτας και ίσως σε αυτό οφείλεται η αντίθεση με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών. Εάν το δείγμα, ειδικά στην παρέμβαση της δίαιτας, η οποία έχει διερευνηθεί πολύ λιγότερο από την άσκηση, ήταν μεγαλύτερο κατά 2-4 άτομα, θα μπορούσαν πιθανόν, να εξαχθούν συμπεράσματα με μεγαλύτερη βεβαιότητα.

7. Συμπέρασμα

Στην παρούσα μελέτη, το βραχυχρόνιο (μιας ημέρας) ενεργειακό έλλειμμα (~500 kcal), το οποίο προκλήθηκε από αύξηση της ενεργειακής δαπάνης (αερόβια άσκηση μέτριας έντασης και παρατεταμένης διάρκειας), οδήγησε την επόμενη ημέρα, σε σημαντική μείωση στη συγκέντρωση των VLDL-TAG και στο μέσο χρόνο παραμονής τους στο πλάσμα, σε σχέση με τη δοκιμασία ελέγχου (μηδενικό ενεργειακό ισοζύγιο), ενώ ταυτόχρονα προκάλεσε σημαντική αύξηση του FCR και του ρυθμού πλασματικής εκκαθάρισης των VLDL-TAG. Η παρέμβαση με αντίστοιχο ενεργειακό έλλειμμα (~500 kcal), το οποίο προκλήθηκε μέσω μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης (υποθερμιδική διαίτα), δεν φάνηκε να έχει κάποια επίδραση στις εξεταζόμενες παραμέτρους.

Περαιτέρω μελέτες είναι αναγκαίες, έτσι ώστε να εξαχθούν ολοκληρωμένα συμπεράσματα για την επίδραση του βραχυχρόνιου αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου στα επίπεδα των VLDL-TAG, καθώς και για τους υποκείμενους μηχανισμούς. Επιπλέον, μεγάλο ενδιαφέρον έχει η μελέτη της αποτελεσματικότητας αντίστοιχων παρεμβάσεων σε μη υγιείς πληθυσμούς, όπως οι παχύσαρκοι και οι διαβητικοί, δηλαδή σε άτομα που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο υπερτρίακυλογλυκερολαιμίας.

8. Βιβλιογραφία

1. Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, Zheng ZJ, Flegal K, O'Donnell C, Kittner S, Lloyd-Jones D, Goff DC, Jr., Hong Y, Adams R, Friday G, Furie K, Gorelick P, Kissela B, Marler J, Meigs J, Roger V, Sidney S, Sorlie P, Steinberger J, Wasserthiel-Smoller S, Wilson M, Wolf P: Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2006;113:e85-151.
2. Sans S, Kesteloot H, Kromhout D: The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *Eur Heart J* 1997;18:1231-1248.
3. 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;106:3143-3421.
4. Harchaoui KE, Visser ME, Kastelein JJ, Stroes ES, Dallinga-Thie GM: Triglycerides and cardiovascular risk. *Curr Cardiol Rev* 2009;5:216-222.
5. Brunzell JD, Davidson M, Furberg CD, Goldberg RB, Howard BV, Stein JH, Witztum JL: Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus conference report from the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1512-1524.
6. Demacker PN: The metabolic syndrome: definition, pathogenesis and therapy. *Eur J Clin Invest* 2007;37:85-89.
7. 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;3:213-219.
8. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A: The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl M:M8-14.
9. Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F: Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation* 1998;97:1029-1036.
10. Tirosh A, Rudich A, Shochat T, Tekes-Manova D, Israeli E, Henkin Y, Kochba I, Shai I: Changes in triglyceride levels and risk for coronary heart disease in young men. *Ann Intern Med* 2007;147:377-385.
11. Tirosh A, Shai I, Bitzur R, Kochba I, Tekes-Manova D, Israeli E, Shochat T, Rudich A: Changes in triglyceride levels over time and risk of type 2 diabetes in young men. *Diabetes Care* 2008;31:2032-2037.
12. Abdel-Maksoud M, Sazonov V, Gutkin SW, Hokanson JE: Effects of modifying triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins on cardiovascular outcomes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008;51:331-351.
13. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Bingham S, Boekholdt SM, Khaw KT, Gudnason V: Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation* 2007;115:450-458.

14. Stalenhoef AF, de Graaf J: Association of fasting and nonfasting serum triglycerides with cardiovascular disease and the role of remnant-like lipoproteins and small dense LDL. *Curr Opin Lipidol* 2008;19:355-361.
15. Malloy MJ, Kane JP: A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Adv Intern Med* 2001;47:111-136.
16. 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;39:111-124.
17. Συντώσης Λ: Μεταβολισμός του Ανθρώπου: Μεθοδολογία και Τεχνικές Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης 2009.
18. Gibbons GF, Wiggins D, Brown AM, Hebbachi AM: Synthesis and function of hepatic very-low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans* 2004;32:59-64.
19. Gropper S: ,Jl Smith, JL Groff. Διατροφή και Μεταβολισμός, Τόμος Ι. Επιμέλεια: Συντώσης Λ, Μετάφραση: Αναστασίου Κ, Γιάννη Α, Κούτσαρη Χ, Κρανίου Γ, Σκενδέρη Κ. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 2007.
20. 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;79:1110-1119.
21. Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S: Effect of sex and obesity on basal VLDL-triacylglycerol kinetics. *Am J Clin Nutr* 2003;77:573-579.
22. Lewis GF: Fatty acid regulation of very low density lipoprotein production. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:146-153.
23. 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:E798-805.
24. 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;49:755-765.
25. 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;47:2325-2332.
26. Olefsky JM, Farquhar JW, Reaven GM: Reappraisal of the role of insulin in hypertriglyceridemia. *Am J Med* 1974;57:551-560.
27. Tobey TA, Greenfield M, Kraemer F, Reaven GM: Relationship between insulin resistance, insulin secretion, very low density lipoprotein kinetics, and plasma triglyceride levels in normotriglyceridemic man. *Metabolism* 1981;30:165-171.
28. Sidossis LS, Stuart CA, Shulman GI, Lopaschuk GD, Wolfe RR: Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J Clin Invest* 1996;98:2244-2250.
29. Sidossis LS, Wolfe RR: Glucose and insulin-induced inhibition of fatty acid oxidation: the glucose-fatty acid cycle reversed. *Am J Physiol* 1996;270:E733-738.

30. Zammit VA, Waterman IJ, Topping D, McKay G: Insulin stimulation of hepatic triacylglycerol secretion and the etiology of insulin resistance. *J Nutr* 2001;131:2074-2077.
31. 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;53:521-527.
32. LaRosa JC, Levy RI, Herbert P, Lux SE, Fredrickson DS: A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 1970;41:57-62.
33. 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;29:669-677.
34. Merkel M, Loeffler B, Kluger M, Fabig N, Geppert G, Pennacchio LA, Laatsch A, Heeren J: Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 2005;280:21553-21560.
35. Schaap FG, Rensen PC, Voshol PJ, Vrans C, van der Vliet HN, Chamuleau RA, Havekes LM, Groen AK, van Dijk KW: ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein-triglyceride (VLDL-TG) production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. *J Biol Chem* 2004;279:27941-27947.
36. Wang CS, McConathy WJ, Kloer HU, Alaupovic P: Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III. *J Clin Invest* 1985;75:384-390.
37. Brown WV, Baginsky ML: Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochem Biophys Res Commun* 1972;46:375-382.
38. Jong MC, Dahlmans VE, Hofker MH, Havekes LM: Nascent very-low-density lipoprotein triacylglycerol hydrolysis by lipoprotein lipase is inhibited by apolipoprotein E in a dose-dependent manner. *Biochem J* 1997;328 (Pt 3):745-750.
39. Magkos F: Basal very low-density lipoprotein metabolism in response to exercise: mechanisms of hypotriacylglycerolemia. *Prog Lipid Res* 2009;48:171-190.
40. Jong MC, Hofker MH, Havekes LM: Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:472-484.
41. Karpe F, Bickerton AS, Hodson L, Fielding BA, Tan GD, Frayn KN: Removal of triacylglycerols from chylomicrons and VLDL by capillary beds: the basis of lipoprotein remnant formation. *Biochem Soc Trans* 2007;35:472-476.
42. Young VR, Ajami A: The Rudolf Schoenheimer Centenary Lecture. Isotopes in nutrition research. *Proc Nutr Soc* 1999;58:15-32.
43. 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;7:547-555.
44. Patterson BW MB, 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.

45. Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: Reproducibility of stable isotope-labeled tracer measures of VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics. *J Lipid Res* 2007;48:1204-1211.
46. Lemieux S, Patterson BW, Carpentier A, Lewis GF, Steiner G: A stable isotope method using a [(2)H(5)]glycerol bolus to measure very low density lipoprotein triglyceride kinetics in humans. *J Lipid Res* 1999;40:2111-2117.
47. Austin MA: Epidemiology of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 1999;83:13F-16F.
48. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL: Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 1998;81:7B-12B.
49. Gotto AM, Jr.: Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998;82:22Q-25Q.
50. Patel A, Barzi F, Jamrozik K, Lam TH, Ueshima H, Whitlock G, Woodward M: Serum triglycerides as a risk factor for cardiovascular diseases in the Asia-Pacific region. *Circulation* 2004;110:2678-2686.
51. Grundy SM: Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998;81:18B-25B.
52. Havel RJ: Role of triglyceride-rich lipoproteins in progression of atherosclerosis. *Circulation* 1990;81:694-696.
53. Krauss RM: Atherogenicity of triglyceride-rich lipoproteins. *Am J Cardiol* 1998;81:13B-17B.
54. Millar JS, Packard CJ: Heterogeneity of apolipoprotein B-100-containing lipoproteins: what we have learnt from kinetic studies. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:197-202.
55. Packard CJ: Small dense low-density lipoprotein and its role as an independent predictor of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006;17:412-417.
56. 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;36:421-429.
57. Reaven GM, Hill DB, Gross RC, Farquhar JW: Kinetics of triglyceride turnover of very low density lipoproteins of human plasma. *J Clin Invest* 1965;44:1826-1833.
58. 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;45:1648-1656.
59. Reaven GM, Lerner RL, Stern MP, Farquhar JW: Role of insulin in endogenous hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1967;46:1756-1767.
60. Boberg J: Quantitative determination of heparin released lipoprotein lipase activity in human plasma. *Lipids* 1970;5:452-456.
61. Havel RJ, Kane JP, Balasse EO, Segel N, Basso LV: Splanchnic metabolism of free fatty acids and production of triglycerides of very low density lipoproteins in normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic humans. *J Clin Invest* 1970;49:2017-2035.
62. Boberg J, Carlson LA, Freyschuss U: Determination of splanchnic secretion rate of plasma triglycerides and of total and splanchnic turnover of plasma free fatty acids in man. *Eur J Clin Invest* 1972;2:123-132.
63. Boberg J, Carlson LA, Freyschuss U, Lassers BW, Wahlqvist ML: Splanchnic secretion rates of plasma triglycerides and total and splanchnic turnover of

- plasma free fatty acids in men with normo- and hypertriglyceridaemia. *Eur J Clin Invest* 1972;2:454-466.
64. Nikkila EA: Control of plasma and liver triglyceride kinetics by carbohydrate metabolism and insulin. *Adv Lipid Res* 1969;7:63-134.
 65. Nikkila EA, Kekki M: Measurement of plasma triglyceride turnover in the study of hyperglyceridemia. *Scand J Clin Lab Invest* 1971;27:97-104.
 66. Nikkila EA, Kekki M: Plasma endogenous triglyceride transport in hypertriglyceridaemia and effect of a hypolipidaemic drug (SU-13437). *Eur J Clin Invest* 1972;2:231-238.
 67. 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;63:1274-1283.
 68. Alawadhi M, Thanassoulis G, Marcil M, Genest J: Genetic lipoprotein disorders and coronary atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2005;7:196-203.
 69. McLeod RS, LeBlanc AM, Langille MA, Mitchell PL, Currie DL: Conjugated linoleic acids, atherosclerosis, and hepatic very-low-density lipoprotein metabolism. *Am J Clin Nutr* 2004;79:1169S-1174S.
 70. 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;31:1033-1062.
 71. 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:E549-556.
 72. Anderson JW, Kendall CW, Jenkins DJ: Importance of weight management in type 2 diabetes: review with meta-analysis of clinical studies. *J Am Coll Nutr* 2003;22:331-339.
 73. Poobalan A, Aucott L, Smith WC, Avenell A, Jung R, Broom J, Grant AM: Effects of weight loss in overweight/obese individuals and long-term lipid outcomes--a systematic review. *Obes Rev* 2004;5:43-50.
 74. Dattilo AM, Kris-Etherton PM: Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1992;56:320-328.
 75. Sharman MJ, Gomez AL, Kraemer WJ, Volek JS: Very low-carbohydrate and low-fat diets affect fasting lipids and postprandial lipemia differently in overweight men. *J Nutr* 2004;134:880-885.
 76. Volek JS, Sharman MJ, Gomez AL, DiPasquale C, Roti M, Pumerantz A, Kraemer WJ: Comparison of a very low-carbohydrate and low-fat diet on fasting lipids, LDL subclasses, insulin resistance, and postprandial lipemic responses in overweight women. *J Am Coll Nutr* 2004;23:177-184.
 77. Walden CE, Retzlaff BM, Buck BL, Wallick S, McCann BS, Knopp RH: Differential effect of National Cholesterol Education Program (NCEP) Step II diet on HDL cholesterol, its subfractions, and apoprotein A-I levels in hypercholesterolemic women and men after 1 year: the beFIT Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1580-1587.
 78. Heilbronn LK, Noakes M, Clifton PM: Effect of energy restriction, weight loss, and diet composition on plasma lipids and glucose in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:889-895.
 79. Retzlaff BM, Walden CE, Dowdy AA, McCann BS, Anderson KV, Knopp RH: Changes in plasma triacylglycerol concentrations among free-living hyperlipidemic men adopting different carbohydrate intakes over 2 y: the Dietary Alternatives Study. *Am J Clin Nutr* 1995;62:988-995.

80. Gill JM, Hardman AE: Postprandial lipemia: effects of exercise and restriction of energy intake compared. *Am J Clin Nutr* 2000;71:465-471.
81. Yamada T, Kurasawa S, Matsuzaki M, Tanaka A: Remnant lipoprotein metabolism is improved more when body weight is reduced by exercise than by dietary restriction. *Clin Chim Acta* 2008;388:28-32.
82. Maraki M, Magkos F, Christodoulou N, Aggelopoulou N, Skenderi KP, Panagiotakos D, Kavouras SA, Sidossis LS: One day of moderate energy deficit reduces fasting and postprandial triacylglycerolemia in women: The role of calorie restriction and exercise. *Clin Nutr*;29:459-463.
83. 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;73:892-899.
84. Ginsberg H, Olefsky JM, Kimmerling G, Crapo P, Reaven GM: Induction of hypertriglyceridemia by a low-fat diet. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;42:729-735.
85. Schwarz JM, Linfoot P, Dare D, Aghajanian K: Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. *Am J Clin Nutr* 2003;77:43-50.
86. 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;104:1087-1096.
87. Roberts CK, Barnard RJ, Liang KH, Vaziri ND: Effect of diet on adipose tissue and skeletal muscle VLDL receptor and LPL: implications for obesity and hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2002;161:133-141.
88. Dreon DM, Fernstrom HA, Miller B, Krauss RM: Low-density lipoprotein subclass patterns and lipoprotein response to a reduced-fat diet in men. *FASEB J* 1994;8:121-126.
89. Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J: Low-fat, high-fiber diet favorably affects several independent risk markers of ischemic heart disease: observations on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis from a trial of middle-aged Danes. *Am J Clin Nutr* 1994;59:935-939.
90. Roche HM, Gibney MJ: Effect of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on fasting and postprandial triacylglycerol metabolism. *Am J Clin Nutr* 2000;71:232S-237S.
91. Kris-Etherton PM, Pearson TA, Wan Y, Hargrove RL, Moriarty K, Fishell V, Etherton TD: High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr* 1999;70:1009-1015.
92. Erkkila A, de Mello VD, Riserus U, Laaksonen DE: Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. *Prog Lipid Res* 2008;47:172-187.
93. Harris WS, Connor WE, Illingworth DR, Rothrock DW, Foster DM: Effects of fish oil on VLDL triglyceride kinetics in humans. *J Lipid Res* 1990;31:1549-1558.
94. Massaro M, Scoditti E, Carluccio MA, De Caterina R: Basic mechanisms behind the effects of n-3 fatty acids on cardiovascular disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;79:109-115.
95. Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Berglund L, Louheranta A, Meyer BJ, Riccardi G: Effects of dietary saturated,

- monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2003;167:149-158.
96. Zheng C, Khoo C, Furtado J, Ikewaki K, Sacks FM: Dietary monounsaturated fat activates metabolic pathways for triglyceride-rich lipoproteins that involve apolipoproteins E and C-III. *Am J Clin Nutr* 2008;88:272-281.
 97. Durstine JL, Grandjean PW, Cox CA, Thompson PD: Lipids, lipoproteins, and exercise. *J Cardiopulm Rehabil* 2002;22:385-398.
 98. 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:S438-445; discussion S452-433.
 99. Hardman AE, Lawrence JE, Herd SL: Postprandial lipemia in endurance-trained people during a short interruption to training. *J Appl Physiol* 1998;84:1895-1901.
 100. 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;80:57-66.
 101. 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;65:525-533.
 102. Dufaux B, Order U, Muller R, Hollmann W: Delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. *Metabolism* 1986;35:105-109.
 103. Ferguson MA, Alderson NL, Trost SG, Davis PG, Mosher PE, Durstine JL: Plasma lipid and lipoprotein responses during exercise. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:73-79.
 104. Thompson PD, Cullinane E, Henderson LO, Herbert PN: Acute effects of prolonged exercise on serum lipids. *Metabolism* 1980;29:662-665.
 105. 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;36:438-443.
 106. Dufaux B, Assmann G, Order U, Hoederath A, Hollmann W. : Plasma lipoproteins, hormones, and energy substrates during the first days after prolonged exercise. *Int J Sports Med* 1981;2:256-260
 107. Kobayashi Y, Takeuchi T, Hosoi T, Yoshizaki H, Loeppky JA: Effect of a marathon run on serum lipoproteins, creatine kinase, and lactate dehydrogenase in recreational runners. *Res Q Exerc Sport* 2005;76:450-455.
 108. Lamon-Fava S, McNamara JR, Farber HW, Hill NS, Schaefer EJ: Acute changes in lipid, lipoprotein, apolipoprotein, and low-density lipoprotein particle size after an endurance triathlon. *Metabolism* 1989;38:921-925.
 109. Zhang JQ, Ji LL, Nunez G, Feathers S, Hart CL, Yao WX: Effect of exercise timing on postprandial lipemia in hypertriglyceridemic men. *Can J Appl Physiol* 2004;29:590-603.
 110. 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;31:844-847.
 111. Gill JM, Herd SL, Hardman AE: Moderate exercise and post-prandial metabolism: issues of dose-response. *J Sports Sci* 2002;20:961-967.

112. 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;73:419-426.
113. Zhang JQ, Ji LL, Fogt DL, Fretwell VS: Effect of exercise duration on postprandial hypertriglyceridemia in men with metabolic syndrome. *J Appl Physiol* 2007;103:1339-1345.
114. Barrett LA, Morris JG, Stensel DJ, Nevill ME: Effects of intermittent games activity on postprandial lipemia in young adults. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38:1282-1287.
115. Petitt DS, Cureton KJ: Effects of prior exercise on postprandial lipemia: a quantitative review. *Metabolism* 2003;52:418-424.
116. Tsetsonis NV, Hardman AE: Reduction in postprandial lipemia after walking: influence of exercise intensity. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28:1235-1242.
117. 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;100:517-527.
118. 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:E1020-1028.
119. James AP, Slivkoff-Clark K, Mamo JC: Prior exercise does not affect chylomicron particle number following a mixed meal of moderate fat content. *Lipids Health Dis* 2007;6:8.
120. Kokalas N, Petridou A, Nikolaidis MG, Mougios V: Effect of aerobic exercise on lipaemia and its fatty acid profile after a meal of moderate fat content in eumenorrhoeic women. *Br J Nutr* 2005;94:698-704.
121. Tsekouras YE, Yanni AE, Bougatsas D, Kavouras SA, Sidossis LS: A single bout of brisk walking increases basal very low-density lipoprotein triacylglycerol clearance in young men. *Metabolism* 2007;56:1037-1043.
122. 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. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290:E355-362.
123. Gill JM, Mees GP, Frayn KN, Hardman AE: Moderate exercise, postprandial lipaemia and triacylglycerol clearance. *Eur J Clin Invest* 2001;31:201-207.
124. Gill JM, Herd SL, Vora V, Hardman AE: Effects of a brisk walk on lipoprotein lipase activity and plasma triglyceride concentrations in the fasted and postprandial states. *Eur J Appl Physiol* 2003;89:184-190.
125. Aldred HE, Perry IC, Hardman AE: The effect of a single bout of brisk walking on postprandial lipemia in normolipidemic young adults. *Metabolism* 1994;43:836-841.
126. 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;35:50-58.
127. Miyashita M: Effects of continuous versus accumulated activity patterns on postprandial triacylglycerol concentrations in obese men. *Int J Obes (Lond)* 2008;32:1271-1278.
128. Altena TS, Michaelson JL, Ball SD, Thomas TR: Single sessions of intermittent and continuous exercise and postprandial lipemia. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:1364-1371.
129. Campell S MR, Kushnick M, Timothy A, Panton L.: Acute bouts of continuous and accumulated treadmill exercise of isocaloric energy

- expenditure alters HDL-C2 and LCATa in men [abstract 2477]. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:S464.
130. 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:E267-274.
 131. Zhang JQ, Thomas TR, Ball SD: Effect of exercise timing on postprandial lipemia and HDL cholesterol subfractions. *J Appl Physiol* 1998;85:1516-1522.
 132. Angelopoulos TJ, Robertson RJ: Effect of a single exercise bout on serum triglycerides in untrained men. *J Sports Med Phys Fitness* 1993;33:264-267.
 133. 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;90:1239-1246.
 134. 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;109:341-344.
 135. Imamura H, Katagiri S, Uchid K, Miyamoto N, Nakano H, Shirota T: Acute effects of moderate exercise on serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins in sedentary young women. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:975-979.
 136. Miyashita M, Tokuyama K: Moderate exercise reduces serum triacylglycerol concentrations but does not affect pre-heparin lipoprotein lipase concentrations after a moderate-fat meal in young men. *Br J Nutr* 2008;99:1076-1082.
 137. Pfeiffer M, Wenk C, Colombani PC: The influence of 30 minutes of light to moderate intensity cycling on postprandial lipemia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006;13:363-368.
 138. 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. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292:E1568-1574.
 139. Gynkelberg 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;30:716-720.
 140. Oscai LB, Patterson JA, Bogard DL, Beck RJ, Rothermel BL: Normalization of serum triglycerides and lipoprotein electrophoretic patterns by exercise. *Am J Cardiol* 1972;30:775-780.
 141. 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;79:279-286.
 142. Gill JM, Murphy MH, Hardman AE: Postprandial lipemia: effects of intermittent versus continuous exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30:1515-1520.
 143. Miyashita M, Burns SF, Stensel DJ: Exercise and postprandial lipemia: effect of continuous compared with intermittent activity patterns. *Am J Clin Nutr* 2006;83:24-29.
 144. Murphy MH, Blair SN, Murtagh EM: Accumulated versus continuous exercise for health benefit: a review of empirical studies. *Sports Med* 2009;39:29-43.

145. Carlson LA, Mossfeldt F: Acute Effects of Prolonged, Heavy Exercise on the Concentration of Plasma Lipids and Lipoproteins in Man. *Acta Physiol Scand* 1964;62:51-59.
146. 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;66:521-525.
147. Gill JM, Al-Mamari A, Ferrell WR, Cleland SJ, Sattar N, Packard CJ, Petrie JR, Caslake MJ: Effects of a moderate exercise session on postprandial lipoproteins, apolipoproteins and lipoprotein remnants in middle-aged men. *Atherosclerosis* 2006;185:87-96.
148. Volek JS, Gomez AL, Kraemer WJ: Fasting lipoprotein and postprandial triacylglycerol responses to a low-carbohydrate diet supplemented with n-3 fatty acids. *J Am Coll Nutr* 2000;19:383-391.
149. Ybarra J, James RW, Makoundou V, Bioletto S, Golay A: Effects of short-term modest weight loss on fasting and post-prandial lipoprotein sub-fractions in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Metab* 2001;27:701-708.
150. Abbasi F, Chen YD, Farin HM, Lamendola C, Reaven GM: Comparison of three treatment approaches to decreasing cardiovascular disease risk in nondiabetic insulin-resistant dyslipidemic subjects. *Am J Cardiol* 2008;102:64-69.
151. James AP, Watts GF, Barrett PH, Smith D, Pal S, Chan DC, Mamo JC: Effect of weight loss on postprandial lipemia and low-density lipoprotein receptor binding in overweight men. *Metabolism* 2003;52:136-141.
152. Kelley DE, Wing R, Buonocore C, Sturis J, Polonsky K, Fitzsimmons M: Relative effects of calorie restriction and weight loss in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1287-1293.
153. Maraki MI, Aggelopoulou N, Christodoulou N, Anastasiou CA, Toutouza M, Panagiotakos DB, Kavouras SA, Magkos F, Sidossis LS: Lifestyle Intervention Leading to Moderate Weight Loss Normalizes Postprandial Triacylglycerolemia Despite Persisting Obesity. *Obesity (Silver Spring)*.
154. Maraki M, Christodoulou N, Aggelopoulou N, Magkos F, Skenderi KP, Panagiotakos D, Kavouras SA, Sidossis LS: Exercise of low energy expenditure along with mild energy intake restriction acutely reduces fasting and postprandial triacylglycerolaemia in young women. *Br J Nutr* 2009;101:408-416.
155. Burton FL, Malkova D, Caslake MJ, Gill JM: Energy replacement attenuates the effects of prior moderate exercise on postprandial metabolism in overweight/obese men. *Int J Obes (Lond)* 2008;32:481-489.
156. Harrison M, O'Gorman DJ, McCaffrey N, Hamilton MT, Zderic TW, Carson BP, Moyna NM: Influence of acute exercise with and without carbohydrate replacement on postprandial lipid metabolism. *J Appl Physiol* 2009;106:943-949.
157. Taskinen MR, Nikkila EA: Basal and postprandial lipoprotein lipase activity in adipose tissue during caloric restriction and refeeding. *Metabolism* 1987;36:625-630.
158. Taskinen MR, Nikkila EA: Effects of caloric restriction on lipid metabolism in man: changes of tissue lipoprotein lipase activities and of serum lipoproteins. *Atherosclerosis* 1979;32:289-299.

159. Quig DW, Layman DK, Bechtel PJ, Hackler LR: The influence of starvation and refeeding on the lipoprotein lipase activity of skeletal muscle and adipose tissue of lean and obese Zucker rats. *J Nutr* 1983;113:1150-1156.
160. Ginsberg HN, Le NA, Gibson JC: Regulation of the production and catabolism of plasma low density lipoproteins in hypertriglyceridemic subjects. Effect of weight loss. *J Clin Invest* 1985;75:614-623.
161. Olefsky J, Reaven GM, Farquhar JW: Effects of weight reduction on obesity. Studies of lipid and carbohydrate metabolism in normal and hyperlipoproteinemic subjects. *J Clin Invest* 1974;53:64-76.
162. Tsekouras YE, Magkos F, Prentzas KI, Basioukas KN, Matsama SG, Yanni AE, Kavouras SA, Sidossis LS: A single bout of whole-body resistance exercise augments basal VLDL-triacylglycerol removal from plasma in healthy untrained men. *Clin Sci (Lond)* 2009;116:147-156.
163. Magkos F, Tsekouras YE, Prentzas KI, Basioukas KN, Matsama SG, Yanni AE, Kavouras SA, Sidossis LS: Acute exercise-induced changes in basal VLDL-triglyceride kinetics leading to hypotriglyceridemia manifest more readily after resistance than endurance exercise. *J Appl Physiol* 2008;105:1228-1236.
164. Gill JM, Hardman AE: Exercise and postprandial lipid metabolism: an update on potential mechanisms and interactions with high-carbohydrate diets (review). *J Nutr Biochem* 2003;14:122-132.
165. 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:E229-236.
166. 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:E255-261.
167. Kiens B, Lithell H, Mikines KJ, Richter EA: Effects of insulin and exercise on muscle lipoprotein lipase activity in man and its relation to insulin action. *J Clin Invest* 1989;84:1124-1129.
168. Kiens B, Richter EA: Utilization of skeletal muscle triacylglycerol during postexercise recovery in humans. *Am J Physiol* 1998;275:E332-337.
169. vanLoon L: Use of intramuscular triacylglycerol as a substrate source during exercise in humans. *J Appl Physiol* 2004;97:1170-1187.
170. Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Klein S, Mittendorfer B: Women produce fewer but triglyceride-rich very low-density lipoproteins than men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1311-1318.
171. Streja D, Kallai MA, Steiner G: The metabolic heterogeneity of human very low density lipoprotein triglyceride. *Metabolism* 1977;26:1333-1344.
172. Streja DA: Triglyceride removal from very low density lipoproteins in vivo as a function of their triglyceride content. *Atherosclerosis* 1979;32:57-67.
173. Fisher RM, Coppack SW, Humphreys SM, Gibbons GF, Frayn KN: Human triacylglycerol-rich lipoprotein subfractions as substrates for lipoprotein lipase. *Clin Chim Acta* 1995;236:7-17.
174. 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;103:1191-1199.
175. Herd SL, Kiens B, Boobis LH, Hardman AE: Moderate exercise, postprandial lipemia, and skeletal muscle lipoprotein lipase activity. *Metabolism* 2001;50:756-762.

176. Simonelli C, Eaton RP: Reduced triglyceride secretion: a metabolic consequence of chronic exercise. *Am J Physiol* 1978;234:E221-227.
177. Mondon CE, Dolkas CB, Tobey T, Reaven GM: Causes of the triglyceride-lowering effect of exercise training in rats. *J Appl Physiol* 1984;57:1466-1471.
178. 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;35:233-241.
179. Magkos F, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer B: Basal adipose tissue and hepatic lipid kinetics are not affected by a single exercise bout of moderate duration and intensity in sedentary women. *Clin Sci (Lond)* 2009;116:327-334.
180. Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM: Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA* 2007;298:309-316.
181. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A: Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007;298:299-308.
182. Weir JB: New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol* 1949;109:1-9.
183. Peronnet F, Massicotte D: Table of nonprotein respiratory quotient: an update. *Can J Sport Sci* 1991;16:23-29.
184. Taylor HL, Buskirk E, Henschel A: Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance. *J Appl Physiol* 1955;8:73-80.
185. ACSM: Guidelines for Exercise Testing and Prescription. . Philadelphia 2006.
186. Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B: No effect of menstrual cycle phase on basal very-low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B-100 kinetics. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291:E1243-1249.
187. Lin PH, Proschan MA, Bray GA, Fernandez CP, Hoben K, Most-Windhauser M, Karanja N, Obarzanek E: Estimation of energy requirements in a controlled feeding trial. *Am J Clin Nutr* 2003;77:639-645.
188. Klotzsch SG, McNamara JR: Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. *Clin Chem* 1990;36:1605-1613.
189. 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;28:412-419.
190. Reichl D: Lipoproteins of human peripheral lymph. *Eur Heart J* 1990;11 Suppl E:230-236.
191. Boer P: Estimated lean body mass as an index for normalization of body fluid volumes in humans. *Am J Physiol* 1984;247:F632-636.
192. Gill JM, Herd SL, Tsetsonis NV, Hardman AE: Are the reductions in triacylglycerol and insulin levels after exercise related? *Clin Sci (Lond)* 2002;102:223-231.