

**HERA- JA PROTEIINIJUOMADIEETTIEN JA LIKUNNAN
VAIKUTUKSET AINEENVAIHDUNTAAN JA
KEHONKOOSTUMUKSEEN ROTILLA**

Niina Karstunen

Liikuntafysiologian Pro gradu -tutkielma

Kevät 2015

Liikuntabiologian laitos

Jyväskylän yliopisto

Työn ohjaaja: Heikki Kainulainen & Sanna Lensu

TIIVISTELMÄ

Niina Karstunen (2015). Hera- ja proteiinijuomadieettien ja liikunnan vaikutukset aineenvaihduntaan ja kehonkoostumukseen rotilla. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, Liikuntafysiologian pro gradu-tutkielma, 43 s.

Elimistön liiallinen rasvamassa aiheuttaa häiriöitä glukoosi- ja rasva-aineenvaihdunnassa. Proteiinipitoisella ruokavaliolla ja liikunnalla on todettu olevan suotuisia vaikutuksia kehonkoostumukseen sekä glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan. Proteiineista heraproteiinilla on saavutettu parhaat tulokset tutkimuksissa, jotka koskevat lihavuudesta johtuvien sairauksien ja niiden riskitekijöiden ehkäisemistä.

Tutkimuksessa tutkittiin hera- ja proteiinijuomadieettien ja liikunnan vaikutuksia kehonkoostumukseen ja glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan. Tutkimuksessa oli 47 LCR-kannan rottia, jotka jaettiin kuuteen ryhmään: kontrolliryhmä CTRL, proteiinijuomaryhmä PD, heraryhmä WH, sekä näiden verrokkiryhmät CTRL+RW, PD+RW ja WH+RW, joiden häkeissä oli juoksupyörät. Intervention aikana kontrolliryhmät saivat juotavakseen vettä, proteiinijuomaryhmät maitopohjaista proteiinijuomaa ja heraryhmä heraproteiinijuomaa. Ennen interventiota rotilta mitattiin veren glukoosipitoisuus paastossa ja glukoosirasituskokeen aikana, sekä paino ja kehonkoostumus. Mittaukset toistettiin 23 viikon intervention loppuvaiheessa. Intervention lopussa mitattiin lisäksi veren triglyseridi-, kokonaiskolesteroli-, LDL-kolesteroli- ja HDL-kolesterolipitoisuudet.

Paastoverensokeri pieneni CTRL-, PD- ja WH+RW-ryhmissä ja glukoosipitoisuus glukoosirasituksen aikana pieneni kaikissa juoksijaryhmissä. Veren rasva-arvoissa ei havaittu muutoksia. Rasvattoman lihasmassan määrä kasvoi kaikissa juoksijaryhmissä ja rasvamassa pieneni PD+RW- ja WH+RW-ryhmissä. Tutkimus osoitti, että liikunnalla on itsenäisiä vaikutuksia kehonkoostumukseen ja glukoosiaineenvaihduntaan. Lisäksi proteiinipitoisen ruokavalion yhdistäminen liikuntaan näyttäisi tehostavan painonpudotusta rasvamassan pienenemisen kautta.

Avainsanat: Hera, glukoosiaineenvaihdunta, rasva-aineenvaihdunta, kehonkoostumus, liikunta.

KÄYTETYT LYHENTEET

AUC (Area Under Curve) = Glukoosin kokonaispitoisuus ajan funktiona

BMI (Body Mass Index) = Painoindeksi

EAR (Estimated Average Requirement) = Keskimääräinen tarve

LCR-rotta (Low Capacity Runner) = Matalan juoksukapasiteetin rotta

RDA (Recommended Dietary Allowance) = Suositeltava päivittäinen saanti

Ryhmien lyhenteet:

CTRL: Kontrolliryhmä, juomana vesi, häkissä ei juoksupyörää

PD: Juomana maitopohjainen proteiinijuoma, häkissä ei juoksupyörää

WH: Juomana heraproteiinijuoma, häkissä ei juoksupyörää

CTRL+RW: Kontrolliryhmä, juomana vesi, häkissä juoksupyörä

PD+RW: Juomana maitopohjainen proteiinijuoma, häkissä juoksupyörä

WH+RW: Juomana heraproteiinijuoma, häkissä juoksupyörä

SISÄLTÖ

| | |
|--|----|
| 1 JOHDANTO | 6 |
| 2 LIHAVUUS JA SEN VAIKUTUKSET AINEENVAIHDUNTAAN | 7 |
| 2.1 Lihavuus | 7 |
| 2.2 Lihavuuden vaikutukset aineenvaihduntaan | 8 |
| 2.2.1 Kehon rasvavarastot ja niiden sijainti..... | 8 |
| 2.2.2 Liiallisen rasvakudoksen vaikutukset glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan | 9 |
| 3 PROTEIINIPITOISEN RUOKAVALION VAIKUTUKSET AINEENVAIHDUNTAAN JA KEHONKOOSTUMUKSEEN | 11 |
| 3.1 Proteiinipitoisen ruokavalion vaikutukset aineenvaihduntaan | 11 |
| 3.1.1 Proteiinisynteesi..... | 11 |
| 3.1.2 Proteiinin lämpövaikutus | 11 |
| 3.1.3 Proteiinin vaikutus kylläisyyteen ja ruokahaluun..... | 12 |
| 3.2 Proteiinipitoisen ruokavalion vaikutukset painoon ja kehonkoostumukseen..... | 14 |
| 4 PROTEIININ JA LIIKUNNAN YHTEISVAIKUTUS..... | 18 |
| 5 PROTEIINILÄHTEET | 19 |
| 5.1 Proteiinilähteiden eroavaisuuksia..... | 20 |
| 5.2 Maitoproteiini | 22 |
| 5.2.1 Vaikutukset glukoosiaineenvaihduntaan | 23 |
| 5.2.2 Vaikutukset rasva-aineenvaihduntaan | 24 |
| 6 TUTKIMUKSEN TARKOITUS | 25 |
| 7 TUTKIMUSMENETELMÄT..... | 26 |
| 7.1 Koe-eläimet ja olosuhteet | 26 |
| 7.2 Koeasetelma | 27 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| 7.3 Mittaukset..... | 28 |
| 7.3.1 Veren glukoosipitoisuus | 28 |
| 7.3.2 Veren rasva-arvot..... | 28 |
| 7.3.3 Kehonkoostumus | 28 |
| 7.4 Tilastolliset analyysit..... | 29 |
| 8 TULOKSET | 30 |
| 8.1 Veren glukoosipitoisuus | 30 |
| 8.2 Veren rasva-arvot | 32 |
| 8.3 Kehonkoostumus | 33 |
| 9 POHDINTA | 37 |
| 10 LÄHTEET | 40 |

1 JOHDANTO

Lihavuus on maailmanlaajuisesti kasvava ongelma, jolla on vaikutuksia paitsi yksilön terveyteen ja hyvinvointiin, myös valtiontalouteen. Liiallisen rasvamassan on havaittu aiheuttavan häiriöitä elimistön aineenvaihdunnassa ja pitkään jatkuessaan tila voi johtaa erilaisten sairauksien, kuten tyypin 2 diabeteksen ja sydän- ja verisuonitautien syntyyn. Häiriöt aineenvaihdunnassa voidaan havaita esimerkiksi veren glukoosipitoisuuden ja rasva-arvojen nousuna.

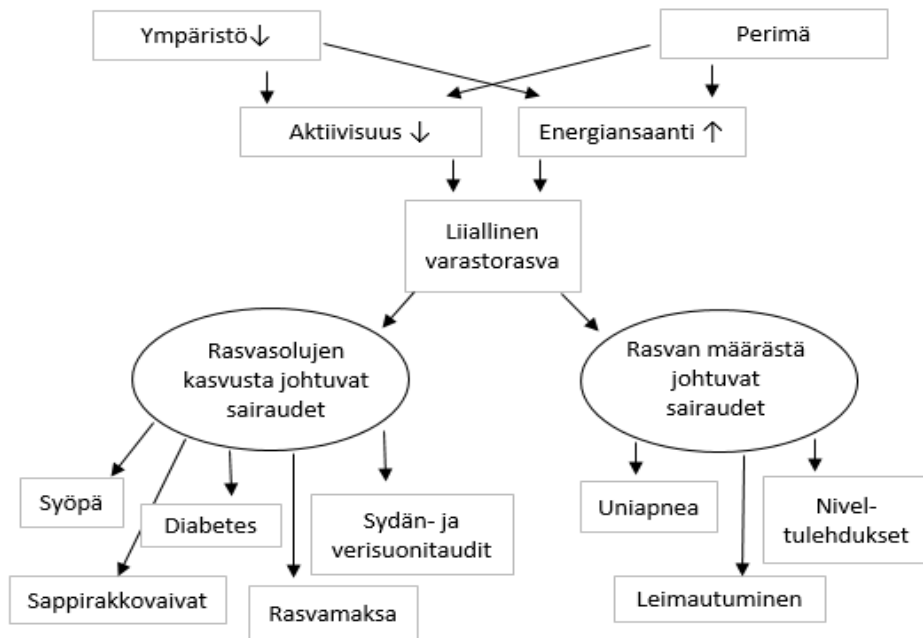
Proteiinipitoisella ruokavaliolla on tutkimuksissa havaittu olevan merkitseviä vaikutuksia aineenvaihduntaan ja kehonkoostumukseen. Ruuan proteiinien tiedetään hillitsevän aterian jälkeistä veren glukoosipitoisuuden nousua lisäämällä insuliinin eritystä. Pitkällä aikavälillä proteiinipitoisen ruokavalion on myös todettu laskevan veren triglyseridi-, kokonaiskolesteroli- ja LDL-kolesterolipitoisuuksia. Merkittävimmät muutokset on saatu aikaan heraproteiinilla.

Liikunnalla tiedetään olevan myös itsenäisiä vaikutuksia glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan. Lisäksi liikunnan harrastaminen parantaa kehonkoostumusta vähentämällä rasvan määrää ja lisäämällä rasvatonta massaa kehossa. Tutkimusten perusteella näyttäisi siltä, että proteiinipitoisen ruokavalion ja liikunnan yhdistämisellä saavutettaisiin tehokkaimmat vaikutukset aineenvaihduntaan ja kehonkoostumukseen.

2 LIHAVUUS JA SEN VAIKUTUKSET AINEENVAIHDUNTAAN

2.1 Lihavuus

Lihavuudesta johtuvista vaivoista ja sairauksista kärsii yhä suurempi osa maailman väestöstä ja ne rasittavat paitsi henkilöä itseään, myös terveydenhuoltojärjestelmää ja sitä kautta valtiontaloutta (Ludwig & Pollack 2009). Lihavuus luokitellaan yleensä tilaksi, jossa kehon painoindeksi (BMI) ylittää 30 kg/m^2 (Poirier 2007). Lihavuus on seurausta epätasapainosta energiansaannin ja sen kulutuksen välillä (Bray 2004). Tämä johtuu useimmiten elämäntavoista, joissa yhdistyvät liiallinen syöminen ja ravintoarvoiltaan huonot ruokavalinnat, sekä liikunnan vähäisyys (Ludwig & Pollack 2009). Ylimääräinen energia varastoidaan rasvasoluihin rasvaksi, josta epätasapainon jatkuessa seuraa lihavuuteen johtavaa rasvakudoksen kasvua. Ylimääräisen rasvan aiheuttamat ongelmat voidaan jakaa kahteen ryhmään (kuva 1). Ensimmäiseen ryhmään kuuluvat ongelmat, jotka aiheutuvat liiallisesta rasvamassasta ja siitä johtuvasta liiallisesta painosta. Tällaisia ovat esimerkiksi psyykkiset ja sosiaaliset ongelmat, nivelrikko ja uniapnea. Toisessa ryhmässä olevat ongelmat johtuvat laajentuneiden rasvasolujen aiheuttamista muutoksista aineenvaihdunnassa. Muutokset aiheuttavat muun muassa tyypin 2 diabetesta, sappirakkosairauksia, korkeaa verenpainetta, sydän- ja verisuonitauteja ja syöpää. (Bray 2004.)



KUVA 1. Lihavuuden aiheuttamat terveysongelmat. Bray 2004.

2.2 Lihavuuden vaikutukset aineenvaihduntaan

2.2.1 Kehon rasvavarastot ja niiden sijainti

Rasvamassan määrällä ja sijainnilla kehossa on suuri merkitys metabolisten sairauksien syntyyn. Jean Vague kuvaili jo 1940-luvulla rasvamassan sijainnin vaikutukset terveyteen. Hän oli ensimmäinen, joka esitti androidisen eli vyötärölihavuuden lisäävän riskiä metabolisille sairauksille sekä sydän- ja verisuonitaudeille. Vaikka metaboliseen oireyhtymään kuuluvia sairauksia esiintyy myös normaalipainoisilla henkilöillä, ovat ne huomattavasti yleisempiä ylipainoisilla ja lihavilla, ja etenkin heillä, joilla viskeraalisen eli sisäelinten ympärillä sijaitsevan rasvan määrä on suuri. Metabolisten sairauksien riskin vuoksi termin 'viskeraalinen lihavuus' tulisi kuvata myös ylipainoisia (BMI 25-30), joilla viskeraalista rasvaa on paljon. Tiedetään myös että viskeraalirasvan suuri määrä nostaa

riskiä sairastua sydän- ja verisuonitauteihin myös normaalipainoisilla (BMI 18,5-25). (Bosello & Zamboni 2000.)

2.2.2 Liiallisen rasvakudoksen vaikutukset glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan

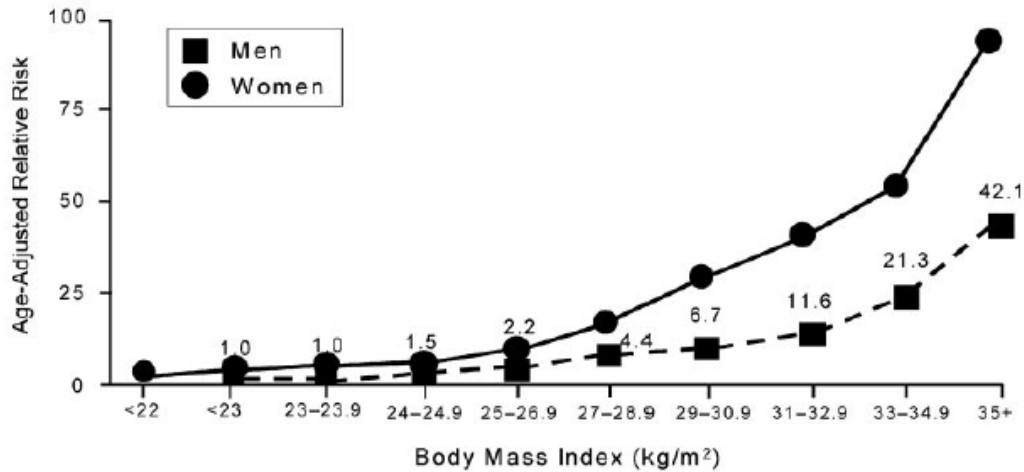
Aiemmin rasvakudoksen tehtävänä oletettiin olevan elimistön energiavarastona toimiminen. Nykyisin tiedetään kuitenkin, että rasvakudos on metabolisesti aktiivista kudosta, joka syntetisoi ja erittää biologisesti aktiivisia yhdisteitä, kuten ruokahaluun vaikuttavaa leptiiniä, verisuonia supistavaa angiotensiinia, välittäjäaineita kuten proinflammatorisia sytokiineja, sekä energia-aineenvaihduntaan tarvittavia triglyserideja ja vapaita rasvahappoja. (Boden 2011.)

Rasvakudoksen määrällä ja sijainnilla on olennainen vaikutus kudoksen aktiivisuuteen. Mitä enemmän etenkin viskeraalista rasvaa kehoon on kertynyt, sitä aktiivisemmin rasvakudos toimii ja erittää yllä mainittuja yhdisteitä. Sitä suurempi vaikutus sillä siis on aineenvaihduntaan ja myös terveyteen. Ylipainosta tai lihavuudesta kärsivillä henkilöillä metabolisesti aktiivisen rasvakudoksen suuren määrän tiedetään aiheuttavan häiriöitä elimistön aineenvaihdunnassa etenkin lisääntyneen rasvahappotuotannon kautta. Suurimmalla osalla lihavista henkilöistä veren triglyseridien ja vapaiden rasvahappojen pitoisuus onkin kohonnut. (Bray 2004.)

Rasvahappojen suurentunut pitoisuus verenkierrossa häiritsee glukoosiaineenvaihduntaa. Normaalitilanteessa insuliini hillitsee rasvahappojen eritystä rasvakudoksesta verenkiertoon. Suurentuessaan rasvasolujen sensitiivisyys insuliinille kuitenkin pienenee, jolloin rasvahappoja vapautuu verenkiertoon enemmän. (Boden 2011.)

Rasvahappojen suuri määrä verenkierrossa häiritsee insuliinin toimintaa aiheuttamalla kohdesolujen insuliiniresistenssiä. Se on tila, jossa elimistön solujen insuliinivaste heikkenee, jolloin normaalien biologisten vasteiden syntymiseksi tarvitaan suurempi määrä insuliinia. Tämä johtaa veren insuliinipitoisuuden kasvuun ja jatkuvaan hyperinsulinemiaan. Insuliiniresistenssin myötä glukoosiaineenvaihdunta häiriintyy ja

veren glukoosipitoisuus kasvaa. Veren rasvahappo- ja glukoosipitoisuuden kasvu stimuloi insuliinineritystä edelleen. Tutkimusten (esim. Bray 2004) mukaan niin insuliinin erityis, kuin riski sairastua tyypin 2 diabetekseen korreloivat suoraan BMI:n kasvun kanssa (kuva 2). (Bray 2004.)



KUVA 2. Riski sairastua diabetekseen kasvaa BMI:n kasvaessa. Bray 2004.

Ylipainoisilla henkilöillä, joilla ei ole geneettistä riskiä sairastua diabetekseen, lisääntynyt insuliinin erityis kompensoi rasvahappojen aiheuttamaa insuliiniresistenssiä johtaen hyperinsulinemiaan, mutta ei veren glukoosipitoisuuden kasvuun. Tämä selittää sen, miksi osa ylipainoisista henkilöistä ei koskaan sairastu diabetekseen. Geneettisen riskin omaavilla tai esidiabetesta sairastavilla henkilöillä lisääntyneen rasvahappopitoisuuden aiheuttama hyperinsulinemia ei täysin riitä kompensoimaan kohdesolujen insuliiniresistenssiä, jolloin veren glukoosipitoisuus kasvaa ja seurauksena on sairastuminen tyypin 2 diabetekseen. (Boden 2001 ja 2005.)

3 PROTEIINIPITOISEN RUOKAVALION VAIKUTUKSET AINEENVAIHDUNTAAN JA KEHONKOOSTUMUKSEEN

3.1 Proteiinipitoisen ruokavalion vaikutukset aineenvaihduntaan

3.1.1 Proteiinisynteesi

Luurankolihaksissa on käynnissä jatkuva proteiinien hajottaminen ja rakentaminen. Mikäli lihasmassaa halutaan ylläpitää tai kasvattaa, proteiinien syntetisoinnin on oltava suurempaa kuin niiden hajottamisen. Liikunta, etenkin voimaharjoittelu, kiihdyttää proteiinisynteesiä, mutta sillä on lihaksiin myös katabolinen eli hajottava vaikutus. Kehittymisen ja lihasmassan ylläpitämisen/kasvattamisen varmistamiseksi on proteiinitasapaino pidettävä positiivisena. (Weinert 2009.)

Proteiinisynteesi tarvitsee toimiakseen riittävän määrän aminohappoja, joista osan elimistö valmistaa itse ja osa tulee saada ravinnosta. Mikäli proteiininsaanti on määrällisesti tai laadullisesti riittämätöntä, tai proteiinia saadaan ravinnosta ajallisesti väärinä aikoina, voi proteiinisynteesi hidastua tai jopa pysähtyä. Tästä seuraa lihasten kataboliaa. Mitä tehokkaammin proteiinisynteesi toimii, sitä paremmin lihasmassa säilyy ja sitä tehokkaammin se kehittyy. Proteiinin määrä, laatu ja nauttimisajankohta ovat siis kaikki tärkeässä roolissa proteiinisynteesissä. (Weinert 2009.)

3.1.2 Proteiinin lämpövaikutus

Ruuan nauttimisen jälkeen tapahtuva energiankulutuksen kasvu tuottaa lämpöä, jota kutsutaan ruuan lämpövaikutukseksi. Energiankulutus kasvaa, koska ruuan sulatus, imeytyminen ja erityis vaativat energiaa. Lämpövaikutuksen suuruuden on havaittu olevan riippuvainen ruuan koostumuksesta. (Halton & Hu 2004.) Tyypillisesti proteiinien

lämpövaikutus on n. 20–35 % nautitusta energiamäärästä, kun taas hiilihydraattien lämpövaikutus on ainoastaan 5-15 % (Westerterp ym. 1999). Myös rasvan lämpövaikutus on huomattavasti proteiinia alhaisempi. Proteiinin korkeamman lämpövaikutuksen on päätelty johtuvan siitä, että elimistö ei kykene varastoimaan proteiinia, vaan se on pilkkottava välittömästi. Pilkkomisen vaatima runsas määrä energiaa, pilkkomisesta aiheutuva runsas urean tuotanto sekä glukoneogeneesi nostavat lämpövaikutusta edelleen. (Halton ja Hu 2004.)

Muita energiaravintoaineita huomattavasti korkeamman lämpövaikutuksensa ja huonon hyötysuhteensa takia proteiinipitoisesta ruokavaliosta saattaa olla apua painonpudotuksessa, sillä aterioinnin jälkeinen energiankulutuksen kasvu auttaa painonhallinnassa. Ruuan lämpövaikutus ei kuitenkaan ole pääosassa painonpudotuksessa, mutta voi kroonisesti jatkuessaan edesauttaa tilannetta. (Halton ja Hu 2004.)

3.1.3 Proteiinin vaikutus kylläisyyteen ja ruokahaluun

Eri energiaravintoaineet vaikuttavat kylläisyyteen ja ruokahaluun eri tavalla. Tutkimusten mukaan proteiinilla on kylläisyyteen suurin vaikutus, rasvalla puolestaan pienin. Kylläisyys ja ruokahalu ovat keskeisissä osissa päivittäisessä energiansaannissa, sillä ne säätelevät vahvasti haluamme syödä.

Proteiinin kylläisyyttä lisäävää vaikutusta on perusteltu aterianjälkeisellä lämmöntuotannolla, johon energiaravintoaineista juuri proteiinilla on suurin vaikutus sen hitaan pilkkoutumisen ja energiatehottomuuden vuoksi. Lisääntynyt lämmöntuotto nostaa kehon lämpötilaa ja hapenkulutusta, joka voi johtaa tuntemukseen hapenpuutteesta. Tämä taas tulkitaan helposti kylläisyyden tunteeksi. (Westerterp-Plantenga ja Lejeune 2005.) Perusteluja tukevat tutkimukset, joissa matalahappisissa olosuhteissa, kuten vuoristossa tai keuhkohtaumapotilaiden tilanteessa, on saavutettu korkeita kylläisyydentuntemuksia (Westerterp-Plantenga ym. 1999).

Energiaravintoaineiden, kylläisyyden ja energiansaannin yhteyttä on tutkittu viime vuosina paljon. Esimerkiksi Weigle ym. (2005) tutkivat ruuan proteiinipitoisuuden vaikutuksia ruokahaluun, energiansaantiin, painoon ja rasvamassaan. Neljän viikon painonhallinnan aikana koehenkilöiden ravinto sisälsi ensimmäiset kaksi viikkoa energiaravintoaineita suhteella 15 % proteiinia, 35 % rasvaa, 50 % hiilihydraattia, jonka jälkeen proteiinin määrää kasvatettiin suhteessa rasvaan. Suhteet vaihtuivat seuraavaksi kahdeksi viikoksi muotoon 30 % proteiinia, 20 % rasvaa, 50 % hiilihydraattia. Päivittäinen energiamäärä oli laskettu stabiloimaan kunkin koehenkilön paino kilogramman päähän lähtötasosta ja oli isokalorinen molemmilla jaksoilla. Painonhallintajakson jälkeen koehenkilöiden ruokavalio muuttui kahdentoista viikon ajaksi *ad libitum* –tyyliseksi eli ruuankäyttöä ei rajoitettu. Energiaravintoaineiden suhteen säilytettiin jälkimmäisen painonhallintajakson kaltaisena (prot. 30 E%, rasva 20 E%, HH 50 E%). Koehenkilöiden paino pysyi muuttumattomana koko painonhallintajakson ajan, mutta he raportoivat näläntunteen heikkenemistä ja lisääntyneitä kylläisyyden tunnetta siirryttyään isokaloriselle korkeaproteiiniselle dieetille. Välittömästi korkeaproteiinisen *ad libitum* –vaiheen alettua koehenkilöiden nauttima energiamäärä väheni merkittävästi painonhallintavaiheeseen verrattuna ja pysytteli keskimäärin 441 kcal alhaisemmalla tasolla vuorokautta kohden tutkimuksen loppuun saakka. *Ad libitum* –vaiheen aikana koehenkilöiden paino väheni merkittävästi ollen keskimäärin 4,9 kg alhaisempi kuin *ad libitum* –vaiheen alussa. Pudonneesta painosta keskimäärin 3,7 kg oli rasvaa. Tutkimus osoittaa, että proteiinipitoisemman ruokavalion aiheuttama suurempi kylläisyyden tunne voi saada henkilön vähentämään nauttimaansa energiamäärää spontaanisti. Tämä johtaa negatiiviseen energiatasapainoon ja painon putoamiseen. (Weigle ym. 2005.)

Kylläisyystuntemukset ja kylläisyyden kesto kuitenkin vaihtelevat proteiinilähteen mukaan. Esimerkiksi eläinproteiinilla on kasviproteiiniin verrattuna erilainen kylläisyysvaikutus ja vastaavasti eri eläinperäiset proteiinit vaikuttavat kylläisyyteen eri lailla. (Hall ym. 2002.) Erilainen vaikutus kylläisyyteen johtuu todennäköisesti proteiinien erilaisista pilkkoutumis- ja imeytymisajoista. Boirie ym. esittelivät ensimmäisenä ”nopeiden” ja ”hitaiden” proteiinien käsitteen vuonna 1997. Kuten hiilihydraateilla, myös eri proteiineilla on erilaisia rakenteita, jotka vaikuttavat niiden ominaisuuksiin. Boirie ym. arvelivat, että rakenteeltaan erilaisilla proteiineilla on toisistaan poikkeavat pilkkoutumis-

ja imeytymisajat ja että ne tämän takia vaikuttavat toisistaan poikkeavilla tavoilla esimerkiksi proteiinien syntetisointiin, hajottamiseen ja varastoitumiseen. (Boirie ym. 1997.)

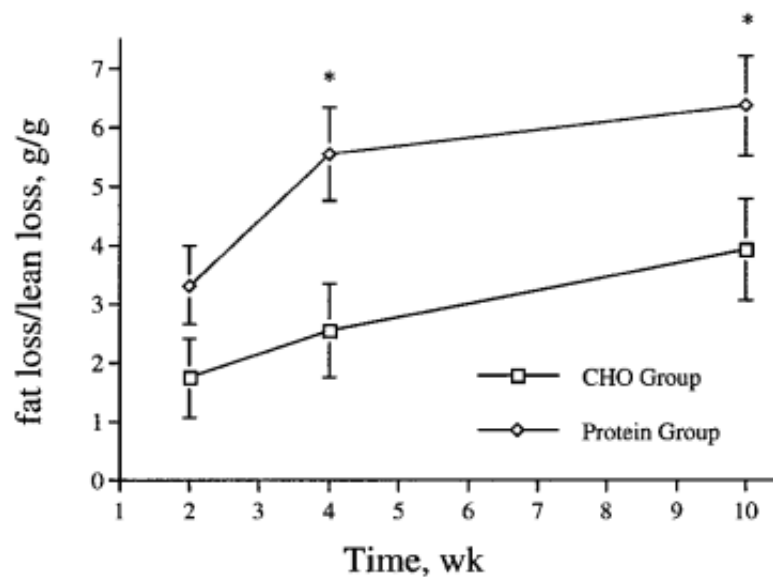
3.2 Proteiinipitoisen ruokavalion vaikutukset painoon ja kehonkoostumukseen

Lihavuudesta johtuvien sairauksien ensisijaisena hoitomuotona on sairauksien ehkäisy ja hoito elämäntapamuutosten ja laihduttamisen avulla (Cerezo 2013). Painonpudotuksen lihavuudesta normaalipainoon on havaittu pidentävän elinaikaa rotilla (Vasselli 2005) ja sen on todettu vähentävän riskiä sairastua sydän- ja verisuonitauteihin (Wing 2011) ja tyyppin 2 diabetekseen (Tuomilehto 2001). Jo 5-10 % suuruinen painonpudotus laskee verenpainetta ja parantaa veren rasva-arvoja. Hyödyt ovat suuremmat, mikäli paino putoaa vieläkin enemmän. (Wing 2011.) Tavoitepainon saavuttaminen ja etenkin siinä pysyminen voi kuitenkin olla haastavaa ja vaatii elämäntapamuutoksia niin ruokailu- kuin liikuntatottumuksissakin (Cerezo 2013).

Tutkimuksissa, joissa on tarkasteltu energiaravintoainesuhteen vaikutusta painoon, ei ole löydetty merkitseviä eroja tilanteessa, jossa noudatetut ruokavaliot ovat isoenergisiä. Vuonna 2009 tehdyssä tutkimuksessa Sacks ym. vertasivat neljän energiaravintoainekoostumukseltaan erilaisen ruokavalion vaikutuksia painoon. Kuuden kuukauden dieetin jälkeen paino oli pudonnut saman verran, keskimäärin 6 kg, jokaisessa ryhmässä. Kehonkoostumuksen muuttumista ei tutkittu. Tutkimus osoittaa, että energiansaannin ollessa kulutusta pienempää ei energiaravintoaineiden suhteella ole merkitystä pelkästään painonpudotuksen kannalta tarkasteltuna. (Sacks ym. 2009.) Myös Soenen ym. (2013) havaitsivat vastaavan tuloksen verrattuaan energiamäärältään rajoitetun normaaliproteiinisen (0,8 g/kg/vrk) ja korkeaproteiinisen (1,2 g/kg/vrk) isoenergisen ruokavalion vaikutuksia painoon kuuden kuukauden aikana.

Hiilihydraattien, rasvojen ja proteiinien keskinäisillä suhteilla ei siis tutkimusten mukaan vaikuttaisi olevan merkitystä painonpudotuksessa, mikäli muuttujana toimii pelkästään

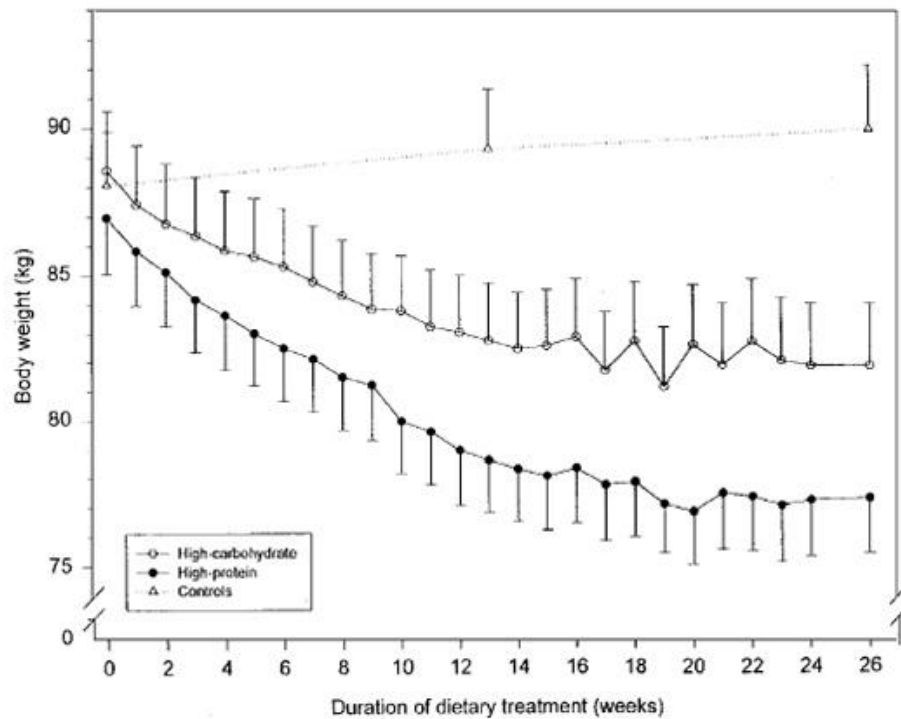
kehon kokonaispaino, ja ruokavalioiden energiamäärät ovat toisiaan vastaavia. Jos kuitenkin tarkastellaan painon lisäksi myös kehonkoostumusta, proteiinisällöltään erilaisilla isoenergisillä ruokavalioidella on saatu aikaan muutoksia kehon lihas/rasvasuhteessa. Esimerkiksi Laymanin ym. (2003) tutkimuksessa energia- ja rasvamäärältään samanlaisia ruokavaliota noudattavissa ryhmissä painonpudotus oli saman suuruista. Lähteneestä painosta merkitsevästi suurempi osa kuitenkin oli rasvaa ja vastaavasti pienempi osa lihasta ryhmällä, jonka ruokavaliossa oli enemmän proteiinia suhteessa hiilihydraattiin (kuva 3).



KUVA 3. Ruokavaliion hiilihydraatti/proteiinisuhteen vaikutus lihas- ja rasvamassan suhteeseen painonpudotuksessa. Layman ym. 2003.

Energiaravintoaineiden keskinäisellä suhteella näyttäisi olevan merkitystä myös *ad libitum*-tilanteessa, eli tilanteessa jossa ravinnon kulutusta ei ole rajoitettu. Nautitun päivittäisen energiamäärän on nimittäin todettu jäävän alhaisemmaksi, kun proteiinin osuutta ruokavaliossa kasvatetaan hiilihydraattien kustannuksella. Tämä on todistettu esimerkiksi Skovin ym. (1999) tutkimuksessa, jossa 65 ylipainoista koehenkilöä noudatti puolen vuoden ajan rasvamääriltään samanlaisia, mutta proteiini-hiilihydraattisuhteiltaan toisistaan eroavia ruokavaliota *ad libitum*. Kuuden kuukauden jälkeen 25 % energiastaan proteiinista

saaneen ryhmän painonpudotus oli keskimäärin 8,9 kg, josta rasvaa oli 7,6 kg. Vastaavasti 12 % energiastaan proteiinista saaneen ryhmän paino tippui keskimäärin 5,1 kg, josta rasvaa oli 4,3 kg (kuva 4). *Ad libitum* -tutkimuksissa proteiinipitoisen ruokavalion aiheuttama vähentynyt energiansaanti liittyy todennäköisesti proteiinin vaikutuksiin kylläisyyden tuntemuksissa. (Skov ym. 1999.)



KUVA 4. 25 E% proteiinia ja 12 E% proteiinia sisältävien *ad libitum* -ruokavalioiden vaikutukset kehon painoon kuuden kuukauden aikana. (Skov ym. 1999.)

Tutkimusten mukaan isoenerginen runsasproteiininen dieetti saa aikaan korkeamman vuorokausittaisen energiankulutuksen kuin korkeahiilihydraattinen dieetti, joten proteiinin hiilihydraatteja suuremmalla lämpövaikutuksella voi myös olla vaikutusta painonpudotuksessa. (Johnston ym. 2002).

Useat laihdutustutkimukset ovat olleet menestyksekkäitä painonpudotuksen suhteen, mutta tavoitepainon saavuttamisen jälkeen paino lähtee suurella osalla tutkimuksiin osallistuneista

jälleen nousuun. Tämä kertoo siitä, että tutkimuksen aikana ei ole onnistuttu omaksumaan uusia painonhallinnan mahdollistavia elämäntapoja. (Wing & Phelan 2005.)

Painonpudotuksen katsotaan olevan onnistunut vasta, kun paino on tarkoituksellisesti pudonnut 10 % lähtötilanteesta ja kun uusi paino on onnistuttu säilyttämään vuoden ajan (Wing & Phelan 2005). Useinkin juuri laihtumisen jälkeinen painonhallinta on osoittautunut prosessin vaikeimmaksi vaiheeksi. Proteiinipitoisesta ruokavaliosta voi olla apua myös tähän. (Soenen ym. 2012.)

Painonpudotus pienentää usein perusaineenvaihduntaa menetetyn lihasmassan vuoksi. Mitä paremmin lihasmassan menetys saadaan estettyä, sitä vähemmän perusaineenvaihdunta pienenee. Tällä puolestaan on edullinen vaikutus painonpudotukselle ja etenkin painonhallinnalle, kun päivittäinen energiankulutus säilyy suurempana. (Soenen ym. 2012.)

Proteiinipitoisen ruokavalion etuna onkin todistetusti rasvattoman kehon massan parempi säilyminen painonpudotuksen yhteydessä. Tämä johtuu siitä, että negatiivisesta energiatasapainosta huolimatta elimistössä on proteiinipitoisen ruokavalion ansiosta riittävästi rakennusainetta proteiinisynteesiä ja edelleen lihasten rakentumista varten. (esim. Coker ym. 2012.)

4 PROTEIININ JA LIIKUNNAN YHTEISVAIKUTUS

Liikunnan merkitys painonpudotuksessa ja painonhallinnassa on jo pitkään ollut tutkimuksen kohteena. Vaikka pelkän liikunnan vaikutus painoon on ruokavalioon nähden vähäinen, tulokset puoltavat liikunnan ja ravinnon yhdistämistä elämäntapamuutoksia tehtäessä. Rasvanpolton ohella liikunnan suurin merkitys painonpudotuksen aikana näyttäisi olevan rasvattoman kehonmassan säilyttäminen. Lihasmassan säilyminen pitää yllä aineenvaihduntaa, joka yhdistettynä liikunnan aikaansaamaan ylimääräiseen energiankulutukseen auttaa etenkin painonhallinnassa tavoitepainon saavuttamisen jälkeen. (Layman 2005.)

Proteiinipitoisen ruokavalion ja liikunnan yhteisvaikutusta painoon ja kehonkoostumukseen on tutkittu verrattain vähän, mutta tulokset ovat lupaavia. Laymanin ym. tutkimuksessa (2005) liikunnan ja korkeaproteiinisen (1,6 g/kg/vrk) ruokavalion yhdistelmällä saavutettiin parhaat tulokset kehon rasvamassan vähentämisessä ja rasvattoman massan säilyttämisessä painonpudotuksen aikana. (Layman ym. 2005.) Näyttäisi siltä, että proteiinipitoisen ruokavalion ja liikunnan yhdistäminen toisi hyötyjä etenkin siksi, että molempien vaikutukset elimistön energiatasapainoon ovat huomattavia (Stiegler ja Cunliffe 2006).

Liikunnan harrastamisella on myös itsenäisiä vaikutuksia terveyteen, sillä säännöllisellä liikunnalla on havaittu olevan vaikutuksia muun muassa veren rasva-arvoihin ja glukoosiaineenvaihduntaan riippumatta kehon painosta tai sen muutoksista (esim. Gibbs ym. 2014 ja Ross ym. 2015).

5 PROTEIINILÄHTEET

Ihmiskeho valmistaa proteiineja 20 eri aminohaposta, joista kymmentä tuotetaan kehossa (ei-välttämättömät aminohapot) ja kymmentä on saatava ravinnon mukana (välttämättömät aminohapot) (Guyton & Hall 2006). Eri ruoka-aineet sisältävät erilaisia määriä eri välttämättömiä aminohappoja ja joistain ruoka-aineista tietyt aminohapot puuttuvat kokonaan. Elimistön proteiinitasapainon turvaamiseksi kaikkia välttämättömiä aminohappoja on saatava riittävästi, mikä asettaa omat haasteensa tasapainoisen ruokavalion koostamiselle etenkin tilanteissa, jossa ruokavalio on normaalista sekaruokavaliosta poikkeava esimerkiksi terveydellisistä tai eettisistä syistä. (Gilbert ym. 2010.)

Proteiineja voidaan luokitella niiden laadun perusteella. Tärkein proteiinin laatua määrittävä tekijä on sen kyky tarjota riittävä määrä välttämättömiä aminohappoja kehon normaalin kasvun ja kehittymisen turvaamiseksi. Proteiinien aminohappokoostumuksia vertailtaessa on siis otettava huomioon paitsi aminohappojen laatu, myös niiden määrä. Jotkin proteiinilähteet voivat nimittäin sisältää laadullisesti tarvittavia välttämättömiä aminohappoja, mutta määrällisesti kyseisten aminohappojen pitoisuudet ovat niin pieniä, ettei niistä ole hyötyä elimistölle. (Gilbert ym. 2011.)

Välttämättömien aminohappojen riittävän saannin turvaamiseksi kullekin aminohapolle on laadittu keskimääräiset päivittäiset saantisuositukset. Aminohappojen saannille on myös rajat, joiden ylittämistä ei suositella (taulukko 1). (Gilbert ym. 2011.)

TAULUKKO 1. Välttämättömien aminohappojen keskimääräinen tarve (EAR) ja suositeltava päivittäinen saanti (RDA). Gilbert ym. 2011.

| | EAR (mg/kg/d) | RDA (mg/kg/d) |
|--------------------------|------------------|------------------|
| Histidine | 11 | 14 |
| Isoleucine | 15 | 19 |
| Leucine | 34 | 42 |
| Lysine | 31 | 38 |
| Methionine + cysteine | 15 | 19 |
| Phenylalanine + tyrosine | 27 | 33 |
| Threonine | 16 | 20 |
| Tryptophan | 4 | 5 |
| Valine | 19 | 24 |

5.1 Proteiinilähteiden eroavaisuuksia

Proteiinipitoisuus. Ruoka-aineiden proteiini/energiasuhde ja välttämättömien aminohappojen määrä ovat suurimpia eroja proteiinilähteiden välillä. Eläinperäiset proteiinilähteet kuten liha, muna ja maitotuotteet sisältävät lähes poikkeuksetta suurempia pitoisuuksia välttämättömiä aminohappoja kuin kasvipäiset proteiinilähteet. Niiden proteiinipitoisuus suhteessa energiamäärään on myös korkeampi. (Gilbert ym. 2011.) Tutkimusten mukaan tiukan kasvisruokavalion noudattaminen onkin yhteydessä pienempään päivittäiseen proteiinin saantiin verrattuna sekaruokavaliota noudattaviin, vaikka oikein koostetusta kasvisruokavaliosta onkin mahdollista saada riittävä määrä välttämättömiä aminohappoja (Berkow & Barnard 2006).

Aminohappokoostumus. Eläinperäiset proteiinit sisältävät kaikkia välttämättömiä aminohappoja, jonka vuoksi niihin usein viitataan termillä *complete proteins* eli täydelliset proteiinit. Kasviproteiineista puuttuu yksi tai useampi välttämätön aminohappo, tai niiden pitoisuudet ovat riittämättömät. Merkittävimmät puutteet eläinproteiineihin verrattuna ovat

metioniinin, kysteiniin ja ennen kaikkea lysiniin riittämättömät pitoisuudet (taulukko 2). (Gilbert 2011.)

TAULUKKO 2. Välttämättömien aminohappojen pitoisuuksia eri proteiini lähteissä (g/100g). Hulmi ym. 2010.

| ESSENTIAL AMINO ACID | MILK PROTEIN ISOLATE | WHEY PROTEIN ISOLATE | WHEY PROTEIN HYDROL. | CASEIN | SOY PROTEIN ISOLATE | EGG PROTEIN |
|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------|---------------------|-------------|
| Isoleucine | 4.4 | 6.1 | 5.5 | 4.7 | 4.9 | 5.7 |
| Leucine | 10.3 | 12.2 | 14.2 | 8.9 | 8.2 | 8.4 |
| Lysine | 8.1 | 10.2 | 10.2 | 7.6 | 6.3 | 6.8 |
| Methionine | 3.3 | 3.3 | 2.4 | 3.0 | 1.3 | 3.4 |
| Phenylalanine | 5.0 | 3.0 | 3.8 | 5.1 | 5.2 | 5.8 |
| Threonine | 4.5 | 6.8 | 5.5 | 4.4 | 3.8 | 4.6 |
| Tryptophan | 1.4 | 1.8 | 2.3 | 1.2 | 1.3 | 1.2 |
| Valine | 5.7 | 5.9 | 5.9 | 5.9 | 5.0 | 6.4 |
| Total BCAAs | 20.4 | 24.2 | 25.6 | 19.5 | 18.1 | 20.4 |
| Total EAAs | 42.7 | 49.2 | 49.8 | 40.7 | 36.0 | 42.3 |

Proteiinien pilkkoutuminen ja imeytyminen. Proteiinien pilkkoutumisominaisuudet ruuansulatuskanavassa vaikuttavat siihen, miten runsaasti aminohappoja on elimistön käytettävänä ruokailun jälkeen. Eläinproteiinit pilkkoutuvat yleensä kokonaisvaltaisemmin verrattuna kasviproteiineihin, joista saadaan matalimmillaan elimistön käyttöön ainoastaan 72-84 % (Gilbert ym. 2011.)

Proteiinien imeytymisnopeus vaihtelee laajasti, eikä eläin- ja kasviproteiinien välille voida tehdä selkeitä jakoja. Esimerkiksi maitoproteiineista kaseiini on hitaasti imeytyvää, kun taas heraproteiini imeytyy nopeasti. Soijaproteiinin imeytymisaika on puolestaan nopeampi kuin maitoproteiinien. (Fouillet ym. 2009.) Proteiiniaineenvaihdunnan nopeus riippuu kuitenkin aina myös muusta proteiinin ohella nautitusta ruuasta, jolla on vaikutusta muun muassa vatsalaukun tyhjentymiseen ja insuliinivasteeseen. (Boirie ym. 1997.)

5.2 Maitoproteiini

Maito on proteiini­lähde, josta 20 % koostuu heraproteiinista ja 80 % kaseiinista. Tutkimuksissa on todettu, että maitoproteiineilla saattaa olla positiivisia vaikutuksia aineenvaihduntaan ja kehonkoostumukseen, sillä ne sisältävät runsaasti haaraketjuisia aminohappoja. (Pal ym. 2010.)

Heraproteiini on viime vuosina ollut tutkijoiden erityisen mielenkiinnon kohteena. Se koostuu useista eri proteiineista, kuten β -laktoglobuliinista, α -laktalbumiinista, immunoglobuliineista, laktoferrinista ja laktoperoksidaasista. Näistä etenkin β -laktoglobuliinilla arvellaan olevan merkittävä vaikutus proteiinisyn­teesin stimuloinnissa. (Hulmi ym. 2010.)

Kuten tekstissä on aiemmin käynyt ilmi, proteiinin lämpövaikutus elimistössä on suurempi kuin muiden energiaravintoaineiden. Maitoproteiineista heraproteiinilla on tutkitusti suurempi lämpövaikutus kuin kaseiinilla. Tämä johtunee juurikin heran proteiinisyn­teesiä voimakkaasti kiihdyttävästä vaikutuksesta. Proteiinisyn­teesin on heraproteiinin nauttimisen jälkeen havaittu kasvavan jopa kaksinkertaiseksi verrattuna kaseiinin aikaansaamaan proteiinisyn­teesiin. (Jakubowicz & Froy 2012.)

Yksi proteiinisyn­teesin suuruuteen vaikuttava asia on proteiinien imeytymisnopeus. Heraproteiini on niin sanottu nopea proteiini, jonka imeytymisaika on huomattavasti kaseiinia lyhempi. Kaseiinin hitaampi imeytyminen johtuu sen erilaisesta aminohappoprofiilista, jonka vuoksi kaseiini on pilkottava pienemmiksi peptideiksi ennen imeytymistä. Heraproteiinin nopean pilkkoutumisen ansiosta veren aminohappopitoisuus nousee pian proteiinin nauttimisen jälkeen. Nopea pilkkoutuminen ja imeytyminen tehostavat proteiinisyn­teesiä, joten kaseiiniin verrattuna heraproteiini nopeuttaa aminohappojen jatkokäsittelyä elimistössä. Kaseiini puolestaan pilkkoutuu ja imeytyy verenkiertoon hitaasti, eikä aiheuta heraproteiiniin verrattavaa aminohappopitoisuuden nousua. Sen hidas imeytyminen takaa kuitenkin pitkäkestoisemman aminohappopitoisuuden nousun veressä. Kaseiinin etuna on sen proteiinien hajoamista ehkäisevä vaikutus, mikä johtaa parempaan aminohappotasapainoon. (Boirie ym. 1997.)

5.2.1 Vaikutukset glukoosiaineenvaihduntaan

Tutkimuksissa on havaittu, että ruuan proteiini laskee aterian glykeemistä indeksiä ja ruokailun jälkeistä hyperglykemiaa hidastamalla hiilihydraattien imeytymistä. Lisäksi proteiinilla on insulintropinen vaikutus, eli se lisää glukoosista riippumatonta insuliinieritystä hetkellisesti, mikä laskee glukoosipitoisuutta entisestään. (Karamanlis ym. 2007.) Myös tässä tapauksessa eri proteiinilähteiden välillä on eroja. Proteiineista heraproteiinilla on suurin vaikutus insuliinieritykseen ja sitä kautta glukoosipitoisuuteen niin terveillä normaalipainoisilla (Pal & Ellis 2010), kuin ylipainoisilla ja lihavillakin miehillä. (Pal ym. 2010.)

Heraproteiinin aiheuttama insuliinierityksen tehostuminen ja veren sokeripitoisuuden pienentyminen on havaittu myös tyypin 2 diabetesta sairastavilla. Fridin ym. tutkimuksessa (2005) heraproteiinin lisäämisellä ruoka-annokseen saatiin aikaan 57 % suurempi nousu insuliinipitoisuudessa verrattuna kontrolliryhmään. Vastaavasti veren glukoosipitoisuus oli 2 h ruokailun jälkeen keskimäärin 21 % pienempi henkilöillä, joilla ruoka-annokseen oli lisätty heraa, mikä kertoo heraproteiinin glukoosiaineenvaihduntaa tehostavasta vaikutuksesta (Frid ym. 2005.)

Heraproteiinin tarkkaa vaikutusmekanismia insuliinieritykseen ei tunneta, mutta sen arvellaan johtuvan välttämättömien aminohappojen pitoisuuden nopeasta kasvusta veressä heraproteiinin nauttimisen jälkeen. Heraproteiini sisältää runsaammin välttämättömiä aminohappoja kuin kaseiini, ja näistä etenkin leusiinin on havaittu aktivoivan insuliinia erittäviä haiman β -soluja. (Jakubowicz & Froy 2012.) Proteiinien aikaansaama insuliinierityksen lisääntyminen on yhteydessä myös kiihtyneeseen proteiinisynteesiin, sillä insuliini tehostaa aminohappojen siirtymistä soluihin, jolloin ne ovat paremmin käytettävissä proteiinisynteesiin. Eniten insuliinin vaikutuksesta tehostuu tyrosiinin sekä välttämättömien aminohappojen valiinin, leusiinin, isoleusiinin ja fenyylialaniinin kuljetus soluun. (Guyton & Hall 2006.)

5.2.2 Vaikutukset rasva-aineenvaihduntaan

Ravinnon proteiineilla on havaittu olevan vaikutuksia myös elimistön rasva-aineenvaihduntaan. Eri proteiinilaatuja vertailtaessa heraproteiinilla on havaittu olevan hillitsevin vaikutus ruokailun jälkeiseen lipemiaan eli veren rasvaisuuteen, mutta tulokset ovat jossain määrin ristiriitaisia. (Mortensen ym. 2009.)

Holmer-Jensenin ym. tekemässä tutkimuksessa (2013) sydän- ja verisuonitaudeille altistavan hyvin rasvapitoisen aterian yhteydessä nautittu heraproteiini hillitsi merkittävästi aterian jälkeistä veren triglyseridi- ja rasvahappopitoisuuden nousua. Heraproteiinin vaikutusta verrattiin kaseiniin, gluteeniin ja kalaproteiiniin. Myös Palin ym. ylipainoisilla ja lihavilla aikuisilla tehty tutkimus (2010) osoitti, että heraproteiinin lisäys ruokavalioon (54 g/vrk) 12 viikon ajan laski veren triglyseridi-, LDL-kolesteroli- ja kokonaiskolesterolipitoisuuksia merkittävästi kontrolliryhmään verrattuna. Myös kaseiinilisää nauttineeseen ryhmään nähden erot olivat merkittävät heraproteiinia nauttineilla henkilöillä. Tutkimuksessa ei havaittu muutoksia ryhmien välillä painossa tai kehonkoostumuksessa, joten heraproteiinin vaikutukset ovat riippumattomia painon ja/tai kehonkoostumuksen muutoksista. (Pal ym. 2010.) Heraproteiinin vaikutuksen kolesterolipitoisuuteen ovat havainneet myös esimerkiksi Kawase ym. (2000) niin terveillä kuin aineenvaihduntahäiriöistä kärsivillä ihmisillä ja eläimillä.

Heraproteiinin yhteys lipemiaan johtuu mahdollisesti sen kylomikronituotantoa hillitsevästä vaikutuksesta. Kylomikronit ovat lipoproteiineja, jotka siirtävät lipidejä ruuansulatuskanavasta verenkiertoon. (Guyton & Hall 2006 s. 797.)

Kaseiinin vaikutuksista rasva-aineenvaihduntaan on vähemmän näyttöä, mutta tutkimusten mukaan kaseiinilla saattaa olla verenpainetta alentava vaikutus (Pal ym. 2010).

6 TUTKIMUKSEN TARKOITUS

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, miten liikunta ja hera- tai proteiinijuomadieetti vaikuttaa kehonkoostumukseen sekä glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan LCR-kannan rotilla.

Aikaisemmissa tutkimuksissa on havaittu, että proteiinipitoisella ruokavaliolla ja liikunnalla on suotuisia vaikutuksia kehonkoostumukseen sekä glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan. Proteiineista heraproteiinilla on saavutettu parhaat tulokset tutkimuksissa, jotka koskevat lihavuudesta johtuvien sairauksien ja niiden riskitekijöiden ehkäisemistä. Liikunnalla on havaittu olevan myös itsenäisiä vaikutuksia kehonkoostumukseen ja aineenvaihduntaan.

7 TUTKIMUSMENETELMÄT

7.1 Koe-eläimet ja olosuhteet

Opinnäytetyö oli osa laajempaa tutkimusta, mutta tässä työssä keskityttiin tutkimaan liikunnan ja hera- ja proteiinijuomadieetin vaikutuksia rottien kehonkoostumukseen sekä glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan.

Koe-eläiminä käytettiin matalan juoksukapasiteetin LCR-rottia (Michigan, USA), jotka olivat tutkimuksen alussa noin viiden kuukauden ikäisiä. LCR-rotat on jalostettu parittamalla isosta joukosta rottia matalan aerobisen kapasiteetin omaavia rottia keskenään. LCR-linjan jalostusta jatkamalla rotille on saatu aikaan perinnöllinen matala aerobinen kapasiteetti. LCR-rotat ovat lisäksi alttiita painonnousuun ja niiden veren sokeri-, insuliini- ja rasva-arvot ovat kohonneet verrattuna paremman aerobisen kapasiteetin omaaviin rottiin. Tässä tutkimuksessa käytettiin 28. sukupolven rottia.

Rottia pidettiin koe-eläintiloissa häkeissä, jossa tarjolla oli jatkuvasti rehua ja kunkin rotan mittausryhmän mukaista juomaa (vesi, herajuoma, proteiinijuoma). Huoneen lämpötila oli 21 astetta ja ilmankosteus keskimäärin 50 %. Vuorokausirytmää säädeltiin niin, että huoneessa oli valoisaa välillä 8.00–20.00 ja pimeää välillä 20.00–08.00.

Ravinnoksi tarjotun rehun (R36, Lab-for/Lactamin, Tukholma, Ruotsi) ravintosisältö oli seuraava: Energiaa 300 kcal/100 g, josta proteiinia 18,5 %, rasvaa 4,0 %, NFE (nitrogen free extracts) 55,7 %, kuitua 3,5 %, tuhkaa 6,3 % ja vettä < 12 %. Proteiinijuoman ravintosisältö oli 73 kcal/100 g (proteiinia 8 %, hiilihydraattia 8 %, rasvaa 1 %) ja se oli suklaan makuista. Proteiinijuoma laimennettiin vedellä (suhde 1:1) ja sitä annosteltiin ryhmälle PD 1 dl ja ryhmälle PD+RW 1,2 dl. Heraproteiinijuoma valmistettiin heraproteiinijauheesta ja vedestä. Juoman herapitoisuutta säädeltiin intervention aikana rottien juoman määrän mukaan. Näin hera- ja proteiinijuomaryhmien herankulutus saatiin vakioitua samalle tasolle (5 g/kg). Sekä proteiini- että heraproteiinijuoman kulutusta

seurattiin ja uusi annos valmistettiin päivittäin. Rotat ja rottien rehu punnittiin kolmen vuorokauden välein ja vesi vaihdettiin säännöllisesti.

Tutkimukselle oli koe-eläinten eettisen toimikunnan puoltava lausunto.

7.2 Koeasetelma

Rotat jaettiin tutkimuksen alussa kuuteen ryhmään, joissa kussakin oli kahdeksan eläintä lukuun ottamatta juoksijaryhmän proteiinijuomaryhmää, jossa oli seitsemän eläintä. Ryhmä olivat seuraavat:

CTRL: Kontrolliryhmä, juomana vesi, häkissä ei juoksupyörää

PD: Juomana maitopohjainen proteiinijuoma, häkissä ei juoksupyörää

WH: Juomana heraproteiinijuoma, häkissä ei juoksupyörää

CTRL+RW: Kontrolliryhmä, juomana vesi, häkissä juoksupyörä

PD+RW: Juomana maitopohjainen proteiinijuoma, häkissä juoksupyörä

WH+RW: Juomana heraproteiinijuoma, häkissä juoksupyörä

Häkin juoksupyörä oli halkaisijaltaan 38 cm ja oli vapaasti rottien käytettävissä ympäri vuorokauden.

Alkumittausten jälkeen tutkimuksessa seurasi 23 viikon interventiojakso, jonka loppuvaiheessa mittaukset toistettiin. Rasva-aineenvaihdunnasta kertovat muuttujat (kolesteroli, triglyseridit) analysoitiin lopetusnäytteistä intervention jälkeen. Intervention päätyttyä rotat lopetettiin sydänpunktiolla nukuttamisen jälkeen.

7.3 Mittaukset

7.3.1. Veren glukoosipitoisuus

Sokeriaineenvaihduntaa tarkasteltiin kahden eri muuttujan avulla intervention alussa ja lopussa. Toinen muuttuja oli glukoosipitoisuus paastotilassa (17 h paaston jälkeen, mittaus suoritettiin 30 min ennen glukoosirasituskoetta) ja toinen glukoosipitoisuus ajan funktiona glukoosirasituskokeessa, jonka avulla tarkasteltiin glukoosipitoisuuden käyttäytymistä kahden tunnin (120 min) aikana. Puoli tuntia paastonäytteen jälkeen rottien vatsaonteloon (i.p.) injektoitiin glukoosia (0,2 g/ml, 10 ml/kg). 30min, 60 min ja 120 min injektoinnin jälkeen otettiin verinäyte (0,1 ml) takaraajan pinnallisesta laskimosta (vena saphena), joka analysoitiin HemoCue Glucose 201⁺ -laitteella (HemoCue AB, Ängelholm, Ruotsi).

7.3.2 Veren rasva-arvot

Veren rasva-arvoista analysoitiin kokonaiskolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli ja triglyseridit kerran intervention jälkeen. Analyysit suoritettiin KoneLab-analyyseilla Liikuntabiologian laitoksen laboratoriossa.

7.3.3. Kehonkoostumus

Kehonkoostumus mitattiin kaksiennergisen röntgenabsorptiometrian eli DEXAn (GE Medical Systems, Lunar, Madison, WI, USA) avulla intervention alussa ja lopussa. Muuttujina käytettiin painoa, rasvatonta massaa, sekä absoluuttista ja suhteellista rasvamassaa. Ennen mittausta rotat paastosivat yön yli. Mittausten ajaksi rotat nukutettiin.

7.4 Tilastolliset analyysit

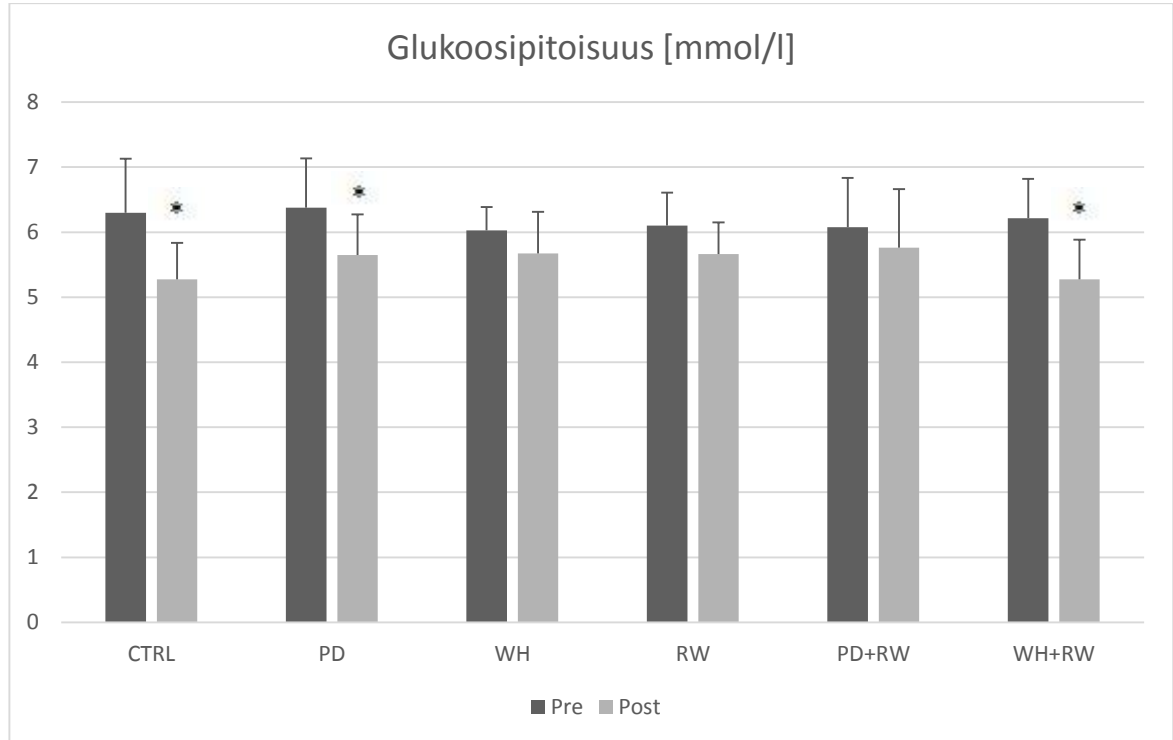
Tilastoanalyysit suoritettiin IBM SPSS Statistics 22-ohjelmalla. Tulokset on ilmoitettu keskiarvoina ja keskihajontoina. Veren rasva-arvojen osalta ryhmien välisiä eroja tutkittiin yksisuuntaisella varianssianalyysillä. Muita muuttujia tutkittiin yleistetyn lineaarisen mallin avulla käyttäen sekamallin varianssianalyysia (General Linear Model, Mixed Model ANOVA). Merkitsevyyden raja oli $p < 0,05$.

8 TULOKSET

Tuloksissa merkintä * kuvaa merkitsevää tulosta.

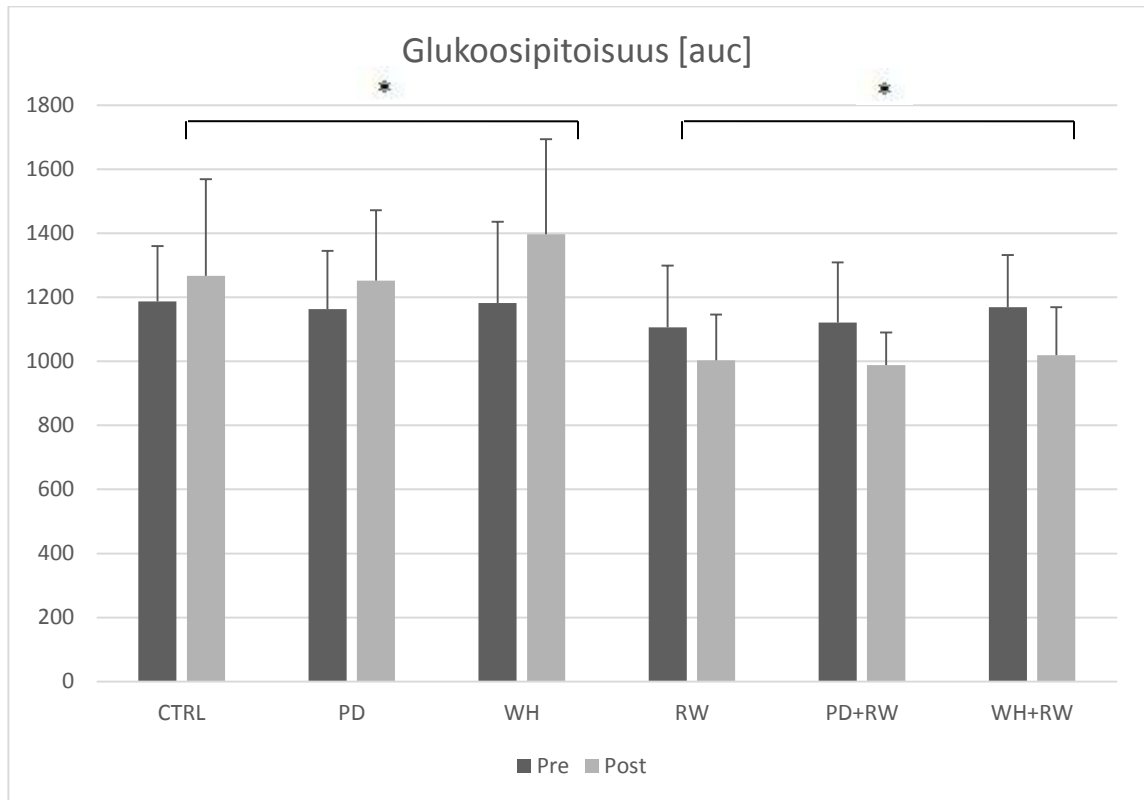
8.1 Veren glukoosipitoisuus

17 h paaston jälkeen mitattu veren glukoosipitoisuus (mmol/l) oli loppumittauksissa ei-juoksijoiden ryhmässä merkitsevästi alhaisempi kontrolli- ja proteiinijuomaryhmillä, sekä juoksijaryhmässä merkitsevästi alhaisempi heraryhmällä (kuva 5).



KUVA 5. Veren glukoosipitoisuus 17 h paaston jälkeen intervention alussa (Pre) ja lopussa (Post).

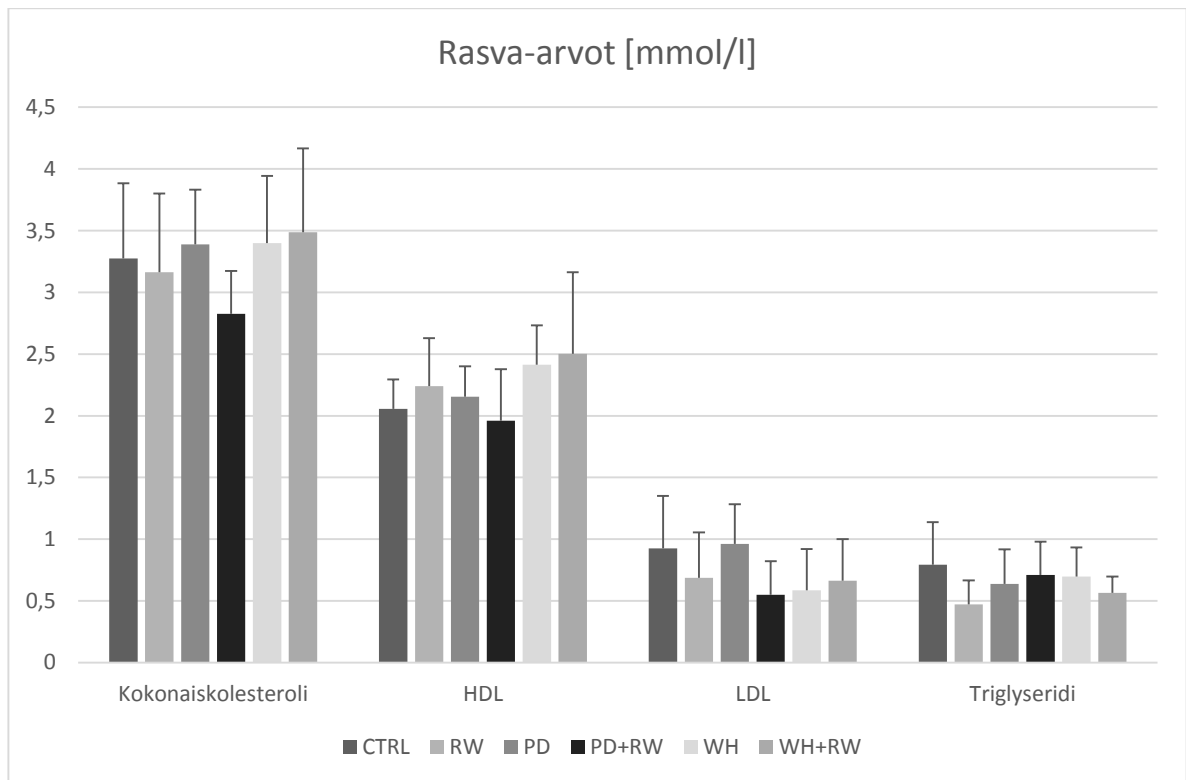
Glukoosirasituskokeessa veren glukoosipitoisuudessa (auc) havaittiin loppumittauksissa merkitsevää eroa juoksijoiden ja ei-juoksijoiden välillä. Juoksijoiden glukoosipitoisuus pieneni, kun taas ei-juoksijoilla kasvoi. Ryhmien sisällä ei havaittu merkitseviä eroja (kuva 6).



KUVA 6. Veren glukoosipitoisuus (auc) glukoosirasituskokeessa ennen (Pre) ja jälkeen (Post) intervention. Kuvaan merkityt viivat kuvaavat merkitsevää eroa kaikkien juoksija- ja ei-juoksijaryhmien välillä.

8.2 Veren rasva-arvot

Veren rasva-arvoissa (kokonaiskolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli, triglyseridit) ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja ryhmien välillä (kuva 7).



KUVA 7. Veren rasva-arvot (kokonaiskolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli, triglyseridit) intervention jälkeen.

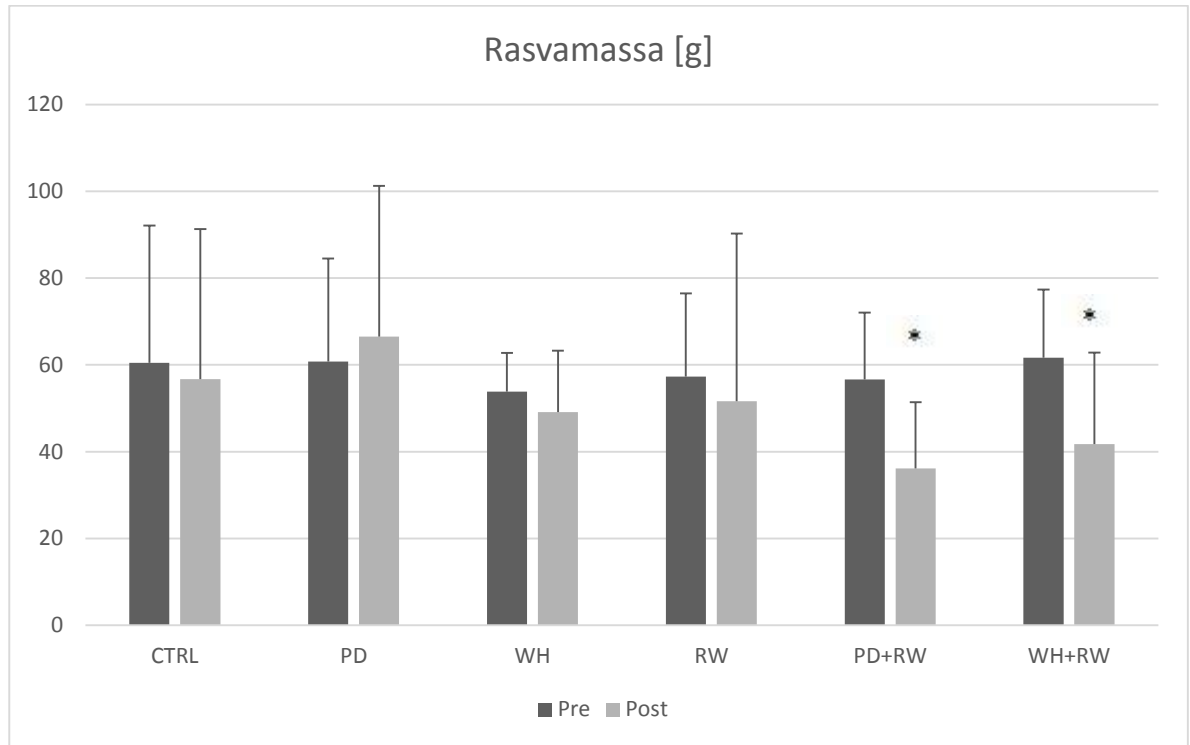
8.3 Kehonkoostumus

Rasvattoman massan havaittiin olevan loppumittauksissa merkitsevästi suurempi kaikissa juoksijaryhmissä. Ei-juoksijoiden ryhmissä muutoksia ei tapahtunut. (kuva 9).



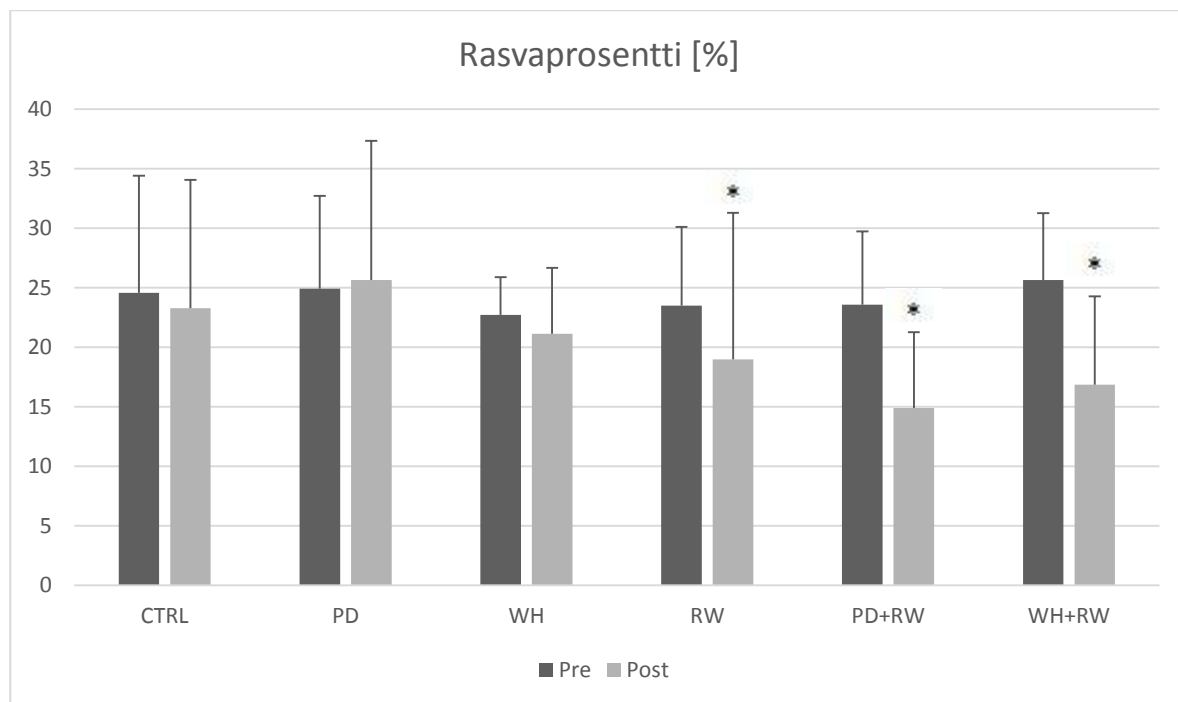
KUVA 9. Rasvaton massa intervention alussa (Pre) ja lopussa (Post).

Rasvamassa (g) pieneni intervention aikana merkitsevästi juoksijaryhmän hera- ja proteiinijuomaryhmällä. (kuva 10).



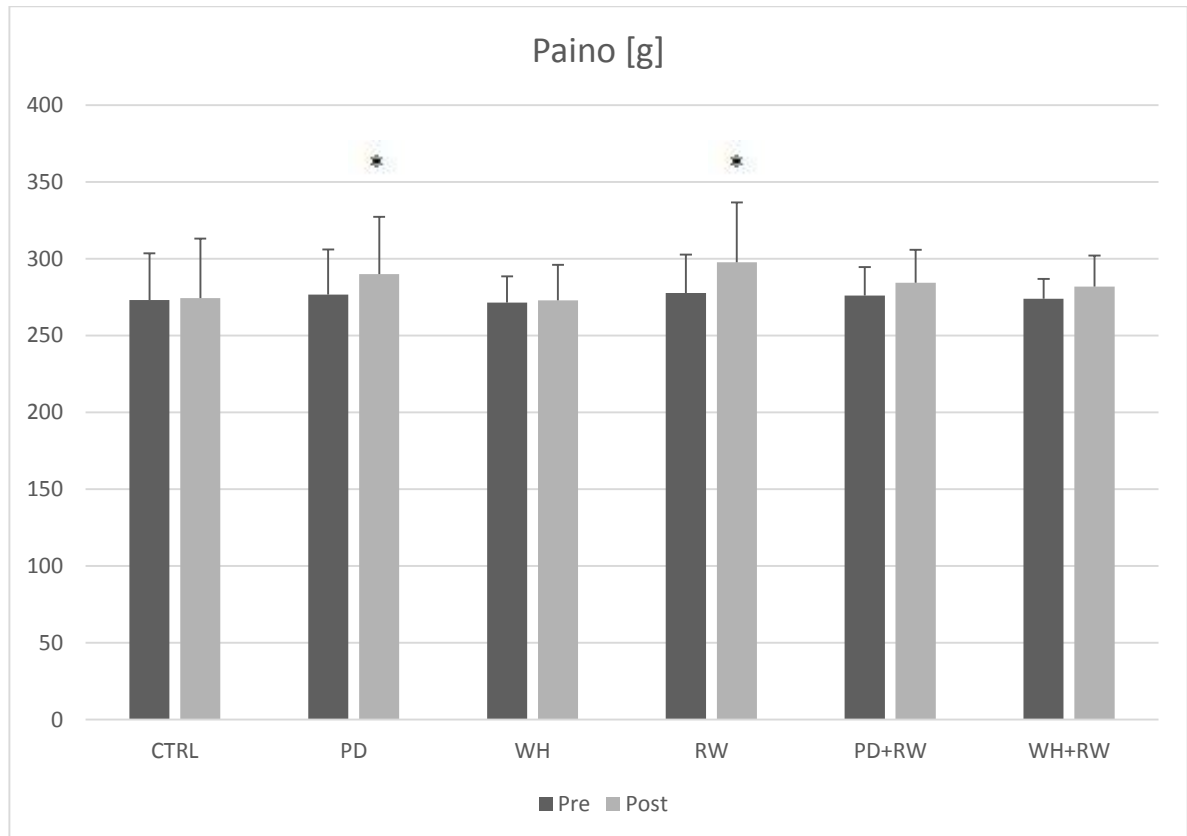
KUVA 10. Rasvamassa (g) intervention alussa (Pre) ja lopussa (Post).

Rasvaprosentti pieneni intervention aikana merkitsevästi kaikissa juoksijaryhmissä.



KUVA 11. Rasvaprosentti intervention alussa (Pre) ja lopussa (Post).

Ei-juoksijoiden ryhmässä proteiinijuomaryhmän paino nousi merkitsevästi intervention aikana. Samoin kävi juoksijaryhmässä kontrolliryhmän painolle. (kuva 8).



KUVA 8. Paino (g) intervention alussa (Pre) ja lopussa (Post).

9 POHDINTA

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, miten liikunta ja hera- tai proteiinijuomadieetti vaikuttaa kehonkoostumukseen sekä glukoosi- ja rasva-aineenvaihduntaan rotilla.

Koe-eläinten jako ryhmiin oli onnistunut, sillä alkumittauksissa ei havaittu minkään muuttujan osalta merkitseviä eroja ryhmien välillä.

Glukoosipitoisuus. 17 h paaston jälkeen mitattu veren glukoosipitoisuus (mmol/l) oli loppumittauksissa ei-juoksijoiden ryhmässä merkitsevästi alhaisempi kontrolli- ja proteiinijuomaryhmillä, sekä juoksijaryhmässä merkitsevästi alhaisempi heraryhmällä. Heraproteiinilla on tutkimuksissa havaittu olevan proteiinilähteistä suurin vaikutus insuliinieritykseen ja sitä kautta veren glukoosipitoisuuteen niin terveillä kuin tyypin 2 diabetestakin sairastavilla (esim. Frid ym. 2005, Pal ym. 2010, Pal & Ellis 2010). Tutkimuksessamme heraproteiinilla ei ollut itsenäistä vaikutusta paastoverensokeriin, mutta juokseminen näytti tuovan heraproteiinin vaikutuksen esiin. Odotuksien vastaisesti ei-juoksijoiden ryhmässä kontrolli- ja proteiinijuomaryhmillä havaittiin myös glukoosipitoisuuden merkitsevää laskua. Syytä tähän on vaikea sanoa, mutta kyseessä voi olla iän mukanaan tuoma ilmiö. Kyseessä voi myös olla sattuma ottaen huomioon pienet otoskoot.

Tässä tutkimuksessa glukoosipitoisuus mitattiin paastotilassa, joten proteiinipitoisen ruokavalion akuutit vaikutukset (esim. Frid ym. 2005) glukoosipitoisuuteen eivät välttämättä tule esiin. Jotta proteiinidieettien akuuttia vaikutusta veren glukoosipitoisuuteen voitaisiin tutkia, tulisi glukoosipitoisuutta seurata aterian, tässä tapauksessa proteiinidieettijuomien nauttimisen, jälkeen.

Glukoosirasituskokeessa veren glukoosipitoisuudessa havaittiin loppumittauksissa merkitsevää eroa juoksijoiden ja ei-juoksijoiden välillä. Juoksijoiden glukoosipitoisuus pieneni, kun taas ei-juoksijoilla kasvoi. Tämä oli odotettua, sillä liikunnalla on useissa tutkimuksissa todettu olevan itsenäisiä suotuisia vaikutuksia glukoosiaineenvaihduntaan.

Myös esimerkiksi Ross ym. havaitsivat omassa tutkimuksessaan (2015) liikunnan harrastamisen pienentävän glukoosipitoisuutta glukoosirasituskokeessa ylipainoisilla henkilöillä.

Rasva-arvot. Veren rasva-arvoissa (kokonaiskolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli ja triglyseridit) ei löydetty merkitseviä eroja ryhmien välillä. Tulokset ovat odotetun vastaisia, sillä aiemmissa tutkimuksissa (esim. Kawase ym. 2000 ja Pal ym. 2010) heraproteiinin lisäämisen ruokavalioon on havaittu laskevan veren kokonaiskolesteroli-, LDL-kolesteroli- ja triglyseridipitoisuuksia.

Kehonkoostumus. Kehonkoostumuksessa tapahtui intervention aikana muutoksia. Kaikissa juoksijaryhmissä kehon rasvattoman massan määrä kasvoi merkitsevästi. Ei-juoksijoilla ei havaittu merkitseviä muutoksia, myöskään eri dieeteillä ei ollut vaikutusta rasvattomaan massaan. Tulos on looginen, sillä tutkimusnäyttö puoltaa vahvasti liikunnan lihasmassaa lisäävää vaikutusta. Aikaisempien tutkimusten mukaan proteiinipitoisen ruokavalion olisi voinut odottaa tehostavan liikunnan lihasmassaa kasvattavaa vaikutusta, mutta näin ei ollut. Syytä tähän ei osata sanoa.

Rasvamassa (g) pieneni intervention aikana merkitsevästi juoksijaryhmässä heraproteiini- ja proteiinijuomaryhmillä. Liikunnan ja proteiinipitoisen ruokavalion yhdistämisellä näyttäisi siis olevan suotuisa vaikutus painonpudotuksessa rasvamassan pienenemisen kautta. Aiemmat tutkimustulokset puoltavat asiaa. Esimerkiksi Layman ym. (2003) havaitsivat rasvamassan pienenevän tehokkaammin proteiinipitoisella ruokavaliolla. Rasvaprosentti pieneni intervention aikana kaikissa juoksijaryhmissä. Vaikka juoksijaryhmän kontrolliryhmällä ei havaittu merkitsevää muutosta absoluuttisessa rasvan määrässä, rasvaprosentin pieneneminen oli silti merkitsevää kasvaneen lihasmassan vuoksi.

Vaikka kehonkoostumuksessa havaittiin muutoksia kaikissa juoksijaryhmissä, paino muuttui juoksijaryhmistä merkitsevästi ainoastaan kontrolliryhmällä. Muilla juoksijaryhmillä rasvamassan pieneneminen kompensoi lihasmassan kasvun aiheuttaman painonnousun. Kontrolliryhmällä paino nousi, sillä rasvamassa ei pienentynyt. Ei-

juoksijoiden ryhmässä proteiinijuomaryhmän paino nousi merkitsevästi intervention aikana. Painonnousu johtui sekä rasvattoman massan että rasvamassan pienestä kasvusta.

Tekemämme tutkimus vahvistaa aikaisempaa tutkimustietoa (esim. Gibbs ym. 2014) liikunnan itsenäisistä suotuisista vaikutuksista glukoosiaineenvaihduntaan ja kehonkoostumukseen. Myös liikunnan ja proteiinipitoisen ruokavalion yhdistämisen hyödyt näkyivät tutkimuksessamme kehon rasvavarastojen pienenemisen kautta. Tutkitulla maitopohjaisella proteiinijuomalla voisi siis liikunnalliseen elämäntapaan ja normaaliin terveelliseen ruokavalioon yhdistettynä olla etua painonpudotuksessa. Tutkimistamme proteiinilähteistä tulokset puoltaisivat heraproteiinia, jolla liikuntaan yhdistettynä näyttäisi olevan kehonkoostumuksen lisäksi suotuisa vaikutus veren glukoosipitoisuuteen.

Tutkimuksessa ei saavutettu kaikkia odotettuja tuloksia. Esimerkiksi aiemmissa tutkimuksissa (Pal ym. 2010, Holmer-Jensen ym. 2013) havaittuja proteiinipitoisen ruokavalion suotuisia vaikutuksia veren rasva-arvoihin ei havaittu. Syytä tälle on vaikea sanoa. Koe-eläimet nauttivat proteiinia keskimäärin 5 g painokiloa kohden, mikä on yli kaksinkertainen määrä ihmisille suositeltuun proteiinimäärään nähden. Liian vähäisestä proteiinin saannista siis tuskin on kyse. Kaupallinen maitopohjainen proteiinijuoma sisälsi proteiinin lisäksi myös sokeria (8 g/ 100 g), joten osa proteiinin suotuisista vaikutuksista on saattanut peittyä sokerin epäsuotuisiin vaikutuksiin.

Proteiinipitoisen ruokavalion ja liikunnan vaikutuksia kehonkoostumukseen ja aineenvaihduntaan on tutkittu paljon sekä yhdessä että erikseen. Tutkimuksissa proteiinina on yleensä toiminut yksi tai useampi eri proteiinilähde, kuten heraproteiini, punainen liha tai kasviproteiinit. Kaupallisia proteiinijuomia koskevia tutkimuksia on huomattavasti vähemmän. Ottaen huomioon lisäravinteiden valtavan suosion ja kulutuksen, aiheeseen liittyviä tutkimuksia tarvittaisiin ehdottomasti lisää. Tieteelliset tutkimukset toisivat paitsi tutkijoille, niin ennen kaikkea kuluttajille arvokasta tietoa kaupallisten lisäravinteiden mahdollisista hyödyistä ja haitoista.

10 LÄHTEET

- Aldhahi, W. & Hamdy, O. 2003. Adipokines, Inflammation, and the Endothelium in Diabetes. *Curr Diab Rep.* 3:293-298.
- Anthony, T.G. ym. 2007. Feeding Meals Containing Soy or Whey Protein after Exercise Stimulates Protein Synthesis and Translation Initiation in the Skeletal Muscle of Male Rat. *J Nutr.* 137(2):357-362.
- Berkov, S.E. & Barnard, N. 2006. Vegetarian Diets and Weight Status. *Nutr Rev.* 64(4):175-188.
- Boden G. 2001. Pathogenesis of Type 2 Diabetes: Insulin Resistance. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 30(4):801-15.
- Boden, G. 2011. Obesity, Insulin Resistance and Free Fatty Acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 18(2):139-143.
- Boirie, Y. ym. 1997. Slow and Fast Dietary Proteins Differently Modulate Postprandial Protein Accretion. *Proc Natl Acad Sci.* 94:14930-14935.
- Bosello, O. & Zamboni, M. 2000. Visceral Obesity and Metabolic Syndrome. *Obes Rev.* 1(1):47-56.
- Bray, G.A. 2004. Medical Consequences of Obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 89(6):2583-2589.
- Caballero, E. 2003. Endothelial Dysfunction in Obesity and Insulin Resistance: A Road to Diabetes and Heart Disease. *Obes Res* 11(11):1278-1289.
- Cerezo, C. ym. 2013. Guidelines Update in the Treatment of Obesity or Metabolic Syndrome and Hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 15(3):196-203.
- Coker, R.H. ym. 2012. Whey Protein and Essential Amino Acids Promote the Reduction of Adipose Tissue and Increased Muscle Protein Synthesis During Caloric Restriction-Induced Weight Loss in Elderly, Obese Individuals. *Nutr J.* 11:105.

- Fouillet, H. ym. 2009. Absorption Kinetics Are a Key Factor Regulating Postprandial Protein Metabolism in Response to Qualitative and Quantitative Variations in Protein Intake. *Am J Physiol.* 297(6):1691-1705.
- Frid, A.H. ym. 2005. Effect of Whey on Blood Glucose and Insulin Responses to Composite Breakfast and Lunch Meals in Type 2 Diabetic Subjects. *Am J Clin Nutr.* 82(1):69-75.
- Gibbs, B.B. ym. 2014. Effect of Improved Fitness beyond Weight Loss on Cardiovascular Risk Factors in Individuals with Type 2 Diabetes in the Look AHEAD Study. *Eur J Prev Cardiol.* 21(5):608-617.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. 2006. *Textbook of Medical Physiology.* 11. painos. Elsevier Saunders, USA.
- Hall, W.L. ym. 2003. Casein and Whey Exert Different Effects on Plasma Amino Acid Profiles, Gastrointestinal Hormone Secretion and Appetite. *Brit J of Nutr.* 89:239-248.
- Halton, T.L. & Hu, F.B. 2004. The Effects of High Protein Diets on Thermogenesis, Satiety and Weight Loss. *J Am Coll Nutr.* 23(5):373-385.
- Holmer-Jensen, J. ym. 2013. Acute Differential Effects of Dietary Protein Quality on Postprandial Lipemia in Obese Non-Diabetic Subjects. *Nutr Res.* 33(1):34-40.
- Hulmi, J.J. ym. 2010. Effect of Protein/Essential Amino Acids and Resistance Training on Skeletal Muscle Hypertrophy: A Case for Whey Protein. *Nutr Metab.* 7:51.
- Jakubowicz, D. & Foy, O. 2012. Biochemical and Metabolic Mechanisms by Which Dietary Whey Protein May Combat Obesity and Type 2 Diabetes. *J Nutr Biochem.* 24(1):1-5.
- Johnston, C.S. ym. 2002. Postprandial Thermogenesis Is Increased 100% on a High-Protein, Low-Fat Diet versus a High-Carbohydrate, Low-Fat Diet in Healthy, Young Women. *J Am Coll Nutr.* 21(1):55-61.
- Karamanlis, A. ym. 2007. Effects of Protein on Glycemic and Incretin Responses and Gastric Emptying After Oral Glucose in Healthy Subjects. *Am J Clin Nutr.* 86(5):1364-1368.
- Kawase, M. ym. 2000. Effect of Administration of Fermented Milk Containing Whey Protein Concentrate to Rats and Healthy Men on Serum Lipids and Blood Pressure. *J Dairy Sci.* 83(2):255-263.

- Layman, D.K., ym. 2003. A Reduced Ratio of Dietary Carbohydrate to Protein Improves Body Composition and Blood Lipid Profiles during Weight Loss in Adult Women. *J Nutr.* 133:411-417.
- Layman, D.K. ym. 2005. Dietary Protein and Exercise Have Additive Effects on Body Composition during Weight Loss in Adult Women. *J Nutr.* 135(8):1903-1910.
- Lejeune, M., ym. 2005. Additional Protein Intake Limits Weight Regain after Weight Loss in Humans. *Br J Nutr.* 93(2):281-289.
- Ludwig, D.S. & Pollack, H.A. 2009. Obesity and the Economy - From Crisis to Opportunity. *JAMA.* 2009:301(5):533-535.
- Mortensen, L.S. ym. 2009. Differential Effects of Protein Quality on Postprandial Lipemia in Response to a Fat-rich Meal in Type 2 Diabetes: Comparison of Whey, Casein, Gluten, and Cod Protein. *Am J Clin Nutr.* 90(1):41-48.
- Pal, S. ym. 2010. Acute Effects of Whey Protein Isolate on Cardiovascular Risk Factors in Overweight, Post-menopausal Women. *Atherosclerosis.* 212(1):339-344.
- Pal, S. & Ellis, V. 2010. The Chronic Effects of Whey Proteins on Blood Pressure, Vascular Function, and Inflammatory Markers in Overweight Individuals. *Obesity.* 18(7):1354-1359.
- Poirier, P. 2007. Adiposity and Cardiovascular Disease: Are We Using the Right Definition of Obesity? *Eur Heart J.* 28:2047-2048.
- Reddy, K.J. ym. 2010. The Role of Insulin Resistance in the Pathogenesis of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *J Cardiovasc Med.* 11(9):663-647.
- Ross, R. ym. 2015. Effects of Exercise Amount and Intensity on Abdominal Obesity and Glucose Tolerance in Obese Adults: A Randomized Trial. *Ann Intern Med.* 162(5):325-334.
- Sacks, F.M. ym. 2009. Comparison of Weight-Loss Diets with Different Compositions of Fat, Protein, and Carbohydrates. *N Engl J Med.* 360(9):859-873.
- Skov, A.R. ym. 1999. Randomized Trial on Protein vs Carbohydrate in Ad Libitum Fat Reduced Diet for the Treatment of Obesity. *Int J Obes.* 23:528-536.

- Soenen, S. ym. 2013. Normal Protein Intake Is Required for Body Weight Loss and Weight Maintenance, and Elevated Protein Intake for Additional Preservation of Resting Energy Expenditure and Fat Free Mass. *J Nutr.* 143(5):591-596.
- Stiegler, P. & Cunliffe, A. 2006. The Role of Diet and Exercise for the Maintenance of Fat-Free Mass and Resting Metabolic Rate during Weight Loss. *Sports Med.* 36(3):239-262.
- Tuomilehto, J. ym. 2001. Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance. *N Engl J Med.* 344(18):1343-1350.
- Vasselli, J.R. ym. 2005. Intentional Weight Loss Reduces Mortality Rate in a Rodent Model of Dietary Obesity. *Obes Res.* 13(4):693-702.
- Weigle, D.S. ym. 2005. A High-Protein Diet Induces Sustained Reductions in Appetite, Ad-libitum Caloric Intake, and Body Weight despite Compensatory Changes in Diurnal Plasma Leptin and Ghrelin Concentrations. *Am J Clin Nutr.* 82:41-48.
- Weinert, D.J. 2009. Nutrition and Muscle Protein Synthesis: A Descriptive Review. *J Can Chiropr Assoc.* 53(3):186-193.
- Westerterp, K.R ym. 1999. Diet induced thermogenesis measured over 24h in a respiration chamber: effect of diet composition. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 23(3):287-292.
- Westerterp-Plantenga, M.S. ym. 1999. Satiety Related to 24 h Diet-Induced Thermogenesis during High Protein/Carbohydrate vs High Fat Diets Measured in a Respiration Chamber. *Eur J Clin Nutr.* 53(6):495-502.
- Wing, R.R. ym. 2011. Benefits of Modest Weight Loss in Improving Cardiovascular Risk Factors in Overweight and Obese Individuals with Type 2 Diabetes. *Diab Care.* 34(7):1481-1486.