



**TURUN
YLIOPISTO**

**Rasvarehun ja vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun vaikutukset
kehonkoostumukseen ja koko kehon insuliiniherkkyyteen Sprague-
Dawley-urosoilla**

Sisätaudit
Lääketieteen syventävien opintojen opinnäytetyö

Laatija:
Eero Laakso

Ohjaaja:
LitT Jaakko Hentilä

Kevätlukukausi 2024
Turku

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

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Oppiaine: Lääketiede, sisätaudit

Tekijä: Eero Laakso

Otsikko: Rasvarehun ja vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun vaikutukset kehonkoostumukseen ja koko kehon insuliiniherkkyyteen Sprague–Dawley-urosoilla

Ohjaaja: Liikuntatieteiden tohtori, Jaakko Hentilä

Sivumäärä: 59 sivua

Päivämäärä: Kevätlukukausi 2024

TIIVISTELMÄ

Tyypin 2 diabeteksen esiintyminen on lisääntynyt ylipainon ja lihavuuden yleistymisen myötä merkittävästi. Eläinmallit ovat tärkeä osa tyypin 2 diabeteksen tutkimusta, sillä niiden avulla voidaan saada paljon tietoa taudin synnystä, etenemisestä ja hoidosta ennen ihmisillä toteutettavia kokeita. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tutkia Sprague–Dawley-urosoilla kahdeksan viikon iässä aloitetun 12 ja 24 viikon kestoisen rasvasyötön vaikutusta kehonkoostumukseen, glukoosiaineenvaihduntaan ja koko kehon insuliiniherkkyyteen. Lisäksi tutkittiin, kumoaako vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu, rasvarehun vaihtaminen tavalliseen rehuun tai näiden yhdistelmä rasvasyötön aiheuttamaa lihomista ja muutoksia glukoosiaineenvaihdunnassa ja koko kehon insuliiniherkkyydessä.

Kahdeksan viikon ikäiset Sprague–Dawley-urosoerot jaettiin kahdeksaan ryhmään, joille toteutettiin joko lyhyt (12 viikkoa) tai pitkä (24 viikkoa) interventio. Lyhyessä interventiossa oli kontrolliryhmän lisäksi rasvarehua syönyt ryhmä ja juoksupyörässä juossut ryhmä, joka söi rasvarehua. Pitkässä interventiossa kontrolliryhmä söi tavallista rehua 24 viikon ajan ja yksi koeryhmä söi rasvarehua 24 viikon ajan. Tämän lisäksi kolme koeryhmää söi rasvarehua 12 ensimmäistä viikkoa, jonka jälkeen yksi ryhmä aloitti vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun ja jatkoi rasvarehun syömistä, yksi ryhmä vaihtoi rasvarehun syömisen tavalliseen rehuun ja yksi ryhmä vaihtoi rasvarehun normaaliin rehuun ja aloitti vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun. Tutkimuksen alussa rotilta mitattiin paino ja kehonkoostumus, ja tutkimuksen lopussa näiden lisäksi otettiin paastoverinäytteitä, sekä puolelle jokaisesta ryhmästä tehtiin hyperinsulineeminen euglykeeminen clamp-tutkimus. Pidemmässä 24 viikon interventiossa paino ja kehonkoostumus mitattiin myös tutkimuksen puolivälissä.

Kahdeksan viikon iässä aloitettu 24 viikkoa kestänyt rasvarehun syönti lisäsi rottien painoa ja rasvaprosenttia enemmän kuin kontrolliryhmällä. Kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon rasvasyöttö lisäsi myös painoa suurimmalla osalla ryhmistä kontrolliryhmää enemmän, mutta ei puolestaan kasvattanut rasvaprosenttia enempää kuin kontrolliryhmällä. Kahdeksan viikon iässä aloitettu rasvarehun syönti 12 viikon ajan nosti tilastollisesti merkitsevästi veren paastoglukoosia, kun taas 24 viikon rasvasyöttö ei sitä nostanut. Kahdeksan viikon iässä aloitettu rasvasyöttö 12 ja 24 viikon interventioissa nosti paastoinsuliinia, mutta ei tilastollisesti merkitsevästi. Lisäksi kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon juoksupyöräjuoksu ehkäisi rasvarehun aiheuttamaa painon ja rasvaprosentin nousua, sekä 20 viikon iässä aloitettu 12 viikon juoksupyöräjuoksu sai aikaan pienemmän rasvaprosentin kuin niillä, jotka eivät juosseet. Tutkimuksessa havaittiin myös, että suurempi juoksumatka ja -nopeus olivat yhteydessä keskimäärin rottien pienempään painoon ja rasvaprosenttiin. Rasvarehun vaihto normaaliin rehuun yhdistettynä juoksupyöräjuoksujuoksun aloittamiseen 20 viikon iässä kumosi tehokkaammin rasvasyötön negatiivisia vaikutuksia kehonkoostumukseen ja glukoositasapainoon kuin pelkkä juoksun aloittaminen tai rehun vaihto.

Kahdeksan viikon iässä aloitettu rasvasyöttö lihottaa Sprague–Dawley-urosoita tehokkaasti varsinkin, kun lihotus kestää yli 12 viikkoa. Insuliinituloksissa nähdään lievää insuliiniresistenssin kehittymistä rasvarehusyötön seurauksena, mutta clamp-tutkimuksessa ei kuitenkaan ollut havaittavissa koko kehon insuliiniherkkyyden muutoksia ryhmien välillä. Myöskään paastoglukoosiarvoissa ei rasvarehusyötön avulla tapahtunut selvää muutosta kontrolliryhmään verrattuna.

Ikä vaikuttaa merkittävästi vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun määrään niin, että nuoremmat rotat (ikä 8–20 viikkoa) juoksevat paljon enemmän kuin vanhemmat rotat (ikä 20–32 viikkoa). Tämä on hyvä ottaa huomioon jatkossa, kun vastaaviin prekliinisiin tutkimuksiin valitaan sopivaa liikuntamuotoa.

Avainsanat: Tyypin 2 diabetes, prediabetes, insuliiniresistenssi, Sprague–Dawley, rasvarehusyöttö, vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu

Sisällysluettelo

1	Johdanto	6
2	Insuliini- ja glukoosiaineenvaihdunta	7
2.1	Insuliini kohdekudoksissa	7
2.2	Muut veren glukoosipitoisuuteen vaikuttavat tekijät	8
3	Ylipaino ja tyypin 2 diabetes	10
3.1	Prediabetes	11
3.2	Insuliiniresistenssin ja beetasolujen vajaatoiminnan kehittyminen tyypin 2 diabeteksessä	12
3.3	Tyypin 2 diabeteksen riskitekijät ja niihin vaikuttaminen	13
4	Prekliiniset mallit tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa	15
4.1	Eläinkokeet käytännössä	16
4.2	Geneettiset mallit tyypin 2 diabeteksen tutkimisessa	17
4.3	Ylipainoiset eläinmallit tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa	18
4.4	Rasvasyöttö tyypin 2 diabeteksen aikaansaajana eläinmalleilla	18
4.5	Sprague–Dawley-rotat ylipainomalleina	19
4.6	Insuliiniherkkyyden mittaamenetelmät prekliinisissä malleissa	20
5	Liikunta tyypin kaksi diabeteksen ennaltaehkäisyssä	22
5.1	Eri liikuntamuodot eläinmalleilla	23
5.2	Sprague–Dawley-rotat, insuliiniresistenssi ja liikunta sen ennaltaehkäisyssä	24
6	Menetelmät	26
6.1	Eläimet	26
6.2	Tutkimusasetelma	26
6.3	Ruokavalio	27
6.4	Vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu	28
6.5	Paino- ja kehonkoostumusmittaus	28
6.6	Paastoverinäytteet	28
6.7	Insuliinimittaus ja HOMA-indeksi	28

6.8	Tilastolliset menetelmät	29
7	Tulokset	30
7.1	Paino ja rasvaprosentti	30
7.2	Veren paastoglukoosi ja -insuliini	33
7.3	län vaikutus juoksumatkaan ja –nopeuteen	35
7.4	Korrelaatiotulokset	37
8	Pohdinta	41
9	Johtopäätökset	50
	Lähteet	51

1 Johdanto

Ylipaino on yksi nykymaailman vaikeimmista terveyshaasteista. WHO:n mukaan maailmassa vuonna 2022 täysi-ikäisistä 43 % oli ylipainoisia (painoindeksi 25 tai enemmän) ja 16 % oli lihavia (painoindeksi 30 tai enemmän) (WHO, 2024). Ylipaino ja lihavuus lisäävät sairastumisriskiä muun muassa tyypin 2 diabetekseen, sydän- ja verisuonisairauksiin, sekä munuaisen vajaatoimintaan (NIH, 2024). Tyypin 2 diabetes taas lisää riskiä esimerkiksi retinopatiaan, neuropatiaan ja nefropatiaan. Sekä perimä, että ympäristötekijät vaikuttavat riskiin sairastua tyypin 2 diabetekseen. Ylipainon lisäksi liikunnan vähäinen määrä on yksi isoimmista riskitekijöistä tyypin 2 diabetekselle. (Dendup et al., 2018.)

Lihavuuden ja tyypin 2 diabeteksen ehkäisemiseksi ja hoitamiseksi tarvitaan paljon tutkimustietoa. Usein näitä tutkimuksia toteutetaan ensin eläinmalleilla, jotka ovat välttämätön osa uusien hoitomuotojen löytämistä ja optimointia. Kaikilla eri eläinmalleilla on omat hyvät ja huonot puolensa. Lihavuuden ja tyypin 2 diabeteksen tutkimiseen käytetään usein jyrsijöitä eläinmalleina. (Kleinert et al., 2018.) Kirjallisuudesta löytyy yhä enemmän tietoa siitä, että rottamalleilla rasvarehusyöttö johtaa heikentyneeseen glukoosimetaboliaan ja insuliiniresistenssiin (Pranprawit et al., 2013).

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tutkia Sprague-Dawley-urosoilla kahdeksan viikon iässä aloitetun 12 ja 24 viikon kestoisen rasvasyötön vaikutusta kehonkoostumukseen, glukoosiaineenvaihduntaan ja koko kehon insuliiniherkkyyteen. Lisäksi tutkittiin, kumoaako vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu, rasvarehun vaihtaminen tavalliseen rehuun tai näiden yhdistelmä rasvasyötön aiheuttamaa lihomista ja muutoksia glukoosiaineenvaihdunnassa ja koko kehon insuliiniherkkyydessä.

Tutkimuksen hypoteesina oli se, että rasvarehusyöttö saisi rotat lihomaan ja lihominen aiheuttaisi muutoksia glukoosimetaboliassa kohti insuliiniresistenssiä ja tyypin 2 diabetesta enemmän kuin normaalirehun syöminen. Näitä muutoksia ovat paastoinsuliini- ja paastoglukoosiarvon nouseminen, sekä näiden seurauksena suuremmat HOMA-indeksi ja M-arvo. Hypoteesina oli myös, että vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun aloittaminen, ruokavalion vaihto normaalirehuun, sekä näiden yhdistelmä kumoaisi rasvarehusyötön negatiivisia vaikutuksia kehonkoostumuksessa ja glukoosimetaboliassa. Yhtenä hypoteesina oli myös, että liikunnan ja terveellisen ruokavalion yhdistäminen rasvarehusyötön negatiivisten vaikutuksen kumoamisessa olisi tehokkaampaa kuin pelkkä liikunta.

2 Insuliini- ja glukoosiaineenvaihdunta

Glukoosi on ihmisen energia-aineenvaihdunnan kannalta keskeinen molekyyli, josta solut tuottavat adenosiinitrifosfaattia eli ATP:ta. ATP toimii solujen energianlähteenä esimerkiksi molekyylien kuljetuksessa, hormonituotannossa ja lihastyössä, eli käytännössä lähes kaikissa soluissa tapahtuvissa reaktioissa, jotka vaativat ulkoisen energialähteen. (Nakrani & Wineland, 2022.) Suuri osa elimistöön tulevista hiilihydraateista saadaan perunasta, pastasta, riisistä, sekä makeisista ja virvoitusjuomista tärkkelyksenä tai sakkaroosina (THL Fineli). Näistä elimistö muokkaa glukoosia hydrolysoimalla sokereita monosakkarideiksi ohutsuolen entsyymien avustuksella (Holmes, 1971). Elimistö varastoi glukoosia glykokeeninä lähinnä maksaan ja lihaksiin. Positiivisessa energiatasapainossa ylimääräinen glukoosi muutetaan triglyserideiksi pääosin rasvakudokseen. (Visiedo et al., 2013.)

Insuliini on haiman beetasolujen erittämä endokriininen peptidihormoni, jonka pääasiallinen tehtävä on laskea veren glukoosipitoisuutta. Aterian jälkeinen veren glukoositason nousu lisää insuliinihormonin eritystä haimasta. (M. C. Petersen & Shulman, 2018.) Terveillä glukoosin määrä on veressä kolmesta neljään tuntia aterian jälkeen noin 4,4–5,0 mmol/l. Aterian jälkeen glukoosin määrä veressä voi nousta jopa 7,8 mmol/l, mutta terveillä se palautuu insuliinin avustuksella normaaliksi parissa tunnissa. (Nakrani & Wineland, 2022.) Glukoosi säätelee haiman beetasolujen toimintaa. Glukoosi pääsee beetasoluihin glukoositransporttereiden kautta, jonka jälkeen se muutetaan hapellisissa olosuhteissa mitokondrioissa ATP:ksi. Kun beetasolussa ATP:n suhde ADP:hen (adenosiinidifosfaatti) nousee, ATP-herkät kaliumkanavat sulkeutuvat. Tällöin beetasolu depolarisoituu ja kalsiumkanavat soluun aukeavat. Tämä solunsisäinen kalsiumtason nousu lisää insuliinia sisältävien solurakkuloiden eksosytoosia, jolloin insuliinia vapautuu haiman beetasolusta. (Park et al., 2021.) Haimasta insuliini kulkeutuu porttilaskimokierron mukana maksaan, jossa yli 50 prosenttia insuliinista hävitetään hepatosyyttien toimesta. Loput insuliinista kulkeutuu maksalaskimoon, josta se kulkeutuu laskimokierron kautta sydämeen. Sydän pumppaa insuliinia valtimoihin ja sen mukana kohdekudoksiinsa. (Tokarz et al., 2018.)

2.1 Insuliini kohdekudoksissa

Saavuttaessaan kohdekudoksensa insuliini sitoutuu sen pinnalla oleviin reseptoreihin, mikä lisää anabolisia reaktioita ja ravintoaineiden kulkeutumista solun sisään. Lihas- ja rasvasoluissa insuliini lisää GLUT4-kuljetusproteiinien siirtymistä solukalvolle, mikä johtaa

glukoosin siirtymiseen verenkierrosta soluihin. Insuliinireseptoreihin sitoutumaton ja verenkiertoon jäänyt insuliini kulkeutuu lopulta munuaisiin, jossa se hävitetään. (Tokarz et al., 2018.) Lihaksessa insuliini edistää glukoosin käyttöä ja varastointia, jolloin glukoosin kuljetus soluihin sekä glykokeenin muodostuminen lisääntyvät (M. C. Petersen & Shulman, 2018). Lihaskudoksen ohella insuliini vähentää maksassa glukoneogeneesiä (glukoosin valmistus muista lähtöaineista kuin hiilihydraateista) ja estää lipolyysiä (triglyseridien pilkkomista vapaaksi rasvahapoiksi) sekä lisää lipogeneesiä (triglyseridien muodostumista) rasvakudoksessa (Nakrani & Wineland, 2022).

Lihaskudos on elimistössä hyvin merkittävä glukoosin varastointipaikka ja aterian jälkeinen insuliinin välittämä verensokerin lasku tapahtuu suurelta osin lihassolujen pinnalla olevien GLUT4-kuljettajaproteiinien kautta. Tämän takia insuliiniresistenssin ilmaantuminen lihakseen on yksi pääasiallisista tekijöistä tyypin 2 diabeteksen kehittymisessä. Kun insuliinivälitteinen glukoositransportterien siirtyminen lihassolun pinnalle ei lihaksissa toimi normaalisti insuliiniresistenssin vuoksi, syntyy merkittävä vaje glukoosin poistumiselle verestä. (Lauritzen & Schertzer, 2010.) Liikunnalla voidaan kuitenkin lisätä GLUT4-kuljettimien siirtymistä solukalvolle ja toisaalta, jos lihaksia ei käytetä, GLUT4-määrä solukalvolla vähenee. Liikunta lisää sekä insuliinivälitteistä, että lihassolujen supistumisen seurauksena tapahtuvaa GLUT4-kuljetusta solukalvolle. (Flores-Opazo et al., 2020; Richter & Hargreaves, 2013.)

Haiman ja insuliinin ohella maksalla on keskeinen rooli veren glukoosipitoisuuden säätelyssä erityisesti paastotilanteissa ja kun aterioiden välit pitkittyvät. Terveessä maksassa insuliini lisää anabolisia reaktioita (glykokeenin ja lipidien synteesi), jotka kuluttavat glukoosia. Insuliiniresistenssi maksassa saa aikaan sen, ettei maksa pysty rajoittamaan glykogenolyysiä (glykokeenin pilkkominen glukoosiksi) ja glukoneogeneesiä. Nämä taas nostavat veren glukoosiarvoa ja pahentavat mahdollista hyperglykemiaa entisestään. (Santoleri & Titchenell, 2019.)

2.2 Muut veren glukoosipitoisuuteen vaikuttavat tekijät

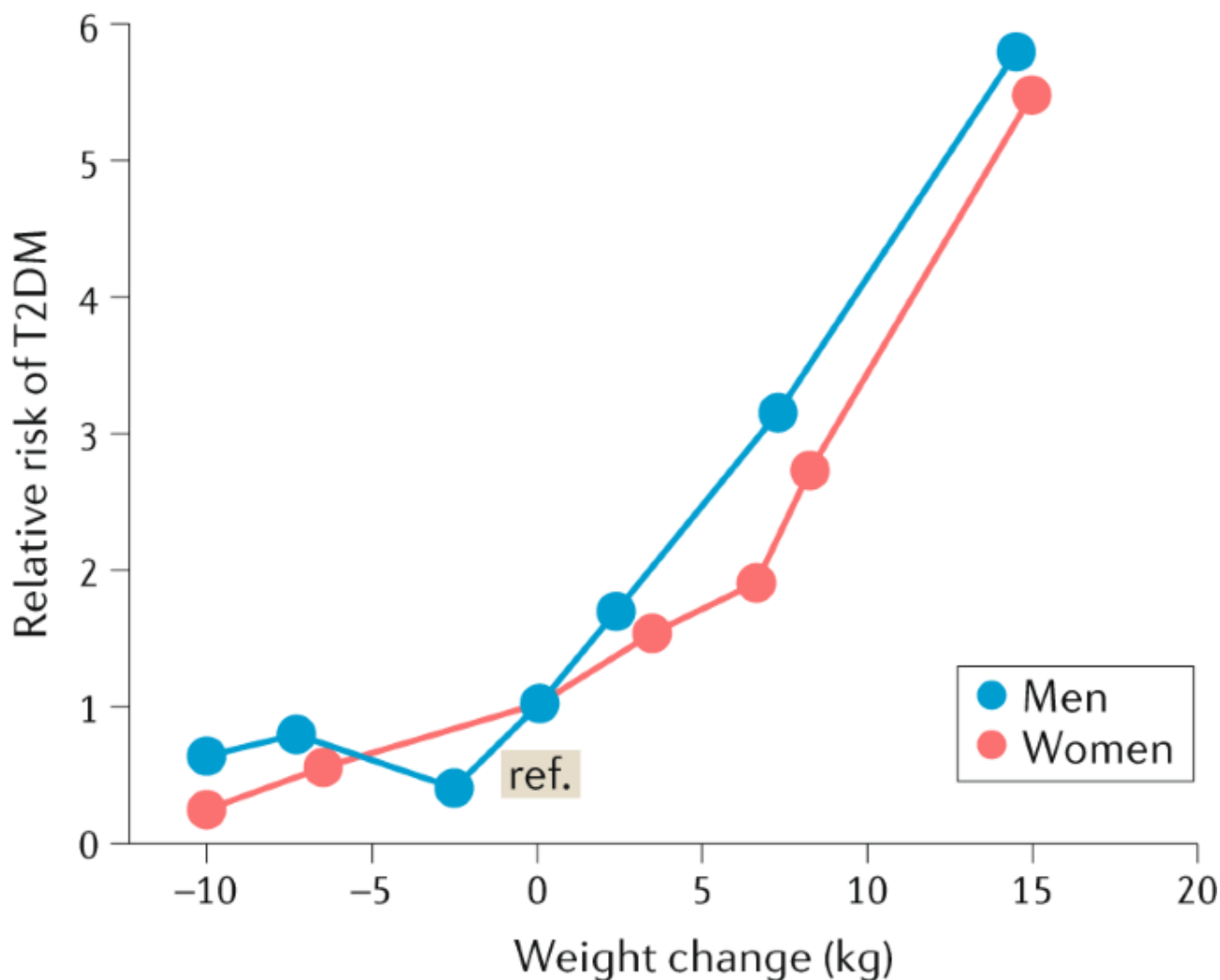
Insuliinin vastavaikuttajahormoni on glukagoni, joka on tärkeä osa glukoosihomeostasian säätelyjärjestelmää. Haiman alfasolujen erittämä glukagoni lisää maksassa glukoneogeneesiä ja glykogenolyysiä sekä vähentää glykolyysiä ja glykogeneesiä, minkä seurauksena verenkierron glukoosipitoisuus nousee. Noin 30 tunnin paaston jälkeen kaikki maksan glykokeeni on käytetty ja glukoneogeneesi ottaa päävastuun glukoosin muodostamisesta.

Glukoosia muodostetaan muun muassa laktaatista, jota tulee lihaksista ja punasoluista aineenvaihdunnan seurauksena, sekä glyserolista, jota muodostuu triglyseridien hajotessa. (Han et al., 2016.) Paastossa maksa tuottaa glukoosia myös aminohapoista, kuten alaniinista (Just et al., 2020).

Haiman erittämien hormonien lisäksi aivoissa sijaitseva hypotalamus säätelee veren glukoosipitoisuutta. Kun hypotalamuksessa havaitaan veren glukoosipitoisuuden lasku, sympaattisen hermoston aktiivisuus lisääntyy hypoglykemiaa ehkäisemiseksi. Sympaattisen hermoston aktivaatio lisää maksassa glykogenolyysiä, jonka seurauksena glukoosia siirtyy maksasta verenkiertoon. (Garcia et al., 2021.) Lisäksi pitkittynyt hypoglykemia (tunneista päiviin) lisää kasvuhormonin ja kortisolin eritystä, mikä lisää rasvan käyttöä energian lähteenä ja vähentää solujen glukoosin käyttöä (Nakrani & Wineland, 2022). Paastotilassa aktivoituu myös lisämunuaisen ytimestä erittyvän adrenaliinin vaikutus glukoosivarastoihin. Se toimii kuten glukagoni, eli aktivoi signaalivälitysketjuja, jotka johtavat glykogenolyysiin samalla estäen glykogeneesia. (Han et al., 2016.)

3 Ylipaino ja tyypin 2 diabetes

Tyypin 2 diabetes on nopeasti yleistynyt ja vakava krooninen sairaus, joka koskettaa eri väestöryhmiä ympäri maailmaa. Sairastumisriskiin vaikuttavat sekä perimä, että ympäristö. Isoja riskitekijöitä sairaudelle ovat muun muassa ylipaino, sekä vähäinen fyysinen aktiivisuus. (Dendup et al., 2018; Fletcher et al., 2002; K. S. Park, 2011.)



Kuva 1. Tyypin 2 diabeteksen riski suhteessa painon muutokseen. Vertailukohteena on seurattu 10 vuotta miehiä ja 18 vuotta naisia, joilla ei paino ole muuttunut kyseisenä aikana. Sukupuolesta riippumatta painon lisääntyminen lisää riskiä sairastua tyypin 2 diabetekseen. (Magkos et al., 2020.)

Tyypin 2 diabetekselle on ominaista insuliiniresistenssi ja kudosten tarpeisiin nähden liian alhainen insuliinin erityös sekä kohonnut veren glukoosipitoisuus (American Diabetes Association, 2020). Tyypin 2 diabetes voidaan diagnosoida oirettomalla potilaalla joillakin seuraavista kriteereistä. Paastoglukoosin arvo on vähintään 7.0 mmol/l (paasto vähintään 8

tuntia), kahden tunnin arvo glukoosirasituskokeessa vähintään 11.1 mmol/l, tai pitkäaikaisverensokeri (HbA1C) vähintään 6,5 % (48 mmol/mol). (American Diabetes Association, 2020; Tyypin 2 Diabetes: Käypä Hoito -Suositus, 2020.) Oireettomalla potilaalla diagnoosiin vaaditaan poikkeavaa tulosta kahdessa eri mittaustuloksessa, tai yhden poikkeavan mittaustuloksen tarkistusta eri päivänä. Plasman glukoosiarvon ollessa vähintään 11.1 mmol/l potilaalla, jolla on klassisia diabetekseen liittyviä oireita (jano, selittämätön painon putoaminen, suuret virtsamäärät), voidaan diabeteksen diagnoosi asettaa suoraan. (Tyypin 2 Diabetes: Käypä Hoito -Suositus, 2020.)

Yhdysvalloissa vuosina 2011–2012 diabetesta sairastavia ihmisiä oli noin 14,3 % väestöstä. Tähän luetaan mukaan diagnosoimattomat yksilöt, joiden osuus on arviolta jopa 5,2 % väestöstä (Menke et al., 2015). Prediabetesta (kts. seuraava kappale) Yhdysvalloissa esiintyy jopa 38 %:lla väestöstä. Eli yhteenlaskettuna prediabeteksen ja diabeteksen osuus väestöstä on arviolta yli 50 %. (Menke et al., 2015.) Maailmalla yli 95 % diabetesta sairastavista henkilöistä on tyypin 2 diabeetikkoja (WHO, 2024). Suomessa on arviolta noin 400 000 (7,2 %) diagnosoitua ja 50 000–100 000 diagnosoimatonta tyypin 2 diabetes -potilasta (2021) (Diabetesliitto). Vaikka vain osa ylipainoisista ihmisistä sairastuu tyypin 2 diabetekseen, ylipaino on yksi merkittävä riskitekijä siihen sairastumisessa (S. Kahn et al., 2006). Diabeteksen kehittymisen riski nousee BMI:n (body mass index) noustessa. Riski kasvaa noin 20-kertaiseksi normaalipainoiseen verrattuna, jos BMI on 30–34.9 kg/m² ja noin 38-kertaiseksi, jos BMI on 35 kg/m² tai korkeampi. Myös korkea vyötärö-lantio suhde, joka korreloi viskeraalirasvamassan kanssa, ennustaa itsenäisesti tyypin 2 diabeteksen kehittymistä. (Maggio & Pi-Sunyer, 2003.)

3.1 Prediabetes

Prediabetes tarkoittaa tyypin 2 diabetesta edeltävää tilaa, jossa veren glukoosiarvot ovat normaalia korkeammat, mutta eivät täytä vielä diabeteksen kriteerejä. Yleisesti prediabetekseen liittyvistä veren glukoosiarvoista käytetään nimityksiä heikentynyt glukoosinsieto (IGT) ja kohonnut glukoosin paastoarvo (IFG). WHO (World health organisation) määrittelee kohonneen paastoglukoosin arvoksi 6,1–6,9 mmol/l. ADA:n mukaan taas kohonneen paastoglukoosin arvo on 5,6–6,9 mmol/l. Heikentyneestä glukoosinsiedosta puhutaan silloin, kun kahden tunnin glukoosirasituskokeessa (75 g glukoosia suun kautta annosteltuna) glukoositaso on 7,8–11,0 mmol/l. Lisäksi ADA:n

mukaan HbA1c (hemoglobiinin glykeeminen muoto) arvo 5,7–6,4 % on kriteerinä prediabetekselle. Prediabeetikolla on korkea riski sairastua diabetekseen. (Tabák et al., 2012.)

Pitkään ajateltiin, että tyypin 2 diabeteksen eteneminen prediabeteksestä tyypin 2 diabetekseksi on väistämätöntä. Luultiin, että ennen pitkää kaikki prediabeetikot tarvitsisivat suun kautta otettavia hypoglykemiaan tarkoitettuja lääkkeitä ja lopulta insuliinia. Nykyään tiedetään, että hiilihydraatti- ja rasva-aineenvaihdunnan normalisoinnilla voidaan estää tyypin 2 diabeteksen kehittyminen prediabeetikoilla. Tyypin 2 diabetes voidaan ajatella palautuvana metabolisena tilana, jonka aiheuttaa muun muassa liiallinen elinten sisäinen rasva. Itse diabetesta ei voida kokonaan parantaa, mutta se voidaan saada remissioon oikeilla elintavoilla. Tällöin diabeteksen kliiniset löydökset ja potilaan oireet vähenevät. (Taylor, 2013.) Haimasta tehdyt histologiset tutkimukset osoittavat tyypin 2 diabetesta sairastaneiden ihmisten beetasolujen määrän vähentyneen noin puoleen verrattuna ei-diabeetikoihin (Butler et al., 2003.). Beetasolujen tuhoutuminen kuitenkin lisääntyy, kun diabeteksen kesto pitenee (Rahier et al., 2008). Tarkkaa beetasolujen määrää tyypin 2 diabeteksen remissioon saaneilla potilailla ei tiedetä. On kuitenkin selvää, että tyypin 2 diabetesta sairastavalla ainakin iso osa beetasoluista ei ole pysyvästi vaurioituneita, vaan pikemminkin metaboliselta toiminnaltaan heikentyneitä. (Taylor, 2013.) Tämä beetasolujen heikentynyt toiminta liittyy suurelta osin insuliinin vajaaseen eksosytoosiin beetasoluista, johon vaikuttaa ATP-riippuvaisten kaliumkanavien vajavainen toiminta (Bonfanti et al., 2015).

3.2 Insuliiniresistenssin ja beetasolujen vajaatoiminnan kehittyminen tyypin 2 diabeteksessa

Insuliiniresistenssi määritellään tilaksi, jossa kohdekudoksien vaste insuliinille on merkittävästi heikentynyt, jolloin glukoosin siirtyminen kohdekudoksiin vaatii normaalia suuremman insuliinimäärän (C. R. Kahn, 1978). Insuliiniresistenssi ja beetasolujen toimintahäiriöt ovat tärkeimmät patofysiologiset tekijät, jotka johtavat tyypin 2 diabeteksen syntymiseen. Lihasten ja rasvakudoksen insuliiniresistenssi on yksi merkittävistä ensimmäisenä huomattavista vaiheista tyypin 2 diabeteksen kehityksessä. (K. F. Petersen et al., 2012.)

Liiallisen energiansaannin seurauksena rasvasolujen koko kasvaa, mikä lisää niiden apoptoosia, koska happea ei ole tarjolla riittävästi laajentuneiden rasvasolujen käyttöön (Arner et al., 2010; Suganami et al., 2005). Lisäksi liiaksi laajentunut rasvasolukko vapauttaa verenkiertoon vapaita rasvahappoja, reaktiivisia happiradikaaleja ja pro-inflammatorisia

sytokiineja, jotka houkuttelevat paikalle tulehdussoluja aiheuttaen tulehdusreaktion, mikä heikentää sekä rasvakudoksen, että koko kehon insuliiniherkkyyttä. Rasvahappojen lisääntynyt erityis verenkiertoon johtaa muun muassa lihasten ja maksan rasvoittumiseen. Näiden kudosten rasvoittuminen puolestaan saa aikaan edelleen matala-asteista tulehdusta ja insuliiniresistenssiä. (Longo et al., 2019.)

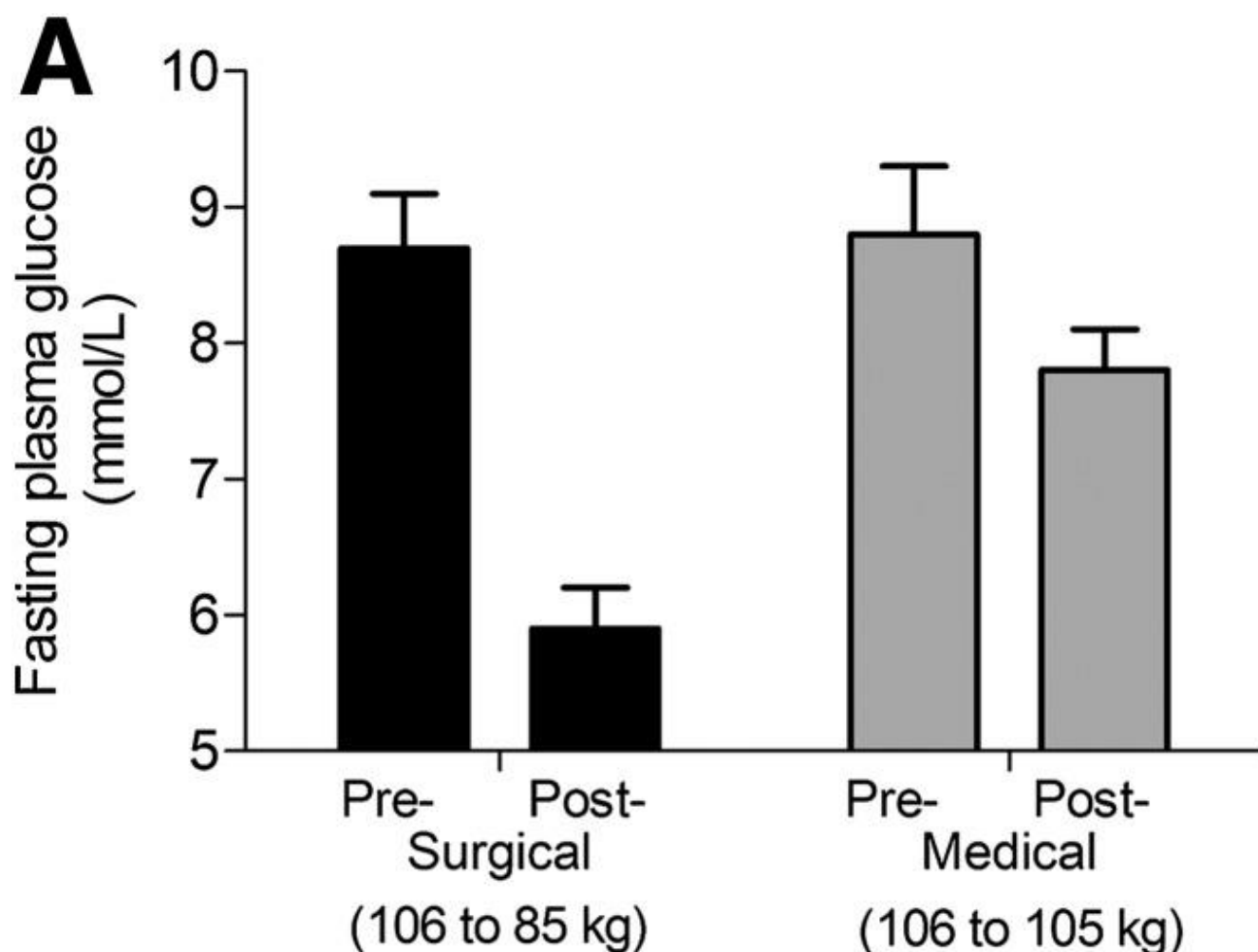
Insuliiniresistenssissä veren glukoosipitoisuus ei laske yhtä tehokkaasti tietyn insuliinimäärän vaikutuksesta, jolloin haiman beetasolut joutuvat tuottamaan enemmän insuliinia kuin normaalissa tilanteessa. Insuliiniresistenssin pystyy siis havaitsemaan paastossa plasman kohonneesta insuliinimäärästä. Kohonnut plasman insuliini ei kuitenkaan aiheuta tyypin 2 diabeteksen tyypillisiä seurauksia (retinopatia, neuropatia ja nefropatia), vaan näiden patologisten muutosten taustalla on kohonnut veren glukoosipitoisuus. (Withers & White, 2000.) Tyypin 2 diabeteksen vaikeusaste on suoraan verrannollinen hyperglykemiaan ja insuliiniresistenssistä aiheutuviin seurauksiin (Hunter & Garvey, 1998). Veren insuliini- ja glukoosipitoisuuksien ollessa koholla myös veren rasva-arvot ovat usein koholla, potilaalla on korkea verenpaine ja ylimäärin rasvaa kehossa (Thomas et al., 2019). Alkuvaiheessa insuliinin lisäeritys riittää kompensoimaan verensokerin määrää veressä. Kun tämä tilanne pitkittyy ja beetasolut joutuvat tuottamaan yhä enemmän ja enemmän insuliinia glukoosihomöostasian säilyttämiseksi, ne lopulta väsyvät ja insuliinin tuotanto vähitellen saattaa loppua. Lopulta veren glukoosipitoisuus nousee patologiselle tasolle ja seurauksena on tyypin 2 diabetes diagnoosi. (Ahmed et al., 2021.)

3.3 Tyypin 2 diabeteksen riskitekijät ja niihin vaikuttaminen

Tiettyjen geenien muutosten on todettu olevan yhteydessä diabeteksen varhaisiin ilmenemismuotoihin, mutta yksiselitteistä mekanismia tyypin 2 diabetekseen ei olla löydetty (Withers & White, 2000). Taudin etiologia eli taudin kehittymisen syy onkin polygeeninen, eli myös ympäristötekijät vaikuttavat taudin syntyyn vahvasti (Wilcox, 2005). Vahvimmin tyypin 2 diabeteksen syntyyn vaikuttavat ympäristötekijät ovat ylipaino, vähäinen fyysinen aktiivisuus, ruokavalio, tupakan ja alkoholin käyttö, stressi, huono unenlaatu, sekä ilmansaasteet (Dendup et al., 2018).

Ajoissa aloitettu elintapojen muutos, eli vähäkalorinen ruokavalio, sekä fyysisen aktiivisuuden lisääminen painon vähentämiseksi, on tehokas tapa estää tyypin 2 diabeteksen etenemistä. Niillä yksilöillä, joilla on geneettinen alttius pre- ja tyypin 2 diabetekseen, taudin riski kasvaa suorassa suhteessa kehon rasvan määrään. (Magkos et al., 2020.) Tiedetään, että

painon pudottaminen saa aikaan veren glukoosiarvojen paranemista. Painonpudotuksen määrä onkin suoraan verrannollinen veren sokeriarvojen paranemiseen. (Dixon et al., 2008.) Usein potilaat eivät kuitenkaan onnistu pudottamaan painoa pitkällä aikavälillä pelkästään liikunta- ja ruokailutottumuksia muuttamalla. Elintapojen muutosten ohella, tehokas tapa painon pudottamiseen on bariatrisen leikkaus (Kuva 2.). (Taylor, 2013.) Jopa 60–80 % näistä leikkauksista saa vaikeasti lihavilla tyyppin 2 diabeetikoilla plasman glukoositason normaaliksi (Dixon et al., 2008). Leikkauksen yhdistäminen sen jälkeiseen lääkehoitoon ja terveellisiin elintapoihin on hyvä tapa estää painon uudelleenousu (Nor Hanipah et al., 2018).

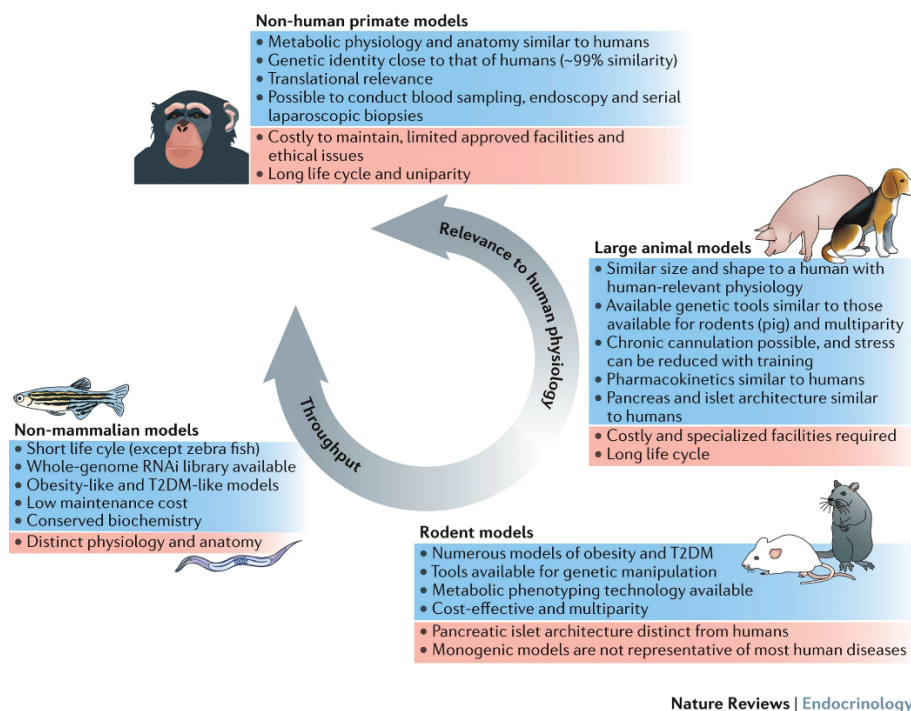


Kuva 2. Tyyppin 2 diabetesta sairastavat potilaat jaettiin satunnaisesti kahteen ryhmään. Ensimmäiseen ryhmään kuuluville tehtiin mahalaukun sidontaleikkaus ja toiselle ryhmälle aloitettiin intensiivinen lääkehoito painon pudottamiseksi ja glukoositasapainon hillitsemiseksi. Kummallakin interventiolla saatiin aikaiseksi merkittävä muutos plasman paastoglukoosin arvoon. Kuvassa on esitetty plasman glukoosiarvot ja painon muutos kahden vuoden jälkeen hoidon aloittamisesta. Plasman paastoglukoosiarvo pieneni normaaliarvoihin leikkauksen avulla, mutta lääkkeellisellä hoidolla vain hieman. (Taylor, 2013.)

4 Prekliiniset mallit tyyppin 2 diabeteksen tutkimuksessa

Diabeteksen tutkimiseen käytetään eri eläinlajeja laajalla skaalalla. Jokaisella eläinlajilla on tutkimuksissa omat etunsa ja haittansa. Karkeasti jaoteltuna on olemassa neljä eri koe-eläinryhmää: ei-nisäkkäät, jyrsijät, isot eläimet ja kädelliset (Kuva 3.). Mitä kaukaisempaa sukua eläin on ihmiselle, sitä halvempaa ja helpompaa tutkiminen on: niillä on esimerkiksi yksinkertaisempi perimä, jonka muokkaamiseen ihmisillä on enemmän välineitä ja se vaatii vähemmän resursseja. Ei-nisäkkäillä on lyhyt elinikä ja niille on helpompaa tehdä geenien muokkausta kuin nisäkkäille. Yleisimpiä ei-nisäkkäitä tutkimuskäytössä ovat seeprakala, sukkulamato (*c. elegans*), sekä banaanikärpänen. Ne ovat kuitenkin fysiologialtaan ja anatomialtaan kaukana ihmisestä, mikä vaikuttaa tutkimustulosten soveltamiseen. Isommat eläimet, kuten koira ja sika, vastaavat paremmin ihmisen fysiologiaa kuin esim. selkärangattomat. (Kleinert et al., 2018.) Kädellisiä (kuten simpanssi) käytetään myös esimerkiksi rokotekehittelyssä ja eri hoitomuotojen testaamisessa ennen ihmisillä tehtäviä kokeita, mutta niiden käyttö on melko harvinaisia (Harding, 2017). Haittapuolena isommissa eläimissä ovat isot ylläpitokustannukset ja niiden pitkä elinikä. Eläinlajeilla, joilla on pitkä elinikä, yksi emo tuottaa vain vähän jälkeläisiä, joten laajan aineiston saaminen tutkimukseen nopeasti ja kustannustehokkaasti on hankalaa. Kädellisten samankaltaisuus ihmiseen verrattuna tuo myös monenlaisia eettisiä haasteita. (Carvalho et al., 2019.)

Usein eläintutkimuksia tehdään jyrsijöillä, sillä niiden fysiologia vastaa ihmistä riittävässä määrin (Kleinert et al., 2018). Noin 61 % kaikista prekliinisistä tutkimuksista Euroopan Unionissa tehtiin hiirillä ja toiseksi yleisimmin käytettiin rottia (13,9 %) (European Parliament Report, 2013). Hiiriä käytetään usein tutkimuksessa, muun muassa sen takia, että niiden geenien muokkaamiseen on olemassa paljon työkaluja. Hiiret myös saavat paljon poikasia (6–12 pentua poikuetta kohden) ja niillä on lyhyt lisääntymissykli. Ne saavuttavat sukukypsyyden 4–8 viikkoa syntymästä ja kantoaika kestää vain kolme viikkoa. (Kleinert et al., 2018.) Hiirissä on myös huonoja puolia, kuten niiden pieni koko. Tämän takia niiltä on vaikea kerätä esim. riittävässä määrin veri- ja kudospäytteitä, sekä niille on hankalaa tehdä muun muassa erilaisia kirurgisia toimenpiteitä. (Lee et al., 2017.) Rotat tulevat sukukypsiksi hiiriä myöhemmin: urokset 6–10 viikon iässä ja naaraat 8–12 viikon iässä. Rotilla tehtävät toimenpiteet on kuitenkin helpompi toteuttaa niiden isomman koon vuoksi. (Katherine Quesenberry & Boschert, 2020.)



Kuva 3. Ylipainon ja tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa käytetään monia eri eläinlajeja, joilla on kaikilla omat etunsa ja haittansa. Yleistäen mitä kaukaisempaa sukua laji on ihmiselle, sitä halvempaa niiden tutkiminen on ja sitä enemmän on kehitetty välineitä geenien muokkaamiseen. Toisaalta ihmiselle läheistä sukua olevilla lajeilla samankaltaisen fysiologian ja anatomian vuoksi tutkimustulokset ovat paremmin yleistettävissä ihmisiin. Ihmistä lähempänä olevilla lajeilla on kuitenkin pitkä lisääntymissykli ja ylläpitokulut ovat kalliimmat. (Kleinert et al., 2018.)

4.1 Eläinkokeet käytännössä

Eläinmalleja on jo pitkään käytetty hyödyksi tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa. Niitä tarvitaan osana tutkimusprosessia, sillä eläimillä voidaan tutkia taudinkulun mekanismeja. Eläinmalleilla voidaan esimerkiksi tutkia tiettyjen geenimuunnosten vaikutuksia taudinkuvaan, tai diabeteksen tapauksessa esimerkiksi selvittää haiman saarekkeiden solujen toimintamekanismeja. Eläinkokeita valvotaan tarkasti ja niiden tekemiselle on tarkka ohjeistus. Nykyään yksi tärkeistä säännöistä eläinkokeissa on se, että niissä täytyy käyttää alkeellisinta mahdollista eläintä halutun tiedon saavuttamiseksi. Esimerkiksi lupaa ei myönnettäisi haiman poistoon koiralla, jos samanlainen koe voitaisiin toteuttaa jyräjällä. (Rees & Alcolado, 2005.) Eläinkokeiden toteuttamista ohjaa kolmen R:n sääntö (replacement, reduction, refinement), jolla pyritään mahdollisimman laadukkaaseen ja tehokkaaseen eläintutkimuksen toteuttamiseen. Termi ”replacement” ohjaa tutkijoita korvaamaan elävät eläimet elottomalla materiaalilla aina kun mahdollista. ”Reduction” kehottaa tutkijoita käyttämään mahdollisimman pientä määrää eläimiä tarvittavan tiedon saamiseksi.

”Refinement” muistuttaa siitä, että eläimiä, joita vielä käytetään eläinkokeissa, on kohdeltava mahdollisimman inhimillisesti. (Gorzalczany & Rodriguez Basso, 2021.)

Tyypin 2 diabetekselle tyypillinen hyperglykemia voidaan toteuttaa eläimille eri tavoilla. On hyvä muistaa, että kaikki tyypin 2 diabetesta sairastavat ihmiset eivät ole ylipainoisia, joten on kehitetty myös normaalipainoisia eläinmalleja tyypin 2 diabeteksen tutkimukseen. Näihin kuuluu muun muassa eläinmalleja, joilla on beetasolujen toiminnan puutetta tai häiriöitä. (Weir et al., 2009.) Eläimiltä on mahdollista esimerkiksi poistaa haima joko osittain tai kokonaan. Toinen vaihtoehto hyperglykemian aikaansaamiseksi on haiman vahingoittaminen erilaisilla myrkyillä, kuten streptotsotosiinilla tai alloksaanilla. Jatkotutkimuksina voidaan yrittää hoitaa hyperglykemiaa insuliinihoidoilla, tai suun kautta otettavilla diabeteslääkkeillä. Tutkimuksissa on havaittu, että on lähes mahdotonta palauttaa veren normaalia glukoosipitoisuutta, jos eläimen haima on poistettu osittain tai kokonaan. (Rees & Alcolado, 2005.)

4.2 Geneettiset mallit tyypin 2 diabeteksen tutkimisessa

Vaikka ihmisessä ylipaino ei liity yleisesti vain yksittäiseen geenimutaatioon, käytetään eläimillä monogeenisiä malleja tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa melko yleisesti, koska silloin saadaan tutkittua juuri tietyn geenin osuutta diabeteksessa (King, 2012). Tämän lisäksi homogeenisen kannan ansiosta voidaan tutkimuksiin ottaa pienempiä otoskokoja (Doulberis et al., 2020).

Yksi käytetyimmistä monogeenisistä rottakannoista on Zucker Diabetic Fatty-rotta. Tämä rottalaji on jalostettu tutkimuskäyttöön luonnollisen mutaation jälkeen polveutuneesta diabeettisesta rottakannasta (Capcarova & Kalafova, 2019). Tällä kannalla mutaatio molemmissa leptiinireseptorigeenin alleelissa johtaa tyypin 2 diabeteksen kehittymiseen runsasenergisellä ruokavaliolla. Näiden rottien genomissa ei ole toimivaa leptiinireseptoria koodaavaa geeniä. Leptiini aiheuttaa kylläisyyden tunnetta. Kun leptiinireseptorit puuttuvat, rotilla tapahtuu ylensyöntiä, joka aiheuttaa ylipainoa. (Al-awar et al., 2016.) Ylipainoisille ZDF urosrotille kehittyy hyperlipidemia, kohonnut verenpaine, sekä korkea veren korkea insuliinitaso yhdessä kohonneen veren glukoosipitoisuuden kanssa. Näille rotille insuliiniresistenssi ja huonontunut glukoosin sietokyky kehittyy kolmesta kahdeksaan viikkoa syntymän jälkeen. Noin kymmenen viikon ikäisenä veren glukoosipitoisuus on rotilla huipussaan. (Pandey & Dvorakova, 2019.)

4.3 Ylipainoiset eläinmallit tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa

Eläinmallit, joita käytetään kakkostyypin diabeteksen tutkimukseen ovat monesti ylipainoisia, koska ylipaino on iso riskitekijä insuliiniresistenssille ja tyypin 2 diabeteksen kehitykselle. Koe-eläinten ylipainon saavuttamiseksi on eri keinoja. Ylipaino voi olla joko luonnollisten mutaatioiden tulosta tietyillä jalostetuilla kannoilla, tai se voidaan saavuttaa muokkaamalla eläinten perimää. (Taylor, 2013.)

Hyvä esimerkki jalostetusta rottakannasta, jolla tutkitaan ylipainon yhteyttä tyypin 2 diabetekseen, on Goto Kakizaki -rottakanta. Tämä kanta on jalostettu Wistar-rotista siten että on valittu yksilöitä lisääntymään keskenään, joilla on heikoin glukoosinsietokyky monien sukupolvien ajan. Tuloksena on syntynyt rottakanta, jolle kehittyy aikuisiässä hyperglykemia. (GOTO et al., 1976.) Tunnetuin geenimuunneltu ylipainoinen eläinmalli on puolestaan Zucker-rotta, jolla homotsygoottinen FA-alleeli saa aikaan huomattavan ylipainon 3–5 viikon sisällä syntymästä. Tämä mutaatio rotilla aiheuttaa muutoksen leptiinireseptorissa ja aiheuttaa hormonitasapainon häiriöitä. (Aleixandre de Artiñano & Miguel Castro, 2009.)

Vaihtoehtoisesti ylipaino voidaan aiheuttaa rotille syöttämällä niille energiatiheää rasvarehua (King, 2012).

4.4 Rasvasyöttö tyypin 2 diabeteksen aikaansaajana eläinmalleilla

Keskityn tässä kirjallisuuskatsauksessa rasvasyötöllä aikaansaatuihin rottaylipainomalleihin, joita käytetään tyypin 2 diabeteksen tutkimuksessa, sillä tällaisia rottia käytettiin eläinmallina opinnäytetyössäni. Rasvasyöttö eli rasvapitoisen ruoan antaminen rotille on yksi yleisistä keinoista, jota käytetään insuliiniresistenssin ja tyypin 2 diabeteksen tutkimukseen.

Rasvasyöttö voi johtaa ylipainoon, hyperinsulinemiaan ja muuttuneeseen glukoosihomeostasiaan haiman saarekkeiden riittämättömän toiminnan takia. (Winzell & Ahrén, 2004.) Rasvasyötössä rottien annetaan vapaasti syödä kaloritiheää, rasvaista rehua. Rasvarehuissa käytettyjen makroravinteiden määräsuhteet vaihtelevat, mutta rasvaa niissä on aina eniten ja hiilihydraatteja sekä proteiinia lähes saman verran suhteessa toisiinsa. Tyypillisesti rotan normaali ruokavalio muutetaan sellaiseksi, joka sisältää noin 45–60 energiaprosenttia rasvaa. (Storlien et al., 1986.) Lihotuksen onnistuminen edellyttää sitä, että syödyn ruoan määrää seurataan, jotta rasvasyöttöä ei kompensoitaisi entistä pienemmällä rehumäärällä (Winzell & Ahrén, 2004). Tyypillisesti rottien kehonkoostumusta ja

insuliiniresistenssiä mitataan tutkimuksen lomassa, jotta saadaan tietoa etenevästä insuliiniresistenssistä ja painosta (Kleinert et al., 2018).

Koska ihmisillä ylipaino aiheutuu yleisemmin ympäristötekijöiden vaikutuksesta kuin yksittäisten geenien vaikutuksesta, rasvasyötön ajatellaan paremmin kuvaavan tyypin 2 diabeteksen kehittymisen todellisuutta ihmisillä kuin geenimutaatiolla tuotetut ylipainomallit (King, 2012). Lisäksi rasvasyöttö on halvempaa toteuttaa kuin tutkimukset geenimuunnelluilla rotilla. Kaikille rottakannoille rasvasyöttö ei toimi yhtä hyvin. Rasvarehuruokintaan eniten käytetyillä rottalajeilla (Sprague–Dawley, Wistar ja Long-Evans) on ulkosiittoisuutensa vuoksi laaja kirjo geneettisiä variaatiota, joka vaikuttavat yksittäisten rottien lihomiseen. Tällöin tarvitaan laajempi otos, koska lopputulokseen vaikuttavia sekoittavia muuttujia on enemmän. (Kleinert et al., 2018.)

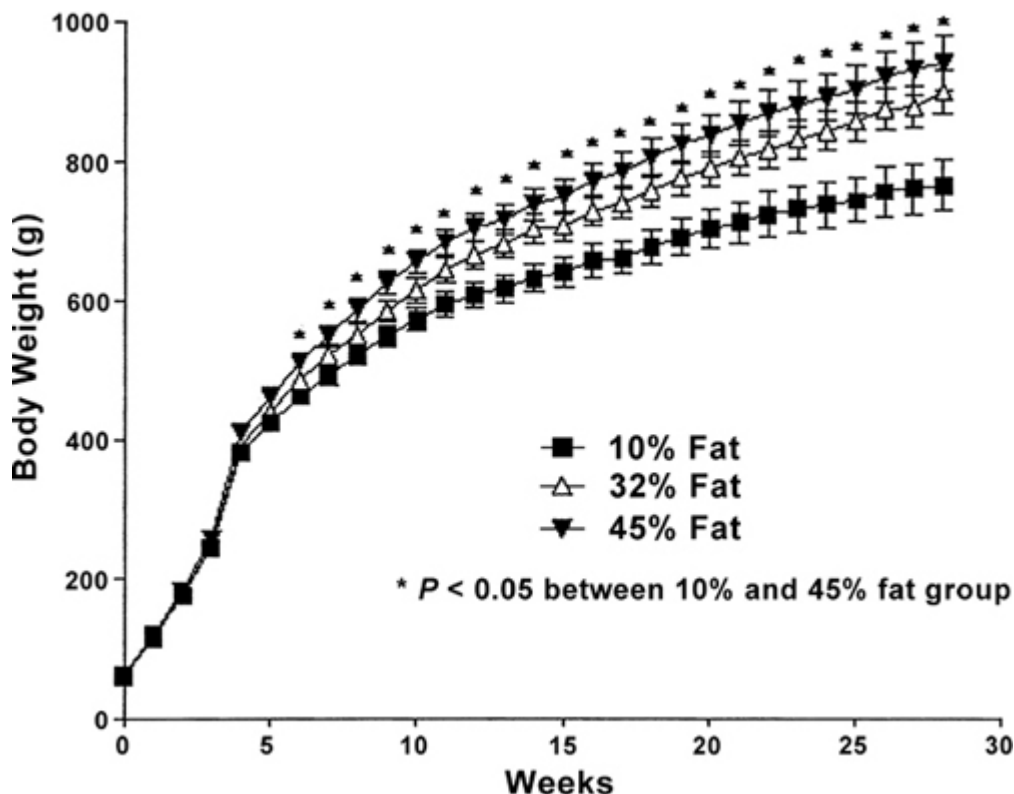
Zucker-rotat lihovat hyvin, mutta niissä on eroa sukupuolien välillä. Ylipainoisille urosrotille kehittyä voimakas hyperglykemia ja hypoinsulinemia neljän vuoden ikään mennessä. Naarilla puolestaan veren glukoosi- ja insuliiniarvot pysyvät normaalina läpi elämän, vaikka niillä olisi yhtä paljon ylipainoa kuin urosrotilla. (Kleinert et al., 2018.)

4.5 Sprague–Dawley-rotat ylipainomalleina

Tässä osiossa kerron Sprague–Dawley-rotista, joita käytettiin eläinmallina tässä opinnäytetyössä. Sprague–Dawley-rottia käytetään usein ylipainomallina, sillä ne kehittyvät melko helposti ylipainoisiksi ja niille kehittyä rasvasyötön seurauksena insuliiniresistenssiä. Ne ovat myös isokokoisia, jonka takia niiltä on helpompi mitata metabolisia parametreja (kuten verenpainetta). (Marques et al., 2016.) Noin puolet Sprague–Dawley-rottien villistä kannasta ovat herkkiä saamaan ylipainoa korkeaenergisellä rasvadieetillä. Toinen puolisko ei saa rasvarehuruokinnasta haettua lisäpainoa, vaan saavat siitä saman verran painon lisäystä kuin normaalista ruoastakin. (Levin, Dunn-Meynell, et al., 2023.)

Ghibaudin tutkimusryhmä tutki Sprague–Dawley-rottien kehonkoostumusta ja veriarvoja rasvasyötön seurauksena. Rotat oli jaettu kolmeen ryhmään, joissa noudatettiin eri rasvapitoisuuden sisältäviä ruokavalioita: kontrolliryhmä (LF, 10 % energiasta rasvaa), välimuotoinen ruokavalio (MF, 32 % energiasta rasvaa) ja rasvainen ruokavalio (HF, 45 energiaprosenttia rasvaa). Kuuden ensimmäisen viikon aikana painoa tuli rotille saman verran kaikissa ryhmissä. Lihomiselle herkkien HF-rottien paino nousi selkeästi seitsemästä viikosta eteenpäin suhteessa kontrolliryhmään, kun taas ei-lihonneet HF-rotat eivät eronneet

painoltaan ja kehonkoostumukseltaan LF-rotista. MF-rottien paino nousi myös verrattuna kontrolliryhmään, mutta tämä ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää (Kuva 4.). Rasvaprosentti HF-rotilla (33,64 %) oli selkeästi korkeampi kuin LF-rotilla (20,75 %). Verikokeissa (ei paasto) tilastollisesti merkitsevä ero oli HF- ja LF-rottien välillä plasman glukoosista, kolesterolista, triglyserideistä, vapaista rasvahapoista, sekä leptiinistä. Insuliinitaso oli ainoa parametri, jossa (tilastollisesti merkitsevää) eroa ei näiden ryhmien välillä ollut. (Ghibaudi et al., 2002.)



Kuva 4. Sprague–Dawley-rottien keskimääräinen kehonpaino kolmen eri ruokavalion seurauksena puolen vuoden aikana. Ruokavaliot eroavat toisistaan rasvapitoisuuksiltaan. Runsarasvaista ruokavaliota noudattaneet rotat lihosivat huomattavasti enemmän kuin vähärasvaista ruokavaliota noudattanut kontrolliryhmä. Myös melko runsarasvaista rehua syöneet rotat lihosivat kontrolliryhmää enemmän, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevää. (Ghibaudi et al., 2002.)

4.6 Insuliiniherkkyden mittaamenetelmät prekliinisissä malleissa

Ihmisillä kultainen standardimenetelmä mitata kehon insuliiniherkkyttä on euglykeeminen hyperinsulineeminen clamp-tutkimus (DeFronzo et al., 1979). Siinä plasman glukoositaso pidetään koko ajan vakiona muuttuvan glukoosi-infuusion avulla samalla kun ylläpidetään plasman hyperinsulinemiaa vakionopeuksisen insuliini-infuusion avulla. Normaalisti poikkijuovainen lihas käyttää clamp-tutkimuksessa noin 80 % annetusta glukoosista, kun taas

tyypin 2 diabeteksen potilaalla tämä lukema pienenee noin puoleen. (Mäkinen et al., 2013.) Clamp on työläs, intensiivinen ja teknisesti vaikea menetelmä (Muniyappa et al., 2009). Clamp-menetelmää ja siitä laskettavaa M-arvoa on käytetty myös tässä opinnäytetyössä mitattaessa rottien koko kehon insuliiniherkkyyttä.

Oral glucose tolerance test (OGTT) on toinen yleisesti käytetty menetelmä insuliiniresistenssin arvioimiseen. Siinä testataan, miten plasman glukoosiarvo muuttuu suun kautta otetun glukoosiannoksen jälkeen. Usein eläimillä tätä käytetään myös mittaamaan lääkkeen vaikutusta plasman glukoosiarvoon suun kautta otetun annoksen jälkeen. (Rafiqul Khan et al., 2009.) Eläimillä voidaan myös tutkia intervention vaikutuksia insuliiniherkkyyteen OGTT:n avulla (Saengsirisuwan et al., 2009).

RIST (rapid insulin sensitivity test) on euglykeeminen testi, joka toteutetaan mittaamalla veren glukoosiarvoja insuliini-infuusion pysyessä vakiona. Testissä glukoosia annetaan suonensisäisesti vaihtuvalla nopeudella yrittäen pitää veren glukoosipitoisuus tasaisena normaaliarvona. Testiä toistetaan viiden minuutin intervalleissa niin kauan, kunnes glukoosia ei enää tarvita euglykemian ylläpitoon. RIST-indeksi kertoo glukoosin määrän, joka piti antaa euglykemian säilyttämiseksi insuliini-infuusion aikana. Suurin osa insuliiniherkkyytsteistä tehdään paastotilassa, mutta RIST voidaan toteuttaa myös ruokailun jälkeen. (Patarrão et al., 2014.)

Muita insuliiniherkkyyden mittaamenetelmiä ovat paastoinsuliini ja paastoglukoosiarvot, joiden perusteella voidaan laskea HOMA-IR indeksi (homeostasis model index of insulin resistance) (Mather, 2009; Rodríguez-López et al., 2021).

5 Liikunta tyypin kaksi diabeteksen ennaltaehkäisyssä

Liikunnan lisääminen on yksi ensimmäisistä elämäntapaohjeista diabeteksen varhaisvaiheissa, joissa potilaalla on kohonnut paastoglukoosiarvo, tai heikentynyt glukoosinsieto OGTT:ssa. Liikuntaa käytetään myös hoitomuotona tyypin 2 diabetes -diagnoosin saaneilla potilailla. Yhdessä ruokavaliomuutosten kanssa liikunta on keskeisessä asemassa tyypin 2 diabeteksen ehkäisyssä ja hoidossa. Kaikenlainen liikunta (aerobinen, HIIT-harjoittelu, voimaharjoittelu) parantaa kehon glukoosiaineenvaihduntaa. Eri liikuntamuodoilla on kuitenkin eroja vaikutuksen määrissä. Sydän- ja verenkiertoelimistön hyötyjen lisäksi liikunta parantaa lihasten, rasvakudoksen, maksan sekä haiman toimintaa. (Kirwan et al., 2017.)

Säännöllisen liikunnan on osoitettu laskevan HbA1c-tasoja. Yleisesti mitä korkeampi-intensiteettistä liikuntaa harrastaa, sitä enemmän HbA1c-tasot laskenevat (Boulé et al., 2003). Glukoosiaineenvaihdunnassa tapahtuvien positiivisten muutosten lisäksi liikunnan on todettu laskevan vapaiden rasvahappojen ja triglyseridien määrää veressä, sekä laskevan verenpainetta. Koska insuliiniresistenssi aiheuttaa rasvakudoksen toiminnan häiriöitä ja sitä kautta rasvahappojen sekä triglyseridien määrän nousua veressä, voidaan päätellä, että veren triglyseridien määrän vähentyessä myös kehon insuliiniherkkyys paranee. (Kirwan et al., 2017.)

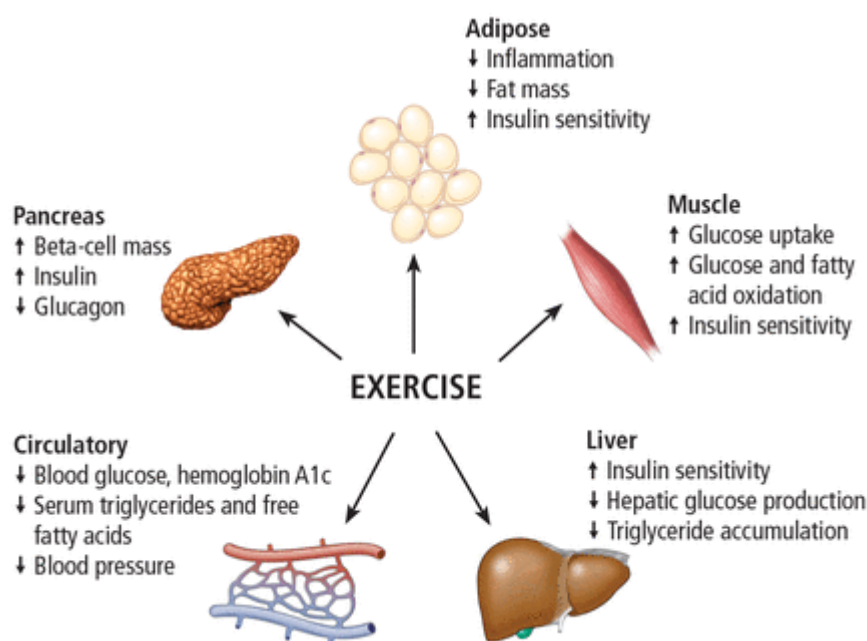
Liikunta parantaa glukoosin ottoa lihakseen sekä insuliinista riippuvaisella, että riippumattomalla mekanismilla (Hawley & Lessard, 2008). Lihakseen siirtyy terveillä tutkimusolosuhteissa noin 80 % veren glukoosista insuliinin vaikutuksesta. Tämän takia lihaksistolla on merkittävä rooli koko kehon glukoosiaineenvaihdunnan ja insuliiniherkkyuden kannalta. Koska lihas on erittäin muovautumiskykyinen kudoks, säännöllisen liikunnan aiheuttamat sopeutumukset voivat ehkäistä tai viivästyttää tyypin 2 diabeteksen kehittymistä parantamalla insuliinivälitteistä glukoosin soluun ottoa myös lepotilassa. (Santos et al., 2008.) Lihassupistus lisää glukoosin ottoa lihakseen aktivoimalla GLUT4-reseptorien siirtymistä solukalvolle, josta glukoosi pääsee lihaksen sisään (dos Santos et al., 2015). Aerobinen harjoittelu lisää lihaksen mitokondrioiden määrää, sekä oksidatiivisia entsyymejä. Tämä johtaa glukoosin ja rasvahappojen hapettumisen merkittävään parantumiseen, sekä insuliinin signaloinnissa olevien proteiinien ilmenemisen lisääntymiseen. (Kirwan et al., 2017.)

Rasvakudoksessa havaitaan monia positiivisia vaikutuksia liikunnan seurauksena. Liikunta lisää insuliiniherkkyyttä, sekä vähentää tulehdusta rasvakudoksessa. (Kirwan et al., 2017.)

Pitkäaikainen matala-asteinen tulehdus liitetään tyypin 2 diabetekseen ja kohonneeseen sydän- ja verisuonisairauksien riskiin (Dandona et al., 2003). Säännöllinen liikunta erityisesti ruokavaliohoitoon yhdistettynä, voi vähentää rasvamassaa (Petridou et al., 2019).

Aerobinen liikunta parantaa maksan insuliiniherkkyyttä, mikä on keskeistä maksan toiminnan kannalta glukoositasapainon säätelyssä. Maksassa myös tuotetaan liikunnan vaikutuksesta vähemmän glukoosia verenkiertoon (Kirwan et al., 2017).

Perifeeristen kudosten (rasva- ja lihaskudosten) ja maksan ohella aerobinen harjoittelu parantaa haiman beetasolujen toimintaa niillä henkilöillä, joilla on joitakin beetasoluja vielä toiminnassa. (Dela et al., 2004). Myös intensiivisemmät harjoittelumuodot parantavat beetasolujen toimintaa (Madsen et al., 2015).



Kuva 5. Liikunnan metaboliset vaikutukset eri kudoksiin tyypin 2 diabetesta sairastavilla.

5.1 Eri liikuntamuodot eläinmalleilla

Jyrsijöiden liikuntamuotoina käytetään useimmiten vapaaehtoista juoksupyöräjuoksua ja pakotettua juoksumatolla juoksemista. Näillä molemmilla on etunsa ja haittansa. (Fuller & Thyfault, 2020.) Juoksupyöräjuoksu on jyrsijän omasta tahdosta tapahtuvaa ja tapahtuu silloin, kun jyrsijät ovat muutenkin virkeimmillään, eli yöllä (de Bono et al., 2006). Siinä ei kuitenkaan tutkija pääse itse määrittämään juoksun määrää. Vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun avulla voidaan kuitenkin esimerkiksi tutkia muutoksia

liikuntatottumuksissa, kun muita tutkimuksen muuttujia, kuten ruokavaliota, muokataan. (Fuller & Thyfault, 2020.)

Juoksumatolla tapahtuvaa juoksua taas pystytään tarkemmin kontrolloimaan tutkimuksen tarpeiden mukaan. Juoksumattoon voidaan asettaa esimerkiksi tietty juoksumatka, -aika, tai -nopeus. Tämä on jyrksijöille kuitenkin usein hyvin stressaava liikuntamuoto, sillä ne laitetaan uuteen ympäristöön liikkumaan pakotetusti. (Moraska et al., 2000.) Rottia voidaan pakottaa juoksemaan esimerkiksi sähköiskujen tai tönäyksien avulla (Brown et al., 2007). Lisäksi juoksumatolla juokseminen toteutetaan päiväsaikaan, jolloin jyrksijät ovat normaalisti nukkumassa. Tämä häiritsee jyrksijöiden sisäistä kelloa ja vääristää muun muassa ruoansulatuksen säätelyä. Juoksumattojuoksu on myös tutkijoille työläämpää, koska rotat täytyy tietyin väliajoin päästää juoksemaan. (Fuller & Thyfault, 2020.)

Myös uintia käytetään jyrksijöillä liikuntamuotona. Tämä voidaan toteuttaa asettamalla eläimet vesiaستioihin tietyksi ajaksi. Tässä liikunnan rasittavuusastetta voidaan säädellä esimerkiksi antamalla eläimille painoja, tai kelluntavälineitä. Uinnin etuna on se, että siinä saadaan samaan aikaan monia eläimiä uimaan. Eläimet kuitenkin usein alkavat uida hitaampaa, jos harjoitusvastetta ei suurenneta. Vesi ympäristönä voi myös tuottaa eläimelle stressivasteen, joka vääristää tuloksia. (Wang et al., 2010.)

5.2 Sprague–Dawley-rotat, insuliiniresistenssi ja liikunta sen ennaltaehkäisyssä

Opinnäytetyössäni käsittelen vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun vaikutusta insuliiniherkkyyteen ja kehonkoostumukseen Sprague–Dawley-urosrötilia. Tässä kappaleessa esittelen aiempia tutkimustuloksia vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun vaikutuksista insuliiniherkkyyteen ja kehonkoostumukseen tällä rottakannalla.

Lihotetuilla Sprague–Dawley-rotilla on havaittu muutoksia insuliiniherkkyydessä.

Chowdhury tutkimusryhmä havaitsi liikuntaa harrastamattomien rasvarehulla lihotettujen Sprague–Dawley-urosröttien kudosten glukoosinoton (RIST, eli rapid insulin sensitivity test menetelmä) olevan merkittävästi heikompaa kuin normaalirehua syöneiden kontrollieläinten. Vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu näillä lihotetuilla rotilla sai aikaan osittaista kudosten glukoosinoton parantumista. (Chowdhury et al., 2013.) Yun tutkimusryhmä havaitsi koko kehon insuliiniherkkyyden parantuneen uinti-intervention jälkeen rasvarehulla lihotetuilla Sprague–Dawley-urosrötilia (verrattuna liikuntaa harrastamattomiin lihotettuihin) clamp-

tutkimuksessa. Uintia harrastaneiden rottien GIR-arvo (glucose infusion rate) oli palautunut liikuntaa harrastamattoman normaalia rehua syövien kontrollieläinten tasolle rasvarehulihotuksen jälkeen. (Yu et al., 2016.) Myös Zhangin tutkimusryhmä havaitsi rasvarehulla lihotettujen Sprague–Dawley-urosrottien insuliiniherkkyyden parantuneen uintiharjoittelun myötä OGTT:ssa (Zhang et al., 2019). Hanin työryhmä puolestaan havaitsi rasvarehulla lihotetuilla Wistar-naarasrotilla insuliiniresistenssin pienentyneen vapaaehtoista juoksupyöräjuoksua harrastaneilla juoksua harrastamattomiin verrattuna euglykeemisessä clamp-tutkimuksessa. Tässäkin tutkimuksessa rasvarehua syöneillä liikuntaa harrastaneilla rotilla GIR-arvo oli samaa luokkaa kuin normaalirehua syöneillä ei liikuntaa harrastaneilla kontrollirotille. (Han et al., 2001.)

Vapaaehtoisella liikunnalla on vaikutuksia myös kehonkoostumukseen. Juoksupyöräjuoksun on havaittu tutkimuksissa vähentävän painon nousua (normaaliruokavaliolla), erityisesti rasvamassaa (Garvey et al., 2015). Chowdhuryin tutkimusryhmä havaitsi juoksupyöräjuoksua harrastaneilla rasvarehulla lihotetuilla rotilla rasvaprocentin vähenevän verrattuna liikuntaa harrastamattomiin lihotettuihin rottiin. Kehon rasvaton massa ei muuttunut verrattavilla rotilla merkittävästi, joten lihasmassan kasvua ei voida pitää näitä eroja selittävänä tekijänä. (Chowdhury et al., 2013.) Samansuuntaisia tuloksia on löydetty myös muissa tutkimuksissa. Rocha-Rodriguesin tutkimusryhmä havaitsi vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun vähentävän rasvarehulla lihotettujen Sprague–Dawley-urosrottien viskeraalista rasvamassaa Rocha-Rodrigues et al., 2017). Gollischin työryhmä havaitsi naaraspuolisilla Sprague–Dawley-rotilla tehdyssä tutkimuksessa, että runsasrasvaisen dieetin jälkeinen OGTT:lla mitattu insuliiniresistenssi ja liikunnan tuoma parantunut insuliiniherkkyys olivat verrannollisia muutoksiin rottien viskeraalisen rasvan määrässä (Gollisch et al., 2009).

Rottien iällä on havaittu olevan vaikutusta juoksumääriin juoksupyöräjuoksussa. Kariyan tutkimusryhmä havaitsi Sprague–Dawley-urosrotilla tehdyssä tutkimuksessa, että juoksumäärä pieneni iän myötä. Kymmenen viikon ikäisinä rotat juoksivat eniten (noin neljä kilometriä päivässä) ja tämän jälkeen iän lisääntyessä juoksumatka pieneni tutkimuksen loppuun ollen 35 viikon ikäisillä (rottien keski-ikä) rotilla noin 500 metriä päivässä. Myös juoksukertojen määrä päivää kohden oli vähentynyt huomattavasti iän myötä. (Kariya et al., 2004.)

6 Menetelmät

6.1 Eläimet

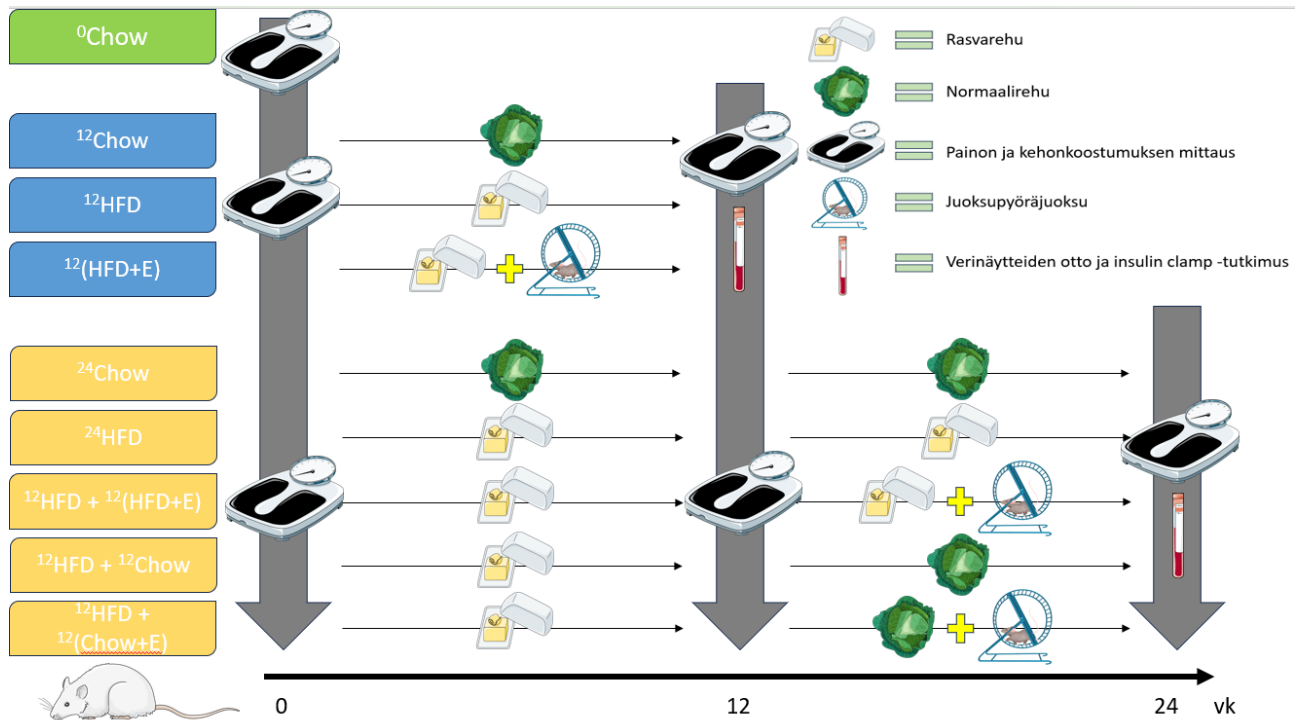
Tällä tutkimuksella on Etelä-Suomen aluehallintoviraston) hyväksyntä (lupnumero ESAVI/4080/2019. Seitsemän viikon ikäiset Sprague–Dawley-urosratat (n=144) hankittiin Turun yliopiston eläinlaboratorion keskuksesta. Rottia pidettiin häkeissä, joiden olosuhteet pidettiin vakiona (12/12 tunnin valo-pimeäsykli, 21°C lämpötila, 55 % ilmankosteus).

Yhdessä häkissä oli kahdesta neljään rottaa. Rotilla oli tarjolla rajattomasti ruokaa ja vettä.

Rotat jaettiin satunnaisesti koeryhmiin kahdeksan viikon ikäisinä.

6.2 Tutkimusasetelma

Tutkittavat ryhmät ja tutkimusasetelma on esitetty kuvassa 6. Rotat jaettiin yhdeksään ryhmään, joille tehtiin eri interventiot, jotka luetellaan seuraavaksi: 1) ei interventiota (ryhmä I), 2) 12 viikon lyhyt interventio (ryhmät II-IV), 3) 24 viikon pitkä interventio (ryhmät V-IX). Ryhmä I (⁰Chow) on ikäkontrolliryhmä, joka kuvaa tutkimuksen lähtötilannetta. Tälle ryhmälle mittaukset suoritettiin ainoastaan kahdeksan viikon ikäisenä.



Kuva 6. Tutkimusasetelma. Paino ja kehonkoostumus mitattiin rotista 0, 12 ja 24 viikon kohdalla. Paastoverinäytteet otettiin ja clamp-tutkimus tehtiin intervention lopuksi 12 ja 24 viikon kohdalla. ⁰Chow, = vertailuryhmä, jota syötettiin normaalilla rehulla; ¹²Chow = kontrolliryhmä, jolle syötettiin 12 viikkoa normaalia rehua; ¹²HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; ¹²(HFD+E) = koeryhmä, joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä ja jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; ²⁴Chow = kontrolliryhmä jolle syötettiin 24 viikkoa normaalia rehua; ²⁴HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(HFD+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan ja juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²Chow = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(Chow+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan ja samalla tämä tyhmä juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan.

Lyhyt interventio (12 viikkoa). 12 viikon interventioryhmiä käytettiin arvioimaan rasvarehun ja liikunnan aiheuttamia lyhytaikaisia vaikutuksia kehonkoostumuksessa ja glukoosiaineenvaihdunnassa. Lyhyen intervention ryhmiä oli kolme kappaletta (Kuva 6).

Pitkä interventio (24 viikkoa). 24 viikoninterventioryhmiä käytettiin arvioimaan rasvarehun ja liikunnan aiheuttamia pidempiaikaisia vaikutuksia kehonkoostumuksessa ja glukoosiaineenvaihdunnassa. Pitkän intervention ryhmiä oli viisi kappaletta. Ryhmien interventiot ja tutkimusasetelma on selitetty kuvassa 6.

6.3 Ruokavalio

Rotilla oli häkeissään vapaasti ruokaa ja vettä tarjolla (*ad libitum*). Riippuen interventiosta rotille syötettiin joko standardoitua vähärasvaista rehua (normaalirehu (Chow)), RM3 (E) soijaton, Special Diets Services, Iso-Britannia; 15,43 MJ/kg: 11,5 % rasvaa, 27,0 %

proteiinia, 61,5 % hiilihydraatteja (5,8 % sokeria), tai runsasrasvaista rehua (rasvarehu (HFD)) (Western Diet, 1,5 % kolesterolia, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Saksa; 21,8MJ/kg: 42,0 % rasvaa, 15,0 % proteiinia, 43,0 % hiilihydraatteja (34,1 % sokeria) 12 tai 24 viikon ajan.

6.4 Vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu

Liikuntaryhmiin jaetuille rotille toteutettiin 12 viikon vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksuinterventio. Vapaaehtoisen juoksupyöräjuoksun ajaksi rotat laitettiin yksittäin häkkeihin, joissa niillä oli pääsy juoksupyöriin (Intellibio, Seichamps, Ranska) 16 tuntia päivän aikana (16.00–8.00) neljänä peräkkäisenä päivänä viikossa. Lepopäivien ajan rotat asuivat kotihäkeissään. Juoksuaika ja -matka mitattiin päivittäin juoksupyörän aktiivisuusjärjestelmällä ja ActiviWheel ohjelmalla (Intellibio, Seichamps, Ranska). Juoksuaika ja -matka mitattiin metreinä ja sekunteina. Juoksuaika raportoitiin tunteina ja juoksumatka kilometreinä. Rotille laskettiin keskimääräinen juoksunopeus (km/h). Juoksumatka raportoidaan kaikkien juostujen päivien keskiarvona metreinä per päivä.

6.5 Paino- ja kehonkoostumusmittaus

Eläimet punnittiin ja kehonkoostumus analysoitiin EchoMRI™ 700 Analyzer -laitteella (EchoMRI LLC, Houston, TX, Yhdysvallat). Paino ja rasvaprosentti mitattiin alkutilanteessa sekä intervention lopuksi. Pitkän intervention ryhmissä nämä mittaukset tehtiin myös intervention puolivälissä 12 viikon kohdalla.

6.6 Paastoverinäytteet

Veren glukoosiarvo mitattiin neljän tunnin paaston jälkeen lateraalisesta häntälaskimosta verensokerimittarilla (Contour XT, Bayer) jokaisen ryhmän intervention lopuksi OGTT:n yhteydessä. Verinäytteet kerättiin litiumhepariini plasman keräysputkiin PST™ plasman erottelugeelillä (Microtainer®, BD). Näytteet sentrifugoitiin 90 sekunnin ajan 12000 x g (Eppendorf MiniSpin) plasman erottamiseksi ja varastoitettiin -80°C:een insuliinin määrittystä varten.

6.7 Insuliinimittaus ja HOMA-indeksi

Intervention lopussa jokaisesta yhdeksästä ryhmästä puolille rotista (n=8) tehtiin hyperinsulineeminen euglykeeminen clamp-tutkimus terminaalianestesiassa. Rotta punnittiin

ja sille annettiin 0,05 mg/kg buprenorfiinia kivun lievittämiseksi, minkä jälkeen rotta nukutettiin isofluraanin ja hapen sekoituksella (4 % isofluraania induktioon, 2,5 % ylläpitoon). Neljä tuntia paastonneelle ja nukutetulle rotalle tehtiin kirurginen reisivaltimon ja -laskimon katetrointi. Katetrit yhdistettiin peristalttiseen pumppuun ja Swisstrace Twilite II ilmaisimeen. Insuliini-clamp aloitettiin 120 mU/kg/min insuliini-infusiolla kolmen minuutin ajan, jonka jälkeen infuusio pidettiin nopeudessa 60 mU/kg/min kunnes veren glukoositaso tippui alle 6,0 mmol/l. Tämän jälkeen insuliini-infuusio laskettiin 18 mU/kg/min nopeuteen loppuajaksi. Glukoosi-infuusio (20 % tilavuus/tilavuus) aloitettiin samaan aikaan. Veren glukoosiarvoa mitattiin (Contour XT, Bayer) ennen clampin aloittamista joka kolmas minuutti ensimmäisen 25 minuutin ajan ja joka viides minuutti tästä eteenpäin. M-arvo laskettiin vähintään 20 minuutin aikajaksolta clamp-tutkimusta, jossa veren glukoosipitoisuus oli mahdollisimman tasainen ja noin 5 mmol/l.

6.8 Tilastolliset menetelmät

Poikkileikkausmuuttujat (M-arvo, paastoinsuliini, -glukoosi, HOMA-indeksi ja juoksupyöräjuoksumuuttujat) raportoidaan keskiarvoina (SD) riippuen aineiston jakaumasta. Normaalijakaumaa tarkasteltiin silmämääräisesti jäännöshistogrammeista ja Q-Q-ploteista. Logaritmi tai neliöjuurimuunnoksia käytettiin aineistoin normaalijakauman saavuttamiseksi. Pitkittäisdataa, eli dataa, joka sisältää toistuvia mittauksia (kuten kehonpaino ja kehonkoostumus), tarkastellaan hierarkkisen sekamuotoisen lineaarisen mallin avulla. Tässä mallissa oli aika-tekijä (subjektin sisäinen) ja ryhmä-tekijä (subjektien välinen), sekä näiden tekijöiden yhdysvaikutus (time x group) Kenward-Rogerin korjauksella. Lisäksi ryhmien välisiä eroja tarkastellaan jokaisessa aikapisteessä kontrastien avulla. Muuttujat raportoidaan mallipohjaisina keskiarvoina ja 95 prosentin luottamusväleinä. Poikkileikkausmuuttujien eroja analysoitiin parametrisella varianssianalyysillä (yksisuuntainen ANOVA). Ryhmien väliset parittaiset vertailut tehtiin joko Tukeyn tai Dunnettin post hoc-testeillä. Pitkittäisdatassa koe-eläimet, joilta puuttuu dataa, sisällytetään tilastolliseen analyysiin käyttämällä lineaaristen sekamallien sisällä olevaa rajoitettua suurinta mahdollista todennäköisyysarviota. Pearsonin tulomomenttikorrelaatiokerroinanalyysi tehtiin muuttujien välisten riippuvuussuhteiden tarkastelua varten. Kaikki tilastolliset testit suoritettiin kaksipuolisina siten, että tilastollinen merkitsevyytaso (p-arvo) asetettiin arvoon 0,05.

7 Tulokset

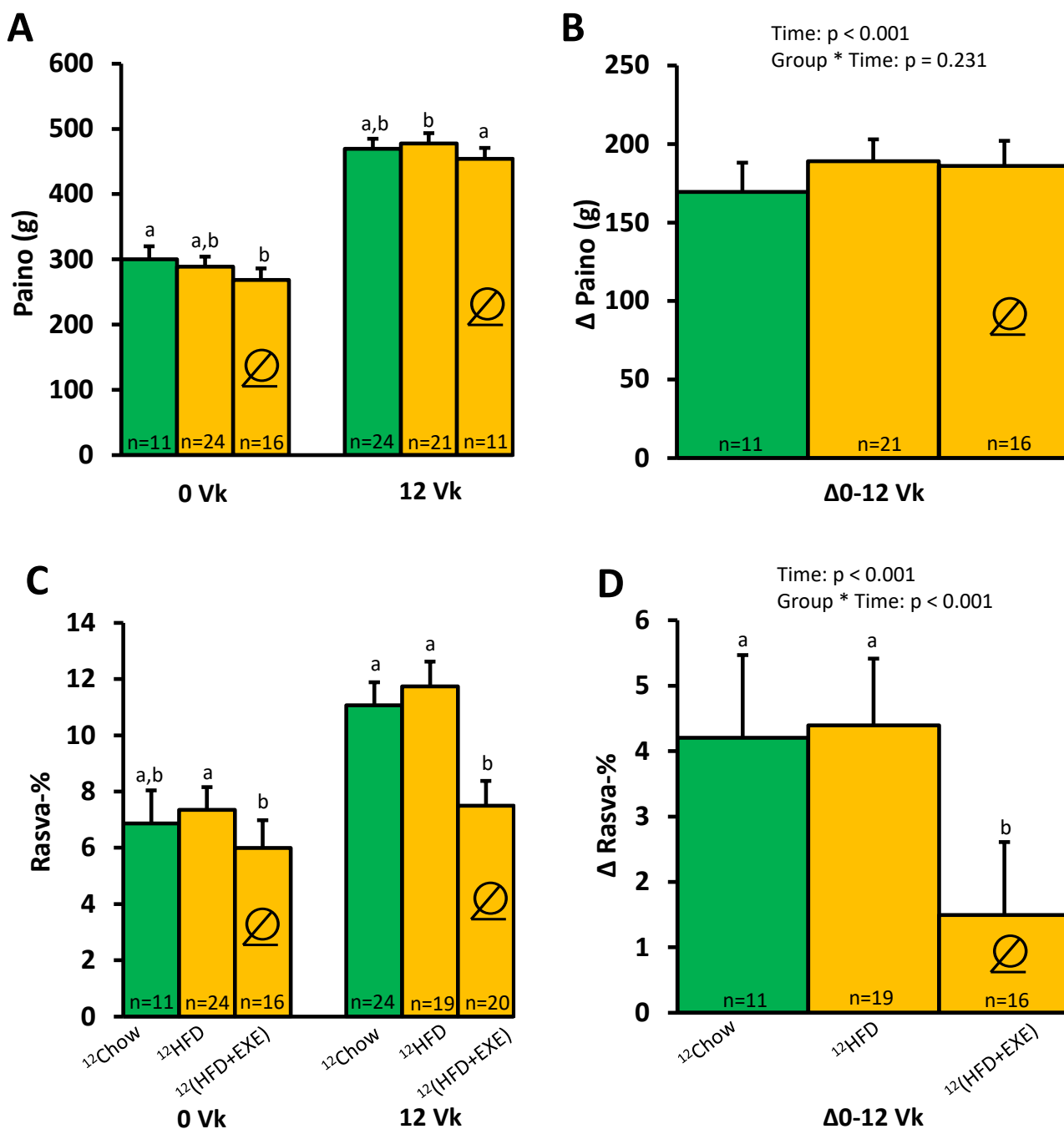
7.1 Paino ja rasvaprosentti

Lyhyt interventio (12 viikkoa). Lähtötilanteessa rasvarehua syönyt juoksupyörässä juossut ryhmä ($^{12}(\text{HFD}+\text{EXE})$) oli kevyempi kuin kontrolliryhmä ($^{12}\text{Chow}$) ($p<0.05$, Kuva 7A). Intervention lopussa juoksupyörässä juossut ryhmä ($^{12}(\text{HFD}+\text{EXE})$) oli kevyempi kuin rasvarehua syönyt ryhmä (^{12}HFD) ($p<0.05$, Kuva 7A). Rasvasyöttö ei lisännyt painoa kontrolliryhmään verrattuna, eikä juoksupyöräjuoksulla ollut vaikutusta painon muuttumiseen ($p\geq 0,05$, Kuva 7B). Juoksupyöräjuoksu kuitenkin vähensi rasvaprosentin lisääntymistä verrattuna rasvarehua syöneeseen ryhmään ($p<0,05$, Kuvat 7C ja D). Juoksupyörässä juosseella ryhmällä ($^{12}(\text{HFD}+\text{EXE})$) olikin pienempi rasvaprosentti intervention päätepisteessä verrattuna rasvarehua syöneeseen ryhmään, joka ei juossut juoksupyörässä (^{12}HFD) ($p<0,05$, Kuvat 7C ja D). Pelkällä rasvasyötöllä ei ollut kuitenkaan vaikutusta rasvaprosenttiin ($p\geq 0,05$, Kuvat 7C ja D).

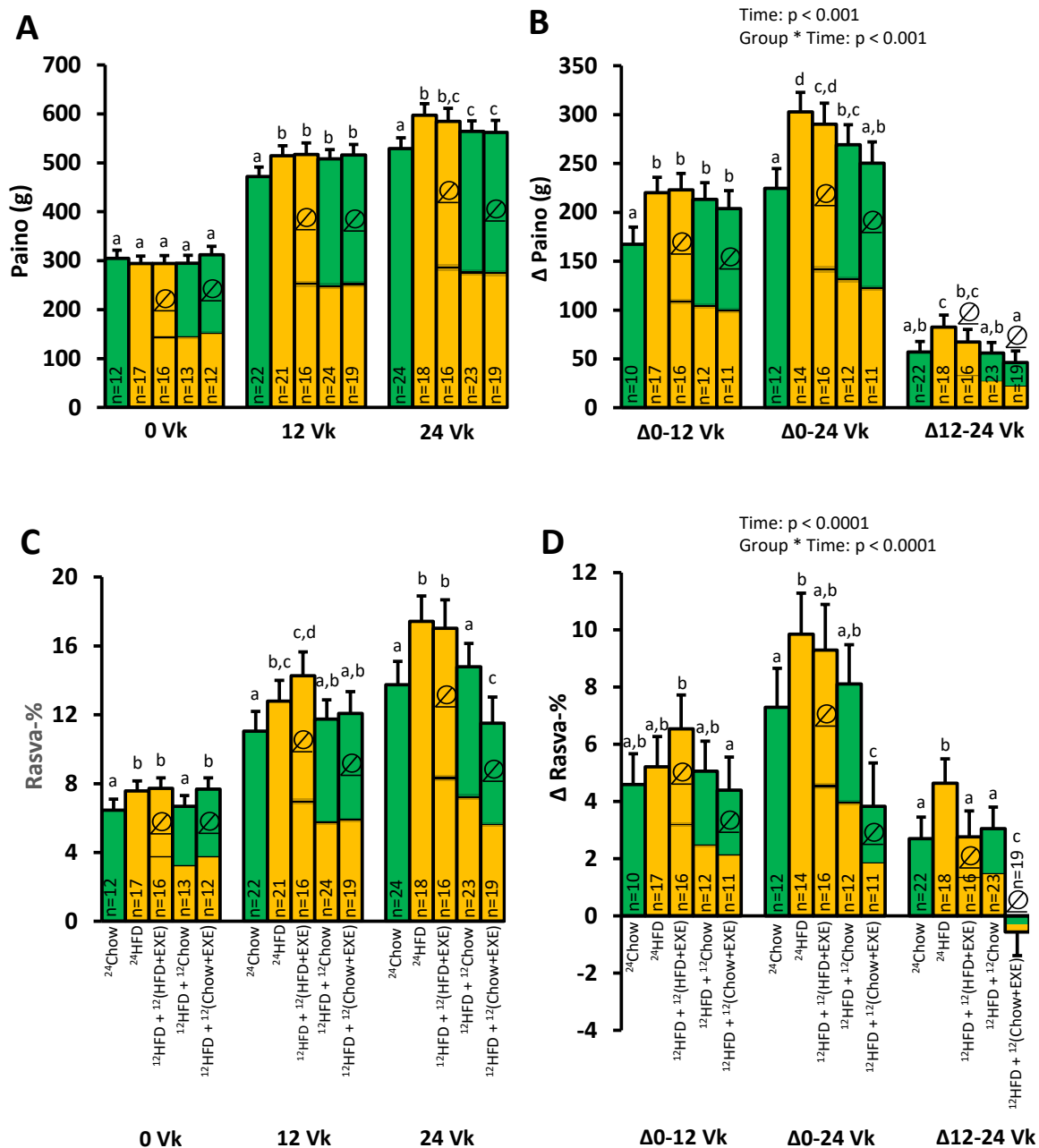
Pitkä interventio (24 viikkoa). Alkutilanteessa ryhmien painot eivät eronneet toisistaan ($p<0,05$, Kuva 8A). Intervention ensimmäisellä jaksolla (0-12 viikkoa) rasvasyöttö lisäsi kaikkien ryhmien painoa enemmän verrattuna kontrolliryhmään ($^{24}\text{Chow}$), joka söi normaalia rehua ($p<0,05$, Kuvat 8A ja B). Myös jälkimmäisellä interventiojaksolla (12-24 viikkoa) rasvasyöttö lisäsi painoa normaalirehua enemmän ($p<0,05$, Kuvat 8A ja B). Ensimmäisen 12 viikon aikana rasvasyöttö ei lisännyt rasvaprosenttia normaalirehua enempää, mutta jälkimmäisen 12 viikon aikana rasvaprosentti nousi rasvarehun vaikutuksesta enemmän ($p<0,05$, Kuva 8D).

Rasvarehun vaihtaminen normaalirehuun intervention puolella välissä ($^{12}\text{HFD} + ^{12}\text{Chow}$) sai aikaan pienemmän loppupainon ja rasvaprosentin verrattuna loppuun asti rasvarehua syöneeseen ryhmään ($^{24}\text{Chow}$) ($p<0,05$, Kuva 8A, C ja D). Juoksupyöräjuoksun lisääminen rasvarehuruokavalioon ilman ruokavalion muutosta ($^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{HFD}+\text{EXE})$) ei saanut aikaan tilastollisesti merkitsevää eroa lopulliseen painoon, eikä rasvaprosenttiin ($p<0,05$, Kuva 8A ja C), vaikkakin viimeinen 12 viikkoa juoksupyöräjuoksua ehkäisi rasvaprosentin nousua tilastollisesti merkitsevästi ($p<0,05$, Kuva 8D). Intervention lopussa ryhmällä, joka ruokavaliovaihdoksen lisäksi alkoi puolivälissä tutkimusta (12 viikon kohdalla) juosta juoksupyörässä ($^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{Chow}+\text{EXE})$) oli muita ryhmiä pienempi rasvaprosentti ($p<0,05$,

Kuva 8C). Samalla interventioryhmällä ($^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{Chow}+\text{EXE})$) rasvaprosentti pieneni viimeisen 12 viikon aikana, kun muilla ryhmillä rasvaprosentti nousi ($p < 0,05$, Kuva 8D).



Kuva 7. Kehonkoostumusmuuttujat lyhyessä interventiossa. Paino alku (0 Vk)- ja loppupisteessä (12 Vk) (A), painon muutos intervention aikana (B), rasva-% (C) ja rasva-%:n muutos (D). Sama kirjain pylväiden päällä tarkoittaa, että näiden ryhmien välillä ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa ($p \geq 0,05$). Jos pylväiden päällä on eri kirjain, ryhmät eroavat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi ($p < 0,05$). Data on esitetty kuvassa malliin pohjautuvina keskiarvoina ja 95 % luottamusväleinä. $^{12}\text{Chow}$ = kontrolliryhmä, jolle syötettiin 12 viikkoa normaalia rehua; ^{12}HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; $^{12}(\text{HFD}+\text{EXE})$ = koeryhmä joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä ja jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan.



Kuva 8. Kehonkoostumusmuuttujat pitkässä interventiossa. Pitkän intervention ryhmien paino (A), painon muutos (B), rasva-% (C) ja rasva-% muutos (D) alku (0 vk)-, loppu (24 vk)- ja välimittauksissa (12 vk). ²⁴Chow = kontrolliryhmä jolle syötettiin 24 viikkoa normaalia rehua; ²⁴HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(HFD+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan ja joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²Chow = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(Chow+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan ja samalla tämä ryhmä juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan. Sama kirjain eri ryhmien välillä tarkoittaa, että näiden ryhmien välillä ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa ($p \geq 0.05$). Jos niiden päällä on eri kirjain, niin nämä ryhmät eroavat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi $p < 0.05$. Data on esitetty malliin pohjautuvina keskiarvoina ja 95 % luottamusväleinä.

7.2 Veren paastoglukoosi ja -insuliini

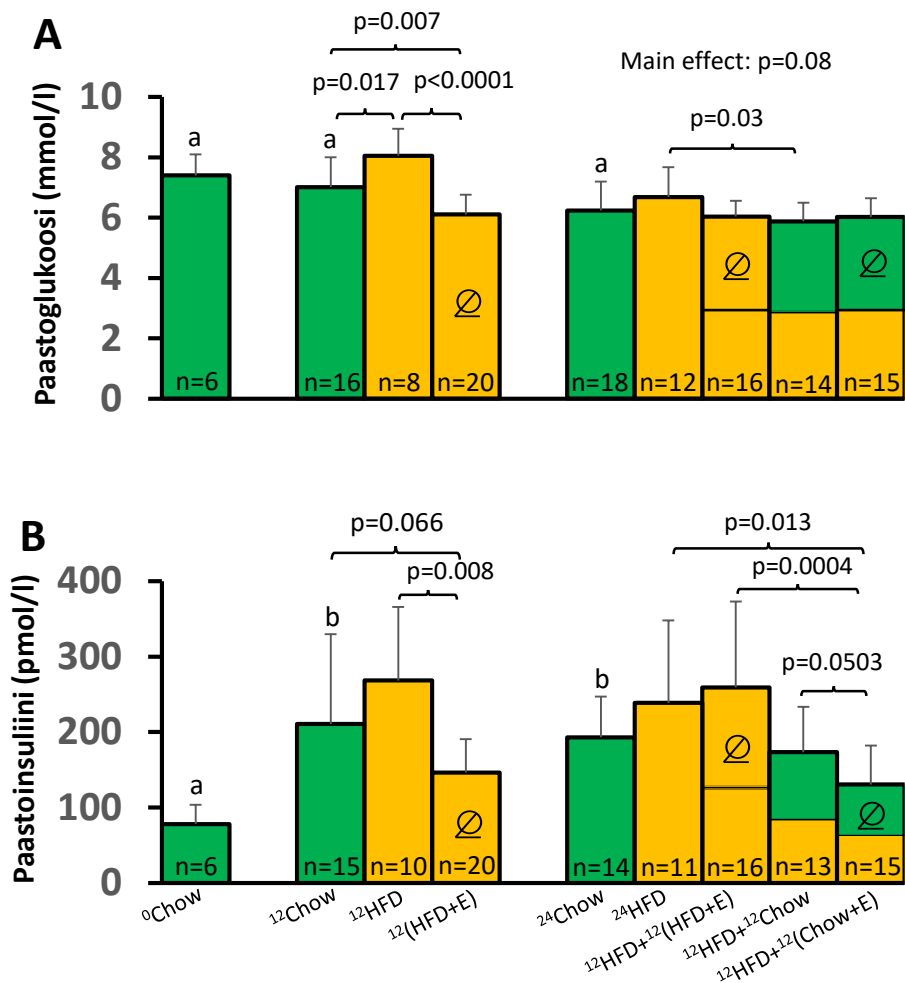
Lyhyt interventio. Juoksupyörässä juosseella ryhmällä ($^{12}\text{(HFD+EXE)}$) oli matalampi paastoglukoosi kuin ei juosseella ryhmällä ($^{12}\text{Chow}$) ($p < 0,05$, Kuva 9A).

Rasvarehuruokavalio yhdistettynä juoksupyöräjuoksuun sai aikaan myös pienemmän paastoglukoosin määrän kuin normaalirehuruokavalio ($p < 0,05$, Kuva 9A). Myös rasvarehu sai aikaan isomman paastoglukoosin määrän veressä kuin normaalirehu ($p < 0,05$, Kuva 9A).

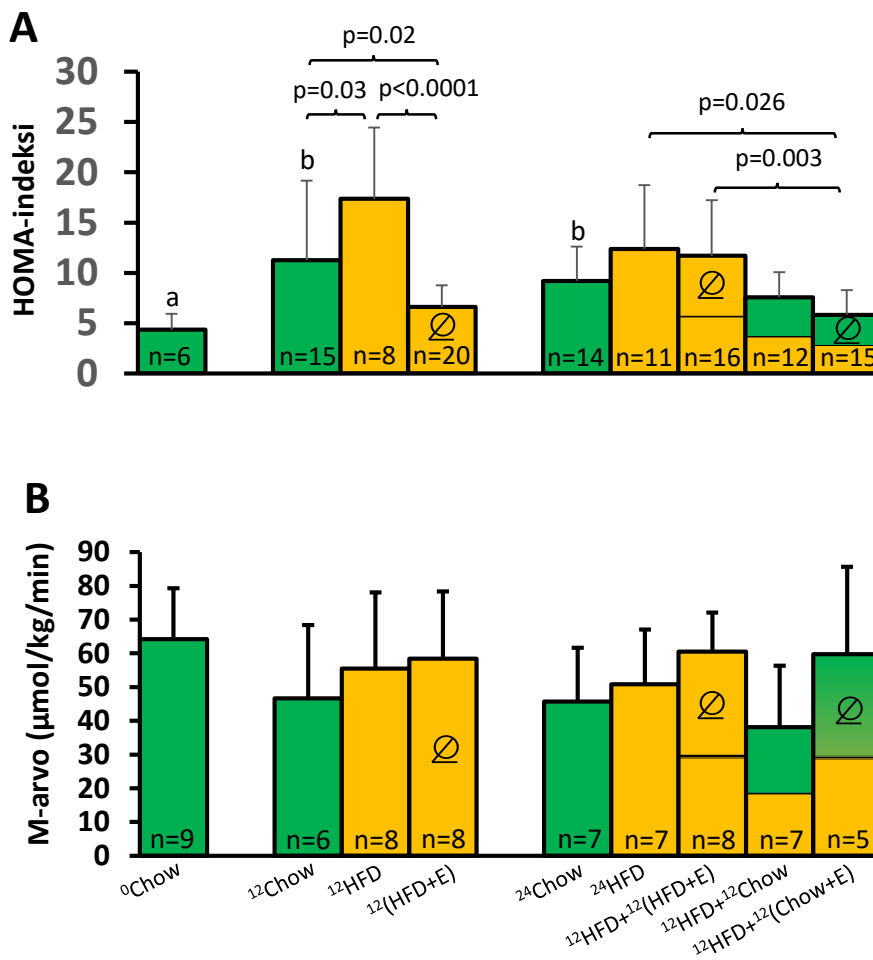
Juoksupyörässä juosseella rasvarehuryhmällä oli matalampi veren insuliinipitoisuus kuin ei juosseella rasvarehuryhmällä ($p < 0,05$, Kuva 9B). Normaalirehu alensi HOMA-indeksiä rasvarehuun verrattuna ($p < 0,05$, Kuva 10A). Vielä ruokavaliota enemmän HOMA-indeksiä pienensi vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu ($p < 0,05$, Kuva 10A). Ruokavaliolla tai juoksupyöräjuoksulla ei ollut vaikutusta M-arvoon tilastollisesti merkitsevästi ($p \geq 0,05$, Kuva 10B).

Pitkä interventio. Pitkässä interventiossa ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja ($p \geq 0,05$, Kuva 9A). Rasvarehusta normaalirehuun vaihtaneella ja juoksupyöräjuoksun intervention jälkimmäisellä jaksolla (viikot 12-24) aloittaneella ryhmällä ($^{12}\text{HFD} + ^{12}\text{(Chow+EXE)}$) oli pienempi veren paastoinsuliinin määrä kuin rasvarehun syömistä jatkaneella ryhmällä (^{24}HFD) ($p < 0,05$, Kuva 9B). Jälkimmäisen 12 viikon aikainen juoksupyöräjuoksu yhdistettynä normaaliruokavalioon ($^{12}\text{HFD} + ^{12}\text{(Chow+EXE)}$) ensimmäisen 12 viikon rasvarehudieetin jälkeen alensi rottien HOMA-indeksiä verrattuna niihin, jotka jatkoivat rasvarehun syömistä (^{24}HFD) ($p < 0,05$, Kuva 10A). Ruokavaliolla tai juoksupyöräjuoksulla ei ollut vaikutusta M-arvoon tilastollisesti merkitsevästi ($p \geq 0,05$, Kuva 10B).

Iällä ei ollut vaikutusta veren paastoglukoosiin ($p \geq 0,05$, Kuva 9A), mutta se lisäsi veren insuliinipitoisuutta paastossa. Paastoinsuliini oli korkeampi sekä 12 viikon kontrolliryhmän ($^{12}\text{Chow}$), että 24 viikon kontrolliryhmän ($^{24}\text{Chow}$) mittauksissa verrattuna intervention alun kontrolliryhmään ($^0\text{Chow}$) ($p < 0,05$, Kuva 9B). HOMA-indeksi oli korkeampi 12 ja 24 viikon ikäisillä kontrolliryhmillä ($^{12}\text{Chow}$ ja $^{24}\text{Chow}$) verrattuna lähtötilanteen kontrolliryhmään ($^0\text{Chow}$) ($p < 0,05$, Kuva 9C). Iällä ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta M-arvoon ($p \geq 0,05$, Kuva 10B).



Kuva 9. Veren glukoosiprofiili lyhyessä ja pitkässä interventiossa. Paastoinsuliini (A) ja paastoglukoosi (B) lähtötilanteessa (0 vk), lyhyen intervention lopussa (12 vk) ja pitkän intervention lopussa (24 vk). ⁰Chow, =kahdeksan viikon ikäinen kontrolliryhmä; ¹²Chow = kontrolliryhmä, jolle syötettiin 12 viikkoa normaalia rehua; ¹²HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; ¹²(HFD+E) = koeryhmä joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä ja jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; ²⁴Chow = kontrolliryhmä jolle syötettiin 24 viikkoa normaalia rehua; ²⁴HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(HFD+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan ja joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²Chow = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(Chow+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan ja samalla tämä ryhmä juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan. Sama kirjain eri ryhmien välillä tarkoittaa, että näiden ryhmien välillä ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa ($p \geq 0.05$). Jos niiden päällä on eri kirjain, niin nämä ryhmät eroavat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi $p < 0.05$. Aaltosulkeet osoittavat eri ryhmien väliset erot ja eron tilastollisen merkitsevyytason. Data on esitetty keskiarvoina (SD).

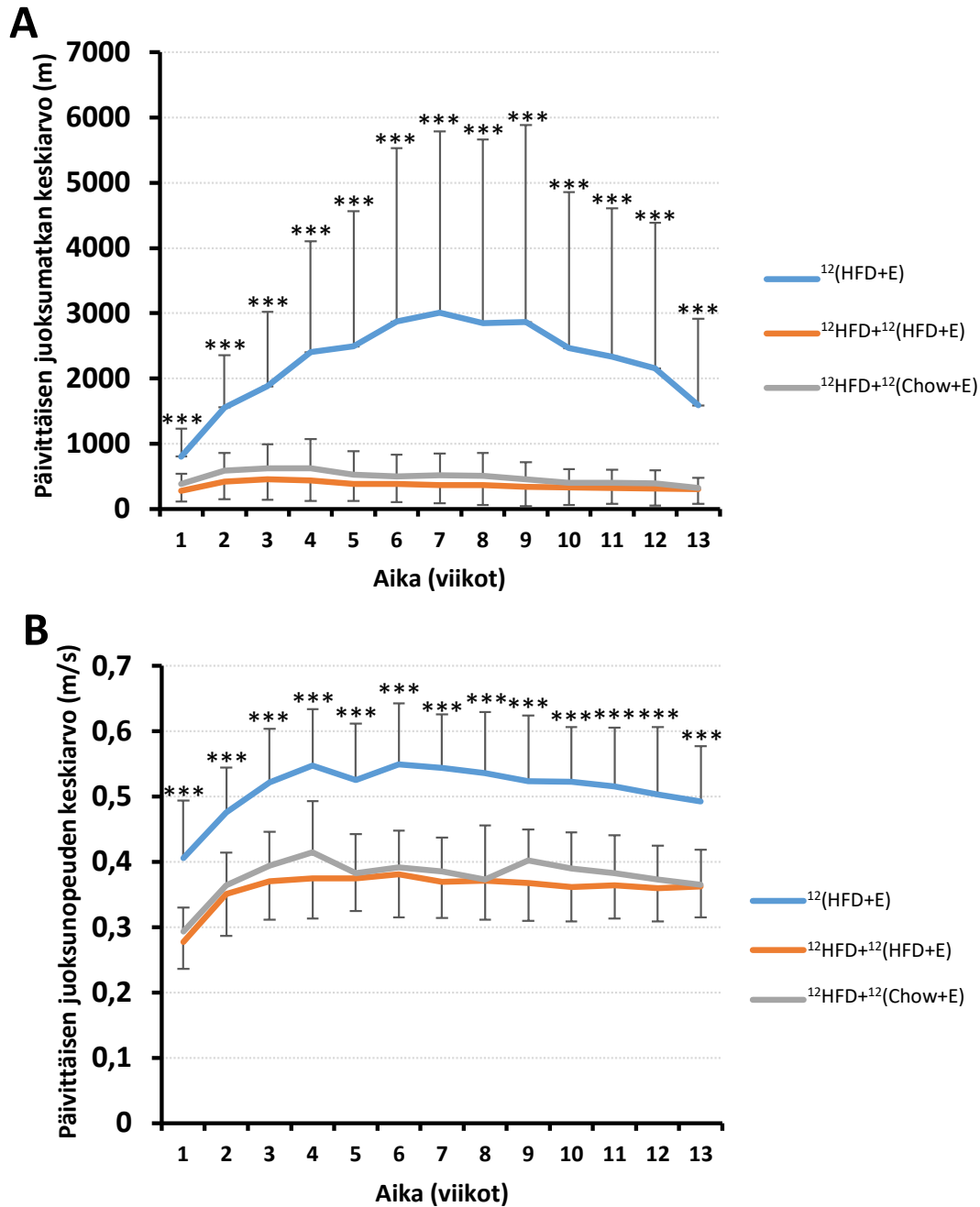


Kuva 10. Insuliiniherkkyyttä kuvaavat arvot lähtötilanteessa sekä lyhyessä ja pitkässä interventiossa. Paastoinsuliinista ja paastoglukoosista laskettu HOMA-indeksi (A) ja insuliin clamp-tutkimuksesta mitattu M-arvo (B) lähtötilanteessa (0 vk), lyhyen intervention lopussa (12 vk) ja pitkän intervention lopussa (24 vk). ⁰Chow, =kahdeksan viikon ikäinen kontrolliryhmä; ¹²Chow = kontrolliryhmä, jolle syötettiin 12 viikkoa normaalia rehua; ¹²HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; ¹²(HFD+E) = koeryhmä joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä ja jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; ²⁴Chow = kontrolliryhmä jolle syötettiin 24 viikkoa normaalia rehua; ²⁴HFD = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(HFD+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan ja joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²Chow = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan; ¹²HFD + ¹²(Chow+E) = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan ja samalla tämä ryhmä juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan. Sama kirjain eri ryhmien välillä tarkoittaa, että näiden ryhmien välillä ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa ($p \geq 0.05$). Jos niiden päällä on eri kirjain, niin nämä ryhmät eroavat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi $p < 0.05$. Aaltosulkeet osoittavat eri ryhmien väliset erot ja eron tilastollisen merkitsevyytensä. Data on esitetty keskiarvoina (SD).

7.3 Iän vaikutus juoksumatkaan ja -nopeuteen

Lyhyen intervention rotat (¹²(HFD+E)) ovat juoksudatan mittaushetkellä 12 viikkoa nuorempia jokaisessa mittauksen aikapisteessä. Nuoremmat rotat (¹²(HFD+E)) juoksivat jokaisessa mittauspisteessä keskimäärin päivän aikana pidemmän matkan ja kovempaa

vauhtia kuin vanhemmat rotat ($^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{HFD}+\text{E})$ ja $^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{Chow}+\text{E})$) ($p < 0,01 - p < 0,001$, Kuvat 11A ja B). Ruokavaliolla ei ollut vaikutusta juoksumatkaan, eikä -nopeuteen pitkän intervention rotilla ($p \geq 0,05$, Kuva 11).

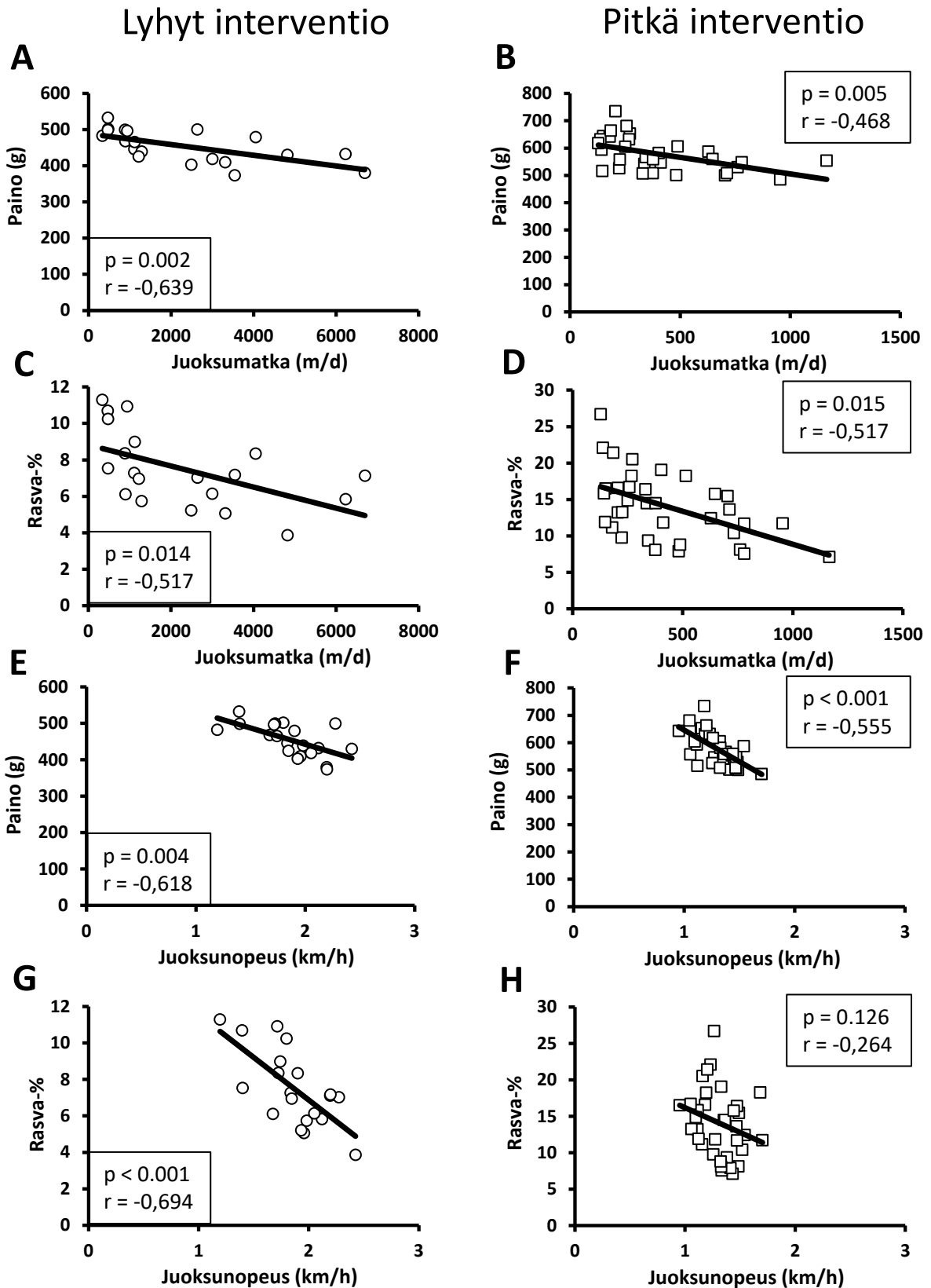


Kuva 11. Juoksumatka ja -nopeus interventioiden aikana. Keskimääräinen juoksumatka (A) ja -nopeus (B) per päivä 12 viikon intervention ajalta. $^{12}(\text{HFD}+\text{E})$ = koeryhmä joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä ja jolle syötettiin rasvarehua 12 viikon ajan; $^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{HFD}+\text{E})$ = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua 24 viikon ajan ja joka juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan; $^{12}\text{HFD} + ^{12}(\text{Chow}+\text{E})$ = koeryhmä jolle syötettiin rasvarehua ensimmäisen 12 viikon ajan ja normaalia rehua viimeisen 12 viikon ajan ja samalla tämä ryhmä juoksi vapaaehtoisesti juoksupyörässä viimeisen 12 viikon ajan. ** = $p < 0,01$, * = $p < 0,001$. Data on esitetty keskiarvoina (SD).**

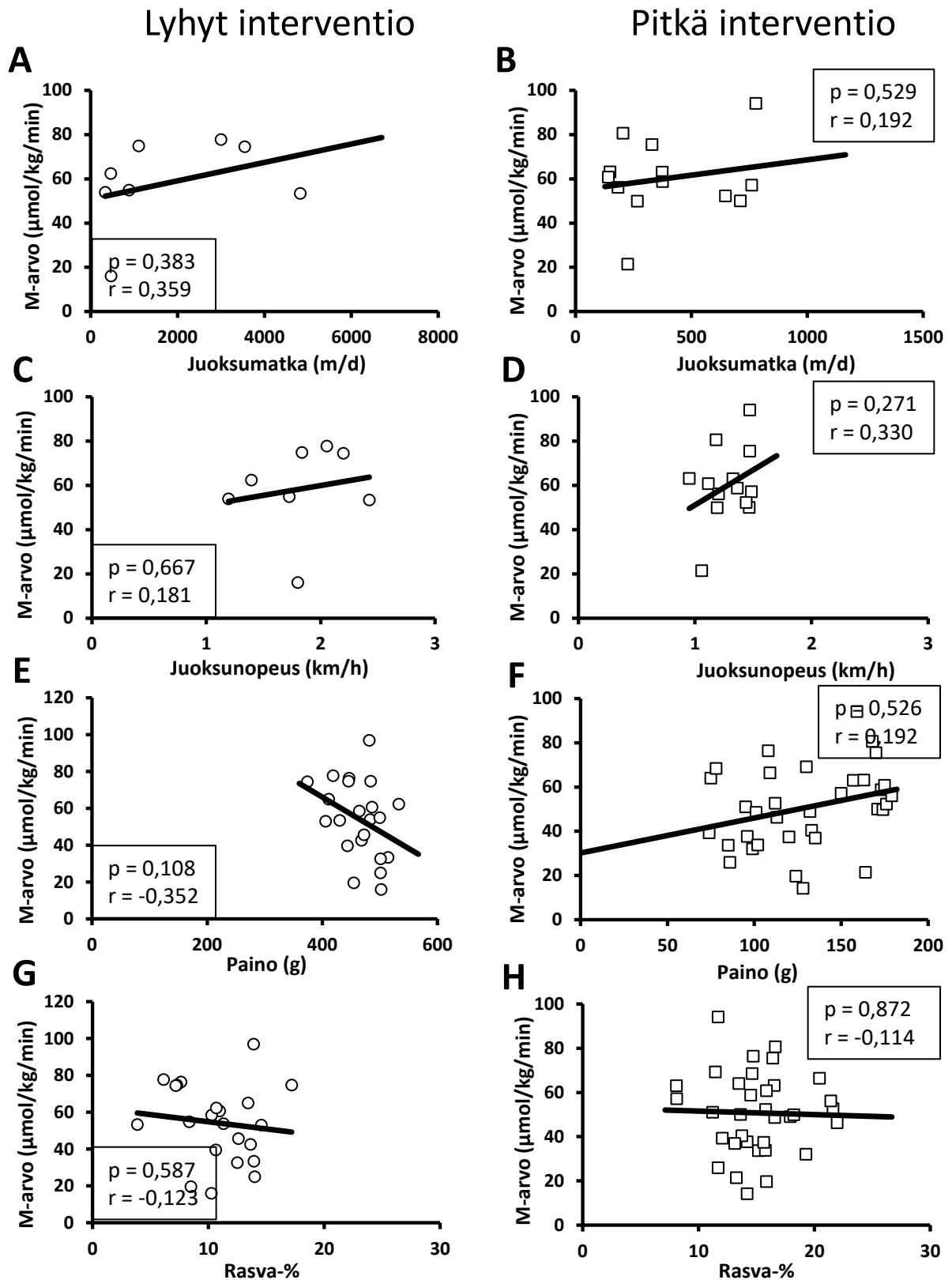
7.4 Korrelaatiotulokset

Lyhyt interventio. Juostu matka korreloi negatiivisesti rottien loppupainoon ($r = -0,639$, $p < 0,05$, Kuva 12A) sekä rasvaprosenttiin ($r = -0,517$, $p < 0,05$, Kuva 12C) ja juoksunopeus korreloi negatiivisesti rottien loppupainoon ($r = -0,618$, $p < 0,05$, Kuva 12E) ja rasvaprosenttiin ($r = -0,694$, $p < 0,05$, Kuva G). Juoksumatka, -nopeus, paino tai rasvaprosentti ei korreloinut M-arvon kanssa ($p \geq 0,108$, Kuvat 13A, C, E ja G). HOMA-indeksiin sen sijaan korreloivat positiivisesti sekä paino ($r = 0,354$, $p < 0,05$, Kuva 14E), että rasvaprosentti ($r = 0,514$, $p < 0,05$, Kuva 14G).

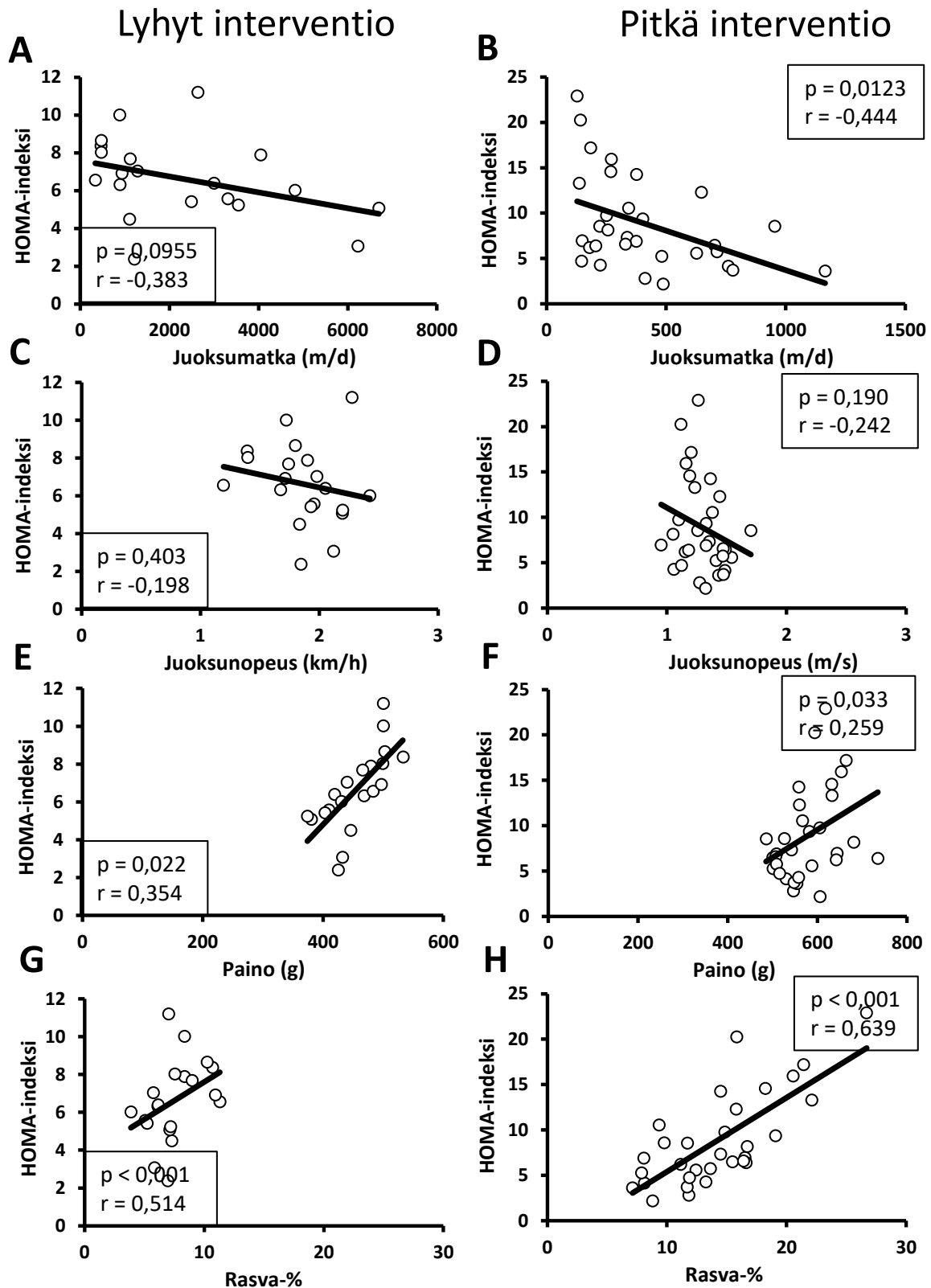
Pitkä interventio. Juoksumatka korreloi negatiivisesti sekä painoon ($r = -0,468$, $p < 0,05$, Kuva 12B), että rasvaprosenttiin ($r = -0,517$, $p < 0,05$, Kuva 12D). Juoksunopeudella oli negatiivinen korrelaatio loppupainoon ($r = -0,555$, $p < 0,05$, Kuva 12F). Juoksumatka, -nopeus, paino tai rasvaprosentti ei korreloinut M-arvon kanssa ($p \geq 0,271$, Kuvat 13B, D, F ja H). Juoksumatka korreloi negatiivisesti HOMA-indeksiin ($r = -0,444$, $p < 0,05$, Kuva 14B) ja HOMA-indeksin kanssa positiivisesti korreloivat loppupaino ($r = 0,259$, $p < 0,05$, Kuva 14F) sekä rasvaprosentti ($r = 0,639$, $p < 0,05$, Kuva 14H).



Kuva 12. Juoksumatkan (m/d) ja -nopeuden (km/h) korrelaatio rottien painoon (g) ja rasvaprosenttiin lyhyessä (vasen paneeli) ja pitkässä interventiossa (oikea paneeli). Juoksumatkan korrelaatio painoon (A ja B) ja rasvaprosenttiin (C ja D). Juoksunopeuden korrelaatio painoon (E ja F) ja rasvaprosenttiin (G ja H). Lyhyessä interventiossa (A, C, E ja G) $n = 8-22$ ja pitkässä interventiossa (B, D, F ja H) $n = 13-34$.



Kuva 13. Juoksumatkan (m/d), -nopeuden (km/h), painon ja rasvaprosentin korrelaatio koko kehon insuliiniherkkyyteen (M-arvoon) lyhyessä (vasen paneeli) ja pitkässä interventiossa (oikea paneeli). Juoksumatkan (A ja B), -nopeuden (C ja D), painon (E ja F) ja rasvaprosentin (G ja H) korrelaatio M-arvoon. Lyhyessä interventiossa (A, C, E ja G) $n = 8-22$ ja pitkässä interventiossa (B, D, F ja H) $n = 13-34$.



Kuva 14. Juoksumatkan (m/d), -nopeuden (km/h), painon (g) ja rasvaprosentin korrelaatio rottien HOMA-indeksiin lyhyessä (vasen paneeli) ja pitkässä interventiossa (oikea paneeli). Juoksumatkan (A ja B), -nopeuden (C ja D), painon (E ja F) ja rasvaprosentin (G ja H) korrelaatio HOMA-indeksiin. Lyhyessä interventiossa (A, C, E ja G) otoskoot vaihtelevat välillä $n = 8-22$ ja pitkässä interventiossa (B, D, F ja H) $n = 13-34$.

8 Pohdinta

Opinnäytetyöni päähavainto oli, että kahdeksan viikon iässä aloitettu 24 viikkoa kestänyt rasvarehun syönti lisäsi Sprague–Dawley-urosrottien painoa ja rasvaprosenttia. Kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon rasvasyöttö ei puolestaan kasvattanut rasvaprosenttia enempää kuin kontrolliryhmällä. Kahdeksan viikon iässä aloitettu rasvarehun syönti 12 viikon ajan nosti tilastollisesti merkitsevästi veren paastoglukoosia, kun taas 24 viikon rasvasyöttö ei sitä nostanut. Kahdeksan viikon iässä aloitettu rasvasyöttö 12 ja 24 viikon interventioissa nosti paastoinsuliinia, mutta ei kuitenkaan tilastollisesti merkitsevästi. Lisäksi kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu ehkäisi rasvarehun aiheuttamaa painon ja rasvaprosentin nousua, sekä 20 viikon iässä aloitettu 12 viikon vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu sai aikaan pienemmän rasvaprosentin kuin niillä, jotka eivät juosseet. Tutkimuksessa havaittiin myös, että suurempi juoksumatka ja -nopeus olivat yhteydessä keskimäärin rottien pienempään painoon ja rasvaprosenttiin. Rasvarehun vaihto normaaliin rehuun yhdistettynä vapaaehtoiseen juoksupyöräjuoksujuoksun aloittamiseen 20 viikon iässä kumosi tehokkaammin rasvasyötön negatiivisia vaikutuksia kehonkoostumukseen ja glukoositasapainoon kuin pelkkä juoksun aloittaminen tai rehun vaihto.

Hypoteesinä oli, että kahdeksan viikon iässä aloitettu 12, ja 24 viikon rasvasyöttö nostaisi rottien kehonpainoa ja rasvaprosenttia (Ghibaudi et al., 2002; Marques et al., 2016). Kahdeksan viikon ikäisenä aloitettu 12 viikon rasvarehun syöttö neljällä ryhmällä viidestä lisäsi rottien kokonaispainoa verrattuna normaaliin rehuun. Myös kahdeksan viikon iässä aloitettu 24 viikon rasvarehusyöttö sai aikaan sekä suuremman painon, että rasvaprosentin kuin kontrolliryhmällä. Yksi ryhmä ei kuitenkaan lihonut saman aikajakson aikana rasvarehulla enempää kuin kontrolliryhmä normaalilla rehulla. Tämä johtunee siitä, että noin puolet Sprague–Dawley-rotista eivät liho rasvasyötön avulla normaalia rehua syöviin yksilöihin verrattuna (Levin, Dunn-Meynell, et al., 2023; Levin, Triscari, et al., 2023).

Hypoteesina oli, että rasvarehun syöminen saattaisi nostaa veren paastoinsuliiniarvoa. Jungin & Kangin tutkimuksessa Sprague–Dawley-urosrotat saivat neljän viikon ajan 40 % rasvaa sisältävää rehua ja lopussa rasvarehua syöneiden rottien paastoinsuliini oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin normaalirehua syöneellä kontrolliryhmällä. (Jung & Kang, 2010). Zhangin tutkimusryhmän tutkimuksessa kuuden viikon ikäiset Sprague–Dawley-urosrotat alkoivat syödä 45 % rasvaa sisältävää rehua. Neljän viikon jälkeen tutkimuksesta suljettiin pois ne rotat, jotka eivät lihoneet rasvasyötöllä ja lihoneiden rottien rasvasyöttöä

jatkettiin 12 viikkoon asti. Loppumittauksissa paastoinsuliinin arvo oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi rasvarehua syöneellä ryhmällä kuin normaalirehua syöneellä ryhmällä. (X. Y. Zhang et al., 2020.) Aiemmissä tutkimuksissa veren paastoinsuliinipitoisuus ei rasvarehusyötön jälkeen aina kuitenkaan ole ollut korkeampi kuin normaalirehua syöneillä rotilla. Marquesin tutkimusryhmässä seitsemän viikon ikäisiä Sprague–Dawley-urosoittia lihotettiin 17 viikon ajan 45 % rasvaa sisältävällä ruoalla, eikä paastoinsuliini eronnut lihotetulla ryhmällä normaalirehua syöneestä kontrolliryhmästä (Marques et al., 2016). Myöskään Ghibaudin tutkimusryhmä ei havainnut kuukauden ikäisillä Sprague–Dawley-urosoilla tilastollista eroa paastoinsuliinissa ryhmien välillä kuuden kuukauden rasvarehusyötön jälkeen (rehujen rasvaprosentit 10 %, 32 % ja 45 %). Toki veren paastoinsuliinitaso oli loppumittauksessa sitä korkeampi, mitä rasvapitoisempaa rehua rotat olivat syöneet, mutta erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. (Ghibaudi et al., 2002.) Tässä tutkimuksessa kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 tai 24 viikon ajan kestänyt rasvasyöttö ei nostanut paastoinsuliinia tilastollisesti merkitsevästi. Vaihtelevia tuloksia paastoinsuliinin osalta selittää suurimmaksi osaksi Sprague–Dawley-rottien rasvarehulle resistentit yksilöt, joista on mainittu jo lihomisen yhteydessä (Levin, Dunn-Meynell, et al., 2023; Levin, Triscari, et al., 2023). Rasvarehun korkeampi rasvapitoisuuskaan ei välttämättä saisi paastoinsuliiniarvoa koholle. Leen tutkimusryhmä syöti kuuden viikon ikäisiä Sprague–Dawley-urosoittia kuuden viikon ajan 60 % rasvaa sisältävällä rehulla, mutta paastoinsuliiniarvo ei ollut tilastollisesti merkitsevästi koholla. Vaihtelevista tuloksista päätellen myöskään rottien ikä ja rasvasyötön kesto eivät hirveästi vaikuta paastoinsuliinin arvoon maksimissaan 24 viikkoa kestävä tutkimuksen aikana.

Paastoglukoosin osalta hypoteesinä oli, että rasvasyöttö nostaisi sitä normaalirehuun verrattuna. Aiemmassa kirjallisuudessa on joissain tutkimuksissa osoitettu rasvasyötön kohottavan veren paastoglukoosia. Ghibaudin tutkimusryhmä havaitsi ainoastaan rasvapitoisimman rehun (45 % rasvaa) aiheuttavan tilastollisesti korkeamman paastoglukoosin arvon (Ghibaudi et al., 2002). (Ghibaudi et al., 2002). Zhangin tutkimusryhmän tutkimuksessa kuuden viikon ikäiset Sprague–Dawley-urosoitat alkoivat syömään 45 % rasvaa sisältävää rehua. Neljän viikon jälkeen suljettiin tutkimuksesta pois ne rotat, jotka eivät lihoneet rasvasyötöllä ja lihoneiden rottien rasvasyöttöä jatkettiin 12 viikkoon asti. Loppumittauksissa paastoglukoosin arvo oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi rasvarehua syöneellä ryhmällä kuin normaalirehua syöneellä ryhmällä. (X. Y. Zhang et al., 2020). Kaikissa tutkimuksissa ei kuitenkaan paastoglukoosi ole rasvasyötöllä

kohonnut. Jungin & Kangin tutkimuksessa Sprague–Dawley-urosratat saivat neljän viikon ajan 40 % rasvaa sisältävää rehua ja lopussa rasvarehua syöneiden rottien paastoglukoosi ei ollut tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kuin normaalirehua syöneellä kontrolliryhmällä (Jung & Kang, 2010). Starkin tutkimusryhmän tutkimuksessa kuuden viikon ikäiset Sprague–Dawley-urosratat söivät kolmen kuukauden ajan 25 % rasvaa sisältävää rehua, eikä loppumittauksissa havaittu korkeampaa paastoglukoosiarvoa rasvarehua syöneellä ryhmällä verrattuna normaalia rehua syöneeseen kontrolliryhmään (Stark et al., 2000). Opinnäytetyöni tutkimuksessa yllättäen lyhyempi 12 viikon rasvasyöttö nosti paastoglukoosia, mutta 24 viikon rasvasyötön jälkeen eroa ei ollut kontrolliin verrattuna. Syy sille, että pitkässä interventiossa rasvasyöttö ei nostanut veren paastoglukoosiarvoa, voi johtua insuliinin määrän lisääntymisestä, vaikka insuliinin paastoarvo ei ollutkaan tilastollisesti merkitsevästi koholla pitkässä interventiossa. Korkeampi insuliinin taso veressä kompensoi veren glukoositason nousua, sillä insuliini saa aikaan glukoosin siirtymisen verestä kudoksiin. Rasvasyöttö ei siis tässä tutkimuksessa vielä aiheuttanut diabetesta, koska se ei saanut veren glukoosiarvoa korkeammaksi kuin kontrolliryhmällä. Koska ulkosiihtoisella kannalla puolet Sprague–Dawley-rotista ovat rasvarehun vaikutuksille resistenttejä (Levin, Dunn-Meynell, et al., 2023; Levin, Triscari, et al., 2023), olisi tilastollisen merkitsevyyden havaitsemiseksi glukoosiarvojen osalta voinut karsia lihomiselle resistenttejä yksilöitä pois, kuten Zhangin tutkimuksessa (X. Y. Zhang et al., 2020). Vaihtelevia tuloksia sekä paastoglukoosin osalta selittää myös rehun koostumuksen (rasvapitoisuuden) vaihtelu, koska yllä mainituissa tutkimuksissa ainoastaan 45 % rasvaa sisältävillä rehuilla on saatu aikaan tilastollisesti merkitsevää paastoinsuliinin nousua. Toki tässä tutkimuksessa rehun rasvapitoisuus oli 42 %, joka on hyvin lähellä edellä mainittujen tutkimusten pitoisuuksia. Tutkimuksissa, joissa koitetaan saada Sprague–Dawley-rottia lihomaan rasvarehun avulla, voisi siis olla hyvä käyttää yli 42 % rasvaa sisältävää rehua.

Koska HOMA-indeksi lasketaan paastoinsuliini- ja paastoglukoosiarvojen avulla, interventioryhmien väliset erot HOMA-indeksissä noudattavat hyvin sen taustalla olevien muuttujien eroja. Kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon rasvasyöttö nosti HOMA-indeksiä. Tätä nousua ei kuitenkaan nähty 24 viikkoa kestäneen rasvasyötön seurauksena. M-arvo (DeFronzo et al., 1979) kuvaa insuliini-infusion vaikutuksen alaisena koko kehon kykyä reagoida insuliiniin, eli varastoida glukoosia verestä kudoksiin. Sen suuruus kertoo insuliiniherkkyydestä. Tämä toteutetaan hyperinsulineemisella euglykeemisellä clamp-tutkimuksella. Yun tutkimusryhmä lihotti 40 % rasvarehulla Sprague–Dawley-urosrattia

kahdeksan viikon ajan. Lopussa tehty tutkimus hyperinsulineemisella euglykeemisella clampilla osoitti, että GIR-arvo, joka kuvaa clampin aikana infusoidun glukoosin syöttönopeutta, oli pienempi rasvasyötetyllä ryhmällä kuin kontrolliryhmällä. (Yu et al., 2016) Tämä tarkoittaa, että rasvasyötetyn ryhmän kudokset pystyivät ottamaan vähemmän glukoosia verestä insuliinin vaikutuksesta kuin kontrolliryhmä. Tämä kertoo heikentyneestä insuliiniherkkyydestä ja lisääntyneestä insuliiniresistenssistä. Myös Leen tutkimusryhmä havaitsi viiden viikon ikäisten 59,5 % rasvarehulla lihotettujen Sprague–Dawley-urorottien GIR-arvon olleen pienempi hyperinsulineemisella euglykeemisella clamp-tutkimuksella (S. H. Lee et al., 2012). Opinnäytetyössäni rasvasyöttö ei saanut M-arvoon aikaan tilastollisesti merkitseviä eroja, vaikka pieni nousu M-arvossa havaitaankin rasvasyötön jäljiltä. Rottien lihominen tai rasvasyöttö itsessään ei ollut ehtinyt aiheuttaa merkittäviä muutoksia kudosten insuliiniherkkyydessä. Käytetyn rehun korkeampi rasvaprosentti olisi voinut edesauttaa tätä. Kuten edellä on mainittu, niin Leen tutkimusryhmä käytti rotilla lähes 60 % rasvarehua, kun taas tässä tutkimuksessa rehun rasvapitoisuus oli 42 %. M-arvo on laskettu kaikissa ryhmissä alle kymmeneltä rotalta, joten luotettavampien tulosten saamiseksi tältä ulkosiittoaikana kannalta tarvittaisiin luultavasti isompi otoskoko.

Tutkimuksessa oli yksi interventioryhmä, joka aloitti juoksupyöräjuoksun kahdeksan viikon ikäisenä ja kaksi ryhmää, jotka aloittivat 20 viikon ikäisenä 12 viikon rasvarehusyötön jälkeen. Käsittelen ensin nuorempa juoksupyöräjuoksun aloittaneen ryhmän kehonkoostumuksessa tapahtuneita muutoksia ja vertaan näitä kontrolliryhmään ja rasvarehua syöneeseen ryhmään. Tämä kahdeksan viikon ikäisenä juoksupyöräjuoksun aloittanut ryhmä söi juoksun aikana rasvarehua. Näillä rotilla rasvaprosentti kasvoi 12 viikon interventiossa vähemmän juoksupyöräjuoksun myötä kuin ilman sitä. Rottien paino lisääntyi kuitenkin yhtä paljon, mikä selittyy lihasmassan kasvulla. Kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon intervention juoksumäärä rasvasyötetyillä rotilla sai ne laihtumaan jopa kontrolliryhmään verrattuna.

Tutkimuksessa selvitettiin estäisikö liikunta, dieetin vaihto rasvarehusta normaaliin rehuun tai näiden yhdistelmä rasvasyötöstä johtuvaa lihomista ja muutoksia glukoosimetaboliassa. Pitkän intervention ryhmiä alettiin lihottaa kahdeksan viikon iästä lähtien ensimmäiset 12 viikkoa, jonka jälkeen yksi ryhmä alkoi juoksemaan juoksupyörässä, yksi ryhmä alkoi syömään normaalia rehua ja yhdelle ryhmälle aloitettiin näiden yhdistelmä. Näitä interventioita jatkettiin seuraavat 12 viikkoa. Rasvasyötön aiheuttamaa painonnousua ei saatu (tilastollisesti merkitsevästi) kumottua 24 viikon intervention jälkimmäisen puolikkaan aikana

pelkän juoksupyöräjuoksun avulla. Tämä johtunee vanhempien rottien pienemmistä juoksumääristä nuorempiin verrattuna. Korrelaatioanalyysissäkin havaittiin pidemmän juoksumatkan aiheuttavan keskimäärin pienemmän loppupainon ja -rasvaprosentin. Kuitenkin ruokavalion vaihtaminen rasvarehusta normaalirehuun sai aikaan pienemmän loppupainon verrattuna rasvarehun syömistä jatkaneeseen ryhmään. Toisin kuin kahdeksan viikon iässä aloitettu juoksupyöräjuoksu, 20 viikon iässä aloitettu juokseminen ei saanut aikaan pienempää rasvaprosenttia lopussa verrattuna normaalirehua syöneeseen ryhmään, joka ei juossut. Sekä juoksupyöräjuoksun aloittaminen, että dieetin vaihto rasvarehusta normaalirehuun sai aikaan pienemmän rasvaprosentin nousun 24 viikon intervention jälkimmäisellä puolikkaalla rasvarehuryhmään verrattuna. Samalla aikavälillä juoksupyöräjuoksun aloittaneen ja normaalirehuun vaihtaneen ryhmän rasvaprosentti jopa laski ja pieneni merkittävästi suhteessa muihin ryhmiin. Eli normaalirehuun vaihto yhdistettynä juoksupyöräjuoksun aloittamiseen oli tehokkain keino kumoamaan rasvarehusyötön vaikutuksia kehonkoostumukseen. Tulokset ovat linjassa aiemman kirjallisuuden kanssa. Liikunnan ei ole todettu olevan yksinään tehokkain keino lihomisen vaikutusten kumoamiseksi, vaan liikunnan yhdistäminen vähäkalorisempaan ruokavalioon on tehokkain tapa ehkäistä painon (Levin & Dunn-Meynell, 2004; Pitts & Bull, 1977; Speretta et al., 2012) ja rasvaprosentin nousua (Pitts & Bull, 1977).

Kahdeksan viikon iässä aloitetun 24 viikon intervention puolivälissä aloitettu juoksupyöräjuoksu, dieetin vaihto ja näiden yhdistelmä saivat kaikki paastoglukoosiarvon laskemaan hieman, mutta eivät tilastollisesti merkitsevästi. Puolestaan kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon juoksupyöräjuoksu yhdistettynä rasvasyöttöön sai aikaan pienemmän paastoglukoosiarvon kuin pelkkä rasvarehudieetti ilman liikuntaa. Vapaaehtoisesti juoksupyörässä juosseella ryhmällä paastoglukoosi oli jopa matalampi kuin kontrolliryhmällä. Kahdeksan viikon ikäisenä aloitettu 12 viikon juoksupyöräjuoksu yhdistettynä rasvasyöttöön sai aikaan huomattavasti pienemmän paastoinsuliiniarvon verrattuna pelkkään rasvasyöttöön. Kuitenkaan 20 viikon ikäisenä aloitettu juoksu ei vähentänyt paastoinsuliinia, mikä selittynee pienemmällä juoksumäärällä verrattuna nuorempiin rottiin. Pelkkä normaalirehuun vaihtaminen 20 viikon kohdalla jälkimmäisen 12 viikon ajaksi ei saanut tilastollista eroa aikaan ryhmien paastoinsuliiniarvoissa, mutta liikunnan yhdistäminen normaaliruokavalioon sai aikaan pienemmän paastoinsuliinin arvon kuin rasvarehua syöneellä ryhmällä. Samoin kuin kehonkoostumusmuuttajien kanssa, liikunnan ja ruokavalion yhteisvaikutus näyttäisi kumoavan parhaiten rasvarehusyötön aiheuttaman paastoinsuliiniarvon nousun.

Kahdeksan viikon iässä aloitetun 12 viikon intervention ryhmien väliset HOMA-indeksien erot mukailivat tuloksia paastoglukoosi- ja paastoinsuliiniarvojen erojen kanssa, eli juoksupyöräjuoksu laski HOMA-indeksiä rasvarehusyötetyillä nuorilla rotilla. Kahdeksan viikon iässä aloitetussa 24 viikon interventiossa rasvasyöttö ei saanut aikaan tilastollisesti korkeampaa HOMA-indeksiä kuin kontrolliryhmällä. Kuitenkin juoksupyöräjuoksun yhdistäminen normaaliruokavalioon ensimmäisen 12 viikon rasvarehusyötön jälkeen sai aikaan rasvarehun syöntiä jatkaneita ryhmiä pienemmän HOMA-indeksin.

korrelaatioanalyysissä pienemmällä painolla ja rasvaprosentilla oli yhteys pienempään HOMA-indeksiin. Juoksupyörässä juostu pidempi matka korreloi niin ikään pienempään HOMA-indeksiin 20–32 viikon ikäisillä rotilla, mutta ei 8–20 viikon ikäisillä.

Juoksunopeudella ei ollut tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota HOMA-indeksiin.

Pidemmän juoksumatkan ja suuremman juoksunopeuden vuoksi kahdeksan viikon ikäisenä aloitetulla juoksupyöräjuoksun vaikutuksella on iso ero 20 viikon iässä aloitetun juoksun vaikutuksiin. Tämä tulee myös ilmi korrelaatiokuvaajissa, joiden mukaan pidempi juoksumatka oli yhteydessä pienempään loppupainoon ja -rasvaprosenttiin. Paastoglukoosi- ja paastoinsuliinimittausten tuloksiin juoksumatka heijastuu myös niin, että enemmän juosseilla lyhyen intervention nuorilla rotilla juoksupyöräjuoksu kumoo rasvarehun aiheuttamat vaikutukset. Pitkässä interventiossa vanhemmilla rotilla rasvarehun vaikutukset eivät kumoudu pienemmän juoksumäärän vuoksi. Ikääntymisen myötä juoksumäärien väheneminen oli odotettavissa myös aiemman kirjallisuuden perusteella (Kariya et al., 2004). Nuorilla rotilla (ikä 8–20 viikkoa) vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu on sopiva valinta liikuntamuodoksi suuren vapaaehtoisen juoksumäärän vuoksi. Vanhemmilla rotilla (ikä 20–32 viikkoa) selkeämpiä vaikutuksia juoksupyöräjuoksun osalta olisi voitu saada esiin pakotetulla juoksutuksella.

Tähän tutkimukseen olisi voitu sisällyttää myös ryhmä, joka olisi aloittanut juoksupyörässä juoksun 8 viikon ikäisenä ja juossut koko 24 viikon ajan. Tällöin olisi saatu paremmin selville liikunnan pitkäaikaisvaikutuksia kehonkoostumuksen ja glukoosiprofiilin kannalta. Olisi ollut kiinnostavaa nähdä juoksisivatko kahdeksan viikon ikäisenä juoksun aloittaneet rotat enemmän tutkimuksen jälkimmäisellä 12 viikon jaksolla kuin ne rotat, jotka aloittaisivat juoksemisen vasta 20 viikon iässä. Toinen kiinnostava interventio olisi mielestäni sellainen, missä rotat saisivat juosta juoksupyörässä ensimmäisen kahdeksan viikon iästä 12 viikon ajan, jonka jälkeen juoksupyörä otettaisiin pois jälkimmäisen 12 viikon ajaksi. Tällöin näkisi onko

nuoruusiän liikunnalla mitään vaikutusta myöhemmin siinä tapauksessa, jos sen lopettaa kesken ja elämäntavat muuttuvat.

Tutkimuksen vahvuuksia olivat hyperinsulineeminen euglykeeminen clamp-tutkimus, joka mahdollistaa tarkan koko kehon insuliiniherkkyyden mittaamisen. Clamp-tutkimuksesta saadut M-arvot erosivat paastoglukoosi ja -insuliiniarvoista lasketusta HOMA-indeksistä. HOMA-indeksin perusteella kahdeksan viikon iässä alkaneessa 12 viikon interventiossa rasvasyöttö sai aikaan insuliiniresistenssiä ja juoksupyöräjuoksu kumosi tämän. Lisäksi 24 viikon interventiossa juoksupyöräjuoksu yhdistettynä normaalirehun vaihtoon puolessa välissä tutkimusta pienensi HOMA-indeksia eli vähensi insuliiniresistenssiä. M-arvoissa taas ei tilastollisesti merkitseviä eroja ryhmien välillä ollut. Toki M-arvo oli hieman korkeampi rasvasyötön myötä sekä 12, että 24 viikon interventiossa kontrolliryhmään verrattuna. Clamp-tutkimus on HOMA-IR:a tarkempi tutkimus koko kehon insuliiniherkkyyden määrittämiseksi, sillä siinä insuliiniherkkyyttä mitataan suoraan annostellun glukoosin avulla, kun taas HOMA-IR:ssa epäsuorasti veren paastoglukoosi ja -insuliiniarvoista. Isofluraanianestesia saattaa kuitenkin vaikuttaa clamp-tutkimuksen tuloksiin näillä rotilla. HOMA-indeksi on siis epätarkempi mittari insuliiniherkkyyden muutoksille, sillä sen avulla ei pystytä mittaamaan toiminnallista vastetta glukoosin infuusiolle. Toinen tutkimuksen vahvuus on interventioryhmien runsas määrä, joka mahdollisti juoksupyöräjuoksun ja ruokavalion itsenäisten ja yhdistettyjen vaikutusten tutkimisen.

Kahdeksan viikon iässä aloitetun 12 viikkoa kestäneen intervention rottien kehonkoostumusmuuttujien osalta voidaan tämän tutkimuksen perusteella sanoa, että rottien paino kasvaa enemmän rasvarehusyötöllä kuin normaalirehun avulla. Rasvaprosenttiin ei rasvarehuryhmän ja normaalirehuryhmän välille samalla ajanjaksollanäyttäisi tulevan eroa. Kahdeksan viikon iässä aloitetun 24 viikkoa kestäneen intervention aikana sekä paino, että rasvaprosentti kasvavat rasvarehuruokavalion myötä enemmän kuin normaalilla rehulla. Rasvaisempi rehu (> 42 % rasvaa) saisi luultavasti vielä selkeämpiä eroja esiin kehonkoostumuksen osalta, kuten Ghibaudin tutkimusryhmä on todennut (Ghibaudi et al., 2002). Sekä kahdeksan, että 20 viikon iässä aloitetulla vapaaehtoisella juoksupyöräjuoksulla yksinään saadaan rasvaprosentin kasvua alentava vaikutus. Liikunta yhdistettynä terveelliseen ruokavalioon saa aikaan isoimman vaikutuksen sekä painon, että rasvaprosentin kasvamisen estoon. Rasvaprosentin voi saada jopa laskemaan tällä yhdistelmällä. Pelkkä kahdeksan viikon iässä aloitettu 24 viikkoa kestänyt rasvarehuruokavalio ei aiheuttanut eroa rottien paastoinsuliini- tai paastoglukoosiarvoihin. Pelkällä liikunnalla samoja muuttujia voi saada

suotuisampaan suuntaan, jos liikuntamäärä on suuri kuten rotilla, jotka aloittivat juoksun kahdeksan viikon ikäisinä. Pienellä määrällä liikuntaa ei näyttäisi olevan merkitystä glukoosiprofiilin kannalta. Vaikka juoksupyöräjuoksua ei tekisi valtavia määriä, mutta sen yhdistää tavalliseen ruokavalioon, paastoinsuliiniarvo ja HOMA-indeksi menevät suotuisampaan suuntaan. Tämä tarkoittaa parempaa insuliiniherkkyyttä ja haiman beetasolujen toimintaa. Paras yhdistelmä tämän tutkimuksen kannalta ehkäistä tyypin 2 diabetesta on siis yhdistää liikunta terveelliseen ruokavalioon.

Rottien olisi hyvä lähtötilanteessa olla toistensa kaltaisia, jotta rotat olisivat mahdollisimman vertailukelpoisia keskenään. Tällaiset pitkälle jalostetut rotat eivät edusta tosielämän populaatioita, joissa esiintyy ominaisuuksien vaihtelua yksilötasolla (Brower et al., 2015). Prekliinisistä tutkimuksista tehtävät johtopäätökset eivät kuitenkaan missään tapauksessa ole johdettavissa suoraan ihmisiin, mutta viitteitä tuloksista voi saada siihen, mitä klinisiä kokeita kannattaisi tehdä ja mitä näiltä tutkimuksilta voi odottaa.

Tätä tutkimusta voidaan käyttää jatkossa diabetestutkijoiden apuna uusien tutkimusten suunnittelussa. Tässä tutkimuksessa saavutettiin ylipaino ja rasvaprosentin kasvu kahdeksan viikon iässä aloitetulla 24 viikkoa kestäneellä interventiolla. Kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon pituinen jakso sai aikaan rasvasyötöllä tilastollisesti suuremman loppupainon normaalirehuun verrattuna, mutta oli kuitenkin liian lyhyt näillä rotilla korkeamman rasvaprosentin aikaansaamiseksi. Insuliiniresistenssiä ei saatu kuitenkaan aikaan. Paastoglukoosiin ei saatu tilastollisia eroja, sillä ylimääräinen insuliini luultavasti peitti alkavan insuliiniresistenssin löydökset paastoglukoosin osalta. Paastoinsuliinitasot eivät myöskään olleet tilastollisesti merkitsevästi koholla rasvasyötön myötä, eikä insuliiniherkkyyttä kuvaavaan M-arvoon saatu tilastollisesti merkitseviä eroja rasvasyötön avulla kummassakaan interventiossa. Ylipainon aiheuttaman diabeteksen ja insuliiniresistenssin saisi rotilla luultavasti paremmin esiin rasvapitoisemmalla ruoalla. Tässä tutkimuksessa siis saatiin hyvin aikaan rotille ylipainoa 12 ja 24 viikon aikana, sekä rasvaprosentin nousu 24 viikon ajalla. Tutkimuksessa toteutettu malli toimii siis ylipainon aiheuttamien ensimmäisten muutosten tutkimiseen, vaikka insuliiniherkkyydessä ei vielä suuria muutoksia nähdäkään. Otokoko olisi voinut olla suurempi, jotta loppumittauksissa olisi saatu M-arvo mitattua useammalta yksilöltä. Tutkimuksessa olisi myös voinut poissulkea huonosti lihovia yksilöitä pois suurempien vaikutuksien havaitsemiseksi. Tätä varten tarvittaisiin myös hieman suurempi otokoko. Tässä tutkimuksessa ryhmäkoot vaihtelivat 11 ja 24 yksilön välillä.

Tämän tutkimuksen perusteella Sprague–Dawley-rottakanta on hyvä ylipainomalli tutkimuksiin, joissa halutaan mallintaa tosielämän populaatiota. Jotkin yksilöt lihovat vähemmän kuin toiset, mutta ryhmätasolla ylipaino saadaan aikaan rasvarehusyötöllä. Jos taas tutkimuksessa halutaan, että kaikki eläimet lihovat ja halutaan selvittää mikä saa lihavuuden kumoutumaan, niin tutkimukseen kannattaisi todennäköisesti valita toinen rottakanta, jossa ei ole resistenttejä yksilöitä rasvasyötölle. Vaihtoehtoisesti otoskoko voisi olla aluksi suurempi ja tietyn ajanjakson jälkeen rotista voitaisiin valikoida hyvin lihovat jatkamaan tutkimusta eri interventioihin.

Vapaaehtoinen juoksupyöräjuoksu on sopiva liikuntamuoto rotille ainakin 20 viikon ikään asti, mutta tämän iän jälkeen juoksumatka lyhenee sen verran, että liikunnan vaikutuksia olisi parempi tutkia esimerkiksi pakotetulla juoksumattojuoksulla tai uinnilla. Tässä tutkimuksessa rotat juoksivat neljänä päivänä viikossa, mikä on mielestäni järkevä määrä, sillä rotat voisivat väsyä ja juoksumatkat lyhentyä päivää kohden. Tämän lisäksi harvat ihmisetkään liikkuvat useammin kuin neljänä päivänä viikossa. Liikuntamäärän riittävyyden tarkemman arvioimisen tueksi pitäisi rotilla tutkia lihaskudoksessa tapahtuvia metabolisia muutoksia liikunnan seurauksena tai tekemällä rotille suorituskykymittaus.

Rottia voitaisiin syöttää vielä rasvaisemmalla rehulla, jotta lihomisen vaikutukset saataisiin paremmin esiin. Tässä tutkimuksessa käytettiin 42 % rasvaa sisältävää rehua. Tämän lisäksi voisi olla järkevää mitata rottien syömän ruuan määrää, sillä osa rotista saattaa kompensoida rasvarehusta saatavan energian määrää sillä, että ne syövät vähemmän.

9 Johtopäätökset

Kahdeksan viikon iässä aloitettu 24 viikkoa kestänyt rasvasyöttö sai aikaan sekä suuremman painon, että rasvaprosentin kontrolliryhmään verrattuna. Kahdeksan viikon iässä aloitettu 12 viikon interventio sai myös aikaan rasvasyötöllä suuremman painon kuin normaalirehulla, mutta oli liian lyhyt tilastollisen eron saamiseksi rasvaprosenttiin. Kahdeksan viikon iässä aloitettu rasvasyöttö sai aikaan paastoglukoosin nousun 12 viikon interventiossa, mutta ei 24 viikon interventiossa. Paastoinsuliiniarvo ei noussut tilastollisesti merkitsevästi kummassakaan interventiossa rasvasyötön myötä. HOMA-indeksi nousi rasvasyötön myötä ainoastaan 12 viikon interventiossa. M-arvo nousi rasvasyötön myötä hieman molemmissa interventioissa, mutta ei tilastollisesti merkitsevästi. Tutkimuksen mukaan rasvasyötön aiheuttamia negatiivisia vaikutuksia voi saada rotilla suotuisampaan suuntaan liikkumalla paljon. Paastoinsuliinia ja HOMA-indeksiä saa parannettua myös kevyen liikunnan ja terveellisen ruokavalion yhdistelmällä. Normaali rehu saa rotilla aikaan pienemmän rasvaprosentin ja kehonpainon kuin rasvarehu. Pelkällä liikunnalla voidaan rasvaprosentin kasvua saada vähennettyä. Kaikkein tehokkain tapa ehkäistä sekä rasvaprosentin, että kehonpainon nousemista on yhdistää liikunta terveelliseen ruokavalioon. Kahdeksan viikon iässä aloitetun intervention rotat juoksevat enemmän kuin 20 viikon iässä aloitetun intervention rotat ja suuremmalla juoksumäärällä saadaan suotuisampia vaikutuksia terveyteen. Vapaaehtoista juoksupyöräjuoksua kannattaa käyttää liikuntamuotona rotilla noin 20 viikon ikään asti, tämän jälkeen esimerkiksi pakotettua juoksumatolla juoksua. Sprague–Dawley-rotat ovat hyviä ylipainomalleina tutkittaessa realistisia populaatiota, sillä kaikki niistä eivät liho samalla tavalla. Ylipainoa tutkittaessa rasvarehun olisi hyvä olla hyvin rasvapitoista, sillä varsinkin lyhyemmissä tutkimuksissa paino ja rasvaprosentti eivät välttämättä nouse tarpeeksi ylipainon saavuttamiseksi. Lihotus onnistuu varmemmin, jos rehussa on vähintään 45 % rasvaa. Tutkimuksesta saatavaa tietoa voidaan jatkossa käyttää hyödyksi prekliinisten kokeiden suunnittelussa, sekä elämäntapojen merkityksen arvioimisessa tyypin 2 diabeteksen kannalta myös ihmisillä. Tutkimuksen mukaan pelkästään ruokavalion ja liikunnan avulla ilman lääkkeellistä hoitoa voidaan vaikuttaa tyypin 2 diabeteksen taustatekijöihin.

Lähteet

- Ahmed, B., Sultana, R., & Greene, M. W. (2021). Adipose tissue and insulin resistance in obese. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 137). Elsevier Masson s.r.l.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111315>
- Al-awar, A., Kupai, K., Veszélka, M., Szücs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Török, S., Pósa, A., & Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 9051426. <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
- Aleixandre de Artiñano, A., & Miguel Castro, M. (2009). Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition*, 102(9), 1246–1253. <https://doi.org/DOI:10.1017/S0007114509990729>
- American Diabetes Association. (2020). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care*, 44(Supplement_1), S15–S33.
<https://doi.org/10.2337/dc21-S002>
- Arner, E., Westermark, P. O., Spalding, K. L., Britton, T., Rydén, M., Frisén, J., Bernard, S., & Arner, P. (2010). Adipocyte turnover: Relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes*, 59(1), 105–109. <https://doi.org/10.2337/db09-0942>
- Boulé, N. G., Kenny, G. P., Haddad, E., Wells, G. A., & Sigal, R. J. (2003). Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 46(8), 1071–1081. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1160-2>
- Brower, M., Grace, M., Kotz, C. M., & Koya, V. (2015). Comparative analysis of growth characteristics of Sprague Dawley rats obtained from different sources. *Laboratory Animal Research*, 31(4), 166–173. <https://doi.org/10.5625/lar.2015.31.4.166>
- Brown, D. A., Johnson, M. S., Armstrong, C. J., Lynch, J. M., Caruso, N. M., Ehlers, L. B., Fleshner, M., Spencer, R. L., & Moore, R. L. (2007). First published October 4. *J Appl Physiol*, 103. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00706.2007.-The>
- Butler, A. E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R. A., & Butler, P. C. *Cell Deficit and Increased-Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes*.
<http://diabetesjournals.org/diabetes/article-pdf/52/1/102/662832/db0103000102.pdf>
- Capcarova, M., & Kalafova, A. (2019). Zucker Diabetic Fatty Rats for Research in Diabetes. In E. Tvrdá & S. C. Yenissetti (Eds.), *Animal Models in Medicine and Biology* (p. Ch. 5). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88161>
- Carvalho, C., Gaspar, A., Knight, A., & Vicente, L. (2019). Ethical and scientific pitfalls concerning laboratory research with non-human primates, and possible solutions. *Animals*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/ani9010012>

- Chowdhury, K. K., Legare, D. J., & Lutt, W. W. (2013). Exercise enhancement of hepatic insulin-sensitising substance-mediated glucose uptake in diet-induced prediabetic rats. *British Journal of Nutrition*, *109*(5), 844–852. <https://doi.org/DOI: 10.1017/S0007114512002267>
- Dandona, P., Aljada, A., Chaudhuri, A., & Bandyopadhyay, A. (2003). The Potential Influence of Inflammation and Insulin Resistance on the Pathogenesis and Treatment of Atherosclerosis-Related Complications in Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *88*(6), 2422–2429. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030178>
- de Bono, J. P., Adlam, D., Paterson, D. J., & Channon, K. M. (2006). Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, *290*(4). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00694.2005>
- DeFronzo, R. A., Tobin, J. D., & Andres, R. (1979). *Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance*.
- Dela, F., von Linstow, M. E., Joensen Mikines, K., & Galbo, H. (2004). Physical training may enhance-cell function in type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *287*, 1024–1031. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00056.2004.-In>
- Dendup, T., Feng, X., Clingan, S., & Astell-Burt, T. (2018). Environmental risk factors for developing type 2 diabetes mellitus: A systematic review. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 15, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijerph15010078>
- Diabetesliitto*. Retrieved February 13, 2023, from https://www.diabetes.fi/diabetes/yleista_diabeteksesta/tilastotietoa#d3ae73c4
- Dixon, J. B., O'Brien, P. E., Playfair, J., Chapman, L., Schachter, L. M., Skinner, S., Proietto, J., Bailey, M., & Anderson, M. (2008). Adjustable Gastric Banding and Conventional Therapy for Type 2 DiabetesA Randomized Controlled Trial. *JAMA*, *299*(3), 316–323. <https://doi.org/10.1001/jama.299.3.316>
- dos Santos, J. M., Moreli, M. L., Tewari, S., & Benite-Ribeiro, S. A. (2015). The effect of exercise on skeletal muscle glucose uptake in type 2 diabetes: An epigenetic perspective. *Metabolism*, *64*(12), 1619–1628. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.09.013>
- Doulberis, M., Papaefthymiou, A., Polyzos, S. A., Katsinelos, P., Grigoriadis, N., Srivastava, D. S., & Kountouras, J. (2020). Rodent models of obesity. In *Minerva Endocrinologica* (Vol. 47, Issue 3, pp. 243–263). Edizioni Minerva Medica. <https://doi.org/10.23736/S0391-1977.19.03058-X>
- European parliament report*.
- Fletcher, B., Gulanick, M., & Lamendola, C. (2002). Risk Factors for Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Cardiovascular Nursing*, *16*(2). https://journals.lww.com/jcnjournal/Fulltext/2002/01000/Risk_Factors_for_Type_2_Diabetes_Mellitus.3.aspx

- Flores-Opazo, M., McGee, S. L., & Hargreaves, M. (2020). Exercise and GLUT4. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 48(3). https://journals.lww.com/acsm-essr/Fulltext/2020/07000/Exercise_and_Glut4.2.aspx
- Fuller, K. N. Z., & Thyfault, J. P. (2020). Barriers in translating preclinical rodent exercise metabolism findings to human health. *Journal of Applied Physiology*, 130(1), 182–192. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00683.2020>
- Garcia, S. M., Hirschberg, P. R., Sarkar, P., Siegel, D. M., Teegala, S. B., Vail, G. M., & Routh, V. H. (2021). Insulin actions on hypothalamic glucose-sensing neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, 33(4). <https://doi.org/10.1111/jne.12937>
- Garvey, S. M., Russ, D. W., Skelding, M. B., Dugle, J. E., & Edens, N. K. (2015). Molecular and metabolomic effects of voluntary running wheel activity on skeletal muscle in late middle-aged rats. *Physiological Reports*, 3(2). <https://doi.org/10.14814/phy2.12319>
- Ghibaudi, L., Cook, J., Farley, C., Van Heek, M., & Hwa, J. J. (2002). Fat Intake Affects Adiposity, Comorbidity Factors, and Energy Metabolism of Sprague-Dawley Rats. *Obesity Research*, 10(9), 956–963. <https://doi.org/10.1038/oby.2002.130>
- Gollisch, K. S. C., Brandauer, J., Jessen, N., Toyoda, T., Nayer, A., Hirshman, M. F., & Goodyear, L. J. (2009). Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal-and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297, 495–504. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90424.2008.-Regular>
- Gorzalczany, S. B., & Rodriguez Basso, A. G. (2021). Strategies to apply 3Rs in preclinical testing. In *Pharmacology Research and Perspectives* (Vol. 9, Issue 5). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/prp2.863>
- Goto, Y., Kakizaki, M., & Masaki, N. (1976). Production of Spontaneous Diabetic Rats by Repetition of Selective Breeding. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 119(1), 85–90. <https://doi.org/10.1620/tjem.119.85>
- Han, H. S., Kang, G., Kim, J. S., Choi, B. H., & Koo, S. H. (2016). Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective. In *Experimental and Molecular Medicine* (Vol. 48, Issue 3). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/emm.2015.122>
- Han, Y., Oshida, Y., Li, L., Koshinaka, K., Fuku, N., Yamanouchi, K., & Sato, Y. (2001). Effect of Voluntary Wheel-Running on Insulin Sensitivity and Responsiveness in High-Fat-Fed Rats. *Endocrine Journal*, 48(5), 551–555. <https://doi.org/10.1507/endocrj.48.551>
- Harding, J. D. (2017). Nonhuman Primates and Translational Research: Progress, Opportunities, and Challenges. *ILAR Journal*, 58(2), 141–150. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilx033>
- Hawley, J. A., & Lessard, S. J. (2008). Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiologica*, 192(1), 127–135. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2007.01783.x>
- Holmes, R. (1971). Carbohydrate digestion and absorption From the Royal Infirmary, Manchester. In *J. clin. Path* (Vol. 24).

- Hunter, S. J., & Garvey, W. T. (1998). Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system 11 In collaboration with The American Physiological Society, Thomas E. Andreoli, MD, Editor. *The American Journal of Medicine*, 105(4), 331–345. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(98\)00300-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-9343(98)00300-3)
- Jung, H. L., & Kang, H. Y. (2010). Effects of Endurance Exercise and High-Fat Diet on Insulin Resistance and Ceramide Contents of Skeletal Muscle in Sprague-Dawley Rats. *Korean Diabetes Journal*, 34(4), 244. <https://doi.org/10.4093/kdj.2010.34.4.244>
- Just, P.-A., Charawi, S., Denis, R. G. P., Savall, M., Traore, M., Foretz, M., Bastu, S., Magassa, S., Senni, N., Sohier, P., Wursmer, M., Vasseur-Cognet, M., Schmitt, A., Le Gall, M., Leduc, M., Guillonneau, F., De Bandt, J.-P., Mayeux, P., Romagnolo, B., ... Perret, C. (2020). Lkb1 suppresses amino acid-driven gluconeogenesis in the liver. *Nature Communications*, 11(1), 6127. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19490-6>
- Kahn, C. R. (1978). *Insulin Resistance, Insulin Insensitivity, and Insulin Unresponsiveness: A Necessary Distinction*.
- Kahn, S., Hull, R., & Utzschneider, K. (2006). *Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes*.
- Kariya, F., Yamauchi, H., Kobayashi, K., Narusawa, M., & Nakahara, Y. (2004). Effects of prolonged voluntary wheel-running on muscle structure and function in rat skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 92(1–2), 90–97. <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1061-1>
- Katherine Quesenberry, B. E., & Boschert, K. R. (2020). *Breeding and Reproduction of Rats*.
- King, A. J. (2012). *The use of animal models in diabetes research*. [https://doi.org/10.1111/\(ISSN\)1476-5381/homepage/animal_models.htm](https://doi.org/10.1111/(ISSN)1476-5381/homepage/animal_models.htm)
- Kirwan, J. P., Sacks, J., & Nieuwoudt, S. (2017). The essential role of exercise in the management of type 2 diabetes. In *Cleveland Clinic journal of medicine* (Vol. 84, Issue 7, pp. S15–S21). <https://doi.org/10.3949/ccjm.84.s1.03>
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., Huypens, P., Beckers, J., De Angelis, M. H., Schürmann, A., Bakhti, M., Klingenspor, M., Heiman, M., Cherrington, A. D., Ristow, M., Lickert, H., Wolf, E., Havel, P. J., Müller, T. D., & Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 14, Issue 3, pp. 140–162). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161>
- Lauritzen, H. P., & Schertzer, J. D. (2010). Measuring GLUT4 translocation in mature muscle fibers. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 299, 169–179. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00066.2010.-Skeletal>
- Lee, S. H., Lee, H. J., Lee, Y. H., Lee, B. W., Cha, B. S., Kang, E. S., Ahn, C. W., Park, J. S., Kim, H. J., Lee, E. Y., & Lee, H. C. (2012). Korean red ginseng (*Panax ginseng*) improves insulin

- sensitivity in high fat fed sprague-dawley rats. *Phytotherapy Research*, 26(1), 142–147.
<https://doi.org/10.1002/ptr.3610>
- Lee, Y. T., Lin, H. Y., Chan, Y. W. F., Li, K. H. C., To, O. T. L., Yan, B. P., Liu, T., Li, G., Wong, W. T., Keung, W., & Tse, G. (2017). Mouse models of atherosclerosis: A historical perspective and recent advances. In *Lipids in Health and Disease* (Vol. 16, Issue 1). BioMed Central Ltd.
<https://doi.org/10.1186/s12944-016-0402-5>
- Levin, B. E., & Dunn-Meynell, A. A. (2004). Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 286, 771–778.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00650.2003.-The>
- Levin, B. E., Dunn-Meynell, A. A., Balkan, B., Keesey³, R. E., & Keesey, R. E. (2023). *Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats*.
- Levin, B. E., Triscari, J., Hogan, S., & Sullivan, A. C. (2023). *Resistance to diet-induced obesity: food intake, pancreatic sympathetic tone, and insulin*.
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9).
<https://doi.org/10.3390/ijms20092358>
- Madsen, S. M., Thorup, A. C., Overgaard, K., & Jeppesen, P. B. (2015). High intensity interval training improves glycaemic control and pancreatic β cell function of type 2 diabetes patients. *PLoS ONE*, 10(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133286>
- Maggio, C. A., & Pi-Sunyer, F. X. (2003). Obesity and type 2 diabetes. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* (Vol. 32, Issue 4, pp. 805–822). W.B. Saunders.
[https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(03\)00071-9](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(03)00071-9)
- Magkos, F., Hjorth, M. F., & Astrup, A. (2020). Diet and exercise in the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 16, Issue 10, pp. 545–555). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0381-5>
- Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A., & Calhau, C. (2016). High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*, 5(1), 11–21. <https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1061723>
- Mather, K. (2009). Surrogate measures of insulin resistance: Of rats, mice, and men. In *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* (Vol. 296, Issue 2).
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.90889.2008>
- Menke, A., Casagrande, S., Geiss, L., & Cowie, C. C. (2015). Prevalence of and Trends in Diabetes among Adults in the United States, 1988-2012. In *JAMA - Journal of the American Medical Association* (Vol. 314, Issue 10, pp. 1021–1029). American Medical Association.
<https://doi.org/10.1001/jama.2015.10029>

- Moraska, A., Deak, T., Spencer, R. L., Roth, D., & Fleshner, M. (2000). Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 279(4), R1321–R1329. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.4.R1321>
- Muniyappa, R., Chen, H., Muzumdar, R. H., Einstein, F. H., Yan, X., Yue, L. Q., Barzilai, N., & Quon, M. J. (2009). Comparison between surrogate indexes of insulin sensitivity/resistance and hyperinsulinemic euglycemic clamp estimates in rats. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 297(5). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00397.2009>
- Nakrani, M., & Wineland, R. (2022). Physiology, Glucose Metabolism. *StatPearls*. NIH. (2024).
- Nor Hanipah, Z., Nasr, E. C., Bucak, E., Schauer, P. R., Aminian, A., Brethauer, S. A., & Cetin, D. (2018). Efficacy of adjuvant weight loss medication after bariatric surgery. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 14(1), 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2017.10.002>
- Pandey, S., & Dvorakova, M. C. (2019). Future Perspective of Diabetic Animal Models. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 20(1), 25–38. <https://doi.org/10.2174/1871530319666190626143832>
- Park, K. S. (2011). The Search for Genetic Risk Factors of Type 2 Diabetes Mellitus. *Dmj*, 35(1), 12–22. <https://doi.org/10.4093/dmj.2011.35.1.12>
- Park, S. Y., Gautier, J. F., & Chon, S. (2021). Assessment of insulin secretion and insulin resistance in human. In *Diabetes and Metabolism Journal* (Vol. 45, Issue 5, pp. 641–654). Korean Diabetes Association. <https://doi.org/10.4093/DMJ.2021.0220>
- Patarrão, R. S., Wayne Lutt, W., & Paula Macedo, M. (2014). Assessment of methods and indexes of insulin sensitivity. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*, 9(1), 65–73. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rpedm.2013.10.004>
- Petersen, K. F., Dufour, S., Morino, K., Yoo, P. S., Cline, G. W., & Shulman, G. I. (2012). Reversal of muscle insulin resistance by weight reduction in young, lean, insulin-resistant offspring of parents with type 2 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(21), 8236–8240. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205675109>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- Petridou, A., Siopi, A., & Mougios, V. (2019). Exercise in the management of obesity. *Metabolism*, 92, 163–169. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.10.009>
- Pitts, G. C., & Bull, L. S. (1977). Exercise, dietary obesity, and growth in the rat. In *Am. J. Physiol.: Regulatory Integrative Comp. Physiol. I* (Vol. 232, Issue 1).
- Pranprawit, A., Wolber, F. M., Heyes, J. A., Molan, A. L., & Kruger, M. C. (2013). Short-term and long-term effects of excessive consumption of saturated fats and/or sucrose on metabolic

- variables in Sprague Dawley rats: A pilot study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(13), 3191–3197. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6240>
- Rafiqul Khan, M., Pharm Sci, P. J., Islam, A., Afia Akhtar, M., Islam Khan, R., Hossain, S., M Khurshid Alam, A. H., Imam Ibne Wahed, M., Amran, S., Mokaddesur Rahman, B., & Ahmed, M. (2009). Oral glucose tolerance test (OGTT) in normal control and glucose induced hyperglycemic rats with *Coccinia cordifolia* L. and *Catharanthus roseus* L. ORAL GLUCOSE TOLERANCE TEST (OGTT) IN NORMAL CONTROL AND GLUCOSE INDUCED HYPERGLYCEMIC RATS WITH COCCINIA CORDIFOLIA L. AND CATHARANTHUS ROSEUS L. In *Article in Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 22, Issue 4). www.graphpad.com
- Rahier, J., Guiot, Y., Goebbels, R. M., Sempoux, C., & Henquin, J. C. (2008). Pancreatic β -cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(SUPPL. 4), 32–42. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00969.x>
- Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. In *Diabetic Medicine* (Vol. 22, Issue 4, pp. 359–370). <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x>
- Reichkender, M. H., Auerbach, P., Rosenkilde, M., Christensen, A. N., Holm, S., Petersen, M. B., Lagerberg, A., Larsson, H. B. W., Rostrup, E., Mosbech, T. H., Sjödin, A., Kjaer, A., Ploug, T., Hoejgaard, L., & Stallknecht, B. (2013). Exercise training favors increased insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle in contrast to adipose tissue: A randomized study using FDG PET imaging. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 305(4). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00128.2013>
- Richter, E. A., & Hargreaves, M. (2013). EXERCISE, GLUT4, AND SKELETAL MUSCLE GLUCOSE UPTAKE. *Physiol Rev*, 93, 993–1017. <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2012.-Glucose>
- Rocha-Rodrigues, S., Rodríguez, A., Becerril, S., Ramírez, B., Gonçalves, I. O., Belez, J., Frühbeck, G., Ascensão, A., & Magalhães, J. (2017). Physical exercise remodels visceral adipose tissue and mitochondrial lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 44(3), 386–394. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12706>
- Rodríguez-López, J. M., Lachica, M., González-Valero, L., & Fernández-Figares, I. (2021). Determining insulin sensitivity from glucose tolerance tests in Iberian and landrace pigs. *PeerJ*, 9. <https://doi.org/10.7717/peerj.11014>
- Saengsirisuwan, V., Pongseeda, S., Prasannarong, M., Vichaiwong, K., & Toskulkao, C. (2009). Modulation of insulin resistance in ovariectomized rats by endurance exercise training and estrogen replacement. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 58(1), 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.08.004>

- Santolero, D., & Titchenell, P. M. (2019). Resolving the Paradox of Hepatic Insulin Resistance. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 7(2), 447–456. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.10.016>
- Santos, J. M., Ribeiro, S. B., Gaya, A. R., Appell, H. J., & Duarte, J. A. (2008). Skeletal muscle pathways of contraction-enhanced glucose uptake. In *International Journal of Sports Medicine* (Vol. 29, Issue 10, pp. 785–794). <https://doi.org/10.1055/s-2008-1038404>
- Sjöros, T. J., Heiskanen, M. A., Motiani, K. K., Löyttyniemi, E., Eskelinen, J. J., Virtanen, K. A., Savisto, N. J., Solin, O., Hannukainen, J. C., & Kalliokoski, K. K. (2018). Increased insulin-stimulated glucose uptake in both leg and arm muscles after sprint interval and moderate-intensity training in subjects with type 2 diabetes or prediabetes. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 28(1), 77–87. <https://doi.org/10.1111/sms.12875>
- Speretta, G. F. F., Rosante, M. C., Duarte, F. O., Leite, R. D., Lino, A. D. de S., Andre, R. A., Silvestre, J. G. de O., de Araujo, H. S. S., & de Oliveira, A. C. G. D. (2012). The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics*, 67(12), 1469–1477. [https://doi.org/10.6061/clinics/2012\(12\)19](https://doi.org/10.6061/clinics/2012(12)19)
- Stark, A. H., Timar, B., & Madar, Z. (2000). *Adaptation of Sprague Dawley rats to long-term feeding of high fat or high fructose diets.*
- Storlien, L. H., James, D. E., Burleigh, K. M., Chisholm, D. J., Kraegen, E. W., & James, D. E. (1986). *Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats.*
- Suganami, T., Nishida, J., & Ogawa, Y. (2005). A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: Role of free fatty acids and tumor necrosis factor α . *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(10), 2062–2068. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000183883.72263.13>
- Tabák, A. G., Herder, C., Rathmann, W., Brunner, E. J., & Kivimäki, M. (2012). Prediabetes: A high-risk state for diabetes development. In *The Lancet* (Vol. 379, Issue 9833, pp. 2279–2290). Elsevier B.V. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60283-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60283-9)
- Taylor, R. (2013). Type 2 diabetes: Etiology and reversibility. In *Diabetes Care* (Vol. 36, Issue 4, pp. 1047–1055). <https://doi.org/10.2337/dc12-1805>
- THL Fineli.*
- Thomas, D. D., Corkey, B. E., Istfan, N. W., & Apovian, C. M. (2019). Hyperinsulinemia: An Early Indicator of Metabolic Dysfunction. *Journal of the Endocrine Society*, 3(9), 1727–1747. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00065>
- Tokarz, V. L., MacDonald, P. E., & Klip, A. (2018). The cell biology of systemic insulin function. In *Journal of Cell Biology* (Vol. 217, Issue 7, pp. 2273–2289). Rockefeller University Press. <https://doi.org/10.1083/jcb.201802095>

- Tyyppi 2 diabetes: käypä hoito -suositus, 2020*. Retrieved November 7, 2023, from <https://www.kaypahoito.fi/hoi50056#s8>
- van Dam, R. M., & Seidell, J. C. (2007). Carbohydrate intake and obesity. *European Journal of Clinical Nutrition, 61*(1), S75–S99. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602939>
- Visiedo, F., Bugatto, F., Sánchez, V., Cózar-Castellano, I., Bartha, J. L., & Perdomo, G. (2013). *High glucose levels reduce fatty acid oxidation and increase triglyceride accumulation in human placenta*. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00032.2013>.-Placentas
- Wang, Y., Wisloff, U., & Kemi, O. J. (2010). Animal Models in the Study of Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy. *Physiol. Res, 59*, 633–644. www.biomed.cas.cz/physiolres
- Weir, G. C., Marselli, L., Marchetti, P., Katsuta, H., Jung, M. H., & Bonner-Weir, S. (2009). Towards better understanding of the contributions of overwork and glucotoxicity to the β -cell inadequacy of type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism, 11*(SUPPL. 4), 82–90. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01113.x>
- WHO. (2024). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Wilcox, G. (2005). Insulin and Insulin Resistance. In *Clin Biochem Rev* (Vol. 26).
- Winzell, M. S., & Ahrén, B. (2004). The High-Fat Diet–Fed Mouse: A Model for Studying Mechanisms and Treatment of Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes. *Diabetes, 53*(suppl_3), S215–S219. https://doi.org/10.2337/diabetes.53.suppl_3.S215
- Withers, D. J., & White, M. (2000). Perspective: The Insulin Signaling System—A Common Link in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Endocrinology, 141*(6), 1917–1921. <https://doi.org/10.1210/endo.141.6.7584>
- Yu, J., Zheng, J., Liu, X. F., Feng, Z. L., Zhang, X. P., Cao, L. L., & Zhou, Z. P. (2016). Exercise improved lipid metabolism and insulin sensitivity in rats fed a high-fat diet by regulating glucose transporter 4 (GLUT4) and musclin expression. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 49*(5). <https://doi.org/10.1590/1414-431X20165129>
- Zhang, X. Y., Guo C C, Yu Y X, Xie L, & Chang C Q. (2020). *Establishment of high-fat diet-induced obesity and insulin resistance model in rats*.
- Zhang, Y., Wan, J., Xu, Z., Hua, T., & Sun, Q. (2019). Exercise ameliorates insulin resistance via regulating TGF β -activated kinase 1 (TAK1)-mediated insulin signaling in liver of high-fat diet-induced obese rats. *Journal of Cellular Physiology, 234*(5), 7467–7474. <https://doi.org/10.1002/jcp.27508>