**Розділ ІІІ**

**Загальні методи**

Цей розділ описує дослідницькі методи застосовані у цій дипломній роботі. Всі дослідженні погоджені Консультативним комітетом Лобобоського університету з питань етики та письмовий дозвіл отриманий від всіх учасників випробування перед участю в дослідженні.

**Набір**

*Учасники дослідження*

Учасники дослідження відібрані з Лобобоського університету та місцевих мешканців такими шляхами: словесним, агітаційними плакатами, через електронну пошту, а також через соціальні мережі. Бажаючі були забезпечені листівками з інформацією щодо участі, що пояснюють призначення, протокол та потреби у досліджені. Після усного пояснення та наданої можливості задавати питання щодо дослідження, учасники дали згоду (Додаток B) та пройшли тестування щодо визначення стану здоров’я (Додаток C).Зроблена оцінка фізичного стану (Додаток D) та раціону харчування (Stunkard and Messick 1985; Додаток Е) учасників дослідження. Переваги у харчуванні також були визначенні (Додаток F для Розділів IV, VII та VIII) для забезпечення дотримання стандартів дієт.

Критеріями включення для участі були:

* Відсутність звички паління
* Не знаходиться на дієті для регулювання ваги та має стабільну вагу протягом 6 місяців
* Відсутність в анамнезі Серцево-судинних захворювань, метаболічних, травних та ниркових захворювань
* Відсутність сильної неприязні або непереносимості будь-якої досліджуваної їжі
* Фізично активний (<10 год·в тиждень-1)
* Не виявляє стриманих, невгамованих чи голодних схильностей до їжі

Передвипробовувальні заходи :

*Антропометрія*

Здійснене вимірювання висоти точністю до 1 мм (Сека, Бірмінгем, Великобританія) а також виміряна маса тіла в спідній білизні / оголеним з точністю до 0,2 кг за допомогою цифрових ваг (Adam Equipment Co Ltd, Мілтон Кейнс, Великобританія). Індекс маси тіла було розраховувано як вагу в кілограмах розділену на квадрат висоти в метрах. Підшкірний жир у тілі оцінено за шкірно-складковим вимірювання на чотирьох ділянках (трицепс, біцепс, надчеревний та підлопатковий) за допомогою штангенциркулів (Гарпенден, Західний Сассекс, Великобританія), з піддослідними в стоячому розслабленому положенні. Вимірювання були проведені 2 рази ; та 3 рази, у разі якщо розбіжності у попередніх вимірювання не були в межах 2 мм один від одного. Суму всіх чотирьох ділянок використовували для оцінки щільності тіла (Durnim and Wormsley 1974) та відсотоку жиру в організмі (Siri 1956).

*Ознайомчі випробування*

Усі учасники пройшли попереднє випробування, під час якого були оцінені зріст, вага та жир у тілі, описані вище. Вони також були ознайомлені з усіма аспектами дослідження, включаючи протоколи фізичних вправ, прийоми їжі за бажанням, суб’єктивну оцінку апетиту, вимірювання метаболізму спокою та процедури забору крові (детально описані нижче).

*Передвипробовувальна стандартизація*

Учасники реєстрували споживання їжі та фізичну активність протягом 24 год (Розділ VI) або 48 год (Розділи IV, V, VII та VIII) до першого експериментального випробування, і ці закономірності були відтворено за 24/48 год до наступних випробувань. Вживання алкоголю було заборонено протягом цього передвипробовувального періоду або під час випробувань. Фізичні вправи з характерним підвищеним навантаженням були заборонені під час передвипробовувального періоду, а також не пов'язані з протоколом вправи не дозволялись під час дослідницьких випробувань. Вранці під час експериментальних випробувань випробовувані прибули до лабораторії не приймавши їжу щонайменше протягом 10 год, за винятком простої води, споживаної за власним бажанням до першого випробування та у наступних випробуванях. Учасники докладали мінімальних зусиль, коли прибували або залишали лабораторію, пересуваючись на моторизованому транспорті, коли це можливо.

**Стандартизовані тестування прийомів їжі**

*Оцінка добових енергетичних потреб (ОЕП)*

Потреба в поновленні енергії (ППЕ) були розраховані для кожного учасника використовуючи рівняння Mifflin-St Jeor

ППЕ (чол.) = (10 \* масу тіла в кг) + (6.25 \* висоту в см) – (5 \* вік у р) + 5

ППЕ (жін.) = (10 \* масу тіла в кг) + (6.25 \* висоту в см) – (5 \* вік у р) – 161

Для Розділів IV та V, ППЕ була помножена на рівень фізичної активності з 1.7, для розрахунку компоненту фізичних навантажень тесту (FAO/WHO/UNU, 2004). Для Розділів VI, VII та VIII, ППЕ була помножена на рівень фізичної активності з 1.4, відтворюючи малорухомий день, як випробовуваним було сказано не займатися ніякими фізичними вправами протягом цих досліджень.

*Стандартизований сніданок (Розділи IV та V)*

Цих два розділи досліджували ефекти відмовлення, порівняно зі споживанням, від стандартизованого сніданку. Стандартизований сніданком складався з хрустких рисових пластівців, напівжирного молока, хліба, маргарину, полуничного джему та апельсинового соку і містив 25% оцінки енергетичної потреби піддослідних. На випробуваннях щодо відмови від сніданку, випробовуваних забезпечили болюсом ізоволуму води, співвідносним до того що містився в сніданку на випробуванні з вживання сніданку. Стандартизовані прийоми їжі на обід та вечерю в обох випробуваннях були подані у Розділі V. Таблиця 3.1 детально викладено енергетичну цінність та споживання мікроелементів при звичайному харчуванні під час Розділів IV та V.

**Таблиця 3.1** Енергетична цінність та споживання мікроелементів при звичайному харчуванні під час Розділів IV та V.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | ВУГЛЕВОДИ (г) | БІЛОК (г) | ЖИРИ (г) | ВОЛОКНА (г) | ЕНЕРГЕТИЧНА ЦІННІСТЬ (кДЖ) |
| **Сніданок** | | | | | |
| *Розділ IV* | 130.0 (8.2) | 19.5 (1.2) | 13.9 (0.9) | 4.5 (0.3) | 3095 (195) |
| *Розділ V* | 130.0 (9.1) | 19.5 (1.4) | 13.7 (1.0) | 4.5 (0.3) | 3085 (217) |
| **Обід** | | | | | |
| *Розділ V* | 118.9 (8.3) | 38.6 (2.7) | 41.1 (2.9) | 12.0 (0.8) | 4162 (301) |
| **Вечеря** | | | | | |
| *Розділ V* | 150.6 (10.5) | 41.2 (2.9) | 43.2 (3.0) | 6.8 (0.5) | 4914 (345) |

Значення є середніми (СЗ)

*24-годинні стандартизовані дієти (Розділи VI, VII та VIII)*

Цих три Розділи дослідили ефекти 24-годинних суворо обмежених по енергетичній цінності дієт (25% від ОЕП), у порівнянні до дієти з помірним вмістом енергетичної цінності (100% від ОЕП). Дієти були сформульовані для збереження смачної та легкої для запам’ятання їжі, а також, у деяких випадках були значні урахування індивідуальних переваг харчування (Додаток F).

Дієти з помірним вмістом енергетичної цінності (енергетично збалансовані; ЕЗ) були розподілені на 4 прийоми їжі. Сніданок, що споживався о 08:00 складався з хрустких рисових пластівців, напівжирного молока та апельсинового соку і містив 20% оцінки енергетичної потреби. Обід, що споживався о 12:00 складався з білого хліба, майонезу, курки, салату, помідору, червоного перцю, бальзамічного оцту та шоколадовмісного печива і містив 30% оцінки енергетичної потреби. Післяобідній перекус споживався о 16:00, складався з йогурта та злакового батончика та містив 10% оцінки енергетичної потреби. Вечеря споживалася о 19:30, складалась з курки, пасти, соусу болоньєзе, оливкового масла та шоколадовмісного печива і містила 40% оцінки енергетичної потреби.

Суворо обмежена по енергетичній цінності дієта (енергетично обмежена; ЕО) була розподілена на 2 прийоми їжі; обід та вечерю. Обід, що споживався о 12:00 складався з курки, салату, помідору, червоного перцю, бальзамічного оцту та містив 34% енергетичної потреби на день. Вечеря споживалася о 19:30, складалась з курки, пасти, соусу болоньєзе, оливкового масла та містила 66% енергетичної потреби на день. Сніданок, що складався лише з води також проводився о 8:00, болюс ізоволуму води з вмістом сніданку ЕЗ дієти. Відповідно до ефектів переваг дієтичних білків на ситість та збереження безжировмісних мас під час енергетично обмеженої дієти (Wycherley et *al.* 2012), ЕО була створена шляхом викидання/ зменшення вуглеводівмісної та високожировмісної їжі з ЕЗ дієти (такі як паста, хліб, майонез та закуски). Щоденна енергетична цінність та споживання мікроелементів у цих дієтах показані у Таблиці 3.2.

Додаткове споживання води було призначено при масі тіла в 35 мЛ\*кг-1 та було розподілено ввечері на цілий день. Споживання води для кожного розділу детально показано середнім значенням (СЗ) нижче :

* Розділ VI: 2853 (329) мЛ
* Розділ VII: 2438 (347) мЛ
* Розділ VIII: 3661 (606) мЛ

**Таблиця 3.2.** День 1 стандартизованої енергетичної цінності та споживання мікроелементів для кожного досліджуваного розділу

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Випробування | Білок (г) | Вуглеводи (г) | Жири (г) | Волокна (г) | Енергетична цінність (кДЖ) |
| Розділ VI | | | | | |
| **ЕЗ** | 111 (8) | 338 (23) | 81 (6) | 12 (1) | 10742 (728) |
| **ЕО** | 69 (5) | 65 (4) | 11 (1) | 4 (0) | 2697 (183) |
| Розділ VII | | | | | |
| **ЕЗ** | 97 (14) | 294 (41) | 70 (9) | 11 (2) | 9321 (1273) |
| **ЕО** | 60 (9) | 56 (8) | 9 (1) | 3 (1) | 2340 (320) |
| Розділ VIII | | | | | |
| **ЕЗ** | 125 (12) | 381 (37) | 91 (9) | 14 (1) | 12105 (1174) |
| **ЕО** | 78 (8) | 73 (7) | 12 (1) | 4 (0) | 3039 (295) |

ЕЗ, баланс енергетичної цінності (100% ОЕП); ЕО, обмеження енергетичної цінності (25% ОЕП). Значення є середніми (СЗ).

*Стандартизований сніданок (Розділи VII та VIII)*

В обох випробуваннях, після споживання за 24-годинні стандартизованою дієтою (День 1), випробовуванні повернулись до лабораторії після ≥10 год без їжі (~08:00) та спожили стандартизований сніданок за 20 хв, що становив 25% від ОЕП. Він складався з хрустких рисових пластівців, напівжирного молока, білого хлібу, вершкового масла та полуничного джему. У Розділі VI цей сніданок забезпечив 2454 (338) кДж енергетичної цінністі; 16 (2) г білків; 93 (13) г вуглеводів; 16 (2) г жиру; та 3 (0) г волокон.

**Висновки дослідження**

*Оцінка відчуття апетиту випробовуваних*

Відчуття апетиту в учасників такі як голод, ситість, бажання їсти (БЇ) та майбутнє бажання насититись (МБН) оцінювалось періодично у кожному дослідженні, наведеному у цій дипломній роботі, використовуючи вивірену 100 мм візуальну аналогову шкалу (Flint et al. 2000; Додаток G). Такі вирази як «ні за яких обставин/ без бажання взагалі/ нічого взагалі» та «сильно/ дуже» були розміщені на шкалі від 0 до 100 мм у відповідності. піддослідні оцінили своє відчуття апетиту, залишивши відмітку на 100 мм горизонтальній лінії відповідно до того як кожен з них себе почував. Після чого були кількісно пораховані шляхом вимірювання довжини з лівого краю шкали до точки на шкалі, відміченої учасником випробовування.

*Оцінка споживання енергетичної цінності*

Споживання енергетичної цінності було оцінено лабораторно-орієнтованим шляхом вільного споживання їжі та зваженими записами їжі протягом головних випробовувань у Розділах IV, VII та VIII. Учасники споживали їжу за у порядку, відповідно до власного бажання у спеціально-зробленій ізольованій кабінці для харчування, з метою усунення будь-якого оточуючого та соціального впливу на споживання їжі. Піддослідним було надано 30 хв для оцінки власно-вибраного споживання їжі, та були чітко проінструктовані щоб «їсти допоки не буде повністю ситим та задоволеним». Учасники випробовування вказували своє насичення їжею, коли залишали кабінку для харчування та йшли відпочивати у сусіднє приміщення лабораторії для відпочинку, але залишалися при цьому ізольованими протягом усього 30 хв періоду. Кількість спожитої їжі була кількісно підрахована шляхом зважування їжі перед та після споживання, зі своєю енергетичною цінністю та вмисністю мікроелементів зазначених виробником продукції. Вода та/ чи сік без цукру були також передбачені у меню вільного споживання їжі.

Протягом Розділів IV, VII та VIII, після різноманітного обіду при вільному споживанні їжі, що складався з готових до вживання продуктів, включаючи приготоване м’ясо, хліб, масло, салат, фрукти та печиво (див. Додаток H для отримання детальної інформації). Предмети їжі були однаково розставлені у пріоритетах до кожного прийому їжі та були забезпечені у надлишок до очікуваного споживання, з більшою кількістю їжі доступної на замовлення.

Страва з однорідної пасти (див. Додаток І для отримання детальної інформації), що складається з пасти фузіллі, соусу болоньєзе та оливкового масла (Теско, Чешунт, Великобританія), було використано для оцінки енергетичної цінності на обід та вечерю (Розділи IV, VII та VIII). Для кожного прийому їжі 500 г пасти було приготовано у 2 л води без додавання солі у мікрохвильовій печі при 900 Вт протягом 7 хв, перемішаної,та знову поставленої до мікрохвильової печі на наступних 7 хв. Приготована паста потім проціджена та зважена протягом 1 хв.

Для того, щоб переконатись, що кожна порція пасти відповідала густині енергетичної цінності так близько, як тільки можливо. Кожна готова порція пасти повинна була мати вагу 1700 – 1900 г та була стандартизована між випробуваннями, з подальшими періодами приготування 0.5 – 1 хв, для отримання результату. Коли отримана паста досягала потрібної ваги, 490 г соусу болоньєзе додавалось та перемішувалось з пастою, після чого пасту охолоджували та була заморожували протягом ночі. У Розділі IV, 205 г сиру також було додано до страви, перед додаванням соусу болоньєзе. Приблизно за 30 хв перед сервіруванням, 40 г оливкового масла було ретельно змішано зі травою. Уся страва була зважена та розподілена на 4 тарілки ємністю ~350 г. Перед безпосереднім сервіруванням, кожна порція була нагріта у мікрохвильовій печі протягом 1.5 хв та була зважена, після чого могла охолонути до 2 хв. Учасників дослідження забезпечили першою порцією, яка замінювалась новою, коли було спожито від ½ до ¾ порції. Цей процес продовжувався допоки піддослідні не виказували своє насичення їжею. Свіжі порції постачались у відповідному темпі, визначеної для кожного учасника індивідуально під час ознайомчого випробування , щоб переконати, що тепла страва була завжди доступна та закінчивши споживання порції не було сигналом для закінчення прийому їжі.

У Розділі VII, отримання енергетичної цінності було доступно за рахунок вільного споживання вівсянки. Учасники вибирали зі смаків, яким надавали перевагу (проста, із золотий сиропом чи шоколадна) з вівсянки (Ready Brek, Weetabix, Кеттерінг, Великобританія) протягом ознайомчого випробовування. Кожна порція вівсянки складалась з 90 г сухої вівсяної каші у поєднанні з 434 г напівжирного молока, яке було нагріте у мікрохвильовій печі протягом 2.5 хв та охолоджувалось протягом 3 хв перед сервіруванням для учасників дослідження. Як зазначено вище, порції вівсянки замінювались новою у відповідному темпі до кожного піддослідного що дозволяв спожити від ½ до ¾ порції перед заміною (див Додаток J для отримання детальної інформації).

У розділах VII та VIII, учасники також завершили із записами щодо зважування їжі для включення звичного споживання енергетичної цінності для оцінки (Додаток K). Випробовувані були окремо проінструктовані з того, як проводити записи з споживання їжі. Для забезпечення компетенції, 24-годинний харчовий запис був заповнений перед ознайомчим випробуванням, що був оцінений та були зроблені рекомендації щодо покращення точності записів. Учасників попросили зважитись перед прийомом їжі, та включити до записів інформацію про методи приготування та бренди споживаної продукції. Енергетична цінність та вміст мікроелементів були взяті з інформації про продукцію від виробника, або в окремих випадках, де бренди не забезпечували інформацію про продукт, було використано програмне забезпечення NetWisp 4.0 для призначене для дієтичного аналізу (NetWisp Inc, Чікаго, США).

*Взяття проб газу з закінченим терміном дії та аналіз*

Після 20 хв у положенні лежачи на спині, зразки застарілого газу з були зібрані. Піддослідні вдихали ротом через силіконову трубку з клапаном в один шлях (Hans Rudolf, Оклахома, США) протягом 10 хв у відповідності до інструкцій описаних у Compher (2006). Перших 5 хв кожнен зразок спустошували, а наступні 5 хв збирали у мішок Дугласа (Plysu Protection Systems, Мілтон Кейнс, Великобританія). Протягом процедури зразки 4 хв застарілого газу були зібрані, через перших 2 хв спустошені та згодом зібрані у мішок Дугласа.

Концентрація повітря та вуглекислого газу була визначена використовуючи парамагнітний аналізатор повітря та інфрачервоний аналізатор вуглекислого газу (1400 Series Servomex, Східний Сассекс, Великобританія). Аналізатори були відкалібровані перед безпосереднім аналізом зразків з визначеними сертифікованими еталонними газами (BOC, Гілдфорд, Великобританія). Об’єм (Harvard Dry Gas Meter, Harvard Ltd, Кент, Великобританія) та температура (Edale thermistor, Кембридж, Великобританія) кожного зразка застарілого газу були також визначенні. На додаток атмосферні концентрації кисню та вуглекислого газу в лабораторії були отримані протягом кожного зразка із застарілим газом, задля підрахунку будь-які коливання навколишнього повітря в обмеженому середовищі (Betts and Thompson, 2012). Лабораторна температура (Omega, Манчестер, Великобританія) та барометричний тиск (ClimeMET, Саффолк, Великобританія), так само, як склад оточуючого повітря (виміряного до 1 м до піддослідного) були виміряні та включені в стехіометричні розрахунки.

Об’єми зразків застарілого газу були стандартна температура і сухий тиск (такі як 273 К і 760 мм рт.ст .; VE (STPD)), та об’єм оточуючого повітря (VI) був обчислений використовуючи Трансформацію Халдена. Поглинання кисню (VO2) та вироблення вуглекислого газу (VCO2) були обчислені зі змін зразків оточуючого та застарілого газу. Витрати енергії і окислення субстрату були розраховані з VO2 and VCO2 використовуючи рівняння Фрайна (1983).

*Зразки крові та аналіз*

Зразки крові були отримані з поверхневої вени передпліччя (зазвичай антекубітальної вени) за допомогою венепункції (≤4 проби крові на день), або канюлею. Канюлі залишалися ті самі , промиваючи їх 5 мЛ негепаринізованим сольовим розчином (0,9% хлориду натрія, Baxter Healthcare Ltd, Норфолк, Великобританія) після взяття кожного зразка та з постійними інтервалами між взяттям проб. Перед взяттям кожного зразка крові, піддослідні відпочивали у положенні напівлежачи протягом >20 хв та залишалися у цьому положенні протягом збору зразків, щоб контролювати будь-які постуральні зміни обсягу плазми Sheriffs and Maughan 1994).

Перших 2 мЛ кожного зразка набирають та спустошують. Зразки крові були взяті у 15 мЛ об’ємі та розлиті у завчасно охолоджені пробірки що мають 1.75 мг\*мЛ-1 K2 EDTA (Sarstedt, Лейсестер, Великобританія). 5 мл аліквот крові, обробленої етилендіамінтетраоцтова кислота (EDTA), глюкоза та неестерифіковані жирні кислоти (NEFA). 5 мЛ аліквот був одразу змішаний з 50 µЛ інгібітором дипептидил-пептидази 4 (Merck Millipore, Ватфорд, Великобританія) та розлитий по EDTA пробірах, для запобігання розпаду GLP-17-36 та GIP1-42 (тільки Розділ VIII). 2.5 мЛ аліквот крові потім розміщений у EDTA що має 25 µЛ (10 µЛ·mЛ-1 повної кількості крові) буферу фосфату калію (PBS; 0.05 М), Р-гідроксимеркурибензонова кислота (PHMB; 0.05 М) та розчин гідроксиду натрію (NaOH; 0.006 M) для запобігання розпаду ацильованого греліну.

Всі зразки центрифугували при 1750g протягом 15 хв у холодильній центрифузі (4°C) (Thermo Fisher Scientific, штат Массачусетс, США). Через 10 хв центрифугування супернатант (1 мЛ) крові, обробленої PHMB / PBS / NaOH, змішували зі 100 µЛ соляної кислоти (HCl; 1 М), і всі зразки згодом центрифугували протягом наступних 5 хв. Супернатант кожного зразка потім було видалено, розділено на аліквоти 0,5 мЛ (Fisher Scientific, Лафборо, Великобританія) і поміщено при -20°C до заморожування, а після чого знижено до -80 ° C для проведення подальшого аналізу.

У Розділі VI, 12мЛ об’єму крові було взято, 5 мЛ залито до необробленої EDTA -пробірку і оброблену, як зазначено вище, та 5 мЛ поміщено у пробірку, що містить у собі каталізатор згортання (Сарштедт, Лестер, Великобританія) та який зберігався протягом 15 хв при кімнатній температурі до повного згортання. Потім пробірки центрифугували (як зазначено вище) і супернатант плазми / сироватки відокремили та було покладено на збереження (як зазначено вище). У цьому дослідженні сироватку використовували для визначення інсуліну, глюкози та NEFA, плазма була використана для визначення загального GLP-1 та загального GIP. У кожній точці взяття проб для визначення концентрації гемоглобіну та гематокриту було використано 2 мЛ цільної крові, обробленої EDTA. Гемоглобін був виміряний 2 рази методом ціанметемоглобіну за допомогою спектрофотометра (Шимадзу, Мілтон Кейнс, Великобританія), гематокрит вимірювали 3 рази за допомогою мікроцентрифуги (Хокслі, Сассекс, Великобританія). Для оцінки зміни об’єму плазми використовували концентрати гематокриту та гемоглобіну відносно вихідного рівня (Dill and Costill 1974), що дозволило плазмовій концентрації гормонів бути зміненою для урахування змін в об’ємі плазми. Концентрація інсуліну в плазмі / сироватці (імунодіагностичні системи, Болдон, Великобританія) ацильованого греліну (Bioquote Ltd, Йорк, Великобританія), GLP-17-36 (Merck Millipore, Ватфорд, Великобританія), GIP1-42 (лише Розділ VIII; Immuno-Biological Laboratories Ltd, Міннеаполіс, США), загальний GLP-1 (лише Розділ VI; Merck Millipore, Ватфорд, Великобританія) та загальний GIP (лише Розділ VI; Merck Millipore, Watford, UK) вимірювали методом ІФА. У Розділі VIII концентрацію інсуліну у плазмі крові було виміряно за допомогою альтернативного ІФА (Mercodia, Уппсала, Швеція), як кілька суб'єктів цього дослідження виявляли високі концентрації інсуліну, що вимагало використання інсуліну ІФА з більшим діапазоном. Плазмові / сироваткові концентрації глюкози (Хоріба, Монпельє, Франція) та NEFA (Randox Laboratories Ltd, Crumlin, Великобританія) були визначені за допомогою ферментативного колориметричного аналізу з використанням настільного аналізатора (Pentra 400, Horiba, Montpellier, Франція). Для кожної змінної (за винятком гемоглобіну та гематокриту) всі зразки для окремого піддослідного були проаналізовані на тому же методі ІФВ або під час того самого аналізу циклу на Пентрі. Коефіцієнти варіації внутрішнього аналізу представлені в Таблиці 3.4.

**Таблиця 3.4** Коефіцієнти варіації внутрішнього аналізу

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Змінна** | **Розділи** | **Коефіцієнти варіації КВ** |
| Глюкоза | IV, V, VI, VII, VIII | 0.5 (0.3-1.2) % |
| NEFA | VI, VII, VIII | 1.3 (0.0-2.9) % |
| Інсулін (IDS) | IV, V, VI, VII | 4.7 (2.2-10.3) % |
| Інсулін (Mercodia) | VIII | 6.9 (1.9-14.9) % |
| Ацильований грелін | IV, V, VII, VIII | 5.8 (1.4-14.5) % |
| GLP-17-36 | IV, V, VII, VIII | 4.2 (1.0-8.9) % |
| Загальний GLP-1 | VI | 7.9 (5.2-10.6) % |
| GIP1-42 | VIII | 2.9 (2.7-3.0) % |
| Загальний GIP | VI | 6.1 (5.7-6.5) % |

Інформація КВ показана середня (у діапазоні).

**Тестування фізичного стану (Розділи IV та V)**

*Попереднє тестування на придатність*

Випробовувані проходили тест на переривчасті поступові фізичні вправи на електро-велотренажері оснащеним ергометром (Lode Corival, Гронінген, Голландія) для визначення пікового споживання кисню (VO2peak). Початкове навантаження встановлювалося між 50-100 Вт, залежно від рівня фізичної підготовки кожного суб'єкта, і збільшувалось на 50-100 Вт по мірі кожного кроку. Підвищення навантажень продовжувались протягом 4 хв, розділені ~5 хв відпочинком та навантаження збільшувалось до вольового виснаження. VO2 визначали за зразками застарілого газу, відібраними протягом останньої хвилини кожного збільшення навантаження та протягом останньої хвилини тесту. VO2peak визначався як найвищий виміряний VO2. Впродовж усього часу учасників експерименту словесно заохочували. VO2 був побудований графік щодо робочого навантаження для кожного етапу для визначення співвідношення швидкості роботи та споживання кисню. Лінійна регресія була використовується для визначення швидкості роботи, необхідної для отримання бажаного відсотка поглинання кисню під час фізичних вправ для подальших випробувань (60% у Розділі IV та 50% у Розділі V; 60%). Це фізичне навантаження використовувалось для ознайомлювального випробування, але за необхідності були внесені корективи для основних випробувань.

*Вимірювання пульсу*

Частоту серцевих скорочень реєстрували під час фізичних вправ за допомогою радіотелеметрії короткого діапазону Кемпеле, Фінляндія). Частоту серцевих скорочень реєстрували в кінці кожного збільшення навантаження протягом VO2peak тесту.

*Рейтинг отриманого навантаження (РОН)*

Рівень отриманого навантаження учасників під час вправи було визначено за шкалою Борга (Borg 1973), у діапазоні від 6 (без зусиль) до 20 (максимальні зусилля). РОН був оцінений у в кінці кожного фізичного навантаження протягом VO2peak тесту.

**Статистичний аналіз**

Інформації було проаналізовано з використанням SPSS 21.0 (Сомерс, Нью-Йорк, США). Корекція концентрації гормонів для зміни обсягу плазми крові жодним чином не змінили інтерпретацію результатів Розділів, представлених у цій дипломній роботі, тому були представлені результати без внесення корегування значень на всьому протязі дипломної роботи. Всі дані перевіряли на нормальність розподілу за допомогою тесту Шапіро-Вілька. Значення всієї площі під кривою (ППК) були розраховані за допомогою трапецієподібного методу та проаналізовані за допомогою t-тесту (нормально розподіленого) або тесту Вілкоксона зазначеного рангу (ненормально розподіленого), як належні. ППК для концентрації плазми / сироватки крові, відчуттів апетиту, витрати енергії та окислення субстрату, а також поділені на окремі періоду часу (Розділи VI, VII, VIII). Дані, що містять один фактор (пр. споживання енергетичної цінності під час індивідуального прийому їжі) аналізували за допомогою t-тесту (нормально розподіленого) або тесту Вілкоксона зазначеного рангу (ненормально розподіленого), як належні. Подвійні повторюючись міри ANOVA були використані для дослідження розбіжностей між випробовуваннями з часом для відчуттів апетиту, концентрації гормонів плазми / сироватки крові (Розділи IV, V, VI, VII, VIII), концентрації субстрату в плазмі / сироватці крові (Розділи IV, V, VI, VII, VIII) і метаболізму спокою (Розділи V, VII, VIII). Припущення про кулястість ANOVA були перевірені та відрегульовані для ступенів свободи за допомогою корекції теплиці-Гейзера, де це доречно. Послідовно спарені t-тести або тести Вілкоксона зазначеного рангу були використані для виявлення будь-яких ефектів впливу часу випробувань чи взаємодії. Корекцію використовували для контролю рівня сімейних помилок, де спостерігались значні ефекти, Бонферроні (Розділи IV та V) або Холм-Бонферроні (Розділи VI, VII, VIII). Набори даних були визначені з суттєвою різнею, коли Р <0,05. Дані представлені як середні (стандартні відхилення), допоки не вказані інші.