

Marked

RAPPORTTITTEL

**DOKUMENTASJON AV HELSEGEVINST VED BRUK AV
PROTEINHYDROLYSAT AV LAKS.
Fedmeutvikling, stress og metabolismeveier.
(Docmar peptid II)**

RAPPORTNUMMER	155	PROSJEKTNUMMER	4638
UTGIVER	RUBIN	DATO	Januar 2008

UTFØRENDE INSTITUSJONER

NIFES

P.b. 2029 Nordnes
5817 Bergen

Kontaktperson: Bjørn Liaset (bjorn.liaset@nifes.no)

SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER

I Docmar-prosjektet, 2002-2006, (kfr. RUBIN-prosjekt 4608) er det vist at rotter som fikk alt diettprotein som hydrolysert lakseprotein (FPH) utviklet mindre fedme enn rotter som fikk kasein eller soyaprotein. Det er også vist at ved å erstatte 50% av kasein med FPH, eller 50% av kasein med hydrolysert kasein, så fikk man redusert mengde fettvev. Hovedmålet med dette prosjektet (Docmar peptid II, 2007) var å kunne forklare nærmere hvordan FPH reduserer fedme i rotter, og dokumentere at dette skjer på en gunstig måte. Prosjektet har undersøkt følgende: **1)** Påverkar FPH sammensetning i muskel og lever (mengde fett og glykogen), **2)** Blir rottene stressa av det lavare tryptofan-innhaldet i FPH og **3)** Hvilke metabolismeveier er regulerte av FPH i dietten, og hvordan påvirker dette reduksjon i fettvev?

Resultatene har vist at hydrolysert protein reduserer fettmengde i lever og muskel hos rotter, og at reduksjonen er større for hydrolysert kasein (HK) enn for hydrolysert lakseprotein (FPH). Imidlertid er mengde totalt fett hos FPH-fôra rotter lavere enn hos rotter som har fått HK. FPH ser ikke ut til å gi økt stress hos rottene målt som adrenalin i urin, og nivået var lavere sammenlignet med både kasein og hydrolysert kasein.

Ut fra gen-uttrykk og blod-metabolitter øker hydrolysert protein (både FPH og HK) fettforbrenning i muskel og fettvev. Dette er trolig med på å forhindre fedme i dyrene som har fått hydrolysert protein i dietten.

FPH-rottene hadde videre lavere blodkolesterol, bedre nyrefunksjon målt som protein i urin og større evne til å transportere gallesyrer over nyrene til urin enn både HK-rotter og kasein-rotter. Dette kan være gunstig mht. fedmerelaterte sykdommer, og spesielt i forhold til hjerte/karsykdommer og galleblæresykdom.

Når det gjelder forskjellen mellom hydrolysert lakseprotein og hydrolysert kasein, så er det viktig å peke på at det hydrolyserte kaseinet var kraftig hydrolysert - betydelig kraftigere enn FPH - og kan gi økt arbeidspress på lever og nyrer, og derfor virke negativt over tid. Pga. dette, og dessuten at FPH har en mer gunstig aminosyresammensetning mht. antioksidantsystemet, vil FPH totalt sett være en gunstigere proteinkilde.

Det legges opp til et videre arbeid med fokus på FPHs evne til å redusere oksidativt stress i vev (som motvirker utvikling av fedme).



Sluttrapport Docmar peptid II

Bakgrunn

I Docmar peptid prosjektet (2002-2006) har vi tidlegare vist at rotter som fekk alt diettprotein som FPH utvikla mindre fedme enn rotter som fekk kasein eller soyaprotein. Vi har også vist at ved å erstatte 50% av kasein med lakse FPH, eller 50% av kasein med hydrolysert kasein fekk vi redusert mengde fettvev. Hovudmålet med Docmar peptid II (2007) prosjektet var å kunne forklare nærare korleis FPH reduserer fedme i rotter, og at dette skjer på ein gunstig måte. Prosjektet skulle svare på desse delmåla:

- Påverkar FPH samansetnad i muskel og lever (mengde fett og glykogen)?
- Blir rottene stressa av det lavare tryptofan-innhaldet i FPH?
- Kva for metabolismeveggar er regulerte av FPH i dietten, og korleis påverkar dette reduksjon i fettvev?

Delmål 1: Påverkar FPH samansetnad i muskel og lever (mengde fett og glykogen)?

I dette prosjektet ønskte vi å svare på om samansetnad i muskel og lever også var påverka av å erstatte kasein med lakse FPH eller hydrolysert kasein. Muskel og leverprøver frå rotter føra halvparten av protein som lakse FPH eller hydrolysert kasein vart samanlikna med dyr som fekk alt proteinet som kasein. Prøver av muskel og lever frå dyrestudie som vart gjennomført på slutten av Docmar peptid prosjektet (2006), vart derfor analyserte for glykogen og lagringsfetta triacylglycerol (TAG) og sterol ester (SE). Resultat er viste i tabell 1, som % av mengder i kasein føra rotter.

Tabell 1. Relativt innhald av fett og glykogen i muskel og lever i rotter føra 50% lakse FPH, 50 % hydrolysert kasein eller 100% kasein. Lagringsfett: TAG = triacylglycerol, SE = sterol ester

	FPH vs kasein	Hydr kasein vs kasein	FPH vs hydr kasein
Lever TAG	-24%	-40%	+26%
Lever SE	-32%	-53%	+46%
Lever glykogen	+11%	-30%	+60%
Muskel TAG	-17%	-25%	+10%
Muskel SE	-	-	-
Muskel glycogen	+14%	+10%	+4%

Type protein i dietten til rottene påverka fettmengder etter same mønster i både lever og muskel, og rottene føra kasein hadde mest fett, rottene føra lakse FPH mindre og rottene føra hydrolysert kasein minst (kasein > lakse FPH > hydrolysert kasein). Sterol ester vart ikkje funne i muskel. Utover mengder fett i lever og muskel, hadde rottene føra lakse FPH mindre totalt fettvev enn dei som fekk hydrolysert kasein.

Ved dramatisk auka feittmengder i vev, kan celleskader oppstå (t.d. ved fettlever). Vi sende derfor lever og muskelprøver til mikroskopering ved Gades institutt (patologar), men ingen teikn til celleendringar vart funne mellom dei ulike diettgruppene. Betydninga av dei små endringane i fett i lever og muskel er derfor usikre.

Glykogenmengder i lever var høgast i lakse FPH fôra, litt lavare i kasein fôra og lavast i hydrolysert kasein fôra rotter (lakse FPH > kasein > hydrolysert kasein). I muskel hadde både lakse FPH og hydrolysert kasein litt meir glykogen enn kasein-fôra (lakse FPH = hydrolysert kasein > kasein). Auken i muskel glykogen var liten (10-14%), men fordi skjelettmuskel utgjør ein stor del av total kroppsvekt, og glykogen bind 6 gongar meir vatn enn fett, kan dette vere av relevans for til dømes grisebønder, som får betalt per kg muskelvekt. Vi fann ingen skilnad i muskelvekt i rottene.

- **Konklusjon delmål 1:**

- Hydrolysert protein reduserer feittmengde i lever og muskel
- Hydrolysert kasein reduserer feittmengde meir enn lakse FPH i lever og muskel
- Hydrolysert protein aukar muskelglykogen svakt

Delmål 2: Blir rottene stressa av det lavare tryptofan-innhaldet i FPH?

FPH er generelt lavt på aminosyra tryptofan, samanlikna med andre proteinkjelder. Det vil seie at når vi erstattar til dømes soya eller kasein med FPH, vil mengde tryptofan i dietten bli lavare. Samstundes veit ein at stress er ei utfordring i griseproduksjon, og at auka mengde tryptofan i grisfôret har gjeve indikasjonar på redusert stress. Vi ønskte derfor å undersøkje om FPH i dietten auka stressnivået i rottene gjeve 50% lakse FPH, 50% hydrolysert kasein eller 100% kasein. Eit av signalstoffa som kan vere teikn på stress er adrenalin, og vi målte derfor 24 timars utskilling av adrenalin i urin, som indikator på adrenalinnivå i dyra. Resultat er viste i tabell 2, som % av mengder i kasein fôra rotter.

Tabell 2. Relativt mengde utskilt adrenalin i urin (24 t).

	FPH vs kasein	Hydr kasein vs kasein	FPH vs hydr kasein
24 t adrenalin i urin	-10%	+9%	-18%

Type diettprotein virka svakt inn på adrenalin i urin, og rottene fôra hydrolysert kasein hadde mest, rottene fôra kasein mindre og rottene fôra lakse FPH minst (hydrolysert kasein > kasein > lakse FPH). Det ser altså ikkje ut til at det lave tryptofan-nivået i lakse FPH auka stressnivået i rottene. Tvert imot, rottene som fekk hydrolysert kasein og kasein (begge diettane like høge i tryptofan innhald) skilde ut meir av stresshormonet adrenalin i urinen. Per i dag kan vi ikkje forklare skilnadane i adrenalin i urin.

- **Konklusjon delmål 2:**

- Lakse FPH, ved 50% innblanding, hadde lavast adrenalin i urin, og ser ikkje ut til å vere stressa av det litt lavare tryptofan-innhald i dietten
- Hydrolysert kasein, ved 50% innblanding, aukar adrenalin i urin svakt

Delmål 3: Kva for metabolismevegar er regulerte av FPH i dietten, og korleis påverkar dette reduksjon i feittvev?

I tre uavhengige rotteforsøk, har vi sett at ulike typar FPH (frå torsk, sei og laks) reduserer mengde fett i rottene, trass i ganske likt energi-inntak. Ei av hypotesene våre er at FPH i dietten fører til at meir av det spiste fett blir forbrent i kroppen, medan soyaprotein og kasein i dietten fører til at mindre av det spiste fett blir brukt til forbrenning, og derfor i større grad blir lagra i feittvev (og lever og muskulatur, jmf delmål 1). For å kunne seie meir om energiomsetnaden i ulike vev, har vi målt gen-uttrykk i lever, feittvev og muskel av protein som er involvert i energiomsetnaden. Resultata er viste i tabellane 3-5, som endring i forhold til kasein-fôra rotter.

Tabell 3. Endring av gen som er involverte i energiomsetnad i **unge** rotter fôra sei FPH, soyaprotein eller kasein og "normal- energi" diettar (10 vekt% fett). Uendra mellom diettgruppene (-).

	Sei FPH	Soya protein	Kasein
Lever	-	-	-
Feittvev	↑	-	-

Tabell 4. Endring av gen som er involverte i energiomsetnad i **unge** rotter fôra laks FPH, sei FPH, soyaprotein eller kasein og "høg-energi" diettar (24 vekt% fett). Likt mellom diettgruppene (-).

	Laks FPH	Sei FPH	Soya protein	Kasein
Lever	-	-	-	-
Feittvev	↑↑	↑	-	-
Muskel	↑	-	-	-

Tabell 5. Endring av gen som er involverte i energiomsetnad i **voksne** rotter fôra 50% av protein som laks FPH, 50% av protein som hydrolysert kasein og 100% av protein som kasein i "høg-energi" diettar (24 vekt% fett). Likt mellom diettgruppene (-).

	Laks FPH	Hydrolysert kasein	Kasein
Lever	-	-	-
Feittvev	↑	↑	-
Muskel	↑	↑	-

Resultata tyder på at energiomsetnaden i feittvev og muskel er spesielt påverka av hydrolysert protein, medan energiomsetnaden i lever er mindre påverka. Dette er gunstig, sidan ein auka energiomsetnad i feittvev kan motverke auke i feittcelle-storleik, og dermed motverke noko av problematikken rundt fedme, som er knytt til betennelse i feittvev med store feitt-celler. Vidare kan små endringar i energiomsetnad i muskel vere gunstige for fedmeutvikling, sidan muskel er vårt største organ, og derfor kan bidraget til total energiomsetnad derfor blir stort sjølv med små endringar i energiomsetnad i muskel. Ei auka fettforbrenning i muskel er understøtta frå innhaldet av TAG i muskel (Tabell 1), som var lavare i dyra som hadde oppregulert gen-uttrykk av protein som er involvert i energiomsetnad (Tabell 5).

I delmål 3 ønskte vi også å måle blodmetabolitter ifrå forsøket med 50% laks FPH, 50% hydrolysert kasein og 100% kasein. Vi fann skilnader på nokre få parameter, og resultatane er viste i tabellane 6, som endring i forhold til kasein-fôra rotter.

Tabell 6. Endring av serum metabolitter i **voksne** rotter fôra 50% av protein som laks FPH, 50% av protein som hydrolysert kasein og 100% av protein som kasein i "høg-energi" diettar (24 vekt% fett). Likt mellom diettgruppene (-).

Målt parameter	50% Laks FPH	50% hydrolysert kasein	100% kasein
Total kolesterol	↓	-	-
Laktat	↓	↓	-
OH-butyrate	↑	↑↑	-

Laks FPH reduserte total kolesterol i forhold til både hydrolysert kasein og kasein, og dette heng truleg saman med auka utskilling av galle til feces, som vi har sett tidlegare med FPH. Vidare reduserte både laks FPH og hydrolysert kasein serum laktat-mengder. Laktat er ein indikator på blodsukker-metabolisme, og dei reduserte serum laktat-verdiane kan henge saman med auka mengde muskel glykogen (Tabell 1), som er lagringsforma for blodsukker. Altså, høgre muskel-glycogen-nivå kan tyde på mindre glucose-metabolism og derfor lavare serum laktat verdiane, som er indikator på glucose metabolisme. Serum verdiane av OH-butyrate, som er indikator på lever fettforbrenning var auka mest i hydrolysert kasein fôra rotter. Desse hadde også lavast lever TAG konsentrasjonar (Tabell 1), noko som understøttar ei høgre fettforbrenning i lever i desse dyra.

Vi har også målt thyroide hormoner, som er med og styrer energimetabolismen, men serumnivåa disse var upåverka av diettane i dette forsøket.

- **Konklusjon delmål 3:**

- Ut frå gen-uttrykk og blod-metabolitter aukar hydrolysert protein (både laks FPH og hydrolysert kasein) fettforbrenning i muskel og fettvev
- Dette er truleg med på å forhindre fedme i dyra som har fått hydrolysert protein i dietten

Er lakse FPH betre enn hydrolysert kasein?

Basert på funna hittil, er det naturleg å spørre om lakse FPH er betre enn hydrolysert kasein? For å svare på dette, har vi prøvd å systematisere nokre av målingane frå Docmar peptid II prosjektet (Tabell 7).

Tabell 7. Effekt av laks FPH og hydrolysert kasein på fedme-relaterte problem. Pil indikerer endring og i kolonne til høgre er vist relativ skilnad mellom rottene føra dei to proteinkjeldene

Tilstand	Parameter	Laks FPH	Hydrolysert kasein	Skilnad FPH versus hydrolysert kasein
Fedme	Mengd fettvev	↓		-4,5%
	Fett i lever		↓	+26%
	Fett i muskel		↓	+10%
Hjerte- og karsjuka	Blod kolesterol	↓		-12%
	Adrenalin i urin	↓		-18%
Nyrefunksjon	Protein i urin	↓		-28%
Galletransport	Galle i urin	↑		+517%

Rottene føra hydrolysert kasein hadde mindre fett i lever og muskel. Bortsett frå dette hadde rottene føra lakse FPH mindre totalt fettvev, lavare blod kolesterol, mindre stress målt som adrenalin i urin, betre nyrefunksjon målt som mindre protein i urin og større evne til å transportere gallesyrer over nyrene til urin. I tre uavhengige dyrestudier har vi sett at rotter gjeve FPH har auka evne til å skille ut galle frå lever til blod, og til urin. Dette trur vi er gunstig med omsyn til fedmerelaterte sjukdomar (Tabell 8), og spesielt med omsyn til hjerte- og karsjuka og galleblære sjukdom.

Tabell 8. Fedme relaterte problem og sjukdomar

Sjukdom	Assosiert parameter
Type II diabetes	Redusert insulin sensitivitet, auka blod insulin og blodsukker
Hjerte- og karsjuka	Høgt trigacylglycerol og lavt HDL kolesterol
Høgt blodtrykk	Slag
Galleblære sjukdom	Gallestein, redusert utskilling av galle til tarm, leverskade
Visse krefttypar	
Osteoarthritis	
Redusert nyrefunksjon	Protein i urin

Det hydrolyserte kaseinet nytta i dyrestudien var kraftigare hydrolysert enn lakse FPH (færre aminosyrer i store peptid, meir frie aminosyrer og fleire korte peptid). Dette fører til eit hurtig opptak i tarm, noko vi trur fører til periodevis høge konsentrasjonar av aminosyrer i lever og blod. Dette vil føre til auka arbeidspress på lever og nyrer, og dette kan vere negativt over tid. Likeeins veit vi at innhald av selen (antioksidant-systemet) er høgre og aminosyresamansetnad er betre (med omsyn til antioksidant-systemet) i FPH enn i kasein og hydrolysert kasein. Mange fedme-relaterte sjukdomar utviklast over lang tid, og kan skuldast auke i oksidative skader i cellene. Det vil derfor vere gunstig med proteinkjelder som støttar ein god anti-oksidant status i kroppen, slik vi trur FPH gjer.

Vi kan ikkje konkludere med at laks FPH er betre enn hydrolysert kasein, men vi har indikasjonar på at lakse FPH verkar gunstigare enn hydrolysert kasein på ei rekke fedme-

relaterte parameter (Tabell 7) og ønskjer å dokumentere dette ytterlegare gjennom nye analyser og dyreforsøk.

Det er naturleg å dokumentere:

- At lakse FPH betrar anti-oksidantstatus i vev hjå rotter
- At lakse FPH motverkar fedme-utvikling gjennom betra anti-oksidantstatus
- At det høge b-vitamin innhaldet i lakse FPH er ein underliggande årsak til motvirking av fedme-utvikling og betre anti-oksidantstatus