

A magas-rezisztens-keményítőjű banánliszt (RS₂) hatásai az *in vitro* fermentációra és a vékonybélben történő energia, tápanyag és szterol kiválasztásra: egy ileostoma tanulmány

(Forrás: <http://ajcn.nutrition.org/content/75/1/104>)

Anna Maria Langkilde, Martine Champ, és Henrik Andersson

ABSZTRAKT

Háttér: A rezisztens keményítő (RS) érdeklődést váltott ki az utóbbi időben a vastagbélben tett hatásai és egészségi jelentősége miatt. Kevés az arra vonatkozó tudás, hogy miként hat az RS a vékonybélben történő tápanyag felszívódásra, szterol anyagcserére, és a vastagbél fermentációra.

Célok: Ennek a tanulmánynak az volt a célja, hogy mérje az RS₂-nek, ami egy RS típus a banánlisztben, a hatását az ilealis energia, tápanyag és szterol kiválasztásra, valamint az, hogy összehasonlítsa az ileostoma modellben történt *in vivo* RS mérést a korábban publikált intubációs adatokkal. Ezenkívül, egy fermentációs séma felvázolását kerestük *in vitro* fermentációhoz használt ileális kifolyások használatával.

Tervezés: Ezt a tanulmányt két részre osztottuk. Az 'A' tanulmányban 10 ileostoma alany vett részt, akik ellenőrzött étrendet kaptak kiegészítve 30g nyers zöld banánliszttel (RBF)/nap, amely tartalmaz RS₂-t, vagy főtt zöld banánliszttel (CBF)/nap külön-külön. A 'B' tanulmányban 7 ileostoma alany vett részt, akik egy növényi-polysaccharid-mentes étrendet kaptak 30g RBF/nap kiegészítéssel.

Eredmények: Az 'A' tanulmányban, az ileostoma kifolyások száraz súlya és az energia, vas, és kenodezoxikólisav felszívódása, (viszont az összes szterolé nem) magasabb volt RBF étrendhez való hozzáadása után, mint a CBF hozzáadása után. Az ileális kifolyások *in vitro* fermentációja RBF étrendhez való hozzáadása után, magasabb acetát és butirát koncentrációkat mutattak. A 'B' tanulmányban a keményítő ileális kiválasztása alacsonyabb volt, mint az a mennyiség, amit korábbi tanulmányokból számítottak ki intubációs technika használatával.

Konklúziók: RS₂ tartalmú RBF hozzáadása ileostoma alanyok nyugati étrendjéhez, nem befolyásolta a tápanyagok vagy az összes szterol vékonybélben történő felszívódását, kivéve a vas felszívódásának kis növekedését. Az ileostoma modell, úgy tűnik, megbízható eredményeket ad az RS *in vivo* mérésére vonatkozóan.

Am J Clin Nutr 2002;75:104-11.

KULCSSZAVAK: Rezisztens keményítő, keményítő emésztés, zöld banánliszt, ileostoma, bélben történő felszívódás, energia, vas, szterolok, fermentáció, butirát.

BEVEZETÉS

A rezisztens keményítő (RS) definíciója: 'a keményítő és keményítő tartalmú termékek degradációjának a mennyisége, amely nem szívódik fel az egészséges egyének vékonybéljében' (1,2). Az RS rendelkezik potenciális élettani hatásokkal mind a vékony mind a vastagbélben. Az étkezés utáni glukóz és inzulin reakciók arányban állnak az egy étkezésben található emészthető szénhidrát mennyiségével, és így alacsonyabbak egy olyan étkezés után, amely nagy mennyiségű rezisztens keményítőt tartalmaz az emészthető keményítőhöz képest (3-8). Azonban ellentmondásosak az RS szérumban lévő lipidekre gyakorolt hatása emberekben témájú tanulmányok eredményei. Két, kísérleteken alapuló tanulmány

csökkenést mutatott az összes szérumban koleszterin koncentrációkban, és a triacylglycerolokban, és egy tanulmány növekedést mutatott az összes szérumban koleszterin koncentrációkban. (9-10). Továbbá, Heijnen és mások egy tanulmánya (12) nem talált hatást a szérumban lipidek gyorsuló koncentrációira.

Az RS *in vitro* fermentációjáról kimutatták, hogy növeli a butirát arányát (13-15), és csökkenti a másodlagos epesavak salakanyag kiválasztását (16-17). Azonban hiányosak az ismeretek az RS tápanyagok, ásványi anyagok, és szterolok vékonybélben történő felszívódására gyakorolt hatására vonatkozóan. Az ileostoma modell lehetőséget nyújt arra, hogy tanulmányozzuk a keményítő vékonybélben történő emésztését és felszívódását és a tápanyagok vékonybélben történő kiválasztását különböző típusú és mennyiségű RS hozzáadása után. Lehetséges ileális kifolyás használata *in vitro* fermentációra.

A nyers zöld banánlisztet (RBF) választottuk modell keményítőnek jelen tanulmányban, hogy nyerjünk két terméket, amely RS₂ tartalmában a lehető legkevésbé különbözik egymástól (azaz a keményítő típusa a banánlisztben): RBF és ugyanaz a liszt megfőzve (CBF). A banán az egyik kevés RS₂ forrás, amely megtalálható egy átlagos ételben. Ugyanezeket a termékeket használták Faisant és mások (18) egy korábbi intubációs tanulmányban.

Ennek a tanulmánynak a következő céljai voltak:

- 1) vagy RBF (RS₂) vagy CBF hozzáadása ileostoma alanyok étrendjéhez, és azután az ileostoma kifolyás száraz súlyának összehasonlítása a keményítő, energia, zsír, nitrogén, nátrium, kálium, kalcium, magnézium, vas, cink és szterol ileális kiválasztásával ('A' tanulmány);
- 2) magas és alacsony RS tartalmú ileostoma kifolyás *in vitro* fermentáció sémájának értékelése ('A' tanulmány)
- 3) ileostoma modellben *in vivo* RS összehasonlítása intubációs technika felhasználásával elért eredményekkel, mely technikát korábban Faisant és mások (18) leírták ('B' tanulmány) és
- 4) különböző háttérű étrendek és különböző RS adagok hatásának értékelése a keményítő kiválasztásra ileostoma alanyokban ('A' és 'B' tanulmány).

1. TÁBLÁZAT

Menük az 'A' tanulmányhoz, átlagos nyugati étrend, és a 'B' tanulmányhoz, növényi-polysaccharid-mentes nyugati étrend

	'A' tanulmány Átlagos étrend	'B' tanulmány növényi-polysaccharid-mentes étrend
Reggeli (08:00-kor)	Joghurt Sajtos szendvicsek Narancslé Kávé vagy tea	Joghurt Főtt tojás Sonka, majonéz Narancslé Kávé vagy tea
Snack	Piskóta	
Ebéd (12:00-kor)	Sertés filé Rizs	Csirke filé Sertés szelet Sajt, majonéz
Snack	Piskóta	Habcsók
Vacsora (18:00-kor)	Lepényhal filé Burgonyapüré	Sertés filé Habcsók
Esti snack (20:00-kor)	Sajtos szendvicsek Kávé vagy tea	Csirke filé Sajt, majonéz

		Habcsók Kávésző vagy tea
--	--	-----------------------------

ALANYOK ÉS MÓDSZEREK

Alanyok

Tíz ileostoma alany (5 férfi és 5 nő) 45,9 éves átlagéletkórral (28-70 éves korig), átlagos testtömeg indexük (BMI; kg/m²) 24,1 (19-35-ig terjedően), önkéntesen jelentkezett a tanulmányhoz. Az alanyoknál korábban eltávolították a vastag és végbélet vastagbélgyulladás miatt, a disztális ileum csupán kis részének (<10 cm) eltávolításával, és minden alanyuk jól kialakult ileostómája volt. Minden alany jó egészségi állapotban volt vékonybél gyulladás vagy rendellenesség tünetei vagy jelei nélkül. Az ileostoma folyadék nedves súlya átlagosan 523g/nap (321-866-ig terjedően). Egyik alany sem dohányzott és nem szedtek gyógyszert a tanulmány alatt és egy héttel előtte. Az alanyok beleegyezésüket adták a tanulmányban való részvételükhöz, melyet jóváhagyott a Sahlgrenska Egyetemi Kórház, Göteborg, Svédország Etikái Bizottsága.

Tanulmánytervezés

Ez a tanulmány 2 részből állt, 'A' tanulmány és 'B' tanulmány. Tíz alany vett részt az 'A' tanulmányban és a 10 alanyból 7 vett részt a 'B' tanulmányban. Tisztulási időszakot nem alkalmaztunk, mert minden délelőtti órákban bejuttatott szénhidrát kiválasztódott 24 órán belül (19-21), és ebben a tanulmányban a szterol anyagcserének csak a rövidtávú (azaz postprandiális) hatásait vizsgáltuk (21,22). Az étrendeket minden egyes alany egyéni igényeihez igazítottuk. Az alanyok bejöttek a Sahlgrenska Egyetemi Kórház, Svédország Anyagcsere Osztályára minden reggel reggelizni, és utána megkapták az ételt a nap további részére.

Az 'A' tanulmányban az alanyok egy ellenőrzött, állandó, átlagos svéd étrendet kaptak alacsony RS₂ tartalommal négy napon át. Egy bevezető nap után az alanyok napi 30g CBF-t vagy RBF-t kaptak a reggelijük mellé minden nap, vagy banánliszt nélküli reggelit külön-külön.

A 'B' tanulmányban az alanyok egy ellenőrzött, állandó, növényi-polysaccharid-mentes étrendet kaptak 2 napon át. A második napon, egy bevezető nap után, az alanyok 30g RBF-t kaptak naponta a reggelijük mellé. Öten az alanyok közül kaptak még külön-külön, további 15g/RBF-t egy napig.

Teszt termékek

Ebben a tanulmányban két különböző teszt terméket használtunk: RFB-t, amely tartalmaz RS₂-t, és ugyanabból az RBF tételből származó és főtt (azaz CBF) banánlisztet. Ezt azért tettük, hogy nyerjünk két teszt terméket, amelyek a lehető leginkább hasonlítanak egymásra az RS tartalmuk kivételével. Az RBF Martinique-ről származó zöld banánból készült, melyet helyben vásároltunk gázzal való kezelése előtt, amit az érés elősegítésére használnak. A banánokat meghámoztuk, kis szeletekre vágtuk, fagyasztottuk és megőröltük (3 mm-es szitán). A CBF elkészítését korábban leírtuk (18). Harminc gramm banánliszt tartalmazott 23,1 gramm α -glucant. Englyst és mások (2) módszere szerint, az RS tartalom 30g RBF-re 542g/kg volt, azaz 16,3g RS, és a 30g CBF-re 41g/kg volt, azaz 1,2g RS. A teszt termékeket joghurtba keverve azonnal fogyasztották.

Étrendek

Az étrendek összetételét analitikus adatokból számoltuk ki a svéd élelmiszer összetétel táblázatokból (23). Minden élelmiszert tételekben vásároltunk a tanulmány előtt, és ugyanazt a tételt használtuk minden alany fogyasztásához. Az ételt előre elkészítettük az anyagcsere osztály konyháján; az egyedi ételadagokat -18°C -on tároltuk és a fogyasztás napján kiolvastottuk és melegítettük. Az alanyok pontos utasítást kaptak arról, hogy ne hagyjanak az ételből, és ne egyenek mást az adott ételen kívül. Minden ételből dupla adagot vettünk a teljes elemzéshez. Az 'A' és 'B' tanulmányoknál használt menüket az 1. Táblázat mutatja be. Az 'A' tanulmányban az alap étrend energiatartalmú makro-tápanyagainak összetétele a következő volt: 34% energia zsírból, 16% energia fehérjéből, és 50 % energia szénhidrátból. Az átlag analitikus összetétel 9,3 MJ energia/nap, 81g zsír/nap, 91g fehérje/nap, 119g keményítő/nap, és 14g kiszámított mennyiségű élelmi rost/nap volt.

Mintavételi folyamat

A kifolyás bakteriális lebomlásának elkerülése érdekében, az ileostoma zacskókat napközben 06:00-tól 22:00-ig két óránként cserélték. Az éjszaka során ugyanazt a zacskót használták. Minden zacskót azonnal lezártak és száraz jégen lefagyasztottak. A lefagyasztott zacskókat minden reggel az anyagcsere laboratóriumba szállították, ahol a zacskókat megmérték, 18°C -on tárolták, és egy állandó súlyra liofilizálták. Az 'A' tanulmányban a száraz kifolyást minden 24 órás időszakból (08:00-tól másnap 08:00-ig), összegyűjtötték és homogenizálták elemzés céljára. A 'B' tanulmányban a kifolyást külön adagokban elemezték minden két órás periódusra, 08:00-tól 22:00-ig, és egy adagban 22:00-tól 08:00-ig.

Kémiai elemzések és fizikai elemzés

A liofilizált ételt és ileostoma kifolyást ugyanazokkal a módszerekkel elemeztük, és minden elemzést kétszer végeztünk el. A nitrogént egy módosított mikro-Kjel-dahl technikával elemeztük (19), és a nyers fehérjét úgy számítottuk ki, hogy $\text{N} \times 6,25$. A zsírt van der Kamer és mások (24) módszere szerint határoztuk meg. A liofilizált ileostoma mintákat és ételmintákat 300°C -on nedves hamuvá alakítottuk egy mikrohullámú minta előkészítő rendszerben (CEM Corp, Matthew, NC) és feloldottuk de-ionizált vízben mielőtt a magnéziumot, kalciumot, cinket és a vasat elemeztük atom elnyelő spektrofotometriával (GBC Tudományos Eszközök Pty Kft, Dandenong, Ausztrália), a nátriumot és a káliumot láng fotometriával határoztuk meg. Az ételből és az ileostoma tartalomából származó energiát bomba kalorimetria eszközével határoztuk meg. Hozzávetőleg 1g liofilizált minta formálódott gömböcskévé és izzott fel egy bomba kaloriméterben (Gallekamp Automata Adiabatikus Bomba Kaloriméter; Gallenkamp, Leicestershire, Egyesült Királyság).

Az ileostoma tartalmakban található epesavakat és semleges szteroidokat a korábban leírtak szerint elemeztük (25). Röviden összefoglalva, belsőszabványos 5-alfa-Cholestane-t (Sigma Chemical Co, St Louis) és hyodeoxycholic savat (Serva Feinbiochemika, Heidelberg, Németország) adtunk hozzá, az ileostoma kiválasztott anyagot elszappanosítottuk, és az epesavat szétválasztottuk alkalikus hidrolízissel. A kivonás és a 2,2-dimethoxypropánnal történő metilálás után, a sav és a semleges szteroidok elkülönültek és mennyiségüket meghatároztuk gáz-folyadék kromatográfiával Varian 3700 rendszer használatával Varian Instrument, Palo Alto, CA). Egy 12,5 m SE-54 kapilláris csövet (Hewlett-Packard, Lite Falls, DE) használtunk, hidrogénnel, mint hordozó gázzal és láng-ionizálás kereséssel. Az étel koleszterin tartalmát ugyanezen módszer felhasználásával végeztük.

Az RS-t a teszt termékekben és az ételben, valamint az összes α -glucant az ileális kifolyásban, beleértve a szabad glukózt, maltózt, és maltooligosaccharideket, egy Englyst és mások (2) által alkalmazott módszerrel határoztuk meg, ahogy ezt a korábbiakban leírtuk. (18). Az élelmi rostot az Asp és mások (26) szerinti enzimátikus-gravimetrikus módszerrel elemeztük. Az oligosaccharid kivonást és elemzést Faisant és mások (18) módszere szerint végeztük, amint korábban leírtuk. Méret kizárási kromatográfiát egy Superose 12 csövön (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Svédország), Röntgen elhajlási elemzést, és differenciális szkennung kalorimetriát végeztünk, amint korábban leírtuk. (18). Transzmissziós elektron mikroszkópiát végeztünk, amint korábban leírtuk (18).

***In vitro* fermentáció ileális kifolyásokban**

Az 'A' tanulmányban, 6 alanytól, az étrendhez hozzáadott 30g CBF vagy RBF/nap után, gyűjtött ileális kifolyás fermentációs mintáját megvizsgáltuk egy *in vitro* rendszer használatával (27). Minden mintát kétszer futtattunk és minden fermentációt kétszer ismételtünk. Friss humán salakanyagot gyűjtöttünk légmentesen egészséges önként jelentkezőktől (metánfejlesztők, 3 alanytól széklet), akik nem meghatározott nyugati étrendet fogyasztottak, és akik előtte nem kaptak antibiotikus kezelést három hónapig. Az oltóanyag úgy készült, hogy a salakanyagot azonnal összekevertük szén-dioxiddal telített tápoldattal (súly:térfogat; 1:3), aztán leszűrtük sebészi gézlapon, hogy eltávolítsuk a finom részecskéket. Az ileális kifolyásokat egy laborpalackban érleltük 15 mL oltóanyaggal.

Mivel ennek a tanulmánynak az volt a célja, hogy összehasonlítsuk annak a béltartalomnak a fermentációját, amely az egészséges egyének vastagbelébe két különböző étrend elfogyasztása után érkezik, ugyanolyan arányú kifolyást használtunk minden étrend periódusból, mint egy szubsztrátum az *in vitro* fermentáció alatt. A CBF periódust használtuk referenciának; 100mg fermentálható szubsztrátumot (232,5mg száraz kifolyás és 30,2g keményítő átlagát) használtuk. Az RBF periódusból használt minták átlag mennyiségét úgy számítottuk, hogy 326,6mg, amelyből 97,9mg volt a keményítő. Más anyagok mennyisége a mintákban 202,3 és 228,6mg volt a CBF és RBF esetén, külön-külön.

Minden palackot lezártunk, elhelyeztünk egy forgó vízfürdőben 37°C-on, és állandó nitrogénáramlás alatt tartottunk 5 percen át. Minden 0. 4. 8. és 24. órában az *in vitro* fermentációt megszakítottuk, hogy hozzáadjunk 0,15 mL telített higany klorid oldatot. A pH-t azonnal megmértük. Az oldatot centrifugáltuk (3000 x g) 10 percig 20°C-on. A felszínen maradó folyadékot 1:10 térfogat:térfogat foszforsav (5%) és higany klorid (1% \circ súly:térfogat %) oldat hozzáadásával tartósítottuk, és aztán fagyasztottuk rövid-láncú zsírsavelemzésre. A gömböcskéket liofilizáltuk és megmértük további cukorelemzésre. Két kontroll tesztet végeztünk, 1 ami tartalmazott oltóanyagot szubsztrátumok nélkül, és 1 ami tartalmazott szubsztrátumokat oltóanyag nélkül. A gázképződést mértük a fermentáció menete alatt, és a hidrogént és metánt analizáltuk minden fermentációs periódus végén (a 8. és 24. órában). Meghatároztuk az egyedi rövid-láncú zsírsavtermelést a 0. 4. 8. és 24. órában. A kezdeti (0. óra) zsírsav koncentrációt kivontuk a többi értékből, hogy megkapjuk a növekedést a koncentrációban.

Számítások és statisztikai módszerek

Az értékeket átlagként \pm SEM adjuk meg. Az átlag koleszterin kiválasztás mínusz étrendi koleszterint úgy fejezzük ki, mint nettó koleszterin kiválasztás. Páros t-próbát használtunk az ileális kiválasztási értékek összehasonlítására az étrendi periódusok között. Bonferroni *P* értékeit használtuk és *P* < 0,05 volt a szignifikáns. A SYSTAT szoftver csomagot használtuk a számításokhoz (7.0 verzió; Systat Inc, Evanston,IL). Az időben ismételt mérések

egyenetlenségének kétfaktorú analízisét, Tukey különböző időpontokban való összehasonlítások korrekciójának felhasználásával, használtuk a rövid-láncú zsírsavak elemzésére az *in vitro* fermentációból. A SAS szoftver csomagot használtuk a számításokhoz (6.12 verzió; SAS Intézet, Cary NC).

A keményítő átlag tranzit idejét (MTT) úgy számítottuk ki, mint

$$MTT \text{ (óra)} = [\Sigma(\text{a keményítő mennyisége a mintában}) \times t] / \text{Összes kinyert keményítő}$$
(1)

ahol t az időintervallum a teszt ékezés és a keményítő kinyerése között a kifolyás mintában 0-tól N-ig.

EREDMÉNYEK

A keményítő ileális kiválasztása

Az 'A' tanulmányban a különbség a keményítő kiválasztásban az étrendhez való 30g/nap CBF és RBF hozzáadása között $15,1 \pm 0,6$ g/nap volt. (2. Táblázat). Az ileális keményítő kiválasztás az alatt a periódus alatt, amikor nem adtunk teszt terméket az étrendhez $5,0 \pm 0,4$ g/nap volt. Pozitív korreláció volt az elfogyasztott és a kinyert keményítő mennyisége között, amikor az alanyok csak a háttér étrendet kapták plusz keményítő nélkül. (1. Ábra). Amikor 30g RBF/nap egészítette ki az étrendet (RBF periódus mínusz az a periódus, amikor nem adtunk hozzá plusz keményítőt), a többlet keményítő kiválasztás $16,4 \pm 0,4$ g/nap volt (2. Ábra).

2. TÁBLÁZAT

Átlag ileális keményítő és egyéb tápanyag kiválasztás 30g főtt zöld banánliszt (CBF)/nap vagy 30g nyers zöld banánliszt (RBF)/nap étrendhez való hozzáadása után 10 ileostoma alanynál az 'A' tanulmányban

	Átlagos étrend plusz 30g CBF/nap	Átlagos étrend plusz 30g RBF/nap	P
Nedves súly (g/nap)	540±50 ¹	562±55	NS
Száraz súly(g/nap)	50±3	69±3	<0,001
Energia (kJ/nap)	861±56	1164±51	0,001
Keményítő(g/nap)	6,3±0,4	21,4±0,6	<0,001
Élelmi rost(g/nap)	15,3±1,0	14,8±1,1	NS
Zsír(g/nap)	2,1±0,4	2,5±0,2	NS
Nitrogén(g/nap)	1,9±0,1	1,8±0,1	NS
Nátrium (mmol/nap)	59,6±5,7	59,8±6,5	NS
Kálium(mmol/nap)	4,8±0,6	4,8±0,5	NS
Kalcium(mmol/nap)	24,7±2,4	24,2±2,2	NS
Magnézium(mmol/nap)	6,8±0,8	7,6±0,6	NS
Vas (µmol/nap)	181±22	198±23	0,02
Cink(µmol/nap)	133±12	141±12	NS

¹x±SEM.

Az 'A' tanulmányban a plusz keményítő kiválasztást ($16,4 \pm 0,4$ g/nap), amikor 30g RBF/nap egészítette ki az átlagos étrendet, összehasonlítottuk a keményítő kiválasztással, ugyanebben a periódusban a 'B' tanulmányban, amikor 30g RBF/nap egészítette ki a növényi-polysaccharid-mentes étrendet. Nem volt jelentős különbség a keményítő kiválasztásban a periódusok között ($P=0,74$).

Az 'A' tanulmányban, az ileális kifolyásból kinyert α -glucanok főként nem oldódó keményítőből álltak. A glukóz és a dextrinek ($1 < \text{polimerizáció fok} < 10$) $< 1\%$ és $1,4\%$ volt külön-külön, CBF hozzáadása után, és 2% és $13,4\%$, külön-külön, RBF étrendhez való hozzáadása után.

RBF étrendhez való hozzáadása után nyert kifolyásokban, sok sértetlen szemcse volt megfigyelhető transzmissziós elektron mikroszkópiával, a legtöbb sérült felülettel (3. Ábra). Sértetlen szemcse nem, de nagy mennyiségű sejtfal anyag volt megfigyelhető a kifolyásokban, amiket az étrendhez való CBF hozzáadása után kaptunk.

Egy B típusú röntgen elhajlási minta volt megfigyelhető RFB elfogyasztása után nyert ileális kifolyásoknál, és magánál az RBF-nél. A CBF-nél egy alakatlan ábrát kaptunk.

Méret kizáró kromatográfiát végeztünk, hogy értékeljük az összes α -glucan lánchosszát az ileális mintákban. Az RBF étrendhez való hozzáadása utáni kifolyások elúciós profilja egy csúcspontot mutatott, ami K_{av} 0-nál koncentráldott, jelezve ezeknek a molekuláknak a teljes kizárását az oszlopból.

A 'B' tanulmányban a növényi-polysaccharid-mentes étrendhez való RBF hozzáadás után nyert ileális kifolyások $70,9\%$ nem oldódó keményítőből és $29,1\%$ oligosaccharidekből álltak, és a glukóz és a dextrinek ($1 < \text{polimerizáció foka} < 10$) $4,3\%$ nem oldódó keményítő és $25,8\%$ oligosaccharid volt külön-külön.

Tranzit idő

A 'B' tanulmányban a keményítő kiválasztásnál a tranzit idő rövidebb volt az intubációs tanulmányban (2-3 óra; 18), mint az ileostoma tanulmányban (6 óra).

Egyéb tápanyagok ileális kiválasztása

Az 'A' tanulmányban, az ileostoma kifolyások száraz súlya és az energia és keményítő kiválasztás jelentősen magasabbak voltak az alatt a periódus alatt, amelyben RFB hozzáadása történt az étrendhez, mint amikor CBF-et adtunk hozzá (2. Táblázat). A különbségek a száraz súlyban és az energia kiválasztásban $19 \pm 1\text{g/nap}$ és $303 \pm 33\text{ kJ/nap}$ volt külön-külön.

1. **ÁBRA** 'A' tanulmány. Korreláció az elfogyasztott keményítő és a kinyert keményítő között 10 ileostoma alanyánál, akik olyan tervezett étrendet fogyasztottak, amelyben alacsony volt a rezisztens keményítő és az élelmi rost ($r = 0,74, P < 0,02$)

Starch recovered – kinyert keményítő

Starch fed – elfogyasztott keményítő

2. **ÁBRA** 'B' tanulmány. Korreláció a kinyert keményítő és az átlag tranzit idő a vékonybélben keresztül között 7 ileostoma alanyánál, miután 30g nyers banánlisztet adtunk naponta egy növényi-polysaccharid-mentes étrendhez ($r = -0,90, P < 0,01$).

Starch recovered – kinyert keményítő Mean transit time (h) - Átlag tranzit idő (óra)

Nem volt jelentős különbség a zsír, nitrogén, nátrium, kálium vagy cink kiválasztásában a két periódus között. Azonban a vas ileális kiválasztása egy kicsit, de jelentősen magasabb volt, az RBF étrendhez való hozzáadása után a CBF-hez képest.

A szterolok ileális kiválasztása

Az 'A' tanulmányban nem volt jelentős különbség a koleszterin és az összes epesav kiválasztásában a két periódus között (3. Táblázat). Azonban különbség volt a különálló epesavak kiválasztásában. A kenodezoxikólsav magasabb volt az RBF periódus alatt, de nem volt jelentős változás a kólsav kiválasztásban. Nem volt jelentős különbség az epesavak koncentrációjában a kifolyásokban a periódusok között.

In vitro fermentáció az ileális kifolyásokban

Az 'A' tanulmányban, 24 órás *in vitro* fermentáció után, a pH jelentősen alacsonyabb volt és a rövid-láncú zsírsavak koncentrációja jelentősen magasabb volt az ileális kifolyásokban az RBF periódusokban a CBF periódusokhoz képest a magasabb acetát és butirát koncentrációk miatt (4. Táblázat és 4. Ábra). Továbbá a butirát moláris aránya jelentősen magasabb volt, míg a propion moláris aránya alacsonyabb volt a fermentált ileális kifolyásokban az RBF periódusból.

ÖSSZEGZÉS

Ebben a tanulmányban, egy lineáris dózis-reakció viszonyt találtunk az elfogyasztott keményítő mennyisége és az ileális kifolyásokból kinyert mennyiség között. Ez összhangban van Chapman és mások eredményeivel (28) burgonyakeményítőnél különböző mennyiségekben. Úgy tűnik, hogy ezeknél a típusú keményítőknél (RS₂), lineáris dózis-reakció viszony van ≥ 100 g mennyiségekig.

Az ebben a tanulmányban talált RS tartalom az RBF-ben (52,7%) közel van az Englyst módszer használatával talált *in vitro* értékhez (54,2%), ami nem meglepő, mivel az Englyst módszert ileostoma tanulmányok alapján validálták (2,29-31).

A normál étrend hatását a növényi-polysaccharid-mentes étrendhez képest korábban még nem vizsgálták. Az 'A' tanulmányban, azzal, hogy egy átlagos étrendet használtunk háttér étrendnek, az RBF-ben az α -glucanok 71%-át kinyertük az ileális kifolyásokban. A 'B' tanulmányban, ugyanazokkal az alanyokkal és növényi-polysaccharid-mentes háttér étrend használatával, az RBF-ből az α -glucanok 68, 4%-át nyertük ki. Így, a növényi-polysaccharid tartalomnak a háttér étrendben nem volt jelentős hatása az α -glucanok kinyerésére ebben a tanulmányban.

Az 'A' tanulmányban az étrendből ileálisan kiválasztott keményítő teszt termék hozzáadása nélkül, átlagosan 5g/nap volt, ami az elfogyasztott keményítő mennyiségének 4%-a. Ez az adat ugyanabban a tartományban van, mint a becsült 4,11g/nap adat az European diets *in vitro*

adata alapján (EURESTA; 32), de alacsonyabb, mint az Olaszországból származó 7,16-9,23g/nap analitikus adat (33). Ebben a tanulmányban az étrendet úgy terveztük meg, hogy alacsony legyen az RS tartalma. Ezért nincs okunk azt hinni, hogy az elterjedt nyugati étrend RS tartalma magas vagy, hogy az EURESTA adatai túl alacsonyak.

3. **ÁBRA 'A'** tanulmány. Ileális kifolyások transzmissziós elektron mikroszkópiás képe napi 30g nyers banánliszt hozzáadása után az étrendhez 10 ileostoma alanynál. A kép mutat egy sértetlen keményítő részecskét, ami a felszínén sérült.

3.TÁBLÁZAT

A szterolok átlagos ileális kiválasztás 30g főtt banánliszt hozzáadása után (CBF)/nap vagy 30g nyers banánliszt hozzáadása után (RBF)/nap 10 ileostoma alany étrendjéhez az 'A' tanulmányban.

	Átlagos étrend plusz 30g CBF/nap	Átlagos étrend plusz 30g RBF/nap	P
Nettó koleszterin(μ mol/nap)	655 \pm 139 ¹	604 \pm 131	NS
Kólsav(μ mol/nap)	763 \pm 149	708 \pm 113	NS
Kenodezoxikólsav(μ mol/nap)	458 \pm 67	607 \pm 82	0,012
Összes epesav(μ mol/nap)	1221 \pm 215	1314 \pm 192	NS

¹x \pm SEM.

A világ más részein, az RS mennyiség feltételezhetően jelentősen magasabb az étrendben (34). Platel és Shurpalekar (35) egyik tanulmányában, ami az RS *in vitro* mérésein alapulnak, az RS tartalmat az indiai étrendben 10g/napra becsülték.

Nem volt jelentős változás a zsír és nitrogén kiválasztásban RBF hozzáadásakor az átlag étrendhez a CBF-hez képest. A különbség az energia kiválasztásban a vékonybélből 303 \pm 33 kJ/nap volt, ami hasonló a keményítő kiválasztásban található különbséghez. Így a CBF RBF-re való kicserélése nem változtatta meg a keményítőtől eltérő más forrásokból való energia kiválasztást.

Az RS hatását az ásványi anyagok közvetlen felszívódására az emberi vékonybélben, ismereteink szerint korábban még nem jegyezték le. Az RS₂-vel való kiegészítés nem változtatta meg jelentősen a magnézium, kalcium, cink, nátrium és kálium közvetlen ileális felszívódását. Azonban volt egy kicsi, de nagyon jelentős csökkenés a vas ileális kiválasztásában az RBF étrendhez való hozzáadása után a CBF-hez képest. A vas felhasználhatósága nagyban függ az élelmiszerek tanin és inozitol-foszfát tartalmától, és lehetséges, hogy ezek a gátlószerek legyengülnek, ezáltal lehetővé téve a vas jobb felszívódását a CBF periódus alatt. Tanin ekvivalensek analízisét végeztük, ami megmutatta, hogy az RBF és a CBF tartalmazott 0,61 és 0,03 tanin ekvivalenst külön-külön. Az RBF magasabb tanin ekvivalens tartalma így megmagyarázhatja a magasabb vas kiválasztást az alatt a periódus alatt.

A kenodezoxikólsav kiválasztása ebben a tanulmányban jelentősen magasabb volt RBF (RS₂) hozzáadása után. Azonban az összes epesav kiválasztás nem változott, és nem volt jelentős változás a koleszterin kiválasztásában. Egy korábbi ileostoma tanulmányban, amely

retrogradációs magas-amilózos kukoricakeményítőt (RS₃) hasonlított össze átlagos kukoricakeményítővel, azt találtuk, hogy a kólsav kiválasztása alacsonyabb, de nincs hatással a koleszterin kiválasztásra, a magas amilóz tartalmú kukoricakeményítővel (21). A mi ileostoma adataink nem támasztják alá az RS által indukált szterol kiválasztás mennyiségi változását, ami a szterol egyensúly szempontjából fontos, de jelzik a változások lehetőségét az egyes epesavak kiválasztási mintájában. Ennek a jelentőségét a továbbiakban kell világossá tenni.

Faisant és mások (18) egyik korábbi tanulmányában, intubációs technika használatával, az alanyok ugyanazt a reggelit kapták, mint ebben a 'B' tanulmányban, 30g RBF kiegészítéssel, ugyanabból a tételből, mint ebben a tanulmányban. Az α -glucanok összes átlag kiválasztása 30g RFB elfogyasztása után ebben a tanulmányban $15,8 \pm 0,7$ g/nap volt (az elfogyasztott α -glucanok 68,4%-a), amit össze lehet hasonlítani a korábbi intubációs tanulmánnyal (18), amely $19,3 \pm 0,7$ g/nap (az elfogyasztott α -glucanok 83,7%-a). Az intubációs tanulmányban a tranzit idő rövidebb volt, mint ebben az ileostoma tanulmányban. A gyorsabb lefolyás és a magasabb összes keményítő kiválasztás az intubációs tanulmányban valószínűleg annak volt betudható, hogy jelen volt az etető cső a vékonybélben és a gyomorban, ami növelte a bélmozgást.

Azonban lehetséges, hogy az ileostoma modell alulértékeli az RS-t, az ileális fék elvesztése miatt, vagy az ileum végénél kialakult bakteriális fermentáció miatt a környezeti változások következtében.

4. TÁBLÁZAT

A keményítő mennyisége üledékben, pH, és az összes rövid-láncú zsírsav (SCFA), acetát, propion, és butirát koncentrációi és hozadécai *in vitro* fermentáció után ileális kifolyásokban 24 órán át az 'A' tanulmányban¹

	Átlagos étrend plusz 30g CBF/nap	Átlagos étrend plusz 30g RBF/nap	P
Összes keményítő üledékben (mg)	$0,5 \pm 0,5^2$	12 ± 1	0,0004
pH	$5,48 \pm 0,04$	$5,12 \pm 0,03$	0,0001
Összes SCFA			
(mmol/L)	$107 \pm 3,1$	$120 \pm 2,8$	<0,0001
(mmol/g ileális szubsztrátum)	$7 \pm 0,2$	$5,5 \pm 0,1$	<0,0001
Acetát			
(mmol/L)	54 ± 2	$62,3 \pm 3$	<0,0001
(mmol/g ileális szubsztrátum)	$3,5 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,1$	<0,0001
Moláris arány (%)	$55 \pm 0,8$	55 ± 1	NS
Propion			
(mmol/L)	$18,3 \pm 0,6$	$17 \pm 0,5$	0,0039
(mmol/g ileális szubsztrátum)	$1,2 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,02$	<0,0001
Moláris arány (%)	$18 \pm 0,4$	$14 \pm 0,5$	<0,0001
Butirát			
(mmol/L)	$27 \pm 0,7$	$34,8 \pm 1,1$	<0,0001

(mmol/g ileális szubsztrátum)	1,7±0,05	1,6±0,05	NS
Moláris arány (%)	27±0,9	31±0,9	0,0086

¹CBF, főtt banánliszt; RBF, nyers banánliszt.

²x±SEM.

4.ÁBRA

'A' tanulmány. A butirát sav átlag (±SEM) koncentrációja *in vitro* fermentáció alatt ileális kifolyásokban, melyeket ileostoma alanyoktól kaptunk, miután étrendjükhöz napi 30g főtt banánlisztet (■) vagy nyers banánlisztet adtunk (Δ). Jelentős különbség volt az étrendek között a 24. óránál, $P < 0,0001$.

Butyric acid (mmol/L) - Butirát sav
Time (h) - Idő (óra)

Azonban igazolható, hogy az ileális fék elvesztése kis jelentőségű (28, 29, 36, 37), és hogy a rövid-láncú zsírsavak és a tejsav termelése az ileális kifolyásokban megfelel 2-3g szénhidrátoknak, melynek csak egy része keményítő (38). Az alulbecsülés ezért valószínűleg kicsi, és felmerül, hogy az igazság az intubációs technika és az ileostoma modell között van, de valószínűleg közelebb van az ileostoma modellel elért adatokhoz.

Az *in vitro* fermentációs tanulmányok, amelyekben keményítő tartalmú termékeket használtak (13-15), megnövekedett butirát termelést mutattak RS tartalmú étrendek mellett. A vastagbélben a keményítő fermentálódik az endogén termékekkel együtt pl. a vékonybélből származó sejtekkel. Ha *in vitro* fermentációhoz ileális kifolyásokat használunk, egy magas vagy alacsony RS tartalmú termék hozzáadása után az étrendhez, lehetséges az *in vitro* fermentáció módszerének a javítása, mert az endogén összetevők jelen vannak a fermentáció alatt (39-41). Ebben a tanulmányban az összes rövid-láncú zsírsav átlagos koncentrációja jelentősen magasabb volt annak a kifolyásnak a fermentációja alatt, amit RBF átlagos étrendhez való hozzáadása után kaptunk, a CBF-hez képest. A növekedés az acetát és főként a butirát magasabb koncentrációinak volt tulajdonítható. A butirát moláris aránya szintén magasabb volt (4. Táblázat és 4. Ábra). A magas RS tartalmú kifolyások fermentációja után, a keményítő 58%-a és 11%-a maradt, 4 és 24 órás fermentáció után, külön-külön, míg az alacsony RS tartalmú kifolyásoknál, a keményítőnek csak 37% és 1%-a maradt 4 és 24 óra után, külön-külön. A fermentációt, különösen a butirát előállítását, fontosnak tartják vastagbél nyálkahártya táplálása miatt (16). Ismeretes, hogy a nyugati étrendet fogyasztó társadalmakban a fermentációs aktivitás csökken a vastagbél végén, ahol a vastagbélrák a leggyakrabban előfordul (34). A fermentálható szénhidrátok bevitelének növelése lehetne egy módja a fermentációs aktivitás megváltoztatásának a vastagbélben a lehetséges jótékony hatásaival a vastagbél nyálkahártyára.

Összegezve, az ileostoma modell tűnik a legmegbízhatóbb technikának, ami elérhető a RS *in vivo* mérésére. A magas RS₂ tartalmú RBF hozzáadása az étrendhez nem volt hatással a többi tápanyag vagy az összes szterol felszívódására, kivéve a vas felszívódásának kis növekedését, és jótékony hatása lehet vastagbélben történő fermentációra. A különböző szénhidrátok hatásait a vastagbélben történő fermentációra tovább kell tanulmányozni *in vivo*.

Ebben a tanulmányban, a maximális RS₂ mennyiséget teszteltük, amit egy étrend tartalmazhat. Azonban a zöld banánliszt gyakorlati használata speciális funkciójú élelmiszerekre korlátozódik.

A táblázatokban az NS rövidítés: not significant – nem jelentős, jelentéktelen

Köszönjük V Malmros, B Lundgren, K Wassén, B Edvinsson, F Kozłowski és C Bonnet szakértő technikai segítségét!

REFERENCIÁK

RESISTANT STARCH AND ILEAL EXCRETION:

9. Reiser S, Powell AS, Scholfield DJ, Panda P, Ellwood KC, Canary JJ. Blood lipids, lipoproteins, apoproteins, and uric acid in men fed diets containing fructose or high-amylose cornstarch. *Am J Clin Nutr* 1989;49:832–9.
10. Behall KM, Scholfield DJ, Yuhaniak I, Canary J. Diets containing high amylose vs amylopectin starch: effects on metabolic variables in human subjects. *Am J Clin Nutr* 1989;49:337–44.
11. Behall KM, Howe JC. Effect of long-term consumption of amylose vs amylopectin starch on metabolic variables in human subjects. *Am J Clin Nutr* 1995;61:334–40.
12. Heijnen ML, van Amelsvoort JM, Deurenberg P, Beynen AC. Neither raw nor retrograded resistant starch lowers fasting serum cholesterol concentrations in healthy normolipidemic subjects. *Am J Clin Nutr* 1996;64:312–8.
13. Englyst HN, Macfarlane GT. Breakdown of resistant and readily digestible starch by human gut bacteria. *J Sci Food Agric* 1986;37:699–706.
14. Macfarlane GT, Englyst HN. Starch utilization by the human large intestinal microflora. *J Appl Bacteriol* 1986;60:195–201.
15. Weaver GA, Krause JA, Miller TL, Wolin MJ. Cornstarch fermentation by the colonic microbial community yields more butyrate than does cabbage fiber fermentation; cornstarch fermentation rates correlate negatively with methanogenesis. *Am J Clin Nutr* 1992;55:70–7.
16. van Munster IP, Nagengast FM. The role of carbohydrate fermentation in colon cancer prevention. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1993;200:80–6.
17. Hylla S, Gostner A, Dusel G, et al. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 1998;67:136–42.
18. Faisant N, Buleon A, Colonna P, et al. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: structural features of resistant starch. *Br J Nutr* 1995;73:111–23.
19. Sandberg A-S, Andersson H, Hallgren B, Hasseblad K, Isaksson B, Hulthen L. Experimental model for in vivo determination of dietary fibre and its effect on the absorption of nutrients in the small intestine. *Br J Nutr* 1981;45:283–94.
20. Schweizer TF, Andersson H, Langkilde AM, Reimann S, Torsdottir I. Nutrients excreted in ileostomy effluents after consumption of mixed diets with beans or potatoes. II. Starch, dietary fibre and sugars. *Eur J Clin Nutr* 1990;44:567–75.
21. Langkilde AM, Ekwall H, Björck I, Asp N-G, Andersson H. Retrograded high-amylose corn starch reduces cholic acid excretion from the small bowel in ileostomy subjects. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:790–5.
22. Andersson H. The ileostomy model for the study of carbohydrate digestion and carbohydrate effects on sterol excretion in man. *Eur J Clin Nutr* 1992;46(suppl):S69–76.
23. The Swedish National Food Administration. Food composition tables. Stockholm: LiberTryck, 1986.

24. van der Kamer JH, ten Bokkel Huinink H, Weyers HA. Rapid method for the determination of fat in feces. *J Biol Chem* 1949;177:347–55.
25. Bosaeus IG, Andersson HB. Short-term effect of two cholesterol-lowering diets on sterol excretion in ileostomy patients. *Am J Clin Nutr* 1987;45:54–9.
26. Asp N-G, Johansson C-G, Hallmer H, Siljeström M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J Agric Food Chem* 1983;31:476–82.
27. Barry JL, Chourot JM, Bonnet C, Kozłowski F, David A. In vitro fermentation of neutral monosaccharides by ruminal and human fecal microflora. *Acta Vet Scand Suppl* 1989;86:93–5.
28. Chapman RW, Sillery JK, Graham MM, Saunders DR. Absorption of starch by healthy ileostomates: effect of transit time and of carbohydrate load. *Am J Clin Nutr* 1985;41:1244–8.
29. Englyst HN, Cummings JH. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *Am J Clin Nutr* 1985;42:778–87.
30. Englyst HN, Cummings JH. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *Am J Clin Nutr* 1986;44:42–50.
31. Englyst HN, Cummings JH. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. *Am J Clin Nutr* 1987;45:423–31.
32. Dysseler P, Hoffem D. Estimation of resistant starch intake in Europe. In: Asp N-G, van Amelsvoort JMM, Hautvast JGAJ, eds. Proceedings of the concluding plenary meeting of EURESTA. Den Haag, Netherlands: CIP-data Koninklijke Bibliotheek, 1995:84–6.
33. Brighenti F, Casiraghi MC, Baggio C. Resistant starch in the Italian diet. Abstracts from the 16th International Congress of Nutrition. Montreal: IUNS, 1997:71 (abstr).
34. Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol* 1991;70:443–59.
35. Platel K, Shurpalekar KS. Resistant starch content of Indian foods. *Plant Foods Hum Nutr* 1994;45:91–5.
36. Holgate AM, Read NW. Relationship between small bowel transit and absorption of a solid meal; influence of metoclopramide, magnesium sulfate and lactulose. *Dig Dis Sci* 1983;28:812–9.
37. Malagelada JR, Robertson JS, Brown ML, et al. Intestinal transit of solid and liquid components of a meal in health. *Gastroenterology* 1984;87:1255–63.
38. Bach Knudsen KE, Hessov I. Recovery of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) in the small intestine of man. *Br J Nutr* 1995;74:101–13.
39. McBurney MI, Thompson LU, Cuff DJ, Jenkins DJ. Comparison of ileal effluents, dietary fibers, and whole foods in predicting the physiological importance of colonic fermentation. *Am J Gastroenterol* 1988;83:536–40.
40. Silvester KR, Englyst HN, Cummings JH. Ileal recovery of starch from whole diets containing resistant starch measured in vitro and fermentation of ileal effluent. *Am J Clin Nutr* 1995;62:403–11.
41. Nordgaard I, Mortensen PB, Langkilde AM. Small intestinal malabsorption and colonic fermentation of resistant starch and resistant peptides to short-chain fatty acids [see comments]. *Nutrition* 1995; 11:129–37.