

DANUTA FIGURSKA-CIURA, DAGMARA ORZEL, MARZENA STYCZYŃSKA,
WACŁAW LESZCZYŃSKI, ALICJA ŻECHAŁKO-CZAJKOWSKA

WPŁYW SKROBI OPORNEJ RS4 NA METABOLIZM SZCZURÓW RASY *Wistar*. WSKAŹNIKI BIOCHEMICZNE I LIPIDOWE

THE INFLUENCE OF RS4 RESISTANT STARCH ON *Wistar* RATS METABOLISM. BIOCHEMICAL AND LIPID INDICES

Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa
Akademia Rolnicza we Wrocławiu
50-375 Wrocław, ul. C.K. Norwida 25
e-mail: figurska@wnoz.ar.wroc.pl
Kierownik: prof. dr hab. A. Żechałko-Czajkowska

Oceniono wpływ 5% dodatku skrobi odpornej chemicznie modyfikowanej (RS 4) w diecie na wybrane wskaźniki biochemiczne i lipidowe we krwi oraz w wątrobie szczurów rasy Wistar.

Słowa kluczowe: skrobia oporna typu RS 4, cholesterol, triglicerydy, szczury
Key words: resistant starch RS4, cholesterol (TC), triacyloglycerols (TAG), rats

WSTĘP

W badaniach na zwierzętach i ludziach wykazano korzystne oddziaływanie różnych typów skrobi odpornej (RS) na gospodarkę lipidową. W modelach doświadczalnych obserwowano obniżanie się poziomu różnych wskaźników lipidowych min. stężenia cholesterolu i triglicerydów we krwi u zwierząt [3, 6, 13, 18] lub brak znaczącego wpływu RS na poziom triglicerydów, cholesterolu całkowitego i poszczególnych jego frakcji we krwi u ludzi i u zwierząt doświadczalnych [9, 10].

Cytowane badania dotyczą głównie własności biologicznych skrobi typu RS2 i RS3. Obecnie obserwuje się duże zainteresowanie własnościami skrobi RS4, która wykazuje mniejszą wrażliwość na działanie enzymów trawiennych *in vitro*. Do tej pory brak jest doniesień na temat oporności skrobi RS4 *in vivo* [8, 14].

Celem pracy była ocena wpływu trzech preparatów skrobi odpornej typu RS 4 na wyróżniki wzrostowe, wskaźniki biochemiczne oraz lipidowe krwi i wątroby szczurów rasy *Wistar*.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na 32 samcach i 40 samicach szczurów rasy *Wistar* o średniej masie początkowej odpowiednio 225 g i 160 g. Samce - ♂ (n=8) i samice - ♀ (n=10) losowo podzielono

na 4 grupy. Uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach na przeprowadzenie doświadczenia.

W trakcie eksperymentu zwierzętom z grup kontrolnych ($K\♂$ i $K\♀$) przez 4 tygodnie podawano *ad libitum* modyfikowaną półsyntetyczną dietę dla gryzoni laboratoryjnych (AIN – 93M) [15]. Modyfikacja dotyczyła zastosowania skrobi pszennej zamiast kukurydzianej i zastąpienia części skrobi pszennej jednym z preparatów skrobi odpornej. Badaniom poddano monofosforan skrobi ziemniaczanej (S1), monofosforan rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej (S2) oraz monofosforan skrobi ziemniaczanej ogrzewany z dodatkiem glicyny i poddany działaniu mikrofal (S3).

Uwzględniając stopień oporności preparatów, dodatek RS wynosił 50 g/kg diety (5%). Oporność określona wg metody *Englyst'a* [5] wyniosła odpowiednio: S1- 42%, S2- 43%, S3- 46%.

W czasie doświadczenia, kontrolowano spożycie paszy oraz przyrost masy ciała zwierząt. Po zakończeniu eksperymentu zwierzęta usypiano ketonalem, pobierano krew z serca oraz wypreparowywano wątrobę.

We krwi pełnej oznaczono hematokryt i stężenie hemoglobiny, a w surowicy przy użyciu testów biochemicznych firmy BioSystems: stężenie glukozy, cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu HDL i triglicerydów (TGC). W ekstraktach z wątroby przygotowywanych metodą *Folcha* [7] przy użyciu testów biochemicznych firmy BioSystems oznaczono zawartość TC i TGC.

Wyniki oceniono metodą jednokierunkowej analizy wariancji z testem *Duncana* ($p < 0,05$). Grupy jednorodne statystycznie (Tabela I i II) oznaczono jednakowymi literami (a, b, c).

WYNIKI I DYSKUSJA

W tabeli I przedstawiono średnie spożycie paszy i przyrosty masy ciała, średnią masę wątroby oraz zawartość cholesterolu całkowitego i triglicerydów w wątrobie w grupach badanych samców i samic. Średnie spożycie paszy przy dietach doświadczalnych nie różniło się istotnie w porównaniu do grup kontrolnych.

Tabela I. Spożycie paszy i przyrosty masy ciała oraz masa wątroby i zawartość cholesterolu całkowitego (TC) i triglicerydów (TGC) w wątrobie szczurów
Feed intake, body mass increase, liver mass, total cholesterol (TC) and triglyceride (TGC) content in liver

Grupy zwierząt	Spożycie paszy [g/dobę]	Przyrost masy ciała [g/4 tyg.]	Masa wątroby [g]	TC [μg/g]	TGC [mg/g]
$\♂$ (n = 8) $\♀$ (n = 10)	$x_{sr} \pm SD$	$x_{sr} \pm SD$	$x_{sr} \pm SD$	$x_{sr} \pm SD$	$x_{sr} \pm SD$
K	20,9 ± 0,4 (a)	50,8 ± 6,8 (c)	8,94 ± 1,30 (a)	192,2 ± 84,3 (ab)	2,01 ± 0,47 (a)
S1♂	18,6 ± 0,3 (a)	36,5 ± 7,2 (b)	8,81 ± 0,89 (a)	241,2 ± 95,1 (ab)	2,02 ± 0,55 (a)
S2♂	17,0 ± 0,2 (a)	25,1 ± 6,6 (a)	8,70 ± 0,53 (a)	319,5 ± 128,2 (a)	2,79 ± 0,54 (b)
S3♂	18,1 ± 0,4 (a)	37,4 ± 16,9 (b)	9,73 ± 1,26 (a)	216,8 ± 70,9 (b)	2,18 ± 0,83 (a)
K♀	13,2 ± 0,2 (a)	22,2 ± 9,7 (ab)	5,94 ± 0,44 (a)	184,1 ± 35,2 (a)	1,90 ± 0,48 (a)
S1♀	12,9 ± 0,2 (a)	24,0 ± 10,7 (b)	6,14 ± 0,84 (a)	197,7 ± 36,2 (a)	1,49 ± 0,52 (a)
S2♀	11,0 ± 0,5 (a)	14,0 ± 6,9 (a)	5,88 ± 0,69 (a)	147,6 ± 21,5 (b)	1,53 ± 0,30 (a)
S3♀	11,8 ± 2 (a)	17,0 ± 9,5 (a)	6,03 ± 0,82 (a)	149,1 ± 45,4 (b)	1,63 ± 0,35 (a)

1-czynnikowa Anova, różnice statystycznie istotne $p < 0,05$; tą samą literą zaznaczono grupy jednorodne statystycznie

W grupach zwierząt otrzymujących preparaty skrobi odpornej stwierdzono istotnie niższe przyrosty masy ciała w porównaniu do grup kontrolnych. Podobne wyniki w badaniach na szczurach uzyskali *Delahaye* i wsp. [4], *Younes* i wsp. [19] *De Deckere* i wsp. [3]. W badaniach innych autorów nie stwierdzono wpływu skrobi odpornej na przyrost masy ciała zwierząt doświadczalnych [17, 18]. Cytowane badania dotyczyły skrobi opornych typu RS1 – RS3.

W grupach S2♀ i S3♀ średnia zawartość TC w wątrobie była o około 20% niższa w porównaniu do grupy kontrolnej (Tabela I). Średnia zawartość TC w wątrobie samców z grupy S2♂ była natomiast wyższa o 46% w porównaniu do grupy kontrolnej. W grupie S2♂ stwierdzono również o około 40% wyższy poziom TGC w wątrobie niż w grupie kontrolnej.

W badaniach *Chenga* i wsp. [2] poziom cholesterolu całkowitego i triglicerydów w wątrobie szczurów, którym podawano paszę z dodatkiem skrobi odpornej RS2 był niższy w stosunku do grupy kontrolnej odpowiednio o 6,6% i 28%. Podobne wyniki uzyskali też *Lopez* i wsp. [12].

Tabela II. Poziom hematokrytu i hemoglobiny we krwi oraz zawartość glukozy, cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu HDL i triglicerydów (TGC) w surowicy krwi szczurów
Haematocrit and hemoglobin level in blood and glucose, total cholesterol, and HDL-cholesterol content in blood serum

Grupy zwierząt ♂ (n = 8) ♀ (n = 10)	Hematokryt [%]	Hemoglobina [mg%]	Glukoza [mg/dl]	TC [mg/dl]	HDL [mg/dl]	TGC [mg/dl]
	$\bar{x}_s \pm SD$	$\bar{x}_s \pm SD$	$\bar{x}_s \pm SD$	$\bar{x}_s \pm SD$	$\bar{x}_s \pm SD$	$\bar{x}_s \pm SD$
K♂	39,1 ± 0,86 (a)	13,4 ± 0,02 (a)	131,1 ± 0,06 (a)	44,9 ± 0,01(a)	15,1 ± 6,31 (a)	110,8 ± 0,03 (a)
S1♂	38,3 ± 1,09 (a)	13,4 ± 0,02 (a)	148,0 ± 0,05 (a)	44,2 ± 0,02 (a)	10,6 ± 2,40 (b)	70,8 ± 0,02 (b)
S2♂	39,1 ± 1,62 (a)	13,7 ± 0,02 (a)	148,8 ± 0,06 (a)	44,2 ± 0,01(a)	11,8 ± 1,22 (ab)	59,3 ± 0,01 (b)
S3♂	38,0 ± 0,90 (a)	13,6 ± 0,03 (a)	145,8 ± 0,09 (a)	40,7 ± 0,01 (a)	10,4 ± 0,91 (b)	73,1 ± 0,02 (b)
K♀	36,2 ± 0,70 (a)	13,6 ± 0,03(a)	152,5 ± 0,09 (a)	36,6 ± 0,01 (a)	8,9 ± 3,31 (a)	94,3 ± 0,04 (a)
S1♀	36,7 ± 1,16 (a)	12,9 ± 0,03 (a)	149,9 ± 0,06 (a)	38,7 ± 0,01 (a)	13,7 ± 2,93 (b)	70,0 ± 0,02 (b)
S2♀	36,1 ± 1,76 (a)	13,0 ± 0,03 (a)	140,9 ± 0,08 (a)	38,8 ± 0,01(a)	9,9 ± 2,74 (a)	71,8 ± 0,07 (b)
S3♀	36,2 ± 1,12 (a)	13,0 ± 0,03 (a)	150,4 ± 0,16 (a)	35,5 ± 0,01 (a)	9,5 ± 2,40 (a)	61,2 ± 0,02 (b)

1-czynnikowa Anova, różnice statystycznie istotne $p < 0,05$; tą samą literą zaznaczono grupy jednorodne statystycznie

W tabeli II przedstawiono średni poziom hematokrytu i hemoglobiny we krwi, średnią zawartość glukozy, cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu HDL oraz triglicerydów (TGC) w surowicy krwi w grupach badanych samców i samic. Nie wykazano wpływu dodatku skrobi odpornej do paszy na poziom wskaźników biochemicznych we krwi oraz na zawartość cholesterolu całkowitego w surowicy krwi zwierząt. Stwierdzono natomiast istotne obniżenie zawartości TGC w surowicy krwi w grupach zwierząt obu płci otrzymujących preparaty skrobi odpornej. W grupach samców średnia zawartość TGC w surowicy krwi była o około 40%, a u samic o około 30% niższa w porównaniu do grup kontrolnych.

Podobne oddziaływanie różnych typów skrobi odpornej obserwowano w badaniach innych autorów. *Delahaye* i wsp. [4] stosując dodatek ryżowej i kukurydzianej skrobi odpornej do diet wysokotłuszczowych odnotowali w surowicy krwi badanych szczurów w porównaniu do grupy kontrolnej spadek poziomu triglicerydów średnio o 35,6%.

W badaniach *Chenga* i wsp. [2] poziom triglicerydów (TGC) w surowicy zwierząt karmionych paszą z dodatkiem ryżowej RS zmniejszył się o 10%, natomiast w badaniach *Younes'a* i wsp. [19] stwierdzono, że 25% dodatek surowej skrobi ziemniaczanej do diety szczurów rasy *Wistar* powodował obniżenie zawartości triglicerydów o 29 – 42%. W badaniach *De Deckere* i wsp. [3] dodatek wysokoamylozowej skrobi kukurydzianej do diety szczurów *Wistar* nie wpływał na zawartość TC i TGC w surowicy. W innych badaniach również nie stwierdzono wpływu RS na metabolizm lipidów u zwierząt [11, 14].

Mechanizmy działania hipocholesterolemicznego i hipolipidemicznego RS u zwierząt doświadczalnych nie są do końca poznane. Formułowane są na ten temat różne hipotezy [1, 13, 18]. Skrobia oporna może modyfikować poziom cholesterolu we krwi wpływając na metabolizm kwasów żółciowych i zwiększenie wydalania steroli z kałem [12]. Przypuszcza się ponadto, że powstające w wyniku fermentacji RS w jelicie grubym krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) hamują syntezę cholesterolu w wątrobie oraz obniżają aktywność enzymów regulujących syntezę kwasów tłuszczowych, co powoduje spowolnienie lipogenezy [6, 11, 16]. Za obniżanie tempa lipogenezy u zwierząt doświadczalnych odpowiedzialne mogą być także zmiany metabolizmu glukozy obserwowane pod wpływem RS [12].

WNIOSKI

W warunkach doświadczenia zastosowanie 5% dodatku chemicznie modyfikowanej skrobi ziemniaczanej (RS4) do diety

1. obniżyło przyrosty masy ciała samic i samców,
2. spowodowało spadek poziomu triglicerydów w surowicy krwi o około 30 – 40%,
3. nie wywołało zmian zawartości cholesterolu całkowitego i cholesterolu HDL w surowicy krwi zwierząt z wyjątkiem grupy samic otrzymujących monofosforan rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej, u których nastąpił wzrost stężenia cholesterolu HDL średnio o około 35%.

D. Figurska-Ciura, D. Orzeł, M. Styczyńska, W. Leszczyński,
A. Żechałko-Czajkowska

WPLYW SKROBI OPORNEJ RS 4 NA METABOLIZM SZCZURÓW RASY *WISTAR*. WSKAŹNIKI BIOCHEMICZNE I LIPIDOWE

Streszczenie

Oceniono wpływ zawartości skrobi odpornej RS 4 w diecie na wybrane wskaźniki biochemiczne i lipidowe we krwi oraz w wątrobie szczurów. 4-tygodniowe doświadczenie przeprowadzono na 32 samcach i 40 samicach szczurów rasy *Wistar*. W trzech dietach doświadczalnych zastosowano 5% dodatek modyfikowanej chemicznie skrobi ziemniaczanej. Oznaczono poziom hemoglobiny oraz hema-

tokrytu we krwi, stężenie glukozy, cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu HDL, triglicerydów (TGC) w surowicy a także stężenie cholesterolu całkowitego i triglicerydów w wątrobie. U zwierząt obu płci karmionych dietami doświadczalnymi stwierdzono niższe stężenie TGC w surowicy krwi (30 – 40%) w porównaniu do grup kontrolnych. Nie stwierdzono istotnych różnic zawartości cholesterolu całkowitego i cholesterolu HDL w surowicy krwi zwierząt w grupach doświadczalnych.

D. Figurska-Ciura, D. Orzeł, M. Styczyńska, W. Leszczyński,
A. Żechałko-Czajkowska

THE INFLUENCE OF RS4 RESISTANT STARCH ON *WISTAR* RATS METABOLISM. BIOCHEMICAL AND LIPID INDICES

Summary

The influence of resistant starch RS4 on total cholesterol (TC), HDL cholesterol, triacylglycerols (TAG) composition in blood serum and liver of rats was determined.

4 week experiment involved 32 males and 40 females laboratory Wistar rats allotted in 4 groups in each sex. Control rats were feed ad libitum with standarised synthetic diet AIN-93. In experimental groups animals were given modified feed enriched with 5% of resistant starch. monophosphate of potato starch, monophosphate of soluble potato starch and monophosphate of potato starch heated with glycne and microwaved were examined. Diet enrichment with resistant starch decerased triacylglycerol level (TAG) while the total cholesterol (TC) level, in serum was not affected.

PIŚMIENNICTWO

1. *Champ M.J.*: Physiological aspects of resistant starch and in vivo measurments, *J. AOAC Int.*, 2004, 87(3): 749 – 55.
2. *Cheng H.H., Lai M.H.*: Fermentation of resistant rice starch produces propionate reducing serum and hepatic cholesterol in rats, *J. Nutr.*, 2000 , 130, 1991-1995
3. *De Deckere E., Kloots W., Kloots W., van Amelsvoort J.*: Resistant starch decreases serum total cholesterol and triacylglycerol concentrations in rats. *J. Nutr.*, 1993, 123, 2142-2151
4. *Delahaye E.P., Sequera B., Herrera I.*: Plant starches and oils. Their influence on digestion in rats. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, 77, 381-386.
5. *Englyst H.N., Hudson J.G.*: The classification and measuremet of dietary carbohydrates. *Food Chem.*, 1996, 57(1): 15 – 21.
6. *Fernandez M.L., Suheeta R., Vergara-Jimenez M.L.*: Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutr. Res.*, 2000, 20(6): 837-849.
7. *Folch J., Lees M., Stanley L.S.*: A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, 226, 497 – 509.
8. *Haralampu S.G.*: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 2000, 41, 285-292.
9. *Heijnen M.L.A., Van Amelsvoort J.M.M., Deurenberg P., Beynen A.C.*: Limited effect of consumption of uncooked (RS2) or retrograded (RS3) resistant starch on putative risk factors for colon cancer in healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998, 67: 322 – 331.
10. *Jenkins D., Vuksan V., Kendall C., Würsch P., Jeffcoat R., Waring S., Mehling C.C., Vidgen E., Augustin L., Wong E.*: Physiological effects of resistant starches on fecal bulk, short chain fatty acids, blood lipids and glycemic inde., *J. Am. College Nutr.*, 1998, 17, 609-616.

11. Kim W.K., Chung M.K., Kang N.E., Kim M.H., Park O.J.: Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Nutr. Biochem.*, 2003, 14, 166-172.
12. Lopez H.W., Levrat-Verny M.A., Coudray C., Besson C., Krespine V., Messenger A., Demigné C., Rémésy C.: Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J. Nutr.*, 2001, 131, 1283 – 1289.
13. Martinez-Flores H.E., Chang Y.K., Martinez-Bustos F., Sgarbieri V.: Effects of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. *Nutr. Res.*, 2004, 24, 85 – 93.
14. Nugent A.P.: Health properties of resistant starch. *Brit. Nutr. Found. Bull.*, 2005(30) 27-54.
15. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C.: AIN-93 Purified diets for laboratory rodents. *J. Nutr.*, 1993, 11, 123, 1939-1951.
16. Soral-Śmietana M., Wronkowska M.: Resistant starch – nutritional and biological activity. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2004, 13/54, 1, 51-64.
17. Trautwein E.A., Forgbert K., Rieckhoff D., Erbersdobler H.F.: Impact of β – cyclodextrin and resistant starch on bile acid metabolism and fecal steroid excretion in regard to their hypolipidemic action in hamsters. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1437, 1-12.
18. Vanhoof K.M., De Schrijver R.: Consumption of enzyme resistant starch and cholesterol metabolism in normo- and hypercholesterolemic rats. *Nutr. Res.*, 1997, 17, 1331-1340.
19. Younes H., Levrat M.A., Demigné C., Rémésy C.: Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid-lowering agent in the rat. *Lipids*, 1995, 30, 847-853.