

*Renata B. Kostogryś¹, Magdalena Franczyk-Żarów², Adam Florkiewicz³,
Agnieszka Filipiak-Florkiewicz⁴, Kinga Topolska⁴, Marek Sady⁵,
Iwona Wybrańska¹*

WPLYW DIETY NISKOWĘGLOWODANOWEJ
I WYSOKOBIAŁKOWEJ (LCHP) NA PRZYROSTY
MASY CIAŁA, A TAKŻE WYTRZYMAŁOŚĆ KOŚCI
I ZAWARTOŚĆ W NICH WAPNIA U SZCZURÓW
SZCZEPU WISTAR

¹ Katedra Biochemii Klinicznej, Zakład Diagnostyki Genetycznej i Nutrigenomiki,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Kierownik: dr hab. *I. Wybrańska*

² Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. inż. *T. Leszczyńska*

³ Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności,
Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. inż. *T. Fortuna*

⁴ Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji,
Wydział Technologii Żywności,

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. inż. *E. Cieślak*

⁵ Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych,
Wydział Technologii Żywności,

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Domagała*

Celem badań było określenie wpływu diety niskowęglowodanowej i wysokobiałkowej (LCHP) na przyrosty masy ciała, jak również wytrzymałość kości i zawartość w nich wapnia u szczurów szczepu Wistar. Wykazano, że dieta LCHP nie miała istotnego wpływu na poziom wapnia kości zwierząt doświadczalnych. Wytrzymałość kości była istotnie statystycznie niższa w grupie otrzymującej dietę LCHP.

Słowa kluczowe: dieta LCHP, szczury, masa ciała, kość udowa

Key words: LCHP diet, rats, body weight, femoral bone

Standardowa dieta typu Western (WD), powszechnie stosowana przez ogół populacji, dostarcza 38% energii w postaci tłuszczu ogółem (tj. 17% tłuszczu, przy czym głównie nasyconych kwasów tłuszczowych) i 400 mg cholesterolu na dobę (1).

Istnieje wiele dowodów naukowych, że taki sposób żywienia przyczynia się do zwiększenia ryzyka nie tylko chorób układu krążenia, ale i osteoporozy. Dane przed-

stawione przez *Gautam* i wsp. (2) wskazują, że otyłość indukowana przez dietę wysokotłuszczową (High Fat Diet, HFD) powoduje ubytki w strukturze gąbczastej kości, przy czym większe zmiany obserwowane są u samców, niż u samic. Również dieta o niskiej zawartości węglowodanów i o wysokiej zawartości białka (LCHP), stosowana w celu redukcji masy ciała, ma wpływ na stan kości. Przykładowo, *Bergqvist* i wsp. (3) wykazali zmniejszenie zawartości składników mineralnych w kościach u dzieci z epilepsją, żywionych dietą ketogeniczną.

Celem doświadczenia była ocena wpływu diety niskowęglowodanowej (22%) i wysokobiałkowej (52%) (LCHP) na przyrost masy ciała oraz stan kości, u szczurów szczepu Wistar.

MATERIAŁ I METODY

W doświadczeniu, przeprowadzonym za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej w Krakowie, wykorzystano 18 szczurów samców szczepu Wistar, o wadze ok. 160 g, otrzymanych z Instytutu Zootechniki w Krakowie.

Szczury umieszczono w klatkach, w środowisku o kontrolowanej temperaturze (22-25°C) i odpowiedniej wilgotności, z zachowaniem 12-godzinny cykl dzień/noc. Zwierzęta losowo przydzielono do trzech grup doświadczalnych (n=6) i żywiono odpowiednio zmodyfikowaną dietą AIN-93G przez 8 tygodni (4). Zastosowano następujące diety eksperymentalne: I- AIN-93G (kontrola, 7% oleju sojowego, 20% kazeiny), II: WD (21% masła, 20% kazeiny, dostarczającej energii odpowiednio 41% z tłuszczu i 17% z białka) i III – LCHP (21% masła, 52,4% kazeiny dostarczającej energii odpowiednio 41% z tłuszczu i 45% z białka).

Zwierzęta żywiono *ad libitum*. Masa ciała szczurów była kontrolowana co tydzień. Po 8 tygodniach doświadczenia zwierzęta zostały poddane eutanazji, a następnie pobrano od nich materiał do badań.

Kości udowe pobrano, a następnie oczyszczono z tkanki mięśniowej, po czym zabezpieczono do czasu wykonania dalszych analiz (w temp. -20°C).

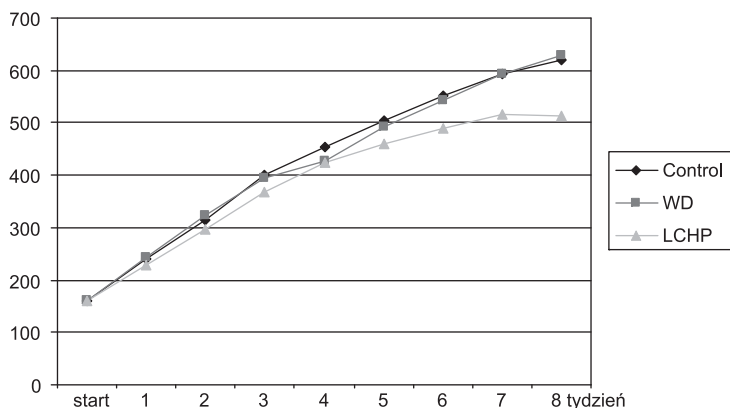
Wytrzymałość mechaniczną kości (wyrażoną jako siłę potrzebną do złamania kości w połowie jej długości) zmierzono przy użyciu teksturometru TA-XT plus (Texture Analyser – Stable Micro Systems), z przystawką *Warnera-Bratzlera*, testem trzypunktowego zginania. Prędkość przesuwu noża wynosiła 5,0 mm/s.

Dodatkowo wykonano oznaczenie zawartości wapnia w kości udowej metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu z zastosowaniem spektroskopu Varian AA240FS, po wcześniejszej mineralizacji metodą mikrofalową ciśnieniową na mokro (MarsXPres firmy CEM) z użyciem kwasu azotowego 65% dodanego w ilości 10 ml na 0,5 g naważki próbki, oraz po dodaniu roztworu buforowego wg *Schinkela* (cesium chloride and lantanum chloride o stężeniu 10g/l CsCl i 10g/l La) w ilości 8 ml. Czas mineralizacji wynosił 40 minut, a maksymalna temperatura procesu 200°C.

Uzyskane wyniki po wcześniejszym sprawdzeniu założeń testu poddano analizie statystycznej, z wykorzystaniem testu ANOVA (STATISTICA v. 10.0), przy poziomie istotności $p < 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zarówno dieta WD, jak również LCHP nie miały istotnego wpływu na przyrost masy ciała szczurów w pierwszych tygodniach badania (Ryc. 1). Masa ciała szczurów otrzymujących ww. diety w okresie 1 miesiąca była porównywalna z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej. Dopiero w kolejnych tygodniach zaobserwowano istotne obniżenie masy ciała u zwierząt żywionych dietą niskowęglowodanową i wysokobiałkową. Pozytywne efekty w zakresie redukcji masy ciała po zastosowaniu diety LCHP obserwowane były również w innych badaniach.



Ryc. 1. Zmiany w przyroście [g] masy ciała szczurów w zależności od diety

Fig. 1. The changes of body weight gain [g] in dependence on diet

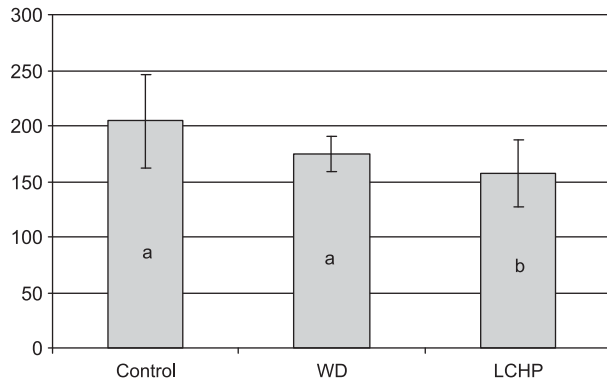
Sarwar i współ. (5) wykazali, że zwiększenie w diecie metioniny (5 i 10 g/kg) nie miało wpływu na wzrost samców i samic szczurów. Dopiero dawka 20g/kg diety spowodowała istotną redukcję masy ciała. W niniejszym doświadczeniu dieta kontrolna zawierała 20% kazeiny, natomiast dieta LCHP – 52,4%, a więc udział metioniny w dietach wynosił odpowiednio 0,56 % i 1,47%.

Szybka początkowa utrata masy ciała obserwowana przez wielu autorów może być wynikiem moczopędnego działania diety ketogenicznej (5). Liczni badacze podkreślają wpływ diety LCHP na stan ketozy, często więc obserwowana niższa masa ciała jest związana z kwasimą metaboliczną (5, 6).

Wytrzymałość kości udowej oraz zmiany w niej zawartości wapnia zwierząt w zależności od zastosowanej diety przedstawiono na ryc. 2 i 3. Nie wykazano istotnych zmian w zawartości Ca w kości po 8 tygodniach podawania szczurom diety LCHP. Wykazano jednocześnie istotny statystycznie spadek wytrzymałości kości u zwierząt żywionych LCHP.

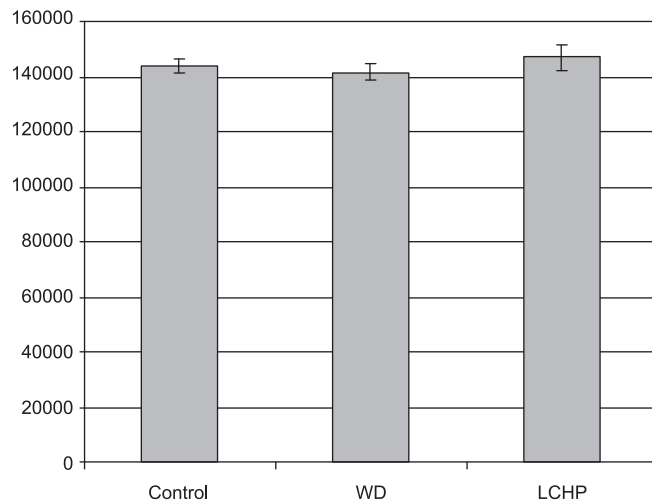
Tymczasem w badaniach *Bergqvist* i współ. (3) wykazano, że dieta ketogeniczna stosowana u dzieci z epilepsją obniżała zawartość związków mineralnych (BMC) w kości.

Podsumowując wykazano, że dieta LCHP ma wpływ nie tylko na zmiany sercowo-naczyniowe (7, 8, 9), ale może mieć również wpływ na zmiany kostne.



Rys. 2. Wytrzymałość kości udowych zwierząt żywionych dieta kontrolna, WD bądź LCHP

Ryc. 2. Bone from animals fed WD or LCHP diet



Ryc. 3. Poziom wapnia [mg/kg] w kościach udowych zwierząt żywionych dieta kontrolną, WD bądź LCHP

Fig. 3 Femoral calcium content [mg/kg] in rats fed control, WD or LCHP diets

WNIOSKI

1. Podawanie samcom szczurów szczepu Wistar diety niskowęglowodanowej i wysokobiałkowej (LCHP), przez okres 8 tygodni obniżyło istotnie statystycznie przyrost ich masy ciała.
2. Nie stwierdzono znaczącego wpływu diety LCHP na zawartość wapnia w kości udowej zwierząt.
3. Wykazano istotne statystycznie obniżenie wytrzymałości kości u zwierząt żywionych dietą LCHP.

R.B. Kostogrys, M. Franczyk-Żarów, A. Florkiewicz,
A. Filipiak-Florkiewicz, K. Topolska, M. Sady, I. Wybrańska

EFFECT OF LOW CARBOHYDRATE AND HIGH PROTEIN (LCHP) DIET
ON BODY WEIGHT GAIN, AS WELL AS BONE HARDNESS AND THEIR CALCIUM
CONTENT IN WISTAR RATS

Summary

Low carbohydrate and high protein diets (LCHP) are extremely popular all over the world. However, recent reports indicate that the effect of these diets on the health is non univocal.

The aim of the study was to assess the effect of LCHP diet on body weight gain, femoral hardness and calcium content in Wistar rats.

The animals (18 two-month old male rats) were divided into 3 experimental groups and were fed for 8 weeks the following diets: a control (AIN – 93G), a high fat diet (WD) or a low carbohydrate and high protein diet (LCHP). As a source of fat in the control diet 7% soybean oil was used and in WD and LCHP diets: 21% of butter. The amount of protein in the LCHP diet was twice higher compared to the other groups. The animals received the diet *ad libitum*. The body weight gain was monitored once a week.

After 8 weeks of feeding, the animals were euthanized, and the femurs were collected. The femoral hardness was analysed by Texture Analyser – Stable Micro Systems. The calcium content was determined using Varian AA240FS spectroscopy.

In the experiment there were statistically significant changes in the body weight gain of the animals fed LCHP diet as well as in the hardness of bones. The calcium content in the bones did not differ between the experimental groups.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bhupathiraju SN, Tucker KL.*: Coronary heart disease prevention: nutrients, foods, and dietary patterns. *Clin. Chim. Acta.* 2011; 17: 412: 17-18: 1493-514.-2. *Gautam J, Choudhary D, Khedgikar V, Kushwaha P, Singh RS, Singh D, Tiwari S, Trivedi R.*: Micro-architectural changes in cancellous bone differ in female and male C57BL/6 mice with high-fat diet-induced low bone mineral density. *Br. J. Nutr.* 2014 28; 111(10):1811-21. -3. *Bergqvist AG, Schall JI, Stallings VA, Zemel BS.* Progressive bone mineral content loss in children with intractable epilepsy treated with the ketogenic diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008, 88(6):1678-84. -4. *Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC.* AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 1993; 123: 1939-1951. -5. *Sarwar G, Peace RW, Botting HG,* i wsp.: Influence of dietary methionine with or without adequate dietary vitamins on hyperhomocysteinemia in rats. *Nutr. Res.*, 2000; 20 (12): 1817-1827. -6. *Parikh P, McDaniel M.C, Ashen M.D,* i wsp.: Diets and Cardiovascular Disease An Evidence-Based Assessment. *J. Am. Col. Cardiol.*, 2005; 45 (9): 1379-1387. -7. *Foo S Y, Heller E R., Wykrzykowska J, Sullivan Ch J., Manning-I Tobin JJ, MooreKJ, Gerszten RE, Rosenzweig A.* Vascular effects of a low-carbohydrate high-protein diet. *PNAS*, 2009; 8,(36): 15418–15423. -8. *Kostogrys RB, Franczyk-Żarów M, Maślak E, Gajda M, Mateuszuk L, Jackson ChL, Chłopicki S.* Low carbohydrate, high protein diet promotes atherosclerosis in apolipoprotein E/low-density lipoprotein receptor double knockout mice (apoE/LDLR^{-/-}). *Atherosclerosis*, 2012; 223 (2): 327-331. -9. *Busetto L, Marangon M, De Stefano F.* High-protein low-carbohydrate diets: what is the rationale? *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2011; 27 (3): 230-232.-

Adres: 31-501, ul. Kopernika 15 A