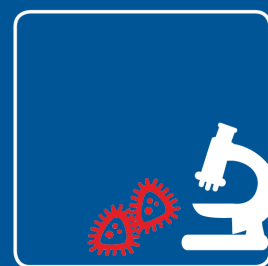


Lars Holm:

Indflydelse af kostens totale proteinindhold og akut træning på udnyttelsen af vallesupplement og måltidsindtaget kasein

Fate of nutrient-derived amino acids: influence of habituated levels of daily dietary intake on protein utilization



Slutrapport

for samarbejdsprojekter under Mejeribrugets ForskningsFond (MFF)

1. Projektets titel

In Danish:

Indflydelse af kostens totale proteinindhold og akut træning på udnyttelsen af vallesupplement og måltidsindtaget kasein

In English:

Fate of nutrient-derived amino acids: influence of habituated levels of daily dietary intake on protein utilization.

2. Projektleder

Lars Holm, School of Sport, Exercise and Rehabilitation Sciences, University of Birmingham, Birmingham UK. Telefon: 5360 3180, e-mail: L.Holm@bham.ac.uk

3. Øvrige medarbejdere

Grith Højfeldt, Institut for Idrætsmedicin, Bispebjerg og Frederiksberg Hospital, København, e-mail: grithwh@gmail.com

Jens Bülow, Klinisk Fysiologisk og Nuklear Medicinsk afdeling, Bispebjerg Hospital, e-mail: jens.bjoern.bulow@regionh.dk

Gerrit van Hall, Clinical Metabolomics Core Facility, Diagnostisk Center, Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet. e-mail: gvanhall@clinicalmetabolomics.dk

4. Finansieringskilder

- Mælkeafgiftsfonden
- Københavns Universitets Excellence Programme for Interdisciplinary Research
- Arla Foods Ingredients P/S
- University of Copenhagen, Faculty support for Ph.D. education

5. Projektperiode

Projektperiode med MFF-finansiering:

Projektstart: **01-01-14**

Projektafslutning: **31-12-18**

Projektperiode i alt, hvis del af større projekt:

Projektstart: **01-01-14**

Projektafslutning: **27-07-19**

6. Projektresume

In Danish:

Med dette projekt ønskede vi at undersøge, hvorledes kostprotein optages og udnyttes i kroppen i to situationer, hvor forsøgspersonerne er tilvænnet en anbefalet vs. en højproteinindtæt. Første del af studiet indbefattede produktion af stabil-isotop-mærkede mælkeproteiner, som blev givet til forsøgspersonerne, hvorved det var muligt at følge de mærkede aminosyrer rundt i kroppen. Anden del var det humane forsøg, hvor forskningsspørgsmålene skulle undersøges. Forsøgspersonerne blev undersøgt i postprandial hvile. De mødte ind til forsøget overnatsfastende og fik anlagt katetre, hvorefter de modtog et morgenmåltid indeholdende de mærkede proteiner (15N-phe-kaseinat og D5-phe-valle). Herefter indsamledes der prøver over de efterfølgende 4 timer.

Vi fandt, at tilvænnning til højt proteinindtag sammenlignet med det anbefalede niveau førte til en øget proteinsyntese og i faste tilstand også til forhøjet proteinnedbrydning. Mest afgørende resulterede tilvænnning til højt proteinindtag i en lavere proteinbalance i faste tilstand. Dermed sås et højere tab i protein, som et proteinrigt måltid ikke kunne kompensere for. Desuden var plasmaprotein-syntesen i den fire timers postprandiale periode lavere efter tilvænnning til en højproteinindtæt, end tilvænnning til en lavproteinindtæt. Endvidere fandt vi at bakteriefloraen i tarmen ikke er påvirket af mængden af protein i den kosten.

Baseret på dette studie ved vi, at man ikke kan forbedre sin evne til at optage protein ved blot at spise mere. Den primære ændring, der kommer med et meget højt indtag, er, at kroppen bliver bedre til at udskille protein. Dette betyder, at uanset om vi spiser den anbefalede mængde protein, eller øger mængden markant, så er vi lige gode til at udnytte mælkeprotein til nydannelse af proteiner inde i kroppen.

In English:

With this project, we wish to investigate how dietary proteins are absorbed and utilized in the body following two situations: 1) where a subject is habituated to the recommended level of protein in the daily diet, 2) where the subject is habituated to a high amount of protein in the daily diet. The first part of the study was production of stabile isotope labeled milk proteins, which when given to participants, made it possible to trace the amino acids route through the body. The second part was the human study, where the research questions were answered. Participants came to the hospital overnight fasted and had catheters placed whereafter they received a breakfast meal containing the intrinsically labelled milk proteins (15N-phe-caseinate and D5-phe-whey). Blood and muscle samples were collected in the 4 hours postprandial period.

We found that habituation to a high protein intake compared to the recommended level caused an increased protein synthesis and breakdown in the fasted state, thus a higher protein turnover. However, a lower protein net balance. A

lower net balance means a higher loss of protein in the fasted state. The lower net balance was not compensated after an intake of the protein rich breakfast. Further the plasma protein synthesis in the four hours postprandial were lower following habituation to a high protein diet compared to the recommended level. Lastly, we found that the fecal microbiota was unaffected by the amount of protein in the diet.

Based on this study, we know that the ability to absorb and utilize protein is not improved by ingesting more. The primary adaptation seen with a very high protein intake is an increased secretion of excess protein. This means that whether we ingest the recommended level of protein or higher levels, we will be equally good at utilizing milk protein for synthesis of new proteins in the body.

7. Projektets formål

In Danish:

Hovedformålene med projektet er:

- 1) at bestemme betydningen af et højt dagligt proteinindtag på udnyttelsesgraden af valleproteinet, når det indtages som supplement sammen med proteinholdige måltider samt også at bestemme udnyttelsesgraden af måltidsproteinet (her kaseinprotein)
- 2) at undersøge, hvorledes højt proteinindtag påvirker tarmfloraens sammensætning og metabolom.

In English:

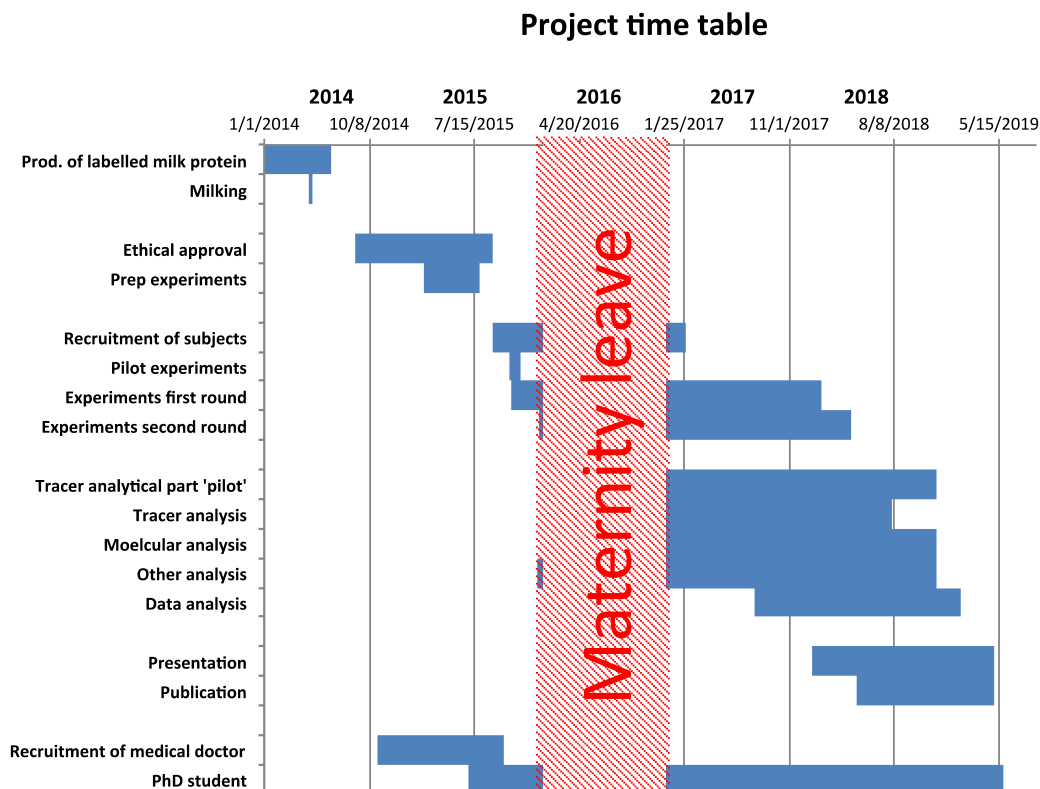
The primary aim of the project is:

- 1) To determine how a high intake of protein in the daily diet affects the utilization of whey and caseinate protein when it is ingested as a supplement in a mixed meal.
- 2) To examine how a high intake of protein impacts the intestinal microbiota and metabolome.

8. Projektets baggrund

Et øget fokus på det fald i muskelmasse, der ses med alderen, har, fra flere forskere, ført til en revurdering, af de officielle anbefalinger for proteinindtag. Dette har ført til, at flere foreslår et øget proteinindtag hos ældre over 65 år. Forslagene om et øget proteinindtag bygger på langtids- og akutte studier, som viser en positiv effekt af højt proteinindtag i forhold til lavt proteinindtag. Formålet med dette studie var at bygge videre på de resultater, der ligger til grund for de ny forslag. Dette skulle gøres ved at undersøge effekten af 20 dages tilvænning til højt proteinindtag versus 20 dages tilvænning til det officielt anbefalede indtag og derefter undersøge aminosyrekinetikker i faste og postprandial tilstand, samt evnen til at udnytte aminosyrerne fra kostprotein.

9. Projektets delaktiviteter i hele projektperioden

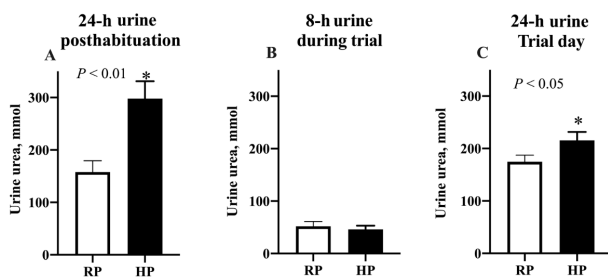


10. Afgivelser

Projektperioden blev forlænget, da den ph.d.-studerende på projektet var på barsel under projektførløbet.

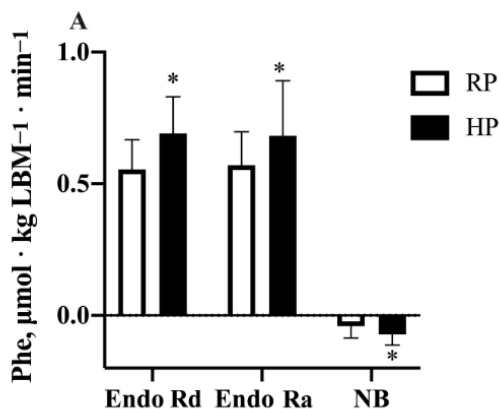
11. Projektets resultater

I en artikel publiceret i American Journal of Clinical Nutrition i 2020 (Højfeldt *et al.*, 2020) viser vi, hvordan hele kroppens proteinomsætning bliver påvirket, når sunde og raske mænd i alderen 65-70 år spiser 1,2 g protein/kg/dag (HP) i en 20 dages periode og 0,74 g protein/kg/dag (RP) i en anden 20-dages periode. I figur 1 ses det, at udskillelsen af urea i urinen (biprodukt ved proteinnedbrydning) er signifikant højere efter 20 dage med det høje proteinindtag i forhold til det anbefalede proteinindtag på 0,74 g/kg (figur 1a). Dette er forventet og et tegn på, at alle forsøgspersonerne fulgte den anviste diæt. På dag 21 derimod er proteinindtaget det samme for alle forsøgspersoner. I de første 8 timer er urea-udskillelsen den samme (figur 1b), men samlet set over hele dag 21 (figur 1c), udskiller personerne, der har spist et højt proteinindtag i de første 20 dage, fortsat mere urea, til trods for at denne dags proteinindhold er identisk.



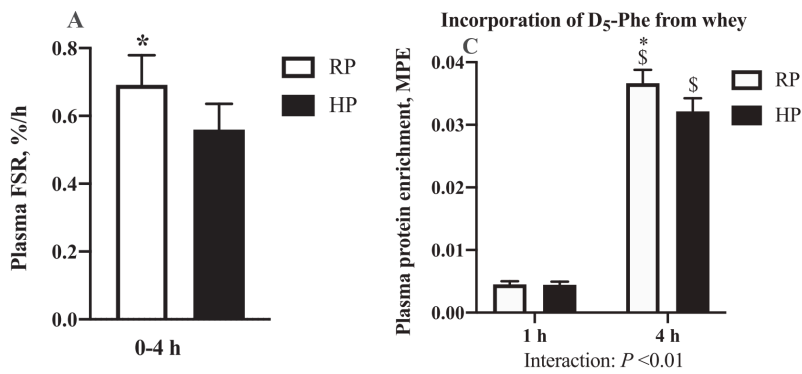
Figur 1: Urea-koncentration i urin opsamlet; over 24h timer efter 20 dages tilvænning til høj eller anbefalet proteinindtag (a), over 8 timer efter indtag af et identisk morgen- og frokostmåltid (b) og over 2 timer, hvor det relative proteinindtag har været ens for alle (c). HP = højt proteinindtag 1,2 g/kg/dag, RP = moderat proteinindtag på 0,74 k/kg/dag.

De resultater viser, at man efter 20 dages tilvænning til et højt proteinindtag har vænnet kroppen til at udskille urea, så selv på en dag, hvor mængden af cirkulerende aminosyre i blodet starter ens, og hvor protein indtaget er relativt det samme, vil kroppen fortsat have et større spildprodukt af proteinet, nemlig urea som bliver udskilt i urinen. Dette fund bliver forstærket af målet for helkrops faste protein syntese, endogenous rate of disappearance (Endo Rd) og målet for helkropsprotein nedbrydning, endogenous rate of appearance (Endo Ra), som ses i figur 2. Her ses det, at både proteinsyntese og protein nedbrydning stiger med et højt proteinindtag (HP), med nedbrydningen værende så meget højere at nettobalancen (NB) er mere negativ i fastetilstand efter 20 dages indtag af højproteinkost.



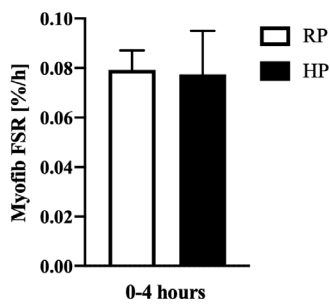
Figur 2: Figuren viser helkrops-proteinomsætning i faste. Endogenous rate of disappearance (Endo Rd) er et mål for proteinsyntese, endogenous rate of appearance (Endo Ra) er et mål for protein nedbrydning og nettobalancen (NB) er differensen mellem de to. HP = højt proteinindtag 1,2 g/kg/dag, RP = moderat proteinindtag på 0,74 k/kg/dag.

Efter 20 dages tilvænning til forskellige proteinniveauer i den daglige kost fik forsøgspersonerne et morgenmåltid, der indeholdt mælkeprotein (valle- og kaseinprotein) der var indre mærket med et sporstof. Vi fulgte optaget af aminosyrene fra mælkeprotein ind i plasmaprotein og skeletmuskulaturen. På figur 3 (publiceret i Højfeldt *et al.*, 2020) ses den fraktionelle syntese rate (FSR) for plasmaprotein i 4 timer efter morgenmåltidet, der indeholdt mælkeproteinene. Det ses her, at hastigheden hvormed der dannes nye plasmaproteiner, er hurtigere når forsøgspersonerne i 20 dage forinden har spist den anbefalede mængde protein i deres daglige kost (RP) i forhold til, når de 20 dage forinden har haft et højt proteinindtag (HP). Lige som der 4 timer efter morgenmåltidet er spist, er en højere berigelse fra det mærkede protein i plasmaprotein efter 20 dages indtag med den anbefalede mængde protein (figur 3).

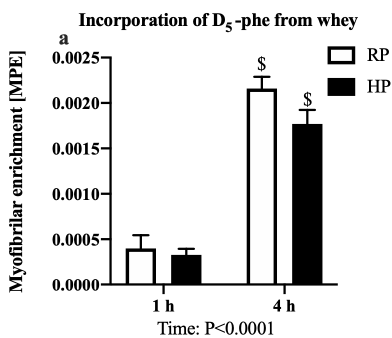


Figur 3: Figuren viser a) den fraktionelle syntese rate (FSR) for plasmaprotein over 4 timer postprandialt samt b) berigelsen i plasmaprotein 1 og 4 timer efter indtag af indre mærket mælkeprotein.). HP = højt proteinindtag 1,2 g/kg/dag, RP = moderat proteinindtag på 0,74 k/kg/dag

I skeletmuskulaturen er der ingen forskel på hverken FSR (figur 4) eller mængden af aminosyrer fra kosten, der er blevet inkorporeret i muskelproteiner (figur 5).

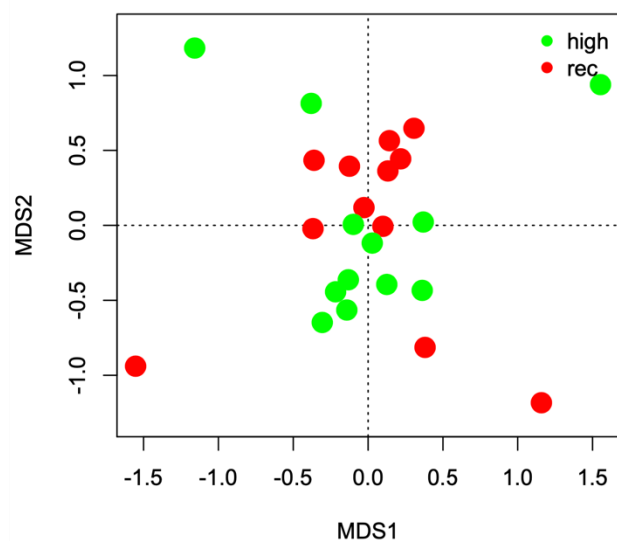


Figur 4: Figuren viser den fraktionelle syntese rate (FSR) for muskelprotein over 4 timer postprandialt. HP = højt proteinindtag 1,2 g/kg/dag, RP = moderat proteinindtag på 0,74 k/kg/dag



Figur 5: Figuren viser berigelsen i muskelprotein 1 og 4 timer efter indtag af indre mærket mælkeprotein. HP = højt proteinindtag 1,2 g/kg/dag, RP = moderat proteinindtag på 0,74 k/kg/dag

Med hensyn til bakteriefloraen i tarmen var denne helt upåvirket af mængden af protein i kosten (fig. 6).



Figur 6: Figuren viser et plot over forskelligheden af bakteriesammensætningen i afføringen: High = højt proteinindtag 1,2 g/kg/dag, rec = moderat proteinindtag på 0,74 k/kg/dag.

Ud fra resultaterne kan vi konkludere, at 20 dages tilvænning til et højt proteinindtag (minimum 1,2 g protein/kg/dag) ikke fører til nogen ændring i musklernes evne til at optage og udnytte aminosyrerne fra et kostprotein til at danne nye muskelproteiner. Til gengæld fører det til en lavere nettobalance i fastende tilstand, som man vil være nødsaget til at kompensere for med kosten.

Reference: Højfeldt, G. *et al.* (2020) "Impact of habituated dietary protein intake on fasting and postprandial whole-body protein turnover and splanchnic amino acid metabolism in elderly men: a randomized, controlled, crossover trial," *The American Journal of Clinical Nutrition*. Oxford University Press, pp. 1–17. doi: 10.1093/ajcn/nqaa201.

12. Resultaternes betydning, herunder for mejeribruget

For den almene dansker vil resultaterne betyde at et øget protein indtag udover det WHO anbefalede formentlig ikke vil have nogen effekt. Hvis man ønsker at optimere sit protein indtag vil det derfor være aktuelt at se på protein kvalitet frem for protein mængde.

13. Formidling og vidensdeling vedr. projektet

Artikler i internationale tidsskrifter:

- Højfeldt G, Bülow J, Agergaard J, et al (2020) Impact of habituated dietary protein intake on fasting and postprandial whole-body protein turnover and splanchnic amino acid metabolism in elderly men: a randomized, controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr* 1–17. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa201>
- Højfeldt G, Bülow J, Agergaard J, Schjerling P, Simonsen L, Bülow J, van Hall G, Holm L. "Postprandial muscle protein synthesis rate is unaffected by 20 days habituation to a high protein intake: a randomized controlled, crossover trial". *European Journal of Nutrition*. doi: [10.1007/s00394-021-02590-4](https://doi.org/10.1007/s00394-021-02590-4)

Populærvidenskabelige artikler:

- Søren Tobberup Hansen. Køer fra AU Foulum hjælper ældre med indtag af flere proteiner. Artikel på dansk fra Aarhus University, Danish Centre for Food and Agriculture. 17. juni 2014. [Link](#)
- Forskningsprojekt skal give ældre større muller. Artikel på Foodculture.dk fra Landbrug og Fødevarer. 20.maj 2014.
- Britt Tranberg & Lars Holm. 2014. Proteintilskuddenes skæbne i kroppen [Mælkeritidende no.8, s. 10-11](#).
- Grith Højfeldt & Lars Holm. 2021. Mere protein forbedrer ikke optagelseevnen. [Mælkeritidende nr. 2, s. 14-15](#).

Studenteropgaver:

- Ph.d.-projekt: Grith Højfeldt: Fate of nutrient-derived amino acids: influence of habituated levels of daily dietary intake on protein utilization. https://www.ismc.dk/phd-disputats/pdf_thesis/GrithHojfeldt.pdf

Indlæg ved faglige kongresser, symposier etc.:

- Mundtlig præsentation ved European College of Sport Science 2019: "Does habituation to a high protein diet influence whole body protein kinetics in a fasted and postprandial state?"
- Poster præsentation ved American College of Sports Medicine conference 2018 "Does habituation to high protein intake affect amino acid handling?"

14. Bidrag til kandidat- og forskeruddannelse

- PhD projekt: Grith Højfeldt: Fate of nutrient-derived amino acids: influence of habituated levels of daily dietary intake on protein utilization.

15. Underskrift og dato

Projektet er formelt afsluttet, når projektleder og MFF-repræsentant (fx styregruppeformanden for den respektive styregruppe) har underskrevet slutrapporten.

Dato: 07.06.21 Projektleders underskrift:



Dato: 25. maj 2021 MFF-repræsentants underskrift:

