

Amido Resistente

Attività nutrizionale e biologica



Dr. Luca Cirillo

Tecnologo alimentare

www.ccqaa.it

Relazione elaborata per

Pastificio artigianale Della Monica srls

L'amido è un carboidrato (polisaccaride) ad alto peso molecolare composto da catene lineari (amilosio) e ramificate (amilopectina) di residui di glucosio. In acqua, a temperature elevate, subisce gelatinizzazione seguita da idrolisi indotta da amilasi. Per questo, è completamente digerito nel tratto gastrointestinale degli esseri umani. Anche l'amido crudo di alcune specie di piante, ad es. cereali, è soggetto a completa ma lenta digestione. Inoltre, può presentarsi sotto una forma incapace di idrolisi enzimatica e viene indicato come "amido resistente" (RS).

L'amido resistente è la somma di amido e prodotti della sua degradazione che non vengono digeriti nell'intestino tenue degli esseri umani. Esistono quattro tipi di amido resistente:

RS1 – amido fisicamente inaccessibile. Gli enzimi amilolitici non hanno accesso all'amido accumulato nelle cellule vegetali intatte poiché il tratto gastrointestinale non contiene enzimi in grado di degradare i componenti delle pareti cellulari delle piante. E' presente nei legumi e cereali intatti.

RS2 – amido cristallino. Amido crudo di alcune specie di piante, ad es. patata.

RS3 - amido retrogradato, cioè spontaneamente o artificialmente precipitato da un impasto di amido, che si presenta sotto forma di strutture semicristalline insolubili in acqua. Come conseguenza della retrogradazione, strutture più termostabili si formano dall'amilosio piuttosto che dall'amilopectina. La quantità di amido resistente prodotta in questo modo aumenta insieme all'aumentare del contenuto di amilosio dell'amido. E' presente nelle patate cotte e raffreddate.

RS4 – amido chimicamente o fisicamente modificato.

La recente letteratura mostra le differenti proprietà biologiche e nutrizionali dell'amido resistente nell'organismo umano. In particolare, proprietà chimiche e chimico-fisiche, quali capacità di ritenzione idrica, tempo di transito intestinale, indice glicemico, azione dell'insulina, induzione di termogenesi, assorbimento di minerali, pH intestinale, funzione del colon, produzione di acidi grassi a corta catena, attività batterica e funzione delle cellule epiteliali, sono ampiamente controllate dai carboidrati che accedono al nostro intestino, così come dall'amido resistente. L'attività biologica dell'amido resistente, come risulta dalla recente letteratura, può inoltre influenzare positivamente la prevenzione delle malattie gastrointestinali.

Analizzando l'amido durante la digestione e l'assorbimento in vivo nell'intestino tenue Faisant et al. (1993) hanno scoperto l'amido resistente composto da tre tipi strutturali: 1)piccole quantità di oligosaccaridi simili ai prodotti dell'idrolisi parziale dell'amido; 2)una percentuale relativamente alta di amilosio retrogradato; 3)materiale ad alto peso molecolare corrispondente a frammenti di amido semi-cristallino, probabilmente presente come conseguenza dell'inaccessibilità fisica dell'amido e / o del tempo di ritenzione insufficiente nell'intestino. Asp et al. Hanno confermato che le tre frazioni principali di amido resistente sono composte da: glucosio e oligosaccaridi, una frazione cristallina con

peso molecolare medio e una frazione ad alto peso molecolare, contenenti residui di granuli resistenti. L'amido resistente viene valutato come parte dell'amido assunto con una dieta mista e considerato inerte durante il transito attraverso la sezione dell'intestino tenue, ma può essere parzialmente o completamente metabolizzato attraverso la fermentazione nell'intestino crasso.

Contributo all'energia metabolizzabile

L'amido resistente da amido di frumento trattato termicamente, incluso nella dieta dei ratti trattati con antibiotici, è stato recuperato nelle feci e quando l'amido resistente nella dieta è aumentato, l'utilizzazione di energia diminuiva significativamente [Björck et al., 1986]. Gli autori hanno concluso che l'amido resistente formatosi durante il trattamento termico era simile alla fibra alimentare facilmente fermentabile. In base all'energia metabolizzabile (ME) e alle misurazioni della produzione (escrezione) di idrogeno, l'amilosio e l'amido resistente sembrano essere utilizzati come fonti di energia dal soggetto e dalla microflora batterica del colon [Behall & Howe, 1995; Wronkowska et al., 2002a]. La fermentazione sembra contribuire significativamente all'energia digeribile e RS che raggiunge il colon può anche contribuire all'energia totale.

Proprietà fisiche e fisiologiche

Heijnen & Beynen [1997] hanno presentato l'effetto dell'amido resistente sulla via di escrezione di azoto dei suini. Tre gruppi di animali sono stati nutriti con diete contenenti amido crudo resistente (RS2), amido resistente retrogradato (RS3) o glucosio. I suini alimentati con RS3 avevano una produzione significativamente maggiore di contenuto intestinale e feci rispetto ai suini alimentati con glucosio o RS2. Le diete arricchite con RS2 e RS3, in contrasto con il glucosio, aumentavano l'escrezione di azoto fecale, risultante dall'apparente ridotto assorbimento di azoto. La salute dell'intestino è influenzata dalla composizione della comunità microbica e dai prodotti finali del metabolismo batterico dei componenti della dieta (Klose et al., 2010; Sørensen et al., 2009). Quando le proteine alimentari vengono consumate in quantità elevate, più proteine alimentari possono raggiungere il colon, il che si traduce nell'aumento dei prodotti di fermentazione proteica che includono metaboliti azotati nocivi (Magee et al., 2000; Mu et al., 2016). I prodotti di fermentazione proteica sono stati associati a impatti tossici e proinfiammatori sull'epitelio intestinale (Bertschinger et al., 1979; Hampson, 1994; Sørensen et al., 2009). Diversi studi hanno ipotizzato che un aumento di RS avrebbe diminuito l'abbondanza di prodotti di fermentazione proteica e l'abbondanza di batteri nocivi nell'intestino porcino (Metzler-Zebeli et al., 2010; Pieper et al., 2009).

L'amido resistente è associato al malassorbimento dell'amido. Questi risultati che evidenziano la diminuzione delle risposte di glucosio e insulina postprandiale, hanno implicazioni significative per l'utilizzo di RS nelle formulazioni alimentari per le persone con determinate forme di diabete [Kim et

al., 2003]. Dopo l'assunzione di amido crudo, le risposte di glucosio plasmatico e di insulina sierica possono essere inferiori a quelle previste dopo il consumo di carboidrati digeriti rapidamente, poiché entrambi i potenti stimolatori della secrezione di insulina, polipeptide gastrico inibitorio (GIP) e peptide-1 glucagone-1 (GLP-1), aumentano, come suggerito da Raben et al. [1994]. La diminuzione della risposta insulinica dopo il consumo di RS2 dalla patata è stata spiegata dalla sostanziale riduzione della termogenesi indotta dalla dieta (DIT) [Heijnen et al., 1995]. Recenti studi hanno dimostrato l'aumento della sensibilità insulinica (SI) associato al consumo di amido resistente RS2, in particolare su soggetti obesi e in sovrappeso. I meccanismi alla base degli effetti del RS2 su SI non sono ben compresi. Un'ipotesi è che i prodotti finali di fermentazione, in particolare gli SCFA, siano coinvolti in una cascata di eventi che possono portare a un miglioramento della SI (Robertson et al. 2003, Tarini et al. 2010). Gli SCFA (acetato, propionato e butirato) vengono assorbiti dal colon e sembrano sopprimere l'attività della lipasi sensibile agli ormoni, riducendo il rilascio di FFA (acidi grassi liberi) e glicerolo dai depositi adiposi, sebbene i processi cellulari esatti attraverso i quali ciò avvenga non siano stati completamente descritti (Higgins 2004). Studi metabolici hanno dimostrato che l'innalzamento del livello di FFA circolante per diverse ore ridurrà la SI e che l'abbassamento della concentrazione di FFA avrà l'effetto opposto, fornendo un possibile collegamento tra il consumo di RS2 che subisce la fermentazione nel colon e l'aumento della SI (Tarini et al. 2010, Ferrannini et al. 1983, Cusi et al. 2007).

L'interferenza con l'assorbimento dell'amido implica anche i benefici a lungo termine nel controllo dell'iperlipidemia. Le analisi del sangue a digiuno e del sangue postprandiale sono state studiate tenendo conto degli acidi grassi liberi, glucosio, insulina, trigliceridi, colesterolo, il binomio chilomicroni-trigliceridi, entro sette ore. E' stato osservato un miglioramento del metabolismo postprandiale dei trigliceridi migliorando la clearance dei residui (remnants) dei chilomicroni. Questo risultato è interessante per la prevenzione delle malattie coronariche.

È stato studiato l'effetto dell'amido di patata cruda e l'amido ad alto contenuto di amilosio, entrambi di tipo RS2, inclusi nella dieta dei ratti in confronto a una dieta priva di fibre sull'utilizzo dei minerali (Ca, Mg, Zn, Fe, Cu) [Lopez et al., 2001]. Come risultato dell'ipertrofia della parete ciecale e dell'acidificazione ciecale, l'assorbimento intestinale di questi elementi, in particolare Ca, Mg e Cu, è aumentato.

Acidi grassi a catena corta (SCFA)

In un mondo in cui le abitudini alimentari si evolvono rapidamente e in uno stile di vita stressante, è sempre più riconosciuto che un sistema digestivo sano è essenziale per la qualità della vita complessiva. Questo non è sorprendente dal momento che il tratto intestinale è riconosciuto come l'organo con la più grande superficie e capacità metabolica del nostro corpo. È l'organo che assorbe i nutrienti necessari

per la crescita, lo sviluppo e la salute ed espelle sostanze indesiderate e di scarto [Brouns et al. 2002]. L'intestino crasso svolge un ruolo significativo nella nostra difesa immunitaria contro le malattie. Il colon ospita una vasta e diversificata flora commensale di batteri anaerobici. La funzione del colon, in particolare l'abitudine intestinale, la produzione di acidi grassi a catena corta, il metabolismo N, l'attività batterica e la funzione delle cellule epiteliali sono in gran parte controllate dai carboidrati che entrano nel colon. Numerosi fattori controllano la fermentazione e la produzione di SCFA nell'intestino crasso. Alcuni carboidrati della dieta che evitano la digestione enzimatica nell'intestino tenue diventano i substrati di fermentazione della flora batterica del colon, così come l'amido resistente (RS). Sono fermentati a gas, acqua e il principale prodotto di fermentazione sono acidi grassi a catena corta (SCFA), inclusi principalmente acidi acetico, propionico e butirrico. È stato accertato che durante la fermentazione della frazione di amido resistente vengono prodotti proporzionalmente più SCFA rispetto alla fermentazione di componenti di fibre alimentari [Englyst & Macfarlane, 1986; Cummings & Englyst, 1987; Stephen, 1994]. È stato suggerito che la presenza simultanea di entrambi i componenti rende preferenziale la fermentazione dell'amido resistente [Cummings et al., 1996]. Nell'uomo, il contributo complessivo di SCFA verso il fabbisogno energetico ha un'influenza importante sulla salute del colon [Cummings et al., 1987]. Gli SCFA influenzano la diminuzione del pH dell'intestino. Nell'intestino crasso, gli SCFA stimolano il riassorbimento di acqua e sodio, limitando così il rischio di diarrea. In un ambiente acido, sono in grado di inibire la crescita di alcuni patogeni batterici intestinali [Montagne et al., 2003]. Il propionato va probabilmente al fegato, e l'acetato con metanolo e idrogeno attraverso il fegato ai muscoli e ai polmoni, rispettivamente [Stephen, 1994]. Todesco et al. [1991] hanno presentato che quando il propionato veniva incorporato nel pane, riduceva la risposta glicemica postprandiale nei soggetti sani del 38%. Gli studi condotti su cellule epatiche di ratto implicano che le concentrazioni fisiologiche di propionato possono attenuare la sintesi epatica del colesterolo [Anderson & Bridges, 1984]. Venter et al. [1990] dimostrarono un effetto benefico del propionato sul colesterolo sierico dell'uomo, il propionato dietetico aumentò la frazione di colesterolo delle lipoproteine ad alta densità (HDL). Tra gli SCFA, il butirrico ha dimostrato di svolgere un ruolo chiave come energia per il metabolismo e la proliferazione dei colonociti. Svolge due funzioni: la maggior parte del butirrico è un substrato per la produzione di ATP e agisce specificamente come un metabolita segnale, stimolando la migrazione e la proliferazione cellulare. Ecco perché il butirrico è così importante per la mucosa del colon e per fornire protezione contro il cancro del colon e la colite. Il butirrico può agire come cofattore delle proteine nel percorso di trasduzione o nelle proteine regolatrici della trascrizione, in tal modo specificamente stimolando o inibendo determinati processi cellulari. Nella letteratura scientifica è stato suggerito che il butirrico può non solo proteggere dall'iniziazione e dallo sviluppo del cancro dell'intestino crasso [Avivi-Green et al., 2000] ma forse anche il seno [Heerdt et al., 1999] e il cancro alla prostata [Ellerhorst et al., 1999]. Studi sul metabolismo intestinale di pazienti e modelli animali sperimentali affetti da infiammazione intestinale hanno dimostrato che un livello sufficiente e sostenuto di SCFA può essere essenziale per il mantenimento di un intestino sano. I pazienti con malattia

infiammatoria dell'intestino e con tumore del colon presentano tipicamente bassi livelli di butirrato nell'intestino e una bassa percentuale di ossidazione del butirrato da parte della mucosa [Brouns et al., 2002].

Colesterolo e acidi biliari

Il fegato svolge un ruolo chiave nella regolazione dell'omeostasi del colesterolo nell'uomo. L'LDL circolante proviene da lipoproteine a bassissima densità (VLDL) prodotte nel fegato ed è principalmente assorbito e degradato da questo organo. Un'ampia porzione di colesterolo LDL viene quindi convertita in acidi biliari e rimossa dall'organismo mediante escrezione biliare [Tatidis et al., 2001]. Concentrazioni plasmatiche significativamente diminuite di colesterolo e triacilgliceroli, risultanti dall'assunzione di una dieta arricchita con il 20% di amido di patata crudo o amido di mais ad alto contenuto di amilosio rispetto a un'alimentazione priva di fibre, sono state trovate nei ratti [Lopez et al., 2001]. L'effetto dell'amido resistente di patate (RS2) e della colestiramina (CHY) sul metabolismo del colesterolo sono stati testati nei ratti [Younes et al., 1995] e nelle cavie [Fernandez et al., 2000], poiché presentano molte somiglianze con gli esseri umani nella distribuzione plasmatica delle lipoproteine e nelle risposte alle diete. Le cavie nutrite con RS e CHY mostrano più basse concentrazioni plasmatiche di colesterolo LDL rispetto a quelle trattate con cellulosa. Due meccanismi principali sono stati osservati nella cavia [Fernandez et al., 2000]: (1) diminuzione dell'assorbimento del colesterolo e (2) interruzione della circolazione enteroepatica degli acidi biliari. A seconda dell'assunzione di RS correlata al ridotto assorbimento di colesterolo nella dieta, ciò potrebbe essere dovuto alla viscosità del RS o alle sue proprietà di formazione di gel che potrebbero interrompere la formazione di micelle o aumentare lo strato di acqua inattiva.

Microflora intestinale – biomassa, crescita batterica, batteri anaerobi fecali

Il tratto gastrointestinale umano è costituito da bocca, cavità orale, esofago, stomaco, intestino tenue e colon. L'intestino crasso umano può essere descritto come un complesso ecosistema microbico. Il ruolo principale della microflora intestinale è il recupero di energia dai carboidrati non digeriti nell'intestino superiore, attraverso la fermentazione. I principali substrati per la fermentazione includono anche l'amido che entra nel colon (amido resistente). Nel tratto gastrointestinale umano, principalmente nel colon, esistono almeno 500 diverse specie microbiche, su una base quantitativa probabilmente intorno a 10-20 generi. Un'analisi delle feci umane mostra che i bifidobatteri formano uno dei gruppi batterici culturalmente predominanti nel colon umano, dove il loro numero raggiunge spesso il livello di 10⁹-10¹⁰ cfu g⁻¹ [Alander et al., 2001]. La quantità di bifidobatteri nell'intestino umano tende a diminuire con l'età. I bifidobatteri prevengono la crescita di microbi patogeni esogeni e l'eccessiva crescita della microflora dannosa indigena attraverso la produzione di acidi grassi a catena corta, principalmente acido acetico e acido lattico, e dimostrano la capacità di produrre alcuni materiali antibiotici [Tomomatsu, 1994; Gibson e Roberfroid, 1995; Lee et al., 1999]. È auspicabile un aumento del numero e dell'attività

dei bifidobatteri (e dei lattobacilli) nel colon. Prima di arrivare al colon hanno bisogno di aderire all'epitelio intestinale. I batteri avrebbero bisogno di competere per i nutrienti e i siti ecologici di colonizzazione con una flora microbica precedentemente stabilita. A causa di alcune limitazioni dei probiotici, l'uso dei prebiotici è più comodo. Secondo Gibson e Roberfroid [1995], un prebiotico è un ingrediente alimentare non digeribile che influisce positivamente sull'ospite stimolando selettivamente la crescita e / o l'attività di uno o un numero limitato di batteri nel colon, che hanno il potenziale per migliorare la salute dell'ospite. Gli oligosaccaridi non digeribili che vengono fermentati nel colon, sono ora il gruppo di prebiotici più popolare [Tomomatsu, 1994; Alander et al., 2001] ma altri carboidrati sembrano avere un potenziale prebiotico. Gli alginati, che sono ampiamente usati nell'industria alimentare, e RS possono anche essere utili come prebiotici [Bird et al., 2000]. I dati mostrano che RS2 e RS4 hanno il potenziale per agire come prebiotici. Altri studi supportano l'azione prebiotica del RS e che l'effetto varia con il tipo di amido nella dieta. Kleessen et al. [1997]

Fisiologia delle cellule epitaliali

Prove suggeriscono che la dieta svolge un ruolo significativo nell'eziologia del cancro del colon-retto. Le cellule della mucosa del colon sono sotto costante, ma a basso livello di stress genotossico. Normalmente tale danno viene riparato, ma qualsiasi fattore che influenza l'integrità del processo di riparazione è importante per determinare il rischio di cancro. I geni di riparazione di disfunzione (mismatch) del DNA, se inattivati, tendono a provocare cellule della mucosa del colon-retto che accumulano mutazioni addizionali ad un tasso più alto, aumentando potenzialmente la loro capacità di trasformazione maligna [Boland, 1996]. Gli scienziati sono alla ricerca di componenti dietetici che modulino la microflora intestinale e le sue attività e quindi possano influenzare il cancro del colon-retto, per es. probiotici, prebiotici e fibre. Più di 500 composti dietetici sono stati identificati come potenziali modificatori del cancro. L'ipotesi che la fibra possa ridurre il rischio di cancro, specialmente nel colon, è stata argomento di discussione per oltre un quarto di secolo. Non tutte le fonti di fibre sono equivalenti nella loro capacità di allertare il rischio di cancro [Milner, 2002]. Alcune osservazioni suggeriscono che l'amido resistente ha un impatto positivo sulla salute del colon aumentando il tasso di produzione delle cellule di cripta, o diminuendo l'atrofia epiteliale del colon rispetto alle diete senza fibre. È stato indicato che l'amido resistente influenza la tumorigenesi [Haralampu, 2000]. La relazione tra dieta, microflora e tumore del colon-retto è complessa e intima. Le sostanze che entrano nel colon dall'ileo e la microflora residente sono i principali determinanti della fisiologia del colon.

Un nuovo aspetto della definizione di fibra alimentare

Nell'ultimo decennio, gli oligosaccaridi non digeribili (NDO) e l'amido resistente (RS) sono stati riconosciuti principalmente come componenti separati o talvolta come componenti di fibre alimentari, in base al loro comportamento fisiologico. Recentemente la definizione delle fibre alimentari è stata

presa sotto la supervisione dello Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes inizialmente dall'American Association of Cereal Chemists [AACC Report, 2001] e poi dal Food and Nutrition Board of the Institute of Health [Anonymous, 2001]. Le definizioni raffinate di fibra alimentare sono proposte come segue.

American Association of Cereal Chemists [AACC Report, 2001] definizione: "Le fibre alimentari sono le parti commestibili delle piante o carboidrati analoghi che sono resistenti alla digestione e all'assorbimento nell'intestino tenue umano con fermentazione completa o parziale nell'intestino crasso. La fibra alimentare comprende polisaccaridi, oligosaccaridi, lignina e sostanze vegetali associate. Le fibre alimentari promuovono effetti fisiologici benefici, tra cui effetti lassativi e / o l'attenuazione del colesterolo nel sangue e / o l'attenuazione del glucosio nel sangue. Food and Nutrition Board of the Institute of Health [Anonymous, 2001] definizione:" La fibra alimentare è costituita da carboidrati e lignina non digeribili che sono intrinseche e intatte nelle piante. La fibra aggiunta è costituita da carboidrati isolati e non digeribili che hanno effetti fisiologici benefici nell'uomo. La fibra totale è la somma delle fibre alimentari e delle fibre aggiunte. "

L'amido resistente è considerato una parte della fibra alimentare secondo una nuova definizione proposta.

Letteratura citata

1. Englyst H.N., Kingman S.M., Cummings J.H., Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1992 46 (Suppl. 2), S33–S50.
2. Brown I., Complex carbohydrates and resistant starch. *Nutr. Rev.*, 1996 54, S115–S119.
3. Eerlingen R.C., Delcour A., Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *J. Cereal Sci.*, 1995 22, 129–138.
4. Haralampu S.G., Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carboh. Polym.*, 2000 41, 285–292.
5. Maria Soral-Œmietana, Ma³gorzata Wronkowska RESISTANT STARCH – NUTRITIONAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2004, Vol. 13/54, SI 1, pp. 51–64
6. Faisant N., Champ M., Colonna P., Buleon A., Molis C., Langkilde A.M., Schweizer T., Flourie B., Galmiche J.P., Structural features of resistant starch at end of the human small intestine. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1993a 47, 285–296.
7. Asp N-G., van Amelsvoort J.M.M., Hautvast J.G.A.J., Nutritional implications of resistant starch. *Nutr. Res. Rev.*, 1996 9, 1–31.
8. Björck I., Nyman M., Pedersen B., Siljeström M., Asp N-G., Eggum B.O., On the digestibility of starch in wheat bread – studies in vitro and in vivo. *J. Cereal Sci.*, 1986 64, 1–11.

9. Behall K.M., Howe J.C., Contribution of fibre and resistant starch to metabolizable energy. *Am. J. Clinic. Nutr.*, 1995 62 (Suppl.), 1158–1160.
10. Heijnen M-L.A., Beynen A.C., Consumption of retrograded (RS3) but not uncooked (RS2) resistant starch shifts nitrogen excretion from urine to feces in cannulated piglets. *J. Nutr.*, 1997 127, 1828–1832.
11. Wronkowska M., Soral-Ćmietana M., Bielecka M., Biedrzycka E., Physically modified wheat or potato starches, their physico-chemical properties and metabolism by bifidobacteria. *Żywność*, 2002 a 9 (Suppl 4/33), 74–83.
12. Kim W.O., 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.
13. V. Klose, K. Bayer, R. Bruckbeck, G. Schatzmayr, A.P. Loibner ***In vitro* antagonistic activities of animal intestinal strains against swine-associated pathogens** *Veterinary Microbiol*, 144 (2010) pp. 515-521
14. M.T. Sørensen, E.-M. Vestergaard, S.K. Jensen, C. Lauridsen, S. Højsgaard **Performance and diarrhoea in piglets following weaning at seven weeks of age: challenge with *E. coli* O 149 and effect of dietary factors** *Livest Sci*, 123 (2009) pp. 314-321
15. E.A. Magee, C.J. Richardson, R. Hughes, J.H. Cummings **Contribution of dietary protein to sulfide production in the large intestine: an *in vitro* and a controlled feeding study in humans** *Am J Clin Nutr*, 72 (2000) p. 1488
16. C. Mu, Y. Yang, Z. Luo, L. Guan, W. Zhu **The colonic microbiome and epithelial transcriptome are altered in rats fed a high-protein diet compared with a normal-protein diet** *J Nutr*, 146 (2016)
17. B.U. Metzler-Zebeli, S. Hooda, R. Pieper, R.T. Zijlstra, A.G. van Kessel, R. Mosenthin, *et al.* **Nonstarch polysaccharides modulate bacterial microbiota, pathways for butyrate production, and abundance of pathogenic *Escherichia coli* in the pig gastrointestinal tract** *Appl Environ Microbiol*, 76 (2010) pp. 3692-3701
18. R. Pieper, S. Kröger, J.F. Richter, J. Wang, L. Martin, J. Bindelle, *et al.* **Fermentable fiber ameliorates fermentable protein-induced changes in microbial ecology, but not the mucosal response, in the colon of piglets** *J Nutr*, 142 (2012) pp. 661-667
19. Raben A., Tagliabue A., Christensen N.J., Madsen J., Holst J.J., Astrup A., Resistant starch: the effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety. *Am. J. Clinic. Nutr.*, 1994 60, 544–551.

20. Heijnen M-L.A., Deurenberg P., van Amelsvoort J.M.M., Beynen A.C., Replacement of digestible by resistant starch lowers diet-induced thermogenesis in healthy men. *Brit. J. Nutr.*, 1995 73, 423–432.
21. Robertson MD Currie JM Morgan LM Jewell DP Frayn KN Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects *Diabetologia* 2003 46:659–65.
22. Tarini J Wolever TM The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2010 35:9–16.
23. Higgins JA Resistant starch: metabolic effects and potential health benefits *J AOAC Int.* 2004 87:761–8.
24. Ferrannini E Barrett EJ Bevilacqua S DeFronzo RA Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man *J Clin Invest.* 1983 72:1737–47.
25. Cusi K Kashyap S Gastaldelli A Bajaj M Cersosimo E, Effects on insulin secretion and insulin action of a 48-h reduction of plasma free fatty acids with acipimox in nondiabetic subjects genetically predisposed to type 2 diabetes *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007 292:E1775–81.
26. Lopez H.W., Levrat-Verny M-A., Coudray Ch., Besson C., Krespine V., Messager A., Demigne Ch., Remesy Ch., Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J. Nutr.*, 2001 131, 1283–1289.
27. Brouns F., Kettlitz B., Arrigoni E., Resistant starch and “the butyrate revolution”. *Trends Food Sci. Technol.*, 2002 13, 251–261.
28. Englyst H.N., Macfarlane G.T., Breakdown of resistant and readily digestible starch by human gut bacteria. *J. Sci. Food Agric.*, 1986 37, 699–703.
29. Cummings J.H., Englyst H.N., Measurement of starch fermentation in the human large intestine. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1987 45, 1243–1255.
30. Cummings J.H., Beatty E.R., Kingman S.M., Bingham S.A., Englyst H.N., Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. *Brit. J. Nutr.*, 1996 75, 733–747.
31. Montagne L., Pluske J.R., Hampson D.J., A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003 108, 95–117.
32. Stephen A.M., Increasing complex carbohydrate in the diet: are the benefits due to starch fibre or decreased fat intake? *Food Res. Inter.*, 1994 27, 69–75.
33. Todesco T., Venkeshwer R., Bosello O., Jenkins D.J.A., Propionate lowers blood glucose and alters lipid metabolism in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991 54, 860–865.

34. Anderson J.W., Bridges S.R., Short-chain fatty acid fermentation products of plant fibre affect glucose metabolism of isolated rat hepatocytes. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1984 177, 372–376.
35. Venter C.S., Vorster H.H., Cummings J.H., Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid metabolism in man. *Am. J. Gastroenterology*, 1990 85, 549–552.
36. Avivi-Green C., Polak-Charcon S., Madar Z., Schwartz B., Apoptosis cascade proteins are regulated in vivo by high intracolonic butyrate concentration: correlation with colon cancer inhibition. *Oncology Res.*, 2000 12, 83–95.
37. Heerdt B.G., Houston M.A., Anthony G.M., Augenlicht L.H., Initiation of growth arrest and apoptosis of MCF-7 mammary carcinoma cells by tributyrin, a triglyceride analogue of the short-chain fatty acid butyrate, is associated with mitochondrial activity. *Cancer Res.*, 1999 59, 1584–1591.
38. Ellerhorst J., Nguyen T., Cooper D.N.W., Estroy Y., Lotan D., Lotan R., Induction of differentiation and apoptosis in the prostate cancer cell line LNCaP by sodium butyrate and galectin-1. *Inter. J. Oncology*, 1999 14, 225–232.
39. Tatidis L., Vitols S., Gruber A., Paul Ch., Axelson M., Cholesterol catabolism in patients with acute myelogenous leukemia and hypocholesterolemia: suppressed levels of a circulating marker for bile acid synthesis. *Cancer Lett.*, 2001 170, 169–175.
40. Lopez H.W., Levrat-Verny M-A., Coudray Ch., Besson C., Krespine V., Messenger A., Demigne Ch., Remesy Ch., Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J. Nutr.*, 2001 131, 1283–1289.
41. Younes H., Levrat M-A., Demigné Ch., Rémésy Ch., Resistant starch is more effective than cholesteramine as a lipid – lowering agent in the rat. *Lipids*, 1995 30, 847–853.
42. Fernandez M.L., Suheeta Roy, Vergara-Jimenez M., Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *Nutrition Res.*, 2000 20, 837–849.
43. Alander M., Mättö J., Kneifel W., Johansson M., Kögler B., Crittenden R., Mattila-Sandholm T., Saarela M., Effect of galacto-oligosaccharide supplementation on human faecal microflora and on survival and persistence of *Bifidobacterium lactis* Bb-12 in the gastrointestinal tract. *Int. Dairy J.*, 2001 11, 817–825.
44. Tomomatsu H., Healthy effects of oligosaccharides. *Food Technol.*, 1994 10, 61–65.
45. Gibson G.R., Roberfroid M.B., Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 1995, 125, 1401–1412.
46. Lee J.H. Lee S.K., Park K.H., Hwang I.K., Ji G.E., Fermentation of rice using amylolytic *Bifidobacterium*. *Int. J. Food Microbol.*, 1999,50, 155–161.

47. Bird A.R., Brown I.L., Topping D.L., Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, 2000, 1, 25–37.
48. Kleessen B., Stoof G., Proll J., Schmiedl D., Noack J., Blaut M., Feeding resistant starch affects fecal and cecal microflora and short-chain fatty acids in rats. *J. Anim. Sci.*, 1997, 75, 2453–2462.
49. Boland C.R., Roles of the DNA mismatch repair genes in colorectal tumorigenesis. *Int. J. Cancer*, 1996, 69, 47–49.
50. Milner J.A., Strategies of cancer prevention: the role of diet. *Brit. J. Nutr.*, 2002, 87, 265–272.
51. .AACC Report, The definition of dietary fibre. *Cereal Foods World*, 2001, 46, 112–126.
52. Anonymous, Proposed definition of Dietary Fibre. 2001, in: *Dietary Reference Intakes: Proposed Definition of Dietary Fiber*, National Academy Press, Washington, D.C., pp. 22–25.