



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för molekylära vetenskaper

# Vassleproteiner – en värdefull restprodukt från ostframställning

*Whey proteins – a valuable byproduct from cheese  
manufacturing*

Joelsson, Erica



# Vassleproteiner – en värdefull restprodukt från ostframställning

*Whey proteins – a valuable byproduct from cheese manufacturing*

Joelsson, Erica

**Handledare:** Johansson, Monica, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för molekylära vetenskaper  
**Examinator:** Lundh, Åse, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för molekylära vetenskaper

**Omfattning:** 15 hp  
**Nivå och fördjupning:** Grundnivå, G2E  
**Kurstitel:** Självständigt arbete i livsmedelsvetenskap - kandidatarbete  
**Kursansvarig inst.:** Institutionen för molekylära vetenskaper  
**Kurskod:** EX0669  
**Program/utbildning:** Agronomprogrammet-Livsmedel

**Utgivningsort:** Uppsala  
**Utgivningsår:** 2019  
**Serietitel:** Molekylära vetenskaper  
**Delnummer i serien:** 2019:16  
**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Whey protein, metabolic disease, diabetes, overweight, milk allergy

## **Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap  
Institutionen för molekylära vetenskaper



## Sammanfattning

För att framställa 1 kg ost går det åt cirka 10 L mjölk. Vassle är den största restprodukten från ostframställning och uppgår till 9 L per kilo producerad ostmassa. Tidigare har vassle inte ansetts ha något större värde i livsmedelssammanhang utan har använts som komponent i grisfoder och till att gödsla jordbruksmarker med. I vasslefraktionen finner man mjölkens lösliga proteiner, vilka utgör ca 20% av mjölkens totala proteininnehåll. Många epidemiologiska studier visar att vassleproteiner har främjande inverkan på några av de vanligaste sjukdomar som ingår i det metabola syndromet och som en stor del av befolkningen drabbas av. Ett intag av vassleproteiner tycks bland annat hämma uppkomst av Typ 2 diabetes genom att inverka på glukosstegring och inkretinhormonfrisättning. Därigenom skulle vassleproteiner kunna spela en viktig roll i kroppens processer för att vidhålla normala energinivåer genom att reducera aptit, matintag, kroppsvikt och fettinlagring hos överviktiga patienter. Studier visar även att genom introduktion av vasslehärledda peptider i tidig ålder främjades tolerans gentemot intakta vassleproteiner. En ökad tolerans minskar risken för akut allergi och utveckling av mjölkallergi.

*Nyckelord: Vassleprotein, metabola sjukdomar, diabetes, övervikt, mjölkallergi*

## Abstract

For production of one kilogram cheese, approximately 10 L of milk is required. The whey fraction makes up the greatest volume in cheese manufacturing and corresponds to quantities of 9 L whey per kilogram produced cheese. Whey contains the globular proteins of milk and whey proteins constitute approximately 20% of the total milk protein content. Results based on epidemiological studies suggest beneficial effects of the whey proteins on some of the most common human metabolic issues. Several studies suggest, that whey protein inhibit development of Typ 2 diabetes through improved regulation of glucose levels and incretin hormone release. By influencing incretin hormone release, whey proteins also play an important role in regulating energy levels of the body. This could be of interest in reducing appetite, food intake, weight and fat accumulation in obese people. Studies also show that by introducing whey protein peptides to young individuals diet, the tolerance for consumption of intact whey proteins increase and the risk to develop milk allergy decrease.

*Keywords: Whey protein, metabolic disease, diabetes, overweight, milk allergy*

# Innehållsförteckning

<b>Förkortningar</b>	<b>5</b>
<b>1 Inledning</b>	<b>6</b>
1.1 Mjök, vassle och vassleproteiner	6
<b>2 Metod</b>	<b>8</b>
<b>3 Litteraturstudie</b>	<b>9</b>
3.1 Mjökproteiner	9
3.2 Beta-laktoglobulin och alfa-laktalbumin hämmar uppkomst av metabolrelaterade sjukdomar som Typ 2 diabetes	11
3.3 Vassleproteiner reducerar dietinducerad fettinlagring	12
3.4 Vassleproteiner hämmar uppkomst av metabolrelaterade sjukdomar orsakade av feta dieter	13
3.5 Tidig introduktion av beta-laktoglobulin har hämmande inverkan på utveckling av mjökallergi	13
<b>4 Diskussion</b>	<b>16</b>
<b>5 Slutsats</b>	<b>21</b>
<b>Referenslista</b>	<b>23</b>





## Förkortningar

ALA	alfa-laktalbumin
APC	antigenpresenterande celler
BLG	beta-laktoglobulin
CCK	plasmakolecystokinin
CCP	kolloidalt calciumfosfat
DPP-IV	dipeptidylpeptidas 4
EE	endokrina celler
GIP	glukosberoende insulinotropisk polypeptid
GLP-1	glukagonliknande peptid 1
NAFLD	fettleversjukdom
OT	oral tolerans
PTEN	fosfatas
RQ	respiratoriskt kväve
T2DM	Typ 2 diabetes mellitus
Treg	regulatoriska T-celler
WPI	vassleprotein isolat

# 1 Inledning

## 1.1 Mjolk, vassle och vassleproteiner

Mjolk utsöndras via den sekretoriska vävnad som finns inneslutet i honans juverdelar hos däggdjur. Alla däggdjur har utvecklat samma strategi i samband med befruktning och födsel av avkomma. Laktationscykelns längd är individuell och varierar både inom och mellan arter. Den första mjölken som utsöndras kallas kolostrum eller råmjolk. Denna mjölken är extra näringstät i jämförelse med mjolk från laktationscykelns senare delar. Kolostrum är det första målet avkomman intar och den behöver därför vara extra näringsrik för att ungen ska växa och utvecklas i rätt takt. Råmjolk innehåller en större andel immunglobuliner, vilka spelar en viktig roll i avkommans immunförsvar. I samband med att avkomman blir äldre och börjar inta annan föda utöver mjolk, förändras mjölkens sammansättning. Detta då avkomman inte längre är lika beroende av enbart mjölken för sin överlevnad (Singh *et al.*, 2014).

Mjolk är ett komplext medium som till största del utgörs av vatten. Utöver vatten innehåller mjolk viktiga element som fett, protein, laktos, vitaminer och mineraler. Det innehåller också enzymer, tillväxtfaktorer, hormoner och antikroppar (Boland *et al.*, 2008).

En mycket viktig betingelse gällande mjölkutsöndring är tillförseln av essentiella aminosyror, samt kalcium och fosfor från modern till avkomman. Det här skapar förutsättningar för att upprätthålla en syntes av vävnad och organutveckling hos den unga individen. Proteinsyntes sker konstant, även hos vuxna individer, men hos unga individer är nysyntes av proteiner tre till fyra gånger så hög som hos en vuxen individ (Barth & Schlimme, 1989).

Mjölproduktion är inte bara viktigt för att livnära en avkomma; mjölk är också ett viktigt livsmedel. Mjölk är basen för många efterfrågade varor utöver konsumtionsmjölk, så som ost, grädde och smör.

Generellt går det åt 10 liter mjölk för att framställa ett kilo ost. Marknaden erbjuder idag ett brett utbud av ostar, vilka alla bidrar med unika smakupplevelser beroende på sammansättning och mognadsgrad. Trots att vi upplever stora variationer mellan olika ostar, har framställningsprincipen sett relativt lika ut för alla ostvarianter. Relationen mellan fett och protein är viktig vid ostframställning, och ystmjölkens standardiseras ofta avseende fetthalt. Kalciumklorid tillsätts mjölken för att stabilisera proteinnätverket som ju även ska inkorporera fett i osten och mängden kolloidalt kalcium ökar (Caldwell, 2012). Efter att denna standardisering är utförd värms mjölken upp till 32°C och önskad bakteriekultur tillsätts ystmjölkens för att främja smak och textur. Nästa steg i processen är att tillsätta löpe, vilket får mjölken att spontant koagulera och bilda en gel. Gelen bryts och beroende på temperatur och tillförsel av mekaniskt tryck, får man olika stor vassleavgång. Desto intensivare omrörning och finfördelning av gelen, desto större vassleavgång. Önskad vassleavgång beror på vilken ost man har som mål att framställa. Hos torrare och hårdare ostar önskas en större vassleavgång, medans hos mjukare ostar önskas mer vätska i ostmassan. Därefter pressas, saltas och formas ostarna efter önskemål och placeras för att mogna (Caldwell, 2012).

Traditionen att tillverka ost är ett av de äldsta kända sätten att framställa ett livsmedel. Till en början var ostframställning ett sätt att konservera mjölk och skapa förutsättningar att ha tillgång till näringsrika livsmedel även under vinterhalvåret. Traditionen att ysta mjölk är ett gammalt fenomen som kom till efter att man påträffat ystad mjölk i kalvens mage och det var på så sätt man började utforska enzymet chymosins roll i spjälkningen av mjölkprotein kasein (Nilsson & Werèn, 2002). Efter denna upptäckt har ost varit ett populärt livsmedel både i Sverige och globalt. Idag hittas diverse hård- och mjukostar på marknaden, vilka alla selektivt tagits fram för att ge önskad smak och textur (Caldwell, 2012).

I framställningen av ost skapas en stor restprodukt, vassle, som innehåller mjölkens globulära proteiner. Under lång tid har vassle inte ansetts ha någon större användningspotential som livsmedel utan använts som utfyllnadskomponent i grisfoder eller till att gödsla jordbruksmarker med. Syftet med rapporten är att finna belägg för att vassle har potential att användas i livsmedelssammanhang. Arbetet kommer fokusera på vassleproteiners inverkan på sjukdomar som ingår i det metabola syndromet och är vanligt förekommande hos människor. Detta görs genom en litteraturgenomgång av befintliga data kopplad till vassleproteiners effekt på människans hälsa.

## 2 Metod

Rapporten baseras på vetenskaplig information hämtad bland annat från Web of Science, Scopus, PubMed och Google Scholar. Utöver dessa webbplatser har även information från Livsmedelsverket och kompletterande böcker använts.

## 3 Litteraturstudie

### 3.1 Mjolkproteiner

I mjölk finns huvudsakligen två typer av proteiner, kaseiner och vassleproteiner. Kaseiner utgör 80% av proteininnehållet i mjölk och utgörs av en rad olika kaseintyper, såsom  $\alpha_{s1}$  kasein,  $\alpha_{s2}$  kasein,  $\beta$  kasein och  $\kappa$  kasein. Kaseiner förekommer i mjölk i komplex med kolloidalt kalciumfosfat (CCP). Kaseinerna är sammanfogade i så kallade miceller, vilket är kluster av kaseinkomplex (Walstra *et al.*, 2006). Micellerna varierar i storlek mellan 30–300 nm i diameter och har en molekylär vikt på mellan  $10^7$ - $10^9$ Da. Kaseinmicellerna hålls samman genom hydrofoba och elektrostatiske interaktioner mellan kaseiner, interaktioner med CCP och kalciumbryggor. Kaseinerna har stor betydelse för mjölkens stabilitet och är dessutom den komponent i mjölk som gör ostframställning möjlig (Rosenthal, 1991).

Mjolkproteiner har isoelektriska värden på pH 3,3–6,0. Genom att utsätta mjolkproteiner för större förändringar i pH eller temperatur undergår dessa strukturförändringar, vilka har stor inverkan på proteiners löslighet i mjölk. Kasein utgör grunden för en lyckad ostframställning, genom att skapa det nätverk som även inkorporerar fettkulorna och är direkt avgörande för ostutbytet (Rosenthal, 1991). Mjolkproteiner utgör i genomsnitt 3,4% av det totala mjölkinnehållet hos mjölk med en fetthalt på 4,2%. (Livsmedelsverket, 2018)

Micellernas inre består främst av  $\alpha$  kasein och  $\beta$  kasein som hålls samman med hjälp av interna interaktioner via kalciumfosfatet. På micellens utsida finns i större utsträckning  $\kappa$  kasein som utgör en hårliknande struktur på micellens yta. Då  $\kappa$  kaseinets yttersta del har en negativ laddning, bidrar detta till en repellerande förmåga mot andra miceller och micellen blir hydrofil. (Caldwell, 2012)

Det är genom tillsättning av löpe som kaseinmicellerna ändrar sin struktur och sitt utseende. Löpe innehåller enzymet chymosin, vilket naturligt påträffas i kalvmagar. Chymosin har förmåga att hydrolysera  $\kappa$  kaseinets yttersta, negativt laddade del och på så sätt blir micellen hydrofob. Det innebär att micellerna aggregerar och bildar en gel när micellernas repellerande förmåga upphör genom denna spjälkning. Genom att bryta gelen, tillföra värme och utsätta den för omrörning, inleds syneresen. Syneres innebär att vätska som finns inneslutet i gelen kan börja läcka ut, och kompakta ostkorn bildas. Vätskan som frisläpps har ett grumligt till gulaktigt utseende och kallas för serum eller vassle. (Caldwell, 2012).

I vassle finns vassleproteiner eller serumproteiner som utgör 20% av proteinerna i mjölk. Vassleproteiner är globulära proteiner och dessa återfinns i vätskefasen efter ostframställning. De vanligaste vassleproteinerna är:  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin och immunglobuliner.  $\alpha$ -lactalbumin och  $\beta$ -laktoglobulin förekommer i högst halter, och immunglobuliner förekommer normalt i mycket låga halter. Den enda gången immunglobuliner förekommer i större koncentrationer i mjölk är i kolostrum, där de spelar en viktig immunologisk roll för avkomman. Kalvar föds helt utan eget immunförsvar och det är därför viktigt att den får immunglobuliner tillförda via kolostum från modern. Vassleproteinerna är känsliga för upphettning och kan när de denaturerar ge upphov till smakavvikelse hos mjölk. Vassleproteiners laddning förändras genom upphettning, vilket påverkar deras löslighetsförmåga i mjölk. (Walstra *et al.*, 2006)

Mjölksproteiner har sedan länge varit kända för sina goda näringsmässiga egenskaper. Som tidigare nämnt används kaseiner i samband med ostframställning, medan vassleproteiner inte ansetts ha något större värde i livsmedelssammanhang. Med vassleproteinernas höga näringsvärde i åtanke har man under senare år försökt hitta användningsområden även för vassleproteinerna. Då man funnit att vassleproteiner har befrämjande inverkan på human hälsa (Korhonen, 2010) har det kommersiella värdet för vassle stigit kraftigt. De vassleproteiner som förekommer i mjölk varierar i mängd, och beror till stor del på var i laktationsperioden kon befunnit sig. Då vassleproteiner till största del utgörs av beta-laktoglobulin (BLG) och alfa-lactalbumin (ALA), har omfattande forskning främst utförts med sikte inställt på dessa proteiner (Korhonen, 2010).

### 3.2 Beta-laktoglobulin och alfa-laktalbumin hämmar uppkomst av metabolrelaterade sjukdomar som Typ 2 diabetes

Betydelsen av att hitta alternativa metoder för att behandla Typ 2 diabetes (T2DM) ska inte underskattas då det är den vanligaste diabetesformen och sjukdomen utgör en av de tio vanligaste dödsorsakerna i världen (Gillespie *et al.*, 2015). T2DM leder ofta till ett flertal komplikationer såsom hjärtsjukdom, stroke eller kärlförändringar i ögats näthinna, s.k. retinopati, vilket kostar samhället stora belopp årligen att behandla och förebygga. Kännetecknande för T2DM är höga blodsockernivåer, vilka kan reduceras med en hälsosam kost och ökad fysisk aktivitet för att upprätthålla normalt glykemiskt index. Individer som lider av T2DM finner det ofta svårt att följa och behålla dessa livsstilsförändringar över en längre tid, och det är inte ovanligt att patienter tvingas ta tillskott av läkemedel för att balansera sitt glykemiska index. Tyvärr tillstöter det ofta oönskade komplikationer och tillgängliga läkemedel för att reducera T2DM har ofta icke önskvärda biverkningar. Med det i åtanke har intresset för att finna livsmedel med medicinska egenskaper ökat (Gillespie *et al.*, 2015).

I resultat från tidigare epidemiologiska studier har det framkommit att konsumtion av mejeriprodukter är negativt korrelerat till uppkomst av metabola sjukdomar (McGregor & Poppitt, 2013). Studier beträffande vassleproteiners hämmande inverkan på utveckling av T2DM har väckt uppmärksamhet inom forskarvärlden. Shertzer *et al.* (2011) fann att intag av vassleproteiner reducerade uppkomsten av T2DM hos möss. Peptider som härrör från hydrolys av vassleproteiner har påvisats ha en reducerande inverkan på glukostegring (Drucker, 2006). Glukagonliknande peptid 1 (GLP-1) och glukosberoende insulinotropisk polypeptid (GIP) är två inkretinhormoner som finns naturligt i kroppen och härstammar från de enteroendokrina cellerna (EE) i tarmen. Både GLP-1 och GIP aktiveras av glukos och är viktiga signalsubstanser för reglering av kroppens blodglukosnivåer. När glukos påträffas sker en kedjereaktion där GLP-1 stimulerar frisättning av insulin, samt att GIP bromsar frisättning av glucagon. Denna betingelse minskar risken för att kroppens glukosnivå blir för hög och istället hålls den på en jämn och stabil nivå (Drucker, 2006). Med det här i åtanke utfördes en studie av en specifik cellinje, pGIP/Neo STC-1 (Gillespie *et al.*, 2015). Fokus hos studien låg på EE och deras förmåga att tillväxa och sekretera inkretinhormoner genom tillförsel av ALA och BLG. Gillespie *et al.*, (2015) fann att tillförsel av BLG gynnade celltillväxten mer i jämförelse med tillförsel av ALA. Det var främst vid lägre koncentrationer (0,3 – 2,5mg/ml) som BLG hade signifikant främjande inverkan på cellprofilering. Vid högre koncentrationer (5-10mg/ml) fanns ingen effekt på celltillväxten, jämfört med kontrollen. Genom tillförsel av ALA kunde man se en mindre förändring av

cellfrämjande tillväxtfaktorer (1,4-2,7mg/ml), dock var skillnaden inte signifikant. I studien fann forskarna att både ALA och BLG hade en signifikant positiv inverkan på GLP-1 sekretion, i jämförelse mot kontrollen. När det gällde frisättning av GIP observerades en mindre positiv inverkan för både ALA och BLG, däremot var skillnaden inte signifikant (Gillespie *et al.*, 2015).

Flatt *et al.*, (2008) studerade hur BLG och ALA via kosten påverkade effekten på dipeptidylpeptidas 4 (DPP-IV), vilket är ett enzym som har till uppgift att klyva peptider. Studien fann att aktiviteten hos DPP-IV minskar genom tillförsel på BLG och ALA. Genom att reducera aktiviteten hos DPP-IV och dess möjlighet att klyva peptider, möjliggörs en högre nivå av inkretinhormoner. En ökning i nivåerna av inkretinhormoner möjliggör en ökad signalering av glukosreglerande mekanismer. Detta är en viktig upptäckt då T2DM patienter har brist på inkretinhormonet GLP-1, vilket medför störningar kopplat till glukosreglering (Flatt *et al.*, 2008).

### 3.3 Vassleproteiner reducerar dietinducerad fettinlagring

Shertzer *et al.* (2011) och Bowen *et al.* (2006) fann att vassleproteiner hämmade uppkomsten av dietinducerad fettinlagring och därmed bidrog till att upprätthålla en normal kroppsvikt hos människor. I en studie av Hall *et al.*, (2003) fann man att vassleprotein hade en reducerande inverkan på aptiten hos patienter med övervikt. Forskning gällande vassleproteiner behöver dock vara mer specifik kring relationen mellan vassle och andra kostkomponenter (Zhou *et al.*, 2011).

I en studie utförd på råttor användes tre olika dieter under en tio veckors period för att studera vassleproteiners inverkan på kroppsfettsinlagring och matintag (Zhou *et al.*, 2011). Genom att studera skillnader i matintag, kroppsvikt, fettinlagring och metabolism (respiratoriskt kväve, RQ), hoppades man få en bättre förståelse för vasslets inverkan på mättnad och matintag. Zhou *et al.*, (2011) studerade förändringar i utsöndring av hormoner som är starkt kopplade till mättnad och aptit. Därav uppmättes plasmakoncentrationer av GLP-1, peptid YY, leptin och plasmakolecystokinin (CCK). I studien jämfördes två dieter med högt (38%) respektive en diet med lågt (14%) proteininnehåll avseende inverkan på matintag och fettinlagring. Resultaten sammanställdes för att värdera de olika utfallen. Äggalbumin utgjorde grunden (14%) i alla tre grupperna, och svarade för lågproteinkategorin. Hos resterande två högproteinkategorier tillsattes utöver äggalbumin 24% proteinsubstitut, med ursprung från antingen vassle eller soja (Zhou *et al.*, 2011). Resultaten visade att högproteingrupperna uppvisade lägre kroppsvikt, minskad fettinlagring, reducerad RQ-kvot och reducerad aptit. Hormonförekomsten i insamlade blodprov visade att GLP-1 mängden var högre hos



dietgrupperna med högt proteininnehåll, men värdena för Peptid YY, leptin och CCK var likvärdiga mellan grupperna. (Zhou *et al.*, 2011). GLP-1 är ett viktigt inkterinhormon som är involverad i att stabilisera kroppens energibalans. Genom att stabilisera kroppens energinivå, inverkar GLP-1 också på hungerskänsla och matintag (Morais *et al.*, 2019).

### 3.4 Vassleproteiner hämmar uppkomst av metabolrelaterade sjukdomar orsakade av feta dieter

Den västerländska kosten är känd för hög energitäthet och hög förekomst av fett och oljor. I ett samhälle där stillasittande yrken dominerar och energiintagen är överdrivna i relation till hur mycket som förbrukas, har västvärldens stillasittande kultur lett till metabolrelaterade hälsoåkommor. Åkommor förknippade med den västerländska kulturen är fetma, fettleversjukdom (NAFLD), T2DM, samt hjärt- och kärlsjukdomar. Metabolrelaterade sjukdomar är ofta starten för tidig utveckling av övervikt, vilket ger upphov till fetma i tidig ålder (Shertzer *et al.*, 2011).

Genom livsstilsförändringar, reducerat energiintag och regelbunden motion förbättras förutsättningarna för en viktreducering. I studier har man funnit att ett proteintillskott har viktreducerande egenskaper hos individer som lider av dåliga kostvanor (Zemel & Miller, 2004).

Genom att introducera vassleproteinisolat (WPI) till möss som matades med en fettrik diet studerades kroppsammansättning relaterat till utveckling av metabola sjukdomar. Studien genomfördes på två musgrupper, ena gruppen fick fettrik kost och den andra fick fettrik kost med tillsats av WPI (Shertzer *et al.*, 2011). Resultaten från studien visade att mössen som fått tillskott av WPI i sin kost, hade lägre kroppsvikt och mindre andel fett på kroppen, samt större kroppsmassa. Resultaten från studien var konsekventa och mössen som fick tillskott av WPI i kosten uppvisade högre metabolisk aktivitet och respiratoriska kvoter. Leverprover togs för respektive grupp, där möss utfodrade med WPI uppvisade signifikant mindre fettinlagring hos levern. Studien fann även att WPI i dieten främjade glukostolerans och insulinkänslighet. Resultatet påvisar att intag WPI kan ha positiva effekter genom att förbättra blodfetter och glukos känslighet, vilket bromsar utveckling av följsjukdomar kopplade till metabola obalanser (Shertzer *et al.*, 2011).

### 3.5 Tidig introducering av beta-laktoglobulin har hämmande inverkan på utveckling av mjölkallergi

Mjölkallergi är en åkomma som inte är ovanligt förekommande hos spädbarn och medför en ökad risk att utveckla andra allergiska reaktioner (Kostadinova *et al.*,

2017). Immunoglobulin E-medierade matallergier hör till de vanligaste utlösarna av plötslig anafylaktiskt chock, s.k. anafylaxi, och inträder som regel under de fem första levnadsåren. Under senare år har det noterats en uppåtgående trend av patienter som uppvisar mjölkallergi, där symptomen aldrig avtar. För dessa patienter rekommenderas idag att undvika symtomframkallande livsmedel. Både kasein och vassleproteiner kan utlösa mjölkallergi. I vasslefraktionen är det främst BLG som är kopplat till utlösandet av en allergisk reaktion (Kostadinova *et al.*, 2017).

Det är viktigt att introducera antigen, såsom vassleprotein, så tidigt som möjligt i kosten för att undvika utveckling av allergi. Mycket forskning idag beträffande mjölkallergi inriktar sig på oral tolerans (OT), då man funnit att OT visar störst framgång för att undvika utveckling av allergi mot specifika allergener (Kostadinova *et al.*, 2017). I en studie av Lindholm (2013) påvisades att tillförsel av intakt BLG protein, i kombination med specifika BLG peptider, minskade känsligheten för intakt BLG hos mottagaren. Genom att introducera antigenpresenterande celler (APC) för matspjälkingssystemet sker en flerstegsprocess som är direkt kopplad till tolerans för en viss allergen (Kostadinova *et al.*, 2017). Dendritiska celler (DC) i tarmslemhinnan plockar upp antigener och presenterar antigenet för s.k T-celler. Det är T-cellerna som i sin tur drar igång en immunrespons, via aktivering av Tregs, vilka är specialicerade T-celler som utsöndrar immunregulatoriska cytokiner. Tregs har till uppgift att stoppa eller bromsa in immunförsvarets överreaktion mot ett antigen och utveckla tolerans. Det är genom upprepade tillförsel på APC som en nedreglering av det cellulära immunförsvaret uppstår och utveckling av tolerans mot ett antigen sker. Genom att studera DC och introducera specifika allergener, har betydelsefull kunskap kring allergialstrande mekanismer upptäckts. Patienter med en defekt Treg frekvens, uppvisar också en fenotyp med mycket kraftig matallergi (Kostadinova *et al.*, 2017).

I studien av Kostadinova *et al.* (2016) fann man att OT främjas genom att tillföra allergener tillsammans med kostfibrer. Denna introducering skapar en slags symbios i tarmen, vilket minskar risken för akut allergi. Kostadinova *et al.*, (2016) använde sig av icke smältbara långa och korta oligosackarider, samt tillsatte en probiotisk bakteriestam (*Bifidobacterium breve* M-16V). En probiotisk stam implementerades för att öka andelen bifidobakterier i tarmen, vilka är viktiga för att upprätthålla en god tarmfunktion. I tidigare forskning har spädbarn som lider av komjökallergi introducerats för en probiotisk stam, för att få en högre andel bifidobakterier i sin avföring (Burks *et al.*, 2015). Denna kombination ökade toleransen vid introducering av BLG-härledda peptider hos mottagaren (Kostadinova *et al.*, 2016).

Dessa upptäckter ledde fram till en senare studie av Kostadinova *et al.*, (2017), där fyra peptider (18-AA) härledda från BLG testades. Dessa intogs i kombination med en diet bestående av icke smältbara oligosackarider samt tillsatt probiotisk bakteriestam (*Bifidobacterium breve* M-16V). Kostadinova *et al.*, (2017) studerade om denna introducering hade en positiv inverkan på tolerans gentemot intakta vassleproteiner. En mjölkfri diet användes som kontroldiet. Studien utfördes på tre veckor gamla möss. Mössen matades med de symbiotiska komponenterna i nio dagar, därefter följde sex dagar där BLG-peptider introducerades i kosten. Nästa steg i studien var att ge mössen intakta vassleproteiner och registrera akuta allergisk reaktion. Studien visade att en kost bestående av en blandning av BLG peptider, i kombination med oligosackariderna och den probiotiska stammen, förminskade det allergiska gensvaret gentemot intakta vassleproteiner. Forskarna fann en kraftig skillnad mellan gruppen som introducerats för peptiderna före intag av intakta vassleproteiner, i jämförelse med gruppen som fick intakta vassleproteiner utan introducering. Uppvisan av akut allergi var mycket kraftigare hos den icke introducerade gruppen, än hos gruppen som introducerats. Denna upptäckt gör det möjligt att skraddarsy framgångsrika alternativ för att främja uppkomst av mjölkallergi (Kostadinova *et al.*, 2017).

## 4 Diskussion

EE är en av fyra epitelcelltyper som utgör de yttersta cellskikten i magtarmkanalen (Beucher *et al.*, 2012). Studier av EE bidrar till viktig kunskap om T2DM och dess behandling. Genom forskning vet man att en ökad cellprofilering och ökad utsöndring av inkretinhormoner förhöjer signalering för att reducera kroppens glukosnivåer. Patienter med T2DM saknar en korrekt frisättning av insulin när glukosnivåerna i blodet stiger. Detta har medfört att intresset för att hitta komponenter som kan hjälpa till och behandla T2DM patienter att fått mycket uppmärksamhet (Gillespie *et al.*, 2015).

I tidigare forskning har man visat att EE profilering och utsöndring av inkretinhormoner i större utsträckning gynnas av en mer varierad kost istället för mer enkelsidiga dieter (Habib *et al.*, 2012). Därtill har tidigare forskning sett en ökad cellprofilering och främst antydning till ökad frisättning av inkretinhormonet GLP-1 via en kost med större andel korta fettsyror (Petersen *et al.*, 2014).

Då vassleproteiner verkar ha inverkan på EEs cellproliferering och utsöndring av inkretinhormoner har intresset för vassle i metabolrelaterade sammanhang ökat. I studien av Gillespie *et al.* (2015) inriktade man sig på intakta vassleproteiner. Gillespie *et al.* (2015) tittade på hur BLG och ALA påverkade EE celler och deras förmåga att tillväxa och utsöndra inkretinhormoner. I studien användes en specifik cellinje (pGIP/Neo STC-1), vilket är en celltyp som utsöndrar både inkretinhormonerna GLP-1 och GIP. Efter fullföljd studie kunde Gillespie *et al.* (2015) säkerställa att ett lägre tillskott av vassleproteiner hade en positiv inverkan på celltillväxt, samt förmåga att stimulera sekretion av inkretinhormoner. Studien fann att BLG främst påverkade celltillväxt och hade inverkan på GLP-1 sekretion, men mindre inverkan på GIP sekretion. Resultaten överrensstämmer med resultaten i en studie av Mahmud *et al.* (2004), i vilken forskarna kom fram till ett likvärdigt resultat gällande BLGs inverkan i tarmen. Troligen förklarar resultaten av BLGs naturligt hydrofoba egenskaper och förmåga att binda och verka som bärare av mindre molekyler, exempelvis vitamin A, för vidare transport och upptag i

magtarmkanalen (Kontopidis *et al.*, 2004). GIP-frisättning har i tidigare studier funnits vara kopplad till en diet rik på fett och kolhydrater (Rafferty *et al.*, 2011). Gillespie *et al.*, (2015) fann att vid 0,3-2,5mg/ml tillsatt BLG ökade cellprofileringen, medan vid högre koncentrationer 5-10mg/ml gick denna ökning förlorad. Däremot fann de att ALA inte visade någon större inverkan på celltillväxt, utan istället ökade mängden intracellulärt GLP-1. Störst inverkan uppvisades vid tillsatt 5-10ml/mg ALA. Mekanismerna bakom ALAs och BLGs effekt på inkretinutsöndring är relativt okända, men man har kommit fram till att ALA och BLG tycks ha en samverkande funktion. Genom en ökad cellprofilering ökar också stimulansen av GLP-1 frisättning, vilket i sin tur medför snabbare membranbundna transporter. Dessa upptäckter är viktiga då patienter som lider av ämnesomsättningssjukdomar har problem att producera och transportera signalsubstanser i kroppen, vilket resulterar i metabola störningar såsom T2DM (Chen *et al.*, 2012).

I tidigare studier där man tittat på vassleproteiners inverkan på T2DM, har man funnit att hydrolysat av vassleproteiner varit mest effektiva i att hämma aktiviteten hos DPP-IV (Nongonierma & FitzGerald, 2013; Lacroix & Li-chang, 2013). I studien av Gillespie *et al.* (2015) visar resultaten att intakta BLG och ALA reducerar aktiviteten hos DPP-IV. Dessa upptäckter kan vara till stor nytta på vägen till att finna skraddarsydda ingredienser för reducerad uppkomst av T2DM.

Matintag och inlagring av fett är en uppmärksammas fråga och det har undersökts hur tillskott som vassleprotein påverkar dessa faktorer. I studien av Zhou *et al.* (2011) fann de att dieter med hög proteinkvot hämmade viktuppgång, hämmade kroppsfettinlagring och reducerade RQ kvoten. Dessa resultat jämfördes mot en lågprotein diet. Vassleprotein visades vara den effektivaste dieten i att reducera RQ värdet och förlusten på kväve. Tidigare forskning har visat att vassleproteiner har en dämpande inverkan på aptit, och därmed skulle kunna användas som komplement för att reducera aptit hos överviktiga (Hall *et al.*, 2003). Att generellt säga att dieter bestående av högt proteininnehåll har dämpande inverkan på aptit stämmer inte, då studien av Zhou *et al.* (2011) utgjordes av två högprotein-dieter med olika utfall. Aptitreduktionen tros sannolikt förklaras av vassleproteinets sammansättning. Vassleprotein är rikt på leucin, vilken är en aminosyra som snabbt kan plockas upp av kroppen och förs via blodet till hypotalamus och reducerar indirekt matintaget (Morrison *et al.*, 2007).

I studien av Zhou *et al.* (2011) kunde man inte se någon signifikant skillnad mellan dieterna kopplat till plasmakoncentration av GLP-1, leptin, CCK och peptid YY. Motsägande resultat har presenterats i Hall *et al.* (2003). Däremot fann de i studien

av Zhou *et al.* (2011) att den totala GLP-1 mängden var högre hos grupperna som fått en proteinrik diet, i jämförelse mot gruppen som fått en mindre proteinrik diet. Forskarna såg stegring av GLP-1 för båda grupper som fått högprotein diet, men det skedde vid olika tidpunkter och var inte korrelerat till ett minskat matintag för båda grupperna. Det är känt från tidigare studier att GLP-1 stegring i blodet är starkt associerat till minskande glukosvariationer och inte lika starkt till reducerat matintag (Veldholst *et al.*, 2009). Därtill har man i tidigare studier även funnit att högre koncentrationer av GLP-1 i blodet bidrar till en högre fettoxidation (Lejeune *et al.*, 2006). Det här understöder att dieter bestående av högre andel protein kan hjälpa patienter att reducera inlagring av kroppsfett och bidra till positiva hälsoeffekter kopplade till viktneidgång.

Energitäta dieter i kombination med otillräcklig motion är ofta grunden till utveckling av metabolrelaterade sjukdomar. Tidiga signaler på obalans i matspjälkningsystemet är ofta insulinresistens, förhöjda blodfetter och fettlever. Alla nämnda är förstadier till utvecklingen av permanenta sjukdomstillstånd och fungerar som markörer för utveckling av T2DM och NAFLD. Det finns en stark koppling mellan dessa sjukdomstillstånd och det är väldigt ofta som det ena tillståndet leder till det andra (Medina *et al.*, 2004; Younossi *et al.*, 2004). Ofta uppkommer symptom för insulinresistens i skelettmuskulatur och omkringliggande vävnad relativt tidigt, men det är först när det skapats en inflammation i vävnaden som det sker en reducering av aktivitet i bukspottkörtelns  $\beta$ -celler. När detta inträffar bromsas kroppens egen insulinproduktion vilket leder till att blodets glukos- och fettvärden stiger (Robertson *et al.*, 2004). Obalans i utsöndring av insulin leder till minskad aktivitet hos enzymet lipas, vilket har till uppgift att spjälka triglycerider. Människans fettreserver utgörs till stor del av triglycerider och är en viktig energireserv i kroppen (Carmen & Victor, 2006). Obalans i kroppens förmåga att bryta ned fett ökar risken för att utveckla hjärt- och kärlsjukdomar i förtid (Adiels *et al.*, 2007).

För att bättre förstå mekanismen bakom insulinresistens har man studerat ett specifikt enzym (PTEN), vilket är det protein som reglerar signalöverföring mellan celler. Man har funnit att PTEN mister sin funktion hos individer med insulinresistens och PTEN fungerar idag som en markör (Peyrou *et al.*, 2010).

Att kosten har en stark koppling till utveckling av insulinresistens är känt sen tidigare. Kostens potential att förebygga metabola störningar behöver utvecklas för förbättring av hälsan. En kost som innehåller en större andel protein har en mättande inverkan samt ett lägre energiinnehåll, i jämförelse med dieter innehållande mycket fett.

Detta gör proteintillskott till en intressant behandlingsform för patienter som lider av övervikt (Van Milgen *et al.*, 2001). Dock är det inte alla proteiner som reducerar övervikt (Hodgson *et al.*, 2010). Vassleproteiner har uppvisat reducerande effekt på övervikt och insulinresistens (Belobrajdic *et al.*, 2004), och i studier reducerat leverfetma hos möss som ätit en diet med höga nivåer kolesterol (Nagaoka *et al.*, 1991). Vassleproteiner utgörs till stor del av grenade aminosyror, vilka i människor verkar blodsockersänkande (Petersen *et al.*, 2009).

Möss som utfodrades med en diet med högt fettinnehåll, samt ett tillskott på WPI uppvisade en högre respiration. Detta kan förklaras med reducerad förekomst av NO, vilka skapar kedjereaktioner som sänker cellernas respiratoriska förmåga (Mantena *et al.*, 2009). Denna inbromsning leder till en ökad mängd inflammatoriska komponenter, och bortforslingen av dessa sker långsammare (Ozaki *et al.*, 2010).

I studien av Shertzer *et al.* (2011) visade sig vassleproteintillskott ha inverkan på flera parametrar kopplade till övervikt, insulinresistens och fettlever. Vassleproteinerna bidrog till en förhöjning av den basala metabolismen och därmed ökade även kroppens syreåtgång. Den förhöjda metabolismen bidrog till att kroppen inte uppnådde samma effektivitet vid upptag av tillförda näringsämnen. Studien visade dock inte vilka substanser som kan vara orsaken för den försämrade effektiviteten (Shertzer *et al.*, 2011). En förhöjd basal metabolism och försämrad upptagningsförmåga kan vara en intressant behandlingsform för patienter som lider av övervikt.

Vad gäller att öka OT genom att tillföra BLG härledda peptider i tidig ålder och minska överreaktion mot intakta vassleproteiner och utveckling av mjölkallergi, har studien av Kostadinova *et al.* (2017) bidragit till en ökad förståelse. Strategin som studien använder sig av minskar risken att utveckla överreaktion och visar även hur viktigt det är att upprätta en symbios i tarmen vid introducering av BLG härledda peptider. Genom att tillföra en väl balanserad kost tillsammans med BLG peptider, dämpades den allergiska reaktionen genemot intakta vassleproteiner. Denna introducering av en blandkost möjliggör en främjad aktivering av kroppens Tregs och minskar uppvisan av akut allergi (Kostadinova *et al.*, 2017). Liknande resultat har visats i studier gällande ökad OT och minskad uppvisan av mjölkallergi, genom tillförelse av symbiotiska faktorer (Kostadinova *et al.*, 2016). Svårigheten att tillföra rätt kostfibrer är känd sedan tidigare, eftersom tarmfloras sammansättning och aktivitet är beroende av vilka kostfibrer som tillförs (Tan *et al.*, 2014). Därtill producerar olika bakterier olika slutprodukter i tarmen, vilket påverkar miljön i tarmen (Goverse *et al.*, 2017). Likaså visar en studie av Wawrzyniak *et al.* (2017) att en blandkost främjar epitelcellbarriären i tarmen. Generellt bidrog en noga

avvägd kost i försök med möss till ökad diversitet och bättre balans i kroppens Treg celler. Genom att tidigt introducera möss för en blandkost, uppvisade mössen när de senare utfodrades med intakta vassleproteiner, ett stabilare och frekventare påslag av Treg cellerna. Detta i jämförelse med möss som utfodrats med vassleproteiner utan att först ha blivit introducerade för blandkosten.



## 5 Slutsats

Syftet med uppsatsen var att finna belägg för att vassleproteiner har användningspotential som livsmedel för att hämma uppkomst av några vanliga metabola sjukdomar. Slutsatsen är att vassleprotein främjar sekretion av inkretinhormonet GLP-1, samt reducerar aktiviteten hos enzymet DPP-IV. Vassleproteinet BLG visar sig i studier främst vara kopplat till ökad cellprofilering. Inkretinhormonet GLP-1 är ett viktigt hormon för signalering av insulinfrisättning, samt viktig för upprätthållande av kroppens energibalans. Dessa upptäckter är viktiga i utformning av dieter för att reducera metabola störningar som T2DM, fetma och övervikt.

Genom introduktion av BLG härledda peptider i tidig ålder i studier minskade risken för överkänslighet gentemot intakta vassleprotein. Tillförsel av kostfibrer och en probiotisk bakteriestam underlättade introduceringen av BLG härledda peptider genom att upprätta en slags symbios i tarmen. Detta genom ett stabilare påslag av kroppens T regulatoriska celler, vilket ledde till ökad tolerans och mindre risk att utveckla mjölkallergi.



## Referenslista

- Adiels, M., Westerbacka, J., Soro-Paavonen, A., Häkkinen, A.M., Vehkavaara, S., Caslake, M. J., Packard, C., Olofsson, S. O., Yki-Järvinen, H., Taskinen, M.R., Borèn, J., (2007). Acute suppression of VLDL<sub>1</sub> secretion rate by insulin is associated with hepatic fat content and insulin resistance. *Diabetologia*. 50 (11), 2356–2365.
- Barth, C. A., & Schlimme, E., (1989). *Milk proteins: nutritional, clinical, functional and technological aspects*, in 1989 Darmstadt: Steinkopf. p. 37-45
- Belobrajdic, D. P., McIntosh, G. H., Owens, J. A., (2004). A high-whey-protein diet reduces body weight gain and alters insulin sensitivity relative to red meat in wistar rats. *Journal of nutrition*. [Online] 134 (6), 1454–1458.
- Beucher, A., Gjernes, E., Collin, C., Courtney, M., Meunier, A., Collombat, P., Gradwohl, G., Luque, R. M., (2012). The Homeodomain-Containing Transcription Factors Arx and Pax4 Control Enteroendocrine Subtype Specification in Mice. *PLoS ONE*. [Online] 7 (5), .
- Boland, M., Singh, H., Thompson, A., (2009). *Milk proteins from expression to food*. Amsterdam :: Academic Press/Elsevier. Chapter 2
- Bowen, J., Noakes, M., Trenerry, C., Clifton, P. M., (2006). Energy intake, ghrelin, and cholecystokinin after different carbohydrate and protein preloads in overweight men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. [Online] 91 (4), 1477–1483.
- Burks W, A., Harthoorn, L. F., Van Ampting, M. T. J., Oude Nijhuis, M. M., Langford, J. E., Wopereis, H., Goldberg, S. B., Ong, P. Y., Essink, B. J., Scott, R. B., Harvey, B. M., (2015). Synbiotics-supplemented amino acid-based formula supports adequate growth in cow's milk allergic infants. *Pediatric Allergy and Immunology*. [Online] 26 (4), 316–322.
- Caldwell, G., (2012). *Mastering artisan cheesemaking : the ultimate guide for home-scale and market producers*. White River Junction, Vt: Chelsea Green Publishing Co.
- González-Yanes, C., Sánchez-Margalet, V., (2006). Signalling mechanisms regulating lipolysis. *Cellular Signalling*. [Online] 18 (4), 401–408.
- Chen, Y., Li, Z-Y., Yang, Y., Zhang, H-J., (2012). Uncoupling protein 2 regulates glucagon-like peptide-1 secretion in L-cells. *World journal of gastroenterology*. [Online] 18 (26), 3451–3457.
- Drucker, D.J., (2006). Enhancing the action of incretin hormones: a new whey forward? *Endocrinology*. [Online] 147 (7), 3171–3172.
- Flatt, R. P., Bailey, J. C., Green, D. B., (2008). "Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) and related molecules in type 2 diabetes." *Frontiers in bioscience*. 13, pp. 3648-3660.
- Gillespie, A. L., Calderwood, D., Hobson, L., Green, B. D., (2015). Whey proteins have beneficial effects on intestinal enteroendocrine cells stimulating cell growth and increasing the production and secretion of incretin hormones. *Food Chemistry*, 189(C), 120-128.

- Goverse, G., Molenaar, R., Macia, L., Tan, J., Erkelens, M. N., Konijn, T., Knippenberg, M., Cook, E. C., Hanekamp, D., Veldhoen, M., Hartog, A., Roeselers, G., Mackay, C. R., Mebius, R. E., (2017). Diet-Derived Short Chain Fatty Acids Stimulate Intestinal Epithelial Cells To Induce Mucosal Tolerogenic Dendritic Cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. [Online] 198 (5), 2172–2181.
- Habib, M. A., Richards, P., Cairns, L. S., Rogers, G. J., Bannon, C. A., Parker, H. E., Morley, T. C., Yeo, G. S., Reimann, F., Gribble, F. M., (2012). Overlap of endocrine hormone expression in the mouse intestine revealed by transcriptional profiling and flow cytometry. *Endocrinology*. [Online] 153 (7), 3054–3065.
- Hall, W. L., Millward, D. J., Long, S. J., Morgan, L. M., (2003). Casein and whey exert different effects on plasma amino acid profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite. *British Journal of Nutrition*, 89(2), 239-248.
- Hodgson, J. M., Lee, Y. P., Puddey, I. B., Sipsas, S., Ackland, T. R., Belski, R., Mori, T. A., (2010). Effects of increasing dietary protein and fibre intake with lupin on body weight and composition and blood lipids in overweight men and women. *International Journal of Obesity*, 34(6), 1086.
- Kontopidis, G., Holt, C., Sawyer, L., (2004). Invited review:  $\beta$ -lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *Journal of dairy science*, 87(4), 785-796.
- Korhonen, H. J., (2010). Whey proteins. *Nutrafoods*, 9(4), p.5.
- Kostadinova, A. I., Meulenbroek, L. A., van Esch, B. C., Hofman, G. A., Grassen, J., Willemsen, L. E., Knippels, L. M., (2016). A Specific Mixture of Fructo-Oligosaccharides and M-16V Facilitates Partial Non-Responsiveness to Whey Protein in Mice Orally Exposed to  $\beta$ -Lactoglobulin-Derived Peptides. *Frontiers in Immunology*, 7, 673.
- Kostadinova, A. I., Meulenbroek, L. A., van Esch, B. C., Hofman, G. A., Grassen, J., Willemsen, L. E., Knippels, L.M., (2017). Dietary Intervention with  $\beta$ -Lactoglobulin-Derived Peptides and a Specific Mixture of Fructo-Oligosaccharides and M-16V Facilitates the Prevention of Whey-Induced Allergy in Mice by Supporting a Tolerance-Prone Immune Environment. *Frontiers in Immunology*, 8, 1303-3224.
- Lacroix, I. M., Li-Chan, E. Y., (2013). Inhibition of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV and  $\alpha$ -glucosidase activities by pepsin-treated whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61 (31), pp. 7500-7506.
- Lejeune, M. P., Westerterp, K. R., Adam, T. C., Luscombe-Marsh, N. B., Westerterp-Plantenga, M. S., (2006). Ghrelin and glucagon-like peptide 1 concentrations, 24-h satiety, and energy and substrate metabolism during a high-protein diet and measured in a respiration chamber. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 83(1), 89-94.
- Lindholm B, K., Barkholt, V., Bernhard M, C., (2013). The Sensitising Capacity of Intact  $\beta$ -Lactoglobulin Is Reduced by Co-Administration with Digested  $\beta$ -Lactoglobulin. *International Archives of Allergy and Immunology*. [Online] 161 (1), 21–36.
- Mantena, S. K., Vaughn, D. P., Andringa, K. K., Eccleston, H. B., King, A. L., Abrams, G. A., Doeller, J. E., Kraus, D. W., Darley-Usmar, V. M., Bailey, S. M., (2009). High fat diet induces dysregulation of hepatic oxygen gradients and mitochondrial function in vivo. *Biochemical Journal*. 417(1), 183-193.
- Medina, J., Fernández-Salazar, L. I., García-Buey, L., Moreno-Otero, R., (2004). Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes care*. 27(8), 2057-2066.
- McGregor A, R., Poppitt D, S., (2013). Milk protein for improved metabolic health: A review of the evidence. *Nutrition & Metabolism*. 10(1), 46.
- Morais, T., Patrício, B., Pereira, S., Andrade, S., Carreira, M., Casanueva, F., Monteiro, M., (2019). GLP-1 induces alpha cell proliferation and overrides leptin suppression induced by negative energy balance in vagotomized rats. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(9),14573-14584.

- Morrison, C. D., Xi, X., White, C. L., Ye, J., Martin, R. J., (2007). Amino acids inhibit Agrp gene expression via an mTOR-dependent mechanism. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. [Online] 293 (1), E165–E171.
- Nagaoka, S., Kanamaru, Y., Kuzuya, Y., (1991). Effects of whey protein and casein on the plasma and liver lipids in rats. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(3), 813-818.
- Livsmedelsverket (2018) *Milk and dairy products*, Available at: <https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/mat-och-dryck/mjolk-och-mejeriprodukter> [2018-11-12]
- Nilsson B, U. K., Werèen, P. O., (2002). *Cheese and cheese manufacturing – In particular Swedish cheeses*. Available at: [https://bioenv.gu.se/digitalAssets/1566/1566436\\_cheesese.pdf](https://bioenv.gu.se/digitalAssets/1566/1566436_cheesese.pdf) [2018-11-15]
- Nongonierma B, A., FitzGerald J, R., (2013). Dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidative properties of milk protein-derived dipeptides and hydrolysates. *Peptides*, 39, 157-163.
- Ozaki, T., Habara, K., Matsui, K., Kaibori, M., Kwon, A. H., Ito, S., Nishizawa, M., Okumaur, T., (2010). Dexamethasone inhibits the induction of iNOS gene expression through destabilization of its mRNA in proinflammatory cytokine-stimulated hepatocytes. *Shock*, 33(1), 64-69.
- Petersen, B. L., Ward, L. S., Bastian, E. D., Jerkins, A. L., Campbell, J., Vuksan, V., (2009). A whey protein supplement decreases post-prandial glycemia. *Nutrition Journal*, 8(1), 47.
- Petersen, N., Reimann, F., Bartfeld, S., Farin, H. F., Vries, R. G., van den Brink, S., Clevers, H., Gribble, F. M., de Koning, E. J., (2014). Generation of L cells in mouse and human small intestine organoids. *Diabetes*, 63(2), 410-420.
- Peyrou, M., Bourgoïn, L., Foti, M., (2010). PTEN in non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis and cancer. *Digestive diseases*, 28(1), 236-246.
- Rafferty P, E., Wylie, R. A., Elliott, T. C., Chevallier, P. O., Grieve, J. D., Green, D, B., (2011). In vitro and in vivo effects of natural putative secretagogues of glucagon-like peptide-1 (GLP-1). *Scientia pharmaceutica*, 79(3), 615.
- Robertson, R. P., Harmon, J., Tran, P. O., Poitout, V., (2004).  $\beta$ -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*, 53(suppl 1), S119-S124.
- Rosenthal, I., (1991). *Milk and dairy products: properties and processing*. Weinheim: VCH.
- Shertzer G, H., Woods, E. S., Krishan, M., Genter, B. M., Pearson, J. K., (2011). Dietary whey protein lowers the risk for metabolic disease in mice fed a high-fat diet. *The Journal of Nutrition*, 141(4), 582-7.
- Singh, H., Boland, M., Thompson, A., (2014). *Milk proteins : from expression to food*. 2<sup>nd</sup> ed. London, England: Academic Press. Chapter 1 and 2
- Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., Macia, L., (2014). The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease. In *Advances in Immunology* (Vol. 121, pp. 91-119).
- van Milgen, J., Noblet, J., Dubois, S., (2001). Energetic efficiency of starch, protein and lipid utilization in growing pigs. *The Journal of nutrition*, 131(4), 1309-1318.
- Veldhorst, M. A., Nieuwenhuizen, A. G., Hochstenbach-Waelen, A., Westerterp, K. R., Engelen, M. P., Brumer, R. J., Deutz, N. E., Westerterp-Plantenge, M. S., (2009). Effects of complete whey-protein breakfasts versus whey without GMP-breakfasts on energy intake and satiety. *Appetite*, 52(2), 388-395.
- Walstra, P., Wouters, J., Geurts, T., (2006) *Dairy science and technology (2<sup>nd</sup> ed)*. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis. Chapter 2
- Wawrzyniak, M., O'Mahony, L., Akdis, M., (2017). Role of Regulatory Cells in Oral Tolerance. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 9(2), 107-115.

- Younossi M, Z., Gramlich, T., Matteoni, A. C., Boparai, N., McCullough, J. A., (2004). Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2(3), 262-265.
- Yudkoff, M., Daikhin, Y., Nissim, I., Horyn, O., Luhovyy, B., Lazarow, A., Nissim, I., (2005). Brain Amino Acid Requirements and Toxicity: The Example of Leucine. *Journal of Nutrition*, 135(6S), 1531S-1538S.
- Zemel, M. B., Miller, S. L., (2004). Dietary Calcium and Dairy Modulation of Adiposity and Obesity Risk. *Nutrition Reviews*, 62(4), 125-131.
- Zhou, J., Kennan, M. J., Lasso, J. N., Raggio, A. M., Shen, L., Macutcheon, K. L., Tulley, R. T., Blackman, M. R., Martin, R. J., (2011). Dietary whey protein decreases food intake and body fat in rats. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19(8), 1568-73.