

dc_534_12

MTA Doktori Értekezés Tézisei

Háziállatok szöveti lipidjeinek
zsírsavösszetételi elemzése eltérő élettani
állapotokban

Dr. Szabó András (Ph.D.)

Kaposvári Egyetem

Állattudományi Kar

Kaposvár, 2013

dc_534_12

1. Bevezetés

Az állattenyésztési tudományok területén egyre hangsúlyosabb szerepet kapnak biokémiai, illetve élettani szempontok, két fő területen is. A táplálkozástudomány és az állattermék előállítás kapcsolata mára igen szorossá vált, hiszen a jóminőségű termék alapja tagadhatatlanul az egészséges és hatástanilag is ismert körülmények között termelő állat. A modern állattartás a szelekció mellett számos olyan környezeti (pl. technológiai) faktort alkalmaz, melyek gyakran kevésbé ismert módon hatnak az állatok jólétére (welfare) vagy egyszerűen az életminőségére. A táplálkozástudomány rohamos fejlődésével összhangban az állati eredetű termékek összetétele, különösen a funkcionális komponensek fokozott jelenléte prioritást nyert, melynek már a termékelőállítás során is egyre nagyobb jelentősége van. Miután a humán zsírsavellátás egyharmadát - felét az állati termékek biztosítják, fokozott figyelem illeti meg az állati termékek zsírsavösszetételét, különösen pedig az esszenciális zsírsavakat. A dolgozatba foglalt, főképp az állati szövetek zsírsavösszetételére vonatkozó közelítések közel sem tekinthetők átfogónak vagy teljesnek, mégis célzottan arra irányultak, hogy megmutassák a zsírsavösszetétel bizonyos környezeti és genetikai tényezők hatására bekövetkező meglepően nagy változatosságát. A lehetőségekhez mérten nem kizárólag a zsírsavakra, hanem a zsírsav-, és esetenként a szervezetszintű lipid metabolizmus vizsgálatára is vállalkoztam, illetve a legtöbb esetben lipid frakcióhoz is megpróbáltam kötni a tapasztalt változásokat.

A Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Állattermék Minősítő Laboratóriumában az állati termékek minőségét a lehető legszélesebben értelmezi a munkacsoportunk. Kapcsolódva a Karon folyó, elsősorban állattartási és takarmányozási kezeléseket alkalmazó kísérletes munkához a dolgozatban bemutatandó kísérletes aktivitás arra irányult, hogy főképp háziállatok (emlősök, baromfifajok és halak) szöveteiben elemezze az anyagcsere intenzitás, a rendkívül intenzív növekedés, valamint a takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekre, lipidfrakciók zsírsavaira és ennek folyamánként az oxidatív stabilitásra gyakorolt hatásait. A dolgozatban ennek megfelelően a 2004-2012 időszak támogatott kutatásait foglalom össze, melyek gazdasági és vadon élő állatokon, kontrollált kísérletek, illetve szisztematikus mintagyűjtések keretében készültek a KE ÁTK Állattermék Minősítő Laboratóriumában.

1.1. Előzmények

Állati eredetű lipidekre irányuló kísérletes munkámat a Ph.D. ösztöndíjas időszakban kezdtem el (kizárólag nyúlón), majd ezt követően intézményi szintű támogatás mellett a Kaposvári Egyetem Állatudományi Karán 2004-ben létrejött az akkori Állati Termékfeldolgozás és Minősítés Tanszék. A Tanszéken lehetőséget kaptam egy lipidekkel foglalkozó laboratóriumi rész kialakítására, Romvári Róbert Professzor vezetése mellett. Ezzel egy időben hároméves OTKA Posztdoktori pályázati támogatásban részesültünk három évre (2004-2007). A laboratóriumban annak fő, elsősorban az élelmiszer alapanyagok minősítésére irányuló profilja mellett azóta hazai - és kisebb részben nemzetközi - támogatással folynak rendszeres, az állati (emlős, madár és hal) lipidekre irányuló kutatási programok. Szerencsés módon, alapozva a KE ÁTK speciális állattenyésztési adottságaira, sikerült ezen vizsgálatok legtöbbjébe az állatkísérletes lehetőségekkel rendelkező társ-tanszékeket és kollégákat is bevonni.

1.2. A kutatások célja

Az értekezés tárgyához kapcsolódó vizsgálatok négy fő csoportba sorolhatók, és négy alapvető kérdésre irányultak a célkitűzések is.

1. A jelentősen eltérő energetikai állapotok (intenzív növekedés, energiamegvonás) metabolikus hatásai hogyan írhatók le szelektált baromfifajok (pulyka, brojlercsirke, tojótyúk) klinikai-kémiai vizsgálatával?

2. Az energetikai status milyen hatást gyakorol a szöveti lipidfrakciók zsírsavösszetételére madárfajokban? (Pulyka mellizomzat ontogenezis alatti membránlipid összetételi elemzése, és baromfifajok komparatív, allometrikus vizsgálata (szív, máj, vese, tüdő (parenchyma és surfactant) és agy).

3. A natív szöveti trigliceridek összetételének helyetspecifikus zsírsavösszetételi elemzése alkalmas-e a faj- és fajta azonosításra hét eltérő faj és két sertésfajta esetében?

4. Milyen kinetikával jellemezhető a takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipidfrakciókba történő inkorporációja édesvízi halakban, afrikai harcsa és tilápia esetében?

2. Anyagok és módszerek

2.1. Vizsgálatba vont állatok, tartás, takarmányozás

Az alább bemutatott vizsgálatok során minden esetben meghatároztuk a takarmányok táplálóanyag-, és szükség esetén zsírsav összetételét is, az állatvizsgálatok pedig a Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság engedélyezését követően történtek.

2.1.1. Eltérő energetikai állapotok metabolikus hatásainak jellemzése baromfifajok klinikai-kémiai vizsgálatával

2.1.1.1. Tojógyúk mesterséges vedletése, a koplalás vérparaméterekkel történő nyomon követése

Tojógyúkokon 12 napos, teljes takarmánymegvonásos mesterséges vedletést alkalmaztunk, mely periódusban három naponta vérvételeket végeztünk, klinikai-kémiai szérum analízis céljából. Ugyanezen madarak szöveteit elemeztük a 2.1.2.1. fejezetben.

2.1.1.2. Hústermelésre szelektált pulyka vér biokémiai paramétereinek nyomon követése, a keléstől a vágásig

BUT Big 8 hímivarú, nagy növekedési erélyű pulykákat neveltünk az intenzív növekedés nyomon követése céljából, majd 3 napon, 4, 8, 12, 16, illetve 20 hetes korban végeztünk vérvételeket, klinikai-kémiai szérum analízis céljából. Ugyanezen állomány izommintáit elemeztük a 2.1.2.2. (illetve 3.1.2.2.) fejezetben.

2.1.1.3. A brojlercsirke kliniko-kémiai vizsgálata („follow-up”) a teljes felnevelés alatt

A vizsgálatba Ross 308 hímivarú brojlereket vontunk be, a vérvételeket 0, 1, 2, 3, 4 és 5 hetesen végeztük, az intenzív növekedés jellemzése érdekében.

2.1.2. Az energetikai status hatása a szöveti lipidfrakciók zsírsavösszetételére madárfajokban

2.1.2.1. Tojógyúkok mesterséges vedletése, a drasztikus energiamegvonás hatása a máj és szív eltérő lipidfrakcióinak (triglicerid és foszfolipid) összetételére

A vizsgálatban a 2.1.1.1. fejezetben ismertetett madarak vettek részt. A koplaltatás időszakát megelőzően, és annak végén (0. és 12. napok) 10-10 madárból a szívet és a májat zsírsavösszetéti (foszfolipid és triglicerid frakciók) analízisre eltettük.

2.1.2.2. Pulyka mellizom membránlipidek ontogenezis alatti változásainak leírása

A 2.1.1.2. fejezetben ismertetett állományból próbavágást követően felzínes és mély mellizom mintákat elemeztünk minden mintavételi időpont-

ban, a membránlipidek zsírsavprofiljára vonatkozóan, allometrikus adatértékeléssel.

2.1.2.3. Eltérő kifejlett kori testsúlyú madárfajok szívizmának membránlipidjei, allometrikus analízis

Az elemzésbe pulyka, lúd, tyúk, fácán, húsgalamb, balkáni gerle és japánfürtj fajok 5-5 kifejlett egyedét vontuk be, és a szívizom teljes foszfolipidjeinek zsírsavprofilját elemeztük, allometrikus módszertannal, a testsúlyfüggő szabályosságok feltárása érdekében.

2.1.2.4. Eltérő kifejlett kori testsúlyú madárfajok tüdő, vese, máj és agy foszfolipid zsírsavprofiljának allometrikus elemzése

A 2.1.2.3. fejezetben megadott fajokon túl foglyot is vizsgáltunk. A tüdő, vese, máj és agy minták teljes foszfolipid zsírsavösszetételét határoztuk meg, az adatértékelés szintén allometrikus volt.

2.1.2.5. A tüdő parenchymalis és surfactant foszfolipidjeinek allometrikus elemzése baromfifajokban

A 2.1.2.4. fejezetben említett fajokban tüdőből mosott surfactant (valamint a teljes tüdő és a mosott szövet, kvázi parenchyma) foszfolipidjeinek zsírsavprofilját határoztuk meg, allometrikus adatelemzésre alapozva, a strukturális és a szekretált foszfolipid zsírsavprofil testsúlyfüggő szabályosságainak vizsgálata céljából.

2.1.3. A szöveti trigliceridek (TG) összetételének natív alakulása; a faj- és fajta azonosítás lehetőségei a TG molekulaszervezet részletes analízisére alapozva (regiospecifikus analízis)

2.1.3.1. A fajspecifikus tulajdonságok elemzése trigliceridek molekulaszervezeti vizsgálatára alapozva

Gímszarvas, jávorszarvas, vaddisznó, extenzíven nevelt hússertés, borz, húsnyúl és lúd subcutan zsírmintái kerültek elemzésre. A trigliceridekből hasnyál lipázos hidrolízist követően az 1,3 és a 2 helyzeti zsírsavprofil is meghatározottuk, az alábbiak szerint: 1,3 helyzet zsírsavprofilja, zsírsavanként: $1,3\% = (3 \times TG\% - 2MG\%) / 2$, majd definiáltuk az ún. helyzeti megoszlási faktort: Helyzeti megoszlási faktor (HMF): $HMF = \log(1,3\%/2\%)$.

2.1.3.2. A fajtaszintű eltérések vizsgálata sertés genotípusok trigliceridjeinek molekulaszervezeti vizsgálatával

A 2.1.3.1. fejezet módszertanára építve a fajtaszintű eltérések felderítése volt a cél, magyar nagyfehér és szőke mangalica egyedek szöveti trigliceridjeiben (szív- és vázizom, hátszalonna, tüdő, vese, máj és lép).

2.1.4. A takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipidfrakciókba történő beépülésének (inkorporáció) vizsgálata, halakban

2.1.4.1. Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) filé zsírsavösszetétele és húsmínősége, növényi olajok etetését követően

A vizsgálat célja az volt, hogy megállapítsuk, a halolaj részleges helyettesítése (növényi olajokkal) a harcsa takarmányban milyen változásokat idéz

elő a húsminőségben, a hús kémiai összetételében, illetve hogy jellemezzük a zsírsavak izomszövetbe (annak teljes lipidtartalmába) történő inkorporációs kinetikáját, az ún. zsírsav kihígulási modell segítségével, hathetes kezelési intervallumban, három mintavételre alapozva.

2.1.4.2. Növényi olajok szöveti lipidfrakciókba való beépülésének elemzése Nílusi tilápia (*Oreochromis niloticus*) szerveiben

A vizsgálat célja az volt, hogy jellemezzük eltérő növényi olajok és halolaj (mint kontroll) zsírsavainak inkorporációs ütemét tilápia szövetek (filé, hasúri zsír, máj és gonádok) lipidfrakcióiba (trigliceridek és foszfolipidek), hathetes kezelési periódusban. Az adatelemzést az egyszerű zsírsav kihígulási modell segítségével végeztük.

2.2. Mintaelőkészítés és laboratóriumi vizsgálatok

A vérmintákból a klinikai-kémiai paramétereket automata készülékeken határozták meg. A szöveti lipidtartalom kivonása (tejes szövetből, tüdő mosófolyadékából) minden esetben *Folch és mtsai (J. Biol. Chem., 1957, 226:497-509)* módszerével történt, antioxidáns jelenlétében, míg a komplex lipidek frakcionálása szilikagél oszlopon (emelkedő polaritású eluens sorozatokkal), illetve szilikagél G60 lemezekén történt. A zsírsavak gázkromatográfiás elválasztását és elemzését megelőző származékképzés minden pontban NaOCH_3 alapú, báziskatalizált módszer volt. A lipidekkel kapcsolatos preparatív lépések a KE ÁTK Állattermék Minősítő Laboratóriumában történtek, míg gázkromatográfiás analízis az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézetben készült (egy tanulmány, a harcsa filé (2.1.4.1.) kivételével), Shimadzu 2010 készüléken. A malondialdehid (MDA) koncentrációt natív, -70°C -on tárolt szövetekből a SzIE MKK Takarmányozástani Tanszékén határozták meg, fotometriás módszerrel, míg a hagyományos húsminőségre irányuló vizsgálatokat a KE Állattermék Minősítő Laboratóriumában végeztük. A Weendei analízis során szabvány módszereket követtünk a felsoroltak szerint: szárazanyag (MSZ-08-1783-1: 1983); nyersfehérje, N alapon, Kjeldahl módszer (MSZ 6367-11:1984); nyerszsír (6830-6:1984); nyershamu (MSZ ISO 5984).

2.3. Statisztikai értékelés

A zsírsavprofil alapadatok értékelése során csoportonként, illetve kezelésként a kétszeres szórástávolságon kívül eső adatokat (elsődleges és származtatott esetekben is) kihagytam az elemzésből. A vérparaméterek időpontonkénti összehasonlítása során többtényezős varianciaanalízist (kezelés időtartama, testsúly) alkalmaztam, Tukey-féle „*post hoc*” tesztel. Az energiamegvonás hatásának elemzésekor a kezdő és záró időpontokban

felvett adatok (zsírsav, malondialdehid) összevetésére két mintás független t -próbát alkalmaztam. Az allometrikus elemzések során (3.1.2.2.-3.1.2.5.) a zsírsavprofil primer és származtatott adatait mint a testsúly x -edik hatványait határoztam meg (zsírsav mol% = konstans+testsúly ^{x}).

A 2.1.4. fejezetben alkalmazott predikciós modell során *Jobling (Aquacult. Res., 2004, 35:706-709)* ún. zsírsav kihígulási modelljét vettem alapul. A modell szerint a zsírsavak inkorporációja legtöbbször a szervezetben fellelhető „készlet” kihígulásával jellemezhető folyamat, ennél fogva az viszonylag egyszerű modellel leírható, az alábbiak szerint:

$$P_t = P_r + (P_i - P_r) / (Q_t - Q_i), \text{ ahol}$$

P_t : t időpontban az adott zsírsav %-a

P_i: a kiindulási időpontban mért zsírsav arány

P_r: a referencia csoport zsírsav-résaránya

Q_i: kvantitatív mutató (pl. szerv tömeg) a kiinduláskor

Q_t: és t időpontban

A statisztikai elemzésekben minden esetben SPSS 10 for Windows (1999) programot használtam, az ábrázolást pedig az allometrikus modellek esetében QtiPlot 0.9.7.6. (2009) szoftverrel készítettem, egy Linux munkaállomáson.

3. Eredmények és értékelésük

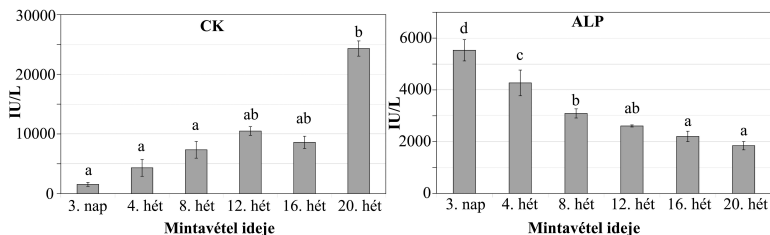
3.1.1. Eltérő energetikai állapotok metabolikus hatásainak jellemzése baromfifajok klinikai-kémiai vizsgálatával

3.1.1.1. Tojógyútk mesterséges vedletése, a koplás vérparaméterekkel történő nyomonkövetése

Teljes takarmánymegvonásos mesterséges vedletésnek kitett tojógyútkok klinikai-kémiai analizésére alapozva megállapítottuk, hogy az általános energiahiány esetén a tojástermelési ciklus gyorsan megszakad, amit a vérben legérzékenyebben a szérumban metabolitok (csökkenő triglicerid, emelkedő HDL és összkoleszterin) jeleznek. A máj és szívizom esetében tapasztalt, későbbiekben (3.1.2.1.) bemutatásra kerülő jelentős károsodás, illetve katabolizmus az intracelluláris enzimek szérumban mért aktivitásának növekedésében csak a γ -GT és a LDH esetében tűnt reálisnak. Fontos megjegyezni, hogy a fentiekben bemutatott vizsgálat indirekt célja az volt, hogy a teljes takarmánymegvonásos vedletési módszerekkel kapcsolatosan olyan, referenciaként is értelmezhető eredményeket tegyen közzé, melyek alapján annak háttérbe szorulása volt várható. Időközben ezen vedletési módszer már betiltásra került Hazánkban is.

3.1.1.2. Hústermelésre szelektált pulyka vér biokémiai paramétereinek nyomon követése, a keléstől a vágásig

Az egyirányúan hústermelésre szelektált madaraknál nagyon gyakran fordulnak elő miopátiás esetek; elemzésünk kimondottan ezen esetleges kórkép, vagy a nagyon intenzív izom hipertrófia okozta jelenségekre irányult. A nagy növekedési erélyű hústípusú pulykák szérumban elemzése olyan, korán érő madár sajátosságaira utalt, melynél jellemző a korai, szik felhasználásból fakadó triglicerid csúcs, majd az igen intenzív izomfejlődés (magas laktát dehidrogenáz; extrém magas és tovább emelkedő szérumban kreatin kináz aktivitás, 1. ábra), és végül igen nagy kifejtett kori testméretet ér el. Érdekes tapasztalat, hogy a *pectoralis* izomzat lineáris növekedését (mellizom súly = $0.2787 \text{ testsúly} - 123.67$; $R^2 = 0.9935$, $P < 0.001$) erős ALP aktivitás-csökkenés kísérte (2. ábra), mely a csontrendszer és az izomzat aszinkron fejlődésére utalt ebben a szélsőségesen szelektált állományban.

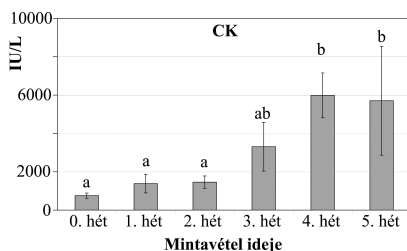


1. és 2. ábra A kreatin kináz (CK) és az alkalikus foszfatáz (ALP) aktivitásváltozása a hústípusú pulyka felnevelése során

Bár az alkalmazott metodika és közelítés rutin analízisen alapul, a szelekció előrehaladtával a hústermelő állományok folyamatosan távolodnak a kiindulási ponttól (bronzpulyka), így eredményeink, különösen a szelekció hátrányos következményei kapcsán újszerűnek tekinthetők.

3.1.1.3. A brojlercsirke kliniko-kémiai vizsgálata („follow-up”) a teljes felnevelés alatt

A mindösszesen öt hétig tartó növekedési folyamat során (2800 g élőtömeg eléréséig) egy jellegzetesen korai érést mutató (korai triglicerid és összcholeszterin koncentrációcsúcsok és gyorsan emelkedő koncentrációjú plazma fehérjék) madár adatait rögzítettük. A hústermelésre irányuló szelekció olyan mértékű izom hipertrofiát eredményezett a vizsgált Ross 308 genotípusban, mely enyhe hiperkalémiához, magas AST és – hasonlóan a hústermelő pulykához - extrém magas CK aktivitáshoz vezetett (3. ábra).



3. ábra A kreatin kináz aktivitás-emelkedése a brojlercsirkék felnevelése során

Érdekes módon a nagyon rövid nevelési időszak nem tette lehetővé a kor hatásának hagyományos értékelését (szervetlen foszfát és Na minimális

fluktuációja), ám mind a jellegzetes koraérés, mind pedig az extrém magas hústermelési kapacitás jól kimutatható volt ezen szelektált állományban is.

3.1.2. Az energetikai status hatása a szöveti lipidfrakciók zsírsavösszetételére madárfajokban

3.1.2.1. Tojógyúkok mesterséges vedletése, a drasztikus energiamegvonás hatása a máj és szív eltérő lipidfrakcióinak (triglicerid és foszfolipid) összetételére

A tojógyúkok ipari szintű tojástermelése rendszerint nemcsak egy, hanem több ciklusban valósul meg, melyeket hagyományosan mesterséges vedletési programok szakítanak meg. Tekintettel arra, hogy a vedlési folyamat megindítása priméren az energiaraktárak kimerülésének köszönhető, lipid anyagcsere szempontjából kiemelkedően érdekes ezen élettani helyzet, melyet jelen fejezetben a máj és a szív triglicerid (TG) és foszfolipid (PL) zsírsav anyagcseréjének elemzésén keresztül jellemeztünk.

A **máj trigliceridekben** a koplalás hatására a pentadekánsav (C15:0), a gondoénsav (C20:1 n9) és a nervonsav (C24:1 n9) részaránya emelkedett, míg a palmitinsav (C16:0) aránya és az n6/n3 hányados erősen lecsökkent. Fontos megjegyezni, hogy a C20 < PUFA előállításának legjellemzőbb helye a máj, mely a koplalás idején az extrahepatikus szervek PUFA ellátásában szinte kizárólagos szerepű, miután a raktározott, adiposa eredetű triglicerid ezen zsírsavakban meglehetősen szegény. Érdekes, bizonyos mértékig ellentmondva a fentieknek mind az arachidonsav, mind pedig a dokozaheksaénsav határozott retencióját („paradoxical conservation”) tapasztaltuk a máj trigliceridekben.

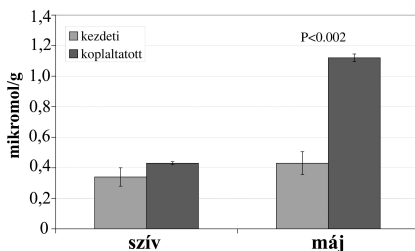
A **máj foszfolipidjeinek** energiamegvonásra adott reakciói közül kiemelendő a palmitinsav, a palmitoleinsav (C16:1 n7), az olajsav (C18:1 n9), a dokozaheksaénsav (C22:6 n3) és az összes n3 zsírsav aránycsökkenése, azt tükrözve, hogy a hosszan tartó energiahiány meghatározó mértékben befolyásolja a máj membránlipidjeinek összetételét. A foszfolipid zsírsavprofil tekintve úgy tűnt, hogy a máj a „normál, élettani” membránlipid integritást nem képes 12 napos koplalás alatt fenntartani, és a jelentős szervsúly veszteség (24%) mellett komolyabb membrán károsodással is számolni kell (mely a vérparaméterekben is igazolható volt, 3.1.1.1. fejezet).

A **miokardiális trigliceridekben**, melyek csak igen csekély választ reakciót mutattak, az α -linolénsav aránya csökkent, míg a γ -linolénsav részaránya szignifikánsan emelkedett a 12 napos kezelés következtében, azt jelezve, hogy az éhezési állapot bár megemeli a szívizom triglicerid koncentrációját (+12%), annak minőségi tulajdonságait csak minimálisan befolyásolja.

A **szív membránlipidjeiben** a legfontosabb változásként értékelhető, hogy az eikozadiénsav, az eikozatriénsav (C20:3 n6) és a dokozaheksaénsav

részarányok szignifikáns csökkenést mutattak, míg a C20:4 n6 / C20:3 n6 hányadosként megadott $\Delta 5$ deszaturáz index értéke jelentősen emelkedett, arra utalva, hogy a drasztikus energiamegvonás tojtyútkban a miokardiális membránlipidek degradációjával jár, mely a foszfolipidek zsírsavainak „homeosztázisát” negatívan befolyásolja.

A **lipidperoxidáció** mértékének becslésére alkalmazott malondialdehid koncentrációja a májban igen erősen megemelkedett a 12. napra (4. ábra), melynek hátttere a magas PUFA részarányval rendelkező strukturális lipidek degradációja lehetett, miután a MDA főleg a három vagy több telítetlen kötést tartalmazó zsírsavakból keletkezik.



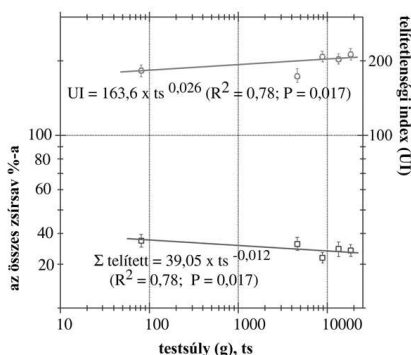
4. ábra A máj és a szívizom lipideperoxidációjának változása mesterséges vedletés során

Az eredményeket összefoglalva azt tapasztaltuk, hogy a vedletési program a májban mind a tároló, mind a strukturális lipidekben mennyiségi és minőségi változásokat is előidézt. Úgy tűnik, 12 napos teljes takarmány-megvonás komolyabb májsejt membrán károsodást okozott, melyet a fokozott lipid peroxidáció is jelzett. Míg a máj trigliceridek kiemelt szerepet játszottak a polién zsírsavak homeosztázisának fenntartásában, addig a szív trigliceridek szinte semmilyen minőségi változást nem mutattak. A szív trigliceridek mennyiségi növekedése, és változatlan zsírsavösszetétele kapcsán a máj speciális kardioprotektív szerepe merült fel a koplaltatás idején.

3.1.2.2. Pulyka mellizom membránlipidek ontogenezis alatti változásainak leírása

A hústermelésre szelektált madarak közül napjainkra talán a pulykában történt a legnagyobb változás a testösszetétel és a növekedési ütem vonatkozásában. A pulyka mellizom már a korai, kelést követő időszakban igen fontos szerepet kap, különösen a termogenezisben, míg annak ontogenikus fejlődésével kapcsolatosan meghatározó információ, hogy a tyúkalakúak (*Galliformes*) jellemzően koraérésű, fészekhagyó fejlődésmenetet mutatnak, mely során az embrionális és a kifejtett kori energetikai

tulajdonságok jelentősen eltérnek. A mellizom membránlipidek ontogenezis alatti összetételi változásait allometrikus módszertannal elemezve számos esetben szignifikáns allometrikus fejlődésmentet írtunk le, különösen a prekursor-termék zsírsavak (C18:3 n3 - C22:6 n3) relációjában. Az ontogenezis alatt rögzített eredmények eltértek a kora- és későn érő, kis- és nagy testű madarak összevetéséből nyert filogenetikus összefüggésektől, amennyiben emelkedő testsúly mellett allometrikusan emelkedő telítetlenségi indexet (UI) és csökkenő telített zsírsav arányt igazoltunk (5. ábra).



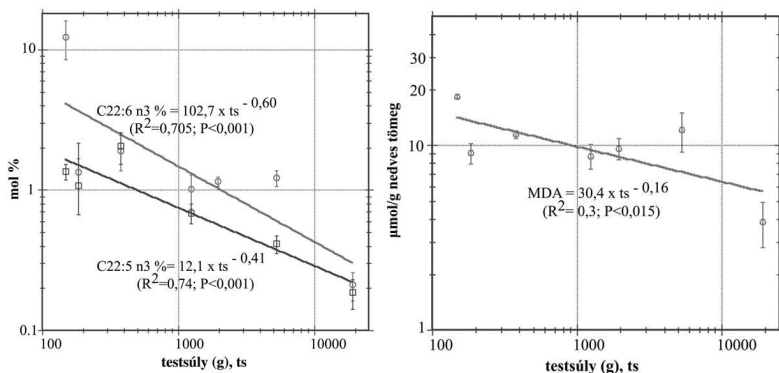
5. ábra A telített zsírsavak és a telítetlenségi index (UI) változásai a pulyka mellizom foszfolipidjeiben, a testsúlytól függően

A fenti eredmények alapján indokoltnak tűnik a kérdés, hogy vajon csak a hústípusú pulyka membránlipid összetételének alakulása ilyen speciális, vagy maga az ontogenezis alatti fejlődési menet tér el nagy mértékben a filogenetikus összefüggésektől.

3.1.2.3. Eltérő kifejlett kori testsúlyú madárfajok szívizmának membránlipidjei, allometrikus analízis

Az alapvetően komparatív vizsgálat keretében eltérő kifejlett kori testsúlyú madarak szívizmának membránlipidjeit elemeztük, míg a munkahipotézis alapja az volt, hogy a membránok, mint metabolikus ütemadók elméletet madarak esetében csak mellizomban és szub-celluláris szinten (máj mitokondriális membránokban és vese mikroszómában) igazolták. A madár szívizom membránlipid zsírsavösszetételi eredmények szerint a vizsgálatba vont fajok között jelentősebb interspecifikus eltérések állnak fenn. A származtatott zsírsav adatok közül a telítetlenségi index (UI) és az összes PUFA aránya allometrikus csökkenést mutatott, míg utóbbi zsírsav csoportban a nagyobb testű madarak alacsonyabb n3 részarányt

mutattak, az összes monoén és összes n9 monoén zsírsav pedig allometrikus emelkedést. Az egyedi zsírsavak közül a palmitoleinsav, az olajsav, a vakcénsav, a gondoénsav és az eikozatriénsav (C20:3 n3) allometrikus arányemelkedést mutatott, míg a palmitinsav, a sztearinsav, a dokozapentaénsav (C22:5 n3) és a dokozahexaénsav aránya (6. ábra) allometrikus aránycsökkenéssel volt jellemezhető. A szívizom malondialdehid koncentrációja negatív allometrikus összefüggést mutatott (7. ábra).



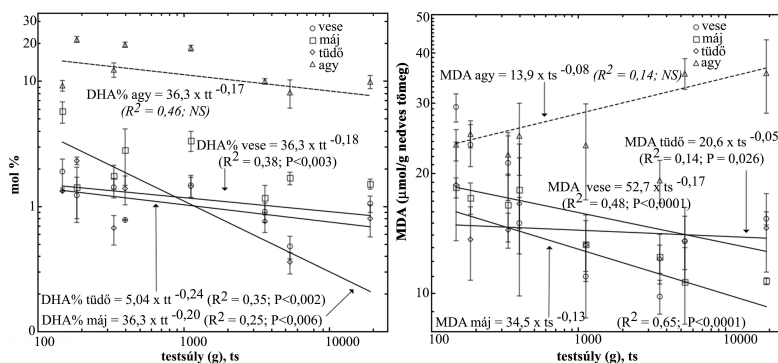
6. és 7. ábra A dokozapentaén- és dokozahexaénsav részarányának, valamint a malondialdehid koncentrációjának allometrikus változásai madár szívizomban

A madárszív membránlipidek zsírsavprofiljában tapasztalt testsúlyfüggő szabályosságok alapvető egyezést mutattak a madár mellizom és emlős szívizom esetében eddig korábban publikált adatokkal. Ismert, hogy az alapanyagcsere intenzitása allometrikus változást mutat, melyet főleg a sejtmembránok, azokon belül pedig leginkább a lipidek szabályoznak. A korrelatív, testsúlyfüggő membránlipid összetételi szabályosságok, különösen a többszörös telítetlenség mértéke és DHA részaránya, azaz a membránlipid millió erősen befolyásolja a membránhoz kötött enzimek, főleg a Na^+/K^+ ATPáz molekuláris aktivitását. Bemutatott eredményeink arra utalnak, hogy a szívizomban is igazolt zsírsavösszetételi szabályosságok egy szélesebb összefüggés részeként értelmezhetők, melyek madárban nemcsak a vázizomzatban, de a szívben, valamint a vese mikroszómális membrán esetében is fennállnak. A szívizomban tapasztalt eredményekre alapozva a továbbiakban a madarak több, metabolikusan aktív szervére is kiterjesztettük a vizsgálatot, arra keresve a választ, mennyire általános a

madár szervezetben a membránlipidek zsírsavainak allometrikus elrendeződése.

3.1.2.4. Eltérő kifejlett kori testsúlyú madárfajok tüdő, vese, máj és agy foszfolipid zsírsavprofiljának allometrikus elemzése

Hasonlóan a 3.1.2.3. fejezetben bemutatott, fajok összehasonlítására alapozott vizsgálathoz, jelen fejezetben nyolc madárfaj eddig nem elemzett szerveinek membránlipid zsírsavprofilját elemeztük. A munka újszerűsége abban állt, hogy a mellizom és szívizom mellett több további, metabolikusan aktív szerv (teljes tüdő, máj, vese és agy) teljes szöveti foszfolipid tartalmának analizésére került sor. Eredményeink szerint a vese, a máj és a tüdő foszfolipid zsírsavprofiljának allometrikus összefüggései nagyban hasonlítottak a korábban váz- és szívizomban, valamint szub-celluláris frakciókban is igazolt szabályosságokhoz (testsúllyal emelkedő egyszeres telítetlenség, közel állandó többszörös telítetlenség, kompetitív n3-n6 zsírsav arányok és nagyon erős negatív allometrikus összefüggést mutató dokoza-hexaénsav arány (8. ábra)). Érdekes és fontos tény, hogy ezen összetételi sajátosságokat még a PL zsírsavprofilra szignifikáns hatást gyakorló takarmányeredetű zsírsavak sem fedték el. Ennek megfelelően megállapítható, hogy az agy kivételével a legtöbb, metabolikusan aktív szervben jól nyomon követhető a membránok, mint ütemadók elv biokémiai szabályozó szerepe.



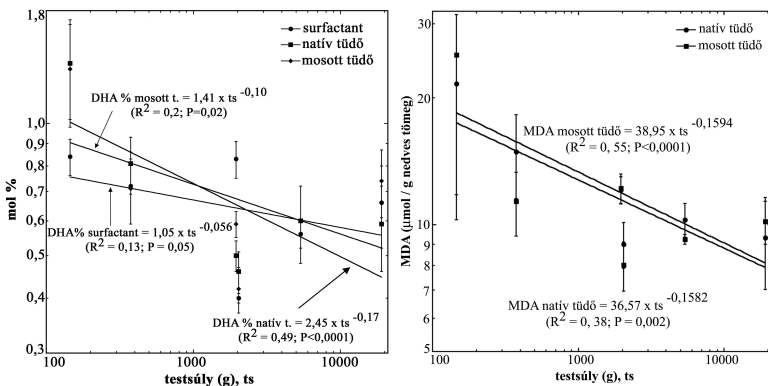
8. és 9. ábra A dokoza-hexaénsav (DHA) és a malondialdehid (MDA) allometrikus változásai a vizsgált nyolc madárfaj vese, máj, tüdő és agyi foszfolipidjeiben

A MDA testsúlyfüggő koncentrációváltozása (9. ábra) a vesében, májban és tüdőben arra utal, hogy a membránlipidek telítetlensége peroxidá-

cióval szemben érzékennyé teszi ezen szervek lipidjeit, melyben kulcsszerpet kap a dokozahexaénsav.

3.1.2.5. Eltérő kifejlett kori testsúllyal rendelkező madárfajok tüdő parenchyma és surfactant elemzése, allometrikus módszer-tannal

A madár légző szervrendszerén végzett vizsgálat kérdésfelvetése a 3.1.2.4. fejezetben egy részleteiben nem vizsgált ponthoz kapcsolódott, melyben a teljes madár tüdő összes foszfolipidjének zsírsavprofiljában a membránok, mint az anyagcsere ütemadói elmélet igazolhatónak bizonyult. A madár tüdő azonban foszfolipidekben igen gazdag (ca. 80%) surfactantot is tartalmaz (illetve szekretál), melynek a teljes PL zsírsavprofilhoz való hozzájárulása a fenti vizsgálatban ismeretlen maradt. Jelen munka célkitűzése az volt, hogy elemezze a madár surfactant PL zsírsavprofiljában esetlegesen testsúly-függést (áttételesen pedig alapanyagcsere intenzitás) mutató zsírsavakat, valamint külön felférje a surfactantmentes tüdő parenchyma szerepét a teljes tüdőre kapott allometrikus összefüggések kialakításában. Főbb eredményeink szerint a madár teljes tüdőszöveti és tüdő parenchymális foszfolipidjei határozottan negatív allometrikus összefüggést mutatnak a DHA vonatkozásban, viszonylag kiegyenlített polién zsírsav szint mellett, a membránok, mint az anyagcsere ütemadói elméletnek megfelelően. Kisebb meredekséggel ugyan, de a surfactant PL frakciójában (mint szekretált, és nem strukturális foszfolipidben) is igazoltuk a DHA negatív allometrikus összefüggését (10. ábra).



10. és 11. ábra A dokozahexaénsav (DHA) arányának és a malondialdehid (MDA) koncentrációjának allometrikus változásai madarak teljes tüdőszövetében, tüdő parenchymájában, illetve a surfactant foszfolipidjeiben

A szöveti malondialdehid koncentrációt a natív és a mosott tüdőszövetből határoztuk meg, és mindkét esetben erősen negatív testsúlyfüggést igazoltunk (11. ábra). Az egyedi MDA és DHA adatok közötti korreláció közepesnek, illetve szorosnak bizonyult a két szövettípus esetében (0,39 és 0,679 a natív és a mosott mintákban, rendre).

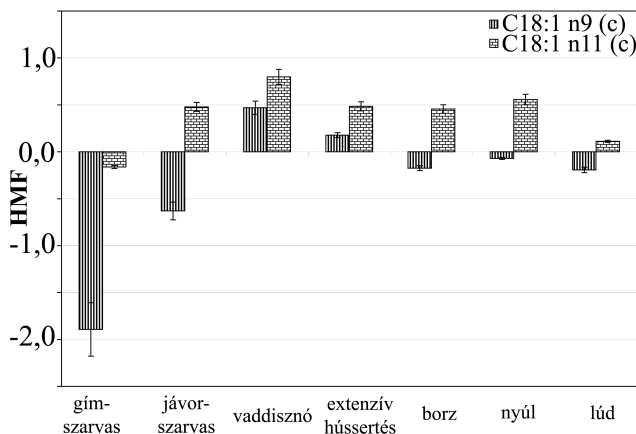
Eredményeink szerint a madár légző szervrendszerében (mind a tüdő parenchymában, mind pedig a surfactantban) a dokozahexaénsav kiemelten fontos szabályozó szereppel rendelkezik mint membránlipid komponens és mint a surfactant szekréció mértékét befolyásoló faktor. A DHA részaránya és a nem enzimatis lipidperoxidáció szoros korrelatív összefüggése arra utal, hogy a membránlipidek többszörös telítetlensége, különösen pedig a DHA aránya jelentősen befolyásolja a peroxidáció mértékét a madár pulmonáris foszfolipidjeiben.

3.1.3. A szöveti trigliceridek összetételének natív alakulása; a faj- és fajta azonosítás lehetőségei a TG molekulaszervezet részletes analizisére alapozva (regiospecifikus analízis)

3.1.3.1. A fajszerkezetű tulajdonságok elemzése, trigliceridek molekulaszervezeti vizsgálatára alapozva

Napjainkban egyre nagyobb és fontosabb feladat az állati termékek eredetének igazolása. A szöveti lipidek élelmiszertermékek szintjén már kevésbé alkalmasak az eredet igazolására, miután az adiposasejtek DNS tartalma alacsony, másrészt azok leginkább olvasztott állapotban tartalmazzák az állati zsírokat. Tudvalevő az is, hogy a takarmány hatása a neutrális lipidek összetételére nagyon markáns (3.1.4. fejezet), így a megbízható faj- vagy fajta azonosítás legtöbbször nem lehetséges. Jelen vizsgálat munkahipotézise az volt, hogy a faji szintű különbségeket a TG molekulaszervezetben részleteiben feltárjuk, majd az eredmények alapján faj elkülönböztési lehetőségeket vizsgáljuk, hét állatfaj (házasertés, vaddisznó, borz, nyúl, lúd, gím- és jávorszarvas) mintáira alapozva. A módszertan a trigliceridek részleges hidrolízisén és a zsírsavak helyzetspecifikus (1,3 és 2) összetételi elemzésén alapult.

Megállapítottuk, hogy fajtól függetlenül, de a sertés kivételével a 2-es helyzetben a zsírsavak láncossza meghaladja a TG-ek (és az 1,3 helyzet) savainak láncosságát. A sertések, a többi fajtól eltérően a 2-es helyzetben magasabb telítetlenséget mutattak, mint a triglicerid molekula 1,3 pozíciójában. Érdekes módon a vad és háziasított sertés genotípusok TG és 2MG zsírsavprofilja nem tért el jelentősebben. A TG molekula szerkezeti vizsgálatával igazoltuk azt a tapasztalati megfigyelést, hogy azonos szénláncosságú és telítetlenségű, de szimmetrikus és aszimmetrikus zsírsavak közül előbbiek preferáltan a triglicerid 2-es pozíciójában acileznek (12. ábra).



12. ábra Azonos lánc hosszúságú és telítetlenségű, szimmetrikus (C18:1 n9) és aszimmetrikus (C18:1 n11) zsírsavak glicerinnel való acilezési preferenciája, fajonként

A kidolgozott módszertan kis mintaigényű (ca. 50 mg TG, melyből a natív és a hidrolizált forma is elemezhető), viszonylag jól ismételhető, és jól kivitelezhető minden magas zsírtartalmú szövetmintán, vagy akár olvasztott zsírokon is. A módszer limitációjaként említhető annak nagy manuális munkaigénye és relatív magas labor költsége (extrakció, hidrolízis, vékonyrétegekromatográfia és mintánként két gázkromatográfiás analízis).

A módszer megbízhatóságát és „felbontását” a továbbiakban már nem fajok, hanem eltérő fajták elkülönítésén teszteltük (3.1.3.2.). A gyakorlatban nagyon sokszor merül fel ugyanis az a kérdés, hogy a hungarikumként számon tartott mangalica minták vagy termékek (különösen zsír és hús) elkülöníthetők-e a húsertések mintáitól.

3.1.3.2. A fajtaszintű eltérések vizsgálata sertés genotípusok trigliceridjeinek molekulaszervezeti vizsgálatával

Irodalmi és saját (3.1.3.1.) adatok alapján is ismert, hogy a zsírsavak elrendeződése a TG molekulán belül nem random. A sertés TG-ek speciális zsírsav-megoszlására, nevezetesen a centrálisan igen gyakori palmitinsav előfordulásra *Hilditch és Stainsby (Biochem. J., 1935, 29: 90-99)* már igen korán utalást tettek. Vizsgálatunk célja nemcsak az volt, hogy az eddigiekben kevésbé ismert szervek (szív- és vázizom, hátszalonna, tüdő, vese, máj és lép) esetében jellemezzük a TG és 2-monoglicerid (2MG) zsírsav-profil, hanem hogy esetleges fajta-elkülönítést (mangalica és húsertés) is lehetővé tegyünk. Az eredmények hat szervben mind a zsírsavprofil, mind

pedig az egyes zsírsavak helyzeti elrendeződése tekintetében a két fajtában meglehetősen hasonlóak voltak, a máj kivételével, ahol a palmitinsav nagy centrális előfordulási gyakorisága nem volt igazolható.

A sertés fajták TG-jeinek és 2MG-jeinek direkt analizésére alapozva igazoltuk a májban és további hat szervben, hogy a jellegzetes sertés TG mintázat a májat követően alakul ki. A fajták közötti eltérések minimálisak voltak, elsősorban a zsírszövetben találtunk megbízható elkülönítésre alapot adó különbséget, amennyiben a palmitinsav teljes mennyisége mangalicában a 2-es helyzetben fordult elő, míg hússertésben csak valamivel alacsonyabb 2-es helyzeti gyakoriságot igazoltunk (ca. 90%). A HMF és a regiospecifikus analízis, úgy tűnik, fajok szintjéig nyújt lehetőséget megbízható különbségtételre, a módszer felbontása a fajták közötti eltérések megállapítására már kevésbé volt alkalmas (amennyiben léteznek fajták közötti eltérések), még két távoli fajta esetében is.

3.1.4. A takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipid-frakciókba történő beépülésének (inkorporáció) vizsgálata, halakban

3.1.4.1. Afrikai harcsa (*Clarias gariepinus*) filé zsírsavösszetétele és húsmínősége, növényi olajok etetését követően

A takarmány-, illetve táplálékeredetű zsírsavak közül különösen a többszörösen telítetlen n3 csoportnak tulajdonítható kedvező táplálkozás-élet-tani hatás. A humán táplálkozás során felvett n3 zsírsavak jelentős része (elsősorban a hosszabb szénláncúak) halhúsból vagy haltermékekből származik. A haltakarmányozásban felhasznált zsírsavak napjainkra döntően nem hal, hanem növényi eredetűek, melyek hatékonysága a halhús előállításban még nem teljes mértékben ismert. Vizsgálatunkban a halolaj mellett a szója- és lenolaj afrikai harcsa filébe (annak teljes szöveti zsírsavprofiljába) történő beépülési ütemét, valamint az eltérő olajok filé minőségre gyakorolt hatásait elemeztük.

Megállapítottuk, hogy a halolaj részleges kiváltása („partial replacement”) növényi olajokkal nem befolyásolta hátrányosan az afrikai harcsa növekedési ütemét, míg a relatív magas n3 zsírsavbevitel fokozta a filé spontán (csepegési veszteség) és indukált (felengedtetési veszteség) víz-vesztési hajlamát. Az n3 zsírsavak metabolizmusában még a szokatlanul magas n3 prekursor bevitel sem eredményezett fokozott hosszúlancú n3 zsírsav szintetikus aktivitást afrikai harcsában. A filé zsírsav eredmények elemzésére az ún. zsírsav kihígulási modellt (2.3. fejezet) alkalmaztuk, a becslést a 3. heti adatokra vonatkozóan, a 6. heti adatsor mint referencia felhasználásával végeztük. Mind a növényi olajok, mind pedig a kontrollként alkalmazott halolaj főbb zsírsavainak filé osszlipidjeibe történő inkorporációja (mely igen hatékony volt) már igen rövid idő-intervallumban is relatív jól jellemezhetőnek bizonyult az egyszerű zsírsav kihígulási modell

alkalmazásával. Eredményeink elsősorban a befejező takarmányozás és a halhús zsírsavprofiljának optimális mértékű módosítása kapcsán lehetnek hasznosíthatók a gyakorlatban.

3.1.4.2. Növényi olajok szöveti lipidfrakciókba való beépülésének elemzése Nílusi tilápia (*Oreochromis niloticus*) szerveiben

A 3.1.4.1. fejezetben bemutatott adatállomány halhúsról és összlipidekre vonatkozóan mintegy igazolta, hogy a takarmányváltás során megváltozó lipid összetétel a zsírsavak szintjén a szöveti „pool” kihígulásához vezet. Az elemzés ugyanakkor több elhanyagolással is járt: nem elemezte külön a legfőbb lipidfrakciókat (trigliceridek és foszfolipidek), valamint a nem minden esetben magas zsírtartalmú filére irányult. A továbbiakban a depózsr, a máj, a filé és a gonádok elemzését végeztük el, lipidfrakciónként, és a fenténél többször mintázott (4 mintavételi időpont) etetési periódusban, tilápián. A testsúly a hatodik hét végére a csoportok között szignifikánsan eltért, a következő sorrendet követve: halolaj>lenolaj>szójaolaj kezelés. A halolaj etetés mellett a filé súlya (6. hét) is meghaladta a szójaolaj kezelésnél mért értékeket. A tilápia szövetek eltérő lipidfrakcióinak zsírsavprofiljában azt tapasztaltuk, hogy a takarmányeredetű növényi olajok zsírsavai nagyon nagy hatékonysággal, és sok esetben – az egyszerű kihígulási modellel - jól becsülhető mértékben épülnek be a tilápia filé és máj trigliceridekbe és foszfolipidekbe, de a két frakcióba eltérő arányban. Eredményeink szerint a tilápia képes a takarmányban biztosított zsírsav prekuzort (α -linolénsav) DHA-vá konvertálni, a filé trigliceridek vonatkozásában. Igazoltuk továbbá, hogy a takarmány lipidjei a telítetlenség mértékének megfelelően fokozzák a májbeli *in vivo* lipid peroxidációt.

4. Összefoglalás

A disszertációba foglalt eredmények 2004 óta elkészült, a legtöbb esetben az OTKA (D048413, 83150), az NKTH (4/023, 3/023) és az MTA (BO/108/07 és BO/26/11/4) által támogatott kutatási projektekből, a posztdoktori és az azt követő időszakból származnak és négy nagy témakörbe sorolhatók. Tekintettel arra, hogy ezek jelentősen elkülönülnek, a főbb eredményeket is négyes tagolásban foglalom össze.

4.1. Jelentősen eltérő energetikai állapotok metabolikus hatásainak jellemzése baromfifajok klinikai-kémiai vizsgálatával

Az általunk is alkalmazott klinikai-biokémiai módszertan az állatorvosi diagnosztikában széles körben elterjedt, kvázi rutin eljárás. Ennek ellenére saját, elsősorban baromfifajokon, több korcsoportban végzett rendszeres elemzéseink szinte hiánypótlónak számítottak, elsősorban a vizsgált (speciálisan kezelt vagy szelektált) állományok egyirányú szelekciója okán. A tojótyúkok mesterséges vedletése során részletesen jellemeztük azt a metabolikus és enzimátikus adaptációt, melyet a 12 napi teljes takarmánymegvonás indukált. A módszer alkalmas volt a lipid tartalékok kimerülésének fokozatos nyomon követésére, valamint a nagymértékű fehérje katabolizmus, illetve a csökkent fizikai aktivitás jellegzetes hatásainak pontos leírására. A hústermelésre szelektált brojler és pulyka állományokon végzett részletes, a felnevelés több időpontján kivitelezett elemzés mind a csontozat, mind pedig a nagy növekedési ütemű vázizomzat fejlődésének pontos jellemzésére volt alkalmas. Kiemelkedő fontosságú eredmény, hogy mindkét fajban már a kelést követően előrejelezhetőnek bizonyult a fokozott izom hipertrófia okozta szakrolemma sérülés (kreatin kináz). A módszertan nemcsak a patofiziológiás, hanem a normál élettani folyamatok (tojászik depláció, vedlés, lassuló osszifikáció) pontos kimutatását is lehetővé tette.

4.2. Az energetikai status hatása a szöveti lipid-frakciók zsírsavösszetételére madárfajokban

A 4.1. pontban vér biokémiai analízissel vizsgált madarak (speciálisan kezelt vagy szelektált állományok) olyan különleges energetikai sajátosságokkal vagy eltérésekkel rendelkeznek, melyek szervezetszintű adaptációt feltételeznek. A sejtmembránok szintjén fennálló lipid-fehérje interakciók okán a membránlipidek mint az anyagcsere ütemadói értelmezhetők, melyet *Hulbert és Else (J. Theor. Biol., 1999, 257–277)* átfogó elméletükben a membránlipid összetétel, a szöveti szintű anyagcsere, végül pedig a szer-

vezet alapanyagcsere intenzitásának korrelatív összefüggéseként értelmeztek. Az állandó testhőmérsékletű állatok szerveire vonatkozóan elsősorban emlős eredmények voltak elérhetők. A madarak, különösen pedig a rövid élettartamú, erős szöveti lipidperoxidációval jellemezhető baromfifajok körében szívizom, vese, máj, tüdő (teljes tüdő és parencyma) és surfactant struktúrális és szekretált foszfolipidekben igazoltuk a membránlipidek több zsírsavkomponensének szignifikáns testsúlyfüggését. Az általunk leírt összefüggések egybevágnak a metabolikus ütemdő elmélettel, bizonyos mértékben kiterjesztve azt (szekretált foszfolipidekre). A baromfifajok körében végzett elemzés során minden említett szövettípusban ismétlődően és megbízhatóan igazoltuk, hogy a testsúly (az azzal allometrikus kapcsolatban álló alapanyagcsere intenzitás révén) negatív kapcsolatban áll a membránlipidek dokozahexaénsav részarányával, mely pedig szignifikáns korrelációt mutat a szöveti lipidperoxidáció mértékével.

4.3. A szöveti trigliceridek összetételének natív alakulása; a faj- és fajta azonosítás lehetőségei a TG molekulaszervezet részletes analízisére alapozva (regiospecifikus analízis)

Első lépésben hét faj bóralatti zsírszövetében, majd pedig két, erősen eltérő sertésfajta hét szervének triglicerid tartalmában vizsgáltuk a triglicerid molekulaszervezetet (a zsírsavak helyzeti megoszlása), az esetlegesen fennálló faj-, illetve fajta-determinált eltérések kimutatására, illetve erre alapozva a faj- vagy fajta azonosítás lehetősége érdekében. A kidolgozott, részleges hidrolízisen és többszörös kromatográfiás elválasztáson alapuló mintaelőkészítés, majd a 2-monoglicerid és triglicerid frakciókra vonatkoztatott gázkromatográfiás eredmények értelmezésére új mutatót vezetünk be. Az ún. helyzeti megoszlási faktor a glicerint szélső és középső helyzetben észterező zsírsavak hányadosának logaritmusaként gyakorlatilag független a takarmányeredetű zsírsavaktól, ugyanis információtartalma a triglicerid molekula felépítésére irányul. A helyzeti megoszlási faktorra alapozva kérődző és monogasztrikus emlős és madár fajokban – mindenév, növényevő és ragadozó táplálkozás mellett – meghatároztuk a faji sajátosságokat a regiospecifikus zsírsavprofilban, faj-elkülönítést lehetővé téve. A módszer a sertésfajták megbízható elkülönítésére nem bizonyult alkalmasnak, igazoltuk ugyanakkor azt a bioszintetikus szabályosságot, mely szerint azonos szénláncosságú és telítetlenségű zsírsavak közül a szimmetrikus forma középső helyzeti acilezése preferált (a glicerín molekulán). Eredményeink a zsírszövet sajátosságai (alacsony oxidatív érzékenység) okán akár továbbfeldolgozott élelmiszer termékek eredetének igazolása során is alkalmazhatók lehetnek.

4.4. A takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipidfrakciókba történő beépülésének vizsgálata, halakban

Az n3 zsírsavak halolaj helyett növényi olajjal történő bevitele napjaink hal-takarmányozásában igen elterjedt módszer, mely alapvetően kihasználja a halak fokozott zsírsav-elongációs képességét. Részleteiben nem ismert ugyanakkor, hogy a nagymértékű n3 zsírsav bevitele milyen húsminőségi változásokkal jár, illetve hogy a zsírsavak inkorporációja milyen dinamikát mutat, különösen eltérő funkciójú és összetételű lipidfrakciók esetében. Vizsgálataink során igazoltuk, hogy a fokozott, növényi eredetű n3 zsírsavbevétel kedvezőtlenül hat a halhús víztartó képességére, illetve az egyszerű zsírsav kihígulási modell eredményeire alapozva ajánlást tettünk afrikai harcsa esetében a befejező takarmányozás hosszára vonatkozóan. Tilápia szöveti lipidfrakcióiban négyhetes etetési periódust követően jól becsülhető zsírsav beépülési ütemet igazoltunk, mely jól egybevágtott az afrikai harcsa esetében tapasztaltakkal, ugyanakkor erősen fokozta a szöveti lipidperoxidációt, ezzel negatívan befolyásolva a hal-eredetű termék minőségét, oxidatív stabilitását.

5. Új tudományos eredmények

5.1. Jelentősen eltérő energetikai állapotok metabolikus hatásainak jellemzése baromfifajok klinikai-kémiai vizsgálatával

» Tojótúyúkok mesterséges vedletése mint erősen energiahányos állapot idején részletesen jellemeztük a madarak metabolikus reakcióit, vér biokémiai paraméterekre alapozva.

» Nagy növekedési erélyű, hústermelő pulyka és brojlercsirke állományokban széleskörű, screening jellegű klinikai-kémiai adatállományt közöltünk, a teljes felnevelési periódusra vonatkozóan és felhívtuk a figyelmet a hústermelésre irányuló, egyoldalú szelekció káros hatásaira (kreatin kináz, K, laktát dehidrogenáz).

5.2. Az energetikai status hatása a szöveti lipid-frakciók zsírsavösszetételére madárfajokban

» Elsőként igazoltuk, hogy a madárszív membrán lipidek zsírsavösszetétele, a szöveti malondialdehid tartalom és a testsúly között szoros, allometrikus összefüggés áll fenn.

» Elsőként közöltünk adatokat a madár vese, teljes tüdő és máj összes foszfolipid frakció zsírsavprofilja, valamint az *in vivo* lipidperoxidáció és a testsúly szignifikáns, allometrikus összefüggésére vonatkozóan.

» Elsőként igazoltuk, hogy a teljes madár tüdőben mind a parenchyma, mind pedig a surfactant foszfolipidek zsírsavprofilja (strukturális és szekretált foszfolipidek) szignifikáns, allometrikus összetételi szabályosságokat mutat, melyben meghatározó a dokozahexaénsav részarányának negatív allometrikus alakulása.

5.3. A szöveti trigliceridek összetételének natív alakulása; a faj- és fajta azonosítás lehetőségei a TG molekulaszervezet részletes analízisére alapozva (regiospecifikus analízis)

» Hatékony módszert fejlesztettünk a szöveti trigliceridek fajonkénti eltéréseinek vizsgálatára, lehetőséget biztosítva a fajok mintáinak megbízható elkülönítésére is, egy olyan szövettípusban, mely genetikai vizsgálatokra kevésbé alkalmas.

5.4. A takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipidfrakciókba történő beépülésének vizsgálata, halakban

» Igazoltuk, hogy afrikai harcsa filéjében a fokozott takarmányeredetű n3 zsírsavbevitel jelentősen és részben kedvezőtlenül módosítja a húsminőséget, a zsírsavak inkorporációja pedig jól becsülhető a zsírsav kihígulási modell segítségével.

» Igazoltuk, hogy nemcsak a ragadozó, hanem növényevő halakban, azok több szövetének főbb lipidfrakcióiban jelentős és jól előrejelezhető arány-összetételi változást idéznek elő a takarmányeredetű n3 zsírsavak.

6. A gyakorlatban hasznosítható eredmények

6.1. Jelentősen eltérő energetikai állapotok metabolikus hatásainak jellemzése baromfifajok klinikai-kémiai vizsgálatával

» Tojótyúk esetében a korábban széles körben alkalmazott és azóta betiltott, teljes takarmánymegvonáson alapuló mesterséges vedletési módszer kedvezőtlen élettani hatásaira vonatkozó adatokat közöltünk.

» Intenzív hústermelésre szelektált brojler és pulyka vonalakban átfogó jellemzést adtunk speciális baromfi populációk klinikai-kémiai paramétereiről, több korcsoportban, mely a termelő állományok szintjén referenciaként alkalmazhatónak bizonyult.

6.2. Az energetikai status hatásának elemzése a szöveti lipidfrakciók zsírsavösszetételére madárfajokban

» A pulyka mellizomzati membránlipidek atipikus összetételi változása a felnevelés alatt (kapcsolódva a vér klinikai-kémiai paramétereire vonatkozó adatokhoz) felhívja a figyelmet e nagy növekedési erélyű madárfaj szelekciójának határozottan káros (és részleteiben eddig ismeretlen) hatásaira.

» A testméret, a metabolikusan aktív szervek membránlipid zsírsavösszetétele és a szöveti lipidperoxidáció mértékének szoros összefüggése elsősorban a várható élettartam és a peroxidatív károsodás kapcsán biztosít új, becslésekre is alkalmas adatállományt.

6.3. A szöveti trigliceridek összetételének natív alakulásána leírásak a faj- és fajta azonosítás lehetőségeinek felmérése érdekében

» A szöveti trigliceridek fajonkénti eltéréseinek feltárása friss, tárolt és továbbfeldolgozott (esetleg termékbe kevert) zsírok esetében is alkalmazható módszertan, mely a termékek eredetazonosításában jelentős támpont lehet, elsősorban az élelmiszeriáparban (de akár igazságügyi vizsgálatok is felmerülhetnek). Fontos kiegészítés, hogy a kidolgozott módszer akár olvasztással nyert állati zsíradékokon is alkalmazható, egy olyan, jelentős mennyiségben előálló állati terméken, mely esetében a genetikai alapú fajmeghatározás nem lehetséges.

6.4. A takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipidfrakciókba történő beépülésének vizsgálata, halakban

» A takarmányeredetű n3 zsírsavak fokozott és időzített, vagy meghatározott időtartamú bevitele, illetve a várható szöveti zsírsavprofil pontos becsülhetősége nagyban segíti a befejező takarmányozás optimalizálását. A kihígulási modell alkalmazása a bevont paraméterekre alapozva költséges analitikai eljárást, a gázkromatográfiás zsírsavprofil elemzést segít kiváltani egyszerű súlyméréssel.

7. A tézisek fejezeteinek megfeleltethető saját publikációk listája

7.1.1. Eltérő energetikai állapotok metabolikus hatásainak jellemzése baromfifajok klinikai-kémiai vizsgálatával

7.1.1.1. Tojóttyúk mesterséges vedletése, a koplalás vérparaméterekkel történő nyomonkövetése

Romvári, R., Szabó, A., Andrassy-Baka, G., Sütő, Z. Molnár, T., Bázár, Gy., Horn, P. (2005): Tracking forced moult by computer tomography and serum biochemical parameters in laying hens. Arch. Geflügelk. 69(6):245-251.

7.1.1.2. Hústermelésre szelektált pulyka vér biokémiai paramétereinek nyomon követése, a keléstől a vágásig

Szabó, A., Mézes, M., Horn, P., Sütő, Z., Romvári, R. (2005): Developmental dynamics of some blood biochemical parameters in the growing turkey (*Meleagris gallopavo*). Acta Vet. Hung. 53(4):397-409.

7.1.1.3. A brojlercsirke kliniko-kémiai vizsgálata („follow-up”) a teljes felnevelés alatt

Szabó, A., Milisits, G. (2007): Clinicochemical follow-up of broiler rearing - a five-week study. Acta Vet. Hung. 55(4):451-462.

7.1.2. Az energetikai status hatása a szöveti lipidfrakciók zsírsavösszetételére madárfajokban

7.1.2.1. Tojóttyúkok mesterséges vedletése, a drasztikus energiamegvonás hatása a máj és szív eltérő lipidfrakcióinak (triglicerid és foszfolipid) összetételére

Szabó, A., Fébel, H., Mézes, M., Horn, P., Balogh, K., Romvári, R. (2005): Differential utilization of hepatic and myocardial fatty acids during forced moult of laying hens. Poultry Sci. 84(1):106-112.

7.1.2.2. Pulyka mellizom membránlipidek ontogenezis alatti változásainak leírása

Szabó, A., Fébel, H., Horn, P., Bázár, Gy., Romvári, R. (2006): Ontogenic development of the fatty acyl chain composition of the turkey (*Meleagris gallopavo*) pectoralis muscle membranes (an allometric approach). Acta Biol. Hung. 57(2):165-180.

7.1.2.3. Eltérő kifejlett kori testsúlyú madárfajok szívizmának membránlipidjei, allometrikus analízis

Szabó, A., Fébel, H., Mézes, M., Balogh, K., Horn, P., Romvári, R. (2006): Body size related adaptations of the avian myocardial phospholipid fatty acyl chain composition. Comp. Biochem. Physiol. B. 144(4):496-502.

7.1.2.4. Eltérő kifejlett kori testsúlyú madárfajok tüdő, vese, máj és agy foszfolipid zsírsavprofiljának allometrikus elemzése

Szabó, A., Mézes, M., Romvári, R., Fébel, H. (2010): Allometric scaling

of fatty acyl chains in fowl liver, lung and kidney but not in brain phospholipids. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 155(3):301-308.

7.1.2.5. A tüdő parenchymalis és surfactant foszfolipidjeinek allometrikus elemzése baromffajokban

Szabó, A., Mézes, M., Balogh, K., Romvári, R., Horn, P., Fébel, H. (2012): Negative allometry of docosahexaenoic acid in the fowl lung and pulmonary surfactant phospholipids. *Acta Biol. Hung.* 63(2):202-217.

7.1.3. A szöveti trigliceridek összetételének natív alakulása; a faj- és fajta azonosítás lehetőségei a TG molekulaszervezet részletes analizésére alapozva (regiospecifikus analízis)

7.1.3.1. A fajspecifikus tulajdonságok elemzése trigliceridek molekulaszervezeti vizsgálatára alapozva

Szabó, A., Fébel, H., Sugár, L., Romvári, R. (2007): Fatty acid regiodistribution analysis of divergent animal triacylglycerol samples – a possible approach for species differentiation. *J. Food Lipids.* 14(1):62-77.

7.1.3.2. A fajtaszintű eltérések vizsgálata sertés genotípusok trigliceridjeinek molekulaszervezeti vizsgálatával

Szabó, A., Horn, P., Romvári, R., Házas, Z., Fébel, H. (2010): Comparison of Mangalica and Hungarian Large White pigs at identical bodyweight II. – Fatty acid regiodistribution analysis of the triacylglycerols. *Archiv für Tierzucht.* 53(2):147-161.

7.1.4. A takarmányeredetű zsírsavak szöveti lipidekbe és lipidfrakciókba történő beépülésének (inkorporáció) vizsgálata, alakban

7.1.4.1. Afrikai harcsa filé zsírsavösszetétele és húsminősége, növényi olajok etetését követően

Szabó, A., Romvári, R., Szathmári, L., Molnár, T., Locsmándi, L., Bázár, Gy., Molnár, E., Horn, P., Hancz, Cs. (2009): Effects of dietary vegetable oil supplementation on fillet quality traits, chemical and fatty acid composition of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Archiv für Tierzucht.* 52: 321-333.

7.1.4.2. Növényi olajok szöveti lipidfrakciókba való beépülésének elemzése Nílusi tilápia (*Oreochromis niloticus*) szerveiben

Szabó, A., Mézes, M., Hancz, Cs., Molnár, T., Romvári, R., Varga, D., Fébel, H. (2011): Incorporation dynamics of dietary vegetable oil fatty acids into the triacylglycerols and phospholipids of tilapia (*Oreochromis niloticus*) tissues (fillet, liver, visceral fat and gonads). *Aquaculture Nutrition.* (17):132-147.

8. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni Horn Péter akadémikus és Romvári Róbert professzor úrknak azért az 1998 óta nyújtott önzetlen szakmai és erkölcsi támogatásért, mely nélkül sem a bemutatott munka, sem a dolgozat nem készült volna el. Köszönöm mentoraimnak, Kovács Melinda akadémikus asszonynak és Sarudi Imre professzor úrnak a szemléletformáló tanítást! Ezúton szeretném őszinte köszönetemet kifejezni Szendrő Zsolt professzor úrnak támogatásáért, Dr. Fébel Hedvignek az analitikai munkáért, Mézes Miklós akadémikus úrnak a lipidperoxidációval kapcsolatos segítségéért. Az egyetemi források mellett OTKA Iroda és az Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíj Kuratóriuma a bemutatott eredmények megteremtését öt, illetve hat éves időszakokban támogatta, amiért e helyen is köszönetet mondok.

Külön köszönettel és hálával tartozom Családomnak és Szüleimnek, türelmükért és toleranciájukért.