

KAPOSVÁRI EGYETEM
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR
Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet

Doktori iskola vezetője:
Dr. Horn Péter
az MTA rendes tagja

Témavezető:
Dr. Romvári Róbert
egyetemi docens

**FIZIKAI AKTIVITÁS ÉS A TAKARMÁNY ZSÍRFORRÁSAINAK HATÁSA
A NYÚL IZOM ZSÍRSAVÖSSZETÉTELÉRE**

Készítette:
Szabó András

KAPOSVÁR

2004

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	1
1.1. Előzmények	1
1.2. Célkitűzések	2
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. A lipidekről általában	4
2.1.1. Zsírok osztályozása	4
2.1.2. A zsírsavak lebontási folyamatai (β -oxidáció)	5
2.1.3. Zsírsv szintézis emlősökben	6
2.2.1. A zsírok emésztése és felszívódása monogasztrikusokban	8
2.2.2. A máj szerepe a zsíryanycserében	9
2.2.3. A nyúl zsíremésztésének és metabolizmusának sajátosságai	9
2.3. A zsírok és szénhidrátok anyagforgalma normál életeti állapotban és rendszeres terhelés alatt	10
2.3.1. A terhelés időtartama, intenzitása	10
2.3.2. Tréning- okozta módosulások a szénhidrátok és zsírok felhasználásában (a szubsztrátsorrend változásai)	11
2.3.3. A plazma szabad zsírsav metabolizmusa	13
2.3.3.1. FFA mobilizáció	13
2.3.3.1.1. Depószelektív zsírmobilizáció	14
2.3.3.1.2. Zsírsvszelektív mobilizáció zsírsejtekből	15
2.3.3.2. FFA transzport a vérplazmában	15
2.3.3.3. FFA transzport a plazmamembránon át	16
2.3.3.4. FFA transzport a citoszolban	17
2.3.3.5. A szabad zsírsavak intracelluláris anyagcseréje	17
2.3.4. Az intramuscularis trigliceridek felhasználása	18
2.3.4.1. Zsírsavak szelektív oxidációja az izomsejtekben	20
2.3.5. A plazma trigliceridek anyagcseréje terhelés alatt	21
2.3.6. A membránanyagcsere változásai	22
2.3.6.1. A membrán zsírsvösszetételének változásai tréning következtében	22
2.3.6.2. Az arachidonsav, mint a membrán minőségi változásainak indikátora	24
2.3.7. Enzimaktivitás-változások az adaptáció kapcsán	24
2.3.7.1. A laktát dehidrogenáz	25
2.3.7.2. A kreatin kináz	25
2.3.7.3. Az alkalikus foszfatáz	26
2.3.7.4. A szöveti oxidatív stabilitással összefüggő enzimek aktivitása	26
2.3.8. Ivari eltérések a terhelés alatti anyagcserében	26
2.3.9. Humán és állaton végzett terheléses kísérletek elvi különbségei	27
3. Anyag és módszer	30
3.1. Kísérleti állatok, tartás	30
3.2. Takarmányozás	30
3.3. Kísérleti beállítások	31
3.3.1. "Treadmill" terheléses vizsgálat	31
3.3.2. Elektromos stimuláció (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, TENS)	31
3.3.3. A takarmányeredetű zsírsavak be- és átépülésének vizsgálata	32
3.4. Izom mintavétel	32
3.5. Vérminták	33
3.6. A kísérletek engedélyezése	33
3.7. Laboratóriumi analízisek	34
3.7.1. Izomminták zsírsvösszetételének gázkromatográfiás meghatározása	34
3.7.2. Foszfolipid frakcionálás izmok komplex lipidtartalmából	34
3.7.3. Triglicerid frakcionálás izmok komplex lipidtartalmából	34
3.7.4. Malondialdehid koncentráció mérés	35
3.7.5. Vörösvértest membrán izoláció	35
3.7.6. Klinikai kémiai mérések	35
3.8. Alkalmazott statisztikai módszerek	36

4. Eredmények és értékelésük	38
4.1. A treadmill kísérlet - rendszeres aerob fizikai terhelés	38
4.1.1. A futás sajátosságai	38
4.1.2. A <i>m. longissimus dorsi</i> zsírsavösszetétele treadmill kezelést követően	38
4.1.3. A <i>m. vastus lateralis</i> zsírsavösszetétele a tréninget követően	40
4.1.4. A páratlan szánlánc-hosszúságú zsírsavak	41
4.1.5. A vörösvértest membrán zsírsavösszetétele	42
4.1.6. Plazma laktát dehidrogenáz aktivitás	43
4.1.7. A <i>m. quadriceps femoris</i> foszfolipidjeinek zsírsavösszetétele a tréninget követően	43
4.1.8. A <i>m. quadriceps femoris</i> trigliceridjeinek zsírsavösszetétele	45
4.2. A növekedéknyulak rendszeres terhelésre adott metabolikus reakciói	47
4.2.1. Szérum metabolitokban mért változások	48
4.2.2. A szérum enzimek aktivitásában mért változások	51
4.3. Elektromos stimulációs kísérlet (TENS)	52
4.3.1. A kezelés sajátosságai	52
4.3.2. A TENS hatása a m.l.d. zsírsavösszetételére, telítetlen zsírsavkiegészítés mellett	53
4.3.3. A TENS hatása a malondialdehid koncentrációra, telítetlen zsírsavkiegészítés mellett	57
4.3.4. A TENS kezelés hatása a zsírsavösszetételre telített zsírsavkiegészítés mellett	57
4.3.5. A TENS hatása a malondialdehid koncentrációra telített zsírsavkiegészítés mellett	58
4.3.6. A TENS kezelés hatása a m.l.d. foszfolipidjeinek zsírsavprofiljára	59
4.3.7. A TENS kezelés hatása m.l.d.-trigliceridek zsírsavprofiljára	62
4.4. Klinikai kémiai paraméterek krónikus TENS kezelés mellett	64
4.4.1. Szérum metabolitok	64
4.4.2. Szérum enzimek aktivitása TENS kezelés mellett	65
4.5. A takarmányeredetű zsírsavak be- és átépülésének vizsgálata	66
4.5.1. A SAT-UNSAT takarmányváltás	67
4.5.2. Malondialdehid koncentráció	69
4.5.3. A plazma összlipid, FFA, TG és koleszterin koncentráció változásai	70
4.5.4. Az UNSAT - SAT takarmányváltás hatása a m.l.d. zsírsavösszetételére	71
4.5.5. Malondialdehid koncentráció	72
4.5.6. A plazma lipidek koncentráció-változásai UNSAT-SAT takarmány-váltást követően	73
4.5.7. Prekurzor-termék zsírsavak kapcsolata a kétféle takarmányváltást követően	73
5. Következtetések, javaslatok	76
6. Új tudományos eredmények	78
7. Összefoglalás	79
7.1. Treadmill terheléses vizsgálatok	79
7.2. Elektromos stimulációs vizsgálatok	81
7.3. Takarmány-zsírsav vizsgálatok	82
8. Summary	84
8.1. Treadmill exercise investigations	84
8.2. Investigations on electrical miostimulation	86
8.3. Experiments on dietary fatty acids	87
9. Köszönetnyilvánítás	89
10. Irodalomjegyzék	90
11. A disszertáció témakörében megjelent publikációk	99
12. A disszertáció témakörén kívül megjelent publikációk	101
13. Szakmai önéletrajz	103
14. Mellékletek	104

1. Bevezetés

A táplálkozástudomány rohamos fejlődésével összhangban az állati eredetű termékek vizsgálatában egyre hangsúlyosabb szerepet kapnak biokémiai, illetve élettani szempontok. A humán táplálkozásban az összes felvett zsírsav 32-35%-a származik húsfélékből, 20-22%-a zsírféleségekből és közel 10%-a tejtermékekből (www.barc.usda.gov/bhnrc/foodsurvey/home.htm). Miután zsírsavellátásunk több, mint felét az állati termékek biztosítják, fokozott figyelmet kell fordítanunk azok összetételére, különös tekintettel az esszenciális zsírsavak előfordulására.

Bár jelen munka sem terjedelmében, sem lehetőségeit tekintve nem tekinthető átfogónak, mégis arra volt kísérlet, hogy megmutassa az izom zsírsavösszetételének bizonyos környezeti tényezők hatására bekövetkező meglepően nagy változatosságát. Az izom zsírsavprofiljának változása élettani szempontból igen fontos, összetett adaptációs folyamatra utal. A kérdéskör viszonylag széles körben kutatott, munkámban ezen belül mindenek előtt a fokozott fizikai aktivitás- és a takarmány zsírforrásainak hatásaira koncentráltam. A kísérletek során alkalmazott emelt szintű terhelés és az elektromos kezelés eltérő céllal ugyan, de ismert módszerek. A kísérletekben az említett két metodikát alkalmaztam, a hús vizsgálatában pedig elsősorban biokémiai módszereket választottam. Feladatomban egyrészt könnyű volt, hiszen a húsminőség fogalomköre meglehetősen tág, napjainkban sem pontosan definiált. Emellett azonban olyan vizsgálati módszert kellett választanom, mely megfelelően nagy mintaszámon is végezhető, ugyanakkor túlmutat a hagyományos húsvizsgálati metodikán.

A zsírsav-metabolizmus kutatásban alkalmazott módszerek és a felhasznált takarmányok egyre inkább a gyakorlatban elterjedtekhez közelítenek. Egyre kevésbé jellemző az *in vitro* modellezés, a nagy tisztaságú komponensek elkülönített bevitele. A vezető kutatóhelyek széles körben elterjedt készítményeket (pl. olaj, margarin), azok beépülését és további anyagforgalmát vizsgálják, amit a kísérletes munka során figyelembe vettem. Jelen vizsgálat sorozatban a fentiek mellett az Európai Unió szabályrendszeréhez is igazodni kellett, mind az alkalmazott takarmányozási protokoll, mind pedig a kísérletek engedélyezési eljárása során.

1.1. Előzmények

Az izom egyes lipidfrakcióinak terhelés alatti felhasználását, összetételbeli módosulását számos humán, elsősorban sportélettani közlemény dolgozza fel. Az intramuscularis trigliceridek (TG) igen nagy határfokkal történő oxidációjáról *Havel és mtsai (1967)* már korán beszámoltak, az izomban oxidált szabad zsírsavak (FFA) forrása azonban emellett adiposa szövet is lehet. *Dyck és mtsai (2000)* számoltak be részletesen a kétfajta FFA forrás felhasználásának arányáról emberben. A TG hidrolízis kapcsán *McClelland és*

mtsai (1995), valamint *Raclot és mtsai (1995)* nagyfokú zsírsav-szelektivitásra hívták fel a figyelmet, plazmából, illetve zsírsejtek tápoldatából mérve. A vázizom másik fő lipidfrakciójában, a foszfolipidekben *Helge és mtsai (1999)* először patkányban, majd *Andersson és mtsai (2000)* emberben is kimutatták a zsírsavprofil tréninghatásra történő jellegzetes módosulását. *Maldonado és mtsai (2002)* egér vázizom foszfolipidekben igen nagyfokú reverzibilitást mutattak ki takarmányváltásokat követően. Az említett források arra utalnak, hogy a teljes lipidtartalom zsírsavösszetétele igen hatékonyan módosítható, mind takarmányozás, mind pedig megemelt aktivitás által. A húsminőség jellemzése mellett a vizsgálatokat fokozatosan kiterjesztettük a takarmányeredetű zsírsavakra, illetve a terhelésre adott metabolikus reakciókra is. A terhelés alatti kilomikron TG felhasználás kapcsán elsősorban *Turcotte (1999)* eredményei voltak mérvadóak. A takarmány zsírforrásának változtatása, illetve ennek hatása a vérparaméterekre elsődlegesen *Hodson és mtsai (2001)* munkája alapján volt tisztázott. Gyakorlatilag a fent említett eredmények adtak szakmai, tudományos alapot saját kísérleteimhez.

Munkámat jelentősen segítette, hogy a Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet a képző tevékenység mellett számos olyan programban vett részt, melyek a hagyományos értelemben vett húsminőség vizsgálatához kapcsolódtak. A lipid analitikai elemzésekre az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet Élettani Osztályán került sor, a korábbi együttműködésre alapozva. Szerencsés körülmény volt az is, hogy Karunk Kisállattenyésztési Tanszéke számos nemzetközi kapcsolata mellett a COST 848-as programban is részt vesz. E program a kutatást ugyan közvetlenül nem, viszont a kutatók kapcsolattartását, ezáltal a közös munka megszervezését támogatja. Ennek keretében a Padovai Egyetem Zootechnikai tanszékével szoros együttműködés alakult ki, mely számomra is kedvező lehetőségeket biztosított. A nyúlön végzett kutatásokban a Kisállattenyésztési Tanszék igen széles körű tapasztalattal rendelkezik, mely közvetlenül segítette munkámat.

1.2. Célkitűzések

Doktori munkám keretében mindenekelőtt arra kerestem a választ, hogy megváltozik-e számottevően a nyúl vázizom (pontosabban az abban levő lipidek, valamint az azon belüli trigliceridek és foszfolipidek) zsírsavösszetétele, továbbá a szérumban levő egyes metabolitok és enzimek koncentrációja, illetve aktivitása viszonylag enyhe, de periodikusan ismétlődő dinamikus igénybevétel hatására. Hasonló részletességgel kívántam elemezni azt is, hogy befolyásolja-e a transcutan elektromos stimuláció (TENS) a zsírsavprofil és a zsírsavanyagcsere közvetlen kapcsolatban levő vérparamétereket. A fentiekben kívül telítetlen, illetve telített zsírsavakkal kiegészített kísérleti takarmányok etetését követően a vázizom zsírsavösszetételét, valamint a takarmányváltást követő átépülési folyamatot kívántam elemezni.

A fenti célkitűzések érdekében összetett kísérletsorozatot végeztünk, melyben az alábbi részletes céloknak megfelelően a következőket kívántuk elemezni:

Rendszeres, alacsony intenzitású tréning hatásának vizsgálata nyúl vázizmának zsírsavösszetételére (teljes izomhomogenizátum zsírtartalmából, valamint izolált foszfolipidekből és trigliceridekből meghatározva).

Ugyanezen terhelési protokoll hatásának részletes elemzése, sorozatos mintavételekkel, szérum metabolitok és enzimek segítségével.

Rendszeresen végzett transcutan elektromos stimuláció (TENS) hatásának leírása nyúl vázizom zsírsavösszetételére (izom teljes lipidtartalmából, valamint izolált foszfolipidekből és trigliceridekből meghatározva).

A TENS kezelési protokoll hatásának elemzése szérum klinikai-kémiai paraméterek alapján növendéknyulakban, sorozatos mintavételekkel.

Takarmánnyal bevitt telítetlen, illetve telített zsírsavak vázizomba történő beépülésének nyomonkövetése, valamint a takarmányváltást követő átépülés jellemzése, teljes izom zsírtartalmából vizsgálva.

2. Irodalmi áttekintés

Az irodalmi áttekintésben a zsírokat, mint a szervezet alapvetően fontos vegyületeit jellemzem. Miután a zsíryanycsere a rendszeres terhelés következtében jelentősen módosul, a következő fejezetben ezen változások részletesebb elemzése volt a célom. Végül a terhelésélettan néhány érdekes, összehasonlító élettani aspektusára térek ki.

2.1. A lipidekről általában

2.1.1. Zsírok osztályozása

Az élő szövetekben levő zsírszerű anyagok, más néven lipidek közös tulajdonsága, hogy vízben nem vagy csak alig oldódnak, apoláros oldószerek segítségével viszont rendszerint könnyen kivonhatók a biológiai eredetű mátrixokból. Az ide tartozó vegyületek kémiai szerkezete, fizikai és kémiai tulajdonságai, valamint élettani funkciói meglehetősen sokfélék. Csoportosításuk egyik leglényegesebb szempontja a lúgos közegű hidrolizálhatóság, melynek megléte esetén összetett lipidekről, annak hiányában pedig egyszerű lipidekről (azaz elszappanosítható, illetve el nem szappanosítható lipidekről) van szó. Az utóbbiak közé tartoznak a szabad zsírsavak, a különböző izoprénvázas vegyületek (szterinek, karotinoidok, monoterpének, stb.) és a tokoferolok. Az acilglicerineket (azaz a glicerin mono-, di- és triacil-észtereit), a foszfolipideket vagy más elnevezéssel foszfatidokat (foszfatidil-kolin, foszfatidil-szerin, foszfatidil-etanolamin, foszfatidil-inozit, stb.), a glikolipideket, a diollipideket, a viaszokat és a szterinésztereket viszont az összetett lipidek közé soroljuk (*Belitz és Grosch, 1985*). Doktori témám szempontjából a triacil-glicerinek (**trigliceridek**), a **foszfolipidek**, a **koleszterin** és a **szabad zsírsavak** fontosak.

A **zsírsavak** ugyan szabad formában (nem észterkötésben) nemcsak a plazmában, hanem az izomban is előfordulnak, de az izom membránlipidek és a trigliceridek alkotóiként is igen fontosak. Szintézisük kétszénatomos (C2) molekulákból történik, így a páros szénatomszámú zsírsavak a leggyakoribbak a szervezetben. Megkülönböztetünk telített és telítetlen zsírsavakat. A zsírsavmolekulákban levő kettős kötések legtöbbször cisz konfigurációjúak, s ha kettő vagy több van belőlük, közöttük metilén-csoportok foglalnak helyet. Az emlős szervezetben telített és monoén (egyszeresen telítetlen) zsírsavak szintetizálódnak; utóbbit egy monooxigenáz enzim katalizálja és $\Delta 9$ helyzetű kettős kötést hoz létre. A kilencedik szénatomot követő kettős kötések lánchosszabítással (elongáz komplex enzim) jöhetnek létre. Egyes zsírsavak esszencialitása a kettős kötések kialakítására képes enzimrendszer hiányából adódik.

A telítetlen zsírsavak megnevezése a dolgozatban a biológiai szakirodalomban használatos módon történt. Az egyes polién zsírsavak rövid jelölése eszerint a szénlánc

hosszát, a telítetlen kötések számát és a terminális metil-csoporttól számolva az utolsó kettős kötés helyét tartalmazzák. Ennek megfelelően metilén-csoport választja el az egyes telítetlen kötések, azzal a kiegészítéssel, hogy a konjugált és transz zsírsavak nem képezték a dolgozat tárgyát. A szintézis leírása során praktikus okok miatt a szénatomok számozása a karboxil-csoporttól kezdődik, az első szénatomtól számított távolságot ott Δ jelzi.

Az n-6 zsírsavak közül emlősök számára a linolsav (C18:2 n-6) esszenciális, mely számos további n-6 zsírsav (pl. γ -linolénsav és arachidonsav) prekursora. Az n-3 csoportból az α -linolénsav (C18:3 n-3), az eikozapentaénsav (20:5 n-3) és a dokozaheptaénsav (C22:6 n-3) esszenciális. A fent említett nélkülözhetetlen zsírsavak növényi olajokban általában nagy mennyiségben megtalálhatók (pl. lenolajban a linolsav, napraforgóolajban α -linolénsav).

A **trigliceridek** (TG) a glicerinnel zsírsavakkal alkotott teljes észterei. Elsődlegesen tartalék tápanyag szerepét töltik be az emlősökben. A zsírszövetet építő adiposa sejtekben ilyen formában tárolódik a zsír, ami energiahány esetén lipolízissel bomlik, a felszabaduló zsírsavak pedig az energiatermelésben hasznosulnak. Az emlősök számos szövettípusában található trigliceridek, például zsír- és izomszövetben, vérben és tejben, míg biológiai membránokban nem fordulnak elő. A membrán-struktúrák lipid részét leginkább a **foszfogliceridek** adják, melyekben a glicerinnel α -szénatomját foszforsav észteresíti. Emiatt amfipatikus molekulák a foszfogliceridek, és így membránképzésre is alkalmasak. A foszfogliceridek igen változatos csoportját adják a lipideknek. Alapmolekulájuk a foszfátidilsav, a foszfogliceridek egyéb származékait (foszfátidil-szerin, foszfátidil-etanolamin, foszfátidil-kolin, foszfátidil-inozitol) a foszfátidilsav foszfátcsoportja és különböző alkoholok észterképzéséből származtatjuk.

Bár saját vizsgálataink során csak a plazma **összkoleszterin** szintjét mértük, mindenképp fontos lipid csoportnak tekinthető ez is. Mint számos más szteránvázis molekulában, a koleszterinben is egy 5 és egy 6 tagú cikloparaffin rész található kondenzált formában. Szintézise C2-es egységekből valósul meg, jelentősége pedig a különböző szteránvázis vegyületek kiindulási anyagaként nagy. Csak állati szövetekben fordul elő.

2.1.2. A zsírsavak lebontási folyamatai (β -oxidáció)

A β -oxidáció a zsírsavakból történő energianyerés folyamata. Szervek szintjén a máj, a vesék, a szív- és vázizom, valamint a depózsír jelentős, a sejtben pedig a mitokondrium az oxidációs folyamat helye. A *“Zsírsavak szelektív oxidációja izomsejtekben”* fejezetnek (2.3.4.1.) megfelelően a 4-10 szénláncos **telített zsírsavak (páros szénatomszám)** igen könnyen jutnak át a mitokondrium membránra; az anyagcserében azonban csak aktivált formában vesznek részt, melyet egy tiokináz (acil-SCoA-

szintetáz) enzim katalizál. Az aktivációt követően transz-acil-SCoA keletkezik, amit az acil-SCoA-dehidrogenáz katalizál, ezt követően pedig a krotonáz enzim segítségével β -hidroxiacil-SCoA képződik. Az oxidáció befejező lépése a képződött acil lánc két utolsó szénatomjának lehasítása.

A **hosszabb (C10<) láncú telített zsírsavak** oxidációja a fenti ciklusok számában, valamint a mitokondriumba jutás módjában különbözik, hiszen a membrántranszport ott karriermediált folyamat. A **páratlan szénatomszámú zsírsavak** leggyakrabban szintén karrier segítségével jutnak a mitokondriumba, oxidációjuk azonban nem C2-es, hanem egy C3-as egységet is jelent, azaz propionil-SCoA válik le a folyamat végén. Ez metilmalonil-SCoA köztes lépést követően izomerizációval szukcinil-SCoA-vá alakul, ami pedig szukcináttá, a citrát ciklus egyik vegyületévé alakul.

A **telítetlen zsírsavak** β -oxidációja a telítetlen kötésig a telített zsírsavakkal azonos módon történik, innen pedig két lehetőség áll fenn: a kettős kötés nem $\Delta 2$, hanem $\Delta 3$ pozíciójű vagy az nem cisz állású. Első esetben az enoil-SCoA-izomeráz a $\Delta 3$ -ból $\Delta 2$ pozíciót alakít ki. Az α - β helyzet helyett az enoil-SCoA-hidratáz Δ -3-hidroxiacil-SCoA-t állít elő, mely egy epimeráz segítségével β -hidroxiacil-SCoA-vá alakul.

2.1.3. Zsírsavsintézis emlősökben

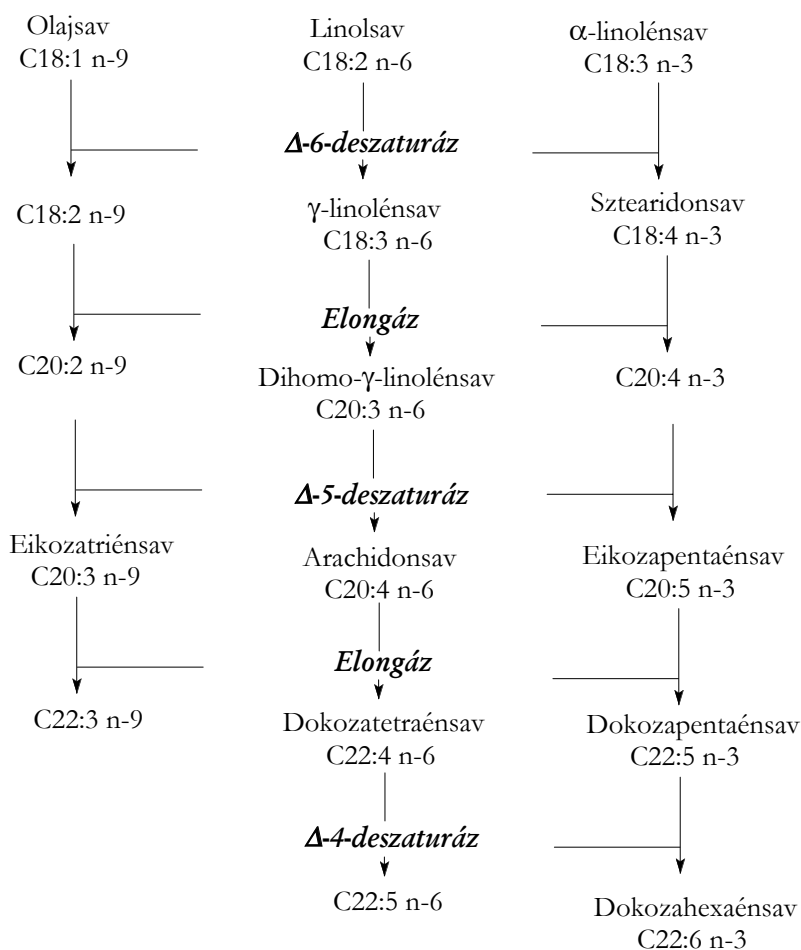
A dolgozat témaválasztása kapcsán indokoltnak tűnik röviden áttekinteni a zsírsavak szintetikus folyamatait. A dolgozatban vizsgált komplex lipidekben, trigliceridekben és foszfolipidekben közös, hogy alapvető építőegységeik a zsírsavak. Ezek arányváltozásai a fent említett frakciók biokémiai és élettani tulajdonságait jelentősebben megváltoztathatják. A fejezet címének megfelelően az alábbiakban az emlősök enzimgarnitúrájával lehetséges szintetikus folyamatokat tekintem át, a bakteriális zsírsavsintézis jelentősége a *“A nyúl zsíremésztésének és metabolizmusának sajátosságai”* fejezetben (2.2.3.) szerepel.

Az emlős zsírsav anyagcsere szintetikus folyamatai a *de novo* zsírsavsintézist és az elongációt (lánc hosszabbítás) jelenthetik. A **de novo szintézis** kiinduló vegyülete az acetil-SCoA, helye a citoplazma, végső terméke a palmitát. Az acetil-SCoA alapegység a maximális 16-os szénláncosszagt több cikluson áthaladva, C2-es hosszabbításokon át éri el. A lánc hosszabbításhoz aktivált C3-as molekula (malonil-SCoA) szükséges, ami acetil-SCoA-karboxiláz segítségével képződik. E vegyületből dekarboxilezéssel keletkezik aktív C2-es egység, amely már alkalmas az elongációra. Ez a ciklus a palmitát (C16:0) kialakulásáig ismétlődhet, ott azonban leáll, ennél hosszabb lánc a szervezetben elongációval jöhet létre.

Az **elongáció** helye nem a citoplazma, hanem az endoplasmaticus reticulum (a) vagy a

mitokondrium *(b)*. A kiindulási, szabad zsírsav aktivált formája ATP felhasználással keletkezik, melyet *(a)* egy transzferáz katalizált malonil-SCoA-b-ketoacil-SCoA átalakulás utáni lánchosszabítás vagy *(b)* egy piridoxál-foszfát koenzim tartalmú enzim mediálta acetyl-SCoA kondenzáció követ.

A telítetlenség kialakulása a szintézis szintjén elsősorban a $\Delta 9$ **deszaturációt** jelenti, a 9. szénatom utáni telítetlen kötések létrehozásához az emlős szervezetben nincs enzim. Az olyan zsírsavak, melyekben a 9. szénatomot követően is van kettős kötés a deszaturációt követő elongáción is áteshettek, de származhatnak exogén forrásból is. A deszaturáció reakciósorozata az endoplasmaticus reticulumban zajlik, egy citokróm-b tartalmú monooxygenáz segítségével. A gyakorlatban az elongációt az un. elongáz index, míg a $\Delta 9$ deszaturációt a $\Delta 9$ deszturációs hányados segítségével szokás megadni, indirekt módon. Előbbi a C18:0/C16:0, utóbbi a C18:1 (n-9)/C18:0 hányadosból számítható ki. A zsírsavsintézis elongációs és deszaturációs lépéseit összefoglalóan az *1. ábra* mutatja, jelölve a prekursor és termék zsírsavakat is.



1. ábra Az emlős zsírsavsintézis fő elongációs és deszaturációs lépesei

2.2. A zsírok anyagforgalma

2.2.1. A zsírok emésztése és felszívódása monogasztrikusokban

A zsírok (a táplálékban főleg trigliceridek) emésztésének elsődleges helye a vékonybél, melyet a tejtáplálás idején bizonyos mértékű pregasztrikus és gasztrikus lipolitikus aktivitás is kiegészít. Ezek a lipázok (lingvális és gasztrikus lipáz) nem kolipáz függők, pepszinrezisztensek, aktivitásuk pedig gyakorlatilag csak a tej trigliceridjeinek előzetes hidrolízisében jelentős. Elsősorban a rövidlancú zsírsavak hidrolízise a feladatuk.

A zsírok emésztése mindazonáltal inkább a vékonybélben hatékony, a hasnyál eredetű lipáz és a kolipáz hatása által. Ugyanitt a májból származó epesavak első lépésben emulgeálják a zsírokat, a savak sói aktiválják a hasnyál lipázt. Az emulzió partikulummérete és fizikokémiai tulajdonságai alapján részben micelláris oldatnak is tekinthető. A micelláris oldat összetételére a digliceridek és a zsírsavak jellemzők, emiatt mind a micelláris oldat, mind az olajcsepp "állapot" is jellemző a vékonybél folyadék ezen lipidjeire, azaz a micelláris oldat is kétfázisú. A micellaképzést az epesavak segítik, a micellák és a vizes fázisban diszpergált lipidek (liposzómák formájában) mennyisége végső soron az epesavak mennyiségétől függ. Határoló bilayer a micellák és a liposzómák esetében is kimutatható (*Borgström, 1985*).

A hasnyál lipáz nem feltétlen csak kolipázzal együtt hatékony, elválasztása már aktív formában történik. A kolipáz valójában a lipáz és a lipid partikulum felszíne közötti kapcsolatot teremti meg, a lipáz pedig az észterkötést hidrolizálja. A hidrolízis az α és γ helyzetű zsírsavakat nagy arányban, a β helyzetűeket azonban csak mintegy 20%-ban érinti (*Ganguly et al, 1972*). A lipázok hatása a lipid részecskéken való megtapadást követő zsírsav hidrolízis, mely mono- és diglicerideket eredményez. Az emulzióképzésben nemcsak az epesavak, hanem az epe foszfolipidjei és a táplálékeredetű fehérjék is aktívak; ugyanilyen szerepük a hidrolízis során keletkező mono- és digliceridek.

A hasnyálban levő foszfolipázok membrándestruktív hatásuknál fogva mint pro-lipázok termelődnek, aktivációjukhoz Ca^{2+} szükséges. Legnagyobb részük "A" típusú foszfolipáz, melyek vízben oldható lizo- származékokat állítanak elő. A fenti molekulák a bélhám kémiai formájuktól függő transzport által jutnak át. Abszorpció elsődlegesen a jejunumban történik. A zsírsavak, a monogliceridek és a lizo-foszfátidok diffúzióval, a digliceridek, és kis mennyiségben a TG is sima felszínű vakuolumokban jelennek meg a bélepithelsejt citoszoljában, ez azonban nem pinocitózis eredménye. A TG "építőkövei" a bélhámsejtben a kefeszegélytől távolodva KoA-tiolészter köztes állapotban át reszintetizálódnak trigliceridekké. E folyamat a bélhámsejt endoplasmaticus reticulumában történik; valójában ugyanitt képződik a kilomikron is, apolipoprotein B segítségével. A kilomikron a Golgi membránstruktúrából exocitózissal jut a

nyirokkeringésbe, a bélhámsejt serosus oldalán. A TG reszintézist mintegy “megkerülve” a rövidláncú zsírsavak bizonyos hányada nem épül be a TG-ekbe, hanem albuminhoz kötött formában közvetlenül a keringésbe jut.

2.2.2. A máj szerepe a zsíryanycserében

A máj funkciói az egyes szubsztrátokhoz való viszonyával jól jellemezhetők. A szabad zsírsavak kapcsán a máj gyors felvételt biztosít, energiaegyensúlyban a máj az összes keringő FFA 30-50%-át felveszi. Ezeket a máj nem energiaforrásként, hanem a TG és a PL szintézisben hasznosítja, illetve kisebb mennyiségben tárolja. A postprandialis lipaemia állapotában a máj a TG-ek 30-40%-át spontán veszi fel, melyben a parenchimasejtek aktívak. A kilomikron TG-ek részben hidrolízisen, részben TG reszintézisen esnek át és újra a keringésbe jutnak, leginkább lipoprotein formában (HDL, LDL, VLDL). A máj a vér kilomikronjaiból és lipoprotein frakcióiból származó foszfolipidek egy részét saját sejtjeibe építi be. A foszfolipid szintézis igen aktív folyamat a májban, elsősorban a vér foszfolipidjei épülnek fel itt.

2.2.3. A nyúl zsíremésztésének és metabolizmusának sajátosságai

A többi monogasztrikus emlőshöz hasonlóan a nyúl is igen hatékonyan emésztí a takarmánnyal felvett zsírokat. Felmerül ugyan, hogy a vakbél redukív, mikrobiális környezete a telítetlen zsírsavak telítődésében jelentős lehet, de a zsírsavak felszívódása legnagyobb részben ezt megelőzően zajlik, a duodenumban és a jejunumban (*Cheeke, 1987*). Nyilvánvalóan a telítetlen zsírsavak egy kisebb, esetleg jelentéktelen hányadát érinti a caecumban történő telítődés, ezek a bélsárban telített zsírsav szappanok formájában jelennek meg. Utóbbit a takarmány bizonyos komponenseinek magasabb Ca^{2+} tartalma magyarázhatja. (*Parigi-Bini és mtsai (1974)* emiatt a bélsárból meghatározott zsíremésztést hibával terheltnek tekintik, amennyiben az csak éteres extrakcióval történik, ezért javasolják a sósavas feltárást is.)

Valós eltérés a többi emlősfajtól a fejlődésben levő nyulak zsíremésztésében mutatható ki. Míg a monogasztrikusokban a választás előtt predoudenális lipázokat (orális és gasztrikus) is kimutattak, addig nyulakban ez nem sikerült.

A nyúl létfenntartó energiaigényének kielégítéséhez legalább 8 órás táplálékfelvételi lehetőség szükséges, még *ad libitum* takarmányozás esetén is. A gyakorlatban ez igen hosszú, közel folyamatos postprandialis lipaemiához vezet, mely végső soron a plazma triglicerid frakció fokozott jelentőségéhez vezet e fajban. A plazma lipoproteinek közül nyúlban az LDL tekinthető a legjelentősebbnek.

A nyulak takarmányozásában a szokásosnál magasabb zsírtartalom mindezek ellenére sem okoz gondot, akár 6% nyerszsír is etethető. A takarmányok relatív magas zsírtartalma irodalmi adatok alapján nem befolyásolja hátrányosan az egyéb táplálóanyagok emészthetőségét (*Thacker, 1956*). Érdekes módon a nyulak hasnyál lipáz aktivitása már négy hetes életkorban megközelíti a felnőttkori értéket (*Lebas és mtsai, 1971*), melyhez minden valószínűséggel az is hozzájárul, hogy a nyúltej zsírtartalma igen magas (10-16%). Ugyanakkor a nyúltej zsírsavösszetételére a telített zsírsavak dominanciája jellemző, telített/telítetlen zsírsavainak aránya ca. 4:1 (*Christ és mtsai, 1996*).

A zsírsavak metabolizmusának sajátossága továbbá, hogy a caecumban bizonyos mértékű *de novo* mikrobiális zsírsav szintézissel is kell számolni. *Fernández és mtsai (1994)* szerint ez elsődlegesen rövid és közepes szénlánc-hosszúságú zsírsavakat jelent. Emellett a páratlan szénatomszámú telített zsírsavak (pentadekánsav (C15:0) és margarinsav (C17:0) szintézisét is leírták a szerzők. Ezek a zsírsavak a cökotrófia nyomán a test szöveteiben is megjelennek. Szöveti jelenlétükre, a fentieknek megfelelően akkor is számítani lehet, ha ezen zsírsavak a takarmányban nem fordulnak elő, bár mind részarányuk, mind élettani jelentőségük csekély.

2.3. A zsírok és szénhidrátok anyagforgalma normál élettani állapotban és rendszeres terhelés alatt

A zsírok igen rövid, kémiai szemléletű áttekintését követően azok részletes anyagforgalmát mutatja be a következő fejezet. A normál élettani folyamatok, illetve működés ismertetése mellett a zsíryananyagforgalom tréning- okozta módosulásait tekintem át. A két jelentősen különböző élettani "helyzet" ismertetése így egyfajta összehasonlítás, mely hangsúlyozza a fizikai terhelés hatásait az egyes lipid-anyagforgalmi lépésekre.

2.3.1. A terhelés időtartama, intenzitása

A fizikai terhelés mint élettani szituáció számos mutatóval jellemezhető. A terheléses vizsgálatok jellemzésére ideális mutató lehet az intenzitás, az aerob vagy anaerob anyagcsere dominanciája, a respirációs quotiens, illetve a munka időtartama.

A fizikai munka **intenzitása** a relatív oxigénfelvétellel, az un. relatív VO_2 max értékkel jellemezhető, mely a felvett és a maximálisan lehetséges oxigénfelvétel hányadosa. E mutató alkalmazásával lehet elérni eltérő edzettségű egyedeknél azonos relatív terhelést. Alacsony, közepes és magas intenzitásnak felelnek meg a 10-25%, a 25-65% és a 65% feletti VO_2 max tartományok (*Turcotte, 1999*). Az alacsony és a közepes intenzitást

egységesen “szubmaximális” kategóriának is nevezi a szakirodalom. A besorolás alapját az adja, hogy az **oxigénfogyasztás**, ezzel szoros összefüggésben pedig a szubsztrátfelhasználás is igen nagy eltéréseket mutat szintenként. Az alacsony és közepes aktivitást erősebb oxidatív anyagcsere, míg a magas intenzitást az anaerob glükolitikus metabolizmus jellemzi.

Az oxigénfelhasználás emellett a hagyományos **respirációs quotiens (RQ)** segítségével is vizsgálható. Az RQ értéke nemcsak a teljes szervezet vonatkozásában, hanem a terhelésnek kitett szervre is értelmezhető. Amennyiben ilyen adatokat elemzünk, megállapítható, hogy a tréning okozta adaptáció során a RQ értéke csökken (*Henriksson, 1977*).

Időtartam alapján rövid- (“short-term”) és hosszútávú (“endurance exercise”) terhelés különíthető el. A terhelési formák csoportosításának jelentősége az **adaptáció** szempontjából igen nagy. A rendszeresen végzett fizikai gyakorlat számos élettani változást idéz elő. Hatása elsődlegesen a vázizmokat és a kardiovaszkuláris rendszert érinti, de a hormonális adaptáció is jól követhető.

A fenti beállítások vizsgálatára alapvetően kétféle kísérleti metodikát alkalmaznak. A keresztmetszeti “design” egy pontban történő mintavételt jelent, míg az ún. “longitudinal design” egyfajta nyomkövetés. (Saját vizsgálatainkban mindkét típust alkalmaztuk, előbbi izmok, utóbbi szérumminták esetén.)

2.3.2. Tréning-okozta módosulások a szénhidrátok és zsírok felhasználásában (a szubsztrátsorrend változásai)

Az alkalmazkodás eredményeképpen az energiaadó **szubsztrátok** fontossági **sorrendje** is megváltozik. A hosszú távú és rendszeres terhelés következtében a **zsírok** oxidációja felváltja a **szénhidrátok** hasznosítását. *Horowitz és mtsai (2000)* rámutattak, hogy az **izom** glikogén felhasználása elsősorban nem a tárolt glikogén mennyiségétől függ. Ezt támasztja alá az a korai megfigyelés is (*Hermansen és mtsai, 1967*), mely edzett és nem edzett férfiak glikogén felhasználása között nem talált különbséget, azonos relatív terhelés mellett. A jelenség magyarázata, hogy az edzettek energia szükségletét priméren nem a szénhidrátok, hanem a zsírok biztosították. Kísérletes úton, azonos egyed két végtagjának különböző szintű edzésével is megmutatható, hogy a szénhidrátokat a zsírsavak oxidációjával szemben az izom metabolizmus bizonyos “hátrányban részesíti”. *Henriksson (1977)* mutatta ki, hogy a terhelt végtagban magasabb plazma FFA és izom glikogén szint mérhető, mint a nem terhelt “kontrollban”. Eredményei egyúttal a lipidmobilizációban fennálló erős lokalizációs különbségekre is felhívták a figyelmet.

A glikogén és zsírsavak felhasználásának arányában bekövetkező változást azonban

nemcsak az izom-anyagcserében lehet követni; hosszú távú terheléses vizsgálatok kimutatták, hogy a glükoneogenezis a **májban** a terhelés idején erősen lelassul (*Baldwin és mtsai, 1975*). Utóbbi megfigyelés azért jelentős, mert a terhelés energiaszükségletének azon hányadából, melyet a glikogén fedez, az izom és a máj eredetű glikogén azonos részt képvisel. *Brooks és Donovan (1983)* a glikogén-felhasználás visszaesését egyrészt a glükóz-felhasználás csökkenésének, másrészt az alacsony és közepes intenzitású tréning okozta aktív zsírsav-oxidációnak tulajdonította. A fentiekkel azonos tendenciájú változást írtak le *Coggan és mtsai (1990)*, méréseiket azonban **vérplazmából** végezték. Eredményeik a plazma glükóz hasznosításának csökkenését mutatták a hosszú távú edzés folyamán, mind az akut terhelés, mind pedig a terhelést követő ún. “post-exercise” fázisban. A terhelés alatt leírt szubsztrátsorrend változást *Baldwin és mtsai (1975)* az edzés “glikogén-protéktív hatásának” nevezik, mely más nézőpontból is igaznak tekinthető: edzett emberekben a vér glükózsintje hosszabb távon is stabil (*Coggan és mtsai, 1992*).

A szubsztrátsorrend meghatározásával kapcsolatban *McGarry és mtsai (1977)* korai eredményei hívták fel a figyelmet a malonil-CoA szerepére, mely a szénhidrát oxidáció egyik kulcsvegyülete. *McGarry és Brown (1997)* később pontosan meghatározták a zsír - szénhidrát felhasználás sorrendjében a malonil-CoA funkcióját: a fokozott glükózlebontás kapcsán keletkező piruvát a malonil-CoA képződését serkenti, mely gátlóan hat a palmitoiltranszferáz I enzimre. Végző soron ezen gátlás veti vissza a zsírsavak oxidációját. A folyamatot ilyen módon a glükóz lebontás során képződött piruvát mennyisége szabályozza. A két fő energiaadó vegyület felhasználásának szabályozása mellett az adaptáció kialakulásának időtartama is fontos momentum, mely mindenek előtt sportélettani szemszögből döntő fontosságú.

Újabb, stabil izotópos technikával végzett vizsgálatokban *Phillips és mtsai (1996)* bizonyították, hogy a nem edzett férfiak adaptációja már az ötödik napon mérhető, amennyiben napról-napra végzett azonos relatív terhelés mellett az összes felhasznált glikogén mennyisége 15%-kal csökkent, a teljes oxidált zsírsav mennyiség pedig 10% növekedést mutatott. A β -oxidáció szubsztrátjainak megoszlása is mérhető volt technikájukkal: az intramuscularis TG eredetű zsírsavak oxidációját már ötnapos tréning után 63%-kal találták magasabbnak a kezdő időponthoz képest. Kísérletük harmincadik napjára ezen változások még markánsabbá váltak. Összefoglalva tehát megállapítható, hogy a glikogénhasznosítás, ennek következtében pedig a glükoneogenezis a tréning folyamán csökkenő tendenciájú; az izombeli oxidációs folyamat elsődleges szubsztrátja a szabad zsírsav lesz, mely az edzés előrehaladtával egyre nagyobb arányban származik az izom saját zsírtartalmából.

Ahogy a 2.3.2. fejezet szemlélteti, a **zsírok** szerepe a terhelés energiaigényének fedezésében vitathatatlan, fontosságuk az edzettség kialakulásával egyre nő. A fizikai munka szempontjából három jelentős oxidálható zsírforrás különböztethető meg: a

szabad zsírsavak (FFA), az izom trigliceridjei (intramuscularis TG, IMTG) és a **vérplazma trigliceridjei**. Csoportosításuk ilyen tekintetben közel sem azonos a kémiai alapú besorolással, a végső felhasználás azonban minden esetben a szabad (nem észterkötésben és nem albuminhoz vagy más szállítófehérjéhez kötött) formájú zsírsavak oxidációját jelenti az izomban.

2.3.3. A plazma szabad zsírsav metabolizmusa

Legkorábban a **plazma szabad zsírsavai** kapcsán mutatták ki a zsír- és szénhidrát felhasználás tekintetében korábban is említett arányváltozást. A FFA felhasználás esetében nem a rövid, hanem a közepes és hosszútávú izommunka jelentősége nagy, utóbbi során jóval nagyobb arányt képvisel az oxidatív energianyerés. A FFA anyagcsere komplex megnevezés: magában foglalja a zsírszövetből való mobilizációt, a zsírsav szállítását a plazmában (transzport), a zsírsavmolekula átjutását az izomsejt plazmamembránján, a citoplazmában való transzportot és az azt követő intracelluláris FFA anyagcserét.

2.3.3.1. FFA mobilizáció

A FFA energiatermelésben való felhasználása leginkább a **mobilizáció** mértékétől függ. A szabad zsírsavak elsődleges forrása a különböző szövetekben deponált triglicerid pool. A perifériás szöveti lipolízis eredményeképpen a vérplazmában FFA és glicerin jelenik meg, utóbbi ugyanakkor kizárólag a lipolízis útján kerül a vérbe. Miután a deponált zsír legnagyobb hányada triglicerid, a plazmában mérhető glicerin minden molekulája három zsírsavmolekula felszabadulásának ("appearance" a plazmában) felel meg. A FFA mobilizáció a gyakorlatban a glicerin megjelenésével jellemezhető a legpontosabban; a vér összes FFA tartalmának mérése hibával terhelt, mivel az együtt kezeli a szöveti lipolízis során hidrolizált zsírsavakat, valamint az adiposa sejtekben zajló TG reészterifikáció során a plazmából "eltűnő", ismét beépülő (deponálódó) FFA hányadot is.

A terhelés hatására a szöveti lipolízis határozottan felerősödik (*Wolfe és mtsai, 1990*). A zsírszövetben, az extracelluláris térben a glicerin koncentrációja a nyugalmi érték többszörösére is emelkedhet, melyet annak a plazmában való megjelenése követ. Kutyaon végzett hosszúidejű terhelést követően *Shaw és mtsai (1975)* 3-4-szeres glicerinszintet mértek a vérplazmában; emberben 5-6-szoros koncentráció-emelkedés is mérhető (*Wolfe és mtsai, 1990*).

A FFA mobilizáció hormonális szabályozás alatt áll, adipocitákon végzett vizsgálatok alapján a katekolaminok és az adenohipofízis hormonjai (szomatotropin,

adenokortikotropin, tireotropin, lipotropin) serkentik a lipolízist (*Hales és mtsai, 1978*). Az inzulin egyértelműen antilipolitikus hatású, az adipocitákban zajló TG reészterifikációt stimulálja. A hormonális szabályozás a lipolízis esetében az ún. hormonszenzitív lipáz (HSL) komplex enzimet is befolyásolja, annak foszforilációs szintjét módosítják a lipolitikus hatású hormonok (*Fredrikson és mtsai, 1981*). Ezen enzim a trigliceridek α és γ helyzetű zsírsavait hidrolizálja, hatását egy monoacylglycerol (monoglicerid) lipáz egészíti ki. A hormonszenzitív lipáz foszforilációjának fokozódása annak lipolitikus aktivitását kétféle módon emeli: egyrészt az enzim aktivitása nő ezáltal, másrészt az enzimkomplex helyzete módosul; a citoszólból a tárolt lipid cseppek felé “vándorol” (*Egan és mtsai, 1992*). Az egyértelműen antilipolitikus hatású inzulin a HSL-t is befolyásolja, amennyiben az a foszforiláció alakításában ellentétes hatású a lipolitikus hormonokkal. A lipolitikus hormonhatás valójában a cAMP messenger rendszert stimulálja. A HSL és a fizikai aktivitás kapcsolatát *Langfort és mtsai (2000)* mutatták ki igen látványosan, mely szerint a vázizmok kontrakciója határozottan növelte az enzim aktivitását.

2.3.3.1.1. Depószelektív zsírmobilizáció

Caserta és mtsai (2001) *in vitro*, inkubált adiposasejteken végzett vizsgálatuk eredményei alapján megállapították, hogy az adipociták korai formája (preadipocita) a differenciálódás során egyre emelkedő palmitoiltranszferáz I aktivitást mutat, azaz a FFA-uptake képesség a fejlődés során határozottan emelkedik. Az aktivitás növekedésében a sejt “származásától”, eredetétől függően (perirenális, epididimális, abdominális, subcutan perifériás) eltéréseket találtak. Amennyiben az adiposa-specifikus FABP (aP2) eloszlását vizsgálták, hasonló eltérések voltak mérhetőek; a differenciálódott sejtekben minden esetben nagyobb mennyiségű zsírsavkötő fehérje (FABP) volt, de a depótól függően különböző mennyiséget mértek a szerzők. A hosszúláncú zsírsav acil-CoA komplex esetében is különbségek mutatkoztak a sejt eredetétől függően.

Arner (1997) szerint az eltérő zsírdepók a testben más-más metabolikus funkcióval rendelkeznek és igen nagy heterogenitást mutatnak. A különböző helyekről származó adiposasejtek méretben, inzulin-érzékenységben, lipoprotein lipáz (LPL) reakcióban, valamint a *de novo* lipid szintézis intenzitásában is különböznek. Emellett talán az egyik legjelentősebb eltérés a lipolitikus reagensekre adott erősen eltérő reakciójuk. Miután az egyes zsírdepók “mikrokörnyezete” (hormonális és parakrin környezet, lokális tápanyagforgalom intenzitása, anatómiai sajátosságok) is igen változékony, nem meglepő, ha a lokalizáció alapján a zsírdepók is elkülönülnek.

A fenti szerzők eredményei kvantitatív bizonyítékot adtak számos olyan megfigyelésnek, mely tapasztalatok alapján régen ismert volt. Megállapították, hogy az abdominális zsírdepó sejtjeinek TG turnover jóval intenzívebb, mint a perifériás depók

sejtjei. A depóktól függően más-más LPL-érzékenységet mértek a sejteken, mely egyben a depóspecifikus FFA-release elméletet is alátámasztja. Az aP2 fehérje mRNS-ének mennyisége is sejtspecificitást mutat, az aP2 mRNS expressziója és a sejt FFA-uptake szoros kapcsolata pedig nyilvánvaló.

Megfigyeléseik alapján *Caserta és mtsai (2001)* a test egyes zsírdepóit elkülönülő szervekként kezelik, melyekben a különbségek a preadipocitákban determináltak, de végső soron a sejtszám-növekedés teszi ezeket markánsná.

2.3.3.1.2. Zsíravszelektív mobilizáció zsírsejtekből

Raclot és mtsai (1997) méréseik alapján a zsírsavak mobilizációjára egy igen érdekes elméletet dolgoztak ki. Vizsgálataik az adiposa sejtekből történő triglicerid eredetű zsírsvmobilizációra irányultak, az egyes zsírsavak mobilizációs sorrendjének leírására. A különböző zsírsavak inkubációs oldatban való időegység alatti koncentrációváltozásában maximálisan 6-szoros eltérés volt mérhető. A zsírsavak hidrolízisét a hormonszenzitív lipázzal szembeni affinitásuk határozza meg, melyet azok fiziko-kémiai tulajdonságai is befolyásolnak. Ennek megfelelően erős különbség mérhető a telített, a monoén, az n-3 és az n-6 zsírsavcsoportok, valamint a csoportok egyes zsírsavai között is. A mobilizáció sorrendje átlánosan úgy határozható meg, hogy adott szénláncossz mellett a több telítetlen kötést tartalmazó zsírsavak mobilizálódnak nagyobb mértékben, míg azonos telítetlenség mellett a rövidebb láncosszúságúak. A gyakorlatban ez a mobilizációs sorrend olyan élettani szituációkban igazolható, mint az éhezés vagy magasabb szintű fizikai igénybevétel, mely negatív energiamérleggel is párosulhat. A számos kísérletben kimutatott eredmények, bizonyos esszenciális PUFA preferált mobilizációja és a monoén vagy telített zsírsavak "retenciója" ezen elmélettel megmagyarázhatók (pl. linolsav, α -linolénsav és arachidonsav fokozott aránycsökkenése TG depóból (*McClelland és mtsai, 1995; Phinney és mtsai, 1990; Raclot és Groscolas, 1995*)). *Helge és mtsai (1999)* a rendszeres tréning hatását vizsgálva a vázizom foszfolipid frakciójának zsírsavprofiljában jellegzetes aránymódosulásokat írtak le. Eredményeik magyarázatában a zsírsavak szelektív anyagforgalma igen nagy jelentőségű, ugyanis a plazma-zsírsavak a struktúrális lipidek egyik legjelentősebb forrásának tekinthetők.

2.3.3.2. FFA transzport a vérplazmában

A lipidmobilizáció "termék szemléletű" vizsgálatában számos hormon és enzim vesz részt, érdekes módon mégis igen erős befolyást gyakorol rá a **vérplazma** szállító képessége. A plazmában az adiposa eredetű FFA albuminhoz kötött formában szállítódik. Emiatt a plazma FFA szállító kapacitását annak albuminkoncentrációja

alapvetően befolyásolja. Bár egy albuminmolekula általában tíz FFA kötőhellyel rendelkezik, ezek közül általában három mutat erős affinitást a ligandummal szemben. Végső soron e három kötőhely telítődése limitálja a szállítható FFA mennyiségét (*Spector és mtsai, 1971*). Emellett természetesen a zsírszöveten átáramló vérmennyiség (perfúziós ráta) is meghatározó. Az albumin koncentrációja nem ingadozó, adaptációs ideje hetekben mérhető. Erős, akut arányváltozás az artériás FFA szintben mérhető, mely hosszan tartó szubmaximális terhelés következtében hússzorosára is nőhet. A zsírszöveten egységnyi idő alatt átáramló vérmennyiség is jelentős változásokat mutathat, kutyákban és emberben is akár a nyugalmi érték négyszeresére is emelkedhet (*Bulow és Madsen, 1976*), ami igen nagy arányban növelheti a FFA szállító képességet. A FFA plazmából való mérése igazán pontosan jelölt zsírsavakkal végezhető (¹⁴C palmitát vagy oleát). A FFA “eltűnése” (“rate of disappearance”, Rd), azaz az izmok által történő felvétel (uptake) határozottan gyorsabb, ugyanígy az adiposa eredetű FFA megjelenése a plazmában (“rate of appearance”, Ra) is jelentősen gyorsabb az edzett emberekben (*Friedlander és mtsai, 1999*). A FFA mobilizációja mellett annak szöveti oxidációja is fokozódik, a két folyamat pedig (FFA turnover = FFA Ra/Rd) emelkedő tendenciát mutat (*Phillips és mtsai, 1996*). Valójában nemcsak anyagcsere-, hanem morfológiai természetűek is ezek a változások, hiszen a tréning a kapillarizációt, általa pedig a véráramlást is fokozza (*Neufer, 1989*).

2.3.3.3. FFA transzport a plazmamembránon át

Miután a sejtfelületen való áthaladás során a zsírsavak már nem albuminhoz kötött formában vannak, valamint lipid természetűek, sokáig az ún. passzív diffúziós membrántranszport elmélet volt mérvadó. Ez azonban csak relatív kis mennyiségű zsírsav transzportjára ad lehetőséget, továbbá a hosszúlancú és telítetlen zsírsavak passzív diffúziója nem lehetséges. A diffúziós zsírsavtranszport kizárólagossága ellen szól még a nem kötött zsírsavak relatív alacsony koncentrációja, illetve az izomsejtek **FFA uptake** folyamatának speciális (telítődési) kinetikája is (*Sorrentino és mtsai, 1989*). A karrier mediált folyamat bizonyítéka nemcsak a telítődési kinetika, az FFA kötő fehérjét izolálták is. A plazmamembrán (sarcolemma) zsírsavkötő fehérjéje (FABPpm) különbözik az egyéb szövetekben vagy a citoszolban található zsírsavkötő fehérjéktől. A FABPpm-mediált zsírsav felvétel sebességét a fizikai terhelés és az elektromosan indukált rendszeres izomkontrakció is erősen növeli (*Turcotte és mtsai, 1992*).

A sarcolemmán való FFA átjutás egyszerű diffúziós vagy háromfázisú, protein-mediált folyamat. Az első esetben a zsírsav fiziko-kémiai tulajdonságai regulálják a transzportfolyamatot. Az utóbbi eset három lépése a következő: adszorpció a szállítófehérjén, a lipid kettősrétegen történő átjutás (transzmembrán mozgás) és a szállítóproteintről való leválás (deszorpció). Ezen összetett folyamat szabályozásában a zsírsav szénláncossága és a telítetlenség mértéke is döntő, eszerint az egyes zsírsavak között nagy eltérések is lehetnek (*Hamilton, 1998*).

Az FFA-albumin komplex molekulán belül az albumin affinitása igen sok tényezőtől függ, számos szabad kötőhely is maradhat a molekulán. Sokáig a sejtmembrán felszínén szintén feltételeztek egy kötőfehérjét, mely “fogadja”, reverzibilisen köti az albumint, ilyen receptort azonban csak a májsejtek (hepatociták) plazmamembránján tudtak kimutatni (*Weisiger és mtsai, 1981*). *Spector (1969)* eredményei szerint a sejtek FFA uptake folyamata elsődlegesen a pH-tól függ. *Hamilton (1998)* eredményei azon részleteket is tisztázták, hogy mind az albumin-zsírsv komplex felbomlása, mind a zsírsv áthaladása a lipid bilayeren (a FABPpm segítségével) pH függő. Ez a pH-függés akkor is fennállt, ha modell membránon (foszfolipidek elegye vizes fázisban) végezte a szerző a kísérletet. Valójában a pH a zsírsv ionizációjának alakításában fontos tényező. A nem-ionizált zsírsvak passzív diffúziós (flip-flop) áthaladása a membránon jóval gyorsabb folyamat, mint az anion-forma transzportja.

A teljes membrántranszport utolsó lépése a bilayerről való deszorpció. Ez a folyamat jóval lassabban zajlik, mint a lipid kettősrétegen átjutás, a sebessége az adszorpcióhoz hasonló. Igen erős befolyásoló tényező itt az áthaladó zsírsv hossza és a telítetlenség mértéke is. Minél hosszabb és telítetlenebb egy zsírsv, a deszorpció annál lassabb. A deszorpció alacsony sebessége arra vezethető vissza, hogy a hidrofób tulajdonságú zsírsvak ezen folyamatot követően újra vizes közegbe, a citoszolba jutnak. A hosszúláncú zsírsvak deszorpciójában a citoszól zsírsvkötő fehérjéje, a FABPc nagy jelentőséggel bír.

2.3.3.4. FFA transzport a citoszolban

A korábban leírtak alapján a hidrofób anyagok (pl. zsírsvak) vizes fázisban történő transzport folyamatai leggyakrabban fehérjéhez kötötten zajlanak, ami citoszol esetében is megfigyelhető. A plazmamembránhoz hasonlóan itt is FABP zsírsvkötő molekula található (FABPc), ennek izoformjait azonban számos más szövettípusban is leírták (*Glatz és Veerkamp, 1985*). Természetesen zsírsv-CoA és zsírsv-karnitin komplexek is jelen vannak a citoszolban. A FABPc mennyisége az izomsejtben a rosttípustól függ. A vörös, oxidatív rostú izomban a legtöbb, a glikolitikus izomban a legkevesebb, míg az átmeneti izomtípus ebből a szempontból köztes pozíciót képvisel (*Miller és mtsai, 1988*). A FABPc terhelés során betöltött specifikus szerepére igen kevés utalás található. Mindazonáltal a molekulát a szérum-albumin intracelluláris analógnak tekintik, miután szerepe nemcsak a transzportfolyamatokban van, hanem bizonyos enzimek aktivitását is módosítani képes (*Spener és mtsai, 1989*).

2.3.3.5. A szabad zsírsvak intracelluláris anyagcseréje

A FFA intracelluláris oxidációjának részletes vizsgálata azért indokolt, mert azok

nemcsak a deponált zsírból, hanem intramuscularis TG forrásból is származhatnak. Utóbbi *Dyck és mtsai (2000)* szerint előnyösebb forrásnak tekinthető, hiszen ez esetben nincs szükség a vérplazma útján történő szállításra. Bár állatvizsgálatokból származó adat nem található az intramuscularis TG részarányára az izom teljes energiaszükségletéből, humán vizsgálatok 20 és 50% közötti adatokat írtak le (*Friedlander és mtsai, 1998*).

A zsírsav a sejten belül a reészterifikációt követően triglicerid formában tárolódhat vagy a belső mitokondriális membránon is átjutva **oxidáció** során bomolhat C2-es egységekre. Érdekes módon a “felvett” zsírsavak teljes mennyisége soha nem oxidálódik. Az oxidáció mértékét mind a terhelés intenzitása, mind pedig időtartama befolyásolja. Az intenzitás (relatív VO_2max) emelkedésével párhuzamosan a FFA szerepe az izom oxidatív anyagcseréjében egy szint felett egyre kisebb; a munkavégzés időtartamával az FFA felhasználás nő. A FFA oxidáció kapcsán a szubmaximális terhelési szint melletti anyagcsere jelentős, az oxidáció mértéke a 65-70%-os VO_2max értékig nő (*Paul, 1970*). Az oxidáció során lebontott zsírsavak eredete az intenzitás emelkedésével változik, az adiposa eredetű zsírsavak részvétele csökken; helyüket fokozatosan az IMTG eredetű szubsztrátok veszik át (*Henriksson, 1977*). Ez a fizikai munka kezdeti szakaszában a plazma FFA szint csökkenését is okozhatja, de amennyiben a terhelés hosszútávú a mobilizáció ismét intenzívvé válik, mert az izom TG nem képes a teljes igényt kielégíteni. Ez a fázis az, ahol a mobilizáció üteme meghaladja a szöveti oxidációt, a terheléses vizsgálatok valójában ezen szakaszban mutatnak ki magas plazma FFA-t (*Potter és mtsai, 1989*). Bár a plazmában relatív magas koncentrációban jelenlevő FFA bizonyos mértékig fokozza annak sejten belüli oxidációját, bizonyos szint felett az oxidáció intenzitásában egyfajta telítődés mutatható ki (*Kiens és mtsai, 1993*).

A FABPc nyilvánvalóan jelentős szerepe mellett az oxidáció szabályozásában a β -oxidáció és a Szentgyörgyi-Krebs ciklus kulcsenzimeinek aktivitása is meghatározó. E tekintetben a β -hidroxiacil-CoA dehidrogenáz (EC 1.1.1.35 és hosszúláncú zsírsavak esetében EC 1.1.1.211), valamint a citrát-szintetáz (EC 4.1.3.7) említendő. A zsírok, mint szubsztrátok oxidációjában a szénhidrátok is nélkülözhetetlenek, ezáltal bizonyos szabályozó funkcióval is rendelkeznek. *In vitro* kísérletben glükóz és inzulin hiányában *Hopp és Palmer (1990a)* a zsírsav (palmitát) oxidáció csökkenését mutatták ki.

Összefoglalva tehát a FFA oxidáció mértékét az oxidatív anyagcserében résztvevő enzimek aktivitása, a FFA rendelkezésre álló mennyisége és a szénhidrát anyagcsere is befolyásolja. Mindezek együttesen biztosíthatják az adiposa eredetű FFA maximálisan 50-60%-os részvételét az izom oxidatív energianyerési folyamataiban.

2.3.4. Az intramuscularis trigliceridek felhasználása

Az intramuscularis TG (IMTG) hosszantartó terhelés alatt igen fontos **energiaforrás** az

izmok számára. *Havel és mtsai (1967)* izotóppal jelölt plazma FFA felhasználásának vizsgálata során arra következtettek, hogy a teljes oxidált plazma FFA mennyiség alacsonyabb az összes oxidált zsírsav mennyiségénél. A plazma eredetű FFA méréseik alapján 50-55%-ot tett ki az izmok által összesen oxidált zsírsav mennyiségéből. Mindezek arra utalnak, hogy nemcsak az adiposa eredetű, hanem egyéb forrásból származó zsírsavak is nagy jelentőségűek a terhelés energiaforgalmában. Elsősorban az izomrostok között “deponált” triglicerid lehet ilyen forrás.

Az IMTG akut terhelési fázisban történő felhasználásának mérése nem egyszerű. Mértékét alapvetően meghatározza az izomtípus, azaz az izmot felépítő rostok megoszlása. A vörös izom TG tartalma és oxidatív kapacitása jóval nagyobb a fehér izomnál. A frakció pontos mérési technikájának kidolgozása nem egyszerű, legjobban ugyanis a terhelést megelőző és az azt követő időpontokban vett biopsziás minta mutatja a mennyiségi különbséget. Mind humán, mind állatokon végzett vizsgálatokban e technika lehetőségei korlátozottak, a biopátum mérete és pontosan azonos elhelyeződése miatt is, hiszen utóbbtól függően nagyok lehetnek a rostösszetétel különbségei. E frakció vizsgálata során figyelembe kell venni, hogy felhasználása csak bizonyos intenzitási szintet meghaladó terhelés mellett fokozódik (*Barclay és Stainsby, 1972*). *Hopp és Palmer (1990b)* elektromosan stimulált vázizomban csak 5/sec frekvencia érték fölött tudott aktív IMTG koncentráció csökkenést kimutatni. Méréseik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az IMTG hidrolízise és a reészterifikáció párhuzamosan zajló folyamatok. *Dagenais és mtsai (1976)* az IMTG frakciót egyfajta “pool”-ként kezelik, melyben a zsírsavak “kicszerelődése” (“turnover rate”) igen élénk folyamat, ezért a TG felhasználás valójában az oxidált és a beépített hányad különbségeként adható meg.

E frakció energiatermelésre való felhasználása tehát mind a munka intenzitásától, időtartamától, mind pedig az izomtípustól (pl. a terhelésnek kitett izom rostösszetétele) függ. Érdekes módon az adiposa eredetű FFA igen magas intenzitás mellett gyakorlatilag már nem vesz részt az energiatermelő folyamatokban szubsztrátként. Az IMTG-ből hidrolizált zsírsavak ellenben magas szintű és rövidtávú (55-75% VO_2max) terhelés során is aktívan oxidálódnak (*Essen, 1977*). Humán vizsgálatokban gyakran találni ellentmondást az IMTG hasznosítás terén, mely minden valószínűséggel a munkavégzés típusától is függ. Amennyiben a fizikai munka magasabb katekolamin szinttel is párosul, minden esetben erős IMTG koncentráció csökkenés mérhető az izomban (*Kiens és mtsai, 1993*). Mindazonáltal nemcsak az aktuális terhelés, hanem a rendszeres tréning is előidéző változásokat e frakció anyagforgalmában. *Dyck és mtsai (2000)* a TG turnover fokozódást mutatták ki tréninget követően, mely még nyugalmi állapotban is igazolható volt. Nagy valószínűséggel a mért folyamat (TG szintézis) a gyakorlatot követő, post-exercise fázisban történő intenzív TG felhasználást ellensúlyozó reszintézis volt. *Coyle és mtsai (2001)* az IMTG felhasználásának időfüggését vizsgálva megállapították, hogy az nemcsak a munkavégzés idején, hanem az azt követő regenerációs fázisban is igen

aktív lehet. Rámutattak továbbá, hogy szélsőséges esetekben a táplálkozással bevitt TG mennyiség is befolyásolhatja az IMTG metabolizmusát.

Az IMTG anyagcseréjének hormonális befolyásolását írta le *Oscari (1983)*. Vizsgálatai szerint az intracelluláris lipoprotein lipáz (mely itt TG lipázként hat) hidrolizálja ezen frakciót, az enzim aktivitását pedig közvetlenül módosítja a terheléssel kapcsolatos adrenalin koncentráció emelkedés. *Severson (1979)* ezzel szemben az adiposa szövetből ismert hormonszenzitív lipáznak (HSL) tulajdonította az IMTG hidrolízist. Végző soron *Holm és mtsai (1987)* a zsírszöveti HSL-zal nem egyező, de ahhoz nagy mértékben hasonló hormonszenzitív lipázt mutattak ki patkányban, mind a szívizomból, mind pedig a vázizmokból. A HSL izomzatban található formájára mind a katekolaminok, mind az inzulin azonos módon hatnak, mint a zsírszöveti HSL-ra. Bár egyértelműen bizonyított a hormonális és az enzimikus tényezők szerepe az IMTG metabolizmusában, eddig kevésbé ismert szöveti, helyi tényezőkre is gondolni kell, amennyiben lokális elektromos stimulációval is hatékonyan csökkenthető az IMTG izombeli mennyisége (*Hopp és Palmer, 1990a*).

2.3.4.1. Zsírsavak szelektív oxidációja az izomsejtekben

Sidossis és mtsai (1998) vizsgálatai a FFA oxidáció szabályozásával kapcsolatosan rámutattak, hogy az izombeli oxidáció egyik meghatározó tényezője a mitokondriális membránon való áthatolás. E folyamatban a zsírsavak zsírsav-CoA és zsírsav-karnitin komplexek formájában szerepelnek. Jelentős különbséget mutattak ki a szerzők a közepes és a hosszú szénláncú zsírsavak felhasználásának mértékében. A jelölt oktanoát és oleát mennyiségét a kontroll (nem edzett) és a kezelt (edzett) emberekben exogén úton szabályozták a terhelés ideje alatt. Az oleát oxidációja a munkavégzés kapcsán az edzett egyedekben jelentős emelkedést (20%) mutatott, míg az oktanoát tekintetében nem volt mérhető különbség a csoportok között. A szerzők következtetése szerint az oktanoát felhasználás mértéke azért nem tér el a csoportok között, mert az diffúzióval jut át a mitokondrium membránján, míg az oleát karrier-mediált úton. Utóbbi aktivált oxidációja e folyamat intenzitásnövekedésére utal a rendszeres tréning következtében. *Kiens és mtsai (1999)* a *m. vastus lateralisban* a hosszúlancú zsírsavak igen intenzív oxidációját mutatták ki, melyet az aktív mitokondriális β -oxidációra vezettek vissza.

Hosszúlancú zsírsavak preferált felhasználása bizonyos analógiát mutat *Raclot és mtsai (1997)* megfigyeléseivel (2.3.3.1.2. fejezet). Bár jóval távolabbi közelítésnek tekinthető a plazma FFA összetételéből következtetni az egyes zsírsavak felhasználásának mértékére, *McClelland és mtsai (1995)* adatai mind az adiposa, mind pedig az izomsejtek szelektív zsírsav anyagforgalmát támasztják alá. Méréseiket a szerzők kutyán és kecskén is elvégezték, az egyes zsírsavak plazmában való megjelenésének (R_a) igen hasonló sorrendjét írták le a két fajban terhelés alatt (legnagyobb mennyiségben az oleát,

majd a palmitát volt kimutatható, majd a két fajban a sztearát és a linoleát fordított sorrendben jelent meg). A szerzők megállapítása alapján ezen sorrendet nem a takarmány zsírsavösszetétele határozza meg, mivel azonban a négy említett zsírsav az emlős szervezetben az összes zsírsav több, mint 80%-át adja, preferált hasznosításuk nem meglepő.

2.3.5. A plazma trigliceridek anyagcseréje terhelés alatt

A táplálékkal felvett zsírok TG formája a vérben legmarkánsabban a **kilomikron** és a **VLDL** frakciókban jelenik meg. Természetesen a vér TG koncentrációját a táplálék, valamint az abszorpciós fázis is befolyásolja. *Terjung és mtsai (1982)* szerint a postprandialis terhelés során oxidált zsírsavak azonos hányada származik az adiposa szövetből és a vér különböző lipoproteinjeiből, mivel a plazma TG turnover sebessége azonos a plazma FFA-éval. Ennek megfelelően a plazma TG az izom energia szükségletének jelentős hányadát fedezheti. *Turcotte (1999)* megítélése szerint a plazma TG, mint a terhelés energiabázisa kisebb jelentőségű, miután a frakció magasabb koncentrációja jelentősebb zsírmennyiség felvételét követi, a gyakorlatban viszont ilyenkor nem jellemző a nagy megterheléssel járó munkavégzés. A humán vizsgálatok összefoglaló eredményei arra utalnak, hogy a plazma TG-ből hidrolizált zsírsavak részvétele a teljes oxidatív anyagcseréből maximálisan 10% körüli, amennyiben azt nem postprandialis fázisban határozzák meg (*Mackie és mtsai, 1980; Terjung és Kaciuba-Uscilko, 1986*).

A TG felhasználását a kapillárisok endotheljéhez kötött lipoprotein lipáz (LPL, egy triglicerid hidroláz) szabályozza. Ez az enzim mind a kilomikron, mind pedig a VLDL TG “magját” (“TG core”) hidrolizálja; végső soron tehát a plazma TG eredetű zsírsavak is szabad formában jutnak az extrahepatikus szövetekbe. Természetesen azok nemcsak az izom, hanem az adiposa anyagcseréjébe is bekapcsolódhatnak. A lipoprotein lipáz (LPL) enzimaktivitása a kapillárist magában foglaló izom rosttípusától függ, mely alapvetően meghatározza annak oxidatív kapacitását. *Tan és mtsai (1977)* patkányok eltérő izmaiban (vörös, oxidatív: *m. soleus*; fehér, glükolitikus: *m. gastrocnemius*) jelentősen különböző LPL aktivitást írtak le. Ennek megfelelően az izom által felvett plazma TG mennyiség és annak rosttípusa között szoros a kapcsolat.

Taskinen és mtsai (1980) egyszeri, nagy intenzitású terhelést vizsgálva jelentéktelen LPL aktivitás-fokozódásról számoltak be. Ezzel szemben *Lithell és mtsai (1979)* rendszeres tréning hatására kétszeresére emelkedett LPL aktivitást mértek. Az LPL aktivitását tehát minden bizonnyal nem az akut terhelés, hanem a “regular endurance exercise” emeli hatékonyan. *Kiens és mtsai (1989b)* nem edzett férfiakban a terhelés alatt, illetve az azt követő egy órában nem tudtak fokozott LPL aktivitást bizonyítani, míg négy órával a gyakorlat után 1,5-szeres növekedést mértek. Az enzimaktivitás a munkavégzést követő

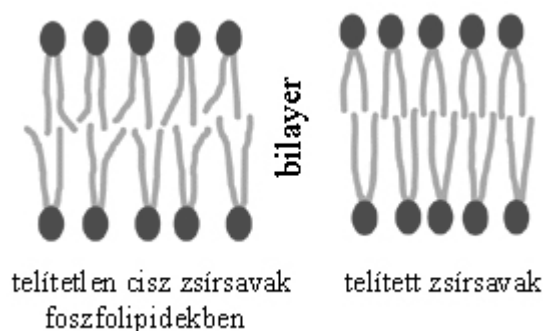
nyolcadik órában állt vissza a nyugalmi értékre. Megállapításaik szerint a LPL szabályozásában az inzulin döntő fontosságú: az inzulinszint és a LPL aktivitás ellentétesen alakul az izomban, az izom összehúzódások (a munkavégzés) pedig lassúbb, időben elnyújtottabb hatást fejtenek ki az enzimre. Az inzulin és a LPL szoros összefüggéséből a szerzők arra következtettek, hogy a nyugalmi LPL aktivitás az izom inzulin-érzékenységének indikátora, azaz igen jól tükrözi az edzettségi állapotot, az izom glükóz és lipid anyagcseréjének adaptációját.

2.3.6. A membránanyagcsere változásai

2.3.6.1. A membrán zsírsavösszetételének változásai tréning következtében

Miután a tréninghez való alkalmazkodás számos funkcionális és morfológiai paramétert befolyásol, ezért a membrán lipidösszetételének vizsgálata is indokolt. A terhelés “célszerve” a vázizomzat, elsősorban e szövet sejtjeinek membránját vizsgáltuk ilyen aspektusból. A vizsgálatot indokoltá teszik azok az eredmények is, melyek rámutattak, hogy a vázizomzat funkcionális membránjainak összetétele hatékonyan módosítható takarmányozási úton (*Gould és mtsai, 1987*), továbbá a környezeti hőmérséklet (*Ogawa és mtsai, 1987*), a katekolamin stressz (*Gudbjarnason, 1989*), a diabetes és a kondíció (*Storlien és mtsai, 1996*) hatása is bizonyított.

A dolgozat elsődleges céljának megfelelően itt a tréning okozta zsírsavprofil-változások részletes tárgyalására szorítokozom. A zsírsavösszetétel változása az élettani funkciókat egyértelműen képes befolyásolni, hisz a telítetlenség és a szénlánc hossza a membránfluiditással igen szoros kapcsolatban áll. Igen szemléletesen mutatja be a 2. ábra a zsírsav szénlánc és a membrán “hajlékonysága” közötti kapcsolatot.



2. ábra Foszfolipid membrán kettősréteg (bilayer), telítetlen cisz, illetve telített zsírsavakból

A terheléses vizsgálatok kapcsán a “membránsérülés” (“membrane damage”) régóta

ismert jelenség, ezt azonban elsősorban nagy intenzitású vagy igen hosszan tartó munka okozza. A rendszeres edzés hatását a membrán zsírsavösszetételére csak az utóbbi időben vizsgálják részletesen; főleg alkalmazott élettani tárgyú kutatások szolgálnak ilyen eredményekkel.

Andersson és mtsai (1998) alacsony szintű (55% VO_2 max) rendszeres edzést (10 hét) követően mutatták ki, hogy a 4. és a 10. hét között jelentősen csökkent a palmitát (C16:0), a linoleát (C18:2 n-6) és az összes n-6 zsírsav részaránya a vázizmok foszfolipid frakciójában. Ezzel szemben az oleát (C18:1 n-9) aránya megemelkedett. A trigliceridek zsírsavprofiljában nem mutattak ki különbségeket az edzés kapcsán. *Andersson és mtsai (2000)* később, edzett és nem edzett férfiakon 8 hétig tartó vizsgálatot folytattak, melyben a felvett táplálék összetétele teljesen azonos volt, a csoportok között a terhelés mértéke és a kísérletet megelőző időszak hossza különbözött. A palmitát, a dihomó- γ -linoleát (C20:3 n-6) és az összes n-3 zsírsav aránycsökkenését írták le. Az elongáz index nőtt (C18:0/C16:0), valamint a $\Delta 5$ deszaturáz aktivitás is, melyet gyakorlati közelítésben az emelkedett arachidonsav (C20:4 n-6)/dihomó- γ -linoleát arány mutatott. A triglicerid frakció zsírsavösszetételében a palmitát és a palmitoleát aránya is csökkent, emelkedett viszont a margarinsav (C17:0) és az α -linolénsav (C18:3 n-3) részaránya. *Helge és mtsai (2001)* férfiakon végzett hasonló célú vizsgálatai egy végtagon történtek, ahol a másik, nem terhelt láb volt a kontroll. A foszfolipidek zsírsavösszetételére a terhelés időtartama nem, csak a tréning fennállása volt bizonyítható hatással. Négyhetes kezelést követően az oleát és a dokozahexaénsav (C22:6 n-3) aránya emelkedett jelentősebben, de az összes telítetlen zsírsav tekintetében is hasonló tendencia volt látható. Az összes n-3/n-6 arány is csökkent. A tréning hatásainak elemzésekor valójában nem a membránstruktúra egyes zsírsavainak arányváltozása tekinthető mérvadónak, hanem az n-3 és n-6 csoportok arányváltozása, valamint a telítetlenség fokozódása, ami a membrántulajdonságokat módosítja. A kezelt és kontroll végtagok közötti eltérések igen jól szemléltetik a lokális adaptációt. *Helge és mtsai (1999)* patkányon végzett terheléses vizsgálatai gyakorlatilag azonos eredményt tükröznek rendszeres aerob gyakorlat hatására.

A tréning kapcsán a $\Delta 9$ deszaturáz enzim becsült aktivitása (C18:1 n-9 / C18:0) gyakran emelkedik, ezzel fokozva a telítetlenséget.

Fontosnak tűnik továbbá az a tényező is, hogy a foszfolipidek összetételbeli változásai a triglicerid frakcióban gyakran nem mutathatók ki vagy egészen más jellegűek, ami a két lipidfrakció különböző zsírsav anyagcseréjére utal.

Bár a membránösszetétel változásai nehezen jellemezhetők az egyes zsírsavak változásaival, bizonyos zsírsavak a tréning szempontjából mégis "indikátornak" tekinthetők. A palmitát-palmitoleát vagy a sztearát-oleát arányváltozás a leggyakrabban ellentétes tendenciát mutat a $\Delta 9$ deszaturáció fokozódása miatt, a zsírsavpárok között

ebben az esetben ugyanis prekursor-termék kapcsolat áll fenn. Hasonló viszony figyelhető meg az n-6 zsírsavcsoportban mind a linolsav - dihomó- γ -linolénsav, mind pedig dihomó- γ -linolénsav - arachidonsav párokban; előbbi reakció a $\Delta 6$, utóbbi pedig a $\Delta 5$ deszaturáció aktivitására utal közvetlenül (1. ábra). A $\Delta 5$ deszaturáz index tekintetében *Andersson és mtsai (2000)* határozott növekedést mutattak ki tréning hatására.

2.3.6.2. Az arachidonsav, mint a membrán minőségi változásainak indikátora

Ayre és mtsai (1998) patkánykísérletben az arachidonsav részarányának csökkenését tapasztalták edzést követően; eredményeik egyértelműen arra utalnak, hogy az egyed kondíciója nem befolyásolja az említett minőségi változást. *Andersson és mtsai (1998)* valamint *Helge és mtsai (1999)* eredményei az emlős fajok között fennálló erős membránszintű hasonlóságra hívják fel a figyelmet. Az arachidonsav a membránokban minden bizonnyal nemcsak mint polién zsírsav jelentős, hiszen a legtöbb membránösszetételt módosító hatás e zsírsavat érinti. A membránkárosodás oka gyakran a foszfolipáz-A2 (PLA2) enzim aktivációja, mely a membránból fokozott zsírsavfelszabadulást okoz. Malignus hyperthermiával terhelt sertések vázizom sejtjeiből *Fletcher és mtsai (1988)* 2-3-szoros PLA2 aktivitást mutattak ki. Az akut nagy intenzitású terhelés bizonyítottan emeli ezen lipáz aktivitását (*Armstrong és mtsai, 1991*), aminek megfelelően az arachidonát csökkent mennyisége intenzív terhelés után egyértelműen az enzimhatás következménye. A hosszútávú adaptáció azonban egész más eredményekhez vezet, miután tény, hogy a magas arachidonát koncentráció inhibitora a PLA2-nek (*Kogteva és Bezuglov, 1998*). Ugyanilyen hatású az olajsav és a linolsav. Az említett zsírsavak aránynövekedése ezek szerint az adaptációs mechanizmus azon része, mely a membránszerkezet épségének fenntartását célozza.

Az arachidonsav mennyisége és az izomsejt membránjának kapcsolata a sejt inzulin érzékenységgel is szoros kapcsolatban áll. *Vessby és mtsai (2002)* az adaptáció során fokozódó inzulin érzékenység és a deszaturázok aktivitása közötti kapcsolat elemzése során megállapították, hogy a tréning okozta magas arachidonsav - dihomó- γ -linolénsav arány az emelkedett $\Delta 5$ deszaturáz aktivitásból fakad, az enzimaktivitás változása mögött pedig az inzulin érzékenység fokozódása áll. A rendszeres tréninghez való adaptáció a membrán szintjén tehát a telítetlenség változásával is jár.

2.3.7. Enzimaktivitás-változások az adaptáció kapcsán

A dolgozat számos, meghatározott anyagcsereterméket részletesen tárgyaló részében szerepelnek enzimaktivitással kapcsolatos eredmények, pl. LDH, CK, elsősorban a szérum vonatkozásában. Ezek szerepét, illetve aktivitásuk változásait az egyes kísérleti eredményekkel kapcsolatban részletesen elemeztem.

A plazma enzimek tréning-okozta aktivitásváltozásait a szakirodalom rendkívül részletesen tárgyalja. Ennek megfelelően jelen fejezetben csak azon enzimek áttekintésére szorítkozom, melyek szerepe és diagnosztikus értéke kimagasló és amelyeket kísérletes munkánk során meghatároztunk.

2.3.7.1. A laktát dehidrogenáz

A laktát dehidrogenáz (LDH, EC 1.1.1.27.) az izommunka során keletkező laktát termelődését befolyásolja, emellett az izomsejt laktát anyagcseréjét is szabályozza. Az LDH esetében különböző izoenzimek különböztethetők meg, melyek eltérő eredetűek (szív-, vázizom, máj, vese), ugyanakkor a terhelés anyagcseréjének jellemzésére leggyakrabban a teljes LDH aktivitást (“basal total activity”) szokás meghatározni. A LDH jellegzetesen intracelluláris enzim, a mitokondriumhoz (LD1) vagy a sarcoplasmicus reticulumhoz (LD2) kötötten működik. Előbbi a laktát-piruvát átalakítást katalizálja, aerob körülmények között, míg utóbbi ugyanezt anaerob anyagcsere mellett végzi (*Sjodin, 1976*). Az izomsejtek LDH izoenzim-összetétele érdekes módon erősen függ azok rostösszetételétől. *Karlsson és mtsai (1974)* szerint a fehér izmokban jelentősebb az LD1 jelenléte, míg a vörös izmokban az LD2 domináns. Ugyanakkor általános jelenség, hogy a rendszeres tréning hatékonyan csökkenti a teljes LDH aktivitást. Az LDH-aktivitás igen szoros kapcsolatban áll az igénybevétel során termelődő laktát mennyiségével. Ennek megfelelően a rendszeres tréning során csökkenő glükolitikus aktivitás jelentős LDH aktivitáscsökkenéshez vezet.

2.3.7.2. A kreatin kináz

A kreatin kináz (CK, EC 2.7.3.2), a LDH-hoz hasonlóan intracellulárisan fordul elő. Szerepe a kreatin aktiválásában van, a foszfokreatin előállítását katalizálja. A terhelés megkezdését követően a foszfokreatin (PCr) lebontása azonnal megindul, ami arra utal, hogy a CK aktivitása akut fizikai igénybevétel idején igen magas lehet. Maximális terhelési szint mellett az anaerob glükolízis fokozódása csak a foszfokreatin “készlet” defoszforilációját követően várható (*Hargreaves, 1995*). Az izomban az PCr koncentrációja így igen nagy ingadozást mutat. A vérplazmában is jelentős eltérés figyelhető meg az akut terhelés és a post-exercise fázis között, emiatt a tréning nyomomonkövetésére a nyugalmi CK meghatározás tűnik a legmegbízhatóbbnak (*Halsón és mtsai, 2003*). A plazmában mérhető gyors aktivitásnövekedés tehát akut izom-, illetve membránsérülésre (infarktus, túlzott terhelés, “overtraining”, “membrane leakage”) utal. Az említett események kapcsán a plazma CK igen magas aktivitást mutat, emiatt a diagnosztikus értéke igen nagy.

2.3.7.3. Az alkalikus foszfatáz

Rendszeres fizikai igénybevétel kapcsán az alkalikus foszfatáz (ALP) aktivitása gyakran jelentősebb emelkedést mutat. Az enzimaktivitás ilyen irányú változása nagy valószínűséggel a csontállomány adaptációjának köszönhető. *Holy és Zerath (2000)* eredményei szerint növendék patkányokban már négyhetes aerob tréning is elegendő a csontok adaptációjához, ami fokozott csontsűrűségben jelentkezik. Azonos adaptációs folyamat idézhető elő vázizmok elektromos stimulációjával (*Lee és mtsai, 2001*) is, bár ezt nyilvánvalóan a rendszeres izomkontrakciók váltják ki. Az ALP adaptációjának elemzése kapcsán hangsúlyozott a rendszeres edzés fennállása. Az egyszeri, nagyobb terhelés ("single exercise bout") ugyanis erős kalcium-ürüléshez és csont-reszorpcióhoz vezet nem edzett egyedekben (*Ashizawa és mtsai, 1998*). Minden bizonnyal ez az a stimulus, mely a csont-anyagcsere adaptációját megindítja.

2.3.7.4. A szöveti oxidatív stabilitással összefüggő enzimek aktivitása

E fejezet az izom oxidatív kapacitásának enzimatis háttérét kívánja röviden jellemezni. Nyilvánvaló ugyanis, hogy a rosttípusban a rendszeres tréning okozta változások jelentős mértékben az oxidatív funkciójú (pl. a β -oxidációban résztvevő) enzimeknek tulajdoníthatók. Az antioxidáns enzimek aktivitásának változása egyfajta adaptációnak tekinthető, éppen a fokozottan oxidatív környezettel szemben. *McAllister és mtsai (1997)* munkájuk során a terhelés intenzitása szerint igen nagy különbségeket tapasztaltak az adaptáció mértékében. Az energianyerésben aktív enzimek közül a citrát-szintáz, a β -hidroxiacil-CoA-dehidrogenáz és a LDH aktivitását, míg az antioxidánsok közül a glutation peroxidáz (GPX) és a szuperoxid dizmutáz (SOD) koncentrációját mérték. Az első csoportból csak a LDH nem mutatott jelentősebb aktivitás-változást, míg az antioxidáns enzimek közül a SOD aktivitása nőtt. *Wilson és Johnson (2000)* kimutatták, hogy a rendszeres tréning patkányok májában és szívizmában nemcsak az antioxidáns enzimek (GPX és SOD) aktivitását, hanem azok génjeinek expresszióját is befolyásolják, bár a kapcsolat nem minden esetben volt szoros.

A tréning általános hatása leginkább az oxidatív stabilitás növekedésében nyilvánul meg, amit mind a vonatkozó enzimek (GPX), mind pedig a peroxidáció anyagcseretermékei (pl. malondialdehid) érzékenyen tükröznek. *Reddy Avula és Fernandes (1999)* különböző szervek antioxidatív tulajdonságainak fokozására kis intenzitású ("moderate"), de rendszeres tréninget alkalmaztak, mely igen hatékonynak bizonyult e tekintetben.

2.3.8. Ivari eltérések a terhelés alatti anyagcserében

A terheléses vizsgálatok leggyakrabban hímvivárú egyedeken történnek. Ezt a hormonális

rendszer olyan eltérései indokolják, melyek a ciklicitás miatt a hosszabb távú kísérleteket rendkívül megnehezítik, a rövidebb vizsgálatoktól pedig rendkívül pontos időzítést kívánnak. Humán vonalon számos eltérő mérési eredményt publikáltak, melyek un. keresztmetszeti kísérletes elrendezésekből származnak, emiatt az összehasonlíthatóság problematikus lehet. *Carter és mtsai (2001)* longitudinális vizsgálatban (edzési program) hasonlították össze a két nem közötti anyagcserét terhelés alatt, nem edzett egyedeken. A testtömegre vetített VO_2 max kezdeti érték érdekes módon nem különbözött, de a férfiakban erősebb emelkedés volt elérhető. A nyugalmi tesztoszteronszint csak a férfiakban emelkedett jelentősebben, míg a 17β -ösztadiol esetében nem volt mérhető változás a tréning során. (A korai tüszőerési állapot bizonyítéka a tréning során gyakorlatilag állandó progeszteronszint volt.) A munkavégzés során felhasznált szubsztrátok aránya jeletősen különbözött az aktív fázisban: a nők zsírsavoxidációja messze meghaladta a férfiakét (glicerin Ra a plazmában). Érdekes módon a glükózfelhasználás (Ra) nem mutatott különbséget. Ez azonban csak azonos relatív intenzitás mellett állja meg a helyét, miután *Friedlander és mtsai (1998)* az edzés során a két nem szénhidrát hasznosításában eltérést írtak le; az intenzitástól függően a nők glükózfelhasználása erősebb emelkedést mutatott.

A terhelésre adott neuroendokrin válasz alapján jelentős dimorfizmusról számoltak be *Davis és mtsai (2000)* is. A terhelés alatti adrenalin és noradrenalin emelkedés a férfiakban volt kifejezettebb, míg a glükagon és a kortizol reakció nem tért el. Az inzulin "alapértéke" férfiakban magasabb volt, majd markánsabban csökkent a terhelési fázis során, míg a glükoneogenezis relatív mértéke nem volt különböző. A nők estében fokozott lipolitikus aktivitást mutattak ki a szerzők. *Tarnopolsky (2000)* összefoglalt álláspontja, hogy a nőknél mérhető erősebb lipolitikus és gyengébb glikolitikus anyagcsere a kisebb szimpatikus hatást ellensúlyozza.

2.3.9. Humán és állaton végzett terheléses kísérletek elvi különbségei

A humán sportélettani vizsgálatokat számos esetben állaton végzett terheléses kísérletek előzik meg. Erősen torzított eredmény származhat ilyen elemzésekből, amennyiben elhanyagoljuk az emlősök között is fennálló komoly morfológiai, élettani és biokémiai eltéréseket, melyekhez pszichikai tényezők is társulnak.

A tréninghez való adaptáció elemzésekor mind humán, mind pedig patkány modellen végzett vizsgálatok eredményei szerepeltek. Patkány esetében azonban a **glükoneogenezis** csökkent intenzitása nem mutatható ki a zsírsavoxidáció fokozódásával párhuzamosan, sőt, annak ellentéte, intenzív glükózsztézis mérhető.

A funkcionális eltérések mellett azonban bizonyos **morfológiai különbségek** is kimutathatóak. Az ember vázizom szövetének **adrenerg receptorai** szinte kizárólag β_2

altípusúak. Ezzel szemben *Jensen és mtsai (1995)* kifejlett patkányok I és II rosttípusú izmában is (*m. soleus* és *m. extensor digitorum longus*) 10% β_1 receptort mutattak ki. Hasonló eredményt kapott *McNeel és Mersmann (1999)*, sertés hosszú hátizmán végzett kísérletük során. Érdekes módon *Elfellah és Reid (1987)* tengerimalac vázizomzatában (*m. gastrocnemius* és *m. soleus*) a humán példával azonos tendenciáról számol be.

Nemcsak ultrastruktúrális, hanem “makroszkópos” eltérések is fennállanak az ember és az állat-modell között. *Friedlander és mtsai (1998)* szerint az **intramuscularis zsír** az izom teljes energiaigényéből 20-50%-ot biztosíthat. Ezen mutató nyilvánvalóan nem mondható el sertés vagy nyúl egyes izmainak esetében, melyek csak 1,2-1,5% nyerszsír tartalmúak. Az ember vázizmainak zsírtartalma ezen értékeket jóval meghaladja, emiatt igen valószínű, hogy állatokban kisebb ezen frakció jelentősége.

A trigliceridek felhasználásában egy igen nagy arányú eltérés áll fenn az ember és a nyúl között. A vérplazma **kilomikron-TG** metabolizmus emberben, kísérletes körülmények között valójában nem járul hozzá jelentősen a terhelés által támasztott igényekhez. Ennek indoka, hogy nagyobb megterhelés általánosan nem jellemző magas zsírtartalmú táplálék fogyasztását követően. A nyúl takarmányfelvétele ezzel szemben közel folyamatos, ezáltal a **postprandialis** állapot igen hosszú is lehet. A nyúl, mint kísérleti modell esetében a plazma TG részvétele bizonyosan nagyobb, mint emberben. A hosszú postprandialis állapot modellezésére *Hussain (2000)* olyan mutáns egereket használt, melyekben az enterociták lipoprotein szintézise gátolt, így a felvett zsír nagy hányada mint TG került a keringésbe, hiszen a VLDL fehérjefrakciójának képződése gátolt volt.

A humán vonalon detektált adatok sportélettani sajátossága, hogy az állatkísérleteknél sok esetben nehezen elkerülhető **katekolamin stressz** nem torzítja azokat. Bár a kondicionálás, a kíméletes kivitelezés, valamint a kísérleti körülményekhez való metabolikus adaptáció (*Winder és mtsai, 1982*) e faktort jelentősen csökkentheti már néhány nap után is, jelenlétével állatoknál mindenképp számolni kell. Valójában a fajok között is nagy eltérésekkel lehet számolni, kutyák, lovak esetében például az **önkéntes** (“voluntary”) **munkavégzés** igen gyakori. Ezzel analóg, de egészen más etológiai háttérrel rendelkezik a rágcsálók önkéntes, igen aktív munkavégzése. A háziasított hörcsögök aktivitása elsősorban éjjel kifejezett. Ez pontosan egybe esik a vad típus éjszakai táplálékkeresési szokásaival, így napi ritmusuk a háziasítástól függetlenül gyakorlatilag azonos (*Barinaga, 2001*). Az emlősök napi ritmusának primér szabályozó központja ugyanis nem exogén tényező, hanem a *nucleus suprachiasmaticus*, mely az un. TGF- α (*transforming growth factor- α*) szekréciójával negatívan befolyásolja az aktivitást (*Kramer és mtsai, 2001*). A TGF- α szekréciójában a szerzők szabályos napi ritmust mutattak ki.

Az önkéntes fizikai munka egyik régóta ismert hatása az **endogén opioidok** fokozott koncentrációja a vérben. *Debruille és mtsai (1999)* patkányokban, háromhetes tréninget

követően a munkavégzés közben vett vérmintákban határozottan magasabb β -endorfin koncentrációt mértek az inaktív kontrollhoz képest. *Sher (1998)* az endogén opioidok erős fájdalomcsillapító és eufórikus hatása miatt “endogén jutalmazási rendszernek” nevezte a szekréciójukat és a hatásukat, emellett a lehetséges addikcióról is említést tett. A fent említett különbségek mellett további, pl. emésztésélettani sajátosságokat is figyelembe kell venni. A dolgozat tárgyát képező nyúl-modell zsíremésztésének speciális aspektusai a *2.2.3. fejezetben* olvashatók. Amennyiben a kísérleti tervezés része az adatok más fajokra történő kiterjesztése, mindenképp tekintettel kell lenni a kísérletbe vont faj sajátosságaira.

3. Anyag és módszer

Az egyes kísérleti beállításokban, az összehasonlíthatóság lehetőségét szem előtt tartva a lehető legtöbb paramétert igyekeztem standardizálni.

3.1. Kísérleti állatok, tartás

A vizsgálatokat minden esetben Pannon fehér nyulakon végeztük, 4 hetes kezdő életkortól, azaz a választást követően. Ezt a könnyű kezelhetőség és a szilárd takarmány fogyasztása indokolta. A kísérletekben csak hímivarú állatok vettek részt, a próbavágás a terheléses vizsgálatokban a 8., a takarmányozási kezelések esetében pedig a 8., 9. és 12. hét végén történt; utóbbi az ivari aktivitás kezdetével esik egybe.

A nyulakat minden esetben a Kar Kísérleti Telepének zárt, klimatizált nyúlistállóiban, egyszintes, ponthegeesztett dróthálóból készült ketrecekben, kettésével helyeztük el. A kísérletekben mért paramétereket, állatlétszámot, az elemzett izmokat az *1. táblázat* foglalja össze.

1. táblázat Kísérleti beállítások és az egyes vizsgálatokban elemzett paraméterek

kezelés	n	kor (hét)	minták	vizsgálat tárgya
treadmill	6 (x2)	4-8	m.longissimus dorsi, m. vastus lateralis	zsírsavösszetétel teljes izomból, vvt. membrán zsírsavösszetétel, plazma LDH
kontroll	6 (x2)			
treadmill	8	4-8	szérum, m. quadriceps femoris	szérum metabolitok és enzimek, heti mintavételekkel, frakcionált izom foszfolipid és TG zsírsavösszetétel
kontroll	8			
TENS	10 SAT + 10 UNSAT	4-8	m.longissimus dorsi	zsírsav összetétel teljes izomból, izom oxidatív stabilitás
kontroll	10 SAT + 10 UNSAT			
TENS	8	4-8	szérum, m. longissimus dorsi	szérum metabolitok és enzimek, heti mintavételekkel, foszfolipid és TG zsírsavösszetétel
kontroll	8			
tak. zsírsavak be- és átépülése	30 SAT 30 UNSAT	8-9-12	m.longissimus dorsi	zsírsavösszetétel teljes izomból, izom oxidatív stabilitás, plazma lipidek

3.2. Takarmányozás

A treadmill terheléses vizsgálatokban Purina Puristar takarmányt etettünk, melynek a zsírsavösszetételét is meghatároztuk (*3. melléklet*). A TENS terhelés mellett etetett

kísérleti takarmányok (SAT és UNSAT) részletes összetételét a 4. melléklet mutatja. A takarmányeredetű zsírsavak be- és átépülésére irányuló vizsgálatban etetett takarmányok a TENS kezelésben alkalmazottak voltak. A szérum paraméterek és az izom foszfolipid zsírsavösszetétel változásainak meghatározására végzett kísérletek (treadmill és TENS) takarmányának összetétele az 5. mellékletben látható.

A takarmányozás minden kísérletben *ad libitum* volt. A takarmányfogyasztást és a testtömeggyarapodást minden esetben heti gyakorisággal mértem.

3.3. Kísérleti beállítások

3.3.1. "Treadmill" terheléses vizsgálat

A "treadmill" berendezés egy 30x100 cm-es feszített, vízszintes bőr szalagon alapul, melyet villanymotor hajt. A szalagsebesség 0-10 m/s között folyamatosan szabályozható, a felépítmény pedig nyitott, így a nyulak felügyelete jól megoldható (3. ábra).



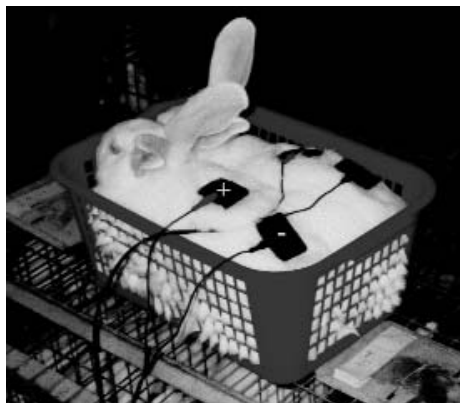
3. ábra Nyúl treadmill kezelés közben

A vizsgálatokban a kezelést a 4. és a 8. hét között végeztem, két ismétlésben, melyeket időben elcsúsztatva sikerült kivitelezni. A nyulakat napi két alkalommal (8 és 16 órakor) egyesével, a kimerülés, illetve a hajlandóság határáig futtattam, a kezelés időtartamát és a futószalag sebességét rögzítettem. A kontroll csoport minden tekintetben azonos kezeléseken esett át, kivéve a napi két tréninget. A szérum metabolitok és enzimek meghatározásánál, illetve a frakcionált izom-lipideket elemző vizsgálatban is a fentivel egyező metodikát alkalmaztam.

3.3.2. Elektromos stimuláció (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, TENS)

Az *in vitro* kísérletekben széles körben alkalmazott, elektromosan kiváltott izometrikus izomkontrakciót nyulakon *in vivo* végeztem. A kísérletben a humán gyakorlatban használt készüléket (AccuTens HS922) alkalmaztam, a következő kezelési beállításokkal: 2 elektróda/állat, 20 perc/alkalom, 20 ms impulzushossz, 10 mA

áramerősség, 30 Hz impulzusgyakoriság, 28 napos kísérleti időtartammal, napi 2 alkalommal. Az öntapadó elektródákat a hosszú hátizom bal oldalán, az 1. és 4. lumbális csigolyáknál helyeztem fel, előbbi helyen a “+”, utóbbin a “-” pólust. A szőrt itt 2x2 cm-es felületen rövidre nyírtam és kontakt géllal átnedvesítettem, a vezetőképesség javítása érdekében. A nyulakat kettesével műanyag tartóba helyeztem a kezelés idejére (4. ábra).



4. ábra Nyulak transcutan elektromos izomstimuláció közben

3.3.3. A takarmányeredetű zsírsavak be- és átépülésének vizsgálata

Vizsgálatainkat kétféle izokalorikus takarmány etetésével végeztük (4. melléklet), összesen 60 hímivarú Pannon fehér nyúl bevonásával, takarmányozási csoportonként 30-30 egyeddel. Az egyik csoport hidrogénezett növényi olaj kiegészítésű tápot (SAT csoport) fogyasztott, a másik pedig intakt napraforgóolajjal (UNSAT csoport) készült takarmányt, *ad libitum*. A két kiindulási csoport 4 hétig SAT vagy UNSAT takarmányt kapott. Ezt követően a takarmányokat felcseréltük, majd 1 és 4 hét után vettünk mintákat. Minden kezeléskombinációt 10 egyed vizsgálatára alapoztunk, mely 4 hét SAT, 4 hét SAT+1 hét UNSAT, 4 hét SAT+4 hét UNSAT és fordított beállításokat jelentett. A próbavágásokat vérvétellel is kiegészítettük.

3.4. Izom mintavétel

A “treadmill” és a TENS kísérletek mintavétele a hosszú hátizomból (*m. longissimus dorsi*) és a hátsó végtag *m. vastus lateralis* (*m.v.l.*) izmából történt. Előbbi a nyúl esetében a test legjelentősebb izma, utóbbi pedig számos terheléses vizsgálat célpontja. A mintákat mindig a 3. és 4. ágyéki csigolya tájékáról vettük. Az m.l.d.-ből 10g-ot, a m.v.l. esetében pedig a teljes izomhasat eltávolítottuk, minden esetben a bal oldalról, közvetlen a vágás után. Az izommintákat egyenként csomagolva -20 °C-on tároltuk a laboratóriumi analízisig.

A kísérletek során a treadmill és az elektromos kezelést is a mintavételt megelőző napon

függesztettem fel. Ezt arra alapoztam, hogy a TG anyagsere mind a terhelési, mind a regenerációs fázisban igen aktív (Coyle és mtsai, 2001). Miután méréseink nem az akut fázis, hanem a hosszútávú adaptáció nyomkövetését célozták, a mintavételek tudatosan nem a közvetlen “post exercise” fázis idején történtek.

Mind a treadmill, mind az elektromos stimulációs kísérletben ún. keresztmetszeti kísérleti beállítást (“cross-sectional design”) alkalmaztunk, azaz a kezelés hatását csak egy pontban detektáltuk. A zsírsavak beépülésének és átépülésének mérésekor ezt bizonyos szinten kiegészítettük, mivel ott a takarmányváltást követő 1. héten is vettünk mintákat, egy köztes állapot rögzítésére. Utóbbi kísérletben is m.l.d. mintákat elemeztünk.

A szérum mérésekkel egybekötött vizsgálat során, melyben az izom plazmamembrán és TG frakció zsírsavösszetételét elemeztük, a *m. quadriceps femoris* vörös fejét mintáztuk. Az azonos kísérlet TENS csoportjában továbbra is a m.l.d.-t analizáltuk, itt azonban már frakcionált lipidekből dolgoztunk.

3.5. Vérminták

A vérmintákat a treadmill és TENS kísérletekben vágással egybekötve vettük, a teljes mennyiséget felfogva, amit az első treadmill kísérletben a vörösvértest membrán izoláció indokolt, illetve követett (3.7.5.). Az alvadésgátlás heparinnal (Richter Gedeon Rt., Budapest) történt. A plazma elkülönítését 10 cm³ friss mintából 1,5 perces 3500-as fordulátú centrifugálással végeztük. A plazmamintákat Eppendorf csövekben mélyhűtve tároltuk, az analízis azokból a mintavételt követő napon történt.

A szérum metabolitok és enzimek vizsgálatokor a vérmintákból szérumot állítottunk elő. A hetente ismételt vérvételeket itt a bal fülvénából végeztük az adaptációs folyamat nyomkövetése érdekében (“longitudinal trial design”). A vért 1,5 ml-es Eppendorf csövekben tároltuk jégen, majd alvadás után 5500-es fordulaton 10 percig centrifugáltuk. A minták feldolgozása fagyasztásos tárolást követően, egy analitikai sorozatban, a kísérlet végén történt.

3.6. A kísérletek engedélyezése

A terheléssel összefüggő vizsgálat sorozatot a Somogy Megyei Állategészségügyi és Élelmiszerellenőrző Állomás engedélyezte (208-6/2002).

3.7. Laboratóriumi analízisek

3.7.1. Izomminták zsírsavösszetételének gázkromatográfiás meghatározása

A 3.3.1., 3.3.2. és a 3.3.3. pontok alatt leírt kezeléseket követő zsírsav-meghatározások az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet Élettani Osztályán (Herceghalom), a Veszprémi Egyetem Georgikon Mezőgazdaságtudományi Karának Állatélettani és Takarmányozástani Tanszékén (Keszhely), illetve a Padovai Egyetem Zootechnikai Tanszékén (Padova) történtek. Az izomminták mechanikai előkészítését, majd a lipidek kioldását minden esetben *Folch és mtsai (1957)* módszerével, a zsírsavak mérését pedig metilészterekké való átalakítás és gázkromatográfiás elválasztás után lángionizációs detektor segítségével végezték (MSZ EN ISO 5508-1992). A fent említett kutatóhelyeken alkalmazott készülékek különbözőek voltak: SP 2330 töltetes (10%) 10/120 Chromosorb AW oszloppal ellátott Chrom 5 (Lab. Praha) gázkromatográf, Supelco Omegawax 320 kapilláriskolonnával felszerelt Carlo Erba HRGC 5300 gázkromatográf, illetve Supelco Omegawax 250 kapilláriskolonnával rendelkező CE 8000 (Top Thermoquest, Milan, Italy) gázkromatográf. A frakcionált lipidek zsírsavprofil-meghatározását szintén Herceghalmon végezték, egy újabb, Shimadzu 2100 típusú készülékkel, mely SP-2380 kapilláriskolonnával volt ellátva.

3.7.2. Foszfolipid frakcionálás izmok komplex lipidtartalmából

A foszfolipidek frakcionált vizsgálatát *Leray és mtsai (1997)*, valamint ugyanazon munkacsoport (<http://www.cyberlipid.org/phlipt/pl3b0009.htm>) kissé módosított metodikájával végeztem. A módszer *Folch és mtsai (1957)* gyors extrakcióját követően kloroform, aceton:metanol (9:1), végül tiszta metanol elúciós lépésekből áll, alacsony nyomású oszlopkromatográfia során. A 24 mm belső átmérőjű üvegcsőben 300 mg szilikagél G60 (230-400 mesh) töltetet alkalmaztam 10 mg komplex lipidre. A kromatográfiás eljárás során ugyanennyi lipidet 10, 15, majd 10 ml oldószerezrel eluáltam a fenti sorrend szerint. A harmadik frakciót (foszfolipidek) 60 °C-os vízfürdőn, N₂ alatt teljesen bepároltam. A metilészter képzés Na-metilát és dimetil-karbonát segítségével történt, a zsírsav metilésztereket 1,5 cm³ hexánban feloldva, fagyasztva (-70 °C) tároltuk az elemzésig. A GC analízis a 3.7.1. fejezetben leírtak alapján történt.

3.7.3. Triglicerid frakcionálás izmok komplex lipidtartalmából

A 3.7.2. fejezet szerinti frakcionálás során kapott első eluátum tartalmazza a neutrális lipideket (pigmentek, szterolok, trigliceridek, viaszok, szabad zsírsavak) (www.cyberlipid.org/fraction/frac0010.htm#1a). A TG tisztítást tehát az első frakcióból, bepárlást követő vékonyréteg-kromatográfiás eljárással végeztem, *Cerolini és mtsai (1997)* módszerével.

A 0,5 cm³ kloroform:metanol (2:1 v/v) elegyben felvett neutrális lipid frakciót Silicagel G60 (0,25 mm, 20 x 20 cm, Merck # 5721) lemezre vittem fel, majd hexán-dietiléter-formiát (80:20:1 v/v/v) elegyben futtattam, míg a front 1 cm-re megközelítette a lemez szélét. A minták mellett napraforgóolaj standard futott. A száraz lemezt 2,7 diklór-fluoreszcein oldattal (0,1 w/v% metanolban) jelöltem, a TG foltokat pedig UV (440 nm) alatt az üveglapról lekapartam. A silicagelből kloroform:metanol (2:1 v/v) eleggyel extraháltam a TG-eket (háromszor, vortexeléssel), majd az oldatot 60 °C-os vízfürdőn, N₂ alatt teljesen bepároltam. A metilészter-képzés Na-metilát és dimetil-karbonát segítségével történt, a zsírsav metilésztereket 1,5 cm³ hexánban, fagyasztva (-70 °C) tároltuk az elemzésig. A GC analízis Shimadzu 2100 automata gázkromatográfyon készült (ÁTK, Herceghalom, Élettani Osztály), Supelco Omegawax 30 m x 0,25 mm kapilláriskolonnával, Supelco 24136 katalógusszámú zsírsav-metilészter standard sor mellett.

3.7.4. Malondialdehid koncentráció mérés

A treadmill és a TENS kísérlet hosszú hátizom mintáiból a Szent István Egyetem Mezőgazdaságtudományi Karán, a Takarmányozástani Tanszéken mérték malondialdehid tartalmat, az oxidatív stabilitás meghatározása céljából. Az 1 g-os izommintákhoz 0,9 ml fiziológiás sódatot (0,9 % w/v NaCl) adtak majd Ultra Thurrax (Donau Lab AG, Linz) homogenizátorral feltárták. A malondialdehid meghatározás *Placer és mtsai (1966)* módszerével történt, a kalibrációhoz tetraetoxi-propanolt használtak. A mérési eredményt mmol / g (nedves tömeg) adták meg.

3.7.5. Vörösvértest membrán izoláció

A vörösvértestek előkészítése a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Karán, a Klinikai Kémiai Intézetben történt, a treadmill kezelt nyulak mintáiból, *Nelson (1972)* leírása alapján. A hemolízist hipotóniás oldattal indukálták, amit 7,4 pH-jú izotóniás foszfát pufferes mosás előzött meg, a plazma lipoproteinek eltávolítása érdekében. A hemolizált sejtek hemoglobintól való megtisztítása desztillált vizes mosással történt, majd a membrán-fragmentumokat a mosóközegetől centrifugálással (10000g<) választották el.

3.7.6. Klinikai kémiai mérések

A klinikai kémiai paraméterek meghatározása automata analizátorokkal történt. Az alkalmazott reagensek és készülékek adatait az 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat A klinikai kémiai mérések során alkalmazott reagensek, analizátorok, mérési hullámhosszok

Metabolitok	Analizátor / reagens	Mérési hullámhossz (nm)
Plazma szabad zsírsav	Helios α / Randox FA115	434
Plazma összlipid	Helios α / Randox TL100	546
Plazma, szérum összkoleszterin	Konelab 20i / 981374*	546
Szérum HDL koleszterin	Konelab 20i / 981108	540
Plazma és szérum triglicerid	Konelab 20i / 981301, Randox TR210	540
Szérum összfehérje	Konelab 20i / 981387	540
Szérum albumin (BCG)	Konelab 20i / 981358	628
Szérum kreatinin	Konelab 20i / 981374	480
Szérum karbamid	Konelab 20i / 981302	540
Enzimek		
Laktát dehidrogenáz (LDH)	Hitachi917 / Sigma 340-101	340
Kreatin kináz (CK)	Konelab 20i / 981372	540
Alanin aminotranszferáz (ALT)	Konelab 20i / 981361	346
Aszpartát aminotranszferáz (AST)	Konelab 20i / 981363	346
γ -glutamil transzpeptidáz	Konelab 20i / 981377	546
Alkalikus foszfatáz (ALP (Dea))	Konelab 20i / 981359	405
Kortizol	Sigma-Aldrich IRMM/IFCC-451	

* *Konelab katalógusszám*

3.8. Alkalmazott statisztikai módszerek

A kísérletekből származó alapadatokból elsőként a kiugró értékeket (“outlier”, a kétszeres szórástávolságon kívül eső egyedi adatok) zártam ki. Ezt követően normalitás vizsgálatot végeztem.

A treadmill beállításban a zsírsavösszetétel mérésekből származó egyedi adatokat (m.l.d., m.v.l., vvt membrán, m.q.f. TG, PL) kontroll vs. kezelt formában hasonlítottam össze, kétmintás független *t*-próbával, 5%-os szignifikancia szinten. A módszert zsírsavanként végeztem, ezt alkalmaztam a LDH aktivitás vizsgálatok is.

Az elektromos stimulációs kísérletben, tekintettel a kétféle kezelésre (kontroll vs. kezelt, UNSAT és SAT takarmányozási csoportokban) többváltozós varianciaanalízist alkalmaztam, a takarmány x TENS interakcióra is kitérve, amikor a mérések teljes izomhomogenizátumból történtek. A TG és PL lipidfrakciók zsírsav-részarányait kétmintás független *t*-próbával hasonlítottam össze.

A SAT és UNSAT takarmányok zsírsavainak beépülésekor a csoportok összehasonlítását a kiinduló (4 hét SAT vagy UNSAT) állapothoz képest értelmeztem, azaz 4 hét SAT vs. 4 hét SAT+1 hét UNSAT vs. 4 hét SAT + 4 hét UNSAT összevetéseket alkalmaztam. Itt egytényezős (“oneway”) varianciaanalízist végeztem. Tekintettel a testtömeg folyamatos növekedésére, e tényezőt kovariánsként vontam be a modellbe. Az egyes

takarmányozási protokollok esetében a zsírsavak beépülésére lineáris regresszió elemzést végeztem, *Fontanillas és mtsai (1998)* nyomán. A két végső állapot összevetésekor független kétmintás *t*-próbát használtam (4 hét SAT + 4 hét UNSAT vs. 4 hét UNSAT + 4 hét SAT).

A számításokhoz az *SPSS for Windows 10.0 (1999)* szoftvert használtam.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. A treadmill kísérlet - rendszeres aerob fizikai terhelés

4.1.1. A futás sajátosságai

Az előkísérletek során nyilvánvalóvá vált, hogy a húsnyúl futási teljesítménye relatív alacsony, méréseim alapján a napi 0,6-1,2 km érhető el külső beavatkozás nélkül. A négyhetes kezdő életkor ilyen szempontból megfelelő, ennél későbbi kezdés esetén a nyulak hajlandósága jóval alacsonyabb. A futószalagon az optimális futási teljesítmény elérése érdekében célszerű volt egy 15 cm széles területet kialakítani, a nyulak így nem tudtak visszafordulni (3. ábra). Érdekes módon a futás úgy is megoldható volt, ha a szalag 30 cm-es szélességén egymás mellett két nyúl haladt. A futási aktivitás a korrallal nem változott jelentősebben, a futási hajlamban azonban kisebb egyedi eltéréseket tapasztaltam. Megfigyeléseim szerint a nyúl, a macskafélékhez hasonlóan, nemcsak a hátsó végtag, hanem az ágyéki szakasz izmait is terheli futás közben. A mozgás részletes megfigyelése eredményezte a mintavétel azon sajátosságát, hogy azt az m.l.d. esetében a lumbális szakaszból valószínűsíthető, ez volt ugyanis az a magasság, melynek izomzata a legaktívabban vett részt a futásban.

A házinyúl napi aktív fázisának hossza *Kennedy és mtsai (1994)* szerint főleg a testtömegetől függ. Emiatt a fiatalabb nyulak terheléses vizsgálata indokolt, a napszakonkénti aktivitásváltozás azonban nem jelentős, azaz a kezelés időpontját utóbbi tényező nem befolyásolja.

Az emelt szintű fizikai aktivitás nyilvánvalóan fokozott energiaigényű élettani helyzet, ezért a heti tömeggyarapodást és a takarmányfelvételt is rendszeresen mértem. A kontroll és a futó csoport heti tömeggyarapodása és takarmányfogyasztása nem tért el statisztikailag igazolható mértékben. Valószínű, hogy ez a relatív alacsony intenzitású terhelés miatt alakult így.

4.1.2. A *m. longissimus dorsi* zsírsavösszetétele treadmill kezelést követően

A két csoport m.l.d. izommintáinak zsírsavösszetételét a 3. táblázat mutatja. A m.l.d. zsírsavösszetételében az olajsav (C18:1 n-9) szignifikáns aránynövekedést mutatott a kezelés hatására. A m.l.d. nyúlban 95% glükolítikus rostot tartalmaz (*Vigneron és mtsai, 1976*), emiatt nem meglepő, hogy kisebb a lipolítikus aktivitása, illetve kevésbé intenzív annak lipid turnover.

A sztearát-oleát átalakulás a $\Delta 9$ deszaturációs folyamat során jön létre, emiatt az említett zsírsavak aránya gyakran ellentétesen változik. A m.l.d.-ban is látható ez a tendencia, az

oleát jelentős aránynövekedését a sztearát csökkenése követte, bár utóbbi esetben szignifikancia nem volt bizonyítható.

3. táblázat Tréningezett és kontroll nyulak *m. longissimus dorsi* zsírsavösszetétele 8 hetes korban, 4 hét kezelést követően

Zsírsav	m.l.d.		P érték
	kontroll	tréningezett	
n	12	12	
<i>az összes zsírsav %-ában</i>			
C14:0	1.66±0.23	1.8±0.39	NS
C15:0	0.45±0.11	0.41±0.06	NS
C16:0	26.97±0.78	27.32±0.82	NS
C16:1 (n-7)	2.20±0.39	2.50±0.81	NS
C17:0	0.59±0.13	0.43±0.04	NS
C18:0	8.38±1.04	7.85±0.51	NS
C18:1 (n-9)	20.05±0.49	21.75±1.82	0,01
C18:2 (n-6)	25.08±1.13	23.97±1.24	NS
C18:3 (n-3)	2.50±0.68	2.47±0.49	NS
C20:4 (n-6)	5.86±0.93	5.36±1.10	NS
Elongáz	0.31±0.02	0.29±0.02	0,05
Δ9 deszaturáz	2.42±0.26	2.79±0.4	0,05

P>0.05 : NS; Δ9 deszat. = C18:1 (n-9)/C18:0; Elongáz = C18:0/C16:0

Az egyes zsírsavak arányváltozása önmagában nem minden esetben informatív, bizonyos zsírsavak azonban “indikátornak” tekinthetők a tréning vonatkozásában. *McClelland és mtsai (1995)*, valamint *Mougiós és mtsai (1995)* méréseiket vérplazmából végezték, a terhelés alatt folyamatosan ismételt mintavételekkel. A kapott eredmények alapján az adiposa szövetből a palmitát, palmitoleát, sztearát, oleát és lionoleát hidrolizál először, illetve legnagyobb mennyiségben. Ezen zsírsavak részaránya az összes TG formában tárolt zsírban igen nagy, ilyen szempontból nem meglepő a plazma FFA-ban való fokozott részvételük sem. Amennyiben az IMTG és az adiposa TG hidrolitikus sorrendje nem mutat jelentős eltéréseket, a plazma FFA-ban mért jelenségek alkalmazhatóak az izomra is. Ezt elsősorban *Holm és mtsai (1987)* HSL enzimmel kapcsolatos eredményei támasztják alá, melyek szerint a vázizmokban is található egyfajta HSL komplex enzim. A fent említett zsírsavak közül jelen vizsgálatban csak az oleát arányában mértünk változást, emelkedést, mely a Δ9 deszaturáció aktivitásának változására utal.

Boden és mtsai (2002) a plazma FFA és az inzulin kapcsolatát úgy szemléltették, hogy a magas FFA szint gátolja a májbeli glükoneogenezis inzulin-szupresszióját, ezzel csökkenti a máj inzulin érzékenységét. Izomban, főleg a membránlipidekben egész más

jellegű az inzulin és a zsírsavak kapcsolata: a deszaturáció összetett enzimatikus folyamatát befolyásolja az inzulin. *Vessby és mtsai (2002)* szerint a $\Delta 6$ és a $\Delta 9$ deszaturációt serkenti, míg a $\Delta 5$ -öt gátolja az emelkedő inzulinszint. Saját vizsgálatunkban a tréningezett m.l.d. minták $\Delta 9$ deszaturációs indexe (C18:1 (n-9)/C18:0) szignifikáns emelkedést mutatott, bár a mérés teljes lipidtartalomra vonatkozik, nem pedig egyes frakciókra.

Az elongáz aktivitás, mely igen összetett enzimes folyamat, a gyakorlatban a C18:0/C16:0 termék-prekursor indexszel jellemezhető. A tréningezett nyulakban ez az érték szignifikánsan csökkent, mely jól mutatja mindkét érintett zsírsav megváltozott anyagcseréjét a rendszeres terhelés mellett.

A mérési tartomány leghosszabb szénláncú és legtelítetlenebb zsírsava, az arachidonsav aránya a m.l.d. mintákban nem szignifikáns szinten, de csökkenést mutatott. A nyúl izom zsírsavösszetételében viszonylag magas az arachidonsav arány (3,5-5,5%), e zsírsav pedig általában érzékenyen tükrözi a tréning okozta változásokat. *Ayre és mtsai (1998)* patkány vázizmaiban mutatták ki, hogy a rendszeres edzés csökkenti a plazmamembrán arachidonsav tartalmát.

4.1.3. A *m. vastus lateralis* zsírsavösszetétele a tréninget követően

A *m.vastus lateralis* helyzete és mérete miatt (8-10 g), valamint számos más terheléses vizsgálatban történt elemzése okán is tárgya volt a kísérleteinknek. Rostösszetételében *Hamalainen és Pette (1993)* szerint a IIa és IIb típusú rostok együttesen adják a legnagyobb arányt, emiatt annak mind a glükolitikus, mind pedig lipolitikus aktivitása jelentős. A fizikai gyakorlat minden bizonnyal erősebben hat a hátsó végtag izmaira, így itt jelentősebb változásokat sikerült kimutatni, mint a m.l.d.-ban (*4. táblázat*).

A palmitát és palmitoleát részarányában nem volt szignifikáns változás, a m.l.d.-hoz hasonlóan. Ezzel szemben a sztearát arányának csökkenése statisztikailag is igazolható volt, amit szintén szignifikáns oleát arányemelkedés követett. Nem meglepő emiatt a kettő arányából származtatott $\Delta 9$ deszaturáz hányados szignifikáns növekedése sem.

A terhelés során a zsírsav anyagcsere módosulása számos komplex enzimatikus folyamat aktivitás változásával leírható. *Andersson és mtsai (2000)* fokozott elongáz aktivitást (C18:0/C16:0) mértek vizsgálatukban, humán vázizom PL frakcióból. A nyulakon végzett kísérletben ez a hányados egyértelműen csökkent, ezen mérések azonban teljes izom homogenizátumból készültek. A két érték közötti jelentős különbség arra utal, hogy a TG, a PL és az egyéb lipidfrakciók (PL alosztályok) zsírsav anyagforgalma között jelentős eltérésekkel kell számolni. Az arachidonsav részaránya a m.v.l.-ban, a m.l.d.-val szemben szignifikáns csökkenést mutatott. Ez valószínűleg a

nagyobb intenzitású terhelésnek tulajdonítható. Bár a jelen mérések során nem történt meg a frakciók szelektív zsírsavösszetétel vizsgálata, feltételezhető, hogy a változás mégis a PL frakcióban zajlott. Ezt alátámasztják *Andersson és mtsai (2000)* adatai is, humán *quadriceps femorisban* ugyanis a TG és a PL frakciók arachidonát koncentrációjában 15-20-szoros az eltérés, a TG azonban gyakorlatilag alig tartalmaz arachidonsavat. A kontroll nyulak eltérő izommintáiban is jelentősebb különbség látható az arachidonsavat illetően (5,86 és 7,13% a m.l.d.-ban és a m.v.l.-ban).

4. táblázat *M. vastus lateralis* zsírsavösszetétele nyulakban, négyhetes tréninget követően

Zsírsav	m.v.l.		P érték
	kontroll	tréningezett	
n	12	12	
az összes zsírsav %-ában			
C14:0	1.30±0.24	1.45±0.25	NS
C15:0	0.48±0.04	0.46±0.05	NS
C16:0	25.97±1.35	26.84±1.47	NS
C16:1 (n-7)	2.03±0.50	2.31±0.47	NS
C17:0	0.57±0.05	0.49±0.06	NS
C18:0	9.49±1.71	8.41±0.71	0.02
C18:1 (n-9)	16.83±1.47	19.60±1.23	0.01
C18:2 (n-6)	28.19±1.04	27.61±1.85	NS
C18:3 (n-3)	2.12±0.26	2.20±0.35	NS
C20:4 (n-6)	7.13±0.77	5.73±0.90	0.03
Elongáz	0.37±0.08	0.31±0.04	0.05
Δ9 deszaturáz	1.85±0.26	2.18±0.37	0.04

P>0.05 : NS; Δ9 deszat. = C18:1 (n-9)/C18:0; Elongáz = C18:0/C16:0

A tréning arachidonsav részarányra gyakorolt hatása statisztikailag igazolhatóan csak az m.v.l. esetében jelentkezett. Az arachidonsav a terhelés és egyéb, erősebb élettani hatások (pl. gyulladás) után gyakran mutat jelentősebb arányváltozásokat, melyek azonban aerob terhelés mellett igazán kifejezettek. Igen valószínű, hogy az arachidonsav részarányának változása és az oxidatív stressz között összefüggés van, hiszen minél telítetlenebb a zsírsav, annál inkább érzékeny a peroxidációs hatásokra is.

4.1.4. A páratlan szánlánc hosszúságú zsírsavak

A telített, páratlan szánláncú zsírsavak részaránya az izmokban nem változott a tréning hatására. *Fernandez és mtsai (1994)* adatai alapján a pentadekánsav (C15:0) és a margarinsav (C17:0) - az exogén forrás mellett - főleg a bakteriális zsírsavsintézisből származik. Bár a nyúltakarmányokban mindkét zsírsav előfordul, általában alacsony

részarányt képviselnek. A jelen kísérletben etetett takarmány teljes zsírtartalmában 0,28% margarinsavat mutattunk ki. Az izmokba e két zsírsav tehát minden valószínűséggel a cökotrófia következtében képes magasabb arányban beépülni.

4.1.5. A vörösvértest membrán zsírsavösszetétele

A treadmill terheléses vizsgálatok során a vörösvértestek membrán izolátumaiból is végeztünk zsírsavösszetétel meghatározást. Az 5. táblázat foglalja össze a treadmill-kezelt és a kontroll csoport vonatkozó adatait.

5. táblázat A kontroll és tréningezett nyulak izolált vörösvértest membránjának zsírsavösszetétele

Zsírsav	vörösvértest membrán		P érték
	kontroll	tréningezett	
n	12	12	
az összes zsírsav %-ában			
C14:0	0.45±0.16	0.26±0.08	NS
C15:0	0.39±0.10	0.33±±0.11	NS
C16:0	24.85±1.91	23.88±0.49	NS
C16:1 (n-7)	0.63±0.16	0.51±0.12	NS
C17:0	1.56±0.25	1.44±0.32	NS
C18:0	16.14±1.19	16.06±0.73	NS
C18:1 (n-9)	13.26±2.38	13.61±2.28	NS
C18:2 (n-6)	29.16±1.52	31.2±0.77	NS
C18:3 (n-3)	1.25±0.23	1.46±0.18	NS
C20:4 (n-6)	8.02±0.37	7.39±0.73	NS
Elongáz	0.65±0.021	0.67±0.021	NS
Δ9 deszat.	0.83±0.19	0.85±0.16	NS

NS: P>0.05; Δ9 deszat. = C18:1 (n-9)/C18:0; Elongáz = C18:0/C16:0

Meglepő módon egy zsírsav esetében sem volt statisztikailag kimutatható eltérés. Miután a vörösvértestek membránjának zsírsavprofilja jól befolyásolható pl. exogén zsírsavak etetése által is, vizsgálata indokoltnak tűnt a terhelést követően is. A vonatkozó irodalmi adatok arra utalnak, hogy a vörösvértest membránban nem a zsírsavösszetétel, hanem az egyes frakciók (pl. foszfatidil-szerin, foszfatidil-inozitol) aránya változik meg a terhelés következtében (*Sumikawa és mtsai, 1993*). *Nelson (1972)* szerint az eritrocita vizsgálata azért nagyon érdekes, mert az bizonyos értelemben “halott sejt”; regenerációs képessége csekély, emiatt jól tükrözi a különböző stresszorok kumulatív hatásait.

A vörösvértest “élettartama” fajfüggő. Nyúl esetében ez 45-70 nap (www.afip.org/vetpath/erythron.pdf). Minden bizonnyal a terhelés fázisának hosszát is

úgy kell meghatározni, hogy a véráramban levő érett eritrociták nagyobb hányada már a terheléses fázis módosult anyagcseréjét tükrözze. Az érett eritrocita forma membrán-anyagcseréje nem tekinthető aktívnek, de a periférián (kapillárisokban), illetve a plazmával való kölcsönhatások kapcsán érhetik destruktív, illetve oxidatív hatások, ennek megfelelően az érett sejt is mutathat változásokat. A “sikeres membránstruktúra módosítás” a vonatkozó irodalomban minden esetben igen nagy intenzitású aerob tréning következménye volt, feltételezhető tehát, hogy a húsnyulakkal, futószalagon elért terhelés ezen módosulásokhoz nem volt elég intenzív.

Azt a kérdést pedig, hogy esetünkben a terhelés anyagcseréje jellegében aerob vagy anaerob volt-e, a plazma laktát dehidrogenáz aktivitásának vizsgálatával kívántam eldönteni.

4.1.6. Plazma laktát dehidrogenáz aktivitás

A tréningezett és a kontroll csoportban a plazma laktát dehidrogenáz aktivitása 429 ± 126 IU/l és 639 ± 203 IU/l volt. A különbség statisztikailag is igazolható ($P < 0,028$), és egyértelműen a szénhidrát és zsíryanycserében bekövetkezett adaptációra utal. Amennyiben az oxidatív anyagcsere válik dominánssá, a glikolitikus anaerob folyamatok pedig kisebb aktivitásúak, úgy a termelődő laktát mennyisége, ennek következtében pedig a LDH aktivitása is csökkenhet. *Donovan és Pagliasotti (1990)* megállapítása szerint a rendszeres edzés gyorsítja a laktát clearance-t, mely során a laktát glükoneogenezisben történő felhasználása és az oxidációja is jelentős. *Apple és Rogers (1986)* számolt be a LDH aktivitásának csökkenéséről hosszú távú tréninget követően, mely nyugalmi állapotban is kimutatható. A nyulak mintái is 24 órával az utolsó terheléses alkalom utáni időből származtak, ennek megfelelően a LDH aktivitásának csökkenése a hosszútávú adaptációra utal.

Coyle és mtsai (1985) a terhelés okozta plazma laktát dehidrogenáz aktivitás emelkedésben 3 hetes “detraining” után sem mértek jelentős eltérést az edzett állapothoz képest. Mindez arra utal, hogy a laktát dehidrogenáz aktivitás-változása kisebb késéssel követi a megváltozott élettani helyzetet. A LDH aktivitásában mért eredmények alapján indokoltnak tűnt a terhelésre adott metabolikus reakció részletes elemzése is (4.2.).

4.1.7. A *m. quadriceps femoris* foszfolipidjeinek zsírsavösszetétele a tréninget követően

A rendszeres terhelés hatását izmok strukturális lipidjeinek zsírsavösszetételén is vizsgáltuk. A vizsgálatot emellett a TG frakcióra is kiterjesztettük (4.1.8. fejezet), a szerkezeti és energiatároló lipidek elkülönített vizsgálata érdekében. Ezt a munkát elsősorban a 2.3.6. fejezetben leírt membránösszetétel módosulásokra alapoztuk. A membrán zsírsavösszetétel megváltozásának sok forrása lehet: oxidatív stressz és ennek

következtében kialakuló károsodás, de *Vessby és mtsai (2002)* arra is rámutattak, hogy a tréning kapcsán az izom inzulin érzékenysége is módosul. Ez, valamint az elongációban és deszaturációban résztvevő enzimek aktivitásváltozása gyakorlatilag szintén hatékonyan befolyásolhatja a membrán zsírsavprofilját. A fenti vizsgálatok nagy intenzitású tréning beállítások eredményeiből származtak, ezzel szemben jelen vizsgálatban a treadmill tréningezett (alacsony intenzitású gyakorlat) nyulak teljes foszfolipid zsírsavösszetételét határoztuk meg, *m. quadriceps femoris* vörös fejéből (6.a. táblázat).

A terhelés hatására csak a γ -linolénsav részaránya csökkent jelentősen. Érdekes módon az α -linolénsav aránya enyhe növekedést mutatott ($P=0,088$); ugyanez a tendencia volt megfigyelhető az eikozénsavnál (C20:1 n-9) is. Bár nem volt statisztikailag igazolható, a korábbi eredményekhez hasonlóan a sztearát és az oleát ellentétes irányú, kismértékű változást mutatott. Ez a becsült $\Delta 9$ deszaturáz aktivitást enyhén fokozta, ugyanakkor ez sem volt statisztikailag igazolható. Az összes polién zsírsav mennyisége nem bizonyítható módon csökkent, míg az összes n-6 ($P=0,054$), valamint az n-6 / n-3 arány is enyhébb ($P=0,079$) csökkenést mutatott. Utóbbi esetben a viszonylag nagy szórás okozhatta, hogy az eltérés nem volt igazolható kétmintás független *t*-próbával. Az n-6 zsírsavak arányának csökkenését *Andersson és mtsai (1998)* is leírták emberben, *quadriceps femoris* foszfolipidjeiben. Az n-6 / n-3 arány erősebb csökkenéséről számoltak be *Helge és mtsai (2001)*, humán *quadriceps femoris* membránlipidjeiben, rendszeres tréninget követően.

A teljes izom homogenizátumból (m.v.l.) meghatározott adatokhoz hasonlóan az arachidonsav részaránya jelen vizsgálatban is csökkenő tendenciát mutatott. Feltételezhető, hogy a 4.1.3. fejezetben elemzett komolyabb aránycsökkenés főleg a PL frakciót érintette, miután abban 16-17% az arachidonsav aránya, míg a TG-ben ugyanaz 1% alatti.

A telítetlenségi index a terhelésélettannal kapcsolatos irodalomban széles körben alkalmazott, egyes mért zsírsavcsoportok arányaiból származtatott mutató. A nyulak membránlipidjeiből számítva is csökkenés tapasztalható az értékében, ez azonban csak közel szignifikáns szinten állt fenn ($P=0,101$), ugyanakkor egyezést mutat *Helge és mtsai (1999)* patkány vörös *quadriceps femoris* PL-ből származó eredményeivel. A telítetlenségi indexszel párhuzamosan az összes polién zsírsav aránya is közel-szignifikáns mértékben csökkent ($P=0,119$), ugyanakkor az összes telített zsírsav aránya - következésképpen az összes telítetlen zsírsavé - sem változott.

A fenti eredmények szerint az ember, patkány és nyúl *quadriceps femoris* foszfolipidjeiben gyakorlatilag azonos irányú változásokat idéz elő a rendszeres aerob fizikai gyakorlat. Valószínű, hogy a húsnnyulak treadmillen elért teljesítménye alacsonyabb, mint a fenti két másik emlős fajé az említett kísérletekben, melyek

egyébiránt alkalmasak önkéntes gyakorlatra (“voluntary exercise”) is, ellentétben a nyúllal. Ugyanakkor ez a kisebb intenzitás is viszonylag hatékonyan tükröződik a vörös izom foszfolipidjeiben, amennyiben azt mint önálló frakciót elemezzük.

6.a. táblázat *M. quadriceps femoris* vörös fejből izolált foszfolipid frakció zsírsavösszetétele, treadmill kezelést követően

zsírsav	m. quadriceps femoris PL		P érték
	kontroll	tréningezett	
n	8	8	
<i>az összes zsírsav %-ában</i>			
C14:0	0.075±0.005	0.063±0.05	NS
C15:0	0.33±0.07	0.30±0.07	NS
C16:0	19.67±2.20	20.33±4.54	NS
C16:1 n-7	0.29±0.04	0.34±0.07	NS
C17:0	0.71±0.03	0.65±0.08	NS
C18:0	11.67±1.29	11.02±2.32	NS
C18:1 n-9	11.32±0.68	11.74±2.83	NS
C18:2 n-6 t	0.17±0.027	0.10±0.11	NS
C18:2 n-6 c	30.21±1.89	30.67±0.61	NS
C18:3 n-6	0.133±0.025	0.059±0.065	*
C18:3 n-3	0.87±0.06	0.94±0.05	0.088
C20:1 n-9	0.17±0.03	0.19±0.02	0.054
C20:2 n-6	0.72±0.13	0.77±0.03	NS
C20:3 n-6	1.95±0.19	1.87±0.14	NS
C20:4 n-6	17.77±2.76	16.44±6.12	NS
C20:5 n-3	0.69±0.06	0.76±0.36	NS
C22:6 n-3	0.88±0.21	1.07±0.51	NS
C24:1 n-9	2.36±0.39	2.50±0.85	NS
C18:1 n-9 / C18:0 ^x	0.99±0.17	1.15±0.51	NS
C20:4 n-6 / C20:3 n-6 ^{xx}	9.16±1.59	9.40±2.74	NS
C18:3 n-6 / C18:2 n-6 ^{xxx}	0.004±0.000	0.003±0.002	NS
összes telített	32.3±1.10	32.3±2.35	NS
összes monoén	14.14±0.56	13.99±0.97	NS
összes polién	53.28±1.16	41.60±16.72	0.119
összes n-3	2.40±0.24	2.48±0.72	NS
összes n-6	50.55±0.81	39.12±16.52	0.054
n-6 / n-3	21.13±1.95	16.22±7.17	0.079
telítetlenségi index ^{xxxx}	164.45±7.71	139.34±40.01	0.101

^x Δ9 deszaturáz, ^{xx} Δ5 deszaturáz, ^{xxx} Δ6 deszaturáz; NS: P>0.05; * P<0.05

^{xxxx} 1 x (összes monoén) + 2 x (összes dién) + 3 x (összes trién) ...

4.1.8. A *m. quadriceps femoris* trigliceridjeinek zsírsavösszetétele

Ugyanezen izom TG frakciójának elemzését részben arra alapoztuk, hogy a 2.3.3. fejezet szerint a FFA hidrolízisben bizonyos szabályosság áll fenn. Bár *Raclot és mtsai (1997)* és *McClelland és mtsai (1995)* adipocitákon, illetve adiposa szövetben írtak le szelektív

zsírsavmobilizációt (2.3.3.1.1. és 2.3.3.1.2. fejezetek), egyértelműen bizonyos szelektivitás figyelhető meg az izombeli zsírsavoxidációban is (2.3.4.1. fejezet). Utóbbi két fő forrásból ered: magába foglalja az adiposa eredetű FFA-t és az intramuscularis TG-ből hidrolizált FFA-t is. Bár e kettő elkülönítését nem végeztük el, mérésünk azt kívánta kideríteni, megfigyelhető-e szabályszerűség az IMTG összetételében, rendszeres terhelésnek kitett nyulakban. A 6.b. táblázat mutatja a TG frakcióban megfigyelhető - igen kismértékű - arányváltozásokat.

6.b. táblázat *M. quadriceps femoris* vörös fejből izolált triglicerid frakció zsírsavösszetétele négyhetes treadmill kezelést követően

zsírsav	m. quadriceps femoris TG		
	kontroll	tréningezett	P érték
n	8	8	
<i>az összes zsírsav %-ában</i>			
C10:0	0.25±0.04	0.39±0.29	NS
C12:0	0.31±0.04	0.37±0.22	NS
C14:0	2.58±0.24	2.75±0.16	NS
C15:0	0.59±0.09	0.54±0.06	NS
C16:0	24.54±2.11	26.10±1.75	NS
C16:1	4.73±2.24	6.58±1.84	NS
C17:0	0.58±0.08	0.52±0.06	NS
C18:0	4.78±0.37	4.54±0.36	NS
C18:1 n-9	23.21±0.74	24.25±0.96	NS
C18:2 n-6 t	0.038±0.08	0.057±0.06	NS
C18:2 n-6 c	29.92±3.57	26.48±3.25	NS
C18:3 n-6	0.044±0.09	0.070±0.08	NS
C18:3 n-3	6.48±0.81	5.85±0.69	NS
C20:0	0.15±0.01	0.069±0.08	0.085
C20:1 n-9	0.38±0.02	0.28±0.19	NS
C20:2 n-6	0.33±0.02	0.22±0.15	NS
C20:3 n-6	0.00±0.00	0.028±0.06	NS
C20:4 n-6	0.90±0.12	0.84±0.17	NS
C24:1 n-9	0.21±0.026	0.087±0.10	*
C18:1 n-9 / C18:0 ^x	4.89±0.72	5.37±0.55	NS
C20:4 n-6 / C20:3 n-6 ^{xx}	4.96±0.00	5.23±0.72	NS
C18:3 n-6 / C18:2 n-6 ^{xxx}	224.0±0.00	210.8±23.4	NS
összes telített	33.77±1.96	35.25±1.15	NS
összes monoén	29.47±1.91	30.68±1.65	NS
összes polién	54.81±3.11	52.22±2.32	NS
összes n-3	0.94±0.14	0.91±0.12	NS
összes n-6	53.87±2.99	51.31±2.28	NS
n-6 / n-3	58.14±7.25	56.95±7.03	NS
telítetlenségi index ^{xxxx}	172.1±8.2	164.5±6.7	NS

^x Δ9 deszaturáz, ^{xx} Δ5 deszaturáz, ^{xxx} Δ6 deszaturáz; NS: P>0.05; * P<0.05

^{xxxx} 1 x (összes monoén) + 2 x (összes dién) + 3 x (összes trién) ...

A treadmill kezelés az arachinsav (C20:0) arányát mintegy felére csökkentette, valamint hasonló mértékű változást idézett elő a nervonsav (C24:1 n-9) arányában is. Érdekes

módon nem volt több olyan zsírsav, sem az egyes zsírsav-arányokból származtatott mutató, mely jelentősebb változást mutatott. Bár a képzett mutatók tendencia jellegű változásai egybeesnek *Helge és mtsai (2001)* emberben meghatározott irányával, a nyulakon végzett vizsgálatok arányváltozásai nem voltak statisztikailag igazolhatóak.

Érdemes figyelembe venni az eredmények értékelésekor, hogy a nyulakat 12 órával a vágás előtt futtattam utoljára. Valószínű, hogy az izom TG frakciójának zsírsav turnover-e ennél gyorsabb. *Dyck és mtsai (2000)* a rendszeres tréning hatásaként említik a TG-reészterifikáció fokozódását patkány vörös izmában. Amennyiben a reészterezési folyamat aktív volt a tréningezett csoport egyedeiben, feltételezhető, hogy a 12 óra várakozás elfedte az akut post-exercise állapotban még fennálló eltéréseket. Ugyanakkor a vizsgálat célja a krónikus változások jellemzése volt, ami a TG frakcióban viszonylag kis jelentőségű volt.

4.2. A növendéknyulak rendszeres terhelésre adott metabolikus reakciói

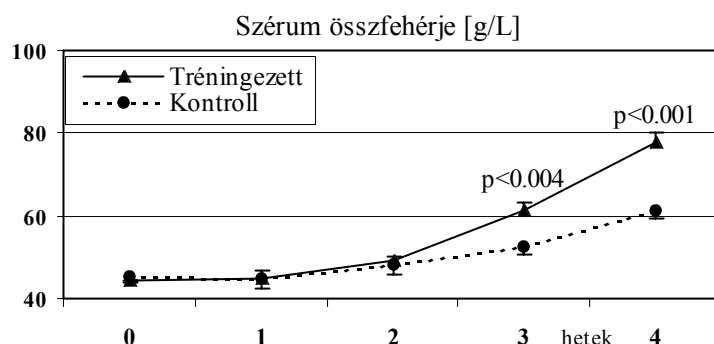
A terhelésre adott válasz igen sokirányú lehet, amit alapvetően a terhelés intenzitása és gyakorisága (rendszeressége) határoz meg. A “post-exercise” fázisban és a nyugalmi állapotban (“resting”) felvett adatok - szakirodalmi források szerint - erősen eltérők. A nyugalmi értékek felvételénél ügyelni kell arra, hogy a post-exercise fázisban a plazma koncentráltabb lehet, miután bizonyos mértékű dehidratáció is fennálhat ebben az időszakban.

Jelen vizsgálat, a korábbiakhoz hasonlóan, kizárólag nyugalmi értékekre irányult, a hosszútávú, rendszeres terheléshez történő adaptáció leírását tűzte ki célul. Bár a dolgozat elsődleges célja az izom lipidekben bekövetkező változások bemutatása, emellett számos más, igen érdekes anyagforgalmi változást sikerült kimutatni a nyulakban. Bár ezeknek csak egy része vonatkozik a zsírsavanyagcserére, újszerűségük miatt, valamint a terhelés komplex értékelhetősége szempontjából mindenképp indokolt az áttekintésük.

A kísérleti beállítás (3.3.1.) ez esetben is azonos volt a korábbiakkal, az eredmények így összehasonlíthatóak a korábbi vizsgálatokból származókkal. A hetente végzett vérvételekkel az ún. hosszútávú adaptációt kívántam jellemezni. A vérmintákat ennek megfelelően mindig 12 órával az utolsó futás után vettük. Ezzel az esetleges dehidratációt kívántam elkerülni, mely torzíthatja a szérumból mért eredményeket. A tréninget jellemző főbb szérum-paraméterek mérését a szabad zsírsavak kivételével heti gyakorisággal végeztük, az adaptáció nyomonkövetése érdekében. Miután a szérum enzim-aktivitásokban csak enyhébb változásokra számítottunk, ezért számos meghatározást csak a kísérlet utolsó időpontjában végeztünk el (γ -GT, CK, LDH).

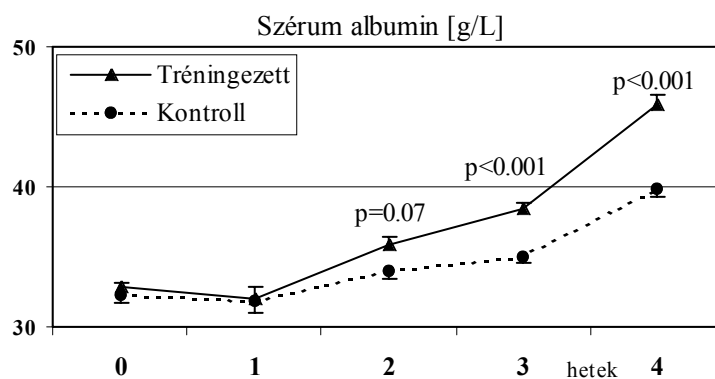
4.2.1. Szérum metabolitokban mért változások

A legkomolyabb változásokat a szérum **összfehérje** és **albumin** tartalmában mutattuk ki. Mindkét frakció koncentrációja bizonyos korfüggő emelkedést mutatott, erre ugyanakkor statisztikailag igazolható tréning-hatás szuperponálódott. Az összfehérje koncentrációja a kísérlet utolsó két hetében, az albuminé pedig az első mintavételi időpont kivételével a teljes kísérleti periódusban magasabb volt a tréningezett csoportban (5. és 6. ábra).



5. ábra A szérum összfehérje koncentráció alakulása rendszeres terhelés mellett (n = 2 x 8, átlag±SD)

Ezen eredményekhez hasonlókat találtak *Andrews és mtsai (1995)*, rendszeresen edzett lovak sorozatosan elemzett szérum mintáiban.



6. ábra A szérum albumin koncentráció változásai rendszeres terhelés mellett (n = 2 x 8, átlag±SD)

A szérumban albumin frakció szerepe az FFA szállítása a vérben. Miután FFA kötőhelyeinek száma közel állandó (*Spector és mtsai, 1971*), a rendszeres terhelés következtényeképpen megnövekedő plazma FFA mennyiség csak albumin koncentráció-növekedéssel kompenzálható. Igen valószínű, hogy a tréning során felhasznált metabolitok közül a zsírok, különösen az FFA szerepe megnőtt, mely végső soron magasabb albumin koncentrációhoz vezetett. Ehhez hasonló eredményt közöltek *Andrews és mtsai (1995)*, fiatal lovak versenyeztetése után.

A további szérumban metabolitok eredményeit a 7. táblázat tartalmazza. A **kreatinin** (a kreatinból származó inaktív vegyület) koncentrációja az első két hétig erősebben csökkent, majd emelkedő koncentrációt mutatott mind az edzett, mind a kontroll csoportban. Az utolsó két héten a tréningezett csoportban mért értékek szignifikánsan meghaladták a kontroll csoportot. Valószínű, hogy a terhelés az izom energiaforgalmát úgy befolyásolta, hogy a szénhidrátokról a zsírokra tevődött át a hangsúly. Ez általánosan oda vezet, hogy a kreatin-mediált aerob energianyerés válik elsődlegessé, mely jelentősen emeli az izom nyugalmi foszfo kreatin szintjét (*Putman és mtsai, 1998*). Tipikusan arra az edzési formára, melyet a nyulak végeztek (rövid, de többszöri és intenzív futások) jellemző, hogy az izomban glikogénolízis aktivációja lassúvá válik, ilyenkor pedig az aerob anyagcsere válik dominánssá (*Hargreaves, 1995*). Valószínű tehát, hogy az izomban megemelkedett kreatinszint vezetett a “bomlástermék” magasabb szérumban koncentrációjához.

7. táblázat Szérumban metabolit-koncentrációk alakulása rendszeres treadmill terhelés alatt álló és kontroll nyulakban (átlag±SD)

		n	hetek				
			0	1	2	3	
Kreatinin [µmol/L]	Kontroll	8	64.23±8.00	54.62±4.77 ^b	46.25±3.75	48.87±2.16 ^b	86.37
	Tréningezett	8	58.37±0.14	40.00±2.42 ^a	40.33±2.35	65.33±5.62 ^a	97.67
Karbamid [mmol/L]	Kontroll	8	2.87±0.10	3.44±0.24	3.55±0.18	3.86±0.18	4.58
	Tréningezett	8	2.97±0.21	3.37±0.09	3.68±0.25	4.00±0.21	4.40
Összkoleszterin [mmol/L]	Kontroll	8	2.70±0.16	1.93±0.13	1.34±0.17	2.64±0.23	3.20
	Tréningezett	8	2.80±0.10	1.90±0.12	1.18±0.09	2.08±0.32	2.95
HDL koleszterin [mmol/L]	Kontroll	8	1.39±0.06	0.54±0.03	0.4±0.04	0.92±0.10	1.57
	Tréningezett	8	1.28±0.05	0.38±0.04	0.70±0.07	0.95±0.1	1.61
Triglicerid [mmol/L]	Kontroll	8	1.57±0.08	1.51±0.13 ^b	1.22±0.07	1.44±0.20	1.40
	Tréningezett	8	1.62±0.08	2.00±0.23 ^a	1.54±0.10	1.55±0.09	1.92
FFA [mmol/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	0.27±
	Tréningezett	8	-	-	-	-	0.19±

A szérumban **karbamid** tartalma a korrallal fokozatosan nőtt, a tréning hatása azonban nem volt bizonyítható. Bár a szérumban karbamid az anyagcsereprofil vizsgálatokban igen gyakran szerepel, terhelés szempontjából kevésbé informatív mutatónak tűnik.

Krzywanek és mtsai (1996) lovakon végzett vizsgálataikban megállapították, hogy még nagy intenzitású, rövid terhelési fázisok sem befolyásolják a nyugalmi szérumban a karbamid koncentrációt.

A szérumban az **összkoleszterin** tartalma az első két héten erősen csökkent, ezután pedig fokozatosan emelkedett, mindkét kísérleti csoportban. Az emelkedő szakaszban a terhelésnek kitett nyulakban alacsonyabb értékeket mértünk, szignifikáns különbség azonban nem volt kimutatható. A szérumban az összkoleszterin tartalma kezdetben valószínűleg azért csökkent, mert a választást követően etetett takarmány zsírsavösszetételében jóval több telítetlen zsírsav volt, mint a választás előtt fogyasztott nyúltejben. Előbbi telítetlen:telített aránya 4:1, míg a nyúltejé általában 1:4 (*Christ és mtsai, 1996*). *Hodson és mtsai (2001)* szerint a telítetlenség fokozódása áll e csökkenés hátterében. Az emelkedő szakaszban megfigyelt enyhe eltérés a csoportok között, azaz a terhelés hatására enyhén csökkenő szérumban a koleszterin szint minden bizonnyal a rendszeres tréning hatása, melyet számos irodalmi forrás is megerősít.

Ezzel szemben a **HDL koleszterinre** gyakorlatilag nem hatott az edzési protokoll, holott annak határozott emelkedése ismert tény a tréningezett egyedek plazmájában (*Sunami és mtsai, 1999*). Valószínű, a HDL koleszterin egyrészt azért volt kevésbé informatív mutató, mert vizsgálatunkban a terhelés intenzitása viszonylag alacsony volt, másrészt a nyúl jellemző lipoprotein frakciója az LDL.

A szérumban a lipidek közül a **triglicerid** frakció volt az, mely a terhelés hatását viszonylag érzékenyen jelezte. Koncentrációja a teljes kísérleti periódusban az edzett nyulakban volt magasabb, bár a különbség csak az 1. és a 4. héten volt statisztikailag igazolható. Emberben és terhelésnek rendszeresen kitett állatokban (ló, kutya) a szérumban a TG frakció nem jelentős a terhelés energiaigényének fedezésében, abban általában nem több mint 10%-ot tesz ki (*Hargreaves, 1995*). Ez a sportélettani megfigyelés olyan esetekre vonatkozik, melyek tudatosan nem postprandialis lipaemiában történtek. Ezzel szemben *Mackie és mtsai (1980)* kimutatták, hogy ennél magasabb felhasználási szint is könnyen elérhető, pl. patkányban, felszívódási fázisban. A nyulak, mint rágcsálók, naponta legalább 8 órában vesznek fel takarmányt, a létfenntartó energiaszükséglet kielégítéséhez. A lipaemiás fázisuk emiatt igen hosszú, így minden bizonnyal a kilomikron TG is jelentős energiaadó volt a terhelés során.

Igen érdekes, hogy az **FFA** nyugalmi koncentrációja az utolsó időpontban alacsonyabb volt a tréningezett csoportban. Ugyanakkor ismert, a szérumban az FFA koncentráció elsősorban a terhelés akut fázisában és a közvetlen post-exercise fázisban igen magas, míg nyugalomban gyakran igen alacsony. *Klein és mtsai (1994)* ezt a fokozott FFA felhasználással ("FFA removal") magyarázzák, mely edzett szervezet esetén nyugalomban is igaz. A fenti FFA adatok *Gastmann és mtsai (1998)* humán eredményeivel egybevágók a szerzők ugyanakkor az alacsonyabb nyugalmi FFA szintet mint a tréning markerét kezelik.

A fenti eredmények (HDL koleszterin és TG) arra utalnak, hogy a faji különbségek alapvetően befolyásolják a terhelés kapcsán felhasznált szérumból lipídfrakciók fontossági sorrendjét.

4.2.2. A szérumból enzimek aktivitásában mért változások

Az enzimek aktivitásában mért változások (8. táblázat) elsősorban bizonyos mértékben módosult szubsztrátsorrendre utalnak. Ennek megfelelően sem a γ -GT, mint a máj jellegzetes szöveti enzime, sem az aszpartát aminotranszferáz (AST) aktivitása nem változott a tréning hatására. Ezzel szemben az alkalikus foszfatáz (ALP) aktivitása az utolsó időpontban (4. hét) az edzett csoportban szignifikánsan ($P=0.003$) magasabb volt. Valószínű, hogy kísérletünkben az ALP aktivitás a csont-sűrűség és a rendszeres edzés között fennálló kapcsolatra utal. *Holy és Zerath (2000)* patkány önkéntes treadmill gyakorlatát követően hasonló ALP aktivitásemelkedésről számolt be.

8. táblázat Rendszeres treadmill gyakorlat nyomonkövetése során mért szérumból enzim aktivitások és kortizol koncentráció növekedéskönyvekben

	csoport	n	hetek				
			0	1	2	3	4
ALP [IU/L]	Kontroll	8	516.6±46.6	365.2±21.9	419.2±16.3	447.25±38.8	495.0±21.7 ^b
	Tréningezett	8	545.4±7.4	384.5±46.1	411±21.1	418.7±46.6	697.8±44.1 ^a
ALT [IU/L]	Kontroll	8	30.98±1.97	35.00±3.18	42.86±4.02	42.33±9.08	49.29±6.35
	Tréningezett	8	29.13±1.6	29.83±3.21	37.00±4.41	40.51±5.21	46.25±6.60
AST [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	44.14±6.33
	Tréningezett	8	-	-	-	-	43.50±4.53
γ -GT [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	11.25±1.06
	Tréningezett	8	-	-	-	-	13.33±4.53
CK [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	1993.4±136.3*
	Tréningezett	8	-	-	-	-	1349.2±235.8*
LDH [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	734.7±136.3 ^b
	Tréningezett	8	-	-	-	-	394.2±15.5 ^a
Kortizol [nmol/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	39.05±15.63
	Tréningezett	8	-	-	-	-	34.10±1.47

a, b: $P < 0.05$; * $P=0.07$

Az alanin aminotranszferáz (ALT) aktivitás a tréningezett csoportban a teljes kísérleti periódusban alacsonyabb volt, bár az eltérés egyik időpontban sem volt statisztikailag igazolható. Érdekes módon irodalmi adattal ezt a mérési eredményt nem sikerült alátámasztani, emberben. A terhelés akut szakaszában *Metivier és Gauthier (1985)* egyértelmű aktivitásemelkedést írt le, *Koutedakis és mtsai (1993)* az ALT aktivitásának emelkedését csak ideiglenesen tudták igazolni, a post-exercise fázisban végzett

sorozatos méréseikkel. Ezzel szemben *Parikh és Ramanathan (1977)* az ALT aktivitásban csak 24 óra elteltével tudták a terhelés előtti értékeket reprodukálni, nem rendszeresen edzett embereken. A nyulak esetében az utolsó kezelés és a mintavétel között 12 óra telt el, azaz a jelen adat nyugalmi értéknek tekinthető. Mindezek alapján úgy tűnik, hogy a rendszeres tréning enyhén, de egyértelműen csökkenti a nyugalmi ALT aktivitást.

A kreatin kináz (**CK**) aktivitása enyhén ($P=0.07$), míg a laktát dehidrogenáz (**LDH**) aktivitása szignifikáns mértékben ($P=0.005$) csökkent a tréning hatására, ami megegyezik a korábban beállított kísérlet eredményeivel (*4.1.6. fejezet*). A mért változások a fiziológiai határértékeken belül voltak. Előbbi enzim reakciója ugyanakkor arra utal, hogy az izom membrán sérülés nem lehetett nagy mértékű, hiszen a CK, mint jellegzetesen intracelluláris enzim nem mutatott jelentős aktivitásbeli változást a szérumban. Az alacsony intenzitású futás, valamint ezen mérési eredmény szoros összhangban áll. A LDH esetében teljes aktivitást mértünk (izoenzimeket nem különítettünk el). E csökkenés tehát azt tükrözi, hogy az anaerob glükolízis mértéke, következésképpen a laktát termelés csökkent a tréning hatására. *Donovan és Pagliasotti (1990)* az edzés hatására fokozott laktát clearance-ről számolt be, amelyért azonban csak részben felelős a laktát koncentráció, ugyanakkor *Holloszy és Coyle (1984)* egyértelműen kimutatta, hogy a vázizmok glükogénolitikus aktivitása csökken a tréning során. Valószínű, hogy a nagy intenzitású, de rövidebb időtartamú futások ("exercise bout, session") erősen csökkentik a glükogénolitikus folyamat reaktivációs képességét (*Hargreaves, 1995*), ennek következtében pedig, hosszútávon, a glikogénfelhasználást is.

Kiemelten fontos tényező a **kortizol** két csoportban közel azonos koncentrációja, hiszen ezáltal a jelentősebb környezeti stressz hatása is kizárható. *Emilsson és Gudbjarnason (1981)* eredményei szerint a szívizom foszfolipidek zsírsavösszetételét a stressz befolyásolja, beállításainkban pedig ezek voltak azok a nyulak, melyek izmaiból szeparált PL és TG elemzés is történt (*4.1.7., 4.1.8.*). Ugyanígy a CK és a LDH aktivitásokban tapasztalt változások esetében is kizárható a stressz hatása.

4.3. Elektromos stimulációs kísérlet (TENS)

4.3.1. A kezelés sajátosságai

A készülék elektródáinak felhelyezése több technikai kérdést is felvetett. Az öntapadó, jó vezetőképességű tapasz nem borotvált, hanem kontakt géllal átnedvesített, rövid szőrön is igen jól lehetett rögzíteni. A kezelés "kiterjesztése" miatt a m.l.d. két távolabbi pontján rövidre nyírtam a szőrt, az 1. és a 4. ágyéki csigolyáknál, ide helyeztem a "+" és a "-" pólusokat. A kezelési beállításokat (*3.3.2. fejezet*) a nyulak nyugodtan tűrték (*4. ábra*), ezek a szakirodalom szerint is a fájdalomküszöb alatt vannak. A naponta 2 x 20

perces időtartamú kezelés minden különösebb külső beavatkozás nélkül is könnyen kivitelezhető volt.

Az elektromos stimuláció elsősorban az *in vitro* kísérletek módszere, mégis történtek *in vivo* izomkezelések, pl. lovon *des Lions és mtsai (1997)* és marhában *Crouse és Smith (1986)*. A fenti források arra utalnak, hogy a kivitelezhetőség határain belül a rendszeres kontrakciók egyszerűen kiválthatók. Ennek megfelelően a kísérleti körülményeket egyszerűsítve, a jelen kísérletben transcutan formában alkalmaztam a kezelést. A kezelés erősen lokalizált volt, emiatt a vérparaméterek elemzését - az első közelítésben - nem végeztem el, az izomból azonban nemcsak a zsírsavösszetételt, hanem az oxidatív terhelésre utaló malondialdehid koncentráció meghatározását is elvégeztük. (A TENS kezelés hatásainak klinikai kémiai paramétereken alapuló nyomonkövetését (4.4. fejezet) a kísérlet ismétlésekor végeztem, melynek során azonban a 5. mellékletben ismertetett takarmányt ettettem.)

Az elektromosan kiváltott kontrakciósorozat az izomban nem okozott szemmel látható sérüléseket, ilyen szempontból a repetitív összehúzódások a tervezett tréning egy speciális formájának tekinthetők.

4.3.2. A TENS hatása a m.l.d. zsírsavösszetételére, telítetlen zsírsavkiegészítés mellett

Terheléses kísérleteinkből származó eredményeink és irodalmi adatok alapján elsősorban a többszörösen telítetlen zsírsavak arányváltozása jellemző az izomban, a rendszeres tréning következtében. Első közelítésben, a TENS kezelés mellett olyan kísérleti takarmányt etettünk, melynek jelentős volt a telítetlen zsírsav-tartalma.

A két takarmány m.l.d. zsírsavprofiljára gyakorolt hatását (UNSAT és SAT), valamint a TENS kezelés UNSAT és SAT takarmányok melletti befolyását a 9. táblázatban foglaltam össze.

Jól látható, hogy közel az összes vizsgált zsírsav részaránya módosult a kezelés hatására. Az eredmények részletes tárgyalása során először az egyes - indikátor jellegű - zsírsavak részletes elemzésére tértem ki, majd azon összetettebb folyamatokat, melyekre ezen változásokból következtetni lehet.

A **palmitát** aránya enyhe csökkenést mutatott, ez esetben mind TENS, mind pedig takarmányozási hatást, valamint szignifikáns kereszthatást is igazoltam. E zsírsav a biokémiai folyamatokban igen jelentősnek tekinthető, hiszen az endogén, *de novo* zsírsavszintézis végső terméke. *McClelland és mtsai (1995)* rámutattak, hogy az adiposa eredetű palmitát oxidációja igen markáns folyamat terhelés alatt. Miután a zsírszövetben

9. táblázat Összefoglaló adatok a SAT és UNSAT takarmány m.l.d. zsírsavprofiljára gyakorolt hatásáról, illetve a csoportok közötti eltérésekről

Zsírsav n	UNSAT tak.			SAT tak.			Kéttényezős elemzés		
	Kontroll	TENS	P érték (LSD)	TENS	Kontroll	P érték (LSD)	TENS	Tak.	TENS x T.
C14:0	1.72±0.11	1.63±0.24	NS	2.25±0.50	2.29±0.27	NS	*	**	*
C16:0	21.48±1.60	18.90±0.61	**	22.07±1.31	23.17±0.89	NS	NS	***	**
C16:1 n-7	4.51±0.38	4.90±0.33	NS	4.97±1.04	4.55±0.68	NS	NS	NS	NS
C18:0	5.96±0.14	5.64±0.11	**	6.34±0.37	6.01±0.46	NS	*	***	NS
C18:1 n-9	22.38±1.54	20.84±0.30	*	25.19±1.17	24.87±0.62	NS	0.093	***	NS
C18:2 n-6	25.63±0.84	29.56±1.05	***	21.21±1.57	21.74±1.78	NS	*	***	**
C18:3 n-3	2.94±0.29	3.45±0.21	**	3.87±0.60	4.08±0.51	NS	NS	***	NS
C20:1 n-9	0.12±0.022	0.20±0.009	***	0.22±0.06	0.25±0.16	NS	NS	NS	NS
C20:4 n-6	4.24±0.43	3.98±0.028	0.095	3.15±0.47	3.02±0.53	NS	NS	***	NS
C20:5 n-3	0.27±0.019	0.21±0.009	***	0.26±0.07	0.33±0.005	NS	NS	*	**
C22:4 n-6	0.97±0.11	0.95±0.066	NS	0.75±0.18	0.57±0.09	0.084	0.082	***	NS
C22:6 n-3	0.20±0.013	0.17±0.023	0.065	0.17±0.04	0.15±0.02	NS	0.076	NS	NS
C22:5 n-3	0.92±0.094	0.79±0.14	NS	0.97±0.28	1.02±0.18	NS	NS	NS	NS
Σ telített	29.16±3.45	26.18±0.62	*	30.67±1.34	31.47±0.72	NS	*	***	***
Σ monoén	27.01±3.03	25.94±0.50	NS	30.39±1.53	29.67±0.93	NS	NS	***	NS
Σ polién	35.17±11.9	39.11±2.49	0.083	30.67±2.12	30.92±2.23	NS	*	NS	NS
Σ monoén / Σ polién	9.56±0.67	9.31±0.55	NS	0.99±0.11	0.96±0.08	NS	0.087	***	NS
Σ polién (n kettős k.?3)	0.77±0.12	0.65±0.046	*	9.46±0.92	9.17±0.55	NS	NS	***	**
Σ n-3	4.34±0.24	4.62±1.62	0.069	5.28±0.64	5.58±0.31	NS	NS	***	NS
Σ n-6	30.84±22.86	34.5±2.04	**	25.28±2.07	25.33±2.10	NS	*	***	*
Σ n-6 / Σ n-3	4.87±0.08	4.55±0.37	*	6.99±0.43	7.94±1.00	NS	NS	***	NS
C20:4 n-6 / C18:2 n-6	0.165±0.001	0.134±0.005	***	0.15±0.02	0.14±0.02	NS	**	NS	NS
C20:5 n-3 / C18:3 n-3	0.092±0.009	0.060±0.005	***	0.069±0.002	0.081±0.002	NS	NS	NS	NS

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; NS: $P > 0.05$

A **sztearát** részarányának csökkenése a treadmill kísérlethez hasonlóan történt a TENS kezelés hatására is. Kéttényezős vizsgálattal egyértelmű TENS hatás látható, bár a takarmányhatás is bizonyított; az interakció fennállása ugyanakkor nem igazolható. A sztearát oxidációja biokémiai szempontból azonos a palmitátéval (páros szénatomszámú, telített zsírsavak β -oxidációja, 2.1.2. fejezet). A sztearát azonban nemcsak mint a β -oxidáció szubsztrátja, hanem mint az oleát prekursora is jelentős. Az eddig tapasztalt eredményeknek ellentmondva az oleát részaránya - a sztearáttal együtt - csökkent e kezelés hatására ($P=0,093$ TENS hatás mellett). E jelenség esetleges magyarázata az lehet, hogy a sztearát-oleát pár több, jelenősen különböző zsírsav-anyagcserével rendelkező frakcióban is érintett volt.

Erős befolyásoló tényező lehet továbbá a takarmányban levő jelentős mennyiségű oleát (a takarmány hatása is szignifikáns volt), mely mindenképpen megjelenik a szöveti lipidekben. Ennek megfelelően az exogén eredetű zsírsav igen erős befolyást gyakorol a zsírsavak anyagforgalmára. Valójában ez analóg folyamat azzal, ami a TG hidrolízis kapcsán már ismert: a szintetizált TG - közvetett módon - igen nagy hányadban származik a táplálékból. Igen valószínű tehát, hogy az oxidáció során a zsírsavak rendelkezésre álló mennyisége is meghatározó.

A telített zsírsavak mellett az elektromos kezelés a **poliének** arányát enyhébben befolyásolta ($P=0,083$), utóbbi esetben sem a takarmány hatása, sem interakció nem volt igazolható.

A **linolsav** (C18:2 n-6) részarányában határozott emelkedést mutatott a kezelt csoport, bár a szignifikáns TENS-hatás mellett a takarmány és e két faktor együtthatása is igazolható volt. A linolsav *Andersson és mtsai (1998)* szerint terhelés hatására csökkenő tendenciát mutat a vázizom foszfolipidjeiben. *McClelland és mtsai (1995)* eredményei szerint a plazma FFA-ban nagy arányt képvisel az adiposa eredetű linoleát a terhelés alatt. Amennyiben az izom és adiposa eredetű HS lipáz zsírsav-specificitása hasonló, úgy jelentősen hasonló lehet az adiposa TG és az IMTG frakció oxidációs sorrendje is. Mindenképp figyelembe kell venni még azt is, hogy a telítetlen zsírsav kiegészítés igen magas linoleátbevitelt jelentett: a takarmány összes zsírsavtartalmából 48,4%-ot tett ki a linolsav. Úgy tűnik tehát, hogy az erős takarmányhatás, legalábbis részben, elfedte az elektromos kezelés hatásait, hiszen ez volt az egyetlen olyan n-6 zsírsav, mely megemelkedett arányt mutatott.

Az **n-3 zsírsavak** közül az α -linolénsav és az eikozapentaénsav esetében látható szignifikáns aránynövekedés. Nem található irodalmi adatok az α -linolénsav terhelés hatására módosult részarányáról a szöveti lipidekben. Az is bizonyos, hogy a membránlipidek (PL frakció) α -linolénsav tartalma emberben minimális (*Helge és mtsai, 1999*), nyúlban pedig nem vagy csak kis részarányban mutatható ki (*Couture és Hulbert, 1995*). Emiatt valószínű, hogy a változás csak alig, vagy nem a

takarmányeredetű zsírsavak IMTG frakcióba való beépülését jelenti. A fentiek alapján úgy tűnik, e zsírsav mennyiségét nem befolyásolja jelentősen a rendszeres aerob terhelés. Az n-3 csoportban a dokozapentaénsav (C22:5 n-3) nem, míg a dokozahexaénsav (C22:6 n-3) enyhe aránycsökkenési tendenciát mutatott (P=0.076 TENS hatás). *Andersson és mtsai (2000)* eredményei szerint humán vázizom TG frakciójában e két zsírsav nincs jelen, a PL frakcióban a dokozahexaénsav aránya pedig szignifikánsan megemelkedett a rendszeres terhelés hatására. Ezzel szemben *Helge és mtsai (1999)* patkány *m. quadriceps femoris* mintákban határozott aránycsökkenést mértek, négyhetes tréningperiódus után. A szerzők a tréninget különböző takarmányozási protokollokkal is kombinálták, kéttényezős varianciaanalízissel mégis szignifikáns tréninghatást tudtak kimutatni, takarmány x tréning interakció nélkül. Érdekes módon a *quadriceps femoris* vörös fejében (“red quadriceps”) és a *m. soleus*-ban (95%-ban vörös rostot tartalmazó izom) nem, csak a *quadriceps femoris* glükolitikus, fehér fejében (“white quadriceps”) sikerült ezen eredményeket elérni. Eredményeik egyértelműen arra utalnak, hogy az izom rostösszetételében lévő különbségek a zsírsavak anyagcseréje szempontjából is meghatározóak.

Az egyes zsírsavak mellett jelen esetben indokoltnak tűnt bizonyos zsírsavcsoportok (n-3 és n-6, Σ telített, Σ telítetlen, Σ monoén) elemzése is.

A Σ telített zsírsavak aránya szignifikáns csökkenést mutatott a kezelt csoportban. A monoének összege nem szignifikáns csökkenést, a polién zsírsavak pedig “közel szignifikáns” (P=0,083) aránynövekedést mutattak; a két csoportban a kezeléshatások erősen “keveredtek”. A Σ n-6/ Σ n-3 index esetében statisztikailag is igazolható csökkenés mutatkozott, ami, a kéttényezős vizsgálat alapján egyértelműen a takarmányhatásnak tulajdonítható. Tény ugyanakkor, hogy *Andersson és mtsai (1998)* az edzés hatására szintén erős csökkenést mutattak ki humán vázizom foszfolipidjeiben, ami arra utal, hogy az n-3 és n-6 zsírsavcsoportok közötti egyensúlyban változás történt.

Eredményeink egyértelműen a többszörösen telítetlen zsírsavak arányának emelkedésére utalnak, ami azonban bizonyos mértékig torzított eredmény, hiszen a poliének közül csak a linolsav és a dokozahexaénsav aránya nőtt, a többi zsírsavé nem. A torzítottságot az is alátámasztja, hogy az egyes kezelések “tisztá” hatása nem értelmezhető ezen esetekben. Igen valószínű tehát, hogy a takarmány útján felvett polién zsírsavak domináns hatást fejtettek ki a teljes zsírsavprofilra. Emellett, bár egyértelmű TENS-hatást is kimutattunk, az jelentősen enyhébbnek bizonyult, mint a takarmánnyal bevitt zsírsavak befolyása.

Amennyiben a korábban is alkalmazott prekursor-termék viszonyokat vizsgáljuk, jelen esetben az **arachidonsav-linolsav** hányados mutatott szignifikáns csökkenést, annyi kiegészítéssel, hogy a linolsavból (C18:2 n-6) nem közvetlen, hanem γ -linolénsav, majd dihomó- γ -linolénsav (C20:3 n-6) köztes állapotot követően alakul ki arachidonsav, a pontos folyamat $\Delta 6$ deszaturációból, elongációból (+C2) és $\Delta 5$ deszaturációból áll (*l. ábra*). Bár ez a folyamat nem direkt kapcsolatot jelent, ez volt az az index-érték, ahol

tiszta TENS hatás mutatkozott, az egyéb faktorok pedig elhanyagolhatók voltak. A két “szélső” zsírsav arányából képzett hányados (melyet az irodalomban gyakran használnak (*Andersson és mtsai, 2000*)) szignifikáns csökkenést mutat. Egy hasonlóan összetett folyamat prekursor-termék arányát tekintve (eikozapentaénsav/linolénsav) hasonló csökkenést sikerült kimutatni, utóbbi esetben azonban a takarmány hatását sikerült csak megerősíteni. A származtatott értékek megítélése gyakran kétes, különleges információtartalmuk (indirekt módon ugyan, de nehezen mérhető enzimes folyamatok aktivitására utalnak) és széleskörű alkalmazásuk mégis indokolja használatukat.

4.3.3. A TENS hatása a malondialdehid koncentrációra, telítetlen zsírsavkiegészítés mellett

A **malondialdehid** a szöveti lipidek peroxidációját igen érzékenyen tükröző vegyület. A peroxidáció folyamata számos irodalmi forrás szerint igen erős lehet az aerob fizikai terhelés mellett, hatása pedig az izomban is kimutatható. *Hong és Johnson (1995)* szerint a peroxidációt kompenzáló antioxidáns enzimek aktivitása a rendszeres tréning megkezdésétől számítva napokon belül megemelkedik. Amennyiben a tréning hosszútávú, a módosulások még pár napos “detraining” után is fennállnak. Saját vizsgálatomban a mintavételt 28 nap kezelés és 1 kezelésmentes nap előzte meg. Az elektromosan kezelt és a kontroll csoport m.l.d. mintáinak malondialdehid koncentrációja 1.19 ± 0.39 és 1.45 ± 0.51 $\mu\text{mol/g}$ (nedves minta) volt, ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. Érdekes, hogy az izom lipidtartalmának fokozott telítetlensége (*9. táblázat*) nem vezetett erősebb szöveti lipidperoxidációhoz. Valószínű, hogy az antioxidáns enzimek aktivitása emelkedett a rendszeres TENS kezelés következtében, bár jelen vizsgálatban nem tértünk ki ezek meghatározására.

4.3.4. A TENS kezelés hatása a zsírsavösszetételre telített zsírsavkiegészítés mellett

E kísérletben az etetett takarmány zsírforrása parciálisan hidrogénezett napraforgóolaj (gyakorlatilag margarin) volt. A kezelt és kontroll csoport m.l.d. zsírsavprofilját a *9. táblázat* mutatja.

A statisztikai elemzés alapján nem volt bizonyított változás a zsírsavprofilban. Egy esetben, a dokozatetraénsav (C22:4 n-6) arányában volt kisebb mértékű csökkenés ($P=0,084$), $P=0,082$ TENS hatással (ugyanakkor a takarmány hatása $P<0.001$ szinten volt bizonyítható).

A kísérlet kivitelezése a telítetlen csoporttal térben és időben is megegyezett, a kezelés hatásának “elmaradása” így minden bizonnyal nem kísérleti hibának tulajdonítható. Az

elektromos stimuláció hatása a másik takarmánykezelésben igen markánsnak tűnt, emiatt a jelenség magyarázata részben a transz zsírsavak blokkolt anyagcseréjében lehet. A gázkromatográfiás analízis során nem különítettük el a sztereoizomereket, ez azonban lehetséges, így a takarmány zsírsavainak ilyen vizsgálata mindenképp indokolt a jövőben. A hidrogénezett növényi olaj felhasználását jelen kísérletben az indokolta, hogy az EU szabályozás alapján növényevőkkel nem megengedett állati eredetű takarmányt etetni. Emiatt tűnt kézenfekvőnek a margarin, mint telített zsírforrás alkalmazása.

Transz konfiguráció esetén a kettős kötést tartalmazó zsírsavak anyagcseréjét nem sokan vizsgálták. Bizonyított, hogy erősen redukív környezetben (pl. bendő) a takarmányeredetű zsírsavak cisz kettős kötése képesek izomerizációra. Ezzel bizonyos mértékben analóg lehet a mesterséges hidrogénezés és hőkezelés együttes hatása is, mely egyrészt telíti, másrészt a fent említett irányba befolyásolja a zsírsavakat. *Chouinard és mtsai (1997)* és *Loi és mtsai (2000)* is kimutatták, hogy a különböző szintű hőkezelés határozottan képes emelni a telítetlen zsírsavforrás transz zsírsav tartalmát, ezen transz zsírsavak azonban problémamentesen jelennek meg a tejzsírban.

Bruckner és mtsai (1982) tt-linolelaidáttal (tt-C18:2) végzett vizsgálatuk során sikeres szöveti beépülést, de gátolt intermedier metabolizmust mutattak ki, a $\Delta 6$ deszaturáció aktivitása (C20:4/C18:2) határozottan visszaesett. *Privett és mtsai (1977)* esszenciális zsírsavhiányban szenvedő patkányban nagy arányú transz zsírsav etetéssel fenntartották a hiányt, mely azonban cisz zsírsavak etetésével megszüntethető volt. Mindez arra utal, hogy a transz zsírsavak beépülése, illetve a szövetekben való jelenléte nem okoz kórélettani változásokat, de azok a további zsírsavszintézisben prekurzoroknak nem alkalmasak.

Bár e kísérlet nem tért ki a transz zsírsavakra, ezen tapasztalat alapján szükséges lesz legalább a takarmányból a sztereoizomereket is elkülönítő zsírsavelemzés elvégzése. Miután transz kettős kötés gyakorlatilag mindegyik cisz kötés helyén kialakulhat, így a cisz és transz kötéseket is tartalmazó zsírsavak száma meglehetősen nagy.

Kimutatásuk igen költséges analitikai háttérrel igényel, egyszerűbb ezért inkább ismert, esetleg jelölt transz zsírsavakkal dolgozni. A kísérlet eredményeinek alakulásában ismereteim alapján csak a transz zsírsavak jelenléte tűnik indokoltnak. Természetesen a malondilaldehid mérés e kezelésben is megtörtént.

4.3.5. A TENS hatása a malondialdehid koncentrációra telített zsírsavkiegészítés mellett

A fentiekben azt tapasztaltam, hogy a zsírsavak izomszövetbe történő beépülése igen jó hatékonysággal megvalósul, de a hidrogénezett zsírforrás zsírsavainak további

metabolizmusa - bizonyos értelemben - szokatlan. A malondialdehid méréstől a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációjára történő utalást vártam. Az elektromosan kezelt csoportban $0,37 \pm 0,26$, míg a kontroll mintákban $1,04 \pm 0,37$ $\mu\text{mol/g}$ (nedves minta) koncentrációt mértünk. A csökkenő malondialdehid koncentráció gyengébb zsírsav peroxidációra utal. Eredményeink minden bizonnyal az adaptációs folyamathoz köthetők, ugyanis az erős igénybevétel rövidtávon fokozza a lipidperoxidációt, míg a rendszeres terhelés jelentősebben emeli az antioxidáns enzimek aktivitását. Végző soron ez kisebb mértékű peroxidációhoz vezet. A telítetlen zsírsavkiegészítéshez képest a malondialdehid értékek itt alacsonyabbak voltak, ami az etetett zsírforrás erősebb telítettségére is utal.

Balazy (2002) szerint minden olyan élettani, esetleg patológiás folyamat, mely fokozott szabadgyök képződéssel jár közvetlenül fokozza a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációját. A szerző arra is rámutatott, hogy NO_2 jelenlétében pl. az arachidonsav esetében jelentős izomerizációval is számolni kell. A peroxidáció és a transz zsírsavak kapcsolata *Dhar és mtsai (1999)* kísérletéből látszik legtisztábban. Amennyiben patkányokkal 9 cisz, 11 transz, 13 transz oktadekánsavat (9c, 11,13t konjugált linolénsav) etettek különböző koncentrációban, a plazmából meghatározott lipidperoxidáció aktivitása az emelkedő konjugált linolénsav koncentrációját követte.

Miután a jelen kísérletben a peroxidáció intenzitására utaló malondialdehid koncentráció erősebben csökkent, úgy tűnik, hogy a rendszeres elektromos kezelés fokozza az izom oxidatív stabilitását.

4.3.6. A TENS kezelés hatása a m.l.d. foszfolipidjeinek zsírsavprofiljára

A dolgozat egyik fő céljának megfelelően a rendszeres terhelés hatását izmok strukturális membránjának zsírsavösszetételén is vizsgáltuk. Ezt a munkát elsősorban a *2.3.6.1. fejezetben* leírt membránösszetétel módosulásokra alapoztuk. Beállításunk újszerűsége abban rejlett, hogy e fajon, illetve ilyen típusú terhelés mellett ilyen jellegű mérések még nem történtek. A membrán zsírsavösszetétel megváltozásának sok forrása lehet: oxidatív stressz és ennek következtében kialakuló károsodás, de *Vessby és mtsai (2002)* arra is rámutattak, hogy a tréning kapcsán az izom inzulin érzékenysége is módosul. Ez, valamint az elongációban és deszaturációban résztvevő komplex enzimek (*1. ábra*) aktivitásváltozása szintén hatékonyan befolyásolja a membrán zsírsavprofilját. Miután a fenti vizsgálatok nagy intenzitású tréning beállítások eredményeiből származtak, jelen vizsgálatban a TENS tréningezett nyulak teljes foszfolipid zsírsavösszetételét határoztuk meg, *m. longissimus dorsi* mintákból. A foszfolipidek komplex lipidekből történő szeparálását a *3.7.2. fejezetben* leírtak alapján végeztem. A *10.a. táblázat* alapján látható, hogy a rendszeres TENS kezelés számos hosszúlancú zsírsav arányát megváltoztatta a m.l.d. foszfolipidjeiben.

10.a. táblázat A TENS kezelés hatása a *m. longissimus dorsi* foszfolipidjeinek zsírsavprofiljára

zsírsav	m. longissimus dorsi PL		
	Kontroll	TENS	P érték
n	8	8	
	az összes zsírsav %-ában		
C14:0	0.20±0.05	0.20±0.02	NS
C15:0	0.52±0.05	0.42±0.02	**
C16:0	26.32±2.71	22.84±1.05	*
C16:1	0.39±0.09	0.43±0.05	***
C17:0	0.72±0.02	0.59±0.04	NS
C18:0	7.12±1.58	7.50±1.31	NS
C18:1	17.31±0.78	16.88±0.93	NS
C18:2 n-6 t	0.073±0.06	0.078±0.06	NS
C18:2 n-6 c	30.23±1.63	28.36±0.69	*
C18:3 n-6	0.16±0.010	0.14±0.009	*
C18:3 n-3	0.78±0.12	0.76±0.07	NS
C20:1 n-9	0.12±0.01	0.15±0.01	**
C20:2 n-6	0.39±0.04	0.43±0.05	NS
C20:3 n-6	1.16±0.04	1.11±0.07	NS
C20:4 n-6	11.52±2.61	14.58±2.05	*
C20:5 n-3	0.49±0.04	0.72±0.11	**
C22:6 n-3	0.54±0.07	0.89±0.23	*
C24:1 n-9	1.91±0.45	2.63±0.39	NS
C18:1 n-9 / C18:0 ^x	2.55±0.68	2.33±0.51	NS
C20:4 n-6 / C20:3 n-6 ^{xx}	75.8±19.3	110.4±10.9	***
összes telített	35.16±0.40	31.88±0.64	***
összes monoén	19.71±0.49	20.06±0.89	NS
összes polién	44.86±0.35	42.19±13.71	NS
összes n-3	1.80±0.06	2.24±0.44	0.056
összes n-6	42.72±0.80	37.16±16.43	NS
n-6 / n-3	23.69±0.87	17.35±7.88	NS
C20:3 n-6 / C18:2 n-6 ^{xxx}	0.005±0.000	0.005±0.000	NS
telítetlenségi index ^{xxxx}	139.2±5.5	154.2±4.4	**

^x Δ9 deszaturáz, ^{xx} Δ5 deszaturáz, ^{xxx} Δ6 deszaturáz

^{xxxx} 1 x (összes monoén) + 2 x (összes dién) + 3 x (összes trién) ...

NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001

A palmitát-palmitoleát párban eltérő irányú, ugyanakkor mindkét esetben szignifikáns változást látni. Bár irodalmi adat hasonló kezeléstről nem áll rendelkezésre, *Andersson és mtsai (1998)* rendszeres aerob tréninget követően a palmitát szignifikáns aránycsökkenéséről számoltak be, humán m.q.f. foszfolipidekben, *Helge és mtsai (1999)* pedig patkányban. Hasonló módon a linolsav részarányának csökkenéséről is beszámoltak a szerzők, mely szintén egyezik a nyulakban tapasztaltakkal. Bár a γ-linolénsavval kapcsolatban sem található említés, itt is szignifikáns aránycsökkenést sikerült kimutatni, ugyanúgy, mint a treadmill-tréningezett nyulak m.q.f. PL frakciójában. Emellett a pentadekánsav esetében is jelentős aránycsökkenés volt

tapasztalható. Érdekes, hogy mind az arachidonsav, mind az EPA és a DHA aránya erősen megnövekedett. *Andersson és mtsai (1998)* a DHA arányának jelentős emelkedését írták le tízhetes rendszeres tréning hatására, melyet megerősítettek *Helge és mtsai (2001)* eredményei. Nemcsak a polién, hanem az összes telített zsírsav aránya is megváltozott, a kezelés hatására erős aránycsökkenés volt kimutatható. A telített zsírsavak részarányának csökkenését tükrözi a telítetlenségi index növekedése is; hasonló módon *Helge és mtsai (2001)* is rámutattak a telítetlen zsírsavak arányának határozott emelkedésére rendszeres aerob tréninget követően, patkányban.

Az eredmények arra utalnak, hogy az elektromosan kiváltott rendszeres kontrakciók az aerob tréninghez hasonló változásokat idéznek elő vázizomban. Érdekes módon a foszfolipid zsírsavösszetételben mért arányváltozások csak kevéssé tűnnek fajspecifikusnak, miután a nyulak eredményei mind humán, mind pedig patkányokból származó eredményekkel jelentősebb egyezést mutatnak.

A pentadekánsavban bizonyított módosulás értelmezése során feltétlen figyelembe kell venni a 2.2.3. fejezetben leírt tény, mely szerint a nyulak vakbélemésztése során jelentősebb mennyiségű telített, páratlan szénatomszámú zsírsav képződik. Ezt bizonyítja az is, hogy míg a takarmányban nem volt mérhető mennyiségben pentadekánsav (5. melléklet), addig az izom foszfolipidekben az kimutatható volt. A kezelés hatására kialakult változás csak a foszfolipid frakcióban volt igazolható, a trigliceridekben nem találtunk eltérést a csoportok között. Az arachidonsav arányának növekedése újszerű jelenségnek tekinthető, irodalmi adatokkal nem egyezik, azokban ugyanis vagy nem volt változás (*Andersson és mtsai, 2000*), vagy csökkenő arányt írtak le (*Andersson és mtsai, 1998; Helge és mtsai, 2000*) rendszeres terhelés után, emberben, illetve patkányban.

A származtatott, enzimaktivitásra indirekt módon utaló hányadosok közül a $\Delta 9$ deszaturáz becsült aktivitása nem változott, míg a $\Delta 5$ deszaturázé jelentősen megemelkedett, ami ugyancsak megegyezik *Andersson és mtsai (2000)* eredményeivel. A szerzők szerint a $\Delta 5$ deszaturáz aktivitás igen szorosan korrelál az izom inzulin-érzékenységével emberben. Valószínű ez nyúlban is igaz, hiszen a TENS kezelés alatt is komoly változásokat mutattunk ki az általános szubsztrátsorrendben (4.4. fejezet), melyek a szénhidrát-hasznosítás jelentős csökkenésére utaltak. Összességében tehát, bár a stimuláció csak egyetlen izmot érintett, úgy tűnik, hatása a foszfolipidek zsírsavprofiljára igen hasonló ahhoz, melyet a rendszeres aerob tréning vált ki emberben és patkányban. A kezelés elsősorban a hosszúláncú, többszörösen telítetlen zsírsavak arányváltozásában mutatkozott meg.

4.3.7. A TENS kezelés hatása m.l.d.-trigliceridek zsírsavprofiljára

A trigliceridek általában az izomsejtbeli β -oxidációban felhasznált szabad zsírsavak elsődleges forrásának tekinthetők. Ez mind az intramuscularis, mind pedig az adiposa eredetű TG-re is igaz, utóbbi esetben azonban a plazmával, mint FFA-szállító közeggel is számolni kell. Emiatt *Hargreaves (1995)* szerint az IMTG felhasználása “egyszerűbb”, mint az adiposa TG-é, éppen annak jobb “hozzáférhetősége” miatt. Bár ez elsősorban az akut terhelésre igaz, *Dyck és mtsai (2000)* a TG turnover fokozódást mutatták ki tréninget követően is, ami még a post-exercise állapotban is fennállt. Jelen vizsgálatunk kimondottan nyugalmi állapotra vonatkozott, a mintavételt viszont krónikus terhelési protokoll előzte meg (3.3.2.). A tisztított TG frakció kontroll és kezelt csoportban meghatározott zsírsavprofilját a 10.b. táblázat tartalmazza.

10.b. táblázat Rendszeres TENS kezelés hatása a *m. longissimus dorsi* trigliceridejeinek zsírsavösszetételére

m. longissimus dorsi TG			
zsírsav	kontroll	TENS	P érték
n	8	8	
az összes zsírsav %-ában			
C10:0	0.37±0.13	0.40±0.25	NS
C12:0	0.36±0.10	0.34±0.16	NS
C14:0	2.35±0.49	2.64±0.04	NS
C15:0	0.66±0.09	0.62±0.04	NS
C16:0	23.92±3.44	25.92±0.78	NS
C16:1	2.59±1.77	3.71±0.91	NS
C17:0	0.65±0.12	0.58±0.03	NS
C18:0	5.30±0.46	4.48±0.06	*
C18:1	21.96±0.95	23.66±1.07	0.065
C18:2 n-6 t	0.055±0.095	0.14±0.00	NS
C18:2 n-6 c	33.15±4.88	29.31±1.72	NS
C18:3 n-6	0.00±0.00	0.043±0.060	NS
C18:3 n-3	7.02±0.76	6.45±0.31	NS
C20:0	0.11±0.095	0.16±0.005	NS
C20:1 n-9	0.39±0.026	0.42±0.003	0.093
C20:2 n-6	0.30±0.02	0.29±0.03	0.059
C20:4 n-6	0.70±0.16	0.58±0.03	NS
C24:1 n-9	0.10±0.09	0.14±0.01	NS
C18:1 n-9 / C18:0 ^x	4.18±0.56	5.10±0.53	NS
összes telített	33.73±3.07	33.71±1.97	NS
összes monoén	29.34±3.00	29.66±2.38	NS
összes polién	56.55±4.10	54.22±0.94	NS
összes n-3	0.70±0.16	0.62±0.04	NS
összes n-6	55.85±3.99	53.59±0.91	NS
n-6 / n-3	81.71±14.36	86.62±5.73	NS
telítetlenségi index ^{xx}	178.0±10.4	169.5±2.9	NS

^x $\Delta 9$ deszat.; ^{xx} $1 \times$ (összes monoén) + $2 \times$ (összes dién) + $3 \times$ (összes trién) ...
NS: P>0.05; * P<0.05

Korábbi, hasonló jellegű terheléses vizsgálatok (rendszeres aerob tréning) szerint a vázizom trigliceridek zsírsavösszetétele nem változik (*Andersson és mtsai, 1998*). Ezzel szemben a szerzők későbbi, szintén humán vizsgálataikban (*Andersson és mtsai, 2000*) a palmitát és palmitoleát aránycsökkenését, valamint az α -linolénsav arányának emelkedését írták le. *Helge és mtsai (1999, 2001)* sem patkányban, sem emberben nem találtak kizárólag terhelés hatásának tulajdonítható arányváltozásokat, bár a sztearát, az oleát valamint a DHA aránya az edzés időtartamától függően bizonyult, amennyiben az edzési folyamat nyomonkövetését végezték.

Saját kísérletünkben a sztearát aránycsökkenése *Helge és mtsai (2001)* eredményeivel mutat egyezést. Érdekes, hogy korábbi, teljes izom homogenizátumból végzett méréseink is hasonló eredményre vezettek, *m. vastus lateralis* mintákban, rendszeres treadmill gyakorlatot követően, (4.1.3.). A fent említett vizsgálathoz hasonlóan az elektromos stimuláció is ellentétes irányban befolyásolta a sztearát és oleát részarányát, bár utóbbi esetben csak közel-szignifikáns ($P=0,065$) arányemelkedést sikerült bizonyítanunk.

A sztearát aránycsökkenését komplex lipidekből vizsgálva is kimutattuk, TENS kezelés és telítetlen takarmány (UNSAT) kezeléskombináció mellett (4.3.2.). Ugyanígy az eikozénsav (C20:1 n-9) magasabb részarányát is sikerült mindkét beállításban kimutatni, bár a tisztított TG frakcióban csak $P=0,093$ szinten. *Mougiós és mtsai (1995)* akut aerob terhelés kapcsán a plazma trigliceridekben fokozott sztearát-fogyást írtak le, ami egyértelműen e zsírsav preferált oxidációjára utal. Bár a szerzők eredményeiket azzal magyarázták, hogy a plazmában mérhető R_a és R_d kizárólag az adiposa zsírsavprofiljának megfelelően alakul, úgy tűnik, létezik egyfajta preferencia mind a zsírsav-mobilizációban (2.3.3.1.2.), mind pedig az izomsejtekben zajló oxidációs folyamatokban (2.3.4.1.). Érdekes, hogy a fenti eredmények nemcsak a plazmában, és nemcsak akut formában, hanem izom trigliceridekben és rendszeres terhelést követően is megfigyelhetők voltak.

Jelentősebb változást a feni zsírsavakon kívül még a dokozadiénsav esetében mértünk, amennyiben a TENS-kezelt csoportban annak alacsonyabb részarányát tapasztaltuk a TG frakcióban. Úgy tűnik, vizsgálatainkban a komplex és az izolált lipidekből meghatározott változások bizonyos mértékben egybevághóak, amit részben alátámaszt *Andersson és mtsai (1998)* megfigyelése is, mely szerint például az eltérő táplálékok különböző zsírsavprofiljától nem függenek az IMTG-ben mérhető arányeltolódások (a komplex lipidek és a tisztított TG elemzését megelőzően etetett takarmányok összetétele a 4., illetve 5. mellékletben található).

A foszfolipidekkel összevetve a TG frakcióban kisebb arányváltozásokat sikerült kimutatni, ugyanakkor azok lényegi egyezést mutatnak a korábbi eredményekkel. Figyelemre méltó, hogy a foszfolipidekkel ellentétben a trigliceridekben nem polién, hanem főleg monoén vagy telített zsírsav-arányváltozások történtek.

4.4. Klinikai kémiai paraméterek krónikus TENS kezelés mellett

Vizsgálatunkat a szérumban metabolitok és enzimek mérésére is kiterjesztettük, a rendszeres, exogén úton kiváltott izommunka hatásának pontosabb megismerésére. A kísérlet egyfajta nyomonkövetés volt, négyhetes kezelés mellett, hetente ismételt vérvételekkel. A vizsgálat a 4.3. fejezetben alkalmazott beállítással teljesen egyező volt, csak az alkalmazott takarmány összetétele (5. melléklet) tért el. A mintavételek és elemzés során a 3.5 fejezetben leírt metodikát alkalmaztuk.

4.4.1. Szérumban metabolitok

A szérumban albumin koncentráció a treadmill kísérlethez hasonlóan jelen vizsgálatban is mutatott bizonyos korfüggő emelkedést. Emellett azonban a kezelésnek kitett csoportban a teljes kísérleti időtartam alatt kissé magasabb koncentráció értékeket határoztunk meg, bár statisztikailag igazolható különbség csak az 1. és a 3. héten volt (11. táblázat). Érdekes, hogy bár a TENS kezelés erősen helyi jellegű volt a treadmill kezeléshez képest, mégis ahhoz hasonló reakciót mutattunk ki a szérumban albumin koncentrációjában.

Ugyancsak érdekes, hogy a szérumban összfehérje mennyiségében a kezelés hatása nem volt bizonyítható, ez esetben is a korrallal emelkedő szérumban koncentráció volt tapasztalható. A karbamid szérumban koncentrációja a korrallal párhuzamosan emelkedett, bár a kreatininhez hasonlóan itt sem volt igazolható eltérés a kezelt és a kontroll csoport között.

11. táblázat Szérumban metabolit koncentrációk változása rendszeres m.l.d. miostimuláció során (átlag±SD)

	csoport	n	hetek				
			0	1	2	3	4
Albumin [g/L]	Kontroll	8	32.25±1.46	31.87±2.53 ^b	34.00±1.60	35.00±1.19 ^b	39.83±1.47
	TENS	8	32.56±0.18	36.50±2.83 ^a	34.00±1.69	36.42±1.27 ^a	39.86±3.93
Összfehérje [g/L]	Kontroll	8	45.24±4.23	44.63±6.67	48.00±5.90	52.63±5.37	61.14±4.88
	TENS	8	43.64±2.28	51.29±8.83	45.63±4.07	53.86±5.46	58.67±8.31
Kreatinin [μ mol/L]	Kontroll	8	64.23±21.23	54.63±13.50	46.25±10.62	48.87±6.11	86.37±14.05
	TENS	8	59.51±3.43	57.13±7.04	42.00±4.38	49.71±18.59	80.83±8.61
Karbamid [mmol/L]	Kontroll	8	2.87±0.29	3.44±0.68	3.55±0.50	3.86±0.51	4.9±0.58
	TENS	8	2.91±0.004	3.59±0.54	3.36±0.90	4.04±0.67	4.58±0.79
Összkoleszterin [mmol/L]	Kontroll	8	2.70±0.21	1.94±0.38	1.34±0.48	2.64±0.66	3.2±0.81
	TENS	8	2.65±0.18	2.18±0.46	1.22±0.30	2.39±0.34	2.93±0.81
HDL koleszterin [mmol/L]	Kontroll	8	1.40±0.17	0.54±0.10 ^b	0.66±0.20 ^b	0.92±0.28	1.56±0.43
	TENS	8	1.30±0.13	0.35±0.091 ^a	0.40±0.12 ^a	0.73±0.23	1.38±0.45
Triglicerid [mmol/L]	Kontroll	8	1.58±0.24	1.51±0.37 ^b	1.22±0.18 ^b	1.55±0.32 ^b	1.40±0.24
	TENS	8	1.61±0.18	1.88±0.26 ^a	1.89±0.46 ^a	1.91±0.44 ^a	1.77±0.46

a, b: $P < 0.05$

A szérumból lipidfrakciók érzékenyebben jelezték a kezelés hatásait. Míg az összkoleszterin esetében a treadmill kísérlethez hasonló tendencia volt megfigyelhető (4.2.1.), a HDL koleszterin koncentráció az 1. és 2. héten jelentősen alacsonyabb volt a TENS kezelt csoportban. A jelenség nem könnyen magyarázható, hiszen a rendszeres tréning bizonyítottan emeli a HDL koleszterin koncentrációját. A triglicerid koncentráció a TENS csoportban minden mintavételi időpontban magasabb volt, az 1., 2. és 3. héten a különbség statisztikailag igazolhatónak bizonyult. Bár a szérumból triglicerid koncentráció igen szorosan összefügg a takarmányfogyasztással, e mutatóban a két csoport nem különbözött. Ugyanígy a heti testtömeg adatokban sem volt kimutatható eltérés.

A szérumból TG eredmények arra utalnak, hogy a rágcsálók TG felhasználása az egyéb emlősökétől eltérő mértékű (Mackie, 1980), ami valószínűleg a postprandialis fázis hosszúságával is összefügg.

4.4.2. Szérumból enzimek aktivitása TENS kezelés mellett

A szérumból enzimek aktivitásában gyakorlatilag nem okozott változásokat a TENS kezelés (12. táblázat). Az ALT aktivitása a kezelt csoportban ugyan kissé magasabb volt, ami a treadmill kísérlet eredményeivel esik egybe, ugyanakkor egyik héten sem volt bizonyítható az eltérés. Az egyéb meghatározott enzimek (ALP, AST, γ -GT, CK) aktivitása nem, vagy csak kevéssé mutatta a kezelés hatását.

12. táblázat Szérumból enzim-aktivitás értékek és kortizol koncentráció rendszeres miostimulációs kezelés alatt, nyulakban

	csoport	n	hetek				
			0	1	2	3	4
ALP [IU/L]	Kontroll	8	516.6±46.6	365.2±21.9	419.2±16.3	447.25±38.8	495.0±21.7 ^b
	TENS	8	545.4±7.4	384.5±46.1	411±21.1	418.7±46.6	697.8±44.1 ^a
ALT [IU/L]	Kontroll	8	30.98±1.97	35.00±3.18	42.86±4.02	42.33±9.08	49.29±6.35
	TENS	8	29.13±1.6	29.83±3.21	37.00±4.41	40.51±5.21	46.25±6.60
AST [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	44.14±6.33
	TENS	8	-	-	-	-	43.50±4.53
γ -GT [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	11.25±1.06
	TENS	8	-	-	-	-	13.33±4.53
CK [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	1993.4±136.3*
	TENS	8	-	-	-	-	1349.2±235.8*
LDH [IU/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	734.7±136.3 ^b
	TENS	8	-	-	-	-	394.2±15.5 ^a
Kortizol [nmol/L]	Kontroll	8	-	-	-	-	39.05±15.63
	TENS	8	-	-	-	-	34.10±1.47

a, b: $P < 0.05$; * $P=0.07$

Érdekes, hogy a CK, mely az izommembrán esetleges sérüléseit igen érzékenyen jelzi (Moreau és mtsai, 1995), jelen esetben nem volt indikatív. Bár az 1. és a 2. heti átlagértékekben a TENS csoportban mértünk kissé magasabb aktivitást, ez gyakorlatilag elhanyagolható volt a nagy szórás miatt. A statisztikai elemzés során az extrém értékek kizárásával dolgoztam minden esetben. A CK enzimnél, várakozásaimmal ellentétben, a TENS csoportban sem fordultak elő extrém adatok. A 12. táblázat a kiugró értékek nélküli állomány adatait tartalmazza. Mindezek alapján úgy tűnik, a kezelés nem okozott olyan erős sejtmembrán sérülést az izomban, ami a szöveti enzim plazmába való kiáramlásához (“membrane leakage”) vezetett volna.

Az enzimátikus “válasz” összességében igen kis mértékű volt, ami arra utal, hogy a TENS kezelés erősen lokalizált volt, így a szervezet egészét az csak kissé befolyásolhatta, még ha a test egyik legnagyobb izmán végeztük is. A treadmill kezeléshez hasonlóan, a kortizol koncentrációjának segítségével itt is ki lehetett zárni a stressz hatását.

4.5. A takarmányeredetű zsírsavak be- és átépülésének vizsgálata

A takarmány zsírsavainak megjelenése az állati szövetekben régóta ismert. Nemcsak a tejzsírban, depózsírban, hanem a vérben és izom lipidfrakcióiban is kimutathatók. Az izomban deponált triglicerideken kívül a funkcionális membránokba is beépülnek a táplálék zsírsavai. Miután a zsírok emésztése és felszívódása viszonylag gyors folyamat, napok alatt módosítható a szöveti zsírsavprofil. Emberben és szakaszos napi aktivitású állatokban az éjszakai 8-10 órás éhezés (“overnight fast”) során jellemző az adiposa TG hidrolízisének megindulása. A nyúl táplálékfelvétele sajátos, *ad libitum* takarmányozás esetén is legalább 8 óra hozzáférés szükséges a létfenntartó energiaigény kielégítéséhez. A gyakorlatban ez igen hosszú, közel folyamatos postprandialis lipaemiát jelent.

Ismert az is, hogy a lipidek “kicserélődése” a szövetekben állandó folyamat, még nem éhező egyedekben is. Guba (1988) izom lipidekben négyhetes kicserélődési időt (“exchange period”) említ, emberben. Tekintve, hogy a beépülés gyors, jelen kísérletben azt kívántam vizsgálni, hogy a takarmánnyal bevitt zsírsavak átépülése is hatékonyan megvalósul-e az izomban.

A zsírsavmetabolizmus vizsgálatában nehéz viszonyítási alapot találni, nem kezelt kontroll nem létezik, mivel a *de novo* szintézis zsírmentes táplálék etetése során is megvalósul. Kísérletünkben ezért egy erősen telítetlen és egy erősen telített zsírsavösszetételű takarmányt készítettünk. A kísérleti takarmányok izoenergetikusak voltak (egyikben 4% napraforgóolaj, a másikban 4% hidrogénezett napraforgóolaj volt, amit a 4. melléklet mutat), hiszen ismert tény, hogy a zsírbeépülés az energia beviteltől is függ.

Az alkalmazott kísérleti beállítás (3.3.3. fejezet) lehetővé tette az átépülés bizonyos szintű időbeli nyomonkövetését is, miután a takarmányváltást követően 1 és 4 héttel is vettünk mintákat. Bár a vizsgálat nem mutatta meg, hogy a felvett zsírsavak beépülésében van-e telítődési tendencia (un. "plateau"), illetve ha igen, mennyi idő után, de korábbi kísérleteink alapján (Szabó és mtsai, 2001) a négy hetes etetési periódus igen erős befolyást gyakorol a szöveti zsírsavprofilra.

Az átépülés hatékonyságának ellenőrzésére a kísérlet utolsó időpontjában történő összehasonlítást alkalmaztam. Elméletben ugyanis, ha azonos ideig etetünk két eltérő zsírsavösszetételű tápot, az idő hosszától függetlenül a végpontban a két csoport mintáinak zsírsavösszetételükben egyezniük kell.

A kísérleti beállítás során ideálisnak tűnt a választást (28. életnap), mint kezdő időpontot kezelni, mert ezt megelőzően minden egyed azonos takarmányozási hatásnak volt kitéve. Ez természetesen az adatelemzésnél bizonyos kor és testtömeg korrekciókat igényel, melyeket az alkalmazott modellben figyelembe is vettem. Eszerint a testtömeg mint kovariáns szerepelt az egytényezős varianciaanalízisben, a csoport ugyanakkor magában foglalta a koresoportot is (13. táblázat), miután minden összehasonlított kezelés (SAT - UNSAT és a fordított kombináció) eltérő korrallal jellemezhető.

Az első 4 hét utáni minták összehasonlítása (4 hét SAT vs. 4 hét UNSAT) gyakorlatilag minden zsírsav részarányában szignifikáns különbséget mutatott. Ez nem meglepő, hiszen nagyon eltérő zsírsavösszetételű tápokot (4. melléklet) etettünk, viszonylag hosszú ideig. Korábbi eredményeink alapján (Szabó és mtsai, 2001) nyúlban a négyhetes etetés elegendőnek tűnt a vázizom zsírsavprofiljának módosításához. A kezdeti 4 hetes periódus után végeztem el a takarmányok felcserélését, ezt követően egy hét múlva szintén igen markáns különbség látszott a két csoport között (4 hét SAT+1 hét UNSAT vs. 4 hét UNSAT+1 hét SAT). A csoportok összehasonlítása emiatt úgy tűnt logikusnak, hogy az elemzést két ágon végezzem, ami egyik esetben a 4 hét telített (SAT), 4 hét telített + 1 hét telítetlen (UNSAT), valamint 4 hét telített + 4 hét telítetlen csoportok összehasonlítását jelentette. A másik csoportosítás ezzel analóg, csak a takarmányok sorrendje különböző.

4.5.1. A SAT-UNSAT takarmányváltás

A SAT - UNSAT váltás az első héten csak a linolénsav arányában idézett elő szignifikáns emelkedést; az eltérés a váltást követő 4. heti adatokkal összevetve is szignifikáns volt (13. táblázat). E hatás minden bizonnyal arra vezethető vissza, hogy az UNSAT táp zsírtartalmában igen magas, 48,39% volt az α -linolénsav aránya. A következő három hét a sztearinsav és az eikozapentaénsav (EPA) részarányában idézett elő határozott változásokat.

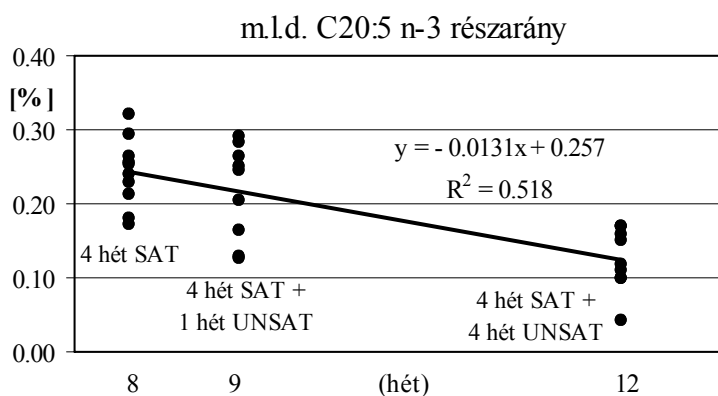
13. táblázat A SAT-UNSAT és az UNSAT-SAT takarmányváltási protokoll hatása az *m. longissimus dorsi* zsírsavprofiljára

zsírsav minta, n	SAT-UNSAT			UNSAT-SAT			t-teszt: 4 hét SAT+4 hét UNSAT vs. 4 hét UNSAT+4 hét SAT	
	4 hét SAT			4 hét UNSAT				testsúly hatása
	10	10	10	10	10	10		
C14:0	2.07±0.63	2.05±0.5	2.35±0.69	1.39±0.39 ^a	1.98±0.7 ^b	2.87±0.64 ^c	NS	
C15:0	0.40±0.05	0.41±0.08	0.40±0.07	0.44±0.07	0.45±0.06	0.45±0.07	NS	
C16:0	28.86±1.35	27.52±1.5	25.97±2.64	24.06±2.2 ^a	26.6±2.14 ^b	28.83±2.21 ^b	0.017	
C17:0	0.45±0.07	0.42±0.04	0.38±0.05	0.49±0.04	0.47±0.10	0.40±0.06	NS	
C18:0	7.67±0.65 ^a	7.40±0.68 ^a	6.44±0.92 ^b	7.99±0.89	7.39±0.68	6.2±0.55	0.032	
C20:0	0.068±0.02	0.064±0.009	0.056±0.012	0.062±0.004	0.059±0.008	0.063±0.001	NS	
C22:0	0.22±0.10	0.02±0.10	0.15±0.07	0.15±0.08	0.22±0.17	0.16±0.07	NS	
C14:1 n-5	0.10±0.07	0.09±0.36	0.20±0.07	0.63±0.34	0.16±0.10	0.19±0.10	NS	
C16:1 n-7	1.43±0.87	1.60±0.66	2.86±0.74	1.19±0.51	1.89±1.09	2.83±1.05	NS	
C17:1 n-9	0.13±0.06	0.11±0.05	0.12±0.04	0.081±0.043	0.094±0.038	0.095±0.039	NS	
C18:1 n-7	1.77±0.14	1.69±0.13	1.42±0.20	1.21±0.14 ^a	1.46±0.15 ^b	1.58±0.17 ^b	NS	
C18:1 n-9	21.86±1.49	21.32±1.73	21.73±2.07	16.98±0.89 ^a	19.8±1.22 ^b	22.92±1.02 ^c	NS	
C20:1 n-9	0.15±0.032	0.14±0.032	0.13±0.03	0.10±0.02	0.11±0.027	0.14±0.019	NS	
C18:2 n-6	20.78±0.7 ^a	23.36±2.7 ^b	25.78±2.85 ^c	31.94±3.02 ^a	26.09±2.13 ^b	21.86±1.76 ^c	0.002	
C18:3 n-3	3.11±0.75	3.0±0.82	3.41±0.94	2.64±0.53 ^a	3.02±0.44 ^{ab}	3.97±0.64 ^b	NS	
C20:2 n-6	0.28±0.15	0.28±0.07	0.31±0.15	0.37±0.12 ^a	0.36±0.07 ^{ab}	0.17±0.10 ^b	NS	
C20:3 n-3	0.073±0.013	0.069±0.014	0.057±0.019	0.064±0.012	0.065±0.018	0.066±0.021	NS	
C20:4 n-6	3.98±0.70	4.18±1.02	3.8±1.78	4.53±0.55 ^a	4.35±0.96 ^{ab}	3.38±1.17 ^b	NS	
C20:5 n-3	0.24±0.046 ^a	0.22±0.064 ^a	0.12±0.042 ^b	0.11±0.029	0.15±0.051	0.14±0.058	NS	
C22:2 n-6	0.56±0.16	0.63±0.17	0.29±0.14	0.58±0.12	0.62±0.19	0.26±0.07	NS	
C22:4 n-6	0.83±0.15	0.89±0.23	0.82±0.41	1.14±0.17 ^a	1.03±0.2 ^a	0.69±0.24 ^b	NS	
C22:5 n-3	0.89±0.21	0.89±0.22	0.64±0.3	0.54±0.09	0.65±0.24	0.55±0.23	NS	
C22:6 n-3	0.15±0.035	0.17±0.064	0.15±0.061	0.16±0.053	0.15±0.051	0.12±0.049	NS	
egyéb	4.08±2.05	3.45±0.74	2.93±1.60	3.88±2.33	3.10±0.60	2.21±0.45	NS	
Δ9 deszaturáz*	2.87±0.35	2.91±0.42	3.46±0.72	2.15±0.31 ^a	2.73±0.43 ^b	3.73±0.48 ^c	NS	
Σ Sat. / Σ Unsat.	0.71±0.039 ^a	0.65±0.036 ^b	0.59±0.08 ^c	0.56±0.064 ^a	0.62±0.052 ^b	0.66±0.07 ^b	NS	

a, b, c: különböző kitévők a $P < 0.05$ különbséget jelzik; NS: $P > 0.05$; *C18:1(n-9)/C18:0

A háromhetes kezelés hatása igen intenzívnek bizonyult, hiszen ez az időszak már önmagában is szignifikáns hatású volt az említett zsírsavak esetében (13. táblázat). Az UNSAT takarmányra történő áttérés folyamatos csökkenést idézett elő az összes telített / összes telítetlen zsírsav arányban is. A testtömeg, mint kovariáns szignifikáns hatást mutatott a margarinsav (C17:0), mirisztóleinsav (C14:1 n-5), palmitóleinsav (C16:1 n-7) és a (C20:1 n-9) esetében.

Megállapítható, hogy a legtöbb esetben a takarmány zsírsavprofiljának megfelelően változott az izom zsírsavösszetétele is (sztearinsav, linolsav). Mindezeket figyelembe véve lineáris regressziós modelleket szerkesztettem, annak vizsgálatára, hogy van-e olyan zsírsav, melynek szöveti inkorporációja így jellemezhető. A modellben az egyedi adatokat használtam (n=3x10), három kísérleti csoportot (4 hét SAT, 4 hét SAT + 1 hét UNSAT, 4 hét SAT + 4 hét UNSAT) elemezve. A SAT-UNSAT takarmányváltást követően megfelelően szoros lineáris illeszkedést ($R^2 > 0,5$) csak az eikozapentaénsav (C20:5 n-3, EPA) esetében sikerült bizonyítani (7. ábra).



7. ábra Regressziós egyenes az eikozapentaénsav *m. longissimus dorsiból* történő kiürülésének (“washout”) jellemzésére

Az EPA esetében tapasztalt relatív időbeli aránycsökkenés oka valószínűleg nemcsak a takarmányváltás következtében csökkent bevitel lehet. A többszörösen telítetlen zsírsavak elsődlegesen a membránban (foszfolipidek) fordulnak elő. Mivel a négyhetes kor után az izomnövekedésre elsősorban a hipertrófia jellemző, a határoló membránok méretében négyzetes, míg a csepp formában deponált TG esetén köbös növekedési együtthatóval számolhatunk.

4.5.2. Malondialdehid koncentráció

A malondialdehid koncentráció az izomban a SAT-UNSAT váltást követően csak 4 hét alatt mutatott jelentős csökkenést a kiindulási értékhez képest (14. táblázat).

14. táblázat A SAT-UNSAT takarmányváltás hatása a *m. longissimus dorsi* malondialdehid koncentrációjára

	4 hét SAT	4 hét SAT +1 hét UNSAT	4 hét SAT+ 4 hét UNSAT
n	10	10	10
MDA [mmol / g (nedves szövet)]	1.23±1.61 ^a	1.27±0.49 ^a	0.84±0.37 ^b

A fenti eredmény igen nehezen magyarázható, ugyanis az UNSAT az izom zsírsavösszetételének telítetlenségében határozott emelkedést okozott. Ennek értelmében, elvileg, a peroxidációval szembeni érzékenység is fokozódik, ugyanakkor a malondilaldehid koncentráció csökkenése ennek ellenkezőjére utal. E jelenség magyarázata minden bizonnyal az, hogy a takarmányokban alkalmazott zsírforrások eredeti E vitamin tartalmában igen erős (*14-szeres, 4. melléklet*) eltérés volt. Ez igen nagy valószínűséggel a gyártási folyamat sajátos eredménye, a hidrogénezés, a hőkezelés ugyanis az E vitamin tartalmát igen hatékonyan képes csökkenteni. Az UNSAT beállítás mellett így nemcsak a zsírsav-telítetlenség volt fokozott, hanem a bevitt antioxidáns mennyisége is, így a peroxidációs folyamatok gátlása igen hatékony lehetett.

4.5.3. A plazma összlipid, FFA, TG és koleszterin koncentráció változásai

E kezelés mellett a plazma összlipid tartalma az idő előrehaladtával folyamatosan emelkedett, bár szignifikáns eltérést csak a takarmányváltást követő utolsó, háromhetes periódus idézett elő (*15. táblázat*).

15. táblázat A SAT-UNSAT takarmányozási kezelés hatása a főbb plazma lipid paraméterekre

Plazma	n	4 hét SAT	4 hét SAT +1 hét UNSAT	4 hét SAT+ 4 hét UNSAT	testsúly hatása	
Összlipid	mg/ml	10	2.60±0.48 ^a	2.96±0.58 ^a	3.13±0.78 ^b	0.057
TG	mmol/l	10	1.04±0.28	1.23±0.40	1.30±0.42	NS
FFA	mmol/l	10	0.024±0.002	0.026±0.002	0.042±0.004	NS
Összkoleszterin	mmol/l	10	2.64±0.43 ^a	1.96±0.60 ^b	2.1±0.33 ^{ab}	0.06
testsúly	kg	10	1.85±0.35 ^a	1.88±0.25 ^a	2.94±0.27 ^b	-

a, b: különböző kitevők: P<0.05; NS: P>0.05

A **plazma összlipid** esetében közel-szignifikáns testsúly-hatást mutattam ki (P=0,057). A 4 és 8 hetes kor között a Pannon Fehér fajta üres testének zsírtartalma 6%-ról 8,4%-ra emelkedik (*Szendrő és mtsai, 1998*). Valószínű, hogy a nagyobb mennyiségű deponált zsír és a lipid transzfer aktivitása (LTA - lipid transfer activity) itt igen szorosan

összefügg (*Quig és Zilversmit, 1986*). Miután az etetés *ad libitum* történt, **FFA** gyakorlatilag alig volt kimutatható, ami folyamatos pozitív energiamérlegre utal a teljes kísérlet alatt. A fenti elemzés során alapvető feltételként kezeltem, hogy a plazma összlipid koncentrációját a felvett takarmány mennyisége alapvetően befolyásolja, ugyanakkor e mutatóban a két csoport nem különbözött.

A plazma **TG** koncentrációja az összlipidhez hasonlóan folyamatosan emelkedett, bár nem statisztikailag igazolható mértékben, inkább csak mint tendencia interpretálható ez az eredmény. A plazma TG koncentrációval szemben csökkenő tendencia jellemezte a plazma **összkoleszterin** szintet, bár csak a takarmányváltást követő első héten sikerült statisztikailag igazolható különbséget kimutatni. Ismert tény, hogy a telítetlen zsírsavak etetése jelentősen képes csökkenteni az összes koleszterin szintjét (*Hodson és mtsai, 2001*). A SAT - UNSAT váltás kapcsán ez igazolódott, a takarmányváltást követő első héten szignifikánsan csökkent a szint, amely később enyhe emelkedést mutatott ugyan, de viszonylag alacsony szinten stabilizálódott a 8. hét végére. Érdekes módon az összkoleszterin koncentrációját is viszonylag erősen befolyásolta a testsúly ($P=0,06$), melyhez hasonló megfigyelést írtak le *Parigi-Bini és mtsai (1992)* nyulak depózsjában.

4.5.4. Az UNSAT - SAT takarmányváltás hatása a m.l.d. zsírsavösszetételére

Az izom zsírsavprofiljának összefoglalt eredményeit a *13. táblázat* mutatja. A takarmányváltást követő első hét a mirisztinsav, palmitinsav, vakcénsav (C18:1 n-7), olajsav és a linolénsav arányokban idézett elő szignifikáns növekedést. Emellett a telített / telítetlen zsírsavak arányát is jelentősen megemelte az UNSAT-SAT váltás. Az említett zsírsavak közül a mirisztinsav és az olajsav beépülése a második, háromhetes periódusban is intenzív maradt, emellett a linolsav erős aránycsökkenése is megfigyelhető volt. A testsúly hatását a palmitinsav és a linolsav esetében lehetett kimutatni.

Érdekes módon a dokozadiénsav (C20:2 n-6) részaránya nem a takarmányváltásnak megfelelően alakult, a megemelt bevitt csökkenő izombeli részarány követte.

A linolsav alacsony takarmánybeli mennyisége az izomban folyamatosan csökkenő linolsavmennyiségben nyilvánult meg. Miután a takarmány kizárólag növényi eredetű volt (nem tartalmazott arachidonsavat), az arachidonsav aránycsökkenése is a prekursor linolsav relatív hiánya miatt lehetséges. Ezt a megfigyelést *Maldonado és mtsai (2002)* megfigyelései is alátámasztják. Telítetlen - telített takarmányváltást követően, egerek vázizom foszfolipidjeiben, az arachidonsav aránycsökkenése volt az első mérhető változás.

A SAT-UNSAT beállításnál képzett lineáris közelítéseket e kombinációban is

elvégeztem. A 16. táblázat foglalja össze azon modellek jellemzőit, melyek esetében megfelelő illeszkedés ($R^2 > 0,5$) volt tapasztalható.

16. táblázat Lináris modellek fő jellemzői az UNSAT-SAT takarmányváltást követő zsírsav-átépülés jellemzésére

UNSAT-SAT					
Zsírsav	sig.	R ²	B	konstans	SEE*
C14:0	0.0001	0.534	0.206	1.05	0.58
C18:1 n-9	0.0001	0.818	0.807	15.87	1.16
C18:2 n-6	0.0001	0.689	-1.326	33.26	2.71
C18:3 n-3	0.0001	0.541	0.19	2.26	0.53
C22:2 n-6	0.0001	0.51	-0.05	0.738	0.15

* a becslés standard hibája, B: meredekség

Érdekes módon jelen vizsgálatban a SAT-UNSAT takarmányváltástól eltérő zsírsavak esetében sikerült linearitást igazolni. Az olajsav beépülését vizsgálva ugyanakkor *Fontanillas és mtsai (1998)* is lineáris illeszkedést írtak le sertések hátszalonnájában (triglicerid), hidrogénezett növényi olaj etetését követően, a növekedéssel párhuzamosan. Mindezek alapján az olajsavval kapcsolatban elsősorban az IMTG frakció további elemzése tűnik indokoltnak.

4.5.5. Malondialdehid koncentráció

A szöveti malondialdehid koncentráció az első hetet követően szignifikáns emelkedést, majd a 8. hét végén a kiindulási értéket megközelítő alacsony szintet mutatott (17. táblázat).

17. táblázat Az UNSAT-SAT takarmányváltást követő MDA koncentrációk *m. longissimus dorsiban*

	4 hét UNSAT	4 hét UNSAT +1 hét SAT	4 hét UNSAT+ 4 hét SAT
n	10	10	10
MDA [mmol / g (nedves szövet)]	1.61±0.44 ^a	2.13±0.41 ^{ab}	1.57±0.54 ^c

Nagy valószínűséggel a SAT zsírforrás alacsonyabb E vitamin tartalma miatt lehetett bizonyos mértékben fokozott a lipidperoxidáció (ennek következtében pedig magasabb malondialdehid koncentráció) ebben a kísérleti időpontban. A vizsgálat utolsó időpontjáig bekövetkezett kompenzáció (a kiindulási értéknél is alacsonyabb MDA koncentráció) arra utal, hogy a takarmánnyal bevitt zsírsavak e fázisban már beépültek

az izom-lipidekbe, erősen csökkentve ezzel annak telítettségét. Az eredmények arra utalnak, hogy a szöveti malondilaldehid koncentrációt a zsírsavösszetétel is befolyásolja, ugyanakkor a takarmánnyal felvett antioxidánsok is markáns hatásúak.

4.5.6. A plazma lipidek koncentráció-változásai UNSAT-SAT takarmányváltást követően

A plazma FFA koncentráció, az *ad libitum* takarmányozásnak megfelelően mindhárom mérési alkalommal igen alacsony volt (18. táblázat).

Hasonlóan a másik kezeléskombinációhoz (SAT-UNSAT), a plazma TG tartalma tendenciájában itt is a testtömeget követte, azzal párhuzamosan emelkedett. A SAT takarmányra történő átállítás mellett is csökkent a plazma **összes koleszterin** szintje, ugyanakkor ez esetben szignifikáns különbség nem volt kimutatható. *Hodson és mtsai (2001)* vizsgálata is hasonló eredményhez vezetett: vizsgálatukban a telített zsírsavkiegészítésre való áttérés nem, vagy csak enyhén befolyásolja a humán plazma összkoleszterin koncentrációját. Szignifikáns változást csak a plazma **összlipid** tartalmában idézett elő a takarmányváltás, már egy hét után határozottan emelve a koncentrációt. Ezzel analóg eredményt írt le *Takeuchi és mtsai (2001)*, amennyiben telített és telítetlen zsírsavkiegészítés mellett az előbbi csoportban magasabb plazma összlipid koncentráció volt mérhető.

18. táblázat Plazma-lipid mutatók alakulása az UNSAT-SAT takarmányváltást követően

Plazma		n	4 hét UNSAT	4 hét UNSAT +1 hét SAT	4 hét UNSAT+ 4 hét SAT	testsúly hatása
Összlipid	mg/ml	10	2.67±0.34 ^a	3.28±0.59 ^b	3.23±0.78 ^{ab}	NS
TG	mmol/l	10	0.97±0.39	1.13±0.42	1.40±0.42	NS
FFA	mmol/l	10	0.019±0.002	0.015±0.003	0.016±0.002	NS
Összkoleszterin	mmol/l	10	2.58±0.34	2.28±0.57	2.18±0.55	NS
testsúly	kg	10	1.85±0.17 ^a	1.88±0.32 ^a	2.89±0.23 ^b	-

a, b: különböző kitévők: P<0.05; NS: P>0.05

4.5.7. Prekurzor-termék zsírsavak kapcsolata a kétféle takarmányváltást követően

A szöveti zsírsavprofil igen informatív lehet akkor is, ha nemcsak egyes zsírsavakat, hanem a szintetikus folyamatokban szorosan összefüggő, prekurzor-termék párokat vizsgálunk. Ilyen esetekben gyakran fordul elő, hogy az - esetleg - esszenciális prekurzor

hiánya nem önmagában jelentkezik, hanem az a belőle képződő termék részarányában mutatkozik meg. Ilyen jellegű volt az olajsav arányváltozása is, miután az a SAT takarmányra való áttérést követően egyszerű arányemelkedést mutatott, a takarmányváltásnak megfelelően. Ezzel szemben az UNSAT takarmányra áttérés során a csökkenő olajsav bevitel nem az olajsav, hanem az “előanyag” sztearinsav arányát csökkentette. *Bourre és mtsai (1997)* eredményei is alátámasztják ezt a megfigyelést: patkányban alacsony (1,6%) és magasabb (8,6%) olajsav bevitel sem változtatta meg az izom olajsav tartalmát. A szerzők eredményeiket azzal magyarázták, hogy csupán az endogén szintézis, sztearátból, nem biztosítja a kellő olajsav-mennyiséget. Saját eredményeim alapján is az látszik, hogy a csökkenő olajsav bevitel következtében aktiválódott a $\Delta 9$ deszaturáció, ami a *13. táblázatban* is jól nyomonkövethető. A $\Delta 9$ deszaturáz becsült aktivitása (C18:1 (n-9) / C18:0) az UNSAT takarmányra történő váltással párhuzamosan emelkedett.

A linolsav-arachidonsav viszony is igen érdekesen alakult. A szöveti arachidonsav, esszencialitásánál fogva, csak exogén forrásból (linolsav vagy arachidonsav) származhat, az arachidonsav-bevitel azonban minimális volt, hiszen a takarmányok tisztán növényi eredetűek voltak (*4. melléklet*). Az UNSAT-SAT takarmányváltással erősen (felére) csökkentett linolsav-bevitel nemcsak a szöveti linolsav arányát, hanem az arachidonsavét is csökkentette. A prekursor fokozott biztosítása (SAT-UNSAT) ezzel szemben nem idézett elő változást az arachidonsav részarányában. *Alessandri és mtsai (1990)* is csökkenő linolsav koncentrációt mutattak ki szöveti lipidekben, linolsav korlátozást követően, patkányban. A fentiek alapján a zsírsavak beépülésénél az a tendencia érvényesül, hogy a prekursor relatív többlete (“overload”) nem okoz a termék-zsírsav arányában emelkedést, hiánya azonban jelentősen csökkentheti a termék mennyiségét.

A linolénsav és EPA pár is hasonló mennyiségi változásokkal jellemezhető. Az UNSAT takarmányra való áttérés (csökkentett linolénsav bevitel) az EPA részarányát is csökkentette. A fordított kezelés során, mikor a linolénsav mennyisége határozottan megemelkedett az izom lipidben csak a linolénsav arányában volt kimutatható változás (*13. táblázat*).

Összefoglalva, a takarmányváltások kapcsán izomban azok a megfigyelések voltak a legfontosabbak, melyek a prekursor-termék enzimatikus kapcsolatot nyilvánvalóan szemléltették. Érdekes módon nem a fokozott bevitel, hanem a relatív hiány kapcsán láthatók jól ezen kapcsolatok.

A zsírsavbeépülés “mechanikus” vizsgálata alapján elképzelhető, hogy a két négyhetes etetési periódus összegzett hatása azonos, azaz a SAT-UNSAT és a fordított kezeléskombináció a 8. hét végére nem okoz különbségeket az izom zsírsavösszetételében. A gyakorlatban ez majdnem igazolható volt: a 8. heti adatok csak

a palmitinsav és a linolsav esetében különböztek (13. táblázat). A két takarmány e zsírsavak arányában mutatta a legnagyobb különbségeket. Mindezek arra utalnak, hogy az izom zsírsavösszetétele viszonylag rövid időn belül erősen befolyásolható, ezek a változások pedig reverzibilisek.

A plazma lipidek takarmányozással való módosításában leglényegesebbnek a koleszterinszint csökkenése tekinthető. Emellett a telített zsírforrás összlipid szintet növelő hatása tekinthető még jelentősnek; mindkét lipidfrakció igen jelentős humán egészségügyi szempontból is.

5. Következtetések, javaslatok

Az izom lipidjeinek összetétele mind élettani, mind táplálkozási szempontból fontos jellemző. A disszertációban foglalt kísérletsorozat arra irányult, hogy e tulajdonság módosítási lehetőségeit tárja fel. Célunk volt ugyanakkor az alkalmazott kezelések általánosabb, metabolikus hatásainak elemzése is. Az alkalmazott terheléses vizsgálatok esetében fontos hangsúlyozni, hogy modell-kísérleteket végeztünk.

A **rendszeres, alacsony intenzitású fizikai** terhelés izom-lipidekre gyakorolt hatása elsősorban alkalmazott sportélettani vizsgálatok nyomán ismert. E tekintetben a nyúl megfelelő modell-állatnak tűnik, tekintettel a korábbi vizsgálatok (pl. patkány, ember) és a jelen nyúl-kísérletek eredményeinek jelentős hasonlóságára. Mind az izom **teljes lipidtartalma**, mind pedig a **frakcionált izom-lipidek** esetében a saját kísérletekben indukált változások más emlős fajokon leírt eredményekkel összevethetőnek bizonyultak. Eredményeinkből kitűnik, hogy a telített és a monén zsírsavak arányváltozásai elsősorban a TG frakcióra jellemzők, míg a polién zsírsavak főleg a PL frakcióra utalnak. A rendkívül kézimunka- és költségigényes szelektív analízisek eredményei tehát első közelítésben egyszerűbb, ugyanakkor még mindig nagyműszeres módszerekkel (kapilláris gázkromatográfia) bizonyos mértékben mintegy “előrejelezhető”.

Az **elektromos miostimuláció** hatásainak viszonylag részletes elemzését főképp annak számos területen történő alkalmazása indokolta. A külsőleg indukált kontrakciók izomra gyakorolt hatásai mellett a szervezetszintű adaptáció a szérum-mérések segítségével nyomomonkövethetőnek bizonyult. A rendszeres miostimulációt ezek alapján úgy értelmeztük, mint a rendszeres tréning egy sajátos formáját. Mind a teljes lipidtartalom, mind pedig a frakcionált lipidek elemzése arra utal, hogy a rendszeres miostimuláció a treadmill gyakorlathoz hasonló, ugyanakkor annál intenzívebb hatást gyakorol az izom-lipidekre. Ezek közül különösen a struktúrális lipidek összetétel-változásai voltak kifejezettek, ami közvetlenül utal a TG és a PL frakciók zsírsav-anyagforgalmában fennálló jelentős eltérésekre.

Amennyiben a fizikai terhelés általunk alkalmazott két formáját **takarmányozási kezeléssel** is kombináljuk, úgy egyértelműen erősebb takarmány-hatással kell számolni. A telített, illetve telítetlen zsírsavak etetése olyan markáns hatású a vázizmok teljes lipidtartalmából meghatározott zsírsavprofiljára, hogy a treadmill terhelés hatása gyakorlatilag nem volt kimutatható.

A **terheléses metodika és a takarmányozás együttes alkalmazása** során figyelembe kell venni, hogy a hidrogénezett növényi olaj etetése nyomán nagy valószínűséggel transz konfigurációjú kettős kötést tartalmazó zsírsavak bevitele is előfordul. Amennyiben *Privett és mtsai (1977)* korai eredményeire hagyatkozunk e tekintetben,

úgy el kell fogadnunk, hogy a transz zsírsavak intermedier anyagcseréje bizonyos mértékben gátolt, bár azok beépülése a szöveti lipidekbe igen hatékony.

Fontosnak tartjuk a terheléses vizsgálatok során a **stressz-faktor** lehetőség szerinti csökkentését, ami patkányban bizonyítottan befolyásolja pl. a szívizom PL zsírsavprofilját (*Emilsson és Gudbjarnason, 1981*). Saját kísérleteink során a treadmill és a miostimulációs vizsgálatokat elemeztük ilyen aspektusból (szérum kortizol koncentráció meghatározás). Az eredmények alapján úgy ítéljük meg, az alkalmazott terheléses metodikák nem okoztak jelentősebb stresszt. Ennek megfelelően mind a szöveti lipidek összetétel-változásai, mind pedig a CK és LDH aktivitásváltozások egyértelműen a tréningnek tulajdoníthatók.

A lipidek összetételével szoros kapcsolatban álló **oxidatív stabilitás** elemzése arra hívja fel a figyelmet, hogy a tréning jelentősebben képes emelni az antioxidáns kapacitást. E mutatók értelmezése során kiemelt figyelmet érdemelnek a takarmány útján felvett antioxidatív hatású szubsztrátok (E vitamin). A fokozott oxidatív stabilitás valószínű az oxidatív terhelés következményeképpen alakult ki.

A **takarmányozási kísérlet (4.5.)** során figyelembe kellett vennünk, hogy Európa számos országában a növényevők nem fogyaszthatnak állati eredetű takarmánykomponenseket. Saját kísérletünk szempontjából ennek előnye is volt: miután az arachidonsav növényekben nem kimutatható, így későbbi kísérletünkben, növényi olaj etetése mellett jól jellemezhető volt a szöveti linolsav-arachidonsav viszony. Miután csak a prekursor zsírsav bevitelével kellett számolnunk, így az arachidonsav csak e forrásból származhatott.

A takarmányozási kísérletekben figyelembe kell venni, hogy a **takarmány** pontos, akár mikrokomponens szintű **összetételének** ismerete sem nélkülözhető. A takarmány zsírsavgarnitúrájának meghatározása megmutatja, volt-e esetleges állati eredetű összetevő a takarmányban. Az arachidonsav jelenléte informatív lehet e tekintetben. Ugyankor az oxidatív stabilitás kapcsán a takarmányokban alkalmazott zsírforrások E vitamin tartalma sokkal erősebben befolyásolta az izmok oxidatív stabilitásra utaló tulajdonságait. Miután a takarmánnyal felvett antioxidánsok gyakorlatilag elfedték a bevitt zsírsavak "tisztá" hatásait, úgy tűnik, a következő kísérletekben erre fokozottan kell ügyelni.

A fentiek alapján megállapítható, hogy az alkalmazott analitikai módszerek és kísérleti beállítások megfelelőek a célkitűzésben megjelöltek érdemi vizsgálatára.

6. Új tudományos eredmények

1. A kísérleti eredmények megmutatták, hogy az eltérő intenzitású fizikai terhelések során az egyes lipidfrakciók zsírsavai hogyan vesznek részt az izomszövet energia ellátásában, illetve az eltérő intenzitású izomműködés során az izomban a lipidstruktúrák hogyan alakulnak.
2. Nyúlban rendszeres aerob tréning hatására megváltozott az oleát, a sztearát és az arachidonát aránya a *m. longissimus dorsi* és a *m. vastus lateralis* homogenizátum zsírsav összetételében.
3. A *m. quadriceps femoris* foszfolipidjeiben négyhetes aerob tréninget követően csökkent a γ -linolénsav aránya, az n-6 / n-3 zsírsavak aránya és a telítetlenségi index.
4. A *m. longissimus dorsi* membránlipidjeiben rendszeres elektromos stimulációt követően csökkent a linolsav és az α -linolénsav, emelkedett az eikosaénsav, az arachidonsav, az EPA és a DHA, ellentétesen változott a palmitát-palmitoleát aránya, illetve nőtt a $\Delta 5$ deszaturáz aktivitás és a telítetlenség.
5. Rendszeres aerob tréning és erősen lokalizált izommunka eredményeként bizonyításra került nyúlban a zsírsavak oxidációjának szelektivitása.

7. Összefoglalás

Az izmok zsírsavösszetétele mind az izomélettani tulajdonságokat, mind pedig a hús táplálkozásélettani értékét jelentősen befolyásolja. A vázizmok zsírsavprofilja ugyanakkor jelentős különbségeket mutat például fajok vagy akár egyes izomcsoportok között is. Kísérletes munkánkban célul tűztük ki különböző vázizmok zsírsav összetétel módosítási lehetőségeinek vizsgálatát. Vizsgálatainkat nyúl modellen végeztük. Első közelítésben a vázizmok komplex lipidjeinek, majd pedig frakcionált foszfolipidek, illetve trigliceridek zsírsavösszetételén kívántuk vizsgálni a rendszeres tréning ilyen irányú hatásait. Ezen kísérletek jelentősége részben abban áll, hogy a nyúl, mint emlős modell alkalmazásával elért eredmények jelentősen hasonlítanak az egyéb emlős fajok esetében leírtakhoz, másrészt e faj vázizomzata kiemelkedően magas arányban tartalmaz telítetlen zsírsavakat. A szöveti lipidek anyagcseréje igen szorosan összefügg a plazma lipidekkel. Ennek megfelelően vizsgálatainkat a vér lipidfrakcióinak elemzésével is kiegészítettük, ezáltal a zsíryanycseréről bizonyos értelemben komplex képet alkothattunk.

A disszertáció témakörében elvégzett kísérletek módszertani szempontból három részre tagolódnak, bár egy közös cél, a vázizomzat lipidjeinek összetétele, illetve annak módosíthatósága köré csoportosulnak. Ennek érdekében kétfajta terheléses metodikát, illetve különböző zsírsavkiegészítésű kísérleti takarmányok hatásait elemeztük. Az aerob és anaerob (elektromos stimuláció) fizikai terhelés vázizom lipidjeire gyakorolt hatásai csak részben ismertek. E tekintetben ugyanakkor az általunk is alkalmazott rendszeres, alacsony intenzitású terhelés hatásai a legjelentősebbek.

A kísérleti munka során kapott eredményeket a fentiek alapján a három fő kísérletes iránynak megfelelően foglaltuk össze.

7.1. Treadmill terheléses vizsgálatok

Az aerob tréning kezelést minden kísérletben négyhetes kezdő életkortól négy héten át végeztük, Pannon fehér baknyulakon. A vizsgálatok célja a rendszeres terhelés hatásának jellemzése volt, ennek megfelelően napi két alkalommal végeztünk treadmill kezelést, majd az utolsó alkalmat követően egy nappal az állatokat próbavágtuk. Első beállításban a m.l.d. és a m.v.l. teljes izomhomogenizátumából határoztuk meg a zsírsavösszetételt, gázkromatográfia segítségével, majd pedig a m.q.f. vörös fejéből a PL és TG frakciók szelektív zsírsav-elemzése történt meg.

A treadmill terheléses kísérletek alapján megállapítható, hogy a m.l.d. és a m.v.l. a terhelésre a **zsírsavösszetétel** tekintetében azonos tendenciájú "reakciót" mutatott, amennyiben minden arányváltozás, izomtípustól függetlenül egyező irányú volt

(sztearát, oleát és arachidonsav). Ez még akkor is igaz volt, ha az arányváltozás nem érte el a statisztikailag igazolható szintet (m.l.d.-ban oleát és arachidonát). Ebben valószínűleg az is szerepet játszott, hogy a két vizsgált izom viszonylag magas arányban tartalmaz fehér rostokat. *Andersson és mtsai (1998)* megfigyelései arra utalnak, hogy az egyes zsírsavak anyagforgalmában bekövetkező változások sem a takarmánnyal bevitt zsírsavaktól, sem az izomtípustól (anyagcseretípus, rostösszetétel) nem függenek. Jelen eredmények ismeretében annyi kiegészítést érdemes tenni, hogy a terhelésnek való kitettség, illetve az egyes izmok bizonyosan eltérő lipolitikus aktivitása ugyanazon zsírsavak esetében kifejezettebb aránymódosulásokat idézhet elő. Ezt a m.v.l.-ban igazolt három eset bizonyítja, míg a m.l.d.-ban csak egy zsírsavban (olajsav) volt igazolható arányváltozás.

A zsírsavösszetétel módosulásainak pontosabb jellemzésére a következő beállításban a membrán lipidjeinek elkülönített vizsgálata is indokoltnak tűnt. A m.q.f. **foszfolipid frakció**jának zsírsavprofiljában markáns arányemelkedést tapasztaltunk a γ -linolénsav és az eikozénsav esetében. Bár a hasonló vizsgálatok (*Andersson és mtsai, 1998; Helge és mtsai, 2001*) eredményeiben az összes n-6 zsírsav aránya jelentősen lecsökkent a tréning következtében, a nyulakban csak az n-6 / n-3 arány csökkent erősebben. A tréning a foszfolipidekben elsősorban a többszörösen telítetlen zsírsavak arányát befolyásolta: az összes polién zsírsav részaránya csökkenő tendenciát mutatott, ami a telítetlenségi index csökkenésében is jelentkezett. A membránlipidekkel ellentétben ugyanazon izom **triglicerid frakció**jában csak az arachinsav és a nervonsav mutatott igazolható szintű változást. Bár sem az egyes zsírsavak, sem pedig a zsírsavcsoportok, illetve az ezekből képzett indexek nem mutattak erős eltéréseket a kontroll és a kezelt csoportok között, a változások iránya (tendenciák) megegyező volt a szakirodalmi adatokkal. Valószínű, hogy a nyúl terheléses modell teljesítménye jóval alacsonyabb a többi emlősénél.

A terheléses vizsgálat során a **szérumból** történt sorozatos mérések alapján szervezet-szintű adaptációra utalt a LDH aktivitásának csökkenése a terhelésnek kitett nyulakban. Bár a tréning intenzitása alapján egyértelműen az alacsony kategóriába sorolható, úgy tűnik, a hetekig tartó kezelés hatása e téren is kimutatható. A metabolitok közül a szabad zsírsavakat szállító albumin, a fokozott izommunkát tükröző kreatinin, valamint a triglicerid mutatott igazolhatóan magasabb koncentrációt a terhelt csoportban. Ezzel szemben sem a testtömeg, sem a takarmányfogyasztás nem tért el jelentősen a kontroll csoporttól. Az aerob terhelés olyan szintű volt, ami a vörösvértest membránjában nem idézett elő mérhető módosulást. Ugyanakkor a szérum albumin magasabb koncentrációja, valamint az alacsonyabb nyugalmi szérum szabad zsírsav koncentráció egyértelműen utal az oxidatív anyagcsere fokozódására. Megállapítható, hogy a rendszeres, relatív alacsony intenzitású aerob tréning olyan adaptációs folyamattal jellemezhető, mely a szérum metabolitok nyugalmi koncentráció-változásával jár. A változások csökkenő szénhidrát felhasználásra és fokozódó zsírsav oxidációra utalnak.

Mindemellett az enzimatis reakció (ALP, CK) viszonylag csekély volt, bár tendenciáját tekintve ugyanezen változást támasztotta alá. A kontroll és a kezelt csoport nyugalmi szérumban kortizol szintje nem különbözött igazolható mértékben, ami arra utal, hogy a fent említett változások főleg a terhelés hatásainak tulajdoníthatók, nem pedig additív stressznek.

7.2. Elektromos stimulációs vizsgálatok

A rendszeres treadmill gyakorlatot követően nagyobb intenzitású fizikai munkavégzést kívántam kiváltani, melyre a külsőleg indukált elektromos stimulációt alkalmaztam. Itt is a treadmill gyakorlatban ismertetett beállításokat követtem, a kezelést azonban csak a m.l.d. ágyéki szakaszán végeztem, naponta 2x20 percig. A kezelt nyulakból a nyolchetes korban végzett próbavágást követően vettünk izommintákat. Ezekből első közelítésben a komplex lipidek zsírsavösszetételét, majd pedig a PL és TG frakciók zsírsavprofilját határoztam meg. A komplex lipidek vizsgálata esetében az elektromos kezelés mellett telített és telítetlen zsírsavkiegészítésű takarmányokat etettünk. A második, frakcionált lipideket elemző vizsgálatban heti vérvételeket végeztünk, mely által a rendszeres kezeléshez történő adaptációs folyamatot kívántuk jellemezni.

A m.l.d. izomstimulációs vizsgálatok eredményei szerint az erősen lokalizált elektromos kezelés elsődlegesen anaerob jellegű anyagcserével jellemezhető. Jelentősen telítetlen zsírsavösszetételű takarmány etetése mellett igen komoly arányváltozásokat írtunk le a **komplex lipidekből** meghatározott zsírsavprofilban. A tapasztalt módosulások irodalmi adatokkal összevetve krónikus terheléses beállításra jellemzőek, bár krónikus miostimuláció izom-zsírsavprofilra gyakorolt hatásait eddig csak *in vitro* vizsgálatokban elemezték. Ezzel szemben amikor a takarmányeredetű zsírsavak között nagyobb arányban szerepeltek telített, illetve nagy valószínűséggel transz kettős kötésekkel is rendelkezők, ez egyfajta atipikus intermedier anyagcserét idézett elő. Az elektromos stimuláció és a takarmányok zsírsavösszetételének erős módosítása olyan együttes hatásokat váltott ki, melyek több esetben nehezen magyarázhatók (pl. sztearát és oleát együttes aránycsökkenése). Úgy tűnik, a hidrogénezett növényi olaj zsírsavösszetétele további vizsgálatokat igényel, különös tekintettel a sztereoizomerekre. Bár irodalmi adatok arra utalnak, hogy a transz zsírsavak anyagcseréje azonos a telített zsírsavakéval, jelen kísérletek alapján valószínű, hogy a transz formájú zsírsavak a szintetikus folyamatokat képesek blokkolni, azaz mint prekursor zsírsavak kevésbé funkcionálnak.

A m.l.d. **foszfolipid** frakciójában eltérő irányú palmitát-palmitoleát arányváltozást, valamint linolsav és γ -linolénsav aránycsökkenését tapasztaltunk rendszeres elektromos stimulációt követően. Érdekes módon a kezelés következtében a C20 zsírsavak közül különösen a többszörösen telítetlenek (arachidonsav, EPA, DHA) aránynövekedése tapasztalható, valószínű, erre vezethető vissza a telítetlenségi index határozott emelkedése is. Emellett a $\Delta 5$ deszaturáz becsült aktivitása is emelkedett. A kezelés tehát

egyértelműen a membrán telítettségének fokozódásához vezetett.

A **triglicerid** frakcióban csak telített vagy monoén zsírsavak esetében tapasztalható arányváltozás a rendszeres terhelés következményeképpen. Figyelemre méltó módon az IMTG zsírsavösszetételében leírt változások egyező tendenciájúak a más emlősökben plazma szabad zsírsav arányokban leírtakkal, ami arra utal, hogy az IMTG-ből történő mobilizáció során az adiposa szövettel megegyező zsírsavspecifitás állhat fenn.

A teljes izomhomogenizátumból meghatározott **MDA** eredmények, melyek peroxidációs folyamatokra, illetve az antioxidáns tulajdonságokra utalnak, valószínűleg erősen torzítottak voltak, a takarmányok E vitamin tartalma ugyanis jelentősen különbözött (SAT: 50 mg/kg vs. UNSAT: 700 mg/kg).

A **szérum metabolitok** eredményei arra utalnak, hogy a TENS kezelés bár erősen lokalizált, az általános aerob treadmill tréninghez hasonló reakciót vált ki. Ez elsősorban a szérum albumin és a triglicerid eredmények alapján látható; mindez ugyanakkor arra utal, hogy jelentősebb arányváltozás valósult meg az energiaadó szubsztrátok sorrendjében. A kreatinin koncentrációja egy mérési időpont kivételével minden alkalommal kissé magasabb volt a kezelt csoportban, ugyanakkor ez nem volt statisztikailag igazolható. Az enzimatis "válasz" a metabolitok esetében tapasztaltakkal ellentétben viszonylag kis mértékű volt. Érdekes módon a CK, mint jellegzetesen szöveti enzim aktivitása nem volt bizonyíthatóan magasabb a kezelés kapcsán, ami valószínűsíti, hogy nem történt jelentősebb membrán sérülés. A LDH aktivitása a treadmill kezeléssel azonos módon a rendszeres terhelésnek kitett nyulakban volt jelentősen alacsonyabb. Végző soron a fent említett koncentráció- és aktivitásváltozások arra utalnak, hogy a triglicerid és szabad zsírsav frakciók még erősen lokalizált, külsőleg indukált izommunka esetén is előtérbe kerülnek mint energiaadó szubsztrátok. Az adaptáció ugyanakkor inkább a szérum metabolitok, mintsem a vizsgált enzimek által jellemezhető jól.

7.3. Takarmány-zsírsav vizsgálatok

A takarmányeredetű zsírsavak be- és átépülésének vizsgálatára jelentősen telítetlen (UNSAT), illetve erősen telített (SAT) zsírsavösszetételű kísérleti takarmányokat ettünk. 30 Pannon fehér baknyúl 4 hétig UNSAT takarmányt fogyasztott, majd SAT takarmányra váltottunk. A takarmányváltáskor, illetve 1 és 4 héttel később vettünk m.l.d. és plazma mintákat, a zsírsavak, illetve a plazmametabolitok elemzése céljából. A SAT-UNSAT fordított protokollt azonos módon kiviteleztük.

A teljes m.l.d. homogenizátumból extrahált **komplex lipidek zsírsavösszetétele** igen hatékonyan módosítható volt olyan takarmányokkal, melyek zsírsavprofilja erősen

eltérő telítettségű. Növendék nyulakban ez négy hét alatt statisztikailag igazolható mértékben megvalósítható. A telített vagy telítetlen zsírsavakkal “prekondicionált” nyulakban a takarmányváltást követő időszakban erős zsírsav átépülés (“remodeling”) zajlott. Ebben a periódusban számos zsírsav esetében a beépülési kinetika lineáris modellel jellemezhető, melyet az olajsav esetében az adiposa szövetben is leírtak *Fontanillas és mtsai (1998)*, sertésben. A dokozadiénsav jellemzően nem “követte” a takarmányváltással indukált tendenciát, hanem ennek ellenkezőjét állapítottuk meg. A prekursor-termék zsírsavpárok kapcsolt elemzése (illetve a számított enzim aktivitás mutatók) egyértelműen jelezték az emlős zsírsav szintézis folyamatait. A sztearát-oleát, linolsav-arachidonsav és a linolénsav-EPA párok eredményei alapján úgy tűnik, a prekursorok relatív többlete (“dietary overload”) nem okozza a termék arányának növekedését. Ugyanakkor a prekursor viszonylagos hiánya érzékenyen tükröződik a termék-zsírsav arányában. A sztearát-oleát pár esetében, ahol közvetlen az enzimatikus kapcsolat, a $\Delta 9$ deszaturáz aktivitásának fokozódása jelezte az oleát endogén szintézisének aktiválódását.

A **plazma** összlipid tartalma korfüggő koncentráció-növekedést mutatott mindkét kezeléskombinációban, ami a plazma triglicerid esetében is megállapítható volt. Előbbi mutató, valamint a plazma összkoleszterin esetében közel-szignifikáns testsúly-hatás volt tapasztalható. Az összkoleszterin koncentrációt a telítetlen takarmányra történő áttérés szignifikánsan, de csak ideiglenesen csökkentette.

Megítélésünk szerint a fizikai terhelés, az elektromos stimuláció, valamint az alkalmazott takarmányozási kezelések eredményeképpen leírt összefüggések új adatokat szolgáltatnak a tágabb értelemben vett húsminőség *in vivo* befolyásolhatóságához. A disszertáció összeállítása során a szerzőben új igényként fogalmazódott meg az alkalmazott biokémiai jellegű közelítések, módszerek integrálása, a húsminőséggel kapcsolatos vizsgálatokba.

8. Summary

The fatty acid composition of skeletal muscles does basically influence both physiological properties and the nutritional value of meat. However, muscular fatty acid profile shows strong interspecific differences and also between divergent muscle groups. The present experimental work was aimed to investigate the modification possibilities of the fat fractions of different skeletal muscles. The experiments were carried out on a rabbit model. In the first approach the complex lipids, while latter fractionated phospholipids and triglycerides were analysed to detect possible effects of regular training. The impact of these trials is partly that the rabbit model shows highly similar reactions to those of other mammalian species. On the other hand, the unsaturated fatty acid content of the rabbit muscle is extraordinarily high. The metabolism of tissue lipids is strongly connected to that of the plasma lipids. Accordingly, trials were complemented with the investigation of plasma lipids, to obtain a more complex view of the fat metabolism.

Experiments carried out in the field of the current work can basically subordinated into three main parts. The common goal of all these was to examine the possibilities of the qualitative modification of a highly important product of animal origin, meat. In order to fulfill this, two exercise protocols and experimental diets with different fat supplementations were applied. The effects of aerobic and anaerobic (electrical stimulation) training on the skeletal muscle fats are less known. However, in this regard the effects of regular moderate exercise are pronounced.

Results obtained for the experimental work were summarized according the three main investigation types described above.

8.1. Treadmill exercise investigations

Aerobic physical load was performed on Pannon White male rabbits from the age of four weeks, in four-week trial periods. The main purpose of these investigations was to characterize the effects of regular physical load, accordingly, treadmill treatments were carried out twice a day, while experimental slaughtering was performed a day after the last exercise session. In the first experiment the fatty acid composition of total m.l.d. and m.v.l. muscle homogenizates was determined, while in the following work the fractionated PL and TG - originating from the red m.q.f. - were analysed for fatty acid profile.

Based on the treadmill exercise experiments it can be stated that both m.l.d. and m.v.l. **fatty acid profile** showed similar responses to the regular load. This specific reaction, i.e. the proportional modification of different fatty acids (stearate, oleate and arachidonate) was found to be qualitatively independent of muscle type, since changes

generally agreed in the two muscles. Tendencies were even true in cases when changes did not reach the statistically significant level (oleate and arachidonate in m.l.d.). The two muscles investigated possess relatively high amount of white glycolytic fibres, which may have also affect the above-mentioned, in part only slight alterations. *Andersson et al. (1998)* characterized proportional changes of different muscle fatty acids; these modifications were found to be irrespective both of the muscle fiber type and also of the dietary fatty acid profile, in regularly trained humans. On the basis of the current results it can be added that the exposure to the load and the divergent fibre type distribution of different skeletal muscles induce alterations of differing severity, however, still in the proportion of identical fatty acids. This was supported by the three proven fatty acid proportional modifications in the m.v.l., while only one case (oleic acid) was found in the m.l.d.

For the more detailed investigation of the modifications of the muscular fatty acid profile in the following experimental setting the selective analysis of fractionated membrane lipids was also challenging. Marked proportional increases were described in the γ -linoleic and eicosenoic acids due to regular exercise, in the **PL fraction** of the red m.q.f. Though in related investigations (*Andersson et al., 1998; Helge et al., 2001*) the total proportion of n-6 fatty acids strongly decreased, in the rabbits only the total n-3/n-6 proportion decreased measurably. Training mainly affected the proportions of highly unsaturated fatty acids: the sum of polyenoic fatty acids tended to decrease, which was also reflected in the unsaturation index. On the contrary, in the **triglycerides** of the identical muscle only arachidic and nervonic acids were significantly affected by the regular load. Though neither individual fatty acids, nor fatty acid groups or indices calculated from those showed significant changes, tendencies were in general agreement with those in the respective literature. In the background of these the relatively low activity of the applied rabbit model may stand.

Along the exercise experiment general adaptation was detected in the trained rabbits, which was, at least in part, based on the lower LDH activity in the trained group. Though the training intensity could clearly be characterized as low, the effects of it seem to be detectable in a long-term trial. From the metabolites albumin, the transport molecule of free fatty acids, creatinine, referring to active muscle work and serum triglyceride concentration were provable higher in the loaded group. In contrast, neither body weight, nor feed intake was different between the treated and control groups. The intensity level reached during the aerobic exercise did not influence the fatty acid profile of erythrocyte membrane. However, the higher serum albumin concentration and the lower resting free fatty acid levels indicate a more intensive oxidative metabolism. The applied regular aerobic training of low intensity could effectively be characterized with the changes of the resting serum metabolite levels. These mainly refer to suppressed carbohydrate utilization and increased fatty acid oxidation. In contrast, enzymatic reaction (ALP, CK) remained quite low, though its tendencies also indicate the above-mentioned processes.

The resting serum cortisol concentration of the treated and control groups was not different, suggesting that the above modifications were not induced by additive stress, but mainly by the regular training.

8.2. Investigations on electrical miostimulation

In order to reach a higher level of physical load than that of the treadmill exercise, exogenously induced miostimulation was performed. Trial settings were analogous with those of the treadmill experiment, however, this treatment was merely located on the lumbar region of the m.l.d. The duration of the stimulation was 2x20 minutes a day, muscle samples were taken after experimental slaughtering at the age of eight weeks. In the first approach the fatty acid composition of complex lipids was determined, while later that of fractionated PL and TG fractions also. In the trial on complex muscle lipids two experimental diets were fed (saturated and unsaturated fatty acid complementation). During the trial analysing fractionated lipids blood samples were taken weekly, for the characterization of the adaptation to the regular muscle load.

Electrical miostimulation in its strongly localized manner could primarily be characterized with anaerobic metabolism. Numerous proportional alterations were described in the m.l.d. **complex lipid** fatty acid profile when the electrical treatment was administered together with a highly unsaturated diet. Comparing these to those in the literature, similarities were found, however, the effects of this treatment on the muscle fatty acid profile was only analyzed before in *in vitro* trials. Interestingly, feeding more saturated fatty acids, probably also containing trans double bounds, atypical intermediate metabolism was experienced. The joint effects of regular miostimulation and the strongly modified dietary fatty acid composition exerted in some cases changes that are hard to explain (e.g. decreasing proportion of both stearic and oleic acids). On this basis hydrogenated vegetable oil needs further investigations, with special attention on trans stereoisomers. Though literature data suggest strong similarities between the metabolism of saturated and trans fatty acids, according to our current results trans fatty acids seem to block fatty acid synthetic pathways effectively, meaning that these are less valuable as precursors for further fatty acids.

In the m.l.d. **phospholipid** fraction inverse proportional changes were detected by palmitic and palmitoleic acids, due to the regular miostimulation. Furthermore, the linoleic and γ -linolenic acid proportions decreased. Interestingly, as an effect of the treatment, mainly the fatty acids over the carbon chain length of 20 were increased, especially those of high unsaturation (arachidonic acid, EPA, DHA). This may also stand behind the marked elevation of the unsaturation index. The electrical treatment, therefore, unequivocally increased the membrane-lipid unsaturation.

In the **triglyceride** fraction only saturated or monoenoic fatty acids were affected by the miostimulation. Tendencies described in the m.l.d. triglyceride fatty acid profile show general agreement with those in the plasma FFA of other mammalian species (e.g. rat, dog), referring to a specific order in the TG fatty acids' mobilization, either from adiposa or from intramuscular TG.

The concentration of **malondialdehyde**, a substance indicating the tissue peroxidation, may be strongly biased as determined from whole muscle homogenates. This may be caused by the strongly different vitamin E content of the added fat sources of the diets (SAT: 50 mg/kg vs. UNSAT: 700 mg/kg).

According the results obtained from the repeated **serum** measurements the electrical stimulation seems to have similar metabolic consequences as the treadmill procedure, in spite it is strongly localized. This is primarily based on the serum albumin and triglyceride results; however, this suggests a change in the substrate order. The creatinine concentration tended to be higher in the treated group except one sampling, though without statistical significance. The enzymatic response to this treatment type was less pronounced than that experienced by the metabolites. Interestingly, no difference was detected by CK, a typical tissue enzyme, supporting that no membrane damage occurred as a consequence of the stimulation. In the treated group markedly lower LDH activity was described, similarly to the treadmill-exercised rabbits. On the basis of the above concentration and activity changes it can be concluded that free fatty acids and serum triglycerides are preferred oxidizable substrates even in case of exogenously induced muscle contractions. This adaptation can, however, be more effectively be characterized taking the serum metabolites into account and not the serum enzymes.

8.3. Experiments on dietary fatty acids

For the investigation of the incorporation and washout of dietary fatty acids, diets of strongly unsaturated (UNSAT) or saturated (SAT) fatty acid composition were fed, in a consecutive manner. 30 Pannon White male rabbits were fed UNSAT diet for four weeks, which was then changed to SAT. At the timepoint of the feed change, moreover, 1 and 4 weeks after it m.l.d muscle and plasma samples were taken, for the analysis of the muscle fatty acids and plasma metabolites, respectively. The SAT-UNSAT protocol was analogously carried out.

The fatty acid profile of **complex lipids** extracted from whole m.l.d. homogenizates could effectively be modified feeding diets of highly differing unsaturation. In growing rabbits this could be reached within a four-week feeding period on a statistically provable level. In the rabbits preconditionated with either saturated or unsaturated fatty acid feeding a strong "remodeling" took place following the feed change. In case of

different fatty acids the incorporation process could be characterized with linear kinetics; identical results were published by *Fontanillas et al. (1998)* in porcine adiposa tissue. Docosadienoic acid, however, did not exactly follow the change of the diet, a change in the opposite direction was measured. The joint investigation of precursor-product fatty acids (and the estimated desaturase activities) clearly indicated the fatty acid synthetic pathways of mammals. Investigation of the stearate-oleate, linoleate-arachidonate and linolenate-EPA pairs indicate that the relative overload of a precursor fatty acid does not increase the proportion of the product fatty acid. In contrast, the relative lack of a precursor is sensitively reflected in the product proportion. By the stearate-oleate pair the increasing estimated $\Delta 9$ desaturase activity suggested the activated endogenous oleate synthesis.

Plasma total lipid concentration showed a likely age-associated increase in both treatments, as well as plasma triglyceride. By total lipid and total plasma cholesterol near significant bodyweight effects were found. Moreover, the total cholesterol level was strongly, but only temporarily decreased by the change to the unsaturated diet.

In our opinion, results arising from the trials on physical load, electrical miostimulation and the applied feeding protocols may provide new data to get influence on meat quality, as interpreted in a relatively wide manner.

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni **Dr. Romvári Róbert** docens úrnak, a Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet igazgatóhelyettesének, aki témavezetőként a kísérletek elvégzése és a disszertáció megírása közben folyamatosan támogatott.

Köszönettel tartozom **Dr. Horn Péter** akadémikus úrnak, a Doktori Iskola vezetőjének, munkám során nyújtott segítségéért, illetve a kísérleti feltételek biztosításáért.

Köszönetemet fejezem ki **Dr. Repa Imre** egyetemi tanár úrnak, a Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet vezetőjének, illetve **Dr. Bogner Péter** igazgatóhelyettes úrnak, a nappali Ph.D. képzés időszakában nyújtott támogatásért.

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni **Dr. Szendrő Zsolt** egyetemi tanár úrnak, a Kisállattenyésztési Tanszék vezetőjének, **Dr. Fébel Hedvignek**, az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet főszálya vezetőjének és **Dr. Mézes Miklós** professzor úrnak, a Szent István Egyetem, Gödöllői Mezőgazdaságtudományi Kar, Takarmányozástani Tanszék vezetőjének, önzetlen szakmai segítségükért. Köszönettel tartozom **Antonella Dalle Zottenak**, a Padovai Egyetem munkatársának, jelentős segítségéért.

Dr. Claude Leray (Inserm, Strasbourg) lipidfrakcionálásban nyújtott nélkülözhetetlen segítségét szeretném ezúton is megköszönni.

Hálával tartozom **Családomnak**, türelmükért és folyamatos támogatásukért.

10. Irodalomjegyzék

1. Alessandri, J.M., Arfi, T.S., Thevenoux, J., Leger C.L. (1990): Diet-induced alterations of lipids during cell differentiation in the small intestine of growing rats: effect of an essential fatty acid deficiency. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 10:504-515.
2. Andersson, A., Sjodin, A., Olsson, R., Vessby, B. (1998): Effects of physical exercise on phospholipid fatty acid composition in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 274:432-438.
3. Andersson, A., Sjodin, A., Hedman, A., Olsson, R., Vessby, B. (2000): Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipids in trained and untrained young men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279:744-751.
4. Andrews, F.M., Geiser, D.R., White, S.L., Williamson, L.H., Maykuth, P.L., Green, E.M. (1995): Haematological and biochemical changes in horses competing in a 3 Star horse trial and 3-day-event. *Equine. Vet. J. Suppl.*, (20):57-63.
5. de Antueno, R.J., Cantrill, R.C., Huang, Y.S., Elliot, M., Horrobin, D.F. (1993): Relationship between mouse liver delta 9 desaturase activity and plasma lipids. *Lipids.*28(4):285-290.
6. Apple, F.S., Rogers, M.A. (1986): Skeletal muscle lactate dehydrogenase isozyme alterations in men and women marathon runners. *J. Appl. Physiol.* 61(2):477-481.
7. Armstrong, M.K., Blake, W.L., Clarke, S.D. (1991): Arachidonic acid suppression of fatty acid synthase gene expression in cultured rat hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 177(3): 1056-1061.
8. Arner, P. (1997): Regional adiposity in man. *J. Endocrinol.*, 155:191-192.
9. Ashizawa, N., Ouchi, G., Fujimura, R., Yoshida, Y., Tokuyama, K., Suzuki, M. (1998): Effects of a single bout of resistance exercise on calcium and bone metabolism in untrained young males. *Calcif. Tissue Int.* 62(2):104-108.
10. Ayre, K.J., Phinney, S.D., Tang, A.B., Stern, J.S. (1998): Exercise training reduces skeletal muscle membrane arachidonate in the obese (fa/fa) Zucker rat. *J. Appl. Physiol.* 85(5):1898-1902.
11. Balazy, M. (2000): Trans-arachidonic acids: new mediators of inflammation. *J. Physiol. Pharmacol.* 51(4):597-607.
12. Baldwin, K.M., Fitts, R.H., Booth, F.W., Winder, W.W., Holloszy, J.O. (1975): Depletion of muscle and liver glycogen during exercise. Protective effect of training. *Pflugers Arch.*, 354(3):203-212.
13. Barclay, J.K., Stainsby, W.N. (1972): Intramuscular lipid store utilization by contracting dog skeletal muscle in situ. *Am. J. Physiol.*, 223(1):115-119.
14. Barinaga, M. (2001): Circadian rhythms: A Time to rest: Clock signal identified., *Science.* 294:2453-2454.
15. Boden, G., Cheung, P., Stein, T.P., Kresge, K., Mozzoli, M. (2002): FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283(1):12-19.
16. Borgström, B. (1985): The micellar hypothesis of fat absorption: Must it be revisited? *Scand. J. Gastroenterol.* 20:389-394.
17. Bourre, J.M., Dumont, O.L., Clement, M.E., Durand, G.A. (1997): Endogenous synthesis cannot compensate for absence of dietary oleic acid in rats. *J. Nutr.* 127, 488-493.

18. Brooks, G.A., Donovan, C.M., White, T.P. (1984): Estimation of anaerobic energy production and efficiency in rats during exercise. *J. Appl. Physiol.*, 56(2):520-525
19. Bruckner, G., Shimp, J., Goswami, S., Mai, J., Kinsella, J.E. (1982): Dietary trilinoelaidate: effects on metabolic parameters related to EFA metabolism in rats. *J. Nutr.* 112(1):126-135.
20. Bulow, J., Madsen, J. (1976): Adipose tissue blood flow during prolonged, heavy exercise. *Pflugers Arch.* 363(3):231-234.
21. Carter, S.L., Rennie, C., Tarnopolsky, M.A. (2001): Substrate utilization during endurance exercise in men and women after endurance training. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280(6):898-907.
22. Caserta, F., Tchkonja, T., Civelek, V.N., Prentki, M., Brown, N.F., McGarry, J.D., Forse, R.A., Corkey, B.E., Hamilton, J.A., Kirkland, J.L. (2001): Fat depot origin affects fatty acid handling in cultured rat and human preadipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 280(2):238-247.
23. Cerolini, S., Kelso, K.A., Noble, R.C., Speake, B.K., Pizzi, F., Cavalchini, L.G. (1997): Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chickens. *Biol. Reprod.* 57(5):976-980.
24. Cheeke, R.P. (1987): Rabbit feeding and nutrition. Academic Press. Orlando.
25. Chouinard, P.Y., Levesque, J., Girard, V., Brisson, G.J. (1997): Dietary soybeans extruded at different temperatures: milk composition and in situ fatty acid reactions. *J. Dairy Sci.* 80(11):2913-2924.
26. Christ, B., Lange, K., Jeroch, H. (1996): Effect of dietary fat on fat content and fatty acid composition of does milk. *Proc. 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France, 9-12/07/1996, vol. 1., 135-138.*
27. Coggan, A.R., Kohrt, W.M., Spina, R.J., Kirwan, J.P., Bier, D.M., Holloszy, J.O. (1992): Plasma glucose kinetics during exercise in subjects with high and low lactate thresholds. *J. Appl. Physiol.*, 73(5):1873-1880
28. Couture, P., Hulbert, A.J. (1995): Membrane fatty acid composition of tissues is related to body mass of mammals. *J. Membr. Biol.*, 148:27-39.
29. Coyle, E.F., Martin, W.H. 3rd, Bloomfield, S.A., Lowry, O.H., Holloszy, J.O. (1985): Effects of detraining on responses to submaximal exercise. *J. Appl. Physiol.* 59(3):853-859.
30. Coyle, E.F., Jeukendrup, A.E., Oseto, M.C., Hodgkinson, B.J., Zderic, T.W. (2001): Low-fat diet alters intramuscular substrates and reduces lipolysis and fat oxidation during exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280:391-398.
31. Crouse, J.D., Smith, S.B. (1986). Bovine longissimus muscle glycogen concentration in response to isometric contraction and exogenous epinephrine. *Am. J. Vet. Res.*, 47(4): 939-941.
32. Dagenais, G.R., Tancredi, R.G., Zierler, K.L. (1976): Free fatty acid oxidation by forearm muscle at rest, and evidence for an intramuscular lipid pool in the human forearm. *J. Clin. Invest.*, 58(2):421-431.
33. Davis, J.M., Bailey, S.P., Woods, J.A., Galiano, F.J., Hamilton, M.T., Bartoli, W.P. (1992): Effects of carbohydrate feedings on plasma free tryptophan and branched-chain amino acids during prolonged cycling. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 65(6):513-519.
34. Davis, S.N., Galassetti, P., Wasserman, D.H., Tate, D. (2000): Effects of gender on neuroendocrine and metabolic counterregulatory responses to exercise in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85(1):224-230.

35. Debrulle, C., Luyckx, M., Ballester, L., Brunet, C., Odou, P., Dine, T., Gressier, B., Cazin, M., Cazin, J.C. (1999): Serum opioid activity after physical exercise in rats. *Physiol. Res.* 48(2):129-133.
36. Dhar, P., Ghosh, S., Bhattacharyya, D.K. (1999): Dietary effects of conjugated octadecatrienoic fatty acid (9 cis, 11 trans, 13 trans) levels on blood lipids and nonenzymatic in vitro lipid peroxidation in rats. *Lipids.* 34(2):109-114.
37. Donovan, C.M., Pagliassotti, M.J. (1990): Enhanced efficiency of lactate removal after endurance training. *J. Appl. Physiol.* 68(3):1053-1058.
38. Dyck, D.J., Miskovic D., Code, L., Luiken, J.J.F.P., Bonen, A. (2000): Endurance training increases FFA oxidation and reduces triacylglycerol utilization in contracting rat soleus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 278: 778-785.
39. Egan, J.J., Greenberg, A.S., Chang, M., Wek, S.A., Moos, M.C. Jr., Londos, C. (1992): Mechanism of hormone-stimulated lipolysis in adipocytes: Translocation of hormone-sensitive lipase to the lipid storage droplet. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89(18):8537-8541.
40. Elfellah, M.S., Reid, J.L. (1987): Identification and characterization of beta-adrenoreceptors in guinea-pig skeletal muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 139(1): 67-72.
41. Emilsson, A., Gudbjarnason, S. (1981): Changes in the fatty acyl composition of rat heart phospholipids induced by noradrenaline. *Biochim. Biophys. Acta.* 664(1): 82-88.
42. Essen, B. (1977): Intramuscular substrate utilization during prolonged exercise. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 301:30-44.
43. Fernandez, C., Cobos, A., Fraga, M.J. (1994): The effect of fat inclusion on diet digestibility in growing rabbits. *J. Anim. Sci.* 72(6):1508-1515.
44. Fletcher, J.E., Rosenberg, H., Michaux, K. (1988): Lipid analysis of skeletal muscle from pigs susceptible to malignant hyperthermia. *Biochem. Cell Biol.* 66: 917-921.
45. Folch, J. M., Lees, M., and Sloane-Stanley, G. H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:495-509.
46. Fontanillas, R., Barroeta, A., Baucells, M.D., Guardiola, F. (1998): Backfat fatty acid evolution in swine fed diets high in either cis-monounsaturated, trans, or (n-3) fats. *J. Anim. Sci.* 76:1045-1055.
47. Fredrikson, G., Stralfors, P., Nilsson, N.O., Belfrage, P. (1981): Hormone-sensitive lipase of rat adipose tissue. Purification and some properties. *J. Biol. Chem.* 256(12):6311-6320.
48. Friedlander, A.L., Casazza, G.A., Horning, M.A., Huie, M.J., Piacentini, M.F., Trimmer, J.K., Brooks, G.A. (1998): Training-induced alterations of carbohydrate metabolism in women: women respond differently from men. *J. Appl. Physiol.* 85(3):1175-1186.
49. Friedlander, L.A., Casazza, G.A., Horning, M.A., Buddinger, T.F., Brookas, G.A. (1998): Effects of exercise intensity and training on lipid metabolism in young women. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 275(38):853-863.
50. Friedlander, A.L., Casazza, G.A., Horning, M.A., Usaj, A., Brooks, G.A. (1999): Endurance training increases fatty acid turnover, but not fat oxidation, in young men. *J. Appl. Physiol.*, 86(6):2097-2105.
51. Ganguly, J., Subbaiah, P.V., Parthasarathy, S. (1972): Absorption of lipids. *Biochem J.* 128(1):8-9.
52. Gastmann, U., Petersen, K.G., Bocker, J., Lehmann, M. (1998): Monitoring intensive endurance

training at moderate energetic demands using resting laboratory markers failed to recognize an early overtraining stage. *J. Sports Med. Phys. Fitness.* 38, 188-193.

53. Glatz, J.F., Veerkamp, J.H. (1985): Intracellular fatty acid-binding proteins. *Int. J. Biochem.*, 17(1):13-22.

54. Gould, G.W., McWhirter, J.M., East, J.M., Lee, A.G. (1987): Effects of diet on the function of sarcoplasmic reticulum. *Biochem J.*, 1;245(3):731-738.

55. Guba, F. (1988): *Orvosi biokémia. Medicina, Budapest.*

56. Gudbjarnason, S. (1989): Dynamics of n-3 and n-6 fatty acids in phospholipids of heart muscle. *J. Internal. Med.*, 225(1): 117-128.

57. Hales, C.N., Luzio, J.P., Siddle, K. (1978): Hormonal control of adipose-tissue lipolysis. *Biochem. Soc. Symp.* 43:97-135.

58. Halson, S.L., Lancaster, G.I., Jeukendrup, A.E., Gleeson, M. (2003): Immunological responses to overreaching in cyclists. *Med. Sci. Sports Exerc.* 35(5):854-861.

59. Hamalainen, N., Pette, D. (1993): The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID, and IIA in skeletal muscles of mouse, rat, and rabbit. *J. Histochem. Cytochem.* 41(5):733-743.

60. Hamilton, J.A. (1998): Fatty acid transport: difficult or easy? *J. Lipid Res.*, 39(3):467-481.

61. Hargreaves, M. (1995): *Exercise metabolism. Human Kinetics Publ., Champaign, USA, pp. 100-131.*

62. Havel, R.J., Pernow, B., Jones, N.L. (1967): Uptake and release of free fatty acids and other metabolites in the legs of exercising men. *J. Appl. Physiol.*, 23(1):90-99.

63. Helge, J.W., Ayre, K.J., Hulbert, A.J., Kiens, B., Storlien, L.H. (1999): Regular exercise modulates muscle membrane phospholipid profile in rats. *J. Nutr.* 129:1636-1642.

64. Helge, J.W., Wu, B.J., Willer, M., Dagaard, J.R., Storlien LH, Kiens, B. (2001): Training affects muscle phospholipid fatty acid composition in humans. *J. Appl. Physiol.* 90:670-677.

65. Henriksson, J. (1977): Training induced adaptation of skeletal muscle and metabolism during submaximal exercise. *J. Physiol.*, 270(3):661-675.

66. Hermansen, L., Hultman, E., Saltin, B. (1967): Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiol. Scand.*, 71:129-139.

67. Hodson, L., Skeaff, C.M., Chisholm, W.A. (2001): The effect of replacing dietary saturated fat with polyunsaturated or monounsaturated fat on plasma lipids in free-living young adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 55, 908-915.

68. Holloszy, J.O., Coyle, E.F. (1984): Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J. Appl. Physiol.* 56:831-838.

69. Holm, C., Belfrage, P., Fredrikson, G (1987): Immunological evidence for the presence of hormone-sensitive lipase in rat tissues other than adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 148(1):99-105.

70. Hong, H., Johnson, P. (1995): Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 27: 923-931.

71. Holy, X., Zerath, E. (2000): Bone mass increases in less than 4 wk of voluntary exercising in growing

rats. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 32(9):1562-1569.

72. Hong, H., Johnson, P. (1995): Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 27(9): 923-931.

73. Hopp, J.F., Palmer, W.K. (1990): Effect of electrical stimulation on intracellular triacylglycerol in isolated skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 68(1):348-354.

74. Hopp, J.F., Palmer, W.K. (1990): Electrical stimulation alters fatty acid metabolism in isolated skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 68(6):2473-2481.

75. Horowitz, J.F., Mora-Rodriguez, R., Byerley, L.O., Coyle, E.F. (2000): Preexercise medium chain triglyceride ingestion does not alter glycogen use during exercise. *J. Appl. Physiol.* 88(1): 219-225.

76. Hussain, M.M. (2000): A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis.* 148(1):1-15.

77. Husvéth, F., Karsai, F., Gaál, T. (1982): Peripartal fluctuations of plasma and hepatic lipid components in dairy cows. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 30: 97-112.

78. Jensen, J., Brors, O., Dahl, H.A. (1995): Different beta-adrenergic receptor density in different rat skeletal muscle fibre types. *Pharmacol. Toxicol.* 76(6): 380-385.

79. Karlsson, J., Frith, K., Sjodin, B., Gollnick, P.D., Saltin, B. (1974): Distribution of LDH isoenzymes in skeletal in human skeletal muscle. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 33: 307-312.

80. Kennedy, G.A., Hudson, R., Armstrong, S.M. (1994): Circadian wheel running activity rhythms in two strains of domestic rabbit. *Physiol. Behav.* 55(2):385-389.

81. Kiens, B., Lithell, H. (1989): Lipoprotein metabolism influenced by training-induced changes in human skeletal muscle. *J. Clin. Invest.*, 83(2):558-564

82. Kiens, B., Lithell, H., Mikines, K.J., Richter, E.A. (1989): Effects of insulin and exercise on muscle lipoprotein lipase activity in man and its relation to insulin action. *J. Clin. Invest.* 84(4):1124-1129.

83. Kiens, B., Essen-Gustavsson, B., Saltin, B. (1993): Skeletal muscle substrate utilisation during submaximal exercise in man: effects of endurance training. *J. Physiol.* 469: 459-478.

84. Kiens, B., Roemen, T.H., van der Vusse, G.J. (1999): Muscular long-chain fatty acid content during graded exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 276(2):352-357.

85. Klein, S., Coyle, E.F., Wolfe, R.R. (1994): Fat metabolism during low-intensity exercise in endurance-trained and untrained men. *Am. J. Physiol.* 267, 934-940.

86. Kogteva, G.S., Bezuglov, V.V. (1998): Unsaturated fatty acids as endogenous bioregulators. *Review. Biochemistry (Mosc).* 63(1):4-12.

87. Koutedakis, Y., Raafat, A., Sharp, N.C., Rosmarin, M.N., Beard, M.J., Robbins, S.W. (1996): Serum enzyme activities in individuals with different levels of physical fitness. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 33(3):252-257.

88. Kramer, A., Fu-Chia Yang, A.C., Snodgrass, P., Li, X., Scammell, T.E., Davis, F.C., Weitz, C.J. (2001): Regulation of Daily Locomotor Activity and Sleep by Hypothalamic EGF Receptor Signaling. *Science.* 294: 2511-2515.

89. Krzywanek, H., Mohr, E., Mill, J., Scharpenack, M. (1996): Changes of serum enzymes, lactate and

hemoglobin concentrations in the blood of young trotting horses due to training exertion. *Zentralbl. Veterinärmed. A.* 43(6):345-352.

90. Langfort, J., Ploug, T., Ihlemann, J., Holm, C., Galbo, H. (2000): Stimulation of hormone-sensitive lipase activity by contractions in rat skeletal muscle. *Biochem. J.* 1(351):207-214.

91. Lebas, F., Corring, T., Courtot, D. (1971): Equipment enzymatique du pancréas exocrine du lapin. Mise en place et évolution de la naissance au sevrage. Relation avec la composition du régime alimentaire. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 11:399-413.

92. Lee, Y.H., Rah, J.H., Park, R.W., Park, C.I. (2001): The effect of early therapeutic electrical stimulation on bone mineral density in the paralyzed limbs of the rabbit. *Yonsei Med. J.* 42(2):194-198.

93. Leray, C., Andriamampandry, M., Gutbier, G., Cavadenti, J., Klein-Soyer, C., Gachet, C., Cazenave, J.P. (1997): Quantitative analysis of vitamin E, cholesterol and phospholipid fatty acids in a single aliquot of human platelets and cultured endothelial cells. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 15:696:33-42.

94. des Lions, A.J., Michaux, J.M., Denoix, J.M. (1997): Muscular electrostimulation in the horse: effects on morphometric and blood parameters. *Pratique Vet. Equine.*, 29(3): 173-178.

95. Loi, C., Chardigny, J.M., Almanza, S., Leclere, L., Ginies, C., Sebedio, J.L. (2000): Incorporation and metabolism of dietary trans isomers of linolenic acid alter the fatty acid profile of rat tissues. *J. Nutr.* 130(10):2550-2555.

96. Mackie, B.G., Dudley, G.A., Kaciuba-Uscilko, H., Terjung, R.L. (1980): Uptake of chylomicron triglycerides by contracting skeletal muscle in rats. *J. Appl. Physiol.*, 49(5):851-855.

97. Maldonado, E.N., Furland, N.E., Pennacchiotti, G.L., Avelldano, M.I. (2002): Reversibility of the changes induced by n-3 fatty acids in mouse plasma, liver and blood cell lipids. *J. Nutr. Biochem.* 13, 36-46.

98. McAllister, R.M., Reiter, B.L., Amann, J.F., Laughlin, M.H. (1997): Skeletal muscle biochemical adaptations to exercise training in miniature swine. *J. Appl. Physiol.* 82(6):1862-1868.

99. McClelland, G., Zwingelstein, G., Taylor, C. R. and Weber, J. M. (1995): Effect of exercise on the plasma nonesterified fatty acid composition of dogs and goats: species with different aerobic capacities and diets. *Lipids.* 30, 147-153.

100. McGarry, J.D., Brown, N.F. (1997): The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur. J. Biochem.*, 244:1-14.

101. McGarry, J.D., Mannaerts, G.P., Foster, D.W. (1977): A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *J. Clin. Invest.*, 60(1):265-270.

102. McNeel, R.L., Mersmann, H.J. (1999): Distribution and quantification of beta1-, beta2-, and beta3-adrenergic receptor subtype transcripts in porcine tissues. *J. Anim. Sci.* 77(3):611-621.

103. Metivier, G., Gauthier, R. (1985): Effects of acute physical exercise on some serum enzymes in healthy male subjects between the ages of 40 and 64 years. *Enzyme.* 33(1):25-33.

104. Miller, W.C., Hickson, R.C., Bass, N.M. (1988): Fatty acid binding proteins in the three types of rat skeletal muscle. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 189(2):183-188.

105. Moreau, D., Dubots, P., Boggio, V., Guillard, J.C., Cometti, G. (1995): Effects of electromyostimulation and strength training on muscle soreness, muscle damage and sympathetic activation. *J. Sports Sci.* 13(2):95-100.

106. Mougios, V., Kotzamanidis, C., Koutsari, C., Atsopardis, S. (1995): Exercise-induced changes in the concentration of individual fatty acids and triacylglycerols of human plasma. *Metabolism*. 44(5):681-868.
107. Nelson, G.J. (1972): *Blood lipids and lipoproteins: Quantitation, composition and metabolism*. Wiley-Interscience, New York.
108. Neuffer, P.D. (1989): The effect of detraining and reduced training on the physiological adaptations to aerobic exercise training. *Sports Med*. 8(5):302-320.
109. Ogawa, K., Ohno, T., Kuroshima, A. (1987): Muscle and brown adipose tissue fatty acid profiles in cold-exposed rats. *Jpn. J. Physiol*. 37(5):783-796.
110. Parigi Bini, R., Xiccato, G., Cinetto, M., Dalle Zotte, A. (1992). Effect of slaughter age and weight on carcass and meat quality of the commercial rabbit. "5th World Rabbit Congress", Corvallis - Oregon - U.S.A. (vol. B, pp. 819-826)
111. Parikh, D.J., Ramanathan, N.L. (1977): Exercise induced serum enzyme changes in untrained subjects. *Indian J. Physiol. Pharmacol*. 21(3):175-180.
112. Paul, P. (1970): FFA metabolism of normal dogs during steady-state exercise at different work loads. *J. Appl. Physiol*. 28(2):127-132.
113. Phillips, S.M., Green, H.J., Tarnopolsky, M.A., Heigenhauser, G.F., Hill, R.E., Grant, S.M. (1996): Effects of training duration on substrate turnover and oxidation during exercise. *J. Appl. Physiol.*, 81(5):2182-2191.
114. Phinney, S.D., Tang, A.B., Johnson, S.B., Holman, R.T. (1990): Reduced adipose 18:3 omega 3 with weight loss by very low calorie dieting. *Lipids* 25(12):798-806.
115. Placer, Z.A., Cushman, L.L., Johnson, B.C. (1966). Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.*, 16:359-364.
116. Potter, B.J., Sorrentino, D. Berk, P.D. (1989): Mechanism of cellular uptake of free fatty acids. *Review. Annu. Rev. Nutr*. 9: 253-270.
117. Putman, C.T., Jones, N.L., Hultman, E., Hollidge-Horvat, M.G., Bonen, A., McConachie, D.R., Heigenhauser, G.J. (1998): Effects of short-term submaximal training in humans on muscle metabolism in exercise. *Am. J. Physiol.*, 275(1):132-139.
118. Quig, D.W., Zilversmit, D.B. (1986): Parallel changes in plasma cholesterol and lipid transfer activity in pregnant rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 182(3):386-392.
119. Raclot, T., Groscolas, R. (1995): Selective mobilization of adipose tissue fatty acids during energy depletion in the rat. *J. Lipid Res*. 36(10):2164-2173.
120. Raclot, T., Langin, D., Lafontan, M., Groscolas, R. (1987): Selective release of human adipocyte fatty acids according to molecular structure. *Biochem. J*. 324(3)
121. Reddy Avula, C.P., Fernandes, G. (1999): Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissues in mice by moderate treadmill exercise. *Aging (Milano)*. 11(4):246-252.
122. Severson, D.L. (1979): Regulation of lipid metabolism in adipose tissue and heart. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 57(9):923-937.
123. Shaw, W.A., Issekutz, T.B., Issekutz, B. Jr. (1975): Interrelationship of FFA and glycerol turnovers in resting and exercising dogs. *J. Appl. Physiol*. 39(1):30-36.

124. Sher, L. (1998): The endogenous euphoric reward system that reinforces physical training: a mechanism for mankind's survival. *Med Hypoth.*, 51(6):449-450.
125. Sidossis, L.S., Wolfe, R.R., Coggan, R. (1998): Regulation of fatty acid oxidation in untrained vs. trained man during exercise. *Am. J. Physiol.* 274: 510-515.
126. Singer, S.J., Nicolson G.L. (1972): The fluid mosaic model of the structure of cell membranes., *Science*, 175:720-731.
127. Sjödin, B. (1976): Lactate dehydrogenase in human muscle. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 436: 5-32.
128. Sorrentino, D., Robinson, R.B., Kiang, C.L., Berk, P.D. (1989): At physiologic albumin/oleate concentrations oleate uptake by isolated hepatocytes, cardiac myocytes, and adipocytes is a saturable function of the unbound oleate concentration. Uptake kinetics are consistent with the conventional theory. *J. Clin. Invest.* 84(4):1325-1333.
129. Spector, A.A. (1969): Influence of pH of the medium on free fatty acid utilization by isolated mammalian cells. *J. Lipid Res.* 10(2):207-215.
130. Spector, A.A., Fletcher, J.E., Ashbrook, J.D. (1971): Analysis of long-chain free fatty acid binding to bovine serum albumin by determination of stepwise equilibrium constants. *Biochemistry* 10(17):3229-3232.
131. Spener, F., Borchers, T., Mukherjea, M. (1989): On the role of fatty acid binding proteins in fatty acid transport and metabolism. *FEBS Lett.*, 244(1):1-5.
132. SPSS for Windows, ver. 10.0., 1999, SPSS Inc. Chicago, IL.
133. Storlien, L.H., Baur, L.A., Kriketos, A.D., Pan, D.A., Cooney, G.J., Jenkins, A.B., Calvert, G.D., Campbell, L.V. (1996): Dietary fats and insulin action. *Diabetologia*, 39:621-631.
134. Sumikawa, K., Mu, Z., Inoue, T., Okochi, T., Yoshida, T., Adachi, K. (1993): Changes in erythrocyte membrane phospholipid composition induced by physical training and physical exercise. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 67(2):132-137.
135. Sunami, Y., Motoyama, M., Kinoshita, F., Mizooka, Y., Sueta, K., Matsunaga, A., Sasaki, J., Tanaka, H., Shindo, M. (1999): Effects of low-intensity aerobic training on the high-density lipoprotein cholesterol concentration in healthy elderly subjects. *Metabolism* 48(8):984-988
136. Szabó, A., Romvári, R., Fébel, H., Nagy, I., Szendrő, Zs. (2001): Fatty acid composition of two different muscles in rabbits: Alterations in response to saturated or unsaturated dietary fatty acid complementation. *World Rabbit Science*, 9(4):155-158.
137. Szendrő, Zs., Radnai, I., Biró-Németh, E., Romvári, R., Milisits, G., Kenessey, Á. (1998): The effect of live weight on the carcass traits and the chemical composition of meat of Pannon White rabbits between 2.2 and 3.5 kg. *World Rabbit Science*. 6(2): 243-249.
138. Takeuchi, H., Nakamoto, T., Mori, Y., Kawakami, M., Mabuchi, H., Ohishi, Y., Ichikawa, N., Koike, A., Masuda, K. (2001): Comparative effects of dietary fat types on hepatic enzyme activities related to the synthesis and oxidation of fatty acid and to lipogenesis in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, 1748-1754.
139. Tan, M.H., Sata, T., Havel, R.J. (1977): The significance of lipoprotein lipase in rat skeletal muscles. *J. Lipid Res.* 18(3):363-370.
140. Tarnopolsky, M.A. (2000): Gender differences in metabolism; nutrition and supplements. *Review. J.*

Sci. Med. Sport 3(3):287-298.

141. Taskinen, M.R., Gluck, C.J., Kashyap, M.L., Srivastava, L.S., Hynd, B.A., Perisutti, G., Robinson, K., Kinnunen, P.J., Kuusi, T. (1980): Post-heparine plasma lipoprotein and hepatic lipases. Relationships to high density lipoprotein cholesterol and to apolipoprotein CII in familial hyperalphalipoproteinemic and in normal subjects. *Atherosclerosis*. 37(2):247-256.

142. Terjung, R.L., Budohoski, L., Nazar, K., Kobryn, A., Kaciuba-Uscilko, H. (1982): Chylomicron triglyceride metabolism in resting and exercising fed dogs. *J. Appl. Physiol.*, 52:815-820.

143. Terjung, R.L., Kaciuba-Uscilko, H. (1986): Lipid metabolism during exercise: influence of training. *Diabetes / Metabolism Rev.*, 2: 35-51.

144. Thacker, H.J. (1956): Dietary fat level in the nutrition of the rabbit. *J. Nutr.* 58:243-249

145. Turcotte, L.P. (1999): Role of fats in exercise. Types and quality. *Clin. Sports Med.* 18:485-498. Review.

146. Turcotte, L.P., Srivastava, A.K., Chiasson, J.L. (1997): Fasting increases plasma membrane fatty acid-binding protein (FABP(PM)) in red skeletal muscle. *Mol. Cell. Biochem.* 166(1-2):153-158.

147. Turcotte, L.P., Swenberger, J.R., Tucker, M.Z., Yee, A.J. (1999): Training-induced elevation in FABP(PM) is associated with increased palmitate use in contracting muscle. *J. Appl. Physiol.*, 87(1):285-293.

148. Vessby, B., Gustafsson, I.B., Tengblad, S., Boberg, M., Andersson, A. (2002): Desaturation and elongation of fatty acids and insulin action. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 967:183-195.

149. Vigneron, P., Bacou, F., Ashmore, C.R. (1976): Distribution heterogeneity of muscle fiber types in the rabbit longissimus muscle. *J. Anim. Sci.*, 43(5):985-988.

150. Weisiger, R., Gollan, J., Ockner, R. (1981): Receptor for albumin on the liver cell surface may mediate uptake of fatty acids and other albumin-bound substances. *Science* 211:1048-1051.

151. Wilson, D.O., Johnson, P. (2000): Exercise modulates antioxidant enzyme gene expression in rat myocardium and liver. *J. Appl. Physiol.* 88(5):1791-1806.

152. Winder, W.W., Hagberg, J.M., Hickson, R.C., Ehsani, A.A., McLane, J.A. (1978): Time course of sympathoadrenal adaptation to endurance exercise training in man. *J. Appl. Physiol.* 45(3):370-374.

153. Winder, W.W., Beattie, M.A., Holman, R.T. (1982): Endurance training attenuates stress hormone responses to exercise in fasted rats. *Am. J. Physiol.* 243(1):179-184.

154. Wolfe, R.R., Klein, S., Carraro, F., Weber, J.M. (1990): Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am. J. Physiol.* 258(2):382-389.

155. www.afip.org/vetpath/erythron.pdf

156. www.barc.usda.gov/bhnrc/foodsurvey/home.htm

157. www.cyberlipid.org

11. A disszertáció témakörében megjelent publikációk

Idegen nyelvű, lektorált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Szabó, A., Romvári, R., Fébel, H., Nagy, I., Szendrő, Zs. (2001): Fatty acid composition of two different muscles in rabbits: Alterations in response to saturated or unsaturated dietary fatty acid complementation. *World Rabbit Sci.*, 9(4):155-158.

Szabó, A., Romvári, R., Fébel, H., Bogner, P., Szendrő, Zs. (2002): Training-induced alterations of the fatty acid profile of rabbit muscles. *Acta Vet. Hung.* 50(3): 357-364.

Szabó, A., Husvéth, F., Szendrő, Zs., Repa, I., Romvári, R. (2003): Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation on the fatty acid profile of rabbit *longissimus dorsi* muscle (preliminary report). *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* 87(9-10): 309-314.

Szabó, A., Romvári, R., Bogner, P., Hedvig Fébel, Szendrő, Zs., (2003): Metabolic changes in meat type rabbits induced by regular submaximal aerobic exercise. *Acta Vet. Hung.* 51(4): 503-512.

Szabó, A., Mézes, M., Dalle Zotte, A., Szendrő, Zs., Romvári, R. (2004): Changes of the fatty acid composition and malondialdehyde concentration in rabbit *longissimus dorsi* muscle after regular electrical stimulation. *Meat Sci.* (elfogadott)

Szabó, A., Fébel, H., Dalle Zotte, A., Mézes, M., Szendrő, Zs., Romvári, R. (2004): Reversibility of the changes of rabbit muscle fatty acid profile. *Ital. J. Food Sci.* (elfogadott)

Magyar nyelvű, lektorált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Szabó, A., Romvári, R., Fébel, H., Szendrő, Zs. (2002): Két eltérő izom zsírsavösszetétele, valamint annak változásai telített és telítetlen zsírsavkiegészítés hatására nyulakban. *Állattenyésztés és Takarmányozás.* 51(6): 617-625.

Proceedingekben teljes terjedelemben megjelent közlemények

Szabó, A., Fébel, H., Romvári, R., Bogner, P. (2000): Examination of muscle and erythrocyte membrane lipid composition by means of gas chromatography on meat type rabbits. *Animal Science Days 2000, Eszék, szept. 21-23., pp.* 77-78.

Szabó, A., Fébel, H., Bogner, P., Szendrő, Zs., Romvári, R. (2001): Investigation of fatty acid metabolism under physical load by means of NMR spectroscopy and gas chromatography on meat type rabbits. 12. *Arbeitstagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen, Pelztiere und Heimtiere.* Celle, 2001. május 10., pp. 176-182.

Szabó A., Fébel H., Szendrő Zs., Romvári R. (2001): Telített és telítetlen zsírsavkiegészítés hatásának vizsgálata nyulak izom-zsírsavprofiljára. 13. *Nyúltenyésztési Tudományos Nap, Kaposvár, 2001. május 23., pp.* 41-45.

Szabó A., Fébel H., Szendrő Zs., Romvári R. (2002): Pannon fehér nyulak izom zsírsavösszetétele telített és telítetlen zsírsavkiegészítést követően. *VIII. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely, 2002 márc. 28., CD kiadvány.*

Szabó, A., Husvéth, F., Szendrő, Zs., Romvári, R. (2002): Krónikus elektromos stimuláció hatása húsnyalak hosszú hátizmának zsírsavprofiljára. *14. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, Kaposvár, 2002 május 22., pp. 41-45.*

Szabó, A., Romvári, R., Fébel, H., Bogner, P., Szendrő, Zs. (2002): Effects of physical training onto the muscle fatty acid profile of meat type rabbits. *9. Krmiva Konferencia, Opatija, 2002. május 29-31., pp. 174-177.*

Szabó. A., Romvári, R., Bogner, P., Fébel, H., Locsmándi L., Szendrő Zs. (2003): Szérum metabolitok és enzimek vizsgálata növendék nyulakban, rendszeres fizikai terhelés mellett. *15. Nyúltenyésztési Tudományos Nap, Kaposvár, 2003 május 28., pp. 145-149.*

Proceedingben megjelent abstractok

Szabó, A., Husvéth, F., Szendrő, Zs., Romvári, R. (2002): Alterations in the fatty acid composition of rabbit longissimus dorsi muscle after electrical stimulation. *Animal Science Days 2002, Pécs, október 17. Acta Agr. Kaposváriensis Suppl. p.123.*

Idegen nyelvű előadások

Szabó, A., Romvári, R., Fébel, H., Szendrő, Zs. (2001): Alterations of the fatty acid composition and 1H spectroscopic parameters of rabbit muscles after training. *COST848 WG5, 1st meeting, 2001.02.23., Bertinoro.*

Szabó, A., Fébel, H., Mézes, M., Romvári, R., Miklós, Sz., Szendrő, Zs. (2003): Effect of different physical exercise on te triglyceride and phospholipid fatty acid composition and oxidative stability of rabbit muscles. *COST848 WG5, 3rd meeting, 2003.09.25. Prága*

Szabó, A., Fébel, H., Dalle Zotte, A., Mézes, M., Szendrő, Zs., Romvári, R. (2003): Reversibility of the changes of rabbit muscle fatty acid profile induced by consecutive feeding of diets with saturated or unsaturated fatty acid profile. *COST848 WG 4&5, 3rd meeting, 2003.09.26. Prága*

12. A disszertáció témakörén kívül megjelent publikációk

Idegen nyelvű, lektorált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Sarudi, I., Varga-Cseresnyés, É., Csapó-Kiss, Zs., Szabó, A. (2001): Elimination of the disturbing effect caused by sulphur dioxide for sulphur determination in wines by ICP-OES. *Analytical Letters*. 34(3):449-455.

Nagy, I., Csató, L., Farkas, J., Radnóczy, L., Szabó, A., Vigh, Zs. (2002): Analysis of the random distribution of station-tested pigs based on their genetic merit. *Acta Vet. Hung.* 50(4):373-383.

Sarudi, I., Szabó, A. (2003): Determination of total chlorine in drinking waters by gas chromatography. *Analytical Letters*. 36(5). 853 - 859.

Hancz, Cs., Romvári, R., Szabó, A., Molnár, T., Magyary, I., Horn, P. (2003): Measurement of total body composition changes of common carp by computer tomography. *Aquaculture Research* 34, 991-997.

Andrássy-Baka, G., Romvári, R., Sütő, Z., Szabó, A., Horn, P. (2003): Comparative study of the body composition of different turkey genotypes by means of CT. *Archiv für Tierzucht*. 46(1-3): 285-293.

Andrássy-Baka, G., Romvári, R., Milisits, G., Sütő, Z., Szabó, A., Locsmándi, L., Horn, P. (2003): Non-invasive body composition measurement of broiler chickens between 4-18 weeks of age by computer tomography. *Archiv für Tierzucht*. 46(6): 585-595.

Sarudi, I., Csapó-Kiss, Z., Szabó, A., Varga-Cseresnyés, E. (2003): A potentiometric method for determination of oxidized ketone bodies in milk. *Microchimica Acta*. (megjelenés alatt)

Székely, Cs., Molnár, K., Müller, T., Romvári, R., Szabó, A., Hancz, Cs., Bercesényi, M. (2003): Comparative study of X-ray computed tomography and conventional X-ray methods in the diagnosis of eel swimbladder infection caused by *Anguillicola crassus*. *Dis. Aquat. Org.* (megjelenés alatt)

Romvári, R., Petrás, Zs., Sütő, Z., Szabó, A., Garamvölgyi, R., Andrássy, G., Horn, P. (2003): Non-invasive characterization of the turkey heart performance and its relationship to skeletal muscle volume. *Poultry Science*. (elfogadott)

Müller, T., Molnár, T., Szabó, A., Romvári, R., Hancz, Cs., Bercesényi, M., Horn, P. (2004) Tracking the hormonally-induced female eel maturation by means of computer tomography. *Acta Vet. Hung.* (elfogadott)

Magyar nyelvű, lektorált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Sarudi, I., Rétfalvi, T., Szabó, A. (1999): A higanyürítés meggyorsítása brojlerekben. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 3(3): 35-46.

Rétfalvi, T., Sarudi, I., Szabó, A. (2000): Study in pigs of the protective effect against mercury of anion exchange resin in chloride form. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 4(1):23-34.

Sarudi, I., Csapó-Kiss, Zs., Szabó A. (2001): Adatok a magyarországi ivóvizek és ásványvizek fluortartalmáról. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 5(4):55-63.

Proceedingekben teljes terjedelemben megjelent közlemények

Sarudi, I., Csapóné, Kiss Zs., Vargáné, Cs. Eszter, Szabó, A. (1999): Pozitív hiba és annak kiküszöbölése szulfittartalmú minták kéntartalmának plazmaemissziós meghatározásánál. 42. *Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés. Veszprém, 1999. jún. 28-30., pp. 45-48.*

Kustos, K., Metzger, Sz., Szendrő, Zs., Szabó, A., Eiben, Cs., Nagy, I. (2002): A ketrecben és fülkében nevelt nyulak vágóértéke és húsmindősége. 14. *Nyúltenyésztési Tudományos Nap, Kaposvár, 2002 május 22., pp. 129-134.*

Proceedingekben megjelent abstractok

Sarudi, I., Rétfalvi, T., Szabó, A. (1999): A higany exkréciójának meggyorsítása húscsirkék esetében. 295. *KÉKI Tudományos Kollokvium. Budapest 1999. okt. 29., pp. 1-4.*

Sarudi, I., Csapóné, Kiss, Zs., Szabó, A. (2001): A nyerslecitin mint antioxidáns. 305. *KÉKI Tudományos kollokvium. Budapest, 2001. okt. 26., pp. 5.*

Sarudi, I., Csapóné, Kiss, Zs., Szabó, A. (2002): Direkt potenciometriás fluormeghatározás nagy mennyiségű zavaró kationt tartalmazó mintákban. *Analitikai és Környezetvédelmi Konferencia, Keszthely, 2002. április 11. p. 19.*

Sarudi I., Nagy I., Szabó A. (2002): Különböző eredetű tejek és tejporok szeléntartalma. *XIV. Élelmiszertudományi Konferencia, Budapest, 2002.05.16.*

13. Szakmai önéletrajz

1976. november 25-én születtem Pécsen, általános- és középiskolai tanulmányaimat szülővárosomban végeztem.

1992-ben német nyelvből középfokú "C", majd 1995-ben és 1999-ben angol nyelvből középfokú "B", illetve "A" típusú nyelvvizsgákat tettem.

2000-ben államvizsgáztam a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karán, Állattenyésztő szakirányú agrármérnök szakon, kiváló minősítéssel.

2000-2003: a Kaposvári Egyetem "Állattenyésztési tudományok" doktori iskolájának nappali tagozatos hallgatója voltam.

2003 szeptember óta tanszéki mérnöki beosztásban dolgozom a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Élettani és Állathigiéniai Tanszékén.

2003 szeptemberétől oktatom a "Kisemlőstenyésztés" tantárgyat.

Résztevője vagyok a COST848 program WG5 ("Meat") munkacsoportjának, valamint a 2003-ban indult OTKA Tudományos Iskola programnak.

Az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet Élettani Osztályán belföldi tanulmányutakon vettem részt 2002-ben és 2003-ban.

2003 május óta tagja vagyok a World Rabbit Science Association magyar tagozatának.

14. Mellékletek

1. melléklet A disszertációban használt rövidítések jegyzéke (a zsírsavak kivételével)

ALP	alkalikus foszfatáz
ALT	alanin aminotranszferáz
AST	aszpartát aminotranszferáz
FABP	"fatty acid binding protein" (zsírsavkötő fehérje)
FFA	"free fatty acid" (szabad zsírsav)
γ -GT	γ -glutamil transzferáz
HSL	hormonszenzitív lipáz
IMTG	intramuscularis triglicerid
LDH	laktát dehidrogenáz
LPL	lipoprotein lipáz
m.l.d.	m. longissimus dorsi (hosszú hátizom)
m.q.f.	m. quadriceps femoris
m.v.l.	m. vastus lateralis
PL	foszfolipid
PLA2	foszfolipáz-A2
PUFA	polyunsaturated fatty acid (többszörösen telítetlen zsírsav)
Ra	"rate of appearance" (megjelenés mértéke)
Rd	"rate of disappearance" (eltűnés mértéke)
RQ	respiratios quotiens
TENS	transcutaneous electrical nerve stimulation
TG	triglicerid
VLDL	"very low density lipoprotein"
VO ₂ max	O ₂ fogyasztás maximális mértéke

2. melléklet A disszertációban előforduló zsírsavak ún. rövid jelölése és triviális neve

jelölés	triviális név
C10:0	kaprinsav
C12:0	laurinsav
C14:0	mirisztinsav
C15:0	pentadekánsav
C16:0	palmitinsav
C17:0	margarinsav
C18:0	sztearinsav
C20:0	arachinsav
C22:0	behénsav
C14:1 n-5	mirisztoleinsav
C16:1 n-7	palmitoleinsav
C17:1 n-9	margaroleinsav
C18:1 n-7	vakcénsav
C18:1 n-9	olajsav
C20:1 n-9	eikozénsav
C24:1 n-9	nervonsav
C18:2 n-6 c	linolsav (cisz)
C18:2 n-6 c	linolelaidinsav (transz)
C18:3 n-3	linolénsav
C18:3 n-6	γ -linolénsav
C20:2 n-6	eikozadiénsav
C20:3 n-3	eikozatriénsav
C20:3 n-6	dihomo- γ -linolénsav
C20:4 n-6	arachidonsav
C20:5 n-3	eikozapentaénsav (EPA)
C22:2 n-6	dokozadiénsav
C22:4 n-6	dokozatetraénsav
C22:5 n-3	dokozapentaénsav (DPA)
C22:6 n-3	dokozahexaénsav (DHA)

3. melléklet Az alkalmazott Purina Puristar takarmány részletes összetétele

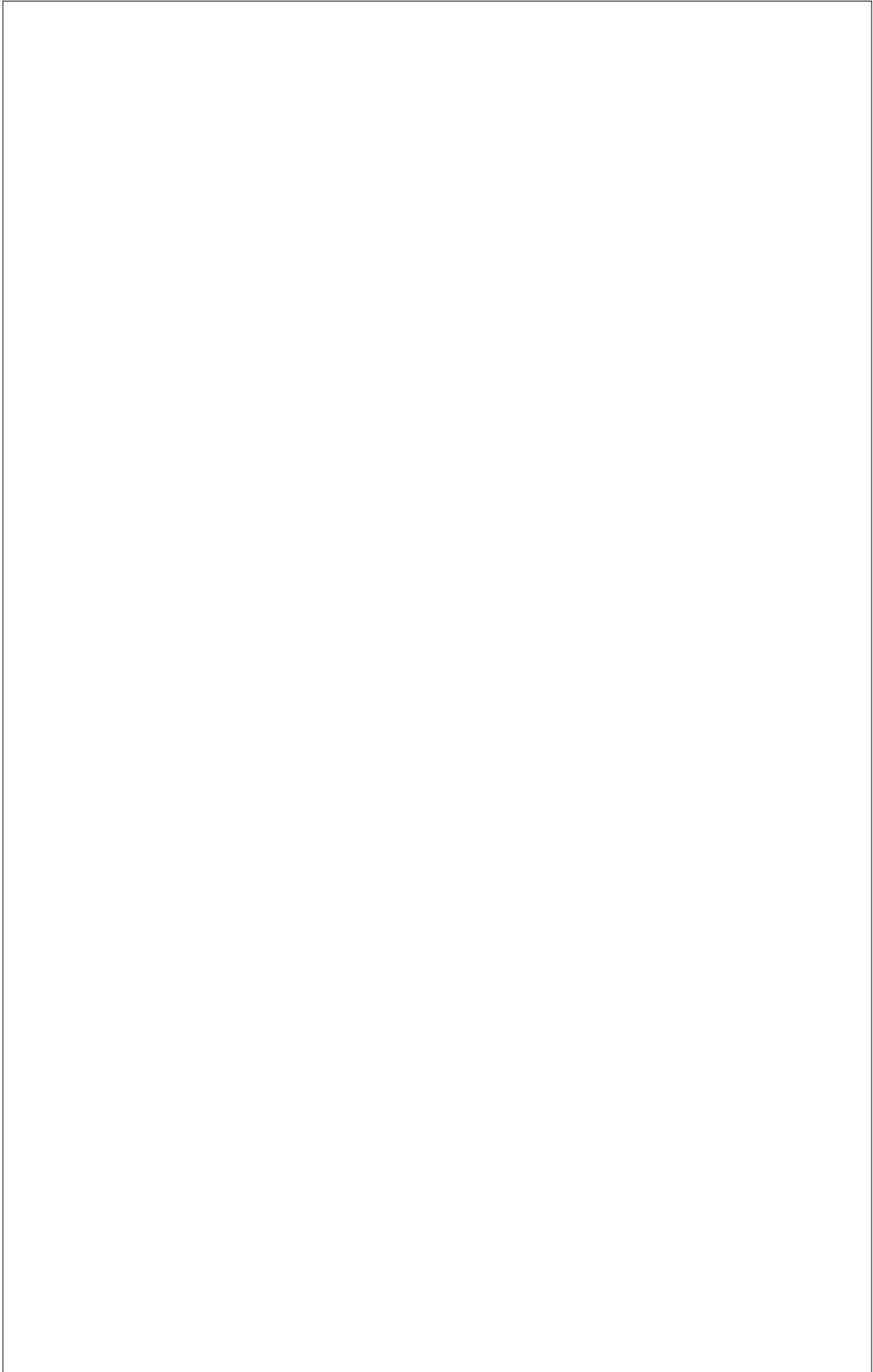
Összetevők		Purina Puristar
Árpa	%	12,7
Lucerna	%	25
Korpa	%	29,7
Vitaminok, ásv. anyagok, stb.	%	0,5
Naprafogóolaj	%	4
Zsír	%	0,55
Kémiai összetétel		
Száranyag	%	88,0
Nyersfehérje	%/Sza	16,0
Nyerszsír	%/Sza	2,3
Nyersrost	%/Sza	15,5
DE nyúl	MJ/kg	10,3
Zsírsav összetétel		
C14:0	%	0.91
C16:0	%	23.03
C16:1 (n-7)	%	0.24
C17:0	%	0.28
C18:0	%	4.1
C18:1 (n-9)	%	20.2
C18:2 (n-6)	%	44.6
C18:3 (n-3)	%	5.83
C20:4 (n-6)		nyomokban

4. melléklet A SAT és UNSAT kísérleti takarmányok összetétele (4.5.)

Összetevők (%)	SAT	UNSAT
Búza	14.15	14.15
Árpa	11	11
Extr. napraforgó	13	13
Lucerna (16%)	40	40
Napraforgó olaj	-	4
Hidrogénezett napr. olaj	4	-
Korpa	17	17
Tak. mész	0.3	0.3
MCP	0.55	0.55
E vitamin, a zsírforrásban (mg/kg)	50	700
Kémiai összetétel (%)		
Száranyag	89.4	89.4
Nyersfehérje	16.43	16.43
Nyerszsír	6.11	6.11
Nyersrost	14.85	14.85
DE nyúl (MJ/kg; számított)	11.04	10.98
Zsírsv összetétel (az összes %-ában)		
C14:0	2.15	0.85
C16:0	23.25	14.03
C18:0	4.50	4.22
C18:1 (n-9)	27.59	21.03
C18:2 (n-6)	29.49	48.39
C18:3 (n-3)	7.38	5.18
C20:1 (n-9)	0.34	0.21
C20:5 (n-3)	0.21	0.38
C22:4 (n-6)	0.22	0.29
C22:5 (n-3)	0.23	0.32
egyéb	4.64	5.10

5. melléklet A szérumból metabolitok (4.2., 4.4.) és a frakcionált izom-lipidek (4.1.7., 4.1.8.; 4.3.6., 4.3.7.) vizsgálatára beállított kísérletben etetett növedéknyúltáp kémiai- és zsírsavösszetétele

Kémiai összetétel		
Szárazanyag	%	88.0
Nyersfehérje	%	16.0
Nyerszsír	%	3.9
Nyersrost	%	15.5
DE nyúl (számított)	MJ/kg	10.3
Zsírsav összetétel		
C8:0	%	0.52
C14:0	%	0.43
C16:0	%	20.72
C16:1 (n-7)	%	0.71
C17:0	%	0.21
C18:0	%	5.17
C18:1 (n-9)	%	22.07
C18:2 (n-6)	%	43.54
C18:3 (n-3)	%	5.45
C20:0	%	0.44
C20:1 (n-9)	%	0.74
C20:4 (n-6)	%	0.00



DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

SZABÓ ANDRÁS

**KAPOSVÁRI EGYETEM
ÁLLATTUDOMÁNYI KAR**

2004

