

The influence of dietary supplementation with flax-seed oil on modulation of lipid metabolism in gnotobiotic piglets

Pošivák Ján^{1*}
Mudroňová Dagmar¹
Nemcová Radomíra¹
Gancarčíková Soňa¹
Kaštiel Rudolf²
Lazar Gabriel¹
Pošiváková Terézia³
Ondrašovičová Silvia¹
Pleva László⁴

J. Pošivák^{1*}
D. Mudroňová¹
R. Nemcová¹
S. Gancarčíková¹
R. Kaštiel²
G. Lazar¹
T. Pošiváková³
S. Ondrašovičová¹
L. Pleva⁴

1. Kassai Állatorvosi és Gyógyszerészeti Egyetem
Komenského 73
041 81 Kassa, Szlovákia

*e-mail: jan.posivak@uvlf.sk

2. Pavol Jozef Šafárik Egyetem
Orvosi Kar,
Kassa, Szlovákia

3. Eperjesi Egyetem Bölcsészettudományi és Természettudományi Kar Ökológiai és Környezetvédelmi Tanszék

4. Magánállatorvos,
Alsószelei (Dolné Saliby), Szlovákia

A lenmagolajjal végzett takarmánykiegészítés hatása a gnotobiotikus malacok lipidanyagcseréjére

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők tanulmányukban a többszörösen telítetlen omega-3 zsírsavakban gazdag lenmagolaj alkalmazásának hatását vizsgálták probiotikus *Lactobacillus* inokulált gnotobiotikus malacok lipidanyagcseréjére. Nyílt hisztrektómia útján nyert csíramentes malacokat két csoportra (kísérleti és kontroll) osztották. Az állatokat az életük 1. napján probiotikus *Lactobacillus plantarum* – BiocenoITM LP96 törzssel inokulálták. A kísérleti csoport malacainak étrendjét nagy omega-3 PUFA-tartalmú lenmagolajjal egészítettük ki, míg a kontrollmalacok azonos mennyiségű, csak omega-6 PUFA-t tartalmazó napraforgóolajat kaptak. Az eredmények szerint a lenmagolaj jelentős mértékben befolyásolta a lipidanyagcsere paramétereit. Lenmagolaj adását követően a triacilglicerolok koncentrációja kisebb volt. Az összes koleszterinszintet hasonlóan találtuk a két csoportban, de a HDL-koleszterin szintje nagyobb, az LDL-koleszterin szintje kisebb volt a kísérleti állatokban. A lenmagolaj takarmánykiegészítő hozzáadása jelentősen megnövelte az eikozapentaénsav és a dokozahexaénsav hányadát a szérumlipidekben az arachidonsav rovására, amelynek koncentrációja szignifikáns mértékben csökkent. Továbbá úgy találtuk, hogy a rövid láncú zsírsavak szintje csökkent a kísérleti állatokban a kontrollállatokhoz képest. Eredményeink arra utalnak, hogy a lenmagolaj az omega-3 PUFA megfelelő forrása, de az ilyen takarmánykiegészítés maximális hatásához egészséges bélflóra szükséges.

SUMMARY

The authors examined the effect of the application of flax-seed oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids on the lipid metabolism in gnotobiotic pigs inoculated with probiotic lactobacilli. Germ-free piglets were obtained via open hysterotomy and divided into 2 groups – experimental and control. All animals were inoculated from the 1st day of life with probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* – BiocenoITM LP96. The diet of piglets in the experimental group was supplemented with flax-seed oil with high content of omega-3 PUFA and control piglets received the same amount of sunflower oil containing only omega-6 PUFA. The results showed significant influence of flax-seed oil on lipid metabolism parameters. Concentration of triacylglycerols was lower after the administration of flax-seed oil, the levels of total cholesterol were similar in both groups, but levels of HDL cholesterol were higher, while levels of LDL cholesterol were lower in experimental animals. The addition of flax-seed caused significant increase in proportion of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in serum lipids at the expense of arachidonic acid, the concentration of which decreased significantly. We also noted an increase in the level of short chain fatty acids in experimental piglets compared to the control animals. Flax-seed oil seems to be a suitable source of omega-3 PUFA, but healthy gut microbiota is necessary for maximal effect of such supplementation.

SERTÉS

Az étrend és a lipidanyagcsere rendkívül fontos szerepet tölt be a kardiovaszkuláris betegségek etiológiájában és patogenezisében. A lipidanyagcsere étrend útján történő befolyásolása optimális módszert nyújt a betegségek hatékony megelőzéséhez. A többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA) és származékaik, az eikozanoidok a biológiailag aktív lipidvegyületek közé tartoznak.

A többszörösen telítetlen zsírsavakat az emlősök nem képesek szintetizálni, ezért azokat táplálék útján kell bevinni

Az ω -6 és az ω -3 zsírsavak 2-4 : 1 arányban való bevitele jótékony hatású lehet számos betegség megelőzésében

A PUFA-k élelmezési alkalmazásának lehetősége nagy jelentőségű. Amellett, hogy részt vesznek a szervezet energiaellátásában, a PUFA-k a szöveti frakciók alapvető részét is képezik (35). Lokális hormonok szerepében a szervezet fontos élettani funkciót szabályozzák.

Az ω -3 PUFA étrend-kiegészítőként való alkalmazásának lehetséges előnyeit nagy érdeklődés övezi. Az ω -6 és ω -3 sorozat prekursorait képző linolénsav és α -linolénsav egyaránt esszenciális zsírsav, mivel az emlősök szervezetében nem szintetizálhatók más zsírsavakból. Az emlősök szervezetéből hiányoznak azok az enzimek, amelyek kettős kötést hoznak létre a zsírsavlánc kilencedik szénatomja előtt. Ezért táplálék útján kell bevinniük az esszenciális zsírsavakat (13). Sok tanulmány vizsgálja az ω -6 és az ω -3 PUFA optimális arányát a humán étrendben. A szerzők többsége úgy találta, hogy a 2-4 : 1 ω -6 : ω -3 PUFA-arány jótékony hatással volt különféle (szív és érrendszeri, gyulladáscsökkentő, daganatos vagy autoimmun) betegségek megelőzésére vagy enyhítésére, de a nyugati étrendben kevés az ω -3 PUFA, ezért a tényleges arány megközelítőleg 15-17 : 1. A vizsgálatok megerősítették, hogy az ennyire magas ω -6 : ω -3 arány elősegíti az említett betegségek körfejlődését (32). Az omega-3 PUFA-k ismert gyulladáscsökkentő és antiproliferatív hatást fejtenek ki az immunrendszer sejtjeire (5, 16). Az esszenciális PUFA-k a sejtmembránok strukturális összetevői, és prekursorokként szolgálnak a humorális és sejtes immunválaszok fontos modulátorai, az eikozanoidok termelése során. Az eikozanoidok az eikozapentaénsav származékai, és gyengébb a gyulladáscsökkentő, értágító és véralvadásgátló hatásuk, míg immunszuppresszív hatásuk nincs (6, 11).

A gasztrointesztinális mikroflóra befolyásolja a lipidanyagcserét. A gnotobiotikus állatok optimális modellek a gasztrointesztinális mikroflóra szerepének vagy különféle anyagok hatásmechanizmusának tanulmányozásához, mivel emésztőrendszerük csíramentes, vagy minimális mennyiségű mikroorganizmust tartalmaz.

Hipotézisünk azon a tényen alapult, hogy az ω -3 PUFA-k pozitív hatást fejtenek ki az anyagcsere és az emésztőrendszer jótékony baktériumok általi kolonizációjára (3, 19, 25), másrészt pedig a bélflóra befolyásolja a lipidanyagcserét (10, 14, 26). A hipotézis további vizsgálatához korlátozott mértékben kolonizált emésztőrendszeren alapuló kísérletes modellre van szükség.

Vizsgálatunk céljának megfelelően azt tanulmányoztuk, hogy milyen hatással van az emelt omega-3 PUFA-tartalmú lenmagolaj a kizárólag probiotikus *Lactobacillus plantarum* – BiocenoTM LP96 törzssel végzett inokulációban részesített gnotobiotikus malacok lipidanyagcsere-paramétereire.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

ÁLLATOK, ELHELYEZÉS ÉS ÉTREND

A Szlovák Köztársaság Állami Állat-egészségügyi és Élelmiszer-ellenőrző Hatósága jóváhagyta az 1909/06-221. számú protokollt, és az állatokat az etikai bizottság által jóváhagyott irányelveknek megfelelő humánus módon kezeltük és öltük le. A vizsgálatba bevont nyolc csíramentes malacot 2 csoportra (kísérleti és kontrollcsoport, csoportonként 4 malac) osztottuk. A malacokat a vemhesség 113. napján, nyílt hisztrektómia útján nyertük. A két csoportot tároló, állattartó és hulladék

A kísérletet császármetszés útján született, majd *Lactobacillus plantarum*-mal inokulált malacokon végezték

A kísérleti csoport a tejpótlón kívül ω -3-at tartalmazó lenmagolaj-kiegészítést, míg a kontrollcsoport tejpótlójába ω -6-tartalmú napraforgóolajat adagoltak

izolátorokból álló, külön gnotobiotikus egységben tartottuk. A szlovák White Improved és Landrace keresztezéséből származó malacok testtömege 1,2–1,9 kg volt. Autoklávozott tejpótlót (Sanolac Ferkel, Sano, Németország) kaptak, a száraz tejpótlót desztillált vízzel (1 : 5 arányban) hígítva. A tejpótló összetétele az 1. táblázatban található. A malacokat egyenként, napi hat alkalommal *ad libitum* etettük, és szabadon fogyaszthattak vizet. A malacok életük 2. napján vasat (Ferribion, Bioveta, Szlovák Köztársaság; állatonként 2 ml im.), valamint A-, D- és E-vitamint (Axetocal, Biotika, Szlovák Köztársaság; állatonként 2 ml im.) kaptak. A malacokat az életük 1. napján egészséges szopós malacok béltartalmából izolált probiotikus *Lactobacillus plantarum* – BiocenoTM LP96 törzsszel inokuláltuk. Az állatok mindkét csoportban naponta egyszer, 2 ml (1×10^9 CFU/ml) dózisban kaptak lactobacillust. A kísérleti csoport malacainak étrendjét a Flanders (Agrola Kožušice, Cseh Köztársaság) kultúrfajtából származó, nagy omega-3 PUFA-tartalmú lenmagolajjal egészítettük ki a következők szerint: az élet első hetében naponta egyszer 0,5 ml, a második héten 1,0 ml, a harmadik héten 1,5 ml dózis. A kontrollmalacok étrendjét azonos mennyiségű, csak omega-6 PUFA-t tartalmazó napraforgóolajjal egészítettük ki. A két olaj zsírsav-összetétele a 2. táblázatban található. A vérmintákat az alsó szemgödri vénás öbölből vettük le a 7., 14. és 21. napon.

ANYAGCSERE-MUTATÓK

A szérum összes lipid, összes fehérje, glükóz, triglicerid, összes koleszterin, LDL- és HDL-koleszterin szintjeit egy automatikus biokémiai analizátoron (Liasys, AMS, Olaszország), biokémiai készletek (Dialab, Cseh Köztársaság) segítségével elemeztük.

RÖVID LÁNCÚ ZSÍRSAVAK

Az ecetsavat, vajsavat és β -hidroxi-vajsavat kapilláris izotachoforézis (ITP) segítségével határoztuk meg, 10^{-2} mol/l HCl-ot használva vezető elektrolitként.

1. TÁBLÁZAT. A Sanolac Ferkel tejpótló összetétele

TABLE 1. Composition of milk substitute Sanolac Ferkel

Lipidek	18%	Mg	0,2%	B ₁₂ -vitamin	20 µg
Nyersfehérje	20%	Fe	100 mg	C-vitamin	100mg
Tápérték	17,5 MJ	A-vitamin	50 000 NE	Biotin	200 µg
Rost	1,5%	D ₃ -vitamin	5000 NE	Pantoténsav	10 mg
Lizin	1,7%	E-vitamin	100 mg	Nikotinsav	20 mg
Ca	0,9%	B ₁ -vitamin	4 mg	Folsav	1 mg
P	0,7%	B ₂ -vitamin	4 mg	Kolin	250 mg
Na	1,0%	B ₆ -vitamin	2 mg		

2. TÁBLÁZAT. Lenmagolaj és napraforgóolaj zsírsav-tartalmának százalékos összetétele (%)

TABLE 2. Fatty acid composition of flax-seed and sunflower oils expressed in percentage (%)

Zsírsav	Lenmagolaj	Napraforgóolaj
Lipidek (szárazanyagra számítva)	45,8	n.k.
Palmitinsav, C16:0	5,1	6,3
Sztearinsav, C18:0	3,7	3,2
Oleinsav, C18:1	18,4	22,6
Linoleinsav, C18:2	16,1	67,9
Linolénsav, C18:3	56,8	0

n.k. – nem kimutatható

*Vizsgálták a vérminták
anyagcsere-értékeit,
rövid láncú, ill.
többszörösen telítetlen
zsírsavtartalmát*

5×10^{-3} mol/l koncentrációjú kapronsav volt a záró elektrolit. Egy ml vérszérumot pipettáztunk ki, és 1 : 10 arányban desztillált, ionmentes vízzel hígítottuk. A szűrt mintából 30 μ l aliquotot fecskendeztünk be az izotachoforézis- (ITP) kapillárisba. A további részletekért lásd: (18).

TÖBBSZÖRÖSEN TELÍTETLEN ZSÍRSAVAK

A gamma-linolénsavat (GLA), eikozapentaénsavat (EPA), dokozahexánsavat (DHA) és arachidonsavat (AA) gázkromatográfiával mértük a malacok életének 21. napján. A gázkromatográfiás vizsgálatra szánt mintákat a lipidek hidrolízisével és észterifikálásával készítettük elő: 50 μ l benzolt adtunk a kémcsőben található maradékhoz, keverőgép segítségével összekevertük, majd hozzáadtunk 2 ml 0,5 mol/l KOH-ot etanol és víz 9 : 1 arányú keverékében. A kémcsövet lezártuk, összekevertük a tartalmát, majd a keveréket 80 °C-on 1 órán át hidrolizáltuk. Laboratóriumi hőmérsékletre hűtést követően 0,5 ml desztillált vizet adtunk hozzá, és még egyszer összekevertük. Három ml n-hexán hozzáadása után a hidrolizált lipideket rázással 5 percig extraháltuk, majd a cső tartalmát 5 percig 5300 g-n centrifugáltuk. A felső hexánréteget vízsugárszivattyú segítségével eltávolítottuk, az alsó réteget pedig további 3 ml n-hexánnal újraextraháltuk, 0,35 ml 3 mol/l HCl hozzáadásával savanyítottuk, és összekevertük. További 5 ml-es n-hexán adagot adtunk hozzá, és az extrahálás után a keveréket centrifugáltuk.

A felső extrakciós fázisokat átvittük egy teflondugóval ellátott csőbe. Ezzel a mintát előkészítettük az észterifikálásra. A n-hexánt nitrogén alatt elpárologtattuk, a száraz maradékot 1 ml hexánban oldottuk, 0,1 ml transzészterifikáló reagenst adtunk hozzá, és a keveréket rázással összekevertük. 20 perc múltán a reagens piros rétegben a cső aljára ülepedett. A keveréket 0,7 ml metanolos HCl-oldattal semlegesítettük (keverés után a piros réteg eltűnik), és laboratóriumi hőmérsékleten 45 percig állni hagytuk. A felső hexánréteget átvittük egy tiszta csőbe, és a hexánt nitrogén alatt elpárologtattuk. A maradékot 100 μ l hexánban oldottuk és a gázkromatográf oszlopára injektáltuk.

A gázkromatográfiás elemzés körülményei: a zsírsavak kromatográfiás meghatározásához Carlo Erba HRGC 5300 (Carlo Erba Strumentazione S. p. A., Milano, Olaszország) gázkromatográfot használtunk. A használt kapilláris hossza 30 m (ZB-WAX), belső átmérője 0,53 mm volt (ZEBRON Capillary GC, gyártó: Phenomenex, USA). Az álló fázis polietilén-glikol volt, a hordozó gáz nyomása $0,8 \times 10^5$ Pa, a hidrogén áramlási sebessége 28 cm^3/min , a levegő áramlási sebessége 500 cm^3/min , a detektor hőmérséklete 250 °C, az átfolyó oszlop hőmérséklete pedig 180 °C. Lángionizációs detektort (FID) használtunk. Az oszlopra injektált térfogat 2 μ l volt (a zsírsav-metilészterek kb. 5%-os oldata). Az integráláshoz APEX-CSW1.7 számítógépes szoftvert használtunk.

STATISZTIKAI ELEMZÉS

Az eredményeket számtani középérték \pm szórás formájában tüntettük fel. A kísérleti és kontrollcsoportok közötti statisztikai eltéréseket a GraphPad PRISM statisztikai program (verziószám: 3.00) segítségével végzett t-tesztel értékeltük.

EREDMÉNYEK

A szérum összesfehérje-szintjét nem befolyásolták jelentősen a kísérleti körülmények, és minden malac és minta esetében a 29,23–34,12 g/l tartományba estek. A glükózsint minden állat esetében a fiziológiai tartományba esett, és nem észleltünk jelentős különbséget a csoportok között. Az életkor növekedésével azonban a glükózsint emelkedését figyeltük meg: 7 napos korban az átlagérték $3,54 \pm 0,46$ mmol/l, a kísérlet végén pedig $4,64 \pm 0,61$ mmol/l volt. A lenmagolajat

A HDL-koleszterin szintje nagyobb, míg az LDL-koleszterin szintje kisebb volt a kísérleti csoportban

A kísérleti malacokban megnövekedett a rövid láncú zsírsavak szérumkoncentrációja

kapó állatoknál kissé megnövekedett az összlipid-szint. A glükózszinthez hasonlóan az összlipid-koncentráció is életkorfüggőnek mutatkozott (1. ábra).

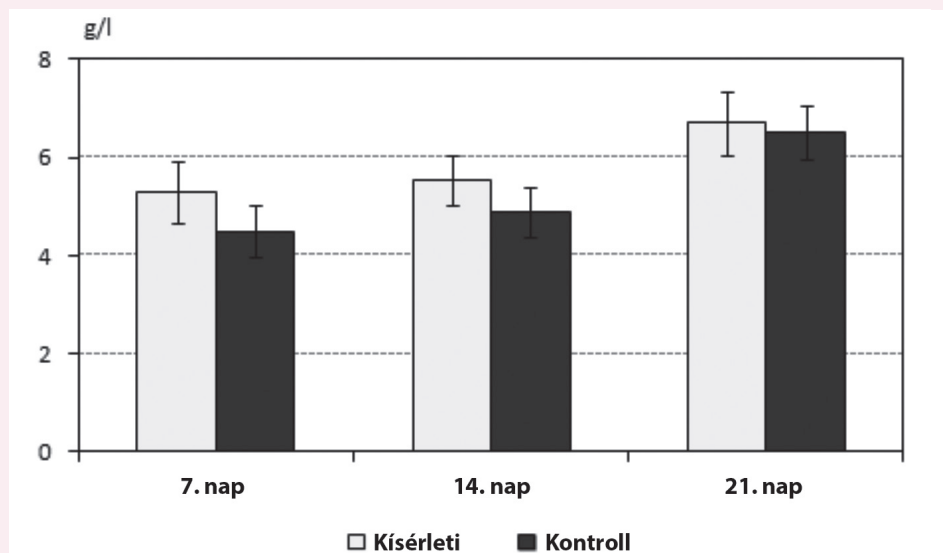
Ezzel szemben a triacilglicerolok koncentrációja kisebb lett a lenmagolaj alkalmazását követően, és a 14. napon szignifikáns volt a különbség ($p < 0,05$) (2. ábra). Az összkoleszterin-koncentrációja hasonló volt a két csoportban (3. ábra), de a HDL-koleszterin szintje nagyobb (4. ábra), míg az LDL-koleszterin szintje kisebb (5. ábra) volt a kísérleti csoport állataiban. Mindkét esetben a 14. napon szignifikáns volt a különbség a kísérleti és a kontrollcsoport között ($p < 0,05$).

A rövid láncú zsírsavak mérése azt mutatta, hogy a kontrollállatokhoz képest a kísérleti malacokban megnövekedett a zsírsavak szintje. Szignifikáns különbséget mértünk a kísérleti és a kontrollmalacok között a 14. és a 21. napon az acetát (6. ábra) és a β -hidroxi-butirát (7. ábra) szintjében, míg a butirát esetében csak a 21. napon volt szignifikáns a különbség (8. ábra).

Megfigyeléseink szerint a lenmagolaj kiegészítő adása szignifikánsan ($p < 0,05-0,01$) megnövelte az eikozapentaénsav (EPA) és a dokozahexánsav (DHA) hányadát a szérumlipidekben az arachidonsav (AA) rovására, amelynek koncentrációja jelentős mértékben csökkent ($p < 0,05$) a kísérleti malacokban a kontrollhoz viszonyítva, míg a gamma-linolénsav szintje nem változott jelentős mértékben (9. ábra).

1. ÁBRA. Összlipidtartalom a gnotobiotikus malacok vérében ($n = 4$)

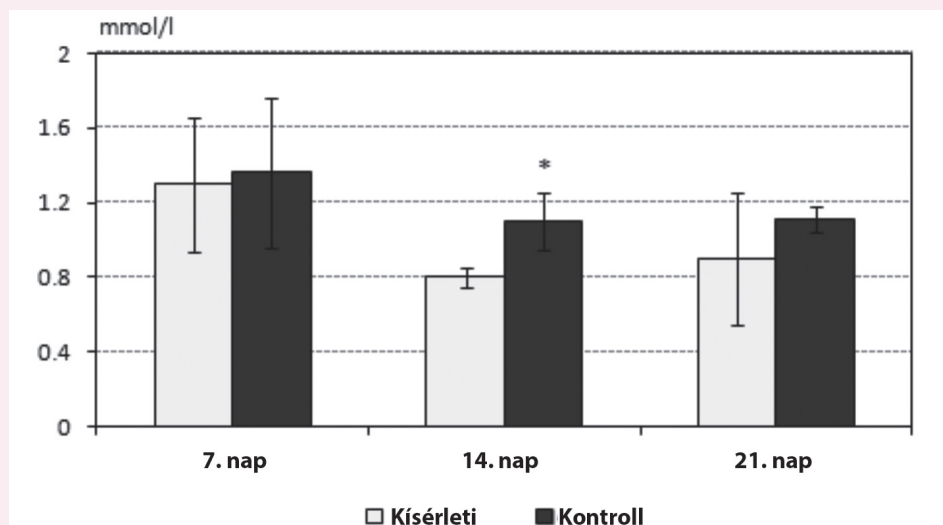
FIGURE 1. Total lipids in the blood of gnotobiotic piglets ($n = 4$)



2. ÁBRA. Össztriacilglicerol-tartalom a gnotobiotikus malacok vérében ($n = 4$)

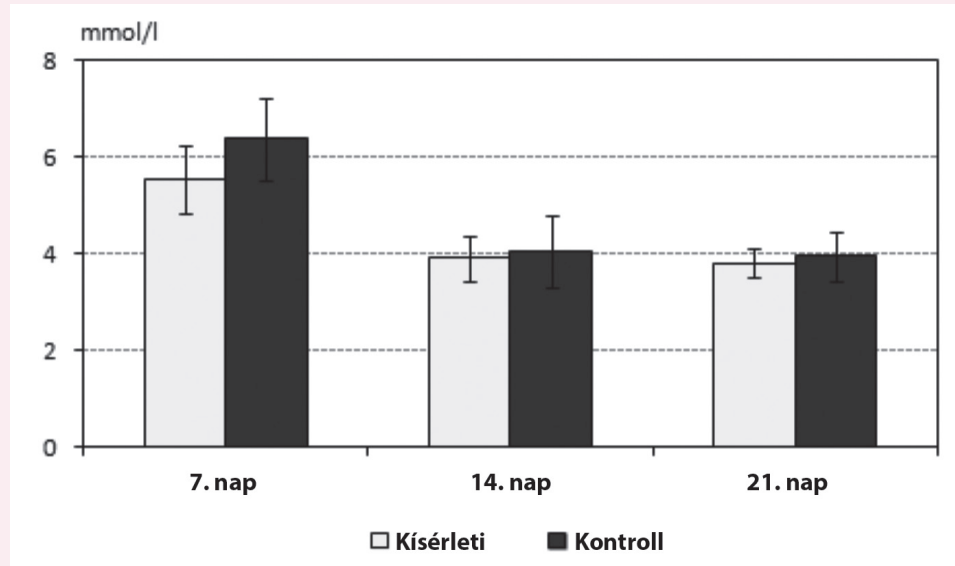
* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

FIGURE 2. Triacylglycerols in the blood of gnotobiotic piglets ($n = 4$)



3. ÁBRA. Összkoleszterin-tartalom a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4)

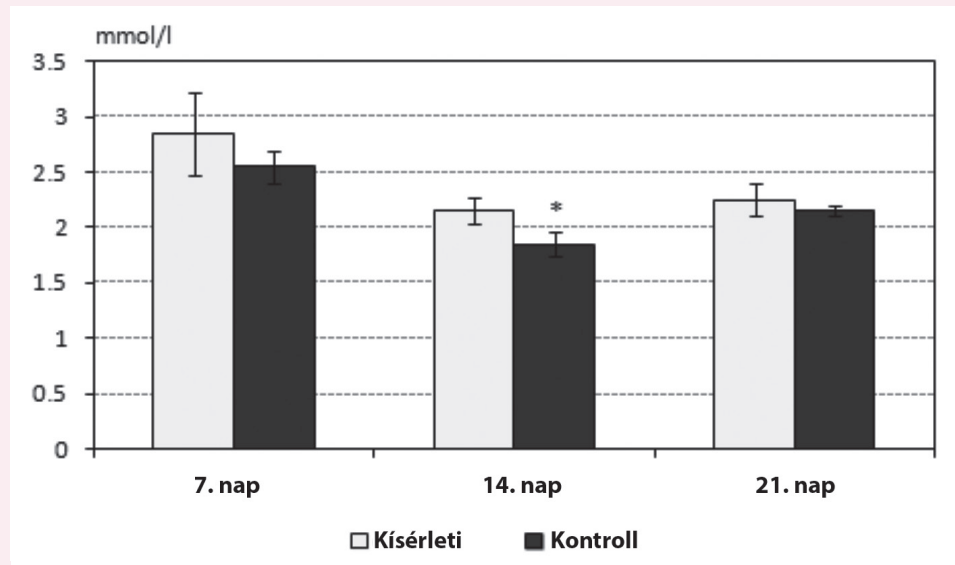
FIGURE 3. Total cholesterol in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4)



4. ÁBRA. HDL-koleszterin-tartalom a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4)

* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

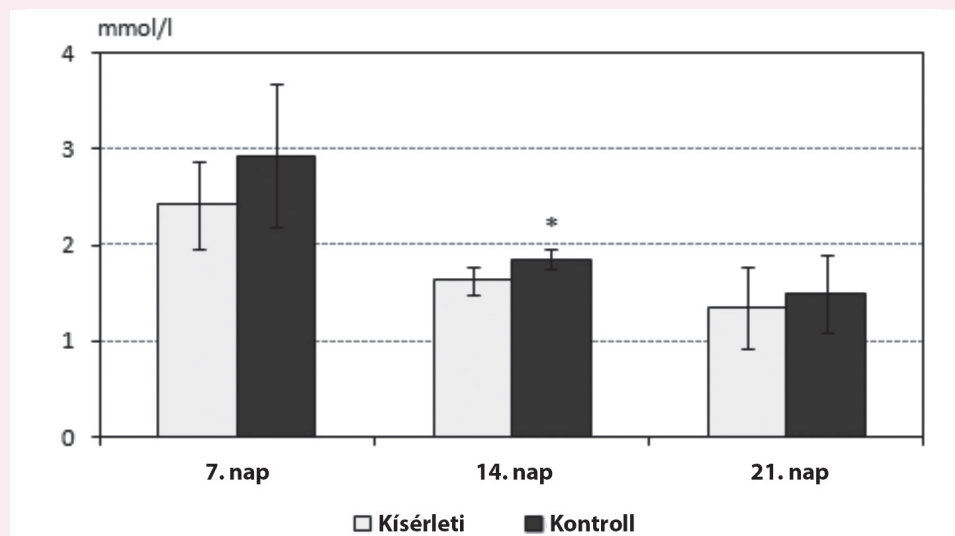
FIGURE 4. HDL cholesterol in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4)



5. ÁBRA. LDL-koleszterin-tartalom a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4)

* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

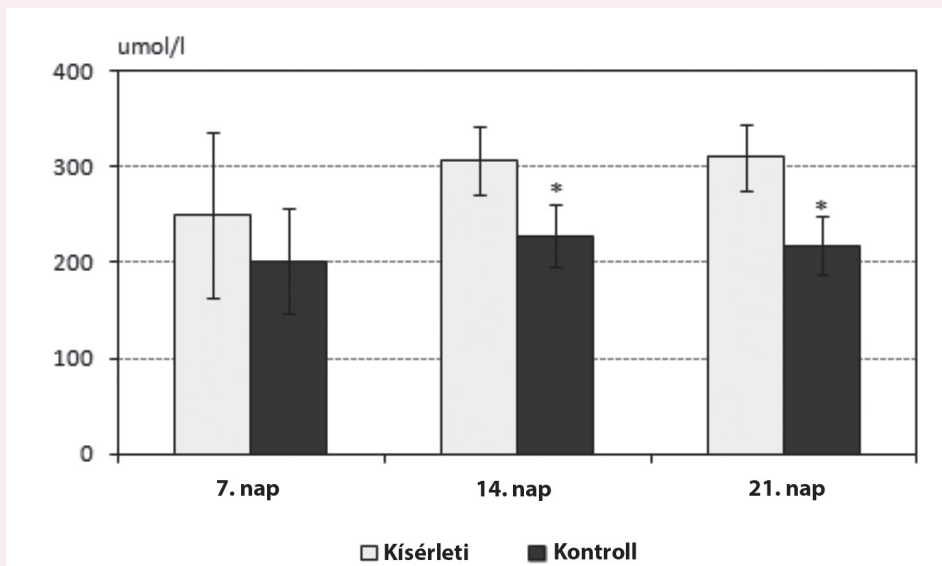
FIGURE 5. LDL cholesterol in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4)



6. ÁBRA. Acetáttartalom a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4)

* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

FIGURE 6. Acetate in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4)

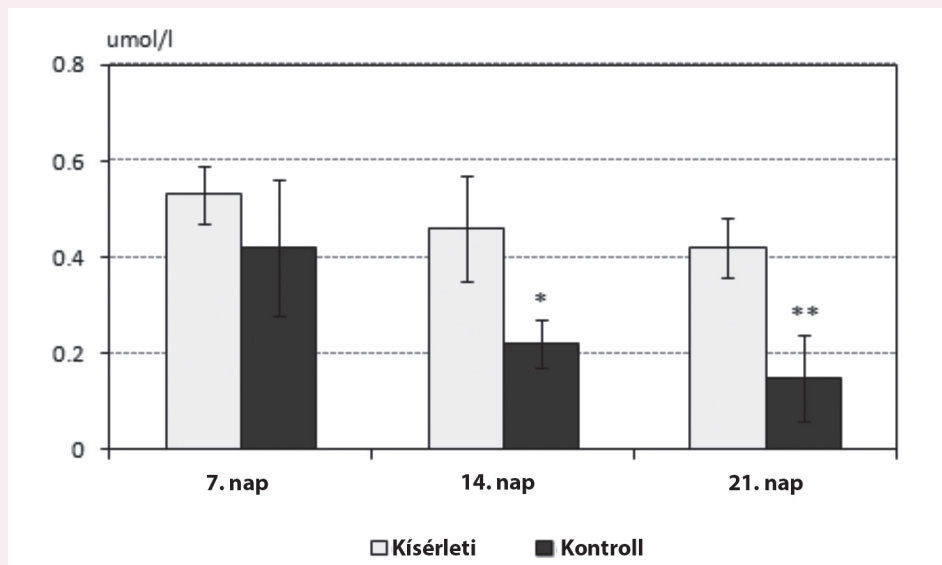


7. ÁBRA. Béta-hidroxibutirát-tartalom a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4)

* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

** Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,01$

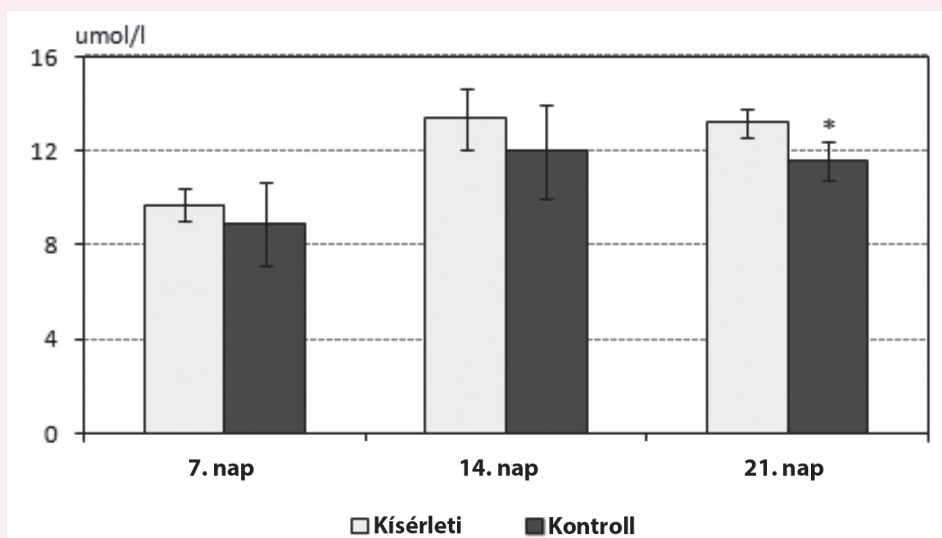
FIGURE 7. Beta-hydroxybutyrate in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4)



8. ÁBRA. Butiráttartalom a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4)

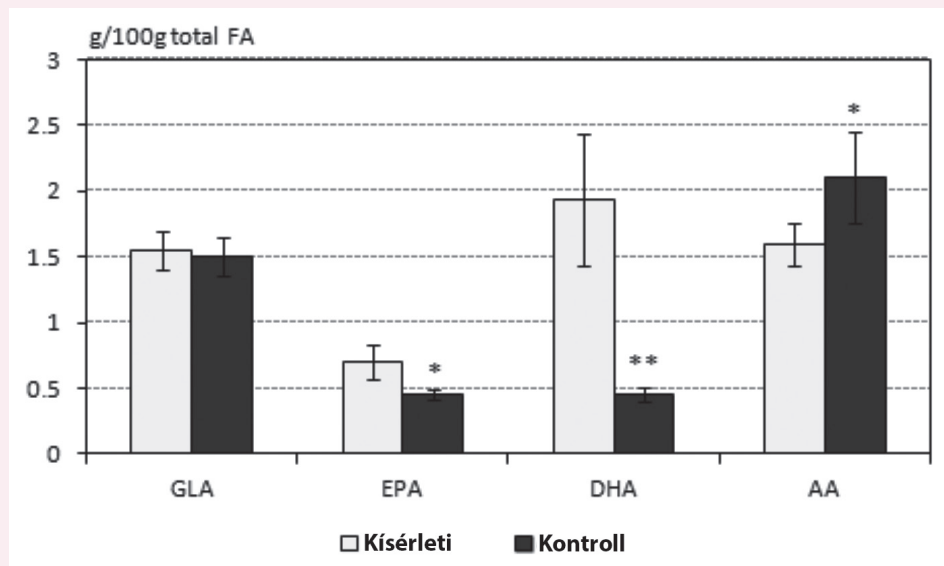
* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

FIGURE 8. Butyrate in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4)



9. ÁBRA. Többszörösen telítetlen zsírsavak a gnotobiotikus malacok vérében (n = 4) az élet 21. napján

FIGURE 9. Polyunsaturated fatty acids in the blood of gnotobiotic piglets (n = 4) on the 21st day of life



GLA – gamma-linolénsav, EPA – eikozapentaénsav, DHA – dokozahexánsav, AA – arachidonsav

* Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,05$

** Szignifikáns eltérés a kísérleti állatoktól, $p < 0,01$

A lenmagolaj formájában az étrendhez adott ω -3 zsírsavak szignifikáns hatást fejtettek ki a gnotobiotikus malacok vérében megfigyelt lipidanyagcsere-mutatókra

A 14. napra szignifikáns mértékben csökkent a kísérleti állatok szérumának trigliceriol- és LDL-koleszterin szintje és nőtt a HDL-koleszterin mennyisége

MEGVITATÁS

Kísérleteink eredménye arra utalt, hogy a lenmagolaj formájában az étrendhez adott omega-3 PUFA-k szignifikáns hatást fejtettek ki a gnotobiotikus malacok vérében megfigyelt lipidanyagcsere-mutatókra. Mivel a kísérletet egyetlen probiotikus *Lactobacillus*-fajjal (*Lactobacillus plantarum* – Biocenol™ LP96) inokulált malacokon végeztük, minimálisra csökkentettük a gasztrointesztinális mikroflóra befolyását. Az ω -3 vagy ω -6 PUFA-k hozzáadása nem befolyásolta a vérében a teljes fehérje-szintjét, amely azonban hozzávetőlegesen kétszer kisebb volt, mint a gnotobiotikus malacok specifikus fiziológia jellemzőire és étrendjére (autoklávozott tejpótló) vonatkozó fiziológiai határérték. Ez az eredmény összhangban van a gnotobiotikus malacokon végzett korábbi vizsgálatainkkal (1, 4). A glükózsztint minden állatban a fiziológiai tartományon belül volt, de a malacok életkorával növekedett, ami ugyancsak összhangban van a fent említett tanulmányok eredményeivel. Mivel a malacok mindkét csoportban azonos mennyiségű olajat kaptak (a kísérleti csoportban lenmagolajat, a kontrollcsoportban napraforgóolajat), az étrend kiegészítése nem befolyásolta a szérum összlipidszintjét. Szignifikánsan kisebb triacilglicerol-szintet figyeltünk meg azonban a kísérleti állatoknál az életük 14. napján. Kimutatták, hogy a megnövekedett szérum triacilglicerol-szint a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásának független kockázati tényezőjét képviseli (15). A vér megnövekedett koleszterinszintje, és különösen a kisebb HDL-koleszterinszinttel kísért nagyobb LDL-koleszterinszint is a szív-koszorúér-betegség kockázatai közé tartozik (12). Az ω -3 PUFA-k adását követően a szérum triacilglicerol, összkoleszterin vagy LDL-koleszterin szintjének csökkenését és HDL-koleszterin szintjének növekedését több szerző igazolta állatokban (7, 9, 19, 34) és emberben is (29, 30, 31, 33). Vizsgálatunkban nem találtunk különbséget az ω -3, ill. ω -6 PUFA-t kapó állatok szérumának összlipid- és összkoleszterin-szintjében, és csak az ω -3 PUFA adásának 14. napján figyeltünk meg szignifikáns mértékben csökkent szérum triglicerid- és LDL-koleszterinszintet

A kísérleti állatokban nagyobb volt a rövid láncú zsírsavak mennyisége. Közülük a butirát gyulladáscsökkentő és jótékony hatású a vastagbél-nyálkahártya betegségeinek megelőzésében

és megnövekedett HDL-koleszterinszintet. A hivatkozott szerzők többsége ennél jelentősebb változást észlelt a fenti paraméterekben, de kísérleteiket hagyományos alanyokon végezték. Ez bizonyítéka annak, hogy milyen erősen befolyásolja a bélflóra a koleszterin-anyagcserét. A bélbaktériumok elősegíthetik a primer epesavak dekonjugációját, dehidrogénezését és dehidroxilezését a vékonybél disztális szakaszában és a vastagbélben, valamint a koleszterint koprosztanollá és kisebb mennyiségben koprosztanonná redukálhatják. A koleszterinnel ellentétben a koprosztanol csak kevésbé szívódik fel a bélből, ezért a koprosztanol-képzés a humán szérum-koleszterinszintet és a kardiovaszkuláris betegségek kockázatát csökkentő egyik lehetséges megoldásnak tekinthető (10, 36).

A rövid láncú zsírsavak (SCFA) főként az étellel bevitt poliszacharidok vastagbélben végbemenő fermentációja során képződnek, és butirát > propionát > acetát sorrendben fontos energiaforrást jelentenek a vastagbél-nyálkahártya számára (14). A butirát jótékony hatású metabolitnak tekinthető, mivel a proinflammatorikus faktorok, például a TNF- α , az IL-1 β és az IL-6 csökkentése révén gyulladáscsökkentő hatást fejt ki, valamint pozitív hatással van a colonocyták növekedésére és differenciálódására, és ennél fogva fontos szerepet játszik a vastagbél-nyálkahártya betegségeinek megelőzésében (14, 22). A butirát mellett a β -hidroxi-butirát és az ω -3 PUFA-k is stimulálják a bélnyálkahártya fejlődését a bélbolyhok magasságának és ebből következően a nyálkahártya abszorpciós felületének növelése révén, ami támogatja a takarmányban található tápanyagok hasznosítását, a növekedést, valamint az energia és a tápanyagok konverzióját (2, 24). Felvetették, hogy a β -hidroxi-butirát hatékony energiaforrás az agy számára, és javíthatja a kognitív funkciókat (28). Az acetát a bakteriális fermentáció egyik fő terméke, amelyet a máj hasznosít, és ott hozzájárulhat a lipid- és koleszterinszintézishez. Vizsgálatunk során úgy találtuk, hogy a ω -3 PUFA-kban gazdag lenmagolajat kapó állatokban nagyobb volt az SCFA koncentrációja: a lenmagolaj alkalmazást követő 14. és 21. napon a kontrollhoz képest szignifikánsan nagyobb volt a butirát és az acetát szintje, míg a β -hidroxi-butirát esetében csak a 21. napon észleltünk szignifikáns emelkedést. Az ω -3 PUFA-val végzett étrend-kiegészítést követő β -hidroxi-butirát-szint emelkedését emberben és patkányban egyaránt kimutatták (21, 23). Ezzel szemben a kérődzőkön végzett vizsgálatok során a bendő butirátkoncentrációja lineárisan ($p < 0,05$) növekedett az étrendi ω -6 : ω -3 arány növekedésével, de nem befolyásolta a bendő acetát- és propionátkoncentrációját (20). RAES és mtsai (27) megerősítették, hogy a takarmány ω -6 : ω -3 zsírsav aránya befolyással van a kérődzők és a sertések tetemének zsírsavösszetételére, de egyes kérődzők esetében a bendőbaktériumokban található PUFA-k részleges hidrogénezése miatt ez a hatás kevésbé volt meggyőző. Mivel a mikrobiomnak van a legjelentősebb befolyása a fermentációs folyamatokra és termékekre, és a jelen vizsgálatban használt gnotobiotikus malacok kizárólag *L. plantarum* – BiocenoTM LP96 inokulációban részesültek, feltételezhető, hogy amennyiben rendelkezésre állnak a specifikus PUFA-források, ez a törzs befolyásolni képes az SCFA-termelést (17). Úgy találták, hogy a lactobacillusok képesek arra, hogy a tenyészközegben található szabad PUFA-kat beépítsék különféle zsírsavakba. Továbbá az étrendhez adott PUFA-k más zsírsavak arányának PUFA-függő változását is előidézték, és ez a jelenség a lactobacillus törzstől függött.

A gnotobiotikus malacoknak 21 napon át adott, linolénsavban gazdag lenmagolaj a kontrollállatokhoz képest megnövelte az EPA és a DHA szintjét, és egyidejűleg csökkentette az AA szintjét. Mások vizsgálatai is hasonló eredményeket adtak (3, 8, 19). A napraforgóolajat kapó kontrollmalacok perifériás vérében mért ω -6 : ω -3 arány 4 : 1, míg a lenmagolajat kapó malacoknál ez az arány 1,2 : 1 volt. Megerősítést nyert, hogy a nyugati étrendre jellemző nagy ω -6 : ω -3 arány elősegíti, míg a kis ω -6 : ω -3 arány (magasabb ω -3 PUFA-szint) gátolja sokféle

A takarmányba kevert nagy mennyiségű PUFA elősegítheti a lipidek oxidációját, ezért antioxidánsok alkalmazása is javasolt

betegség, pl. a kardiovaszkuláris betegségek, a daganatos, valamint a gyulladáso és autoimmun betegségek patogenezisét (32). Továbbá, az ω -3 PUFA-t nagyobb arányban tartalmazó takarmánnyal etetett sertések húsa e zsírsavak (főként az EPA és a DHA) természetes forrásaként szolgál az ember számára, és a lenmagolaj megfelelő forrásnak tűnik. A takarmány nagy ω -3 PUFA-koncentrációja azonban megnövelheti a lipidek oxidációját, és így módon csökkentheti a hús minőségét. Következésképpen az ilyen típusú takarmányt antioxidánsokkal kell kiegészíteni (37).

KÖVETKEZTETÉS

Vizsgálatunk megerősítette, hogy a ω -6 PUFA-t kapó malacokhoz viszonyítva a nagyobb ω -3 PUFA-tartalmú lenmagolaj alkalmazása pozitív hatást fejt ki a gnotobiotikus malacok lipidanyagcserejére. A megnövelt ω -3 PUFA-bevitel a HDL-koleszterinszint emelkedéséhez és az LDL-koleszterinszint csökkenéséhez, az SCFA emelkedéséhez és az EPA- és DHA-szint szignifikáns megnövekedéséhez, valamint az AA-szint egyidejű emelkedéséhez vezetett a kísérleti állatok vérében. Mivel a hagyományosan tartott állatok esetében jelentősebb volt a lipidparaméterekre kifejtett hatás, az ω -3 PUFA takarmánykiegészítés maximális hatásához egészséges bélflórára van szükség.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A vizsgálat támogatója a Competence Centre for Biomodulators and Nutrition Additives (Biomodulátorok és Élelmiszeradalékok Kompetencia Központja) – Probiotech, č. 26220220152 és a VEGA 1/0435/11 projekt: „Modulation of intestinal biochemism, intestinal microflora and immune response of pigs by means of probiotic micro-organisms and flaxseed as a source of ω -3 PUFA and fibres” (Sertések intestinalis biokémiájának, intestinalis mikroflórájának és immunválaszájának modulációja probiotikus mikroorganizmusok ω -3 PUFA és rostforrásként szolgáló lenmag segítségével).

A munka a Növényvédőszeres Nemzeti Referencialaboratóriuma támogatásával jött létre, amely a Kassai UVLF egyetem mellett működik.

IRODALOM

- BOMBA, A. – GANCARCIKOVA, S. et al.: The effect of lactic acid bacteria on intestinal metabolism and metabolic profile of gnotobiotic pigs. *Deut. Tierärz. Woch.*, 1998. 105. 384–389.
- BOMBA, A. – JONECOVA, Z. et al.: The improvement of probiotics efficacy by synergistically acting components of natural origin: a review. *Biologia*, 2006. 61. 729–734.
- BOMBA, A. – NEMCOVA, R. et al.: Improvement of the probiotic effect of micro-organisms by their combination with maltodextrin, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. *Br. J. Nutr.*, 2002. 88. 95–99.
- BULECA, V. – GANCARCIKOVÁ, S. et al.: The influence of application of flax-seed oil and probiotics on biochemical blood parameters in gnotobiotic piglets infected by *e.coli* o8:k88ab:h9. 30th Annual Meeting of the European Society for paediatric infectious diseases. Thessaloniki, Greece, may 8K12, 2012. <http://www.eposter-online.com/esp/2012/?q=node/2799>.
- CALDER, P. C.: Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*, 2001. 36. 1007–1024.
- CALDER, P. C.: n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006. 83. 1505–1519.
- CRESPO, N. – ESTEVE-GARCIA, E.: Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. *Poult. Sci.*, 2002. 81. 1533–1542.
- DAS, U. N.: Essential fatty acids as possible enhancers of the beneficial action of probiotics. *Nutrition*, 2002. 18. 786–789.
- JEFFERY, N. M. – SANDERSON, P. et al.: The ratio of n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat diés mtsaiters serum lipid levels and lymphocyte functions. *Lipids*, 1996. 31. 737–745.
- GÉRARD, P.: Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota. *Pathogens*, 2014. 3. 14–24.
- GOETZL, E. J.: Oxygenation products of arachidonic acid as mediators of hypersensitivity and inflammation. *Med. Clin. North Am.*, 1981. 65. 809–828.

12. GORDON, T. – CASTELLI, W. P. et al.: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: The Framingham Study. *Am. J. Med.*, 1977. 62. 707–714.
13. HALL, L. J. – LOPASCHUK, G. D. et al.: Increased cardiac fatty acid uptake with dobutamine infusion in swine is accompanied by a decrease in malonyl CoA levels. *Cardiovasc. Res.*, 1996. 32. 879–885.
14. HENNINGSSON, Å. – BJÖRCK, I. – NYMAN, M.: Short-chain fatty acid formation at fermentation of indigestible carbohydrates. *Scand. J. Nutr.*, 2001. 45. 165–168.
15. HOKANSON, J. E. – AUSTIN, M. A.: Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J. Card. Risk*, 1996. 3. 213–219.
16. HORROBIN, D. F.: Gamma linolenic acid: An intermediate in essential fatty acid metabolism with potential as an ethical pharmaceutical and as a food. *Rev. Contemp. Pharmacol.*, 1991. 1. 1–45.
17. KANKAANPÄÄ, P. – YANG, B. et al.: Effects of polyunsaturated fatty acids in growth medium on lipid composition and on physicochemical surface properties of lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004. 70. 129–136.
18. KASTEL, R.: *Stanovenie ketokyselín v sere hospodárskych zvierat metódou kapilárnej izotachoforézy*. Zborník 4. seminár Kapilárna elektroforéza. Bratislava, 1997. 63–64.
19. KASTEL, R. – BOMBA, A. et al.: The effect of probiotics potentiated with polyunsaturated fatty acids on the digestive tract of germ-free piglets. *Vet. Med.*, 2007. 52. 63–68.
20. KIM, S. C. – ADESOGAN, A. T. et al.: Effects of dietary n-6:n-3 fatty acid ratio on feed intake, digestibility, and fatty acid profiles of the ruminal contents, liver, and muscle of growing lambs. *J. Anim. Sci.*, 2007. 85. 706–716.
21. KUNEŠOVÁ, M. – BRAUNEROVÁ, R. et al.: The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. *Physiol. Res.*, 2006. 55. 63–72.
22. LAPARRA, J. M. – SANZ, Y.: Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacol. Res.*, 2010. 61. 219–225.
23. LIKHODII, S. S. – MUSA, K. et al.: Dietary fat, ketosis, and seizure resistance in rats on the ketogenic diet. *Epilepsia* 2000. 41. 1400–1410.
24. LÓPEZ-PEDROSA, J. M. – RAMÍREZ, M. et al.: Dietary phospholipids rich in long-chain polyunsaturated fatty acids improve the repair of small intestine in previously malnourished piglets. *J. Nutr.*, 1999. 129. 1149–1155.
25. NEMCOVÁ, R. – BOROVSÁ, D. et al.: The effect of supplementation of flax-seed oil on interaction of *Lactobacillus plantarum* – BiocenoI™ LP96 and *Escherichia coli* O8:K88ab:H9 in the gut of germ-free piglets. *Res. Vet. Sci.*, 2012. 93. 39–41.
26. NICHOLSON, J.K. – HOLMES, E. et al.: Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 2012. 336. 1262–1267.
27. RAES, K. – DE SMET, S. – DEMEYER, D.: Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat; a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004. 113,199–221.
28. REGER, M. A. – HENDERSON, S. T. et al.: Effects of beta-hydroxybutyrate on cognition in memory-impaired adults. *Neurobiol. Aging*, 2004. 25. 311–314.
29. ROCHE, H. M. – GIBNEY, M. J.: Effect of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on fasting and postprandial triacylglycerol metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000. 71. 232–237.
30. SANDERS, T. A. B. – HOCHLAND, M. C.: A comparison of the influence on plasma lipids and platelet function of supplements of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids. *Br. J. Nutr.*, 1984. 50. 521–529.
31. SIMOPOULOS, A. P.: Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991. 54. 438–463.
32. SIMOPOULOS, A. P.: The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.*, 2008. 233. 674–688.
33. SURETTE, M. E. – EDENS, M. et al.: Dietary Echium oil increases plasma and neutrophil long-chain (n-3) fatty acids and lowers serum triacylglycerols in hypertriglyceridemic humans. *J. Nutr.*, 2004. 134. 1406–1411.
34. ŠVEDOVÁ, M. – VAŠKO, L. et al.: Influence of linseed and fish oil on metabolic and immunological indicators of laying hens. *Acta Vet. Brno*, 2008. 77. 39–44.
35. THOMPSON, G. A.: *The regulation of Membrane Lipid Metabolism*. Baton Rouge, CRC Press. Florida, 1980. 70–76.
36. TREMAROLI, V. – BÄCKHED, F.: Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 2012. 489. 242–249.
37. WOOD, J. D. – RICHARDSON, R. I. et al.: Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.*, 2003. 66. 21–32.

Közlésre érkező: 2014. dec. 22.