

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

ELEK PÉTER

Keszthely

2008

PANNON EGYETEM
ÁLLAT- ÉS AGRÁRKÖRNYEZET-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

Jogelőd
ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

**A KÓROS ZSÍRANYAGCSERÉBŐL ADÓDÓ VESZTESÉGEK
CSÖKKENTÉSÉNEK LEHETŐSÉGE VÉDETT KOLIN
ALKALMAZÁSÁVAL NAGY TEJHOZAMÚ
TEHÉNÁLLOMÁNYOKBAN**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Írta
ELEK PÉTER

Témavezető
DR. HUSVÉTH FERENC

Társ-témavezető
DR. GAÁL TIBOR

Keszthely
2008

**A KÓROS ZSÍRANYAGCSERÉBŐL ADÓDÓ VESZTESÉGEK CSÖKKENTÉSÉNEK
LEHETŐSÉGE VÉDETT KOLIN ALKALMAZÁSÁVAL NAGY TEJHOZAMÚ
TEHÉNÁLLOMÁNYOKBAN**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:
ELEK PÉTER

Készült a Pannon Egyetem Állat- és Agrárkörnyezet-Tudományi Doktori Iskola keretében

Jogelőd:
Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Husvéth Ferenc

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

.....
(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: igen /nem

.....
(aláírás)

Bíráló neve:) igen /nem

.....
(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján% - ot ért el.

Keszthely, 2008.

.....
a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....
Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

	oldal
1. BEVEZETÉS	6.
2. KIVONATOK	8.
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11.
3.1. A kérődzők energiaellátásának általános jellemzése	11.
3.2. Az elléskörüli időszak metabolikus jellemzői bőtejelő tehenekben	14.
3.3. Kóros lipidanyagcsere következtében kialakuló megbetegedés: zsírmáj-szindróma és hatása a tejelő tehenek anyagcseréjére	18.
3.4. A lipidanyagcsere és a kolin metabolizmus összefüggései tejelő tehenekben	22.
3.5. Kolinkiegészítés hatása bőtejelő tehenek termelési mutatóira és lipid metabolizmusára	27.
4. CÉLKITŰZÉS	30.
5. SAJÁT VIZSGÁLATOK	33.
5.1. I. kísérlet	33.
5.1.1. Kísérleti anyag és módszer	33.
5.1.1.1. Kísérleti állatok és elhelyezésük	33.
5.1.1.2. Kísérlet elrendezése és kezelések	34.
5.1.1.3. Mintagyűjtés és analitikai eljárások	36.
5.1.1.4. Statisztikai elemzés	37.
5.1.2. Kísérleti eredmények	37.
5.1.3. Eredmények értékelése	39.
5.2. II. kísérlet	41.
5.2.1. Kísérleti anyag és módszer	41.
5.2.1.1. Kísérleti állatok és elhelyezésük	41.
5.2.1.2. Kísérlet elrendezése és kezelések	42.

5.2.1.3. Mintagyűjtés és analitikai eljárások	46.
5.2.1.4. Statisztikai elemzés	53.
5.2.2. Kísérleti eredmények	54.
5.2.2.1. A testkondíció, a termelési mutatók és a tej kolinszintjének változásai	54.
5.2.2.2. A vérplazma mutatók változásai	58.
5.2.2.3. A máj lipid- és glikogéntartalmának változásai	64.
5.2.2.4. A máj zsírsavprofiljának változásai	70.
5.2.2.5. A lipidanyagcsere mutatói és néhány más vizsgált paraméter közötti összefüggések vizsgálata	80.
5.2.3. Eredmények értékelése	90.
5.2.3.1. Testkondíció és tejtermelés	90.
5.2.3.2. Vérparaméterek	95.
5.2.3.3. Máj glikogén- lipid- és zsírsavtartalma	100.
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	105.
7. ÖSSZEFOGLALÁS	107.
8. IRODALOMJEGYZÉK	110.
9. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	127.
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	129.

1. BEVEZETÉS

Az emberiség élelmezésében a tej és a tejtermékek kedvező táplálóanyag összetételüknek és kiváló élettani hatásaiknak köszönhetően jelentős szerepet töltenek be. A fokozódó igények és a gazdaságossági szempontok egyes országokban az egy tehenre jutó tejtermelés növelését vonták maguk után.

A világ nagy tejtermelő hagyományokkal és magas tejtermelésű állományokkal rendelkező országaiban az átlagos laktációs termelés 8500 – 9500 kg, de a jobb tenyészetekben ezt is jelentősen felülmúlhatja. Az utóbbi néhány évtizedben a genetikai előrehaladásnak és a takarmányozás fejlődésének köszönhetően a hazai tejtermelő állomány 95%-át kitevő holstein-fríz tenyészetek tejtermelési eredményei nagymértékben növekedtek. E tejelő állományok országos átlaga megközelítette a 8300 kg-ot és a vezető tenyészetekben gyakran jelentősen meghaladta a laktációnkénti 10000 kg-os szintet, amely eredménnyel a hazai tejtermelő ágazat közelít a világ élvonalához.

A nagy teljesítményű állományokban a tehenek megfelelő energia- és táplálóanyag-ellátása különösen a laktáció kezdeti szakaszában jelentős problémát okoz. Ennek következménye, hogy a termelés emelkedésével sajnálatos módon növekedett a kiesések, selejtezések aránya, ezáltal lerövidült a hasznos élettartam. A kiesések fő oka, hogy az ellést követően napról-napra rohamosan növekvő tejtermelés energia és táplálóanyag igényét az állat nem képes a felvett takarmányból fedezni, ezért saját szöveteit – elsősorban zsírszöveteit – bontva fedezi a hiányzó energiát. A fokozott zsírmobilizáció gyakran kóros mértékűvé válik és anyagcsere-betegségek kialakulásához vezet. A zsírmobilizációs betegség hatására éves szinten

bekövetkező elhullások, selejtezések az országos tehénállomány kb. 10%-át érintik, ezáltal tetemes, 7 – 10 milliárd forint gazdasági kárt okozva a tejágazat számára.

A nagy tejtermelésű tehénállományokat érintő zsírmobilizációs betegségek megelőzésére számos korábbi erőfeszítést tettek már, amelyek között takarmányozási eljárások is szerepelnek. A korábbi eredmények alapján a takarmányozási módszerek közül a védettkolin elléskörüli időszakban történő alkalmazása egy ígéretes lehetőség a tejlő tehének zsírmobilizációs betegségének megelőzésére. A Pannon Egyetem Keszthelyi Karával és a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karával közös kutatást kezdtünk a tejtermelő állományok energiaellátásának, zsírsanyagcseréjének tanulmányozására. Dolgozatomban, azt a kutatómunkát szeretném összefoglalni melyet a tejlő tehenészetekben fellépő kóros zsírsanyagcsere megelőzése érdekében végeztünk.

2. KIVONATOK

A KÓROS ZSÍRANYAGCSERÉBŐL ADÓDÓ VESZTESÉGEK CSÖKKENTÉSÉNEK LEHETŐSÉGE VÉDETT KOLIN ALKALMAZÁSÁVAL NAGY TEJHOZAMÚ TEHÉNÁLLOMÁNYOKBAN

Az egyes kolintermékek bendőbeli stabilitásának vizsgálata és az elléskörüli időszakban bőtejlő tehenekkel történő védett kolinetetés hatásainak tanulmányozása, a máj és vérplazma mutatók közötti kapcsolatok feltárása, valamint az elléskörüli időszakban a lipidanyagcserében zajló folyamatok tanulmányozása érdekében két kísérletet végeztünk.

Az első kísérletben négy bendőbeli lebomlás ellen védett és egy nem védett kolintermékek bendőbeli stabilitását tanulmányoztuk az eredetileg fehérjék bendőbeli stabilitásának vizsgálatára kialakított *in situ* módszerrel, bendőkanüllel ellátott anyajuhokon. Ennek során a módszert módosítottuk, az erőteljes mosás helyett a mintákat tartalmazó zsákokat a bendőtartalomtól úgy tisztítottuk meg, hogy azokat 8 – 10 alkalommal hideg vízbe mártottuk. Eredményeink alapján az egyes termékek bendőbeli stabilitása jelentősen különböző, továbbá a fehérjék vizsgálatára kialakított módszer a módosítást követően alkalmas az egyes kolintermékek bendőbeli stabilitásának összehasonlítására.

Második kísérletünket, harminckét magas tejtermelésű, többször ellett tehénnel végeztük. A teheneket a várható ellésük előtt 28 nappal két csoportba (védett kolinkiegészítésben részesülő – RPC-csoport és kolinkiegészítésben nem részesülő – kontrollcsoport) osztottunk. A kísérleti takarmányadagokat a várható ellés előtti 21. naptól a laktáció 60. napjáig etettük. Az RPC-csoport adagja az ellés előtti időszakban 25g, az ellést követően 50g kolint tartalmazott bendőbeli lebomlás ellen védett formában, a kontrollcsoport fejadagja a kolinkiegészítés kivételével minden más összetevőjében és beltartalmában megegyezett az RPC- csoportéval.

A kísérlet során mértük a szárazanyag-felvételt, a testkondíciót, a termelési mutatókat, egyes vérplazma- és májparamétereket.

Az elléskörüli időszakban etetett védett kolin nem befolyásolja a szárazanyag-felvételt és a testkondíciót, ugyanakkor növeli a tejtermelést, a napi tejszír- és tejfehérje-termelést, a tejfehérjekoncentrációját. A védett kolinkiegészítés hatására növekszik a tej kolinkoncentrációja és a tejjel kiválasztott kolin mennyisége, javul a tehenek kolinellátottsága.

A kolinkiegészítés hatására a máj összlipid- és triglicerid-tartalma szignifikánsan alacsonyabb, amely az intenzívebb VLDL-szintézis és ezáltal nagyobb máj triglicerid kiválasztás eredménye. Az alacsonyabb máj lipidkoncentráció kedvezőbb feltételeket biztosít az anyagcsere folyamatok számára, ezáltal csökken a plazmában a ketonanyagok mennyisége. Eredményeink szerint a magas tejtermelésű tehenekkel az elléskörüli időszakban etetett védett kolin eredményesen alkalmazható a kóros májelzsírosodás megelőzésében és a termelési szint növelésében.

ABSTRACT

DECREASE OF LOSSES DUE TO DISORDERS IN LIPID METABOLISM OF HIGH-PRODUCING DAIRY COWS BY FEEDING OF RUMEN-PROTECTED CHOLINE

The objective of the present study was to determine the effects of rumen-protected choline (RPC) supplementation on production and metabolic parameters of the periparturient dairy cow. Thirty-two Holstein cows were allocated into two groups (RPC-supplemented and control group) 28 days before the expected calving. Cows were fed the experimental diet from

21 days before calving until 60 days of lactation. The daily diet of the RPC-group contained 25g and 50g RPC before and after calving, respectively. Body condition score and dry matter intake were not affected but milk yield, milk protein and milk choline were increased by RPC-supplementation. Liver total lipid and triglyceride content were decreased by RPC, therefore RPC-supplementation is an effective tool for preventing metabolic disorders related to lipid metabolism of periparturient dairy cow.

ZUSAMMENFASSUNG

MÖGLICHKEITEN DER REDUZIERUNG DURCH PATHOLOGISCHER FETTMETABOLISMUS VERURSACHTEN VERLUSTE BEI HOCHLEISTUNGSMILCHKUHBESTÄNDEN, MIT VERWENDUNG VON GESCHÜTZTEM CHOLIN

Das Ziel der Studie waren die Wirkungen von der Pansenbeschützte Choline Ergänzung (RPC-ergänzte) und metabolischen Parametern der gut milchgebenden Kühe gegen Wurfperiode zu determinieren. 32 Holstenkühe waren in 2 Gruppen (RPC-ergänzte und Kontrolle Gruppen) 28 Tage vor dem voraussichtlichen Wurfdatum zugeteilt. Die Kühe wurden mit dem Versuchsfuttermittel von dem 21. Tag vor dem voraussichtlichen Wurfdatum bis zum den 60. Tag der Laktation gefüttert. Das tägliche Versuchsfuttermittel der RPC-Gruppe hatte 25g vor und 50g Choline nach dem Wurf. Die Körperbedingungen und Trockenmittel Nahrungsaufnahme waren nicht beeinflusst, aber Milchproduktion, Milchprotein und Milchcholine wurden von RPC-Ergänzung angewachsen. Der totale Lipid und Triglycerid Inhalt des Lebers ist von RPC wesentlich weniger geworden deswegen ist RPC-Ergänzung eine wirkungsvolle Methode der Prävention von der metabolischen Unordnungen, für die gut milchgebende Kuh.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A kérődzők energiaellátásának általános jellemzése

Minden élőlény életfolyamataihoz energia szükséges. Az állati szervezetben az energia a felvett szervesanyagok emésztését és felszívódását követő biokémiai folyamatok során keletkezik a sejtekben mint kémiai energia. A felszabaduló energia nagy energiájú makroerg kötésben tárolódik, túlnyomó részt ATP formájában (Metzler, 2001^a).

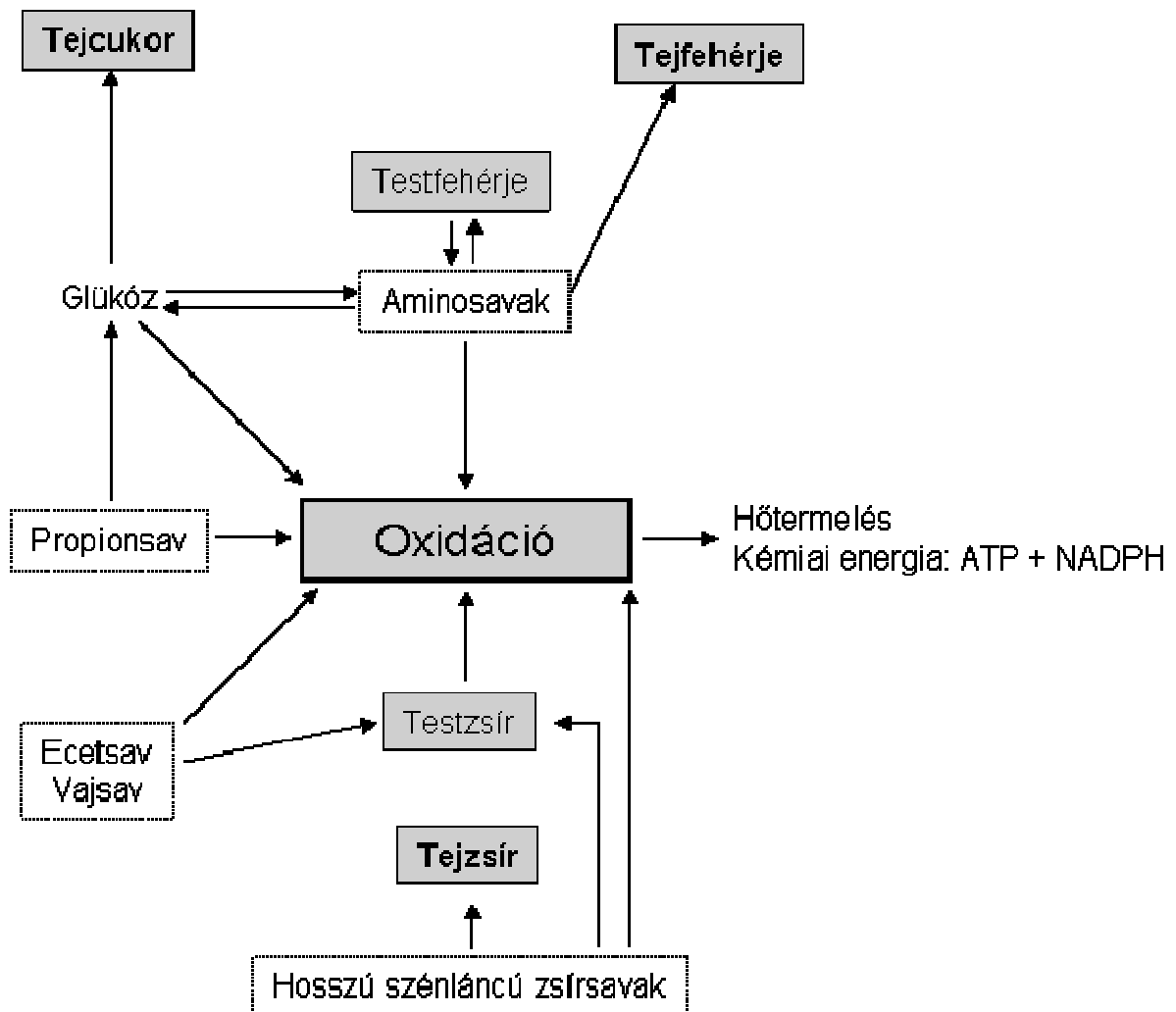
A kifejlett kérődzők, így a tejelő tehén energiaellátása jelentős mértékben eltér a monogastrikusokhoz képest. A különbségek elsősorban az emésztésbeli eltérésekből fakadnak. A bendőből és az epésbélből felszívódó metabolitok bekapcsolódását az energiatermelő folyamatokba vázlatosan a 1. ábra (Oldham, 1984) foglalja össze.

Az elsők között Magee (1932) állapította meg, hogy a takarmánnyal felvett szervesanyagok az előgyomrokban uralkodó anaerob körülmények között fermentálódnak. A szénhidrátok, fehérjék és lipidek egymáshoz képest az előgyomrokban eltérő mértékben bomlanak le és más-más módon járulnak hozzá a kérődzők energiatermelő folyamataihoz (Russell és Hespell, 1981), ezért ezeknek a folyamatoknak az ismerete nélkülözhetetlen a kérődzők energiaellátásának megértése során.

A bendőben zajló mikrobás fermentáció érdemi vizsgálata a negyvenes évektől kezdődött és azóta számos szerző bizonyította, hogy a strukturális és a nem strukturális szénhidrátok fermentációja során rövid szénláncú zsírsavak (SCFA; főként ecetsav, propionsav és vajsav) képződnek (Oxford, 1955; Wolin, 1960; Knowlton és mtsai, 1999; Husvéth, 2000). A rövid szénláncú zsírsavak kis méretüknek és jó vízoldhatóságuknak köszönhetően a bendő

nyálkahártyáján keresztül felszívódnak (Reid, 1950; Dijkstra és mtsai, 1992; Husvéth, 2000) és a portalis keringéssel a májba és a perifériális szövetekbe jutnak, ahol rész vesznek az energiatermelő folyamatokban (Oldham, 1984).

1. ábra. Különböző metabolitok bekapcsolódása az energiatermelő folyamatokba és a tej főbb komponenseinek szintézise kérődzökben (Oldham, 1984)



A takarmány nem strukturális szénhidrája közül a keményítő a legfontosabb, aminek nagyrésze a bendőben lebomlik, de egy kis hányada elkerüli a mikrobiális fermentációt (Owens és mtsai, 1986). A bendőbeli lebomlást elkerülő részt nevezzük bypass-keményítőnek. Az ily módon epésbélbe jutó keményítő a kérődzökben is enzimikus úton

bomlik le (Aldrich és mtsai, 1993; Tóth, 2005). A felszívódó glükóz eljut a májba és a perifériális szövetekbe, ahol részt vesz az energiatermelő és más metabolikus folyamatokban (Oldham, 1984; Kutas, 1987; Nocek és Tamminga, 1991). Grummer (1995), valamint Doepel és mtsai (2002) kutatásai igazolták, hogy a kérődzők májában és izmaiban raktározott glikogén mennyisége a napi glükózigényhez képest, különösen a laktáló tehénben, elhanyagolható, ezért ennek az energiaellátásban betöltött szerepe minimális. A szervezet raktáraiban rendelkezésre álló kis mennyiségen túl, a glikogén energiatermelésben való felhasználását korlátozza, hogy a tejcukor képzésnek prioritása van a glükóznak az energiatermelő folyamatokban történő lebontásával szemben (Patton és mtsai, 2004).

A korábbi kutatások alapján jól dokumentált a takarmányfehérjék bendőbeli lebomlása, amelynek során a mikroorganizmusok a bendőbe jutó fehérjéket peptidekké, aminosavakká és ammóniává bontják (Cotta és Hespell, 1984; Wallace és Cotta, 1988; Russell és mtsai, 1992; Husvéth, 2000). A fehérjebontással párhuzamosan fehérjeszintézis is megfigyelhető, amely során a baktériumok aminosavakat illetve ammóniát használnak fel (Hume és mtsai, 1970; Russell és mtsai, 1992.). A hetvenes évektől kezdődően, jelölt nitrogént alkalmazva, számos szerző bizonyította a mikrobiális fehérje jó emésztődését az oltóban és az epésbélben (Salter és Smith, 1977; NRC, 1985). A felszívódott aminosavak a dezaminációt követően ugyan bekapcsolódhatnak az energiatermelő folyamatokba, de tejelő tehénben az energiatermelésben betöltött szerepük, Lindsay (1980) eredményei szerint, nem jelentős, mert elsősorban a glükóz és a tejfehérje szintéziséhez használnak fel.

A takarmánnyal felvett lipideknek számos csoportja van, ilyenek a trigliceridek (TG), foszfolipidek, a szabad zsírsavak és a zsírsavak kalcium sói. Az energiaellátás szempontjából a magas energiatartalmú zsírsavaknak van a legnagyobb jelentősége. A lipidek emésztéséről

és felszívódásáról Noble (1981) készített átfogó tanulmányt. A bendőbe kerülő észterezett zsírsavak – többnyire TG-ek – gyorsan hidrolizálódnak szabad zsírsavakra és glicerinre (Jenkins 1993; 1997). A glicerin a mikrobiális fermentáció hatására rövid idő alatt propionsavvá fermentálódik, amely a szénhidrátok emésztésénél részletezett módon lép be a metabolikus folyamatokba. Polan és mtsai (1964) bizonyították, hogy a telítetlen zsírsavak kettős kötéseit a mikrobák hidrogenálják, amely folyamat egyes fázisai során számos izomer keletkezik. A telített zsírsavak eredeti formában jutnak az epésbélbe és a szintén ide jutó telítetlen zsírsavakkal együtt szívódnak fel és szubsztrátként szolgálnak az energiatermelő folyamatok számára (Bauchart, 1993). A kérődzők a lipideket a zsírdepóikban nagy mennyiségben képesek – elsősorban TG-ek formájában – felhalmozni, amelyek lebontásával energiához juthatnak a szűkösebb takarmányellátás vagy más okból negatív energiamérleg (vemhesség, laktáció) esetén (Vernon és mtsai, 1981; Vernon és Finley, 1985; Bauchart, 1993).

A fent leírt folyamatok alapján általánosítható, hogy a kérődzők energiaellátása elsősorban a szénhidrátokra épül, amelyet a takarmányuk a fehérjékhez és lipidekhez viszonyítva a legnagyobb arányban tartalmaz. Egyes speciális esetekben azonban a zsírdepók bontásával képesek áthidalni az energiahányos időszakot.

3.2. Az elléskörüli időszak metabolikus jellemzői bőtejelő teheneekben

Az elléskörüli időszak fogalma alatt az ellést megelőző három és az ellést követő három hetet értjük. Ennek az összesen hat hetes időszaknak az angol neve „transition period”, ami szószerinti értelmezésben átmeneti időszakot jelent. Ez az elnevezés metabolikus

szempontból a magyar elnevezésnél kissé jobban kifejezi az ebben az időben zajló markáns változásokat.

Az elléskörüli időszak élettani folyamatainak kutatása az utóbbi évtizedekben igen intenzívvé vált. Ennek egyik oka, hogy az elléskörüli időszakban kialakuló anyagcsere-betegségekről már a nyolcvanas évek elején bebizonyították, hogy szoros összefüggésben vannak az ellés előtti takarmányozással (Littledike és mtsai, 1981; Baird, 1982; Kronfeld, 1982). Curtis és mtsai (1985) megállapították, hogy az ellés előtti időszakban a takarmány energiatartalmának növelése csökkenti a baloldali oltógyomor helyzetváltozás előfordulási arányát és a takarmány fehérjekoncentrációjának növelésekor kevesebb magzatburok-visszamaradás és ketózis alakul ki. Ezek a felismerések vezettek ahhoz, hogy a későbbiek során az elléskörüli megbetegedések és az ellés előtti takarmányozás összefüggéseit kezdték kutatni és számos összefoglaló tanulmány született az energia-, a fehérje- és az ásványianyag-ellátás kérdésében az elléskörüli időszokról (Grummer, 1993; Bell, 1995; Drakely és mtsai, 2001; NRC, 2001^a; Overton és Waldron, 2004).

Az elléskörüli időszakban jelentős változások mennek végbe az energiaellátásban, a glükóz, az aminosavak, a zsírsavak és a kalcium anyagcseréjében. A laktáló tejmirigy vemhes méhhez viszonyított glükózigénye kb. háromszoros, aminosav-igénye kétszeres, zsírsavigénye ötszörös (Bell, 1995). Mindezek mellett a tejtermelés beindulásával a kalciumigény az ellés napján a vemhesség végi időszakhoz képest kb. a négyszeresére emelkedik (Horst és mtsai, 1997). Az elléskörüli metabolikus adaptáció idején a tehén szervezetének egy olyan szabályozó mechanizmusra kell támaszkodnia, amely a rendelkezésre álló táplálóanyagokat az egyes szervek igényének megfelelően osztja fel (Horst és mtsai, 1997; Friggens és Newbold 2007).

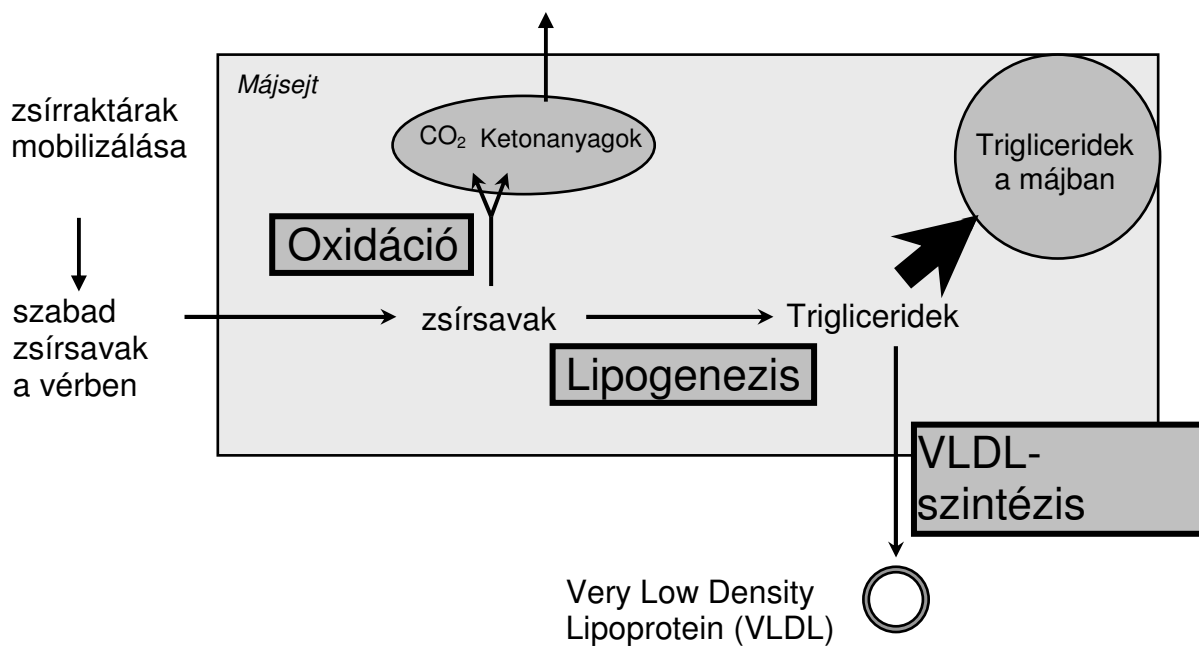
Reynolds és mtsai (2003) eredményei szerint a laktáció kezdetekor a tőgy emelkedő glükózigénye a májban folyó glükoneogenezis intenzitásának növelésével és a perifériális szövetek glükóz oxidációjának csökkenése révén teljesülhet. A glükoneogenezis fő szubsztrátjai a kérődzőkben, a bendőben folyó fermentációs folyamatok során keletkező propionsav, a *Cori-körből* származó tejsav, a fehérje katabolizmusból eredő és a duodénumból felszívódó aminosavak, valamint a zsírszövetben raktározott TG-ek lipolízise során felszabaduló glicerin. Előbbi szerzők vizsgálatai szerint a glükoneogenezisben képződő glükóz 50 – 60%-a propionsavból, 15 – 20%-a tejsavból, 20 – 30%-a aminosavakból, 2 – 4%-a glicerinből képződik az elléskörüli időszakban. Az aminosavak közül az alanin számít a fő prekuzornak a glükoneogenezisben. Overton és mtsai (1998) eredményei szerint a májsejt alaninból kiinduló glükóz-szintetizáló kapacitása az ellés napjára, az ellés előtt 21 nappal mért értékhez képest közel duplájára emelkedik. Fenti szerzők megállapítása szerint a laktáció első néhány hónapjában a magas tejtermelés (tejfehérje-szintézis) nagy aminosavszükséglete miatt az aminosavak glükoneogenezisben betöltött szerepe nem valószínű, hogy jelentős. Ugyanakkor, közvetlenül az ellés után, a glükózadaptáció idején, az aminosavak átmenetileg jól hozzáférhető szubsztrátul szolgálnak a glükózszükséglet fedezéséhez (Overton és Waldron, 2004).

Számos szerző dokumentálta, hogy a laktáció első 8 – 10 hete során a bőtejelő tehén *ad libitum* takarmányozás mellett sem képes annyi energiát felvenni, mint amennyit a létfenntartásához és a magas napi tejtermeléséhez felhasznál (Reid és Roberts, 1982; Gaál, 1983^a; Van Saun, 1991; Bell, 1995). Ebben az időszakban az energiamérleg negatív (Jumah és mtsai, 1965; Reid és Roberts, 1983; Goff és Horst, 1997). A lipidmetabolizmus legszembetűnőbb változása az elléskörüli időszakban, a zsírdepókban raktározott lipidek mobilizálása az energiaegyensúly helyreállítása érdekében (Kutas, 1987; Overton és Waldron,

2004). A lipidmobilizáció során szabad zsírsavak (NEFA) kerülnek a véráramba, melyek a tőgyben folyó tejszírszintézis zsírsavszükségletének kb. 40%-át szolgáltatják a laktáció első napjaiban (Bell, 1995). A szabad zsírsavakat az izmok is képesek energiatermelő folyamataik során felhasználni, különösen a laktáció kezdetén, amikor a glükózt elsődlegesen a tőgy használja fel a tejcukor szintéziséhez (Drackley és mtsai, 2001). A laktáció kezdetén számos szerző a vérplazma NEFA-szintjének emelkedéséről számol be (Hart és mtsai, 1979; Gaál, 1983^a; Drackley és mtsai, 1998.; Grum és mtsai, 2002). Előbbi szerzők szoros összefüggést találtak a plazma NEFA-szintje és a tehén energiaellátása között, ezért a NEFA-t a lipidmobilizációt leginkább kifejező mutatóként tartják számon.

Pullen és mtsai (1989), valamint Reynolds és mtsai (2003) eredményei azt igazolják, hogy a máj a szabad zsírsavakat a vérplazma NEFA-szintjével arányos mértékben veszi fel. A májba beáramló zsírsavak metabolizmusát a 2. ábra szemlélteti (Gruffat és mtsai, 1996). Ennek alapján a felvett zsírsavak egy része a β -oxidáció folyamán acetyl-CoA-ra bomlik és a citrátkörben széndioxidá oxidálódik. Másik lehetőség, hogy az acetyl-CoA az oxálcetsav limitált mennyisége miatt nem tud belépni a citrátkörbe és ekkor ketonanyagok (aceticetsav, β -hidroxi-vajsav és aceton) keletkeznek. Az oxidációs folyamatokat elkerülő zsírsavak TG-ekké alakulnak, melyeket a máj nagyon kis sűrűségű lipoproteinek (VLDL) formájában tud kiválasztani. Mindhárom folyamat kapacitása limitált, ezért magas NEFA-beáramlás esetén a máj nem képes teljes egészében katabolizálni, illetve kiválasztani a zsírsavakat, hanem TG-ek formájában akkumulálja azokat (Ford, 1961; Reid és Roberts, 1982; Gaál, 1983; Gaál és mtsai, 1983; Karsai, 1993; Grummer, 1993; Bauchart és mtsai, 1998).

2. ábra. A máj lipid metabolizmusának főbb folyamatai (Gruffat és mtsai, 1996)



3.3. Kóros lipidanyagcsere következtében kialakuló megbetegedés: zsírmájzindróma és hatása a tejlő tehenek anyagcseréjére

Az előzőek alapján az látható, hogy az elléskörüli időszak során, a negatív energiamérleg következményeként megemelkedő plazma NEFA-szint növeli a máj zsírsavfelvételét, ezáltal az elsődleges kiváltó tényezője a máj lipidtartalom növekedésének. Grummer és mtsai (1990) megfigyelték, hogy a takarmánymegvonás tejlő tehenekben 96 órán belül a máj elzsírosodásához vezet, ezért az ellés napján a takarmányfelvétel hiánya hozzájárul a máj zsírtartalmának gyors növekedéséhez. Az ellést megelőző héten drasztikusan lecsökken a takarmányfelvétel, és kb. 30%-al kevesebb, mint az ellés előtt egy hónappal mért szint (Zamet és mtsai, 1979). Bertics és mtsai (1992) bendőfisztulán keresztül történő kényszertakarmányozással tartották fenn a szárazanyag-felvételt az ellés előtt álló tehenekben. A kényszertakarmányozás hatására az ellés előtti 17. és az ellést követő első nap között a máj TG koncentrációja 75%-al növekedett, a kényszertakarmányozásban nem részesülő

kontrollcsoport 225%-os növekedésével szemben. A napi szárazanyag-felvétel mértéke és a máj lipidtartalma között erős negatív korrelációt tapasztaltak.

Egy másik tényező, amely jelentősen hozzájárul a máj elzsírosodásához, az a kérődzők májában megfigyelhető viszonylag lassú VLDL-szintézis és TG-elszállítás. Sok más állatfajban a VLDL-szintézis a májba áramló zsírsavmennyiség növekedésével párhuzamosan emelkedik (Kleppe és mtsai, 1988). Emmison és mtsai (1991) juhokban megfigyelték, hogy a laktáció hatására a VLDL-szekréción kb. megkétszereződik. Ugyanakkor, laktáló juhok májában mért TG-szekréción sebessége még így is kevesebb, mint 3%-a volt a TG-szintézis sebességének, aminek következményeként a májsejtek TG-tartalma rohamosan növekedett.

Már a nyolcvanas években folytatott vizsgálatokban megfigyelték, hogy a máj TG-tartalmának növekedésekor csökken a VLDL-szekréción, ami fokozza a máj TG-tartalmának növekedését. Ezen felül a plazma TG- és koleszterin-koncentrációja is fordítottan arányos a máj TG-tartalmával (Reid és mtsai, 1983; Gerloff és mtsai, 1986). Marcos és mtsai (1990) megfigyelték, hogy a VLDL-egységek fehérjekomponensét képező apolipoprotein-B és A-I plazmában mért koncentrációja és a máj triglicerid-koncentrációja között negatív korreláció van. Valószínűsíthető, hogy a kérődzők májában kialakuló TG-akkumuláción a genetikailag korlátozott VLDL-szintézis következménye. Ezt a hipotézist támasztják alá kutatásaikban Bernabucci és mtsai (2004), akik a VLDL szintéziséhez nélkülözhetetlen három fehérje az apolipoprotein B, E (Apo-B és Apo-E) és mikroszómális triglicerid transzferfehérje (MTP) szintézisében résztvevő mRNS jelenlétét vizsgálták az elléskörűli bőtejelő tehén májában. Eredményeik szerint az ellés utáni harmadik napon mért Apo-B mRNS aktivitása kb. 65%-a volt az ellés előtt 35 nappal korábban mért értéknek. Ezzel szemben az Apo-E és a MTP mRNS legmagasabb aktivitását az ellést követő harmadik napon mérték. Eredményeik alapján

arra lehet következtetni, hogy a VLDL-képzésben fontos szerepet játszó Apo-B szintézise az ellést követő időszakban gátolt, ezáltal csökken a trigliceridek kiáramlása a májból. Duran és mtsai (1992) vizsgálati eredményei szerint a metionin az elsődlegesen limitáló aminosav a VLDL-szintézis során.

Emery és mtsai (1992) arra a következtetésre jutottak, hogy a májba áramló NEFA-csökkenés egyik fontos útja a zsírsavak oxidációja. Ezt támasztják alá Pullen és mtsai (1989) eredményei is, akik azt tapasztalták, hogy a plazma NEFA-koncentrációjának emelkedésével együtt fokozódik a zsírsavak oxidációja. Ezzel szemben számos *in vitro* vizsgálat azt igazolta, hogy a zsírsavak oxidációjának ütemét felülmúlta a zsírsavak észterifikációjának sebessége, amely a zsírsavak trigliceridekké alakítása irányába tolta el a zsírsavak májbeli metabolizmusát (Lomax és mtsai, 1983; Armentano és mtsai, 1991; Emmison és mtsai, 1991). A trigliceridek májsejten belüli lipolízise kérődzőkben nem bizonyított, de monogastrikusokban kimutatták a sejten belül működő, az adiposa hormonszenzitív lipázától különböző hepatikus lipázt (Neil és mtsai, 1998; Verges és mtsai, 2004).

Általánosítható, hogy az elléskörüli emelkedett plazma NEFA-értékek miatt a bőtejelő tehének májában emelkedik a TG-koncentráció, csak azt nehéz meghatározni, hogy melyik az a szint, ami már károsan befolyásolja a májban folyó metabolikus folyamatokat. Cadorniga-Vallio és mtsai (1997), valamint Piepenbrink és Overton (2003^a) vizsgálatokat végeztek izolált májsejtekkel *in vitro* körülmények között és arra az eredményre jutottak, hogy a májlipidek emelkedése negatívan befolyásolja a propionsavból kiinduló glükoneogenetikus folyamatokat.

Számos korábbi és jelenlegi kutatás során megfigyelték már, hogy a zsírmáj-szindróma és a ketózis egymással összefüggő anyagcsere betegségek (Fronk és mtsai, 1980; Gröhn és mtsai, 1983; Grummer, 1993; Overton és Waldron, 2004). A ketózis kialakulása során a magas tejtermeléshez szükséges glükózigény kielégítése érdekében a glükoneogenezis a citrátkörből elvonja az oxálecetsavat. Oxálecetsav hiányában a zsírsavak β -oxidációjából és más metabolikus folyamatokból származó két szénatomos acetyl-CoA egységek nem tudnak bekapcsolódni a citrátkörbe, hanem egymással összekapcsolódva acetecetsavvá alakulnak. Az acetecetsav dekarboxileződésével aceton, dehidrogéneződésével β -hidroxi-vajsav (BHB) képződik (Madsen, 1983). Ezeket a metabolitokat a máj kiválasztja és a véráramba juttatja. A ketonanyagokat a szervezet a perifériás szövetekben (pl. vázizmokban) az energiatermelő folyamatokban tudja felhasználni. Abban az esetben, ha a ketonanyagok termelődése és felhasználása közötti egyensúly felbomlik, akkor azok szintje megnövekszik a vérben és kialakul a ketonémia. A ketonanyagok felhalmozódása bódultságot, étvágytalanságot, termeléseszköket és súlyos esetben az állat elhullását okozza (Shaw, 1946; Horváth, 1978; Baird, 1982). A máj elzsírosodása közvetlenül az ellést követő néhány napban a legnagyobb mértékű, ugyanakkor a bőtejelő tehének a ketózis kialakulására a laktáció harmadik hetében a legfogékonyabbak (Foster, 1988). Számos kutatás igazolta, hogy a máj elzsírosodása megelőzi a ketózis klinikai tüneteinek a kialakulását és a ketózis kialakulásának valószínűsége összefüggésben van a májban található TG:glikogén aránnyal (Young és mtsai, 1990; Drackley és mtsai, 1992). Előbbi szerzők azt tapasztalták, hogy azok a tehének, amelyek májában a TG:glikogén arány 2,3 felett volt, azok hajlamosabbak voltak a klinikai ketózis kialakulására, mint azok, amelyek ez alatti értékekkel rendelkeztek. Azt is megfigyelték, hogy a ketózis kialakulása során a májban a TG:glikogén arány nő, tehát valószínűsíthető, hogy a ketózis kialakulása a máj lipidtartalom emelkedésének hatására a glükoneogenezisben beállt gátlás következménye.

Reid és mtsai (1983) azt tapasztalták, hogy a máj lipidtartalmának emelkedésekor csökken a plazma albumin-koncentrációja. Ebből arra következtettek, hogy a magas lipidtartalom gátolja a májban folyó fehérjeszintézist. Zhu és mtsai (2000) az elléskörüli időszakban vizsgálták a máj TG-tartalma és a plazma ammónia-koncentrációja közötti összefüggést. Vizsgálatuk során megfigyelték, hogy a növekvő TG-koncentrációval párhuzamosan növekszik a plazma ammónia-koncentrációja, amiből arra következtettek, hogy a máj magas TG-tartalma gátolja a karbamidszintézist. Rehage és mtsai (2001) azt tapasztalták, hogy abban az esetben, amikor a máj triglicerid-tartalma 60g/kg nedves tömeg fölé emelkedik, akkor a plazma ammónia-koncentrációja sokkal intenzívebben emelkedik, mint alacsonyabb triglicerid-tartalom mellett. A vér ammónia-koncentrációjának emelkedése kezdetben idegrendszeri tüneteket okoz, de további emelkedés esetén elhulláshoz is vezethet (Vissek, 1984).

3.4. A lipidanyagcsere és a kolinmetabolizmus összefüggései tejelő tehenekben

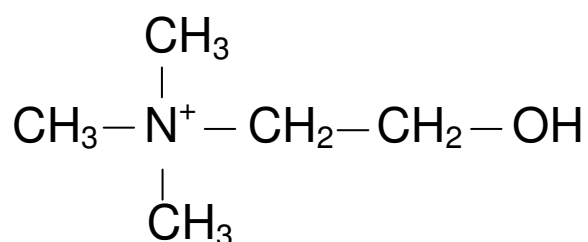
A kolin tejelő tehenek metabolizmusában és a lipid-anyagcserében betöltött funkcióinak megértése érdekében röviden meg kell ismerni a molekula kémiai tulajdonságait és lehetséges biokémiai reakcióit a szervezetben.

A kolin, kémiai szerkezetét tekintve egy erős szerves bázis (3. ábra), mely mind a növényi mind az állati szervezetben megtalálható valamilyen formában; mint például szabad kolin, foszfatidilkolin (lecitin), szfingomielin vagy acetilkolin (Metzler, 2001^b).

A kolint sokáig nem is sorolták a vízben oldódó vitaminok közé, mert az állati szervezet endogén szintézissel elő tudja állítani, nem vesz részt az enzimatis reakciók katalizálásában és eltérően a többi vitamintól inkább a sejtek szerkezeti felépítésében, ezen belül a sejthártya

és más membránok szerkezeti kialakításában játszik szerepet (Whitehead és Portsmouth, 1989).

3. ábra. A kolin szerkezeti felépítése (Metzler, 2001^c)



Emlősökben nagyon nehéz a kolinhiány tüneteit kimutatni, mert intermedier anyagcseréje szoros kapcsolatban áll a metioninnal, a folsavval és a cianokobalaminnal (B₁₂-vitamin; Zeisel, 1992; Zeisel, 2004; Michael és mtsai, 2006). A kolin metabolizmusát a 4. ábra szemlélteti. Ahogy ez az ábra mutatja, az állati szervezet a kolinszükségletét két forrásból fedezheti; takarmánnyal felvett és az intermedier anyagcsere során szintetizált kolinnal. Az intermedier anyagcserében a szintézise a foszfatidil-etanolaminból indul, amely három molekula S-adenozil-L-metionin (SAM) belépésével foszfatidilkolinná alakul, amelyből a foszfatidilcsoport leválását követően kolin keletkezik (Zeisel, 2004). A 4. ábrán látható, hogy a kolin bioszintézisének van egy alternatív útja is, amely homociszteinből indul és tetrahydrofolsav, valamint B₁₂-vitamin segítségével metionin, majd abból foszfatidil-kolin keletkezik.

A kolin biológiai szerepe szoros kapcsolatban van a lipid-anyagcserével. Patkányokkal végzett kísérletek igazolják, hogy a kolin szerepet játszik a zsíros májelfajulás megelőzésében és a máj regenerációjában (Zeisel és mtsai, 1991). Ez a hatása azzal magyarázható, hogy a

Hiányos kolinellátás esetén a foszfatidilkolin szintézise és ezáltal a VLDL-szintézis csökken, aminek következtében kisebb a trigliceridek kiáramlásának üteme a májból, ami a máj lipidtartalmának növekedéséhez vezet (Zeisel, 1992; Van Den Top és mtsai, 1995; Zeisel, 2004).

A kolin a lipidek metabolizmusában betöltött fentiekben részletezett szerepe érvényesíthető a kérődzőkre és a bőtejelő tehenre is. A szarvasmarha vérplazmájában a VLDL-koncentrációja más állatfajokhoz képest viszonylag alacsony, de a VLDL-ek, különösen a tejelő tehenben, az elsődleges lipidforrásai az extrahepatikus szerveknek (Bell, 1981). A tejben található hosszú szénláncú zsírsavak egyrészt a takarmányból, másrészt a zsírraktárak bontásából származnak, de mindkét út a májban történő VLDL-szintézisen keresztül vezet (Palmquist és Mattos, 1978).

A laktáció során a szervezet kolint választ ki a tejbe (Rohlfis és mtsai, 1993; Deuchler és mtsai, 1998). A humán-, a patkány- és a tehéntejben megtalálható három legfontosabb kolinszármazék a nem észterifikált (szabad) kolin, a foszfatidilkolin és a szfingomielin. Az anyai szervezet a laktáció során a tej kolinkoncentrációját az újszülött kolin-ellátásának biztosítása érdekében próbálja fenntartani, még azon az áron is, hogy ettől a szervezete kolintartalékai kiürülnek. Rohlfis és mtsai (1993) eredményei szerint azonos takarmányozás esetén a laktáló patkány májában 88%-al alacsonyabb a kolinszint, mint a nem laktálóéban. Ennek alapján érthető, hogy a bőtejelő tehen a tejjel nagy mennyiségű kolint ürít. A tejben megjelenő kolin elsősorban a tej zsírfázisához kötődik. A foszfatidilkolin a tejben található zsírgolyócskák külső membránjának szerkezeti felépítésében a legnagyobb részt képviselő alkotóelem (Bitman és Wood, 1990). A tehéntej, a takarmányozástól és a laktációs stádiumtól függően átlagosan 105 – 210 mg/liter kolint tartalmaz (Bitman és Wood, 1990). Deuchler és

mtsai (1998) kísérleteikben igazolták, hogy a tej kolinkoncentrációja jól tükrözi a tehén kolinellátottságát, amely megfelelő takarmányozási stratégiával javítható.

A lipid anyagcserében játszott központi szerepén kívül a kolin metilcsoportok hordozója és részt vesz a közti anyagcsere metilező folyamataiban. A metilezés elengedhetetlen lépés többek között a homociszteintől kiinduló metionin szintézise során (Ruiz és mtsai, 1983; Stipanuk, 1986; Zeisel, 1992) Az állati szervezetben két vegyület van, a betain és az S-adenozil-L-metionin (SAM), amely labilis metilcsoporttal rendelkezik, ezért részt tud venni a metilező reakciókban. Ebből kifolyólag a kolin és a metionin metabolizmusa szorosan összefügg (Ruiz és mtsai, 1983; Stipanuk, 1986; Zeisel, 1992). A kolin és a metionin kölcsönhatása a kérődzőkben kiemelt fontosságú, mert a takarmányból viszonylag kevés metilcsoporthoz jutnak és a bendőben, jelentős részük lebomlik. Ezért a kérődzőkben a metilcsoportok elsősorban a metioninból történő transzmetilezési folyamatokból származnak. Tehénben a tejfehérjeszintézisében a metionin az elsődlegesen limitáló aminosav (Schwab és mtsai, 1992; Rulquin és mtsai, 1993; Armentano és mtsai, 1997), ezért a metilcsoportok a 4. ábrán vázolt tetrahydro-folsav úton keresztül kerülnek a metioninra. Ennek a metabolikus útnak a fontosságát igazolják Strang és mtsai (1998) kutatási eredményei is. Megfigyelték, hogy a kobalthiányosan takarmányozott borjak májában növekszik a foszfatidil-etanolamin koncentráció, ugyanakkor csökken a foszfatidilkolin és a VLDL-koncentráció. Ez abból fakad, hogy a kobalt a cianokobalamin (B₁₂-vitamin) aktív centruma, amely a tetrahydro-folsavból kiinduló metionin szintézisben központi szerepet tölt be. Hiányos kobalt ellátás esetén a csökkenő metionin-szintézis következtében kevesebb SAM áll rendelkezésre, ezért a foszfatidil-etanolamin – foszfatidilkolin átalakulás korlátozott.

Emmanuel és Kennely (1984) tejelő kecskében tanulmányozták, hogy a metionin és a kolin milyen mértékben helyettesítheti egymást a metabolikus folyamatokban. Azt tapasztalták, hogy a kolin 6%-a származik a metioninból a foszfatidil-etanolamin-ból kiinduló szintézis útján. Azt is megállapították, hogy a metioninkészlet 28%-át fordítja a szervezet kolinszintézisre. Fordított esetben viszont a kolin elenyésző hányada használódott fel kiinduló vegyületeként a metionin szintézisre, azaz a kolin – metionin átalakulás kapacitása erősen korlátozott. Mindez annyit jelent, hogy a kolin alig járul hozzá a metionin szintéziséhez, de a metionint helyettesítheti a metilező folyamatokban, ezáltal a szervezet metionint takaríthat meg, amelyet más folyamatokban, például a tejfehérje szintézisében tud hasznosítani.

3.5. Kolinkiegészítés hatása bőtejelő tehenek termelési mutatóira és lipid metabolizmusára

A kolin lipid-anyagcserében betöltött sokrétű szerepe miatt elengedhetetlen, hogy a bőtejelő tehenek kolinszükséglete, különösen az elléskörüli időszakban, kielégítésre kerüljön. A monogastrikusok számára általánosan elterjedt kolinforrás a kolin-klorid. A kérődzők bendőjében a mikrobiális környezet hatására ez a vegyület nagyon gyorsan trimetil-aminná, majd metánná bomlik, amely a kérődzés során a bendőgázokkal távozik, ezáltal elvesz az állat szempontjából. A korábbi kísérletek alapján az ilyen formában etetett kolinnak mindössze 2-4%-a jut az epésbélbe (Neill, 1979; Dawson és mtsai, 1981). Abban az esetben, amikor tejelő tehenekkel nagy dózisban – 282 – 326 g/nap – nem védett kolint etettek, a szárazanyag-felvétel csökkenését tapasztalták, ezen kívül a tej mennyisége és összetétele nem változott (Sharma és Erdman 1988^b). Kérődzőkben a kolinellátás növelésére, a kolinnak a bendőbeni lebomlás ellen védett formáját (Rumen Protected Choline = RPC) kell alkalmazni. A kolin bendőbeni lebomlását a gyártók egy speciális kapszulázási eljárással akadályozzák meg,

melyhez általában magas olvadáspontú, hosszú szénláncú telített zsírsavakat használnak. A védett kolinkészítménnyel szemben támasztott fontos követelmény, hogy a bendőbeli lebomlást elkerülő hányad a duodenumban emészthető formában legyen jelen és fel tudjon szívódni. A tejelő tehen kolinellátottságát kifejező mutató a tej kolinkoncentrációja (Deuchler és mtsai, 1998).

Bőtejelő tehenek kolinellátásának javítására az első kísérleteket a nyolcvanas években hajtották végre, melynek során kolin-kloridot kanülön keresztül jutattak az oltóba, ezáltal elkerülve a kolin bendőbeli lebomlását (Sharma és Erdman 1988^a). A kísérletet laktációjuk közepén levő tehenekkel hajtották végre és a tej zsír- és fehérjetartalmának emelkedését tapasztalták. Egy másik kísérletben Sharma és Erdman (1987) a kolininfúzió hatására napi 2,6 kg-os 4% FCM emelkedést detektált, ugyanakkor a tej zsír- és fehérjekoncentrációja nem változott szignifikáns mértékben.

A kilencvenes évek elejétől folytatott kísérletekben a tejelő takarmányadagok kolinkiegészítésére védett kolint alkalmaztak. Erdman és Sharma (1991) a laktáció 5. és 21. hete között levő tehenek takarmányadagját 0, 780, 1560 és 2340 mg/kg védett kolinnal egészítették ki, és azt tapasztalták, hogy a kolint fogyasztó csoportok tejtermelése számszerűen 1,0-2,2 kg/nap mértékben emelkedett, de ez az emelkedés a kísérlet elrendezése miatt nem volt szignifikáns mértékű. A tej zsírtartalma a 780 mg/kg kolinkiegészítés esetén csökkent, de a magasabb dózisok alkalmazásakor a kolinkiegészítésben nem részesülő kontrollcsoport szintjére emelkedett. Előbbi szerzők, egy másik, laktációjuk közepén lévő tehenekkel folytatott kísérletükben, 2400 mg/kg védett kolinkiegészítés hatására 2,6 kg/nap tejtermelés fokozódást és 0,25%-os tejfehérje-tartalom növekedést tapasztaltak, de a tej zsírtartalma nem változott.

Hartwell és mtsai (2000) az ellés előtt adott különböző védett fehérjeszintű takarmányadagok valamint az ellés előtt és a laktáció során etetett RPC hatását vizsgálták a termelési mutatókra és az anyagcsere-paraméterekre. Azt tapasztalták, hogy a tejtermelést, a tej zsír- és fehérjekoncentrációját, a napi zsír- és fehérjetermelést és a máj trigliceridtartalmát az RPC etetése nem befolyásolta szignifikáns mértékben.

Az utóbbi néhány év témabeli publikációi közül Piepenbrink és Overton (2003^b) arról számolt be, hogy a napi 0 – 75 g RPC-etetés hatására a tej- és a tejszírtermelés számszerűleg növekedett, de a változás statisztikailag nem volt igazolható. A máj trigliceridtartalma nem változott, de a glikogén koncentrációja növekedett. A plazma NEFA- és BHB-koncentrációját nem befolyásolta a kezelés.

A májsejtek metabolizmusának *in vitro* tanulmányozása során az inkubáló közegben a kolin és a linolénsav együttes jelenléte felgyorsította a palmitinsav szén-dioxiddá történő oxidációs folyamatát (Piepenbrink és Overton, 2003^c).

Guretzky és mtsai (2006) az ellés előtti és azt követő három hétben etetett RPC hatását vizsgálták. Eredményeik alapján a kolinkiegészítés nem befolyásolta a szárazanyag-felvételt és a termelési mutatókat, a plazma NEFA- és BHB-szintjét. A kolinkiegészítés tendenciózus mértékben növelte az ellés előtt mért szérum trigliceridkoncentrációt, ugyanakkor az ellés idején csökkentette a foszfolipid-tartalmat.

Cooke és mtsai (2007) eredményei alapján az RPC kiegészítés nem befolyásolja a plazma BHB-koncentrációját, de csökkenti a NEFA és a máj trigliceridszintjét.

4. CÉLKITŰZÉS

Vizsgálataink aktualitását az adja, hogy a tejtermelés színvonalának növekedése következtében a tejelő állományokban egyre gyakoribbá váltak az anyagcsere betegségek az elléskörüli időszakban. Ezek közül ki kell emelni a bőtejelő tehenek lipid-anyagcseréjét érintő megbetegedések, a zsírmáj szindróma és a ketózis, előfordulásának növekedését, amelyek súlyos gazdasági kárt okoznak a termelők számára. Az elmúlt harminc év során számos kutatást végeztek, amelyekben a bőtejelő tehenek elléskörüli anyagcsere állapotát és az anyagcserében bekövetkező változásokat vizsgálták annak érdekében, hogy az anyagcsere-betegségek kialakulásának valószínűségét csökkentsék. Ennek során megfigyelték, hogy az ellést megelőző néhány napon megkezdődő intenzív lipídmobilizáció eredményeként a máj trigliceridtartalma erősen emelkedik és az ellést követő két hét során tetőzik. A lipídtartalom emelkedése csökkenti a glükoneogenezis és a karbamidszintézis intenzitását, ezáltal kedvezőtlenül hat az anyagcserére. A májban a trigliceridek felhalmozódását az okozza, hogy a szabadzsírsavak beáramlása nagyobb mértékű, mint a felhasználásuk és a trigliceridek formájában történő kiválasztásuk üteme. A triglicerideket a máj csak lipid – fehérje komplexek, VLDL, formájában tudja kiválasztani, amelyek szintézisének egyik lehetséges limitáló tényezője a VLDL foszfolipid részét alkotó foszfatidil-kolin (lecitin). A foszfatidilkolin-szintézis lehetséges szubsztrátjai a kolin valamint a foszfatidil-etanolamin és metionin. Ennek alapján feltételezhető, hogy a kolinellátás javítása fokozza a VLDL-szintézist, ezáltal csökkenthető a máj lipídtartalma, amely kedvezően befolyásolja az anyagcserét az elléskörüli időszakban. A VLDL-szintézis fokozódásának további kedvező hatása, hogy a májból kiáramló trigliceridek nagyobb mennyiségben jutnak el a nagy

energiaigényű és zsírsavigényű szervekbe, például a tőgybe, ahol energiaforrássul szolgálnak a tejszintézishez, valamint zsírsavakat szolgáltatnak a tejzsír-szintézis számára.

A takarmányban lévő kolin a bendőben folyó mikrobiális tevékenység hatására lebomlik és nagyrészt elvész a gazdaállat számára, ezért a kolinkiegészítést kérődző állatok részére bendőbeli lebomlás ellen védett formában kell adni. A kolinellátás növelése szempontjából tehát fontos követelmény, hogy a takarmányban lévő kolin minél nagyobb hányada elkerülje a bendőbeli lebomlást, majd ezt követően az epésbélben megemésztődjön és felszívódjon.

Az ismereteink hiányosak a különböző gyártók által előállított védett kolint tartalmazó termékek bendőbeli stabilitásáról, ezért vizsgálatainknak egyik célja az volt, hogy egy *in situ* eljárást dolgozzunk ki e termékek bendőbeli stabilitásának mérésére és megvizsgáljuk öt kereskedelmi forgalomban kapható, kolint tartalmazó termék bendőbeli lebomlásának mértékét.

Az irodalmi áttekintésben részletezett kísérleti eredményekből kitűnik, hogy a védett kolinellátásával kapcsolatos kutatási eredmények korántsem teljesek és egybehangzóak. A kutatások többsége elsősorban a termelési mutatókra és néhány anyagcsere-paraméter vizsgálatára szorítkozik. Ennek alapján fontosnak tartottuk, egy olyan vizsgálat elvégzését, amelynek során egyidejűleg tanulmányozhattuk a védett kolinellátás hatását bőtejelő tehének kolinellátására, a máj lipidanyagcseréjére, a vérplazma paramétereire és a termelési eredményekre az elléskörüli időszakban.

A bendővédett kolin tejelő tehének lipid anyagcseréjére gyakorolt hatásának vizsgálatához nem tartozik közvetlenül a vér- és májparaméterek közötti összefüggések vizsgálata,

ugyanakkor a nagyszámú vizsgálati eredmény lehetőséget teremtett számunkra az elléskörűli időszak lipidanyagcserében mutatózó esetleges kapcsolatok felismerésére. Ennek során az összes adat figyelembevételével megvizsgáltuk a máj összes lipid- és trigliceridtartalma; a máj triglicerid és glikogéntartalma; a máj trigliceridkoncentrációja és a főbb zsírsavak aránya; a szabadzsírsav:koleszterin arány és a máj összlipid tartalma; a máj összlipid:glikogén aránya és a plazma BHB tartalma; a plazma inzulinszintje és a máj glikogéntartalma; továbbá a plazma NEFA- és inzulinszintje közötti összefüggéseket.

5. SAJÁT VIZSGÁLATOK

Vizsgálati céljaink megvalósítása érdekében két kísérletet végeztünk.

Az **I. kísérlet** célja egy olyan kísérleti módszer tesztelése volt, amelynek segítségével összehasonlítható a különböző eljárással előállított, kereskedelmi forgalomban kapható, kolint tartalmazó termékek bendőbeli stabilitása. Ezen túlmenően öt kolintermék bendőbeli stabilitását hasonlítottuk össze, annak érdekében, hogy kiválasszuk azt a készítményt, amely a bendőben viszonylag kevésbé bomlik és kolinforrásként szolgálhat a további kísérleteinkhez.

A **II. kísérletben** az előző kísérletben tesztelt és a bendőstabilitás szempontjából kedvező eredményeket adó védett kolinetetés hatását vizsgáltuk a termelési mutatókra, a máj lipid anyagcseréjére, különböző vérparaméterekre és a kolinellátottságra intenzíven tejelő teheneekben az elléskörüli időszakban.

5.1. I. kísérlet

5.1.1. Kísérleti anyag és módszer

5.1.1.1. Kísérleti állatok és elhelyezésük

Az I. kísérletet a Pannon Egyetem Georgikon Kar Állatélettani Tanszék Állatházában végeztük. A vizsgálatokhoz három bendőkanüllel (Rumen Canula #8C, Bar Diamond Inc., Idaho, USA) ellátott, 2 éves, Merino x Texel keresztezésű anyajuhot használtunk. A juhokat a

kísérlet idejére egyedi ketrecekben helyeztük el. A kísérletet a Zala Megyei Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás engedélyével végeztük (ikt. sz.: DK-210/1/2003).

5.1.1.2. Kísérlet elrendezése és kezelések

A vizsgálat során a következő öt kolin termék bendőbeli bonthatóságát vizsgáltuk:

- **Kolin-klorid**: Nem védett forma, szilikát vivőanyag, hatóanyag-tartalma: 50%. (Bóly Rt., Bóly, Magyarország)
- **Procol-25[®]**: Védett kolintartalom: 25%. (Provimi Italia, Milánó, Olaszország)
- **Norcol-25[®]**: Védett kolintartalom: 25%. (Nordos Italy, Bussolengo, Olaszország)
- **Sintocol-25[®]**: Védett kolintartalom: 25%. (Sintofarm SpA., Guastalla, Olaszország)
- **Reashure[®]**: Védett kolintartalom: 25%. (Balchem Co., New Hampton, NY, USA)

A termékek kolintartalmának bendőstabilitását Ørskov és McDonald (1979) fehérjékre kialakított *in situ* módszerével vizsgáltuk. A műszálszövésű, 40 µm pórusátmérőjű, 10x12,5cm méretű zsákokba 5 g-ot mértünk a vizsgálandó anyagokból. A zsákokat három bendőkanülös anyajuh bendőjében inkubáltuk 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 órán keresztül, így minden mérési időponthoz termékenként három adatot kaptunk.

A kísérlet idején a juhokat naponta 0,5 kg anyajuhtáppal és *ad libitum* fűszénával takarmányoztuk; ivóvizet folyamatosan biztosítottunk számukra. Az anyajuhtápot napi két egyenlő adagban, 6.00 és 18.00 órakor osztottuk ki. A kísérleti juhok tényleges napi takarmányfelvételét és részletes táplálóanyagfelvételét az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat. Az anyajuhok napi takarmányadagja és táplálóanyag-felvétele

<u>Fejadag összetétele (kg/nap eredeti szárazanyagra)</u>	
Fűszéna	1,5
Anyajuhtáp ¹	0,5
<u>Táplálóanyag koncentráció (g/kg szárazanyag)</u>	
Szárazanyag	893,0
Nyersfehérje	127,5
MFE ²	104,0
MFN ³	96,0
NDF	582,0
ADF	353,0
Nyerszsír	32,0
NE _m , MJ/kg	5,7
Ca	6,7
P	3,3
Mg	3,0
<u>Napi táplálóanyag felvétel (g/nap)</u>	
Szárazanyag	1786,0
Nersfehérje	227,7
MFE ²	185,7
MFN ³	171,5
NDF	1039,5
ADF	630,5
Nyerszsír	57,2
NE _m , MJ/nap	10,2
Ca	12,0
P	5,9
Mg	5,4

¹ Alapanyag-összetétel: 56,0% kukoricadara, 10,0% búzadara, 5,0% búzakorpa, 15,0% lucernaliszt, 8,0% extr. napraforgódara, 2,2% takarmánymész, 1,0% takarmánysó, 0,6% monokalcium-foszfát, 1,2% karbamid, 1,0% vitamin és mikroelem premix; Táplálóanyag-összetétel: 88,0% szárazanyag 15,8% nyersfehérje, 16,4% NDF, 8,7% ADF, 9,7% hamu, 1,12% Ca, 0,53% P, 0,11% Mg, 6500 NE A-vitamin/kg, 3100 NE D-vitamin/kg, 10,3 mg E-vitamin/kg, 220 mg/kg Fe, 110 mg/kg Zn, 45 mg/kg Mn, 2,56 mg/kg Co, 0,54 mg/kg I, 0,28 mg/kg Se

² Energiafüggő metabolizálható fehérje

³ Nitrogénfüggő metabolizálható fehérje

5.1.1.3. Mintagyűjtés és analitikai eljárások

Ørskov és McDonald (1979) módszerét módosítottuk oly módon, hogy az inkubációt követő erőteljes mosást elhagytuk, ehelyett a zsákokat nyolc-tíz alkalommal kíméletesen egy vödör 12 – 15⁰C-os hideg csapvízbe mártottuk és így tisztítottuk meg a bendőtartalomtól. A módosításra azért volt szükség, hogy minimálisra csökkentsük a zsákok tisztítása során fellépő kolinkimosódást. A tisztítást követően a zsákokat 40⁰C-on szárítószekrényben 48 órán keresztül szárítottuk és meghatároztuk azok szárazanyag tartalmát. A viszonylag alacsony szárítási hőmérsékletet az indokolta, hogy a védett termékek nagy mennyiségű zsírt tartalmaztak, amelyek magasabb hőmérsékleten megolvadnak.

A rezidumok kolintartalmát közvetett úton, azok Kjeldahl-módszerrel történő nitrogén meghatározása alapján mértük meg (Helrich, 1990). A nitrogénalapon történő közvetett kolin meghatározást az tette lehetővé, hogy a vizsgált minták a kolinon, és a bendőtartalommal történő enyhe kontaminálódás következtében, egy kevés mikrobiális fehérjén és nukleinsavon kívül más nitrogéntartalmú anyagot nem tartalmaztak. A kolin becsült bendőbeli lebomlását a $P=a+b^{1-\exp(-ct)}$ egyenlet alapján kalkuláltuk (Ørskov and McDonald, 1979), amelyben a a gyorsan lebomló hányad, b a lassan lebomló hányad, c a lassan lebomló hányad bontási sebessége óránként és t az inkubációs idő. Nocek és Russell (1988) vizsgálatai szerint a kisméretű, 0,5 mm alatti, takarmányrészek bendőbeli áthaladási sebessége a létfenntartó szükségletének 3 – 4-szeresére takarmányozott tehénben 0,12-0,15 egység/óra tehető. Ezt figyelembe véve az egyes termékek bendőbeli lebomlási arányát 0,12 egység/óra bendőbeli áthaladási értékre kalkuláltan tüntettük fel az eredmények között.

5.1.1.4. Statisztikai elemzés

A kísérlet adatainak elemzéséhez az SPSS 9.0 (SPSS software for Windows 9.0, SPSS Inc., Chicago, USA) statisztikai programcsomagot használtuk.

Az inkubálás során, az egyes termékenként és időpontonként kapott eredményeket varianciaanalízissel (ANOVA) elemeztük. A varianciaanalízist követően az azonos időpontokhoz tartozó értékeket a *Tukey* féle többszörös összehasonlító teszttel vetettük össze (Scott, 1990) és homogén alcsoportokat képeztünk. A szignifikáns különbségeket a $P < 0,05$ szintre határoztuk meg, az azonos időponthoz tartozó, egymástól szignifikánsan különböző értékeket eltérő betűvel jelöltük.

5.1.2. Kísérleti eredmények

A vizsgálatban használt egyes kolintermékek között már az inkubáció első néhány órájában jelentős különbségeket figyeltünk meg (2. táblázat, 5. ábra). A nem védett kolin jelentős része már az óvatos vízbemártások során kioldódott a zsákokból és az eredeti mennyiség $92,7 \pm 4,3\%$ -a kioldódott az inkubáció első két órájában. Mind a négy bendővédett forma stabilitása szignifikánsan ($P < 0,05$) felülmúlta a nem védett termékét, de a védett termékek lebomlása között is szembeűnő különbségek mutatkoztak, különösen az inkubáció kezdeti óráiban. A Sintokol-25[®] szignifikánsan gyorsabban bomlott le, mint a másik három védett termék. A Procol-25[®] és a Norcol-25[®] bendőbéli lebomlása az inkubáció teljes idején azonos volt.

2. táblázat. Az egyes kolintermékek bendőbeli lebomlása az inkubáció során anyajuhokban

Kolin lebomlás (%)						
Inkubációs idő (óra)	Kolin-Cl	Procol-25 [®]	Norcol-25 [®]	Sintocol-25 [®]	Reashure [®]	SE
0	64,32 ^a	32,26 ^b	39,45 ^b	23,14 ^c	2,87 ^d	4,28
2	92,71 ^a	59,15 ^b	48,81	76,98 ^c	9,69 ^d	4,79
4	93,67 ^a	64,53 ^b	63,64 ^b	84,56 ^c	14,43 ^d	2,98
8	93,81 ^a	74,60 ^b	79,66 ^b	88,25 ^c	17,71 ^d	2,82
16	95,98 ^a	86,99 ^b	89,69 ^b	90,52 ^b	21,02 ^c	1,88
24	97,49 ^a	91,95 ^b	93,18 ^{ab}	95,54 ^{ab}	24,39 ^c	1,71
48	99,37 ^a	95,10 ^a	94,85 ^a	95,46 ^a	41,99 ^b	2,25
Becsült lebomlás						
12%/óra						
bendőbeli	88,92 ^a	69,42 ^b	69,51 ^b	83,29 ^c	13,85 ^d	2,78
áthaladási						
sebesség mellett ¹						
c ²	0,998 ^a	0,179 ^b	0,140 ^b	0,588 ^c	0,047 ^d	0,049

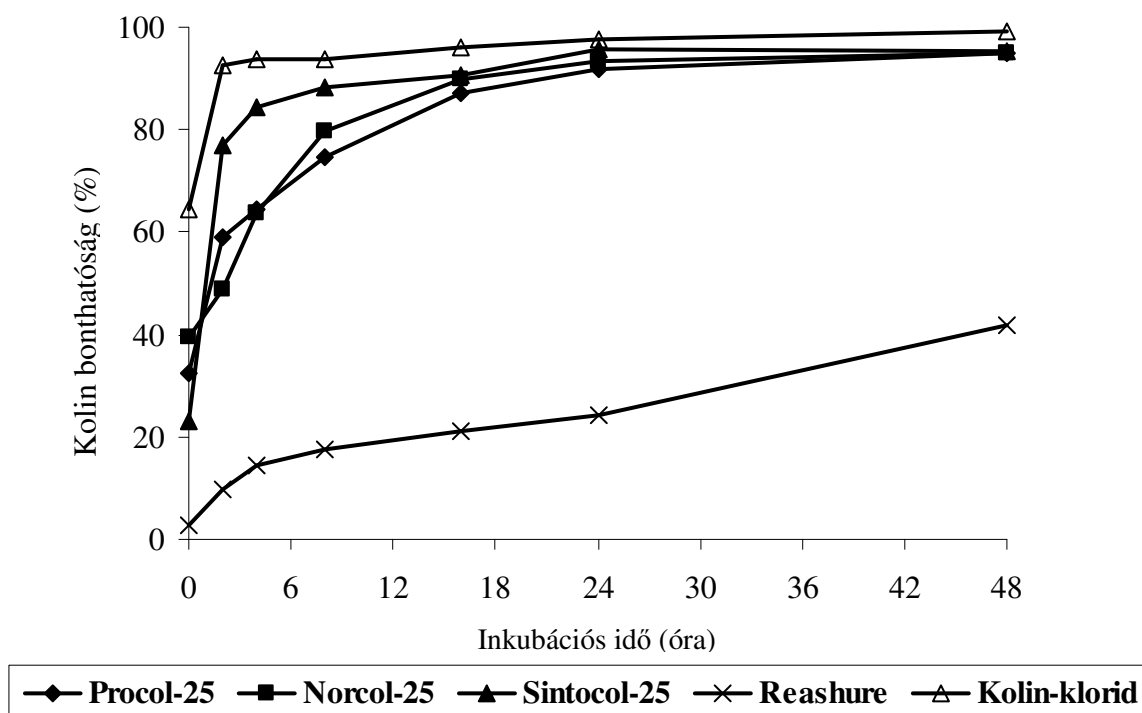
¹Az előrejelzés az Ørskov és McDonald (1979) egyenleten alapul $p=a+b^{1-\exp(-ct)}$

²Lebomlási sebesség

a, b, c az eltérő betűjellel ellátott értékek a sorokon belül szignifikánsan különböznek (P<0,05)

E két termék bendőbeli stabilitása 2, 4 és 8 óra inkubálást követően szignifikánsan (P<0,05) nagyobb volt, mint a Sintocol-25[®]-é, ám ez a különbség 16 óra inkubálást követően eltűnt. A Reashure[®] bendőbeli stabilitása volt a legnagyobb, mert a vizsgálat minden egyes mérési időpontjában szignifikánsan (P<0,05) kevesebb kolin bomlott le belőle, mint bármely másik termékből.

5. ábra. Az egyes kolintermékek bendőbeli lebomlása az inkubáció során anyajuhokban



5.1.3. Eredmények értékelése

Nocek és Russell (1988) vizsgálataikban igazolták, hogy a 0,5 mm alatti takarmányrészek a létfenntartó szükségletének 3 – 4-szeresére takarmányozott tehénben átlagosan 0,12-0,15 egység/órára áthaladási sebességgel távoznak a bendőből. Esetünkben, a vizsgált kolintartalmú termékek kis szemcsenagyságúak voltak, ezért az említett szerzők eredményei alapján várhatólag átlagosan 7 – 9 órát tartózkodnak egy intenzíven takarmányozott tehén bendőjében, azaz ennyi ideig vannak kitéve az ott folyó mikrobiális fermentációnak. Ebből következik, hogy a 8 órás inkubációt követően mért és a 0,12 egység/óra áthaladási sebességre (8 óra 20 perc bendőbeli inkubáció) kalkulált eredményeink az egyes termékek intenzíven takarmányozott tejelő tehénekben megfigyelhető valóságos stabilitását tükrözik. Nyolc óra inkubálást követően kizárólag a bendővédett termékek tartalmaztak számottevő mennyiségű kolint, ekkorra a nem védett forma már teljesen kioldódott a zsákokból. Ez a

megfigyelésünk egybehangzik Neill (1979) és Dawson és mtsai (1981) kutatási eredményeivel, akik ugyancsak felismerték, hogy a nem bendővédett formában etetett kolin a bendőben teljesen lebomlik. Eredményeink szerint a bendővédett termékek közül a Procol-25[®] és a Norcol-25[®] kolintartalmának 20 – 25, a Sintocol-25[®]-nek 10 – 15%-a éri el az epésbelet, ahol lehetősége van a felszívódásra. A Reashure[®] bendőbeli stabilitása messzemenően meghaladta bármely másik vizsgált termékét, mert az ebben lévő kolin kb. 80%-a nem bomlott le a 8 órás inkubálást követően. Eredményeink alapján látható, hogy az egyes gyártók által készített védett kolintermékek bendőbeli stabilitása különböző mértékű, ami feltételezhetően a gyártók által alkalmazott eltérő gyártástechnológiai eljárások következménye.

A vizsgálatunk során alkalmazott *in situ* eljárás, amelyet eredetileg a különböző fehérjeforrások bendőbeli stabilitásának tanulmányozására alakítottak ki (Ørskov és McDonald, 1979), a mosási fázis módosítását követően alkalmas a védett kolintermékek bendőbeli stabilitásának rutinszerű meghatározására. A nagyobb bendőbeli stabilitás azonban nem jelenti a kolin jobb hasznosíthatóságát is, mert a bendőn keresztüljutó kolint tartalmazó terméknek az epésbélben emésztődni kell, és kolintartalmának fel kell szívódnia annak érdekében, hogy a kolin bekapcsolódhasson az intermedier anyagcserébe. A vékony és a vastagbélben levő szabad kolint az ott élő mikroorganizmusok fermentálhatják (Deuchler és mtsai, 1998), ezért a bélsár kolintartalmának vizsgálatával nem lehet meghatározni az egyes kolint tartalmazó termékek emészthetőségét. A nagyobb bendőbeli stabilitás, ezért csak részben minősíti az egyes termékeket, de semmiképpen sem alkalmas azok rangsorolására, minőségének vagy emészthetőségének meghatározására, amelynek tanulmányozása túl nyúlt első kísérletünk célján.

5.2. II. kísérlet

5.2.1. Kísérleti anyag és módszer

5.2.1.1. Kísérleti állatok és elhelyezésük

A II. kísérletet a Milkmen Kft. tehenészetében Pakson végeztük. A kísérletben 32, kettő, vagy annál több laktációs termelésben levő, Holstein-fríz tehenet használtunk. Az állatokat, a kísérletet megelőzően ivarilag szinkronizáltuk annak érdekében, hogy lerövidítsük az ellések intervallumát. A szinkronizálást az Ovsynch program szerint végeztük. A teheneket GnRH (250µg gonadorelin-diacetát-tetrahidrát) injekcióval kezeltük, majd ezt követően a hetedik napon PGF_{2α}, (500 µg cloprostenol-Na) a kilencedik napon újabb GnRH (250µg gonadorelin-diacetát-tetrahidrát) injekció következett. A második GnRH-injekciót követő 16 – 24 órában termékenyítettük a teheneket. A kísérleti állatokat kis létszámú, kötetlen csoportokban, szalmaalmon helyeztük el hasonló körülmények között. A csoportok az ellést megelőző időszakban naponta egyszer, majd az ellést követően naponta kétszer, reggel és este hat órákor kaptak friss takarmányt. Az egyes takarmánykomponenseket Himel DX-75 (Himel Futter-Ausbereitung-Systeme, Melchingen, Németország) takarmánykeverő kiosztó kocsival kevertük össze, teljes keverék (TMR) formájában, *ad libitum* etettük, emellett ivóvizet folyamatosan biztosítottunk. Az *ad libitum* takarmányozást a TMR mennyiségének beállításával úgy valósítottuk meg, hogy a kijuttatott adagokból a következő takarmánykiosztáskor az eredeti mennyiség kb. 10%-a megmaradjon. A teheneket naponta két alkalommal, 5.30-kor és 17.30-kor Boumatic fejőgéppel (2x20 Expressway fejőállás; ProVantage 2050 Network Controller, Boumatic LLC, Madison, USA) fejtük. A kísérleti állatok elhelyezését és a kísérleti protokollt a Zala Megyei Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás engedélyezte (ikt. Sz.: DK-38/2/2003).

5.2.1.2. Kísérlet elrendezése és kezelések

A harminckét tehenet a várható ellésük előtt 28 nappal két csoportra osztottuk (RPC-csoport – bendővédett kolint fogyasztók és Kontrollcsoport – bendővédett kolint nem fogyasztó csoport). A csoportokba sorolást – a csoportok közötti különbség minimálisra csökkentése érdekében – úgy végeztük, hogy a rendelkezésre álló tehenekből párokat képeztünk. A csoportok kialakítása során figyelembe vettük az ellésszámot (átlag \pm szórás; $3,31 \pm 1,22$ és $3,31 \pm 1,28$), a testkondíciót ($4,01 \pm 0,38$ és $4,05 \pm 0,39$) és az előző laktáció tejtermelését (9478 ± 1736 és 9474 ± 1687), melyek a feltüntetett értékek szerint alakultak az RPC és a Kontrollcsoportban.

A kísérleti takarmányadagokat az ellést megelőző 21. naptól kezdődően az ellést követő 60. napig etettük. Az egyes takarmányadagok részletes leírását a 3., a 4. és az 5. táblázat tartalmazza. Az adagokat az NRC (NRC, 2001^b) ajánlásai alapján állítottuk össze. Az RPC-csoport napi takarmányadagját az ellés előtt 100 g az ellést követően 200 g bendővédett kolintermékkel egészítettük ki. Az első kísérletünk inkubációs vizsgálata alapján úgy határoztunk, hogy a bendővédett kolint a Norcol-25[®] (Nordos Italy, Bussolengo, Olaszország) nevű termék formájában tesszük a takarmányadagba. Ezt a terméket egy speciális eljárással, zsírsavakkal történő kapszulázási technikával állítják elő, ezáltal a benne levő kolin egy jelentős része elkerüli a bendőbeli lebomlást és lehetővé válik annak vékonybélből történő felszívódása. Inkubációs kísérletünk eredménye szerint nyolc óra inkubációt követően kolintartalmának 20 – 25%-a nem bomlott le, ezzel a tesztelt négy bendővédett termék közül a második legmagasabb bendőbeli stabilitással rendelkezett. Az ennél magasabb védettséggel rendelkező amerikai termék esetében előfordulhat, hogy annak vékonybélbeli emészthetősége gyengébb (Newbold, 2002), ezáltal kevesebb kolint szolgáltat az intermedier anyagcsere számára. Ez magyarázatul szolgálhat arra, hogy az amerikai termékkel a korábbi években

több, viszonylag kevésbé sikeres kísérletet végeztek már, amit szeretnénk volna elkerülni. Ezeken túlmenően a kísérletünket 2003. januárban kezdtük, amikor az amerikai termék sem az Európai Unióban, sem Magyarországon nem rendelkezett érvényes regisztrációval, ezért alkalmazása sok problémát vetett volna fel. A Norcol-25[®] készítmény 25% kolin-kloridot tartalmazott, így az etetett dózisokkal az ellés előtt napi 25 g, az ellést követően 50 g kolint biztosítottunk.

A bendővédett kolint a pontosabb adagolhatóság érdekében kukoricadarával kevertük (90% kukoricadara és 10% Norcol-25[®]) és 1 illetve 2 kg-os mennyiségben a TMR tetejére szórva etettük. A kontrollcsoport takarmányadagja hozzáadott kolint nem tartalmazott és a többi összetevőjében és táplálóanyag-tartalmában teljesen azonos volt az RPC-csoportéval. A bendővédett kolin a 25% kolin-klorid tartalmán kívül 75% hosszú szénláncú, telített zsírsavakat tartalmazott, amelyek extra energiát biztosítottak az RPC-csoport részére. Ennek ellensúlyozására a kontrollcsoport takarmányadagját az ellés előtt napi 75g, azt követően 150g frakcionált, pálmaolajból származó trigliceriddel (Hyprofat; Provimi BV., Rotterdam, Hollandia) egészítettük ki. A zsírt a védett kolinnal azonos módon, kukoricadarával keverten (92,5% kukoricadara és 7,5% Hyprofat) napi 1 illetve 2 kg-os mennyiségben a TMR tetejére szórva adagoltuk.

3. táblázat. A napi fejadagok összetétele az ellés előtti és az azt követő időszakban

Fejadag összetétel (kg/nap eredeti szárazanyag)	Ellés előtt ¹		Ellés után ²	
	Kontroll	RPC	Kontroll	RPC
Kukoricaszilázs	13,0	13,0	22,0	22,0
Sörtörköly (nedves)			5,0	5,0
Lucernaszéna			3,6	3,6
Fűszéna	5,0	5,0	0,6	0,6
Kukoricadara			4,5	4,5
Árpadara	1,0	1,0	1,5	1,5
Napraforgódara (extrahált, 38 % ny.f.)	1,3	1,3	0,7	0,7
Szójadara (extrahált, 46 % ny.f.)			0,8	0,8
Szója (Fullfat, extrudált)			0,5	0,5
Amino Plus ³			1,6	1,6
Magnapack ⁴			0,2	0,2
Hyprofat ⁵			0,3	0,3
Szárazonálló tehénpremix ⁶	0,20	0,20		
Takarmánymész			0,12	0,12
Monokalcium-foszfát			0,06	0,06
Takarmánysó			0,10	0,10
Szódabikarbóna			0,15	0,15
Vitamin- és mikroelempremix ⁷			0,10	0,10
Kontrollkeverék ⁸	1,0		2,0	
RPC-keverék ⁹		1,0		2,0
Összesen:	21,50	21,50	43,83	43,83

¹ Ellés előtt 21. naptól ellésig

² Elléstől a laktáció 60. napjáig

³ Védett szója készítmény (fehérjetartalom 72%-a védett; AG Processing Inc., Omaha, USA)

⁴ Pálmaolaj zsírsavainak Ca-sója (Norel & Nature S. A., Madrid, Spanyolország)

⁵ Frakcionált pálma triglicerid (Provimi BV., Rotterdam, Hollandia)

⁶ Beltartalom: 6,0 % Ca, 5,5 % P, 3600 mg/kg Zn, 4800 mg/kg Mn, 1320 mg/kg Cu, 30 mg/kg Co, 73 mg/kg I, 36 mg/kg Se, 661500 NE/kg A vitamin , 200000 NE/kg D vitamin, 9850 mg/kg E vitamin

⁷ Beltartalom: 20000 mg/kg Zn, 14000 mg/kg Mn, 5000 mg/kg Fe, 4000 mg/kg Cu, 40 mg/kg Co, 220 mg/kg I, 100 mg/kg Se, 1500000 NE/kg A vitamin, 425000 NE/kg D vitamin, 7500 mg/kg E vitamin

⁸ Összetétel: 92,5% kukoricadara és 7,5% Hyprofat

⁹ Összetétel: 90,0 % kukoricadara és 10,0% Norcol-25[®]

4. táblázat. A napi takarmányadagok összetétele az ellés előtti és az azt követő időszakban

Alapanyag összetétel (g/kg szárazanyag)	Ellés előtt ¹		Ellés után ²	
	Kontroll	RPC	Kontroll	RPC
Kukoricaszilázs	355,3	355,3	312,3	312,3
Sörtörköly (nedves)			51,2	51,2
Lucernaszéna			144,3	144,3
Fűszéna	389,2	389,2	24,3	24,3
Kukoricadara			114,6	114,6
Árpadara	42,5	42,5	66,0	66,0
Napraforgódara (extrahált, 38 % ny.f.)	111,5	111,5	35,7	35,7
Szójadara (extrahált, 46 % ny.f.)			30,2	30,2
Szója (Fullfat, extrudált)			22,0	22,0
Amino Plus ³			69,3	69,3
Magnapack ⁴			9,2	9,2
Hyprofat ⁵			7,2	7,2
Szárazonálló tehénpremix ⁶	18,0	18,0		
Takarmánymész			5,8	5,8
Monokalcium-foszfát			2,9	2,9
Takarmánysó			4,8	4,8
Szódabikarbóna			7,4	7,4
Vitamin- és mikroelempremix ⁷			4,8	4,8
Kontrollkeverék ⁸	83,5		88,0	
RPC-keverék ⁹		83,5		88,0
Összesen:	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0

¹ Ellés előtt 21. naptól ellésig

² Elléstől a laktáció 60. napjáig

³ Védett szója készítmény (fehérjetartalom 72%-a védett; AG Processing Inc., Omaha, USA)

⁴ Pálmaolaj zsírsavainak Ca-sója (Norel & Nature S. A., Madrid, Spanyolország)

⁵ Frakcionált pálma triglicerid (Provimi BV., Rotterdam, Hollandia)

⁶ Beltartalom: 6,0 % Ca, 5,5 % P, 3600 mg/kg Zn, 4800 mg/kg Mn, 1320 mg/kg Cu, 30 mg/kg Co, 73 mg/kg I, 36 mg/kg Se, 661500 NE/kg A vitamin , 200000 NE/kg D vitamin, 9850 mg/kg E vitamin

⁷ Beltartalom: 20000 mg/kg Zn, 14000 mg/kg Mn, 5000 mg/kg Fe, 4000 mg/kg Cu, 40 mg/kg Co, 220 mg/kg I, 100 mg/kg Se, 1500000 NE/kg A vitamin, 425000 NE/kg D vitamin, 7500 mg/kg E vitamin

⁸ Összetétel: 92,5% kukoricadara és 7,5% Hyprofat

⁹ Összetétel: 90,0 % kukoricadara és 10,0% Norcol-25®

5. táblázat. A takarmányadagok táplálóanyag-koncentrációja az ellés előtti és az azt követő időszakban

Táplálóanyag összetétel (g/kg szárazanyag)	Ellés előtt ¹		Ellés után ²	
	Kontroll	RPC	Kontroll	RPC
Szárazanyag, (g/kg eredeti sz.a.)	582	582	542	542
Nyersfehérje	140	140	171	171
By-pass fehérje	39	39	64	64
By-pass fehérje (g/kg ny.f)	278	278	374	374
Lebomló fehérje	101	101	107	107
Lebomló fehérje (g/kg ny.f)	722	722	626	626
MFE ³	97	97	136	136
MFN ⁴	86	86	124	124
Lizin a metabolizálható fehérjében ⁵ (g/kg MF)	69	69	64	64
Metionin a metabolizálható fehérjében ⁵ (g/kg MF)	21	21	18	18
NFC ⁶	342	342	409	409
NDF	445	445	317	317
ADF	282	282	199	199
Nyers zsír	34	34	53	53
Hamu	39	39	50	50
NE _i , MJ/kg	6,5	6,5	7,02	7,02
Ca	6,0	6,0	8,2	8,2
P	5,0	5,0	4,5	4,5
Mg	2,4	2,4	2,2	2,2

¹ Elléselőtt 21. naptól ellésig

² Elléstől a laktáció 60. napjáig

³ Energiafüggő metabolizálható fehérje

⁴ Nitrogénfüggő metabolizálható fehérje

⁵ A metabolizálható fehérje lizin- és metionintartalmát az NRC (2001) modellprogram segítségével számítottuk

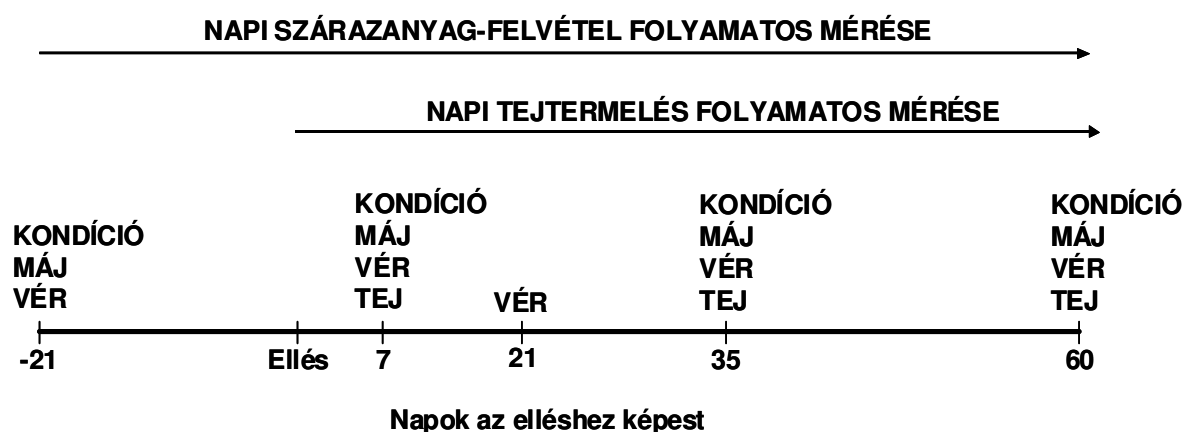
⁶ Nem rostszerű szénhidrát; NFC=1000-(Nyersfehérje+Nyerszsír+NDF+Hamu)

5.2.1.3. Mintagyűjtés és analitikai eljárások

A kiosztott takarmányadagokat hetente mintáztuk és az OMMI Laboratóriumába küldtük, ahol az alapvető táplálóanyagok (szárazanyag, nyersfehérje, nyerszsír, NDF és ADF) kerültek meghatározásra. A csoportok szárazanyagfelvételét a kiosztott és a meghagyott takarmánymennyiség közötti különbségből naponta számoltuk. A szárazanyagfelvételi adatokat hetente csoportosítottuk és a csoportosított heti adatokat értékeltük statisztikailag.

Az egyes mintavételek és felmérések időpontjait az 6. ábrán foglaljuk össze. A testkondíciót az ellés előtti 21. és az ellést követő 7., 35. és 60. napon, az NRC-ben (NRC, 2001^c) ismertetett 1-től 5-ig terjedő skálán (1: sovány, 5: elhízott) pontoztuk. A pontozást a bírálók közötti esetleges különbségek kiküszöbölése érdekében mindig azonos személy végezte.

6. ábra. Mintavételek és mérések a kísérlet során



A tehenenkénti tejtermelést a fejőberendezés segítségével fejésenként mértük, melyből kiszámítottuk egyedenként a napi tejhozamot.

A laktáció 7., 35. és 60. napján a reggeli és az esti fejéskor két-két mennyiséggel arányos mintát vettünk Tru Test Milk Meter segítségével (Auckland, Újzéländ). Az egyik mintát lefagyasztottuk és -18°C -on tároltuk a későbbi tejsír- és tejfehérje-analízishez. A másik mintát fagyasztva szárítottuk és az előbbiekkal azonos módon -18°C -on tároltuk a tej kolintartalmának meghatározásához.

Felolvasztást és homogenizálást követően a tej zsírtartalmát Folch és mtsai (1957) módszerével határoztuk meg. Ennek során 1 g mintát 10 ml kloroform – metanol 2:1 (vol/vol)

arányú keverékével extraháltunk, majd 2 ml 0,9%-os NaCl-oldatot adtunk a keverékhez, amelyet erőteljes összerázást követően 2 órára állni hagyunk, hogy két fázisra különüljön el. A lipideket tartalmazó alsó fázist gömblombikba különítettük el, majd 50⁰C-os vízfürdőben nitrogén gáz áramoltatása mellett beszárítottuk és a tömegét analitikai mérlegen megmértük. Az így kapott összes lipidemennyiséget g/kg-ban fejeztük ki.

A tejminták nitrogéntartalmát Kjeldahl-módszerrel határoztuk meg (Helrich, 1990). A minták nitrogéntartalmából a tej nyersfehérje tartalmát a Nyersfehérje (%) = N(%) x 6,38 összefüggéssel számoltuk ki (Hammersten, 1883; Karman és van Boekel, 1986).

A tej kolintartalmát Woollard és Indyke (2000) enzimatisus módszerével határoztuk meg. Ennek során 5 g mintát 30 ml 1,0M sósavban 70⁰C-on 3 órán keresztül hidrolizáltattunk, hogy a kötött formában lévő kolin többségét felszabadítsuk. Hűtést követően az oldat pH-ját 50%-os NaOH-oldattal 3,5-4,0 közé állítottuk be, desztillált vízzel 50 ml-re egészítettük ki, majd leszűrtük (Whatman No 2, 1,4-2,9 µm pórusméret). A foszfolipidekben lévő kolint foszfolipáz-D (Sigma Type VI, P8023) segítségével szabadítottuk fel, ezt követően az oldatban lévő szabad kolint, kolin-oxidázzal (Sigma, C-5896) reagáltattuk. Az így keletkező hidrogén-peroxid, peroxidáz (Sigma Type I, P-8125) jelenlétében oxidálja az oldathoz adott fenolt, amelynek oxidált formája a 4-aminoantipirinnel (Sigma A4382) színreakciót ad. Az oldatot ezt követően 505 nm-es hullámhosszon fotometráltuk (Biochrom Libra S22, Biochrom Ltd., Cambridge, Egyesült Királyság) és a kolin mennyiségét mg/kg kolin-hidroxiidban fejeztük ki. Ez a módszer a tej összes kolintartalmát adja eredményül: a szabad kolintartalmat együttesen a kolin kötött formáival, mint acetilkolin, foszfatidilkolin, lizofoszfatidilkolin, szfingomielin és glicerofoszfokolin.

Az ellést megelőző 21. napon és a laktáció 7., 35. és 60 napján helyi érzéstelenítést (10 ml 2%-os Lidocain oldat; EGIS Rt., Magyarország) követően, a 11. bordaközön keresztül biopsziás módszerrel 600-1000 mg tömegű májmintákat vettünk. A májmintákból meghatároztuk az összes lipid (TL), a triglicerid (TG) és a glikogén (GL) mennyiségét, valamint a minták zsírsav-összetételét.

A májbiopsziátum fele mennyiségéből meghatároztuk a TL- és a TG-tartalmát. A minták TL-tartalmát a tejsír meghatározásnál ismertetett módon Folch és mtsai (1957) módszerével határoztuk meg, azzal a különbséggel, hogy a bemérés során 0,5 g májmintát homogenizáltunk az extraháláshoz használt kloroform – metanol oldószer arányos mennyiségében. Az eredményt a máj g/kg nedves tömegére adtuk meg.

A TG-meghatározáshoz az N₂ alatt beszárított TL-mennyiségét 2-8 ml mennyiségű izopropanolban oldottuk fel a rendelkezésre álló minta mennyiségétől függően (Piepenbrink és Overton, 2003^b), majd az oldatot két egyenlő részre osztottuk. Az egyik mintát a TG analízishez használtuk fel, melyhez a Reanal (Reanal Rt., Budapest, Magyarország) HU/CA01/0617/05 számú reagenskészletét használtuk. A fotometrálist izopropanol vakoldattal szemben végeztük, az eredményeket a máj g/kg nedves tömeg értékére adtuk meg.

A TL-kivonat másik felét a zsírsav-meghatározáshoz készítettük elő oly módon, hogy annak zsírsavait bor-trifluorid metiléző oldattal (Supelco Inc., Cat. No. 3-3021) zsírsav-metilészterre alakítottuk. Az így kapott zsírsav-metilésztereket gázkromatográffal (TRACE 2000; Thermo Finnigan Italia S.p.A., Milánó, Olaszország) választottuk szét két futtatás és két oszlop alkalmazásával (Lengyel és mtsai, 2003). A zsírsavak egy részét Omegawax 320 oszloppal (30 m hossz x 0,32 mm átmérő, 0,25 µm film; Supelco Inc., Cat. No. 24152), a konjugált

diének arányát SP-2560 oszloppal (100 m hossz x 0,25 mm átmérő, 0,2 µm film; Supelco Inc., kódszám: 24056) határoztuk meg. A zsírsavakat standard zsírsav-metilészter keverék (Qualimax FA, kódszám: 4-7057; PUFA-2, kódszám: 4-7015; Linoleic acid methyl ester mix, kódszám: 4-7791) retenciós ideje alapján azonosítottuk. Az egyes zsírsavakat az összes zsírsav tömegszázalékában fejeztük ki. A gázkromatográfiás vizsgálathoz használt összes reagenst a Supelco Inc.-től (Bellefonte, USA) szereztük be.

A májbioptátum másik felét a glikogén analíziséhez használtuk fel. A GL tartalmat Van den Top és mtsai (1994) által leírt módszerrel határoztuk meg. Ennek során 100 mg májmintát 0,5 ml 20%-os KOH oldatban tároltunk szobahőmérsékleten, 12 órán keresztül. Ezt követően 1 ml 98%-os (w/w) etanolt adtunk hozzá, majd az elegyet egy órán keresztül 37⁰C-os vízfürdőben inkubáltuk. Az inkubálást követően az oldathoz 1 ml 0,15 M töménységű MgSO₄ oldatot adtunk és 10 percen keresztül 1000 g sebességgel centrifugáltuk. A felülúszó eltávolítását követően az alkoholt 100⁰C-os vízfürdőben elpárologtattuk. Két ml 2,0 M töménységű HCl hozzáadása után a mintákat 2 órára 100⁰C-os vízfürdőbe helyeztük, majd a minták pH-ját 5 M koncentrációjú NaOH-oldattal 7,0-re állítottuk be. A glükózt enzimatikus úton a Diagnosticum Rt. reagenscsomagja segítségével (Diagnosticum Rt., Budapest, Magyarország; kódszám: 40851) határoztuk meg.

Az ellést megelőző 21. napon, majd a laktáció 7., 21., 35. és 60. napján, a reggeli takarmánykiosztást követő 3-4. órában, a *v. jugularis*-ból vérmintákat gyűjtöttünk. A mintákat három részre osztottuk, ezek egyikéből a helyszínen meghatároztuk a minták ammóniakoncentrációját. A másik részt azonnal centrifugáltuk és a plazmát lefagyasztottuk a későbbi inzulin meghatározáshoz. A maradék vér alvadását Na-heparinnal gátoltuk, a mintákat tartalmazó csöveket azonnal 5 C⁰-ra hűtöttük és így tároltuk a laboratóriumi

vizsgálatokig. A mintákat a vérvételt követő 5 órán belül centrifugáltuk, leválasztottuk a plazmát, amelyből meghatároztuk azok glükóz-, szabadzsírsav- (NEFA), β -hidroxi-vajsav- (BHB), triglicerid- (TG), koleszterin- (TCh), karbamid- és AST-tartalmát.

A vér **ammóniakoncentrációját** Ammonia Checker II (KDK Co., Kyoto, Japán) vérammónia mérő készülékkel, Ammonia Test Kit II (ARKRAY Inc., Kyoto, Japán) reagens csíkok alkalmazásával határoztuk meg.

Az anyagcsere állapotát tükröző vérparaméterek meghatározását a Szent István Egyetem, Állatorvos-Tudományi Kar, Belgyógyászati Tanszék Laboratóriuma végezte az alábbiak szerint:

A **glükóz** meghatározást a plazmamintákból enzimatis (Lott és Turner, 1975), kolorimetriás (GOD/POD) módszerrel, gyári reagenskészlet segítségével (Diagnosticum Rt., Magyarország, kódszám: 40851) végeztük. A mérés kivitelezése Lisa 300 Plus (Hycel Diagnostics, Franciaország) klinikai kémiai automatán történt.

A **szabad (nem észterifikált) zsírsav (NEFA)** mennyiségét a mintában többlépéses, enzimes spektrofotometriás módszerrel mértük (Matsubara és mtsai, 1983). A meghatározáshoz a RANDOX Laboratories Ltd. (Írország) diagnosztikai kitjét használtuk (kódszám: FA 115). A sorozatmérés Eppendorf ACP 5040 (Hamburg, Németország) klinikai kémiai automata végpontos programja segítségével történt.

A **β -hidroxi-vajsav (BHB)** mérését enzimatis, kinetikus módszer segítségével végeztük (McMurray és mtsai, 1984). A reagens készletet a RANDOX Laboratories Ltd. (Írország, kódszám: RANBUT, RB 1007) forgalmazta. A mérések megvalósítására az Eppendorf ACP 5040 (Hamburg, Németország) klinikai kémiai automatát használtuk.

Az **összkoleszterin-koncentráció (TCh)** mérésére enzimátikus, kolorimetriás, végpontos módszert (Fasce és Vanderlinde, 1972) alkalmazó reagens kitet használtunk (Diagnosticum Rt., Magyarország, kódszám: 47061). A méréseket a LISA 300 Plus (Hycel Diagnostics, Franciaország) biokémiai automata segítségével végeztük el.

A **triglicerid-koncentráció** értékeket többlépcsős, enzimátikus, kolorimetriás (Werner és mtsai, 1981) diagnosztikai teszttel (triglicerid/PAP) nyertük (Diagnosticum Rt., Magyarország, kódszám: 47161). Az automatizált méréseket a LISA 300 Plus (Hycel Diagnostics, Franciaország) klinikai kémiai automatán végeztük.

A **karbamidkoncentráció** meghatározása a plazmamintákból enzimátikus, optimalizált UV teszt segítségével (Jung és mtsai, 1975), reagenskészlettel történt (Diagnosticum Rt., Magyarország, kódszám: 46661). Az eljárást LISA 300 Plus (Hycel Diagnostics, France) biokémiai automatán valósítottuk meg.

Az **AST-aktivitás** értékeket az IFCC-ajánlás (International Federation of Clinical Chemistry) szerinti optimalizált, kinetikus UV teszt segítségével mértük (Bergmeyer és mtsai, 1977). A reagenskészlet Diagnosticum Rt., Magyarország, kódszám: 46261 volt. A minták mérését LISA 300 Plus (Hycel Diagnostics, Franciaország) klinikai kémiai automatán végeztük el.

A minták inzulinvizsgálatát a Szent István Egyetem, Állatorvos-Tudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék Laboratóriumában végeztük. A plazma **szabad inzulinszintjét** ¹²⁵I izotópos, radio-immun vizsgálati csomag segítségével határoztuk meg (BI-Insulin IRMA kit; CIS Bio International Ltd – Subsidiary of Schering S.A., Gif-Sur-Yvette, Franciaország; érzékenység: 0.86 pmol/l; vizsgálaton belüli és vizsgálatok közötti CV: 1,3 – 5,6% és ≤8,5%). A módszert a vizsgálatok előtt szarvasmarha plazmával validáltuk. Alacsony inzulinszintű szarvasmarha vérplazmához ismert, nagy koncentrációjú inzulint adtunk és hígítási sort készítettünk. A hozzáadott inzulin mennyiségének 94 – 106%-át sikerült visszamérni és azt

tapasztaltuk, hogy a szarvasmarha vér és az ismert koncentrációjú standard sor inzulinkötő képessége egymással párhuzamos.

5.2.1.4. Statisztikai elemzés

A kísérletet 32 tehénnel kezdtük, de mindkét csoportban a laktációjuk ötödik hetében egy-egy tehénnél súlyos tőgygyulladás alakult ki, ami miatt ezeket el kellett távolítani a kísérletből, ezért csak 30 tehén fejezte be a kísérletet. A kieső tehenek hiányzó adatait az elemzés során hiányzó értéként kezeltük. Közvetlenül az ellést követően egy tehénnél a kontrollcsoportban és kettőnél az RPC-csoportban tőgygyulladás alakult ki, de ezek egy héten belül meggyógyultak, így ezek az állatok végig a kísérletben maradtak. A betegségük idején mért tejtermelési adataikat hiányzó értéként kezeltük. Az adatokat az SPSS csomag GLM (Generalized Linear Model) modellprogramjával elemeztük. Ennek során először az adatokról a *Kolgomorov-Smirnov* teszt segítségével megállapítottuk, hogy normális eloszlásúak-e. Ezt követően a normális eloszlású adatokat varianciaanalízissel elemeztük úgy, hogy a modellben a kezelés fő hatásként, a mintavételi idő, ismétlődő mérésenként szerepelt. Normális eloszlás esetén a *Levene*-tesztet alkalmaztuk a varianciák homogenitásának vizsgálatához. Statisztikailag szignifikáns különbséget a $P < 0,05$ szintre határoztuk meg, de abban az esetben, amikor $0,05 < P < 0,10$ szintet tendenciának tekintettük. Az egyes változók közötti összefüggések vizsgálatához először a korrelációs együtthatót határoztuk meg, majd lineáris regresszióanalízis segítségével az összefüggés irányát állapítottuk meg. Nem lineáris összefüggés esetén a legjobban illeszthető görbét illesztettük az adathalmazhoz. Az eredménytáblázatokban és a diagramokon az átlagokat és a hozzá tartozó standard hiba értékeket közöltük. A regressziós táblázatban a legjobban illeszthető függvény koefficienseit, R^2 értékét és a független változó szignifikanciaszintjét adtuk meg.

5.2.2. Kísérleti eredmények

5.2.2.1. A testkondíció, a termelési mutatók és a tej kolinszintjének változásai

A kísérlet kezdetén a tehenek elhúzódó laktációi miatt mindkét csoport **testkondíciója** lényegesen nagyobb volt, mint az ellés előtt ideálisnak tekintett 3,25-3,50 pontos érték (6. táblázat). A testkondíciót az egyes felmérések során szignifikáns ($P < 0,001$) mértékben befolyásolta az elléstől eltelt napok száma. Az ellést követő 7. és a 35. nap között gyors, nagymértékű (-0,83 a kontroll- és -0,68 az RPC-csoportban) kondícióvesztés volt megfigyelhető mindkét tehéncsoportban, amely később, a 35. és 60. nap között mérséklődött. A kolinkiegészítés nem befolyásolta a tehenek kondícióját és a kondícióváltozás mértékét.

6. táblázat. A testkondíció és a kondícióváltozás alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

		Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Testkondíció	Laktációs nap						
	-21-60 átlag	3,20	3,20	0,06	0,73	<0,001	0,14
	-21	4,05	4,01	0,08	0,55		
	7	3,57	3,46	0,12	0,43		
	35	2,74	2,78	0,08	0,89		
	60	2,45	2,55	0,08	0,56		
Kondíció változás	-21 - 60 átlag	-1,6	-1,46	0,21	0,51	<0,001	0,50
	-21 - 7	-0,48	-0,55	0,08	0,69		
	7 - 35	-0,83	-0,68	0,07	0,15		
	35 - 60	-0,29	-0,23	0,04	0,42		

¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

A napi szárazanyagfelvétel nem különbözött a kontroll- és az RPC-csoport között sem az ellés előtti, sem az elléstkövető időszakban (7. táblázat).

Az RPC-kiegészítés szignifikáns ($P < 0,001$) mértékben növelte a **tejtermelést** a kísérlet teljes időtartama alatt (7. táblázat; 7. ábra). A teljes időszakra vetítve a napi tejtermelés átlagosan 4,41 kg-mal, a 4% zsírtartalmú tejure korrigált **FCM termelés** 2,50 kg-mal volt magasabb a kolinkiegészítés hatására. A tej **zsírtartalmát** a kezelés nem változtatta szignifikáns mértékben, ugyanakkor a magasabb tejtermelésből fakadóan a napi **zsírtermelés** 0,1 kg-mal növekedett az RPC-etetés hatására (7. táblázat). A tej **fehérjeteralmában** emelkedő tendenciát ($P < 0,10$) figyeltünk meg az RPC-kiegészítés eredményeként. Az RPC-csoport tejében mért kissé magasabb fehérjekoncentráció és a jelentősen nagyobb tejtermelés következményeként a napi **fehérjetermelés** átlagosan 0,18 kg-mal múlta felül a kontrolles csoportban mért értékeket ($P < 0,001$; 7. táblázat).

7. táblázat. A szárazanyagfelvétel és a termelési mutatók alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben a laktáció első 60 napjában

	Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
				Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Szárazanyagfelvétel - ellés előtt ³ , kg/nap	12,4	12,5	0,24	0,78	<0,05	0,26
Szárazanyagfelvétel - laktációban ⁴ , kg/nap	23,7	24,1	0,72	0,38	<0,05	0,33
Tejtermelés ⁴ , kg/nap	37,19	41,60	0,37	<0,001	<0,001	0,69
FCM 4% ⁴ , kg/nap	35,75	38,25	0,34	<0,001	<0,001	0,65
Tejzsír ⁴						
%	3,84	3,67	0,05	0,14	<0,001	0,75
kg/nap	1,43	1,53	0,02	<0,05	<0,001	0,85
Tejfehérje ⁴						
%	3,05	3,14	0,03	0,07	<0,05	0,36
kg/nap	1,13	1,31	0,02	<0,001	<0,001	0,46

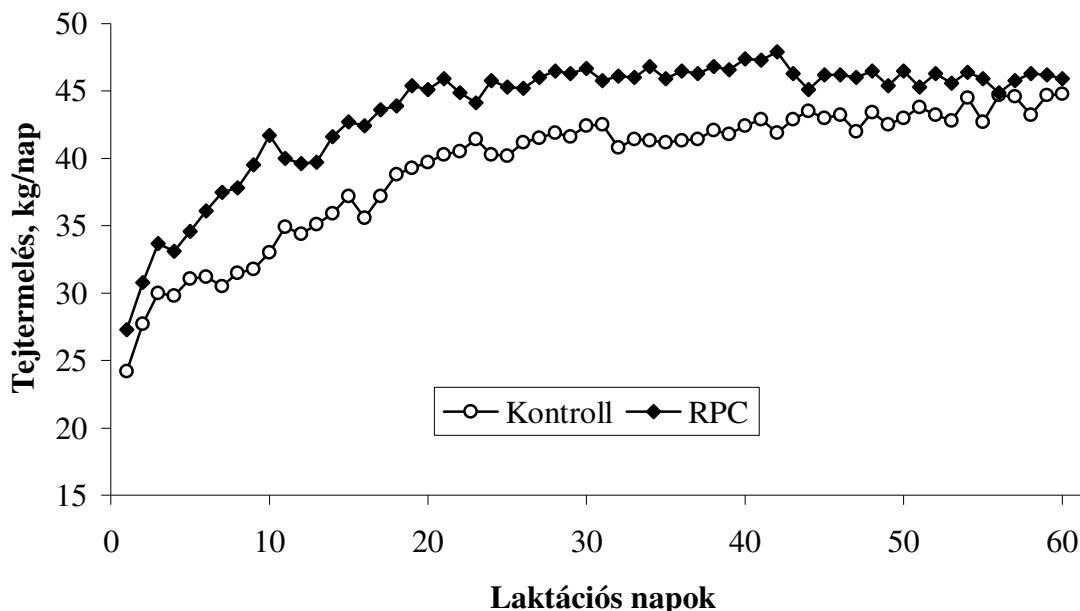
¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

³ -21 naptól ellésig

⁴ A laktáció első 60 napjára vonatkozó átlagos érték

7. ábra. A tejtermelés alakulása a védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben a laktáció első 60 napjában



A **tej összes kolintartalmát** és a tejjel naponta ürített kolinmennyiséget a kolinkiegészítés szignifikáns ($P < 0,001$) mértékben növelte (8. táblázat; 8. ábra). A laktáció során szignifikáns ($P < 0,001$) növekedést figyeltünk meg a tej összes kolinkoncentrációjában (8. táblázat). Az ellést követő hetedik napon mért értékhez képest a laktáció 35. napján a kontrollcsoportban 12,6%-kal, az RPC-csoportban 30,7%-kal magasabb tej kolinszintet mértünk. A vizsgálat során, a laktáció első 60 napjában tapasztalható átlagos tejkolin növekedés a kontrollcsoportban 33,0, az RPC-csoportban 25,4%-os volt. Hasonló változásokat tapasztaltunk a **tejben kiválasztott kolin** mennyiségében is. A tejjel történő kolin kiválasztás a laktáció 7. és 35. napja között a kontrollcsoportban 68,2, az RPC-csoportban 66,8%-kal emelkedett ($P < 0,001$). A tejjel kiválasztott kolin az RPC-csoportban a 35. napra érte el a maximális szintet, ezt követően nem növekedett szignifikáns mértékben. Ezzel szemben a kontrollcsoportban a tejjel ürített kolin mennyisége a kísérlet teljes időszakában emelkedett.

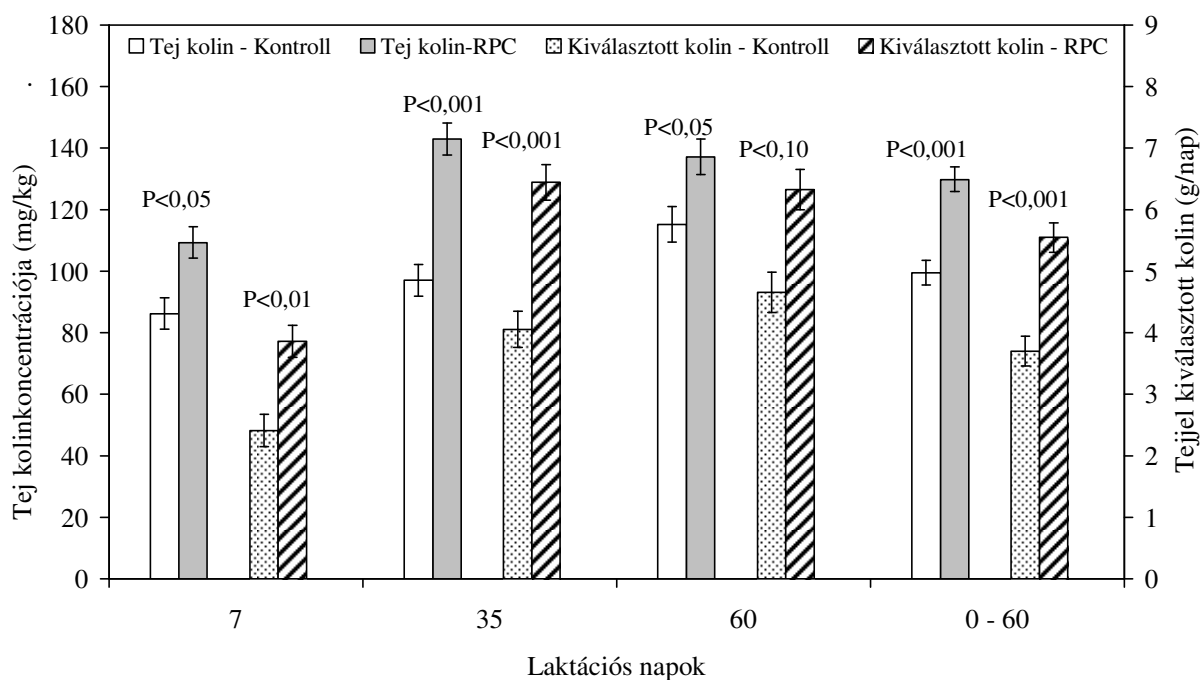
8. táblázat. A tej összes kolinkoncentrációja és a tejjel ürített összes kolin mennyiségének alakulása az ellést követő 60 napban

	Laktációs nap	Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Tej kolinkoncentráció (mg/kg)	0-60 átlag	99,52	129,85	3,98	<0,001	<0,001	0,12
	7	86,21	109,37	5,07	<0,05		
	35	97,08	142,97	5,18	<0,001		
	60	115,28	137,19	5,78	<0,05		
Tejjel kiválasztott kolin (g/nap)	0-60 átlag	3,71	5,54	0,24	<0,001	<0,001	0,28
	7	2,41	3,86	0,26	<0,01		
	35	4,06	6,45	0,29	<0,001		
	60	4,66	6,33	0,33	0,06		

¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

8. ábra. A tej kolinkoncentrációja és a tejben kiválasztott kolin mennyiségének alakulása az ellést követő 60 nap alatt



5.2.2.2. A vérplazma mutatók változásai

A vér egyes mutatóinak vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az ellés előtt mért értékekhez képest minden paraméter jelentős változást jelzett a kísérlet további szakaszában (9. – 11. táblázat), ezzel jól tükrözve az elléskörüli időszakban lezajló markáns változásokat az anyagcserében. A plazma **glükózkoncentrációját** a kolinkiegészítés nem befolyásolta, ugyanakkor a glükózkoncentrációban mindkét csoportban szignifikáns ($P < 0,001$) csökkenés következett be az ellést követően az ellés előtt 21 nappal mért értékhez képest (9. táblázat).

A zsírmobilizáció intenzitását tükröző plazma **szabad zsírsavszint** időbeli változásánál megfigyeltünk egy rendkívül intenzív emelkedést ($P < 0,001$) az ellést követően, mely a laktáció 21. napjára tetőzött, majd lassú ($P < 0,001$) csökkenésnek indult. A NEFA-koncentrációban az egész kísérleti időszakot tekintve nem volt eltérés a csoportok között (9. táblázat; 9. ábra). Az egyes mérések során csak a laktáció 21. napján vett minták NEFA-tartalma volt szignifikáns ($P < 0,05$) mértékben magasabb az RPC-csoportban.

A plazma **BHB** értéke a kolinetetés hatására szignifikánsan ($P < 0,05$) csökkent a kontrollhoz képest (9. táblázat; 10. ábra). Időbeli változása hasonló képet mutatott a NEFA-hoz, mert az ellést követő gyors emelkedést ($P < 0,001$) a 7. naptól kezdődő lassú csökkenés jellemezte.

A teljes időszakra vetített **plazma trigliceridkoncentráció** esetében, a védett kolint fogyasztó teheneekben figyeltünk meg magasabb ($P < 0,05$) értékeket (9. táblázat; 11. ábra). Különösen jelentős volt a laktáció 21. ($P < 0,01$) és 35. ($P < 0,05$) napján mért különbség, amikor az RPC-csoport értékei 62, illetve 45%-kal haladták meg a kontrolltehenekben mért szinteket.

Az időbeni változás tekintetében a trigliceridszint az ellés előtt mért értékhez képest az ellést követő 7. napra, harmadára, negyedére esett vissza ($P < 0,001$), majd mindkét csoportban enyhe növekedést követően stagnált.

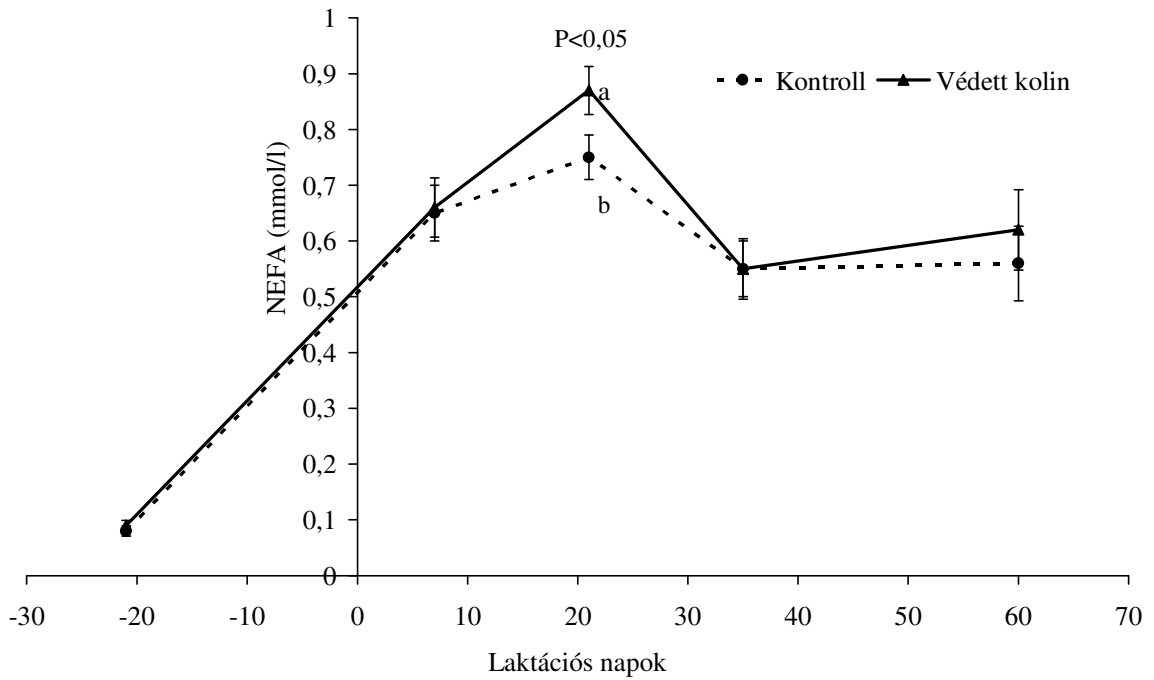
9. táblázat. A vér glükóz-, NEFA-, BHB- és trigliceridkoncentrációinak alakulása tejelő tehenekben védett kolinetetés hatására az elléskörüli időszakban

		Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Glükóz (mmol/l)	Laktációs nap						
	-21-60 átlag	3,28	3,28	0,05	0,99	<0,001	0,49
	-21	3,68	3,68	0,06	0,98		
	7	3,05	3,2	0,09	0,39		
	21	3,17	3,15	0,07	0,90		
	35	3,34	3,29	0,40	0,54		
	60	3,14	3,07	0,05	0,43		
NEFA (mmol/l)	-21-60 átlag	0,52	0,57	0,02	0,15	<0,001	0,60
	-21	0,08	0,09	0,01	0,08		
	7	0,65	0,66	0,04	0,83		
	21	0,75	0,87	0,03	<0,05		
	35	0,55	0,55	0,04	0,94		
	60	0,56	0,62	0,05	0,54		
BHB (mmol/l)	-21-60 átlag	0,77	0,65	0,03	<0,05	<0,001	0,13
	-21	0,43	0,46	0,04	0,76		
	7	1,46	1,16	0,08	<0,05		
	21	0,80	0,62	0,07	0,09		
	35	0,76	0,52	0,07	<0,05		
	60	0,44	0,49	0,03	0,33		
Triglicerid (mmol/l)	-21-60 átlag	0,13	0,17	0,01	<0,05	<0,001	0,12
	-21	0,21	0,26	0,02	0,41		
	7	0,08	0,07	0,01	0,12		
	21	0,13	0,21	0,02	<0,01		
	35	0,11	0,16	0,02	<0,05		
	60	0,14	0,15	0,01	0,77		

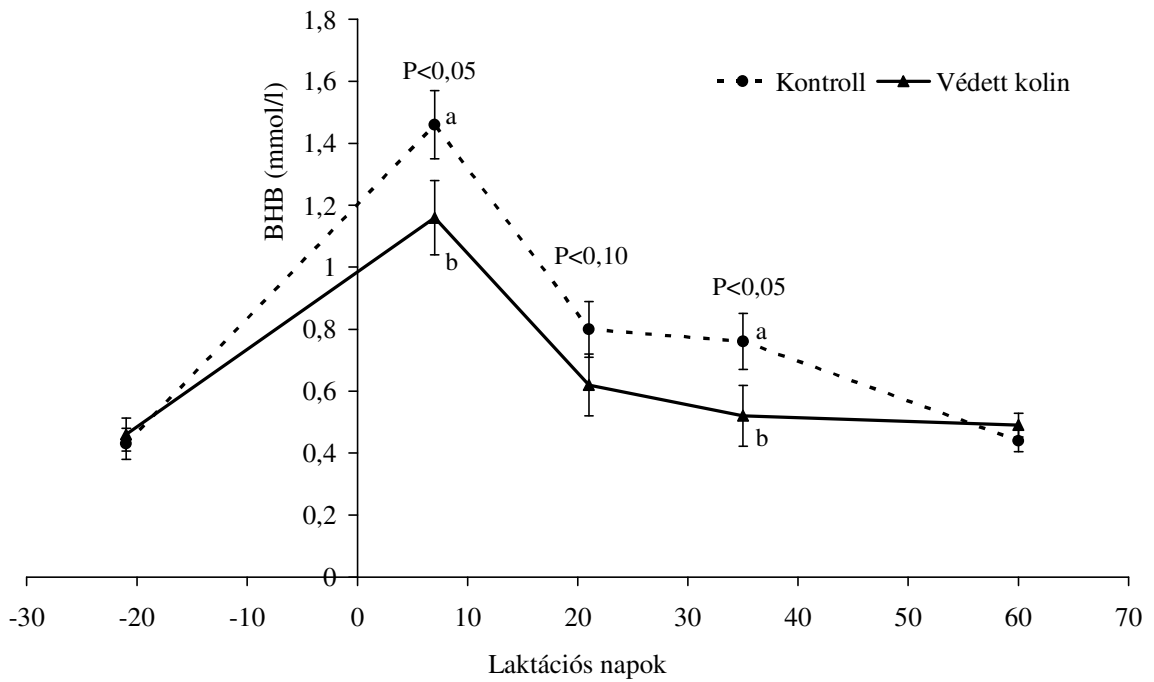
¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

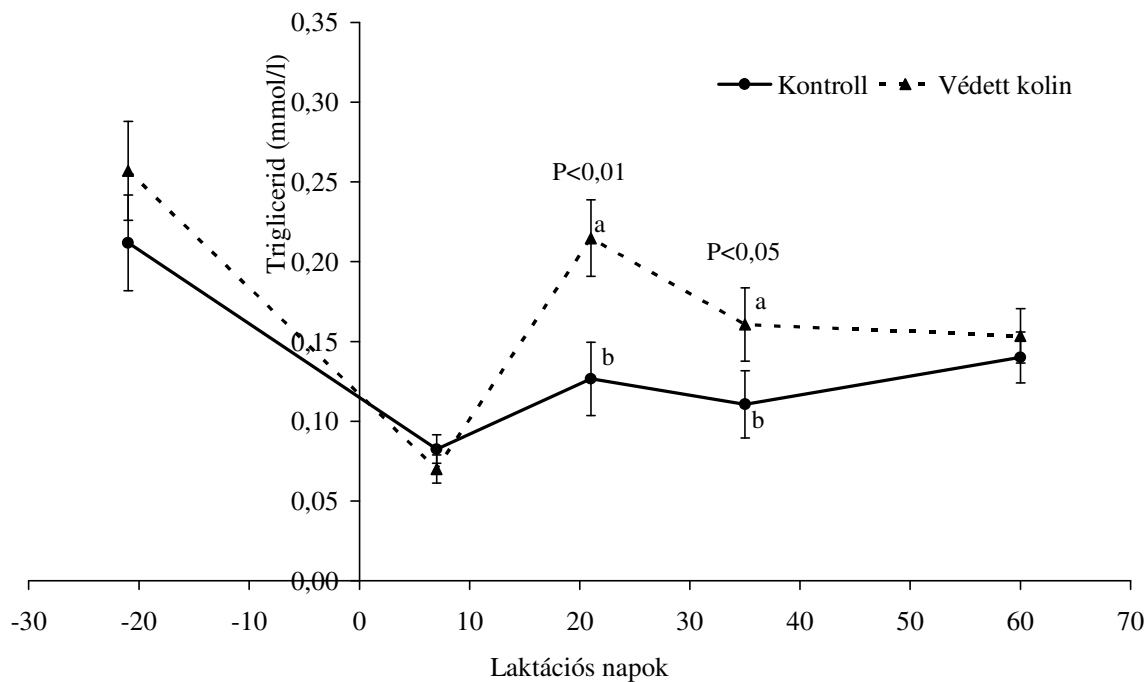
9. ábra. A plazma NEFA-koncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



10. ábra. A plazma BHB koncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



11. ábra. A plazma trigliceridkoncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



A **koleszterinértékek** nem különböztek a kezelés hatására, de mindkét csoportban egyenletes növekedés ($P<0,001$) volt megfigyelhető az ellés előtti 21. naptól kezdődően (10. táblázat).

A vér **karbamidszintjében** sem tapasztaltunk eltérést a két csoport között, ugyanakkor a laktáció kezdetén megfigyelhető csökkenés a 7. és 21. napon érte el a minimumot, majd lassú emelkedésnek indult ($P<0,001$; 10. táblázat).

A vér **ammóniaszintje** a teljes kísérleti időszakra vetítve az RPC-csoportban az alacsonyabb értékek felé tendált ($P<0,10$), szignifikáns mértékben alacsonyabb szinteket csak a laktáció 21. és 35. napján detektáltunk (10. táblázat; 12. ábra). Az ammóniaszint időbeni változását ($P<0,001$) az ellést követő 7. napon bekövetkező csúcs, majd a mindkét csoportban megfigyelhető csökkenés jellemezte.

10. táblázat. A vér koleszterin-, karbamid-, ammóniakoncentrációnak és AST-aktivitásának változása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

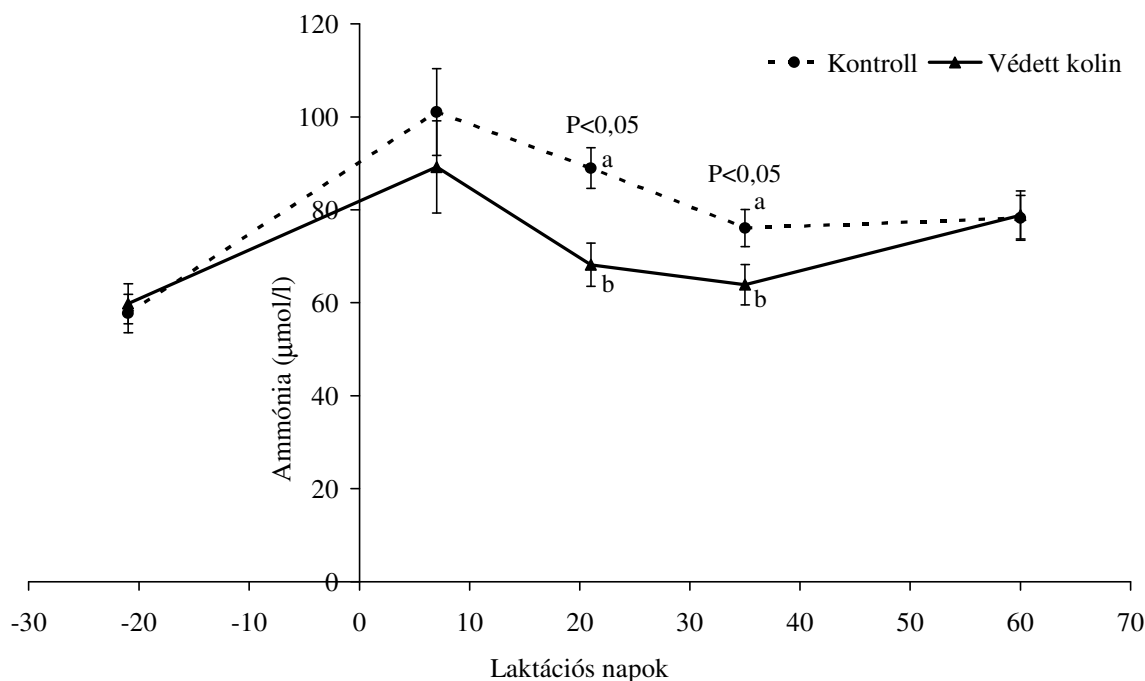
	Laktációs nap	Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Koleszterin (mmol/l)	-21-60 átlag	3,83	3,97	0,11	0,54	<0,001	0,74
	-21	2,76	2,61	0,08	0,35		
	7	2,69	3,11	0,17	0,22		
	21	2,98	3,17	0,15	0,52		
	35	4,69	4,62	0,24	0,88		
	60	6,05	6,31	0,30	0,67		
Karbamid (mmol/l)	-21-60 átlag	5,81	5,57	0,13	0,35	<0,001	0,72
	-21	5,79	5,86	0,19	0,84		
	7	5,24	4,96	0,26	0,51		
	21	5,04	5,03	0,22	0,99		
	35	6,20	5,74	0,23	0,33		
	60	6,77	6,26	0,23	0,28		
Ammónia (μmol/l)	-21-60 átlag	80,42	72,01	2,16	0,07	<0,001	0,27
	-21	57,70	59,80	3,00	0,86		
	7	101,06	89,23	6,80	0,12		
	21	89,00	68,21	3,19	<0,05		
	35	76,05	63,90	2,96	<0,05		
	60	78,29	78,92	3,54	0,81		
AST (U/l)	-21-60 átlag	86,36	88,93	2,67	0,63	<0,001	0,62
	-21	63,20	66,33	2,49	0,54		
	7	119,29	133,67	9,87	0,47		
	21	79,29	79,13	4,45	0,98		
	35	83,71	78,73	4,05	0,54		
	60	86,29	86,80	3,54	0,94		

¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

Az **AST**-aktivításra a kezelés nem hatott szignifikáns mértékben (10. táblázat). Időbeni lefutását tekintve az ellés előtt mért AST-értékek a laktáció 7. napján tetőztek (P<0,001), majd a 21. napra kissé csökkentek (P<0,001) és a kísérlet későbbi mérési időpontjaiban is hasonló szinten ingadoztak.

12. ábra. A plazma ammóniakoncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



A vér **inzulinkoncentrációja** a kísérlet teljes időszakára vonatkoztatva tendencia szintűen magasabb volt ($P < 0,10$) az RPC csoportban, mint a kontrollkezelés egyedeiben, ugyanakkor statisztikailag igazolhatóan magasabb szintet csak az ellést követő 35. napon ($P < 0,01$) sikerült kimutatnunk (11. táblázat). Az inzulinszint időbeli alakulását a kiindulási állapothoz képest kb. 50%-os csökkenés ($P < 0,001$), majd az elért szint stabilizálódása jellemezte.

11. táblázat. A vér inzulinkoncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehénekben az elléskörüli időszakban

	Laktációs nap	Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Inzulin (μU/ml)	-21-60 átlag	16,47	18,11	0,44	0,08	<0,001	0,07
	-21	27,53	33,30	1,51	0,06		
	7	15,84	13,86	0,71	0,17		
	21	13,39	11,59	0,58	0,13		
	35	12,01	16,67	0,78	<0,01		
	60	13,57	15,11	0,93	0,41		

¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

5.2.2.3. A máj lipid- és glikogéntartalmának változásai

Vizsgálataink során a máj lipidanyagcseréjének tanulmányozása és a májból származó minták részletes vizsgálata kiemelt fontossággal bírt, egyaránt nyomon akartuk követni az egyes mutatók időbeli változását és a kezelés hatását. A májmintákban mért **összlipid**-koncentráció az ellés előtt 21 nappal tapasztalt kiindulási szinthez képest mindkét csoportban jelentősen emelkedett (P<0,001; 12. táblázat; 13. ábra), a laktáció hetedik napján mértük a legmagasabb értékeket. Ezt követően a laktáció 35. és a 60. napján végzett méréseinknél fokozatos csökkenést állapítottunk meg (P<0,001). A kezelés hatását tekintve, a kísérlet teljes időszakára vonatkoztatva, a kolinkiegészítés átlagosan 32%-kal csökkentette (P<0,01) a máj összlipidtartalmát. Az egyes mérési időpontok közül az RPC-csoportban statisztikailag is igazolhatóan alacsonyabb volt a máj összlipidkoncentrációja a 7. (P<0,05) és a 35. (P<0,01) napokon, mint a kontrollcsoportban.

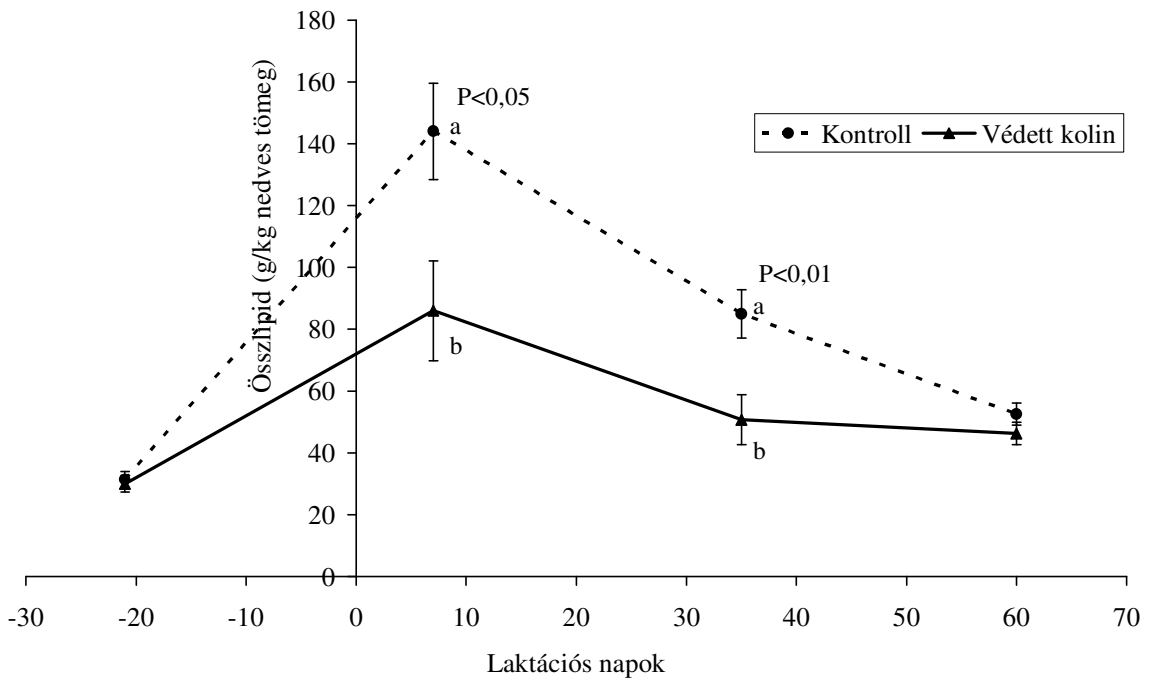
12. táblázat. A máj összlipid-, triglicerid- és glikogénkoncentrációinak, valamint a triglicerid:összlipid arány, az összlipid:glikogén arány és a triglicerid:glikogén arány változásai védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

		Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
Összlipid (g/kg)	Laktációs nap						
	-21-60 átlag	78,26	53,27	4,31	<0,01	<0,001	<0,05
	-21	31,36	30,06	1,87	0,73		
	7	144,10	85,98	11,24	<0,05		
	35	84,95	50,74	5,66	<0,01		
	60	52,63	46,30	2,54	0,22		
Triglicerid (g/kg)	-21-60 átlag	38,14	12,85	3,82	<0,01	<0,001	<0,01
	-21	2,86	3,38	0,04	0,52		
	7	98,85	31,04	9,79	<0,01		
	35	39,36	10,02	5,26	<0,01		
	60	11,47	6,95	1,72	0,20		
Glikogén (g/kg)	-21-60 átlag	29,28	30,78	0,76	0,326	<0,001	<0,05
	-21	46,92	44,52	1,42	0,41		
	7	13,18	15,90	1,13	0,24		
	35	27,38	35,52	1,40	<0,01		
	60	29,62	27,18	1,15	0,30		
Triglicerid : Összlipid arány	-21-60 átlag	0,49	0,24	0,02	<0,01	<0,001	<0,05
	-21	0,09	0,11	0,01	0,86		
	7	0,69	0,36	0,05	<0,001		
	35	0,46	0,20	0,04	<0,001		
	60	0,22	0,15	0,04	0,18		
Összlipid : Glikogén arány	-21-60 átlag	7,16	2,71	0,95	<0,05	0,003	0,15
	-21	0,69	0,70	0,06	0,98		
	7	18,17	6,78	1,73	<0,01		
	35	7,95	1,47	1,31	<0,01		
	60	1,83	1,87	0,12	0,88		
Triglicerid : Glikogén arány	-21-60 átlag	4,36	0,78	0,66	<0,05	<0,01	0,06
	-21	0,06	0,08	0,01	0,51		
	7	12,95	2,45	1,2	<0,05		
	35	4,02	0,30	0,45	<0,05		
	60	0,39	0,28	0,06	0,31		

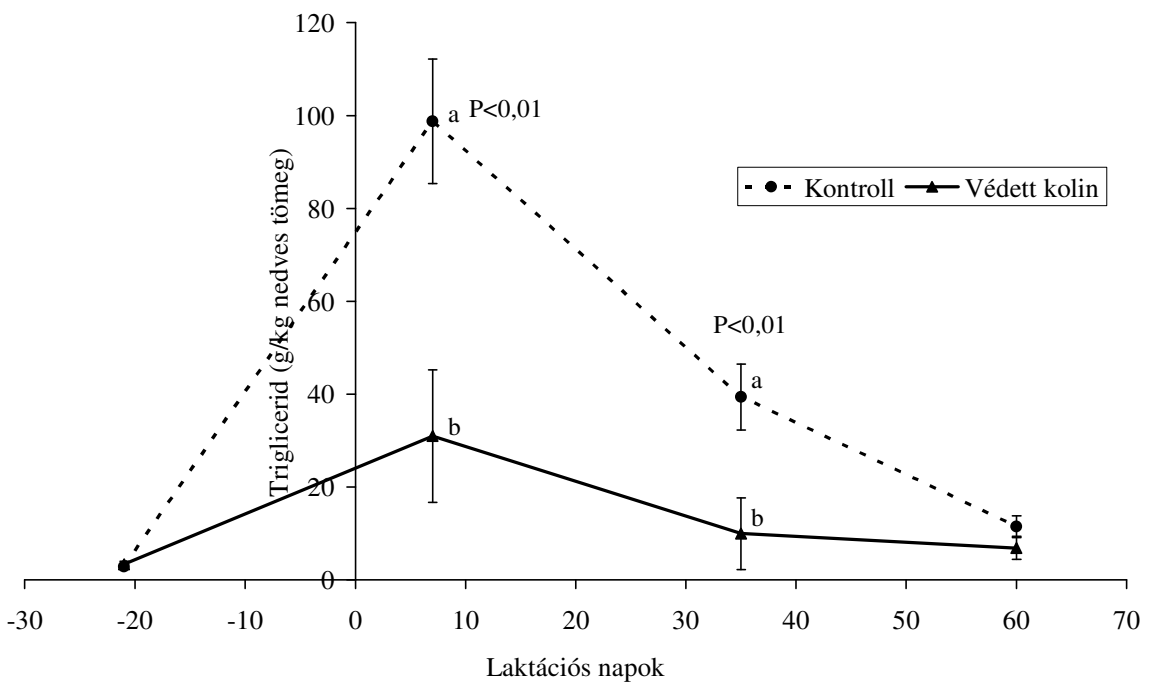
¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

13. ábra. A máj összlipidkoncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



14. ábra. A máj trigliceridkoncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

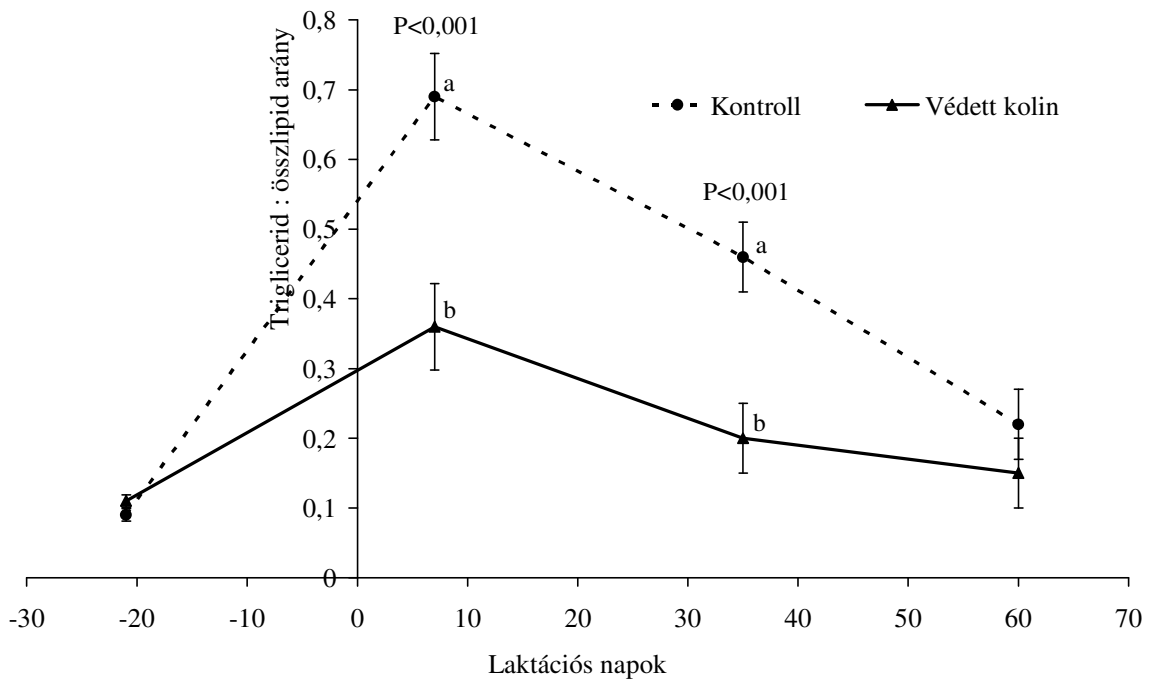


Megfigyeltük, hogy a **máj triglicerid** koncentrációjának időbeli alakulása nagyon hasonló volt az összlipid esetében tapasztalt változásokhoz (12. táblázat; 14. ábra), azaz az ellés előtt mért viszonylag alacsony szinthez képest gyors emelkedés volt megfigyelhető ($P < 0,001$). E paraméter csúcértékét, amely a kiindulási érték kilenc – harmincöttszöröse volt, ebben az esetben is a laktáció 7. napján mértük, majd fokozatos csökkenést tapasztaltunk. A kolin etetése szignifikánsan és jelentősen csökkentette a máj triglicerid koncentrációját. A teljes időtartamra vetítve átlagosan 66%-os csökkenést ($P < 0,01$) mértünk, amely az ellést követő 7. napon 68, a 35. napon 74,5%-kal alacsonyabb ($P < 0,01$) trigliceridszinteket jelentett a kontrollcsoporthoz képest.

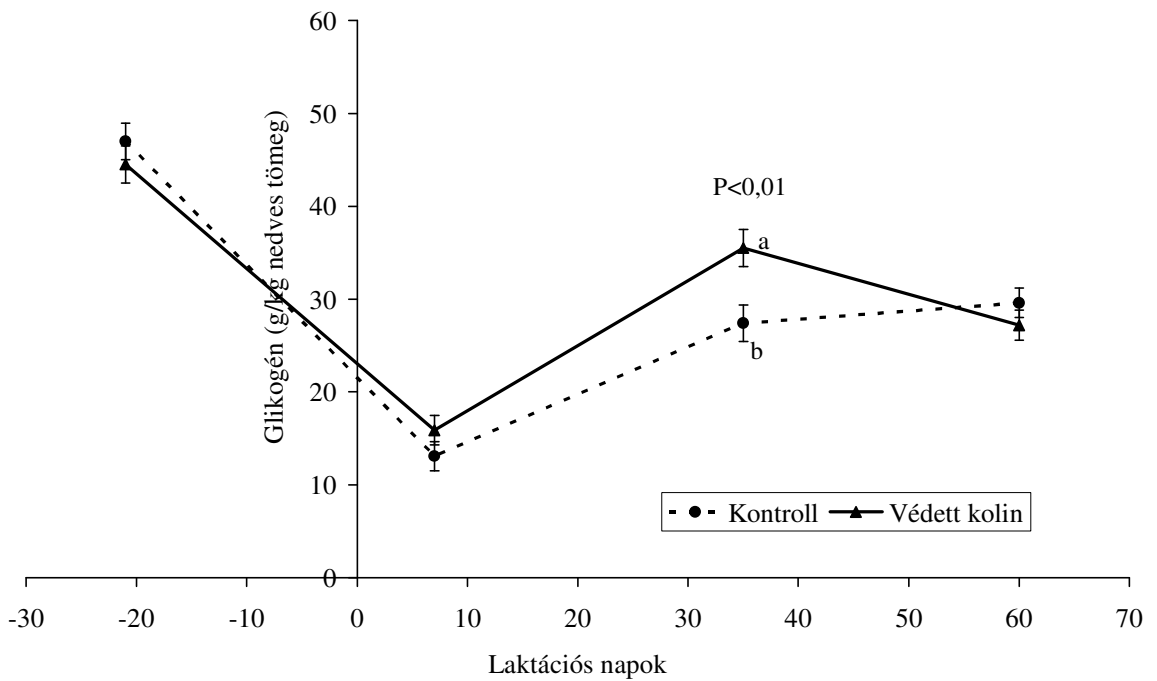
A **triglicerid:összlipid arány** az ellés előtt viszonylag alacsony szintről indult (12. táblázat; 15. ábra), majd az ellést követő hetedik napra a kiindulási érték három – hatszorosára emelkedett ($P < 0,001$). Ezt követően fokozatosan csökkent a kísérlet végéig. A védett kolin etetése a kísérlet teljes időtartamára vonatkoztatva szignifikánsan ($P < 0,001$) csökkentette a triglicerid:összlipid arányt. A laktáció 7. napján az RPC-csoportban mért érték 52%-kal ($P < 0,001$), a 35. napon 53%-kal ($P < 0,001$) volt alacsonyabb a kontrollhoz képest.

A **máj glikogéntartalmának** időbeli alakulása pont ellentéte volt a lipid frakciók változásának (12. táblázat; 16. ábra). Az ellés előtti magas kiindulási érték mindkét csoportban a laktáció 7. napjára a harmadára csökkent ($P < 0,001$). Ezt követően a glikogénszint a 35. napra megduplázódott ($P < 0,001$) és a későbbiekben is ezen a szinten ingadozott. A teljes időszakot figyelembe véve a kolin etetés nem befolyásolta a máj glikogéntartalmát, de egy esetben, a laktáció 35. napján az RPC-csoportban igazolhatóan ($P < 0,01$) magasabb glikogén szintet mértünk, mint a kontrollegyedekek májában.

15. ábra. A máj triglicerid:összlipid arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

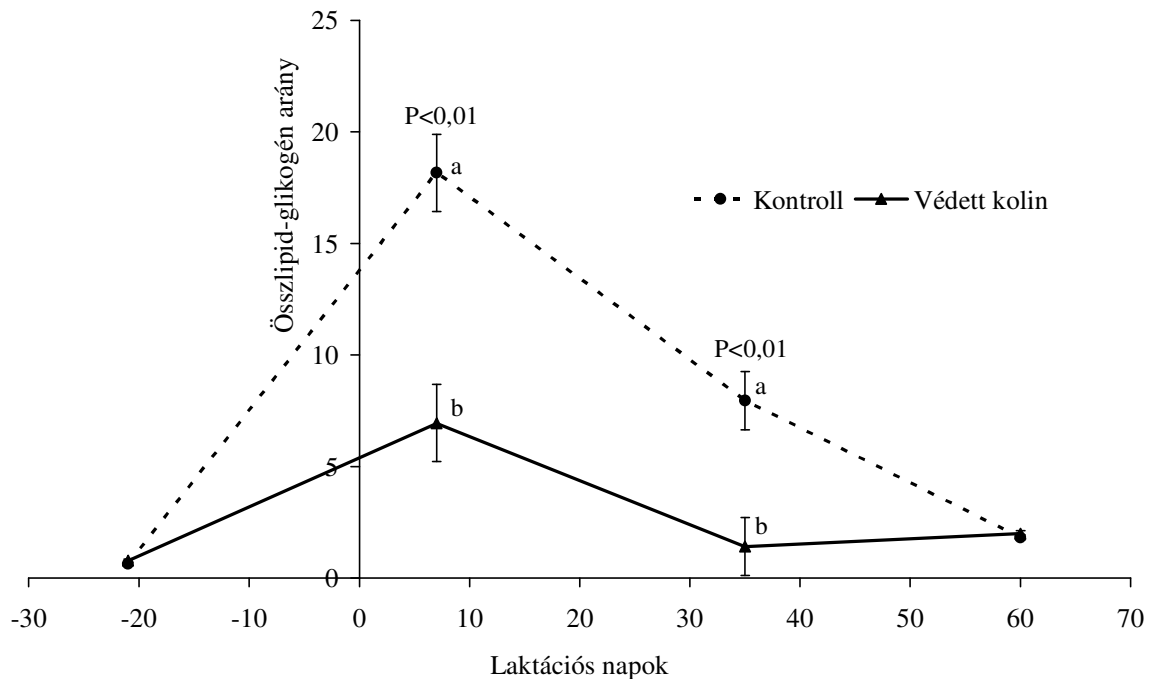


16. ábra. A máj glikogénkoncentrációjának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

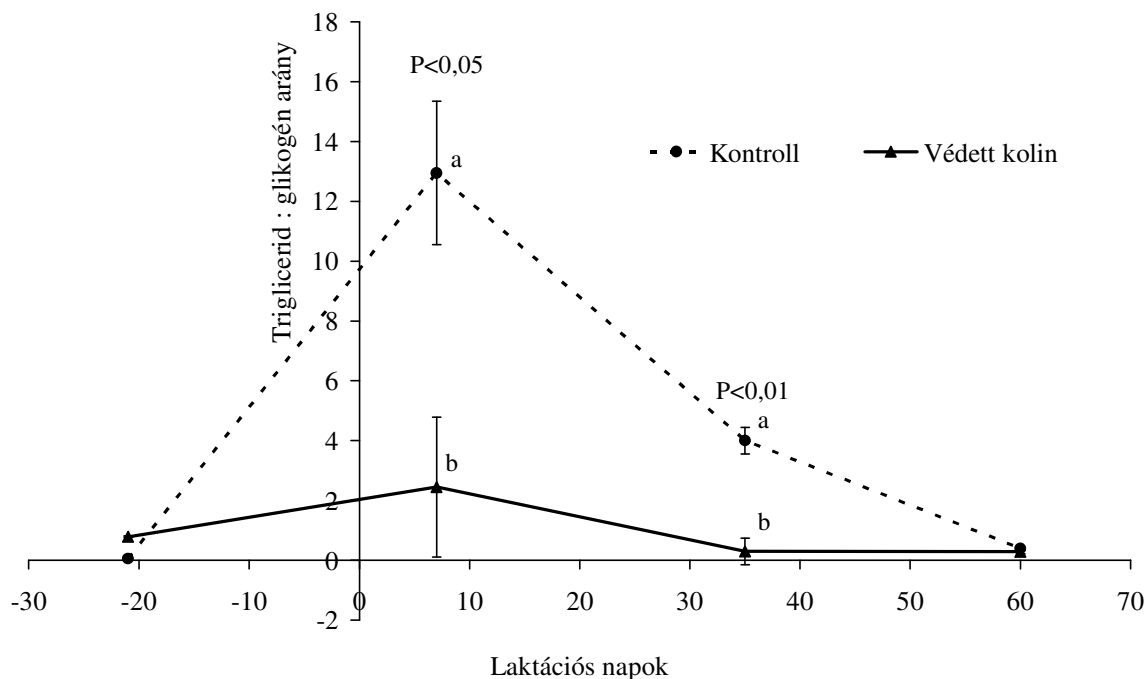


A máj lipid- és glükózanyagcseréjében bekövetkező változásokat kifejező **összlipid:glikogén arány**, valamint a **triglicerid:glikogén arány** az ellés előtti alacsony kiindulási értékről a laktáció 7. napjára jelentős mértékben emelkedett (12. táblázat, 17-18. ábra). Az összlipid:glikogén arány tíz – huszonhatszoros, a triglicerid:glikogén arány 31 – 215-szörös szintre növekedett az RPC- és a kontrollcsoportban ($P < 0,001$). Az ezt követő két mérés során mindkét mutató esetében gyors csökkenés volt megfigyelhető mindkét csoportban. Hasonlóan a máj összlipid- és trigliceridkoncentrációjában bekövetkező változásokhoz, a kolinetetés mindkét mutató szintjét szignifikánsan csökkentette ($P < 0,05$).

17. ábra. A máj összlipid:glikogén arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



18. ábra. A máj triglicerid:glikogén arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



5.2.2.4. A máj zsírsavprofiljának változásai

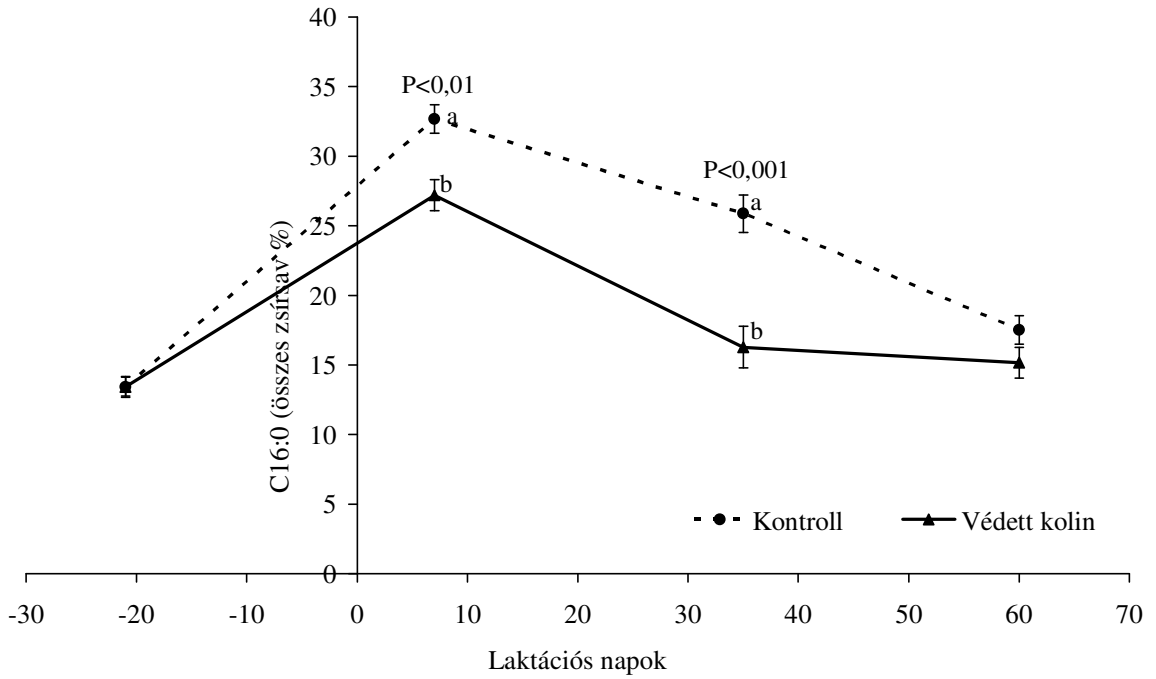
A vizsgálataink során elkülönített tizenöt zsírsav egyes mintavételezések alkalmával meghatározott, az összes zsírsav százalékában kifejezett arányát a 13. és 14. táblázat foglalja össze. A vizsgált zsírsavak közül öt zsírsav a palmitinsav (C16:0), a sztearinsav (C18:0), az olajsav (C18:1n9), a linolsav (C18:2n6) és az arahidonsav (C20:4n6) az összes zsírsav közel 80%-át tette ki, ezért ezek változásai alapvetően meghatározták a máj zsírsavösszetételének alakulását. Megfigyelhető, hogy az ellés előtti szinthez képest a laktáció előrehaladásával minden egyes zsírsav szintje szignifikáns ($P < 0,001$) mértékben változott. A kiindulási szinthez képest a változás tendenciája a legtöbb zsírsav esetében jellemzően kétféle volt. Másodfokú függvénnyel leírható, előbb csökkenő, majd növekvő (C17:0; C18:0; C18:1n7; C18:3n6; C18 konjugált diének; C20:4n6; C20:5n3; C22:4n6 és C22:5n3 esetében), illetve ennek az ellenkezője, előbb növekvő, majd csökkenő szintet mutatott (C14:0; C16:0;

C16:1n7; C18:1n9 és az egyéb zsírsavak esetében). Ettől csak két zsírsav a linolsav (C18:2n6) és a linolénsav (C18:3n3) tért el. A linolsav szintje mindkét csoportban ellés előtt alacsony volt. A kontrollcsoportban az ellést követően visszaesett, majd fokozatosan növekedett, ugyanakkor az RPC-csoportban elmaradt a visszaesés és az ellést követően folyamatos növekedést figyeltünk meg. A linolénsav mindkét csoportban egyenletesen csökkent a kísérlet időtartama alatt.

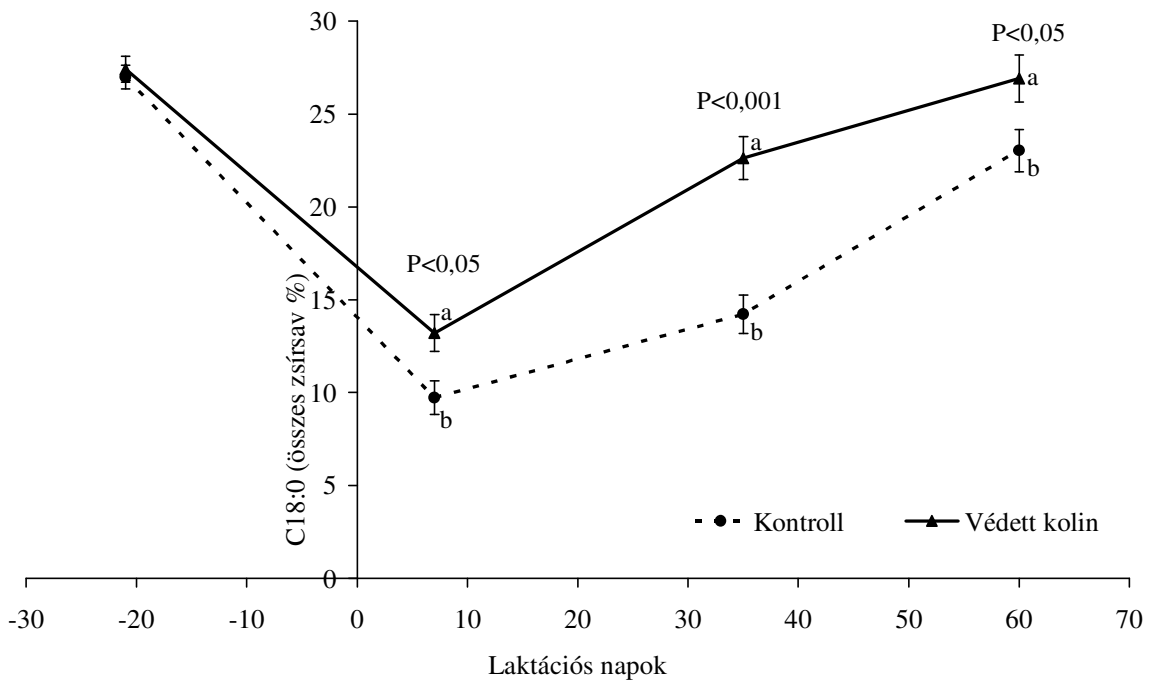
A meghatározó öt zsírsav közül a **palmitinsav** aránya az egész kísérleti időszakot figyelembe véve a kolinkiegészítés hatására a kontrollhoz viszonyítva csökkent ($P < 0,01$; 19. ábra). Az egyes mintavételek alkalmával a laktáció 7. és 35. napján tapasztaltunk szignifikáns ($P < 0,01$ és $P < 0,001$) különbséget.

A **sztearinsav** aránya a védett kolint fogyasztó tehenekben magasabb volt ($P < 0,001$; 20. ábra) a kontrollhoz képest. Az ellést követő időszakban minden mérés során igazolhatóan magasabb szinteket találtunk ($P < 0,05$; $P < 0,001$ és $P < 0,05$).

19. ábra. A máj zsírsavtartalom palmitinsav (C16:0) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



20. ábra. A máj zsírsavtartalom sztearinsav (C18:0) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



13. táblázat. A máj zsírsavösszetételének alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában

		Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
C14:0	Laktációs nap						
	-21-60 átlag	2,37	1,83	0,09	<0,01	<0,001	<0,001
	-21	1,18	1,53	0,11	0,18		
	7	3,10	2,67	0,11	0,07		
	35	3,08	1,78	0,18	<0,01		
	60	2,11	1,33	0,14	<0,05		
C16:0	-21-60 átlag	22,37	18,61	0,51	<0,01	<0,001	<0,001
	-21	13,43	13,42	0,51	0,31		
	7	32,68	27,20	0,76	<0,01		
	35	25,87	16,28	1,00	<0,001		
	60	17,52	15,16	0,75	0,12		
C16:1n7	-21-60 átlag	1,56	1,27	0,07	0,08	<0,001	<0,01
	-21	0,66	0,72	0,06	0,14		
	7	2,91	2,53	0,16	0,23		
	35	1,87	0,97	0,12	<0,01		
	60	0,82	0,84	0,10	0,95		
C17:0	-21-60 átlag	0,82	0,91	0,02	<0,05	<0,001	0,07
	-21	0,97	1,09	0,04	0,15		
	7	0,53	0,54	0,01	0,82		
	35	0,78	0,97	0,03	<0,01		
	60	1,03	1,03	0,03	0,96		
C18:0	-21-60 átlag	18,50	22,54	0,42	<0,001	<0,001	<0,01
	-21	26,99	27,41	0,47	0,66		
	7	9,73	13,21	0,67	<0,05		
	35	14,22	22,62	0,78	<0,001		
	60	23,03	26,91	0,86	<0,05		
C18:1n9	-21-60 átlag	21,17	17,99	0,51	<0,01	<0,001	<0,05
	-21	17,89	17,57	0,53	0,77		
	7	28,38	24,73	0,63	<0,01		
	35	22,62	16,42	0,88	<0,01		
	60	15,75	13,23	0,90	0,17		
C18:1n7	-21-60 átlag	1,39	1,33	0,03	0,77	<0,001	0,12
	-21	1,36	1,26	0,03	0,13		
	7	1,04	1,01	0,04	0,27		
	35	1,60	1,67	0,07	0,62		
	60	1,55	1,39	0,06	0,15		
C18:2n6	-21-60 átlag	10,66	12,38	0,30	<0,01	<0,001	<0,01
	-21	9,96	10,14	0,22	0,68		
	7	9,00	11,05	0,40	<0,05		
	35	10,32	13,78	0,52	<0,01		
	60	13,37	14,56	0,39	0,13		

¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

14. táblázat. A máj zsírsavösszetételének alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában

		Kontroll	RPC	SE ¹	P ²		
					Kezelés	Lakt. nap	Kezelés x Lakt. nap
C18:3n6	Laktációs nap						
	-21-60 átlag	0,61	0,61	0,04	0,97	<0,001	0,26
	-21	0,58	0,58	0,03	0,36		
	7	0,24	0,32	0,03	0,14		
	35	0,67	0,77	0,12	0,64		
	60	0,95	0,79	0,11	0,20		
C18:3n3	-21-60 átlag	0,74	0,85	0,08	0,16	<0,001	0,16
	-21	1,20	1,41	0,18	0,12		
	7	0,91	0,99	0,13	0,75		
	35	0,44	0,52	0,10	0,11		
	60	0,44	0,49	0,08	0,13		
C18 konjugált diének	-21-60 átlag	4,78	5,35	0,22	0,21	<0,001	<0,01
	-21	6,65	6,11	0,23	<0,05		
	7	0,91	1,57	0,11	<0,01		
	35	4,54	6,40	0,42	<0,05		
	60	7,03	7,30	0,45	0,61		
C20:4n6	-21-60 átlag	5,90	7,04	0,21	<0,05	<0,001	0,07
	-21	9,15	8,70	0,22	0,31		
	7	3,08	4,42	0,38	0,09		
	35	4,38	7,71	0,34	<0,001		
	60	7,00	7,35	0,33	0,61		
C20:5n3	-21-60 átlag	0,44	0,47	0,02	0,30	<0,001	<0,01
	-21	0,62	0,59	0,04	0,72		
	7	0,17	0,24	0,02	0,09		
	35	0,40	0,65	0,04	<0,01		
	60	0,58	0,47	0,04	0,17		
C22:4n6	-21-60 átlag	1,11	1,68	0,08	<0,01	<0,001	<0,05
	-21	2,23	2,88	0,26	0,22		
	7	0,32	0,36	0,05	0,63		
	35	0,56	1,91	0,12	<0,001		
	60	1,33	1,57	0,13	0,39		
C22:5n3	-21-60 átlag	1,06	1,33	0,31	<0,05	<0,001	0,17
	-21	1,35	1,40	0,11	0,78		
	7	0,47	0,84	0,05	<0,05		
	35	0,82	1,45	0,10	<0,05		
	60	1,59	1,61	0,15	0,93		
Egyéb	-21-60 átlag	6,51	6,19	0,34	0,17	<0,05	0,14
	-21	5,78	4,86	0,72	0,17		
	7	6,53	8,32	0,79	0,19		
	35	7,83	5,80	0,91	0,12		
	60	5,90	5,77	0,62	0,71		

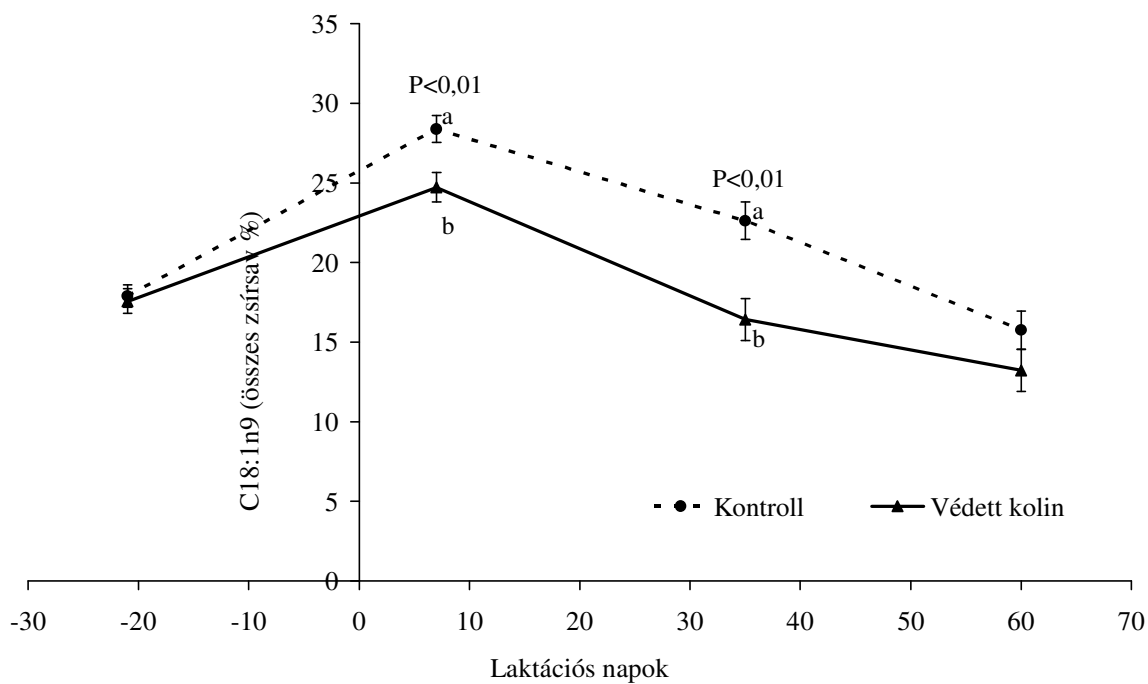
¹ Kumulált standard hiba

² Kezelés = Kezelés hatása; Lakt. nap = Laktációs nap hatása;
Kezelés x Lakt. nap = Kezelés és laktációs nap kölcsönhatás

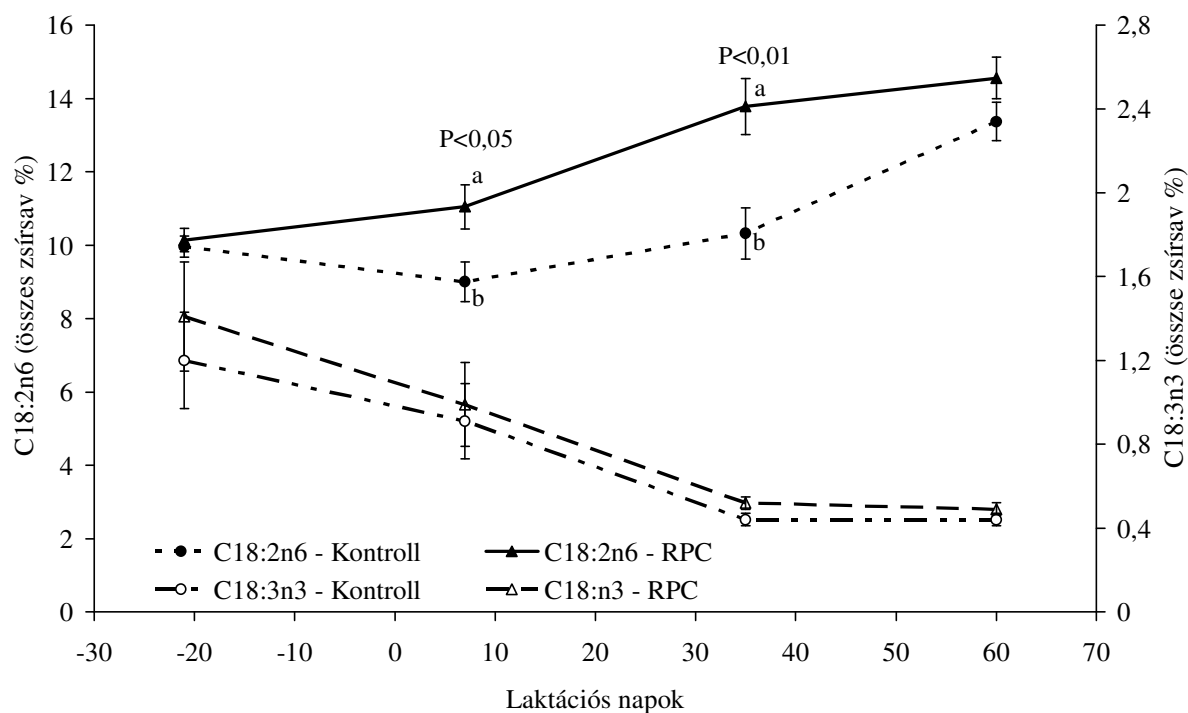
Az **olajsav** zsírsavakon belüli aránya az egész kísérleti időre vetítve az RPC-csoportban alacsonyabb ($P<0,01$; 21. ábra) volt, mint a kontrollban; a mérések során a 7. és a 35. napon találtunk szignifikáns különbséget ($P<0,01$).

A **linolsav** aránya a teljes vizsgálati idő alapján, a kolinkiegészítés hatására magasabb volt ($P<0,01$) a kontrollhoz képest (22. ábra). Az egyes mintavételek szignifikáns különbség a 7. és a 35. napon volt ($P<0,05$ és $P<0,01$).

21. ábra. A máj zsírsavtartalom olajsav (C18:1n9) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában

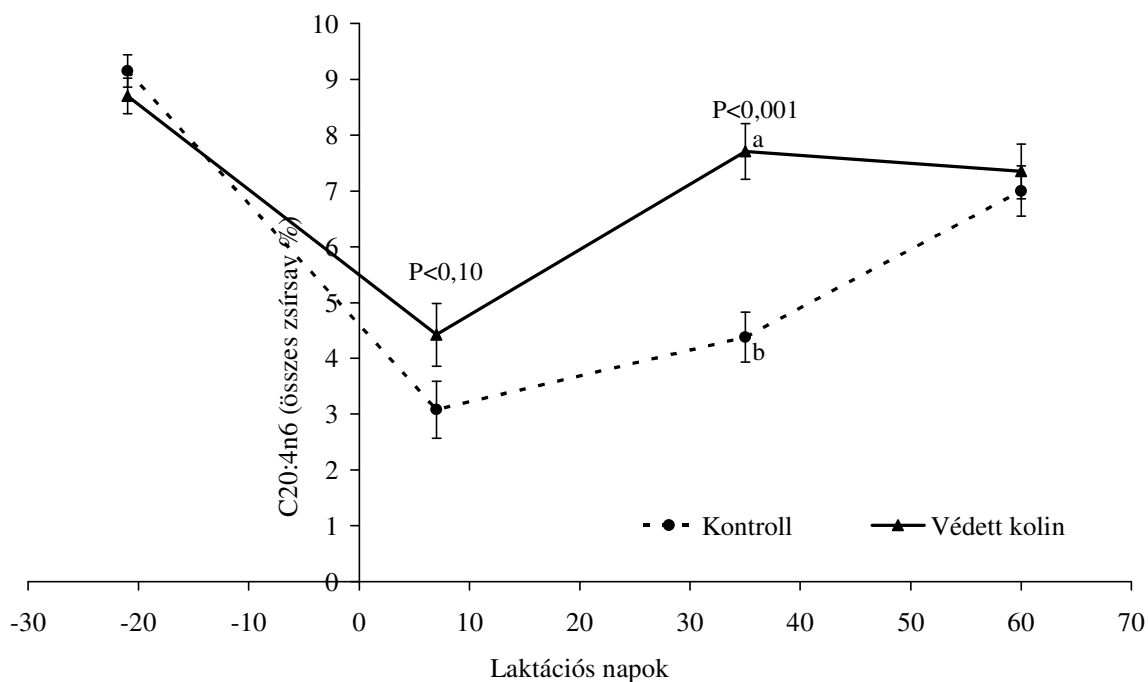


22. ábra. A máj zsírsavtartalom linolsav (C18:2n6) és linolénsav (C18:3n3) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



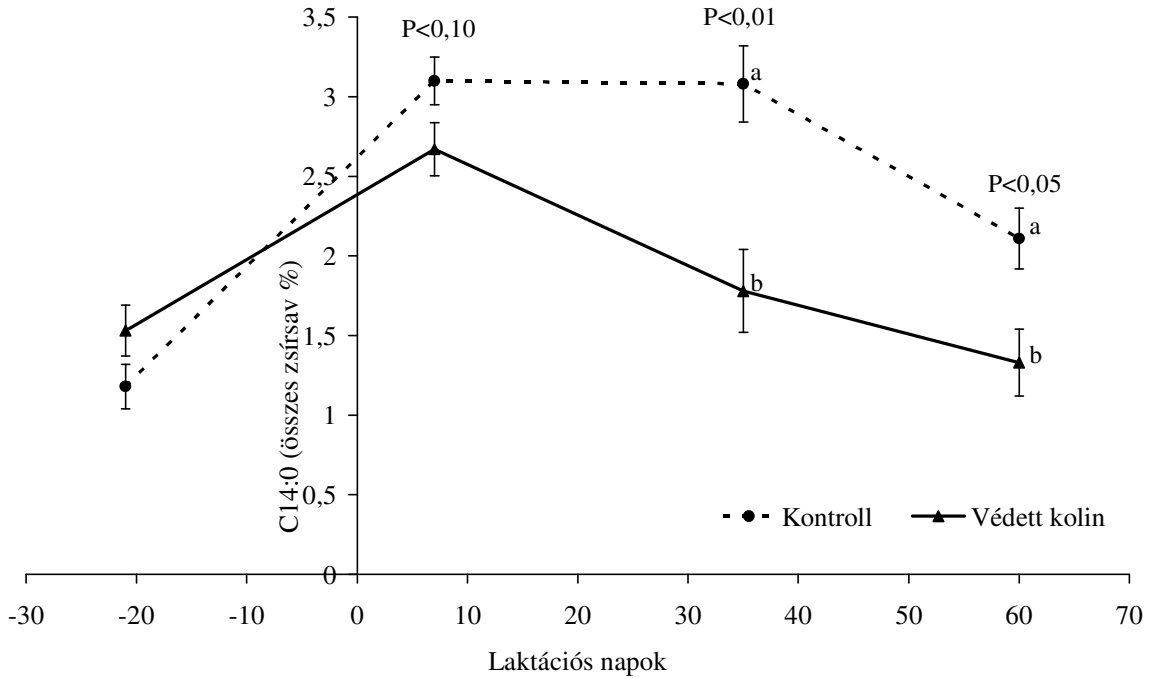
A teljes időszakra vetítve az RPC-csoportban a kontrollhoz viszonyítva magasabb volt ($P<0,05$) az **arachidonsav** aránya (23. ábra). A laktáció hetedik napján tendencia jelleggel ($P<0,10$) a 35. napján szignifikáns szinten ($P<0,001$) különböztek a két csoportban mért értékek.

23. ábra. A máj zsírsavtartalom arachidonsav (C20:4n6) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában

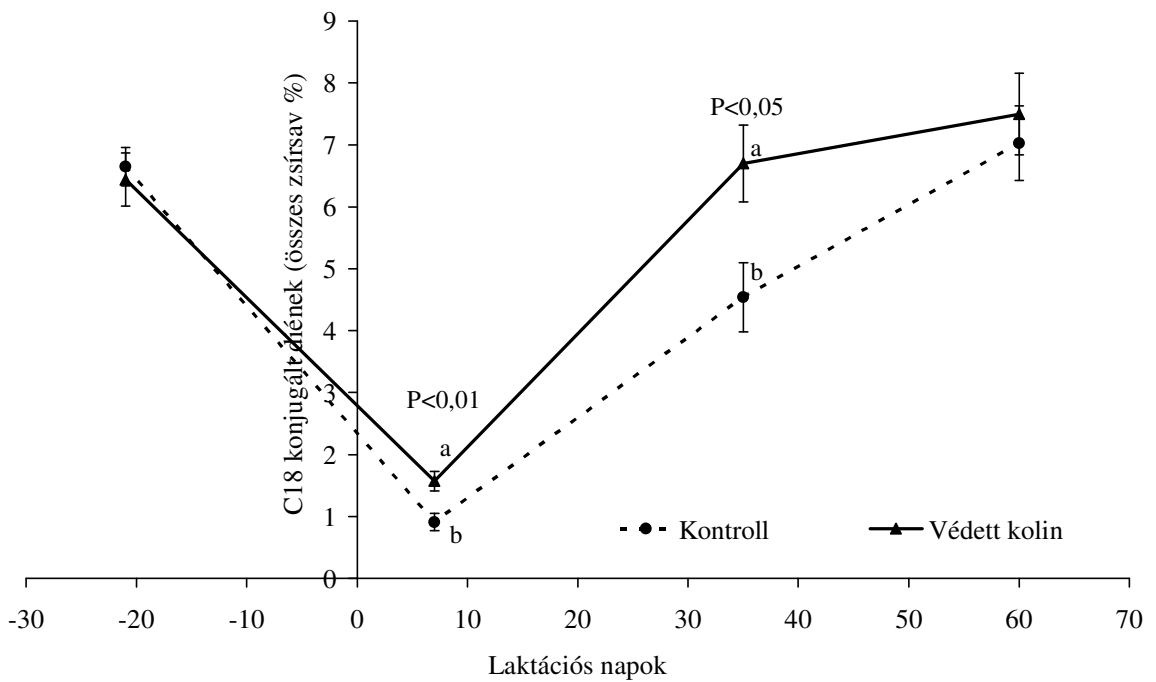


A többi vizsgált zsírsav közül a mirisztinsav (24. ábra) arányát a kolinkiegészítés csökkentette, a margarinsav (C17:0), a C22:4n6 (26. ábra) és a C22:5n3 (27. ábra) arányát növelte. A C16:1n7, a C18:1n7, a C18:3n6, C18:3n3, C18 konjugált diének (25. ábra), C20:5n3 és az egyéb zsírsavak aránya nem változott a kolinkezelés hatására a kísérlet teljes időtartama alatt.

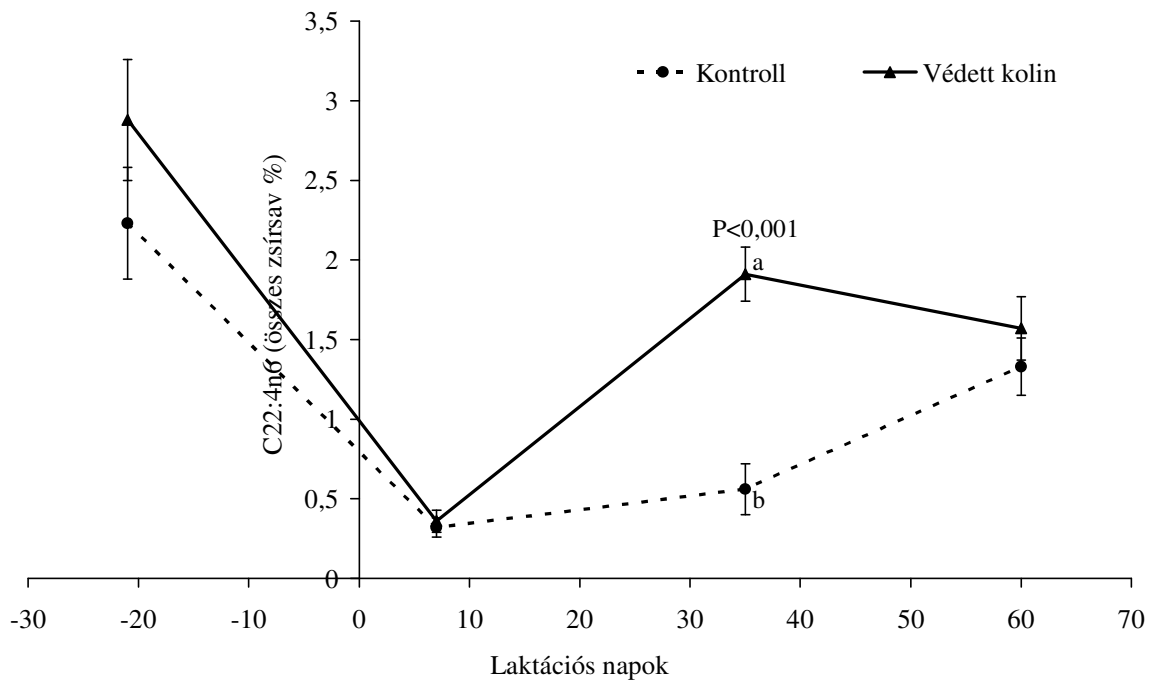
24. ábra. A máj zsírsavtartalom mirisztinsav (C14:0) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



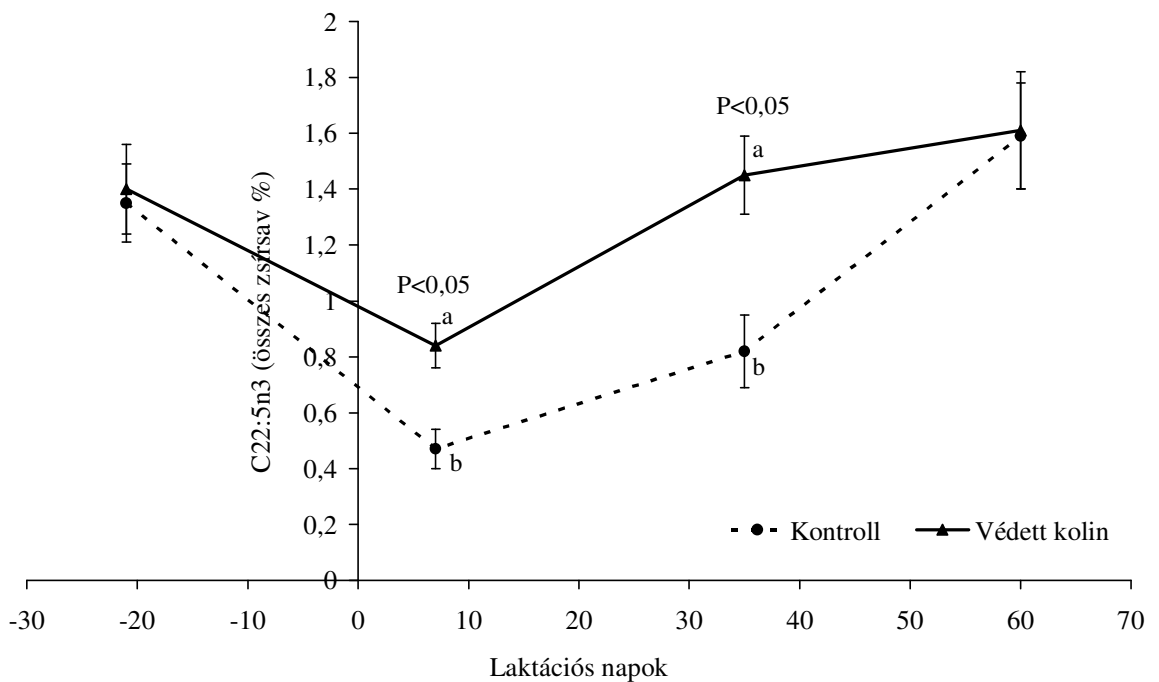
25. ábra. A máj zsírsavtartalom C18-konjugált diének arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



26. ábra. A máj zsírsavtartalom dokozatetraén-sav (C22:4n6) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



27. ábra. A máj zsírsavtartalom dokozapentén-sav (C22:5n3) arányának alakulása védett kolinetetés hatására tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban az összes zsírsav százalékában



5.2.2.5. A lipidanyagcsere mutatói és néhány más vizsgált paraméter közötti összefüggések vizsgálata

Az egyes paraméterek között vizsgált összefüggések R^2 értékeit és a regressziós egyenletek együtthatóit a 15. táblázatban tüntettük fel.

A **máj összes lipid- és trigliceridtartalma** között szoros, lineáris kapcsolat mutatkozott (15. táblázat és a 28. ábra); az összlipid tartalom emelkedésekor a triglicerid koncentráció is emelkedett.

A **máj triglicerid- és glikogénkoncentrációja** között negatív korreláció van (15. táblázat; 29. ábra). A máj triglicerid-szintjének emelkedésekor a glikogéntartalom gyorsan csökkent. A két mutató között közepes, logaritmikus kapcsolatot találtunk.

A **máj trigliceridtartalma és a zsírsavösszetétel** legnagyobb hányadát kitevő öt zsírsav (C16:0; C18:0; C18:1n9; C18:2n6 és C20:4n6) között is sikerült összefüggést találnunk (15. táblázat; 30 – 34. ábra). A máj triglicerid tartalmának emelkedésekor növekedett a palmitinsav és az olajsav részaránya, ugyanakkor csökkent a sztearinsav, a linolsav és az arahidonsav hányada.

15. táblázat. A lipidanyagcser mutatói és néhány más vizsgált paraméter közötti összefüggések alakulása tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

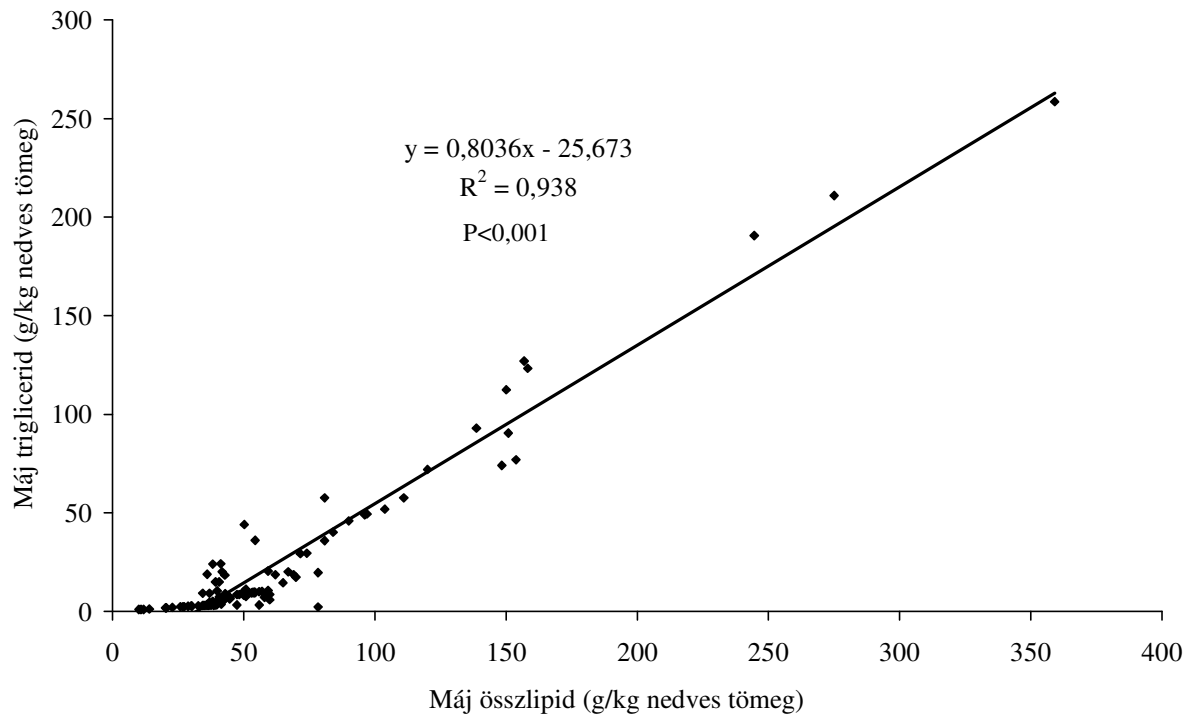
Függő változó	Összefüggés	R ²	P	a	b ₁	b ₂
			Máj összlipid			
Máj triglicerid	Lineáris	0,938	<0,001	-25,67	0,803	
			Máj triglicerid			
Máj glikogén	Logaritmikus	0,475	<0,001	46,68	-7,063	
Máj C16:0	Logaritmikus	0,643	<0,001	8,16	4,905	
Máj C18:0	Logaritmikus	0,611	<0,001	33,01	-4,794	
Máj C18:1n9	Négyzetes	0,499	<0,001	14,86	0,196	-0,0005
Máj C18:2n6	Négyzetes	0,270	<0,001	13,09	-0,058	0,0001
Máj C20:4n6	Logaritmikus	0,712	<0,001	10,60	-1,584	
			NEFA : TCh arány			
Máj összlipid	Lineáris	0,535	<0,001	25,36	277,74	
			Összlipid : Glikogén arány (máj)			
Plazma-BHB	Lineáris	0,470	<0,001	0,42	0,078	
			Triglicerid : Glikogén arány (máj)			
Plazma-BHB	Lineáris	0,480	<0,001	0,51	0,118	
			Plazma-inzulin			
Máj glikogén	Négyzetes	0,423	<0,001	8,02	1,634	-0,015
			NEFA			
Plazma-inzulin	Négyzetes	0,476	<0,001	32,15	-47,964	28,633

Lineáris összefüggés: $\hat{y} = a + b_1x$

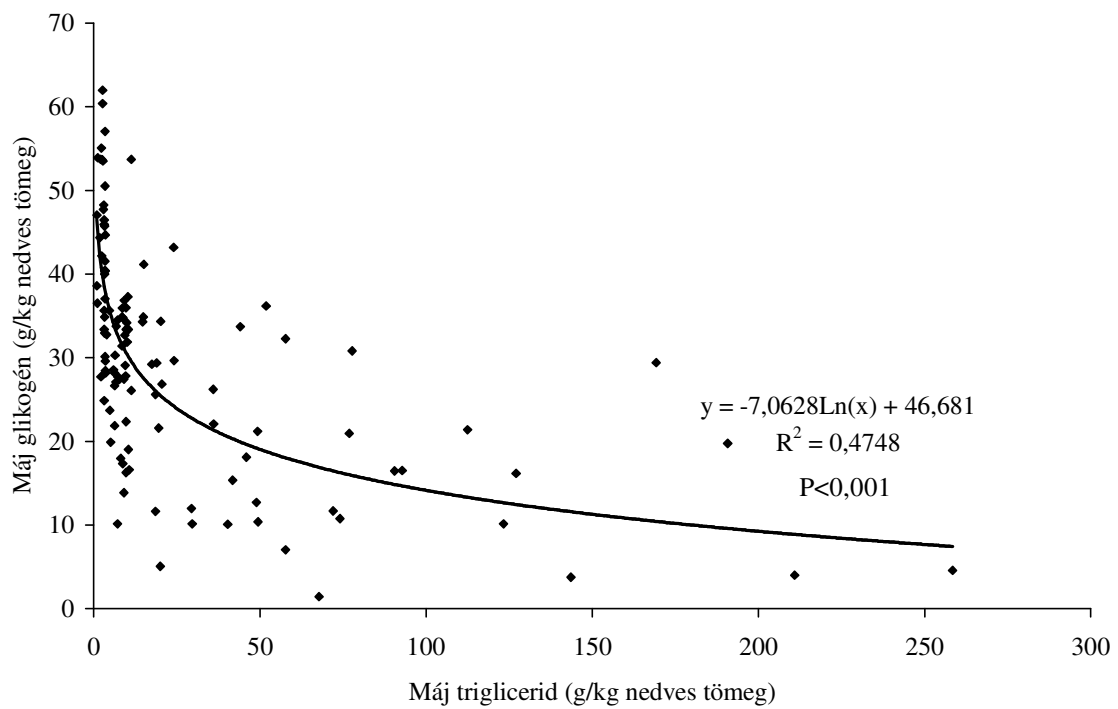
Négyzetes összefüggés: $\hat{y} = a + b_1x + b_2x^2$

Logaritmikus összefüggés: $\hat{y} = a + b_1\ln(x)$

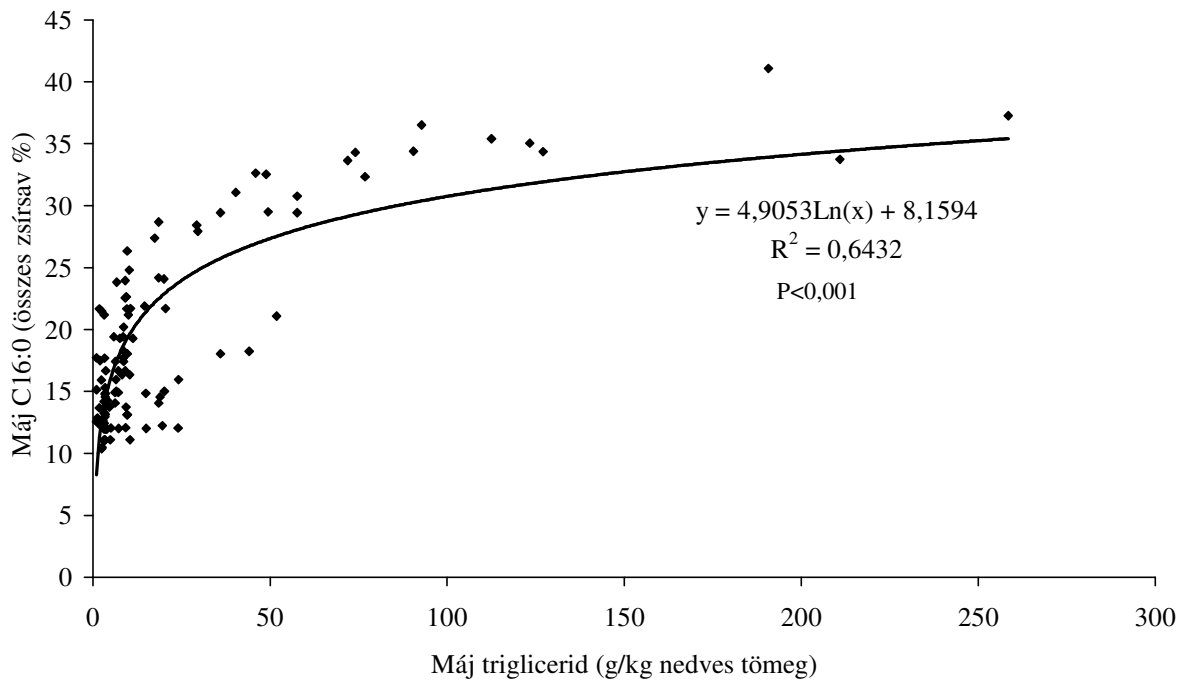
28. ábra. A máj összes lipid- és triglicerid-tartalmának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



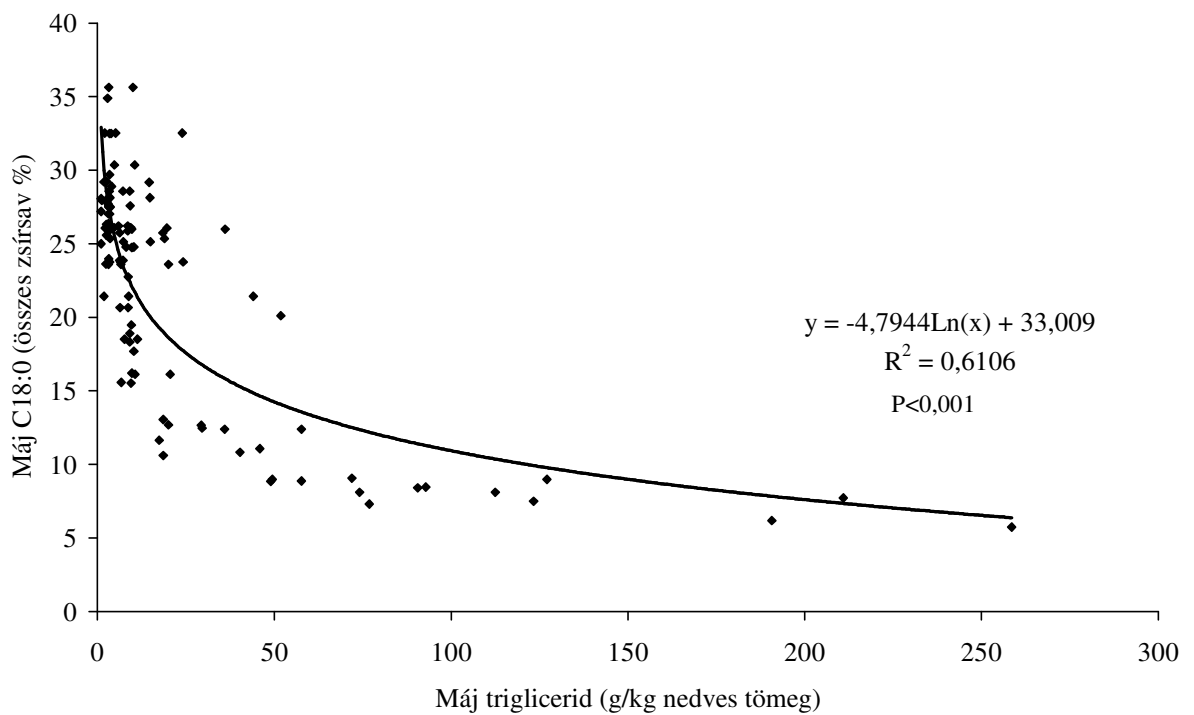
29. ábra. A máj triglicerid- és glikogéntartalmának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



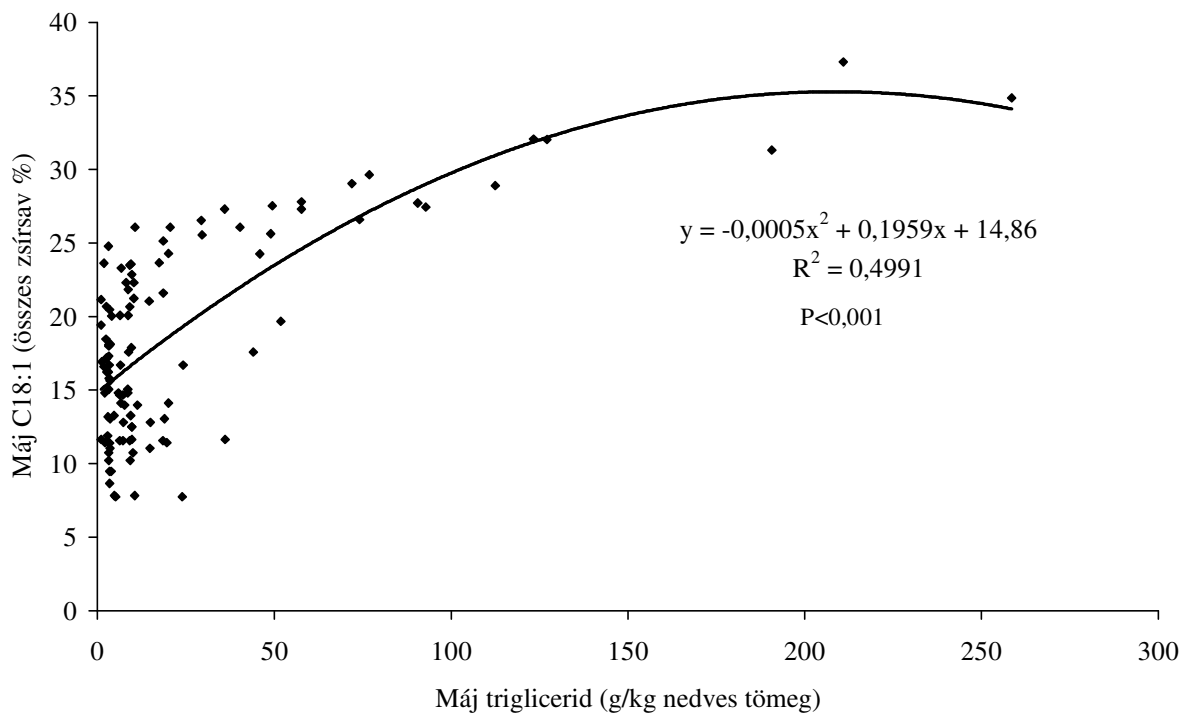
30. ábra. A máj trigliceridtartalmának és palmitinsav arányának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



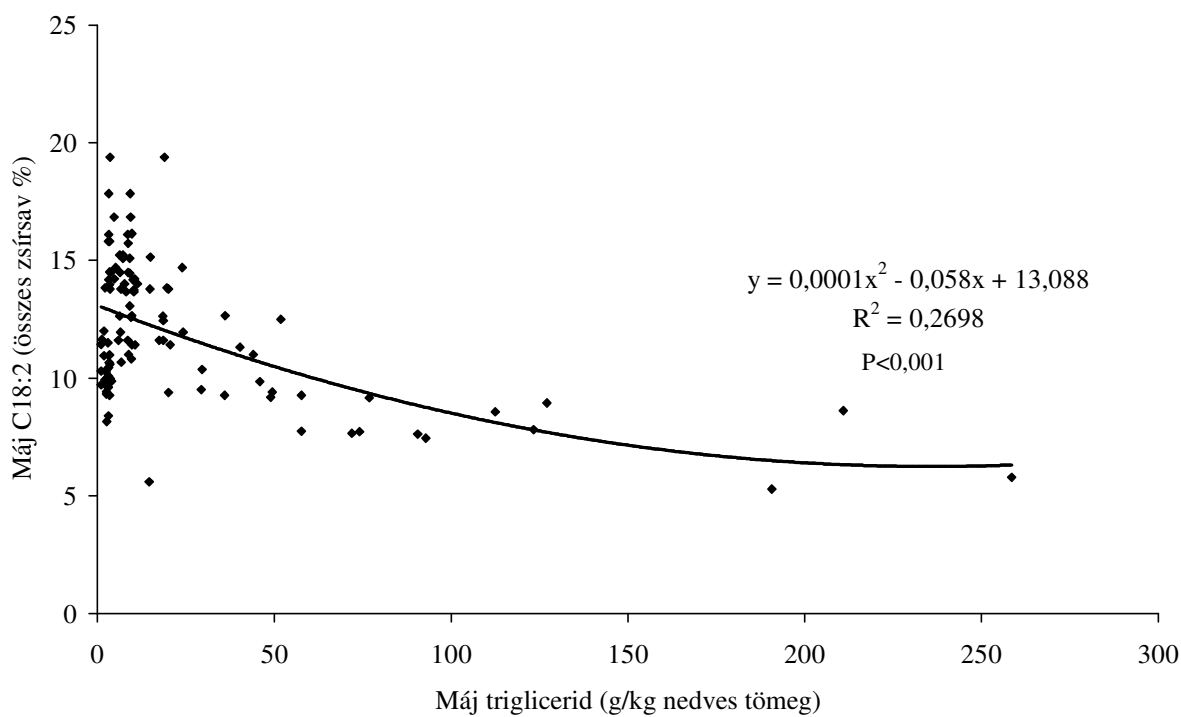
31. ábra. A máj trigliceridtartalmának és sztearinsav arányának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



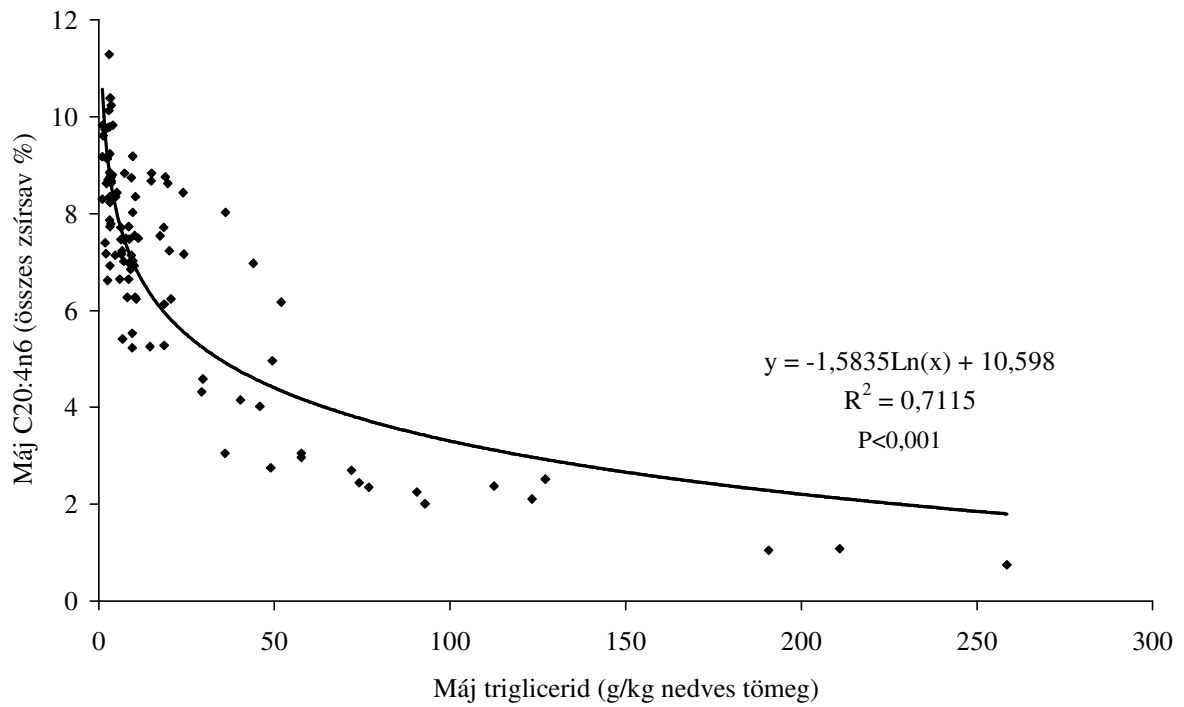
32. ábra. A máj triglicerid tartalmának és olajsav arányának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



33. ábra. A máj trigliceridtartalmának és linolsav arányának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban

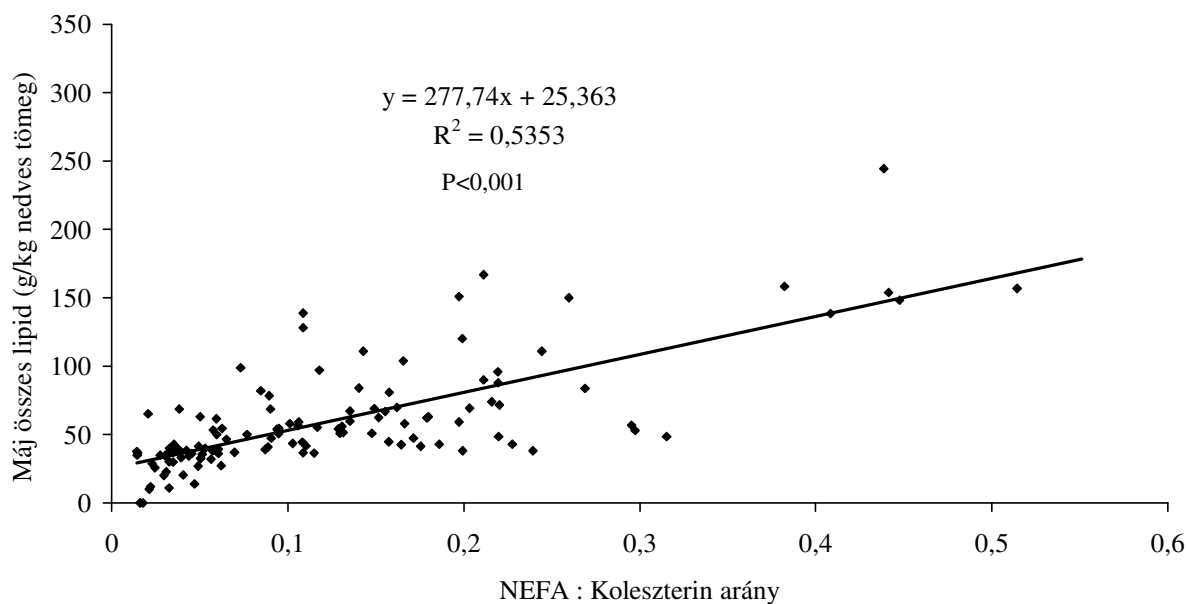


34. ábra. A máj trigliceridtartalmának és arachidonsav arányának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



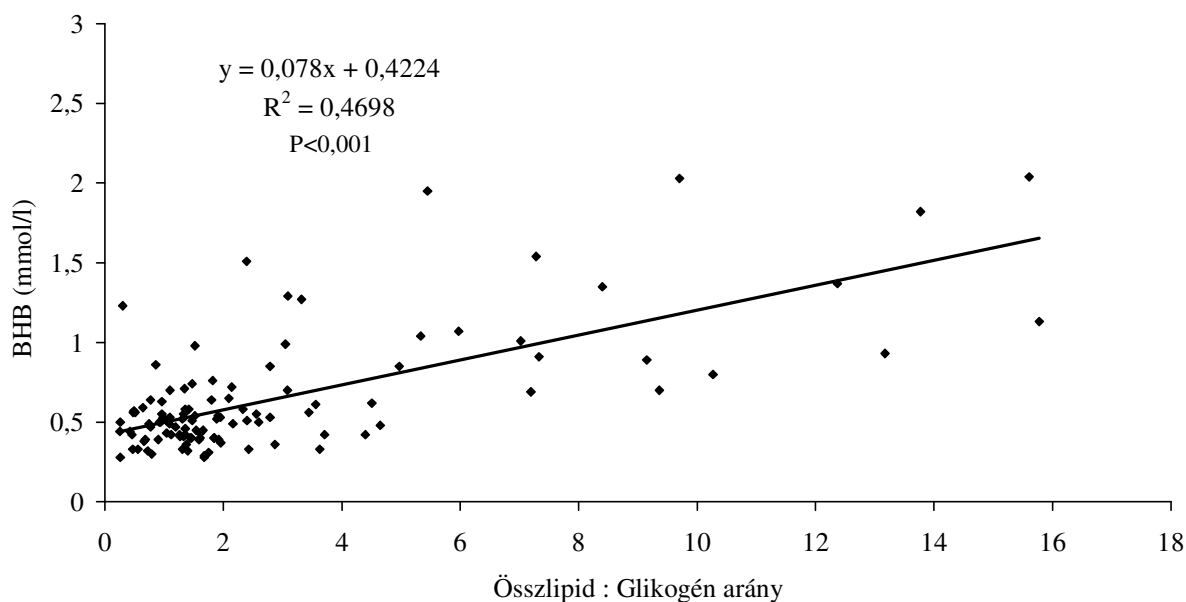
A vér **NEFA:TCh aránya és a máj összes lipid tartalma** között közepesen szoros lineáris kapcsolatot figyeltünk meg. A NEFA:TCh arány emelkedésével párhuzamosan növekedett a máj lipidtartalma (15. táblázat; 35. ábra).

35. ábra. A NEFA:koleszterin arány és a máj összes lipid tartalmának összefüggése tejelő tehénekben az elléskörüli időszakban



A **máj összlipid:glikogén**, valamint a **triglicerid:glikogén aránya** és a plazma **BHB** szintje között is közepesen szoros, lineáris kapcsolat mutatkozott (15. táblázat; 36. és 37. ábra). Az összlipid:glikogén és a triglicerid:glikogén arány emelkedése a ketonanyagok szintjének emelkedését okozták a vérben.

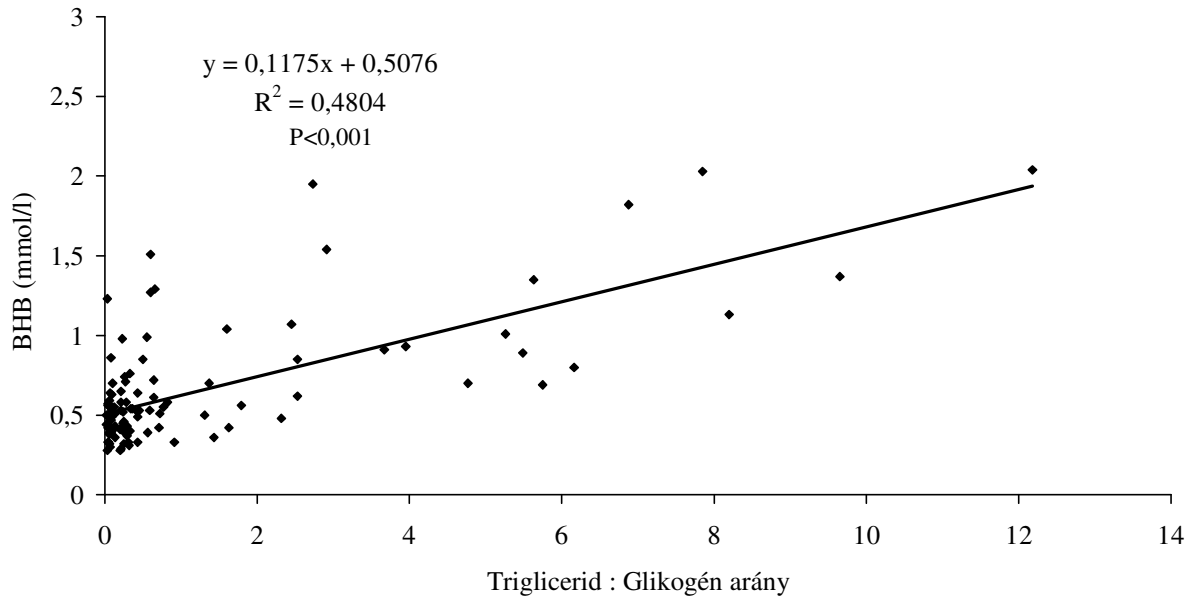
36. ábra. A máj összlipid:glikogén arányának és a plazma BHB koncentrációjának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



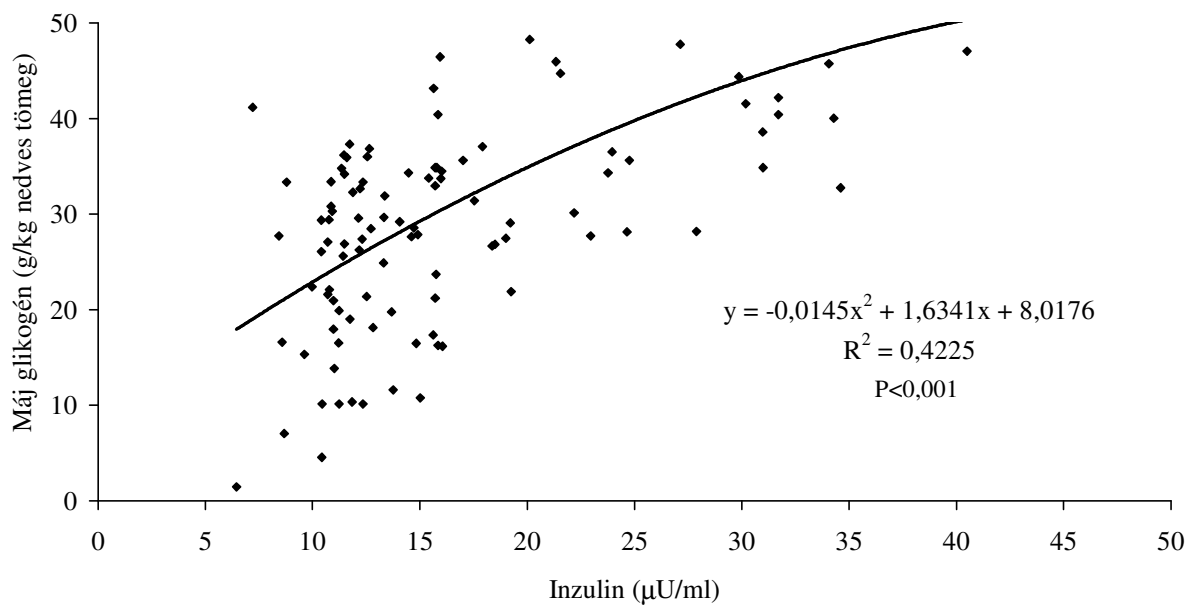
A plazma **inzulinszintjének** emelkedésével párhuzamosan a **máj glikogéntartalmában** négyzetes növekedést figyeltünk meg (15. táblázat; 38. ábra). A két mutató közepesen szoros kapcsolatot mutatott.

A plazma **NEFA**-szintjének emelkedése viszont az **inzulinszint** csökkenésével járt együtt (15. táblázat; 39. ábra), amelyet közepesen szoros, négyzetes irányú kapcsolat jelzett.

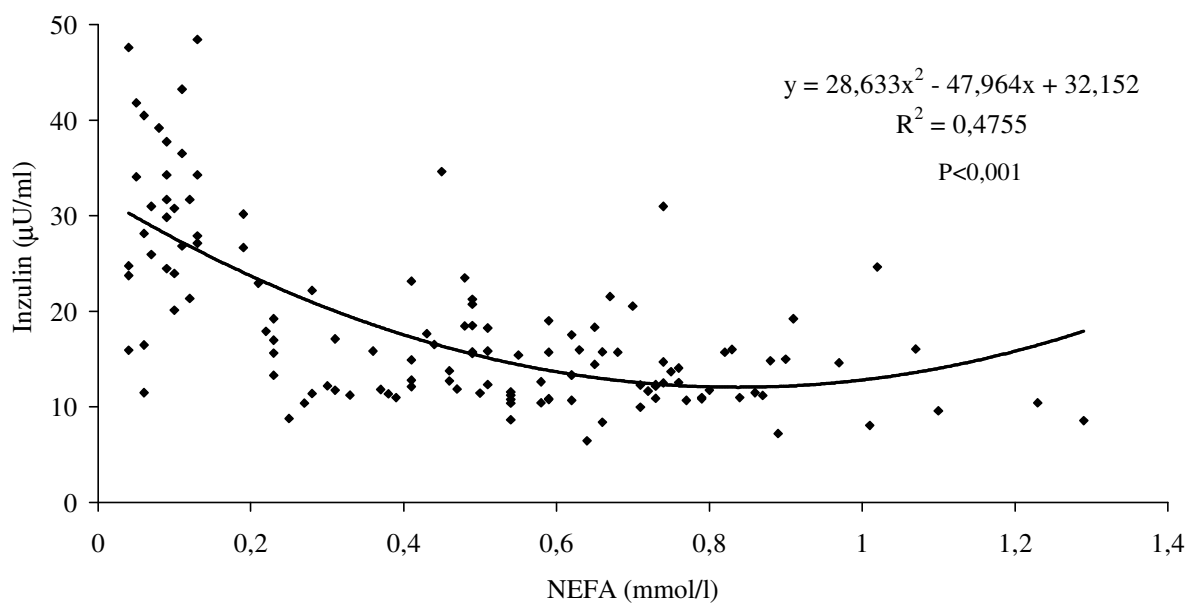
37. ábra. A máj triglicerid:glikogén arányának és a plazma BHB-koncentrációjának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



38. ábra. A plazma inzulinszintjének és a máj glikogéntartalmának összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



39. ábra. A plazma NEFA- és inzulinszintjének összefüggése tejelő tehenekben az elléskörüli időszakban



5.2.3. Eredmények értékelése

5.2.3.1. Testkondíció és tejtermelés

A mindkét csoportban megfigyelt markáns testkondíció csökkenés jól szemlélteti az ellést követő néhány hétben kialakuló negatív energiamérleget és az ennek hatására bekövetkező intenzív lipídmobilizációt (Van Saun, 1991; Bell, 1995; Hartwell és mtsai, 2000). A kísérletünkben megfigyelt, a fenti publikációkban közölt értékeknél intenzívebb kondíciócsökkenés oka valószínűleg a kísérletünkbe állított tehének ellés előtti túlkondíciója volt. Ezt támasztja alá Garnsworthy és Topps (1982) kutatási eredménye is, akik azt tapasztalták, hogy a kövérebb tehének kondícióvesztése és elléskörüli étvágycsökkenése nagyobb mértékű, mint a soványabb társaiké. Az a megállapításunk, hogy a védett kolin etetése nem befolyásolta sem az egyes mérési időpontokban kialakult testkondíciót, sem a kondícióváltozás mértékét egybehangzik Hartwell és mtsai (2000) által közölt eredményekkel. Ugyanakkor Hartwell és mtsai (2000) kísérletükben azt is tapasztalták, hogy abban az esetben, ha az ellés előtti időszakban fogyasztott takarmányadag magas védett fehérjehányadú volt, a védett kolin etetés hatására az ellést követő testkondíció csökkenés mértéke tendenciaszinten intenzívebbé vált, mint a kolint nem fogyasztó kontrollcsoporté. A kísérletünkben ellés előtt etetett takarmányadag védett fehérje hányada a szárazanyag 3,9%-a volt, ami nagyon hasonlított a Hartwell és mtsai (2000) által etetett alacsony védett fehérjeszintű (a szárazanyag 4,0%-a) adaghoz. A kísérletünkben alkalmazott ellés előtti adag lényegesen kevesebb védett fehérjét tartalmazott, mint az említett szerzők által etetett magas védett fehérje hányadú (a szárazanyag 6,2%-a) takarmányadag, amely esetében kissé fokozódó kondíciócsökkenést tapasztaltak védett kolinkiegészítés hatására.

A kísérletünkben a védett kolin etetés hatására kialakult szignifikánsan magasabb tejtermelés megegyezik számos korábbi szerző megfigyeléseivel (Erdman és Sharma, 1991; Pinotti és

mtsai, 2003), akik napi 1,7-2,9 kg közötti tejtermelés növekedésről számoltak be. Saját vizsgálatainkkal szemben Piepenbrink és Overton (2003^b) nem tapasztalták a tejtermelés növekedését védett kolinetetés hatására. Az általunk megfigyelt termelésnövekedés felülmúlt minden korábban publikált eredményt. A korábbiaknál lényegesen nagyobb termelésnövekedésre magyarázatul szolgálhat a kísérletünkben használt tehenek magas, 4,0 feletti ellés előtti kondíciója, amely a korábbi publikációkban közölt testkondícióhoz képest lényegesen magasabb volt. Ezt a teóriát támasztják alá Zahra és mtsai (2006) eredményei is, akik a védett kolinetetés hatására eredményeinkhez hasonló mértékű, napi 4,4 kg-os tejtermelés növekedést tapasztaltak abban az esetben, amikor a tehenek ellés előtti kondíciója 4,0 feletti volt. A túlkondícióban lévő tehenek esetében a védett kolinetetés hatására kialakult jelentős tejtermelésemelkedés azzal magyarázható, hogy a túlkondíció káros hatása az elléskörüli anyagcserére és ezáltal a tejtermelésre jobban érvényesülhetett a kontrollcsoportban, mint a kolint fogyasztó csoportban. Az elléskörüli időszakban mutatkozó túlkondíció mindenképpen káros, ezért lehetőség szerint kerülni kell. Ugyanakkor a védett kolinetetés az elhízott tehenekben az anyagcsere támogatása által jelentősebb termelésnövekedést okozhat, mint az ideális kondíciójúakban.

A védett kolinetetés, hasonlóan a legtöbb korábbi kísérlethez (Bauchart és mtsai, 1998; Deuchler és mtsai, 1998) nem befolyásolta a tejsír-koncentrációt. A takarmányadagot 0; 0,78; 1,56 és 2,34 g/kg szárazanyag mennyiségben védett kolinnal kiegészítve Erdman és Sharma (1991) vizsgálataikban azt tapasztalták, hogy a tejsír-koncentráció a védett kolinetetés hatására a 0,78 g/kg-os kiegészítés esetén csökkent a kontrollhoz képest, majd emelkedett az 1,56 és 2,34 g/kg-os dózisok alkalmazása esetén. Kísérletünkben a tejtermelésnövekedés a korábbi megfigyelésekhez képest lényegesen nagyobb mértékű volt, ami a tejsír-koncentráció növekedés elmaradását okozhatta. A tejtermelés növekedése

következtében a védett kolinkiegészítés 7%-kal növelte kísérletünkben a tejsírtermelést. Ez a növekedés nagyon hasonló a Piepenbrink és Overton (2003^b) által közölt 8,2%-os növekedéshez, ugyanakkor lényegesen kisebb, mint Pinotti és mtsai (2003) által publikált 20%-os tejsírtermelés növekedés. A tejsírtermelés növekedése a kolinnak azzal az élettani szerepével magyarázható, hogy a kolin, mint foszfatidilkolin a VLDL-frakció nélkülözhetetlen elemeként a vérben részt vesz a zsírsavak szállításában (Zeisel és mtsai, 1991). A kérődzőkben az extrahepatikus szervek számára az elsődleges lipid forrást a VLDL-ekben szállított trigliceridek jelentik (Bell, 1981; Bauchart, 1993), ezért a jobb kolinellátás eredményeként nagyobb mennyiségű VLDL és zsírsav áll a tőgy rendelkezésére a tejsírszintézishez, ami a napi tejsírkiválasztás emelkedését okozza. Ezen felül a kolin a tejsírcseppeket körülvevő foszfolipid membrán alkotórésze is (Bitman és Wood, 1990), ezáltal a jobb kolinellátás növelheti a tejsírszekréciót.

A korábbi publikációk többsége nem számolt be a tejfehérje-tartalom és tejfehérje-termelés változásáról a védett kolin etetése során (Hartwell és mtsai, 2000; Piepenbrink és Overton, 2003^b; Pinotti és mtsai, 2003). Erdman és Sharma (1991) hasonlóan, a tejsír-koncentrációhoz, a tejfehérje koncentráció kvadratikus változását tapasztalta a védett kolin növekvő dózisainak hatására. Eredményeink a tejfehérje-koncentráció tendencia jellegű növekedését mutatják, amely a jelentős tejtermelés emelkedéssel együtt a tejfehérje-termelés 15,9%-os növekedését eredményezte. A jelentős mértékű tejfehérje-kiválasztás növekedését feltételezhetően az az összefüggés okozta, miszerint a kolin a metionin anyagcseréjén keresztül szorosan kapcsolódik az aminosavak anyagcseréjéhez is. A kolin, hasonlóan a metioninhoz, metilcsoportok hordozója, így a metabolikus folyamatok során metildonorként is fontos szerepet tölt be a transzmetilációs reakciókban (Ruiz és mtsai, 1983; Stipanuk, 1986; Zeisel, 1992). A transzmetilációs folyamatok metilcsoport forrása a tejelő tehénben

viszonylag szűkös, mert a takarmányban levő metilcsoportok a bendőben folyó mikrobás tevékenység következtében lebomlanak. Az előbbiekből következik, hogy a kérődzőkben a metil csoportok elsősorban a metioninból és a transzmetilezési folyamatokból származnak. Emmanuel és Kenelly (1984) tejelő kecskékkal végzett kísérletükben azt tapasztalták, hogy a felszívódott metionin 28%-át kolin szintézisére fordította a szervezet. Számos korábbi vizsgálat eredménye szerint a tejelő tehénben kukoricaszilázs, lucernaszenázs, kukorica, szója bázisú takarmányozás mellett a tejtermelést és tejfehérje-szintézisét elsődlegesen limitáló aminosav a metionin (Schwab és mtsai, 1992; Rulquin és mtsai, 1993). Armentano és mtsai (1997) kísérletükben tejelő tehenek takarmányadagját napi 10,5 g védett metioninnal egészítették ki. A metionin-kiegészítés hatására a tejfehérje-koncentráció 0,10%-os, a tejfehérje-termelés napi 42 g-os növekedését tapasztalták változatlan szintű tejmennyiség mellett. Kísérletünkben a védett kolin etetése feltételezhetően csökkentette a metionin felhasználását a kolin szintéziséhez, ezáltal több metionin állt a fehérjeszintézis rendelkezésére, ami a tejfehérje-termelés növekedéséhez vezetett.

Eredményeink a tej összes kolintartalmának emelkedését mutatták mindkét vizsgált csoportban a laktáció előrehaladása során. A laktáció első 60 napja során a kontroll- és RPC-csoportokban megfigyelhető 23 és 28%-os tejkolin-emelkedés hasonló tendenciát mutatott Newbold és mtsai (2005) vizsgálati eredményeivel. Az említett szerzők a tej szabad kolintartalmát vizsgálták a laktáció 15. és 90. napja között. Felmérésükben a tehenek külön kolinkiegészítést nem kaptak. Megfigyelték, hogy a laktáció előrehaladása során a tej szabad kolinkoncentrációja 82%-kal, a tejbe kiválasztott szabad kolin mennyisége 117%-kal emelkedett a laktáció 15. és 30. napja között. Bitman és Wood (1990) a tej foszfolipid-koncentrációját vizsgálták a laktáció 3., 7., 42. és 180. napján, a szabad kolintartalmat nem mérték. Eredményeik szerint a tejszírsban mért foszfolipid koncentráció a laktáció 42. napjáig

emelkedett. A bemutatott korábbi eredmények és a kísérletünkben a laktáció előrehaladása során mért intenzív tej kolinszint emelkedés azt igazolja, hogy elléskor a tejelő tehénben a kolin- és a foszfolipid-ellátás korlátozott. Kísérletünkben az RPC-csoport tej kolinszintje az ellést követően és a kísérlet teljes idején átlagosan 30%-kal volt magasabb a védett kolint nem fogyasztó kontrollcsoportéhoz képest. A védett kolinetetés hatására kialakuló tej kolinkoncentráció-emelkedés és nagyobb napi tejtermelés eredményeként a kolinkiegészítésben részesülő csoportban a tejjel kiválasztott kolin mennyisége is lényegesen, átlagosan 50%-kal meghaladta a kontrollcsoport kolin-kiválasztását. Eredményeink nagyon hasonlóak a Deuchler és mtsai (1998) által közöltekhez. Nevezett szerzők ugyancsak a tej kolintartalmának növekedését és a naponta tejjel kiválasztott kolin mennyiségének fokozódását figyelték meg, amikor a bendőfermentáció elkerülésével kanülön keresztül kolint juttattak az oltógyomorba, illetve védett kolint etettek teheneikkel. Megállapításuk szerint a tej kolintartalma a tehén kolinellátottságának elsődleges mutatója. Ennek alapján az RPC-csoportban mért magasabb tej összes kolinkoncentráció és a nagyobb napi összes kolin-kiválasztás azt bizonyítja, hogy az etetett védett kolin egy része elkerülte a bendőfermentációt, majd az epésbélben megemésztődött és felszívódott, ezáltal hozzájárult a tehén kolinellátásához. Az RPC-csoport magasabb tej kolinszintje és a nagyobb napi kolin-kiválasztása az RPC-csoport teheneinek jobb kolinellátását tükrözte a kontrollhoz képest. Az RPC-csoportban a tejjel kiválasztott, a kontrollhoz képest többletkolin mennyisége az etetett védett kolinmennyiség 3,7%-a volt. Ez azt jelenti, hogy az etetett védett kolinmennyiség 3,7%-át választották ki a tejben a kísérleti teheneink, ami megegyezik Deuchler és mtsai (1998) által tapasztalt 2-4% közötti értékkel.

5.2.3.2. Vérparaméterek

A vizsgált vérparaméterek időbeli változásai jól tükrözték az elléskörüli időszakban a bőtejelő tehenek anyagcseréjében végbemenő markáns változásokat. A plazma glükózsztint ellést követő csökkenése a tejtermelés jelentős glükózigényének és a kérődzők korlátozott glükóz-ellátottságának az eredménye (Bell, 1995). A kolinkiegészítés, hasonlóan a legtöbb korábbi eredményhez (Binden és mtsai, 2000; Pinotti és mtsai, 2003; Guretzky és mtsai, 2006; Zahra és mtsai, 2006), nem befolyásolta szignifikáns mértékben a glükózsztintet.

A NEFA-szint ellést követő gyors emelkedése a laktáció elején kialakuló energiadeficit következtében végbemenő intenzív lipídmobilizáció következményeként alakulhatott ki (Bertics és mtsai, 1992; Grummer, 1993; Hartwell és mtsai, 2000), amelyet a korábbiakban már tárgyalt testkondíció-csökkenés is jelzett. A plazma NEFA-szint hasonló időbeli változásáról számolt be számos korábbi publikáció (Fronk és mtsai, 1980; Hartwell és mtsai, 2000; Piepenbrink és Overton, 2003^b; Pinotti és mtsai, 2003). A védett kolin etetése kísérletünkben szignifikáns mértékben csak az ellést követő 21. napon növelte a plazma NEFA-szintjét, a kísérlet teljes időtartamára vetítve nem befolyásolta azt, ugyanakkor a NEFA-szint az RPC-csoportban számszerűleg magasabb volt a kontrollhoz képest. A korábbi publikációk egy része (Sharma és Erdman, 1989; Puchala és mtsai, 1997) a NEFA szint emelkedéséről számol be a védett kolinetetés hatására. A fenti kutatásokhoz hasonlóan Bryant és mtsai (1999) a NEFA szint lineáris emelkedését figyelték meg hízóbarányokban, amikor takarmányadagjukat növekvő dózisban védett kolinnal egészítették ki. Ezekről az eredményektől eltértek Pinotti és mtsai. (2003), valamint Cooke és mtsai (2007) megfigyelései, akik az NEFA szint szignifikáns csökkenését tapasztalták tejelő tehenekben védett kolinetetés hatására. Ehhez hasonló eredményt kaptak Bindel és mtsai (2000), akik hízó üszőkkel végzett kísérletünkben nem tapasztalták a kolin kiegészítés NEFA szintre

gyakorolt szignifikáns hatását, de a NEFA szintek a védett kolin mennyiségének növelésekor számszerűleg csökkentek. Erdman és Sharma (1991); Guretzky és mtsai (2006); Zahra és mtsai (2006) kísérleteiben a védett kolin etetése nem hatott a NEFA szintre. Az egymással ellentétes eredmények alapján feltételezhető, hogy a kolin kiegészítés és a plazma NEFA szintje közötti kapcsolat nem közvetlen, a kolin nem befolyásolja közvetlenül a szöveti lipidmobilizációt vagy a szabad zsírsavak kiáramlását a plazmából a felhasználó szövetek felé.

A korábbi kísérletek eredményei alapján (Pinotti és mtsai, 2003; Piepenbrink és Overton, 2003^b; Guretzky és mtsai, 2006; Zahra és mtsai, 2006; Cooke és mtsai, 2007) nem vártuk a plazma BHB szintjének változását a védett kolin kiegészítés hatására. Ennek ellenére a vizsgálat teljes időszakára vetítve a BHB-szint szignifikáns csökkenését tapasztaltuk az RPC-csoportban. A csökkenést az okozhatta, hogy a kolinkiegészítés a korábbi kísérletekhez képest sokkal nagyobb mértékben csökkentette a máj összlipid- és triglicerid-tartalmát, ezáltal az összlipid:glikogén és a triglicerid:glikogén arány is szignifikánsan csökkent. A lipidanyagcsere egyes mutatói közötti összefüggések vizsgálata során észrevettük, hogy a máj összlipid:glikogén aránya és a plazma BHB-koncentrációja között közepes szintű ($R^2=0.47$), lineáris kapcsolat van. Ez annyit jelenthet, hogy az ellést követő máj lipidtartalom-emelkedés és az ezzel egyidejűleg megfigyelt glikogéntartalom csökkenés elősegíti a ketonanyagok szintézisét a májban és szintjüknek emelkedését a plazmában. Hasonló összefüggést talált Bertics és mtsai (1992), valamint Grummer, (1993) a máj triglicerid:glikogén aránya és a plazma BHB-szintje között. Eredményeik szerint, a máj triglicerid:glikogén arány 2,3 fölé emelkedése a plazma ketonszintjének emelkedését vonta maga után. A kontrollcsoportban ez az arány a laktáció hetedik napján 12,95, a 35. napon 4,02 volt, ami mindkét esetben szignifikánsan magasabb az RPC csoportban számolt 2,45 és 0,30 értékeknél. A BHB időbeli

változása mindkét csoportban teljesen megegyezett a máj összes lipid és triglicerid-tartalom, illetve az összlipid:glikogén arány változásával. A kísérletünkben tapasztalt ellést követő gyors BHB emelkedésről, majd fokozatos csökkenésről számolt be számos korábbi publikáció is (Green és mtsai, 1999; Douglas és mtsai, 2006; Guretzky és mtsai, 2006).

Kísérletünkben a plazma triglicerid koncentrációja a kolinkiegészítés hatására növekedett. Hasonló eredményt kapott Bryant és mtsai (1999) hízó bárányokkal, Bindel és mtsai (2000) hízó üszőkkel végzett kísérletük során a plazma triglicerid-szintjének tendencia jellegű emelkedését tapasztalták kolinkiegészítés hatására. Hasonló eredményeket kapott Guretzky és mtsai (2006) is tejelő tehennel végzett kísérletében az ellés előtti időszakban. Más szerzők a kolin etetésekor nem tapasztalták a plazma triglicerid koncentrációjának változását (Erdman és Sharma, 1991). A plazma triglicerid emelkedésére magyarázatul szolgálhat az, hogy a kolin a májban szintetizálódó VLDL egységek nélkülözhetetlen részét képezi. A VLDL fontos szerepet töltenek be a trigliceridek vérben történő szállításában és a trigliceridek májból való exportjában (Gruffat és mtsai, 1996). A védett kolin etetése következtében kialakuló jobb kolinellátás ezáltal növelte a VLDL szintézist és a triglicerid exportot a májból, ami a plazma triglicerid-koncentráció emelkedéséhez vezethetett.

A kolin etetése nem befolyásolta a plazma összes koleszterinszintjét. Eredményünk megegyezik számos más szerző korábbi publikációjával (Bryant és mtsai, 1999; Bindel és mtsai, 2000; Pinotti és mtsai, 2003; Guretzky és mtsai, 2006), ugyanakkor eltér Zahra és mtsai (2006) eredményétől, akik a koleszterinszint csökkenését tapasztalták kolinkiegészítés hatására, de vizsgálatuk nem ad magyarázatot a csökkenésre. Az ellést megelőző időszakban mért szinthez képest az ellést követően a koleszterinszint folyamatos emelkedését figyelhettük meg, ami egyezik, Van den Top és mtsai (1995; 1996) által közölt időbeli változásokkal. Az

említett szerzők megfigyelése szerint a plazma összes koleszterinszintje együtt mozog a napi szárazanyag felvétellel, azaz az ellés előtti néhány napban csökken, majd az ellést követően emelkedik.

A fehérje-anyagcsere mutatói közül a plazma karbamidszintjét a kolin etetése nem befolyásolta, amely egybehangzik más szerzők által publikált eredményekkel (Bindel és mtsai, 2000; Hartwell és mtsai, 2000; Guretzky és mtsai, 2006; Zahra és mtsai, 2006). A plazma karbamidszintjét más tényezők, mint például az etetett takarmányadag fehérjetartalma, a fehérje bendőbeli bonthatósága stb. sokkal nagyobb mértékben befolyásolta, mint az adag kolinkiegészítése.

Az egész kísérleti időszak eredményei alapján a vér ammóniaszint csökkenő tendenciáját figyeltük meg a kolinkiegészítés hatására, de a 21. és a 35. napon vett vérminták ammóniatartalma szignifikánsan ($P < 0,05$) különbözött a csoportok között. Hartwell és mtsai (2001) azt tapasztalták, hogy a napi 6 és 12 g védett kolin etetése nem befolyásolja a karbamidszintézis folyamatában résztvevő enzimek (arginoszukcinát- szintetáz és ornitin-transzkarbamiláz) aktivitását. Az ammónia a bendőben a fehérjék mikrobás fermentációja során keletkezik és innen kerül a véráramba. Az ammónia már kis mennyiségben is erősen mérgező hatású (Visek, 1984), ezért a máj az ornitinciklus folyamatában karbamiddá alakítja. A vérben lévő karbamidot a nyálmirigyek, vesék és a tőgy kiválasztják (Lobely és mtsai, 1995). Kísérletünkben az ammóniaszint csökkenő tendenciája valószínűleg összefüggött a kolin májlipideket csökkentő hatásával. A kolinnak ezt a hatását a máj összlipid- és triglicerid-tartalmának vizsgálata során eredményeink is alátámasztották. Strang és mtsai (1998) továbbá Zhu és mtsai (2000) megfigyelték, hogy a máj lipidtartalmának emelkedésekor a karbamidszintézis sebessége csökken, ezáltal az ammóniakoncentrációja

emelkedik a vérben. Rehage és mtsai (2001) is a vér ammóniaszintjének emelkedéséről számoltak be, amikor a máj triglicerid-koncentrációja 60 g/kg nedves tömeg szint fölé emelkedett. Kísérletünk során a védett kolin etetése szignifikánsan csökkentette a máj összlipidtartalmát, ezáltal zavartalanná vált a karbamidszintézis folyamata, ami az ammóniaszint csökkenését eredményezte. Eredményeink egybehangzóak az említett szerzők megállapításával, mert a vér ammóniaszintje a máj összlipid-tartalmához hasonlóan változott mindkét csoportban a vizsgálat idején; az ellést követően jelentősen megemelkedett, majd fokozatosan csökkent.

Az AST-aktivitásában, hasonlóan Zahra és mtsai (2006) eredményéhez, nem mutatkozott különbség a csoportok között a kolinetetés hatására. Bobe és mtsai (2004) összefoglalójukban az AST-aktivitás emelkedéséről számoltak be a máj összlipid- és triglicerid-tartalmának emelkedése esetén. A kolinetetés csökkentette a máj lipidtartalmát, de ez a változás nem volt elegendő ahhoz, hogy az AST-aktivitását is számottevően befolyásolja. Eredményeink, hasonlóan más szerzők (Van den Top és mtsai, 1996; Zahra és mtsai, 2006) megfigyeléseihöz, az AST-aktivitás ellést követő emelkedését, majd fokozatos csökkenését mutatják, ami hasonló a máj lipidtartalmának időbeli változásához.

Bryant és mtsai (1999) hízó bárányokban az inzulin koncentráció lineáris emelkedését figyelték meg növekvő dózisú kolinkiegészítés hatására. Vizsgálatunkban az inzulin szint szignifikáns emelkedését nem tudtuk igazolni, mert esetünkben az RPC-csoportban a plazma inzulinkoncentráció a teljes kísérleti időszakra vonatkozó tendencia szintű magasabb értékét tapasztaltuk, szignifikáns emelkedést csak a 35. napon mértünk. A korábbi publikációk alapján egyes anyagcsere paraméterek és a vér inzulinszintje között összefüggés van. Lyle és mtsai (1984) éheztetett tinókkal végzett kísérletében a plazma NEFA-, BHB-szintjének és a

máj triglicerid-tartalmának emelkedését tapasztalták egyidejű inzulinszint csökkenés mellett. Van den Top és mtsai (1995) az ellést követően a plazma inzulinszintjének csökkenését és a máj triglicerid tartalmának növekedését állapították meg az ellés előtt mért szinthez képest. Oikawa és Oetzel (2006) az inzulinszint csökkenését figyelték meg mesterségesen előidézett májelzsírosodás esetén. Az inzulinszint és az egyes máj és vérparaméterek között végzett regressziós vizsgálataink azt támasztják alá, hogy az elléskörüli időszakban a plazma inzulinszintje és a máj glikogén tartalma, továbbá a plazma NEFA között közepes erősségű a kapcsolat. Az ellést követően a glikogénraktárak mindkét csoportban gyorsan kiürültek. Ezzel egyidejűleg a fokozódó NEFA beáramlás a máj összlipid és triglicerid tartalmának emelkedéséhez vezetett, ami a korábbi kutatások alapján (Cadorniga-Vallino és mtsai, 1997; Rukkwamsuk és mtsai, 1999) csökkenti a glükoneogenezis intenzitását. A kolinetetés hatására a máj lipidtartalma alacsonyabb szinten maradt, mint a kontrollcsoportban, ami lehetőséget teremthetett a glükoneogenezis intenzívebbé válásához. A vélhetően jobb glükózellátás miatt a 35. napon az RPC-csoportban magasabb volt az inzulinszint, ami elősegíthette a máj glikogén készleteinek helyreállítását, ezáltal hozzájárulhatott a 35 napon, az RPC-csoportban szignifikánsan magasabb májglikogén szint kialakulásához.

5.2.3.3. Máj glikogén- lipid- és zsírsavtartalma

Az ellést követő időszakban az intenzív zsírmobilizáció következményeként a máj lipidtartalmának emelkedése következett be, ami megegyezik számos korábbi kísérlet eredményével (Gaál, 1983; Gaál és mtsai, 1983; Grummer, 1993; Van den Top és mtsai, 1995; Overton és Waldron, 2004). A lipidakkumuláció során elsősorban a trigliceridek részaránya emelkedett meg, ezt igazolja az összes lipid és a triglicerid tartalom közötti szoros lineáris kapcsolat és a triglicerid:összlipid arány jelentős emelkedése a máj lipidtartalmának fokozódása során. A májlipidek mennyiségének növekedését kísérletünkben a védett kolin

etése jelentősen csökkentette. Hasonlóan a májlipidek csökkenését tapasztalta Cooke és mtsai (2007), ugyanakkor több más szerző *in vivo* kísérletekben nem talált szignifikáns májlipid-tartalom csökkenést kolinétel hatására (Hartwell és mtsai, 2000; Piepenbrink és Overton 2003^a; Zahra és mtsai, 2007). Májsejtkultúrával végzett *in vitro* kísérletek során azonban Piepenbrink és Overton (2003^b) megállapították, hogy a kolin csökkenti a májban az észterifikált termékek, főként trigliceridek akkumulációját, amely a kolin VLDL-szintézisben játszott központi szerepével magyarázható (Gruffat és mtsai, 1996). Az elléskörüli időszakban a kolinellátás javítása elősegítette a VLDL-szintézist és a trigliceridek exportját a májból (Pinotti és mtsai, 2003; Piepenbrink és Overton, 2003^b), ezért alakulhatott ki az ellést követő hetedik napra 41%-kal alacsonyabb összlipid és 68%-kal alacsonyabb triglicerid szint az RPC-csoportban a kolint nem fogyasztó kontrollhoz képest. A plazmában a NEFA:koleszterin arány azt a szabadzsírsav mennyiséget tükrözi, amelyet a máj trigliceridek formájában akkumulál vagy metabolizál az energiatermelő folyamatok során (Holtenius, 1989). A NEFA:koleszterin arány csökkenése kisebb kockázatot jelent a májelzsírosodás és az azzal együtt járó más anyagcsere betegségek kialakulására. Ebben az arányban, a szignifikáns májlipid-tartalom eltérés ellenére, a két csoport között nem volt különbség (0,134 és 0,143, a kontroll- és az RPC-csoportban), de az egyedi értékeket a talált máj összlipid szintekkel összevetve közepes erősségű lineáris kapcsolatot tudunk kimutatni.

A máj glikogéntartalmának ellést követő gyors csökkenése a tejtermelés miatt fokozódó glükózigény és a növekvő májlipid-tartalom következménye (Van den Top és mtsai, 1996). A máj triglicerid és a glikogéntartalma közötti összefüggést vizsgálataink során sikerült igazolnunk. Jump és mtsai (1994) patkány májsejtkultúrával végzett kísérletükben kimutatták, hogy a máj lipidtartalom növekedése csökkenti a piruvát kináz aktivitását. Ennek hatására a propionsavból induló glükoneogenezis intenzitása csökken. Az előzőhöz hasonló csökkenést

figyeltek meg a glükoneogenezis folyamatában tejelő tehenek májában a növekvő lipidtartalom hatására Cadorniga-Vallino és mtsai (1997), továbbá Rukkwamsuk és mtsai (1999^a). Vizsgálatunkban a glikogénszint csökkenése mindkét csoportban olyan jelentős volt, hogy a kolin etetése nem befolyásolta azt és csak a laktáció 35. napján vett minták glikogéntartalma volt magasabb az RPC-csoportban a kontrollhoz képest. Több szerző tapasztalta a máj glikogénszintjének szignifikáns emelkedését a kolinetetés hatására (Piepenbrink és Overton, 2003^b; Zahra és mtsai, 2006). A glikogénszint emelkedése feltételezhetően közvetett úton következik be azáltal, hogy a kolin a máj lipidanyagcseréjének javításával zavartalanná teszi a glükoneogenezist (Cadorniga-Vallino és mtsai, 1997; Rukkwamsuk és mtsai, 1999^a).

Vizsgálatunkban az ellést követően a zsírmobilizáció intenzitása és az ebből fakadó májelzsírosodás mindkét csoportban olyan mértékű volt, hogy az negatívan hatott a glükoneogenezisre és a máj glikogénszintjére. A máj összlipidtartalma csak a 35. napra csökkent olyan szintre az RPC csoportban, hogy bekövetkezhetett a glikogénraktárak részleges feltöltése, amit a kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb glikogén szint jelzett.

A kolinnal takarmányozott tehenek májában a kontrollhoz viszonyított alacsonyabb összlipid- és trigliceridkoncentráció, valamint a 35. napon mért magasabb máj glikogénkoncentráció, az ellést követő 7. és 35. napon alacsonyabb összlipid:glikogén és triglicerid:glikogén arányt eredményezett az RPC-csoportban. Eredményeinkhez hasonlóan a triglicerid:glikogén arány csökkenését tapasztalta Piepenbrink és Overton (1999; 2003^b) védett kolinetetés hatására bőtejelő tehenek májában, az elléskörüli időszakban. A triglicerid:glikogén arány csökkenése előnyös változás a tehén számára, mert ezzel csökken a plazma BHB szintje, ami csökkenti a ketózis kialakulásának lehetőségét (Grummer, 1993).

Az ellést követően a májba irányuló intenzív NEFA-beáramlás és a zsírsavak triglicerid formában történő akkumulációja az egyes zsírsavakat különböző mértékben érintette. Ennek hatására a mintavétel elléshez viszonyított idejétől függően jelentős eltérések mutatkoztak a máj zsírsavösszetételében. Eredményeink, hasonlóak Rukkwamsuk és mtsai (2000) megállapításaihoz, akik a máj zsírsavtartalmának emelkedését és egyidejűleg a zsírsavak egymáshoz viszonyított arányának változását figyelték meg az ellést követő 0,5, 1, 2 és 3. héten mérve az ellést egy héttel megelőző állapothoz képest. A megfigyelt májlipidek zsírsavainak aránybeli eltolódása megegyezik számos más szerző korábbi publikációival (Bouchat és mtsai, 1981; Husvéth és mtsai, 1982; Husvéth és mtsai, 1983). Husvéth (1993) a máj C16:0, C16:1n7, C18:1n9 arányának emelkedését és C18:0 arányának csökkenését figyelte meg az ellést követő intenzív zsírmobilizáció idején, amely az ellést követő második hónap végére visszaállt az ellést megelőző szintre. Rukkwamsuk és mtsai (1999^b) eredményeinkhez hasonlóan a C16:0, C18:1n9 arányának emelkedését, ugyanakkor a C18:0 arányának csökkenését figyelték meg az ellést követő 2, 4 és 6 héttel az ellést egy héttel megelőző állapothoz képest. A C18:2n6 arányában a kísérletükben a mesterségesen előidézett intenzív lipídmobilizációval párhuzamosan az ellést követően csökkenést, majd emelkedést figyelték meg, ami a kevésbé intenzív zsírmobilizációval rendelkező kontrollcsoportjukban elmaradt, ezért folyamatos növekedést állapítottak meg. Ez a megfigyelésük megegyezik a kísérletünkben észlelt linolsavarány változással, miszerint a kontrollcsoportban a C18:2n6 ellést követő csökkenését állapítottuk meg, amit folytonos növekedés követett. Ez az ellést követő linolsavcsökkenés az RPC-csoportban elmaradt, amikor is a kísérlet kezdetétől annak befejezéséig e zsírsav arányában folyamatos növekedést figyeltünk meg. Rukkwamsuk és mtsai (1999^b) következtetéseikben az általuk vizsgált négy meghatározó zsírsav arányának változását és a csoportok közötti különbségeket a lipídmobilizáció mértékével, a plazma NEFA-koncentrációjában mutatkozó különbségekkel magyarázták. Megfigyelésük szerint az

intenzív zsírmobilizáció elősegíti a palmitinsav és az olajsav arányának növekedését és a sztearinsav arányának egyidejű csökkenését. Eredményeink alapján azonban valószínűsíthető, hogy a májban az egyes zsírsavak aránya, a lipídmobilizáció intenzitásán kívül a máj triglicerid-koncentrációjától is függ. Ezt támasztja alá, hogy a zsírdepók mobilizációjának intenzitását tükröző plazma NEFA-koncentrációja kísérletünkben nem különbözött a kontroll- és az RPC-csoport között, ami alapján valószínűsíthető, hogy az egyes zsírsavak beáramlása a májba azonos mértékű volt mindkét csoportban. Ennek ellenére a főbb zsírsavak összes zsírsavmennyiségre vonatkoztatott arányában szignifikáns különbségeket találtunk a két csoport között. Ezt a megfigyelésünket igazolták a májban az egyes zsírsavak aránya és a máj triglicerid-koncentrációja között végzett összefüggés vizsgálataink is. A máj triglicerid-tartalmának emelkedésével párhuzamosan a C16:0 és C18:1n9 aránya emelkedett, a C18:0 és C20:4n6 aránya csökkent. A változásokból arra lehet következtetni, hogy az intenzív zsírmobilizáció és az ezzel együtt járó máj triglicerid-tartalom növekedése esetén a máj a beáramló zsírsavakat eltérő mértékben hasznosította az energiatermelő folyamatok során és választotta ki VLDL formájában. Ennek pontosabb meghatározása azonban további kísérletek elvégzését teszi szükségessé.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Kísérleteink eredményei alapján a fehérjék bendőbeli stabilitására kialakított vizsgálati módszer a mosás fázisának módosítása után alkalmas a védett kolint tartalmazó termékek bendőbeli stabilitásának összehasonlítására. Az összehasonlítás során az egyes termékek bendőbeli stabilitásában lényeges különbségek mutatkoztak.

Az elléskörüli időszakban etetett védett kolin növeli a tejtermelést, a napi tejsír- és tejfehérje-termelést, a tej fehérjekoncentrációját, ugyanakkor a testkondíciót nem befolyásolja. A laktáció előrehaladása során a tej kolinkoncentrációja és a naponta tejjel kiválasztott kolinmennyiség szignifikánsan emelkedik. A védett kolinkiegészítés hatására növekszik a tej kolinkoncentrációja és a tejjel kiválasztott kolin mennyisége, javul a tehének kolinellátottsága. Az elléskörüli időszakban a védett kolinetetés bőtejelő tehének anyagcseréjére gyakorolt hatását a vér- és májparaméterek változásával nyomon követve, magyarázatot kaphatunk a jelentős termelésnövekedésre. A kolinkiegészítés hatására a máj összlipid- és triglicerid-tartalma szignifikánsan alacsonyabb, amely az intenzívebb VLDL-szintézis és ezáltal nagyobb máj trigliceridexport eredménye. Az alacsonyabb máj lipidkoncentráció kedvezőbb feltételeket biztosít az anyagcsere folyamatok számára, ezáltal fokozódhat a glükoneogenezis és a karbamidszintézis, csökken a plazmában a ketonanyagok mennyisége. A máj lipidtartalmában bekövetkezett elléskörüli változások megváltoztatják a májlipidek zsírsavösszetételét, ami annak az eredménye, hogy a máj a beáramló zsírsavakat eltérő arányban hasznosítja az energiatermelő folyamatokban és a VLDL-szintézishez. Ennek a mechanizmusnak a mélyrehatóbb megismerése további kísérletek elvégzését teszi szükségessé.

Az elléskörüli időszakban a védett kolin etetése a nagy genetikai potenciállal rendelkező tehenek tejtermelését növeli a laktáció első hatvan napjában azáltal, hogy azzal egyes anyagcsere-folyamatokat kedvezően lehet befolyásolni. A védett kolin etetését a nagyobb termelési eredmények elérése és az elléskörüli időszakban a lipidanyagcserében bekövetkező kóros változások, anyagcsere betegségek megelőzése, valamint azok gazdasági kártételének csökkentése érdekében minden magas tejtermelésű állományban javasoljuk, különösen akkor, ha az ellés előtt lévő tehenek jelentős túlkondícióban vannak.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az egyes kolintermékek bendőbeli stabilitásának vizsgálata és az elléskörüli időszakban bőtejelő tehenekkel történő védett kolinetetés hatásainak tanulmányozása, valamint a lipidanyagcserében zajló kóros folyamatok hatására kialakuló veszteségek csökkentése érdekében két kísérletet végeztünk.

Első kísérletünkben négy bendőbeli lebomlás ellen védett és egy nem védett kolin termék bendőbeli stabilitását hasonlítottuk össze. A kolin bendőbeli lebomlásának meghatározása során három bendőkanüllel ellátott anyajuhot használtunk. Termékenként három mintát inkubáltunk 0, 2, 4, 8, 16, 24 és 48 órán keresztül. A hagyományos, Ørskov és McDonalds (1979) által kifejlesztett *in situ* módszert úgy módosítottuk, hogy a nylon zacskókban elhelyezett mintákat a kolinkiolódás minimalizálása érdekében a mosási fázis helyett, óvatos hideg vízbe történő mártogatással tisztítottuk meg a bendőtartalomtól. A 12%/óra bendőbeni áthaladási sebesség mellett kalkulált kolinlebomlás a bendőbeli lebontás ellen nem védett kolin esetében volt a leggyorsabb (88,92%). A lebomlás ellen védett termékek közül a termékenként függően ez az érték 13,85 és 83,29% között alakult. A mért különbségek feltételezhetően az eltérő kereskedelmi termékek gyártástechnológiájában alkalmazott különbségekből fakadtak. Az eredményeink alapján a módosított *in situ* eljárás, egy gyors és költséghatékony módszernek tűnik a különböző kolin források bendőbeni lebonthatóságának vizsgálata során.

A második kísérletünkben a védett kolinetetés hatását vizsgáltuk bőtejelő tehenek termelési mutatóira, a testkondíciójára, a lipidanyagcserét tükröző máj- és vérparaméterek változására. Harminckét, bőtejelő tehenet osztottunk két azonos csoportba (bendővédett kolinnal

kiegészítet – RPC-csoport és kolint nem fogyasztó – kontrollcsoport) a várható ellés előtt 28 nappal. A kísérleti takarmányok etetését az ellés előtt 21 nappal kezdtük és a laktáció 60. napjáig folytattuk. Az RPC csoport takarmányadagját az első kísérletben kedvező bendőbeli stabilitással rendelkező Norcol-25[®] termékkel egészítettük ki, amelyből az ellés előtt tehenenként napi 100, azt követően 200 g-ot etettünk, ezzel napi 25 és 50 g kolint biztosítottunk védett formában. A kolinkiegészítés 4,41 kg-mal növelte a tejtermelést és 2,50 kg-mal a 4% zsírra korrigált tejtermelést. A kolin hatására 0,10 kg-mal növekedett a napi zsír- és 0,18 kg-mal a fehérjetermelés. A testkondíció és a tejszír-koncentráció nem változott, a tejfehérje-koncentráció tendenciaszinten emelkedett a kolinkiegészítés hatására. A tej kolintartalma és a tejjel kiválasztott kolin mennyisége a laktáció előrehaladásával mindkét csoportban növekedett, de a kolint fogyasztó csoportban mindkét mutató mindvégig magasabb volt a kontrollhoz képest, ami azt bizonyítja, hogy a fejadaggal felvett kolin elkerülte a bendőbeli lebomlást, felszívódott és hozzájárult a kolinellátáshoz. A máj összlipid- és triglicerid-tartalma az ellést követő jelentős emelkedés során a védett kolint fogyasztókban alacsonyabb szinten maradt. A máj glikogéntartalma csak az ellést követő 35. napi mintavétel során különbözött, az RPC-csoportban volt magasabb a kontrollhoz képest, amely feltételezhetően az RPC-csoportban folyó intenzívebb glükoneogenezis eredményeként következhetett be. Az összlipid:glikogén és a triglicerid:glikogén arány a kolint fogyasztó tehenekben alacsonyabb volt és összefüggést mutatott a plazma ketonanyag koncentrációjával. A máj lipidtartalmának emelkedése a zsírsavösszetétel változását okozta, amelyet az egyes zsírsavak és a máj triglicerid-tartalma közötti regressziós összefüggések jól szemléltetnek. A palmitinsav és az olajsav aránya a lipidtartalom emelkedésekor növekedett, a sztearinsav és az arachidonsav aránya csökkent. A plazmametabolitok változásai tükrözték az elléskörüli időszakban zajló változásokat. Az intenzív zsírmobilizációt jelző plazma NEFA-szintje jelentősen emelkedett az ellést követően mindkét csoportban, de csak a laktáció 21.

napján volt magasabb az RPC-csoportban. A kolinkiegészítés hatására csökkent a plazma BHB-szintje, továbbá növekedett a trigliceridszint; ez utóbbi az intenzívebb VLDLszintézis és májból történő lipidkiválasztás eredményeként tudható be. A vér ammóniaszintjében szignifikáns különbség nem mutatkozott a kolinkiegészítés hatására, de az RPC-csoportban tendenciaszinten alacsonyabb értékeket figyeltünk meg a kontrollhoz képest, amely valószínűsíthető, hogy e csoport fokozottabb karbamidszintézisének a következménye. A plazma inzulin szintjét a kezelés nem befolyásolta, de tendenciaszinten nagyobb volt a kolint fogyasztó csoportban és összefüggést mutatott a máj glikogéntartalmával.

Kísérleteinkben a védett kolin etetése növelte a termelési mutatókat. A termelésnövekedés háttérében a vizsgált máj- és vérparaméterek kedvező változása állt. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a védett kolin alkalmazása az egyik eredményes eszköze lehet a magas tejtermeléssel rendelkező tehénállományokat érintő kóros zsírsavcsereből adódó veszteségek csökkentésének.

8. IRODALOMJEGYZÉK

Aldrich, J. M., Muller, L. D., Varga, G. A., (1993): Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 1091-1105.

Armentano, L. E., Bertics, S. J., Ducharme, G. A. (1997): Response of lactating cows to methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *J. Dairy Sci.* 80, 1194-1199.

Armentano, L. E., Grummer, R. R., Bertics, S. J., Skaar, T. C., Donkin, S. S. (1991): Effects of energy balance on hepatic capacity for oleate and propionate metabolism and triglyceride secretion. *J. Dairy Sci.* 74: 132-139

Baird, G. D. (1982): Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook *J. Dairy Sci.* 65: 1-10.

Bauchart, D. (1993): Lipid absorption and transport in the ruminants. *J. Dairy Sci.* 76: 3864-3881.

Bauchart, D., Duran, D., Gruffat, D., Chillard, Y. (1998): Mechanism of liver steatosis in early lactation cows – effects of hepatoprotector agents In: *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference, October, 1998.*

Bell, A.W. (1981): Lipid metabolism in liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. In: Christie W.W. (ed) *Lipid Metabolism in Ruminant Animals.* Pergamon Press, Oxford, p 363-410.

Bell, A. W. (1995): Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73: 2804-2819.

- Bergmeyer, H. U., Bowers, Jr. G. N., Hørder, M., Moss D. W. (1977): Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. *Clin. Chem.* 23: 887-899.
- Bernabucci, U., Ronchi, B., Basirico, L., Pirazzi, D., Rueca, F., Lecetera, N., Nardone, A. (2004): Abundance of mRNA of apolipoprotein B100, Abolipoprotein E, and microsomal triglyceride transfer protein in liver from periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2881-2888.
- Bertics, S. J., Grummer, R. R., Cadorniga-Valino, C., Stoddard E. E. (1992): Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.* 75: 1914-1922.
- Binden, D. J., Drouillard, J. S., Titgemeyer, E. C., Wessels, R. H., Löest, C. A. (2000): Effects of ruminally protected choline and dietary fat on performance and blood metabolites of finishing heifers. *J. Anim. Sci.* 78: 2497-2503.
- Bitman, J., Wood, D. L. (1990): Changes in milk fat phospholipids during lactation. *J. Dairy Sci.* 73: 1208-1216.
- Bobe, G., Young, J. W., Beitz, D. C. (2004): Invited review: Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 3105-3124.
- Bouchat, J. C., Doize, F., Paquaj, R. (1981): Influence of diet and prolonged fasting on food lipids, ketone bodies, glucose and insulin in sheep. *Repr. Nutr. Dev.* 21: 69-81.
- Bryant, T. C., Rivera, J. D., Galyean, M. L., Duff, G. C., Hallford, D. M, Montgomery, T. H. (1999): Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and serum metabolites in lambs. *J. Anim. Sci.* 77: 2893-2903.
- Cadorniga-Vallio, C., Grummer, R. G., Armentano, L. E., Donkin, S. S., Bertics, S. J. (1997): Effects of fatty acids and hormones on fatty acid metabolism and gluconeogenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 80: 646-656.

Cooke, R. F., Silva Del Río, N. Caraviello, D. Z., Bertics, S. J., Ramos, M. H., Grummer, R. R. (2007): Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90: 2413-2418.

Cotta, M. A., Hespell, R. B. (1984): Protein and amino acid metabolism of rumen bacteria. In: Control of digestion and metabolism in ruminants. Proceeding of the Sixth International Symposium of Ruminant Physiology, Held at Banff, Canada September 10-14, 1984.

Curtis, C. R., Erb, H. N., Sniffen, C. H., Smith, R. D., Kronfeld, D. S. (1985): Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 68: 2347–2360.

Dawson, R. M. C., Grime, D. W., Lindsay, D. B. (1981): On the intensity of sheef to the almost complete microbial destruction of dietary choline before alimentary-tract absorption. *Biochem. J.* 196: 499-504.

Deuchler, K. N., Piperova, L. S., Erdman, R. A. (1998): Milk choline secretion as an indirect indicator of postruminal choline supply. *J. Dairy Sci.* 81: 238-242.

Dijkstra, J., Neal, H. D. St. C., Beever, D., France, J. (1992): Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. *J. Nutr.* 122: 2239-2256.

Doepel, L., Lapierre, H., Kennelly, J. J. (2002): Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J. Dairy Sci.* 85: 2315-2334.

Douglas, G. N., Overton, T. R., H. G. Bateman, H. G., Dann, H. M., Drackley, J. K. (2006): Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in holstein cows. *J. Dairy Sci.* 89: 2141-2157.

Drackley, J. K., Richard, M. J., Beitz, D. C., Young, J. W. (1992): Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction and dietary 1,3-butanediol. *J. Dairy Sci.* 75: 1622-1634

Drackley, J. K., Overton, T. R., Douglas, G. N. (2001): Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84 (E suppl.): E100-112.

Drackley, J. K., LaCount, D. W., Elliott, J. P., Klusmeyer, T. H., Overton, T. R., Clark, J. H., Blum S. A. (1998): Supplemental fat and nicotinic acid for holstein cows during an entire lactation. *J. Dairy Sci.* 81: 201-214.

Duran, D., Chilliard, Y., Bauchart, D. (1992): Effect of lysine and methionine on in vivo hepatic secretion of VLDL in the high yielding dairy cow. *J. Dairy Sci.* 75 (suppl. 1.): 279. (abst.).

Emery, R. S., Liesman, J. S., Herdt, T. H. (1992): Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. *J. Nutr.* 122: 832-837

Emmanuel, B., Kennelly, J. J. (1984): Kinetics of methionine and choline and their incorporation into plasma lipids and milk components in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 67: 1912-1918.

Emmison, N., Aguis, L., Zammit, V. A. (1991): Regulation of fatty acid metabolism and gluconeogenesis by growth hormone and insulin in sheep hepatocyte cultures. *Biochem. J.* 274: 21-26.

Erdman, R. A., Sharma, B. K. (1991): Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74: 1641-1647.

Fasce, Jr. C. F., Vanderlinde, R. E. (1972): Factors affecting the results of serum cholesterol determinations: an interlaboratory evaluation. *Clin. Chem.* 18: 901 - 908.

Folch, J., M. Lees, Sloane-Stanley, G. H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.

Ford, E. J. (1961): Metabolic changes in cattle near the time of parturition. II. Hepatic fat and glycogen content, together with glucose-6-phosphatase, phosphorylase and beta-glucuronidase activity of liver. *J. Comp. Pathol.* 71: 60-70.

Foster, L. A. (1988): Clinical ketosis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4: 253-267

Friggens, N. C., Newbold, J. R. (2007): Towards a biological basis for predicting nutrient partitioning: the dairy cow as an example. *Animal* 1: 87-97.

Fronk, T. J., Schultz, L. H., Hardie, A. R. (1980): Effect of dry period overconditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63: 1080-1090.

Gaál, T. (1983): A bőtejelő tehenek zsírmobilizációs betegségeinek (zsírmájszindrómájának) oktana, kórfejlődése és megelőzésének lehetőségei. Kandidátusi értekezés, Budapest.

Gaál, T., Roberts, C. J., Reid, I. M., Dew, A. M., Copp, C. M. (1983): Blood composition and liver fat in post parturient dairy cows. *Vet. Rec.* 113: 53-54.

Garnsworthy, P. C., Topps, J. H. (1982): The effect of of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim. Prod.* 35: 113-119.

Green, B. L., McBride, B. W., Sandals, D., Leslie, K. E., Bagg, R., Dick, P. (1999): The impact of a monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82: 333-342.

Greloff, B. J., Herdt, T. H., Emery, R. S. (1986): Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 8: 845-850.

Goff, J. P., Horst., R. L. (1997): Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80:1260–1268.

Gröhn, Y., Lindberg, L. A., Bruss, M. L., Farver, T. B. (1983): Fatty infiltration of liver in spontaneously ketotic dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66: 2320-2328.

- Gruffat, D., Durand, D., Graulet, B., Bauchart, D. (1996): Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver. *Reprod. Nutr. Dev.* 36:375-389.
- Grum, D. E., Drackley, J. K., Clark, J. H. (2002): Fatty acid metabolism in liver of dairy cows fed supplemental fat and nicotinic acid during an entire lactation. *J. Dairy Sci.* 85: 3026-3034.
- Grummer, R. S., Bertics, S. J., LaCount, D. W., Snow, J. A., Dentine, M. R., Stauffacher, R. H. (1990): Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 1537-1543.
- Grummer, R., (1993): Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3882-3896.
- Grummer, R., (1995): Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition cow. *J. Animal . Sci.* 73: 2820-2833.
- Guretzky, N. A. J., Carlson, D. B., Garrett, J. E., Drackley, J. K. (2006): Lipid metabolite profiles and milk production for holstein and jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 2006 89: 188-200.
- Hammersten, O. (1883): Ist Casein ein einheitlicher Stoff? *Z. Physiol. Chem.* 7: 227-236.
- Hart, I. C., Bines, J. A., Morant, S. V. (1979): Endocrine control of energy metabolism in the cow: correlations of hormones and metabolites in high and low yielding cows for stages of lactation. *J. Dairy Sci.* 62: 270-277.
- Hartwell, J. R., Cecava, M. J., Donkin, S. S. (2000): Impact of dietary rumen undegradable protein and rumen protected choline on intake, periparturient liver triacylglyceride, plasma metabolites and milk production in transition cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2907-2917.
- Hartwell, J. R., Cecava, M. J., Donkin, S. S. (2001): Rumen undegradable protein, rumen-protected choline and mRNA expression for enzymes in gluconeogenesis and ureagenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 490-497.

Helrich, K. (1990): Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis. Padmore, J. M.: 4. Animal feed pp. 69-88. 15th ed. AOAC, Arlington, VA.

Holtenius, P. (1989): Plasma lipids in normal cows around partus and in cows with metabolic disorders with and without fatty liver. Acta Vet. Scan. 30: 441-445.

Horst, R. L., Goff, J. P., Reinhardt, A. T., Buxton, D. R. (1997): Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. J. Dairy Sci. 80: 1269-1280.

Horváth, Z. (1978): Szarvasmarha ketózis. In: Horváth, Z. ed.: Háziállatok belgyógyászata, pp. 351-358. Mezőgazdasági Könyvkiadó, Budapest

Hume, I. D., Moir, R. J. és Somers, M. (1970): Synthesis of microbial protein in rumen. Aust. J. Agric. Res. 21: 283-291.

Husvéth, F. (1993): A hatékonyabb termékelőállítást megalapozó anyagcserevizsgálatok gazdasági állatokban. Doktori értekezés, Keszthely.

Husvéth, F. (2000): A táplálóanyagok felszívódása és köztianyagcseréje. In: Husvéth, F. ed.: A gazdasági állatok élettana az anatómia alapjaival, pp. 407-430, Mezőgazda Kiadó, Budapest.

Husvéth, F., Karsai, F., Gaál, T. (1982): Egyes lipidösszetevők változásai a tejelő tehenek vérplazmájában és májszövetében az elléskörüli időszakban. Magy. Áo. Lapja 37: 689-696.

Husvéth, F., Karsai, F., Gaál, T. (1983): Changes of certain lipid components in the plasma and liver of dairy cows during the perinatal period. Acta Vet. Hung. 30: 97-112.

Jenkins, T. C. (1993): Lipid metabolism in the rumen. J. Dairy Sci. 76: 3851-3863.

Jenkins, T. C. (1997): Success of fat in dairy rations depends on the amount. Feedstuffs 69: 11-12.

Jumah, H. F., Poulton, B. R., Apgar, W. P. (1965): Energy and protein utilization during lactation. *J. Dairy Sci.* 48: 1210-1214.

Jump, D. B., Clarke, S. D., Thelen, A., Liimatta, M. (1994): Coordinate regulation of glycolytic and lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids. *J. Lipid Res.* 35:1076–1084.

Jung, D., Biggs, H., Erikson, J., Ledyard, P. U. (1975): New colorimetric reaction for endpoint, continuous-flow, and kinetic measurement of urea. *Clin. Chem.* 21: 1136 - 1140.

Karman, A. H., van Boekel M. A. J. S. (1986): Evaluation of the Kjeldahl factor for conversion of the nitrogen content of milk and milk products to protein content. *Neth. Milk Dairy J.* 40: 315-336.

Karsai, F. (1993): Májelfajulás és nem gennyes májgyulladás. In: Karsai, F., Vörös, K. ed.: *Állatorvosi belgyógyászat*, pp. 223-225, Mezőgazda Kiadó, Budapest.

Kleppe, B. B., Aiello, R. J., Grummer, R. R., Armentano, L. E. (1988): Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat. *J. Dairy Sci.* 71: 1813-1822.

Knowlton, K. F., Glenn, B. P., Erdman, R. A. (1999): High moisture corn in lactating rations: digestion, metabolism, and production. *Cornell Nutr. Conf.* Roachester, NY, October, 1999.

Kronfeld, D. S. (1982): Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency, and spontaneous ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 65: 2204-2212.

Kutas, F. (1987): A tejelő tehén anyagcseréje. In: Kutas, F. ed.: *A szarvasmarha anyagforgalmi betegségei és mérgezései*, pp. 57-69, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.

Lengyel, Z., Husvéth, F., Polgár, P., Szabó, F., Magyar, L. (2003): Fatty acid composition of intramuscular lipids in various muscles of Holstein-Friesian bulls slaughtered at different ages. *Meat Sci.* 65: 593-598.

- Lindsay, D. B. (1980): Amino acids as energy sources. *Proc. Nutr. Soc.* 39: 53-59
- Littledike, E. T., Young, J. W., Beitz, D. C. (1981): Common metabolic diseases of cattle: Ketosis, milk fever, grass tetany, and downer cow complex. *J. Dairy Sci.* 64: 1465-1482.
- Lobley, G. E., Connell, A., Lomax, M. A., Brown, D. S., Milne, E., Calder, A. G., Farningham, D. A. H. (1995): Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver: possible consequences for amino acid catabolism. *Br. J. Nutr.* 73:667-685.
- Lomax, M. A., Donaldson, I. A., Pogson, C. I. (1983): The control of fatty acid metabolism in liver cells from fed or starved sheep. *Biochem. J.* 214: 553-560.
- Lott, J. A., Turner, K. (1975): Evaluation of trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clin. Chem.* 21: 1754-1760.
- Lyle, R. R., Deboer, G., Harrison, R. O., Young, J. W. (1984): Plasma and liver metabolites and glucose kinetics as affected by prolonged ketonemia-glucosuria and fasting in steers. *J. Dairy Sci* 67: 2274-2282.
- Madsen, A. (1983): The molecular basis of animal production: Metabolism in liver cells, in: Riis, P. M. ed.: *Dinamic biochemistry of animal production*, pp. 53-74, Elsevier, Amsterdam – Oxford – New York – Tokyo
- Magee, H. E., (1932): Observations on digestion in the ruminant. *J. Exp. Biol.* 9: 409-426.
- Marcos, E., Manu, A., Cardot, P., Rayssiguier, Y. (1990): Serum apolipoprotein B and A-I and naturally occurring fatty liver in dairy cows. *Lipids* 25: 575-577.
- Matsubara, C., Nishikawa, Y., Yoshida, Y., Takamura, K. (1983): A spectrophotometric method for the determination of FFA in serum using Acyl-CoA synthetase and acyl-CoA oxidase. *Anal. Biochem.* 130: 128-133.
- McMurray, C. H., Blanchflower, W. J., Rice, D. A. (1984): Automated kinetic method for D-3-hydroxybutyrate in plasma or serum. *Clin. Chem.* 30: 421 - 425.

Metzler, D. A. (2001^a): An introduction to metabolism In: Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells, 2nd Edition, Academic Press, San Diego, Chapter 10: 507. p.

Metzler, D. A. (2001^b): Specific aspects of lipid metabolism - Phospholipids In: Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells, 2nd Edition, Academic Press, San Diego, Chapter 21: 1197-1201. pp.

Metzler, D. A. (2001^c): The organization of metabolism, in: Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells, 2nd Edition, Academic Press, San Diego, Chapter 17, p. 996.

Michael, V., Yuan, Z., Ramsbir, S., Bakovic, M. (2006): Choline transport for phospholipid synthesis. *Exp. Biol. Med.* 231: 490-504.

Neill, A. R. (1979): The low availability of dietary choline for the nutrition of sheep. *Biochem. J.* 180: 559-565.

Neil, J. H., Barter, P. J., Rye, K. A. (1998): The influence of apolipoproteins on the hepatic lipase-mediated hydrolysis of high density lipoprotein phospholipid and triacylglycerol. *J. Biol. Chem.* 273: 27191-27198.

Newbold, J. R. (2002): Evaluation of choline products. Provimi Research Report

Newbold, J. R., Bleach, E. C. L., Aikman, P. C., Beever, D. E. (2005): Secretion of choline in milk is depressed in dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 88: Suppl. 1. p. 61.

Noble, R. C. (1981): Digestion, absorption and transport of lipids in ruminant animals. In *Lipid metabolism in ruminants*, p 57 (W. W. Christie szerk.) Pergamon Press, Oxford.

Nocek, J. E., Tamminga, S. (1991): Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74: 3598-3629.

Nocek, J. E., Russell, J. B. (1988): Protein and energy as an integrated system: relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71: 2070–2107.

NRC (1985): Microbial protein In: Ruminant nitrogen usage. National Academy Press, Washington D. C., pp. 50-51.

NRC (2001^a): Unique aspects of dairy cattle nutrition. In: Nutrient requirement of dairy cattle, seventh revised edition, National Academy press, Washington D. C. pp. 184-213.

NRC (2001^b): Nutrient requirement tables. In: Nutrient requirement of dairy cattle, seventh revised edition, National Academy press, Washington D. C. pp. 258-280.

NRC (2001^c): Body condition scoring. In: Nutrient requirement of dairy cattle, seventh revised edition, National Academy press, Washington D. C. pp. 23-26.

Oikawa, S., Oetzel, G. R. (2006): Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipidosis. *J. Dairy Sci* 89: 2999-3005

Oldham, J. D. (1984): Protein-energy interrelationships in dairy cows. *J. Dairy Sci.*67: 1090-1114.

Ørskov, E. R., McDonald, I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. *J. Agric. Sci.* 92: 499-503

Oxford, A. E. (1955): The bacteriology and protozoology of ruminant digestion. *J. Sci. Food Agric.* 6: 413-418.

Overton, T. R., Drackley, J. K., Douglas, L. S., Emmert, L. S., Clark, J. H. (1998): Hepatic gluconeogenesis and whole body protein metabolism of periparturient dairy cows as affected by source of energy and intake of the prepartum diet. *J. Dairy Sci.* 81(Suppl. 1): 295.

- Overton, T. R., Waldron, M. R. (2004): Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87 (E suppl.): E105-E119.
- Owens, F. N., Zinn, R. A., Kim, Y. K. (1986): Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 63: 1634-1648.
- Palmquist, D. L., Mattos, W. (1978): Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 61: 550-560.
- Patton, R. S., Sorenson, C. E., Hippen, A. R., (2004): Effects of dietary glucogenic precursors and fat on feed intake and carbohydrate status of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2122-2129.
- Piepenbrink, M. S., Overton, T. R. (1999): Rumen protected choline for transition dairy cows. *Proceeding of Cornell Nutritional Conference for Feed Manufacturers.*
- Piepenbrink, M. S., Overton, T. R. (2003^a): Interrelationship of hepatic palmitate and propionate metabolism, liver composition, blood metabolites, and cow performance. *J. Dairy Sci.* 86 (Suppl. 1): 148. (Abstr.)
- Piepenbrink, M. S., Overton, T. R. (2003^b): Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 86: 1722-1733.
- Piepenbrink, M. S., Overton, T. R. (2003^c): Hepatic palmitate metabolism of periparturient dairy cows as affected by nutrients supplied in vitro. *J. Dairy Sci.* 86 (Suppl. 1): 220. (Abstr.)
- Pinotti, L., Baldi, A., Politis, I., Rebucci, R., Sangalli, L., Dell'Orto, V. (2003): Rumen-protected choline administration to transition cows: Effect on milk production and vitamin E status. *J. Vet. Med. A* 50: 18-21.
- Polan, C. E., McNeill, J. J., Tove, S. B. (1964): Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol.* 88: 1056-1064.

- Puchala, R., Sahl, T., Davis, J. J., Hart, S. P. (1997): Effects of jugular infusion of choline and betaine on blood parameters in angora goats. *J. Anim. Sci.* 75 (Suppl. 1): 274 (Abst.)
- Pullen, D. L., Palmquist, D. L., Emery, R. S. (1989): Effect of days of lactation and methionine hydroxyl analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. *J. Dairy Sci.* 72: 49-58.
- Rehage, J. Meier, C. Kaske, M. Scholz, H. (2001): Changes in the amino acid ratio and ammonia concentration in plasma and cerebrospinal fluid of dairy cows suffering from hepatosteatosis and liver failure. *J. Dairy Sci.* 84(Suppl. 1): 152 (Abst.)
- Reid, R. L. (1950): Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. II. The uptake by the tissues of glucose and acetic acid from the peripheral circulation. *Aust. J. Agric. Res.* 1: 338-354.
- Reid, I. M., Rowlands, G. J., Dew, A. M., Collins, R. A., Roberts, C. J., Manston, R. (1983): The relationship between postparturient fatty liver and blood composition in dairy cows. *J. Agric. Sci. (Camb).* 101: 473-502.
- Reid, I. M., Roberts, C. J. (1982): Fatty liver in dairy cows. *Vet. Rec.* 4: 164-169.
- Reid, I. M., Roberts, C. J. (1983): Subclinical fatty liver in dairy cows. *Irish Vet. J.* 37:104-110.
- Reynolds, C. K., Aikman, P. C., Lupoli, B., Humphries, D. J., Beaver, D. E. (2003): Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86: 1201-1217.
- Rohlf, E. M., Garner, S. C., Mar, M. H., Zeisel, S. H. (1993): Glycerophosphocholine and phosphocholine are the major choline metabolites in rat milk. *J. Nutr.* 123: 1762-1768.
- Ruiz, N., Miles, R. D., Harms, R. H. (1983): Choline, methionine and sulphate interrelationships in poultry nutrition—A Review. *W. Poultry Sci. J.* 39: 185-198.

Rukkwamsuk, T., Wensing, T., Geelen, M. J. H. (1999^a): Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 500-505.

Rukkwamsuk, T., Kruip, T. A. M., Meijer, G. A. L., Wensing, T. (1999^b): Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of high energy diet in the dry period. *J. Dairy Sci.* 82: 280-287.

Rukkwamsuk, T., Geelen, M. J. H., Kruip, T. A. M., Wensing, T. (2000): Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *J. Dairy Sci.* 83: 52-59.

Rulquin, H., Pisulewski, P. M., Verite, R., Guinard, J. (1993): Milk production and composition as a function of postruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. *Livest. Prod. Sci.* 37: 69-81.

Russell, J. B., Hespell, R. B. (1981): Microbial rumen fermentation. *J. Dairy Sci.* 64:1153-1169.

Russell, J. B., O'Connor, D. G., Fox, G. G., Van Soest, P. J. és Sniffen, C. J. (1992): A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 70: 3551-5561.

Salter, D. N., Smith, R. H. (1977): Digestibilities of nitrogen compounds in rumen bacteria and in other components of digesta in the small intestine of the young steer. *Brit. J. Nutr.* 38: 207-216.

Schwab, C. G., Bozak, C. K., Whitehouse, N. L., Mesbah, M. M. A. (1992): Amino acid limitation and flow to the duodenum at four stages of lactation. I. Sequence of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.* 75: 3486–3502.

Shott, S. (1990): *Statistics for Health Professionals*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA.

Sharma, B. K., Erdman, R. A. (1987): Effect of abomasal infusion of choline on milk production responses of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70(suppl. 1): 215 (Abstr).

Sharma, B. K., Erdman, R. A. (1988^a): Abomasal infusion of choline and methionine with or without 2-amino-2-metil-1-propanol for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71: 2406-2411.

Sharma, B. K., Erdman, R. A. (1988^b): Effects of high amounts of dietary choline supplementation on duodenal choline flow and production responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71: 2670-2676.

Sharma, B. K., Erdman, R. A. (1989): Effects of dietary and abomasally infused choline on milk production responses of lactating dairy cows. *J. Nutr.* 119: 248-254.

Shaw, J. C. (1946): Studies on ketosis in dairy cattle. VII. The efficacy of B vitamins and methionine in the treatment of ketosis. *J. Dairy Sci.* 29: 131-139.

Stipanuk, M. H. (1986): Metabolism of sulfur-containing amino acids. *Ann. Rev. Nutr.* 6: 179-209.

Strang, B. D., Bertics, S. J., Grummer, R. R., Armentano, L. E. (1998): Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81: 728-739.

Tóth, T. (2005): A tejelő tehenek gűlőzellátásának javítása. PhD disszertáció, Mosonmagyaróvár.

Young, J. W., Veenhuizen, J. J., Drackley, J. K., Smith, T. R. (1990): New insights into lactation ketosis and fatty liver. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.* P. 60-69

Van den Top A. M., Wensing, T., Beynen, A. C. (1994): The influence of calcium palmitate and oleate feeding on hepatic lipid metabolism in dry goats, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 72: 44-55.

Van den Top, A. M., Wensing, T., Geelen, M. J. H., Wentink, G. H., Van't Klooster, Beynen, A. C. (1995): Time trends of plasma lipids and hepatic triacylglycerol synthesizing enzymes during postpartum fatty liver development in dairy cows with unlimited access to feed during the dry period, *J. Dairy Sci.* 78: 2208-2220.

- Van den Top, A. M., Wensing, T., Geelen, M. J. H., Wentink, G. H., Van't Klooster, Beynen, A. C. (1996): Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyltransferase. *J. Nutr.* 126:76–85
- Van Saun, R. J. (1991): Dry cow nutrition: the key to improving fresh cow performance. In *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 7. W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA pp. 599-620
- Verges, M., Bensadoun, A., Herz, J., Belcher, J. D., Havel, R. J. (2004): Endocytosis of hepatic lipase and lipoprotein lipase into rat liver hepatocytes *in vivo* is mediated by the low density lipoprotein receptor-related protein. *J. Biol. Chem.* 279: 9030 – 9036.
- Vernon, R. G., Clegg, R. A., Flint, D. J. (1981): Metabolism of sheep adipose tissue during pregnancy and late lactation. *Biochem. J.* 200: 307-314.
- Vernon, R. G., Finley, E. (1985): Regulation of lipolysis during pregnancy and lactation in sheep. *Biochem. J.* 230: 651-656.
- Visek, W. J. (1984): Ammonia: Its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. *J. Dairy Sci.* 67: 481-498.
- Wallace, R. J., Cotta, M. A. (1988): Metabolism of nitrogen containing compounds. In: P. N. Hobson, (ed.): *The rumen microbial ecosystem*. Elsevier Appl. Sci., London. 217-249.
- Werner, M., Gabrielson, D. G., Eastman, J. (1981): Ultramicro determination of serum triglycerides by bioluminescent assay. *Clin. Chem.* 27: 268-271.
- Whitehead, C. C., Portsmouth, J. I. (1989): Recent advances in animal nutrition Ed. Haresing, W. and Cole, D. J., Butterworths, London, England pp 35-86.
- Wolin, M. J. (1960): A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43: 1452-1455.

Woollard, D. C., Indyke, H. R. (2000): Determination of choline in milk and infant formulas by enzymatic analysis: collaborative study. *J. AOAC Int.* 83: 131-138.

Zahra, L. C., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Overton, T. R., Putnam, D., LeBlanc, S. J. (2006): Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 4808-4818.

Zamet, C. N., Colenbrander, V. F., Callahan, C. J., Chew, B. P., Erb, R. E., Moeller, N. J. (1979): Variables associated with peripartum traits in dairy cows. I. Effect of dietary forages and disorders on voluntary intake of feed, body weight and milk yield. *Theriogenology* 11: 229-244.

Zeisel, S. H. (1992): Choline: an important nutrient in brain development, liver function and carcinogenesis. *J. Am. College Nutr.* 11: 473-481.

Zeisel, S. H. (2004): Nutritional importance of choline for brain development. *Am. J. Nutr.* 23: 621S-626S.

Zeisel, S. H., Da Costa, K. A., Franklin, P. D., Alexander, E. A. Lamont, J. T., Sheard, N. F., Beiser, A. (1991): Choline, an essential nutrient for humans. *FASEB J.* 5: 2093-2098.

Zhu, L. H., Armentano, L. E., Bremmer, D. R., Grummer, R. R., Bertics S. J. (2000): Plasma concentration of urea, ammonia, glutamine around calving, and the relation of hepatic triglyceride, to plasma ammonia removal and blood acid-base balance *J. Dairy Sci.* 83: 734-740.

9. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A kereskedelmi forgalomban kapható, különböző gyártók által előállított védett kolintermékek bendőbeli stabilitása jelentős eltéréseket mutat. Ezért ajánlatos egy-egy nagyobb tétel beszerzése előtt, vagy termékváltás során a lebonthatósági értékeket meghatározni. Erre a célra az eredetileg a fehérjék bendőbeli lebomlásának tanulmányozására kifejlesztett *in situ* technika a mosási fázis módosítását követően alkalmas, könnyen alkalmazható, viszonylag olcsó eljárás
2. Az elléskörüli időszakban etetett védett kolin a tejtermelést jelentős mértékben növeli, ha az ellés előtti testkondíció nagyobb, mint 4,0. A védett kolin etetése csökkenti a metionin felhasználását a kolin szintéziséhez, ezáltal növeli a tejfehérje termelést, ha az adagban az elsődlegesen limitáló aminosav a metionin. A tejkolin és a tejjel kiválasztott kolin a kolinellátás jó mutatója, ezért a laktáció előrehaladásával növekvő tejkolin-koncentráció és tejjel kiválasztott kolinmennyiség az elléskörüli néhány nap korlátozott kolin- és foszfolipid-ellátására utal.
3. A kolin-kiegészítés eredményeként mérséklődik a májban a lipidakkumuláció az intenzíven tejelő tehenelekben az energiahányból fakadó kritikus időszakban. A védett kolin etetése az ellést követő intenzív zsírmobilizáció idején csökkenti a májban a mirisztinsav, a palmitinsav és az olajsav, ugyanakkor növeli a sztearinsav, a linolsav és az arachidonsav arányát.

4. Az elléskörüli időszakban etetett védett kolin csökkenti a plazma ketonanyag koncentrációját azáltal, hogy csökkenti a májban az összlipid:glikogén és a triglicerid:glikogén arányt. A plazma inzulin szintje és a máj glikogén tartalma között kapcsolatot figyeltünk meg. A májglikogén szint emelkedése a plazma inzulinkoncentrációjának emelkedését okozza.

5. Az elléskörüli időszakban, kóros májelzsírosodás esetén a védettkolin etetés hatására a vér ammóniakoncentrációja csökkenő tendenciát mutat, mert a máj lipidtartalmának csökkentése által intenzívebbé válik a karbamidszintézis folyamata.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálával tartozom konzulensemnek, **Dr. Husvéth Ferenc** egyetemi tanárnak, valamint társ-konzulensemnek, **Dr. Gaál Tibor** egyetemi tanárnak a disszertációm elkészítése során nyújtott segítőkész útmutatásaikért.

Nagyon köszönöm **Gamós András**nak és **Mayer Győző**nek a Milkmen Kft. tulajdonosainak, hogy lehetővé tették a tehenészetükben a kísérlet elvégzését.

Ugyancsak köszönöm **John Newbold** a Provimi Research and Innovation Centre igazgatójának a kísérlet beállításában és a publikációim elkészítésében adott hasznos tanácsait.

Köszönettel tartozom a Provimi és az AGROKOMPLEX C. S. ZRT. vállalatoknak kutatómunkám pénzügyi támogatásáért.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani a Pannon Egyetem Georgikon Karának és a Szent István Egyetem Állatorvostudományi Karának mindazon dolgozójának, akik segítettek munkámat és hozzájárultak ahhoz, hogy ez a disszertáció elkészülhetett.