

## AZ EMBERI ZSÍRSZÖVET TRIGLICERIDTARTALMÁNAK SZERKEZETVIZSGÁLATA

SZOLLÁR LAJOS

Közlésre érkezett: 1973. IX. 16.

A neutrális zsírok — így az emberi zsírszövet mintegy 90%-át alkotó triglicerid is — különböző szerkezetű triglicerid molekulák elegyei. A bennük előforduló zsírsavak kémiai természete — lánchossza, telítetlensége, a kettős-kötések konfigurációja stb. —, valamint a glicerid molekulában elfoglalt helyzetük szabja meg a zsiradék jellemző tulajdonságait (*Brockerhoff*, 1965, *Soeters*, 1970). Az utóbbi 10–15 esztendőben a zsírkémiában a szerkezetvizsgálati közlemények száma megszorodott és bár az emberi zsírszövet trigliceridjeinek zsírsavösszetétele régóta ismert, a struktúráról csupán kis számú és finomabb részleteket nem tárgyaló adat áll rendelkezésre (*Mattson* és *Lutton* 1958, *Mattson* és *Volpenheim* 1961, *Brockerhoff* és *Ackmann* 1967, *Brockerhoff* 1966).

E munkában célul tűztük ki a humán zsírszövet trigliceridek zsírsavösszetételének, az egyes zsírsavak molekulán belüli helyzeti megoszlásának és a különböző szerkezetű triglicerid molekulák mennyiségének meghatározását.

A zsírszöveti minták zsírsavösszetételének meghatározása után elvégeztük a triglicerid molekulák stereospecifikus analízisét, a 2 ( $\beta$ ) és az 1–3 ( $\alpha$ – $\alpha'$ ) helyzetben levő acyl-csoportokat pancreas lipázos hidrolízissel izoláltuk, majd a zsírsav összetételt gázkromatográffal határoztuk meg.

A munka másik részében a triglicerid keveréket először  $\text{AgNO}_3$ -al impregnált vékonyrétegen triglicerid osztályokra választottuk, az egyes osztályok glicerid összetevőit fordított fázisú vékonyrétegen azonosítottuk, mennyiségüket pedig az egyes osztályok zsírsavösszetételéből belső standard segítségével számítottuk ki.

Eredményeinket az irodalomban föllelhető — egyéb zsiradékok analízise során nyert — eloszlási törvényekkel vetettük egybe, egyes esetekben összehasonlítást tettünk az emberi serum-triglicerid saját korábbi munkánkban tárgyalt eloszlástípusával is.

### Anyagok és módszerek

Vizsgálatainkat 9 beteg hasúri műtétje során kimetszett omentális zsírszövetéből végeztük. A donorok adatait tünteti fel az 1. sz. táblázat. Valamennyi beteg 12–14 órai előzetes éheztetés után, endotracheális narcosisban került műtétre, gyógyszert csak a narcosishoz szükséges módon kapott. A kiválogatásnál csupán arra a szempontra fordítottunk gondot, hogy el-

1. táblázat

A zsírszöveti minták donorainak adatai

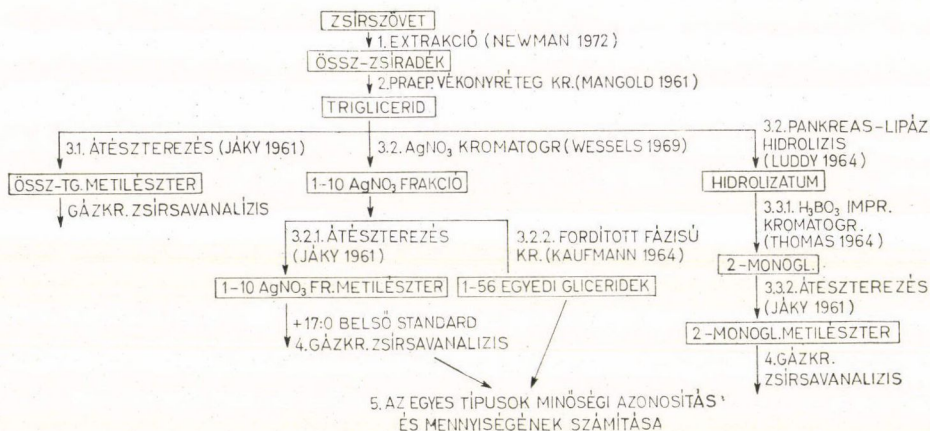
N°	Név	Nem	Életkor (év)	Testsúly (kg)	Műtét oka
1.	Sz. S.	♀	50	70	Hern. par. abd.
2.	S. A.	♀	52	78	Hern. par. abd.
3.	Gy. K.	♀	25	66	App. ac.
4.	N. K.	♀	59	82	Hern. par. abd.
5.	N. J.	♀	58	74	Ulcus. ventr.
6.	P. I.	♀	50	84	Gastritis chr.
7.	Zs. L.	♀	42	79	Ulcus. ventr.
8.	V. J.	♀	51	70	Tu. ventriculi
9.	M. J.	♀	56	67	Tu. recti

hízott, sárgaságban, vagy anyagcsere betegségben (diabetes, hyperlipoproteinemia stb.) szenvedők anyaga ne kerüljön feldolgozásra. A natív zsírszövetet hűtve szállítottuk, feldolgozását a szállítást követően azonnal megkezdjük.

Az analitikai vizsgálatok menetét szemlélteti az 1. sz. ábra.

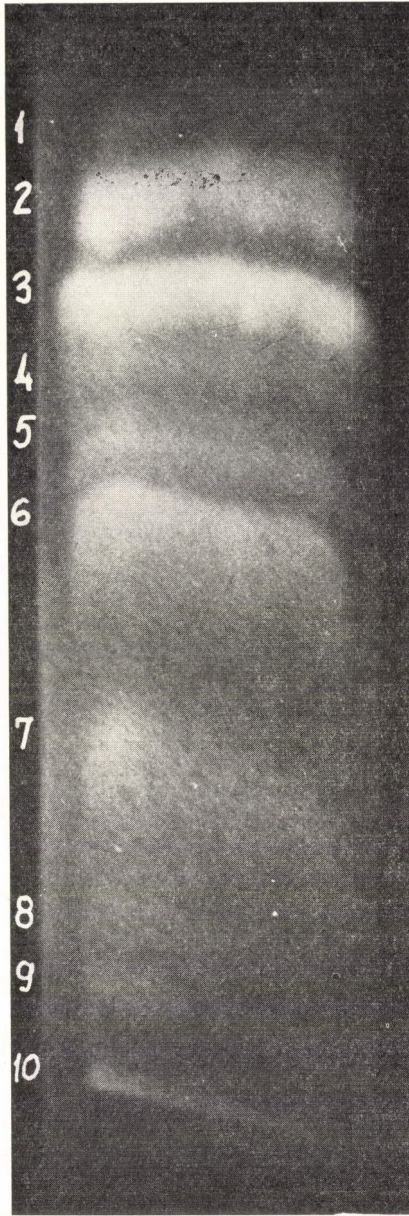
1. A szövet extrahálását aprítás és 0,9%-os NaCl-ben 4 C°-on történő homogenizálás után Newman és mtsai (1972) petroléteres módszerével végeztük.

#### ANALITIKAI VIZSGÁLATOK MENETE

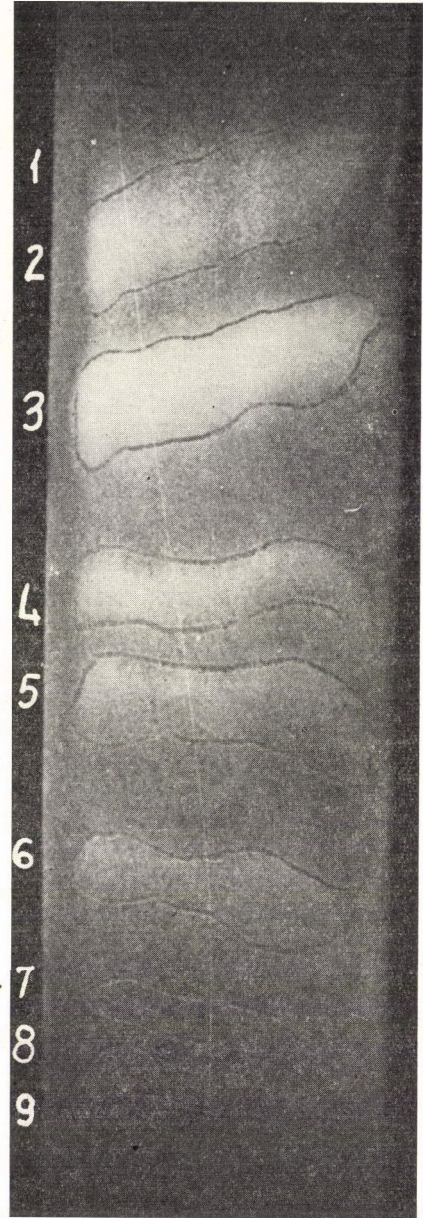


1. ábra. Az analitikai vizsgálatok menete.

2. A kinyert zsiradékból preparatív vékonyréteg-kromatográfiás osztály-elválasztással *Mangold* (1961) szerint szeparáltuk a triglicerideket,  $20 \times 20$  cm-es lapon 0,5 mm rétegvastagságú Kieselgel G (Merck A. G., Darmstadt, NSZK) adszorbensen, a futtatóelegy petroléter (f. p.  $40-70^\circ\text{C}$ ) — dietiléter — ecetsav 85 : 15 : 5 térf. arányú keveréke volt. Az egyes frakciókat jódgőzben hívtuk elő, jelölés és a  $\text{J}_2$  elpárolgása után a lekapart triglicerideket dietiléterrel eluáltuk az adszorbensről.
- 3.1. A tiszta trigliceridek egy részét (kb. 50 mg) *Jáky* (1969) szerint hidegen, alkoholos KOH-val átésztereztük, a zsírsavmetilészterek összetételét gázkromatográfion határoztuk meg.
- 3.2. A tiszta trigliceridek 200—300 mg-nyi mennyiségét *Wessels* és *Rajagopal* (1969) szerinti  $\text{AgNO}_3$ -al impregnált preparatív vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel szeparáltuk. A szeparáció elve az, hogy a kettős kötést tartalmazó molekulák az Ag-ionnal komplexet képeznek, a kötődés erőssége arányos a kettős kötések számával és elhelyezkedésével, így a triglicerideket telítetlenség szerinti csoportosításban, tisztán elkülöníthetjük. Tipikus kromatogramot ábrázol a 2. és 3. sz. ábra. A hat említett zsírsavból álló gliceridek telítetlenség szerint 10 frakcióra oszthatók. A frakciók minőségét és tisztaságát az  $R_f$  érték, az egyes frakciók zsírsavösszetétele és a fordított fázisú vékonyréteg-kromatográfia alapján határoztuk meg. Az adszorbens 15%  $\text{AgNO}_3$ -at tartalmazó Kieselgel G  $10 \times 40$  cm-es lapon 0,6 mm rétegvastagságban. A futtatóelegy benzol-dietiléter 9 : 1, vagy chloroform—metanol 100 : 0,8 arányú keveréke. Futtatási idő: 4 óra, valamennyi lemezt az elválasztás hatásfokának növelésére kétszer futtattunk meg. A futtatóelegy elpárologtatása után a lapokat 2,7 diklórflorescein 1%-os alkoholos oldatával permeteztük be, a foltokat 344 mm-es UV fényben tettük láthatóvá. Az egyes frakciókat *Gunstone* (1965a) általunk módosított extraháló elegyével (dietiléter-metanol-5%-os  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 5 : 5 : 1) oldottuk le a gélről, a diklórfloresceint és az  $\text{AgNO}_3$ -t vizes kirázással távolítottuk el, majd az extraktumokat bepárolva az egyes frakciók mennyiségét gravimetriásan határoztuk meg.
- 3.2.1. Az ezüsttel impregnált szilikagélről nyert frakciók adott mennyiségét *Jáky* (1969) szerint hidegen átésztereztük, majd ismert mennyiségű gázkromatográfiás belső standard (metil-heptadekanoát, Applied Sciences Inc., State College, Pa., USA) hozzáadása után a zsírsavak abszolút és relatív mennyiségét gázkromatográfion határoztuk meg.
- 3.2.2. Ugyanezen triglicerid osztályok mikrogrammnyi mennyiségét *Kaufmann* és *mtsai* (1961, 1962, 1964) által kifejlesztett fordított fázisú vékonyréteg-kromatográfiás eljárással a szénatomok száma szerint választottuk el. Jellemző kromatogramot ábrázol a 4—5. sz. ábra. A feltüntetett glicerid típusok az egyes foltok fő komponenseit jelzik, a kromatográfiás technika sajátága, hogy ún. kritikus komponens párok vannak, melyek

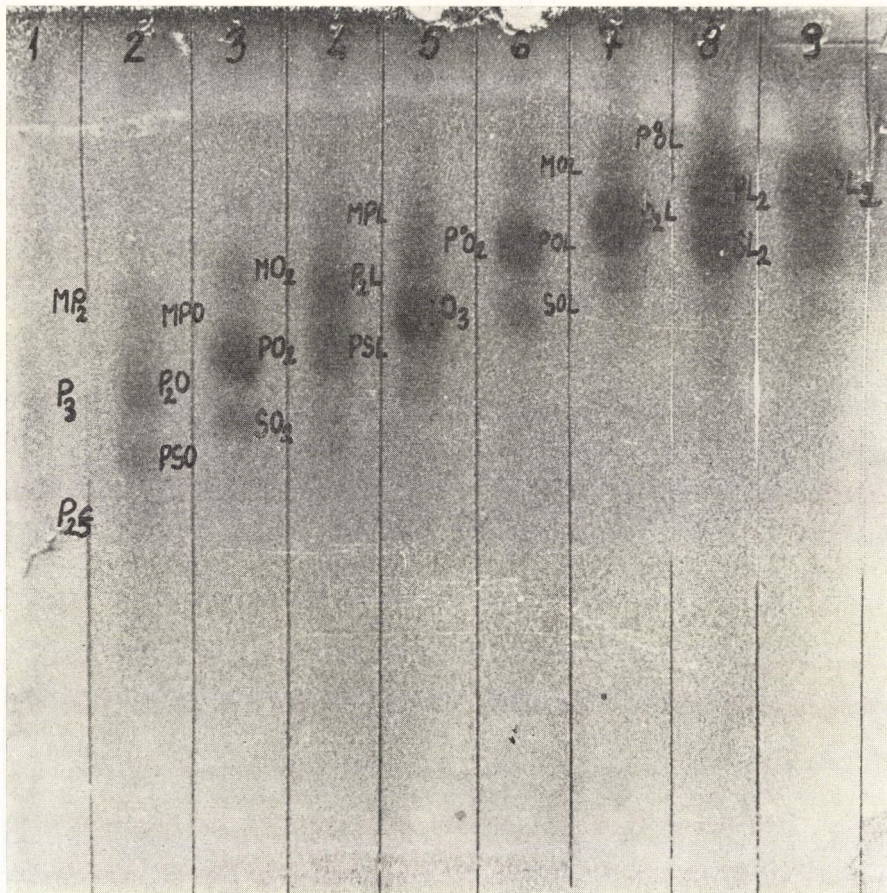


2. ábra.  $\text{AgNO}_3$  impregnált kromatográfiával elválasztott glicerid frakciók (N° 4-es zsírszövet) 1: ---; 2: --0; 3: -OO; 4: --5; L: OOO; 6: -OL; 7: ==L; 8: -LL; 9: OLL; 10: LLL (-: telített; =: telítetlen zsírsav)



3. ábra.  $\text{AgNO}_3$  frakciók, (N° 5-ös zsírszövet)





5. ábra. 3. ábrán szereplő 1–9 AgNO<sub>3</sub> frakciók fő glicerid komponensei.

bens: szilikagél GF, 3% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> tartalommal, rétegvastagság 0,3 mm. Futtatóelegy: petroléter-dietiléter 60 : 40 arányú keveréke. Jódgőzös előhívás, jelölés és lekaparás után a 2-monoglicerideket éterral vontuk ki.

3.3.2. Az izolált 2-monoglicerideket Jáky (1969) módszere szerint hidegen átésztereztük és a zsírsavösszetételt gázkromatográfiásan határoztuk meg.

4. A zsírsavösszetétel meghatározását Chrom 31 (Laboratni Pstroje, Prága, Csehszlovákia) típusú készüléken végeztük. Vivőgázként nitrogént, érzékelőként lángionizációs detektort használtunk. Az oszlop 2,00 m hosszú, 0,3 cm belső átmérőjű üvegspirál, 15% 1,4 butandiolsuccinát (Carlo Erba, Milano, Olaszország) nedvesítő fázist tartalmazó Chromosorb W 60–80 mesh (Carlo Erba, Milano, Olaszország) hordozóval töltötte. A termosztát és a mintakamra hőmérséklete 190, ill. 240 C°.

5. A csúcsok minőségi azonosítását ismert standardokból való kalibrálás után végeztük el, mennyiségi értékelést *Horning* (1964) módszerével végeztük, a részlegesen elvált csúcsok területét *Proksch és mtsai* (1969) szerint korrigáltuk.

Az emberi zsírszöveti trigliceridekben az 1%-nál nagyobb mennyiségben előforduló zsírsavak: mirisztinsav (M, 14 : 0), palmitinsav (P, 16 : 0), palmit olajsav (P<sup>o</sup>, 16 : 1), sztearinsav (S, 18 : 0), olajsav (O, 18 : 1) és linolsav (L, 18 : 2). Az ennél kisebb koncentrációban levő zsírsavakat nem vettük tekintetbe.

E hat zsírsavból felépíthető lehetséges gliceridek száma:

$$\frac{n^3 + 3n^2 + 2n}{6} = 56$$

$n$  = zsírsavak száma

A két és három savból felépített trigliceridek helyzeti izomerjeit is tekintetbe véve (pl. OOL és OLO, valamint MOL, OML, OLM), úgy a gliceridek száma:

$$\frac{n^3 + n^2}{2} = 126$$

Vizsgálataink során eredményeinket csak az 56 féle glicerid komponenst figyelembevéve számítottuk ki, megjegyezvén, hogy egy-egy glicerid típus mennyisége valamennyi helyzeti izomert magába foglalja. A 2. sz. táblázaton

2. táblázat

AgNO<sub>3</sub> — valamint fordított fázisú vékonyréteg-kromatográfia kombinációjával elválasztható triglicerid molekula típusok

AgNO <sub>3</sub> frakció szám	Rf × 100		Kettőskötés/ molekula	Molekula típus	Triglicerid osztály	Fordított fázisú elválasz- tott fontosabb egyedi gliceridek
	Kloroform 100 Metanol 0,8	Metanol 80 Etiléter 20				
1	97	90	0	TTT	TTT	MPP, PPP, PPS, PSS SSS
2	91	85	1	TTU <sub>1</sub>	TTP <sup>o</sup> TTO	PPP <sup>o</sup> , MPO, PPO, PSO, SSO
3	82	79	2	TU <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	TP <sup>o</sup> P <sup>o</sup> TP <sup>o</sup> O TOO	PP <sup>o</sup> P <sup>o</sup> , POP <sup>o</sup> , MOO, POO, SOO
4	66	73	2	TTU <sub>2</sub>	TTL	MML, MPL, PPL, MSL, PSL, SSL
5	50	65	3	U <sub>1</sub> U <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	U <sub>1</sub> U <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	P <sup>o</sup> P <sup>o</sup> P <sup>o</sup> , P <sup>o</sup> P <sup>o</sup> O, P <sup>o</sup> OO, OOO
6	32	56	3	TU <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	TP <sup>o</sup> L, TOL	MP <sup>o</sup> L, PP <sup>o</sup> L, SP <sup>o</sup> L; MOL, POL, SOL
7	26	50	4	U <sub>1</sub> U <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	U <sub>1</sub> U <sub>1</sub> L	P <sup>o</sup> P <sup>o</sup> L, P <sup>o</sup> L, OOL
8	19	42	4	TU <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	TLL	MLL, PLL, SLL
9	15	32	5	U <sub>1</sub> U <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	U <sub>1</sub> LL	P <sup>o</sup> LL, OLL
10	9	18	6	U <sub>2</sub> U <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	LLL	LLL

Jelmagyarázat: T = telített zsírsav, U<sub>1</sub> = egyszeresen, U<sub>2</sub> = kétszeresen telítetlen zsírsav, O = olajsav, L = linolsav, M = mirisztinsav, P<sup>o</sup> = palmitolajsav, P = palmitinsav, S = stearinsav

tüntettük fel a két kromatográfiás eljárással elválasztható glicerid típusokat, külön megjelölve az egyes triglicerid osztályokban levő ún. fő komponenseket.

### Eredmények

#### Zsírsvavösszetétel és stereospecifikus analízis

A 3. sz. táblázatban egy minta részletes elemzésének adatait tüntettük fel. A táblázat A sorában a triglicerid zsírsvavösszetétele szerepel, a B sorban a pancreas lipázos hidrolízis során keletkezett 2-monogliceridek összetétele látható, ez megfelel a glicerin molekula 2-es helyzetében található zsírsvavaknak. A két helyen mért értékek jelentősen eltérnek egymástól, így célszerűnek látszott a *Gunstone* (1965a) által javasolt ún. dúsulási tényezőt (DT) meghatározni valamennyi zsírsvav esetében. (3. sz. táblázat C sor.) A dúsulási tényező valamely zsírsvav koncentrációja a 2-es helyzetben (mol%-ban) osztva ugyanezen sav koncentrációjával (mol%) az össztrigliceridben. Ha e szám értéke 1-nél nagyobb, akkor adott zsírsvav 2-es helyzetben dúsul fel, ha a DT értéke valamennyi savra nézve 1,00, akkor a zsírsvavak megoszlása a glicerin molekula 3 helyén statisztikus, vagy random, ha 1-nél kisebb, akkor adott zsírsvav az 1–3 helyzetben dúsul fel. A DT értéke alapján *Mattson és mtsai* (1963) után két csoportra oszthatjuk a zsírsvavakat az I. (1–3 helyre jellemző savak) és a II. (2. helyzetre jellemző savak) kategóriára. Emberi zsírsvavetnél az I. csoportba a telített savak tartoznak (kivétel a miristinsav), a II. csoportba ez utóbbi és valamennyi telítetlen zsírsvav.

Amíg egy mintán belül a dúsulási arány jó segítséget ad az egyes savak viselkedésének megítéléséhez, az egyes minták között — éppen a zsírsvavösszetétel kismértékű változásai miatt — az összehasonlítást és így a törvényszerűségek felismerését megnehezíti. E célból *Gunstone* későbbi közleményéből (1965d) vett ún. szelektivitást adjuk meg (3. sz. táblázat, D. sor). A szelektivitás az egyes savak dúsulási arányának és az illető savra jellemző kategóriában levő össz-savmennyiség dúsulási arányának hányadosa, mint ilyen, megadja az adott zsírsvavokra jellemző I. ill. II. kategórián belüli preferencia sorrendet.

A 3. sz. táblázat E sorában megadjuk az A és B sorban levő adatokból *Coleman* (1961) eljárása alapján számított 1–3 diglicerid zsírsvavösszetételét, majd a két szóba jöhető savnál is feltüntetjük az előbb ismerttetett összehasonlító viszonzyszámokat (F, G sor).

A 4. sz. táblázatban a minták értékeinek összegzéséből nyert átlagértékeket tüntetjük fel. Az össz-triglicerid zsírsvavösszetétele megegyezik az irodalomban található értékekkel, a telített-telítetlen arány kb. 25–75 mol%. A 2-es helyzetben ez az arány kb. 10–90 mol%-ra módosul, a 2-es helyen tehát elsősorban telítetlen savak helyezkednek el, megerősítve *Mattson és Volpenheim* (1961), valamint *Brockerhoff* (1965, 1967) idevágó adatait.



3. táblázat

A zsírsavak mennyiségi megoszlása a glicerín primer és szekunder —OH csoportjain  
Egy minta részletes analízise

Érték	Zsírsav	14 : 0 M	16 : 0 P	16 : 1 P°	18 : 0 S	18 : 1 O	18 : 2 L	I. Kategória P+S	II. Kategória P°+O+L+M
A	Triglicerid (mol%)	2,1	21,3	9,7	4,4	52,2	10,2	25,8	74,2
B	2-monogl. (mol%)	3,8	8,9	13,6	1,1	60,0	12,5	10,0	90,0
C	—2— Dúsulási arány	1,8	0,41	1,4	0,25	1,14	1,22		1,21
D	—2— Szelektivitás	1,48		1,15		0,94	1,0		
E	1—3 Digl. (kalk.mol%)	1,25	27,5	7,75	6,05	48,3	9,05	33,5	66,5
F	1—3 Dúsulási arány	0,59	1,29	0,79	1,37	0,92	0,88	1,29	
G	1—3 Szelektivitás		1,00		1,06				

4. táblázat

A zsírsavak mennyiségi megoszlása a glicerín primer és szekunder —OH csoportjain  
Zsírszöveti minták átlagai ±S

Érték	Zsírsav	14 : 0 M	16 : 0 P	16 : 1 P°	18 : 0 S	18 : 1 O	18 : 2 L	I. Kategória P+S	II. Kategória P°+O+L+M
Triglicerid (mol%)		2,0	22,8	7,4	4,9	53,0	9,8	26,8	73,2
—2— Monogl. (mol%)		±0,3	±1,7	±1,3	±0,8	±4,4	±2,3	±2,3	±3,1
1—3 Diglic. (kalk. mol%)		3,6	9,9	10,2	1,7	57,0	15,5	11,5	88,2
—2— Szelektivitás		±0,2	±0,8	±2,0	±0,1	±3,0	±3,2	±1,7	±3,4
1—3 Szelektivitás		1,2	29,3	5,7	6,1	49,0	7,8	35,4	64,6
—2— Szelektivitás		±0,4	±1,9	±1,0	±0,9	±2,7	±1,9	±2,7	±3,0
1—3 Szelektivitás		1,45		1,21		0,90	1,37		1,21
		±0,03		±0,04		±0,01	±0,06		±0,02
			1,00		1,02			1,28	
			±0,01		±0,01			±0,01	

A dúsulás mértéke a II. kategória zsírsavaira nézve nem azonos, a szelektivitások alapján felállítható egy preferencia sorrend, a 2-es helyzetre jellemző zsírsavak a következők, affinitásuk a 2-es pozícióhoz a sorban egyre csökken:  $14 : 0$  (szelektivitás: 1,45)  $> 18 : 2$  (1,37)  $> 16 : 1$  (1,21)  $> 18 : 1$  (0,90.) Figyelemre méltó, hogy a miristinsav — telített mivolta dacára — a legaffinisabb a 2-es pozícióhoz. Az 1–3 helyzetre hasonló sorrendet felállítani nem lehet, a két sav szelektivitása közötti különbség elhanyagolható.

Az adatok értékelésénél felmerül a kérdés, vajon az emberi zsírszöveti trigliceridekben a 2-es helyzetű telítetlen (+ miristinsav) vagy a *Mattson és Volpenheim* (1963) által feltételezett 1–3 helyzetű telített preferencia elsődlegessége jellemző-e? Véleményünk szerint az első feltételezés valószínűbb, elsődleges 2-es helyzetű preferencia mellett szól az e helyen talált szelektivitás különbözősége, míg a maradék, 1–3 helyzeten az I. kategórián belüli statisztikus eloszlást bizonyítja az ott számított szelektivitások azonos értéke.

Ezek alapján az emberi zsírszöveti triglicerid szintézis stereospecifikus jellemzője az, hogy a rendelkezésre álló zsírsavakból a II. kategóriába tartozók a preferencia sorrendnek megfelelő érvényesüléssel vetekszenek a glicerin molekula 2. helyéért, a 2-es helyzetű acyl csoportok kialakulása után a szabadon maradó 1–3 helyzeten a maradék zsírsavak a statisztikus eloszlás törvényszerűségének megfelelően fognak elhelyezkedni.

#### A különböző felépítésű triglicerid molekulák minősége és mennyisége

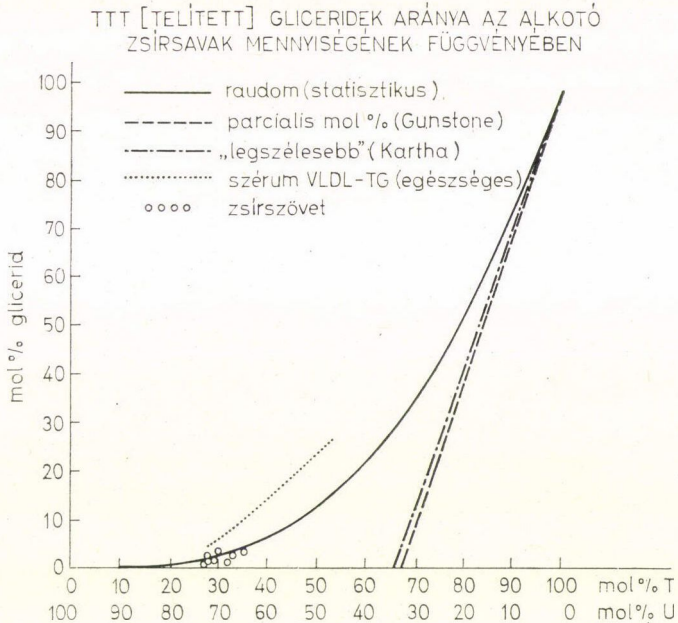
A két kromatográfiás módszer kombinációjával elválasztott 56 féle glicerid struktúra egyedi értékeit nehézkes nyomon követni, ezért ezen 56 féle molekulából 4, az alapvető glicerid típusoknak megfelelő csoportot képeztünk. A csoportok a következők: 1. TTT (mindhárom alkotó zsírsav telített), 2. TTU (monotelítetlen-ditelített), 3. TUU (monotelített-ditelítetlen), 4. UUU (tritelítetlen) felépítésű gliceridek. Mért értékeinket a zsírsav összetételből számítható háromféle hipotetikus eloszlással vetettük egybe, mint várható értékekkel.

A feltételezett és referenciaként használt eloszlástípusok a következők:

a) statisztikus vagy random eloszlás valamennyi lehetséges gliceridtípust feltételez, alapelve, hogy a glicerin molekula mindhárom hidroxilcsoportja és valamennyi zsírsav azonos aktivitású, a komponens savak minden megszorítás nélkül, tetszés szerint kombinálódnak trigliceriddé. A zsírsavak mennyiségének ismeretében a keletkező gliceridek típusa és mennyisége a valószínűségszámítás szabályainak alapján kiszámítható, a különböző szerkezetű trigliceridmolekulák mennyisége csak az alkotó zsírsavak egymáshoz viszonyított mennyiségétől függ, az eloszlás ún. tiszta mol%-os eloszlás (*Perédy* 1959), (*Vander Wal* 1960, *Gunstone* 1962, *Kaufmann* 1964). A stereospecifikus vizsgálatokból kiderült, hogy az eloszlás biztosan nem

random, ezért két, nem random eloszlással is egybevetettük eredményeinket. Így a *b*) ún. legszélesebb eloszlással (Kartha 1953), ez abból a megfigyelésből alakult ki, hogy sok zsiradék esetében a telített gliceridek mennyisége jóval kevesebb, mint ahogy az a random eloszlás alapján várható lenne.

*c*) A harmadik eloszlástípus az ún. részleges molekulaszázalékos eloszlás (Gunstone 1962). Lényege, hogy a glicerín molekula 2-es hidroxil csoportja kizárólag adott savakkal, általában telítetlen,



6. ábra

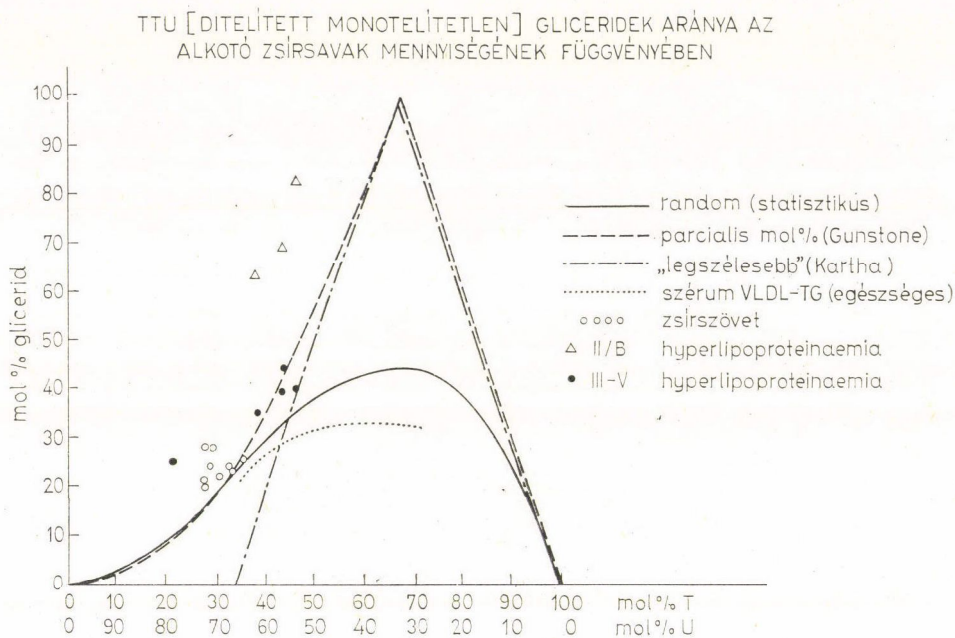
18 C-atomszámú zsírsavakkal észtereződik fel, majd az 1–3 helyen a maradék, 2. helyen nem szükséges 18 C-atomszámú telítetlen és összes többi savak foglalnak helyet. Az eloszlástípus kiszámításához tehát külön-külön kell ismerni az össztriglicerid, valamint az 2. és 1–3. helyzet zsírsavösszetételét. A stereospecifikus analízis során nyert adatok alapján hasonló jellegű felépítés várható, így ezen eloszlást is feltüntettük eredményeink mellett. A gliceridek mennyiségét az alkotó zsírsavak függvényében ábrázoljuk, az abszcisszán a minta zsírsavtartalmát, az ordinátán pedig a gliceridek mért és a különböző eloszlások alapján várt mennyiségét.

A 6. ábrán a tritelített (TTT) gliceridek mennyisége a random eloszlás görbéjéhez áll a legközelebb.

A TTU gliceridek (7. ábra) mennyisége a random és a részleges mol%-os

eloszlás alapján számított érték felett van, biztonsággal azonban nem lehet egyik típushoz sem illeszteni.

Az ábrán összehasonlításképpen feltüntettük a korábbi munkánkban (Szollár és mtsai 1972) ismertetett emberi serum very low density lipoprotein (VLDL) triglicerid hasonló értékeit is. Egészséges egyéneknél az eloszlás görbéje a random eloszláshoz hasonló, értéke azonban alacsonyabb. Jelentős eltérést találunk a Fredrickson (1967) illetve WHO (Beaumont és mtsai 1971) felosztás szerinti II/B hyperlipoproteinaemiás betegek serum VLDL-triglice-



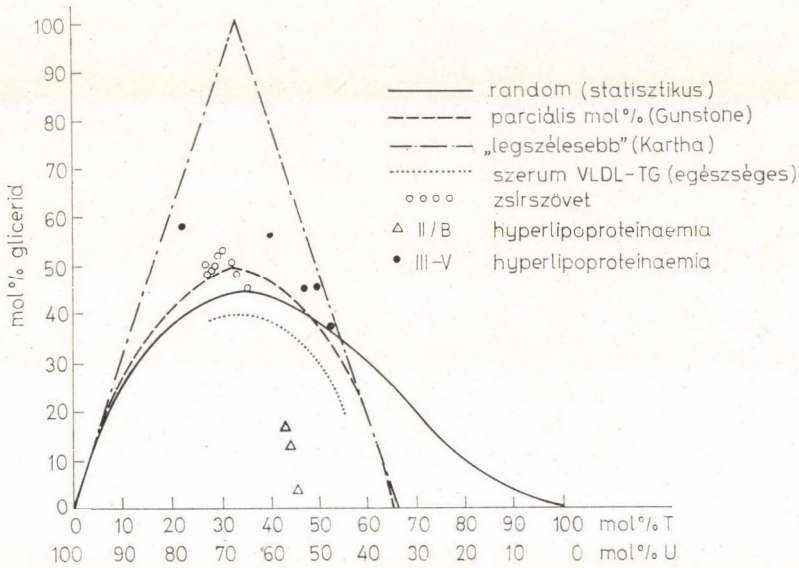
rid értékeinél, itt a TTU gliceridek mennyiségének felszaporodása okozza e betegségben a jelentős hypertrigliceridaemiát. Az előbbi felosztás szerinti III—V típusban a mért értékek mindkét mol%-os eloszlás felett vannak, és jelentősen eltérnek a II/B típusban és zsírszöveti mintákban talált értékektől.

A TUU glicerideknél (8. ábra) a zsírszöveti értékek a parcialis mol%-os eloszlás fölött, az egészséges egyének VLDL-triglicerid értéke pedig ezen eloszlás alatt helyezkedik el.

A II/B típusú hyperlipoproteinaemiában talált értékek jóval a várhatók alatt helyezkednek el, a jelenség éppen fordítottja a TTU típusnál észlelt arányeltolódásnak. A III—V. hyperlipoproteinaemias értékek itt is a két várható mol%-os eloszlás fölött vannak.

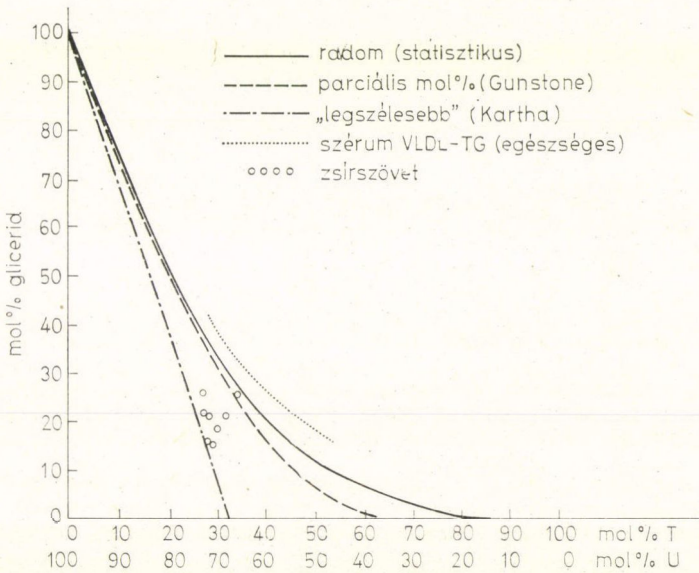
Az UUU gliceridek (9. ábra) a zsírszövetben a mol%-os értékek alatt, az egészséges egyének szérumban ezen értékek felett helyezkednek el.

TUU [MONOTELITETT DITELITETLEN] GLICERIDEK ARÁNYA AZ  
ALKOTÓ ZSÍRSAVAK MENNYISÉGÉNEK FÜGGVÉNYÉBEN



8. ábra

UUU [TELÍTETLEN] GLICERIDEK ARÁNYA AZ ALKOTÓ  
ZSÍRSAVAK MENNYISÉGÉNEK FÜGGVÉNYÉBEN



9. ábra

A következőkben a három jelentős csoport (TTU, TUU, UUU) legfontosabb komponenseit külön-külön tüntettük fel, arra keresve választ, vajon az eltolódások egyformán érintik-e az egyes csoportok olaj- és linolsavtartalmú gliceridjeit.

A 10. ábrán az olajsavtartalmú gliceridek közül a dioleomonotelitett gliceridek (—00) mennyisége a TUU csoportnak megfelelően magasabb a számítottnál, mennyisége az olajsavtartalommal egyenesen, a telített savtartalommal pedig fordítottan arányos. (Megjegyezzük, hogy „olajsav”-ként az egyformán viselkedő olaj- és palmitolajsav összegét tüntettük fel, ezért ábrázoltuk e két sav összegét az abszcisszán, ugyanígy az egyes glicerid típusok rövidítésében szereplő O jelzés a 10. és 11. ábrán olaj- és palmitolajsavat egyaránt jelent.)

A triolein (000) mennyisége az olajsav koncentrációjának növekedésével nem nő, hanem egy viszonylagosan stabil szinten (kb. 15 mol%) marad a mintegy 15% olajsavkoncentráció növekedés ellenére.

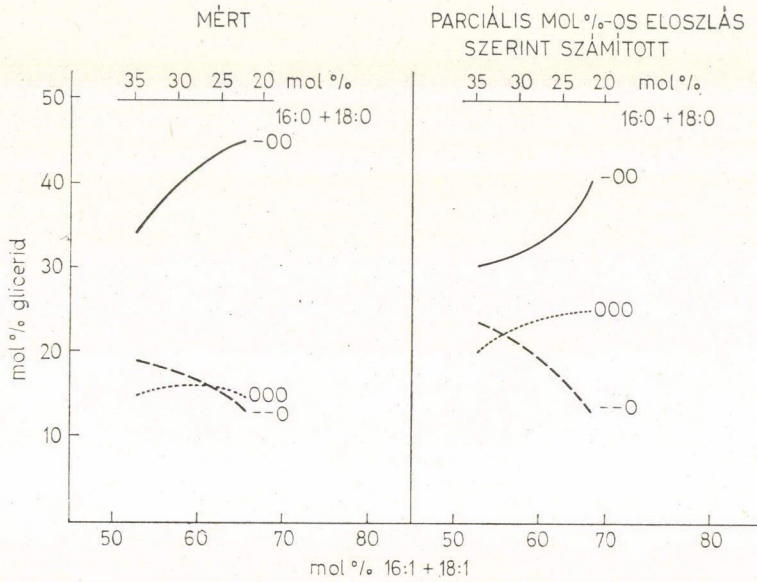
Az oleoditelitett (—O) gliceridek mennyisége a várható érték alatt helyezkedik el, a TTU csoport korábban ismertetett magasabb értékéért tehát egyéb, e csoportba sorolható gliceridek lesznek felelősek. E csoport mennyisége az olajsavkoncentrációval fordítottan, a telítettek koncentrációjával pedig egyenesen arányos.

Ugyanezen csoportok leglényegesebb linolsavat tartalmazó képviselőit vizsgálja a 11. ábra. Az UUU csoportba tartozó OOL a várható érték alatt van, lefutása megegyezik a parciális mol%-os görbével. A TUU csoportba sorolható —OL frakció mennyisége a linolsav koncentrációjával egyenesen, az olajsav koncentrációjával pedig fordítottan arányos.

A TTU csoport linolsavtartalmú —L frakciója paradox módon viselkedik, mennyisége a linolsavtartalom növekedésével csökken, az olajsav mennyiségének emelkedésével viszont nő, éppen ellenkezőleg a várható lefutással.

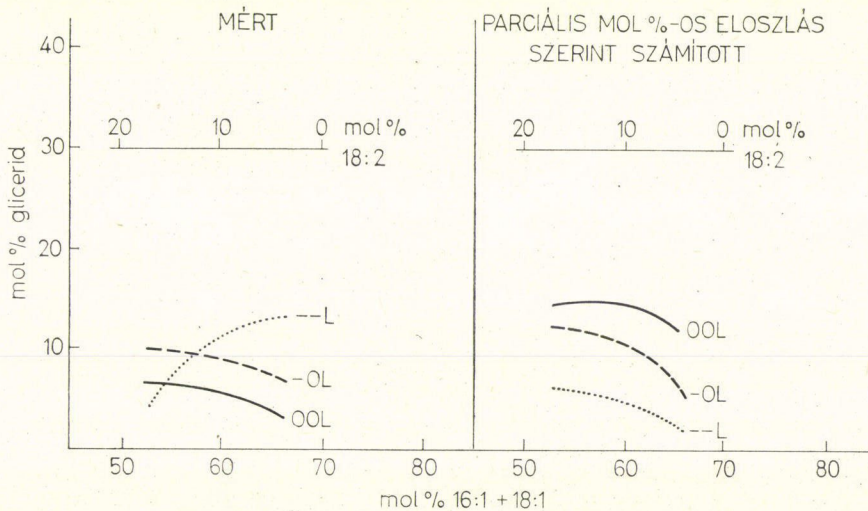
Ezen adatokat összefoglalva az eloszlás alapvető tendenciája — úgy tűnik — a kevert, telített és telítetlen savat egyaránt tartalmazó, és pedig 1 : 2 arányban tartalmazó gliceridek képzése. Ez az arány megfelel az összesírsav mennyiség hasonló arányainak. E munkahipotézis elfogadása esetén érthető, hogy az ilyen felállítású gliceridek (—00; —OL) mennyisége a számított körül, vagy fölött, egyebeké (—O; 000; OOL) pedig inkább a számított alatt van. Az 1 : 2 arányú gliceridekkel egyenértékűnek látszik — legalábbis alacsony linoltartalom mellett — az —L csoport is. A magasabb linoltartalomnál észlelt —L csökkenés magyarázata lehet, hogy a linolsav mennyiségének növekedése a telítettek változatlan aránya mellett az olajsav kárára történik úgy, hogy a linol + olajsav össz mennyisége állandó, kb. 60% marad (l. 4. sz. táblázat). Ez esetben a telítettek száma viszonylagosan kevés a linollal való társuláshoz, így a „fölösleg” linolsav az —OL frakcióban —

OLAJSAV-TARTALMÚ GLICERIDEK MENNYISÉGE  
A ZSÍRSÁVKONCENTRÁCIÓ FÜGGVÉNYÉBEN



10. ábra

LINOLSAV-TARTALMÚ GLICERIDEK MENNYISÉGE A  
ZSÍRSÁVKONCENTRÁCIÓ FÜGGVÉNYÉBEN



11. ábra

melynek egyes molekuláihoz csak egy telített sav kell — fog feldúsulni. Ez a mechanizmus egyben lehetővé teszi, hogy a csökkent olajsav-tartalom ellenére a kívánatosnak tűnő 1 : 2 szerkezetű túlsúlyt az —OO csökkenése mellett az —OL egyidejű növekedése helyreállítsa. Ugyanilyen elv alapján, csak ennek fordítottjaként magyarázható az olajsav mennyiségének növekedésével csökkenő —OL és emelkedő —OO mennyisége.

### Megbeszélés

Amikor *Chevreul* 1823-ban felfedezte, hogy a trigliceridek tulajdonképpen a glicerinnek mint háromértékű alkoholnak hosszúláncú zsírsavakkal képzett észterei, úgy gondolta, hogy a zsiradékokban előforduló triglicerid molekulák mindhárom acyl csoportja azonos zsírsavból származik, ez tekinthető tehát az első eloszlási teóriának, az ún. minimális eloszlásnak (cit. *Kaufmann* 1964).

A kevert savú gliceridek lehetőségét a múlt század közepén *Berthelot* veti fel (cit. *Vander Wal* 1960), e gondolat első pontos megfogalmazása volt *Collin* és *Hilditch* 1929-ben leírt ún. egyenletes eloszlás (even distribution) elmélete (*Collin* és *Hilditch* 1929). Lényege az, hogy a természetben előforduló zsiradékok a lehető legkisebb mennyiségben alkotnak azonos savat tartalmazó és ezzel párhuzamosan nagy mennyiségben kevert savtartalmú triglicerideket.

Az egyenletes eloszlás matematikai formuláját *Hilditch* összefoglaló műve (*Hilditch* 1956) adja meg, az elmélet kritikai értékelését *Kaufmann* (1964) tárgyalja, szerinte az egyenletes eloszlás csak a természet nagyon kis területére érvényes.

Amíg az előző elképzelések csak korlátozott számú gliceridek képzését engedték meg, úgy a statisztikus (random) eloszlás valamennyi szóba jöhető típust feltételez. Az elv általános érvényességét cáfolta, hogy a három telített savat tartalmazó gliceridek mért mennyisége a legtöbb esetben a várható értéknél lényegesen kevesebb, ebből a tényből tapasztalati úton jutott el *Kartha* (1953) a korlátozott statisztikus eloszláshoz („legszelesebb”) melynek megadja számítási formuláit is. Még tovább gyengíti a random elv általános érvényét, hogy sok zsírféleségnél az enzimatisz hidrolízissel nyert 2-monogliceridek zsírsavösszetétele jelentősen eltér a teljes zsiradék zsírsavösszetételétől, cáfolva a hidroxil csoportok és/vagy a zsírsavak azonos aktivitását (*Savary*, *Glanzy* és *Desnuelle* 1957, *Mattson* és *Volpenheim* 1961).

A szeparációs módszerek fejlődése és a *Savary* és *Desnuelle* (1956) valamint *Mattson* és *Beck* (1956) által leírt pancreas-lipázos (E. C. 1. 1. 1.) hidrolízis, — mely során az enzim az 1—3-as helyen levő zsírsavat szelektíven bontja, így a keletkezett 2-monogliceridek zsírsavösszetétele azonos az eredeti



triglicerid 2-es helyzetben levő zsírsavainak mennyiségével — voltak azok a mérföldkövek, melyek az eddigi eloszlások módosításához jelentős lökést adtak. Az 1—3-as és 2-es hidroxil csoportok eltérő aktivitásának feltételezésével dolgozza ki koncepcióját *Vander Wal* (1960a, b) és így jut el a 2; 1—3. eloszlástípushoz, ahol is a 2-es helyzet determinált, az 1—3. helyen random eloszlás érvényesül. Ugyanilyen eredményre jut *Coleman* (1961), a módszer aritmetikai kalkulációját egyszerűsítve. Mindkét szerző pancreaslipázos vizsgálat alapján nagyszámú növényi és néhány állati zsiradékot igazolta, hogy módszerükkel jobb közelítést lehet elérni, mint a korábbiakkal.

Az említett szerzők által tapasztalati úton nyert eloszlásokat mintegy integrálja és elméleti alapra helyezi *Gunstone* (1962) összefoglaló tanulmánya. Az acyl csoport disztribúció háromféle elképzelését adja meg, melyek közül a növényi olajok túlnyomó részére az általa 1-es teóriának nevezett érvényes: a glicerid molekula 2-hidroxil csoportja telítetlen 18 C-atomszámú zsírsavval észtereződik fel. Az 1-es és 3-as hidroxil csoportok a maradék, 2—helyezeten nem szükséges C<sub>18</sub> telítetlen és az összes többi savval észtereződnek. Ezen megszorításon túl a 2. és 1—3. helyre specifikus zsírsavak megoszlása a „saját” pozícióban statisztikus. Nagy sorozatban végzett vizsgálataival igazolta ezen elv majdnem általános érvényességét, sőt, későbbi közleményeiben (*Gunstone* 1965a, b, c, d; 1967a, b) további finomításokat eszközölt, kimutatva, hogy a 2-es pozícióban az eloszlás nem minden esetben random, hanem a C<sub>18</sub>-as telítetlen savak között bizonyos kompetíció alakul ki; a preferencia sorrendje növényolajok java részénél: linol, olaj, egyéb 18 C-atomszámú telítetlenek. A *Gunstone* munkacsoport mellett a növényi olajokra nézve igazolta az elv érvényességét *Jurriens* és *Knoessen* (1965), de egzotikus, trópusi fajták egy részének szerkezeti vizsgálatánál jó néhány eltérést is találtak (*Subbaram* és *Young* 1967).

Az állati zsiradékok nem alkotnak egységes csoportot. A rendelkezésre álló adatokat pancreas lipázos hidrolízis útján számították. Nem random eloszlás jellemző a kutya és a patkány zsírszövetére (*Mattson* és *Lutton* 1958), statisztikus eloszlást mutat azonban a kacsazsiradék (*Brockerhoff*, 1967), a 2-hely C<sub>18</sub> telítetlen affinitása jellemző (a növényi olajokhoz hasonlóan) a galambra, tyúkra és fácánra (*Coleman*, 1961). A halak egy részének zsírszövege a többszörösen telítetlen 2-helyzetű dúsulását mutatja, így a tőkehal, a makrela, míg ugyanezen savak a cethalnál az 1—3 helyzetben dúsulnak fel (*Bottino* 1970).

A ló, szarvasmarha és a birka zsírszövege annyiban hasonlít a növényolajokéhoz, hogy az eloszlás nem random, az 1—3 hely szelektíve telített savakkal észtereződik fel (*Mattson* és *Volpenheim*, 1961). Eltérő szerkezetű a disznózsír, az egyetlen ismert zsiradék, amely a 2-helyzetben telített, ezen belül stearin  $\geq$  palmitin affinitással rendelkezik (*Mattson* és *Lutton*, 1968, *Brockerhoff*, 1967).

Vizsgálataink alapján az emberi zsírszövet eloszlása biztosan nem random.

Ezt bizonyítja a stereospecifikus analízis során nyert 2-monoglicerid, 1–2 diglicerid és az özsztriglicerid eltérő zsírsavösszetétele. A triglicerid szintézis stereospecifikus törvényszerűsége hasonlít a növényolajoknál *Gunstone* (1965 a, b, c, d; 1967 a, b) által leírt törvényszerűségekhez, a 2. helyzetre itt is 18 C-atomszámú telítetlen túlsúly jellemző, míg azonban ott kizárólag ezek a savak (99%-ban) foglalnak helyet, addig az emberi zsírszövetnél mintegy 10%-ban telített savak is találhatóak a glicerin középső hidroxil csoportján. A mirisztinsav furcsa, középső elhelyezkedése mintegy fordítottja a növényolajoknál is észleltnek, ott azonban a hosszabb láncú telítetlen savak (20 : 1, 22 : 1), a többi, 18-as C-atomszámú telítetlen savtól eltérően az 1–3 helyzetben dúsulnak fel, jelen esetben pedig az inkább 1–3 preferenciájú telített savak közül a rövidszénláncú (14 : 0) a szokatlan 2-es pozícióban szaporodik fel. E jelenség okát — mely a növényi olajoknál sem ismeretes — kielégítően megmagyarázni nem tudjuk.

Az egyedi gliceridek minőségének és mennyiségének meghatározása lehetővé teszi néhány általános következtetés levonását:

1. A májban történő VLDL-TG és a zsírszöveti depot-triglicerid szintézise egymástól eltérő törvényszerűségek szerint történik.

2. A két ismertett hyperlipoproteinamia-csoport eloszlása eltér egymástól és az egészségeseknél észlelt eloszlástól is. Az eltérések okának felderítése jelenlegi vizsgálataink célja.

3. A zsírszöveti eloszlásokat összehasonlítva az irodalmi „referencia” eloszlásokkal bizonyos eltolódások figyelhetők meg, az eltolódások magyarázatára több lehetőség kínálkozik:

a) analitikai hibák véletlen halmozódása; ezt — bár az alacsony eset-szám miatt nem zárható ki teljesen — nem tartjuk valószínűnek, mert:

I. az  $\text{AgNO}_3$  impregnált lapról történt TG visszanyerés a módosított *Gunstone* extrahálással kb. 95%-os határfokú,

II. az egyes  $\text{AgNO}_3$  frakciók tisztasága is hasonló, amit a gázkromatográfiás zsírsavösszetétel vizsgálatával ellenőriztünk, és a fordított fázisú kromatográfia is igazol;

b) az egyes frakciók mennyiségének alakulása esetleges, nem írható le egyértelmű törvényszerűséggel, vagy — ami ezzel elméletileg nem analóg, de eredményeinket éppúgy magyarázhatja — a strukturális felépítés törvényszerűségei egyedenként másképp és másként determináltak.

c) Törvényszerűség van, azonban eltérő jellegű az általunk feltételezett és összehasonlítási alapul szolgáló eloszlástípusoktól. Az eltérés lehet:

I. általános, tehát a glicerid típusok valamennyi csoportjára jellemző, az összefüggések felismerése és tapasztalati formákba öntése csak nagyobb esetszám alapján lehetséges;

II. nem általános: a különböző szerkezetű glicerid csoportokra más és más jellegű eloszlás-típus érvényes, vagyis több glicerid-pool létezik, melyek

strukturális felépítése más és más elveket követ, eredményeink ezek eredői lennének, felismerésük a poolok ismerete nélkül nehéz.

Véleményünk szerint — melyet az egyes gliceridfrakciók mennyisége és az alkotó savak koncentrációja közötti, a korábbiakban részletesen tárgyalt összefüggésből valószínűsítünk — a zsírszöveti trigliceridek strukturális felépítése is parciális molekulaszázalékos eloszlás elv szerint történik, az eloszlás parciálitásának kritériumai azonban nem azonosak a növényolajoknál általánosan elterjedt korlátozásokkal.

Az emberi zsírszövetre jellemző korlátozás pontos részleteit, a zsírsavösszetételből való kiszámíthatóság képleteit adataink kis száma és a minták relatíve szűk határok között mozgó zsírsavösszetétele miatt megadni nem tudjuk, e feladat — az általános törvényszerűségek tisztázása után — további vizsgálatokat igényel.

Az eloszlás ilyen jellegének biológiai célszerűsége e munka alapján csak feltételezések tárgya lehet. Annyi bizonyos, hogy adott TG keverék legstabilabb állapota a tiszta molekulaszázalékos elv alapján történő eloszlás, más jellegű egyensúly fenntartása energiát igénylő folyamat. A célszerűség tekintetében felmerülhet valamely, a szervezet számára a „kívánalomnak” megfelelő fizikai és kémiai jellemző (pl. halmazállapot, hőszigetelő képesség, energiatartalom, intracellularis stabilitás stb.) állandó szinten tartása, mely ezen, vagy ehhez hasonló, bizonyos értelemben „önreguláló” eloszlástípusnak megfelelően a fiziológiás határok között változó zsírsavösszetétel ellenére is biztosítani tudja a zsírszövet valamely, meghatározó fizikai és/vagy kémiai jellemzőinek állandóságát.

### Összefoglalás

Szerző analitikai módszerekkel, különböző vékonyréteg-kromatográfiás eljárásokkal és gázkromatográfiás módszerrel meghatározta az emberi zsírszövet zsírsavösszetételét, a zsírsavak helyzeti eloszlását a glicerin molekula primer és szekunder hidroxil csoportjain, valamint az ezekből alkotott glicerid molekulatípusok minőségét és mennyiségét. Eredményeit az irodalomban ismert eloszlástípusokhoz hasonlította. Megállapította, hogy az emberi zsírszövet TG szerkezetére is parciális jellegű molekulaszázalékos eloszlás jellemző, az ilyen jellegű parciálitás pontos matematikai formulázása azonban még további kutatásokat igényel.

### IRODALOM

- Beaumont, J. L.: WHO Bulletin **10**, 891 (1971).  
 Bottino, N. R.: J. Lipid Res. **12**, 24 (1971).  
 Brockerhoff, H.: Arch. Biochem. Biophys. **110**, 586 (1965).  
 Brockerhoff, H.: Comp. Biochem. Physiol. **19**, 1 (1966).  
 Brockerhoff, H. és Ackman, R. G.: J. Lip. Res. **3**, 661 (1967).  
 Coleman, M. H.: J. Am. Oil. Chem. Soc. **38**, 685 (1961).

- Collin, G. és Hilditch, T. P.: *Biochem J.* **23**, 1273 (1929).  
Fredrickson, D. S. *New Engl. J. Med.* **276**, 34, 94, 148, 215, 273 (1967).  
Gunstone, F. D.: *Chem. Ind.* 1214 (1962).  
Gunstone, F. D.: *J. Chem. Soc.* **47**, 319 (1965a).  
Gunstone, F. D. és Padley, F. B.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **42**, 957 (1965b).  
Gunstone, F. D.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **42**, 961 (1965 c).  
Gunstone, F. D.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **42**, 965 (1965 d).  
Gunstone, F. D. és Padley, F. B.: *Chem. Phys. Lipids*, **1**, 110 (1967 a).  
Gunstone, F. D. és Padley, F. B.: *Chem. Phys. Lipids*, **1**, 429 (1967 b).  
Hilditch, T. P.: *The Chemical Constitution of Natural Fats*, Chapman and Hall, London (1966).  
Horning, E. C.: *J. Lipid Res.*: **5**, 20 (1964).  
Jáky, M.: *Élelmiszervizsgálati közlemények*, **15**, 217 (1969).  
Jurriens, G. és Knoessen, A. C.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **42**, 9 (1965).  
Kartha, A. R. S.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **30**, 326 (1953).  
Kaufmann, H. P.: *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **63**, 807 (1961).  
Kaufmann, H. P.: *F. S. A.* **64**, 1 (1962).  
Kaufmann, H. P. és Wessels, H.: *F. S. A.* **66**, 13 (1964).  
Luddy, F. E.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **41**, 693 (1964).  
Mangold, H. K.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **38**, 708 (1961).  
Mattson, F. H. és Beck, L. W.: *J. Biol. Chem.* **214**, 115 (1955).  
Mattson, F. H. és Lutton, E. S.: *J. Biol. Chem.* **233**, 868 (1958).  
Mattson, F. H. és Volpenheim, R. A.: *J. Biol. Chem.* **236**, 1891 (1961).  
Mattson, F. H. és Volpenheim, R. A.: *J. Lipid Res.* **4**, 392 (1963).  
Newman, H. A.: *Clin. Chem.* **18**, 290 (1972).  
Perédy, J.: *Növényolaj és Házt. Vegyipari Kut. Int. Évkönyve*, 381 (1959).  
Proksch, E.: *J. Chromatographic Sc.* **7**, 473 (1969).  
Savary, P. és Desnuelle, P.: *Biochim et Biophys. Acta* **21**, 349 (1956).  
Savary, P.: *Biochim. et Biophys. Acta* **24**, 414 (1957).  
Soeters, C. J.: *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **72**, 18 (1970).  
Szollár, L.: *MÉT XXXVIII. Vándorgyűlése, Előadáskivonatok* 211, Budapest (1972).  
Subbaram, M. R. és Youngs, C. G.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **44**, 425 (1967).  
Thomas, A. E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **42**, 985 (1965).  
Vander Wal, R. J.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **37**, 595 (1960 a).  
Vander Wal, R. J.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **37**, 18 (1960 b).  
Wessels, H. és Rajagopal, N. S.: *F. S. A.*, **71**, 543 (1969).