



# Statens Husdyrbrugsforsøg 1987

## Meddelelse

8. MAJ

NR. 660

### Bestemmelse af linolsyrebehov til slagtesvin: Skeletmuskelmitokondriefunktion som responsfaktor

*Kirsten Christensen  
Afdelingen for dyrefysiologi og biokemi,  
Statens Husdyrbrugsforsøg*

Grise fravænnet ved 5-6 uger blev fodret gennem vækstperioden med et fedtfattigt foder baseret enten på et stivelses- eller glukoseholdigt grundfoder tilsat stigende mængder sojaolie som linolsyrekilde, således at foderet indeholdt fra 0,04 til 2,7% af bruttoenergien (GE%) som linolsyre. Mitokondrier blev isoleret fra den lange rygmuskel (m. long. dorsi). Grisenes linolsyrestatus blev udtrykt ved forholdet mellem eicosatriensyren 20:3n-9 og arakidonsyren 20:4n-6 (20:3/20:4) i mitokondriernes total lipid. Mitokondriernes evne til at danne ATP blev undersøgt med forskellige substrater.

Ved anvendelse af det stivelsesholdige foder gennem vækstperioden 10-95 kg blev behovet for linolsyre med de anvendte reponsfaktorer fastlagt til 0,7 GE% (6 g linolsyre/kg foder) svarende til 0,9% af foderets omsættelige energi. Ved anvendelse af et glukoseholdigt foder var behovet for linolsyre større, men behovet for hele vækstperioden kunne ikke fastlægges i nærværende forsøg.

#### Indledning

I 577. beretning fra Statens Husdyrbrugsforsøg blev det konkluderet, at behovet for linolsyre (18:2n-6) til sikring af maksimale niveauer for daglig tilvækst, foderudnyttelse, fordøjelighed af næringsstoffer samt protein- og energiomsætning hos svin fra fravæning ved 5 uger til slagtning ved 90-100 kg levendevægt var 0,2 GE% svarende til 0,26% af foderets omsættelige energi. Til sammenligning indeholder et foder bestående af byg og en fedtfattig proteinkilde som f.eks. sojaskrå 2-3 GE% linolsyre.

Fedtsyresammensætningen af plasma- og galdelipider fra nogle af grisene viste imidlertid, at behovet for linolsyre til andre biologiske funktioner sandsynligvis var større end 0,2 GE%.

Mitokondrier er subcellulære strukturer, der har to membraner. 70-90% af mitokondrielipiderne er fosforlipider, som har et højt indhold af essentielle fedtsyrer. Ved mangel på linolsyre er det hos rotter fundet, at varmeproduktionen stiger. Dette er sat i forbindelse med nedsat dannelse af ATP (adenosintrifosfat) som følge af afkobling af den oxidative fosforylering, den pro-

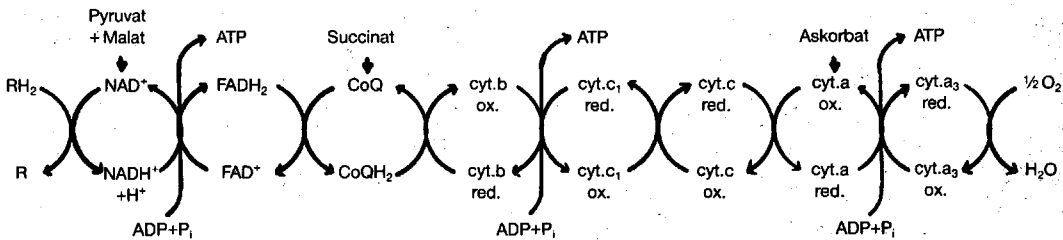


Fig. 1. Næringsstofferne oxideres via Krebs' cyklus og respirationskæden til  $CO_2 + H_2O + ATP$ . Teoretisk set medfører oxidation af  $\alpha$ -ketoglutarat dannelse af 4 ATP for hvert atom ilt, der optages ( $ADO/O=4$ ), idet der dannes 1 ATP i Krebs' cyklus og 3 ATP i respirationskæden. Oxidation af pyruvat + malat giver som vist maksimalt 3 ATP, succinat 2 ATP og askorbat 1 ATP og tilsvarende  $ADP/O$  i forhold på henholdsvis 3, 2 og 1.

ces, hvorved ADP (adenosindifosfat) + fosforsyre ( $P_i$ ) bliver til ATP, som foregår i respirationskæden i mitokondriernes indermembran (figur 1).

Formålet med nærværende forsøg var at undersøge linolsyretilførsels betydning for iltoptagelsen og dannelsen af ATP i mitokondrier fra skeletmuskulaturen. Iltoptagelsen i skeletmuskelmitokondrierne udgør ca. 20% af den totale iltoptagelse i den hvilende organisme. Følgende resultater er et sammendrag af alle de undersøgelser, der har været udført, hvoraf nogle er publiceret (Christensen, 1987).

### Materiale og metoder

Undersøgelserne omfattede ialt 50 halothan negative grise af dansk landrace, 24 sogrise og 26 galte fravænnede ved 5-6 uger og udvalgt fra soens 3-5 kuld og fra kuld med 12-16 grise. Af disse grise var de 46 de samme som indgik i 577. beretning fra Statens Husdyrbrugsforsøg, medens de resterende 4 var kuldøskende til grisene i den ene forsøgsserie (serie C). De fik en kommerciel svinefoderblanding og blev kun anvendt til mitokondrieundersøgelserne. Forsøgsplanen fremgår af tabel 1.

Grundfoderet var baseret enten på glukose eller stivelse som energikilde som anført i tabel 2. Sojaolie blev anvendt som linolsyrekilde. Grisene fik forskellige linolsyrekoncentrationer i foderet

Tabel 1. Forsøgsdyrenes fordeling på fodertype, legemsvægt samt forsøgsperiodens længde

| Serie nr.              | antal grise | Vægt (kg) ved |        | Dage i forsøg |
|------------------------|-------------|---------------|--------|---------------|
|                        |             | Start         | Biopsi |               |
| <i>Stivelsesfoder:</i> |             |               |        |               |
| C                      | 4           | 25            | 50     | 46            |
| E                      | 6           | 14            | 89     | 115           |
| G                      | 12          | 16            | 94     | 113           |
| H                      | 12          | 14            | 93     | 124           |
| <i>Glukosefoder:</i>   |             |               |        |               |
| C                      | 8           | 25            | 50     | 46            |
| D                      | 8           | 10            | 40     | 58            |

varierende fra mangel til optimalt niveau vurderet ud fra plasmalipidernes fedtsyresammensætning i indledende forsøg. Det blev tilstræbt at fodre grisene, så de fik samme daglige mængder energi, protein, vitaminer og mineraler i henhold til legemsvægt og gældende normer. Grisene og deres fodring er detaljeret beskrevet i 577. beretning fra Statens Husdyrbrugsforsøg.

Skeletmuskulaturen blev udopereret fra den lange rygmuskel (m.long.dorsi) og mitokondrier isoleret ved inkubation med et proteolytisk enzym (Nagarse), homogenisering og differentiell centrifugering (Christensen, 1987).

I serie C, D og E blev grisene aflivet umiddelbart efter, i serie G og H ca. 3 uger efter operationen. Mitokondriernes respirationsevne blev un-

**Tabel 2. Grundfoderets sammensætning (%)**

| Bestanddele                           | Foder   |          |
|---------------------------------------|---------|----------|
|                                       | Glukose | Stivelse |
| Glukose . . . . .                     | 69,0    | —        |
| Majsstivelse . . . . .                | —       | 20,0     |
| Kartoffelstivelse . . . . .           | —       | 20,0     |
| Tapiokekamel . . . . .                | —       | 30,0     |
| Kasein . . . . .                      | 20,0    | 20,0     |
| Savsmuld . . . . .                    | 5,0     | 5,0      |
| Min.-vit.blanding . . . . .           | 6,0     | 5,0      |
| Bruttoenergi, MJ/kg . . . . .         | 14,92   | 15,82    |
| Linolsyre, % af energi . . . . .      | 0,04    | 0,2      |
| Fordøjelighed af tørstof, % . . . . . | 93      | 88       |

dersøgt in vitro ved anvendelse af følgende substrater: Pyruvat+malat, succinat i nærværelse af rotenon,  $\alpha$ -ketoglutarat samt askorbat+TMPD (trimethylphenylendiamin). Derved skulle det være muligt at undersøge eventuelle brist i respirationskædens forskellige trin som følge af linolsyretilførslen (se figur 1).

Isoleringsprocedurer og respirationsbetingelser er udførligt beskrevet (Christensen, 1987).

Total lipid blev isoleret fra mitokondrierne og fedtsyresammensætningen bestemt ved gaskromatografi med heptadecansyre (17:0) som intern standard.

### Resultater og diskussion

I ovennævnte publikation er resultaterne behandlet inden for forsøgsserier, medens de her er behandlet i relation til 20:3/20:4 i mitokondrielipiderne inden for fodertype. Et 20:3/20:4 i vævslipider på 0,4 eller mere angiver essentiel fedtsyremangel (Holman, 1968).

Muskelmitokondriernes linolsyrestatus var i høj grad påvirket af fodertypen som vist i figur 2. Glukosefoderet, der blev givet i kortere tid, gav højere 20:3/20:4 værdier end stivelsesfoderet ved samme linolsyreindtag. Det ses også, at grisenes alder ved forsøgets start havde betydning. Jo yngre grisene var ved forsøgets begyndelse, desto hurtigere blev deres væv tømt for linolsyre. For stivelsesfoderets vedkommende var der en skarp stigning i 20:3/20:4 ved et linolsyreindtag på ca. 0,7 GE%.

Den totale ATP syntese i mitokondrierne afhænger dels af, hvor hurtigt iltoptagelsen foregår (stofskiftet), og dels af hvor effektivt fosforyleringen er. I tabel 3 er ATP syntesen med samtlige substrater anført, og materialet er inddelt i henhold til 20:3/20:4 i muskelmitokondriernes total lipid uanset fodertype og tidsinterval.

I alle tilfælde var ATP-syntesen lavere hos de grise, der manglede linolsyre (20:3/20:4  $\geq$  0,35) end hos de grise, der fik tilstrækkeligt med linolsyre (20:3/20:4 < 0,35). Årsagen hertil var ikke den samme i alle tilfælde. Iltoptagelsen var generelt lavere med alle fire substrater, for succinats vedkommende var der tillige tale om en mindre effektiv fosforylering (lavere ADP/O) ved de laveste linolsyreindtag i glukosefoderet. Muskelmitokondriernes funktionsevne synes at være særligt påvirket af linolsyretilførslen ved FAD-CoQ

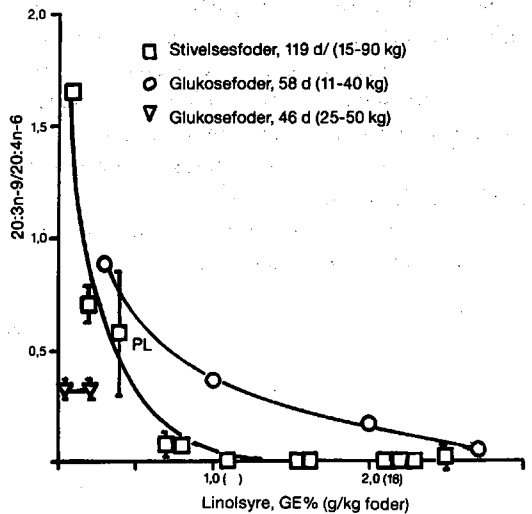


Fig. 2. 20:3n-9/20:4n-6 i total lipid fra skeletmuskelmitokondrier fra grise fodret med forskellige linolsyre koncentrationer (GE%=% af bruttoenergi) og forskelligt grundfoder gennem vækstperioden. Gns.  $\pm$  SD. PL=Fosforlipid (n=6).

**Tabel 3. ATP-syntese i skeletmuskelmitokondrier (nmol/min/mg protein)**

| EFA-status<br>20:3n-9/20:4n-6 | Mangel<br>0,35 |            | Optimal<br><0,35 |            | Signifikans<br>niveau |
|-------------------------------|----------------|------------|------------------|------------|-----------------------|
|                               | n              | Gns. ± SEM | n                | Gns. ± SEM |                       |
| Substrat                      |                |            |                  |            |                       |
| α-ketoglutarat                | 12             | 165 ± 16   | 8                | 250 ± 26   | *                     |
| Pyruvat+malat                 | 17             | 428 ± 23   | 33               | 470 ± 22   | NS                    |
| Succinat                      | 17             | 245 ± 20   | 33               | 357 ± 20   | ***                   |
| Askorbat                      | 12             | 256 ± 13   | 10               | 276 ± 22   | NS                    |

\* P≤0,05, \*\* P≤0,01, \*\*\* P≤0,001, NS P>0,05.

forbindelsen i respirationskæden (smlg. figur 1), medens musklernes stofskifte generelt synes at være nedsat som følge af eller adaptation til den lavere linolsyretilførsel. Som det fremgår af tabel 4 er korrelationerne mellem essentiel fedtsyrestatus udtrykt ved 20:3/20:4 i mitokondrielipiderne og nogle vigtige funktionsparametre generelt negative, men effekten af den manglende linolsyretilførsel er større, når der fodres med et glukoseholdigt end med et stivelsesholdigt foder. Undersøgelserne tyder på, at muskelmitokondrier er påvirkelige af essentiel fedtsyrestatus, og som det vil fremgå af følgende meddelelse, er muskelmitokondrier mere påvirkelige af essentiel fedtsyrestatus end lever- og hjertemitokondrier.

**Tabel 4. Korrelationer (r) mellem nogle respirationsparametre og essentiel fedtsyrestatus målt ved 20:3/20:4 i total lipid i mitokondrier isoleret fra skeletmuskulaturen. Succinat som substrat**

| Foder              | Stivelse | Glukose  |
|--------------------|----------|----------|
| <i>Antal grise</i> | 34       | 16       |
| Iltoptagelse       | -0,15    | -0,68**  |
| RCI                | -0,29    | -0,40    |
| ADP/O              | -0,19    | -0,63**  |
| ATP                | -0,21    | -0,75*** |

\*\* , \*\*\* jvf. tabel 3.

RCI = Respiratorisk Kontrol Index (udtryk for hvor godt respirationskæden fungerer i de isolerede mitokondrier).

ADP/O = Fodforyleringesevne.

ATP = Syntetiseret ATP (nmol/min/mg protein).

#### Referencer

- Christensen, K. 1985: Bestemmelse af linolsyrebehov til slagtesvin. 577. beretning fra Statens Husdyrbrugsforsøg, 158 p.
- Christensen, K. 1987: Z. Tierphysiol., Tierernähr. u. Futtermittelkde. (under trykning).
- Holman, R. T. 1960: J. Nutr. 70, pp 405-410.