

Az OTKA D48417 kutatási szerződés hároméves időszakra három, a madarak zsírsav anyagcseréjével foglalkozó résztémát tartalmaz a 2004 – 2007 kutatási terminusra. Ezek a munkaterv szerint az alábbiak:

1. A vedlés zsír anyagcseréjének komplex vizsgálata tojótyúkban (2004-2005)
2. Az intenzív növekedés vázizom lipidekre gyakorolt hatásának elemzése pulykában (2005-2006)
3. A szívizom membrán foszfolipidek interspecifikus eltéréseinek jellemzése baromfifajokban (2006-2007)

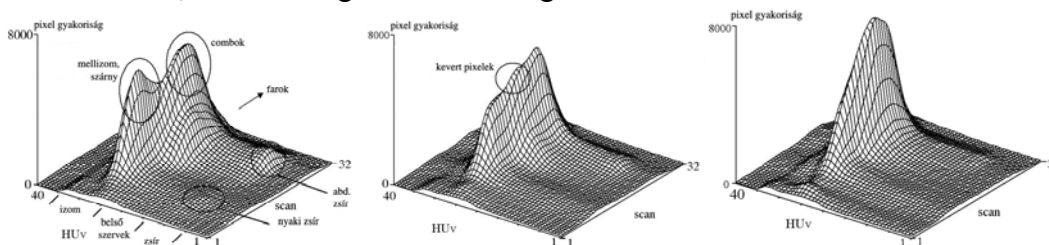
A három résztéma kidolgozása a szerződésben foglaltak szerint valósult meg, attól sem téma, sem időzítés tekintetében eltérés nem történt. Az elért eredményeket a témacímeknek megfelelő bontásban foglaltam össze. A három év állatkísérletes munkáját a Somogy Megyei Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás a 1151/006/SOM/2005 ügyiratszám alatt engedélyezte.

1. A vedlés zsír anyagcseréjének komplex vizsgálata tojótyúkban (2004-2005)

Kísérletünk célja nemcsak a vedletés, mint élettani folyamat részletes megismerése volt, hanem az Európai Unió által támogatott ún. „alternatív vedletési módszerek” kidolgozásához is adatokat kívántunk biztosítani.

A kísérletben Hy-Line Brown tyúkokat vizsgáltunk, 12 napos teljes takarmánymegvonásos kezelés során. A testtömeget háromnaponta mértük, vérvételekkel egybekötve, a testösszetételt (*in vivo* computer tomográfias vizsgálat) pedig a kísérlet 0., 6. és 12. napján elemeztük. A zsírsav anyagcsere vizsgálatát a kezdő és a záró időpontok összehasonlítására alapoztuk.

A teljes takarmánymegvonást követően a tyúkok tojástermelése a 3. naptól leállt, a madarak testtömege a kísérlet végére ca. 20%-kal csökkent. A relatív májtömeg 4,2%-kal csökkent, míg a relatív szívtömeg 3,2%-kal nőtt, a kiinduló állapothoz képest. A teljes test összetételének ábrázolását Hounsfield Unit (HU) változók segítségével, az izom és a zsír tartományokban végeztük (CT képek sorszáma: X; HU változók: Y; pixelgyakorisági értékek: Z tengely). Az 1. ábra a 0., a 6. és a 12. napi testösszetételek 3D hisztogramjait mutatja, melyeken jól megfigyelhető a zsírdepók térfogatának kifejezett csökkenése (70,5 % csökkenés a kiinduláshoz képest), valamint az ezt követő fehérje katabolizmus, melyet az izomszövet 20,1%-os térfogatcsökkenése igazolt.



1. ábra A tojótyúkok testösszetételének 3D leképezése

A metabolikus státusz nyomonkövetése során a lipid metabolitok (triglicerid, összes és HDL koleszterin) koncentrációváltozása komoly energiadeficitre utalt, melyet a szérumszfehérje koncentrációcsökkenése követett. A szérumsz enzimek közül a laktát dehidrogenáz testtömegfüggő aktivitásnövekedést mutatott, ami nagy valószínűséggel a katabolikus folyamatokkal függ össze. A további vizsgált enzimek (AST, ALT, γ -GT) nem utaltak jelentős diszfunkcióra.

A máj és szív lipidek vizsgálata keretében a szövetsz triglicerid- és foszfolipid koncentrációt, valamint azok zsírsavprofilját határoztuk meg. A két lipidfrakció mennyisége mindkét szervben csökkent, kivételt csak a miokardiális trigliceridek képeztek, ahol 12%-os növekedés volt tapasztalható. A máj tömegvesztésében tehát igen nagy jelentőségű volt mind a tároló, mind pedig a struktúrális lipidek lebontása is. Eredményeink alapján úgy tűnik, a máj egyfajta „kardioprotektív” szerepet játszik az általános energideficit állapotában. A máj trigliceridjeinek zsírsavösszetételében azt találtuk, hogy amíg az arachidonsav és a dokozaheksaénsav részaránya az éhezés ellenére is közel állandó szinten maradt („paradoxical conservation”), addig komoly részarány csökkenést mértünk a palmitinsav arányában, ami a *de novo* zsírsavszintézis visszaesésére utal. A máj foszfolipidjeiben szignifikánsan emelkedett az összes polién zsírsavak aránya, míg jelentősebb aránycsökkenést a telített és monoén zsírsavaknál mutattunk ki.

A májhoz hasonlóan a szív abszolút tömege is csökkent, annak azonban mind relatív tömege, mind pedig triglicerid tartalma nőtt az éhezés során, míg utóbbi frakció összetételében csak minimális változásokat tapasztaltunk. A miokardiális foszfolipidekben jelentősebb módosulásokat okozott az energiamegvonás, a zsírsav arányváltozások elsősorban a polién zsírsavak arányának megőrzésére utaltak.

Az elemzett lipidfrakciók zsírsavprofil adataiból összefoglalva megállapítható, hogy a miokardiális zsírsav anyagcsere prioritást élvez a májjal szemben, és a szívizomban oxidált, energiatermelésre hasznosított zsírsavak nagyon nagy hányada származik extrakardiális forrásból. A máj protektív szerepe a lipid anyagcserében megmutatkozott a szignifikánsan megemelkedett malondialdehid koncentrációban is, mely a szívben nem volt megfigyelhető.

Véleményem szerint a teljes takarmánymegvonást alkalmazó technológia felváltását célzó programokban (ún. “non feed removal” eljárások) jelen kutatás adatai hasznosíthatóak lehetnek.

2. Az intenzív növekedés vázizom lipidekre gyakorolt hatásának elemzése pulykában (2005-2006)

A pályázat második támogatott évében egy speciális irányban szelektált baromfifaj vizsgálatát végeztem, elsősorban növekedésbiológiai szempontból. A hústípusú pulyka fejlődési folyamatát a vérszérumsz és a mellizomzat elemzésével kívántam jellemezni. E baromfifaj növekedése, különösen a szelekció tárgyát képező vázizom esetén lineáris. Az elvégzett vizsgálatok növekedésbiológiai aspektusok mellett arra is koncentráltak, hogy a jelentős ütemű izomfejlődés hogyan befolyásolja a vázizmok membránjainak lipid

összetételét, található-e összefüggés az intenzív sejtnövekedés és a membránlipidek minőségi változásai között.

A kísérletben BUT Big 8 genotípusú, hímivarú pulykákat vizsgáltunk, 3 napos, majd 4, 8, 12, 16 és 20 hetes korban. Alkalmanként 6-6 madártól vettünk vért, klinikai-kémiai analízis céljából. A szöveti lipidek elemzése keretében a *m. pectoralis superficialis* (mps) és *m. pectoralis profundus* (mpp) foszfolipidjeinek és trigliceridjeinek zsírsav összetételi elemzését végeztük el, és azokat allometriás egyenletek felhasználásával elemeztük.

A testtömeg igen intenzív növekedést mutatott, a mellizom esetében pedig szabályos lineáris növekedést volt mérhető (mps tömeg = $0,2787 \times \text{testtömeg} - 123,67$; $r = 0,9967$, $P < 0,001$, $n = 30$).

A vérben a nitrogéntartalmú metabolitok között az összfehérje alacsony értéket mutatott a korai postembrionális időszakban, majd az intenzív növekedés alatt magasabb, kiegyenlített koncentráció értékeket vett fel. A kreatinin és a húgysav koncentrációk a kelést követően mutattak magasabb koncentrációt. A lipid metabolitok esetében jól tükröződött a korán is intenzív fejlődésű madarak ("precocial birds") jellegzetessége, a korai triglicerid és koleszterin csúcs, mely a remnans szik lebontásából fakad. A későbbi, felnevelés alatti koncentráció értékek a normál, éhomi tartományba estek.

A szérum enzim aktivitások nagytestű, hústermelésre szelektált madárra jellemzően alakultak. Az alkalikus foszfatáz aktivitása a korról folyamatosan csökkent, mely a osszifikáció lassulására utal. Az izomfejlődésre utaló kreatin kináz aktivitása a felnevelés alatt egy nagyságrenddel emelkedett (1555 IU/L-ről 24314 IU/L-re), de már az első mérési időpontban is meghaladta a referencia tartományt, mely szarkolemma sérülésre utal. A kezdeti laktát dehidrogenáz aktivitás is messze meghaladta a referencia tartományt (1443 IU/L), ugyanakkor ezen enzimmél nem tapasztaltunk egyértelműen emelkedő aktivitást.

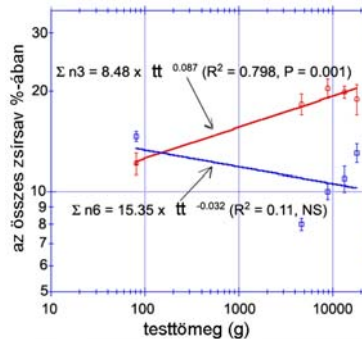
A szérum ionoknál a kalcium esetében a fészekhagyó madaraknál ismert korai alacsony szintet mértünk, mely a tojás-eredetű kalcium forrás kimerülésével magyarázható. A vas, szerves foszfát és kálium ionok esetében enyhe fluktuáció volt igazolható, míg a szérum nátrium koncentráció a kor előrehaladtával folyamatosan emelkedett.

Összefoglalva, a szérum elemzése olyan, korán érő madár sajátosságaira utal, melynél jellemző a korai, szik felhasználásból fakadó triglicerid csúcs, majd az igen intenzív izomfejlődés (laktát dehidrogenáz, kreatin kináz). Érdekes tapasztalat, hogy a pectoralis izomzat lineáris növekedését erős alkalikus foszfatáz aktivitáscsökkenés kíséri, mely a csontrendszer és az izomzat aszinkron fejlődésére utal ebben a szélsőségesen szelektált állományban. (Ezen eredményekre alapozva elvégeztünk brojlercsirkén is egy hasonló, nyomonkövetéses vizsgálatot, mely alapvetően hasonló eredményekhez vezetett. (Szabó, Milisits, *Acta Vet. Hung.* 2007, 55 (4), 451-462.))

A madarak próbavágását követően a *m. pectoralis superficialis* és *profundus* (mps és mpp) foszfolipidjeinek zsírsav összetételét határoztuk meg, a felnevelés alatt. A két

izomból származó eredmények nagymértékben hasonlóak voltak, emiatt az alábbiakban csak a mps adatok bemutatására szorítkoztam.

Az egyes zsírsav csoportok elemzése során minden időpontban 62-63% telítetlen zsírsavat mértünk a foszfolipidekben. A zsírsavprofil alakulásában a takarmány hatása nem volt szignifikáns, így allometrikus módszert alkalmaztam az adatok értelmezésére. Az izom membránlipidjeiben a telített zsírsavak részaránya a növekedéssel párhuzamosan csökkent ($B = -0,012$), míg az ún. telítetlenségi index (100 zsírsavláncban lévő telítetlen kötések) növekedő allometrikus trendet ($B = 0,026$) mutatott. Eredményeink igen érdekesek, hiszen ismert, hogy a nagyobb testű állatok lipidjei, a metabolikusan aktív szövetekben kevésbé telítetlenek, a kisebb testtömegű fajok fokozott telítetlenséget mutatnak. Ezzel ellentétes tendencia volt tapasztalható a pulykában, továbbá a többszörösen telítetlen zsírsavakban n3 és n6 kompetíció volt megfigyelhető, igen meglepő módon az n3 zsírsavak javára (2. ábra).



2. ábra Az n3 és az n6 zsírsavak allometrikus egyenesei a pulyka felnevelés alatt

Érdekes, hogy az ontogenezis alatt a mellizomzat membránjainak zsírsavprofilja pontosan ellentétes változásokat mutat, mint ha a kis- illetve nagytestű madarak összehasonlító allometrikus elemzését tekintjük (3. pályázati év eredményei). Igen ritka, hogy a kifejtett kor elérésekor fokozott a telítetlenség, különösen ha a többszörösen telítetlen zsírsavak aránya emelkedik.

A trigliceridek zsírsavprofilja egyértelműen a takarmány összetételének megfelelően alakult, emiatt annak elemzésére a jelentés keretében nem tartom indokoltnak kitérni.

Összefoglalva, a pulyka mellizom membránlipidjei telítetlenségükben és zsírsavprofiljukban hasonlóak a testsúlyban is közel álló fajokhoz, ugyanakkor a felnevelés alatt jellegzetes, eddig nem ismert arányváltozásokra sikerült rámutatni. Az a kérdés, hogy ez több madárfajra is jellemző-e, vagy csak a pulyka, mint szélsőségesen szelektált faj sajátossága, továbbra is megválaszolatlan, és további vizsgálatokat tesz indokolttá.

3. A szívizom membrán foszfolipidek interspecifikus eltéréseinek jellemzése baromfifajokban (2006-2007)

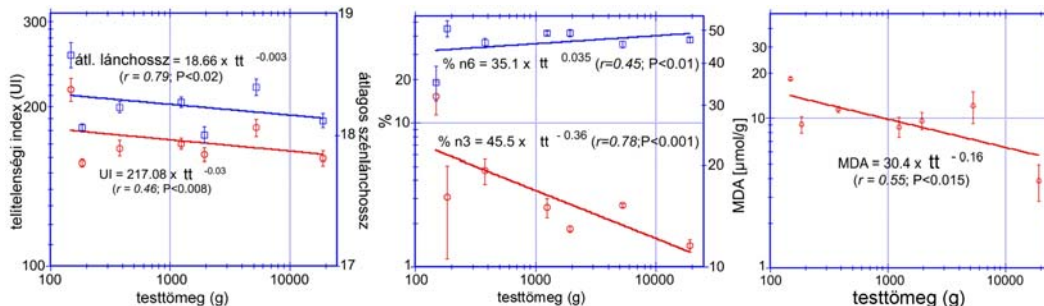
A második támogatott év eredményei szerint ontogenezis alatt a vázizom membrán zsírsavai a filogenetikus összehasonlításokban megfigyelt trendtől (Hulbert, *J. Exp. Biol.*, 2002, 205, 3561–3569.) jelentősen eltérnek. Ismert ugyanis, hogy a nagyobb testű emlősök és madarak hosszabb élettartamúak, metabolikusan aktív szöveteik pedig n3 zsírsavakban szegényebbek. Nagy valószínűséggel ezen zsírsavak, melyek az *in vivo* lipidperoxidációnak fokozottan kitétek, befolyásolják végső soron az élettartamot. Ezt Hulbert (2002) úgy interpretálta, hogy a membránlipidek az élet ütemadói (“pacemaker”), és azok oxidációjának mértéke szabja meg az élettartamot. Emlősökben a vese, a vázizom, a máj, a szív és az agy, madarakban a vázizom és a vese vizsgálatára került sor az eddigiekben (Hulbert, *Physiol. Rev.*, 2007, 87:1175-1213,).

A harmadik támogatott évben a madarak esetében eddig nem vizsgált szívizom membránlipidek zsírsavainak allometrikus elemzése volt a cél, a fenti szabályszerűség igazolása céljából.

A vizsgálat keretében pulyka (19020 g), lúd (5300 g), tyúk (1940 g), fácán (1240 g), húsgalamb (380 g), balkáni gerle (185 g) és japánfűrj (150 g) fajok 5-5 kifejlett egyednek szívizom membránlipid zsírsavprofilját, valamint a szívizom *in vivo* lipidperoxidációjára utaló malondialdehid koncentrációját határoztuk meg.

Azt találtuk, hogy a madarak szívizom membránlipidjei fajtól függetlenül átlagosan 60% telítetlen zsírsavat tartalmaznak, melyben ca. 50% többszörösen telítetlen zsírsav van. A telítetlenségi index és a zsírsavak átlagos szénláncossza csökkent a testtömeg növekedésével (3a ábra). A miokardiális foszfolipidek n6 zsírsav részaránya erősen hasonló volt az egyes fajokban. Pozitív allometrikus összefüggést bizonyítottunk a palmitolajsav (C16:1 n7), olajsav (C18:1 n9), vakkénsav (C18:1 n7) és az eikozatriénsav (C20:3 n3) esetében, míg a palmitinsav (C16:0), a sztearinsav (C18:0), a dokozapentaénsav (C22:5 n3) és a dokozahexaénsav (C22:6 n3) negatív allometrikus összefüggést mutatott. Az egyes zsírsav csoportok közül az egyszerűen telítetlen zsírsavak, az n9 egyszerűen telítetlen zsírsavak, az n6/n3 arány (3b ábra), és a delta9 deszaturáz index (C18:1 n9 / C18:0) pozitív allometrikus trendet mutatott.

Az elsősorban többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációja kapcsán keletkező, citotoxikus malondialdehid határozottan negatív allometrikus összefüggést mutatott (3c ábra).



3. a,b,c ábra A telítetlenségi index, az átlagos szénláncossz, az n6 és n3 zsírsavak, valamint a szívizom malondialdehid (MDA) koncentrációjának allometrikus összefüggései

Eredményeink egybevágóan az emlősök és madarak esetében vizsgált szövetek, szervek releváns adataival. Ezen vizsgálat során madár szívben elsőként sikerült leírni a testtömeg és a membránlipidek összefüggéseit. Az alap-anyagcsere intenzitás és a membránlipid összetétel régóta ismert összefüggéseihez ilymódon a madarak egy újabb, metabolikusan aktív szervében leírtakkal sikerült hozzájárulni.

A hároméves kutatómunka a madárfajok anyagcseréje és a szöveti zsírsavösszetétel kapcsolatára irányult. Az energiadeficit, illetve a szelekciós úton elért intenzív növekedés olyan indukált élettani változások, melyek vizsgálatával metabolikusan aktív szervek (szív, máj, vázizom) tároló és strukturális lipidjeinek reakciója volt elemezhető. Bár eredményeink elsődlegesen alapkutatás jellegűek, meggyőződésünk, hogy azok a gyakorlat számára is informatívak, közvetlen utalást adva a hagyományos vedletés és az izomnövekedésre irányuló szelekció negatív aspektusairól. Az interspecifikus, membránszintű eltérésekre irányuló vizsgálat újszerű információt biztosított egy eddig nem vizsgált szerv (madárszív) tekintetében.

A hároméves támogatás időszakára kitűzött célok **(1,2,3)** mindegyikéről idegen nyelvű, impakt fakorral rendelkező folyóiratban jelent meg közlemény, melyekre azóta több független hivatkozás (fh) is született, az alábbiak szerint:

- 1:** Szabó és mtsai, Poultry Sci., 2005, 84, 106–112. fh: 3, IF: 1,747;
Romvári és mtsai, Arch. Geflügelk., 2005, 69, 245-251. IF: 0,273;
- 2:** Szabó és mtsai, Acta Vet. Hung. 2005, 53(4), 397-409. fh:1, IF: 0,53;
Szabó és mtsai, Acta Biol. Hung., 2006, 57(2), 165-180; IF: 0,688;
Szabó, Milisits, Acta Vet. Hung., 2007, 55(4), 451-462; IF: 0,541;
- 3:** Szabó és mtsai, Comp. Biochem. Physiol. B., 2006, 144, 496-502, fh: 1, IF: 1,532.

Nemzetközi és világkonferenciákon öt közlemény jelent meg a fenti eredményekből.

Kaposvár, 2008.02.20.

Dr. Szabó András
tudományos munkatárs