

# Invloed broedproces op optreden van ascites

Dr. E. Dewil  
Katholieke Universiteit, Leuven

## Inleiding

Het ascitessyndroom of de grote-hoogte ziekte is de laatste jaren een van de belangrijkste doodsoorzaken bij slachtkuikens. Het syndroom kwam oorspronkelijk enkel voor op grote hoogte, maar sinds een tiental jaren uit het probleem zich ook op zeeniveau. De primaire oorzaak van ascites is een tekort aan zuurstof in het bloed. Dit zuurstofgebrek veroorzaakt verhoogde bloeddruk in de longen, wat uiteindelijk leidt tot het ontstaan van ascites (Albers en Frankenhuis, 1990).

Hoewel het ascitessyndroom het sterkst tot uiting komt tussen week 5 en week 6 van de groei, is het niet onmogelijk dat het begin van het ziektebeeld zich veel vroeger voordoet en misschien zelfs ontstaat tijdens de embryonale ontwikkeling. De embryo's ontwikkelen hun bloedvatensysteem tijdens de uitkippingsperiode. Wanneer hart en longen onvoldoende ontwikkeld zijn en niet kunnen tegemoet komen aan de hoge metabole eisen van de hedendaagse slachtkuikens met hun hoge groeicapaciteit, ontstaan er problemen.

Om een volledige ontwikkeling van het hart-longstelsel toe te laten, heeft het embryo voldoende zuurstof nodig, wat betekent dat er adequate luchtcirculatie in de incubator aanwezig moet zijn (Coleman en Coleman, 1991). Coleman (1995) vindt dat te hoge vochtigheid in de incubator eveneens aanleiding kan geven tot problemen, omdat vochtige lucht zwaarder is dan droge lucht en dus moeilijker te ventileren. In gebieden op grote hoogte versnelt zuurstof de groei en het metabolisme in het embryo en verbetert het de uitkipping. Zuurstoftekort, opgewekt onder experimentele omstandigheden of op natuurlijke wijze op grote hoogte, veroorzaakt fysiologische en/of morfologische abnormaliteiten in het embryo (Maxwell, 1991). Ook kalkoenembryo's die geïncubeerd werden op grote hoogte, vertoonden een lager hart- en longgewicht vergeleken met embryo's die werden uitgebroed op zeeniveau (Christensen, 1995). Wijzigingen ter hoogte van de schaalconductance gedurende de incubatie kunnen de postnatale hematocrietwaarden bij de kip verhogen (Chineme *et al.*, 1995). Tijdens de laatste dagen van de incubatie kan het voordeliger zijn om de incubatorlucht te supplementeren met zuurstof om zo te trachten het later optreden van ascites in slachtkuikens te beperken (Maxwell, 1991).

Wanneer de duur en/of ernst van het prenatale zuurstofgebrek de postnatale karakteristieken, gerelateerd aan ascites, dus duidelijk kan beïnvloeden, werd de relatie tussen incubatieduur, uitkipping, hypoxie, schildklierhormonenconcentratie en het ontstaan van ascites nagegaan bij embryo's van twee slachtkuikenlijnen, met een verschillende gevoeligheid aan ascites (Vereijken en Albers, 1990; Decuypere *et al.*, 1994).

### Experimenteel opzet

Twee genetische lijnen (Euribrid, Boxmeer, Nederland), geselecteerd voor lage voederconversie (VC) maar met een verschillende gevoeligheid voor het ascitesyndroom, werden bestudeerd. De ascitesgevoelige lijn (AS) werd gekarakteriseerd door een snelle groei en opmerkelijke spieraanzet, terwijl de ascitesresistente lijn (AR) een tragere groei en minder spieraanzet vertoont.

Eieren van elke lijn werden geïncubeerd onder standaardvoorwaarden. Op het einde van de incubatie werden de eieren om de twee uur bekeken gedurende een periode van 48 uur. Het tijdstip van intern aanpikken (ip), extern aanpikken (ep) en uitkipping werd genoteerd.

Gedurende de verschillende stadia van ontwikkeling werden bloedstalen genomen, waarna in het plasma de concentratie van de schildklierhormonen trijodothyronine ( $T_3$ ) en thyroxine ( $T_4$ ) met behulp van een RIA-procedure werden bepaald.

In de luchtkamer van embryo's van dag 18 tot dag 20 (non-pipping stadium) werden de partiële drukken van zuurstof ( $pO_2$ ) en kooldioxide ( $pCO_2$ ) rechtstreeks gemeten met behulp van een bloedgasanalysator, aangepast aan het meten van  $pO_2$  en  $pCO_2$  in gasmonsters (Instrumentation Laboratories, Lexington, U.S.A., IL1306).

Het gewicht van het ei, het embryo, het hart en de schaal (uitgedrukt in gram) werd nagegaan.

Het relatieve embryogewicht ( $\text{embryogewicht}/\text{eigewicht}$ ), het relatieve hartgewicht ( $\text{hartgewicht}/\text{embryogewicht}$ ) en het relatieve schaalgewicht ( $\text{schaalgewicht}/(\text{eigewicht})^{2/3}$ ) werd uitgedrukt als percentage (%).

### Resultaten en bespreking

Het ep stadium en de uitkipping van embryo's van lijn AS verschoof naar een later tijdstip vergeleken met de AR lijn. Het interval tussen ip en ep was niet verschillend tussen de lijnen, maar het interval tussen ep en uitkipping was significant langer bij de AS lijn ( $p=0.008$ ). Zie hiervoor tabel 1.

**Tabel 1: interval tussen ip en ep en het interval tussen ep en uitkipping (uitgedrukt in uur) bij embryo's van de AR en de AS lijn. Gemiddelden met hetzelfde superscript zijn niet significant verschillend voor  $p<0.05$ .**

Lijn	Interval ip - ep	Interval ep- uitkipping
AR	$12.56 \pm 0.58$ <sup>a</sup>	$12.86 \pm 0.65$ <sup>x</sup>
AS	$13.74 \pm 0.67$ <sup>a</sup>	$15.42 \pm 0.68$ <sup>y</sup>

De  $T_3$  concentratie was lager bij AS embryo's gedurende het ep stadium, terwijl tijdens de uitkipping de concentraties bij AR en AS embryo's vergelijkbaar was.  $T_4$  was niet verschillend tussen embryo's van de twee lijnen in het ep stadium, maar bij het uitkippen was het  $T_4$  niveau bij de AS lijn de helft van dat bij de AR lijn (Tabel 2).

De schildklierhormonen spelen een belangrijke rol in de complexe processen van de uitkipping. Bovendien is de lengte van het interval tussen de start van de longademhaling en de uitkipping thyroxine-afhankelijk (Decuypere et al., 1990). De lagere schildklierhormonenconcentratie bij de AS embryo's kan daarom gekoppeld worden aan de tragere uitkipping bij deze lijn.

Schildklierhormonen zijn ook betrokken in de ontwikkeling van de longen (Ballard, 1980; Wittmann *et al.*, 1987). De tragere uitkipping en de daarmee samenhangende lagere T<sub>3</sub> concentratie bij de AS embryo's, kunnen daarom wijzen op een tragere longenontwikkeling.

**Tabel 2: T<sub>3</sub> en T<sub>4</sub> concentratie in het plasma (ng/ ml) bij AR en AS embryo's tijdens ep en uitkipping.**

T <sub>3</sub>	ep	Uitkipping
AR	3.36 ± 0.45 a	2.87 ± 0.36 a
AS	1.85 ± 0.37 b	2.20 ± 0.50 ab
T <sub>4</sub>	ep	Uitkipping
AR	27.17 ± 4.43 a	20.14 ± 1.68 a
AS	24.24 ± 3.58 a	10.51 ± 2.69 b

De pO<sub>2</sub> en pCO<sub>2</sub> metingen in de luchtkamer vertoonden een significant lagere pO<sub>2</sub> (p<0.02) en hogere pCO<sub>2</sub> (p<0.002) bij de AS eieren op dag 18 van de incubatie. Eenzelfde tendens was merkbaar op dag 19, maar een dag later was er geen enkel verschil meer in de partiële drukken tussen de twee lijnen (Tabel 3).

**Tabel 3: partiële zuurstof (pO<sub>2</sub>) en kooldioxide (pCO<sub>2</sub>) waarden in de luchtkamer van embryo's van de AR en AS lijn tijdens verschillende stadia van de ontwikkeling.**

	d.18	d.19	d.20 np
pco <sub>2</sub>			
AR	30.08 ± 1.31 a	33.88 ± 2.72 a	36.74 ± 2.04 a
AS	38.21 ± 1.75 b	38.16 ± 1.18 a	36.34 ± 1.73 a
pO <sub>2</sub>			
AR	120.75 ± 1.69 a	120.13 ± 3.26 a	117.00 ± 2.39 a
AS	113.38 ± 2.26 b	115.40 ± 1.13 a	117.50 ± 2.39 a

De toenemende longademhaling en de verhoogde metabole zuurstofnood naar het einde van de incubatie toe, zorgt voor een toename in pCO<sub>2</sub> en daling in pO<sub>2</sub> in de luchtkamer, wat normaal het uitkippingsproces stimuleert (Visschedijk, 1968). Nochtans is de uitkipping vertraagd bij de AS embryo's, ondanks de hogere pCO<sub>2</sub> en lagere pO<sub>2</sub> waarden in de luchtkamer. Deze experimenten wijzen erop dat de gasatmosfeer in de luchtkamer niet de primaire determinerende

factor is, maar dat ook de schildklierhormonen een faciliterende of determinerende rol spelen in het uitkippingsproces.

Tabel 4: eigewicht (g), relatieve embryogewicht (**%**), hartgewicht (g), relatieve hartgewicht (**%**) en het relatieve schaalgewicht (**%**) bij AR en AS embryo's tijdens verschillende stadia van de ontwikkeling en de significanties van de verschillen tussen de lijnen.

d. 17	AR	AS	P <
eigewicht	5 1.70 ± 0.96	60.24 ± 1.36	0.000 1
relatieve embryogewicht	33.8 ± 1.3	34.8 ± 0.7	NS
hartgewicht	0.108 ± 0.004	0.099 ± 0.004NS	
relatieve hartgewicht	0.62 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.000 1
relatieve schaalgewicht	49.9 ± 1.6	53.3 ± 1.2	NS
<b>d. 18</b>			
eigewicht	53.20 ± 0.97	57.50 ± 1.06	0.009
relatieve embryogewicht	30.8 ± 0.9	40.6 ± 1.0	0.000 1
hartgewicht	0.127 ± 0.003	0.113 ± 0.005	0.04
relatieve hartgewicht	0.78 ± 0.02	0.48 ± 0.01	0.000 1
relatieve schaalgewicht	51.3 ± 0.9	55.2 ± 2.3	NS
<b>d. 19</b>			
eigewicht	50.43 ± 1.55	55.02 ± 1.45	0.05
relatieve embryogewicht	50.5 ± 1.1	40.1 ± 1.2	0.000 1
hartgewicht	0.179 ± 0.005	0.153 ± 0.007	0.01
relatieve hartgewicht	0.72 ± 0.03	0.69 ± 0.02	NS
relatieve schaalgewicht	51.0 ± 0.8	54.7 ± 1.2	0.023
<b>d. 20 np</b>			
eigewicht	48.86 ± 1.83	51.32 ± 1.30	NS
relatieve embryogewicht	54.7 ± 1.1	56.9 ± 1.7	NS
hartgewicht	0.235 ± 0.009	0.160 ± 0.009	0.000 1
relatieve hartgewicht	0.88 ± 0.03	0.55 ± 0.03	0.000 1
relatieve schaalgewicht	55.5 ± 2.1	56.3 ± 2.1	NS

Het eigewicht van de AS lijn was significant hoger dan dat van de AR lijn, maar het verschil werd kleiner naarmate de incubatie vorderde. Het relatieve embryogewicht was niet verschillend tussen de lijnen op dag 17 en dag 20np, maar was significant hoger bij de AS lijn op dag 18 ( $p=0.0001$ ), terwijl op dag 19 het omgekeerde werd gevonden ( $p=0.0001$ ). Het absolute en het relatieve hartgewicht waren significant hoger in de AR embryo's, uitgezonderd dag 17 voor het hartgewicht en dag 19 voor het relatieve hartgewicht, hoewel dezelfde tendens aanwezig was. Het relatieve schaalgewicht was hoger bij de AS eieren, maar dit was enkel significant op dag 19.

De differentiële gasuitwisseling tussen de lijnen kan veroorzaakt worden door een verschil in schaalconductance en/of verschil in transport van de gassen van het embryo naar de gasuitwisselaar (i.e. de bloedvaten van het chorio-allantoisch membraan). Aangezien de eieren van lijn AS een tendens tot hoger relatieve schaalgewicht vertoonden, is het mogelijk dat de consistentie van de schaal bij de AS eieren gewijzigd is door het toepassen van een ander selectieproces.

Volgens Hodgetts (1995) zal het verrijken van de incubator met zuurstof een significante stijging van het totale hartgewicht tot gevolg hebben, zonder het lichaamsgewicht te beïnvloeden. Dit komt overeen met onze resultaten, waar embryo's van de AR lijn, die de hoogste  $pO_2$  in de luchtkamer hebben, een groter totaal en relatief hartgewicht hebben. Een zuurstof-arme omgeving beïnvloedt de vermenigvuldiging van de hartcellen. Een relatief kleiner hart moet meer moeite doen om eenzelfde hoeveelheid bloed doorheen het lichaam te pompen. Dit kan ook het geval zijn bij de AS embryo's, wat een reeds vermoeider hart kan veroorzaken vanaf het embryonale stadium.

### **Conclusie**

De verhoogde gevoeligheid voor het ascitessyndroom door genetische selectie kan worden gekoppeld aan verschillende fysiologische parameters tijdens het embryonaal stadium. Bij embryo's wordt een verhoogde gevoeligheid gekarakteriseerd door een vertraging in de uitkippingstijd, verlaagde schildklierhormoonconcentraties en lagere  $pO_2$  en hogere  $pCO_2$  waarden in de luchtkamer. De meer doorlaatbare gasomgeving bij de AS lijn resulteert waarschijnlijk uit een lagere schaalconductance door selectiedruk. Al deze resultaten steunen de hypothese dat het lagere schildkliermetabolisme bij de AS lijn, wat resulteert in uitgestelde uitkipping en een daarbij samenhangende zuurstofnood in het embryonale stadium, aanleiding kan geven tot ontwikkeling van het heart failure syndrome en/ of ascitessyndroom.