

Stofwisselingsonderdrukking bij vissen, een overzichtartikel

Dr. Ir. Vincent van Ginneken, Biologie, Universiteit Leiden.

Indien bepaalde commerciële vissoorten uit de aquacultuur zoals de Europese paling of tilapia onder condities van lage zuurstof komen kunnen ze hun energieverbruik naar beneden reguleren om op deze manier energie te besparen en het ophopen van afvalstoffen (melkzuur) uit de anaërobe stofwisseling tegen te gaan. De gewone karper kan zijn stofwisseling niet naar beneden reguleren.

Hoe kan dit nu? Onderzoek met kleine ingebouwde zendertjes om de hartslag te meten met gelijktijdige meting van de warmteproductie laat zien dat bepaalde vissoorten de stofwisselingsnelheid naar beneden sturen via regulatie van de hartslagfrequentie. Het bereiken van een soort winterslaap kan dus mogelijk bereikt worden uit het centraal zenuwstelsel via een regulatie via de hartslagfrequentie.

Directe warmteproductiemetingen bij vissen is technisch zeer moeilijk omdat de lichaamstemperatuur van vissen nagenoeg gelijk is aan die van het omringende water. Verder heeft het medium water een grote specifieke warmtecapaciteit en is daarom ongevoelig voor temperatuurveranderingen. Verder willen we experimenten over enkele dagen uitvoeren zodat de vissen zich kunnen herstellen van de hanteerstress. Daarom wordt een 'tweeling'-detectie, Setaram-doorstroom-calorimeter gebruikt.

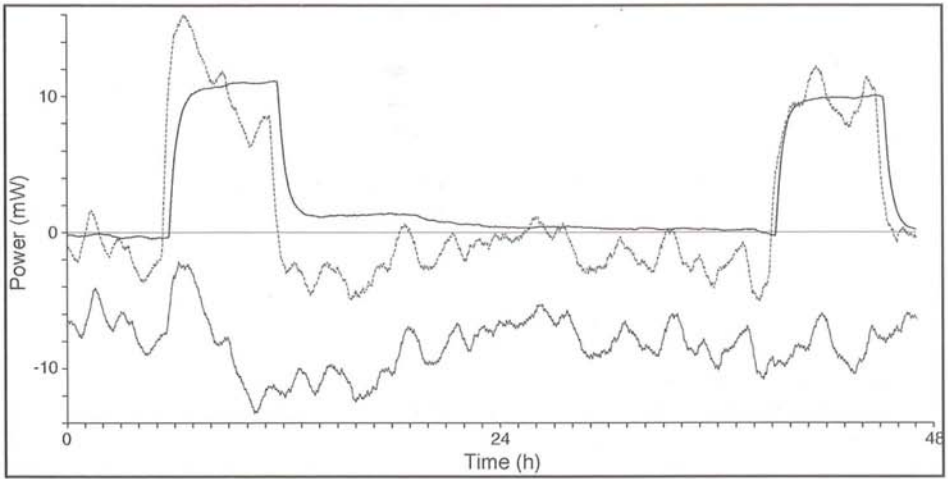
Om lichaamstemperaturen van vissen tot 10^{-4} °C te kunnen meten hebben we een referentie- en meetvat, het zogenaamde 'tweeling'-detectie systeem. Beide vaten zitten in hetzelfde calorimeterblok en zullen dus in dezelfde mate onderhevig zijn aan temperatuursveranderingen. Nemen we nu het verschilsignaal dan krijgen we een sta-

biële basislijn (figuur 1). Het water kan variërend tussen de 40 ml/min (biomassa vis in vat 20-40 g) tot 100 ml/min (biomassa vis in vat tot 120 g) in de vaten worden geleid waarbij verse zuurstof wordt aangevoerd en afvalproducten (ammoniak, CO₂) worden afgevoerd.

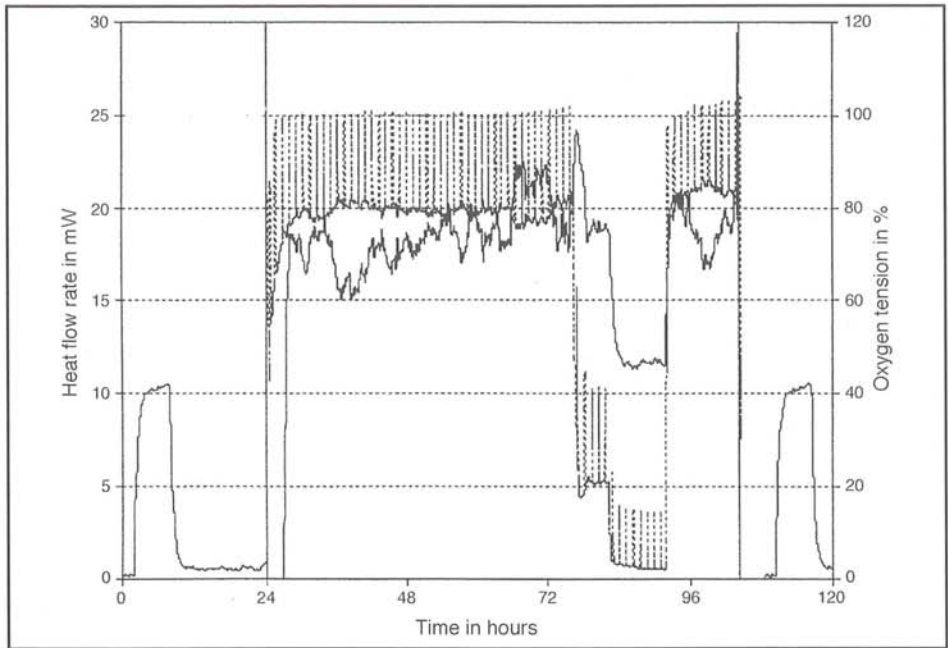
Een LKB-microcalorimeter is voor de eigenlijke Setaram-calorimeter geplaatst om het instromende water te stabiliseren.

Stofwisselingsonderdrukking is soortafhankelijk en flexibel

Allereerst is stofwisselingsonderdrukking vissoort specifiek. In figuur 2 zien we 50% stofwisselingsonderdrukking in tilapia onder extreme lage zuurstof (hypoxie) terwijl in figuur 3 een experiment te zien is met een karper van 48 gram waarbij geen stofwisselingsonderdrukking optreedt bij extreme hypoxie.



Figuur 1



Figuur 2

Een tweede karakteristiek is dat stofwisselingsonderdrukking flexibel is. Direct afhankelijk van het aanbod van zuurstof. In goudvis werd een warmteproductie van 700, 181, 290 en 335 Joule/uur/ kg^{0.85} gevonden bij normoxia (100% zuurstof), anoxia (geen zuurstof), 5% en 10% zuurstofaanbod. Dus de vissen kunnen hun stofwisselingsnelheid reguleren afhankelijk van de hoeveelheid beschikbare zuurstof.

Stofwisselingsonderdrukking wordt niet bepaald door een beperking van de externe activiteit

De standaard metabole snelheid (SMR), vergelijkbaar met basale stofwisselingsnelheid in zoogdieren zijn de minimale energiekosten van een organisme om in

leven te blijven. Gaat een dier beneden deze waarde dan hebben we te maken met stofwisselingsonderdrukking. Om te meten of dit proces niet veroorzaakt werd door een reductie van de bewegingsactiviteit hebben we de beweging van het dier in het vat gemeten met een Noldus-video-analyse systeem. Iedere seconde werden twee videobeelden van de vis in het calorimetervat genomen en werden deze van elkaar afgetrokken. Het verschil beeld (C) laat de externe activiteit van het dier zien, vinbewegingen en bewegingen met het lichaam (figuur 4). Tegelijkertijd werd de betreffende Tilapia in het calorimetervat (N=5, vijf individuele experimenten) aan extreme hypoxie (5% Air Saturation) blootgesteld waarbij het dier een 50% stofwisselingson-

CONDITION	Heat-production (Joule/hour/ 100 g fish). (N=5)	Heat Production of normoxic situation (&). (in %)(N=5)	Heart-rate frequency (beats/minute)(N=5)	(n)
Normoxia= 24 hours	162.4 ± 22.2	100	34.3 ± 9.5	
Hypoxia-40% =>1 hour	150.1 ± 15.2	94.1 ± 17.5	25.6 ± 5.8	
Hypoxia-20% => 5 hours	133.2 ± 19.3	84.2 ± 21.1	22.4 ± 3.6 *	
Hypoxia-10% => 5 hours	108.2 ± 16.8 **	68.5 ± 18.2 **	13.5 ± 7.9 **	
Hypoxia-3 => 5 hours	86.6 ± 23.6 ***	55.0 ± 18.4 ***	9.2 ± 5.5 ***	

Tabel 1: Warmteproductie, zuurstofconsumptie en hartslagfrequentie (gemiddelde ± standaarddeviatie) v. zuurstofcondities (hypoxie) bij 20°C. De oxycalorische waarde (laatste kolom) is de ratio tussen warmtepro. 440 kJ/mol. Een ratio van 678 kJ/mol bij 3% hypoxie geeft aan dat er, ondanks de 45% stofwisselingson. name van de anaerobe stofwisseling.

Normoxia versus hypoxia: * betekent P < 0.05, ** betekent P < 0.01, *** betekent P < 0.001

derdrukking vertoonde. De bewegingsactiviteit was op dit 5% AS hypoxieniveau gelijk aan normoxie (100% AS).

Hieruit kunnen we concluderen dat stofwisselingsonderdrukking niet veroorzaakt wordt door een reductie van de externe bewegingsactiviteit maar een oorzaak heeft in het dier zelf.

Stofwisselingsonderdrukking wordt veroorzaakt door een reductie van de bloeddorstroming

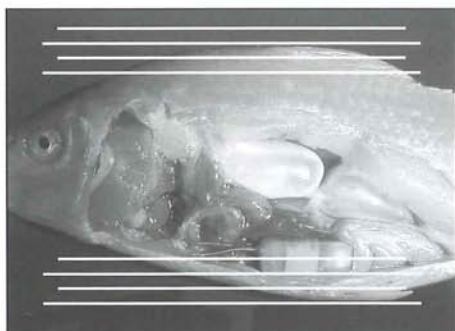
Er bestaat een hypothese 'de Coulson-bloeddorstromingstheorie' die stelt dat de ruststofwisselingsnelheid (SMR) bepaald wordt door de bloeddorstroming. Dit is ook logisch omdat de individuele cellen

'gevoed' worden door nutriënten zuurstof, hormonen etc. die via het bloed worden aangevoerd.

Om onderzoek te doen naar de bloeddorstroming hebben we in goudvissen kleine zendertjes van 3 gram ingebouwd om de hartslagfrequentie te bepalen (figuur 6). Uit deze parameter krijgen we een indruk van de bloeddorstroming. In dit technisch vrij ingewikkelde experiment vonden we een directe correlatie tussen hartslagfrequentie en mate van stofwisselingsonderdrukking (tabel 1). Deze gegevens ondersteunen onze initiële hypothese dat een reductie van de bloeddorstroming ten grondslag ligt aan de geobserveerde stofwisselingsonderdrukking.

Oxygen consumption (mmolO ₂ /hour/100 g fish) (N=5)	Oxycaloric Equivalent (kJ/mol) (N=5)
0.38 ± 0.04	432.8 ± 63.5
0.35 ± 0.10	444.5 ± 99.6
0.28 ± 0.07 *	479.9 ± 63.2
0.22 ± 0.05 **	491.6 ± 61.7
0.14 ± 0.06 ***	677.8 ± 204.3 *

van 5 individuele goudvissen blootgesteld aan lage productie en zuurstofverbruik en ligt normaal rond de onderdrukking, een warmteproductie is door een toe-



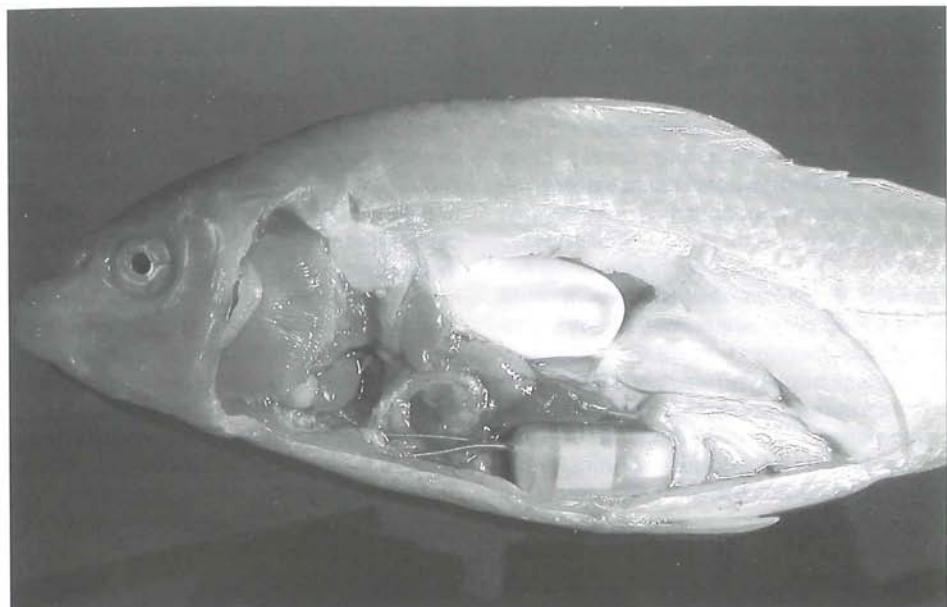
Literatuur

- V.J.T. van Ginneken, Metabolic Depression in fish, a review. Physiological Zoology 2004, submitted.
- V.J.T. van Ginneken, P. Snelderwaard, R. an der Linden, N. van der Reijden, G.E.E.J.M. van den Thillart, K. Kramer (2004). Coupling of heart rate with metabolic depression in fish: a radiotelemetric and calorimetric study. Thermochim.Acta 414:1-10.

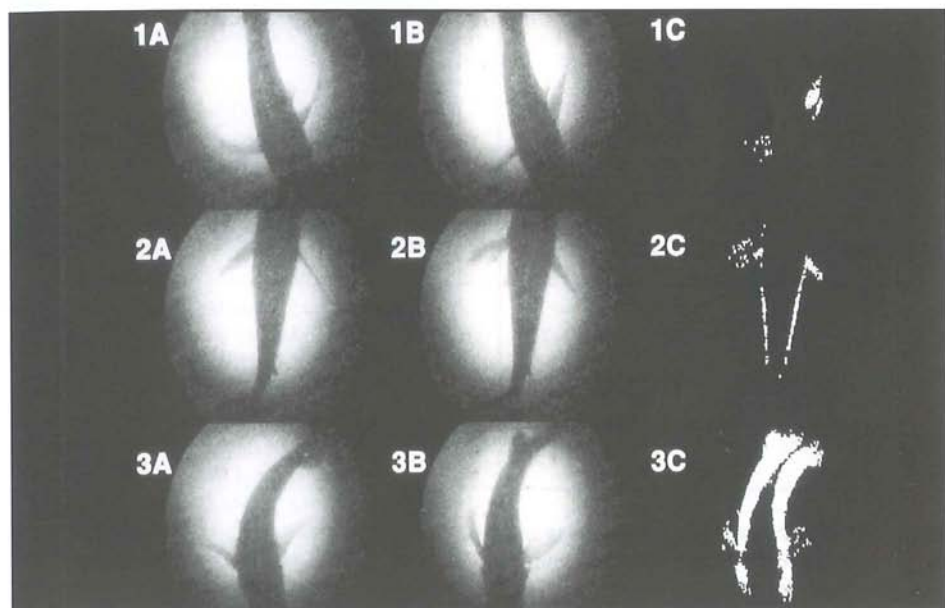
CONDITION	Heat-production (Joule/hour/ 100 g fish). (N=5)	Heat Production of normoxic situa-tion (&). (in %)(N=5)	Heart-rate frequency (beats/minute)(N=5)	Oxygen consumption (mmolO ₂ /hour/100 g fish) (N=5)	Oxycaloric Equiv (kJ/mol) (N=5)
Normoxia= 24 hours	162.4 ± 22.2	100	34.3 ± 9.5	0.38 ± 0.04	432.8 ± 63.5
Hypoxia-40% =>1 hour	150.1 ± 15.2	94.1 ± 17.5	25.6 ± 5.8	0.35 ± 0.10	444.5 ± 99.1
Hypoxia-20% => 5 hours	133.2 ± 19.3	84.2 ± 21.1	22.4 ± 3.6 *	0.28 ± 0.07 *	479.9 ± 63.3
Hypoxia-10% => 5 hours	108.2 ± 16.8 **	68.5 ± 18.2 **	13.5 ± 7.9 **	0.22 ± 0.05 **	491.6 ± 61.7
Hypoxia-3 => 5 hours	86.6 ± 23.6 ***	55.0 ± 18.4 ***	9.2 ± 5.5 ***	0.14 ± 0.06 ***	677.8 ± 204.3

Tabel 1: Warmteproductie, zuurstofconsumptie en hartslagfrequentie (gemiddelde ± standaarddeviatie) van 5 individuele goudvissen blootgesteld aan verschillende zuurstofcondities (hypoxie) bij 20°C. De oxycalorische waarde (laatste kolom) is de ratio tussen warmteproductie en zuurstofverbruik en ligt normaal rond 440 kJ/mol. Een ratio van 678 kJ/mol bij 3% hypoxie geeft aan dat er, ondanks de 45% stofwisselingsonderdrukking, een warmteproductie is door de aanwezigheid van de anaerobe stofwisseling.

Normoxia versus hypoxia: * betekent $P < 0.05$, ** betekent $P < 0.01$, *** betekent $P < 0.001$



Figuur 3



Figuur 4