

Bloedplasma substraten en spier-melkzuur respons na uitputtende zwemarbeid bij karper en forel: aanwijzingen voor een beperkte melkzuur-'shuttle'

Dr. Ir. Vincent van Ginneken & Dr. Guido van den Thillart, Biologie, Universiteit Leiden.

Melkzuur, een product van de anaërobe glycolyse wordt voornamelijk in de witte spier van vissen geproduceerd na extreme arbeid of zuurstofloze condities. Omdat het vissenslijf voor ongeveer 65% uit witte spier bestaat is het belangrijk om de productie, verdeling en uitscheiding van deze metaboliet te begrijpen omdat ze bepalend kan zijn voor de homeostase (het welbevinden) van de vis. Daarnaast is ze bepalend voor de overleving van een vis na extreme arbeid. In het algemeen zullen vissen bij extreme arbeid (bijvoorbeeld na vangst), energie produceren via anaërobe (zuurstofloze) processen. Het nadeel van deze biochemische routes is dat de energieopbrengst gering is en dat er afvalstoffen als melkzuur worden gevormd. Daarom houden vissen ter bescherming, het overtollig melkzuur vast in de spieren om een verzuring van het bloedcompartiment tegen te gaan. Uiteindelijk vindt omzetting van deze stof vooral in de spier plaats.

Doelstelling onderzoek

Melkzuur hoeft niet alleen als een afvalstof te worden beschouwd die vermoeidheid veroorzaakt en verstoring van de zuurbalans. Het kan ook als een substraat worden beschouwd voor oxidatieve weefsels als rode spier en de hartspier. Tot voor kort werd gedacht dat melkzuur alleen in de lever via de zogenaamde 'Cori-cyclus' tot glucose kon worden omgezet. Deze route blijkt nu bij vissen niet zo belangrijk te zijn. Het doel van dit onderzoek was om te kijken hoe melkzuur zich in het vissenslijf gedraagt bij vissen blootgesteld aan uitputtende zwemarbeid in een zwemtunnel. Daarnaast waren we ook geïnteresseerd wat het effect van extreme

arbeid was op schildklierhormoon (T3, T4), ionen (natrium, kalium, chloor) en substraten (glucose, vrije vetzuren (FFA's) en totaal eiwit).

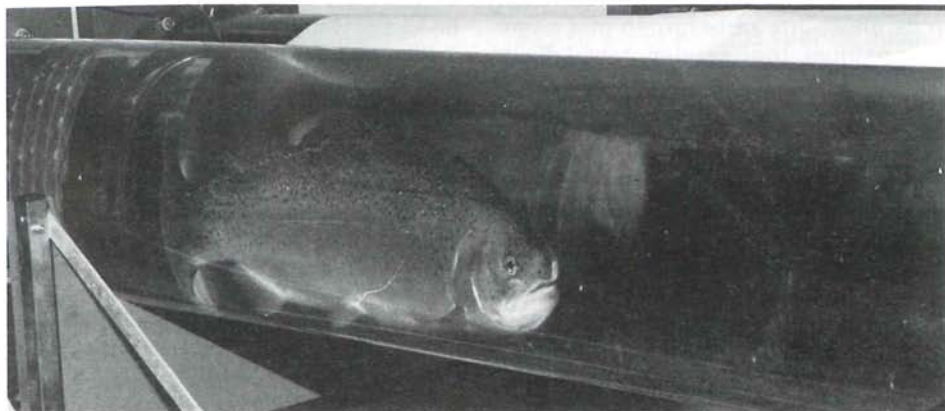
Gebruikte vissoorten

In dit onderzoek werden twee verschillende vissoorten gebruikt die ieder in de natuur hun eigen niche (leefgebied) bezitten. Regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*) is een actieve vis, een echte sprinter die van oorsprong in de koude bergbekken voorkomt met snelstromend water. De gewone karper (*Cyprinus carpio*) is een langzame, slome vis die vooral de traag stromende modderige rivieren in het laagland bewoont.

Opzet experiment

Vissen zwommen individueel overnacht, gedurende 10 uur, bij 1.5 lichaamslengte per seconde in een zwemtunnel (figuur 1). Na deze 10 uur werden de dieren van de Controle groep verdoofd, bloed afgenomen en bemonsterd. Hierbij werd lever-

weefsel, rode en witte spier uitgesneden voor melkzuur bepalingen. Voor de andere dieren werd de zwemsnelheid geleidelijk binnen één uur verhoogd tot 6 lichaamslengtes per seconde. Voor forel duurde het 30-120 minuten voordat ze uitgeput waren en voor karper 20-30 minuten. Dieren uit



Figuur 1: Regenboogforel (*Oncorhynchus mykiss*) in Blazka-zwemtunnel van 127 liter.

	KARPER CONTROLE	KARPER UITGEPUT	P-WAARDE	FOREL CONTROLE	FOREL UITGEPUT	P-WAARDE
KALIUM (meq/l)	267(055)	335(031)	00508	322(048)	416(050)	00126*
NATRIUM (meq/l)	15832(562)	17232(963)	00286*	17292(1629)	17706(1259)	06342
CHLORIDE (meq/l)	11867(546)	12796(1307)	01578	14714(1237)	14426(885)	06526
GLUCOSE (mmol/l)	2920(1758)	3666(0847)	03789	2599(0954)	2852(1012)	06637
TRIGLYCERIDEN (mM)	1.683(0326)	2253(0362)	00170*	2.146(0535)	2241(0714)	07999
TOTAAL EIWIT (g/l)	3357(643)	4254(697)	00432*	4066(163)	3495(888)	01786
CHOLESTEROL (mmol/l)	359(037)	338(068)	05308	572(059)	503(188)	08640
FOSFOLIPIDEN (mmol/l)	5.19(024)	606(079)	00430*	766(096)	613(185)	01144
FFA (mM)	0.50(012)	0.19(006)	00018*	0.44(011)	0.38(005)	02901
TOTAAL-T3 (mmol/l)	0.645(0348)	0.948(0428)	0213	2.111(0672)	1.688(0687)	0369
TOTAAL-T4 (mmol/l)	2386(2161)	2915(2760)	0756	2242(2805)	2069(2766)	0843
T3/T4 RATIO	0.482(0434)	0.182(0168)	0219	0.361(0338)	0.529(0592)	0580

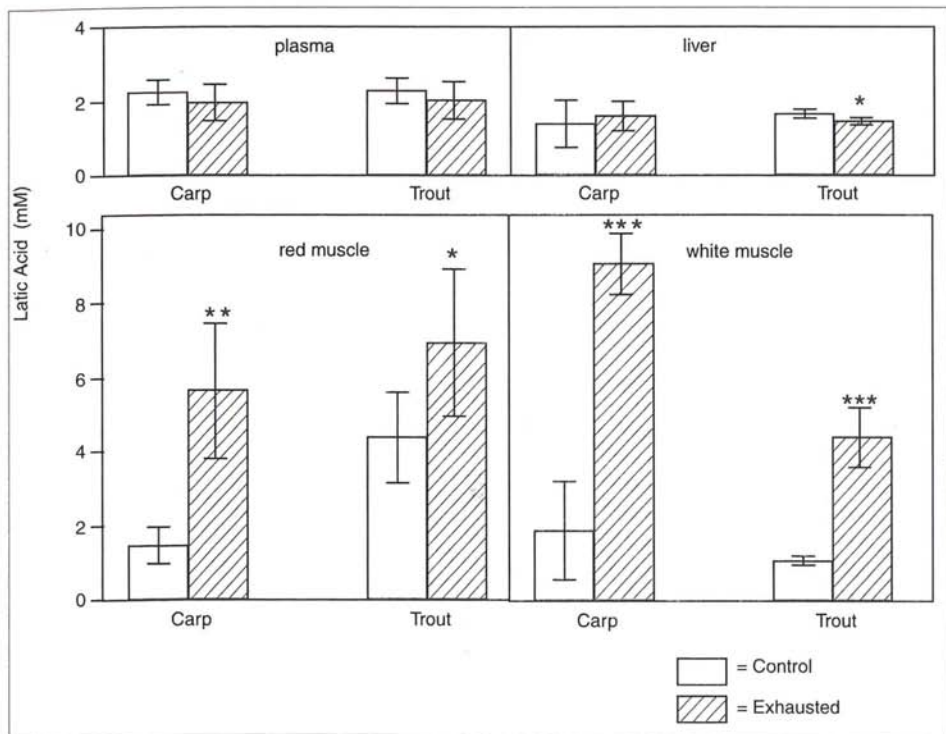
Tabel 1: Parameters gemeten in bloedplasma van forel- en karper groepen (controle en uitgeput). Elke groep bestaat uit 6 dieren. P_{0.05} geeft een significant verschil aan tussen uitgeputte en controle groep.

deze groepen werden op dezelfde manier bemonsterd als de Controle groep.

Resultaten bloedparameters

In tabel 1 zijn de waarden van hormonen (T3,T4), ionen, en substraten weergegeven voor controle en uitgeputte groepen van zowel forel als karper. Opvallend is dat de meest significante veranderingen optraden in de uitgeputte karpergroep met name voor natrium, triglyceriden, totaal eiwit, fosfolipden en vrije vetzuren (FFA). Blijkbaar is deze vissoort minder goed aangepast aan uitputtende zwemararbeid. In de fo-

relgroep was alleen een significante verandering waarneembaar voor Kalium (=potassium) (tabel 1). Dit laatste verschijnsel kan worden verklaard omdat mogelijk door een tekort in de productie van energie, de ATP vragende ionen pompen over de celmembraan niet meer goed werken waardoor kalium vanuit het spiercompartiment weglekt naar het bloedcompartiment. Bij karper werd na uitputtende arbeid een daling van de FFA gevonden. Op dit moment wordt algemeen aangenomen dat vissen bij langdurige zwemararbeid vooral vrije vetzuren gebruiken als energiebron.



Figuur 2: Melkzuur concentratie (mM) in witte-, rode spier, lever weefsel en bloed plasma van de karper (controle (N=6), vs. uitgeput (N=6)), en regenboogforel (controle (N=6), vs. uitgeput (N=6)). Individuele vissen van de controle groepen zwommen 1 nacht op 1.5 lichaamslengte per seconde. De uitgeputte groepen zwommen bij 6 lichaamslengtes per seconde tot op het moment van instorting.

Beperkte melkzuur-shuttle

Melkzuur wordt in hoge concentraties (5-9 mM) in witte en rode spier gevonden van de uitgeputte karpers en forelgroep (figuur 2). In tegenstelling tot deze waarneming, wordt melkzuur nauwelijks in het bloedplasma en de lever van de uitgeputte karpers en forelgroep gevonden (1.5-1.6 mM, figuur 2). Dit betekent dat melkzuur nauwelijks vanuit het spiercompartiment afgegeven wordt naar het bloed- of levercompartiment en is indicatief voor een beperkte melkzuur-'shuttle' (figuur 3).

Vissen bezitten dus een spiercompartiment met in potentie de aanleg tot de productie van veel melkzuur. Het voordeel voor de vis van het vasthouden van de melkzuur in het spiercompartiment en de beperkte uitscheiding van melkzuur naar het bloed- en levercompartiment, is dat het dier beter in staat is om het lichaam in een evenwichtssituatie te houden na uitputtende arbeid. Beperkte

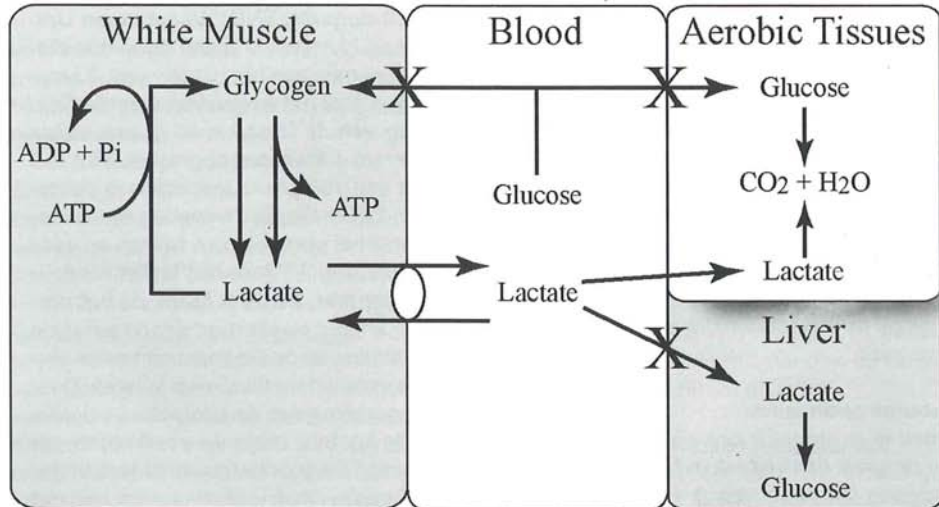
hoeveelheden melkzuur uit het bloedplasma zullen als brandstof dienen voor oxidatieve weefsels als rode spier en hart (figuur 3). De grootste hoeveelheid van het melkzuur zal uiteindelijk in de spier zelf geoxideerd worden tot CO_2 .

Dankbetuiging

Dr. Paul Balm (Dierfysiologie, Universiteit Nijmegen) wordt bedankt voor de ionenmetingen. Dr. Tinka Murk (Toxicologie, Universiteit Wageningen) voor de T3 en T4 (=thyroid) metingen.

Literatuur

- V. van Ginneken, R. Boot, T. Murk, G. van den Thillart & P. Balm (2004). Blood-plasma substrates and muscle lactic-acid response after exhaustive exercise in common carp and trout: indications for a limited lactate-shuttle. *Animal Biology*, accepted.



Figuur 3: Schematische weergave van de recycling van melkzuur in spier bij vissen na extreme inspanning.

Uitwisseling van lactaat- tussen spier- en bloedcompartiment kan afhangen van de experimentele condities bijvoorbeeld arbeid of hypoxie.