

De rol van de schildklier bij koudbloedigen

Dr. Ir. Vincent van Ginneken¹, Dr. Caroline Durif², Dr. Guido van den Thillart¹.

1: Biologie, Universiteit Leiden, 2: CEMAGREF, Bordeaux, Frankrijk.

Correspondentie: Ginneken@LUMC.NL

Bij warmbloedigen speelt de schildklier een rol in de warmtehuishouding (calorigeen hormoon). In het algemeen hebben magere mensen een snel werkende schildklier en een hoge stofwisselingssnelheid terwijl dikke mensen een traag werkende schildklier hebben. De vraag is nu wat de rol van de schildklier is bij koudbloedigen. In onderstaand stuk bespreken we de rol van de schildklier bij a) het schier worden van paling (metamorfose), b) schildklierhormoon-fluctuaties van paling in het buitenwater over het seizoen, c) de rol van de schildklier in de warmtehuishouding, is het ook een calorigeen hormoon of alleen een metamorfose hormoon?

T4 en T3 thyroid hormonen

Schildklierhormonen beter bekend onder de naam iodothyronines, spelen een belangrijke rol in cellulaire metabole processen, groei, celdifferentiatie en ontwikkelingsprocessen van gewervelden. Er zijn twee soorten hormonen: T4 thyroid hormoon wat beschouwd wordt als het voorstadium van het hormoon omdat het een relatief lage bioactiviteit heeft, en T3 thyroid hormoon. Dit laatste hormoon is de actieve vorm, wat voor 20% wordt gevormd in de schildklier bij zoogdieren en voor de andere 80% gevormd wordt in de lever en nier door omzetting van het T4 hormoon.

Geen rol in de metamorfose

Een kikkerlarve ondergaat een metamorfose en wordt een kikker onder invloed van schildklierhormoon. Ook bij zalmen is bekend dat parr-smolt transformatie (smoltificatie) plaats vindt onder invloed van schildklierhormoon (Dickhoff et al. 1978). Behandeling van jonge sockeye zalm

met thyroxine resulteerde in een verhoogde migratie activiteit (Iwata 1995). Omdat het schier worden van paling als een soort metamorfose kan worden beschouwd en als een aanpassing aan zijn transatlantische migratie werden in onze studie schiere en niet-schiere palingen uit een kwekerij op morfologische parameters (oa. oogdiameter) onderzocht en daarnaast werden er concentraties van T3 en T4 gemeten (tabel 1). We zien bij de schiere dieren geen significant verhoogde concentraties van schildklierhormoon wat een indicatie kan zijn dat schildklierhormoon geen rol speelt bij deze metamorfose. Dit gegeven is in tegenspraak tot andere studies waar wel een verhoogde schildklierhormoonactiviteit werd gevonden gedurende het proces van schier worden (Callamand & Fontaine 1942, Knowles & Vollrath 1966).

Schildklierhormoon-fluctuaties van paling over het seizoen

Swift (1960) stelt dat er in principe twee ty-

Parameter	Gemiddelde \pm S.D. Schiere mannetjes (N=29)	Gemiddelde \pm S.D. Niet schiere mannetjes (N=13)	ANOVA
Lichaamsgewicht (g)	128.00 (22.78)	100.41 (32.97)	P<0.002**
Lengte (cm)	40.6 (2.3)	38.4 (2.9)	P<0.011*
Conditie factor	0.190 (0.020)	0.172 (0.027)	P<0.018*
Gewicht Maag-darm kanaal (g)	10.07 (2.98)	9.71 (3.09)	P<0.722
Gonaden gewicht (g)	0.199 (0.071)	0.132 (0.059)	P<0.004**
G.S.I.	0.156 (0.049)	0.144 (0.082)	P<0.585
Lever gewicht (g)	1.543 (0.433)	1.487 (0.486)	P<0.707
Hepatosomatische Index	1.22 (0.28)	1.53 (0.33)	P<0.002**
Oogindex (E.I.)	9.74 (1.62)	7.20 (1.85)	P<0.0001**
Triglyceriden in bloed (mM)	19.10 (5.79)	18.60 (7.81)	P<0.506
Cholesterol in bloed (mM)	18.01 (2.68)	14.91 (3.68)	P<0.007*
FFA in bloed (mM)	0.209 (0.009)	0.127 (0.078)	P<0.007**
Total Protein in bloed (mM)	1219.5 (133.9)	1168.2 (229.1)	P<0.407
T3 (nM)	5.2 (3.16)	3.74 (3.45)	P<0.191
T4 (nM)	2.71 (1.26)	2.23 (1.41)	P<0.297

Tabel 1: Verschillen tussen schiere en niet schiere mannetjes paling voor lichaamskarakteristieken en bloed parameters ((Gemiddelde \pm S.D.). Conditie Factor $CF=100 \cdot W \cdot L^{-3}$. The Oog Index $E.I.=\{[(A+B)^2/4 \cdot \pi]/L\} \cdot 100$ met A = de horizontale oog diameter, B is de verticale diameter, en L is de totale lichaamslengte (mm). The G.S.I. is de gonadosomatische index ($[\text{gonaden gewicht}/\text{lichaamsgewicht}] \cdot 100\%$), the H.S.I. is de heptosomatische index ($[\text{levergewicht}/\text{lichaamsgewicht}] \cdot 100\%$).

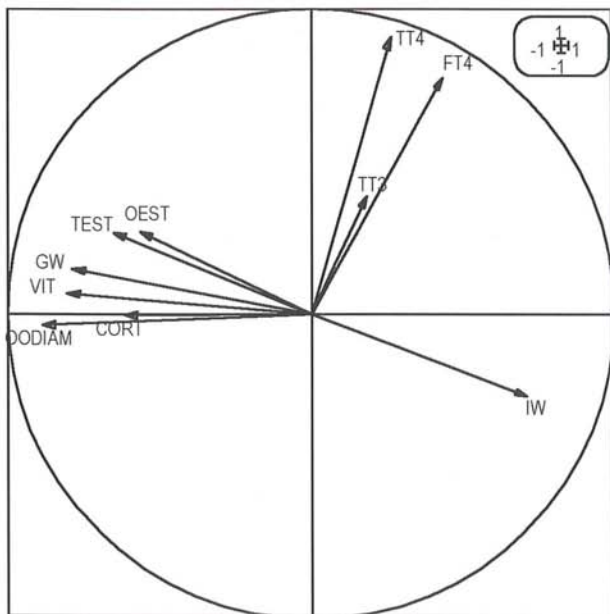
pes van activiteit zijn voor de schildklier voor vissen levend in onze Europese wateren. Eén type is verbonden met gonaden maturatie en resulteert in een verhoogde activiteit van deze klier gedurende het paai-seizoen. De tweede activiteit gebeurt in een regelmatig jaarlijks ritme over het seizoen in zowel rijpe als onrijpe vis (Swift 1960). Om dit te bestuderen werd vrouwtjes paling iedere maand vanaf april tot en met november bemonsterd in de Grevelingen. In onze studie (van Ginneken et al. 2005a) vinden we een verhoogde schildklieractiviteit in de maand April (tabel 2). Een verhoogde schildklieractiviteit werd ook geobserveerd voor onder andere forel en kabeljauw gedurende de winter en voorjaar (Swift 1960). In onze Grevelingen studie werd daarentegen in het najaar gedurende het schier worden verhoogde concentraties gevonden van oestradiol, testosteron, cortisol, vergrote ogen, vitellogenine, gonadengewicht (figuur 2 pijlen naar linksboven) terwijl dit voor schildklierhormoon vooral het voorjaar was

(tabel 1, figuur 2 pijlen naar rechtsboven). Deze jaarscyclus studie is niet in tegenspraak tot onze kwekerijstudie waar eveneens geen verhoogde concentraties van schildklierhormoon in schiere dieren werden gevonden.

Speelt de schildklier een rol in de warmte-huishouding bij vissen?

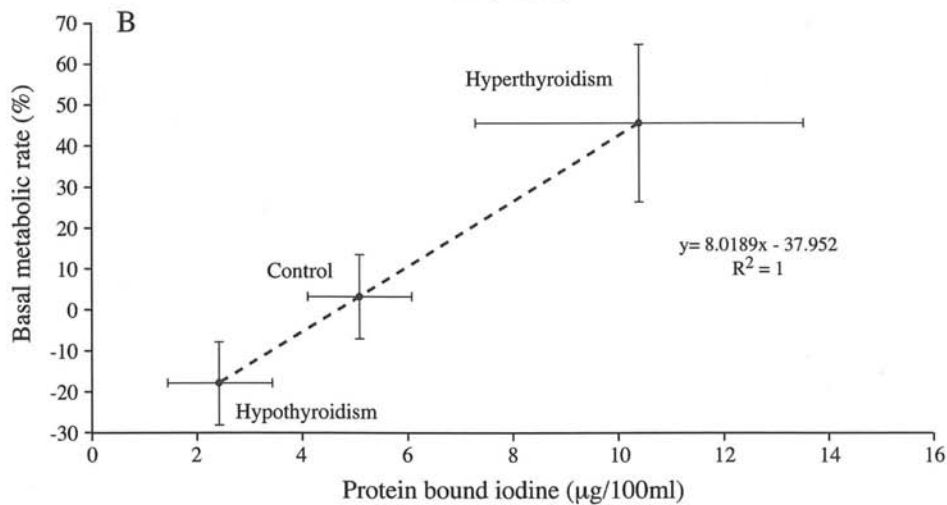
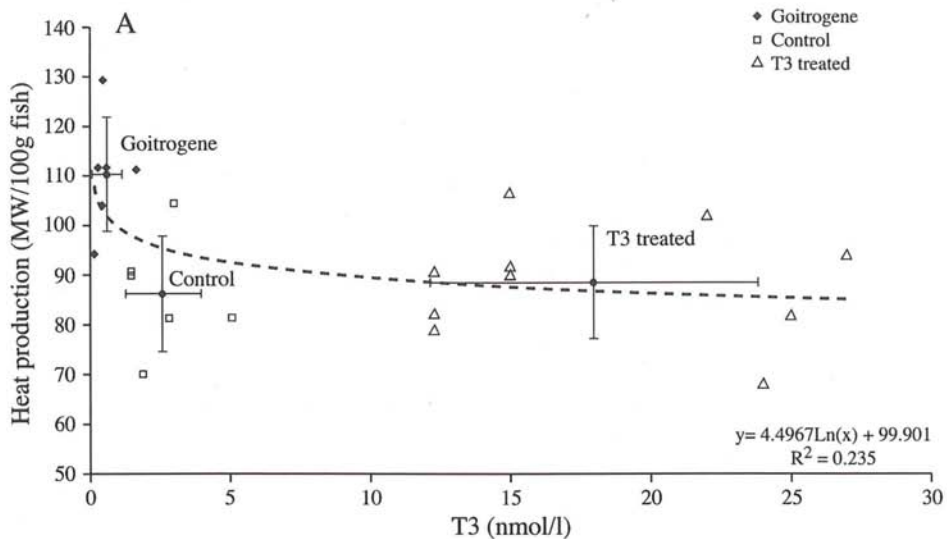
In endotherme vertebraten zoals vogels en zoogdieren verhogen de schildklierhormonen (T3 en T4) de stofwisselingsnelheid van vooral organen als spier en lever door een activatie van de ATP (=energiedrager) afhankelijke natriumpomp over de cel membraan. In deze twee groepen is de warmteregulerende respons van de thyroid gereguleerd via een temperatuur gevoelig gebied in de hypothalamus wat verder inwerkt op de hypofyse en uiteindelijk de schildklier, de zogenaamde 'Hypothalamic-Pituitary-Thyroid'- axis (HPT-axis). Voor vissen is deze zogenaamde HPT-axis ook aangetoond in verschillende vis-

Figuur 2: Principal Component Analyse: seizoensinvloeden van niet schiere en schiere paling volgens 10 geselecteerde fysiologische parameters mogelijk betrokken bij het schier worden zoals: testosteron (test), oestradiol (oest), vitellogenine (vit), cortisol (cort), oocytdiameter (oodiam), vitellogenine (vit), gonadengewicht (gw). Het valt op uit deze correlatie cirkel dat total thyroxin (TT4), trijodothyronine (TT3), FT4, en gewicht van het maagdarmkanaal (IW) een aparte plaats innemen en mogelijk geen rol spelen bij het schier worden. (van Ginneken et al. 2005a).



	April	May	June	July	August	September	October	November	Yellow	Silver	P-value
Morphology	N=8	N=8	N=8	N=8	N=8	N=8	N=8	N=8	N=36	N=28	
Body Weight (g)	861±194	969±187	908±187	751±175	771±184	1248±302	1092±132	1178±293	855±195	1132±262	P≤0.0001**
Eye-Index	7.34±0.98	7.28±2.38	7.26±0.72	6.69±0.85	7.99±0.93	10.42±0.62	9.95±0.92	10.91±0.86	7.14±1.31	10.17±1.04	P≤0.0001**
G.S.I.	0.65±0.15	0.65±0.20	0.76±0.24	0.79±0.28	0.87±0.28	1.44±0.17	1.54±0.30	1.38±0.26	0.71±0.22	1.40±0.28	P≤0.0001**
H.S.I.	1.49±0.45	1.28±0.24	1.54±0.50	1.23±0.30	1.17±0.20	1.32±0.09	1.36±0.28	1.37±0.12	1.35±0.39	1.34±0.16	P≤0.924
Digestive Tract (g)	23.9±3.1	33.9±12.4	32.5±16.1	23.4±7.8	13.9±3.8	17.8±4.7	13.4±2.3	13.2±4.5	27.1±11.9	14.8±4.4	P≤0.0001**
Oocyte Diameter (mm)	16.93±1.41	19.26±1.14	21.56±1.79	24.54±1.08	27.31±1.33	29.01±0.46	31.86±1.29	34.51±1.09	21.29±3.57	30.76±3.07	P≤0.0001**
Endocrinology											
TT4 (nmol/l)	36.5±24.6	16.6±17.1	17.2±27.4	7.4±5.1	13.5±5.4	13.5±5.0	12.0±5.9	7.6±5.4	19.2±21.3	11.1±5.6	P≤0.497
Free T4 (pmol/l)	114.6±143.9	28.3±24.4	63.3±138.6	17.7±8.7	22.4±8.5	21.8±6.5	18.3±12.4	12.0±6.3	53.4±98.9	17.7±9.1	P≤0.113
TT3 (nmol/l)	12.4±8.8	6.4±2.8	18.3±11.7	5.5±5.1	10.3±5.7	10.4±5.9	6.8±5.3	6.2±5.0	10.8±8.7	7.9±5.6	P≤0.305
Growth-hormone (ug/ml)	130.8±97.1	86.9±82.6	154.9±109.6	45.3±18.1	84.7±52.1	55.3±20.6	83.4±49.7	56.9±25.6	106.2±86.4	66.3±38.8	P≤0.121
Oestradiol (ng/ml)	1.83±0.31	1.64±0.69	1.11±0.60	0.97±0.37	1.83±0.75	2.43±0.60	2.49±0.42	2.09±0.63	1.38±0.67	2.34±0.58	P≤0.0001**
Cortisol (ng/ml)	26.1±10.3	31.5±25.3	27.1±15.5	70.2±38.5	40.7±24.7	108.1±27.7	70.1±55.0	85.8±25.8	38.2±29.1	80.7±42.0	P≤0.0001**
Testosteron (ng/ml)	0.75±0.31	0.56±0.25	0.47±0.17	0.42±0.22	0.41±0.15	1.04±0.25	1.04±0.52	1.69±1.27	0.53±0.27	1.15±0.81	P≤0.0001**

Tabel 2: Morfologische en endocriene parameters zijn bestudeerd over de jaarlijkse cyclus van de vrouwelijke Europese paling (*Anguilla anguilla* L.). Van april t/m juli zijn de palingen niet schier (niet-migrerend) terwijl de dieren van september t/m november schier zijn (migrerend). In augustus is de helft van de dieren niet-schier en de andere helft schier. De gemiddelde waarde van de niet-schiere groep is vergeleken met de gemiddelde waarde van de schiere groep. $P \leq 0.05$ wordt beschouwd als statistisch significant. (van Ginneken et al. 2005a)



Figuur 1A: Warmte productie van een Controle, goitrogene en T4 en T3 behandelde individuele Europese paling (*Anguilla anguilla* L.) gemeten met directe calorimetrie. Warmte productie was gemeten via directe calorimetrie met een Setaram, 1 liter, doorstroom tweeling-detectie microcalorimeter (van Ginneken et al. 2005b).

Figuur 1B: Basale Stofwisslingssnelheid en Serum eiwit-gebonden en Serum Protein gebonden Iodine in een Euthyroid groep van patienten (N=120), Hypothyroid groep van patienten (N=39) en Hyperthyroid groep van patienten (N=61). Data gemodificeerd weergegeven en ontleend aan Hortling & Hiisi-Brummer (1959).

soorten (Leatherland 1988). Omdat dit HPT-model van regulatie zowel in hogere als lagere vertebraten wordt geobserveerd en het mechanisme van regulatie in principe hetzelfde is hebben we de verwachting dat de thyroid bij koudbloedigen ook een rol speelt in de controle van de stofwisselings-snelheid. Om dit te bestuderen hebben we in deze studie verschillende groepen paling 'gemaakt' met verschillende nivo's van schildklierhormoon en hebben we daarna de warmteproductie met directe calorimetrie gemeten met een nauwkeurigheid van 0.1 mW. Een goitrogene groep (geen schildklierhormoon) werd gemaakt door dieren gedurende 6 weken bloot te stellen aan 0.2% Phenylthioureum. Deze stof maakt de schildklier kapot. Verhoogde T3 en T4 (500 μ g per ml per 100 g vis) werden bereikt door deze hormonen op te lossen in kokosnootolie en de dieren gedurende 1 maand een wekelijkse injectie te geven in de buikholte. De meest belangrijke observatie van deze studie was dat de warmteproductie en zuurstofconsumptie niet significant verhoogd waren in de T3 en T4 behandelde groepen in vergelijking tot de Controle groep (Figuur 1A). Alleen in de goitrogene groep was de stofwisselings-snelheid significant verhoogd. Dit laatste effect was onverwacht en we kunnen hier geen verklaring voor geven.

Conclusie

Onze resultaten tonen aan dat ondanks een algemene aanwezigheid van de schildklier en van T3 en T4 in alle gewervelden dat de 'calorigene' werking niet universeel is. De studie van Hortling & Hiisi-Brummer (1959, Figuur 1B) ondersteunt het inzicht dat de potentie van thyroid hormonen om de thermogenese te stimuleren alleen beperkt is tot de homeotherme soorten (vogels en zoogdieren), die meer dan 200 miljoen jaar geleden ontstonden (Freake & Oppenheimer, 1995). Onze observatie dat thyroxine geen calorigene werking heeft in

vissen suggereert dat ze een mechanisme missen om de noodzakelijke warmte te produceren. Dit kan een simpele verklaring zijn om de koudbloedigheid van vissen te verklaren.

Literatuur

- Callamand, O. & M. Fontaine, 1942. L'Activité thyroïdienne de l'Anguille au cours de son développement. *Arch.Zool.Exp.Gen.* 82: 129-135.
- Dickhoff, W.W., L.C. Folmar & A. Gorbman, 1978. Changes in plasma thyroxin during smoltification of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *General and Comparative Endocrinology* 36: 229-232.
- Freake, H.D.; Oppenheimer, J.H. (1995). Thermogenesis and thyroid function. *Ann.Rev.Nutr.* 15: 263-291.
- Ginneken, van, V Durif, C. Dufour, S. Sbaihi, M. Boot, R. Noorlander, K. Doornbos, J. Goos, H. Murk, T. van den Thillart, G. (2005a). Seasonal changes of endocrine and metabolic parameters of European yellow and silver eels. II Thyroid hormones, steroids and maturation parameters. *Physiol.Zool.* submitted.
- Ginneken, van V. Ballieux, B. Antonissen, A. van den Thillart, G. (2005b). Cold- vs. warmbloodedness: the role of the thyroid gland elucidated. *Naturwissenschaften*, submitted.
- Iwata, M., 1995. Downstream migratory behaviour of salmon and its relationship with cortisol and thyroid hormones: A review. *Aquaculture* 135: 131-139.
- Hortling, H. Hiisi-Brumer, L. (1959). Basal Metabolic Rate and Serum Protein-bound Iodine in Thyroid Disturbances with Special Reference to Goitre and 'Hypometabolism'. *Acta Medica Scandinavica* 165: 403-411.
- Knowles, F. & L. Vollrath, 1966. Changes in the pituitary of the migrating European eel during its journey from rivers to the sea. *Zeitschrift für Zellforschung* 75: 317-327.
- Leatherland, J.F.(1988). Endocrine factors affecting thyroid economy of teleost fish. *Amer.Zool.* 28:319-328.
- Swift, D.R.(1960). Cyclical activity of the thyroid gland of fish in relation to environmental changes. *S.Zoological Society London.* 2, 17-27.