

Zuurstofopname in de vroege ontwikkeling van vissen

Johan L. van Leeuwen, Sander Kranenborg, Jos G.M. van den Boogaart en Mees Muller.
Leerstoelgroep Experimentele Zoölogie, Departement Dierwetenschappen, Wageningen
Universiteit, Marijkeweg 40, 6709 PG Wageningen



Prof. Johan L. van Leeuwen

In dit artikel bespreken wij hoe een embryonale vis aan voldoende zuurstof komt voordat het bloedvaatstelsel functioneel is. Een goede zuurstoftoevoer is natuurlijk een essentiële levensvoorwaarde. In de nabije toekomst hopen wij in te gaan op de groei van de wervelkolom en de afwijkingen die daarin kunnen optreden, een veel voorkomend probleem in de visteelt. Alvorens het probleem van de zuurstoftoevoer te bespreken gaan wij eerst kort in op onze onderzoeksaanpak.

Algemene aanpak

De leerstoelgroep Experimentele Zoölogie bestudeert mechanismen van ontwikkeling, groei en adaptatie van vissen op diverse structurele niveaus, van moleculen tot ecosysteem. We gebruiken zowel natuurkundige principes als moleculaire analyses om de vorm- en functieveranderingen tijdens de ontwikkeling te verklaren. In de meeste van onze onderzoeken passen wij een deductieve methode toe (figuur 1). Dit houdt in dat wij trachten om vorm- en functieaspecten te voorspellen door het maken van een model. Soms bouwen we een biologische constructie na. Uiteraard wordt hierbij de werkelijkheid sterk vereenvoudigd. We spreken in dit geval van een fysisch model. Veelal betreft het echter een

rekenmodel dat omgezet is in een computerprogramma waarmee simulaties van de werkelijkheid kunnen worden gemaakt. In beide gevallen worden voorspellingen gemaakt van de vormen of de functies die worden bestudeerd. De voorspellingen worden getoetst met behulp van experimenten. Hoe beter de voorspelling en de metingen overeenkomen, hoe beter het model is. Bij afwijkingen tussen model en werkelijkheid kunnen onnauwkeurigheden of fouten in het model een rol spelen, maar er kunnen natuurlijk ook fouten optreden in het meetproces, immers elke meting beïnvloedt ook het biologische proces en is per definitie nooit exact. Een groot voordeel van deze deductieve aanpak is dat de onderzoeker gedwongen wordt om elke stap helder en logisch te formuleren en daarnaast ook te kwantificeren. Bij het maken van een model is het essentieel dat daarin de meest belangrijke parameters worden meegenomen. Bij het constateren van afwijkingen tussen model en metingen wordt nagegaan waar waarschijnlijk de grootste afwijkingen optreden en hoe model en experiment verbeterd kunnen worden. De gewenste verbeteringen worden dan aangebracht in model en experiment en de modelvoorspellingen worden vervolgens weer vergeleken met de meetresultaten. Dit proces wordt

Deductieve aanpak

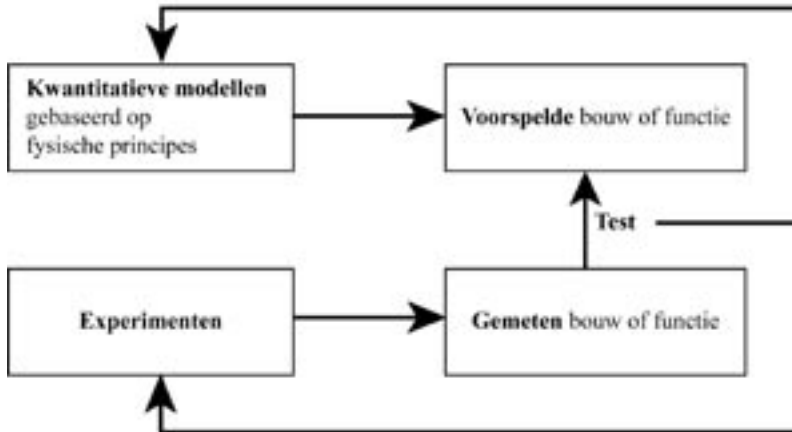


Fig. 1: Schema van deductieve aanpak.

herhaald totdat er een bevredigende overeenkomst tussen beiden gevonden wordt. Deze aanpak heeft dit geleid tot fundamenteel nieuwe inzichten over larvale groei van vissen. Wij bespreken nu een voorbeeld van ons onderzoek aan vissen.

Zuurstofopname beperkt de maximale grootte van visseneieren

In een pas bevrucht vissenei is nog geen bloedvatstelsel aanwezig. Toch verbruikt het zich ontwikkelende embryo wel zuurstof en voedingsstoffen en produceert het afvalstoffen die moeten worden afgevoerd. Deze processen zijn in de jonge embryo's afhankelijk van diffusie. Wij zullen ons hier richten op de voorziening van zuurstof. De toevoer van zuurstof moet van buiten het embryo komen. Hierbij spelen zowel convectie (stroming) als diffusie een rol. Als het water rond het embryo stil staat is uitsluitend diffusie van belang. Dit is doorgaans echter niet het geval, wel kunnen zeer lage stroomsnelheden voorkomen. Door verbruik van zuurstof in het embryo neemt de zuurstofconcentratie af. Zuurstofmoleculen

bewegen netto in de richting van een lagere zuurstofconcentratie. Dit plaats- en tijdsafhankelijke proces kan worden beschreven door de diffusievergelijking (ook wel de 2e wet van Fick genoemd). Wij hebben een simulatiemodel gemaakt (Kranenbarg et al. 2000) waarin we deze vergelijking hebben opgelost voor eenvoudige lichaamsvormen zoals een vlakke plaat en een bol. Wij voorspelden dat de maximale diameter van het ei door de diffusieprocessen wordt beperkt tot ongeveer 1 mm. Dit kwam overeen met eerdere voorspellingen en de maximale grootte die daadwerkelijk bij eieren van beenvissen gevonden wordt. De maximale grootte wordt dus beperkt door de consumptie van zuurstof door het embryo en de zuurstoftoevoer die afhankelijk is van convectie en diffusie.

Daarnaast vonden wij dat de optimale vorm voor de zuurstoftoevoer naar een embryo een vlakke plaat is als er relatief veel stroming rond het embryo optreedt (Kranenbarg et al. 2001). De grote oppervlakte-inhoud-verhouding van een vlakke plaat is ideaal als de zuurstofconcentratie

op de huid hoog wordt gehouden door stroming. De diffusieafstanden in het lichaam tot de huid zijn in dit geval overal gering. Een bolvorm is echter optimaal als de stromingssnelheid rond het embryo laag is en de externe zuurstoftoevoer vooral geschiedt via een dikke diffusiegrenslaag rond het embryo. Met een bolvorm geschiedt de toevoer van alle mogelijke richtingen, in tegenstelling tot de plaat waarbij deze vooral loodrecht op het oppervlak optreedt. Er is een tussenliggend gebied waarbij de lichaamsvorm relatief onbelangrijk is. Het lijkt er dus op dat visseneieren zijn aangepast aan de meest ongunstige situatie van weinig stroming rond het embryo (Fig. 2). Het embryo zelf heeft echter een lichaamsvorm die meer aansluit bij de intermediaire situatie. Als we de grootte van het embryo beschouwen lijkt het er overigens op dat het bloedvaatstelsel zich niet in eerste instantie ontwikkelt om zuurstof te transporteren, maar voedingsstoffen. Zuurstof speelt waarschijnlijk wel een belangrijke rol in de expressie van genen die tot bloedvatvorming leiden.

De dooier is belangrijk voor de zuurstofvoorziening van embryonale vissen

Daarnaast hebben wij een numeriek simulatiemodel gemaakt waarin een zo realistisch mogelijke weergave van de vorm van het lichaam werd opgenomen (Kranenborg et al. 2003). Dit is vooral interessant als men wil weten hoe de zuurstofverdeling tot stand komt binnen het lichaam en hoe verschillende onderdelen van het lichaam daaraan bijdragen.

Voor de berekening van de zuurstofconcentratie in het lichaam zijn gegevens vereist over het zuurstofverbruik en de permeabiliteit van zuurstof (een maat voor het gemak waarmee diffusie optreedt) voor de diverse weefsels. Met ons model en metingen toonden wij aan dat de dooier een cruciale rol speelt in de opname van zuurstof door het



Fig. 2: Zebrafissenei van ongeveer 24 uur oud, net voor het uitkomen.

embryo. De dooier heeft een relatief grote oplosbaarheid voor zuurstof, die zorgt voor een grote permeabiliteit. De bolle vorm van de dooier is ideaal voor de opname van zuurstof uit het omringende medium als deze gedomineerd wordt door diffusie (weinig effect van waterstroming). Hierdoor ontstaat er dicht tegen de (in dit stadium relatief grote) kop een zuurstofreservoir waaruit het embryo voortdurend put. Onze modelvoorspellingen lieten zien dat bij de verwijdering van de dooier de hersenen zuurstofgebrek kunnen krijgen. De dooier speelt dus niet alleen een belangrijke rol in de voorziening van nutriënten maar ook voor die van zuurstof. De modelvoorspelling werden getoetst door metingen van de zuurstofconcentratie in het embryo met een zuurstofelectrode waarvan de positie met een nauwkeurige stappenmotor werd aangestuurd. Het model bleek goed overeen te komen met de werkelijkheid, zoals te zien is in figuur 3.

Referenties

- Kranenborg S, Muller M, Gielen JLW, Verhagen JHG 2000 Physical constraints on

body size in teleost embryos. JOURNAL OF THEORETICAL BIOLOGY 204 (1): 113-133.

- Kranenbarg S, Van Den Boogaart JGM, Van Leeuwen JL 2003 Oxygen profile in zebra fish embryo (Danio rerio) elucidated by theory and experiment. ANIMAL BIOLOGY 53 (4): 339-346.
- Kranenbarg S, Verhagen JHG, Muller M, van

Leeuwen JL 2001 Consequences of forced convection for the constraints on size and shape in embryos. JOURNAL OF THEORETICAL BIOLOGY 212 (4): 521-533.

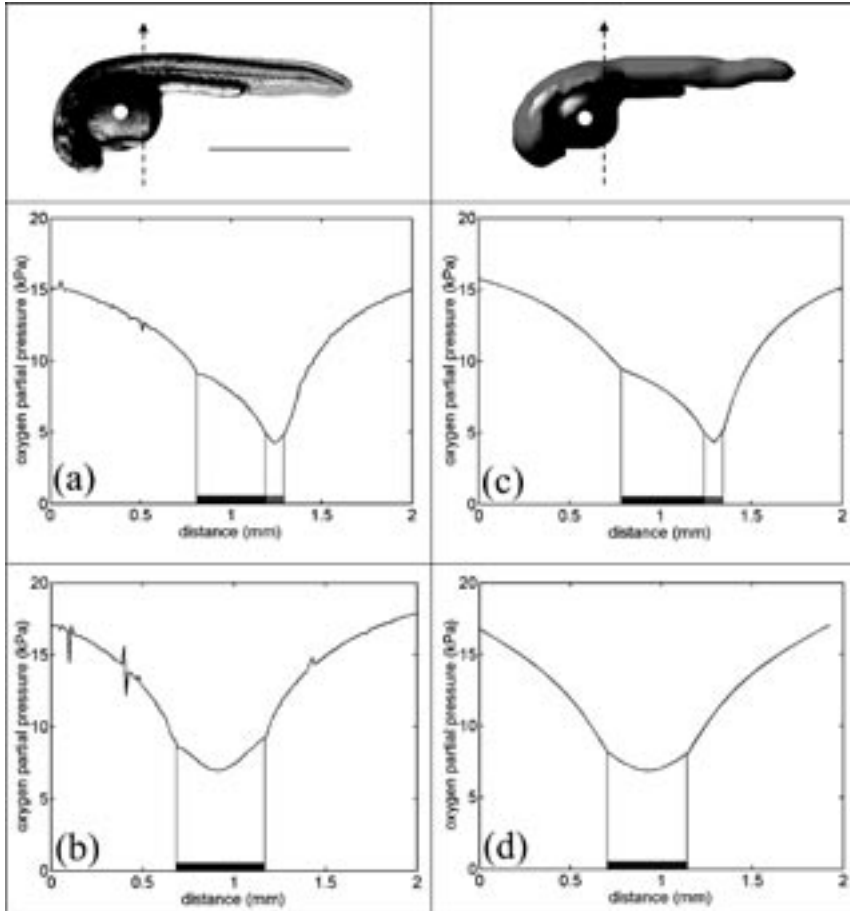


Fig. 3 Meting van de hoeveelheid zuurstof in en om het embryo (linker kolom) en de voorspelling van het model (rechter kolom). Plaatjes a en c geven het zuurstofprofiel weer in de richting van de gearceerde pijl, plaatjes b en d geven het zuurstofprofiel weer loodrecht op het papier door de dooier.