

ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЯ И КАЛИЯ В КРОВИ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРБАРИИ

Исследовали влияние гидростатического давления на перераспределение ионов Na^+ и K^+ в системе плазма — эритроциты у 2 видов черноморских рыб, различающихся по двигательной активности. Показано значительное влияние гипербарии на перераспределение ионов в крови подвижного ласкиря (*Diplodus annularis* L.) и отсутствие воздействия предложенной гидростатической нагрузки на ионный статус в плазме и эритроцитах малоподвижной скорпены (*Scorpenae roscus*). Обсуждается возможное участие гормонов в механизмах, обеспечивающих перераспределение одновалентных ионов. Высказано предположение о взаимосвязи ионного перераспределения в системе плазма — эритроциты с кислородтранспортной функцией крови рыб.

Изучение воздействия гидростатического давления на систему крови рыб основывается на том, что гипербария затрагивает транспортные процессы в эритроцитах [17]. К ним относятся ионтранспортирующие системы одновалентных катионов натрия и калия. Гипербария может выступать как фактор не только непосредственного воздействия на ионные потоки, но и неспецифического напряжения, часто именуемого стрессом [5] и вызывающего выброс катехоламинов в русло крови. Наличие катехоламинзависимых ионных токов в ядерных эритроцитах продемонстрировано рядом исследователей [13, 16]. Запуск этих механизмов в период гормональных выбросов может существенно осложнять интерпретацию результатов воздействия гипербарии, полученных *in vivo*. Кроме того, рыбы могут значительно различаться по степени устойчивости к стрессу. Учитывая, что этот показатель имеет положительную корреляцию с подвижностью рыб [3], были отобраны 2 вида, отличающиеся степенью двигательной активности.

Таким образом, в настоящем исследовании основное внимание было уделено изучению перераспределения в системе плазма — эритроциты одновалентных катионов Na^+ и K^+ в ответ на гидростатическую нагрузку у различающихся по экологии рыб в условиях *in vivo* и *in vitro*.

Материал и методика. Для экспериментов были выбраны 2 вида рыб: подвижный, маневренный ласкирь (*Diplodus annularis* L.) и малоподвижный засадчик-скорпена (*Scorpenae roscus* L.) Рыбу отлавливали ставным неводом в районе Карадагской бухты в Крыму. Суточную акклиматизацию животных проводили в бассейнах с проточной морской водой, принимая это состояние за состояние относительного покоя. Гидростатической нагрузке подвергали рыб и образцы выделенной цельной крови, которые помещали в специальную поршневую ячейку объемом 2 мл. Ячейка устроена так, что при сохранении герметичности обеспечивала полную передачу внешнего гидростатического давления на образцы крови. Опыты проводили в гипербарической установке с объемом рабочей камеры 20 л. Давление в рабочей камере величиной 30 атм¹ задавали гидравлическим поршнем в течение 2 ч при температуре 18 °С. Для экспериментов с цельной кровью контрольными считали образцы, которые выдерживали параллельно в течение 2 ч при атмосферном давлении.

Кровь у рыб отбирали пункцией хвостовой аорты с помощью остроза-точенной пипетки и помещали ее в пластиковые пробирки, содержащие гепарин в расчете 50 ЕД · мл⁻¹ крови. Для проведения опытов с цельной кровью *in vitro* ее получали с таким расчетом, чтобы одного образца от рыбы хватало для заполнения поршневой ячейки и для контрольной пробы.

¹ Нормальное атмосферное давление. 1 атм равно 1013,25 гПа.

Для определения в плазме и эритроцитах рыб концентрации Na^+ и K^+ 400 мкл крови помещали в запаянные с одного конца пластиковые капилляры диаметром 2,5 мм и длиной 100—110 мм. Затем в рефрижераторной центрифуге (К-23, Германия) в капиллярах кровь разделяли на плазму и форменные элементы при 2800 q в течение 20 мин. Отцентрифугированные капилляры вблизи границы раздела фаз крови разрезали на два блока, содержащие плазму и эритроциты. Плазму (0,1 мл) отсасывали мерной пипеткой с оттянутым концом и разводили в 100 раз дистиллированной водой. Блок эритроцитов взвешивали на аналитических весах перед и после лизиса клеток в дистиллированной воде, определяя массу упакованных эритроцитов. Плотность упакованных клеток составляла $1,07 \text{ г} \cdot \text{см}^3$.

Таблица 1. Содержание натрия и калия ($\text{ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$) в плазме и эритроцитах ласкиря в контроле и при гипербарии 1 и 30 атм

Условие опыта	Плазма		Эритроциты	
	Na^+	K^+	Na^+	K^+
Рыба				
после суточной акклимации (контроль)	$160,0 \pm 1,0$ (5)	$6,4 \pm 0,6$ (5)	$32,0 \pm 4,0$ (8)	$94,0 \pm 2,0$ (5)
при 30 атм	$163,0 \pm 2,0$ (3)	$6,6 \pm 0,2$ (9)	$50,0 \pm 2,0$ (9)	$78,0 \pm 2,0$ (9)
Кровь				
при 1 атм (контроль)	$161,0 \pm 1,0$ (4)	$7,2 \pm 0,6$ (7)	$25,0 \pm 3,0$ (7)	$88,0 \pm 2,0$ (7)
при 30 атм	$158,0 \pm 2,0$ (3)	$3,6 \pm 0,3$ (7)	$28,0 \pm 2,0$ (7)	$89,0 \pm 2,0$ (7)

Примечание. Здесь и в табл. 2 цифры в скобках — количество опытов; $P = 0,05$.

процент захваченной плазмы не превышал 5. Определение концентрации ионов Na^+ и K^+ в полученных пробах проводили на пламенном фотометре фирмы «Карл-Цейс» (модель-3, Германия). Концентрацию катионов выражали в миллимолях на 1 л. Результаты исследований статистически обрабатывали [4].

Результаты и обсуждение. Л а с к и р ь. Концентрация Na^+ в плазме крови ласкиря составляла около $160 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ и не изменялась при гипербарии как в условиях *in vivo*, так *in vitro*. Концентрация K^+ в плазме рыб, подвергнутых гидростатическому давлению, не изменялась и была близка к фоновому значению. Напротив, в опытах *in vitro* концентрация K^+ в плазме крови после нагрузки была достоверно ниже, чем в контроле.

Отмеченное нами низкое содержание K^+ в плазме крови после гидростатической нагрузки, вероятно, связано с уменьшением пассивного потока K^+ из эритроцитов по градиенту его концентрации. Это воздействие подобно влиянию низкой температуры, эффект которой был показан нами на эритроцитах рыб в более ранних исследованиях [7].

Наиболее значительное перераспределение катионов Na^+ и K^+ происходило в эритроцитах рыб, подвергнутых гипербарии (табл. 1). В этих экспериментах наблюдали выход K^+ ($16 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$) и вход Na^+ (приrost $18 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$). Близость суммы одновалентных катионов в клетках ласкиря до и после нагрузки указывала на отсутствие нарушения осмотического баланса. Перераспределение катионов в крови ласкиря при гипербарии можно отнести к неспецифическому ответу, который вызван стрессовым состоянием. В ходе эксперимента с учетом быстрого нагнетания давления и декомпрессии заданные условия могут представляться для этого вида как экстремальные и вызывать перераспределение катионов в системе крови подобно тем, какие происходят при других воздействиях. Как установлено, аналогичный ответ ионных токов в системе плазма — эрит-

роциты рыб вызывают физические нагрузки, хэндлинг, поимка и транспортировка, гипоксия [1, 7, 9, 15]. Сходство перераспределения одновалентных катионов в эритроцитах рыб в ответ на стрессовые воздействия указывает на универсальность механизмов, запускающих встречные потоки Na^+ и K^+ . Есть основания полагать, что запускающими эти механизмы факторами в крови могут быть гормоны, и в частности катехоламины. Так, выброс гормонов в русло крови при стрессе обеспечивает активацию специфических переносчиков в плазматических мембранах эритроцитов и вызывает изменение внутриклеточного ионного состава [2, 11, 12]. По-видимому, физиологический смысл этих изменений в клетках связан с оптимизацией кислородтранспортных свойств эритроцитов в ситуациях, когда появляется необходимость компенсировать его недостаток.

Таблица 2. Содержания натрия и калия ($\text{ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$) в плазме и эритроцитах скорпены в контроле и при гипербарии 1 и 30 атм

Условие опыта	Плазма		Эритроциты	
	Na^+	K^+	Na^+	K^+
Рыба				
после суточной акклимации (контроль)	$157,0 \pm 3,0$ (5)	$5,0 \pm 1,0$ (5)	$19,0 \pm 2,0$ (5)	$97,0 \pm 4,0$ (5)
при 30 атм	$157,0 \pm 4,0$ (5)	$6,0 \pm 1,0$ (5)	$17,0 \pm 1,0$ (5)	$96,0 \pm 3,0$ (5)
Кровь				
при 1 атм (контроль)	$151,0 \pm 4,0$ (5)	$6,0 \pm 1,0$ (5)	$17,0 \pm 1,0$ (5)	$97,0 \pm 3,0$ (5)
при 30 атм	$157,0 \pm 5,0$ (5)	$5,0 \pm 1,0$ (5)	$21,0 \pm 1,0$ (5)	$95,0 \pm 3,0$ (5)

Скорпена. Концентрация Na^+ и K^+ в плазме и эритроцитах скорпены была близка к ионному составу плазмы и клеток крови ласкиря (табл. 2). В отличие от ласкиря у скорпены не отмечено перераспределения катионов в крови при гидростатической нагрузке как в целом организме, так и на выделенных образцах. Можно полагать, что отсутствие эффекта воздействия гидростатического давления на кровь связано, с одной стороны, с низкой проницаемостью плазматических мембран эритроцитов этого вида для одновалентных катионов и гидростатическое давление 30 атм не оказывает заметного влияния на нетто потоки катионов в условиях *in vitro*, с другой — отсутствие эффекта воздействия гидростатического давления в условиях *in vivo* может быть связано с более высокой толерантностью скорпены по сравнению с иными видами рыб к различным стрессовым факторам. Считается установленным факт взаимосвязи подвижности рыб и скорости гормонального ответа на стрессовые ситуации [3]. Так, у подвижного лосося уровень кортизола в крови возрастал через 15 мин после поимки [14], у скорпены же поступление в кровь кортикоидов после болевого воздействия отсутствовало, после поилки наблюдалось только через 40—60 мин [10]. Кроме того, гормональный ответ у скорпены может быть ниже, чем у ласкиря. Установлено, что скорпена обладает значительно меньшими запасами катехоламинов по сравнению со смаридой, которая по экологии близка к ласкирю [8].

Таким образом, низким уровнем гормонального ответа на стресс у скорпены можно объяснить отсутствие запуска механизмов, осуществляющих сдвиг концентрации катионов в эритроцитах этого вида.

1. Мартеньянов В. И., Запруднова Р. А. Динамика концентрации электролитов в плазме крови, эритроцитах и мышечной ткани пресноводных рыб при стрессе // Биол. науки.— 1982.— № 10.— С. 44—49.
2. Орлов С. Н., Скрябин Г. А., Котелевцев С. В., Козлов Ю. П. Рецепторы и объемзависимая регуляция Na^+/K^+ насоса ионных переносчиков в эритроцитах рыб // Там же.— 1990.— № 6.— С. 27—36.

3. Плисская Э. М. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. — Л. : Наука, 1975. — 214 с.
4. Рокицкий Л. Ф. Биологическая статистика. — Минск : Высшейш. шк., 1973. — 320 с.
5. Селье Г. На уровне целого организма. — М. : Наука, 1972. — 123 с.
6. Силкин Ю. А. Исследование пассивной проницаемости эритроцитов хрящевых и костистых рыб Черного моря для ионов натрия и калия : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1989. — 25 с.
7. Силкин Ю. А. Влияние мышечной нагрузки на концентрацию ионов K^+ в эритроцитах ласкиры и ставриды // VII Всесоюз. конф. : Тез. докл. Ярославль, май 1989 г. — Рыбинск, 1989. — С. 140—141.
8. Станковский Е. М. Адреналин и норадреналин в органах хрящевых и костистых рыб Черного моря // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 1969. — 1, № 5. — С. 38—41.
9. Флерова Г. И. Внутривидовые и межвидовые различия катионного состава плазмы крови и эритроцитов некоторых пресноводных рыб // Вопр. ихтиологии. — 1983. — 23, вып. 11. — С. 126—134.
10. Чуйко В. Л. Содержание глюкокортикоидов в плазме черноморских рыб // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 1968. — 2, № 4. — С. 385—386.
11. Borgese F., Garsia-Romeu F., Moteis R. Control of cell volume and ion transport by catecholamines in erythrocytes of rainbow trout: effect of pH // J. Physiol. (Gr. Brit.). — 1987. — 38, N 7. — P. 145—147.
12. Borgese F., Garsia-Romeu F., Moteis R. Ion movements and volume changes induced by catecholamines in erythrocytes of rainbow trout *Salmo gairdneri* // Ibid. — P. 123—144.
13. Cossins A. K., Richardson P. A. Adrenaline-induced, Na/K exchange in trout erythrocytes and its effects upon oxygen carrying capacity // J. Exp. Biol. — 82, N 1. — 1987. — P. 229—246.
14. Fagerlund U. H. Plasma cortisol concentrations in relation to stress in adult sockeye salmon during the freshwater stage of their life cycle // Gen. and Comp. Endocrinol. — 1967. — 2, N 1. — P. 197—207.
15. Ferguson R. A., Boutilier R. G. Metabolic-membrane coupling in red blood cells of trout: the effects of anoxia and adrenergic stimulations // J. Exp. Biol. — 1989. — 143, N 1. — P. 149—164.
16. Nikinmaa M. Effects of adrenaline on red cell volume and concentration gradient of protons across the red cell membrane in the rainbow trout *Salmo gairdneri* // Mol. Physiol. — 1982. — 1, N 2. — P. 287—297.
17. Peguex A., Gilles R. High pressure effects on selected biological system. — Berlin : Springer, 1982. — 837 p.

Карадаг. филиал Ин-та биологии юж. морей
им. А. О. Ковалевского АН Украины, Феодосия
Ин-т биологии юж. морей им. А. О. Ковалевского
АН Украины, Севастополь

Получено 6.03.92

Yu. A. SILKIN, A. Ya. STOLBOV

SODIUM AND POTASSIUM REDISTRIBUTION IN THE BLOOD OF THE BLACK SEA FISH UNDER HYPERBARIA

Summary

Redistribution of Na^+ and K^+ ions in the blood of two species of the Black Sea fish differing in motor activity has been studied as affected by the hydrostatic pressure. Experiments were carried out using the hyperbaric plant under constant pressure 30 Pa and at 18 °C. Fish and separately taken blood samples placed into the piston cell were kept in the plant for 2 h.

Effect of high pressure on redistribution of ions of *Diplodus annul* L. under the in vivo and in vitro conditions as well as absence of the effect in low-mobile *Scorpenae porcus* L. are shown.

Possible participation of hormones in the processes of redistribution of univalent cations in erythrocytes of mobile species is discussed. A supposition on interrelation between ionic redistribution in the plasma-erythrocyte system and the oxygen-transport function of the fish blood is advanced.