
МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ "РАЦИОНАЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
РЕСУРСОВ МОРЯ - ВАЖНЫЙ ВКЛАД В РЕАЛИЗАЦИЮ ПРОДО-
ВОЛЬСТВЕННОЙ ПРОГРАММЫ"

№ 2556-85 *Олн*

УДК 591.121:597

А.А.Солдатов, А.М.Сташков

КРИВЫЕ КИСЛОРОДНОГО НАСЫЩЕНИЯ КРОВИ БЫЧКА-МАРТО-
ВИКА ПРИ АККЛИМАЦИИ К РАЗЛИЧНЫМ ТЕМПЕРАТУРАМ.

Температура является одним из основных факторов внешней среды, оказывающим влияние на жизнедеятельность эктотермных организмов, в том числе и рыб. Большое внимание исследователи уделяют изучению связи между температурой окружающей среды и кислородными потребностями организма водных животных. Зависимость кислородных потребностей тканей эктотермов от температуры в настоящее время достаточно хорошо изучена [1]. Много меньше исследована взаимосвязь между температурой и гипоксией. Из полученных на сегодняшний день данных следует, что при изменении температуры среды, состояние гипоксии у рыб развивается преимущественно на основе внутренних причин и связано с изменением состояния систем кислородного обеспечения организма [2,3]. Известно, что адаптация к гипоксии считается завершенной в том случае, если она достигается на уровне системы красной крови [4]. Поэтому изучению влияния температуры на данную физиологическую систему уделяется особо пристальное внимание.

В настоящей работе рассматривается функциональное сос-

тояние гемоглобина холоднолюбивого бычка-мартовика при повышении температуры внешней среды.

Материал и методика.

Особей бычка-мартовика отлавливали в середине весны при температуре воды $7-10^{\circ}\text{C}$ в состоянии относительного физиологического покоя. Использовали особей обоего пола, в возрасте 3-4-х лет, при I-II стадии зрелости гонад. Рыбу завозили в аквариальную и размещали в аквариумах при температуре воды $10,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Адаптация к условиям искусственного содержания достигалась в течение 30 суток. Эту группу в дальнейшем рассматривали как контрольную. Затем температуру воды повышали до $15,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $20,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $25,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Температуру изменяли со скоростью $0,05-0,10^{\circ}\text{C}/\text{час}$. После достижения соответствующих температурных режимов исследовали функциональное состояние гемоглобина в течение 20 суток. Пробы крови отбирали через каждые 10 суток.

Концентрацию АТФ в эритроцитах периферической крови определяли неферментативным методом Е.Дусе, С.Бессман [5].

Кривые кислородного насыщения крови строили в соответствии с методикой Л.Б.Кляшторина, Р.Ф.Саликзянова [6].

Гемоглобин разделяли на фракции при помощи диск-электрофореза в ЦААГе. Применяли 7% разделяющий гель /рН 8,9/. Полученные электрофореграммы разрезали на диски толщиной 2 мм. Белок элюировали 0,1н раствором NaOH. Содержание гемоглобина в элюатах определяли спектрофотометрически при помощи цианметгемоглобинового метода $\lambda=540 \text{ нм}$.

рН цельной крови определяли с помощью микрометода на рН-метре марки рН-232.

Во всех случаях, пробы крови термостатировали в ультра-термостате /УТ-15/ при температуре, равной температуре воды, в условиях которой содержались особи.

Цифровой материал обработан статистически с использованием критерия Стьюдента [7]. Обработку проводили на микро-ЭВМ "Электроника БЗ-21" по программам Л.И.Францевича [8].

Результаты и их обсуждение.

Повышение температуры от 10°C до 15°C, 20°C и 25°C приводило в I-е сутки акклимации к снижению сродства крови к кислороду. Кривые кислородного насыщения крови смешались вправо. P_{50} увеличивалось на 4,5 мм рт.ст., 7,1 мм рт.ст. и 8,7 мм рт.ст. - соответственно. Коэффициент Хилла не изменялся /рис.1/.

Известно, что сродство крови к кислороду зависит от температуры, pH, концентрации органических фосфатов в эритроците и состояния гемоглобиновой системы [9]. Повышение температуры уменьшает, а понижение увеличивает сродство гемоглобина к кислороду, вследствие экзотермичности реакции оксигенации и эндотермичности реакции диссоциации оксигемоглобина [9]. Полученные нами результаты не явились исключением из этого правила. Сродство крови к кислороду в I-е сутки акклимации уменьшалось при увеличении температуры. Это полностью совпадало с данными, полученными для других видов рыб [10].

Определяя pH крови, нам удалось показать, что повышение температуры приводило к стойкому закислению, а понижение к стойкому защелачиванию периферической крови /таблица/.

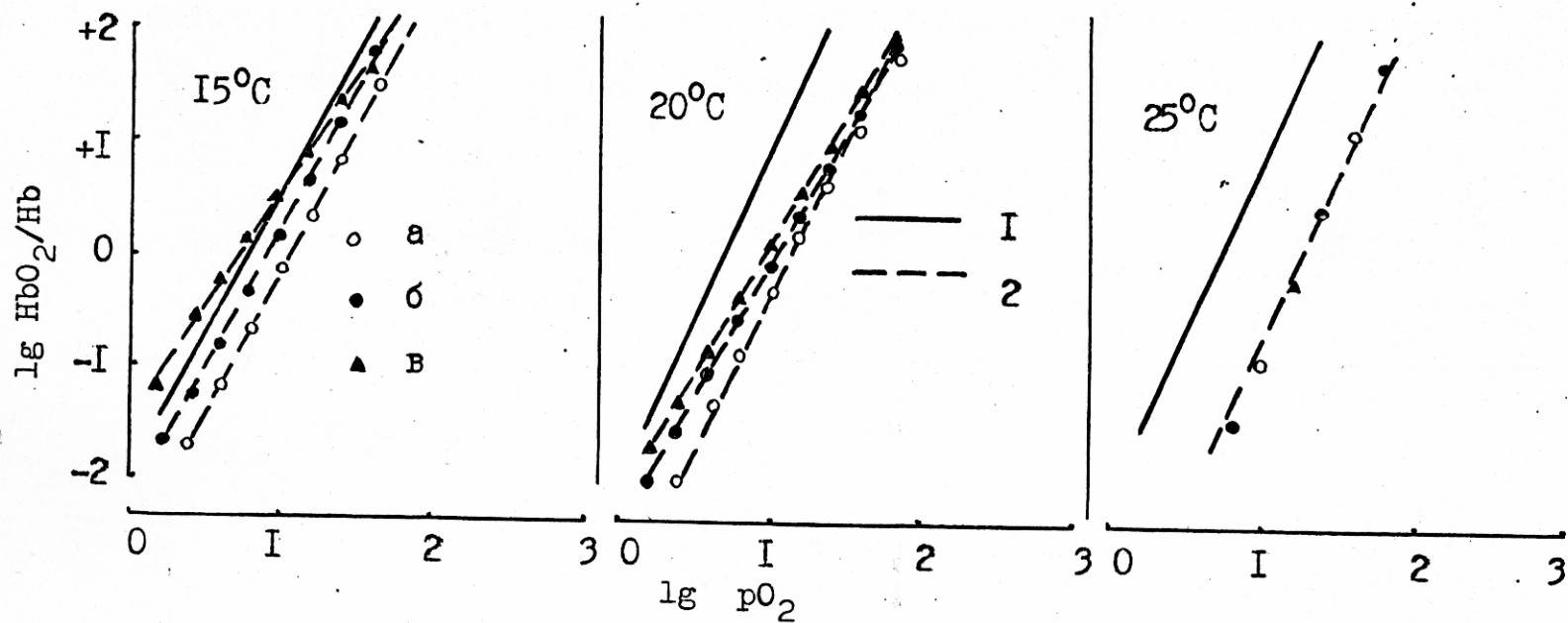


Рис. I Кривые кислородного насыщения крови бычка-мартовика при акклимации к различным температурам (I-контроль; 2-опыт; а-1-е сутки акклимации; б-10-е сутки акклимации; в-20-е сутки акклимации).

Таблица.

Концентрация АТФ в эритроцитах и рН цельной крови у особей бычка-мартовика при акклимации к различным температурам.

Температура, °C	Контрольные данные	О п ы т н ы е д а н н ы е		
		Продолжительность акклимационного периода, сутки		
		I	10	20
10	8,29±0,12 7,82±0,02			
15		7,09±0,10	7,56±0,08	8,20±0,10
		7,77±0,02	7,78±0,03	7,77±0,02
20		5,82±0,08	6,21±0,09	6,98±0,05
		7,68±0,02	7,66±0,02	7,67±0,02
25		4,97±0,11	4,97±0,10	4,99±0,10
		7,60±0,03	7,61±0,02	7,60±0,02

Примечание: в числителе концентрация АТФ в эритроцитах, мкмоль/г Нв ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$),
в знаменателе рН цельной крови ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$).

Аналогичные результаты приводятся и для других видов рыб [11]. Известно, что увеличение pH приводит к уменьшению P_{50} , а уменьшение pH, напротив, увеличивает P_{50} [9]. В наших экспериментах это также имело место. P_{50} у бычка-мартовика увеличивалось при уменьшении pH.

АТФ является основным регулятором сродства гемоглобина к кислороду в эритроцитах рыб [12]. Повышение концентрации данного соединения в клетках красной крови сопровождается уменьшением сродства гемоглобина к кислороду и, наоборот, уменьшение концентрации АТФ увеличивает сродство гемоглобина к кислороду у рыб [13]. Как было показано, концентрация АТФ в эритроцитах бычка-мартовика уменьшалась в 1-е сутки акклимации к соответствующим температурам /таблица/. Это должно приводить к смещению кривых кислородного насыщения крови влево. Однако, полученные нами результаты свидетельствовали о противоположном. Кривые кислородного насыщения крови смещались вправо /рис.1/.

Гемоглобиновая система бычка-мартовика в 1-е сутки акклимации к соответствующим температурам не претерпевала статистически значимых изменений /рис.2,3/.

Таким образом, в 1-е сутки акклимации, из всех факторов, оказывающих влияние на кислородосвязывающую способность гемоглобина, действие температуры и pH оказывалось преимущественным. Остальные факторы не оказывали существенного влияния на сродство крови к кислороду у данного вида.

На 10-20-е сутки акклимации температура и pH крови оставались на уровне значений, отмеченных в 1-е сутки акклимации. Вместе с тем, при 15°C и 20°C сродство крови

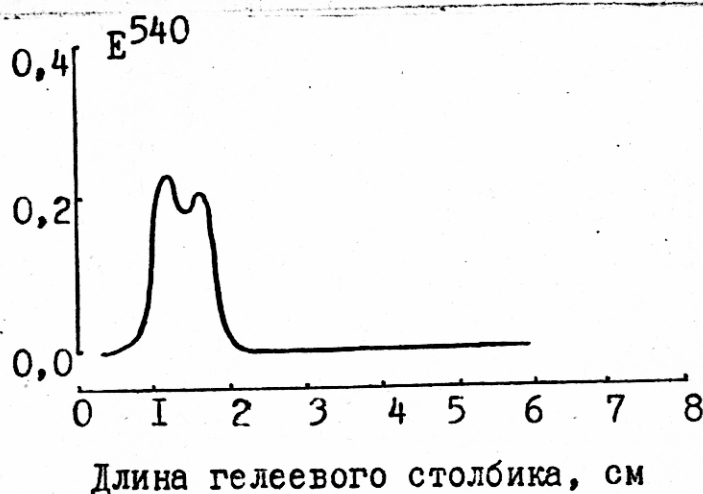


Рис.2 Электрофоретический профиль гемоглобина бычка-мартовика.

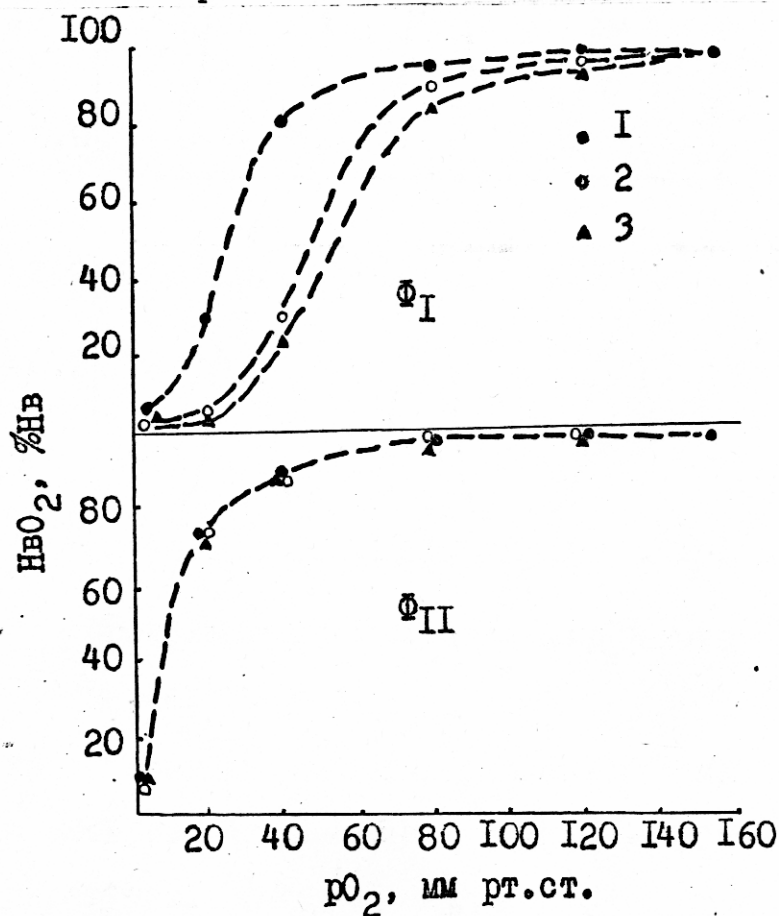


Рис.4 Кривые диссоциации оксигемоглобина Φ_I и Φ_{II} гемоглобина бычка-мартовика в зависимости от состава инкубационной среды (1- 15°C, pH 7,4; 2- 15°C, pH 6,8; 3- 15°C, pH 7,4 + 5 мм АТФ).

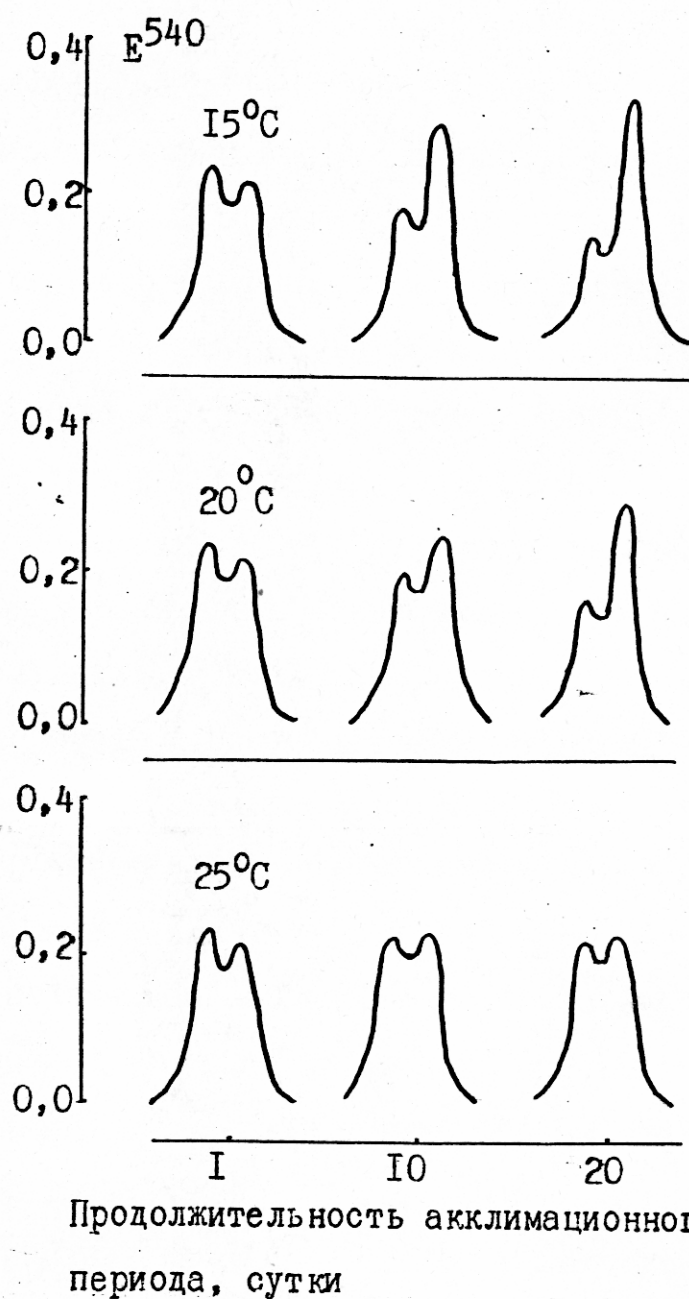


Рис.3 Гемоглобиновая система бычка-мартовика в процессе акклимации к отдельным температурам.

бычка-мартовика к кислороду увеличивалось, в сравнении с данными, полученными в 1-е сутки акклимации. Кривые кислородного насыщения крови смещались влево. Одновременно повышался кооперативный эффект взаимодействия субъединиц в гемоглобине данного вида. Например, коэффициент Хилла при температуре 15°C снижался и на 20-е сутки был равен 1,97, что на 21,8% ниже контрольного уровня /рис.1/.

На 10-20-е сутки акклимации при 15°C и 20°C отмечали увеличение концентрации АТФ в эритроцитах. Однако, как уже отмечалось, увеличение концентрации АТФ должно снижать сродство гемоглобина к кислороду, тогда как у бычка-мартовика сродство крови к кислороду увеличивалось.

Анализ состояния гемоглобиновой системы у бычка-мартовика на 10-20-е сутки акклимации к температурам 15°C и 20°C показал, что число фракций, их электрофоретическая подвижность оставались без изменений. Вместе с тем, содержание гемоглобина в каждой из фракций существенно изменялось /рис.3/. В Φ_{II} содержание гемоглобина увеличивалось, а в Φ_I уменьшалось. Данные фракции были выделены и изучены их газотранспортные характеристики, чувствительность к АТФ и рН. Оказалось, что Φ_{II} обладала высоким сродством к кислороду и практически полным отсутствием чувствительности к АТФ и рН /рис.4/. Напротив, Φ_I имела сравнительно низкое сродство к кислороду и высокую чувствительность к АТФ и рН. В связи с этим, увеличение содержания гемоглобина в Φ_{II} и снижение содержания гемоглобина в Φ_I приводило, с одной стороны, к увеличению сродства крови к кислороду, а, с другой стороны, гемоглобиновая система "уходила" из под

влияния повышенных концентрации АТФ в эритроците и низких значениях рН крови. Тем самым, обеспечивалась адаптация гемоглобиновой системы данного вида к новым температурным условиям среды.

Заключение.

Сродство цельной крови бычка-мартовика к кислороду в 1-е сутки акклимации равномерно снижалось при повышении температуры от 10°C до 15°C, 20°C и 25°C. Данные изменения были обусловлены как действием температурного фактора, так и изменением рН крови. Более длительное содержание /20 суток/ особей данного вида при температурах 15°C и 20°C приводило к полному или частичному восстановлению кислородсвязывающих свойств крови. Восстановление достигалось за счет количественных перестроек в гемоглобиновой системе. При температуре 25°C восстановления сродства крови к кислороду и перестроек в гемоглобиновой системе не наблюдали.

Литература.

1. Ивлева И.В. Температура среды и скорость энергетического обмена у водных животных. - Киев: Наукова думка, 1981, 230 с.
2. Остроумова И.Н. Динамика состава крови зимующих сеголетков карпа, выращенных на разных рационах. - Изв. ГосНИОРХ, 1972, т. 81, с. 36-58.
3. Смирнова Л.И. К вопросу о механизме сезонных изменений крови рыб. - Бопр. ихт., 1965, т. 21, в. 1, с. 126-135.
4. Барбашова З.И. Динамика повышения резистентности организма и адаптивных реакции на клеточном уровне в процессе адаптации к гипоксии. - Усп. физиол. наук, 1970, №3, с. 70-80.

5. Терехов Н.Т., Петров М.М. Клиническое применение консервированных эритроцитов.- Киев: Здоровье. 1983, 145 с.
6. Кляшторин Л.Б., Сализянов Р.Ф. Определение кривых кислородного насыщения крови рыб.- Биол. внутр. вод, 1980, №4-7, с.68-71.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия.- М.: Высшая школа. 1980, 290 с.
8. Францевич Л.И. Обработка результатов биологических экспериментов на микро-ЭВМ "Электроника БЗ-21".- Киев: Наукова думка. 1979, 90 с.
9. Иржак Л.И. Гемоглобины и их свойства.- М.: Наука, 1975, 240 с.
10. Bartlett G.R. Water - soluble phosphates of fish red cells. - Can. J. Zool., 1978, 56, N4, Part 2, 870-877.
11. Eddy F.B. Oxygen dissociation curves of the blood of the tench.- J. Exp. Biol., 1973, 58, N2, 281-293.
12. Macey D.Y., Potter Y.C. The effect of temperature on the oxygen dissociation curves of whole blood of larval and adult lamprays.- J. Exp. Biol., 1982, 97, 253-261.
13. Randall D.Y., Cameron Y.N. Respiratory control of arterial pH as temperature changes in rainbow trout.- Amer. J. Physiol., 1973, 225, N4, 997-1002.

Кафедра физиологии человека и
животных Симферопольского
государственного университета, Симферополь