

УДК 591.1

В. Д. Романенко, М. І. Коцар

РЕГУЛЯЦІЯ КИСЛОТНО-ЛУЖНОЇ РІВНОВАГИ КРОВІ РИБ ПРИ ЇХ АДАПТАЦІЇ ДО ЗМІН ТЕМПЕРАТУРИ ВОДИ

Як відомо, з підвищенням температури води зростає ступінь її дисоціації, що приводить до збільшення концентрації іонів водню і зрушення рН. Таких змін зазнає як сама вода, що створює навколишнє середовище для риб, так і вода, що входить до складу біологічних систем, в яких вона є універсальним розчинником органічних та неорганічних речовин. Ці властивості води набувають особливого значення в організмі пойкилотермних тварин, зокрема риб, температура тіла яких може коливатись у дуже широкому діапазоні. Так, у більшості видів прісноводних риб температура тіла взимку не перевищує $+4^{\circ}\text{C}$, а влітку досягає майже 32°C .

Беручи до уваги відсутність в організмі риб досконалих фізіологічних механізмів терморегуляції, властивих гомойотермним тваринам, особливого значення для риб набуває здатність їх організму досягати у температурній зоні адаптації певної стійкості і злагодженості процесів обміну речовин [4, 8].

Цілком зрозуміло, що за цих умов у підтриманні гомеостазу істотного значення набуває встановлення такого стану кислотно-лужного балансу, який забезпечує оптимальні умови для перебігу біохімічних реакцій при певній температурі. Дослідженнями процесів температурної адаптації у різних видів пойкилотермних тварин встановлено, що рН крові цих тварин змінюється залежно від температури їх тіла. Це явище було відзначено у алігаторів і крокодилів [10, 11], черепах [14], коропів [13]. Проте досі перебіг процесів пристосування буферних систем крові риб до змін температур водного середовища, що становить значний практичний інтерес, з'ясований недостатньо.

Методика досліджень

Досліди проводились на рибках *Cyprinus carpio* L. вагою 250—270 г, яких утримували в акваріумах, заповнених відстояною водопровідною водою протягом трьох діб. Температуру води підтримували в межах 4, 8, 14, 30°C з точністю $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ з допомогою терморегулюючого автоматичного підігрівача або холодильної шафи «Київ» з відповідно відрегульованим термореле. Для дослідження зміни стану буферних систем в умовах різних навколишніх температур як адекватний фактор, що в природних умовах порушує кислотно-лужну рівновагу, були використані також різні концентрації вуглекислоти у воді. Для створення підвищених рівнів вільної CO_2 у воді застосовували спеціально розроблений для цієї мети пристрій [2]. Аналіз концентрацій розчиненого кисню, вуглекислоти і бікарбонатів проводили згідно загальноприйнятих методик [1], а для характеристик буферних систем крові використовували біологічний аналізатор ОР-210/1. Для дослідження плазми на вміст хлоридів і загальної вуглекислоти кров відбирали під вазелінове масло, налите до $1/3$ об'єму центрифужної пробірки. Центрифугування крові проводилось протягом 3 хв при 5000 об./хв, після чого плазму негайно відділяли від осаджених еритроцитів [5]. Концентрацію загальної вуглекислоти визначали за методом Ван-Слайка [6], а хлориди за Рушняком в модифікації Петрунькіної [5]. Співвідношення компонентів бікарбонатної буферної системи розраховували за рівнянням Гендерсона — Гассельбаха. Цифрові дані оброблені статистично [3].

Як уже відзначалось, існує пряма залежність між концентрацією в крові риб CO_2 в плазмі збільшує роль у підтриманні кислотної активної реакції в кишковопорожнинній прирості бікарбонатів, який забезпечує взаємодію з торним рівнем бікарбонату і тій самій можливості організму адаптуватись до нового середовища. Водне середовище з різною концентрацією кислоти у воді і крові, збільшення температури стає більш кислим. Проте незмінним.

Аналіз стану буферних систем мікроаналізом факторів істотно впливає на температуру води, знижувалась відповідно на сума аніонів за рахунок того ж до буферних систем тання температури середовища коливань від 14 до $20,5 \text{ мекв/л}$, а надлишок становив у порівнянні з $2,5 \text{ мекв/л}$, а для цілого організму.

Співвідношення компонентів у плазмі коропів, адаптованих до різних температур

Температура води, $^{\circ}\text{C}$	рН крові	Загальна концентрація вуглекислоти, ммоль/л
4	7,93	$17,8 \pm 0,23$
8	7,90	$15,8 \pm 0,21$
14	7,68	$13,8 \pm 0,16$
30	7,45	$9,8 \pm 0,18$

Для розуміння на характері дії температури води. Як відомо, з підвищенням температури зростає, що при цьому в рідкому середовищі відбуваються її рН [9].

Проведені нами дослідження показали, що паралельно з підвищенням температури середовища, показав коропів. Так, у риб

Результати досліджень

КРОВІ РИБ
І ВОДИ

ступінь її ди-
в водню і зру-
навколишнє се-
огічних систем,
а неорганічних
ення в організ-
ла яких може
і видів прісно-
2, а влітку до-

тих фізіологіч-
им тваринам,
ізму досягати
кеності проце-

еостазу істот-
о-лужного ба-
іохімічних ре-
температурної
лено, що рН
тіла. Це яви-
черепях [14],
буферних си-
що становить

Як уже відзначалось у наших раніше проведених дослідженнях [7], існує пряма залежність між рівнем вільної вуглекислоти у воді та її концентрацією в крові риб. При цьому поряд із зростанням концентрації CO_2 в плазмі збільшується вміст бікарбонатів, які відіграють важливу роль у підтриманні кислотно-лужної рівноваги та запобіганні зрушенню її активної реакції в кислотному напрямку. Більше того, для динаміки приросту бікарбонатів характерна наявність відповідного резерву, який забезпечує взаємозв'язок між інтенсивністю дії CO_2 і компенсаторним рівнем бікарбонатів у крові. Ці дані свідчать про великі адаптаційні можливості організму риб в умовах підвищених рівнів CO_2 водного середовища. Водночас було помічено, що у риб, які перебувають у середовищі з різною температурою, але незмінною концентрацією вуглекислоти у воді і крові, порушується кислотно-лужний баланс. В міру збільшення температури води, а відповідно й тіла риб, їх плазма крові стає більш кислою. При цьому рівень вільної CO_2 залишається майже незмінним.

Аналіз стану буферних систем крові таких риб, проведений з використанням мікроаналізатора $\text{OP}=210/1$, показав, що температурний фактор істотно впливає на рівень бікарбонатів плазми. Так, з підвищенням температури води з 4 до 30°C концентрація бікарбонатів у плазмі знижувалась відповідно з $17,3 \pm 0,23$ до $9,2 \pm 0,18$ мекв/л, тоді як загальна сума аніонів за рахунок хлоридів залишалась постійною (табл. 1). Що ж до буферних основ крові, то вони також зменшуються в міру зростання температури середовища. Наприклад, в діапазоні температурних коливань від 14 до 30°C їх показник становив відповідно 27,3 і 20,5 мекв/л, а надлишок буферних кислот при зростанні температури становив у порівнянні з контрольним (при 14°C) рівнем для плазми 2,5 мекв/л, а для цільної крові 6,7 мекв/л.

Таблиця 1

Співвідношення компонентів бікарбонатної буферної системи, рН та концентрація хлоридів у плазмі коропів, адаптованих до різних температур середовища (при рівні вільної $\text{CO}_2 = 0,10$ ммоль/л води)

Температура води, $^\circ\text{C}$	рН крові	Загальна концентрація вуглекислоти, ммоль/л	Вільна CO_2 , ммоль/л	Концентрація бікарбонатів, мекв/л	Концентрація хлоридів, мекв/л	Сума аніонів, мекв/л
4	7,93	$17,8 \pm 0,23$ (n=7)	0,51	$17,3 \pm 0,23$	$105 \pm 6,5$ (n=7)	$123,3 \pm 6,5$
8	7,90	$15,8 \pm 0,21$ (n=7)	0,48	$15,5 \pm 0,21$	$105 \pm 5,6$ (n=7)	$120,5 \pm 5,6$
14	7,68	$13,8 \pm 0,16$ (n=9)	0,60	$13,2 \pm 0,16$	$108 \pm 7,4$ (n=9)	$121,5 \pm 7,4$
30	7,45	$9,8 \pm 0,18$ (n=6)	0,58	$9,2 \pm 0,18$	$112 \pm 6,8$ (n=6)	$121,0 \pm 6,8$

Для розуміння природи цього явища необхідно коротко спинитись на характері дії температурного фактора на фізико-хімічні властивості води. Як відомо, з підвищенням температури константа дисоціації води зростає, що приводить до збільшення добутку $[\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-]$. Внаслідок цього в рідині підвищується концентрація іонів водню, які знижують її рН [9].

Проведені нами дослідження на рибах, температура тіла яких змінювалась паралельно змінам температури навколишнього водного середовища, показали, що цей закон цілком стосується і крові та плазми коропів. Так, у риб з підвищенням температури середовища з 14 до 30°C

концентрація іонів водню в плазмі крові зростала з 36,2 до 60,0 ммоль/л · 10⁻⁶ (табл. 2).

Виникає питання, чи не може організм риб «нейтралізувати» надлишок водневих іонів, що утворюються в міру підвищення температури середовища? Щоб дати однозначну відповідь, слід розглянути деякі особливості функціонування буферних систем крові пойкилотермних водних тварин.

Таблиця 2

Показники кислотно-лужної рівноваги крові і плазми крові коропів, адаптованих до різних умов водного середовища протягом трьох діб

Температура водного середовища, °С	Концентрація вільної СО ₂ у воді, ммоль/л	Буферні основи в крові; мекв/л	Надлишок буферних кислот (—) або основ (+) у крові, мекв/л	Надлишок буферних кислот (—) або основ (+) у плазмі, мекв/л	Концентрація іонів водню в плазмі, ммоль/л · 10 ⁻⁶
14	0,10	27,3 ± 1,7 (n=7)	0 (n=7)	0 (n=7)	36,2 (n=7)
14	0,40	40,0 ± 2,0 (n=6)	+8,3 (n=6)	+12,0 (n=6)	38,5 (n=6)
30	0,10	20,5 ± 1,7 (n=6)	—6,7 (n=6)	—2,5 (n=6)	60,0 (n=6)

Відомо, що так само як і в інших тварин, в організмі риб постійне співвідношення OH^-/H^+ регулюється відповідною зміною стану буферних систем крові. Це пояснюється, зокрема, тим, що в ізогідрогенній системі при зміні концентрації іонів водню під впливом температури бікарбонатна і фосфатна буферні системи змінюють співвідношення компонентів шляхом видалення бікарбонат-іонів, оскільки величина константи дисоціації вугільної кислоти при цьому майже не змінюється. Лише в білковій буферній системі при різних температурах спостерігається значна зміна константи дисоціації, чим і пояснюється здатність цієї системи пристосовуватись до різних температур. Концентрації компонентів такої системи залишаються в цьому випадку постійними, що дуже важливо для збереження осмотичного тиску в плазмі крові [12].

Отже, при збільшенні концентрації іонів водню і одночасному підвищенні рівня гідроксильних груп у крові риб при зростанні температури середовища, а відповідно рідин і тканин тіла, організм позбавляється частини бікарбонат-іонів для збереження постійного відношення OH^-/H^+ . Це й визначало зменшення концентрації бікарбонатів у крові риб, що перебували в середовищі з підвищеною температурою (табл. 1).

Яким же чином організм риб може пристосувати стан своїх буферних систем при підвищенні $[\text{H}^+]$ в крові, не пов'язаного з відповідним зростанням $[\text{OH}^-]$? Таке підкислення крові риб можна здійснити, наприклад, при підвищенні рівня вільного CO_2 в середовищі без зміни його температури. Як відомо, організм риб не здатний регулювати різницю напруження вуглекислого газу артеріальної крові і середовища; CO_2 нагромаджується в організмі і, перетворюючись на вугільну кислоту, при дисоціації утворює додаткову концентрацію іонів водню. Це впливає на концентрацію іонів гідроксилу, оскільки добуток $[\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-] = K_w$ не змінюється при постійній температурі.

Виявилось, що при підвищенні рівня CO_2 в середовищі з 0,10 до 0,40 ммоль $\text{CO}_2/\text{л}$ при незмінній температурі (14°С) концентрація буферних основ у крові риб зростала з 27,3 до 40,0 мекв/л. При цьому особливий інтерес викликає те, що надлишок буферних основ у плазмі ви-

щий, ніж надлишок бу-
жень можна припустити-
ється, в основному, за-
ції бікарбонатів у плаз-
мокапнії пристосовуют-
Аналіз складових
показав, що при підви-
копиченням CO_2 , спос-
бікарбонатів у плазмі
ції іонів водню згідно

Вплив вуглекислоти вод адаптован

Температура водн. °С	Вільна СО ₂ у воді, ммоль/л	pH крові	
14	0,40	7,70	20,3 ±
30	0,40	7,41	21,0 ±
4	1,10	7,73	35,2 ±
14	1,10	7,58	36,9 ±

Величина компе-
у крові риб визна-
(табл. 3). Коливан-
температури, так і
центрацією хлоридів
падках залишається

Аналіз одержан-
адаптації риб істотн-
чинника, викликают-
невих іонів у крові
ється співвідношенн-

Так, з підвище-
і тіла риб, зростає
бонатів, що обумов-
шення OH^-/H^+ у к-

На основі порі-
підвищених темпер-
термоадаптації змі-
сування до підкисл-
рахунок компенсац-

Цей факт засл-
ляє зрозуміти фізі-
ваги крові різних
наукової розробки
теплових і атомни-

1. А лекин О. А.,
скому анализу вод
2. Коцарь Н. И.
жима водной сре-
XI, 6, 101—104.

і зростала з 36,2 до 60,0 мекв/л. Це свідчить про те, що риби «нейтралізують» надлишок іонів водню, підвищення температури води, слід розглянути деякі фактори, що впливають на рівень пойкилотермних вод.

Таблиця 2

Вплив температури на показники плазми крові коропів, адаптованих до трьох діб

Надлишок буферних кислот (—) або основ (+) у плазмі, мекв/л	Концентрація іонів водню в плазмі, ммоль/л · 10 ⁻⁶
0 (n=7)	36,2 (n=7)
+12,0 (n=6)	38,5 (n=6)
—2,5 (n=6)	60,0 (n=6)

в організмі риб постійно змінюється стану буферних систем, що в ізогідрогенній системі впливом температури змінюються співвідношення іонів, оскільки величина констант рівноваги майже не змінюється. Температури спостерігаються змінюються здатність адаптації риб істотні зміни в ступені дисоціації води як біологічного розчинника, викликають значні коливання концентраційних показників водних іонів у крові цих пойкилотермних тварин. Внаслідок цього змінюється співвідношення лужних і кислих елементів буферних систем крові. Так, з підвищенням температури водного середовища, а відповідно і тіла риб, зростає концентрація іонів водню і зменшується вміст бікарбонатів, що обумовлюється необхідністю збереження постійного відношення OH^-/H^+ у крові та інших біологічних рідинах їх тіла. На основі порівняння явищ, що супроводжують адаптацію риб до підвищених температур і до умов гіперкапнії, можна припустити, що при термоадаптації змінюють свій стан всі буферні системи крові, а пристосування до підкислюючої дії вуглекислоти відбувається, в основному, за рахунок компенсуючого зростання концентрації бікарбонатів у плазмі. Цей факт заслуговує особливої уваги тому, що він не тільки дозволяє зрозуміти фізіологічні механізми регуляції кислотно-лужної рівноваги крові різних класів тварин, а й розкриває широкі перспективи для наукової розробки заходів по розведенню риб у підігрітих стічних водах теплових і атомних електростанцій.

в середовищі з 0,10 до 0,40 ммоль/л. При цьому особливості основ у плазмі ви-

щий, ніж надлишок буферних основ у крові. На підставі цих спостережень можна припустити, що адаптація риб в умовах гіперкапнії здійснюється, в основному, за рахунок компенсаторного збільшення концентрації бікарбонатів у плазмі, тоді як до впливу температури в умовах нормокапнії пристосовуються всі буферні системи крові (табл. 2).

Аналіз складових частин бікарбонатної буферної системи плазми показав, що при підвищенні концентрації іонів водню, викликаному накопиченням CO_2 , спостерігається компенсаційне зростання концентрації бікарбонатів у плазмі (табл. 3), що приводить до зниження концентрації іонів водню згідно закону дії мас.

Таблиця 3

Вплив вуглекислоти водного середовища на деякі показники плазми крові коропів, адаптованих до різних температур протягом трьох діб

Температура води, °C	Вільна CO_2 у воді, ммоль/л	pH крові	Загальна концентрація CO_2 в крові, ммоль/л	Вільна CO_2 в крові, ммоль/л	Концентрація бікарбонатів, мекв/л	Концентрація хлоридів, мекв/л	Сума аніонів, мекв/л
14 (n=7)	0,40	7,70	20,3±0,27 (n=7)	0,81	19,5±0,27	—	—
30 (n=6)	0,40	7,41	21,0±0,28 (n=7)	1,32	19,6±0,28	96±5,8 (n=7)	115,6±5,8
4 (n=6)	1,10	7,73	35,2±0,41 (n=6)	1,64	36,6±0,41	88±0,5 (n=6)	121,6±4,5
14 (n=7)	1,10	7,58	36,9±0,36 (n=7)	1,95	35,0±0,36	—	—

Величина компенсаційного підвищення концентрації бікарбонатів у крові риб визначається глибиною стану гіперкапнії організму (табл. 3). Коливання концентрації бікарбонату, викликані як змороженням температури, так і різними рівнями CO_2 середовища, пов'язані з концентрацією хлоридів у плазмі таким чином, що сума аніонів у всіх випадках залишається майже незмінною (табл. 1 і 3).

Аналіз одержаних результатів показав, що в процесі температурної адаптації риб істотні зміни в ступені дисоціації води як біологічного розчинника, викликають значні коливання концентраційних показників водних іонів у крові цих пойкилотермних тварин. Внаслідок цього змінюється співвідношення лужних і кислих елементів буферних систем крові.

Так, з підвищенням температури водного середовища, а відповідно і тіла риб, зростає концентрація іонів водню і зменшується вміст бікарбонатів, що обумовлюється необхідністю збереження постійного відношення OH^-/H^+ у крові та інших біологічних рідинах їх тіла.

На основі порівняння явищ, що супроводжують адаптацію риб до підвищених температур і до умов гіперкапнії, можна припустити, що при термоадаптації змінюють свій стан всі буферні системи крові, а пристосування до підкислюючої дії вуглекислоти відбувається, в основному, за рахунок компенсуючого зростання концентрації бікарбонатів у плазмі.

Цей факт заслуговує особливої уваги тому, що він не тільки дозволяє зрозуміти фізіологічні механізми регуляції кислотно-лужної рівноваги крові різних класів тварин, а й розкриває широкі перспективи для наукової розробки заходів по розведенню риб у підігрітих стічних водах теплових і атомних електростанцій.

Література

1. Алекин О. А., Семенов А. Д., Скопинцев Б. А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л., Гидрометеоиздат, 1973.
2. Коцарь Н. И. Установка для длительного поддержания заданного газового режима водной среды в экспериментальных аквариумах. — Гидробиол. журн., 1975, XI, 6, 101—104.

3. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Пат. физиол. и exper. терап., 1964, 8, 71—78.
4. Пегель В. А., Реморов В. А. О физиологическом механизме адаптации рыб к температурным условиям среды.— Научные доклады высшей школы, Биол. науки, 1953, 3.
5. Петрунькина А. М. Практическая биохимия, Л., Медгиз, 1961.
6. Пунин К. В. Нарушения кислотно-щелочного равновесия в клинической практике.— В сб.: Труды терапевт. клиник Свердл. мед. ин-та, Свердловск, 1948, 10, 3—81.
7. Романенко В. Д., Котар М. І. Роль бікарбонатної буферної системи в механізмі адаптації риб до різних рівнів вуглекислоти у водному середовищі.— Укр. біохім. журн., 1976, 48, 3.
8. Строганов Н. С. Физиологическая приспособляемость рыб к пониженным температурам. М., Изд. АН СССР, 1956.
9. Фичини Ж., Ламбозо-Бодер Н., Денезе Ж. К. Основы физической химии. М., «Мир», 1972.
10. Austin J. H., Sunderman T. W., Camack J. G. Studies in serum electrolyte composition and the pH of serum of a poikilothermous animal at different temperatures.— J. Biol. Chem., 1927, 72, 677—685.
11. Dill D. B., Edwards J. Physicochemical properties of crocodila blood (*Crocodilus asutus*, Cuvier).— J. Biol. Chem., 1931, 90, 515—530.
12. Howell B. J., Baumgardner F. W., Bondi K., Rahn H. Acid-base balance in cold-blooded vertebrates as a function of body temperature.— Am. J. Physiol., 1970, 218 (2), 600—606.
13. Rahn H. Evolution of the gas transport system in Vertebrates.— Proc. Roy. Soc. Med., 1966, 59, 6, 493.
14. Reeves R. B., Wilson T. L. Intracellular pH in duffrog striated and cardiac muscle as a function of body temperature.— Federation Proc., 1969, 280, 782.

Відділ фізіології водних тварин
Інституту гідробіології АН УРСР

Надійшла до редакції
19.III 1976 р.

V. D. Romanenko, N. I. Kotsar

REGULATION OF BLOOD ACID-BASE BALANCE IN FISHES DURING THEIR ADAPTATION TO WATER TEMPERATURE CHANGES

Summary

Mechanisms of the blood acid-base balance are considered in fishes (carp) during their adaptation to the temperature changes in the water environment. It is shown that with an increase in the temperature of water and, respectively, of fish body there occurs a shift in the blood active reaction towards acidity, an increase in hydrogen ion concentration and a decrease in the bicarbonate content in plasma determined by the necessity to maintain a constant OH^-/H^+ ratio. Comparison of the blood chemical composition in fish adapted to elevated (30°C) temperatures and conditions of hypercapnia gives reason to assume that thermal adaptation causes changes in the state of all blood buffer systems and during adaptation to the effect of carbon dioxide the compensatory levelling of the active reaction occurs due to an increased of the bicarbonate concentration in blood plasma.

Department of Physiology of Aquatic Animals, Institute
of Hydrobiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

УДК 612.766.1:612.6.05—053.2/6

ВПЛИВ СПАДКОВ НА РОЗВИТОК ФІЗ

Одним з методів, шиблизнюковий метод, якийнюків: монозиготних (МІгенетично різні). Внутріпв групі МБ обумовлені тіу групі ДБ — середовищже, порівняння внутріпасудити про частку впливної ознаки.

Описані дослідженнявання комплексу методощо одні ознаки детермінсередовищними. Тому пометодик для характериспогляд, пред'явлений потгСарасіті), яка останнімфізіології і спортивній мту рекомендовано також

Проба РWC у близ[7] при дослідженні вощпоказника фізичної праГарвардський степ-тест[8], який, узагальнившиком 10—14 років, виявиногою 12 хв тесту на вмент. Проте слід відзнася дещо відмінні пробиалася мобілізація в одругому — анаеробних.використання більш тобільш аргументовану вспадкових і середовищлюдини.

Тому завданням нковості і середовища начення двох факторів нтренування. Слід відзнрів на темп приростудилися.

Для вивчення фізичної модель застосовувалося ст300 кгм/хв через кожні 3