

ОСОБЕННОСТИ ГЕМОГЛОБИНОВОЙ СИСТЕМЫ ОКУНЯ (*PERCA FLUVIATILIS* L.)

И. М. Камшилов, Р. А. Запруднова

В статье исследуются функциональные свойства гемоглобина и ионное окружение у речного окуня *Perca fluviatilis* L. По сродству гемоглобина к кислороду, эффекту Бора и концентрации натрия и калия в эритроцитах определяются буферные и дыхательные свойства гемоглобиновой системы. Особенности этих свойств рассматриваются в качестве механизмов повышения устойчивости окуня к закислению воды и недостатку кислорода в ней. У окуня наблюдается большая величина реакции процесса окси-дезоксигенации гемоглобина при изменении концентрации и кислотности буферного раствора. На высокую эффективность гемоглобиновой буферной системы окуня в адаптации к низким значения pH среды указывают большая величина эффекта Бора и низкое сродство гемоглобина к кислороду вплоть до неполной оксигенации в кислом буферном растворе. Высокая концентрация натрия в эритроцитах окуня свидетельствует о высокой интенсивности Na^+/H^+ обмена через мембрану красных кровяных клеток и, следовательно, о способности к защелачиванию внутриэритроцитарной среды. Высокое сродство гемоглобина к кислороду (вплоть до неполной дезоксигенации в щелочном буферном растворе), наблюдаемое у окуня, является важным молекулярным механизмом адаптации к гипоксии, обеспечивающим уменьшение потребления кислорода организмом. Для окуня характерна также высокая концентрация калия в эритроцитах, как и у других рыб, устойчивых к гипоксии.

Ключевые слова: окунь, гемоглобин, натрий, калий, буферы, дыхательные особенности, стабильность.

FEATURES OF HEMOGLOBIN SYSTEM OF *PERCA FLUVIATILIS* L.

I. M. Kamshilov, R. A. Zaprudnova

The functional properties of hemoglobin and the ionic environment in the perch *Perca fluviatilis* L. were studied. Buffer and respiratory properties of hemoglobin system were determined on the basis the oxygen affinity, Bohr effect and the concentration of sodium and potassium in red blood cells. The features of these properties are considered as mechanisms for the increase of the stability of perch to acidification of water and low oxygen content. At a perch the large quantity of reaction of hemoglobin oxy-deoxygenation process is observed at change of concentration and acidity of a buffer solution. The large value of the Bohr effect and a low affinity of hemoglobin to oxygen up to incomplete oxygenation in an acidic buffer solution indicate the high efficiency of the hemoglobin buffer system of a perch in adaptation to low pH value of the medium. High sodium concentrations in perch erythrocytes demonstrates the high intensity of the Na^+/H^+ exchange through the membrane of red blood cells and consequently a ability to alkalization intraerythrocytic medium. High affinity of hemoglobin for oxygen (up to incomplete deoxygenation in an alkaline buffer solution) observed at perch is the important molecular mechanism of adaptation to hypoxia, providing a reduction in oxygen consumption of an organism. Perch are also characterized by a high concentration of potassium in red blood cells, as well as other fish that are resistant to hypoxia.

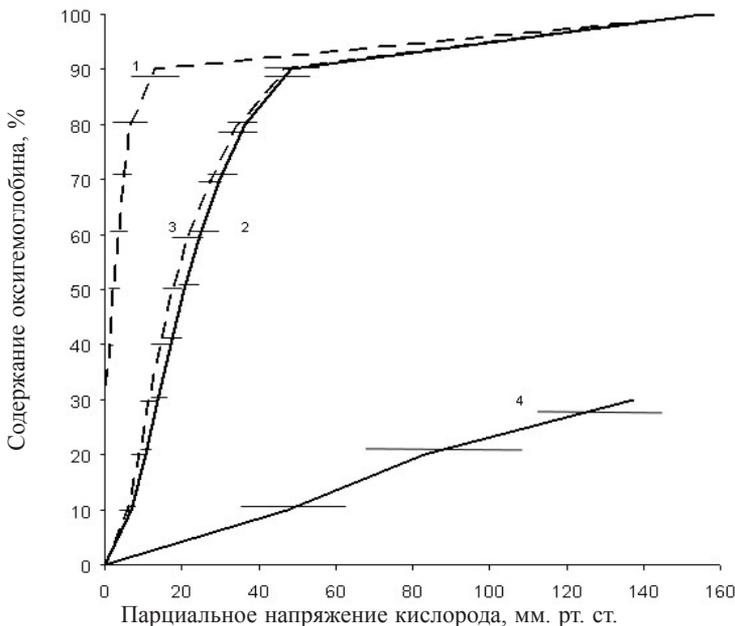
Keywords: perch, hemoglobin, sodium, potassium, buffers, respiratory properties, stability.



Речной окунь *Perca fluviatilis* L., 1758 выделяется среди многих видов рыб широким диапазоном приспособления к измененным условиям среды и большой устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов. В частности, он высоко устойчив к закислению воды: может обитать при pH 3,5 [7]. Кроме того, окунь относительно устойчив к недостатку кислорода в воде: его нормальная жизнедеятельность возможна при содержании кислорода в воде до 3 мг/л. У этого вида сравнительно большой разрыв между критическим и пороговым содержанием кислорода, что делает его менее уязвимым к изменениям кислородного режима. Кислородные потребности окуня существенно зависят от температуры воды: в низких температурах пороговое содержание кислорода у окуня приблизительно такое же, как у карася, а в высоких – как у плотвы и щуки [8]. Однако физиолого-биохимические механизмы, определяющие повышенную устойчивость окуня к закислению воды и недостатку

кислорода в ней, слабо изучены. Мы исследовали у окуня функциональные свойства гемоглобина и ионное окружение, особенности которых, на наш взгляд, могут лежать в основе широкого диапазона адаптивных реакций окуня в сравнении с другими видами рыб.

Исследовался окунь *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 Рыбинского водохранилища в летний период года. Рыб изучали сразу после отлова кратковременным (15–20 мин) неводом. Всего было изучено 26 половозрелых визуально здоровых особей обоего пола, длиной тела 120–205 мм, массой 84–176 г. Методы сбора и обработки проб крови и эритроцитов, анализа функциональных свойств гемоглобина (сродство к кислороду, эффект Бора) и концентрации ионов натрия и калия в эритроцитах описаны ранее [4; 6; 11]. Результаты, полученные в ходе исследования окуня, сопоставляли с таковыми на других рыбах. Сравнивали рыб близкого возраста, исследуемых в одинаковых сезонных и температурных условиях, иногда из одних мест отлова.



Р и с у н о к. Кривые кислородного равновесия окуня. 1, 2 – 0,005 М буферный раствор; 3, 4 – 0,05 М буферный раствор

У окуня – широкий диапазон изменения кривых кислородного равновесия гемоглобина при изменении концентрации и кислотности буферного раствора (рисунок). Высокое сродство гемоглобина к кислороду в 0,005 М калийфосфатном буфере при рН 7,2 сопровождалось неполной дезоксигенацией гемоглобина, т. е. лишь 65 % гемоглобина сохраняли способность отдавать кислород (Там же, кривая 1). При 0,05 М и рН 6,6 буферного раствора у окуня при крайне низком сродстве гемоглобина к кислороду отмечалась неполная оксигенация гемоглобина, т. е. гемоглобин насыщался кислородом воздуха только на 36 % (Там же, кривая 4). Величина эффекта Бора в буферных растворах 0,05 М и 0,005 М равнялась соответственно $1,73 \pm 0,043$ и $1,4 \pm 0,062$. Концентрация натрия и калия в эритроцитах окуня составляла соответственно $54,3 \pm 1,8$ и $89,4 \pm 2,1$ мМ.

В литературе достаточно хорошо освещены жаберные механизмы адаптации окуня к низким рН воды [2]. Результаты проведенных исследований позволяют говорить об участии еще двух буферных систем в поддержании высокой кислотоустойчивости окуня: Na^+/H^+ обмене через мембрану эритроцитов и буферной системе гемоглобина.

На высокую эффективность гемоглибиновой буферной системы окуня в адаптации к низким значения рН среды указывают большая величина эффекта Бора и низкое сродство гемоглобина к кислороду вплоть до нарушения процесса оксигенации в кислом буферном растворе (Там же). Чем выше величина эффекта Бора у рыб, тем более чувствителен гемоглобин к закислению крови. Из исследованных нами видов рыб лишь у щуки, которая также высокоустойчива к закислению воды, были обнаружены близкие к окуневому показатели функциональных свойств гемоглобина: величина эффекта Бора при 0,05 М и рН 6,6 буферного раствора составляла 1,8, а кислородом воздуха насыщались лишь 28 % гемо-

глобина [6; 9]. У самых неустойчивых к закислению воды осетровых минимальная величина эффекта Бора составляет 0,43–0,49. Среднеустойчивые к закислению рыбы (представители семейства карповых, в том числе налим и др.) занимают промежуточное положение между указанными выше видами рыб и по величинам эффекта Бора: 1,38–0,9. У осетровых кривые кислородного равновесия гемоглобина имеют S-образную форму и инвариантны, т. е. могут быть трансформированы друг в друга с помощью некоторого коэффициента (у русского осетра – 0,51). Наибольшие изменения формы кривых вплоть до неполной оксигенации в кислом буферном растворе (рН 6,6) прослеживаются у окуня и щуки. Остальные виды рыб по устойчивости к закислению воды и нарушению формы кривых занимают промежуточное положение между указанными выше видами. Изменение формы кривых кислородного равновесия гемоглобина, сопровождающееся неполной оксигенацией в кислом буферном растворе, можно рассматривать как механизм снижения кислотности внутренней среды организма и, следовательно, как один из способов защиты организма от повреждающего действия водородных ионов.

По концентрации натрия в эритроцитах рыб можно судить об интенсивности Na^+/H^+ обмена через мембрану красных кровяных клеток. Наиболее сильной способностью к защелачиванию внутриэритроцитарной среды обладали окунь и щука (концентрация натрия в эритроцитах у последней – 62 мМ), т. е. виды, наиболее устойчивые к закислению воды. У самых неустойчивых к закислению воды осетровых минимальная концентрация натрия в эритроцитах составляла 13–17 мМ. У остальных, известных нам пресноводных рыб, относящихся к среднеустойчивым к низким рН воды, концентрация натрия в красных кровяных клетках находилась в диапазоне 28–46 мМ, т. е. наблюдался средней интенсивности об-



мен Na^+/H^+ в эритроцитах в сравнении с вышеописанными видами [3; 5; 10–12].

Высокое сродство гемоглобина к кислороду (вплоть до нарушения процесса дезоксигенации в щелочном буферном растворе) (Там же, кривая 1), наблюдаемое у окуня, является важным молекулярным механизмом адаптации к гипоксии, обеспечивающим уменьшение потребления кислорода организмом. Из всех исследованных нами 21 вида рыб [6; 9] высокое сродство гемоглобина к кислороду с нарушениями дезоксигенации в щелочном растворе были обнаружены кроме окуня у карпа, карася, сома, линя и угря, т. е. у рыб, наиболее устойчивых к дефициту кислорода в воде. Однако у некоторых из перечисленных рыб эти показатели были более выраженными, чем у окуня: высокое сродство гемоглобина к кислороду наблюдали и в кислом буферном растворе, а нарушение дезоксигенации – еще при 0,05 М в щелочном. Кроме того, у этих видов рыб, особенно у факультативных анаэробов, существуют и другие механизмы для повышения устойчивости к гипоксии, которые отсутствуют у окуня [1]. Однако у окуня из всех исследованных нами ранее 21 вида рыб отмечалась наибольшая величина реакции процесса окси-дезоксигенации гемоглобина при изменении концентрации и кислотности буферного раствора. Максимальное сродство гемоглобина

к кислороду (регистрируемое при рН 7,2 в 0,005 М буферного раствора) отличалось от минимального сродства (при рН 6,6 и 0,05 М) у окуня в 122 раза. У других исследованных нами костистых рыб (щуки, карася, карпа, линя, леща, густеры, чехони, налима, форели и др.) эти различия находились в диапазоне 6,0–23,0, а у осетровых (русского осетра, севрюги, белуги, сибирского осетра, лопатоноса) –2,2–3,0 [6; 9].

Известно, что существует обратная зависимость между концентрацией калия в эритроцитах и содержанием кислорода в крови и концентрацией оксигемоглобина, а также прямая зависимость – между концентрацией калия и дезоксигемоглобина в эритроцитах [13]. Самый низкий уровень калия в эритроцитах (65 мМ) отмечался у щуки из-за гипероксии крови вследствие большой поверхности жабр для обмена газами [4] и самый высокий (111 мМ) – у стерляди, которая, как и другие осетровые, может находиться без воды в течение нескольких часов [5]. У рыб, устойчивых к гипоксии (угря, карася, линя, карпа и сома), уровень калия в эритроцитах превышал аналогичный показатель у рыб со средней и низкой устойчивостью к недостатку кислорода в воде и колебался в пределах 90–106 мМ [3; 5; 10–12]. У окуня концентрация калия в эритроцитах находилась в диапазоне, указанном для устойчивых к гипоксии рыб.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. **Балашов, Д. А.** Отношение гибридов карпа *Ciprinus Carpio* и серебряного карася *Carassius auratus* к дефициту кислорода / Д. А. Балашов, А. В. Рекубратский // Вопросы ихтиологии. – 2001. – Т. 51, № 5. – С. 665–669.
2. **Виноградов, Г. А.** Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб / Г. А. Виноградов. – Москва : Наука, 2000. – 216 с.
3. **Запруднова, Р. А.** Влияние адреналина на содержание калия в плазме крови леща при стрессе и нересте / Р. А. Запруднова // Биология внутренних вод. – 2000. – № 4. – С. 133–140.
4. **Запруднова, Р. А.** Межвидовые различия дыхательных функций эритроцитов некоторых пресноводных рыб / Р. А. Запруднова, И. М. Камшилов // Вопросы ихтиологии. – 2008. – Т. 48, № 4. – С. 553–562.
5. **Запруднова, Р. А.** Буферные и дыхательные свойства и ионное окружение гемоглобина стерляди *Acipenser ruthenus* / Р. А. Запруднова, И. М. Камшилов // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2010. – Т. 46, № 3. – С. 242–244.

6. Камшилов, И. М. Функциональные характеристики гемоглобинов проходных осетровых рыб / И. М. Камшилов // Вопросы ихтиологии. – 2000. – Т. 40, № 6. – С. 832–841.
7. Комов, В. Т. Причины и последствия антропогенного закисления озер / В. Т. Комов. – Нижний Новгород, 2007. – 112 с.
8. Лукьяненко, В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии / В. И. Лукьяненко. – Москва : Агропромиздат, 1987. – 240 с.
9. Лукьяненко, В. И. Гемоглобины рыб : спектральные характеристики и функциональные свойства / В. И. Лукьяненко, А. С. Васильев, И. М. Камшилов. – Ярославль, 2000. – 187 с.
10. Мартемьянов, В. И. Содержание катионов в плазме, эритроцитах и мышечной ткани рыб Волжского плеса Рыбинского водохранилища / В. И. Мартемьянов // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1992. – Т. 28, № 5. – С. 576–581.
11. Мартемьянов, В. И. Динамика концентрации электролитов в плазме крови, эритроцитах и мышечной ткани пресноводных рыб при стрессе / В. И. Мартемьянов, Р. А. Запруднова // Биологические науки. – 1982. – № 10. – С. 44–49.
12. Флерова, Г. И. Внутривидовые и межвидовые различия катионного состава плазмы крови и эритроцитов некоторых пресноводных рыб / Г. И. Флерова // Вопросы ихтиологии. – 1983. – Т. 23, № 1. – С. 126–134.
13. Jensen, F. B. Influence of hemoglobin conformation, nitrite and eicosanoids on K transport across the carp red blood cell membrane / F. B. Jensen // J. Exper. Biol. – 1992. – Vol. 171. – P. 349–371.

Поступила 18.09.2014 г.

Об авторах:

Камшилов Игорь Михайлович, старший научный сотрудник лаборатории экологической биохимии водных животных Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН (Россия, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок), kim@ibiw.yaroslavl.ru

Запруднова Римма Анатольевна, научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН (Россия, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок), rimm@ibiw.yaroslavl.ru

Для цитирования: Камшилов, И. М. Особенности гемоглобиновой системы окуня (*Perca fluviatilis* L.) / И. М. Камшилов, Р. А. Запруднова // Вестник Мордовского университета. – 2015. – Т. 25, № 2. – С. 152–157. DOI: 10.15507/VMU.025.201502.152

REFERENCES

1. Balashov D. A., Rekrubratskiy A. V. Otnoshenie gibridov karpa Siprinus Sarpio i serebryanogo karasya Sarassius auratus k defitsitu kisloroda [Reaction of Siprinus Sarpio and Sarassius auratus species to oxygen deficiency]. *Voprosy ikhtiologii* = Issues of Ichthyology. 2001, vol. 51, no. 5, pp. 665–669.
2. Vinogradov G. A. Protsessy ionnoy regulyatsii u presnovodnykh ryb [Processes of ion regulation in freshwater fish]. Moscow, Nauka Publ., 2000, 216 p.
3. Zaprudnova R. A. Vliyaniye adrenalina na sodержaniye kaliya v plazme krovi leshcha pri stresse i nereste [Impact of adrenaline on potassium concentration in blood plasma of bream during stress and spawning]. *Biologiya vnutrennikh vod* = Biology of Inland Waters. 2000, no. 4, pp. 133–140.
4. Zaprudnova R. A., Kamshilov I. M. Mezovidovye razlichiya dykhatelnykh funktsiy eritrotsitov nekotorykh presnovodnykh ryb [Interspecies differences of respiratory function of red blood cells in several species of freshwater fish]. *Voprosy ikhtiologii* = Issues of Ichthyology. 2008, vol. 48, no. 4, pp. 553–562.
5. Zaprudnova R. A., Kamshilov I. M. Bufernye i dykhatelnye svoystva i ionnoe okruzhenie gemoglobina sterlyadi Acipenser ruthenus [Buffer and respiratory properties and ion environment of hemoglobin of Acipenser ruthenus]. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii* = Evolutional biochemistry and physiology journal. 2010, vol. 46, no. 3, pp. 242–244.



6. Kamshilov I. M. Funktsionalnye kharakteristiki gemoglobinov prokhodnykh osetrovnykh ryb [Functional properties of hemoglobin of migratory sturgeons]. *Voprosy ikhtiologii* = Issues of Ichthyology. 2000, vol. 40, no. 6, pp. 832–841.
7. Komov V. T. Prichiny i posledstviya antropogennogo zakisleniya ozer [Causes and consequences of anthropogenic acidulation of lakes]. Nizhniy Novgorod, 2007, 112 p.
8. Lukyanenko V. I. Ekologicheskie aspekty ikhtiotoksikologii [Ecological aspects of ichthyotoxicology]. Moscow, Agropromizdat Publ., 1987, 240 p.
9. Lukyanenko V. I., Vasilev A. S., Kamshilov I. M. Gemoglobiny ryb: spektralnye kharakteristiki i funktsionalnye svoystva [Hemoglobin in fish: spectral characteristics and functional properties]. Yaroslavl, 2000, 187 p.
10. Martemyanov V. I. Soderzhanie kationov v plazme, eritrotsitakh i myshechnoy tkani ryb Volzhskogo plesa Rybinskogo vodokhranilishcha [Content of cations in plasma, red blood cells and muscular tissue in fish of Volga reach of Rybinsk Reservoir]. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii* = Evolutional biochemistry and physiology journal. 1992, vol. 28, no. 5, pp. 576–581.
11. Martemyanov V. I., Zaprudnova R. A. Dinamika kontsentratsii elektrolitov v plazme krovi, eritrotsitakh i myshechnoy tkani presnovodnykh ryb pri stresse [Dynamics of concentration of electrolytes in plasma, red blood cells and muscular tissue of freshwater fish during stress]. *Biologicheskie nauki* = Biological sciences. 1982, no. 10, pp. 44–49.
12. Flerova G. I. Vnutrividovye i mezhhvidovye razlichiya kationnogo sostava plazmy krovi i eritrotsitov nekotorykh presnovodnykh ryb [Intraspecies and interspecies differences of cation contents of plasma and red blood cells of several species of freshwater fish]. *Voprosy ikhtiologii* = Issues of Ichthyology. 1983, vol. 23, no. 1, pp. 126–134.
13. Jensen F. B. Influence of hemoglobin conformation, nitrite and eicosanoids on K transport across the carp red blood cell membrane. *The Journal of Experimental Biology*, 1992, vol. 171, pp. 349–371.

About the authors:

Kamshilov Igor Mikhaylovich, senior researcher of laboratory of Ecological Biokhemistry of Aquatic Animals of I.D. Papanin Institute for biology of inland waters Russian Academy of Sciences (Borok, Russia), kim@ibiw.yaroslavl.ru

Zaprudnova Rimma Anatolevna, researcher of laboratory of Experimental Ecology of I. D. Papanin Institute for biology of inland waters Russian Academy of Sciences (Borok, Russia), rimma@ibiw.yaroslavl.ru

For citation: Kamshilov I. M., Zaprudnova R. A. Osobennosti gemoglobinovoy sistemy okunya (*Perca fluviatilis* L.) [Features of Hemoglobin system of *Perca fluviatilis* L.]. *Vestnik Mordovskogo Universiteta* = Mordovia University Bulletin. 2015, vol. 25, no. 2, pp. 152–157. DOI: 10.15507/VMU.025.201502.152