

SROVNÁVACÍ FYZIOLOGIE OBSTATLOVCŮ

E-mail: jipa@sci.muni.cz
Tel: 532 146 223

1. ÚVOD

VNĚJŠÍ a VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ

Vnější prostředí:

atmosféra

procentuální zastoupení jednotlivých plynů

barometrický tlak (poměrný tlak jednotlivých plynů je konstantní)

teplota, záření

voda

salinita (osmomolarita), iontové složení, Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-}

obsah rozpuštěných plynů, zejména O_2 a $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$

(voda je přirozeně slabě alkalická, je však pufovaná H^+ ionty za vzniku HCO_3^-)

teplota

hydrostatický tlak

koncentrace molekul => koncentrační gradienty, rychlost chem. reakcí

teplota => rychlost chemických reakcí a tekutost lipidů (stabilita membrán)

tlak => mechanický stres

proudění ~ tepelná i látková výměna

záření ~ chemické reakce

Vnitřní prostředí:

Extracelulární (mezibuněčné) x Intracelulární (uvnitř buněk)

❖ Všichni obratlovci aktivně (dynamická rovnováha) regulují parametry svého vnitřního prostředí a zachovávají ho tak prakticky konstantní – toto udržování stabilního vnitřního prostředí se nazývá homeostáze. Nejpozději vyvinutí živočichové, jako jsou savci a ptáci, regulují homeostázi nejdokonaleji (nejkomplikovaněji).

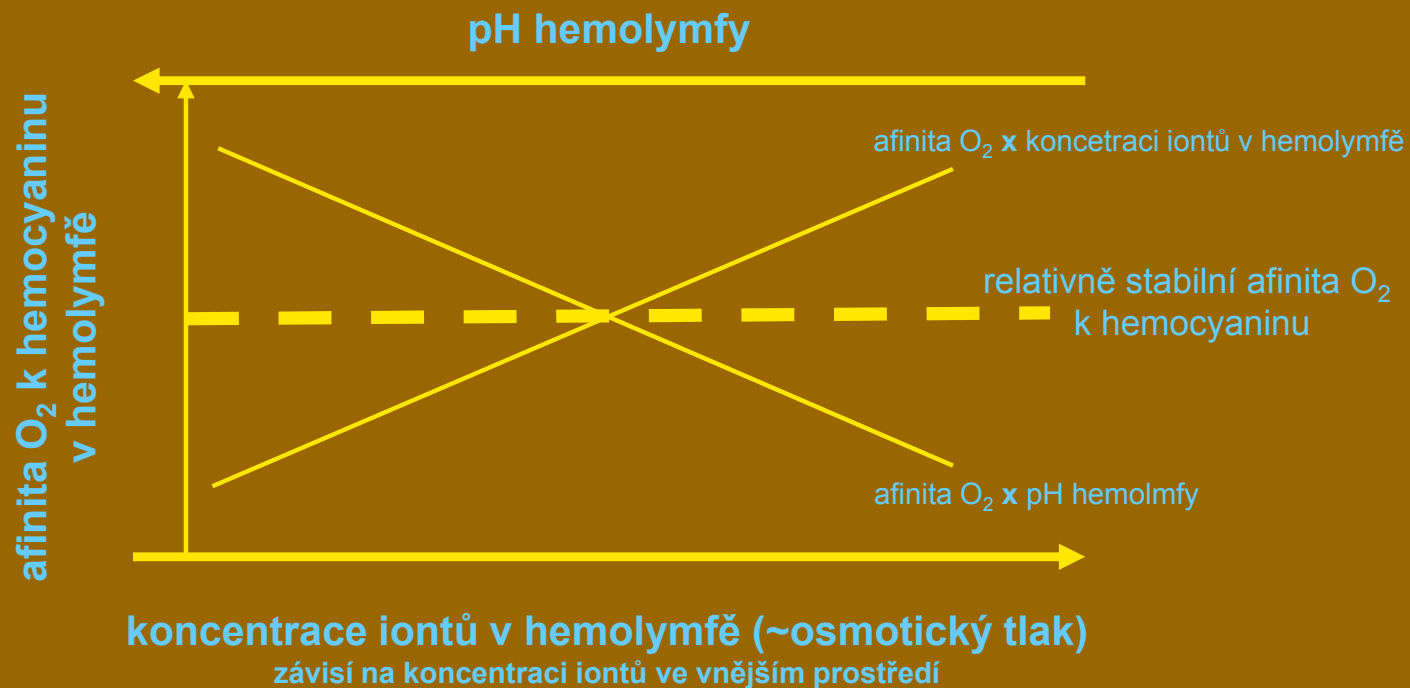
❖ Homeostáze nemusí být ale přesně regulována pouze fyziologickými mechanismy, ale i vnějším prostředím.

Např. některé ryby žijící v ledovém oceánu antarktidy mají stejnou teplotu těla jako okolní voda (-1,9 °C). Jak teplota vody, tak jejich těl se nemění v průběhu roku o více jak 1 °C, což je srovnatelné či méně než teplota lidského těla v průběhu dne.

❖ Zachovat stabilní všechny parametry nemusí být u různých druhů stejně důležité, např. teplota.

Vedle homeostáze existuje ještě enantiostasis, což je stav kdy je funkce zachována změnou několika fyziologických proměných.

Př. Někteří krabi při přenosu z mořské vody do brakické sníží koncentraci iontů a osmotický tlak svých tělních tekutin, tím se zvýší hladina amoniaku a tím pádem i pH jeho hemolymfy. A ačkoliv za nízké koncentrace solí v hemolymfě jejich respirační barvivo (hemocyanin) má nižší afinitu ke kyslíku, tak vyšší pH tuto afinitu zvyšuje a celkově tak zůstane úroveň transportu kyslíku hemolymfou během přenosu z mořské vody do brakické nezměněna.

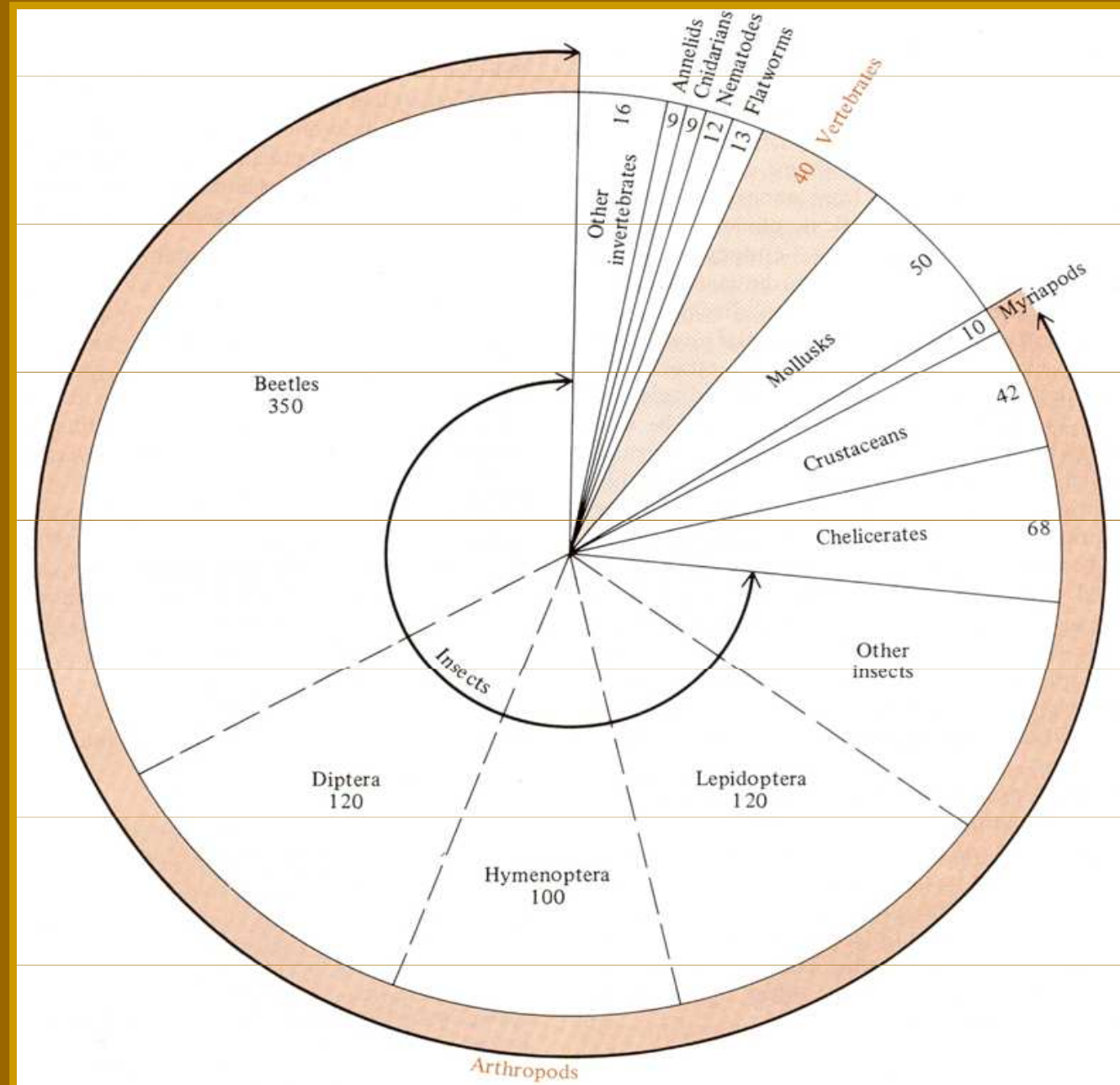


Srovnání počtu druhů u jednotlivých živočišných skupin (v tisících)

Obratlovci – 3,7%

Bezobratlí – 96,3%

Členovci – 86%



Fylogenetická četnost jednotlivých skupin obratlovců

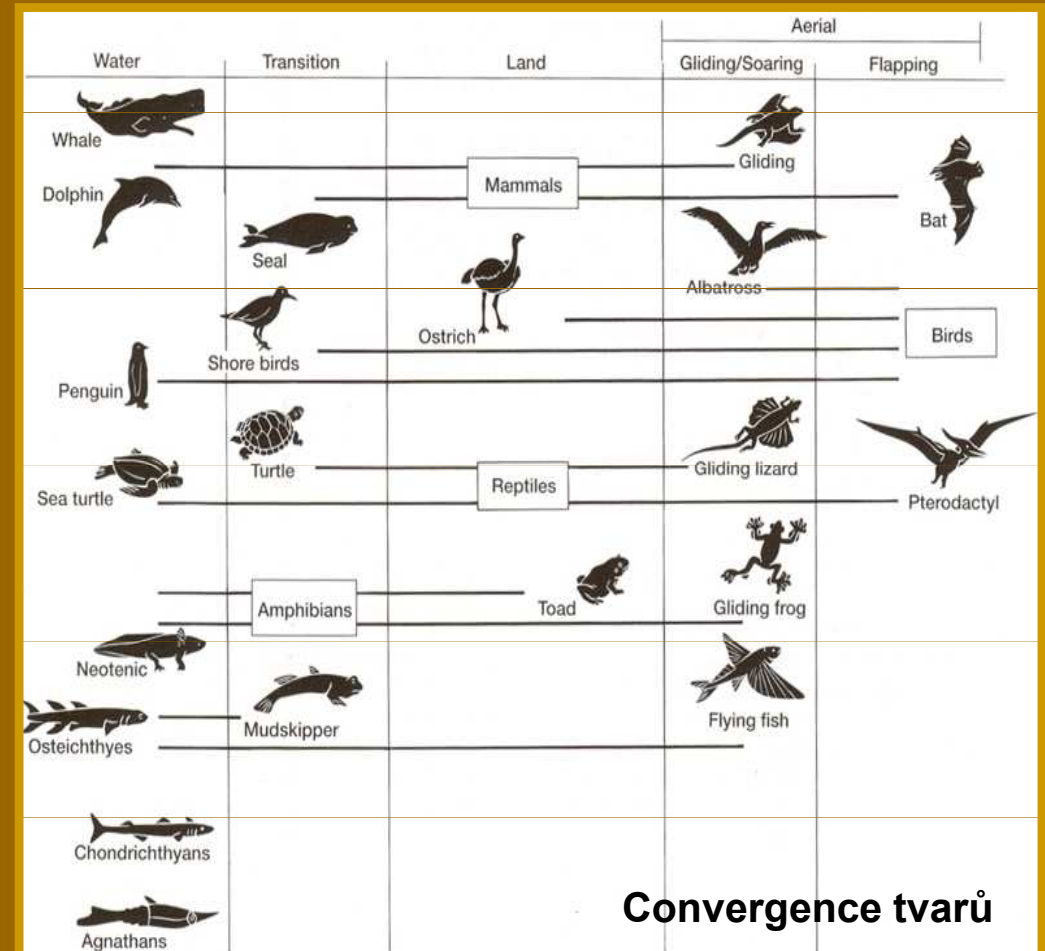


ADAPTACE

Adaptace – evoluční adaptace

- > výsledkem jsou možnosti fyziologické adaptace, rozsah (plasticita) tolerance a rezistence
- > cílem pak přežít a mít potomky (fitness)
- > jednotlivé vlastnosti nemusí vždy vypadat jako nejlepší řešení, je třeba zachovat jejich celkovou souhru

- > všichni obratlovci jsou relativně velcí živočichové (v dospělosti > 10g), z toho plyne i jejich značná strukturní složitost a nutnost kvalitního řízení – neuroendokrinní systém s centrální jednotkou (integrace vnějších a vnitřních signálů)



Užívané předpony

poikilo –, veličina se mění

homeo -, veličina se nemění

Př. s tělní teplotou: V obou případech se může uplatňovat jak regulace (aktivně řízeno organismem), tak přizpůsobení vnějšímu prostředí. Člověk je homeotermní s termoregulací, ryby antarktických vod jsou homeotermní přizpůsobením se danému prostředí. Tyto předpony tedy nevypovídají o fyziologické regulaci dané veličiny. Člověk je však endotermní a většina ryb ektotermní.

ekto -, vnější

ento -, vnitřní

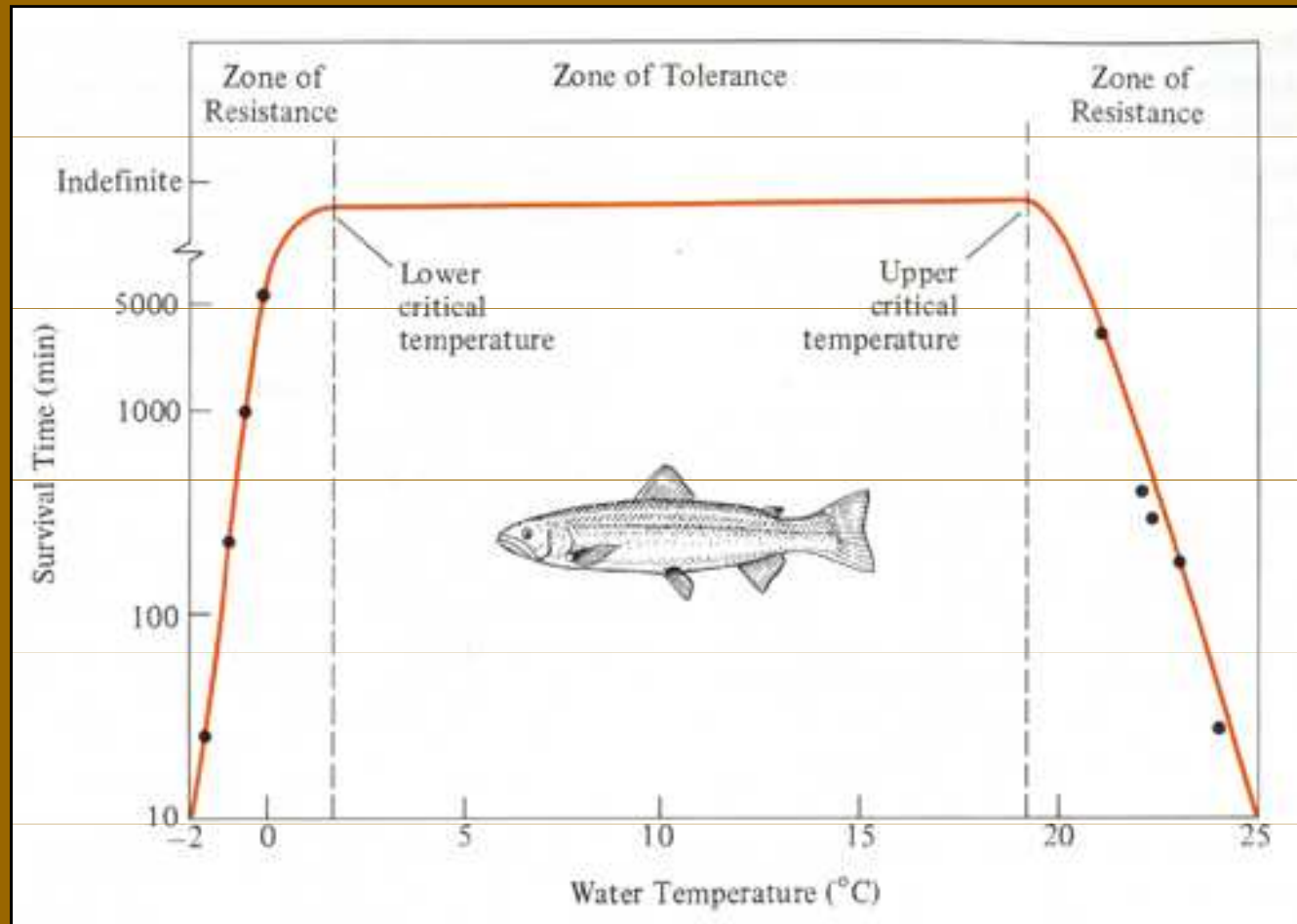
eury -, široká míra tolerance pro danou veličinu

steno -, úzká míra tolerance pro danou veličinu

Tolerance x Rezistence

tolerance - rozpětí parametrů prostředí, kdy organismus přežívá

rezistence – rozpětí parametru prostředí mezi dolní a horní hranicí tolerance a okamžitou smrtí jedince

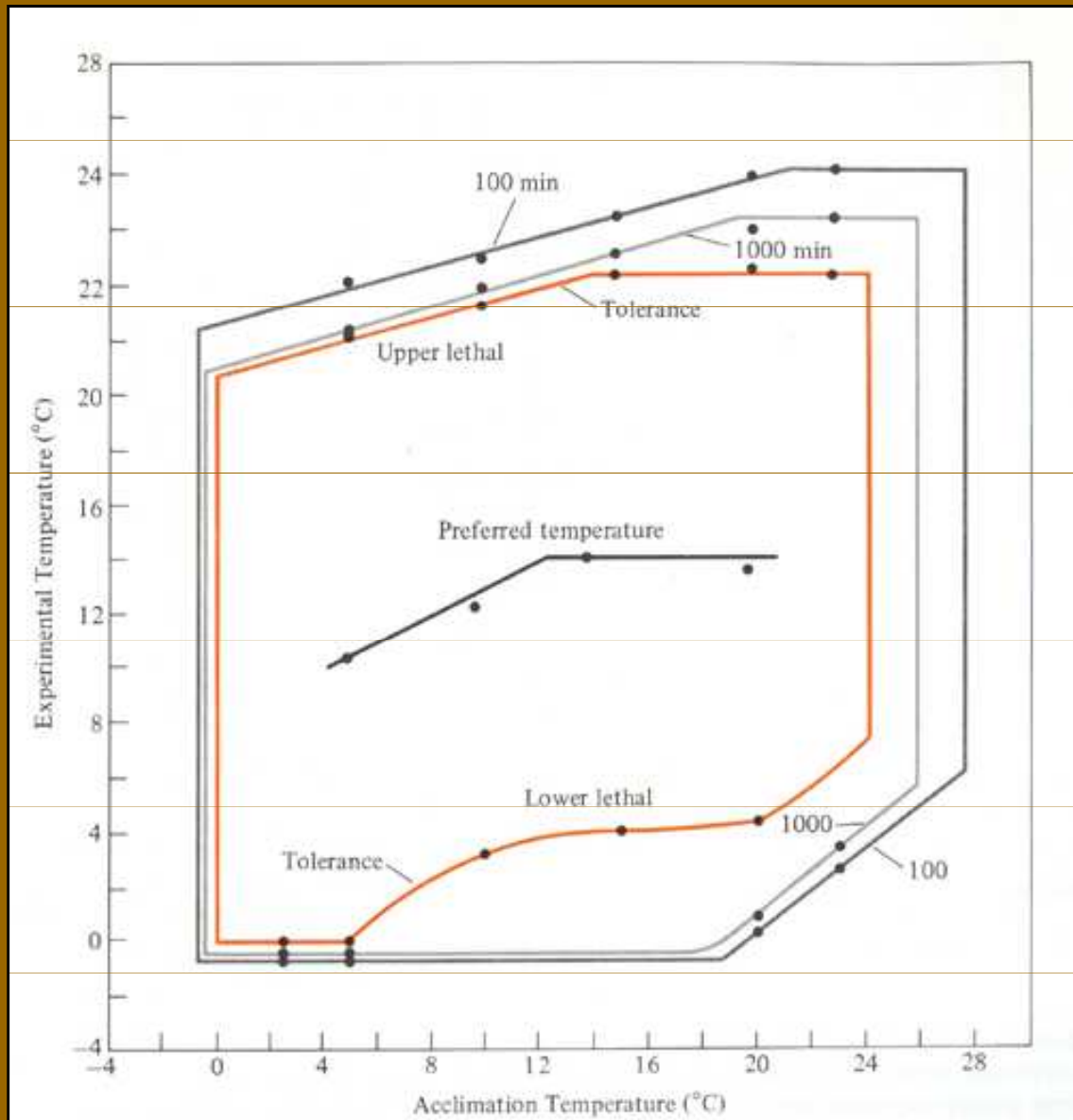


Př. : Tolerance a rezistence pstruha na teplotu vody

Fyziologická adaptace – aklimatizace (+ aklimace)

Aklimatizace – posunutí hranic tolerance, např. v důsledku sezóních změn

Aklimace – aklimatizace v kontrolovaných laboratorních podmínkách (často změna jen jednoho parametru)



Př.: Polygon teplotní tolerance pstruha aklimovaného na různou teplotu v rozsahu 0 – 24°C.

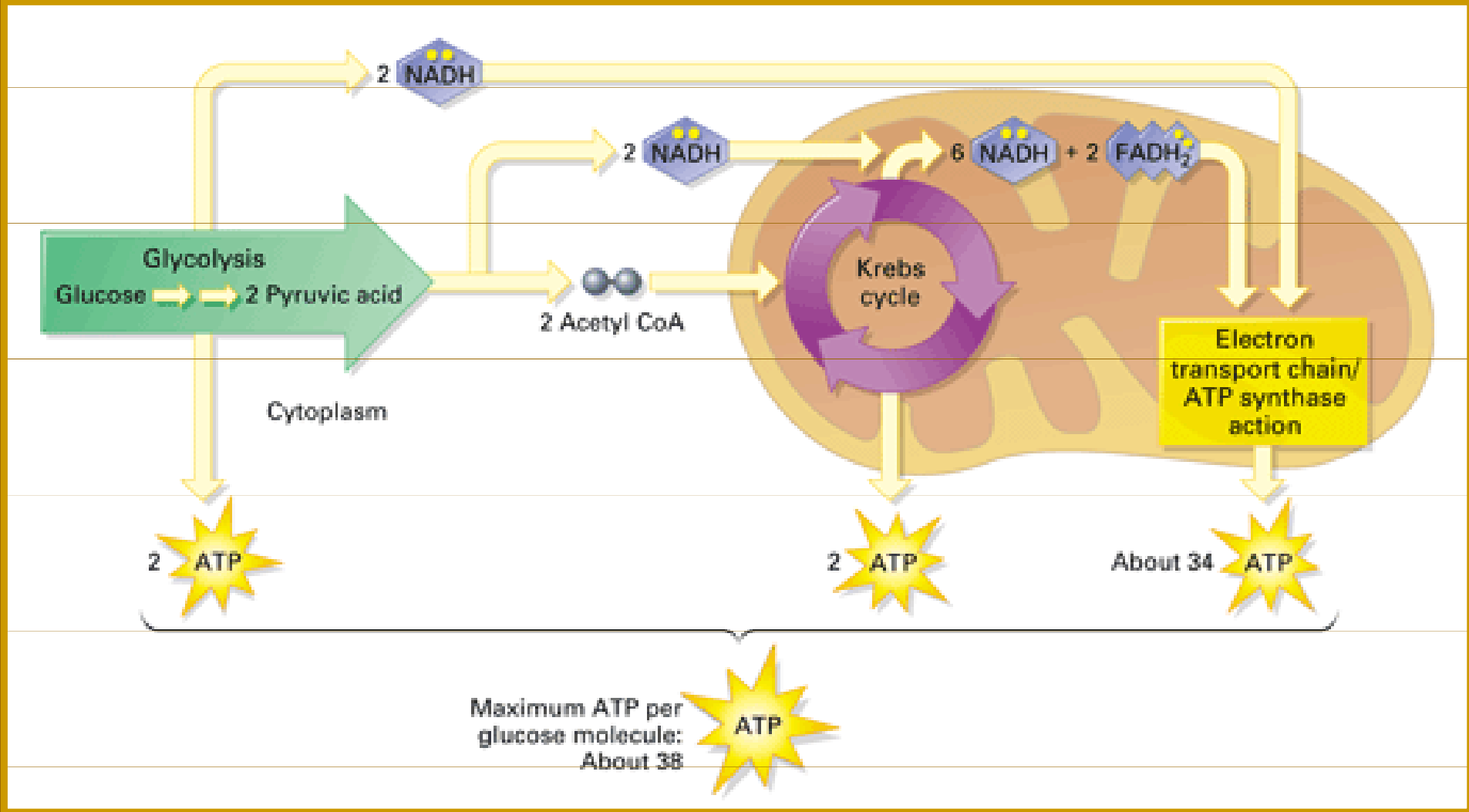
2. ENERGETIKA & METABOLIZMUS

- soustavný tok energie, zajišťující dostatek univerzálního energetického přenašeče a donoru – ATP využívaném v celkovém metabolismu
=> zajištění membránových gradientů (Na/K, Ca²⁺ pumpy), pohybu, metabolismu proteinů, sacharidů, lipidů,....+ *produkce tepla*
- část chemické energie je uchovávána také v ADP, AMP a creatin fosfátu
- metabolismus všech obratlovců je závislý na kyslíku a chemické energii získané oxidací vhodných substrátů kyslíkem - aerobní metabolismus.

Aerobním metabolismem je vytvářeno 95 % ATP (*mitochondrie*)

Anaerobní metabolismu tvoří jen 5% ATP (*v cytoplasmě buněk*)

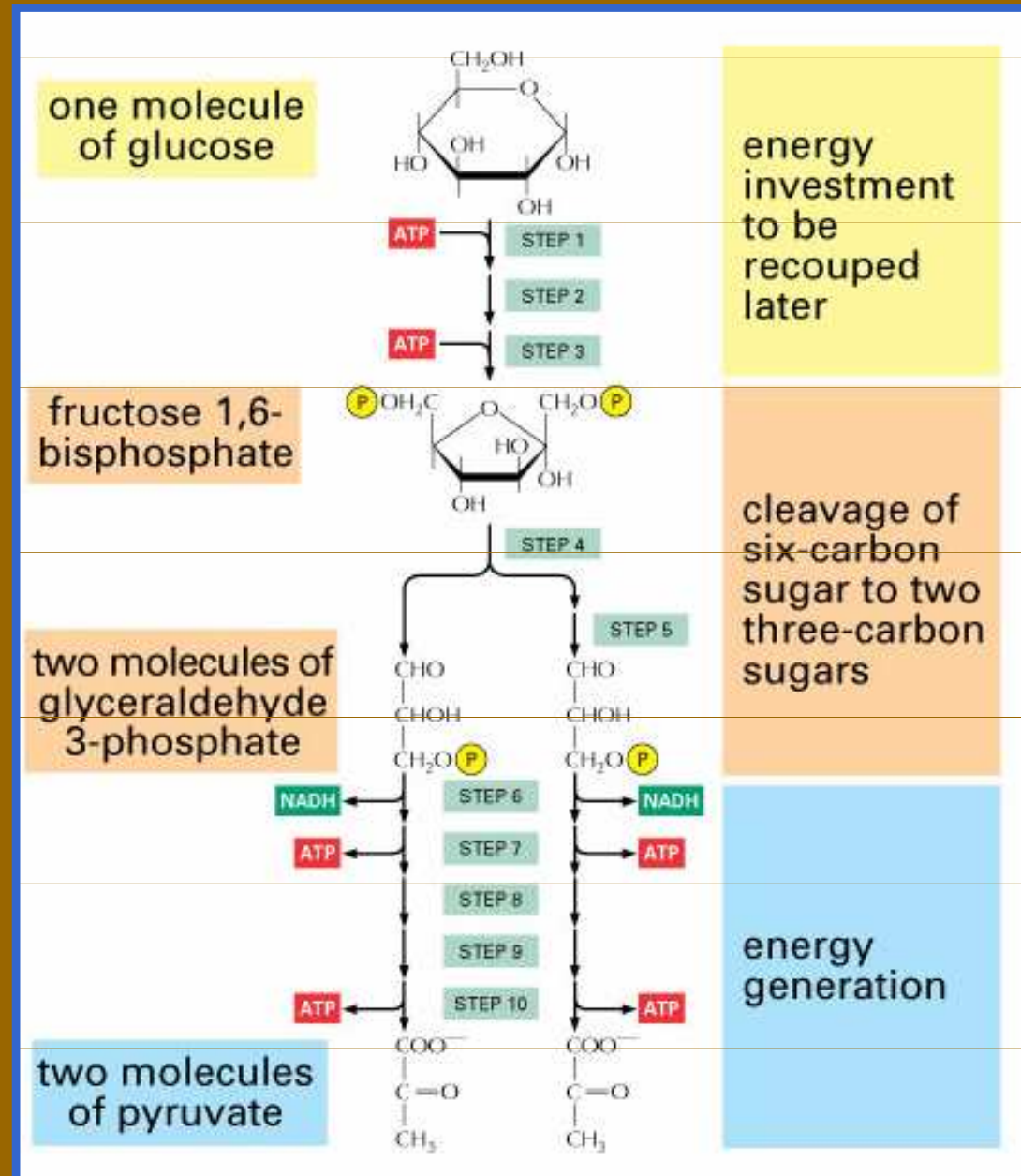
Základní schéma energetického metabolismu buňky (AEROBNÍHO)

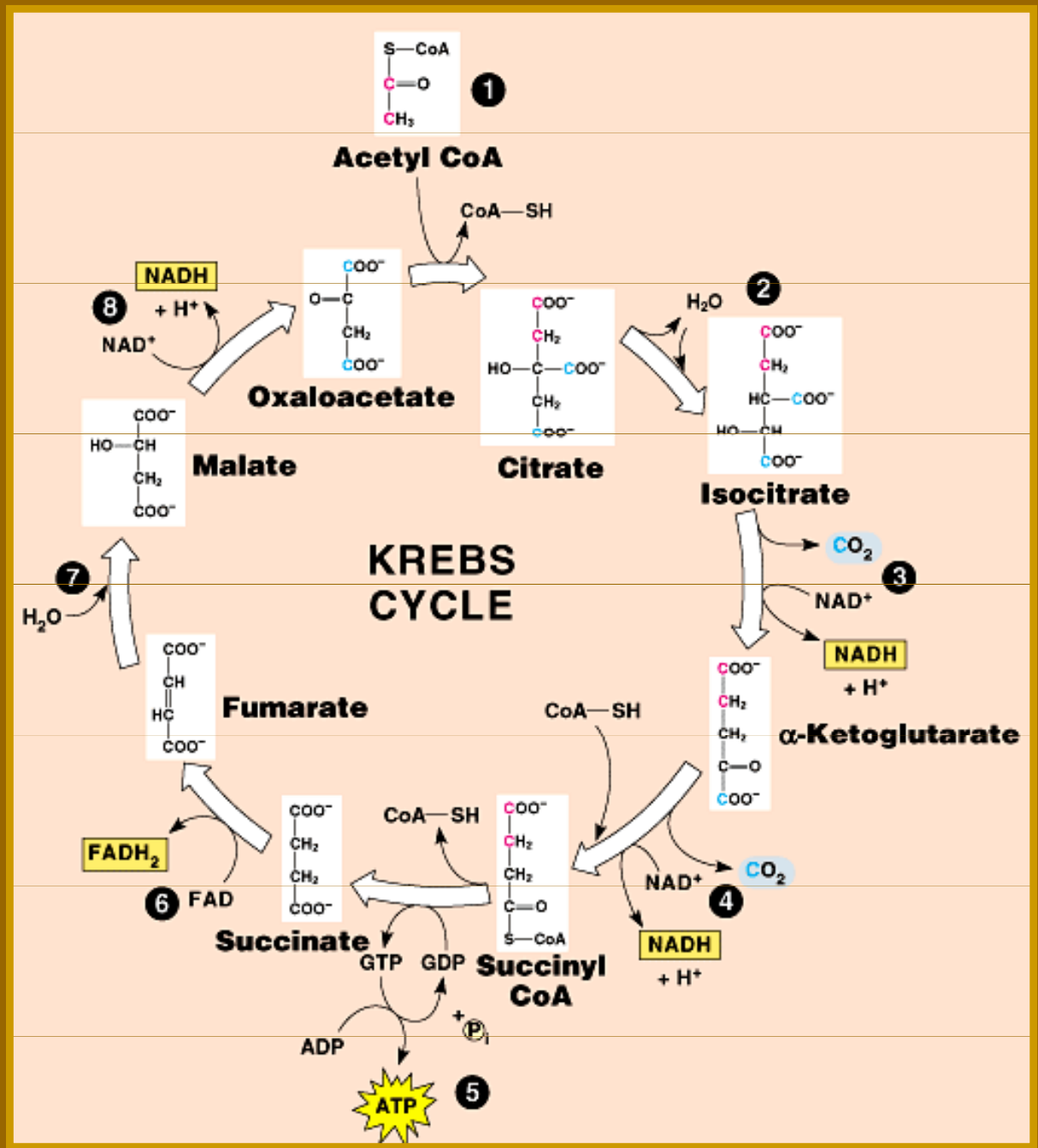
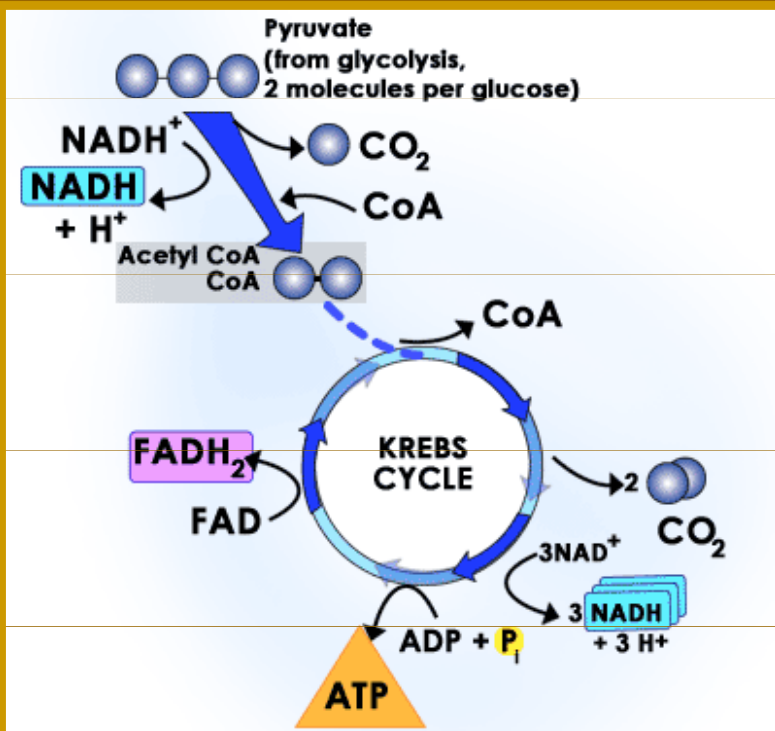


GLYKOLÝZA

(Embden-Meyerhofova dráha)

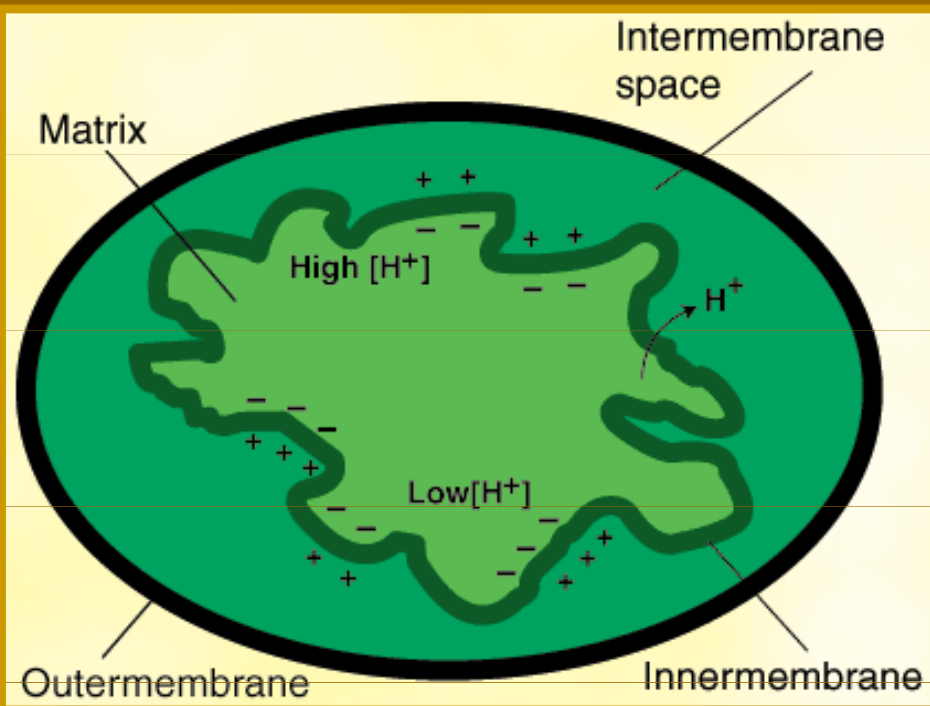
- ❖ substrát glukóza
- ❖ produkt pyruvát ~> laktát
- ❖ laktát inhibuje glykolýzu
- ❖ nespotřebovává se kyslík => anaerobní proces neprodukuje se CO₂



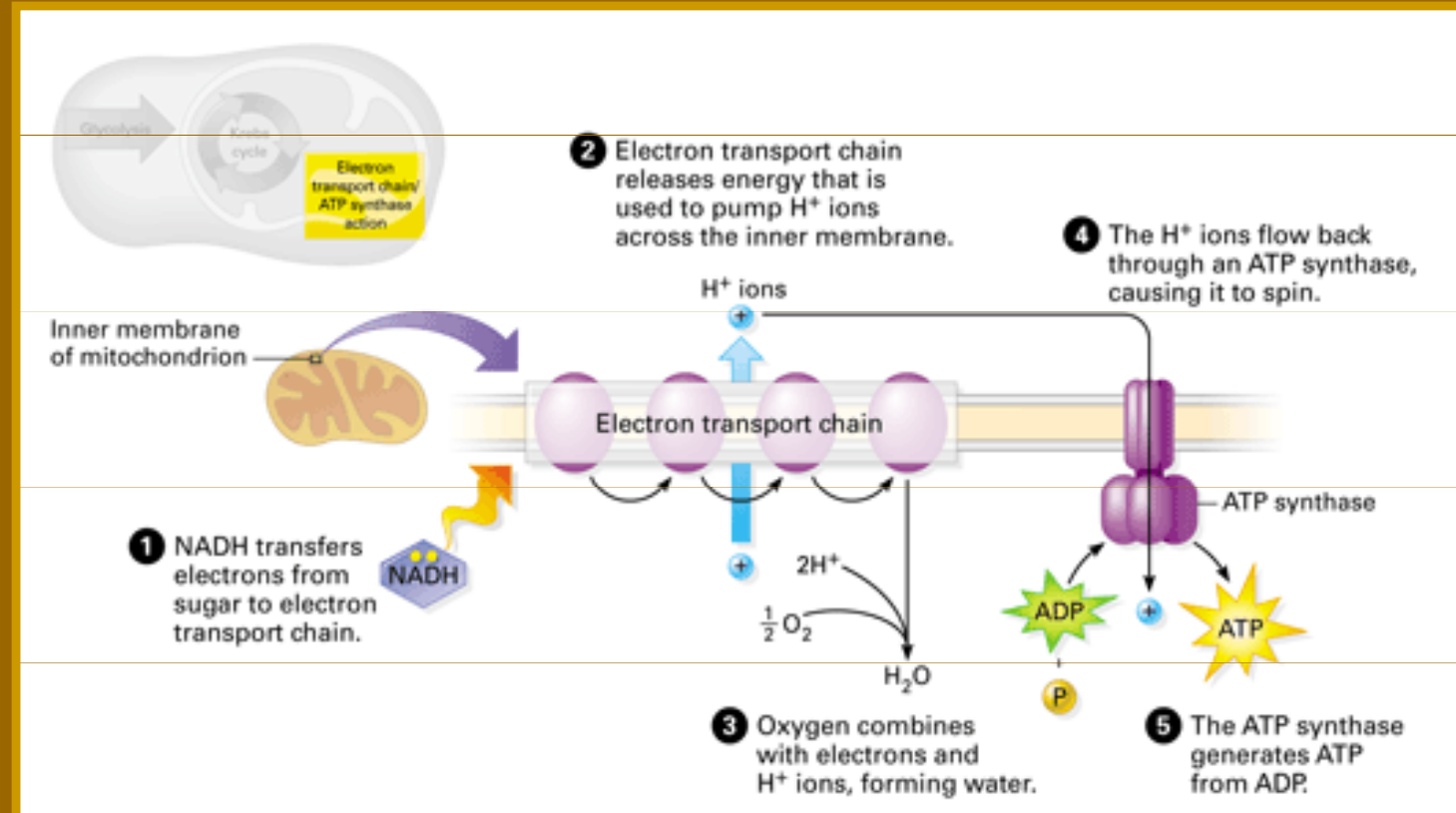


Krebsův (citrátový) cyklus

1xATP + 3xNADH + 1xFADH



❖ **Krebs. cyklus** => dostatek NADH a FADH pro tvorbu protonového gradientu v mitochondriích jako pohonu ATPsyntáz



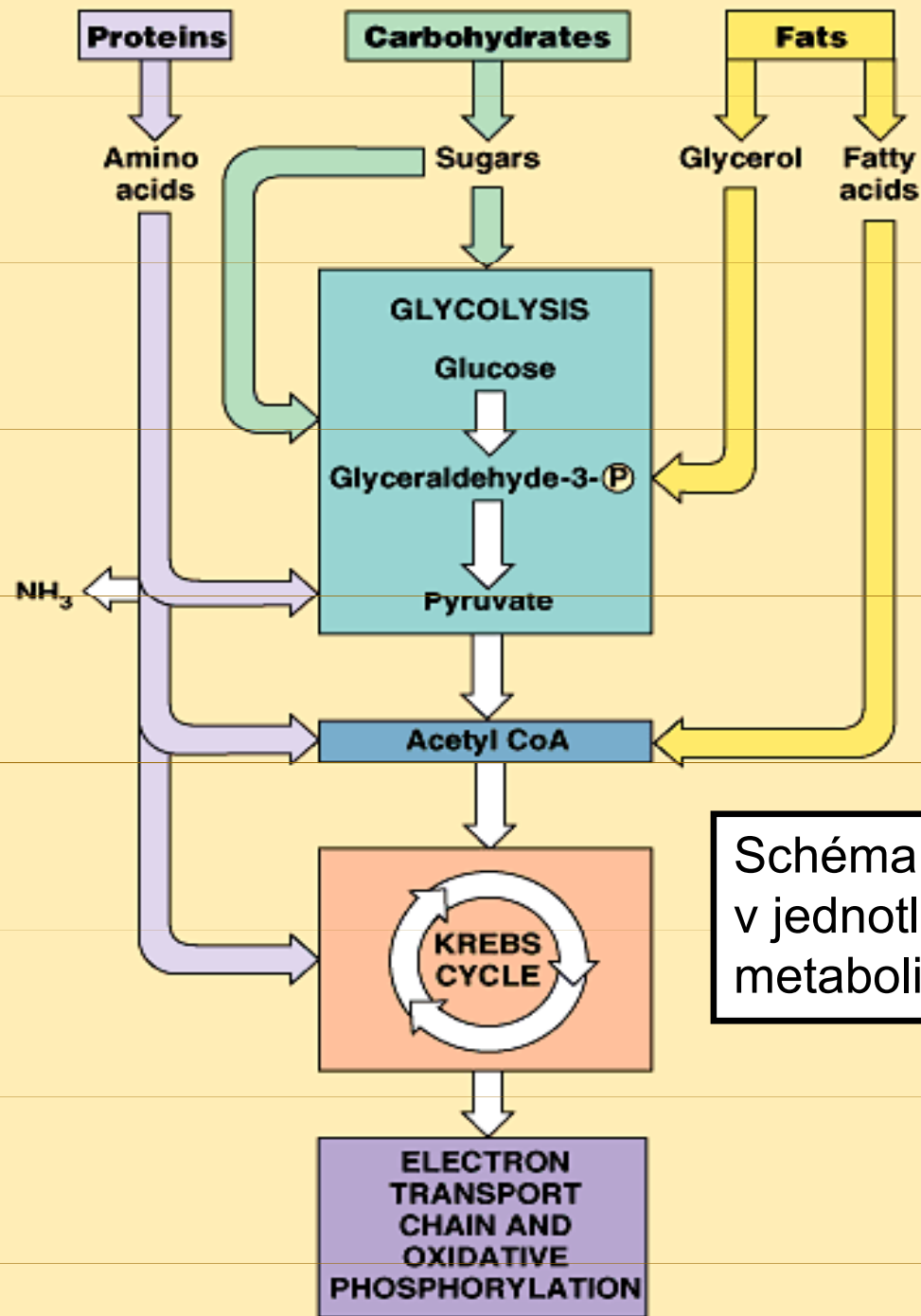


Schéma zapojení proteinů a lipidů v jednotlivých krocích energetického metabolismu

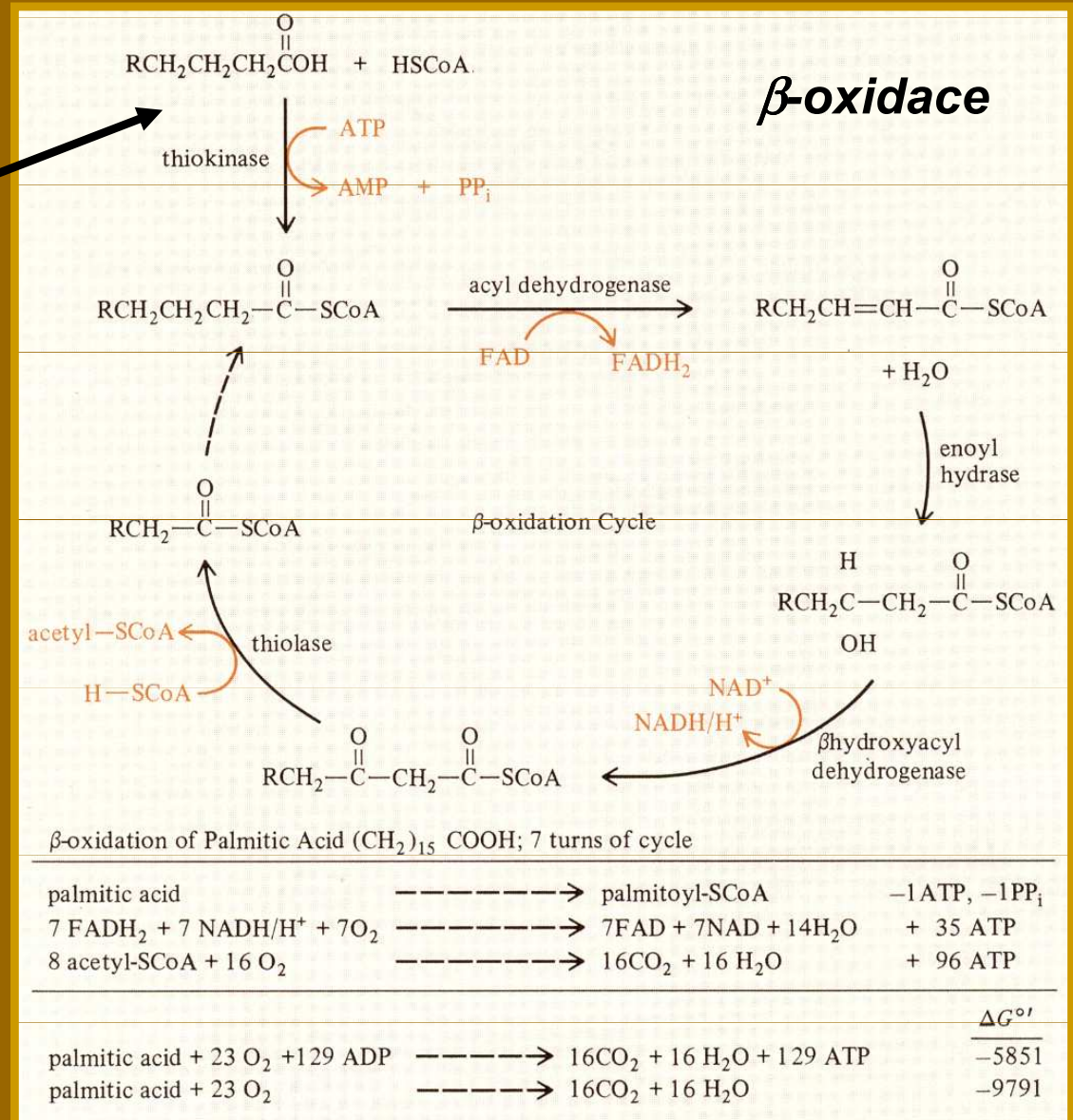
Lipidy jako substrát pro energetický metabolismus

triglyceridy

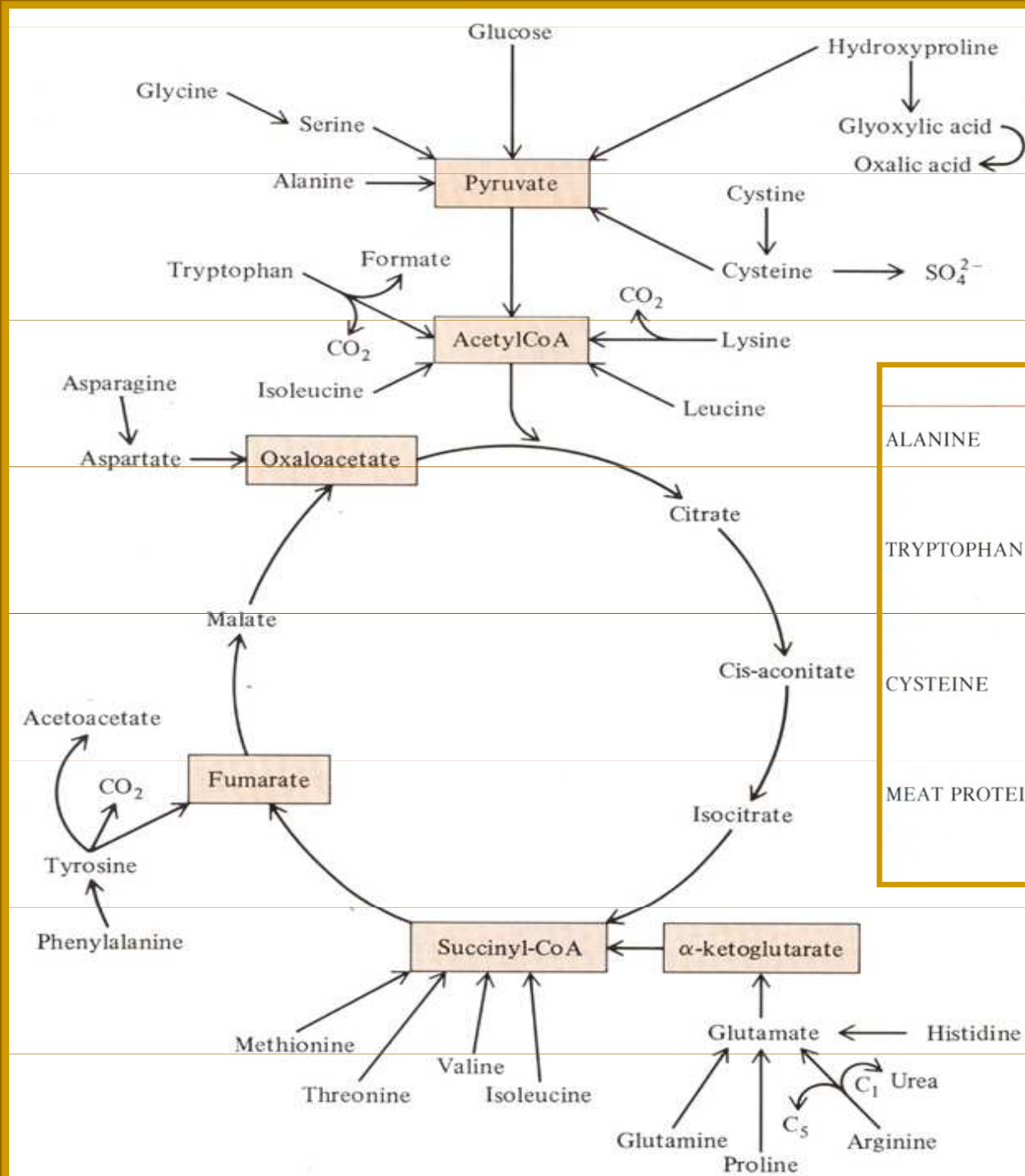
glycerol

mastné kyseliny

glykolýza



Aminokyseliny (proteiny) jako substrát pro energetický metabolismus



	Intermediates	Products	ATP
ALANINE	Pyruvate	CO ₂	18
	NADH/H ⁺		3
	NH ₃	½ urea	-2
			19
TRYPTOPHAN	Alanine	Formate	0
	Acetyl-CoA	CO ₂ , ½ urea	19
	NH ₃	CO ₂	30
		½ urea	-2
			47
CYSTEINE		SO ₄ ²⁻	1
	Pyruvate	CO ₂	18
	NH ₃	½ urea	-2
			17
MEAT PROTEIN	Amino acids	4.11 CO ₂ 0.70 urea 0.034 SO ₄ ²⁻	22.2

ANAEROBNÍ METABOLIZMUS

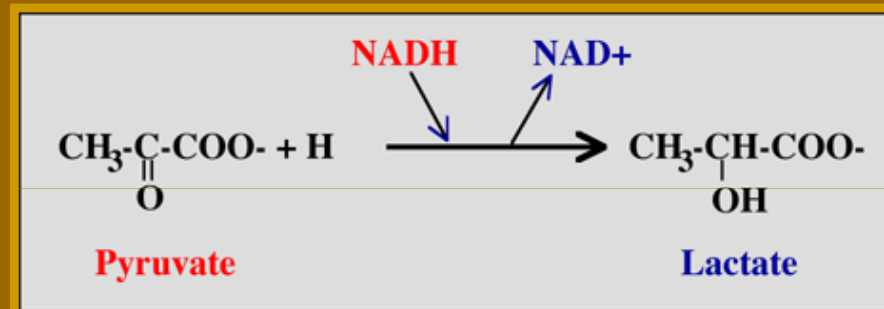
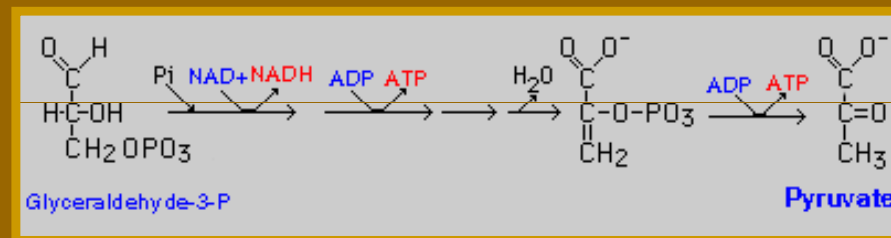
Nedostatek kyslíku: hypoxie ---> anoxie

(nejen nedostatek v prostředí, ale i v tkáních např. v důsledku větší spotřeby kyslíku při zvýšené námaze)

=> alternativní metabolické dráhy

Samotná glykolýza je nejvýznamnější dráha anaerobní syntézy ATP u obratlovců

- neodbouraný pyruvát je snadno přeměněn na laktát, vysoká koncentrace laktátu způsobuje akumulaci pyruvátu a tím zastavení glykolýzy.

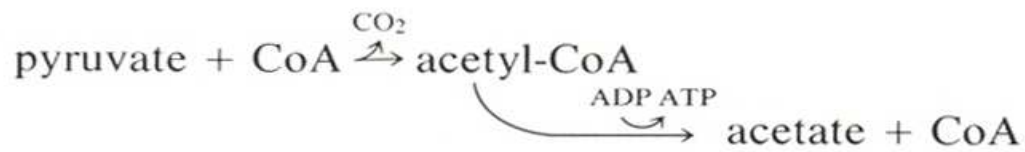


=> pro co největší využití nutná schopnost odbourat laktát
nebo zvýšit rezistenci k jeho vysoké koncentraci

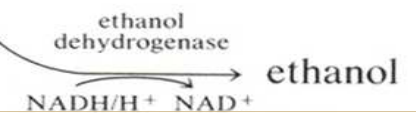
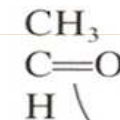
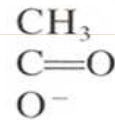
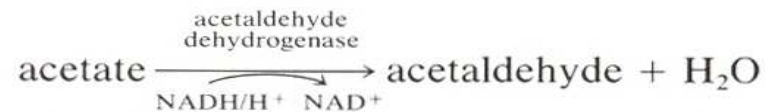
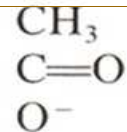
Obratlovci obecně malé možnosti ve využití anaerobních metabolických drah pro celkovou produkci energie

(nejlépe vyvinuto pravděpodobně u ryb)

A. U některých ryb (kaprovití) prokázána schopnost metabolizovat acetyl-CoA na acetát → acetaldehyd → etanol

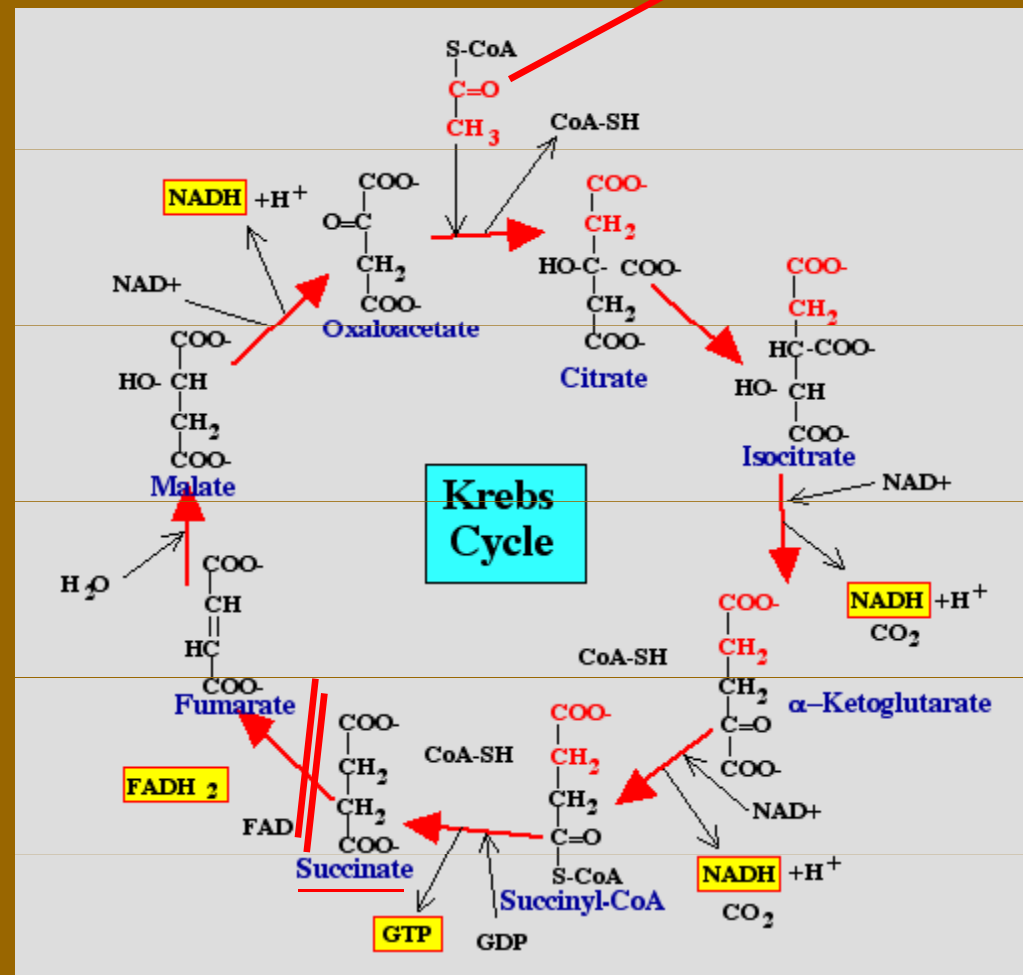


acetate thiokinaze



B. Různé koncové metabolity

- succinát
- lipidy (*elongace acetylCoA*)



- amoniak (*deaminace aminokyselin ve spřažených reakcích*)



C. Variabilita koncentrace enzymů glykotýzy a Krebsova cyklu a rezistence ke zvýšené koncentraci laktátu v červených a bílých svalových fibrilách.

Arapaima x tuňák (Euthynnus)



	BF	ČF	BF	ČF
Anaerobní				
<i>pyruvát kináza</i>	103	134	1295	195
<i>Lactát dehydrogenáza</i>	260	263	5492	514
Aerobní				
<i>citrát syntáza</i>	1,7	3,3	2,1	20,6
<i>malát dehydrogenáza</i>	140	221	718	723
<i>glutamát dehydrogenáza</i>	1,3	3,1	3,0	5,9
<i>glutamát-oxaloacetát transamináza</i>	11,2	54,4	43	102

jednotky enzymové aktivity

červená svalovina / pomalá
 - převažují menší tmavé fibrily s množstvím mitochondrií a myoglobinu
 - vytrvalost a stabilita

bílá svalovina / rychlá
 - převažují větší bílé fibrily s menším množstvím mitochondrií a myoglobinu
 - rychlé kontrakce
 - vysoká ATPasová a glykolytická aktivita ale malé zásoby a rychle se unaví

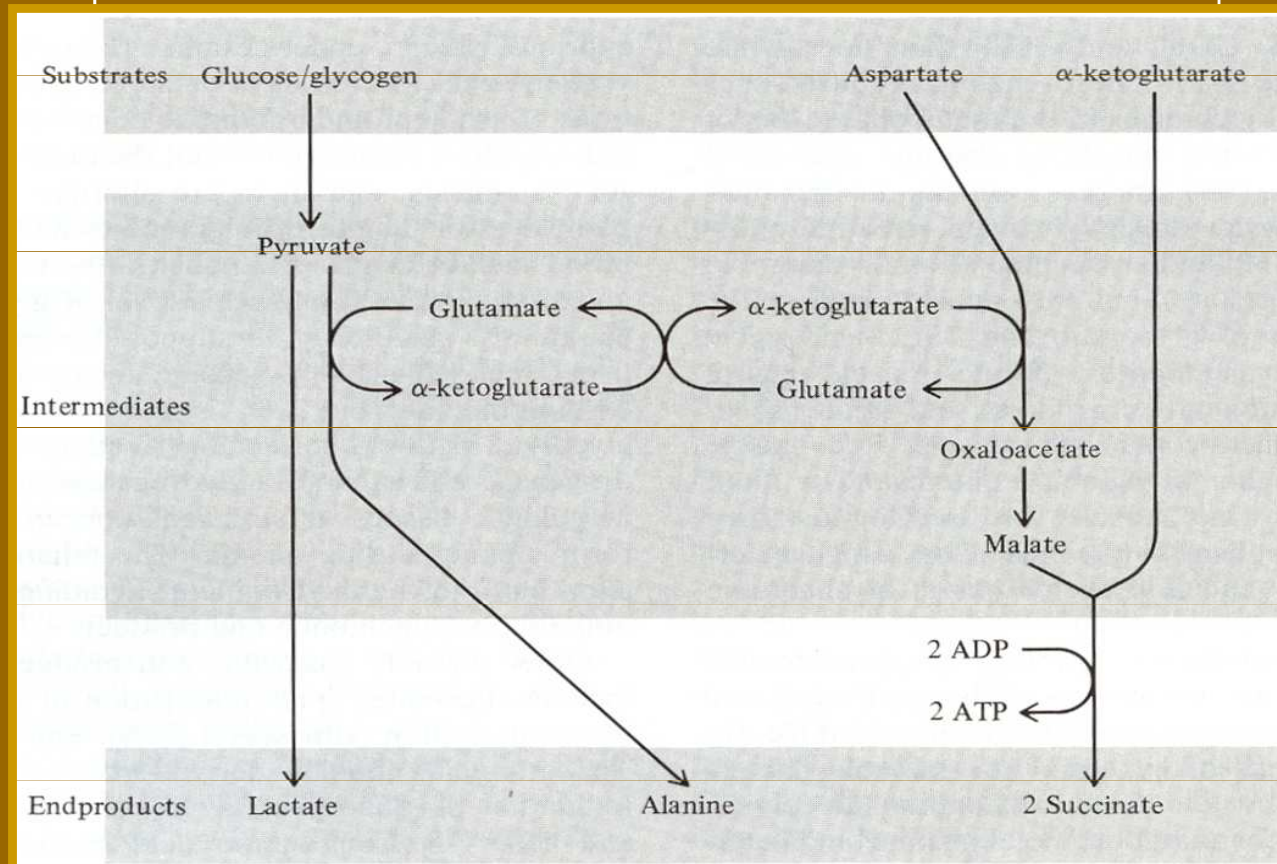
**Změny v koncentraci metabolitů v červené a bílé svalovině
po nástupu svalové aktivity tuňáka**
(μM na g živé váhy)

Kreatin fosfát	-1,73	-12,90
ATP	-0,87	-2,60
Glykogen	-1,70	-22,80
Glukóza	-0,13	+2,01
Glukóza-6-fosfát	+0,41	+2,30
Fruktóza-6-fosfát	-0,21	-0,45
Fruktóza-1,6-fosfát	-0,06	-0,34
Di(OH)acetonfosfát	-0,05	-0,02
Glyceraldehyd-3-fosfát	-0,04	-0,01
Citrát	+0,08	-0,05
α -Ketoglutarát	-0,02	-0,07
Malát	+0,13	+0,12
Laktát	+5,9	+70,95

Periferní tkáně s menším prokrvením a nižším krevním tlakem, (např. bílá svalovina) produkují zejména laktát, ten pak difunduje do tkání s větším prokrvením a tím i snadnější dostupností kyslíku (např. játra, červená a srdeční svalovina) kde je dále oxidován na další anaerobní produkty jako je etanol nebo mastné kyseliny. Předpokládá se, že v játrech jsou tyto pochody navíc spřaženy a anaerobním metabolismem aminokyselin.

Ostatní obratlovci (obojživelníci, plazi, ptáci a savci) jsou odkázáni prakticky pouze na energii z glykolýzy. Jiné koncové produkty než laktát (např. sukcinát, alanin, etanol) se objevují jen v minimální míře.

Schéma metabolismu substrátů na koncové produkty v průběhu anaerobního metabolismu vyšších obratlovců



Změny v zastoupení jednotlivých metabolitů v krvi tuleně (μM) před a po potopení

μM	před potopením	po potopení	změna
<i>Aspartát</i>	96	73	-23
<i>α-Ketoglutarát</i>	200	110	-90
<i>Succinát</i>	40	280	+240
<i>Alanin</i>	300	650	+350
<i>Laktát</i>	90 000	160 000	+70 000



U těchto ploutvonožců bylo také zjištěno využívání metabolismus aminokyselin k získání energie, odhaduje se však že jeho energetický přínos představuje 1-2% energie získané anaerobně, většina energie je získána z glykolýzy.

Srovnání hladin laktátu v jednotlivých tkáních, zásob glykogenu a pH krve u neaktivní a vysílené žáby (*Xenopus laevis*)

	<i>neaktivní</i>	<i>vysílená</i>
Jaterní glykogen (g%)	10,4	9,3
Svalový glykogen (<i>Gastrocnemius</i> , g%)	1,8	0,7
Celkový laktát (mg%)	11	213
Laktát v krvi (mg%)	42	177
Laktát v játrech (mg%)	29	144
Laktát ve svalu (<i>Gastrocnemius</i> , mg%)	98	289
pH krve	7,62	6,89



Někteří obojživelníci a plazi dlouhodobě snášejí hypoxii/anoxii, což je dáno velkou tolerancí k vysokým koncentracím laktátu v tkáni, a to zřejměna tolerancí k narušení acidobasické rovnováhy, která vede až k uvolňování Ca^{2+} iontů z kostí do plasmy.

Želva (*Chrysemys*) ponořená 180 dní do vody syčené N_2 .

	<i>normoxie</i>	<i>anoxie</i>
laktát v krvi	~50mM	>200mM
Ca^{2+} v plasmě	4mM	>120mM



Až 2/3 Ca^{2+} jsou vázány na laktát. Předpokládá se, že takto vysoká koncentrace Ca^{2+} v plasmě ovlivňuje i přenos nervového vzruchu a regulaci kontrakce svaloviny (U této želvy *in vitro* prokázáno, že zvýšení hladiny Ca^{2+} zvyšuje srdeční kontrakci).

Pro obratlovce (zejména vyší) je jediným významným zdrojem energie za anearobních podmínek glykolýza. Limitujícím faktorem pro její plné využití je hromadění laktátu, který

a) inhibuje vlastní glykolýzu

b) narušuje acidobasickou rovnováhu organismu.

Laktát se akumuluje při svalové práci (nedostatečně rychlý přísun kyslíku) a nebo během hypoxie a anoxie. K odbourání laktátu jsou pak nutné aerobní podmínky, kromě svaloviny je velká část laktátu odbourává a nebo přeměňuje zpět na glukózu (**Coriho cyklus**) v játrech a vrací se krevním oběhem zpět do mozku a svalů. U člověka je hladina laktátu v krvi relativně stabilní až do 70% pracovní zátěže (anaerobní / hyperlaktémnický práh (*threshold*)) , se zvyšující zátěží se pak hladina laktátu lineárně zvyšuje.

Srovnání klidové spotřeby kyslíku, produkce laktátu při aktivitě a čas potřebný k jeho odbourání

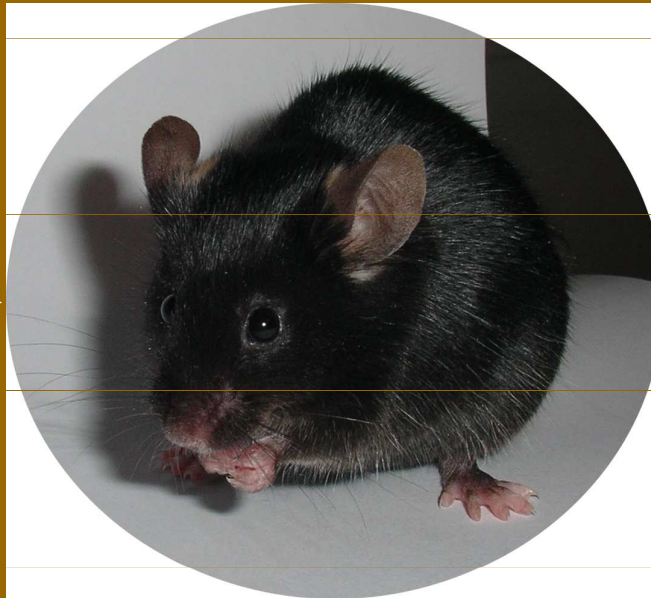
	mlok	potkan
Aerobní metabolismus		
ml O ₂ za hodinu	3,9	120
mmoly ATP za hodinu	1,09 (3,58)	3,6 (3,57)
Anaerobní metabolismu		
akumulovaný laktát (mg)	153	90
ATP z laktátu (mmoly)	2,6 (58,85)	1,5 (60,00)
Aerobní odbourání laktátu		
ATP z odbouraného laktátu (mmoly)	30,6	18
potřebný čas (minuty)	1680	32

3. CELKOVÁ ENERGETIKA & METABOLIZMUS

Chemická energie

- Teplo
- Chemická energie
- Práce

O₂



CO₂

Přímá a nepřímá
kalorimetrie

teplo

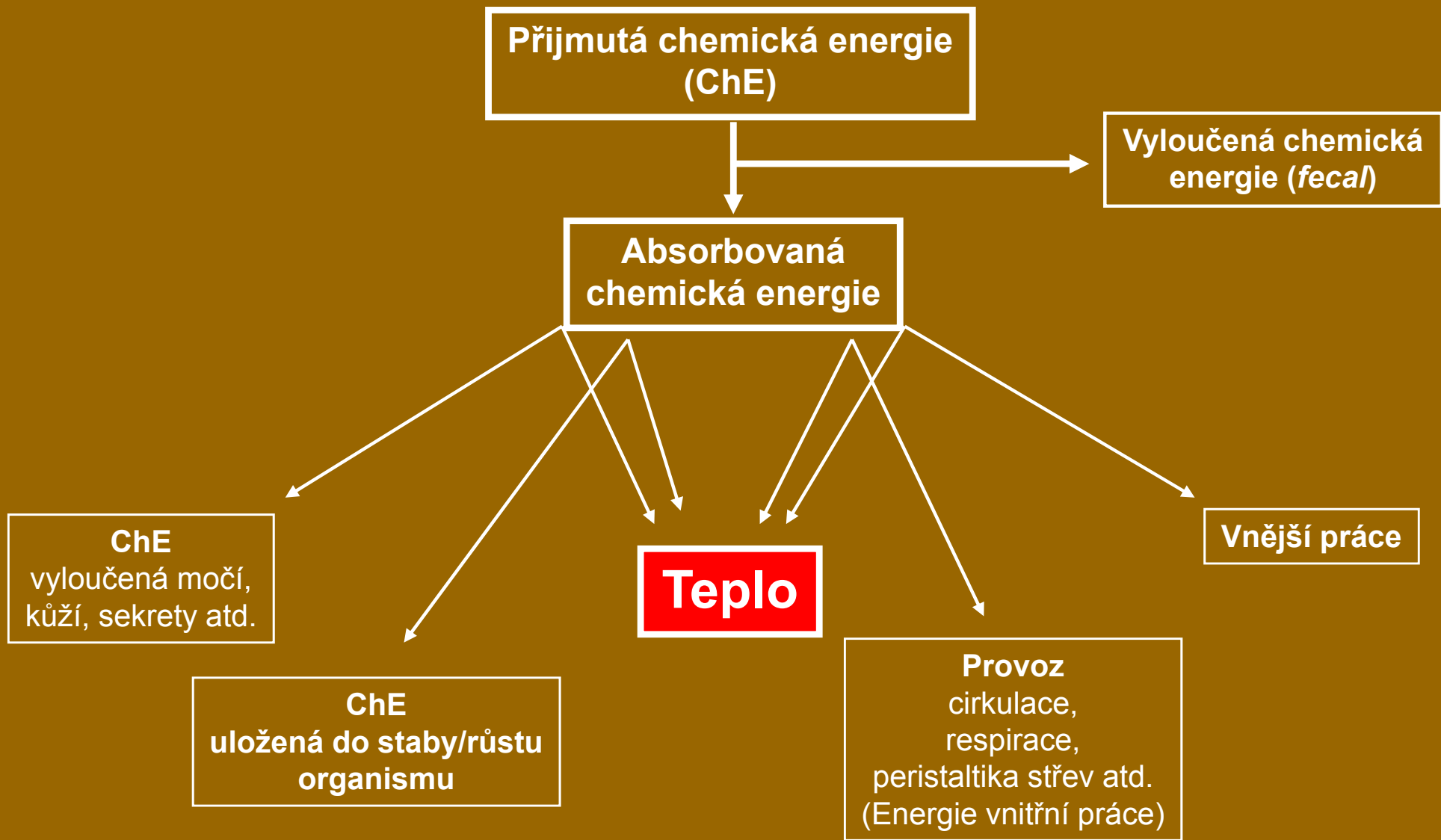
Respirační kv(q)ocient – RQ

vydaný CO₂ na přijatý O₂

cukry – 1

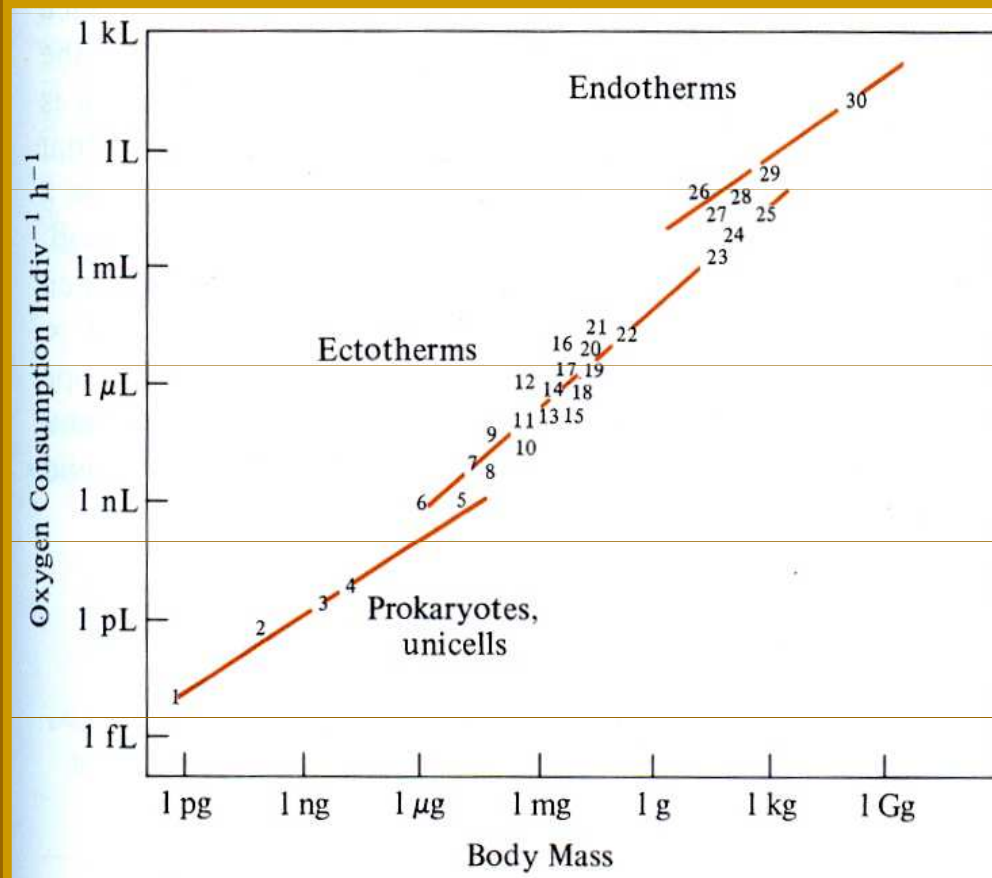
lipidy – 0,7

proteiny – 0,84 (je třeba započítat i dusík)



Srovnání spotřeby O₂ (intenzita metabolismu) a velikosti těla u různých skupin organismů

3 hlavní kategorie organismů – jednobuněční, mnohobuněční ektotermové a endotermové



- Se zvyšující se složitostí, se zvyšují i energetické nároky
- Metabolismus je úměrný celkovému povrchu (skok z jednobuněčných k mnohobuněčným organismům)

1 bacteria; 2 fungi, 3 flagellates, 4 ciliates, 5 rhizopods, 6 nematodes, 7 microcrustaceans, 8 acari, 9 collembolans, 10 isopteran larvae, 11 enchytraeids, 12 coleopteran larvae, 13 isopteran adults, 14 formicid workers, 15 lumbricid cocoons, 16 phalangiids, 17 diplopods, 18 araneans, 19 isopods, 20 mollusks, 21 coleopteran adults, 22 lumbricid adults, 23 macrocrustaceans, 24 fish, 25 reptiles, 26 small mammals, 27 chiropterans, 28 birds, 29 primitive mammals, and 30 large mammals. Data for unicells are corrected to 10° C, and data for endothermic animals are corrected to 39° C.

jednobuněční (1μ, pro krychli)
povrch – 6μ² (6 x 1 x 1)

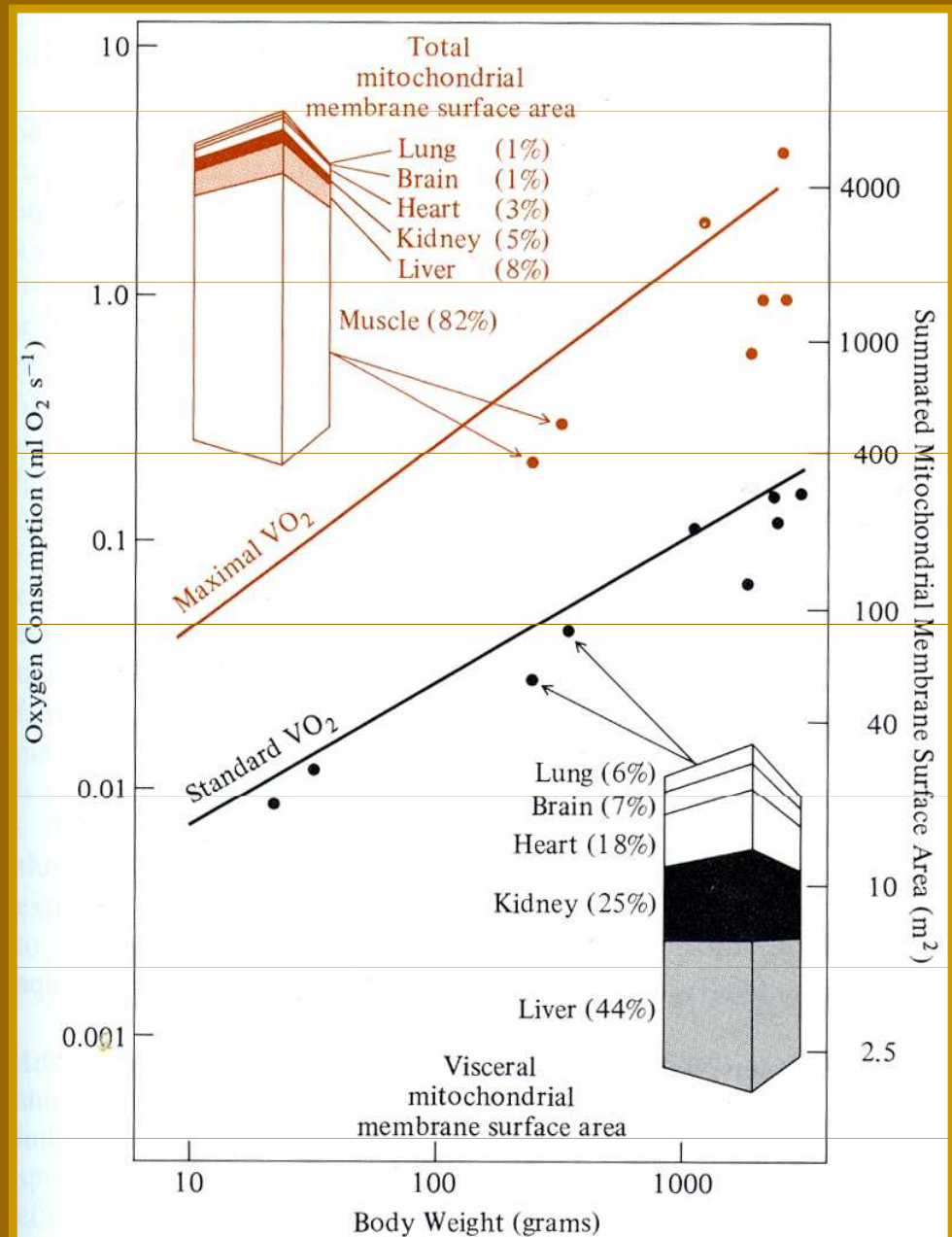
mnohobuněční (1μ, pro krychli, 1000 buněk)
povrch – 60μ² (1000 x (6 x 0,1 x 0,1))

=> ~ 10x (9,8x) větší metabolismus

- Nárůst u endotermů je dán i dalšími faktory

Jedním z neklíčovějších parametrů korelujících s intenzitou metabolismu je celková plocha membrán mitochondrií. I při podobné morfologii a biochemizmu mají savci o něco větší (i plocha crist) a četnější mitochondrie než endotermové. Proporcionální zastoupení v jednotlivých tkáních/orgánech je si ale celkově velice podobné.

Proporce mezi spotřebou kyslíku, velikostí těla a plochou mitochondriálních membrán pro různé tkáně (plíce, mozek, srdce, ledviny, játra, kosterní svaly) u savců.

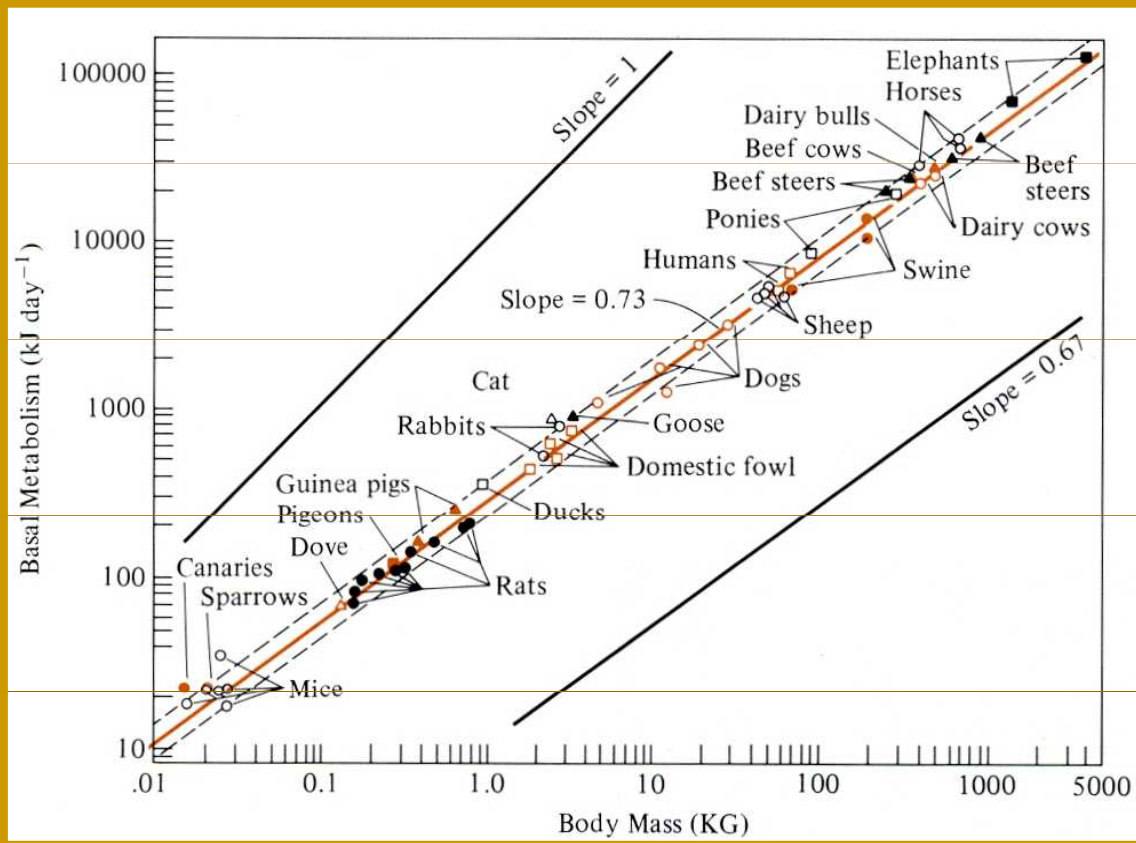


Srovnání tělní teploty, velikosti orgánů, standardního/basálního metabolismu celkového a jater, a náročnosti jaterního Na⁺ transportu u ještěrky (*A. nuchalis*) a myši (*M. musculus*).



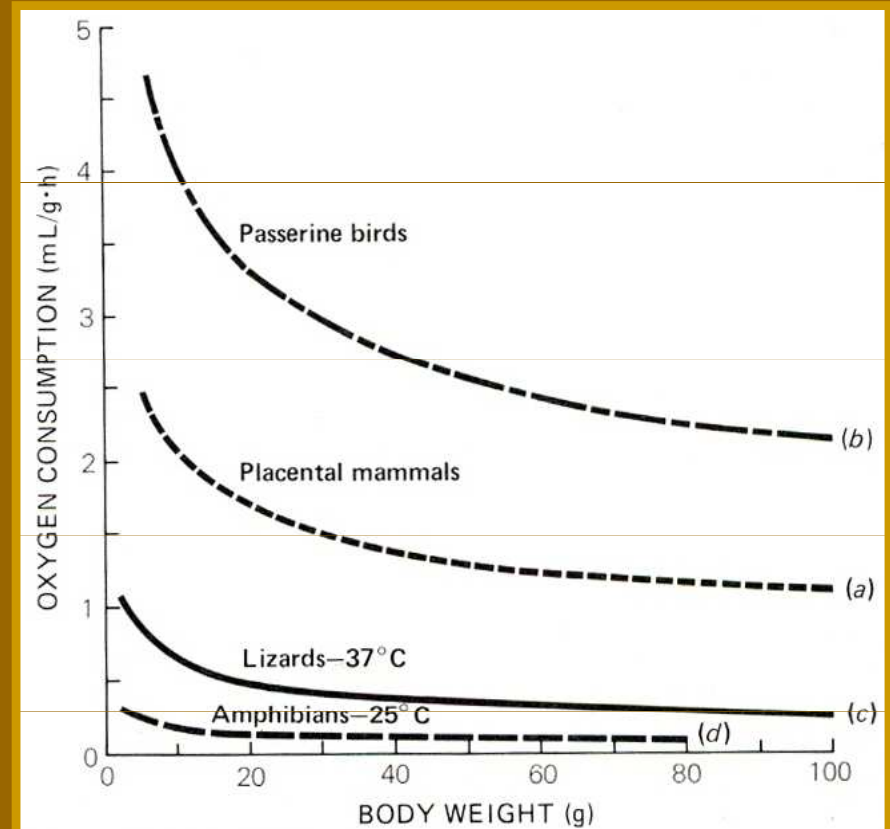
	ještěrka	myš	poměr myš/ještěrka
hmotnost těla (g)	34,3	32,1	1,1
teplota těla (°C)	37,0	36,8	1,0
velikost jater (% celkem)	10,7	20,7	1,9
velikost ledvin (% celkem)	1,9	5,9	3,1
velikost srdce (% celkem)	1,1	2,8	2,5
velikost mozku (% celkem)	1,7	5,5	3,3
VO₂ (ml O₂ / g h)			
celkem	0,2	1,62	8,1
játra (in vitro, per gram)	0,9	4,59	5,1
Na ⁺ transport (in vitro, per gram)	0,22	1,97	9,0
objem mitochondrií (%)	12,4	16,0	1,3
mitochondriální povrchy			
total (m ²)	3,4	10,2	3,0
cristae (m ² /g)	15,5	22,9	1,5
vnitřek (m ² /g)	0,79	1,34	1,7
cytochrom oxidáza (nmol O ₂ /mg min)	11,2	30,0	2,7

Celkově je intenzita metabolismu lineárně úměrná velikosti organismu



relativně, však menší organismy mají intenzitu metabolismu vyšší.

Pro konstitutivně endotermní organismy jsou ~1.5 - 2g pravděpodobně mezní hmotností pro zachování homeostáze (netopýrek thajský, bělozubka nejmenší a kolibřík (*Mellisuga helenae*)).



Intenzita bazálního a standardního metabolismu u ekto- a endotermních obratlovců



watt / kg

normální
teplota (°C)

normální
metabolismus

metabolismus
při 38 °C (korekce)

Savci

ježura *Zaglossus*

ježura *Tachyglossus*

ptakopysk *Ornithorhynchus*

Edentata

Marsupialia

Insectivora (primitivní)

zlatokrt

bělozubky

rejsci

38

32

32

32

33

35

35

35

36

38

3,34

0,86

0,98

2,21

1,69

2,37

2,76

2,86

6,7

13,4

3,34

1,53

1,81

3,8

2,66

3,00

3,63

3,76

8,0

13,4

Ptáci

nelétaví/běžci

ptáci obecně

pěvci

37

40

41

2,10

4,05

7,40

2,31

3,37

5,62

Plazi

želvy

ještěři

hadi

krokodýli

20

30

30

23

0,15

0,40

0,48

0,29

0,58

1,02

1,02

1,06

Obojživelníci

beznozí (červoři)

mloci

bezplicí mloci

žáby

25

20

20

20

0,15

0,06

0,07

0,21

0,25

0,33

0,36

1,07

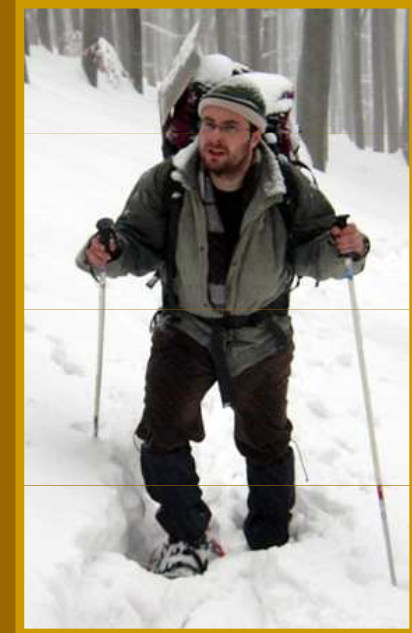
Intenzita metabolismu x aktivita organismu

savci mají schopnost zvýšit metabolismus (spotřeba O_2 při maximální aktivitě oproti spotřebě O_2 pro bazální metabolismus)

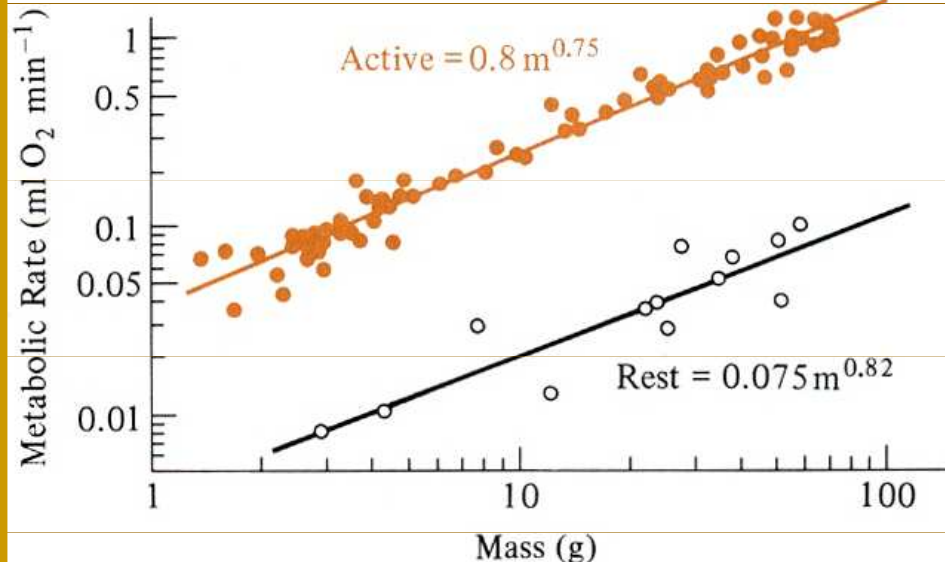
- < 4 kg, ~ 8.3x

- větší savci (pes, člověk, kůň) ~ 11.5x

ektotermové mají schopnost zvýšit metabolismus 5 – 10x



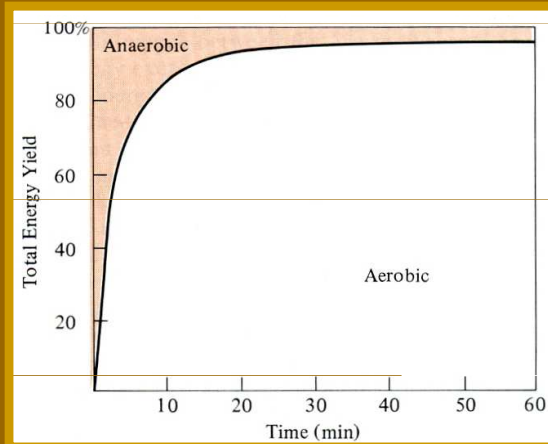
Intenzita metabolismu u ropuchy *Bufo boreas* v klidu a v průběhu aktivity v závislosti na její velikosti



Human basal metabolic rate and metabolic rate with various forms of graded activity. Values are $J \text{ min}^{-1}$.
(Data from Passmore and Durnin 1955.)

Basal	4.2
Lying at ease	6.3
Sitting at ease	6.7
Standing at ease	7.1
Walking: 1 km hr^{-1}	8.4
Driving car	11.7
Walking: 4 km hr^{-1}	14.2
Walking: 6 km hr^{-1}	20.9
Cricket batting	25.1
Walking: + 15% incline/3 km hr^{-1}	26.4
Tennis	29.7
Walking: 8 km hr^{-1}	33.5
Rapid marching	40.6
Squash	42.7
Climbing vertical ladder	48.1
Walking in loose snow: 20 kg load	84.5
Ax work: 51 blows min^{-1}	100.9
Carrying 60 kg upstairs	128.4

Nástup aktivity a zastoupení anaerobního a aerobního metabolismu u člověka.

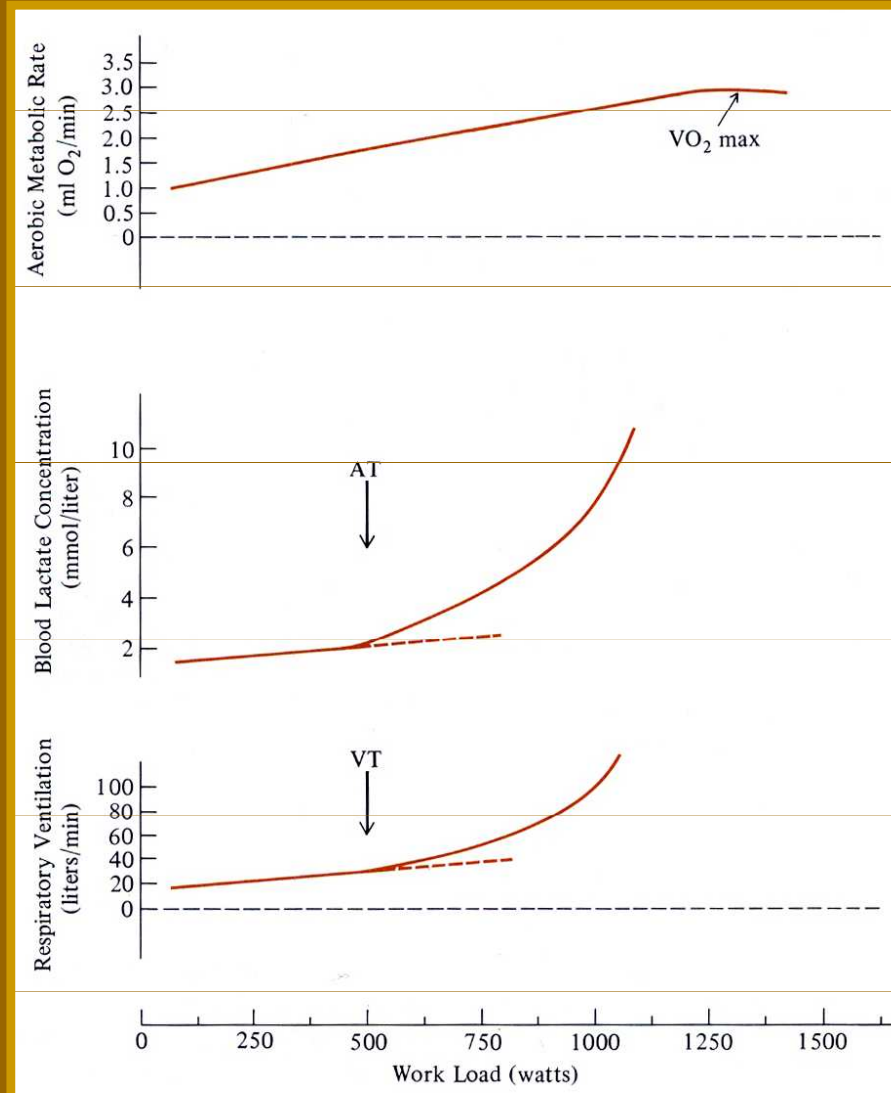


Metabolismus obratlovců je limitován dostupností kyslíku a energetických zdrojů (a enzymovou kapacitou)

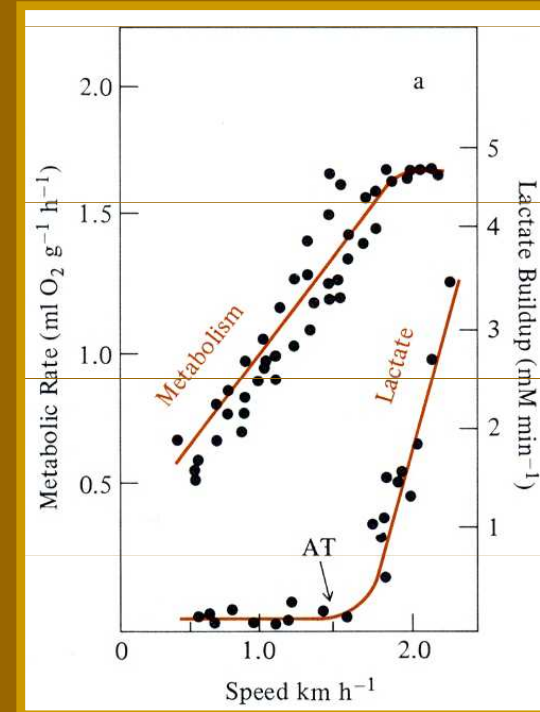
		produkce ATP $\mu\text{mol} / \text{g min}$				
	aktivita	aerobně	anaerobně	celkově	% anaerobně	
Savci						
	hraboš	30 sec	23,2	12,6	35,8	35 %
Hadi						
	chřestýš	5 min	2,1	3,2	5,4	60%
Ještěrka						
	<i>Aniella</i>	2 min	2,0	7,1	9,2	78%
Obojživelníci						
	skokan	3 min	2,9	0,8	3,7	21%

Nástup anaerobního prahu u člověka a varana.

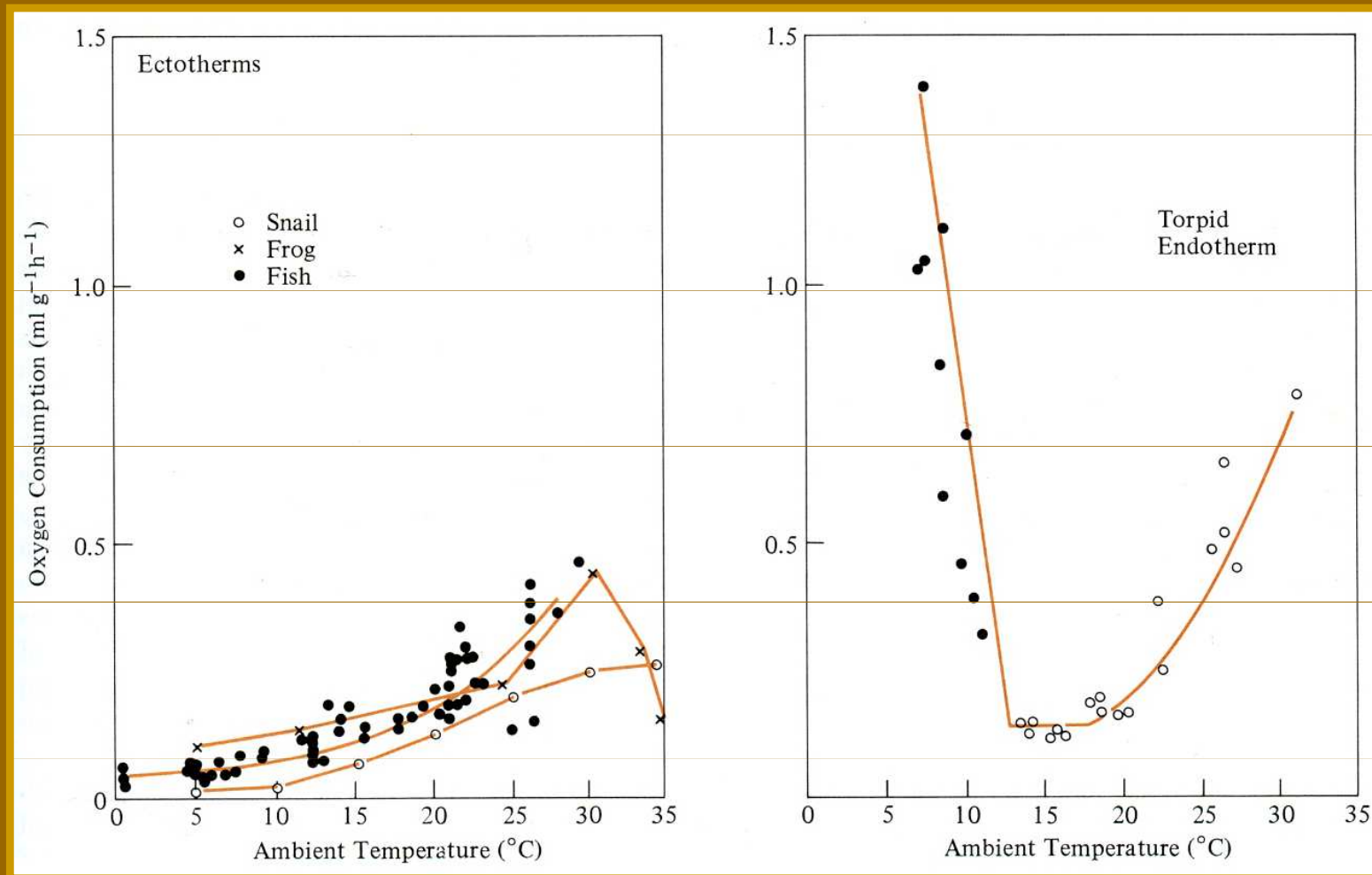
Poměry mezi prací (watt) aerobním metabolismem (spotřeba O_2), koncentrací laktátu v krvi a respirací u atleta.



Anaerobní práh / treshold u varana (*V. exanthematicus*).



Závislost intenzity metabolismu a teploty prostředí



Intenzita metabolismu se mění i s příjmem potravy (dostupnost substrátů) a s dostupností kyslíku:

a) **metaboličtí regulátoři** (většina obratlovců)

b) **metaboličtí konforméři** (většina bezobratlých a někteří vodní obratlovci)

- intenzita metabolismu dostupnosti odpovídá O₂ z prostředí