

SROVNÁVACÍ FYZIOLOGIE OBRATLOVCŮ

(Podpořeno FRVŠ 1555/2009)

E-mail: jipa@sci.muni.cz

Tel: 532 146 223

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 pufrovaná 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).

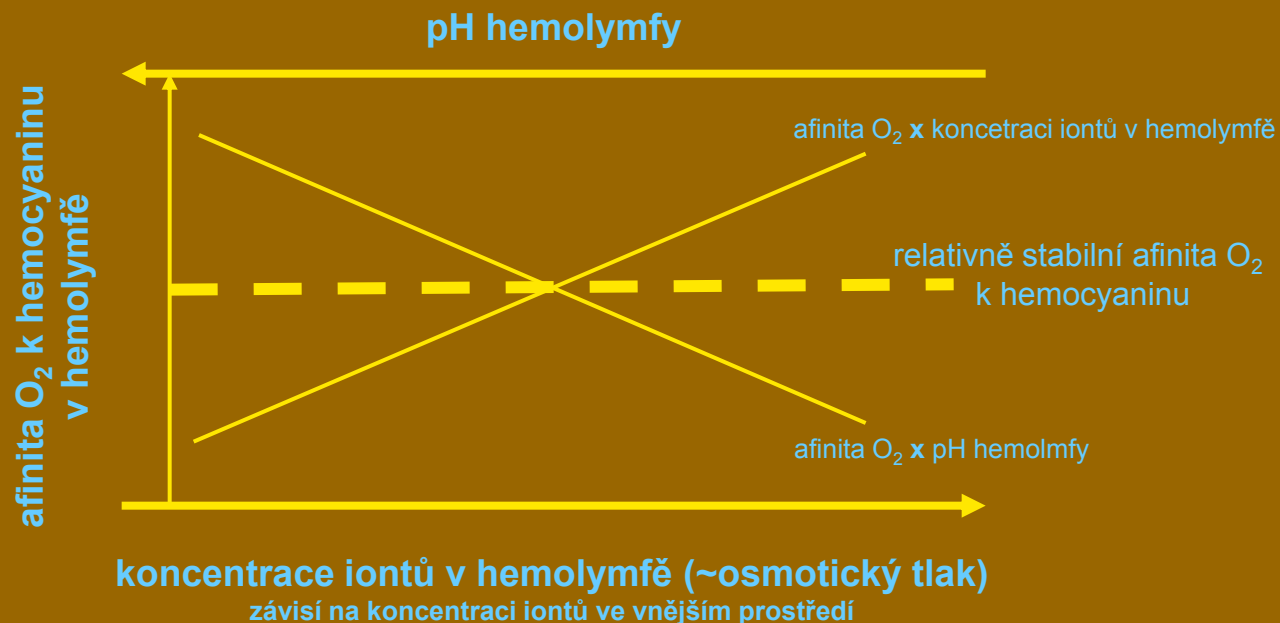
❖ Homeostáze nemusí být ale přesně regulována pouze fyziologickými mechanismy, ale i vnějším prostředím.

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 hladiny 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.

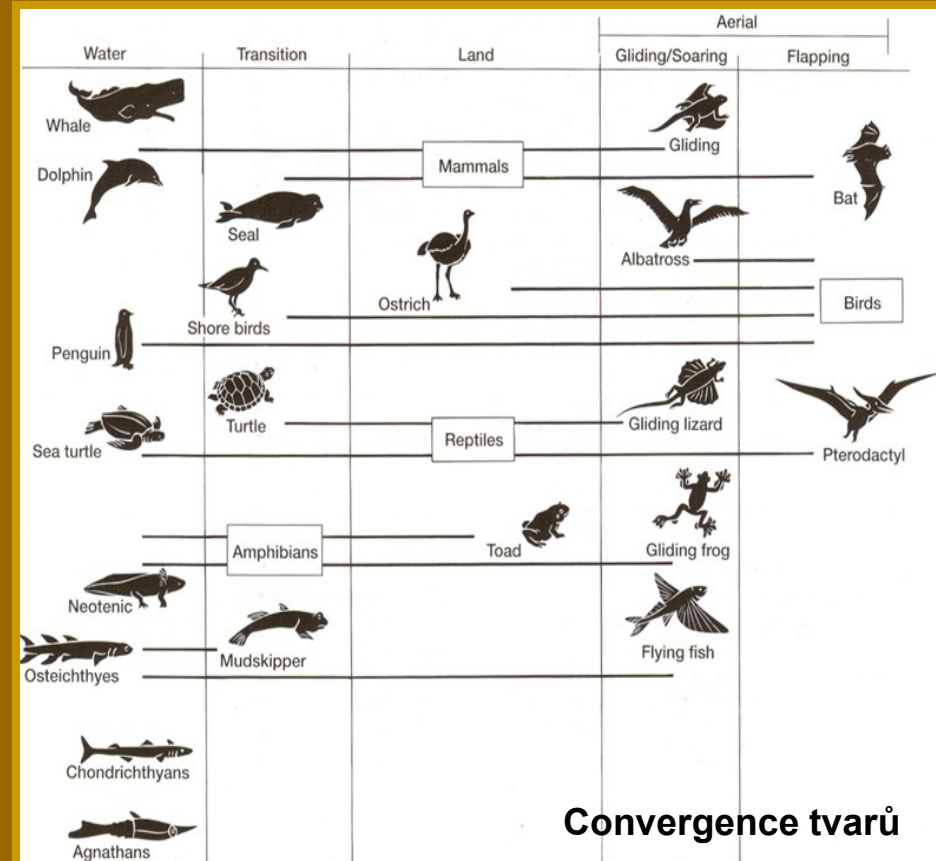


ADAPTACE

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

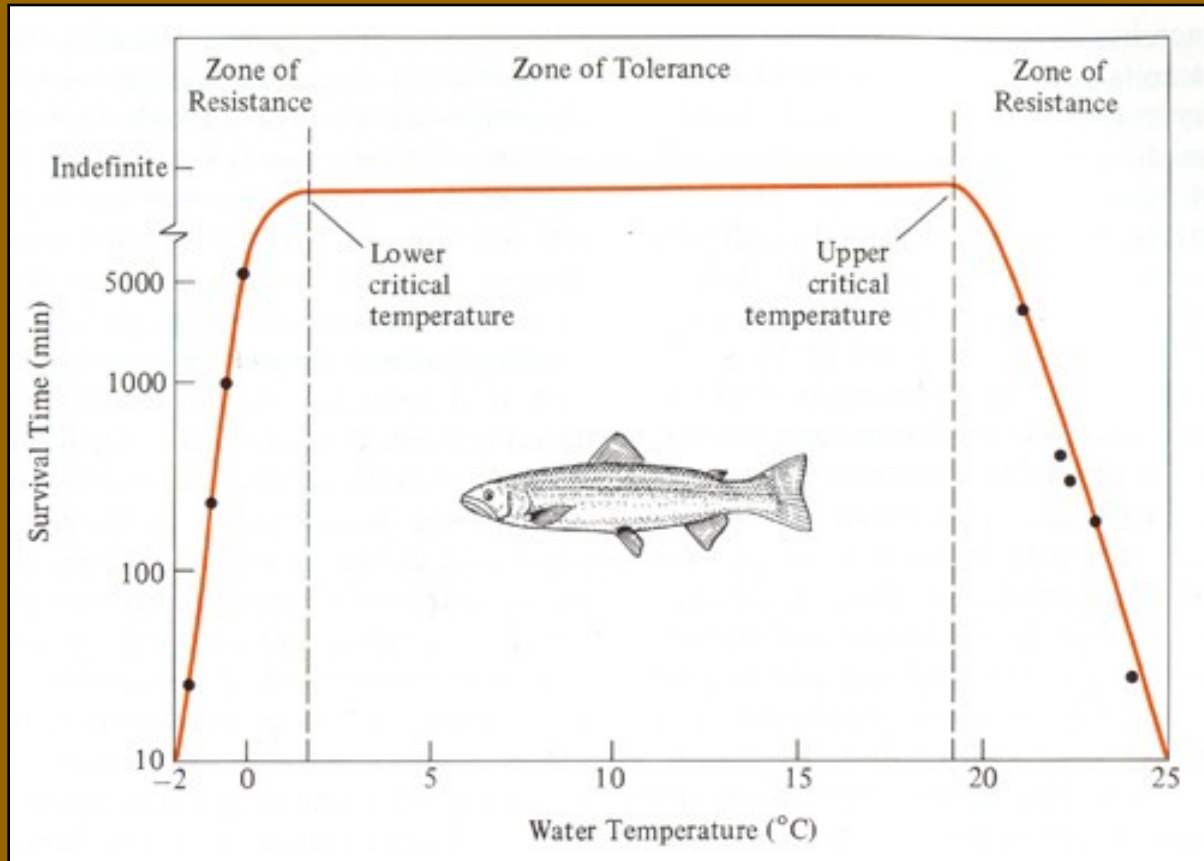
eury -, široká míra tolerance pro danou veličinu

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

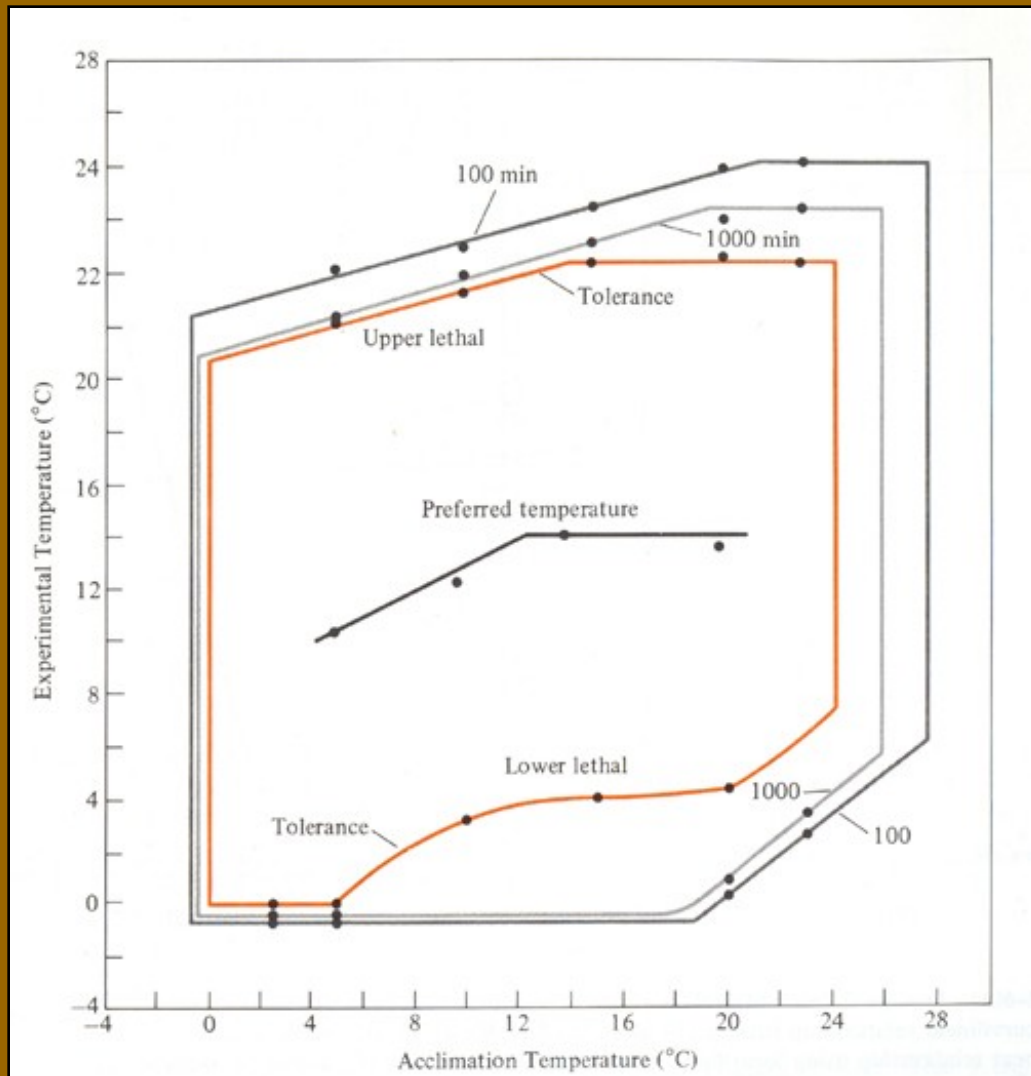


Př. : Tolerance a rezistence pstruha na teplotu vody

Fyziologická adaptace – aklimatizace (+ aklimace)

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

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



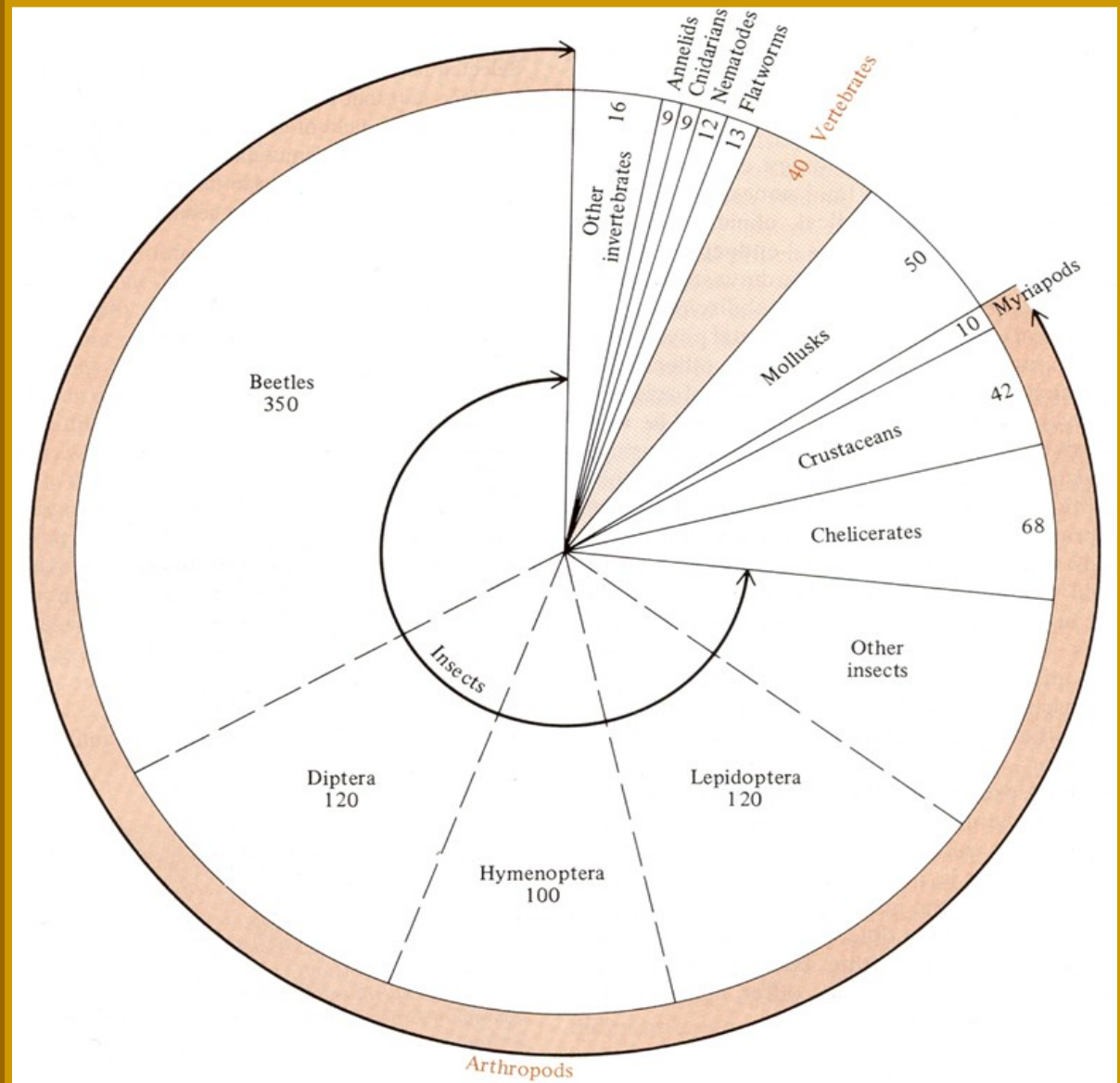
Př.: Polygon teplotní tolerance pstruha aklimovaného na různou teplotu v rozsahu 0 – 24°C.

Srovnání počtu druhů u jednotlivých živočišných skupin (v tisících)

Obratlovci – 3,7%

Bezobratlí – 96,3%

Členovci – 86%



Fylogenetická četnost jednotlivých skupin obratlovců



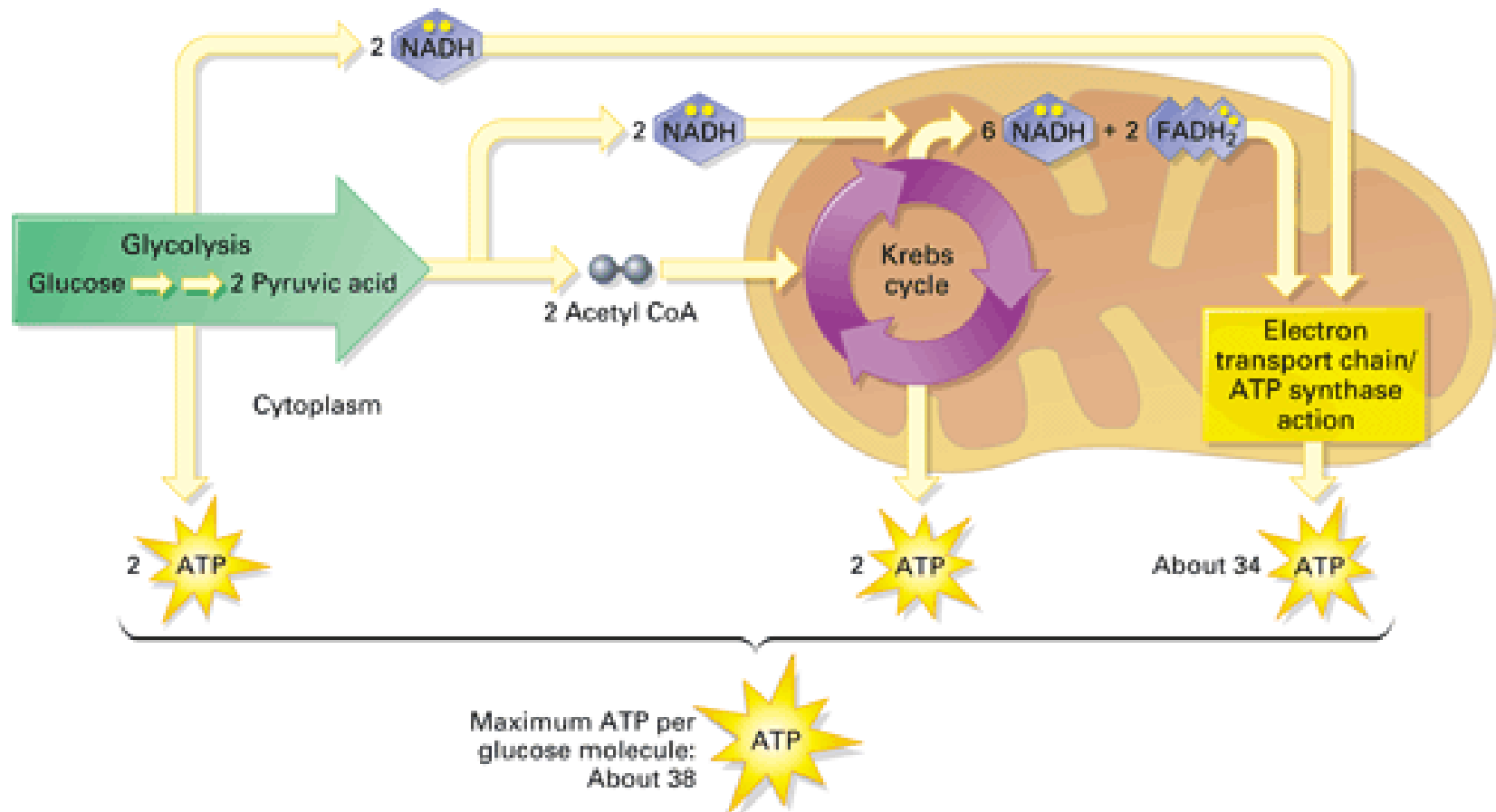
2. ENERGETIKA & METABOLIZMUS

- 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 - aerobní metabolismus.

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

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

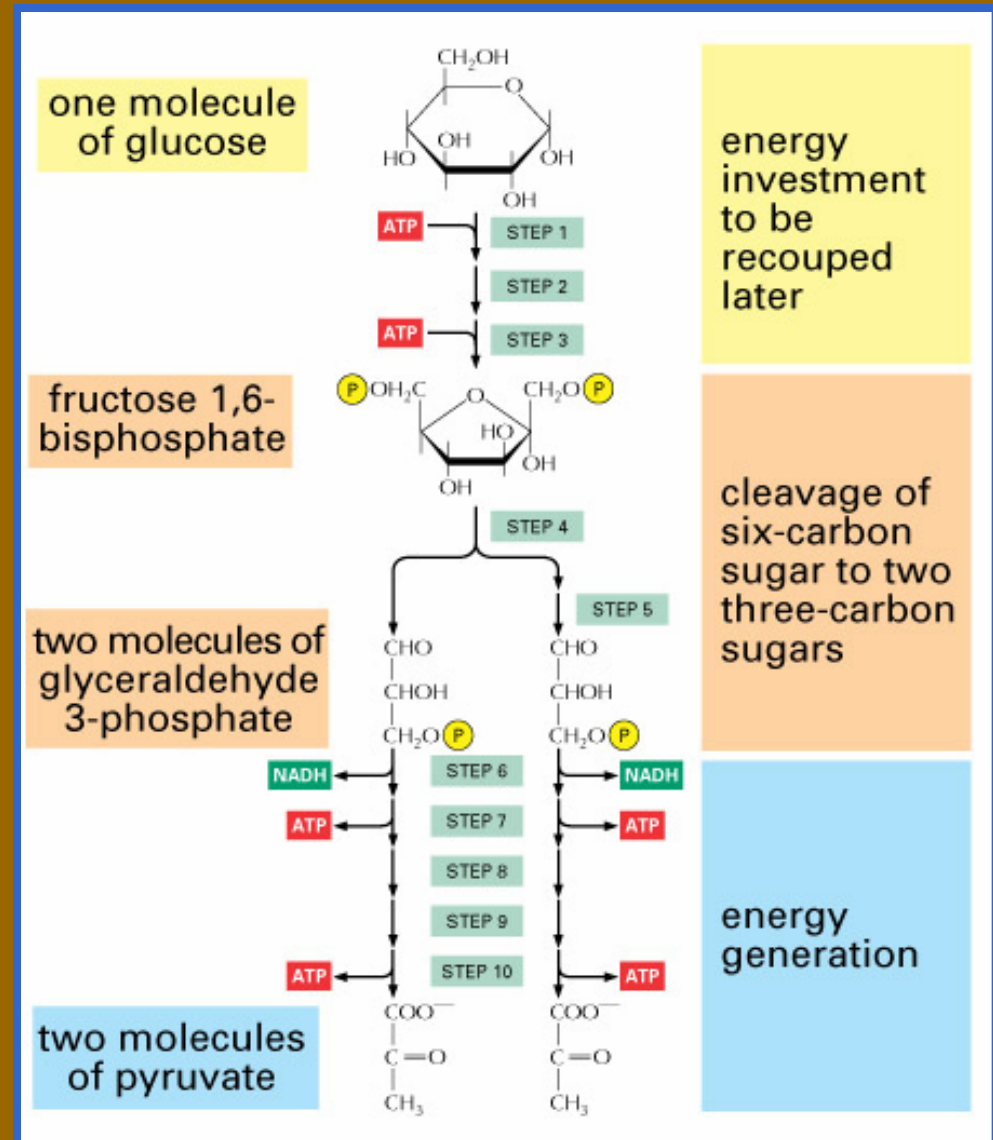
Základní schéma energetického metabolismu buňky (AEROBNÍHO)

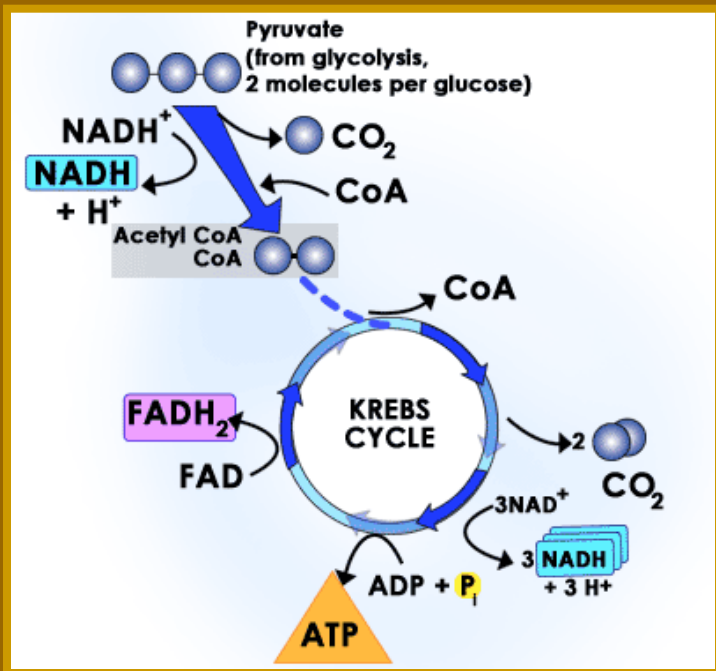


GLYKOLÝZA

(Embden-Meyerhofova dráha)

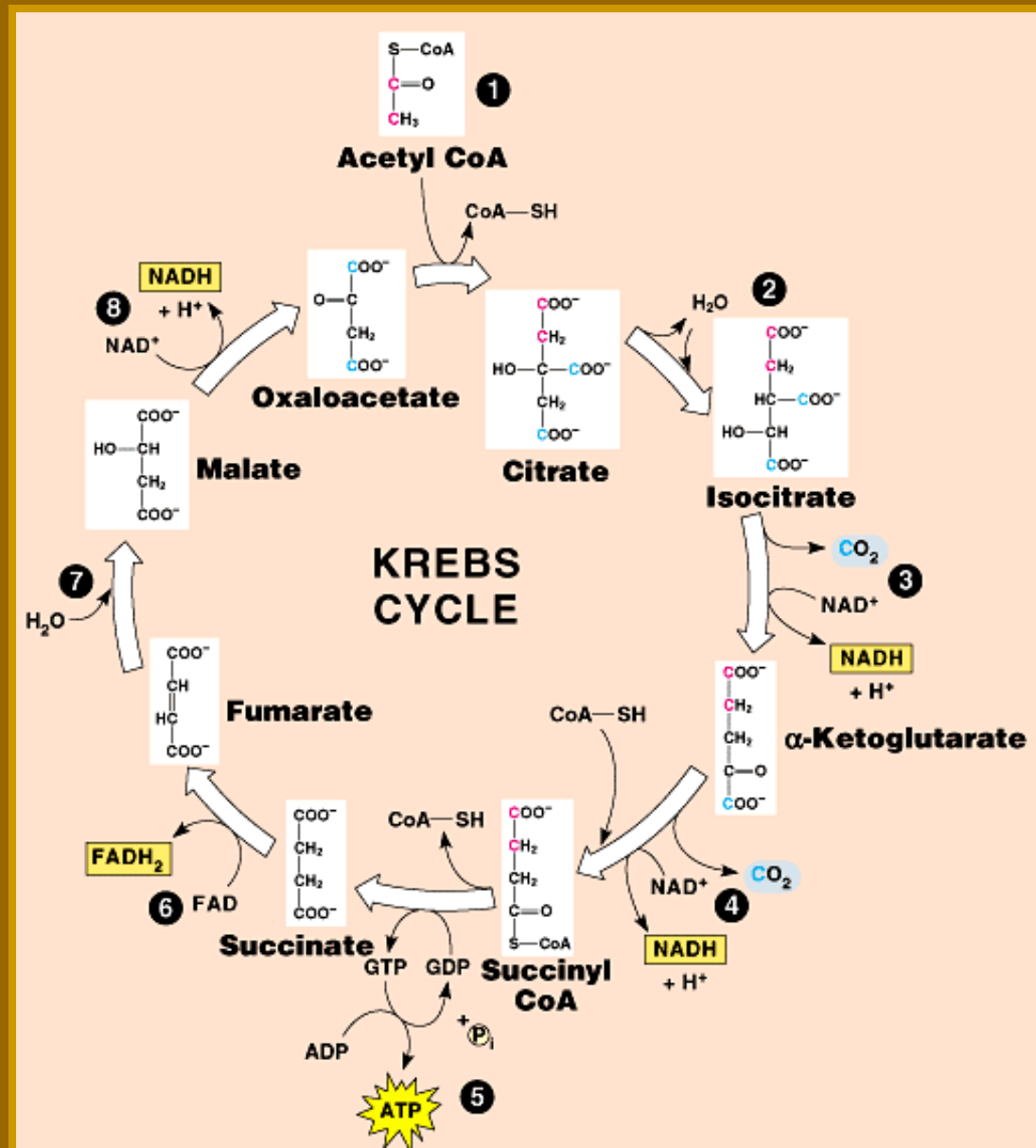
- ❖ substrát glukóza
- ❖ produkt pyruvát ~> laktát
- ❖ laktát inhibuje glykolýzu
- ❖ nespotřebává se kyslík
=> anaerobní proces
neprodukuje se CO₂

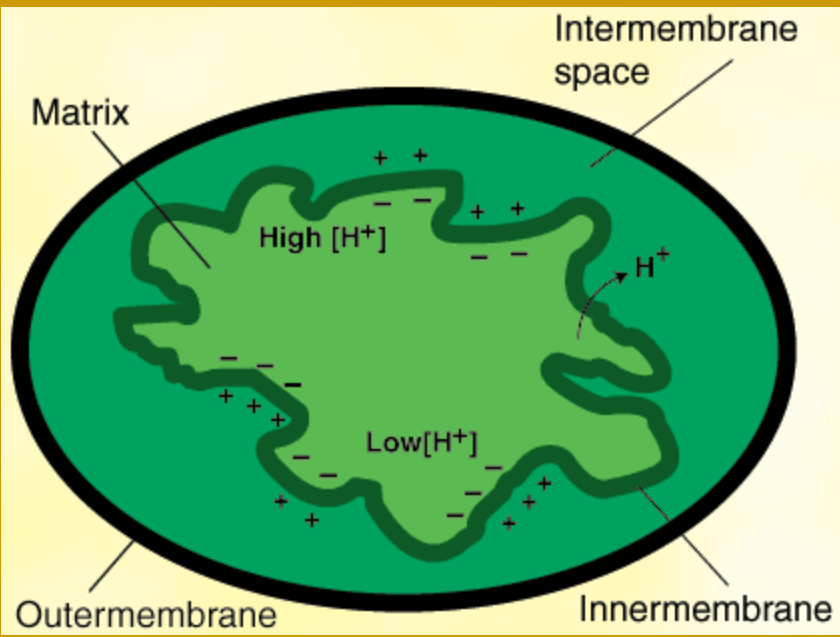




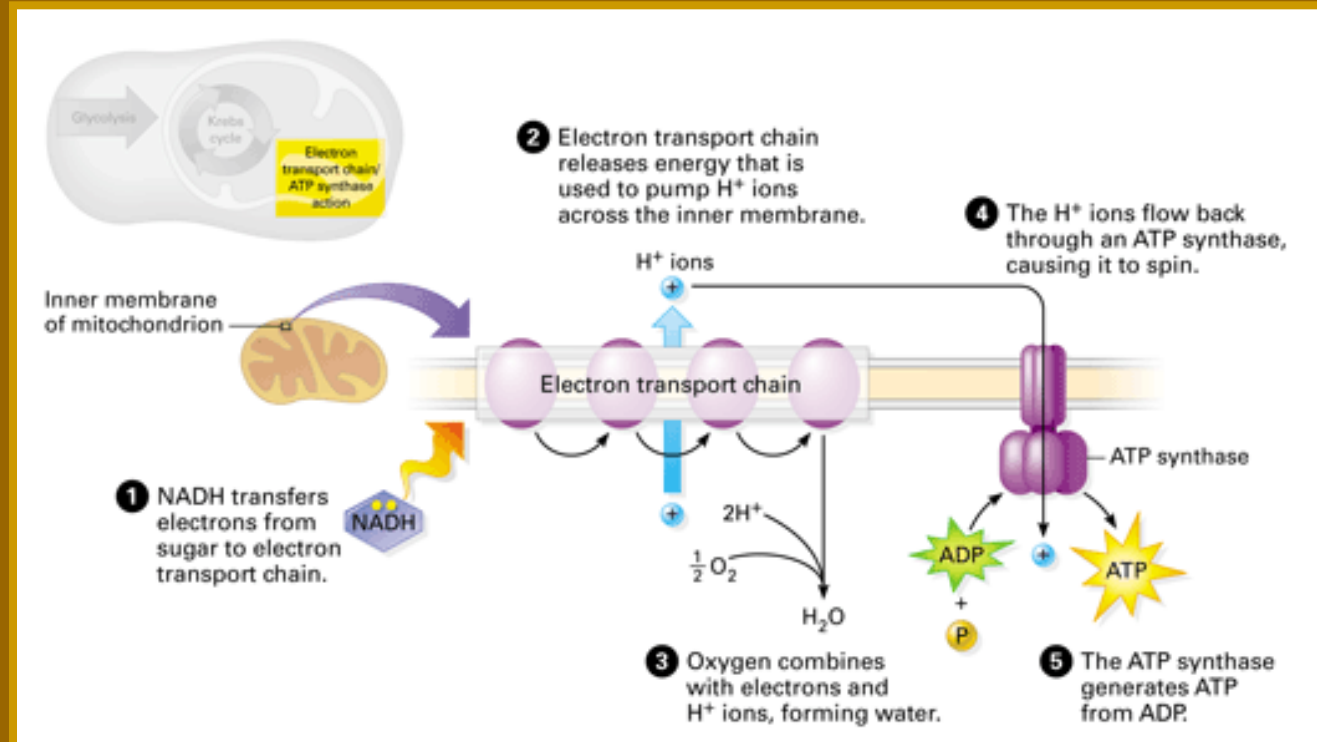
Krebsův (citrátový) cyklus

1xATP + 3xNADH + 1xFADH





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



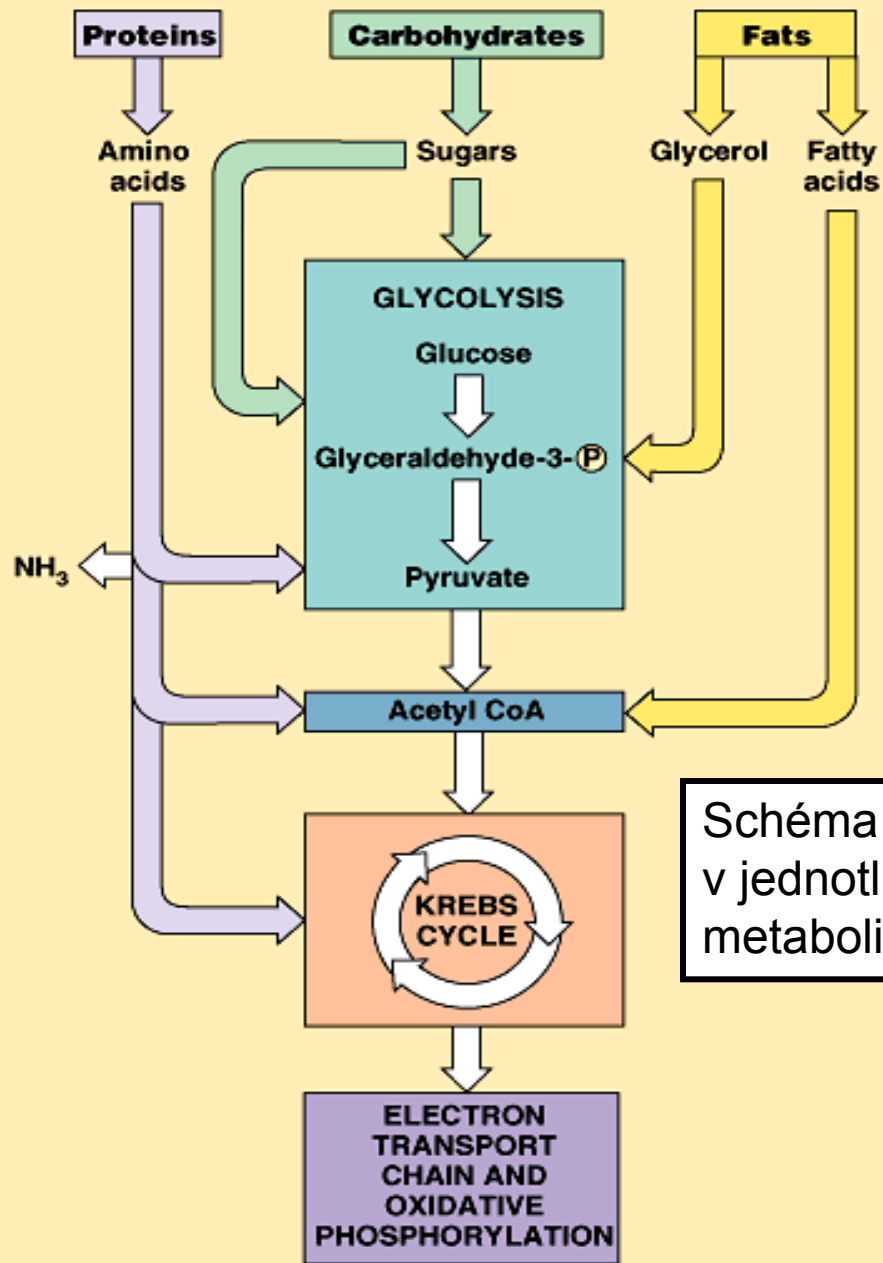
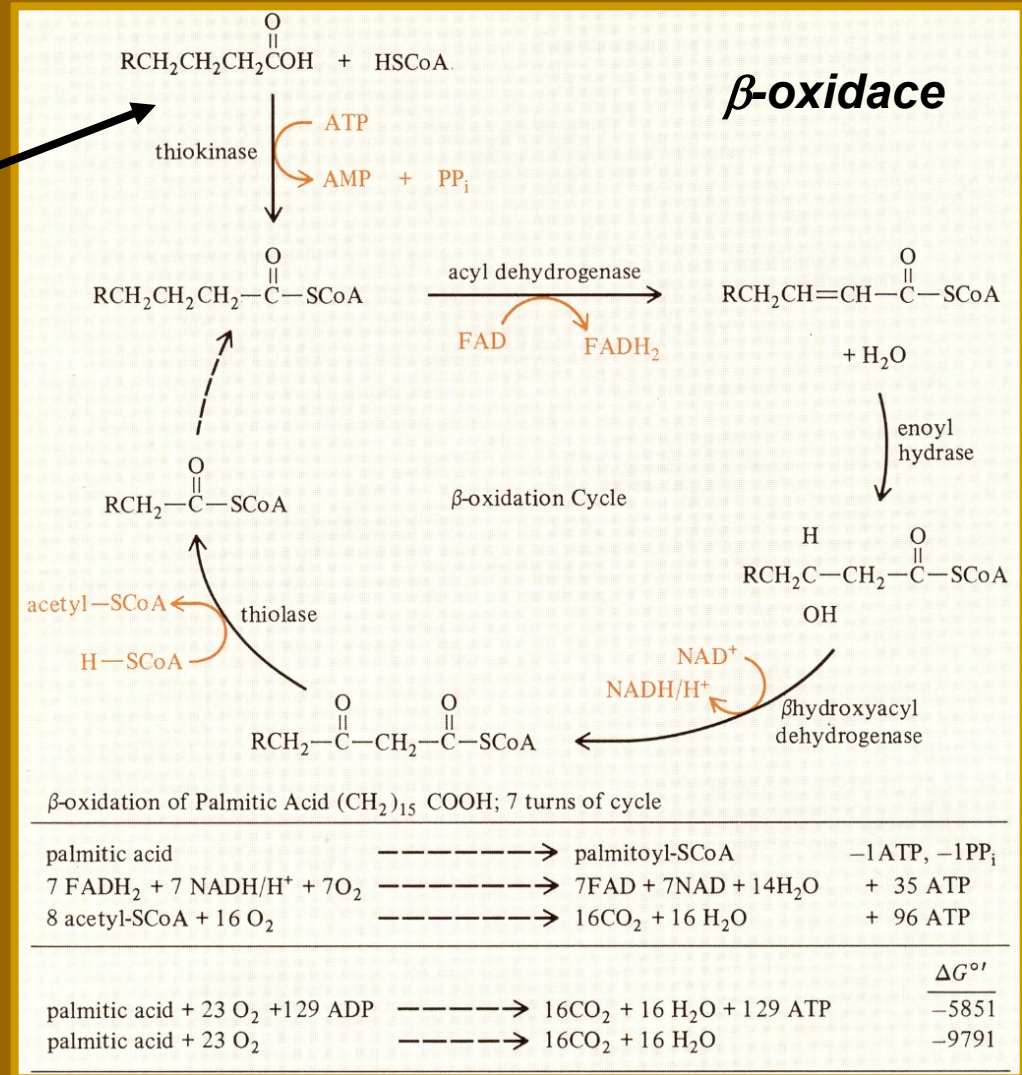
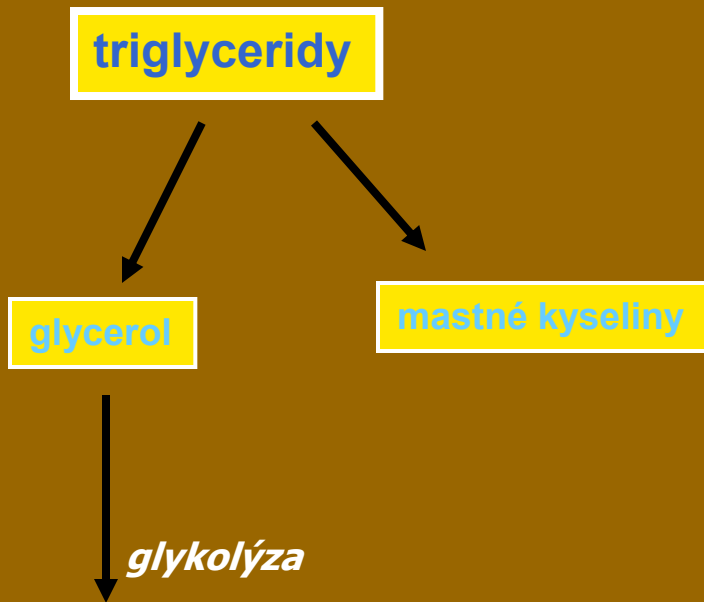
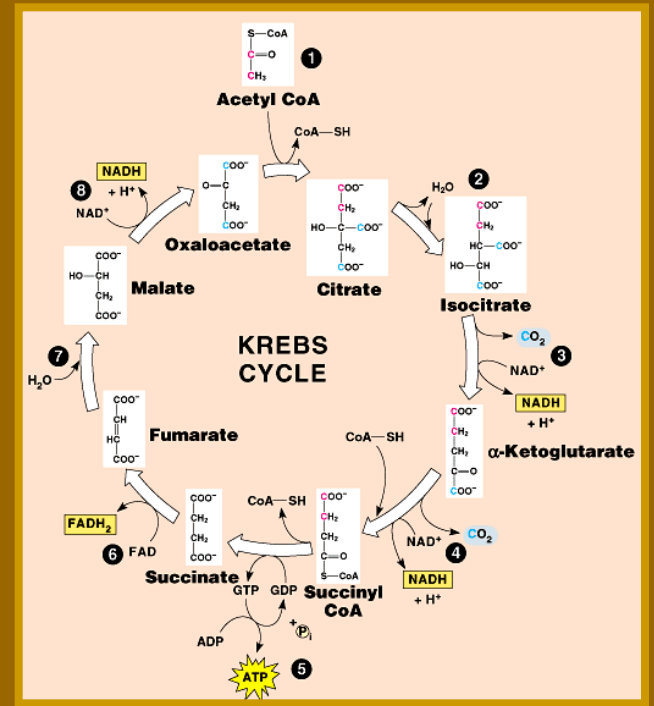
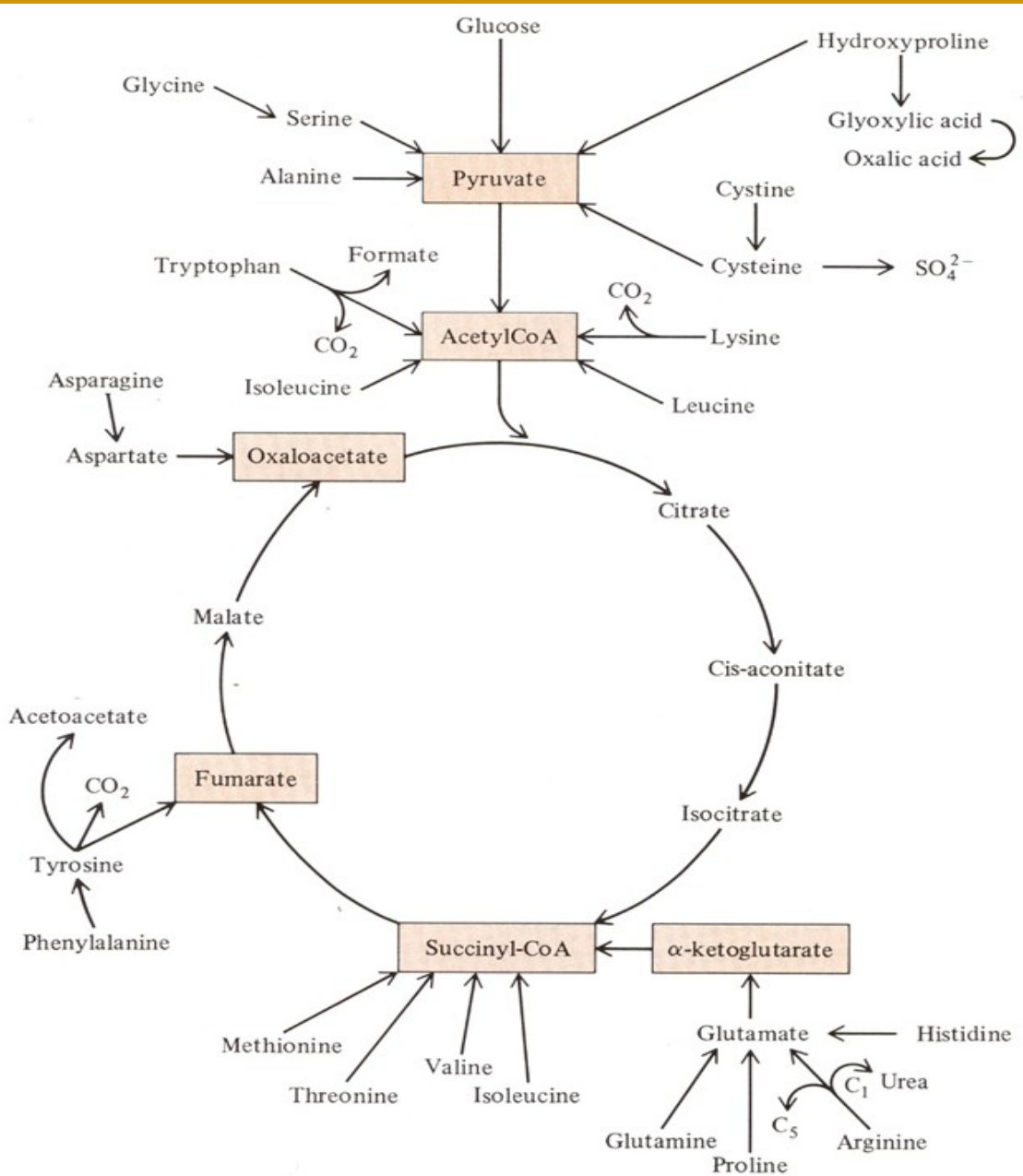


Schéma zapojení proteinů a lipidů v jednotlivých krocích energetického metabolismu

Lipidy jako substrát pro energetický metabolismus



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	Pyruvate	SO ₄ ²⁻	1
	NH ₃	CO ₂	18
		½ urea	-2
			17
MEAT PROTEIN	Amino acids	4.11 CO ₂ 0.70 urea 0.034 SO ₄ ²⁻	22.2

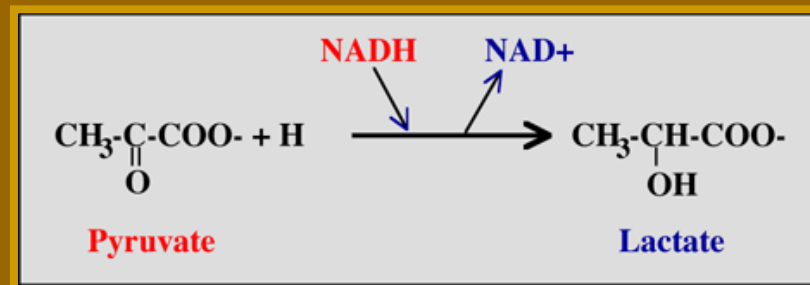
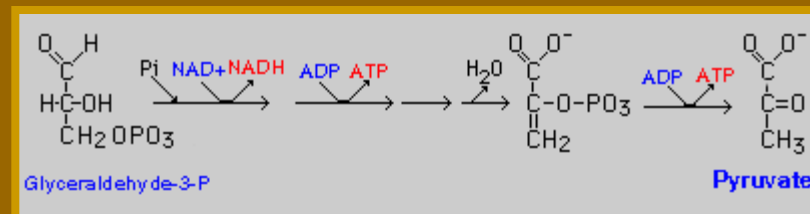
ANAEROBNÍ METABOLIZMUS

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 nejdůležitější dráha anaerobní syntézy ATP u obratlovců

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

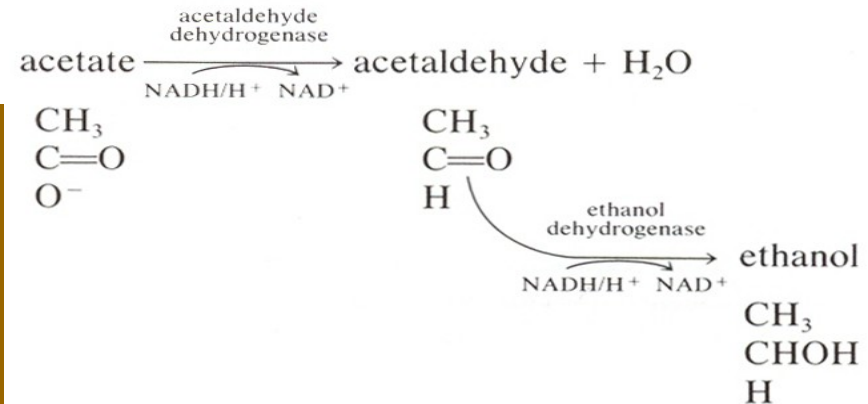
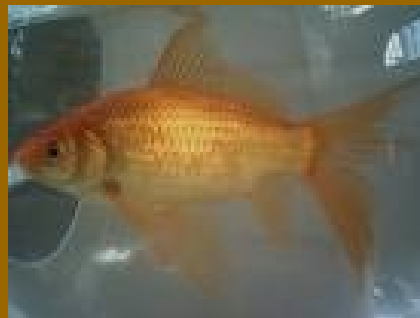
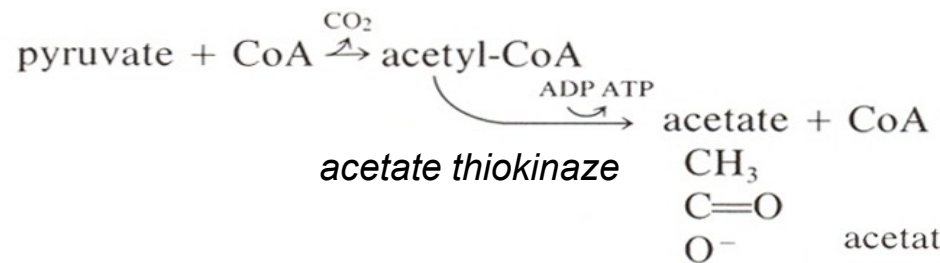


=> pro co největší využití nutná schopnost odbourat laktát
nebo zvýšit rezistenci k jeho vysoké koncentraci

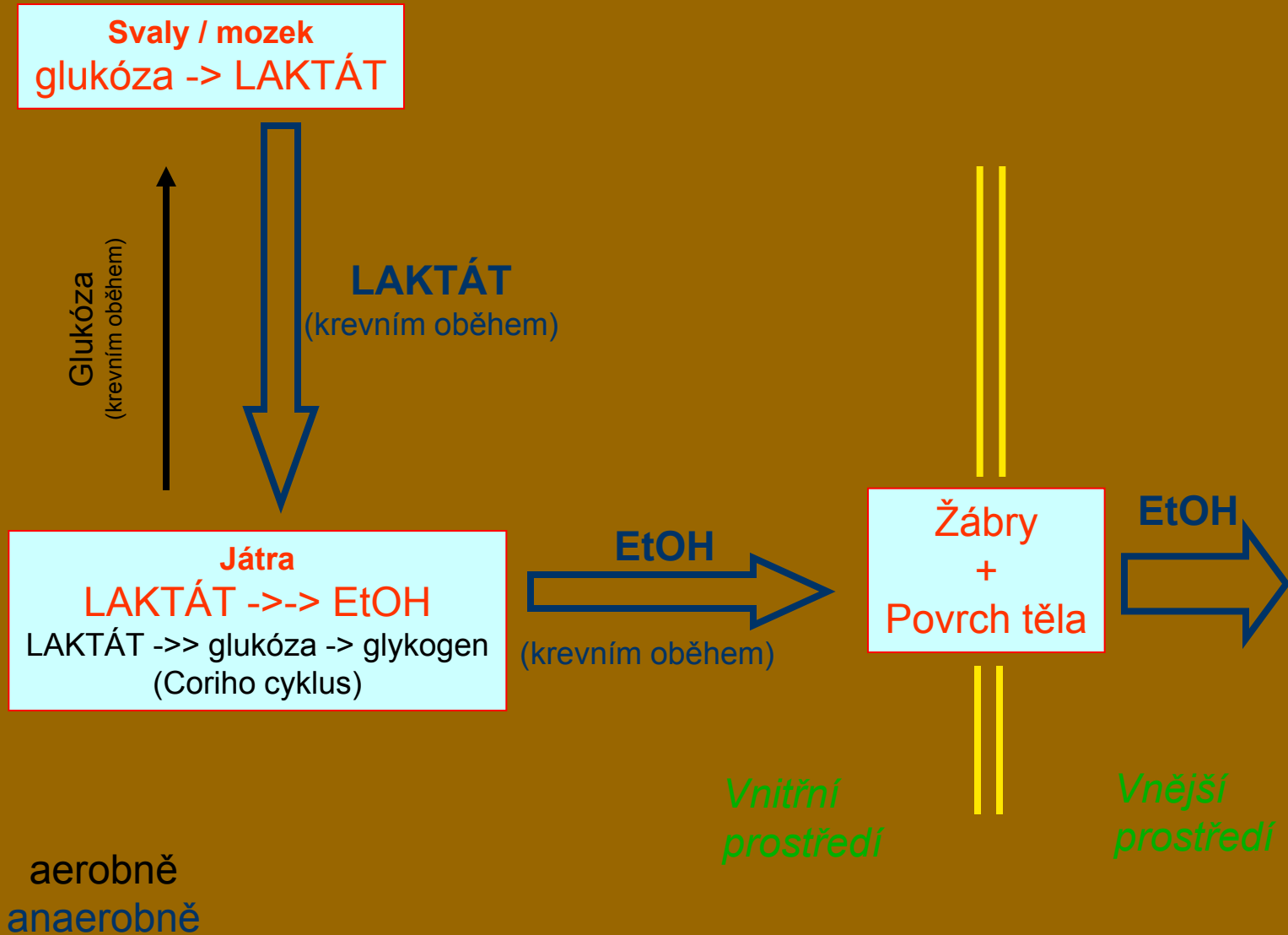
Obratlovci obecně malé možnosti ve využití anaerobních metabolických drah pro celkovou produkci energie

(nejlépe vyvinuto pravděpodobně u ryb)

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

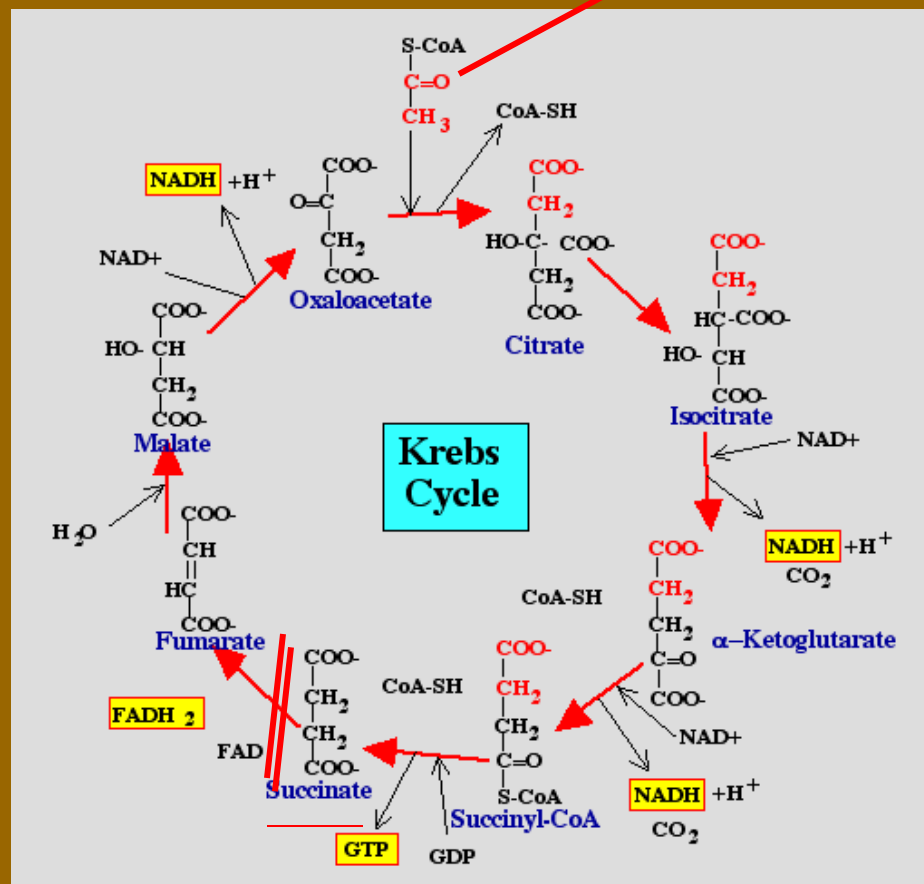


Obraty klíčových látek anaerobní glykolýzy v tkáních karase



B. Různé koncové metabolity

- **succinát**
- **lipidy** (*elongace acetylCoA*)



- **amoniak** (*deaminace aminokyselin ve spřažených reakcích*)



*) Vázáno na možnost vyloučit amoniak do vnějšího (vodního) prostředí.

C. Variabilita koncentrace enzymů glykolyzy 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

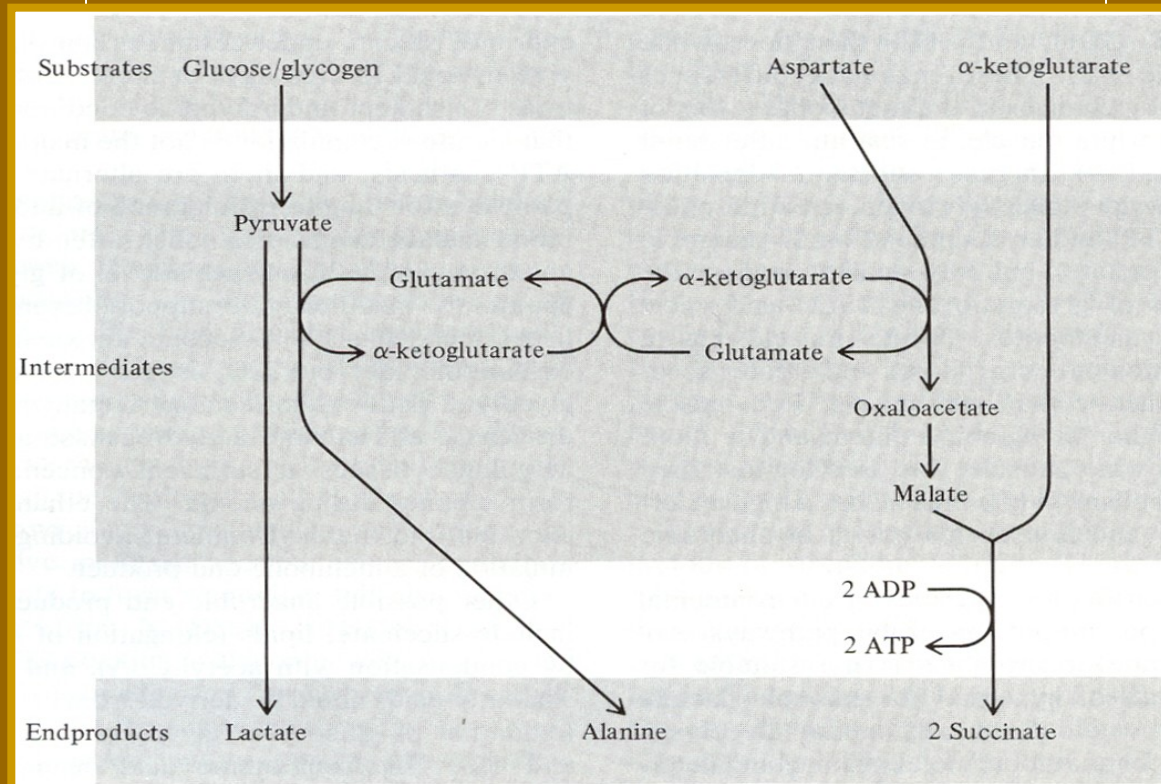
**Změny v koncentraci metabolitů v červené a bílé svalovině
po nástupu svalové aktivity tuňáka**
(μM na g živé váhy)

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 tuleňě (μM) před a po potopení

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



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

	Koncentrace laktátu v krvi (mM)		Navýšení koncentrace laktátu	Zisk ATP + NADH (mM)	ATP tuleň / ATP člověk
	normal	potopení/ aerobní práh			
tuleň	90	160	1.8x	70 + 70	11.5x
člověk	2	8	4.0x	6 + 6	

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 zejména tolerancí k narušení acidobasické rovnováhy, která vede až k uvolňování Ca^{2+} iontů z kostí do plasmy.

Želva (*Chrysemys*) ponořená 180 dní do vody sycené 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

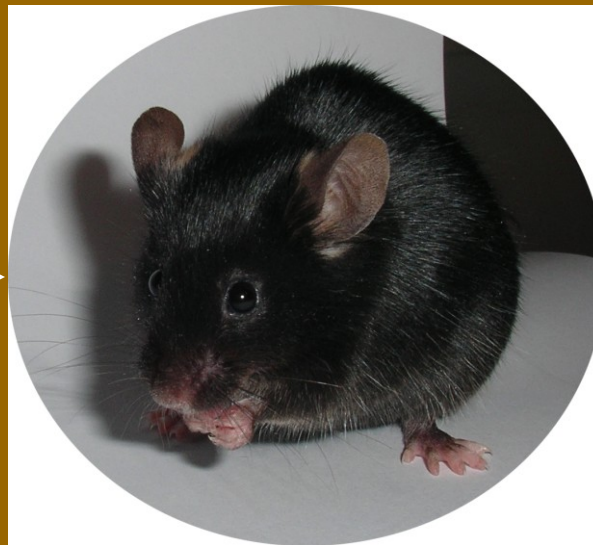
	mlok	potkan
Aerobní metabolismus		
ml O ₂ za hodinu	3,9	120
mmoly ATP za hodinu	1,09 (3,58)	33,6 (3,57)
Anaerobní metabolismu		
akumulovaný laktát (mg)	153	90
ATP z laktátu (mmoly)	2,6 (58,85)	1,5 (60,00)
Aerobní odbourání laktátu		
ATP z odbouraného laktátu (mmoly)	30,6	18
potřebný čas (minuty)	1680	32

3. CELKOVÁ ENERGETIKA & METABOLIZMUS

Chemická energie

- Teplo
- Chemická energie
- Práce

O₂



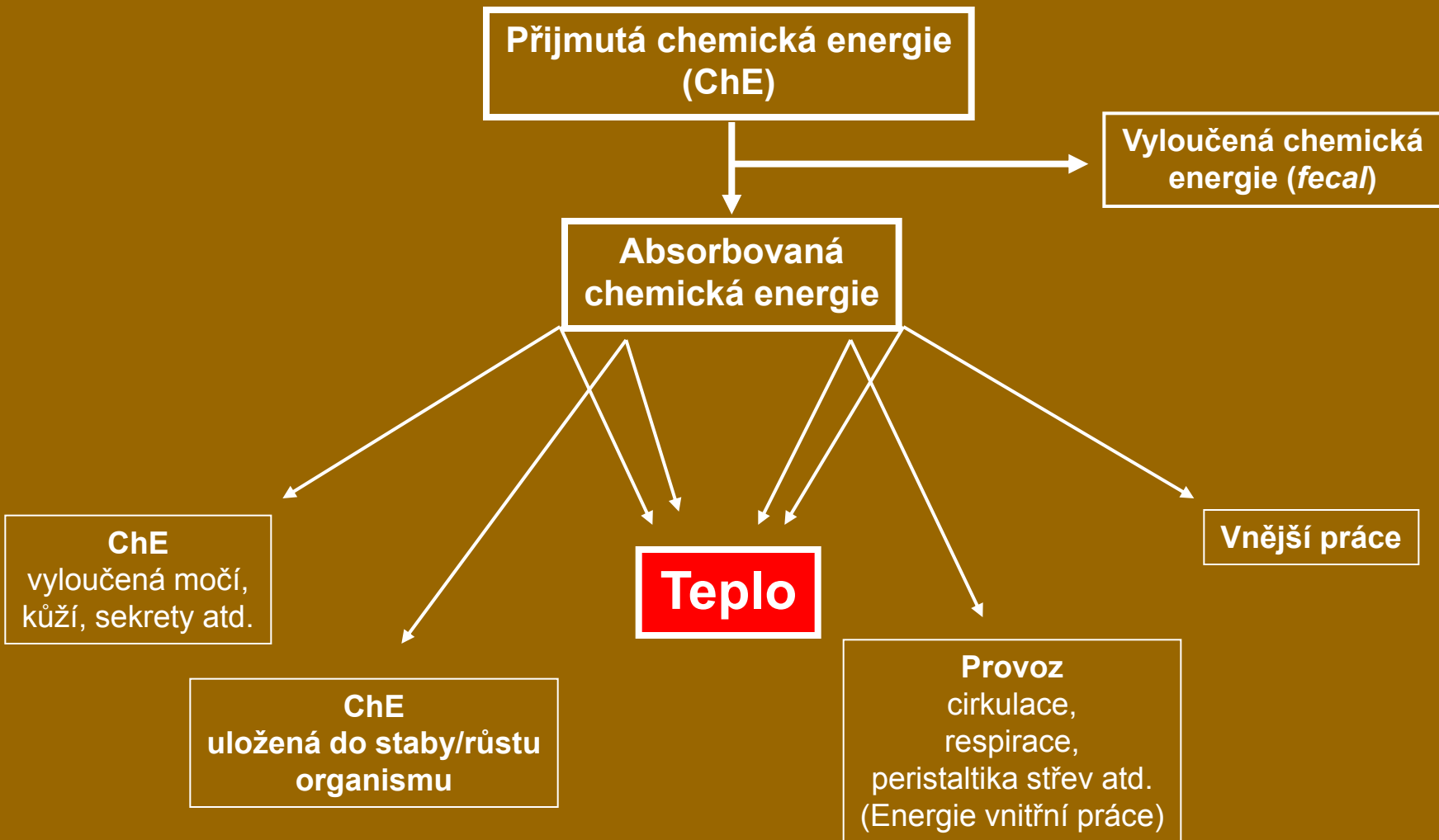
CO₂

Přímá a nepřímá
kalorimetrie

teplo

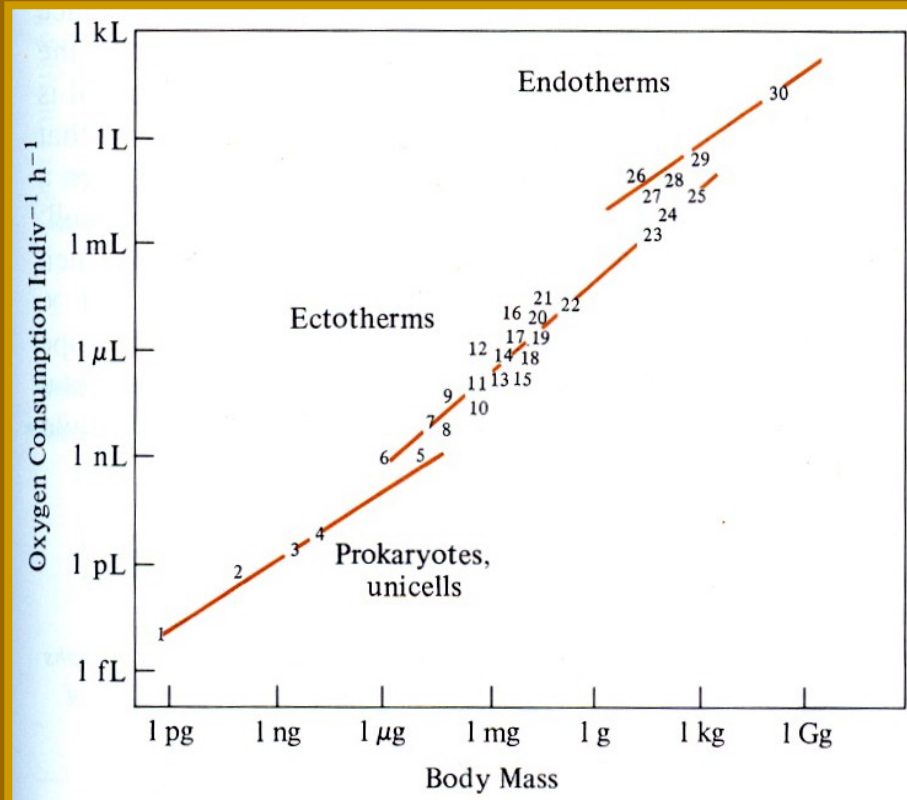
Respirační kv(q)ocient – RQ

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



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.

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

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

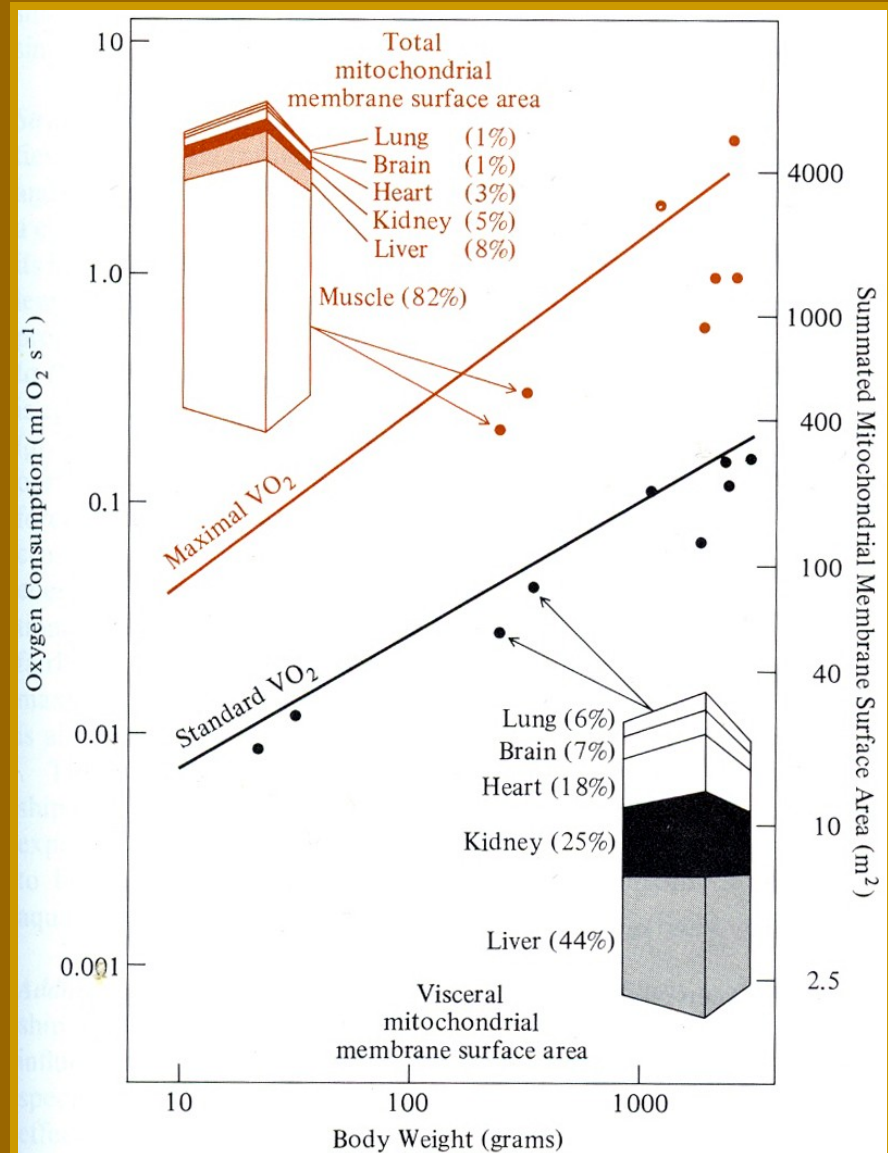
mnohobuněční (1μ, pro krychli, 1000 buněk)
povrch – 60μ² (1000 x (6 x 0,1 x 0,1))

=> ~ 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 ostatní 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.

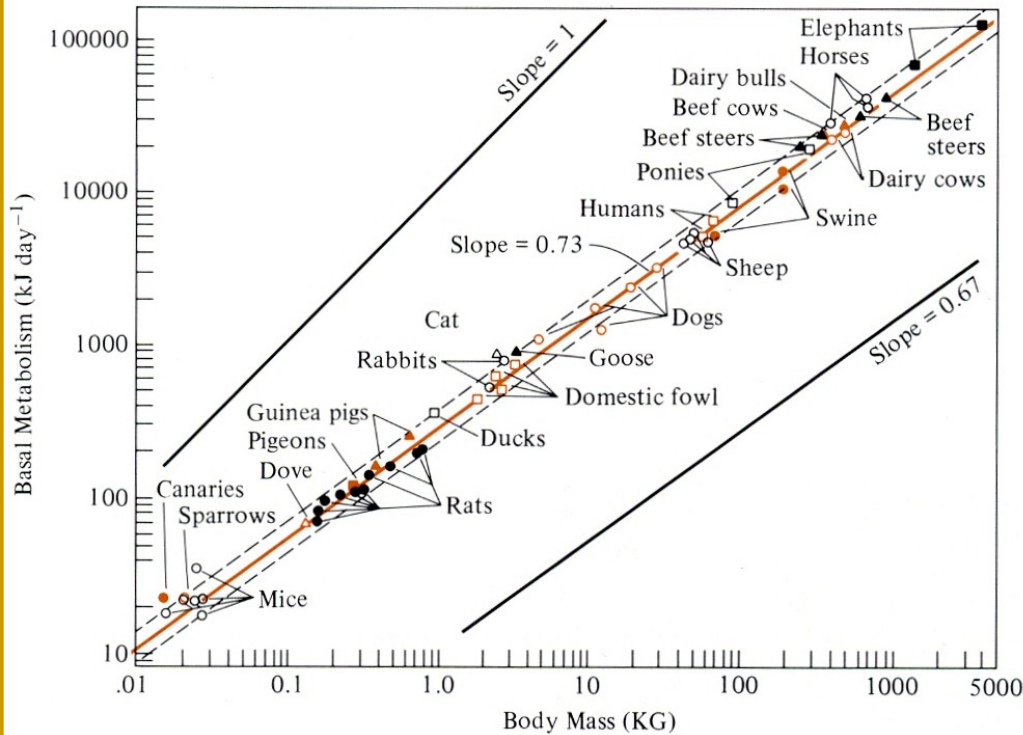


Srovnání tělní teploty, velikosti orgánů, standardního / basálního metabolismu celkového a jater, a náročnosti jaterního Na⁺ transportu u ještěrky (*A. nuchalis*) a myši (*M. musculus*).

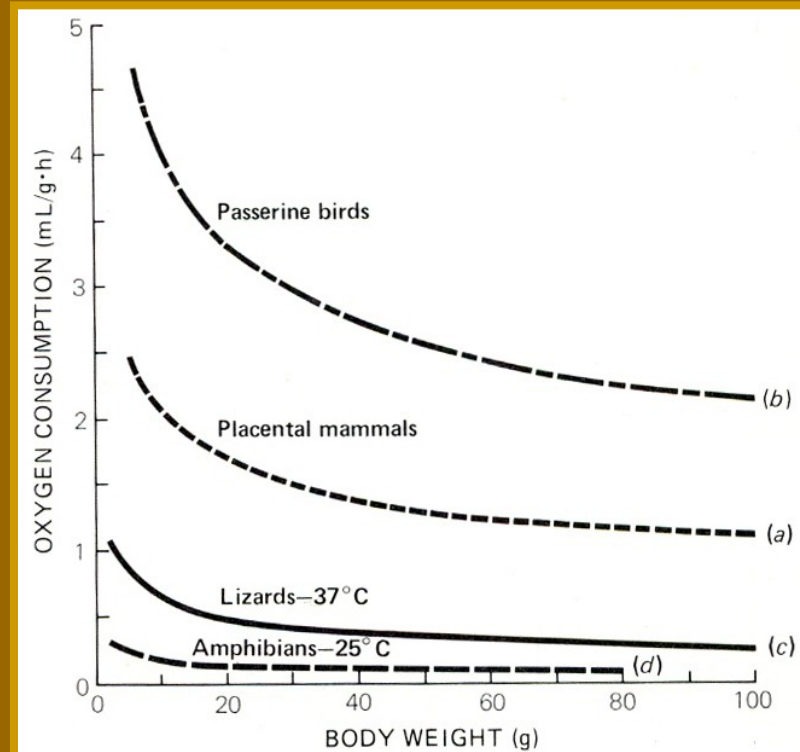


	ještěrka	myš	poměr myš/ještěrka
hmotnost těla (g)	34,3	32,1	1,1
teplota těla (°C)	37,0	36,8	1,0
velikost jater (% celkem)	10,7	20,7	1,9
velikost ledvin (% celkem)	1,9	5,9	3,1
velikost srdce (% celkem)	1,1	2,8	2,5
velikost mozku (% celkem)	1,7	5,5	3,3
VO₂ (ml O₂ / g h)			
celkem	0,2	1,62	8,1
játra (in 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



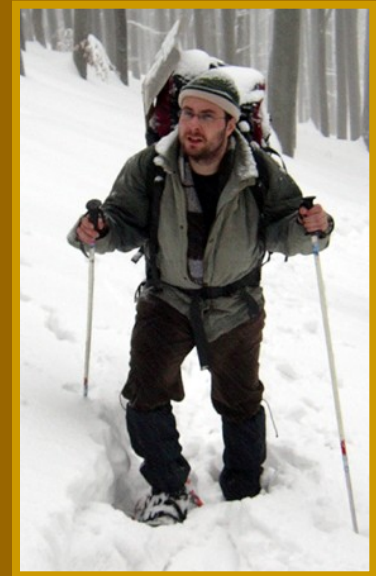
watt / kg	normální teplota (°C)	normální metabolismus	metabolizmus při 38 °C (korekce)
Savci	38	3,34	3,34
ježura <i>Zaglossus</i>	32	0,86	1,53
ježura <i>Tachyglossus</i>	32	0,98	1,81
ptakopysk <i>Ornithorhynchus Edentata</i>	32	2,21	3,8
<i>Marsupialia</i>	33	1,69	2,66
<i>Insectivora</i> (primitivní)	35	2,37	3,00
zlatokrt	35	2,76	3,63
bělozubky	35	2,86	3,76
rejsci	36	6,7	8,0
	38	13,4	13,4
Ptáci			
nelétaví/běžci	37	2,10	2,31
ptáci obecně	40	4,05	3,37
pěvci	41	7,40	5,62
Plazi			
želvy	20	0,15	0,58
ještěři	30	0,40	1,02
hadi	30	0,48	1,02
krokodýli	23	0,29	1,06
Obojživelníci			
beznozí (červoři)	25	0,15	0,25
mloci	20	0,06	0,33
bezplicí mloci	20	0,07	0,36
žáby	20	0,21	1,07

Intenzita metabolismu x aktivita organismu

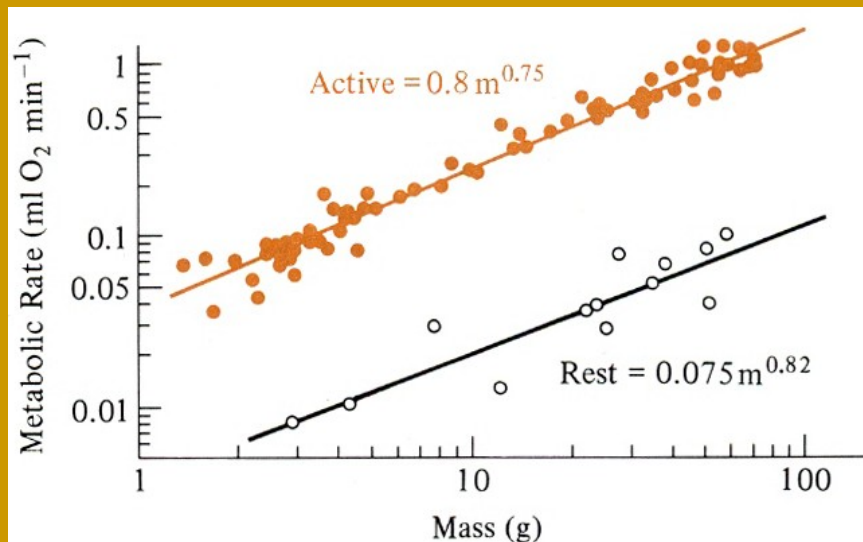
savci mají schopnost zvýšit metabolismus (spotřeba O_2 při maximální aktivitě oproti spotřebě O_2 pro bazální metabolismus)

- < 4 kg, ~ 8.3x
- větší savci (pes, člověk, kůň) ~ 11.5x

ektotermové mají schopnost zvýšit metabolismus 5 – 10x



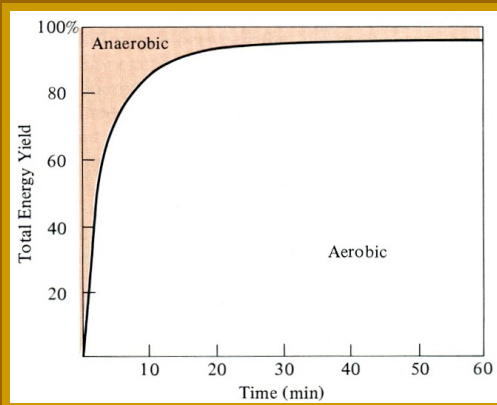
Intenzita metabolismu u ropuchy *Bufo boreas* v klidu a v průběhu aktivity v závislosti na její velikosti



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.

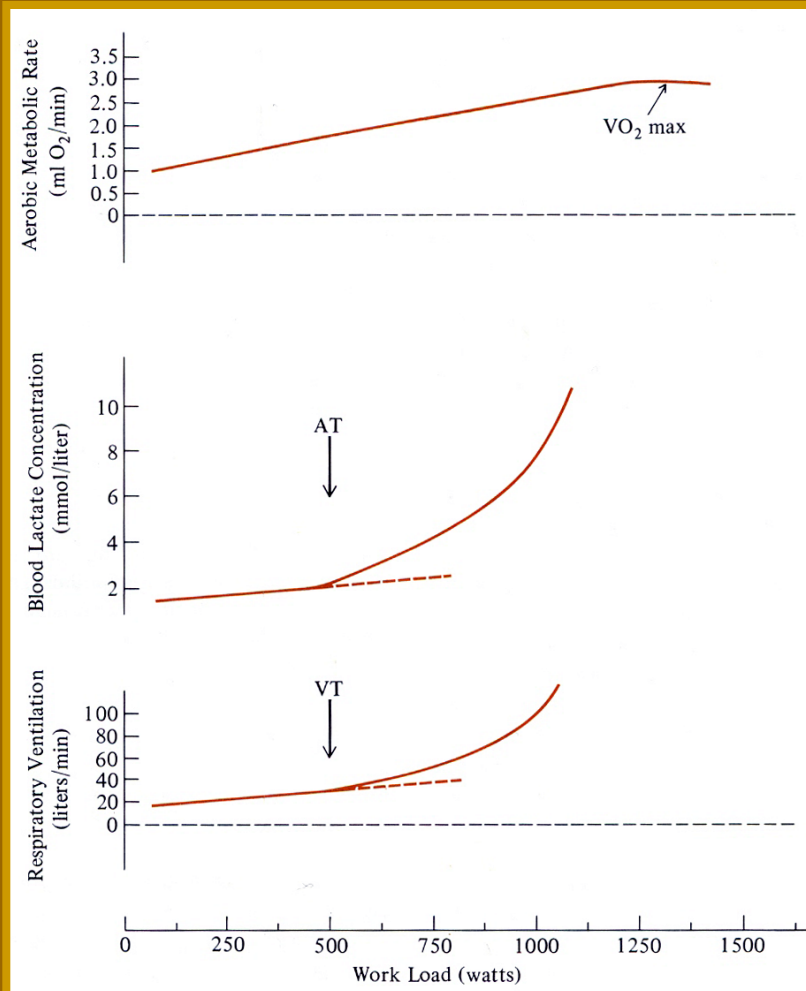


Metabolismus obratlovců je limitován dostupností kyslíku a energetických zdrojů (a enzymovou kapacitou)

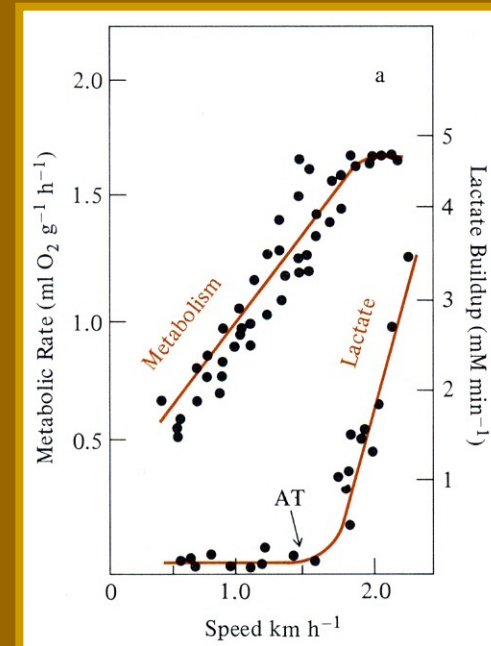
		produkce ATP $\mu\text{mol} / \text{g min}$				
	aktivita	aerobně	anaerobně	celkově	% anaerobně	
Savci						
	hraboš	30 sec	23,2	12,6	35,8	35 %
Hadi						
	chřestýš	5 min	2,1	3,2	5,4	60%
Ještěrka						
	<i>Aniella</i>	2 min	2,0	7,1	9,2	78%
Obojživelníci						
	skokan	3 min	2,9	0,8	3,7	21%

Nástup anaerobního prahu u člověka a varana.

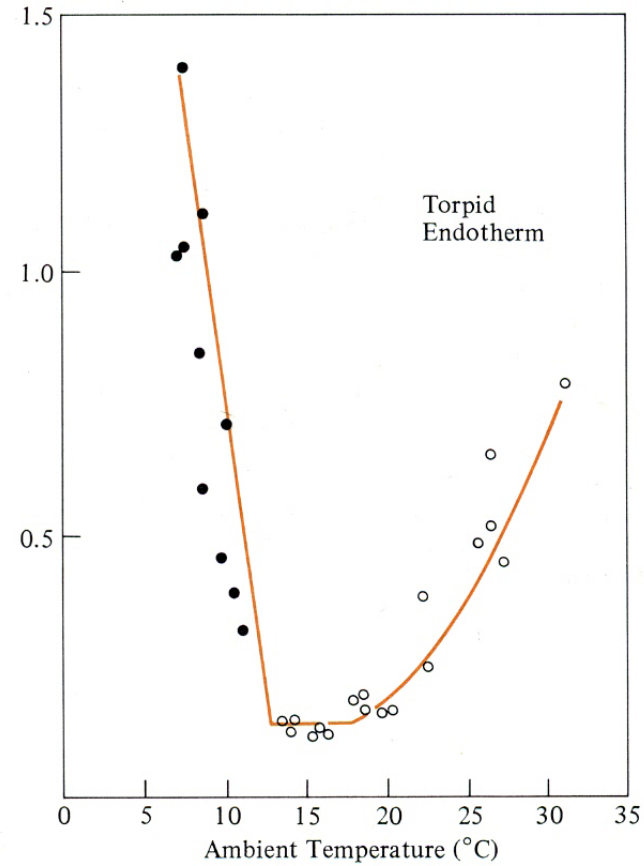
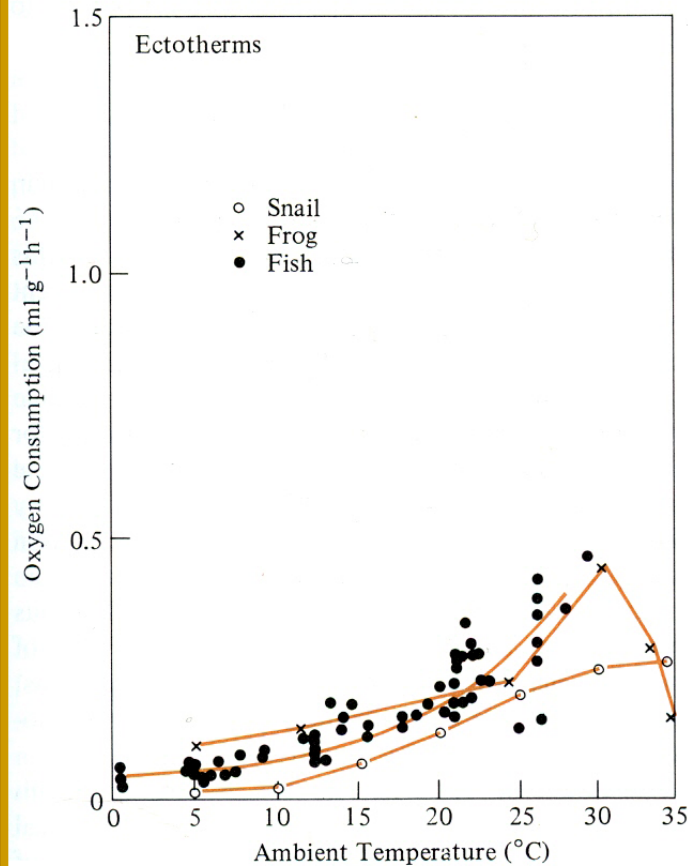
Poměry mezi prací (watt) aerobním metabolismem (spotřeba O_2), koncentrací laktátu v krvi a respirací u atleta.



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 konformeréři** (většina bezobratlých a někteří vodní obratlovci)

- intenzita metabolismu odpovídá dostupnosti O_2 z prostředí