

MARTA JAROSZEWSKA¹, KONRAD DABROWSKI²

¹*Pracownia Histologii i Embriologii Kręgowców
Wydział Biologii i Nauk o Ziemi
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Gagarina 9, 87-100 Toruń*

²*School of Environment and Natural Resources
Ohio State University
2021 Coffey Rd., Columbus, OH 43210, USA
E-mail: dabrowski.1@osu.edu*

CZY ISTNIEJĄ RYBY, KTÓRE MAJĄ PŁUCA? ADAPTACJE MORFOLOGICZNE I FIZJOLOGICZNE RYB DO WARUNKÓW HIPOKSJI I HIPEROKSJI

WPROWADZENIE

Zwierzęta wodne żyją w środowisku o zmiennych warunkach tlenowych, które wynikają ze zmian jej temperatury, zasolenia i ograniczonych ruchów pionowych, produkcji pierwotnej glonów i roślin naczyniowych, zużycia tlenu przez organizmy wodne, przebiegu procesów chemicznych (utlenianie), czy też działania czynników antropogenicznych (zanieczyszczenia i eutrofizacja na skutek nadmiernego użyźnienia wód związkami azotu i fosforu, które stymulują „zakwity wód”) (MORRISON i współaut. 1995, VILLAFANA i współaut. 2001, MACCORMACK i współaut. 2003, NIKINMAA i RESS 2005).

Ilość tlenu zawarta w jednostce objętości wody stanowi 1/30 ilości tlenu zawartego w tej samej objętości powietrza. Proces dyfuzji tlenu w wodzie jest 10 000 razy wolniejszy niż w powietrzu. Rozpuszczalność tlenu w wodzie maleje wraz z podwyższeniem jej temperatury, a w wodach strefy tropikalnej zmienność stężenia tego pierwiastka jest dużo większa niż w wodach strefy umiarkowanej. Dyfuzja tlenu z atmosfery do wody jest utrudniona, gdy jej powierzchnia pokryta jest lodem, co sezonowo zdarza się w strefie klimatu umiarkowanego, lub roślinnością (również w strefie tropikalnej). Stężenie tlenu w zbiornikach wodnych zmienia się w zarówno w cyklu dobowym, jak i rocznym (MORRISON i współaut. 1995). Zużycie tlenu

w wodzie nocą może powodować hipoksję (spadek stężenia tlenu poniżej wartości zapewniającej przeżycie), natomiast intensywne uwalnianie tego pierwiastka w procesie fotosyntezy w ciągu dnia, którego stężenie dochodzi nawet do 300% nasycenia, prowadzi do powstania środowiskowej hiperoksji (MORRISON i współaut. 1995). Hipoksja stanowi problem ekologiczny głównie na obszarach podmokłych, w wodach stojących, sezonowo wysychających zbiornikach wodnych, ale również w ujściach rzek, wodach przybrzeżnych i jeziorach (<http://www.esa.org/education/edupdfs/hypoxia.pdf>).

Według definicji podanej przez Amerykańskie Towarzystwo Ekologiczne na stronie internetowej United States Geological Survey (<http://toxics.usgs.gov/definitions/hypoxia.html>) hipoksja w ekosystemach wodnych oznacza niskie stężenie tlenu, tzn. mniejsze niż 2-3 mg na litr wody (mg L⁻¹). Według innych źródeł literaturowych hipoksją określa się warunki przy stężeniu tlenu w wodzie wynoszącym nawet dwukrotnie więcej, bo 4-6 mg L⁻¹ (FOSS i współaut. 2002). W oparciu o przegląd literatury w większości eksperymentów jako hipoksję przyjmuje się stężenie tlenu do wartości 70% nasycenia wody tlenem, normoksji i hiperoksji odpowiednio do 100% i powyżej. Za łagodną hiperoksję uważa się stężenie tlenu w wodzie wy-

szące 130–189% (11–19,5 mgL⁻¹ w 10–28°C, odpowiednio), natomiast hiperoksję ostrą definiuje się przy wartości 350–590% nasycenia (SAROGLIA i współaut. 2000, PICHAVANT i współaut. 2000, FOSS i współaut. 2002, PERSON-LARUYET i współaut. 2002). Całkowity brak tlenu określany jest terminem anoksji.

Terminy „hipoksja” i „hiperoksja” dotyczą zarówno zjawisk zachodzących w środowisku (woda, gleba, powietrze), jak i procesów fizjologicznych. W tym drugim przypadku oznaczają one, odpowiednio, długotrwały niedobór lub nadmiar tlenu w tkankach, który powstaje na skutek zmniejszonej lub zwiększonej dyfuzji O₂ z narządów oddechowych do krwi lub zaburzeń transportu tlenu z krwi do tkanek ciała. Przyczyny tego typu zaburzeń mają podłoże środowiskowe, jak wskazano powyżej, lub wynikają z nieprawidłowego funkcjonowania organizmu.

Do organizmów wodnych narażonych na wyżej opisane skrajne warunki tlenowe należą m.in. ryby. Jest to grupa zwierząt

charakteryzująca się ogromną zmiennością biologiczną. Wśród około 22 000 gatunków ryb, które dotychczas opisano, istnieją blisko spokrewnione, które charakteryzują się różnym zapotrzebowaniem na tlen, jak również gatunki niespokrewnione, lecz o podobnym zapotrzebowaniu na ten pierwiastek. Dlatego też ryby stanowią interesujący model dla porównawczych badań tlenowo-zależnych systemów na poziomie komórek, tkanek i narządów (NIKINMAA 2002; HOOGEWIJS i współaut. 2007). Istniejące w literaturze wyniki badań, które dotyczą wpływu krótkotrwałych warunków wodnej hipoksji czy hiperoksji na organizm zwierzęcy, stanowią podstawę do rozważań nad reakcją osobniczą na zmieniające się warunki tlenowe. Natomiast długotrwałe zmiany środowiskowe, zachodzące w wyniku cyklicznie powtarzających się zmian klimatycznych powodują przemiany na poziomie ekosystemów krytyczne dla przetrwania gatunków.

DODATKOWE NARZĄDY ODDECHOWE RYB

Rozpuszczony w wodzie tlen jest niezbędny do oddychania dla większości organizmów wodnych. W środowisku wodnym w warunkach hipoksji skrzela nie są organem wystarczającym dla pobrania tlenu w ilości wystarczającej do utrzymania procesów metabolicznych (GRAHAM 1997). Swobodnie poruszające się dorosłe ryby mogą przeżyć hipoksję, przemieszczając się do lepiej natlenionej wody, jednak nie jest to możliwe w przypadku larw i osobników młodocianych. W takiej sytuacji niedobór tlenu w wodzie może być dla nich letalny.

Uważa się, że wodna hipoksja jest głównym czynnikiem ewolucyjnym, który spowodował, że u 400–500 gatunków ryb z różnych rodzin powstała zdolność do oddychania tlenem atmosferycznym (NIKINMAA i REES 2005). Umiejętność ta umożliwiła im przeżycie w warunkach niedoboru lub braku tlenu w ciepłych, eutroficznych wodach słodkich (SCHMALHAUSEN 1968). Oddychanie bogatym w tlen powietrzem atmosferycznym w znacznej mierze uniezależnia metabolizm ryb od stężenia tlenu w wodzie, co pozwala np. na podwyższenie ich aktywności fizycznej oraz umożliwia zredukowanie długu tlenowego, zaciągniętego podczas wysiłku (BURLESON i współaut. 1998). Ujmując problem bardzo ogólnie, można stwierdzić, że serce ryb jest

narządem, który jako ostatni otrzymuje tlen z układu krwionośnego. Dlatego też utlenowana krew, która dociera do serca bezpośrednio z narządu służącego oddychaniu powietrzem, wspomaga funkcje serca zarówno podczas wysiłku fizycznego, jak i w wodzie o niskim stężeniu tlenu (FARRELL i współaut. 2007).

W tym miejscu należy wspomnieć, że istnieje hipoteza, która jak dotąd nie została w dostateczny sposób potwierdzona, że przyczyną wykształcenia się u ryb zdolności do oddychania powietrzem atmosferycznym, była właśnie potrzeba dostarczenia tlenu do mięśnia sercowego podczas wysiłku fizycznego, a nie hipoksja w środowisku wodnym (FARMER 1997). Sugestia FARMERA (1997) zawiera wiele słabych punktów i jest krytykowana, jednak nie należy jej odrzucać bez przeprowadzenia procesu jej falsyfikacji, a zatem można ją tu przedstawić jako przykład kontrowersyjny.

W wyniku adaptacji do zmieniających się warunków tlenowych, u ryb wykształciły się dodatkowe, dobrze unaczynione narządy oddechowe, które stanowią alternatywę dla skrzeli. Układ oddechowy ryb podlegał w trakcie ewolucji ciągłym zmianom, a zdolność do oddychania powietrzem atmosferycznym kształtowała się u nich niezależnie kilka razy podczas 500 mln lat ewolucji.

Do narządów, które umożliwiają rybom oddychanie tlenem atmosferycznym należą: skóra (np. u poskoczka *Periophthalmus magnuspinnatus*) i silnie unaczyniona jama gębowa (np. amazoński rodzaj strętwa, *Electrophorus*) (VAL 1999). U gatunków ryb z rodzaju *Colossoma*, *Brycon*, płyszczynka, *Mylossoma* i *Triporthus*, żyjących w Amazonce, wykształciły się umiejętność zwiększania przepływu krwi w dolnej „wardze”, która powiększa się do znacznych rozmiarów i w warunkach niedotlenienia przez kilka godzin umożliwia im oddychanie powietrzem atmosferycznym (VAL 1999). Powstały w tym celu również nowe narządy, jak na przykład labirynt, który jest grzbietowym rozszerzeniem komory skrzelowej, z bardzo dużą liczbą kostnych blaszek połączonych z pierwszym łukiem skrzelowym i pokrytych silnie unaczynionym nabłonkiem. Narząd ten występuje np. u gurami dwuplamistego (*Trichogaster trichopterus*) i skrzeczka karłowatego (*Trichopsis pumila*). U wielu gatunków ryb ważną funkcję dodatkowych narządów oddechowych pełnią również przekształcone odcinki przewodu pokarmowego: tylna część przeliku (*Dalia pectoralis*), żołądek (przedstawiciel rodziny zbrojnikowatych, Loricariidae, *Hypostomus plecostomus*), jelito przednie (piskorz *Misgurnus anguillicaudatus*) i jelito tylne (rodzina kiryskowate, Callichthyidae) (PODKOWA i GONIAKOWSKA-WITALIŃSKA 2003).

Spośród wszystkich dodatkowych narządów oddechowych ryb, które służą wykorzystywaniu powietrza atmosferycznego, na szczególną uwagę zasługuje pęcherz oddechowy (ang. respiratory gas bladder, RGB), którego budowa i funkcja są całkowicie dostosowane do oddychania powietrzem atmosferycznym. Ponieważ istnieje mylne przekonanie na temat pochodzenia pęcherza oddechowego i pławnego, a w szczególności kolejności ich powstania, poniższy fragment ma na celu przybliżenie problemu ewolucji obu tych narządów.

Pęcherz pławny, który pełni u ryb kostnoszkieletowych głównie funkcję hydrostatyczną, jest najmłodszy ewolucyjnie spośród wszystkich dodatkowych narządów rozwojowo i funkcjonalnie związanych z początkowym odcinkiem przewodu pokarmowego. Powstał on bowiem z przekształcenia pęcherza oddechowego i jest od niego około 100 milionów lat „młodszy”. Z kolei pęcherz oddechowy wywodzi się od parzystego narządu oddechowego, który występował u dewońskich ryb pancernych, Placodermi.

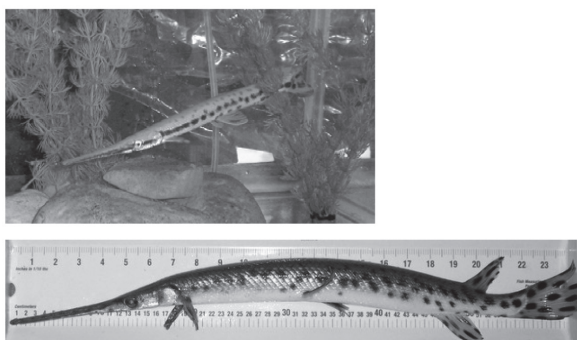
Jedynie kopalne szczątki, które pozwalają na udokumentowanie występowania parzystych worków oddechowych, zostały znalezione u przedstawiciela pierwotnych Placodermi, *Bothriolepis canadensis*. Występujące obecnie u ryb pęcherze oddechowy i pławny wywodzą się od gatunków pokrewnych *B. canadensis*, natomiast nie bezpośrednio od niego (GRAHAM 1997, PERRY i współaut., 2001). Stwierdzono, że sposób oddychania powietrzem atmosferycznym najwcześniej wykształcił się u ryb tropikalnych, czego przykładem jest południowo-amerykański przedstawiciel ryb dwudysznych, prapłaziec (*Lepidosiren paradoxa*) (Lepidosirenidae, płazakowate), którego czas powstania jako gatunku datuje się na okres dolnego dewonu, tj. na długi czas przed radiacją ryb kostnoszkieletowych w mezozoiku (VAL 1999).

Kwestia homologii płuc i pęcherza pławnego oraz mechanizmów oddychania pozostaje w nauce nadal otwarta (PERRY i współaut. 2001). Istnieją dowody na podobieństwo procesów, które sterują oddychaniem powietrzem atmosferycznym w obrębie gromady Actinopterygii (promieniopłetwe), ale ich charakter różni się od procesu występującego u prapłetwca (gromada Sarcopterygii, Mięśniopłetwe) i kręgowców lądowych. Jednak różnice te są sprzeczne z teorią która głosi, że narządy służące oddychaniu powietrzem atmosferycznym powstały bardzo wcześnie w filogenezie kręgowców oraz z faktem, że zarówno pęcherz pławny, jak i płuca kręgowców lądowych powstają z siódmej i ósmej kieszeni skrzelowej, odpowiednio z ich grzbietowej lub brzusznej części (PERRY i współaut. 2001). Różnice w funkcjonowaniu narządów oddechowych kręgowców mogą wynikać z faktu, że w ich ewolucji umiejętność oddychania powietrzem atmosferycznym powstawała w sposób niezależny, kilkakrotnie (VAL 1999). Stad płuca ryb są narządem homologicznym do płuc wyższych kręgowców, będąc jednocześnie prekursorem pęcherza oddechowego, z którego z kolei wywodzi się pęcherz pławny ryb współczesnych (GRAHAM i LEE 2004).

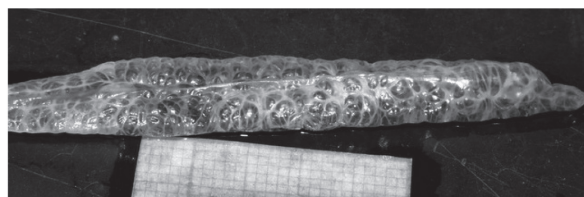
Wykształceniu się narządów, które umożliwiają rybom oddychanie tlenem atmosferycznym i powstaniu związanych z nimi procesów fizjologicznych, towarzyszyło zjawisko zmniejszenia powierzchni oddechowej skrzelu. W związku z tym uległa modyfikacji również struktura i funkcja mózgowych ośrodków kontroli oddychania, które kierują wyborem właściwego sposobu wymiany ga-

zowej, z wykorzystaniem odpowiednio tlenu rozpuszczonego w wodzie lub tlenu atmosferycznego (BURLESON i współaut. 1998, WILLSON i współaut. 2000). Pęcherz oddechowy wykształcił się u ryb rodziny Lepisosteidae 350 milionów lat temu. Badania pnia mózgu niszczuki długonosej (*Lepisosteus osseus*) dowiodły, że mechanizm aktywacji neuronów, związany z otwieraniem „głośni”, jest bardzo podobny do mechanizmów istniejących w pniu mózgu kijanek i dorosłych żab (PERRY i współaut. 2001). Należy jednak podkreślić, że najbardziej prawdopodobny scenariusz ewolucyjny, który doprowadził do powstawania narządów służących oddychaniu zakłada, że ośrodki centralnego układu nerwowego, które sterowały behawiorem pobierania powietrza atmosferycznego pochodziły od wcześniejszych ewolucyjnie form, a dopiero w następnej kolejności zostały wykształcone narządy oddechowe oraz towarzyszące im naczynia tętnicze i mechanizmy oddechowe (PERRY i współaut. 2001).

Jeżeli rozwój narządów jest kontrolowany przez system „bodziec-reakcja” (KIRSCHNER i GERHARD 2006), to można postawić hipotezę, że wspólny przodek ryb z podgromady nowopłetwe, Neopterygii, obejmującej rząd niszczukokształtne, Lepisosteiformes, i dział Teleostei (ryby kostnoszkieletowe; doskonałokostne) posiadał sekwencję w genotypie, która umożliwiła powstanie dodatkowych narządów oddechowych. Narządy te pozwoliły na uniknięcie szkodliwego wpływu hipoksji i w konsekwencji na przeżycie. W taki sposób powstaje zmienność fenotypowa, czyli morfologiczna różnorodność umożliwiająca gatunkom ekspansję do nowych siedlisk. W konsekwencji „kaskada ewolucyjna” rozrod-



Ryc. 1. Przedstawiciel ryb posiadających umiejętność oddychania tlenem rozpuszczonym w wodzie i powietrzem – niszczuka długonosa: osobnik młodociany (góra) i dorosły (dół) (Fot. M. JAROSZEWSKA).



Ryc. 2. Pęcherz oddechowy niszczuki długonosej z widocznymi wewnątrz fałdami błony śluzowej, które tworzą efektywną powierzchnię wymiany gazowej (Fot. M. JAROSZEWSKA).

czej izolacji genetycznej wpłynęła na tempo specjacji ryb (BARLUENGA i współaut. 2006).

Szereg gatunków ryb posiada zdolność oddychania zarówno tlenem rozpuszczonym w wodzie, jak i tlenem atmosferycznym, tzw. wodno-powietrzny typ oddychania (ang. bimodal breathing; facultative air-breathing). W warunkach wodnej hipoksji wykorzystują one drugą z wymienionych możliwości. Polypteriformes (wielopłetwcokształtne), płazkowate, Protopteridae (prapłetwocowce), Ceratodontidae (rogozębowate) mają płuca, czy też płucopodobne parzyste worki, położone tuż za skrzelami po brzusznej stronie gardzieli (LECHLEUTHNER i współaut. 1989, PERRY i współaut. 2001). Północno- i środkowoamerykańskie gatunki niszczuki długonosej (Ryc. 1), cętkowanej (*L. oculatus*) i niszczuki tropikalnej (*Atractosteus tropicus*) używają do oddychania jednocześnie skrzeli i pęcherza oddechowego, tzn. nieparzystego worka wyrastającego z grzbietowej części gardzieli (GRAHAM 1997) (Ryc. 2).

Ponieważ skrzela są nieefektywnym narządem wymiany gazowej w warunkach niedostatku tlenu, pęcherz oddechowy pozwala dorosłym osobnikom tych gatunków przeżyć nawet w warunkach bezwzględnego braku tlenu w wodzie, anoksji (BURLESON i współaut. 1998). Narząd ten pełni dominującą funkcję w pobieraniu tlenu podczas wyczerpującej aktywności fizycznej w warunkach hipoksji, ponieważ oddychanie powietrzem atmosferycznym pozwala na dostarczenie niszczuce ilości tlenu, niezbędnej do zaspokojenia potrzeb metabolicznych (SEYMOUR i współaut. 2004, WELLS i współaut. 2007). Dorosłe osobniki niszczuki cętkowanej osiągają taką samą prędkość pływania w warunkach wodnej hipoksji, jak w normoksji zachowując również po wysiłku odpowiednie stężenie tlenu we krwi i równowagę kwasowo-zasadową. W warunkach hipoksji niszczuka ma przewagę nad rybami, które oddychają

wyłącznie skrzelami (BURLESON i współaut. 1998). W napowietrzonym wodzie w temperaturze 20°C niszczuka pokrywa dzięki pęcherzowi oddechowemu 42% zapotrzebowania na tlen. W warunkach hipoksji wentylacja pęcherza oddechowego powietrzem atmosferycznym wzrasta o 1150%, czemu towarzyszy zwiększenie przepływu krwi w tym narządzie. Jednak w tych samych warunkach krew płynąca przez skrzela traci 10% tlenu drogą dyfuzji tego gazu do wody (SMATRESK i CAMERON 1982).

Ponieważ stopień nasycenia wody tlenem zależy od jej temperatury, pęcherz oddechowy niszczuki długonosej staje się głównym narządem wymiany gazowej w temperaturze powyżej 20°C, natomiast nie ma fizjologicznego znaczenia, gdy temperatura wynosi poniżej 10°C. Śmiertelność dorosłych ryb wzrasta, gdy mają one utrudniony dostęp do powietrza atmosferycznego, przebywając w wodzie o temperaturze wynoszącej powyżej 22–25°C, gdy ciśnienie parcjalne tlenu spada do 40 mmHg (23,5% nasycenia) (RAHN i współaut. 1971). Uzyskane wyniki wskazują, że stopień uniezależnienia ryb od stężenia tlenu rozpuszczonego w wodzie jest związany z zaawansowaniem rozwoju pęcherza oddechowego, a więc zmienia się podczas ontogenezy. Dorosłe osobniki tych gatunków przeżywają przy stężeniu tlenu w wodzie obniżonym do poziomu 2,45 mg O₂L⁻¹ (23°C), podczas gdy młode osobniki o długości ciała od 73 do 91 mm, przy stężeniu tlenu w wodzie wynoszącym powyżej 3,00 mg O₂L⁻¹ (RENFRO i HILL 1970). W przypadku wielopłetwca senegalskiego (*Polypterus senegalus*), intensywność wentylacji płucnej również zależy od stężenia tlenu w wodzie, prędkości pływania i rozmiaru (masy ciała) ryby. U tego gatunku w ontogenezie oddychanie płucne zaczyna funkcjonować później w stosunku do wymiany gazowej przez skrzela. Młodociane osobniki wielopłetwca (12–28 g) giną w warunkach wodnej hipoksji. Po kilku minutach przebywania w wodzie, w której stężenie tlenu było mniejsze od 1,8 mgO₂L⁻¹, śmiertelność stwierdzona w tej grupie osobników wyniosła 100%. Tymczasem, około 40 i 70% ryb o masie ciała wynoszącej odpowiednio: 45–55 g i 60–70 g, przeżyło w wodzie o stężeniu tlenu 1,8 mgO₂L⁻¹. U ponad 80% większych ryb obserwowano w hipoksji normalne zachowanie, co dowodzi, że w tym przypadku niedostatek tlenu w wodzie nie był czynnikiem stresującym dla organizmu. U dorosłych osobników tego gatunku (masa

ciała 290–460 g) intensywność wentylacji płucnej wzrastała liniowo wraz ze spadkiem stężenia tlenu w wodzie do 2,4–2,8 mgO₂L⁻¹, podczas gdy młodsze ryby nawet nie próbowały używać płuc (BABIKER 1984).

Powierzchnia wewnętrzna ściany całkowicie ukształtowanego pęcherza oddechowego niszczuki jest silnie pofałdowana. Fałdy oddechowe są wysokie i tworzą gęstą sieć pozostawiając w centrum pęcherza niewielką, wolną przestrzeń, która nie bierze udziału w wymianie gazowej. Taka budowa zapewnia niezwykle wydajne wykorzystanie tlenu atmosferycznego, czego dowodem jest jego niskie stężenie (6%) w wydychanym powietrzu (RAHN i współaut. 1971). Pęcherz oddechowy niszczuki łączy się z przełykiem przez „głośnie” (termin zapożyczony z anatomii ssaków; ang. glottis). Jest to narząd o złożonej strukturze, zbudowany z dwóch mięśniowo-nabłonkowych fałdów z elementami tkanki łącznej wewnątrz. „Głośnia” oraz skurcze mięśni gładkich w fałdach błony śluzowej pęcherza oddechowego regulują pobieranie i usuwanie powietrza przez pęcherz oddechowy (JAROSZEWSKA i DABROWSKI 2008).

Podobnie zbudowany jest pęcherz oddechowy arapaimy, *Arapaima gigas*, którego wewnętrzna powierzchnia posiada fałdy błony śluzowej, a wejście z przełyku do pęcherza oddechowego zamyka „głośnia” (GRAHAM 1997). Struktura płuc i pęcherza oddechowego ryb została zachowana w płucach płazów.

Zjawiskiem powszechnym jest wykorzystanie przez ryby pęcherza oddechowego do oddychania powietrzem atmosferycznym, nawet gdy przebywają w dobrze natlenionej wodzie. Taki behavior charakteryzuje na przykład arapaimę (GREENWOOD i LIEM 1984) i niszczukę tropikalną (obserwacje autorów artykułu). Różnice w okresie pomiędzy kolejnymi aktami zaczerpnięcia powietrza do pęcherza oddechowego istnieją zarówno między gatunkami, jak i w obrębie gatunku. Częstotliwość i czas oddychania powietrzem atmosferycznym są uzależnione od warunków eksperymentalnych lub środowiskowych, jak np. stężenie tlenu rozpuszczonego w wodzie, jej temperatura, pora dnia, natężenie światła, czy obecności toksyn w wodzie. Podsumowując, można stwierdzić, że krótszy czas trwania wypuszczenia i pobrania powietrza (wydech i wdech) charakteryzuje mniejsze osobniki oraz gatunki, które obligatoryjnie i permanentnie oddychają powietrzem oraz te gatunki, które żyją bliżej powierzchni wody. Czas pomiędzy kolejnymi zaczerpnięciami

powietrza maleje wraz ze spadkiem stężenia tlenu w wodzie i jest najdłuższy w warunkach hiperoksji (HILL i współ. 1972). Jednak aklimacja do warunków hipoksji czy hiperoksji może spowodować zmniejszenie częstotliwości pobierania powietrza atmosferycznego (GRAHAM 1997).

Występowanie pęcherza oddechowego wiąże się z anatomicznymi i fizjologicznymi przystosowaniami budowy i funkcji innych narządów. Skrzela ryb, oprócz funkcji wymiany gazowej, odgrywają m.in. rolę w gospodarce jonowej organizmu i w usuwaniu amoniaku, który u ryb jest końcowym produktem przemiany białek. Oddychająca powietrzem atmosferycznym arapaima ma względnie 2–2,5 razy mniejsze skrzela i zarazem większe nerki niż skrzelodyszna arowana srebrzysta (*Osteoglossum bicirrhosum*). Oba gatunki należą do rodziny Osteoglossidae (kostnojęzycznych). Nerki arapaimy mają większą zdolność do wydalania sodu i związków azotu niż nerki arowany, u której funkcje wydalnicze pełnią głównie skrzela (HULBERT i współaut. 1978). Dowodem na przeniesienie funkcji osmoregulacyjnych ze skrzeli do nerek u gatunku, który oddycha powietrzem atmosferycznym, jest różna aktywności enzymów: dehydrogenazy glutaminianowej oraz Na^+/K^+ ATP-azy u omawianych gatunków (GRAHAM i LEE 2004). Aktywność Na^+/K^+ ATP-azy jest około 5 razy większa w skrzelach arowany niż arapaimy. Jednocześnie u arowany aktywność tego enzymu w skrzelach przewyższa 14-krotnie jego aktywność w nerkach, przy czym masa nerek jest około 11-krotnie mniejsza od masy skrzeli (HULBERT i współaut. 1978). Dodatkowo, w przypadku arapaimy nerka wspomaga funkcje pęcherza oddechowego, wrasta do pęcherza oddechowego i stanowi podstawową powierzchnię wymiany gazowej. Dowodem na funkcje nerki jest fakt, że żyła wrotna nerkowa prowadzi utlenowaną w 80–90% krew z pęcherza oddechowego do serca (GRAHAM 1997).

Odcinki przewodu pokarmowego, np. żołądek, jelito i pochodzące z nich uchyłki, któ-

re pełnią funkcje oddechowe, mają budowę histologiczną podobną do pęcherza oddechowego. Do wspólnych cech tych narządów można zaliczyć znaczną rozciągliwość, wynikającą z obecności cienkiej ściany, z niewielką ilością włókien kolagenowych. Ponadto, mają one cienką błonę mięśniową, występującą w postaci wiązek mięśni gładkich otoczonych tkanką łączną. GONCALVES i współaut. (2007) podsumowują, że pomimo iż oddychanie jelitowe u piskorza (*Misgurnus anguillicaudatus*) może zaspokajać do 20% zapotrzebowania na tlen, funkcje absorpcji składników pokarmowych w jelicie tylnym nie zostały całkowicie wyeliminowane. Funkcja jelita tylnego w absorpcji glukozy nie została obniżona, podczas gdy absorpcja peptydów jest nieistotna w tej części jelita, co potwierdzają obserwacje u innych gatunków ryb karpowatych, nie posiadających oddychania jelitowego (OSTASZEWSKA i współaut. 2010).

Błona śluzowa „żołądka oddechowego” *H. plecostomus* jest zbudowana z płaskiego nabłonka o budowie charakterystycznej dla pneumocytów I typu (SATORA 1998), a jej całkowita grubość jest mniejsza w porównaniu z błoną w części żołądka pełniącą funkcje trawienne. PODKOVA i GONIAKOWSKA-WITALIŃSKA (2003) podsumowują, że nabłonek „żołądka oddechowego” u ryb z rodzaju *Ancistrus*, *Liposarcus* i *Hypostomus*, a także worków oddechowych *Loricariichthys platymetopon* jest bezpośrednio podścielony siecią drobnych naczyń krwionośnych, co nie występuje w żołądku pełniącym pierwotną trawienną funkcję. Z kolei cechą charakterystyczną nabłonka wyściełającego narządy oddechowe wszystkich kręgowców, jak wyżej wymienione odcinki przewodu pokarmowego, pęcherz i worki oddechowe oraz płuca Lepidosirenidae i Polypteridae, płazów, gadów, ptaków i ssaków, jest wytwarzanie surfaktantu, czyli substancji powierzchniowo czynnej, która redukuje występujące w tych narządach napięcie powierzchniowe (PODKOWA i GONIAKOWSKA-WITALIŃSKA 2003).

AKCJA I REAKCJA, CZYLI ADAPTACJE FIZJOLOGICZNE ORGANIZMU NA ZMIANY STĘŻENIA TLENU W ŚRODOWISKU

Istnieje wiele gatunków ryb, które nie mają oprócz skrzeli dodatkowych narządów oddechowych, a bywają eksponowane na znaczne obniżenie bądź podwyższenie stężenia tlenu w wodzie. Takie warunki mogą doprowadzić do śmierci zwierzęcia, o ile

pod wpływem hipoksji czy hiperoksji nie zostaną uruchomione fizjologiczne reakcje organizmu, które zapobiegają powstawaniu negatywnych skutków niedoboru czy też nadmiaru tlenu w środowisku. Porównanie zdolności ryb różnych gatunków do przeży-

wania w warunkach wodnej hipoksji musi uwzględniać charakterystykę morfologiczną narządów oddechowych oraz przystosowania biochemiczne na poziomie komórkowym. Można jednak podać przykłady cech, które charakteryzują gatunki odporne na stres oksydacyjny. Należą do nich: podwyższone powinowactwo hemoglobiny do tlenu, większe rozmiary powierzchni oddechowej narządów wymiany gazowej oraz zdolność do wytworzenia nietoksycznych produktów beztlenowej przemiany materii w przypadku hipoksji (NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008). W przypadku hiperoksji konieczne jest istnienie efektywnych mechanizmów obronnych przed działaniem wolnych rodników.

Zwierzęta potrzebują tlenu, aby produkować ATP w procesie fosforylacji oksydacyjnej. Redukcja ilości ATP zagraża życiu, ponieważ niemożliwe jest utrzymanie na właściwym poziomie działania pomp jonowych, co z kolei prowadzi do depolaryzacji błon komórkowych, a następnie do apoptozy i nekrozy komórek (LU i współaut. 2005).

Pod względem zdolności adaptacyjnych do warunków hipoksji ryby dzieli się na wrażliwe (np. trocie, pstrągi) i odporne (np. karpie, tilapie) na warunki niedotlenienia (LU i współaut. 2005). U ryb powstały mechanizmy przystosowawcze do hipoksji, do których należą: hiperwentylacja skrzeli, zmiany oporu naczyniowego w skrzelach, spowolnienie pracy serca (bradykardia), zmiany przepływu krwi w mózgu i sercu oraz utrzymywanie niskiego poziomu aktywności ruchowej (JONZ i współaut. 2004, JONZ i NURSE 2006, LUSHCHAK i BAGNYUKOVA 2006, VULESEVIC i współaut. 2006). Czas przeżycia w warunkach obniżonego stężenia tlenu, a dokładniej, przy najniższej jego wartości, w jakiej dany gatunek może przeżyć (krytyczne stężenie O_2), może znacząco wzrosnąć, jeśli ryba ma zdolność zredukowania zużycia ATP, a więc obniżenia tempa metabolizmu (NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008). Ostra hipoksja u karpia (*Cyprinus carpio*, rodzina Cyprinidae, karpiołate) i pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*; rodzina Salmonidae, łososiowate) prowadzi do obniżenia poziomu metabolizmu w mózgu, wątrobie oraz poprzecznie prążkowanych mięśniach szkieletowych, co ogranicza zapotrzebowanie na energię (VAN RAAIJ i współaut. 1994, LEWIS i współaut. 2007). Karaś (*Carassius carassius*), karaś srebrzysty (*C. auratus*) i tilapia nilowa (*Oreochromis niloticus*) zdolne są do obniżenia tempa metabolizmu o 40–70% podczas

hipoksji czy anoksji (NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008). U pielęgnicy pawiookiej (*Astronatus ocellatus*) tempo przemiany materii obniża się o 30%, gdy stężenie tlenu w wodzie spada do 20% nasycenia, a w warunkach ostrej hipoksji (6% nasycenia O_2) o około 60%, uruchamiając metabolizm beztlenowy. Gatunki ryb, które są odporne na brak tlenu, w warunkach hipoksji uruchamiają beztlenowy metabolizm węglowodanów (beztlenowa glikoliza) w celu wytworzenia ATP jako źródła niezbędnej do życia energii (NIKINMAA i RESS 2005, NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008). Karaś zwyczajny, karaś srebrzysty i różanka (*Rhodeus amarus*) są jedynymi kręgowcami zdolnymi do produkcji alternatywnych i niekumulujących się w organizmie końcowych produktów beztlenowej przemiany materii, etanolu i CO_2 , które łatwo przechodzą przez błony biologiczne, opuszczając organizm ryby przez skrzela (NIKINMAA 2002; NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON, 2008). Pozwala to rybom uniknąć zatrucia na skutek narastającego stężenia mleczanów i jonów H^+ w warunkach ostrej hipoksji i anoksji. W rezultacie karaś jest w stanie przeżyć, w zależności od temperatury wody, wiele dni a nawet miesięcy w warunkach anoksji.

Z ograniczeniem tempa metabolizmu związany jest spadek poziomu syntezy białek (u *C. carassius* do 50%), na przykład w mięśniach i wątrobie, który jest najbardziej energochłonnym procesem w organizmie zwierzęcym, zużywa bowiem 18–26% energii produkowanej w komórkach (LEWIS i współaut. 2007). W warunkach hipoksji w skrzelach ryb dochodzi do redukcji aktywności K^+Na^+ -ATP-azy (pompy sodowo-potasowej) i związanej z tym wymiany tych jonów. W tym czasie ograniczona jest również funkcja wydalnicza nerek, które mniej efektywnie usuwają zbędne dla organizmu produkty przemiany materii (LEWIS i współaut. 2007). Hepatocyty ryb z rodzaju *Carassius* bardzo szybko ograniczają zużycie tlenu w warunkach anoksji, a komórki nabłonka skrzelowego mają zdolność usuwania wyżej wymienionych produktów fermentacji glukozy, tj. etanolu i CO_2 (LUSHCHAK i BAGNYUKOVA 2006). Obniżenie tempa metabolizmu u ryb jest indukowane przez podwyższenie poziomu kwasu γ -aminomasłowego oraz produkcję adenyliny, to jest dwóch neuroprzekaźników o działaniu hamującym (NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008).

Na końcu łańcucha reakcji aklimacyjnych do hipoksji mają również miejsce negatywne

zmiany, m.in. związana z obniżeniem tempa metabolizmu pogorszona zdolność ryb do reagowania na bodźce zewnętrzne, na skutek czego stają się one łatwą ofiarą dla drapieżników. W niekorzystnych warunkach tlenowych ryby przede wszystkim próbują zmienić miejsce, w którym przebywają (NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008). Nie zawsze jednak jest to możliwe. Wtedy ujawniają się międzyosobnicze różnice w reakcji na środowiskową hipoksję, wynikające z rozmiarów (masy) ciała ryb. Brak dostatecznej ilości tlenu powoduje dramatyczne zmiany poziomu glukozy i kwasu mlekowego we krwi oraz niekorzystnie wpływa na zachowanie się ryb, obniżając ich aktywność (MAC CORMACK i współ. 2003). Udowodniono, że pierwotną przyczyną śmierci niektórych ryb w warunkach anoksji jest właśnie zakwaszenie krwi, wynikające z beztlenowego metabolizmu, a nie, jak sądzono wcześniej, brak dostatecznej ilości ATP w tkankach (NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008). Może się wydawać, że w warunkach niedoboru tlenu w wodzie przewagę mają większe ryby, które zużywają glikogen w procesie glikolizy beztlenowej wolniej niż młodsze i mniejsze osobniki. W

konsekwencji wytwarzają one mniej zbędnych produktów przemiany materii (mleczanów), których nadmiar prowadzi do kwasicy (acydozy). Uważa się jednak, że to mniejsze, a nie większe osobniki są bardziej odporne na warunki wodnej hipoksji. Jak podsumowują ROBB i ABRAHAMS (2003), negatywny allometryczny związek, który występuje pomiędzy masą ciała i powierzchnią skrzelu sugeruje, że mniejsze osobniki mają bardziej wydajną wymianę gazową, większe natomiast wymagają bardziej rozbudowanej sieci naczyń krwionośnych i w konsekwencji dłuższego czasu i większego wysiłku, aby krwinki czerwone dotarły wraz z tlenem do najdalszych okolic ciała. Ponadto, wraz ze zwiększeniem masy ciała, zwiększa się energetyczny koszt wentylacji skrzelu (ROBB i ABRAHAMS 2003).

Poza wymienionymi wyżej fizjologicznymi konsekwencjami wpływu niedoboru tlenu na organizm ryb należy dodać, że warunki hipoksji zwiększają ich wrażliwość na infekcje pasożytnicze i bakteryjne oraz wpływają na powstawanie zmian nowotworowych, jak np. indukowanego wirusem brodawczaka (KORHEA-AHO i współaut. 2008).

CZY WARUNKI WODNEJ HIPOKSJI MOŻNA WYKORZYSTAĆ?

Ryby nie tylko uciekają z niedotlenionej wody, ale czasem „świadomie” wybierają ją na miejsce swojego schronienia czy żerowania (NEUENFELDT i współaut. 2009). Zdolność do tolerowania warunków hipoksji przynosi korzyść wynikającą z faktu, że niedotleniona woda stanowi naturalne schronienie na przykład dla niedużej rybki karpiowej, *Pimephales promelas*, przed dużym drapieżnikiem – w tym przypadku okoniem północnoamerykańskim (*Perca flavescens*), który

unikania takiego środowiska (ROBB i ABRAHAMS 2003). Z kolei badania przeprowadzone na bałtyckiej populacji dorsza (*Gadus morhua*) wykazały, że osobniki tego gatunku są zdolne przemieszczać się na kilka godzin na głębokość około 100 m, gdzie stężenie tlenu jest mniejsze niż 50% nasycenia, w celu zdobycia pokarmu, który z kolei trawią po przemieszczeniu się do dobrze natlenionej wody (NEUENFELDT i współaut. 2009).

ZDOLNOŚĆ RYB DO PRZEŻYCIA W WARUNKACH HIPEROKSJI

Na drugim końcu skali, która obejmuje zmiany stężenia tlenu w wodzie, znajduje się hiperoksja, powstająca np. na skutek fotosyntezy. Istnieje niewiele wyników badań dotyczących wpływu hiperoksji na ryby, jak również istnieje wiele sprzecznych danych na temat wpływu hiperoksji na wzrost ryb. Na przykład, u pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) stwierdzono, że hiperoksja jest czynnikiem przyspieszającym wzrost w warunkach dostarczenia dodatkowych ilości witaminy C w pokarmie, jako antyoksydanta (DABROWSKI i współaut. 2003). Z kolei ba-

dania przeprowadzone na zębaczku pstrym (*Anarhichas minor*), turbocie (*Scophthalmus maximus*) i niektórych gatunkach ryb łososiowatych wykazały, że hiperoksja nie wywarła ani negatywnego ani pozytywnego wpływu na tempo wzrostu tych ryb, w porównaniu z osobnikami żyjącymi z normalnie napowietrzonej wodzie (PERSON-LE RUYET i współaut. 2002, FOSS i współaut. 2003). Stwierdzono, że hiperoksja nie ma wpływu na wiele parametrów fizjologicznych u ryb, jak np. na równowagę kwasowo-zasadową krwi, wskaźniki hematokrytu, hemoglobi-

ny, liczbę czerwonych krwinek krwi oraz poziom kortyzolu występującego w osoczu krwi (PERSON-LE RUYET i współaut. 2002, CECCCHINI i CAPUTO 2003). Długotrwała, 42-dniowa hiperoksja (123% nasycenia wody tlenem) nie wywołała zmian poziomu glukozy, hematokrytu czy stężenia jonów Na^+ i K^+ u smoltów łososia atlantyckiego (*Salmo salar*) (HOSFELD i współ. 2008) czy też jonów Cl^- i Na^+ u turбота (PERSON-LE RUYET i współaut. 2002). Wykazano, że umiarkowana hiperoksja (143,75%) wywołała u labraksa (*Dicentrarchus labrax*) silniejszą reakcję immunologiczną organizmu na podane antygeny, w porównaniu z osobnikami hodowanymi w warunkach hipoksji (57%) i tlenowej normy (85%) (CECCHINI i SAROGLIA 2002).

Należy jednak pamiętać, że tolerancja na wodną hiperoksję może być specyficzna gatunkowo oraz wynikać z historii życia osobnika. FOSS i współaut. (2002) podkreślili, że mimo iż warunki hiperoksji kojarzą się z korzystnym środowiskiem życia dla ryb, przejście z dobrze napowietrzanej wody do przesyconej tlenem wymaga adaptacji, która może trwać na przykład miesiąc i powoduje obniżenie kondycji zwierząt w tym przejściowym okresie. U pstrąga tęczowego, który przebywał przez 5 godzin w wodzie o stężeniu tlenu 200% nasycenia, hiperoksja spowodowała uszkodzenia jednoniciowego DNA komórek skrzelii (LIEPELT i współaut. 1995).

Przystosowaniem ryb do warunków hipoksji jest zmniejszenie powierzchni oddechowej skrzelii, a zjawisko to określono mianem „efektu Lorrain-Smitha” (BARTHELEMY i współaut. 1981, SAROGLIA i współaut. 2002). Termin ten został zaadaptowany z wyników badań wykonanych na płucach ptaków i ssaków i pochodzi od nazwiska odkrywcy, który stwierdził, że płuca wyższych kręgowców zostają uszkodzone w wyniku 4-dniowej ekspozycji na tlen o ciśnieniu parcjale 0,74 bara (555 mmHg) (ACOTT 1999).

Warunkom hiperoksji towarzyszy wzrost produkcji w tkankach „reaktywnych cząsteczek tlenu” (ang. reactive oxygen species, ROS), do których należą np. O_2^- , H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$. Ponadto uruchamiane są mechanizmy antyoksydacyjne, chroniące przed działaniem wolnych rodników tlenu i jego nierodnikowych pochodnych. Pstrąg tęczowy w wodzie przesyconej tlenem wykazuje podwyższoną aktywność enzymów antyoksydacyjnych, nadtlenkowej dysmutazy (ang. superoxide dismutase, SOD), katalazy i peroksydazy glutationowej (LUSHCHAK i BAGNYUKOVA 2006).

W przypadku turбота zmienia się równowaga kwasowo-zasadowa krwi i to już w ciągu pierwszych 24 godzin działania podwyższonego stężenia tlenu w wodzie (147 i 223%). Po 30 dniach trwania eksperymentu pH krwi wyniosło nawet 7,69, co wynikało ze zwiększonego stężenia i ciśnienia parcjale CO_2 w osoczu (PERSON-LE RUYET i współaut. 2002). Jest to związane z faktem, że hiperoksja powoduje kwasicę krwi wynikającą z hiperwentylacji. Właśnie acydoza jest gwałtownie i efektywnie kompensowana przez mechanizmy jonowo-regulacyjne, które prowadzą do wzrostu stężenia HCO_3^- w osoczu (PERSON-LE RUYET i współaut. 2002). Ponieważ hiperoksja w wodzie zmienia strukturę skrzelii, włączając w to zmiany w komórkach chlorkowych, to ekspozycja smoltów kizuczka (*Oncorhynchus kisutch*) na wysoką hiperoksję (346% O_2) przez okres od 6 godzin do 1 tygodnia spowodowała zaburzenie zdolności osmoregulacyjnych badanych osobników (Brauner 1999). W takim przypadku, aby przeciwstawić się zaburzeniom równowagi osmoregulacyjnej, wynikającym ze zwiększonej dyfuzji tlenu z wody do skrzelii, zostaje zwiększona grubość bariery dyfuzyjnej krewwoda (ang. gas diffusion distance, GDD) w blaszkach skrzelowych (SAROGLIA i współaut. 2000). Dzieje się tak prawdopodobnie na skutek zmiany ułożenia komórek podporowych (SAROGLIA i współaut. 2002). Ryby tolerują ostrą hiperoksję tylko przez pewien czas. Na przykład turbot znosi stężenie tlenu w wodzie o wartości 350% maksymalnie przez 10 dni (PERSON-LE RUYET i współaut. 2002).

Jak dotąd niewiele jest wiadomo o regulacji ekspresji genów u ryb w warunkach hiperoksji (LUSHCHAK i BAGNYUKOVA 2006), podczas gdy wpływ hypoxii na ekspresję czynnika HIF (ang. hypoxia inducible factor) był analizowany u ryb (TEROVA i współaut. 2008).

Należy w tym miejscu zasygnalizować, że istnieje w przyrodzie również zjawisko wodnej hiperkapnii, tj. stanu podwyższonego ciśnienia parcjale dwutlenku węgla, który może występować również w formie zjonizowanej i często towarzyszy hipoksji. Jednak u wodnych zwierząt reakcje na zmiany ciśnienia (bądź stężenia) dwutlenku węgla w środowisku są odmienne od reakcji na zmiany stężenia tlenu. Wynika to z faktu, że rozpuszczalność CO_2 w wodzie jest większa niż O_2 . W obojętnym pH pstrąg tęczowy przeżywa przy 40 mg CO_2/L , podczas gdy w pH 5,5,

stężenie 20 mg/L jest dlań letalne. CO₂ ma bezpośredni wpływ na pH wody, stań pośrednio wpływa na toksyczność metali. Jednakże wzrost stężenia CO₂ w wodzie do 18 mg CO₂/L prowadzi do 3-krotnego wzrostu stężenia CO₂ we krwi tętniczo-żylniej (HOSFELD i współaut. 2008) oraz pH. FIEVELSTAD i współaut. (2007) również zaobserwowali ob-

niżenie się hematokrytu u łososia ekspozowanego na wysokie ciśnienie parcjalne CO₂. Jednakże większość autorów jest zgodnych, że hiperoksja we krwi tętniczej może kompensować bądź zupełnie eliminować podwyższoną wentylację skrzelową spowodowaną przez hyperkapnie (HOSFELD i współaut. 2008).

ZMIANY W SKRZELACH SPOWODOWANE ADAPTACJĄ DO ZMIENNYCH WARUNKÓW TLENOWYCH

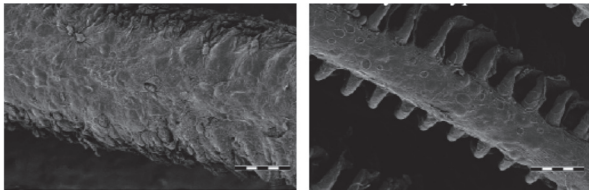
U ryb, które są zdolne do oddychania zarówno tlenem rozpuszczonym w wodzie, jak i tlenem atmosferycznym, opisano dotychczas jedynie zmiany przystosowawcze w skrzelach, zachodzące w niekorzystnych warunkach tlenowych w wodzie. Nie zbadano dotąd zmian adaptacyjnych w narządach służących oddychaniu powietrzem. Jednak nawet wiedza dotycząca różnic w budowie skrzeli u tych ryb jest niewielka w porównaniu z wynikami badań uzyskanych dla ryb wyłącznie skrzelodysznych. Te ostatnie bowiem stanowią obiekt zainteresowania naukowców ze względów praktycznych, wynikających z konieczności kontroli warunków stosowanych w ich hodowli (SMATRESK i CAMERON 1982, SAROGLIA i współaut. 2002, JONZ i współaut. 2004, SOLLID i współaut. 2005, VULSEVIC i współaut. 2006).

Stwierdzono, że w warunkach normoksji całkowita powierzchnia wymiany gazowej skrzeli u trzech gatunków niszczuki, *L. platostomus*, *L. oculatus* i *L. osseus*, jest mniejsza w porównaniu z rybami kostnoszkieletowymi o tej samej masie ciała (RAHN i współaut. 1971). Nie stwierdzono występowania znaczących różnic w unaczynieniu skrzeli pomiędzy porównanymi gatunkami z rodziny Lepisosteidae. Badania mikrokrażenia w skrzelach niszczuki w warunkach hipoksji wykazały, że krażenie kapilarne w blaszkach skrzelowych zostało zredukowane. Ponieważ jednak nie występują w przypadku tego gatunku obwodowe naczynia krwionośne w skrzelach, przepływ krwi przez blaszki skrzelowe nadal jest utrzymywany, co powoduje utratę nawet do 10% tlenu (SMATRESK i CAMERON 1982). Aby zwiększyć ilość pobieranego tlenu i jednocześnie zrekompensować jego utratę przez skrzela, niszczuka długonosa przechodzi na powietrzny typ oddychania, podobnie jak inne gatunki ryb posiadające ten typ oddychania (muławka amerykańska, *Umbra limi*, zbrojnik *Ancistrus chargres*, su-

mik indyjski, *Saccobranhus fossilis*, męklawka *Amia calva*, żmijogłów *Channa maculata*) (SMATRESK i współaut. 1986).

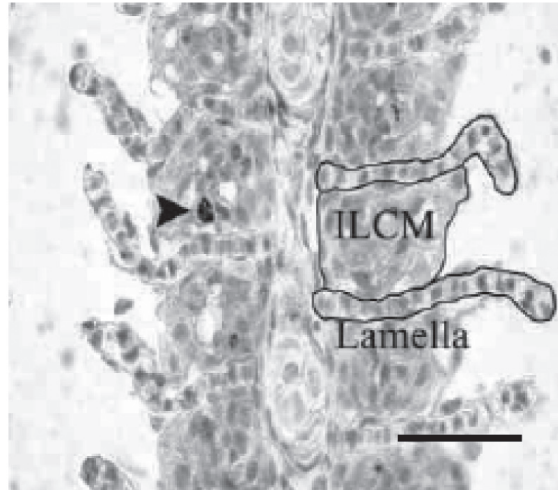
SOLLID i współaut. (2005) wykazali, że skrzela karasia (*C. carassius*), żyjącego w dobrze napowietrzonym wodzie, nie mają wystających blaszek skrzelowych, które są podstawowym elementem wymiany gazowej u ryb. Na podstawie badań histologicznych zasugerowano, że blaszki skrzelowe tych ryb w warunkach normoksji są „zatopione” w masie komórek międzyblaszkowych (ang. intralamellar cell mass, ILCM) (Ryc. 3). Natomiast u ryb przetrzymywanych w hipoksji następuje znaczące zmniejszenie masy komórek międzyblaszkowych, co powoduje 7,7-krotny wzrost powierzchni oddechowej skrzeli (Ryc. 3, 4). Te morfologiczne zmiany są odwracalne i są efektem zarówno zachodzącej jednocześnie apoptozy komórek międzyblaszkowych, regulowanej przez opisany poniżej czynnik HIF (ang. hypoxia-inducible factor), jak i zmniejszonego tempa ich proliferacji. Osobniki karasia, u których wstępują wolne blaszki skrzelowe, miałyby większą zdolność do pobierania tlenu przy jego niższym stężeniu w wodzie niż osobniki z blaszkami zatopionymi w masie komórek międzyblaszkowych (SOLLID i współaut. 2005). Podobne obserwacje zmian masy komórek międzyblaszkowych przeprowadzono u strumieniaka marmurkowego (*Kryptolebias marmoratus*), ryby żyjącej w namorzynach Florydy (ONG i współaut. 2007). Opisano mianowicie, że u osobników tego gatunku przebywających na/w powietrzu następuje wzrost masy komórek międzyblaszkowych (ang. intralamellar cell mass, ILCM) skrzeli. Zjawisko to zostało zinterpretowane jako mechanizm zapobiegający zapadnięciu się i zniszczeniu blaszek skrzelowych, które wysychają na powietrzu.

Należy podkreślić, że wyniki badań SOLLID i współaut. (2005) nie zostały jak dotąd



Ryc. 3. Obraz spod mikroskopu skaningowego drugiego łuku skrzelowego karasia poddanego warunkom wodnej normoksji (zdjęcie na lewo) oraz 7-dniowej hipoksji (zdjęcie na prawo). Pozioma kreska na zdjęciu oznacza 50 μm (SOLLID i współ. 2003).

potwierdzone. Dla porównania, obserwacje skrzelu danio pręgowanego (*Danio rerio*), eksponowanego na hipoksję, wykazały wyłącznie obecność mniejszych komórek nabłonkowych w blaszkach skrzelowych, jednak o silnie pofałdowanej powierzchni błon komórkowych (VAN DER MEER i współaut. 2005). MALLAT (1985) przeanalizował wyniki 130 prac prezentujących działanie czynników drażniących (substancje toksyczne, zmienna temperatura, zbyt niskie/wysokie pH, niekorzystne zasolenie wody) na skrzelu ryb. Zestawienie objęło wiele gatunków ryb, m.in. pstrąga tęczowego. Na podstawie tych prac autor wyszczególnił w skrzelach następujące zmiany: nekrozę, hipertrofię (zwiększenie rozmiarów), hiperplazję (intensywna proliferacja) komórek nabłonka skrzelowego, infiltrację leukocytów, zmiany średnicy naczyń krwionośnych i kształtu blaszek skrzelowych (MALLAT 1985). W żadnym z opisanych przypadków zmiany nie dotyczyły komórek międzyblaszkowych. Analiza wyników badań przeprowadzonych na labraksie wykazały, że warunkach umiarkowanej hipoksji i hiperoksji zwiększa się liczba komórek śluzowych, rozmiary komórek podporowych (ang. pillar



Ryc. 4. Preparat skrzelu karasia po 7-dniowej ekspozycji na wodną hipoksję.

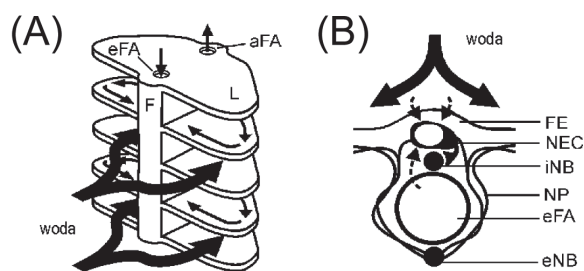
Barwienie metodą barwienia immunocytochemicznego wykorzystywanego do wykrycia komórek w fazie S cyklu komórkowego (anty-BrdU). ILCM – komórki międzyblaszkowe; lamella – blaszka skrzelowa. Mikrofotografia spod mikroskopu świetlnego. Pozioma kreska oznacza 50 μm (SOLLID i współ. 2003).

cells) w blaszkach skrzelowych oraz całkowita powierzchnia oddechowa skrzelu. Jednak i w tym przypadku nie stwierdzono zmian, które obejmowałyby komórki międzyblaszkowe (SAROGLIA i współaut. 2002, RINALDI i współaut. 2005). U arapaimy, ryby z Amazonki, która w trakcie ontogenezy przechodzi z oddychania wodnego na oddychanie tlenem atmosferycznym, zanikają blaszki skrzelowe. W wyniku tego skrzelu zbudowane są tylko z łuków i listków skrzelowych. Stwierdzono jednocześnie, że u tego gatunku zmiany te są nieodwracalne (BRAUNER i współaut. 2004, GONZALEZ i współaut. 2010).

CHEMORECEPTORY TLENU

Zmiany fizjologiczne i behawioralne u ryb w warunkach hipoksji, i prawdopodobnie hiperoksji, inicjowane są w chemoreceptorach tlenu, które są podobne do chemoreceptorów tlenu u ssaków, czyli komórek typu I kłębków tętnic szyjnych (ang. type I cells of carotid body) i ciałek neuroepitelialnych płuc (ang. neuroepithelial bodies, NEBs). Występowanie komórek neuroepitelialnych (neuroepithelial cells, NECs) (Ryc. 5.) potwierdzono w skrzelach niszczuki długonosej i ryb kostnoszkieletowych, np.

u danio pręgowanego (SMATRESK 1990, JONZ i NURSE 2003, JONZ i współaut. 2004, JONZ i NURSE 2006, VULESEVIC i współaut. 2006). Cytowani powyżej autorzy wykazali, że są one morfologicznie podobne do chemoreceptorów tlenu u ssaków i pełnią podobną funkcję. Ponadto, występowanie chemoreceptorów tlenu stwierdzono np. w płucach wielopłetwca senegalskiego i pęcherzu oddechowym męklawki (ZACCONE i współaut. 1997). Hipoksja (określona jako ciśnienie parcjalne tlenu wynoszące $P_{O_2} = 35$ mmHg; ciśnienie



Ryc. 5. Schemat ilustrujący pozycje komórek neuroepitelialnych (NECs) w listkach skrzelowych danio pręgowanego.

(A) dystalna część listka skrzelowego (F) z osadzonymi na nim blaszkami skrzelowymi (lamelami, L). Grube strzałki pokazują kierunek przepływu wody pomiędzy blaszkami skrzelowymi. Cienkie strzałki ilustrują kierunek strumienia krwi w doprowadzającej tętniczce skrzelowej (aFA) prowadzącej krew odtlenowaną oraz strumień krwi utlenowanej w odprowadzającej tętniczce listka skrzelowego (eFA). (B) Główne struktury w skrzelach danio pręgowanego zaangażowane w hipotetyczny mechanizm rejestrowania zmian stężenia tlenu w wodzie. Przekrój poprzeczny listka skrzelowego przedstawionego na rysunku (A) ilustruje występowanie komórek neuroepitelialnych wewnątrz nabłonka listków skrzelowych (FE) w bliskim sąsiedztwie strumienia wody wpływającej do komory skrzelowej (grube strzałki) oraz odprowadzającej tętniczki skrzelowej. Przerwane strzałki wskazują możliwą drogę wykrywania hipoksji przez komórki neuroepitelialne, które są unerwiane przez splot nerwowy (NP), wychodzący z zewnętrznej (eNB) i z wewnętrznej wiązki nerwowej (iNB) czaszkowego nerwu błędnego (X) (JONZ i współl. 2004).

atmosferyczne = 760 mmHg) wywołuje w organizmie kaskadę reakcji fizjologicznych, która jest zapoczątkowana w chemoreceptorach. Jednak po dłuższym czasie (60 dni) warunki niedotlenienia wywołują reakcję w komórkach neuroepitelialnych, zmieniając ich strukturę i funkcję. Do tych reakcji zaliczamy

hipertrofię i hiperplazję komórek oraz zwiększone uwalnianie neurotransmiterów (serotonina 5-HT) (ZACCONE i współl. 1997).

Działanie komórek neuroepitelialnych skrzeli danio pręgowanego w warunkach beztlenowych jest regulowane przez hamowanie wypływu jonów K^+ , które w normalnych warunkach generują potencjał receptorowy niezbędny do neurosekrecji i wywołują potencjał czynnościowy w neuronach dróg czuciowych skrzeli. Opisana sekwencja zdarzeń jest określona jako podstawowy mechanizm odczytywania stężenia tlenu (ang. O_2 sensing) u ryb i ssaków (JONZ i współl. 2004, VULESEVIC i współl. 2006). Ewolucyjny związek pomiędzy komórkami neuroepitelialnymi w skrzelach ryb i komórkami typu I kłębków tętnic szyjnych ssaków został potwierdzony dzięki badaniom embriologicznym (JONZ i współl. 2004). Kłębki tętnic szyjnych ssaków i pierwszy łuk skrzelowy ryb wywodzą się z tego samego embrionalnego łuku skrzelowego i są unerwione przez nerw językowo-gardłowy (IX) i błędny (X), które należą do jednej z trzech grup 12 par nerwów czaszkowych. Oba typy chemoreceptorów, u ryb i ssaków, są zaliczane do systemu rozsianych komórek endokrynowych (APUD), wydzielających głównie hormony białkowe/peptydowe oraz aminy biogenne (JONZ i współl. 2004).

Jedna z hipotez mówi, że skoro skrzelowe chemoreceptory tlenu stale odbierają informację o ciśnieniu parcjalnym tlenu w wodzie, to mogły one odgrywać bardzo ważną rolę w stymulowaniu rozwoju narządów służących oddychaniu powietrzem podczas ontogenezy i w efekcie w ewolucji płuc we wczesnych etapach „wychodzenia kręgowców wodnych na ląd” (SMATRESK 1990, JONZ i NURSE 2006). Oznacza to, jak wspomniano wcześniej, że odruchy behawioralne warunkujące pobieranie powietrza atmosferycznego powstały zanim ukształtowały się służące do tego narządy oddechowe (PERRY i współl. 2001).

MOLEKULARNE MECHANIZMY WYKORZYSTYWANIA TLENU

Związek między hipoksją a funkcjami komórki na poziomie molekularnym zbadano, określając rolę tlenu w mechanizmach ekspresji genów, najpierw u ssaków, następnie u *Drosophila* i w dalszej kolejności u ryb (danio pręgowany). Główną rolę w regulacji ekspresji genów w warunkach niedotlenienia

odgrywa czynnik transkrypcyjny HIF (ang. hypoxia-inducible factor), a dokładnie jedna z dwóch podjednostek tego heterodimeru – HIF-1 α . Czynniki te zostały odkryte w badaniach regulacji ekspresji genu erytropoetyny (EPO) u ssaków, w linii komórek Hep3B, przy czym jego występowanie potwierdzono

również w innych typach komórek. Wynika z tego, że u ssaków „celem” działania HIF jest kilka genów.

Do tlenowo-zależnych procesów u ryb w warunkach hipoksji, w których prawdopodobnie bierze udział HIF, należą: i) erythropoeza i synteza hemoglobiny, ii) angiogeneza, iii) apoptoza komórek międzyblaszkowych w skrzelach, która prowadzi do zwiększenia powierzchni oddechowej blaszek skrzelowych, iv) transport glukozy i glikoliza oraz v) metabolizm żelaza, katecholamin i węglowodanów (NIKINMAA i RESS 2005, SOLLID i współaut. 2006).

W warunkach hipoksji następuje zahamowanie wzrostu ryb, przede wszystkim na skutek zmniejszenia pobierania pokarmu, ale także w efekcie zahamowania procesu translacji i przebiegu cyklu komórkowego, w który również zaangażowany jest HIF (NIKINMAA i RESS 2005). Jednym z przystosowań ryb do hipoksji jest wzrost wartości hematokrytu, czyli stosunku objętościowego erytrocytów do osocza krwi, na skutek „nabrzmienia” erytrocytów, produkcji nowych erytrocytów, uwolnienia wcześniej już uformowanych erytroblastów oraz zmiany objętości osocza. Zakłada się, że u ryb reakcja na ostrą lub długotrwałą hipoksję w postaci zmian w ekspresji genów związanych z powstawaniem hemoglobiny jest specyficzna gatunkowo (VAN DEER MEER i współaut. 2005, OLSVIK i współaut. 2006). Wynika to z faktu, że ryby wykazują ogromny polimorfizm hemoglobiny pod względem jej struktury i funkcji, których zmienność jest często większa u jednego gatunku niż kiedy porównujemy różne grupy kręgowców. Związek czynnika transkrypcyjnego HIF z ekspresją tych genów w warunkach hipoksji jest, jak dotąd, poznany jedynie na podstawie badania anomalii rozwojowych u ryb, które zostały powiązane z jego zaburzonym działaniem (NIKINMAA i RESS 2005). Jednak u ryb, w odróżnieniu od ssaków, czynnikowi HIF-1 przypisuje się rolę w ekspresji genów nie tylko przy obniżonym, ale również przy normalnym stężeniu tlenu w środowisku (SOITAMO i współaut. 2001).

Karaś uważany jest wśród ryb za gatunek szczególnie odporny na niedostatek tlenu. Żyjąc w wodzie całkowicie pokrytej lodem, wykazuje niezmienny poziom HIF- α w tkankach narządów centralnego układu nerwowego i krwionośnego (mózg, serce) i skrzelach (HOOGEWIJS i współaut. 2007). Podwyższona ekspresja HIF-1 α została potwierdzona u wrażliwych na hipoksję gatunków ryb, jak

węgorzyca (*Zoarces viviparus*) z Morza Północnego oraz należące do tej samej rodziny, Zoarcidae (węgorzycowate), *Pachycara brachycephalum* z wód antarktycznych, gdzie według autorów zdarzają się sytuacje niedoboru tlenu (HOOGEWIJS i współaut. 2007).

Na poziomie molekularnym obserwowano również inne zmiany związane zarówno z krótkotrwałą, czterogodzinną, jak i długotrwałą (4–7 dni) hipoksją, które u amura białego (*Ctenopharyngodon idella*) powodują zwiększoną ekspresję mRNA transportera glukozy (ang. glucose transporter, GLUT) w nerkach, oczach i skrzelach. Świadczy to o zwiększonym zapotrzebowaniu tych narządów na glukozę w warunkach niedotlenienia. Podobne zjawisko zaobserwowano również w niektórych liniach komórkowych (endotelium naczyń krwionośnych, komórki raka wątroby) u ssaków (NIKINMAA i RESS 2005).

Wyniki uzyskane na pielęgnicy, *Cichlasoma amazonarum*, oraz *Gillichthys mirabilis* i *G. seta* wykazały wpływ ciśnienia parcjalnego tlenu na regulację ekspresji genów kodujących izoenzymy dehydrogenazy mleczanowej LDH-A i LDH-B, która jest końcowym enzymem beztlenowego metabolizmu węglowodanów (NIKINMAA i RESS 2005). Na przykładzie karpia, *C. carpio*, który jest gatunkiem o ogromnej zdolności przeżycia w warunkach niedoboru tlenu wykazano, że mioglobina występuje nie tylko w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym, ale również w innych tkankach włącznie z wątrobą, skrzelami i mózgiem (FRASER i współaut. 2006). Stwierdzono, że transkrypcja sekwencji mioglobiny w warunkach hipoksji była znacząco podwyższona, przy czym zdecydowanie bardziej w wątrobie niż mięśniach. W mózgu natomiast poziom transkrypcji genu mioglobiny w warunkach hipoksji nie był zwiększony. Zakłada się, że białko to nie tylko chroni organizm przed skutkami hipoksji, ale pełni również ważną funkcję w warunkach nagłych zmian stężenia tlenu w tkankach (FRASER i współaut. 2006).

Badania wykonane na dorszu wykazały, że po sześciu tygodniach ekspozycji na warunki hipoksji, normoksji i hiperoksji (46, 76 i 145% nasycenia wody tlenem) istniały pomiędzy grupami eksperymentalnymi znaczące różnice w poziomie transkrypcji genów dysmutazy ponadtlenkowej (ang. Cu/Zn superoxide dismutase, SOD) i peroksydazy glutaminianowej (ang. phospholipid hydro-

peroxide glutathione peroxidase, GSH-Px) (OLSVIK i współaut. 2006). Oba te enzymy są ważnymi elementami międzykomórkowego i wewnątrzkomórkowego antyoksydacyjnego układu enzymatycznego (GAŁECKA i współaut. 2008). Poziom ich transkrypcji w tkance wątrobowej dorsza atlantyckiego był obniżony w warunkach niedotlenienia i znacznie podwyższony w hiperoksji (OLSVIK i współaut. 2006). Nie stwierdzono różnic w poziomie transkrypcji genu innego antyoksydacyjnego enzymu – katalazy. Interpretacja uzyskanych wyników jest bardzo złożona i obejmuje aż trzy hipotezy, w tym jedną dopuszczającą nałożenie się wyników uzyskanych z tkanek towarzyszących pobranej do analizy wątrobie. Z kolei dwie pozostałe zakładają, że po pierwsze, w przypadku badanych osobników stres oksydacyjny był mniejszy u zwierząt eksponowanych na hipoksję i większy w wa-

runkach hiperoksji, po drugie, hipoksja zahamowała transkrypcję genów w komórkach wątrobowych (OLSVIK i współaut. 2006). W przypadku łososia atlantyckiego uzyskano odmienne wyniki dla wymienionych enzymów w eksperymencie z zastosowaniem warunków 6-tygodniowej hiperoksji (OLSVIK i współaut. 2006). Interpretacja uzyskanych wyników powinna uwzględnić fakt, że dorsz atlantycki ma zdolność przeżywania w warunkach krótkotrwałej hipoksji (LC_{50} dla 96 godzin przy stężenia tlenu wynoszącym 26% w temperaturze 6°C) (PLANTE i współaut. 1998, PÖRTNER i współaut. 2008). OLSVIK i współaut. (2006) podkreślają, że ze względu na międzygatunkowe różnice nadal dyskutowana jest użyteczna wartość badań poziomu transkrypcji SOD, katalazy oraz GSH-Px jako markerów biologicznych stresu oksydacyjnego indukowanego hiperoksją u ryb.

PODSUMOWANIE

Wpływ hipoksji i hiperoksji na skrzela jest wciąż badany przez fizjologów zajmujących się biologią ryb (SAROGLIA i współaut. 2002). Badane jest tempo metabolizmu i zmienność rozmiarów ciała ryb we wczesnych etapach rozwoju, który następuje w warunkach różnej, często zmiennej, dostępności tlenu (ROESNER i współaut. 2006). Poznanie różnorodności reakcji zachodzących na poziomie komórkowym i subkomórkowym narządów oddechowych u ryb, w zmiennych warunkach tlenowych, pozwoli zrozumieć mechanizmy zintegrowanej odpowiedzi organizmu na różnice pomiędzy zapotrzebowaniem na tlen a jego dostępnością w środowisku (BAVIS i współaut. 2007). Określenie charakteru odpowiedzi tlenowo-wrażliwych komórek neuroepitelialnych na hipoksję i hiperoksję podczas ontogenezy, jak np. inaktywacja kanałów K^+ , zmiany w ilości międzykomórkowego Ca^{2+} i neurosekrecja w różnych narządach u ryb, pomoże wyjaśnić, czy mechanizm tlenowej chemorepcji ma charakter konserwatywny w przebiegu procesu filogenezy (WELLS i PINDER 1996, JONZ i NURSE 2006). Jak postuluje NIKINMAA (2002), przewaga ryb nad ssakami w charakterze modelu w tego typu badaniach polega na dostępności embrionów, które mogą być eksponowane na zmienne warunki środowiskowe w warunkach eksperymentalnych.

Zmiany aklimacyjne, które powstają u ryb na skutek działania hipoksji czy hiperok-

sji, dotyczą wszystkich struktur organizmu (geny, komórki, tkanki, narządy) i są zależne od czasu trwania oraz umiarkowanej lub ostrej postaci tych zjawisk. Te skrajnie różne w swoim charakterze warunki środowiskowe powodują podobne zmiany w interakcji między chemoreceptorami, ośrodkiem kontroli oddychania w mózgu, metabolizmem, wzrostem, behawiorem i adaptacjami morfologicznymi (JONZ i współaut. 2004, VULESEVIC i współaut. 2006). JONZ i NURSE (2003) oraz JONZ i współaut. (2004) postulują, że nadal wymagane jest potwierdzenie podobieństwa zmian, które powstają w komórkach nabłonka oddechowego skrzeli u ryb w odpowiedzi na warunki niedotlenienia czy nadmiernego nasycenia wody tlenem do tych, które zostały zaobserwowane w nabłonku oddechowym płuc ssaków. Jak dotąd tlenowo-zależny system mitochondrialny został opisany jedynie u ssaków (GNAIGER i współaut. 2000), stając nadal interesujące zagadnienie badawcze u ryb.

Problem adaptacji embrionów i larw ryb do hipoksji i hiperoksji jest bardzo złożony. Obejmuje on przebieg procesu wylęgania, zjawisko regulacji ekspresji genów (np. insulin-like growth factor binding protein 1, IGFBP-1), rozwój receptorów tlenu, układu nerwowego i układu krwionośnego i ostatecznie zdolność do przeżywania (KAJIMURA i współaut. 2006, NAŃKA i współaut. 2006, 2008, HASSEL i współaut. 2008). W przypadku larw

ryb bardzo ważną funkcję jako narząd oddechowy pełni również skóra (WELLS i PINDER 1996, JONZ i NURSE 2006).

W tym miejscu konieczne jest, aby wspomnieć o wpływie wodnej hiperkapnii, tj. stanu podwyższonego ciśnienia parcjalnego, bądź stężenia dwutlenku węgla, który często towarzyszy hipoksji w wyniku przemian metabolicznych zwierząt bądź uwalniania przez fitoplankton przy jednoczesnym braku fotosyntezy. Jednak u wodnych zwierząt reakcje na zmiany ilości dwutlenku węgla w środowisku są odmienne od reakcji na hipoksję i nie prowadzą do obniżenia wzrostu ryb (GOOD i współaut. 2010).

Podane powyżej przykłady stanowią jedynie niewielką część tego, co wiemy o rybach w kontekście ich przystosowania do wodnej hipoksji i hiperoksji, a znikomą część tego, co w przyrodzie istnieje, pozostając nadal nieodkryte czy niezrozumiane. Analizując temat wpływu zmian stężenia tlenu w środowisku na organizmy wodne, należy pamiętać, że zachodzące reakcje są gatunkowo specyficzne, a charakter adaptacji zależy od poziomu nasycenia wody tlenem i czasu działania określonego stężenia tlenu w konkretnych

warunkach temperaturowych i pH oraz rozmiaru ryby (LIEM 1981, NILSSON i ÖSTLUND-NILSSON 2008).

PODZIĘKOWANIA

Zdjęcia z artykułów SOLLID i współ. (2003) oraz JONZ i współaut. (2004) wykorzystano dzięki uprzejmości i za zgodą The Company of Biologists. Serdeczne podziękowania składamy dr hab. Małgorzacie Jefimow oraz mgr Joannie Kujawskiej za krytyczne uwagi dotyczące niniejszego tekstu. Wyrazy podziękowania przekazujemy recenzentowi pracy, który w znacznej mierze przyczynił się do poprawienia stylu, w jakim została ona napisana oraz skłonił autorów do uzupełnienia wielu informacji, które mogą okazać się przydatne w zrozumieniu przedstawionego zagadnienia. Praca naukowa autorów związana z zagadnieniem hipoksji i hiperoksji u *L. osseus* jest finansowana ze środków na naukę w latach 2009–2011 jako projekt badawczy (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego Temat „Plastyczność fenotypowa w rozwoju skrzelu i pęcherza gazowego niszczuki długonosej (*Lepisosteus osseus*) indukowana hipoksją i hiperoksją”, No. N-N303–321437).

DOES A FISH WITH LUNGS EXIST? MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL ADAPTATIONS TO AQUATIC HYPOXIA AND HYPEROXIA.

Summary

Dissolved oxygen is one of the most important environmental factors affecting survival of fishes that rely on aquatic respiration. Fishes face an ever changing availability of environmental oxygen, resulting for instance from the dynamics of temperature changes, surface agitation, primary production by plants and algae, and oxygen consumption by plants, animals as well as chemical processes. In natural fish environment the oxygen levels exhibit a daily cycle, depletion (consumption) during the night, and production of oxygen that might lead to supersaturation levels of up to 300% during the day. At the organismal level, the lack of sufficient oxygen in environment (hypoxia) and oxygen oversaturation (hyperoxia), will result in the reaction of chemoreceptors, the respiratory response in brain, as well as in general metabolism, growth, behavior, and important morphological adaptations. In water-breathing teleost fish hypoxia induces hyperventilation, bradycardia, and results in an elevation in gill vasculatory resistance. The phenomenon of changes in the gill structure in *Carassius carassius* has been also described, which included lack of protruding secondary lamellae in normoxia due to complete embedding in intralamellar cell mass (ILCM). In hypoxic water a large reduction in ILCM occurred, making the lamellae to protrude and increasing the respiratory surface by about 7.5 fold. These morphological changes were found to be reversible and apparently

caused by an increased apoptosis combined with reduced cell proliferation. Although, this seemed to be a plausible explanation, further studies did not unequivocally associate ILCM with normoxic conditions. Fish have also been found to adapt to extreme hypoxia or anoxia by employing alternate metabolic pathways for anaerobic energy production. Members of the genus *Carassius* are the only vertebrates that are known to produce energy by fermentation of glucose to ethanol and carbon dioxide. All physiological responses to hypoxia, and probably to hyperoxia, arise principally from peripheral chemoreceptors located in the gills (neuroepithelial cells, NECs). Additionally, hypoxia induced factor HIF-1 α is a key transcription factor in mediating various responses to low level of oxygen.

Chronic or repeated challenges elicit responses that further modify the respiratory phenotype in ways that improve and regulate oxygenation in tissues. Aquatic hypoxia has been cited as the primary driving force in the evolution of air breathing in fish. The fish from order Semionotiformes (garfishes) and Polypteriformes (*Polypterus senegalus*) use respiratory gas bladder (RGB) and lungs, respectively, to acquire atmospheric oxygen. These organs may confer a high degree of independence from water quality to achieve the metabolic scope for activity and the ability to recover from hypoxia. Thus, the air-breathing fish, may not only survive

aquatic hypoxia but may also maintain normal levels of activity when branchial O₂ uptake is limited. The evolutionary transition to air breathing has been accompanied by biochemical and morphological modifications of respiratory structures as well as altered

ventilatory regulation. However, there is clearly an ontogenic aspect to this transition from unimodal gill and/or body surface respiration to bimodal, water and air respiration.

LITERATURA

- ACOTT C., 1999. *Oxygen toxicity a brief history of oxygen in diving*. SPUMS J. 29, 150-155.
- BABIKER M. M., 1984. *Development of dependence on aerial respiration in Polypterus senegalus (Cuvier)*. Hydrobiologia 110, 351-363.
- BARLUENGA M., STÖLTING K. N., SALZBURGER W., MUSCHICK M., MEYER A., 2006. *Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish*. Nature 439, 719-723.
- BARTHELEMY L., BELAUD A., CHASTEL C., 1981. *A comparative study of oxygen toxicity in vertebrates*. Respir. Physiol. 44, 261-268.
- BRAUNER C. J., 1999. *The effect of diet and short duration hyperoxia exposure on seawater transfer in coho salmon smelts (Oncorhynchus kisutch)*. Aquaculture 177, 257-265.
- BAVIS R. W., POWELL F. L., BRADFORD A., HSIA C. C. W., PELTONEN J. E., SOLIZ J., ZEIS B., FERGUSSON E. K., FU Z., GASSMANN M., KIM C. B., MAURER J., MCGUIRE M., MILLER B. M., O'HALLORAN K. D., PAUL R. J., REID S. G., RUSKO H. K., TIKKANEN H. O., WILKINSON K. A., 2006. *Respiratory plasticity in response to changes in oxygen supply and demand*. Integr. Comp. Biol. 47, 532-551.
- BRAUNER C. J., MATEY V., WILSON J. M., BERNIER N. J., VAL A. L., 2004. *Transition in organ function during the evolution of air-breathing; insights from Arapaima gigas, an obligate air-breathing teleost from the Amazon*. J. Exp. Biol. 207, 1433-1438.
- BURLESON M. L., SHIPMAN B. N., SMATRESK N. J., 1998. *Ventilation and acid-base recovery following exhausting activity in an air-breathing fish*. J. Exp. Biol. 20, 1359-1368.
- CECCHINI S., SAROGLIA M., 2002. *Antibody response in sea bass (Dicentrarchus labrax L.) in relation to water temperature and oxygenation*. Aquacult. Res. 33, 607-613.
- CECCHINI S., CAPUTO A. R., 2003. *Acid-base balance in sea bass (Dicentrarchus labrax L.) in relation to water oxygen concentration*. Aquacult. Res. 34, 1069-1073.
- DABROWSKI K., LEE K. J., GUZ L., VERLHAC V., GABAUDAN J., 2003. *Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout*. Aquaculture 233, 383-392.
- FARMER C. G., 1997. *Did lungs and the intracardiac shunt evolve to oxygenate the heart in vertebrates?* Paleobiology 23, 358-372.
- FARRELL A. P., SIMONOT D. L., SEYMOUR R. S., CLARK T. D., 2007. *A novel techniques for estimating the compact myocardium in fishes reveals surprising results for an athletic air-breathing fish, the Pacific tarpon*. J. Fish Biol. 71, 389-398.
- FIEVELSTAD S., Waagbo R., Stefansson S., Olsen A. B., 2007. *Impacts of elevated water carbon dioxide partial pressure at two temperatures on Atlantic salmon (Salmo salar L.) parr growth and hematology*. Aquaculture 269, 241-249.
- FOSS A., EVENSEN T. H., ØIESTAD V., 2002. *Effects of hypoxia and hyperoxia on growth and food conversion efficiency in the spotted wolfish Anarhichas minor (Olafsen)*. Aquacult. Res. 33, 437-444.
- FOSS A., VOLLEN T., ØIESTAD V., 2003. *Growth and oxygen consumption in normal and O₂ super-saturated water, and interactive effects of O₂ saturation and ammonia on growth in spotted wolfish (Anarhichas minor Olafsen)*. Aquaculture 224, 105-116.
- FRASER J., VIEIRA DE MELLO L., WARD D., REES H. H., WILLIAMS D. R., FANG Y., BRASS A., GRACEY A. Y., COSSINS R., 2006. *Hypoxia-inducible myoglobin expression in nonmuscle tissues*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 2977-2981.
- GAŁECKA E., JACEWICZ R., MROWICKA M., FLORKOWSKI A., GAŁECKI P., 2008. *Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje*. Polski Merkuriusz Lekarski 25, 266-268.
- GNAIGER E., MENDEZ G., HAND S. C., 2000. *High phosphorylation efficiency and depression of uncoupled respiration in mitochondria under hypoxia*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 11080-11085.
- GONÇALVES A. F., CASTRO L. F. C., PEREIRA-WILSON C., COIMBRA J., WILSON J. M., 2007. *Is there a compromise between nutrient uptake and gas exchange in the gut of Misgurnus anguillicaudatus, an intestinal air-breathing fish?* Comp. Biochem. Phys., Part D 2, 345-355.
- GONZALEZ R. J., BRAUNER C. J., WANG Y. X., RICHARDS J. G., PATRICK M. L., XI W., MATEY V., VAL A. I., 2010. *Impact of ontogenetic changes in branchial morphology on gill function in Arapaima gigas*. Physiol. Biochem. Zool. 83, 322-332.
- GOOD C., DAVIDSON J., WELSH C., SNEKVIK K., SUMMERFELT S., 2010. *The effect of carbon dioxide on performance and histopathology of rainbow trout Oncorhynchus mykiss in water recirculation aquaculture systems*. Aquacult. Engin. 42, 51-56.
- GRAHAM J. B., 1997. *Air-Breathing Fishes, Evolution, Diversity and Adaptation*. Academic Press, San Diego, California.
- GRAHAM J. B., LEE H. J., 2004. *Breathing air in air: in what ways might extant amphibious fish biology relate to prevailing concepts about early tetrapods, the evolution of vertebrate air breathing, and the vertebrate land transition?* Physiol. Biochem. Zool. 77, 720-731.
- GREENWOOD P. H., LIEM K. E., 1984. *Aspiratory respiration in Arapaima gigas (Teleostei, Osteoglossomorpha): A reappraisal*. J. Zool. London 203, 411-425.
- HASELL K. L., COUTIN P. C., NUGEGODA D., 2008. *Hypoxia, low salinity and lowered temperature reduce embryo survival and hatch rates in black bream Acanthopagrus butcheri (Munro, 1949)*. J. Fish Biol. 72, 1623-1636.
- HILL L. G., RENFRO J. L., REYNOLDS R., 1972. *Effects of dissolved oxygen tensions upon the rate of aerial respiration of young spotted gar, Lepisosteus oculatus (Lepisosteidae)*. South. Nat. 17, 273-278.
- HOOGEWIJ D., TERWILLIGER N. B., WEBSTER K. A., POWELL-COFFMAN J. A., TOKISHITA S., YAMAGATA H., HANKELN T., BURMESTER T., RYTKÖNEN K. T., NIKINMAA M., ABELE D., HEISE K., LUCASSEN M., FANDREY J., MAXWELL P. H., PÄHLMAN S., GORR T. A., 2007. *From critters to cancers: bridging comparative and clinical research on oxygen sensing*.

- HIF signaling, and adaptation towards hypoxia.* Integr. Comp. Biol. 47, 552-577.
- HOSFELD C.D., ENGEVIK A., MOLLAN T., LUNDE T. M., WAAGB R., OLSEN A. B., BRECK O., STEFANSSON S., FIVELSTAD S., 2008. *Long-term separate and combined effects of environmental hypercapnia and hyperoxia in Atlantic salmon (Salmo salar L.) smolts.* Aquaculture 280, 146-153.
- HULBERT W. C., MOON T. W., HOCHACHKA P. W., 1978. *The osteoglossid gill: correlations of structure, function, and metabolism with transition to air breathing.* Can. J. Zool. 56, 801-808.
- JAROSZEWSKA M., DABROWSKI K., 2008. *Morphological analysis of the functional design of the connection between alimentary tract and the gas bladder in air-breathing lepisosteid fish.* Ann. Anat. 190, 383-390.
- JONZ M. G., NURSE C. A., 2003. *Neuroepithelial cells and associated innervation of the zebrafish gill: a confocal immunofluorescence study.* J. Comp. Neurol. 461, 1-17.
- JONZ M. G., FEARON I. M., NURSE C. A., 2004. *Neuroepithelial oxygen chemoreceptors of the zebrafish gill.* J. Physiol. 560, 737-752.
- JONZ M. G., NURSE C. A., 2006. *Ontogenesis of oxygen chemoreception in aquatic vertebrates.* Respir. Physiol. Neurobiol. 154, 139-152.
- KAJIMURA S., AIDA K., DUAN C., 2006. *Understanding hypoxia-induced gene expression in early development: in vitro and in vivo analysis of hypoxia-inducible factor 1-regulated zebra fish insulin-like growth factor binding protein 1 gene expression.* Mol. Cell. Biol. 26, 1142-1155.
- KIRSCHNER M. W., GERHART J. C., 2006. *The plausibility of life.* Yale University Press.
- KORHEA-AHO T. L., PARTANEN J. M., KUKKONEN J. V. K., TASKINEN J., 2008. *Hypoxia increases intensity of epidermal papillomatosis in roach Rutilus rutilus.* Dis. Aquat. Org. 78, 235-241.
- LECHLEUTHNER A., SCHUMACHER U., NEGELE R. D., WELSH U., 1989. *Lungs of Polypterus and Erpetoichthys.* J. Morphol. 201, 161-178.
- LEWIS J. M., COSTA I., VAL A. L., ALMEIDA-VAL V. M. F., GAMPERL A. K., DRIEDZIC W. R., 2007. *Responses to hypoxia and recovery: repayment of oxygen debt is not associated with compensatory protein synthesis in the Amazonian cichlid, Astronotus ocellatus.* J. Exp. Biol. 210, 1935-1943.
- LIEM K. F., 1981. *Larvae of air-breathing fishes as countercurrent flow devices in hypoxic environments.* Science 211, 1177-1179.
- LIEPELT A., KARBE L., WESTENDORF J., 1995. *Induction of DNA strand breaks in rainbow trout Oncorhynchus mykiss under hypoxic and hyperoxic conditions.* Aquatic Toxicol. 33, 177-181.
- LU G., MAK Y.T., WAI S.M., KWONG W.H., JAMES A., RANDALL D., YEW D.T., 2005. *Hypoxia-induced differential apoptosis in the central nervous system of the sturgeon (Acipenser shrenckii).* MicroSC. Res. Tech. 68, 258-263.
- LUSHCHAK V., BAGNYUKOVA T. V., 2006. *Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish.* Comp. Biochem. Physiol., Part B 144, 283-289.
- MACCORMACK T. J., TREBERQ J. R., ALMEIDA-VAL V. M., DRIEDZIC W.R., 2003. *Mitochondrial K_{ATP} channels and sarcoplasmic reticulum influence cardiac force development under anoxia in the Amazonian armored catfish Liposarcus pardalis.* Comp. Biochem. Physiol. 34, 441-448.
- MALLAT J., 1985. *Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review.* Can. J. Fish. Aquatic Sci. 42, 630-648.
- MORRISON J. R., DEAVOURS W. L., JONES J. C., TABB M. A., 1995. *Early rearing of channel catfish fry in floating raceways and subsequent survival in ponds.* Prog. Fish-Culturist 57, 292-296.
- NAŃKA O., VALÁŠK P., DVORÁKOVÁ M., GRIM M., 2006. *Experimental hypoxia and embryonic angiogenesis.* Dev. Dynamics 235, 723-733.
- NAŃKA O., KRIZOVA P., FIKRLE M., TUMA M., BLAHA M., GRIM M., SEDMERA D., 2008. *Abnormal myocardial and coronary vasculature development in experimental hypoxia.* AnaT. Record 291, 1187-1199.
- NEUENFELDT S., ANDERSEN K. H., HINRICHSEN H. H., 2009. *Some Atlantic cod Gadus morhua in Baltic Sea visit hypoxic water briefly but often.* J. Fish Biol. 75, 290-294.
- NIKINMAA M., 2002. *Oxygen-dependent cellular functions - why fishes and their aquatic environment are a prime choice of study.* Comp. Biochem. Physiol., Part A 133, 1-16.
- NIKINMAA M., REES B. B., 2005. *Oxygen-dependent gene expression in fishes.* Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 288, 1079-1090.
- NILSSON G. E., ÖSTLUND-NILSSON S., 2008. *Does size matter for hypoxia tolerance in fish?* Biol. Rev. 83, 173-189.
- OLSVIK P. A., KRISTENSEN T., WAAGBØ R., TOLLEFSEN K. E., ROSSELAND B. O., TOFTEN H., 2006. *Effects of hypo- and hyperoxia on transcription levels of five stress genes and the glutathione system in liver of Atlantic cod Gadus morhua.* J. Exp. Biol. 209, 2893-2901.
- ONG K. J., STEVENS E. D., WRIGHT P. A., 2007. *Gill morphology of the mangrove killifish (Kryptolebias marmoratus) is plastic and changes in response to terrestrial air exposure.* J. Exp. Biol. 210, 1109-1115.
- OSTASZEWSKA T., DABROWSKI K., KAMASZEWSKI M., GROCHOWSKI P., VERRI T., RZEPKOWSKA M., WOLNICKI J., 2010. *The effect of plant protein-based diet supplemented with dipeptide or free amino acids on digestive tract morphology and PepT1 and PepT2 expressions in common carp (Cyprinus carpio L.).* Comp. Biochem. Physiol. A, 157, 158-169.
- PERRY S. F., WILSON R. J. A., STRAUS C., HARRIS M. B., REMMERS J. E., 2001. *Which came first, the lung or the breath?* Comp. Physiol. Biochem., Part A 129, 37-47.
- PERSON-LE RUYET J., PICHAVANT K., VACHER C., LE BAYON N., SÈVÈRE A., BOEUF G., 2002. *Effects of O₂ supersaturation on metabolism and growth in juvenile turbot (Scophthalmus maximus L.).* Aquaculture 205, 373-383.
- PICHAVANT K., PERSON-LE-RUYET J., LE BAYON N., SÈVÈRE A., LE ROUX A., QUÉMÈNER L., MAXIME V., NONNOTTE G., BOEUF G., 2000. *Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot.* Aquaculture 188, 103-114.
- PLANTE S., CHABOT D., DUTIL J. D., 1998. *Hypoxia tolerance in Atlantic cod.* J. Fish Biol. 53, 1342-1356.
- PODKOWA D., GONIAKOWSKA-WITALIŃSKA L., 2003. *Morphology of the air-breathing stomach of the catfish Hypostomus plecostomus.* J. Morphol. 257, 147-163.
- PÖRTNER H. O., BOCK C., KNUST R., LANNING G., LUCASSEN M., MARK F. C., SARTORIS F. J., 2008. *Cod and climate in a latitudinal cline: physiological analyses of climate effects in marine fishes.* Clim. Res. 37, 253-270.
- RAHN H., RAHN K. B., HOWELL B. J., GANS C., TENNEY S. M., 1971. *Air breathing of the garfish (Lepisosteus osseus).* RespiR. Physiol. 11, 285-307.
- RENFRO J. L., HILL L. G., 1970. *Factors influencing the aerial breathing and metabolism of gars (Lepisosteus).* Southwest. Nat. 15, 45-54.

- RINALDI L., BASSO P., TETTAMANTI G., GRIMALDI A., TEROVA G., SAROGLIA M., DE EQUILEOR M., 2005. *Oxygen availability causes morphological changes and a different VEGF/Flk-1/HIF-2 expression in sea bass gills*. Ital. J. Zool. 72, 103–111.
- ROBB T., ABRAHAMS M.V., 2003. *Variation in tolerance to hypoxia in a predator and prey species: an ecological advantage of being small?* J. Fish Biol. 62, 1067–1081.
- ROESNER A., HANKEL T., BURMESTER T., 2006. *Hypoxia induces a complex response of globin expression in zebrafish (Danio rerio)*. J. Exp. Biol. 209, 2129–2137.
- SAROGLIA M., CECCHINI S., TEROVA G., CAPUTO A., DE STRADIS A., 2000. *Influence of environmental temperature and water oxygen concentration on gas diffusion distance in sea bass (Dicentrarchus labrax, L.)*. Fish Physiol. Biochem. 23, 55–58.
- SAROGLIA M., TEROVA G., DE STRADIS A., CAPUTO A., 2002. *Morphometric adaptations of sea bass gills to different dissolved oxygen partial pressures*. J. Fish Biol. 60, 1423–1430.
- SATORA L., 1998. *Histological and ultrastructural study of the stomach of the air-breathing Ancistrus multispinnis (Siluriformes, Teleostei)*. Can. J. Zool. 76, 83–86.
- SCHMALHAUSEN I. I., 1968. *The origin of terrestrial vertebrates*. Academic Press, New York.
- SEYMOUR R. S., CHRISTIAN K., BENNETT M. B., BALDWIN J., WELLS R. M. G., BAUDINETTE R. V., 2004. *Partitioning of respiration between the gills and air-breathing organ in response to aquatic hypoxia and exercise in the pacific tarpon, Megalops cyprinoides*. Physiol. Biochem. Zool. 77, 760–767.
- SMATRESK N. J., CAMERON J. N., 1982. *Respiration and acid-base physiology of the spotted gar, a bimodal breather. I. Normal values, and the response to the severe hypoxia*. J. Exp. Biol. 96, 263–280.
- SMATRESK N. J., BURLESON M. L., AZIZI S. Q., 1986. *Chemoreflexive responses to hypoxia and NaCN in longnose gar: evidence for two chemoreceptors loci*. Am. J. Physiol. 251, R116–R125.
- SMATRESK N. J., 1990. *Chemoreceptor modulation of endogenous respiratory rhythms in vertebrates*. Am. J. Physiol. 259, R887–R897.
- SOITAMO A. J., RABERGH C. M. J., GASSMANN M., SINTONEN L., NIKINMAA M., 2001. *Characterization of a hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) from rainbow trout*. J. Biol. Chem. 276, 19699–19705.
- SOLLID J., DE ANGELIS P., GUNDERSEN K., NILSSON G. E., 2003. *Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills*. J. Exp. Biol. 206, 3667–3673.
- SOLLID J., KJERNSLI A., DE ANGELIS P. M., ROHR A. K., NILSSON G. E., 2005. *Cell proliferation and gill morphology in anoxic crucian carp*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 289, 1196–1201.
- SOLLID J., RISSANEN E., TRANBERG H. K., THORSTENSEN T., VUORI K. A. M., NIKINMAA M., NILSSON G. E., 2006. *HIF-1 α and iNOS levels in crucian carp gills during hypoxia-induced transformation*. J. Comp. Physiol., Part B 176, 359–369.
- TEROVA G., RINOLDI S., CORA S., BERNARDINI G., GORNATI R., SAROGLIA M., 2008. *Acute and chronic hypoxia affects HIF-1 α mRNA levels in sea bass (Dicentrarchus labrax)*. Aquaculture 279, 150–159.
- VAL A. L. 1999. *Water-air-breathing transition in fishes of the Amazon*. [W:] *Water/air transition in biology*. MITTAL A. K., EDDY F. B., DATTA MUNSHI J. S. (red.). Oxford & IBN Publishing Co. PVT. LTD, 146–161.
- VAN DER MEER D. L. M., VAN DEN THILLART G. E. E. J. M., WITTE F., DE BAKKER M. A. G., BESSER J., RICHARDSON M. K., SPAINK H. P., LEITO J. T. D., BAGOWSKI C. P., 2005. *Gene expression profiling of the long-term adaptive response to hypoxia in the gills of adult zebrafish*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 289, R1512–R1519.
- VAN RAAJ M. T. M., BAKKER E., NIEVEEN M. C., ZIRKZEE H., VAN DEN THILLART G. E. E. J. M., 1994. *Energy status and free fatty acid patterns in tissues of common carp (Cyprinus carpio, L.) and rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, L.) during severe oxygen restriction*. Comp. Biochem. Physiol. 109A, 755–767.
- VILLAFANE V. E., HELBLING W., ZAGARESE H. E., 2001. *Solar ultraviolet radiation and its impact on aquatic systems of Patagonia, South America*. Ambio 30, 112–117.
- VULESEVIC B., MCNEILL B., PERRY S. F., 2006. *Chemoreceptor plasticity and respiratory acclimation in the zebrafish Danio rerio*. J. Exp. Biol. 209, 1261–1273.
- WELLS P.R., PINDER A. W., 2006. *The respiratory development of Atlantic salmon II. Partitioning of oxygen uptake among gills, yolk sac and body surfaces*. J. Exp. Biol. 199, 2737–2744.
- WELLS R. M. G., BALDWIN J., SEYMOUR R. S., CHRISTIAN K. A., FARRELL A. P., 2007. *Ar breathing minimizes post-exercise lactate load in the tropical Pacific tarpon, Megalops cyprinoides Broussonet 1782 but oxygen debt is required by aquatic breathing*. J. Fish Biol. 71, 1649–1661.
- WILLSON R. J. A., HARRIS M. B., REMMERS J. E., PERRY S. F., 2000. *Evolution of air-breathing and central CO₂/H⁺ respiratory chemosensitivity: new insights from an old fish?* J. Exp. Biol. 203, 3505–3512.
- ZACCONE G., FASULO S., AINIS L., LICATA A., 1997. *Paraneurons in the gills and airways of fishes*. Micr. Res. Tech. 37, 4–12.