

ΟΣΜΩΡΡΥΘΜΙΣΗ

Τα ζωντανά κύτταρα απαιτούν ένα σταθερό περιβάλλον, με συγκεκριμένες συγκεντρώσεις συστατικών διαλυμένων στο νερό. Έτσι και στα ψάρια, το εσωτερικό τους περιβάλλον πρέπει να χαρακτηρίζεται από σταθερές συγκεντρώσεις ιόντων, αλάτων και οργανικών συστατικών ανεξάρτητα από τις αυξομειώσεις που παρατηρούνται στο εξωτερικό περιβάλλον. Η διατήρηση ενός σταθερού εσωτερικού περιβάλλοντος γίνεται ακόμα πιο περίπλοκη για ψάρια που μεταναστεύουν μεταξύ ακραίων αλατοτήτων ή που βρίσκονται υπό καταστάσεις stress, ή ακόμα που έχουν να αντιμετωπίσουν πολύ χαμηλές θερμοκρασίες.

Οσμωρρύθμιση

Τα ψάρια διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με την οσμωρρυθμιστική στρατηγική που ακολουθούν:

1. Καμία απολύτως ρύθμιση εσωτερικού περιβάλλοντος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα οι μυξίνοι (*Myxiniiformes*), οι οποίοι είναι θαλάσσιοι και δεν μπορούν να υποστούν μεγάλες αλλαγές στην αλατότητα (στενόαλοι). Η συνολική συγκέντρωση αλάτων στο σώμα τους είναι σχεδόν ίδια με αυτή του θαλασσινού νερού που ζούνε και γι' αυτό χαρακτηρίζονται ως οσμωκονφορμιστές αντί για οσμωρρυθμιστές.
2. Στη δεύτερη κατηγορία εντάσσονται οι θαλάσσιοι ελασμοβράγχοι. Οι ελασμοβράγχοι διατηρούν τη συνολική συγκέντρωση ανοργάνων αλάτων στο σώμα τους στο 1/3 περίπου αυτής του θαλασσινού νερού. Ωστόσο, η οσμωτική τους πίεση είναι σχεδόν ίση με του θαλασσινού νερού μέσα στο οποίο βρίσκονται λόγω της μεγάλης συσσώρευσης οργανικών αλάτων, κυρίως ουρίας και TMAO (οξειδίο της τριμεθυλαμίνης). Η ενζυμική δραστηριότητα προστατεύεται από την ανασταλτική δράση της ουρίας με τη διατήρηση μιας αναλογίας 2 ουρία:1 TMAO. Ανάλογος οσμωρρυθμιστικός μηχανισμός απαντάται και στην κοιλάκανθο. Εξαιτίας του ισοσμωτικού εξωτερικού και εσωτερικού περιβάλλοντος η διάχυση νερού είναι πολύ περιορισμένη, ενώ η παθητική διάχυση Na^+ και Cl^- προς το εσωτερικό αποφεύγεται με τη χαμηλή διαπερατότητα των μεμβρανών στα ιόντα αυτά.

3. Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν οι θαλάσσιοι τελεόστεοι. Η συγκέντρωση αλάτων στο εσωτερικό τους (350mOsm/l) είναι περίπου το 1/3 της συγκέντρωσης αλάτων του θαλασσινού νερού (1000mOsm/l). Άρα το εσωτερικό περιβάλλον είναι υποοσμωτικό έναντι του εξωτερικού και τείνουν να χάνουν συνεχώς νερό λόγω παθητικής διάχυσης προς τα έξω. Οι θαλάσσιοι τελεόστεοι αναπληρώνουν αυτό το νερό με τη συνεχή πρόσληψη νερού από το στόμα. Φυσικά αυτό συνεπάγεται και πρόσληψη μεγάλων συγκεντρώσεων αλάτων τα οποία απεκκρίνουν σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Εξειδικευμένα βραγχιακά κύτταρα (κύτταρα χλωρίου) απεκκρίνουν ενεργητικά τις μεγαλύτερες ποσότητες από αυτά τα ιόντα αφού ο νεφρός των τελεόστεων δεν μπορεί να παράγει ούρα υπεροσμωτικά σε σχέση με το αίμα τους (Εικ.32).
4. Στην τέταρτη κατηγορία, τέλος, υπάγονται οι τελεόστεοι και ελασμοβράγχιοι του γλυκού νερού που το εσωτερικό τους περιβάλλον είναι υπεροσμωτικό (350mOsm/l) σε σχέση με το εξωτερικό (1-10mOsm/l). Η διαφορά στην οσμωτική πίεση οδηγεί στην συνεχή παθητική εισροή νερού στο σώμα τους, το οποίο απεκκρίνεται από τους καλά αναπτυγμένους νεφρούς ως τεράστια ποσότητα αραιών ούρων. Η συνολική ποσότητα ούρων μπορεί να φτάσει μέχρι και 1/3 του βάρους του σώματος τους την ημέρα. Ο έλεγχος των διουρητικών διεργασιών έγκειται στις υποφυσιακές ορμόνες (π.χ. βασοπρεσίνη) μέσω μεταβολών στην πίεση του αίματος. Κάποια άλατα αναπόφευκτα τείνουν να χαθούν με παθητική διάθεση από τα βράγχια. Ωστόσο, οι παθητικές απώλειες περιορίζονται από τη δράση της προλακτίνης και επιπλέον πρόσληψη γίνεται με την τροφή και ενεργητικά από τα βράγχια. Έτσι μια αντλία αλάτων λειτουργεί και στα κύτταρα χλωρίου αυτών των ψαριών αλλά προς αντίθετη κατεύθυνση από αυτή των τελεόστεων (Εικ.32).

Τα περισσότερα ψάρια είναι στενόαλα και καταφέρνουν να διατηρούν ένα σταθερό εσωτερικό περιβάλλον με τους παραπάνω μηχανισμούς. Τα διάδρομα ψάρια ωστόσο που κινούνται μεταξύ ακραίων αλατοτήτων πρέπει να έχουν πιο ευέλικτους οσμωρρυθμιστικούς μηχανισμούς, το οποίο συνεπάγεται και μεγάλο ενεργειακό κόστος. Πράγματι, ο ρυθμός αύξησης και η δραστηριότητα επηρεάζονται σημαντικά από τις ενεργειακές δαπάνες για οσμωρρύθμιση. Έτσι, ιχθύδια του στενόαλου *Bairdiella icistia* όταν υποβλήθηκαν σε αλατότητες 29, 33, 37, 41 και 45 ppt (parts per thousand) παρουσίασαν το μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης και τη μικρότερη κατανάλωση τροφής στην αλατότητα των 37 ppt. Οι

ενεργειακές δαπάνες για οσμωρρύθμιση είναι ανάλογες του συνολικού μεταβολισμού: υψηλότερες για επιπελαγικά είδη με υψηλό μεταβολισμό και χαμηλότερες για βενθικά είδη με χαμηλό μεταβολισμό. Εξαίρεση αποτελούν τα βαθύβια είδη που ζούν σε περιοχές με γεωθερμικά ρύγματα και η τροφή αφθονεί.

Ιοντική Ρύθμιση

Ακόμα και στις περιπτώσεις που το εσωτερικό και εξωτερικό περιβάλλον είναι ισοσμωτικά, τα ψάρια δαπανούν ενέργεια για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης συγκεκριμένων ιόντων, των οποίων οι συγκεντρώσεις διαφέρουν εσωτερικά και εξωτερικά. Οι διαδικασίες ενεργούς μεταφοράς ιόντων και τα όργανα που συμμετέχουν σε αυτές διαφέρουν από ψάρι σε ψάρι. Γενικότερα τα ψάρια κατατάσσονται σε πέντε κατηγορίες σύμφωνα με τις στρατηγικές ιοντικής ρύθμισης που ακολουθούν: τους μυξίνους, τους ελασμοβράγχιους, τους θαλάσσιους τελεόστεους, τους ευρύαλους τελεόστεους και τους τελεόστεους του γλυκού νερού.

Μυξίνοι. Όχι μόνο είναι ισοσμωτικοί προς το θαλασσινό νερό αλλά και η συγκέντρωση αλάτων είναι λίγο πολύ η ίδια. Διακρίνουμε κάποιες μικρές αποκλίσεις: για παράδειγμα η συγκέντρωση $[Na^+]$ του *Myxine glutinosa* είναι υψηλότερη από αυτή του θαλασσινού νερού αν και, μέχρι στιγμής, δεν έχει ανιχνευτεί ενεργός μεταφορά κατά μήκος του εντέρου, των βραγχίων ή του δέρματος. Η βλέννα ωστόσο που εκκρίνεται και καλύπτει το σώμα έχει χαμηλή $[Na^+]$ και είναι πολύ πιθανό να συμβάλλει στη διατήρηση της υψηλής $[Na^+]$ στο εσωτερικό. Το αντίθετο ακριβώς ισχύει για τα δισθενή ιόντα Ca^{2+} , SO_4^{2-} , Mg^{2+} , των οποίων η συγκέντρωση στο εσωτερικό είναι χαμηλότερη από του θαλασσινού νερού αλλά αυξημένη στις βλεννώδεις εκκρίσεις.

Ελασμοβράγχιοι. Ενώ η συσσώρευση ουρίας παρέχει ικανοποιητική οσμωρρύθμιση, οι ελασμοβράγχιοι έχουν να αντιμετωπίσουν και το πρόβλημα των μεγάλων ποσοτήτων Na^+ και Cl^- που καταπίνουν. Η απέκκριση αυτών των ιόντων είναι ο σχεδόν αποκλειστικός ρόλος του αδένου του απευθυσμένου, ο οποίος συναντάται μόνο στους ελασμοβράγχιους και την κοιλιάκανθο. Ο αδένος του απευθυσμένου εκκρίνει ένα υγρό στο οποίο οι συγκεντρώσεις Na^+ και Cl^- είναι παρόμοιες με αυτές του θαλασσινού νερού και διπλάσιες από αυτές του

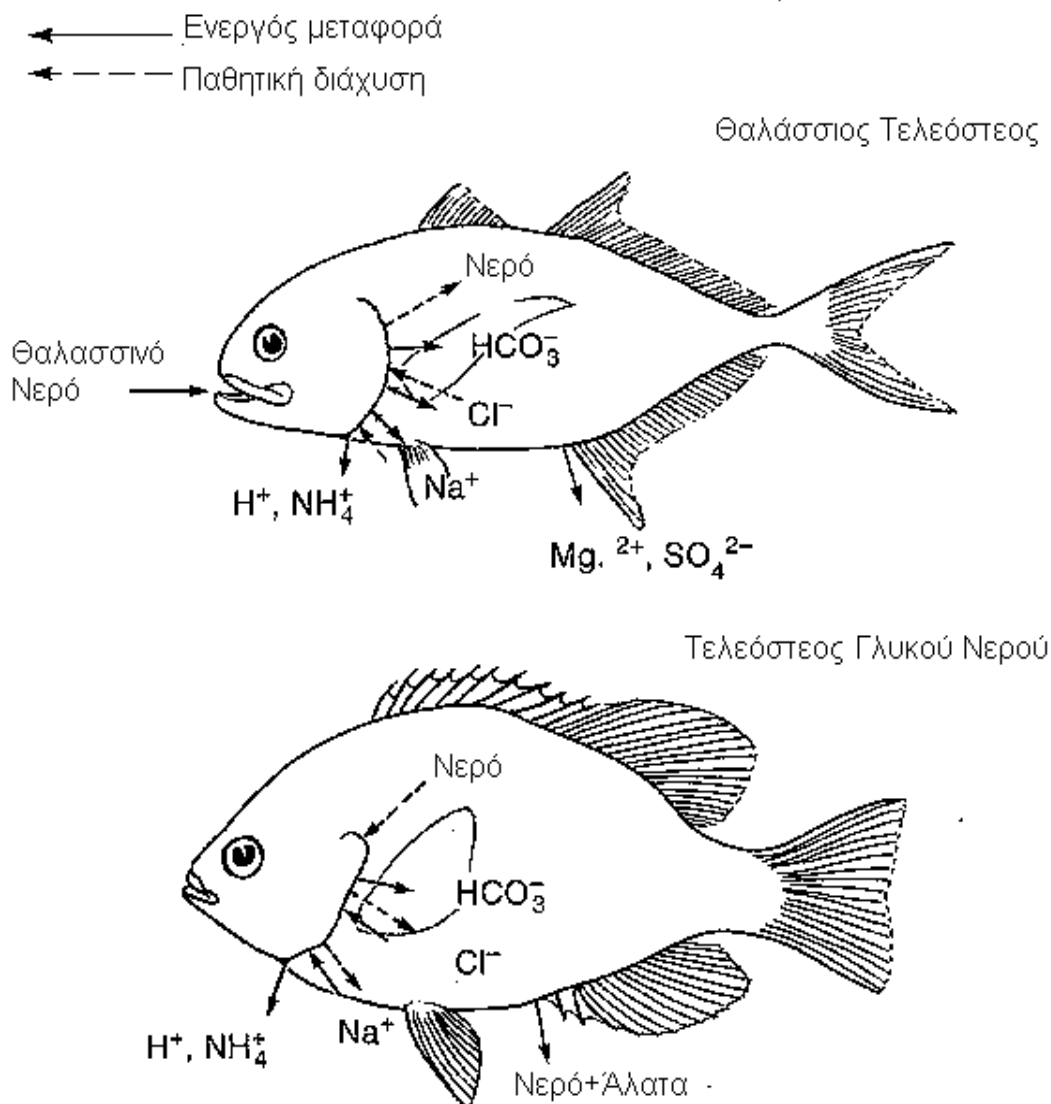
πλάσματος. Από τις μέχρι τώρα ενδείξεις η απέκκριση Cl^- εξαρτάται άμεσα από την απέκκριση Na^+ , πράγμα που οδηγεί στην υπόθεση ότι η πρόσληψη αυτών των ιόντων από το αίμα γίνεται ενεργά με αντλίες νατρίου. Στην ουσία πρόκειται για τον ίδιο μηχανισμό που χαρακτηρίζει και τα κύτταρα χλωρίου των βραγχίων των θαλάσσιων τελεόστεων. Οι ελασμοβράγχιοι χρησιμοποιούν επίσης και τους νεφρούς τους καθώς και τα κύτταρα χλωρίου που διαθέτουν στα βράγχια για την απέκκριση της περίσσειας των ιόντων. Ωστόσο διαθέτουν μόλις το 10-20% των κυττάρων χλωρίου σε σχέση με τους τελεόστεους. Στους ελασμοβράγχιους του γλυκού νερού συναντάμε πιο αρχέγονους αδένες του απευθυσμένου.

Θαλάσσιοι τελεόστεοι. Επειδή τα απαραίτητα ιόντα για τους τελεόστεους βρίσκονται σε αφθονία στο θαλασσινό νερό, η βασική μέθοδος ιοντικής ρύθμισης είναι η επιλεκτική απέκκριση, ιδιαίτερα των ιόντων Na^+ και Cl^- . Τα βράγχια έχουν αυξημένη διαπερατότητα στα μονοθενή ιόντα με αποτέλεσμα το Na^+ και Cl^- να κινούνται παθητικά προς το εσωτερικό. Επιπρόσθετη πρόσληψη αυτών των ιόντων γίνεται από το έντερο μαζί με το νερό που “πίνουν” οι τελεόστεοι για να αναπληρώσουν τις παθητικές απώλειες νερού. Οι νεφροί δεν συμβάλλουν σημαντικά στην απέκκριση αυτών των ιόντων γιατί δεν μπορούν να παράγουν ούρα υπεροσμωτικά σε σχέση με το αίμα. Σε αυτή την αδυναμία των νεφρών αποδίδεται και η υπολειτουργία ή εξαφάνιση της σπειραματικής διήθησης στους νεφρούς ψαριών όπως το *Opsanus tau* και *Polichthys notatus*. Από την άλλη, μεγάλα βραγχιακά κύτταρα έχουν ειδικευτεί στην ενεργό απέκκριση αυτών των μονοθενών ανιόντων, τα κύτταρα χλωρίου. Διακρίνονται σε α και β κύτταρα χλωρίου για τους τελεόστεους του θαλάσσιου και γλυκού νερού αντίστοιχα. Είναι τοποθετημένα στα πρωτογενή βραγχιακά νημάτια, στη βάση των δευτερογενών (Εικ.23). Χαρακτηρίζονται από συσώρευση μιτοχονδρίων, ένα εκτεταμένο σύστημα κυτοπλασματικών μικροσωληνίσκων και αντλίες νατρίου, ανάλογες με αυτές του αδένου του απευθυσμένου στους ελασμοβράγχιους. Οι αντλίες νατρίου είναι τοποθετημένες κατά μήκος της βάσης του κυττάρου και μέσα στο δίκτυο των μικροσωληνίσκων. Η λειτουργία τους είναι η ενεργητική εξαγωγή Na^+ με ταυτόχρονη εισαγωγή K^+ και καταλύεται από το ένζυμο Na^+-K^+ -φωσφατάση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (Na^+-K^+ -ATPase). Η χαμηλή συγκέντρωση Na^+ μέσα στα κύτταρα χλωρίου διευκολύνει την παθητική εισαγωγή ιόντων Na^+ και Cl^- από το αίμα προς τα κύτταρα, με αποτέλεσμα να αυξάνεται και η συγκέντρωση ιόντων Cl^- μέσα στα κύτταρα

χλωρίου. Η συσσώρευση ιόντων Cl^- έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της ηλεκτραρνητικότητας και την παθητική μετακίνηση Cl^- προς το λιγότερο ηλεκτραρνητικό θαλασσινό νερό. Παθητικά έξοδος Na^+ παρατηρείται επίσης και από των διαστημάτων μεταξύ των κυττάρων χλωρίου και των συνδρόμων κυττάρων με τα οποία βρίσκονται σε επαφή. Η σημασία των κυττάρων χλωρίου στη ιοντική ρύθμιση υποδεικνύεται και από το γεγονός ότι τόσο ο αριθμός των κυττάρων χλωρίου όσο και η συγκέντρωση της $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ αυξάνουν κατά τις μετακινήσεις των ψαριών προς αυξημένες αλατότητες.

Ενώ τα βράγχια αποτελούν το πρωταρχικό όργανο απέκκρισης μονοσθενών ιόντων, οι νεφροί αποβάλλουν κυρίως περίσσεια δισθενών ιόντων όπως Mg^{2+} SO_4^{2-} .

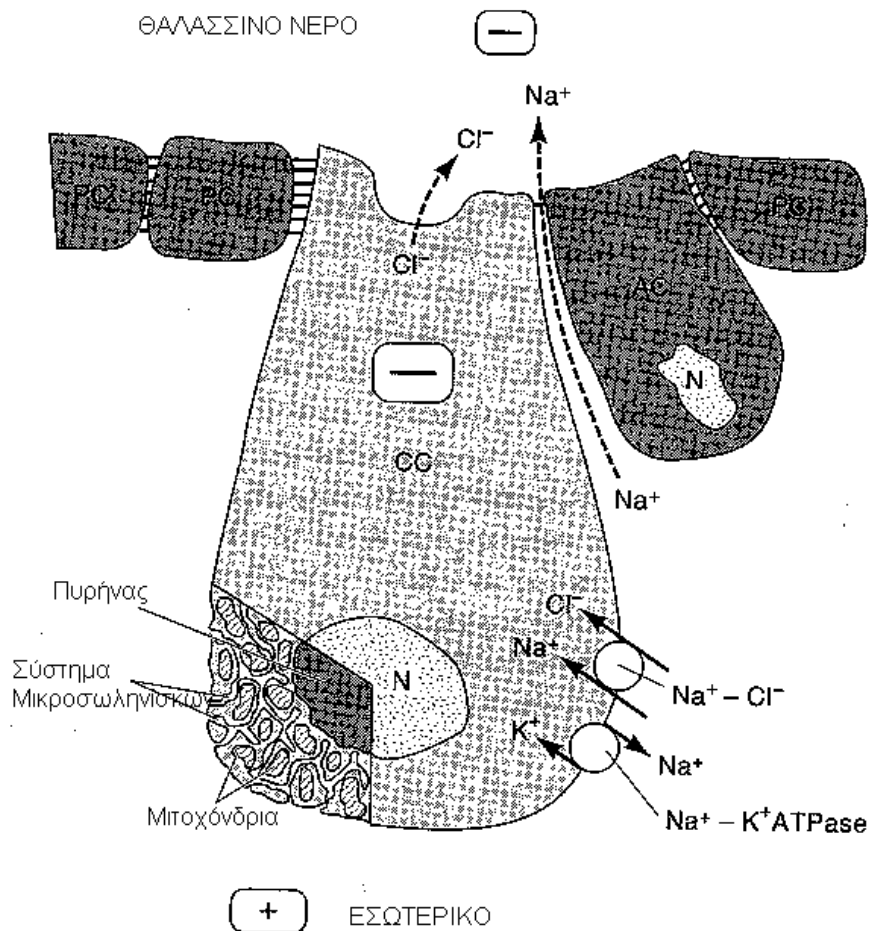
Ευρύαλοι και διάδρομοι τελεόστεοι. Οι ευρύαλοι τελεόστεοι είναι συνήθως κάτοικοι της μεσοπαραλιακής ζώνης ή λιμνοθαλασσών και βρίσκονται αντιμέτωποι με συνεχείς αλλαγές της αλατότητας επιβεβλημένες από τους παλιρροϊκούς ρυθμούς ή τις εισροές γλυκού νερού από την ξηρά. Τα διάδρομα ψάρια από την άλλη περνάνε τη ζωή τους μετακινούμενα μεταξύ θάλασσας και γλυκού νερού και είναι μάλλον στενόαλοι τελεόστεοι εκτός από τις περιόδους μετάβασης από το ένα περιβάλλον στο άλλο, κατά τις οποίες οι αλλαγές στην ιοντική ρύθμιση κατευθύνονται ορμονικά.



Εικόνα 32. Παθητική και ενεργητική μεταφορά αλάτων και νερού στους τελεόστεους.

Ενώ η προλακτίνη μπορεί να θεωρηθεί η κύρια οσμωρρυθμιστική ορμόνη στο γλυκό νερό, η κορτιζόλη, που εκκρίνεται από το μεσενεφρικό ιστό, είναι η “θαλάσσια ορμόνη”. Στα χέλια, που είναι κατάδρομα ψάρια και μεταναστεύουν στον ωκεανό για να αναπαραχθούν, η συγκέντρωση της κορτιζόλης στο πλάσμα αυξάνει συνεχώς για 5-7 μέρες κατά τη μετάβαση από το γλυκό στο θαλασσινό νερό. Η υπερέκκριση της κορτιζόλης προετοιμάζει τα ευρύαλα ή διάδρομα ψάρια για να επιβιώσουν σε αυξημένη αλατότητα. Για παράδειγμα, ένεση κορτιζόλης στην ευρύαλη τιλάπια (*Oreochromis mossambicus*) είχε σαν αποτέλεσμα την

αύξηση της πυκνότητας των κυττάρων χλωρίου, του μεγέθους τους καθώς και της συγκέντρωσης της $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$.



Εικόνα 33. Σχηματικό μοντέλο των κινήσεων Na^+ και Cl^- στα κύτταρα χλωρίου ενός θαλάσσιου τελεόστεου. Απεικονίζεται ένα κύτταρο χλωρίου και τα συνοδά κύτταρα του.

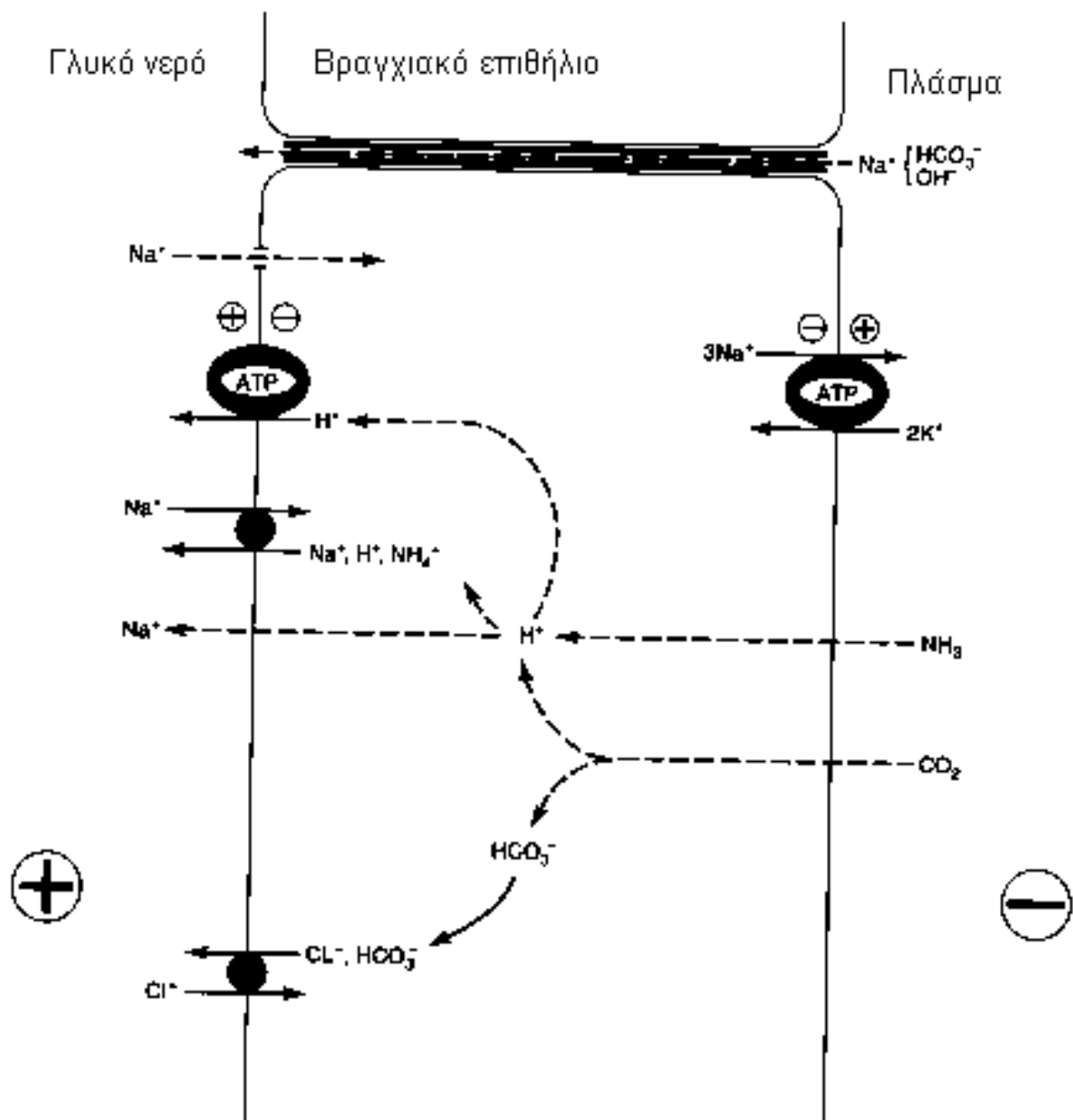
Αλλαγές στους ιοντορρυθμιστικούς μηχανισμούς των διάδρομων ψαριών συνήθως συνδέονται με οντογενετικές αλλαγές που βρίσκονται κάτω από ορμονικό έλεγχο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα ανάδρομα σαλμονοειδή, που αναπαράγονται στο γλυκό νερό και περνάνε την ενήλικη φάση της ζωής τους στη θάλασσα. Στα περισσότερα σαλμονοειδή η ανθεκτικότητα στο θαλασσινό νερό αναπτύσσεται στη διάρκεια της άνοιξης, πριν από τη μετανάστευση των ιχθυδίων στον θαλάσσιο περιβάλλον. Οι πρώτες

παρατηρήσεις ήταν ότι η ανάπτυξη αυτή της ανθεκτικότητας ήταν άμεσα εξαρτημένη από την αύξηση του μήκους της ημέρας την άνοιξη, αλλά μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η όλη διαδικασία κινητοποιείται από την σταδιακή αύξηση των επιπέδων θυροξίνης. Όταν η συγκέντρωση θυροξίνης φτάσει στο μέγιστο, τότε αυξάνεται και η έκκριση της κορτιζόλης και παρατηρούνται οι προσαρμοστικές αλλαγές που προαναφέρθηκαν (αύξηση κυττάρων χλωρίου, αυξημένη διαπερατότητα εντέρου και ουροδόχου κύστης) και αρχίζει η μετανάστευση στη θάλασσα. Η αυξητική ορμόνη έχει επίσης σημαντικό ρόλο σε αυτή την προετοιμασία και ενέσεις αυξητικής ορμόνης αυξάνουν σημαντικά το ποσοστό επιβίωσης κατά την μετάβαση στο νέο περιβάλλον.

Σημαντικός είναι ο ρόλος της προλακτίνης στην αποφυγή παθητικής απώλειας Na^+ στα ψάρια του γλυκού νερού και την αύξηση των απωλειών Na^+ στα ευρύαλα είδη που μετακινούνται από το θαλασσινό στο γλυκό νερό. Ο ιοντορρυθμιστικός ρόλος της προλακτίνης είναι αντίθετος από αυτόν της κορτιζόλης σε ότι αφορά τις αλλαγές στα βράγχια, το έντερο, τους νεφρούς και τη ουροδόχο κύστη.

Μια γενική παρατήρηση είναι ότι η διαπερατότητα των βραγχίων σε διάφορα ιόντα εξαρτάται στενά από την περιεκτικότητα του νερού σε Ca^{2+} , αν και ο τρόπος και τόπος δράσης αυτού του ιόντος δεν έχουν διελευκανθεί. Έτσι προσθήκη 10mM Ca^{2+} στο νερό μειώνει τη σύνθεση της προλακτίνης κατά 50% στη τιλάπια, ενώ η εξαγωγή Na^+ στο *Fundulus kansae* μειώνεται κατά 50% με τη προσθήκη μόλις 1mM Ca^{2+} . Έτσι εξηγείται και γιατί η λίμνη Andros στις Μπαχάμες φιλοξενεί τόσα θαλάσσια είδη ψαριών: ανάλυση του νερού της λίμνης αποκάλυψε ασυνήθιστα υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων Ca^{2+} (1,0-1,5mM).

Τελεόστεοι του γλυκού νερού. Το υπεροσμωτικό εσωτερικό περιβάλλον αυτών των τελεόστεων επιβάλλει την συνεχή απώλεια μονοσθενών ιόντων με παθητική διάχυση από τα βραγχιακά επιθήλια. Άλατα χάνονται επίσης και με τα πολύ αραιά ούρα, που παράγονται για να αποβάλλουν τις μεγάλες ποσότητες νερού που εισέρχονται παθητικά. Αν και μεγάλη ποσότητα των αλάτων που χάνεται επανακτάται με την τροφή, ο κύριος τρόπος πρόσληψης είναι η ενεργητική πρόσληψη από τα β κύτταρα χλωρίου που βρίσκονται στα πρωτογενή βραγχιακά νημάτια. Έχουν πολλά από τα χαρακτηριστικά των α κυττάρων χλωρίου των θαλάσσιων τελεόστεων (συσσώρευση μιτοχονδρίων, δίκτυο μικροσωληνίσκων, δραστηριότητα $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$) αλλά η πυκνότητα τους είναι πολύ μικρότερη. Οι κινήσεις των ιόντων από τα β κύτταρα είναι διαφορετικές (Εικ.34).



Εκόνα 34. Σχηματικό διάγραμμα της επικρατούσας ιδέας για το μηχανισμό μετακίνησης ιόντων στα κύτταρα χλωρίου των τελεόστεων του γλυκού νερού.

Για παράδειγμα, σε ανταλλαγή με το Na^+ αποβάλλεται και το NH_4^+ , που είναι σημαντικό παράγωγο του πρωτεϊνικού μεταβολισμού. Επιπλέον, μετακινούνται ιόντα H^+ και HCO_3^- , πολύ σημαντικά για τη διατήρηση της οξεοβασικής ισορροπίας. Αν και τα κύτταρα χλωρίου προκαλούν αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον, πάρα πολλές πτυχές της δομής και

λειτουργίας τους τόσο στο θαλάσσιο περιβάλλον όσο και στο γλυκό νερό παραμένουν αδιευκρίνιστες. Για παράδειγμα, β κύτταρα χλωρίου έχουν παρατηρηθεί και στους θαλάσσιους τελεόστεους. Ωστόσο η λειτουργία τους παραμένει άγνωστη.