

9



# Ione- og osmoregulering

Martin Haugmo Iversen<sup>1</sup>, Trygve Sigholt<sup>2</sup>, Rolf Erik Olsen<sup>3</sup> og Bengt Finstad<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Nord universitet, <sup>2</sup>BioMar, <sup>3</sup>Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

## SAMMENDRAG

Dette kapittelet gir en oversikt over grunnleggende ione- og syre-base regulering i ulike fiskearter. Det beskriver og diskuterer organene som er involvert i disse prosessene og undersøker de ulike evolusjonære strategiene som fisk har utviklet for å tilpasse seg deres omgivelser. Ulike fiskearter lever i vann som varierer fra å være ekstremt ionefattige, til svært ionerike (hypersaline) tidevannsdammer. Evnen til å leve i så forskjellige miljøer er bemerkelsesverdig. Fisk støter på flere utfordringer, eksempelvis kan ferskvannsfisk ikke være isoosmotisk med det ytre mediet, og med unntak av de kjeveløse slimålene og brusfisk (Chondrostei), er svært få marine fisker isoosmotisk med sjøvann. Det betyr at disse fiskene må osmoregulere mot osmotiske gradienter hvor vann enten trenger inn i fiskene i ferskvann, eller tapes til omgivelsene i sjøvann. Dette er en energikrevende prosess, som tar opp en betydelig del, omtrent 25–50 %, av fiskenes totale energiproduksjon. Hos marine benfisk (Teleostei), er disse gradientene i størrelsesorden 600–800 mOsm/kg, og vann tapes over overflatene og må erstattes med at sjøvann drikkes og avsøltes. I ferskvannsfisk vil vann diffundere inn i fisken, mens ioner går tapt til miljøet i den fortynnede urinen fiskene utskiller. Det kan virke overraskende at de osmoreguleringens mekanismene håndteres såpass lett i euryhaline fisk som beveger seg fra det ene til det andre miljøet. Endringer i kroppsvæsker oppstår idet euryhaline fisk blir konfrontert med endringer i saltholdighet. Hos arter som ålefamilien (Anguillidae) og laksefamilien (Salmonidae) øker plasmaosmolaliteten med 20 % eller så (hovedsakelig på grunn av økning i plasma  $\text{Na}^+$ ) når de tilpasser seg fra ferskvann til sjøvann. Den lille karpefisk killifisk, (*Fundulus sp.*), som er en populær akvariefisk, kan eksempelvis overvinne noe av de største osmotiske utfordringene i naturen både i ferskvann, og i de hypersaline bassengene i det sørlige California, hvor saliniteten kan nå opptil 128‰.

## 9.1. INNLEDNING

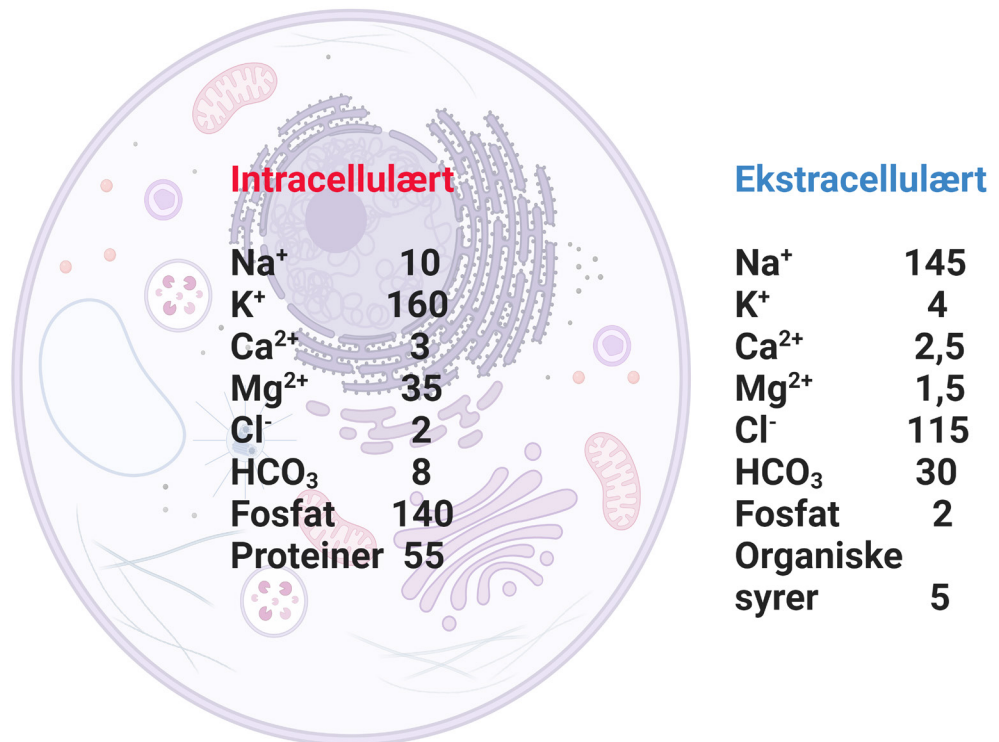
Da livet oppstod og de første cellene ble dannet i havet, var de avhengige av et omgivende vannmiljø. Denne avhengigheten til å eksistere i væskefylte omgivelser har så fulgt cellene gjennom hele evolusjonen frem til i dag. Væsken som er i cellene kalles for den **intracellulære væsken**. Den væsken som er utenfor cellene kalles ofte med ett fellesbegrep for den **ekstracellulære væsken**. Denne deles ofte opp i den **interstitielle væsken** som cellene omgis av, og **blodplasma** som ikke er i direkte kontakt med cellene, men som går via blodårer og transporterer løste og uløste stoffer til og fra den interstitielle væsken. I mennesker utgjør den intracellulære væsken om lag 67% av kroppens totale væskevolum. Den interstitielle væsken utgjør 26%, og det resterende består hovedsakelig av blodplasma (7%).

Cellene er svært avhengige av stabile systemer, og mengden løste stoffer og vann må derfor være stabile. Det betyr at relativt moderate variasjoner i væskebalansen kan forårsake esing eller skrumping som ødelegger cellemembranene og cellestrukturene slik at cellene dør. Likevel kan cellene ikke selv justere vannbalansen, og er helt avhengige av at reguleringene mot det ytre miljøet skjer i den interstitielle væsken og blodplasma. Men cellene har godt utviklede evner til å justere sammensetningen av ioner, næringsstoffer og metabolitter. Dette ser man spesielt i styringen av ionebalansen i cellene. Mens de ekstracellulære ionene (interstitiell væske og blodplasma) i stor grad domineres av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  som gjerne har en konsentrasjon på henholdsvis 145 og 111 mM, er det intracellulære nivået erstattet med hovedsakelig  $\text{K}^+$  (160 mM) og fosfat (140 mM), mens  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  kun finnes i svært små mengder ioner (**figur 9.1**). Årsaken til dette blir diskutert kort i kapittel 9.2.

**Kunnskapsboks 1.**

Det totale vanninnholdet i fisk vil variere mye mellom arter og hvor i livssyklusen de er. Det er spesielt mengden av fett og ben, som inneholder svært lite vann, som vil påvirke vanninnholdet. I mennesker er vanninnholdet i nyfødte 75%, 50-60% i voksne og så lav som 45% i eldre. Tenner inneholder 8-10% vann, fettvev (23%), ben 20-25%, muskler 70-75%, lunger 75-80% og hjerne 80-85%. I fisk vil det i tillegg til livsstadier (store fettdepoter i fisk mot gyting eller små fettlagre i yngel) også være store artsforskjeller. Eksempelvis kan man i øglefisken «Bombay duck» *Harpodon nehereus*, som er en viktig matfisk for mange innbyggere i bl.a. Bangladesh, finne et vanninnhold på 87%, mens i en ikke-anadrom form for rød laks (*Oncorhynchus nerka*) kan finne et vanninnhold på under 55%. Når man sammenligner mange ulike arter, kan man regne seg frem til et gjennomsnitt som kan brukes som en tommelfingerregel. Da finner man at det gjennomsnittlige vanninnholdet i fisk ligger på omlag 70-75%.

**Figur 9.1.** Karakteristiske ionekonsentrasjonen (mM) i en standard skjelettmuskulatur cellevæske (intracellulært) og omgivende ekstracellulært væske. Med ekstracellulær væske menes interstiell væske og blod. Intracellulær væske er det volumet som er inne i cellene. Laget med BioRender.com



## 9.2 BEGREPER I OSMO- OG IONEBALANSEN

I dette avsnittet beskrives de viktigste begrepene som vi kommer til å benytte i resten av kapittelet. Det er osmose, transport og ionebalanse.

### 9.2.1. Osmose

I de fleste sammenhenger er osmose definert som diffusjon av vannmolekyler gjennom en semipermeabel membran (det kan i noen tilfeller også omfatte andre molekyler enn vann). Det betyr at det bare er vann som trenger gjennom membranen, men ikke andre molekyler som Na<sup>+</sup> eller glukose. Ved osmose vil vannmolekylene vandre mot sin konsentrasjonsgradient for å utligne konsentrasjonsforskjellen. Hvis en celle for eksempel legges i ferskvann, vil alle stoffene som finnes i cellene (ioner, næringsstoffer og metabolitter) føre til at mengden vann er lavere enn hva som er tilfelle i ferskvann. Dermed vil vann diffundere inn i cellene for å utligne konsentrasjonsforskjellen, og cellen vil ese. Hvis en slik celle legges i

sjøvann som har en svært høy saltkonsentrasjon, så vil vannet diffundere ned en konsentrasjonsgradient og ut til sjøvann og cellen vil skrumpe. Tidligere trodde man at vann kunne gå direkte over en cellemembran, men nå vet vi at det ikke skjer. Vann er avhengig av noen proteiner som lager åpninger som bare vann kan transporteres gjennom. Disse proteinene kalles akvaporiner. Mange celler kan regulere mengden akvaporiner og dermed vannets vandring over membranene. Det er viktig også å huske på at det bare er løste stoffer som bidrar med osmotisk trykk. Stoffer som ikke er løst i vann som røde og hvite blodlegemer bidrar ikke til osmotisk trykk. **Tabell 9.1** viser oversikt over forholdet mellom osmolalitet og hvordan organismen påvirkes.

Osmolalitet (mOsm/kg)	Miljø	Innvirkning på organismen
0-15	Ferskvann, 0 mOsm/kg = rent vann.	Ferskvanns- og marine organismer som migrerer til vann med lav saltholdighet (hypo-osmotisk) må håndtere mulig overhydrering og celledvelling.
300	Intracellulær væske skapt v.h.a. ioner og osmolytter som finnes i de fleste levende cellene: som uorganiske ioner ( $K^+$ , $HCO_3^-$ og $PO_4^{3-}$ ), metabolitter, proteiner og aminosyrer.	Mange dyregrupper har intern osmolalitet nær dette (f.eks. menneske ca. 290 mOsm/kg).  Nivåer kan ikke reduseres stort pga. kritiske celleintegritet.
1000	Sjøvann = 34 ‰ (åpent hav). 86% av osmolaliteten skyldes $Na^+$ og $Cl^-$ .	Marine organismer er hyper-osmotisk og må ha mekanismer for å forhindre dehydrering og celle-krymping.

**Tabell 9.1.** Forholdet mellom osmolalitet, miljø og innvirkning på organismen.

### 9.2.2. Transport over membraner

De eneste molekylene som kan gå gjennom cellemembraner er upolare molekyler som oksygen ( $O_2$ ), nitrogen ( $N_2$ ), karbondioksid ( $CO_2$ ) og ammonium ( $NH_3$ ). De fleste andre molekyler er enten for store til å gå gjennom membranen, eller så har de kjemisk ladning som gjør at de ikke er løselige i den upolare sentrale delen av en dobbeltmembran. Dersom de skal transporteres, så må det skje ved hjelp av membranbundne transportproteiner. Svært mange av transportørene fungerer ved at de hjelper stoffene til å gå ned en konsentrasjonsgradient. Denne formen for transport krever ikke bruk av energi og kalles ofte fasilitert eller passiv transport. I disse tilfellene vil for eksempel glukose transporteres fra interstiell væske inn i cellen siden glukose hele tiden forbrukes og det vil være lavere konsentrasjoner inne i en celle enn utenfor. Dersom det er svært viktige molekyler eller næringsstoffer som skal transporteres, så skjer dette ofte mot en konsentrasjonsgradient. Da må det benyttes energi for å drive transporten, ofte ved forbruk av den energirike forbindelsen adenosin-trifosfat (ATP). Eksempler på slik transport finner man for esensielle næringsstoffer som mange aminosyrer og fettsyrer, eller som vi skal se senere i forbindelse med ione- og syre-baseregulering. Se også kapittel 11.6 for videre diskusjon om transportere.

### 9.2.3. Elektrisk nøytralitet

I tillegg til stofflikevekt, så baserer mange systemer seg på det som kalles elektrokjemisk nøytralitet. Dette innebærer at ladede partikler alltid vil forsøke å innstille seg på at netto ladningen av kationer (positive ioner) og anioner (negative ioner) skal være null. Det betyr for eksempel at dersom konsentrasjonen av kationet  $\text{Na}^+$  er større på en side av en membran og anionet  $\text{Cl}^-$  er høyere på den andre, så vil dette utlignes ved at ionene krysser membranene til ladningen utlignes, dersom transportproteinene er til stede. Slike endringer i ladninger benyttes mye i biologien til å transportere viktige stoffer og bygge opp ladningspotensialer. Eksempelvis vil aktiv transport av  $\text{Cl}^-$  ut av en celle til vann i gjellene også føre til at  $\text{Na}^+$  vil følge etter for å utligne ladningsforskjellen. Høy oppkonsentrering av ioner på innsiden av «tight junction» i tarmen, kan brukes til å øke opptaket av vann paracellulært fra tarmen gjennom osmose. Noen ganger (se kapittel 11.6) så vil det bygges opp store mengder  $\text{K}^+$  inni en celle og  $\text{Na}^+$  utenfor som brukes i aksjonspotensialer i for eksempel hjertet (se kapittel 8), eller brukes til transport av andre ioner som vi skal se eksempler på senere.

#### Kunnskapsboks 2 Osmolalitet og osmolaritet

Mens plantefysiologer ofte måler turgorosmotisk trykk, kan fiskefysiologer sjelden måle trykk over membraner. Derfor karakteriseres osmotiske (u)balanser vanligvis i termer av to relaterte egenskaper – osmolalitet eller osmolaritet. **Osmolalitet** er et mål for mengden av et løst stoff pr. vektenhet av vann (mol stoff/kg vann). Mengden er direkte proporsjonal med osmotisk trykk, og har dermed kolligative egenskaper, dvs. egenskaper av ideelle løsninger som bare er avhengige av antall molekyler løst stoff, og ikke andre egenskaper til de oppløste molekylene. Osmolalitet endres ikke med temperatur eller hydrostatisk trykk og kan lett måles med for eksempel osmometre. Dette skjer vanligvis gjennom frysepunktsdepresjon, reduksjon av damptrykk eller måling av osmotisk trykk over en semipermeabel membran. De vanligste osmometrene i dag er de som måler frysepunktsdepresjon. Her vil økt konsentrasjon av løste stoffer vil forårsake en lineær reduksjon frysepunktet. De fleste benevnelser i biologi er i området milliosmol/kg, mOsm/kg. **Osmolaritet** er proporsjonal med antall mol av et stoff som er oppløst per liter løsning (Osm, eller mOsm for milliosmolar). Biologer lager kjemiske løsninger ved hjelp av molaritet, fordi det er den relevante faktoren for kjemiske reaksjoner. Dermed bruker mange mOsm fremfor mOsm/kg p.g.a. kjente enheter, og fordi man raskt kan estimere osmolaritet ut fra molaritet. For eksempel, en fysiolog som måler haiplasma med 400 mM urea kan estimere osmolaritetsbidraget til 400 mOsm. Men, osmolaritet er problematisk fordi: **(a)** i motsetning til osmolalitet, er det ikke en kolligativ egenskap og kan ikke måles; **(b)** den endres med temperatur og trykk; **(c)** mengden av oppløst stoff endrer volumet av vann (de fleste oppløste stoffer har i en 1 M (molar) løsning en høyere stoffkonsentrasjon enn en 1 molal løsning); **(d)** ikke alle oppløste stoffer oppfører seg ideelt, så estimerer av mOsm fra M (molar) -verdier kan være betydelig avvikende. Ta for eksempel NaCl. I teorien, er den osmotiske koeffisienten 2,0, men i virkeligheten er den ikke fullstendig dissosiert i løsning, så koeffisienten er faktisk 1,86 ved 25 °C. Dermed tilsvarer 150 mM NaCl = 279 mOsm, og ikke 300 mOsm.

Derfor er osmometri som empirisk oppgir løsningene i osmolalitet (mOsm/kg) alltid å foretrekke over osmolaritet (mOsm/L). Massen av vann (kg) vil ikke endres med temperatur i motsetning til volumet (L). Disse to begrepene er ofte forvirrede, og faktisk kalles osmolalitet ofte feilaktig osmolaritet i mange lærebøker og publikasjoner.

## 9.3 ULIKE EVOLUSJONÆRE STRATEGIER

### 9.3.1 Tilpasning til ett liv i ferskvann, og tilbake til sjøvann igjen.

Da livet i sin tid oppsto i havet, så utviklet de første organismene et indre miljø hvor de var mer eller mindre isoosmotisk mot omgivelsene som hadde en høy saltkonsentrasjon, omkring 1050 mOsm/kg. Disse kalles osmokonforme organismer siden de er i noenlunde likevekt med det omgivende sjøvannet. For omkring 450 millioner år siden ble de første primitive kjeveløse virveldyrene (Agnatha) utviklet fra ett lite filterspisende ryggstengsdyr som også er opprinnelsen til dagens ryggstrengsdyr (kordater) (Cephalochordata, som Amphioxus). I noenlunde samme tidsrom begynte også innvandringen i ferskvann, sannsynligvis via tilpasning i estuarine brakkvannsområder. Det er ikke klart om virveldyrene som gruppe ble utviklet i ferskvann på grunn av de utfordringene som var der (overgang til aktiv svømming i elver, robust skjelett kontra bunnlevende «sedimentspiser» (detrivorer)), eller om utviklingen først skjedde i havet. De fleste holder på siste mulighet siden det eksisterer flere marine ryggstengsdyr.

Når de gikk over til ferskvann/brakkvann, så møtte de et utfordrende miljø, med langt lavere salinitet, hypoosmotisk, enn det som var tilfelle i havet. I et hypoosmotisk miljø vil vann trenge inn i kroppen ved osmose, og organismene vil ese opp og til slutt dø om de ikke klarer å regulere kroppsvæskene. Fiskene klarte dette gjennom flere mekanismer. Først, ble nyrene langt mer effektive til å fjerne vannet som ble tatt opp ved osmose. Dette førte imidlertid også til at fiskene mistet ioner til vannet gjennom urinen. Derfor utviklet de også ett effektivt apparat for opptak av ioner fra vannet, og ikke minst fra filtratet i nyrene slik at tapet ble minimalisert når urinen ble skilt ut. Men det aller viktigste var nok at fiskene klarte å redusere den mengden ioner som var nødvendige for at cellene skulle fungere. De fleste fiskene klarte å redusere den indre ionestyrken fra over 1000 mOsm/kg til rundt 200-400 mOsm/kg slik at det osmotiske trykket ble redusert med omkring 2/3. Det var spesielt mengden med NaCl som ble redusert. Denne innstillingen av indre osmotisk trykk ser ut til å ha fungert veldig bra, så når ferskvannsfisk begynte å utvikles mot kvastfinnefisk (Sarcopterygii, Coelacanth) for om lag 400 millioner år siden, og så videre mot landdyr, beholdt de terrestriske dyrene denne indre osmotiske balansen helt frem til oss mennesker hvor osmolaliteten er på om lag 280 mOsm/kg. De som regulerer den indre osmolaliteten innen et snevert område, kalles osmoregulatorer.

I ferskvann-brakkvannsområdene gikk utviklingen av fisk videre, og noen mener at benfisk og Actinopterygii også utviklet seg i ferskvann. Men dette er det relativt stor uenighet om i de faglige miljøene. I løpet av denne tiden, var det også grupper av fisk som vendte tilbake til det marine miljøet (arter som niøye, flere Sarcopterygii, og mange Actinopterygii). Felles for disse var imidlertid at de ikke klarte å tilbake stille den indre osmolaliteten slik at de igjen ble isoosmotisk til sjøvann, men forble avhengige av å omgi cellene i væsker med om lag 300 mOsm/kg. Dette førte til at de nå tapte vann ved osmose til de hyperosmotiske omgivelsene. De måtte derfor kompensere dette tapet med å drikke sjøvann. For å unngå saltforgiftning utviklet de mekanismer for avsalting av sjøvannet, primært gjennom å skille saltet ut over gjellene.

Det betyr at det i dag er to hovedlinjer med fisk i sjøen. De som aldri forlot sjøvann, slik som de fleste bruskfisk, som er isoosmotiske mot sjøvann, og de som har vandret tilbake til havet etter å ha blitt utviklet i ferskvann. Disse er hypoosmotiske mot sjøvann, har en indre osmolaritet på omkring 300-400 mOsm/kg og må ta opp vann for å erstatte det som tapes ved osmose. Noen arter har tatt hele veien tilbake til havet og kan forplante seg i det marine miljøet, mens andre arter som laksefisk er avhengige av å forplante seg i ferskvann.

**Tabell 9.2** viser osmolaliteten i ulike fisk og det miljøet de lever i. De som ble igjen i sjøvann hadde opprinnelig høy konsentrasjon av NaCl for å opprettholde isoosmotiske forhold, men etter hvert er det en tendens til ioneregulering slik at mengden NaCl reduseres og erstattes av andre osmolytter som opprettholder det osmotiske trykket. I mange bruskfisk er urea en viktig osmolytt som syntetiseres fra ammonium, et produkt fra nedbrytingen av proteiner. Hvorfor urea er en såpass mye brukt osmolytt er usikkert siden den er svært energikrevende å lage. Ifølge flere forskere bør den ideelle osmolytten som skal erstatte uorganiske ioner være et uladet, lite molekyl med høy løselighet i vann uten netto ladning eller sterke hydrofobe områder. Det vil da diffundere raskt i vevet. Urea synes å ha alle disse



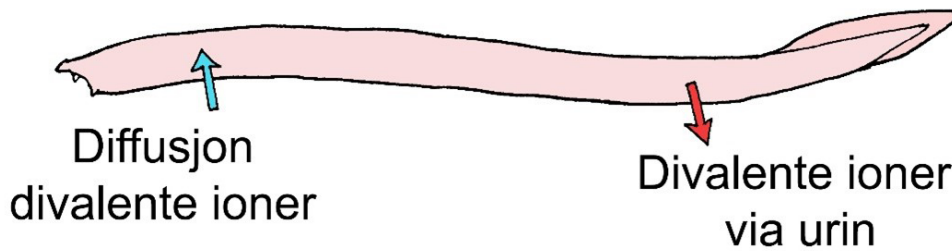
egenskapene og vil raskt danne en likevekt over de fleste membraner, noe som resulterer i lik konsentrasjon på inn- og utsiden av en celle. En slik rask likevekt krever tilrettelagte ureatransportører i cellemembranene. Dessverre er de konsentrasjonene av urea man finner i marin bruskfisk giftig. Den vil denaturere mange proteiner og hemme aktiviteten til mange enzymer og biologiske prosesser. En av grunnene til at bruskfisk likevel tolererer såpass høye mengder urea uten å ta skade av det, kan ligge i teorien om «motvirkende osmolytter». Dette dreier seg i stor grad om trimetylaminoksid (TMAO). Dette er et stoff som dannes fra trimetylamin (TMA) som i stor grad dannes av tarmens mikrobiota og oksideres til TMAO i leveren bl.a. ved hjelp av flavin monooxygenaser. Noe TMAO vil også tas opp via maten. TMAO har en stabiliserende effekt på proteiner generelt og vil i stor grad motvirke effekten av urea og stabilisere enzymer slik at de fungerer som normalt. Effektene ser ut til å være størst når forholdet urea til TMAO er på omkring 2:1. Eksempler på arter som benytter slik ioneregulering er de kjeveløse fiskene slimål og mange bruskfisk som pigghå og oksehai.

Blant benfiskene, er det flere utviklingslinjer som kan tåle store endringer i saliniteten. Disse kalles euryhaline fisk. Eksempler på dette er mange laksefisk som atlantisk laks, ørret, røye og mange stillehavslakser og ørreter. Disse vil tilpasse seg ferskvann og gyte i ferskvann mens de kan bruke store deler av øvrig livssyklus i sjøvann. De artene som kun tolererer små endringer i salinitet kalles stenohaline fisk. Dette gjelder mange vanlige arter som torsk, sei og mange bruskfisk (**tabell 9.2**).

**Tabell 9.2.** Osmolalitet (mOsm/kg) og ionesammensetning (mM) i plasma hos ulike fiskearter. Mørke rader indikerer ionesammensetningen i fullt sjøvann (35‰), og ulike typer ferskvann. Fiskeartene som er listet under viser plasma osmolalitet og ionesammensetning i henholdsvis sjøvann og ferskvann. Tabell etter Edwards og Marshall (2013); Noble et. al. (2018) og Yance (2021).

Art/medium	mOsm/kg	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Urea	TMAO
<b>Sjøvann</b>	<b>1050</b>	<b>439</b>	<b>513</b>	<b>9,3</b>	<b>9,6</b>	<b>50</b>	-	-
Slimål	1035	486	508	8,2	5,1	12	-	-
Pigghå	1118	255	241	6,0	5	3,0	441	72
Oksehai	940	304	315	6,0	i.t	i.t	293	47
Niøye	333	156	159	8,8	3,5	7,0	-	-
Regnbueørret	325	153	135	4,0	1,4	0,7	-	-
Atlantisk laks	325	140	135	3,4	3,3	1,6	-	-
<b>Bløtt ferskvann</b>	<b>&lt;1</b>	<b>0,17</b>	<b>0,03</b>	-	<b>0,22</b>	<b>0,15</b>	-	-
<b>Ellevann</b>	<b>&lt;3</b>	<b>0,39</b>	<b>0,23</b>	<b>0,04</b>	<b>0,52</b>	<b>0,21</b>	-	-
<b>Hardt ferskvann</b>	<b>&lt;30</b>	<b>6,13</b>	<b>13,44</b>	<b>0,11</b>	<b>5,01</b>	<b>0,66</b>	-	-
Niøye	272	120	104	3,9	2,5	2,0	-	-
Oksehai	595	221	220	4,2	3,0	1,3	151	19
Piggrokke	319	178	146	i.t	i.t	i.t	1,2	-
Regnbueørret	260	153	133	3,8	1,4	0,5	-	-
Laks	300	130	125	2,9	1,0	2,7	-	-
Karpe	274	130	125	2,9	2,1	1,2	-	-

### 9.3.2 Slimål (Mvxine)

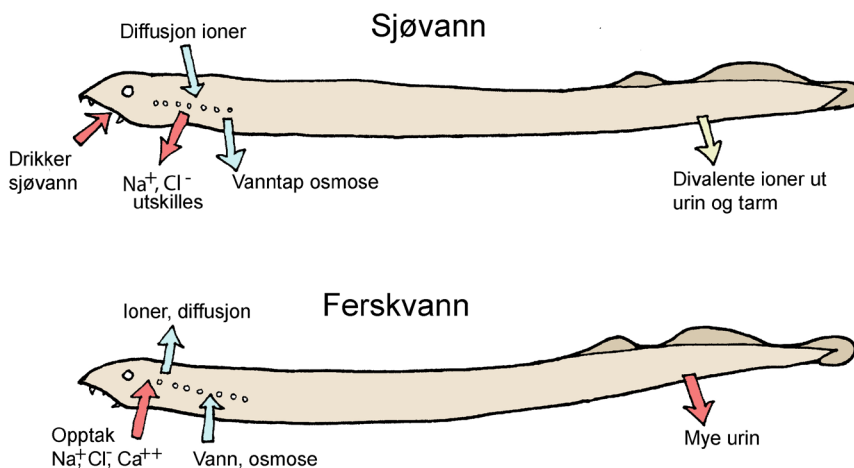


**Figur 9.2.** Osmokonform strategi hos slimål. Grå pil indikerer passiv diffusjon, men rød pil indikerer aktiv transport hvor energi blir brukt.

Den kjeveløse slimålen finnes oftest nedgravd i bløtbunn i tempererte farvann. Den er den eneste vertebraten som er osmokonform tilsvarende virvelløse dyr («evertebrater»). Fisken tolererer gradvise endringer i saltholdighet innenfor visse grenser, sveller og krymper som et perfekt osmometer siden overflaten er permeabel for vann. Blodet er nesten isoosmotisk med sjøvann. Det er derfor liten eller ingen utveksling av vann, selv om titreringsforsøk med vann av ulik saltholdighet har vist svært høyt potensiale for vannutveksling (2287 mL/kg/t).  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  konsentrasjonene i blodet (ekstracellulær væske) er relativt like det som er i sjøvann. Som diskutert over, så vil den intracellulære sammensetningen være annerledes selv om osmolaliteten i seg selv er isoosmotisk til sjøvann. I *Myxine glutinosa* er det intracellulære innholdet av  $\text{Na}^+$  132 mM mot 549 mM i blodplasma, mens tilsvarende verdier for  $\text{Cl}^-$  er 107 mot 563 mM,  $\text{K}^+$  161 mot 11 mM og fosfat 84 mot 5 mM. De har også høye intracellulære mengder TMAO, 211 mot 0 mM (merkelig nok lite urea) og 71 mot 0 mM for aminosyrer. Dette viser flere likheter til høyere fisk som har mer intracellulært  $\text{K}^+$ , fosfat og aminosyrer, mens de har langt høyere konsentrasjon av  $\text{Cl}^-$ . Aminosyrene er viktige regulatorer når slimålen utsettes for osmotisk stress (**figur 9.2, tabell 9.2**).

### 9.3.3 Niøye, Petromyzontiformes

På tross av at niøye også er en kjeveløs fisk, så er den en osmoregulator med en indre osmolaritet på omkring 300 mOsm/L (**figur 9.3 og tabell 9.2**). De er dermed en tidlig eksempel på hypotesen om at osmoreguleringe fisk på ett tidspunkt begynte å vandre tilbake til sjøvann. Noen arter forblir i ferskvann i hele sin livssyklus, mens andre arter klekker og lever som larver i ferskvann før de vandrer ut i sjøvann, og forblir der helt frem til når de igjen skal gyte. Voksne niøyer suger blod av andre fisker, og spiser død fisk. I ferskvann diffunderer vann inn i fisken med osmose må produsere store mengder fortynt urin for å fjerne det overskytende vannet. På tross av at niøye har utviklet effektive nyrer med funksjonelle glomeruli og distale kanaler for selektiv filtrering og opptak av ioner, vil denne urinen også inneholde ioner som  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$ . For å unngå underskudd på ioner, må fisken kompensere med et aktivt opptak av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  over gjellene.



**Figur 9.3.** Niøye er en osmoregulator som finnes i både fersk- og sjøvann. Grå pil indikerer passiv diffusjon, men rød pil indikerer aktiv transport hvor energi blir brukt.



I havet står niøye overfor det motsatte problemet med økt risiko for dehydrering, tap av vann gjennom osmose. En studie der niøyer ble fanget på huden av en brugde (*Cetorhinus maximus*), viste at de er i stand til å syntetisere urea fra ammonium og dannes ved deaminering av aminosyrer. Flere niøyer som den sørlige bredmunnete niøyen korokoro (*Geotria australis*) og elveniøye (*Lampetra fluviatilis*), er parasittiske som går inn i elver for å gyte. De synes å gå gjennom en type preadapting på lik linje med det man ser i laksearter i forkant av deres vandring tilbake til ferskvann. I sjøvann drikker niøye vann som tas opp i fortarmen hvor det er et aktivt opptak av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  som skilles ut via ionocytter (kloridceller) i gjellene. Vannet tas så opp langs en osmotisk gradient over tarmveggen. Toverdige ioner skilles for det meste ut rektalt, selv om noe også kan skilles ut via nyrene. Denne reguleringen over nyrene synes å være hormonelt regulert via renin-angiotensin-systemet som kontrollerer blodvolumet og osmolaritet (**figur 9.3, tabell 9.2**).

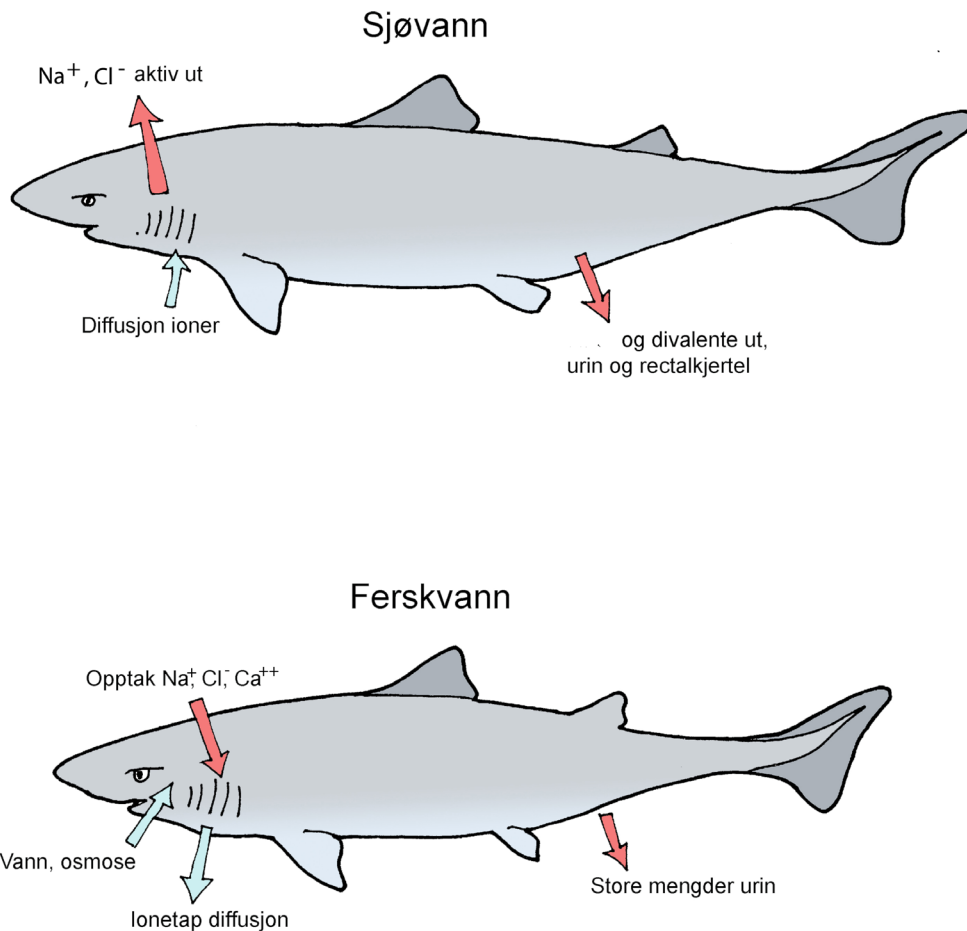
### 9.3.4 Bruskfisk

Marine bruskfisker (Chondrostei; hai, skate og rokker) er osmokonforme og opprettholder en osmolalitet i kroppsvæsken som litt høyere enn sjøvann (1050 mOsm/kg) (**figur 9.4, tabell 9.2**). Bruskfisk i ferskvann er imidlertid ioneregulatorer, og de opprettholder en NaCl-konsentrasjon som bare er om lag 1/3 av det som er i sjøvann. De viktigste andre osmolyttene er igjen urea og TMAO, men også polyoler, og frie aminosyrer (taurin og alanin).

På grunn av at bruskfisk er lett hyperosmotiske i forhold til sjøvann, blir ufrivillig opptak av NaCl (følger vannet med spising) motvirket ved aktiv transport av NaCl ut via rektale saltkjertler og, forbausende nok, gjellene (se 9.4.2 Gjellene). For å redusere tap av urea og TMAO til miljøet har marine bruskfisk, i motsetning til benfisk, gjeller med høyt innhold av kolesterol som er nesten ugjennomtrengelig for osmolytter, og høyeffektive nyrer som reabsorberer mesteparten av urea og TMAO fra filtratet (**figur 9.4**).

Selv om bruskfisk finnes i miljøer med variabel saltholdighet, er deres evne til å leve i lavere saltholdighet begrenset. Stenohaline marine arter er den største bruskfiskgruppen, inkluderer mange pelagiske arter. Noen få tropiske arter tåler også hypersaltholdige forhold. I det andre ytterpunktet har man stenohaline ferskvannsararter som inkluderer rundt 30 arter av søramerikanske rokker. En annen gruppe inkluderer arter som lever og formerer seg i ferskvann med noe kapasitet til å oppholde seg i høyere saltinnhold. Virkelige euryhaline arter, dvs. arter som kan leve i sjøvann og ferskvann, er relativt sjeldne og bare en håndfull arter er kjent: oksehai (*Carcharhinus leucas*), atlantisk rokke (*Dasyatis sabina*), og minst to typer sagfisk: småtannsgfisk (*Pristis microdon*) og stortannsgfisk (*Pristis perotteti*). Få arter av bruskfisk i ferskvann har blitt tilskrevet flere faktorer. Dette inkluderer kravet til proteiner for å opprettholde høye ureanivåer, noe som kan begrense ferskvannstilpasning p.g.a. mindre tilgang på proteinholdige byttedyr. Siden de sensoriske egenskapene til bruskfisk inkluderer elektroresepsjon, kan miljøendringer til miljø med mindre saltholdighet redusere jaktsuksess og dermed overlevelse. En annen begrensning kan være relatert til reproduktiv fysiologi. Alle bruskfisker formerer seg ved indre befruktning, enten ved egglegging eller ved å føde levende avkom. Endring i saltholdighet kan sette begrensninger på reproduksjon, kanskje på grunn av problemer med sperm- eller eggoverlevelse i ferskvann.

Euryhaline bruskfisker er ione- og osmoregulatorer i ferskvann, og beholder en relativt høy osmolaritet på grunn forhøyede nivåer av urea og TMAO (**tabell 9.2**). Den høye gradientsforskjellen mellom den indre osmolariteten, og det ytre miljøet er en ekstra energikostnad for fisken. I ferskvann må bruskfisk derfor enten redusere lekkasje til miljøet ved å lukke epitelvevet i gjeller og hud, og/eller aktivt ta opp NaCl mot en stor konsentrasjonsgradient. Det er fortsatt usikkert om euryhaline bruskfisk regulerer åpningene i de okkluderende celleforbindelsene («tight junctions») idet de går opp i ferskvann. Den store metabolske kostnaden med å opprettholde en indre osmolaritet synes å hindre en utstrakt evolusjonsmessig ekspansjon inn i ferskvann for bruskfisk. Noen få stenohaline ferskvannsararter som piggrokke (*Potamotrygon sp*) har blant annet lave nivåer av urea slik som ferskvannstilpasset benfisk. Disse skiller ut nitrogen som ammoniakk (ammonotele) (**tabell 9.2**).



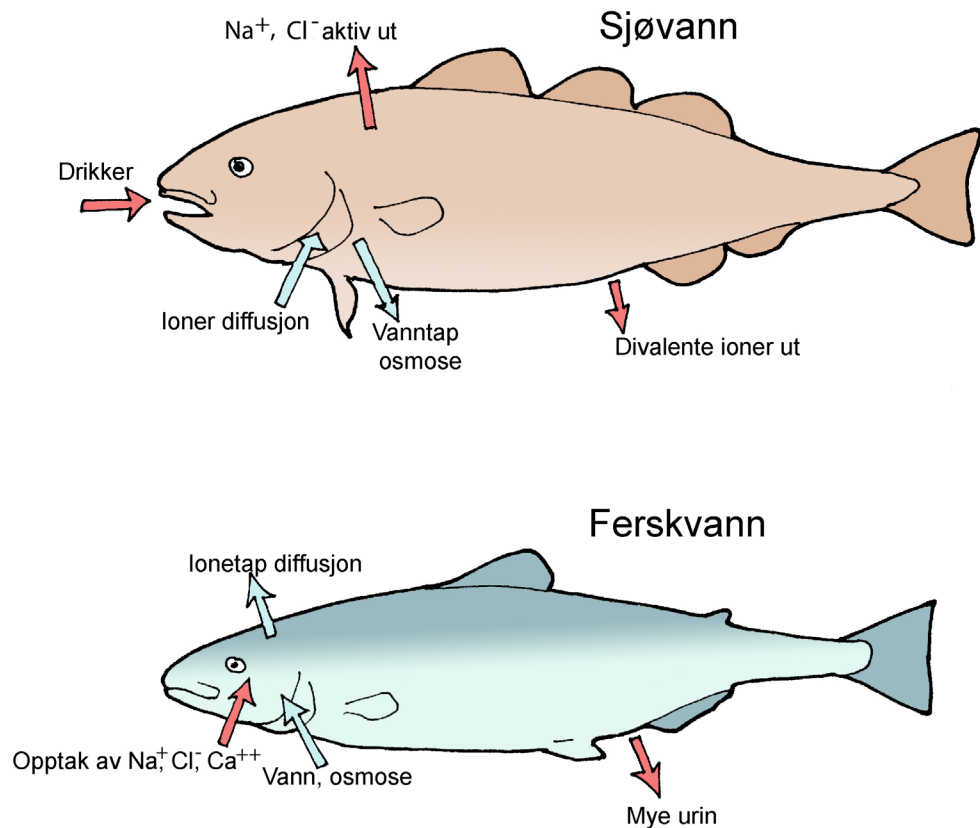
**Figur 9.4.** Bruskfisk finnes hovedsakelig i sjøvann, mens noen få arter også kan leve i ferskvann. Grå pil indikerer passiv diffusjon, men rød pil indikerer aktiv transport hvor energi blir brukt.

### 9.3.5 Benfisk

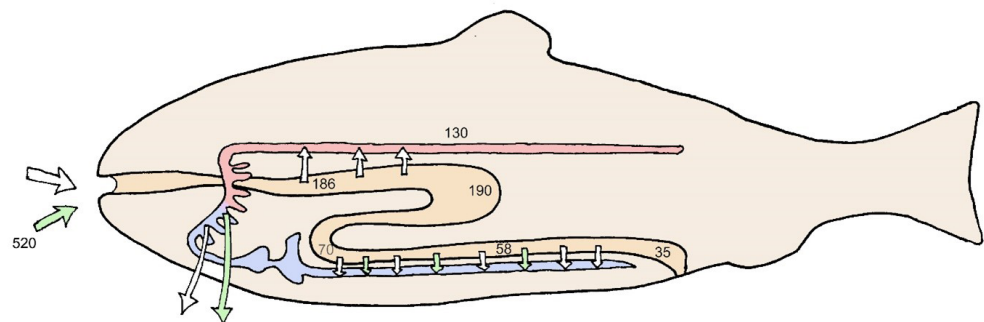
Benfisk har en enorm variasjon i morfologiske og fysiologiske tilpasninger til vann med ulik osmolaritet og ionesammensetning, og lever i miljøer som spenner fra ferskvann (~1.0 mOsm/kg), marint miljø (~1000 mOsm/kg) til hypersalint vann (2400 mOsm/kg). Noen arter er euryhaline, og kan tilpasse seg et bredt spekter av saltholdigheter. I alle miljøer opprettholder fisk osmotiske plasmakonsentrasjoner på mellom 250 og 450 mOsm/kg. Osmoregulering i benfisk er en integrert kombinasjon av transport gjennom nyre, tarm og gjeller, og er i stor grad under hormonell kontroll (**figur 9.5**).

Rene osmoregulatorer har flyttet kostnaden med å regulere ionekonsentrasjonen fra cellenivå til spesialisert vev som gjeller, nyrer og tarm. I yngel og noen arter kan også hud være en ionetransportør. I stedet for å ha en Na<sup>+</sup> gradient på 500 mOsm/kg i sjøvann og 10 mOsm/kg intracellulært, har benfisk en gradient på 150 mOsm/kg i kroppsvæsken og 10 mOsm/kg intracellulært. Dette er en betydelig reduksjon i forhold til miljøet. Men selv med slike mekanismer, koster det mye for marine benfisk å opprettholde et indre stabilt miljø. Det osmotiske vanntapet over gjellene og huden må erstattes med at fisken drikker sjøvann. Inntak av sjøvann avsøltes i spiserøret (øsofagus), noe som oppnås ved både passiv og aktiv NaCl-transport (**figur 9.6** og kapittel 11 Tarmens fysiologi). Siden spiserøret er ugjennomtrengelig for vann, vil vannet som kommer ned i magevæsken ha redusert saltholdighet og dermed lavere osmotisk trykk. Den høye tettheten av kapillærer i spiserøret sikrer at absorbert NaCl transporteres raskt bort fra vevet og til gjellene for utskillelse via spesialiserte celler ionocytter (også kalt kloridceller). Slik transport er viktig for en effektiv kontinuerlig absorpsjon av salt. NaCl-drevet vannabsorpsjon skjer også over tarmlumen, og vann blir aktivt reabsorbert i de renale tubuli, slik at urinproduksjonen reduseres til et minimum. Drikkehastigheter varierer blant marine benfisk, siden det relative gjellearealet varierer i forhold til aktivitetnivåer. Havabbor (*Perciformes erranoidei*), drikker for eksempel 12% av kroppsvæsken hver dag. Omtrent 75 % av dette vannet absorberes i tarmen. Siden urinproduksjonen er liten, kan vannbalansen opprettholdes.

**Figur 9.5.** Benfisk finnes i både fersk- og sjøvannsmiljøer. Grå pil indikerer passiv diffusjon, mens rød pil indikerer aktiv transport hvor energi blir brukt.



**Figur 9.6.** Skjematisk diagram som viser tarmosmoregulatorisk aktivitet av klorid i sølvål. Ålen er forkortet for å passe inn på siden. Hvide piler: vannbevegelse; grønne piler: saltbevegelse. Tallene er mM Cl<sup>-</sup>. Merk at Na<sup>+</sup> og Cl<sup>-</sup> absorberes i spiserøret som er ugjennomtrengelig for vann.



I ferskvann opplever benfisk en stor konsentrasjonsgradient mellom ionefattig vann og ionekonsentrasjonen i fisken. Det betyr at vann trenger inn over alle permeable overflater ved osmose. Ferskvannsfisk har dermed lav drikkehastighet og akkumuleringen av vann i kroppen møtes ved aktiv utskillelse av store mengder forflynnnet urin (**figur 9.5, tabell 9.2**). Urinen er mye mer forflynnnet enn plasma, fordi lite vann absorberes fra glomerulærfiltratet når det passerer langs nyretubuliene. Salter vil imidlertid absorberes aktivt. For eksempel har målinger i nordamerikanske ferskvannsfisk vist at over 99,9 % av Na<sup>+</sup> og Cl<sup>-</sup> som passerer inn i glomerulærfiltratet resorberes. Dette fører til at filtratets osmolalitet faller fra 220–230 mOsm/kg i primærfiltratet til så lite som 20–80 mOsm/kg i urinen. Men ioneopptaket er likevel ikke tilstrekkelig til å hindre tap av ioner over tid. Saltbalansen må derfor opprettholdes ved aktivt opptak av salter over gjellene via de spesialiserte ionocytene. Dette opptaket er svært effektivt, og salter kan akkumuleres fra svært forflynnede løsninger, ofte med konsentrasjoner mindre enn 1 mM.

## 9.4 OSMO- OG IONEREGULATORISKE VEV

### 9.4.1 Hud

Ionetransport over kroppsoverflaten hos voksne fisk er dominert av aktiviteten i gjellene, mens uskadd hud fungerer som en god permeabilitetsbarriere. Det finnes unntak fra denne regelen hos fisk som har hudregioner med ionocytter i området rundt gjellelokkene, og noen få marine- og akvatiske arter (eks. amfibier) som har tilsvarende celler over hele kroppsoverflaten.

I tidligere livsstadier, mens gjellene er under utvikling, skjer imidlertid mye av ionetransporten og vannbalansen over hud. Det begynner tidlig i eggutviklingen, hvor ionocytter oppstår i hud- og plommesekkveggene. Disse hudrelaterte ionocytterne øker i antall med fiskens utvikling og når en topp idet de første ionocytterne blir etablert i gjellene. Når gjellene og ionocytterne fortsetter å utvikle seg og larven når yngelstadiet, reduseres antallet ionocytter i hud raskt og fisken skifter fra hudregulert til gjelleregulert ioneopptak. Denne overgangen fra hud- til gjelleregulering sammenfaller med at overflate til volum begrensningene blir viktige (mindre overflate til volum og mindre effektiv regulering). I tillegg er det en utvikling mot at **a**) dyret vokser og huden blir tykkere. Dette kompliserer transport av ioner over epitelet samtidig som **b**) den hurtige veksten etter klekking øker behovet for å ta opp ioner fra ferskvann betraktelig. Ved å flytte ionetransporten fra hud til gjeller løser man disse problemene. Faktisk er behovet for ioneregulering over gjellene viktigere enn gassutvekslingen i disse tidlige stadiene av fiskens liv. Dette har ført til utvikling av en hypotese som sier at tidlig gjelleutvikling primært er drevet av behovet for ioneregulering, og ikke behov for gassutveksling.

### 9.4.2 Gjeller

Fiskens gjeller var det første gassutvekslingsorganet som ble utviklet i virveldyr. Det er i hovedsak sammensatt av et svært komplekst blodåresystem omgitt av et epitel med stor overflate, og en tynn barriere for effektiv transport mellom fiskens blod og det ytre vannmiljøet (se kapittel 2 og 8 for fysiologisk utforming av gjellene). Store deler av blodvolumet fra hjertet strømmer gjennom det brankiale blodåresystemet før det kommer inn i dorsalaorta, og videre ut i den systemiske sirkulasjonen. Egenskapene som gjør gjellene til en svært god gassutveksler, er ikke uten kompromisser. Den store overflaten på gjellene og svært tynne membraner øker utvekslingen av gasser mellom blodet og vann. Men dette har imidlertid en ugunstig innvirkning på vann- og ionebalansen, da det blir vanskeligere å kontrollere bevegelsen av vann og ioner over membranene. På den andre siden vil tykkere membraner og mindre overflate gi bedre kontroll over vann- og ionefluksen, men vil også redusere opptaket av oksygen. Den fysiologiske tilpasningen til disse utfordringene kalles det osmoregulatoriske kompromisset hos benfisk.

Det er i løpet av de siste 50 årene også blitt klart at gjelleepitelet ikke bare er viktig for kontroll av osmo- og ionegradienter, men er også viktig for pH-regulering av kroppsvæsker og utskillelse av nitrogenholdig avfall. Man har også funnet indikasjoner på at gjellene har en rolle i immunforsvaret. Gjelleepitelet er et flerbruksorgan som spiller en sentral rolle i en rekke fysiologiske responser for miljømessige og indre reguleringer. Til tross for at fisk har nyrer, utfører gjellene de fleste funksjonene som styres av lunge- og nyreprosesser hos pattedyr. I oppdrett vil derfor gjelleskader ha alvorlig innvirkning på fiskehelsen.

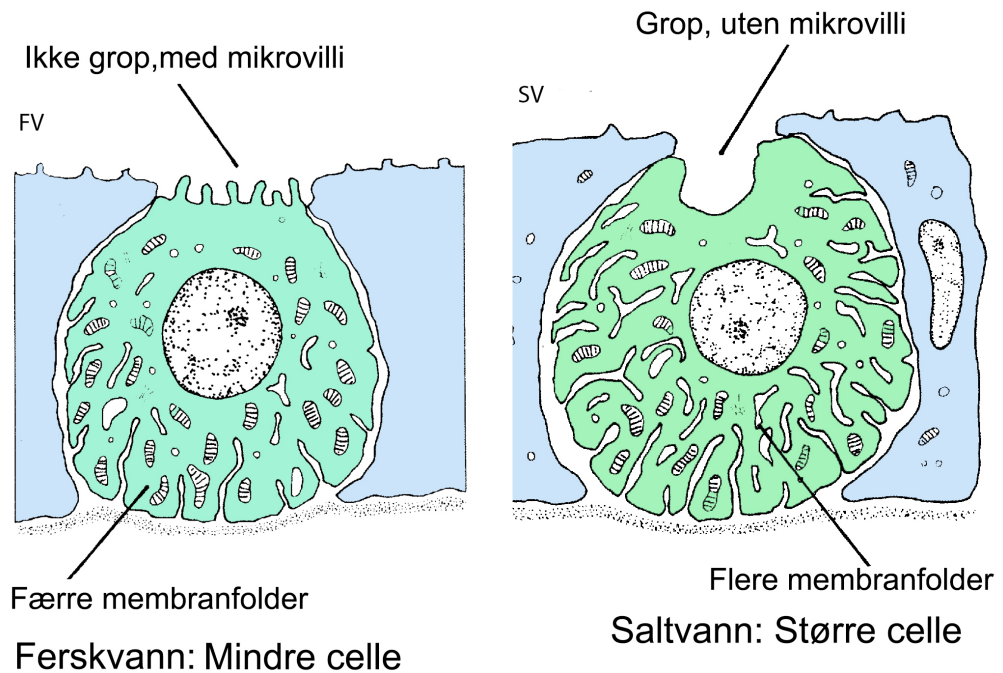
#### *Ferskvann*

Anatomisk sett er gjellene bygd opp med gjellebuer, hvor det sitter rekker med primære gjellefilamenter. Og hvert filament inneholder store mengder sekundære platelignende lameller som representerer grensen mellom det ytre og det indre miljøet (se kapittel 8 for detaljer). I ørret er fordelingen mellom plateceller, klorid- og mukusceller i størrelsesorden 80%, 10% og 2% med resterende delt mellom ulike celletyper som f.eks. pillarceller. Mens epitelet på de sekundære lamellene har høy tetthet av plateceller som står for gassutvekslingen, finner man hovedsakelig de cellene som er spesialisert for ionetransport, ionocytterne (også kalt mitokondrierike celler eller kloridceller siden de har stor kapasitet til å produsere ATP) på de primære gjellefilamentene ofte rundt basen av de sekundære lamellene. Dette gjelder spesielt for fisk som lever i hardt og ionerikt vann, mens en hos fisk som lever i ionefattig vann også kan finne ionocytter på sekundærlamellene (men ofte i lavere tetthet). I tillegg til ionocytter finner man spesielt i sjøvann en celletype kalt

støtteceller (AC) som danner multicellulære komplekser med ionocytter. Disse samarbeider om ekskresjonen av ioner ut til saltvann.

Utformingen av ionocytterne kan variere mellom arter, og ikke minst i fisk som lever i ferskvann og sjøvann. I sjøvann er cellene ofte assosiert med støtteceller, og har krypter apikalt, mens de i ferskvann har små eller ingen krypter, og er ofte forsynt med mikrovilli apikalt (**figur 9.7**).

**Figur 9.7.** Skjematisk figur over ionocytter i ferskvann (FV), med lite eller ingen krypt, men ofte med mikrovilli, og større ionocytter i sjøvann (SV) som ofte har krypter og medfølgende støtteceller her vist på høyre side av sjøvannformen.



Mens ionereguleringen i sjøvann er relativt godt kjent, er ionereguleringen i ferskvann komplisert, og varierer mye mellom ulike arter. En kan også finne flere typer ionocytter i samme art, og til og med ulike transportere for samme ioner i en og samme celle. Mange av disse forskjellene kan være spesielt viktige i regulering av syre-base-balansen. Reguleringen er i stor grad basert på at det bygges opp elektrokjemiske og kjemiske gradienter som kan benyttes videre for passiv transport.

I utgangspunktet er det to systemer som samhandler i ione- og syrebasebalansen. I respirasjonen dannes  $\text{CO}_2$  som et biprodukt. Reaksjonen mellom  $\text{CO}_2$  og vann i de røde blodcellene som katalyseres av karbonsyreanhydrase (CA) er svært viktig for å lage karbonatbuffer som stabiliserer pH i kroppsvæskene. Men overskuddet av  $\text{CO}_2$  må fjernes, og det skjer over gjellene. Noe  $\text{CO}_2$  kan diffundere som gass over gjellene siden det er løselig i celledmembranene, men en stor del må fjernes aktivt. Når  $\text{CO}_2$  kommer inn i ionocytterne, vil CA svært raskt danne karbonsyre som dissosierer til  $\text{H}^+$  (egentlig  $\text{H}_3\text{O}^+$ ) og  $\text{HCO}_3^-$  (**figur 9.8**).  $\text{H}^+$  brukes til å byttes ut med  $\text{Na}^+$  som tas opp fra vannet, og på den måten oppstår det ikke alt for store ladningsforskjeller i cellene. På samme måte kan  $\text{HCO}_3^-$  byttes ut med  $\text{Cl}^-$  fra vannet. Etterhvert som reaksjonene går, så vil konsentrasjonen av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  øke i cellene. For å kunne fortsette å importere disse ionene, må de transporteres ut til blod og fordeles i vevet. Dette skjer ofte ved hjelp av basalt/basolateralt plasserte  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPaser, som pumper  $\text{Na}^+$  ut av cellene, ofte 3 molekyler i bytte med 2  $\text{K}^+$  slik at det skapes ett lite ladningsunderskudd som øker importen apikalt. For  $\text{Cl}^-$ , kan det se ut som om det er kloridkanaler som slipper ut klorid fra cellene og ut i interstiell væske og deretter ut i blodet.

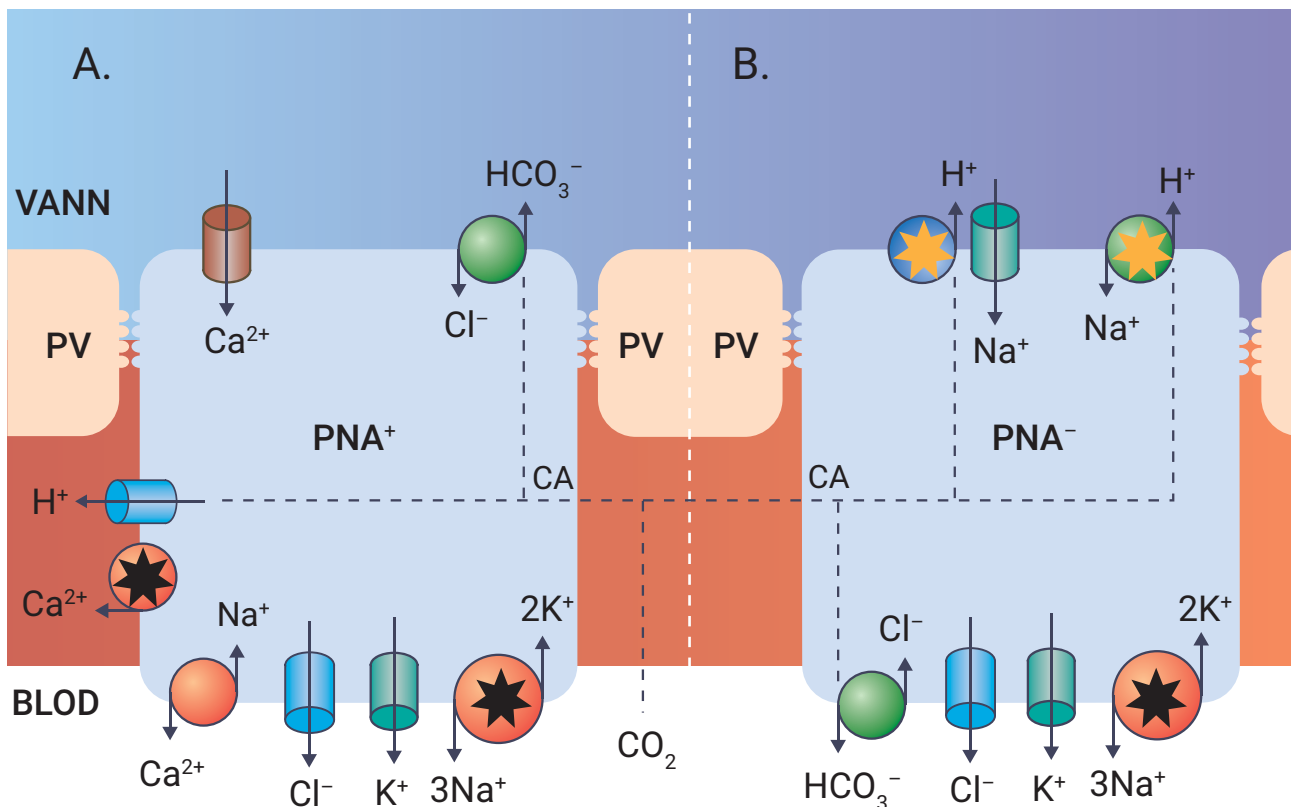
Som nevnt over, så er de spesifikke detaljene for hvordan slik transport fungerer i ferskvann relativt lite studert, med unntak av noen få arter som sebrafisk og regnbueørret. Det er sannsynlig at det i mange arter er flere subtyper av ionocytter som kan mobiliseres etter behov samtidig som uttrykket av hver transporter kan endres individuelt. Det er også kjent at platecellene, som er involvert i oksygentransport (regnbueørret og tilapia) også kan være involvert i pH regulering. Disse cellene har  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ionevekslere og kan være involvert i  $\text{Cl}^-$



$\text{HCO}_3^-$  og  $\text{Ca}^{2+}$ -homeostasen. Hvor viktig dette er, er enda ikke avklart. Vi vil her bruke en forenklet modell for regnbueørret som eksempel, men samtidig eksemplifisere alternative typer transport i andre arter. I regnbueørret er det minst to ulike ionocytter i ferskvann kalt  $\text{PNA}^+$  og  $\text{PNA}^-$  etter deres sensitivitet for fargestoffet «peanut agglutinin, PNA» (figur 9.8). Disse to typene ser ut til å være funksjonelt ulike hvor  $\text{PNA}^+$  celler ut skiller base ( $\text{HCO}_3^-$ ) apikalt med en anionevexler (AE) som tar opp  $\text{Cl}^-$ , mens  $\text{PNA}^-$  celler skiller ut syre ( $\text{H}^+$ ) i bytte mot  $\text{Na}^+$ . De aller fleste studier viser at det er en nær sammenheng mellom apikalt opptak av  $\text{Na}^+$  og sekresjon av kationer, primært  $\text{H}^+$  (syre-baseregulering) men også  $\text{NH}_4^+$ . I mange fisk som Mosambik tilapia (*Oreochromis mossambicus*), medaka (*Oryzias latipes*), regnbueørret og sebrafisk foregår transporten ved hjelp av  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  transportere (NHE) hvor drivkraften er basal pumping av  $\text{Na}^+$  ut av ionocytten kombinert med høy  $\text{H}^+$  produksjon fra  $\text{CO}_2$  i ionocytten som aktiverer eksport av  $\text{H}^+$ . Disse transporterne kan bruke energi og derfor ATP, eller kun passiv diffusjon ned en gradient. Under forhold hvor vannet er ione-fattig, og surt, vil denne mekanismen fungere dårlig siden det er for mye  $\text{H}^+$  i vannet. Derfor har mange fisk også en annen transporter som aktivt skiller ut syre, en  $\text{H}^+$ ATPase. Denne er koblet til  $\text{Na}^+$  opptak, men muligens bare gjennom en separat ionekanal slik at eksport kan skje uten samtidig import av natrium. Dette har man påvist iblant annet sebrafisk, regnbueørret og japansk havabbor (*Lateolabrax japonicus*). Det er sannsynlig at typen ionocytter og deres transportere er veldig regulerbare til endringer av indre eller ytre miljøforhold. I regnbueørret øker mengden  $\text{PNA}^-$  celler når pH i vannet synker eller fisken opplever acidose og eksporten av  $\text{H}^+$  må oppjusteres, mens det motsatte vil skje i  $\text{PNA}^+$  celler under basiske forhold som hypokapnia hvor eksporten av  $\text{HCO}_3^-$  må oppjusteres. I Mossambik tilapia og sebrafisk uttrykkes også en  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  ko-transporter (NCC) som importerer både  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$ . Denne transporteren kan blant annet drives av en aktiv basolateralt plassert NKA pumpe som transporterer  $\text{Na}^+$  fra cellen og inn i blodet til fisken. Denne pumpen vil imidlertid ikke bidra til å justere syre-basebalansen.

Opptaket av klorid ( $\text{Cl}^-$ ) er ikke spesielt godt beskrevet i ferskvannsfisk, og i noen fisk som amerikansk (*Anguilla rostrata*) og europeisk ål (*A. anguilla*) ser det ikke ut til å være opptak av  $\text{Cl}^-$  i det hele tatt. Samtidig er  $\text{Cl}^-$  viktig for fisk, så det er sannsynlig at vi i årene fremover vil se nye og flere mekanismer som beskriver dette opptaket gjennom alternative veier. Blant de artene som har et påvist opptak av klorid, så foregår det enten gjennom en  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  anionevexler (AE) (regnbueørret og sebrafisk) som kan drives av en høy gradient av  $\text{HCO}_3^-$  eller en NCC som også drives av en basalt/basolateralt plassert NKA. Mye av bevisene for dette er indirekte siden hemming av CA, som vil hemme produksjonen av bikarbonat, også vil hemme opptaket av klorid. Man antar at det er dette som skjer i regnbueørretenes  $\text{PNA}^+$  celler. Fordeling av  $\text{Ca}^{2+}$  opptak via gjeller eller fôr avhenger av innholdet i vannet. Opptaket reguleres generelt av ionekanaler apikalt med en basolateral  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase transporter og/eller en  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$  ionebytter. Kalsiumkanalene ser ikke ut til å være lokalisert til subtyper av ionocytter i regnbueørret, men de er påvist i andre celletyper som plateceller. I andre arter som sebrafisk virker opptaket mer konsentrert i enkelte grupper av ionocytter. Det er også sannsynlig at ulike arter har utviklet egne mekanismer for kontroll av ionesammen-setningen og syre-base balansen. Og mye tyder på at flere arter har egne subgrupper av ionocytter som i en viss grad kan bidra til kontroll av ionetransport.

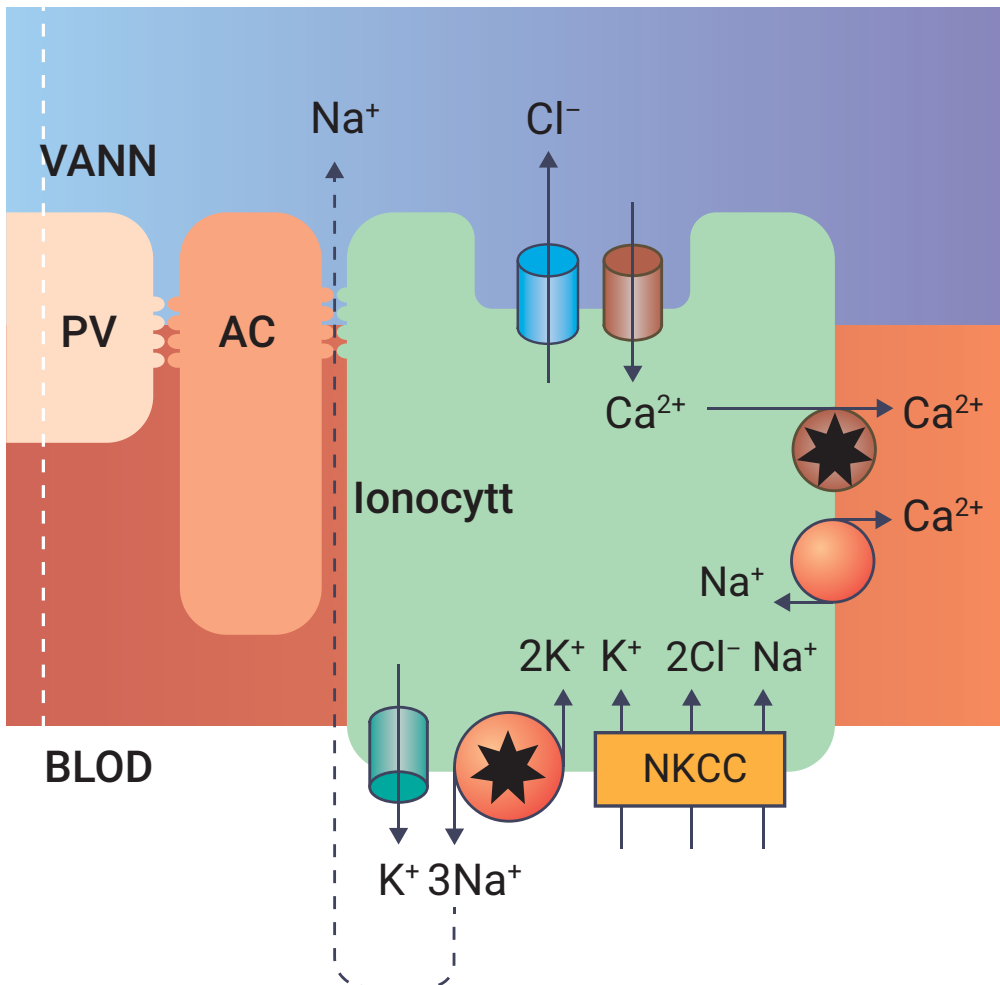




**Figur 9.8.** Osmoregulatoriske og syre-base prosesser i gjeller hos regnbueørret. I disse cellene vil  $\text{CO}_2$  fra metabolismen diffundere inn i cellene hvor de vil omdannes til karbonsyre av enzymet karbonsyreanhydrase (CA) (stiplet linje) som dissosierer til syre og bikarbonat etter formelen  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{CO}_3 = \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ . I  $\text{PNA}^-$  celler vil  $\text{H}^+$  bli eksportert ved hjelp av en  $\text{H}^+$  ATPase (HAT) som er koblet til opptak av  $\text{Na}^+$ . Underskudd av  $\text{Na}^+$  blir generert av en basolateral  $\text{NK}\alpha 1\text{a}$  transporter i bytte mot  $\text{K}^+$ . Denne typen  $\text{NKA}$  finnes bare i ferskvannstilpasset laksefisk. Regnbueørret har også en aktiv (muligens også passiv)  $\text{NKA}$  ionebytter som vil importere  $\text{Na}^+$  i bytte mot  $\text{H}^+$ , spesielt i ionerikt vann ved normal pH. Karbonat som dannes eksporteres sannsynligvis ut av cellen basalt i bytte mot  $\text{Cl}^-$ . I  $\text{PNA}^+$  celler vil  $\text{HCO}_3^-$  bli eksportert apikalt i bytte mot  $\text{Cl}^-$ .  $\text{Ca}^{2+}$  tas sannsynligvis opp i både  $\text{PNA}^+$ ,  $\text{PNA}^-$  og også plateceller. Opptaket kan være aktivt ved hjelp av en  $\text{Ca}^{2+}$  transporter, eller passivt gjennom en ionebytter i bytte mot  $\text{Na}^+$ . Stjerne indikerer aktiv ATP generert transport.

### Sjøvann

I sjøvann mister teleoster vann til omgivelsene ved osmose, og de må drikke vann for å erstatte tapet. Salt må derfor utskilles raskt og effektivt. Dette skjer hos benfisk over gjellene og kan beskrives som sekundær aktiv transport av  $\text{Cl}^-$ , og passiv transport av  $\text{Na}^+$ . Drivkraften for den aktive transporten er en variant av enzymet  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  ( $\text{NKA}$ ) kalt  $\text{NKA } \alpha 1\text{b}$ , som ligger i den basolaterale membranen og transporterer  $\text{Na}^+$  aktivt ut av cellen og tilbake til blodet. Dette lager ett underskudd av  $\text{Na}^+$  som gjør at  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  ko-transporteren ( $\text{NKCC}$ ) kan transportere  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  og  $2\text{Cl}^-$  inn i cellen. Fjerning av  $\text{Na}^+$  fra cellen ved aktiv transport, og  $\text{K}^+$  ved diffusjon gjør at konsentrasjonen til  $\text{Cl}^-$  hele tiden øker i cellen. Etter hvert blir konsentrasjonen av  $\text{Cl}^-$  så høy at den til slutt vil diffundere ut til sjøvann gjennom apikale anionkanaler, i prinsippet ned en konsentrasjonsgradient. Utskillelse av  $\text{Cl}^-$  vil skape et kationoverskudd i fisken. For å utligne denne ladningsforskjellen vil  $\text{Na}^+$  diffundere ut paracellulært gjennom lekke cellekoblinger («leaky paracellular junctions») mellom ionocytene og støttecellene. Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), absorberes via apikale kanaler, og drives ut basolateralt ved hjelp av en  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  ioneveksler, og en  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase pumpe (figur 9.9).



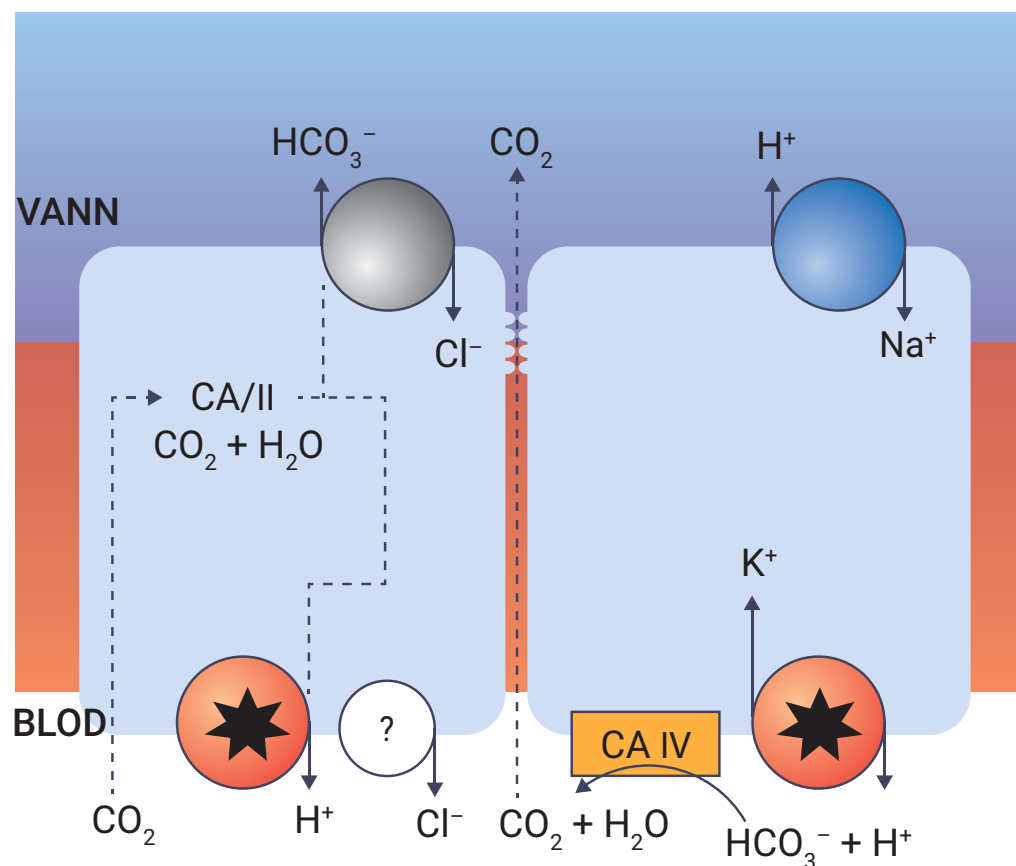
**Figur 9.9.** Forenklet modell for osmoregulatoriske prosesser i gjelle hos benfisk i sjøvann. Eksporten drives av en NKA-pumpe som gir  $\text{Na}^+$ -underskudd i cellen. Dette gjør at  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ - $\text{Cl}^-$ -ko-transporteren importerer  $2\text{Cl}^-$ , og  $\text{K}^+$  og  $\text{Na}^+$  inn i cellen. Over tid vil dette skape et  $\text{Cl}^-$ -overskudd inn i cellen som til slutt blir så stort at  $\text{Cl}^-$  diffunderer ut via spesielle anionekanaler til sjøvann.  $\text{K}^+$  diffunderer ut av cellen via en kationkanal. Import av  $\text{Ca}^{2+}$  er både aktiv og passiv som beskrevet over. AC: støtteceller, PV: plateceller, stjerne: aktiv ATP-drevet transport.

Siden bruskfisk er noenlunde isosmotiske til sjøvann drikker de minimalt med sjøvann. Men siden plasma har lavere mengde  $\text{NaCl}$  enn sjøvann (det lavere ioneinnholdet kompenseres med urea og TMAO) vil det være et diffusjonsopptak over gjellene samtidig som de får med seg sjøvann gjennom predasjon (spising av byttedyr). De må derfor også ha en viss kapasitet til å regulere konsentrasjonen av både monovalente ( $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$ ) og divalente ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ioner. Bruskfisk trenger heller ikke så store opptak av  $\text{Ca}^{2+}$  fra vannet siden de ikke har bein i skjelettet.

Det har lenge vært kjent at bruskfisk primært bruker den rektale saltkjertelen til å skille ut monovalente ioner ( $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$ ). Forsøk har imidlertid vist at mange bruskfisk også er i stand til å regulere plasmanivåene av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  også når saltkjertelen er fjernet og urinutskillelsen er blokkert. Det betyr at gjellene også har en rolle i ionereguleringen hos bruskfisk. Hvor stor betydning gjellene har er imidlertid mer usikkert. På den ene siden er aktiviteten av enzymene i saltkjertelen mye høyere, men på den andre siden så har gjellene store overflater og til sammen stor kapasitet til ioneregulering. Gjellene kan også være viktige for syre-baseregulering både i sjøvann og ferskvann, som diskutert under.

Mekanismene for  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  sekresjon i den rektale saltkjertelen ligner i stor grad på det man finner i ionocytter i gjelle hos marin benfisk (**figur 9.10**). En basolateral NKA reduserer intracellulære  $\text{Na}^+$ -konsentrasjoner som driver NKCC ko-transporter som fører til at konsentrasjonen av  $\text{Cl}^-$  øker i ionocytten. Klorid vil til slutt nå såpass høye konsentrasjoner at det vil diffundere ut apikalt via en CFTR (cystisk fibrose transmembranregulator) kanal ned den elektrokjemiske gradienten.  $\text{Na}^+$  vil diffundere ut paracellulært for å utlikne ladningsforskjellene.  $\text{K}^+$  resirkuleres og forlater ionocytten ned en konsentrasjonsgradient gjennom  $\text{K}^+$  kanaler i den basolaterale membranen.

Gjellene til bruskfisk avviker en god del fra det vi kjenner fra benfisk i sjøvann. De viktigste morfologiske forskjellene ser ut til å være fraværet av støtteceller og fraværet av et omfattende intracellulært basolateralt kanalsystem. Sistnevnte erstattes av en basolateral membran, som er kraftig brettet til en labyrint hvor man finner NKA-cellene. Gjellene hos bruskfisk har heller ikke kloridkanalen CFTR eller NKCC transportprotein som er vanlig i rektalkjertelen hos bruksfisk og i gjellene hos benfisk. I de artene som kan være i ferskvann, er det heller ingen endring av subtyper av NKA  $\alpha 1$  a til  $\alpha 1$  b som er kjent hos benfisk. Gjellene til bruskfisk har en viktig rolle i syre-base-reguleringen. Det er flere varianter av ionocytter i bruskfisk. En type har en dominerende basolateral NKA som ser ut til å være involvert i apikal syreutskillelse via en aktiv  $H^+/Na^+$  ionebyttmekanisme. Denne vil altså eksportere  $H^+$  apikalt i bytte mot  $Na^+$ , mens den basale pumpen vil gjøre  $H^+$  tilgjengelig for en basalt plassert CA som syntetiserer  $CO_2$  for utskillelse (figur 9.10). En annen type ionocytter har en basolateral vakuolær protondrevet ATPase ( $V-H^+$ -ATPase) koblet til en apikal  $HCO_3^-$  utskillelse som er koblet ett  $Cl^-$  opptak (figur 9.10).  $V-H^+$  ATPasen vil fjerne  $H^+$  fra ionocytten og unngå for lav intracellulær pH. En vakuolær protonpumpe er et stort multienhet-kompleks som opererer med en roterende mekanisme. Den fungerer ved å surgjøre intracellulære områder som så transporterer protoner gjennom plasmamembranen. Disse mekanismene aktiveres under syre-base forstyrrelser og resulterer i økt tilstrømning av  $Na^+$  under acidose, og tilsvarende av  $Cl^-$  under alkalose. Dette er prosesser som egentlig fungerer mot gjellens ioneregulerende funksjon i sjøvann, men som fungerer svært godt til opptak av ioner i ferskvann. Hos euryhaline bruskfisk øker NKA aktiviteten i ferskvann.



**Figur 9.10.** En skjematisk og forenklet fremstilling av cellytypene i gjelleepitel hos pigghå. Disse cellene antas å være ansvarlig for utskillelse av syre-base-ekvivalenter sammen med støtteceller i plasma som skiller ut en type IV karbonsyre anhydrase (CA IV). Elektronøytrale vekslere er tegnet som grå og blå sirkler mens ATPaser er tegnet som stjernefylte sirkler. De basolaterale membranene av de syre- og base-utskillende cellene er avbildet som glatte vegger, men har trolig moderate innfoldinger. Syre-utskillende celler (høyre, figur 9.10) består av basolateral NKA som ser ut til å være involvert i apikal syreutskillelse via en aktiv  $H^+/Na^+$  ionebyttmekanisme. I base-utskillende celler (venstre), via en V-type  $H^+$ -ATPase fjernes  $H^+$  fra ionocytten og dermed økes pH inne i cellen. Disse protonpumpene antas å være en stor sammensatt multienhet som opererer som en roterende mekanisme som surgjør intracellulære områder for så å transportere protoner gjennom plasmamembranen. Disse mekanismene aktiveres under syre-base forstyrrelser og resulterer i økt tilstrømning av  $Na^+$  under acidose, og tilsvarende av  $Cl^-$  under alkalose; CA II, cytosolisk karbonsyreanhydrase; CA IV, karbonsyreanhydrase IV.

### 9.4.3 Nyrer

Nyren til benfisk er et multifunksjonsorgan som består av hematopoietiske (bloddannede), immunologiske, endokrine og ekskretoriske elementer. De tre første funksjonene blir omtalt i andre kapitler (se **kapittel 2** og **14**). Denne delen vil kun omhandle ekskresjonsprosessen som er en viktig del av osmo- og ionereguleringen hos fisk. (Se også **kapittel 2** for morfologisk beskrivelse av laksenyre og segmenter). Hovedoppgavene til nyrene under osmoregulering er: **a**) vannutskillelse (urinproduksjon) og **b**) sekresjon av divalente ioner som  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$  og  $SO_4^{2-}$ .

#### *Evolusjonær utvikling*

Nyrene viser en tydelig evolusjonær utvikling med tilpasning til de ulike omgivelsene fiskene lever i. De funksjonelle enhetene i en nyre kalles glomerulus og nefron. I glomerulus filtreres blodet til fortynnet urin som inneholder avfallstoffer men også flere viktige næringsstoffer. I nefron(ene) reabsorberes næringsstoffer og vann (i sjøvann) tilbake til blodet, og noen flere stoffer skilles ut i filtratet. Disse prosessene regulerer samlet sett kroppens vannbalanse, elektrolyttnivåer og avfallssanering for å opprettholde intern homeostase.

De mest primitive nyrene finner vi i den marine kjeveløse fisken slimål (*Myxine*) (**figur 9.11**). Nyren er ikke godt utviklet og kalles en modifisert pronefros (fornyre), som er den mest primitive formen for nyre. Glomerulene er store, og tubulene («archinephric ducts») har en traktformet åpning med flimmerhår som drenerer inn i kloakken. Næringsstoffer som  $Ca^{2+}$  og glukose absorberes fra tubulene, mens andre divalente ioner, fosfat og urea går ut med filtratet.

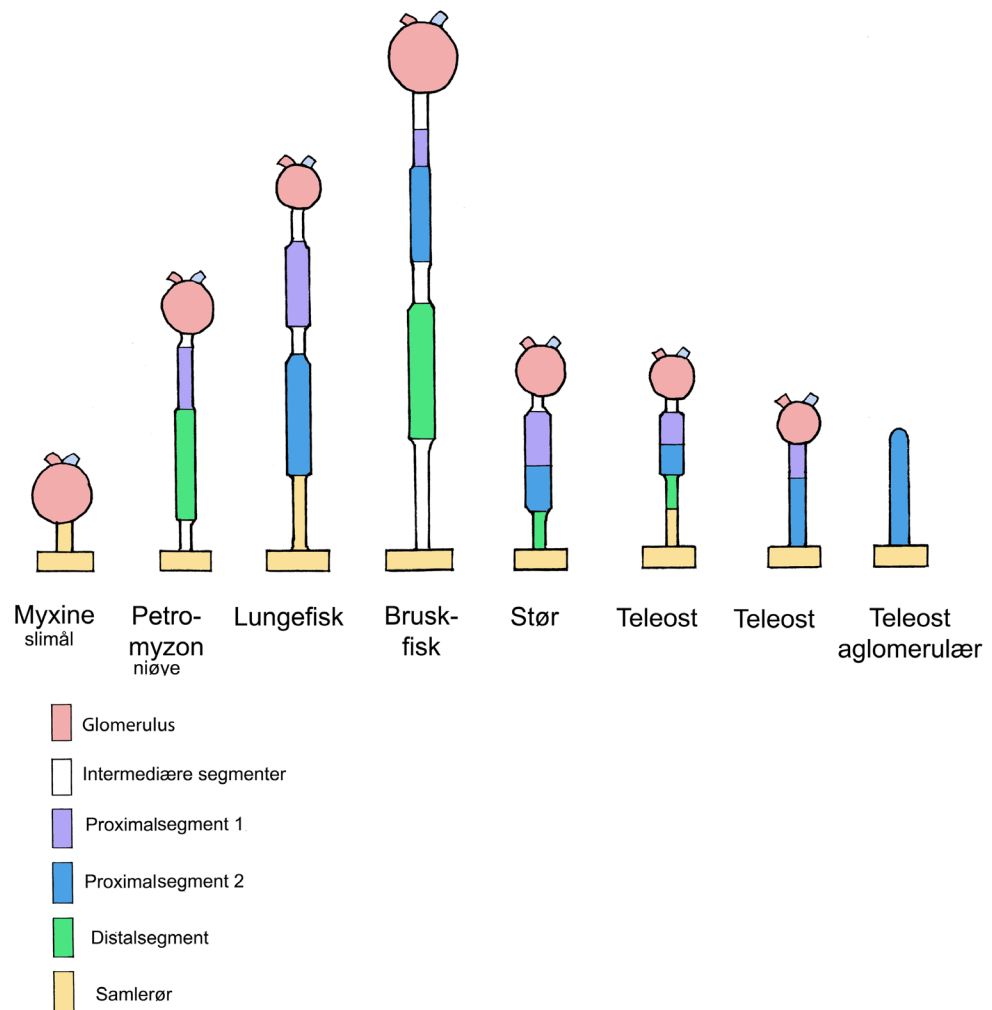
Den videre utviklingen av nyre i fisk har skjedd i ferskvann/brakkvannsområder. Mye av denne utviklingen skyldes at fiskene i ferskvann måtte utvikle nyre for å fjerne det vannet som kom inn i kroppen med osmose. Ikke bare måtte filtreringsraten og kapasiteten for utskillelse øke, men også reabsorpsjon av næringsstoffer fra filtratet og ikke minst ioner (f.eks.  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ) som det er lite av i ferskvann. Pronefros synes å bli mindre viktig med evolusjonen. Den tilbakedannes, forsvinner eller får andre funksjoner (i benfisk utvikles de til hodenyre, et hematopoietisk organ). Mellomnyren (mesonefros) utvikles til den fungerende nyren. Med mellomnyren utvikles et tydelig organ med samlerør, urinledere og urinblære. Blodtilførselen blir bedre og er i hovedsak venøs via en nyreportal, og har et lavt systemisk blodtrykk som ikke overstiger 2,67 kPa (20 mm Hg). Det er også en utvikling av tubulier som blir segmenterte og etter hvert får ulike funksjoner. Det er spesielt utviklingen av fremre segmenter (proksimal 1 og 2) som øker opptakskapasiteten av næringsstoffer og ioner, men etter hvert kommer også distale segmenter som er mer spesialiserte på opptak av monovalente ioner. I nøye er det ett dominerende fremre proksimalt segment, en tidlig form for distale elementer og samlerør (**figur 9.11**). De har en foldet struktur (loop) som man kjenner igjen fra høyere vertebrater (som pattedyr) hvor hvert nefron er arrangert parallelt med samlerøret, men ser ikke ut til å kunne lage hyperosmotisk urin. I ferskvannsteleoster har utviklingen gått mot mer avanserte proksimale nefroner (både 1 og 2, og noen ganger ett tredje proksimalt element), og ett distalt element som i stør (**figur 9.11**) og laksefisk (**figur 9.11**). Ferskvannsfisk har flere nefroner og større glomeruli enn marine fisk. Dette gjelder ikke bare rene ferskvannsfisk, men også euryhaline fisk som lever deler av livssyklusen i ferskvann. Marine benfisk lever i et hyperosmotisk miljø. Dette fører til tap av vann ved osmose med påfølgende lite behov for utskillelse av vann. I disse tilfellene vil nyrene likevel være viktig for utskillelse av divalente ioner, og sannsynligvis også opprettholdelse av osmotisk balanse. En typisk marin teleost har i tillegg til glomeruli, to eller tre proksimale segmenter og samlerør, men som regel ingen distale elementer. Ofte vil glomerulus bli mindre i marine arter, og i noen arter er glomerulene svært få, redusert og sannsynligvis ikke-funksjonelle («pseudoglomeruli») som i breiflabb (*Lophius piscatorius*), eller helt borte, aglomerulær, som i paddefisk (*Allenbatrachus grunniens*). Bruskfisk har svært godt utviklede nyre med proksimale og ett distalt segment. Nefronene hos bruskfisk er også organisert i en sløyfestruktur som muliggjør opptak gjennom motstrømsprinsippet. En hypotese for hvorfor dette er nødvendig kan ligge i at de bruker urea som osmolytt og må reabsorbere denne fra glomerulus filtratet (**figur 9.11**).

#### *Fisk i ferskvann*

Niøyer (Petromyzontiformes) som lever i ferskvann, har en urinproduksjonsrate (>10 ml/kg/time) som er høyere enn det som er rapportert hos benfisk. Dette gjenspeiler kanskje en høy osmotisk permeabilitet som er beholdt fra marine isotoniske forfedre, men med økt

glomerulær filtrasjon (GFR). Niøyenyren er strukturelt meget lik det vi ser i mer avanserte virveldyr. Over 50 % av nefronet er proksimale tubuli, med epitelceller som har mange mitokondrier, mikrovilli og utfoldinger langs en apikal membran. Slike funksjoner er helt fraværende hos slimål (**figur 9.11**). Den distale tubuli er føret med kubiske epitelceller, som mangler mikrovilli, men er rike på mitokondrier, og er ansvarlig for å reabsorbere omtrent 90 % av filtrert NaCl. Gjellen har som nevnt tidligere en relativt lav permeabilitet for ioner, men niøye i ferskvann mister ioner til miljøet via urinen.

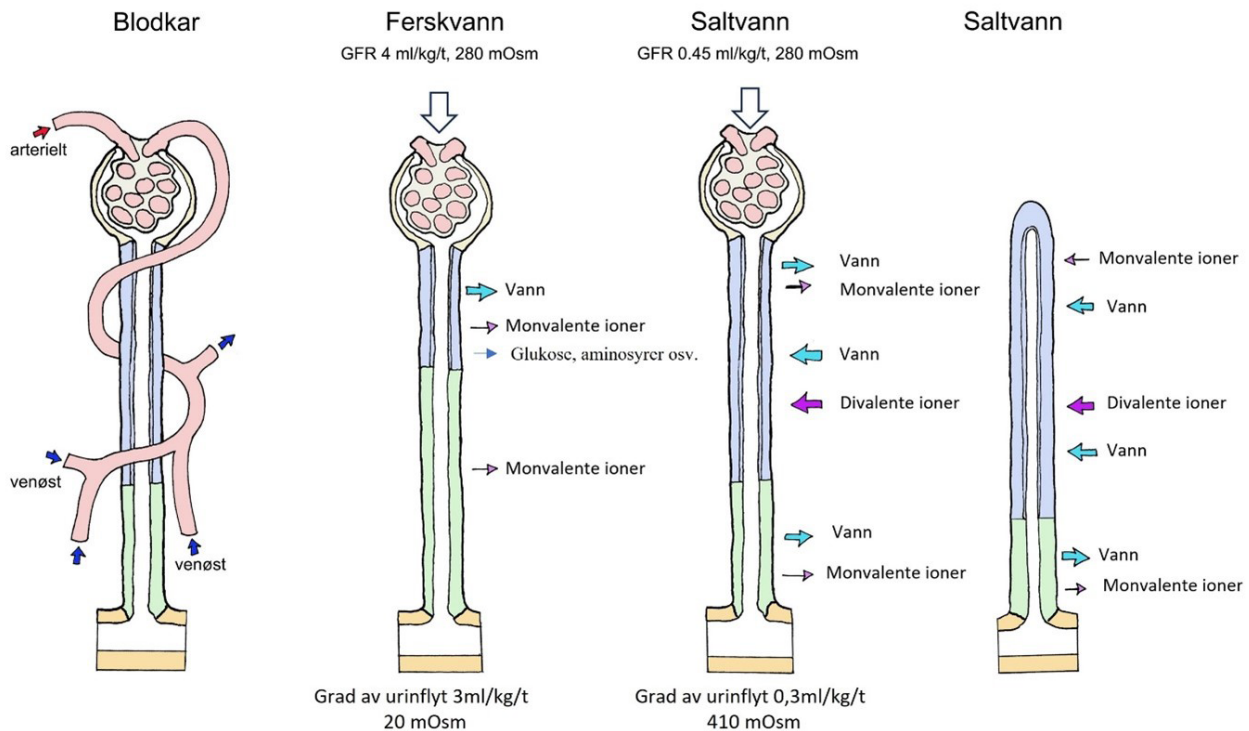
**Figur 9.11.** Sammenligning av nefronstruktur i ulike fiskegrupper. Slimål, niøye, lungefisk, bruskfisk stør, teleost (benfisk) (merk forskjeller mellom tubulusstrukturen til glomerulær og aglomerulær benfisk). Rosa sirkel indikerer glomerulus.



Nyren til bruskfisk i ferskvann sørger for å konservere  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$ , og skiller ut overflødig vann. I tillegg reagerer euryhaline bruskfisker på lave saltnivåer i miljøet ved å øke GFR og urinproduksjonen, samtidig som de reduserer plasmakonsentrasjonen av NaCl og urea. Euryhaline bruskfisker beholder evnen til å lagre høye konsentrasjoner av urea i vevet når de er i ferskvann. Derfor er den osmotiske gradienten mellom miljøet og fisken i ferskvann noe av den høyeste som er rapportert hos fisk (opptil 4600 mOsmol/kg). Bruksfisk må derfor kompensere for det økte osmotiske vannopptaket med økt urinproduksjon. Økningen i urinproduksjon resulterer også i et netto tap av NaCl, som igjen blir kompensert med økt opptak over gjellene.

Urinproduksjonsraten i ferskvannstilpasset benfisk er relativt høy og reflekterer behovet for skille ut overskytende vann. Urinen er fortynnet, med lave konsentrasjoner av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  (< 5–10 mM). Nyrer hos ferskvannsfisk har som nevnt over ofte to proksimale og en distal tubuli som kobler de proksimale segmentene til samlekanalene. I ferskvann har benfisk stort sett glomerulus, og i motsetning til landlevende pattedyr, er urinproduksjonen direkte kontrollert av glomerulær filtrering. Noe vann og mye av næringsstoffene (aminosyrer, glu-

kose etc.) reabsorberes i de proksimale tubuli, mens noen elektrolytter også reabsorberes i de distale tubuliene. Monovalent ioneopptak i de distale tubuliene antas å involvere en basolateral NKA og en apikal NKCC2. Urinblæren er også involvert i opptak av monovalente ioner, med  $\text{Na}^+$ -opptak tilrettelagt av en  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$  veksler (NHE) (figur 9.12).



**Figur 9.12.** Skjematiske bilder som representerer strukturen og funksjonen til nefronet i ferskvanns og marine benfisk. De viktigste morfologiske segmentene av nefronet er angitt. Blå segment = proksimale tubuli og grønn segment = distal tubuli. Merk at vann kan reabsorberes eller tilføres nefronene avhengig av osmotisk trykk. Representative plasmfiltreringshastigheter og osmotiske konsentrasjoner, tubelreabsorpsjon og sekresjonsprosesser, urinproduksjonsrater og osmolalitet er vist. GFR: glomerulær filtrasjonshastighet. Etter McCormick et al. (2013) og Bone og Moore (2008).

### Fisk i sjøvann

Det er få studier av nyrefunksjonen hos marine nøyer. En undersøkelse viste en 95 % reduksjon i urinproduksjonen etter en to-ukers akklimatisering til sjøvann. Årsaken til denne reduksjonen syntes primært å være en reduksjon i glomerulær filtrasjonshastighet (GFR) i hvert enkelt nefron, og økt reabsorpsjon av vann i de distale tubuliene. Konsentrasjonen av  $\text{Na}^+$  i urin var også mye lavere enn i plasma, noe som antyder at  $\text{Na}^+$  (og sannsynligvis  $\text{Cl}^-$ ) blir reabsorbert i nyrene. Denne mekanismen antar man er med å drive vannreabsorpsjon ved at vann vil diffundere ned en konsentrasjonsgradient inn i fisken.

Marine benfisker har lav urinproduksjon, og hos fisk med enten aglomerulære (figur 9.11 og 9.12) eller glomerulære nyrer, er tonisiteten til urinen noenlunde lik den ekstracellulære væsken (ECV) i forhold til de viktigste elektrolyttene  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , og  $\text{Cl}^-$ . Marine glomerulære og aglomerulære nyrer har proksimale tubulisegmenter koblet direkte til en samlekanal. Derfor mangler marine teleoster stort sett distale tubuli, og skiller seg først og fremst i redusert antall eller fravær av glomeruli. Den glomerulære nyren har lavere GFR sammenliknet med en ferskvannsfisk. Selv uten glomeruli er urinproduksjonen for aglomerulære arter veldig lik fisk med glomerulære nyrer. Den tubulære konsentrasjonen av  $\text{Mg}^{2+}$  og  $\text{SO}_4^{2-}$  er høyere enn tilsvarende konsentrasjoner i plasma, og kan derfor spille en rolle i væskesekresjon.  $\text{NaCl}$  og væskeopptak skjer i siste del av den proksimale tubuli og i urinblæren, drevet av NKA som skaper en gunstig gradient for  $\text{Na}^+$ -opptak fra det tubulære lumen over den apikale membranen. Dette driver også samtransporten av glukose og aminosyrer. Den tubulære absorpsjonen av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  antas å skje i den apikale membranen ved hjelp av en  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  veksler som er koblet til  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -utveksling (figur 9.12).



Den anatomiske kompleksiteten til nefroner i marine bruskfisk er stor (**figur 9.11**). Nyrenes nøkkelrolle er å bevare urea og TMAO, mens de samtidig skiller ut overflødige ioner og metabolitter. Stort sett er den totale GFR og urinproduksjonsraten (UFR) høy i forhold til marine benfisker. Målt GFR varierer fra 0,2 til 12 ml/kg/time, mens UFR ligger mellom 0,10–1,0 ml/kg/time. Økning i GFR under situasjoner med økt vannopptak, som ved reduksjon av salinitet reflekterer sannsynligvis en økning i antall filtrerende nefroner, og endring i enkeltnefronenes filtreringshastighet.  $\text{Na}^+$   $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , urea, TMAO og vann reabsorberes fra primærfiltratet, mens giftige divalente ioner ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) og uorganisk fosfat skiller ut. Kvantitativt sett er bidraget fra nyrene i forbindelse med utskillelse av NaCl litt mindre enn den rektale saltkjertelen, og mye mindre enn den mengden av NaCl som skiller ut via gjellene. Under normale forhold i rent sjøvann vil tubuliene effektivt reabsorbere (~80%)  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , urea, TMAO og vann, men vil falle når saliniteten i miljøet reduseres. Overskytende  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  i blodet vil skiller ut av fisken på normal måte via gjellene og til dels via saltkjertelen. Den endelige urinsammensetningen, og dens endringer ved ulike saliniteter, vil avhenge av balansen mellom de sekretoriske og absorberende prosesser for hvert ion, så vel som belastningen ved glomerulus.

#### 9.4.4 Tarm

Tarmen er som gjellene et multifunksjonsorgan. Den har ikke bare en viktig rolle i næringsopptak og immunforsvaret, men også i vann- og ioneregulering. Denne rollen er viktigst i sjøvann der benfisk drikker sjøvann for å kompensere for osmotisk vannatap. De må derfor kvitte seg med de ionene som følger sjøvannet. Forsøk hvor en benytter føret fisk for å studere osmoregulering har ofte medført en del avføringsproblemer som negativt påvirker forsøkene. Det er derfor ikke mange godt kontrollerte studier tilgjengelig. Den relative betydningen av de ulike delene av fordøyelsessystemet som svelg, mage, blindsekker, og for- og baktarm er også lite kjent. De fleste forsøk er gjort med tørrfôr som inneholder 5-10% vann. En vet mindre om effekten av naturlig føde som inneholder 70-80% vann.

##### *Ferskvann*

I ferskvann er det et passivt opptak av vann hos benfisk, niøye og bruskfisk, og disse er ikke avhengige av vannopptak i tarmen. Tarmen har derimot en rolle i ioneregulering og opptak av ioner fra fôr som kan utgjøre vesentlig mer enn opptak over gjellene. Opptak av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  fra fôr kan være nødvendig for å kompensere for tap av disse ionene over gjellene. Opptaket vil være avhengig av temperatur, som regulerer fôropptaket, og innhold av vann og ioner i føret. Både  $\text{Mg}^{2+}$  og  $\text{Ca}^{2+}$  blir tatt opp aktivt fra vann gjennom gjellene. I ionefattig (bløtt) vann kan tilførsel gjennom fôr være nødvendig for å oppretthold ionebalansen.

I primær aktiv transport (se **kapittel 11** Opptak av næring over tarm) pumpes 3  $\text{Na}^+$  ut av cellen og 2  $\text{K}^+$  inn for å danne en elektrokjemisk gradient av  $\text{Na}^+$  inn i cellen ( $\text{Na}^+$ -drevet opptak). Denne brukes til å transportere næringsstoffer mot gradienten. Det har derfor blitt ansett som positivt at fôr inneholder noe  $\text{Na}^+$ .

Kommersiell fôr der fiskemel er en viktig komponent inneholder alle ionene som finnes i sjøvann. Dette tilsvarer ofte 1-2% NaCl. Nivåer opp til 6% NaCl blir brukt for å indusere sjøvannstoleranse hos laks før utsetting i sjø (se kapittel 10 Smoltifisering). Utviklingen går mot mindre fiskemel i fôr, og da er det viktig kompensere for de ioner som tidligere fulgte fiskemelet.

##### *Sjøvann*

I sjøvann drikker benfisk kontinuerlig sjøvann for å erstatte vannet som går tapt på grunn av lavere osmolalitet enn i omgivelsene. Drikkeraten varierer med art og salinitet, men er 1 - 5 mL/(kg x t). Dette er 10-50 ganger mer enn det som er funnet hos ferskvannsfisk. Vannet avsaltes ved fjerning av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  hovedsakelig i spiserøret. I tarmen skjer også et opptak av  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  og  $\text{K}^+$  og et osmotisk opptak av vann. De enverdige ionene  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  og  $\text{H}^+$  blir skilt ut over gjellene, mens toverdige ioner som  $\text{SO}_4^{2-}$  blir skilt ut over nyrene (se også 9.3.4 og kapittel 11).

Nyere forskning har vist at opptak av vann blir hjulpet av en  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  ioneveksler som gjør tarminnholdet alkalisk. Den økte konsentrasjonen av  $\text{HCO}_3^-$  feller kalsium- og magnesiumkarbonat. Dette vises som et amorft hvitt stoff i baktarmen noen ganger kalt intestinal karbonatutfelling (ICP). Dette vil eliminere  $\text{Ca}^{2+}$ , det giftige  $\text{Mg}^{2+}$  og sannsynligvis noen andre mineraler fra drikkevannet og føret. Denne kalsiumkarbonatproduksjonen av verdens fiskebestander kan spille en viss rolle i jordens karbonbudsjett.

Marine bruskfisk er mindre avhengige av å drikke sjøvann siden de er isoosmotiske eller svakt hyperosmotiske. De skulle derfor ikke ha behov for et opptak av  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  og en  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  utveksling for å ta opp vann fra tarmen. Noen forsøk har vist at bruskfisk kan drikke sjøvann. Man vet lite om hvordan fôropptak er integrert i osmoregulering hos bruskfisk som har en indre osmolalitet på ca. 950 mOsm/kg). Fordelen med å spise en benfisk med indre osmolalitet på ca. 350 mOsm/kg fremfor å drikke sjøvann synes opplagt.

#### 9.4.5 Osmoregulatoriske tilpasninger: euryhalinitet

Ferskvanns- og sjøvannsfisk møter ulike osmoregulatoriske utfordringer i sitt miljø. Intracellulære kanaler i kloridcellene, membransammensetning, blodsirkulasjon, drikkerate, endokrinaktivitet og funksjon er svært ulik i ferskvannsfisk sammenliknet med marinfisk. Stenohaline arter er begrenset av sitt miljø, ferskvann eller sjøvann, og tåler ikke store endringer i salinitet som overstiger 15g/kg (15‰). Euryhaline arter derimot, tåler store endringer i salinitet, og kan tilsynelatende vandre uproblematisk mellom ferskvann og sjøvann. Det er et mindre antall arter som har utviklet denne type evolusjonær strategi, som synes å ha mange uavhengige evolusjonære opphav.

Den store artsvariasjonen innen fisk som har utviklet euryhalinitet tyder på at fisk i utgangspunktet var utstyrt med molekylære mekanismer som fungerte i hypo- og hyperosmotiske miljøer. Disse mekanismene er sannsynligvis pleiotropisk (et gen innvirker på mer enn én egenskap), og andre funksjoner som syre-base regulering, nitrogenutskillelse, cellulære-, neuroendokrine- og stressresponser kan ha framskyndet denne evolusjonære utviklingen mot euryhalinitet. Man antar at euryhaline fiskearter utviklet seg i et miljø med store salinitetsgradienter i tid og rom. Mens stenohaline arter unngikk slike miljø, valgte euryhaline arter en fysiologisk tilnærming til endringene i miljøet uten å flykte fra «problemet». Noen ganger oppstår slike situasjoner akutt, hvor flukt fra miljøet ikke er mulig. Eksempelvis, store nedbørsmengder i tidevannsdammer hvor marinfisk er fanget ved lavvann. Dette medfører perioder med lav salinitet. Tilsvarende kan skje med fisk i ørkener som lever i ferskvannskulper. Når vannet er i ferd med å fordampe gjemmer de seg i sedimentet, og saliniteten kan på grunn av fordampingen derfor øke drastisk til nivåer godt over det man finner i sjøvann.

Kontrasten til slik akutt tilpasning er en mer gradvis endring i saliniteten, som man ser hos arter som migrerer. Dette anser man som en frivillig migrasjon mellom fersk- og sjøvann, og omfatter preadapting (f.eks. smoltifisering hos laksefisk) til salinitetsendringer via viktige fysiologiske prosesser. Det eksisterer to former for diadromitet. Anadrome fisk er arter som har sine tidligste leveår i ferskvann, for så å foreta næringsvandring ut i sjø, og deretter returnere til ferskvann for å reprodusere seg. Typiske anadrome arter er stillehavslaks (*Oncorhynchus sp.*) og atlantisk laks (*Salmo salar*). Katadrom fisk viser derimot et motsatt vandringmønster med oppvekst i sjø (se kapittel 21 Spesiell fokus på oppdrettsarter) for deretter å foreta næringsvandring opp i brakkvann- og/eller ferskvannssystemer for så igjen returnere til havet for reproduksjon. Ål (*Anguilla anguilla*) er en typisk katadrom art med oppvekst i Sargassohavet (se kapittel 17 Reproduksjon i fisk). På tross av en tilsynelatende evolusjonær fordel med euryhalinitet er de fleste fiskearter stenohaline. De fysiologiske mekanismene som kreves for euryhalinitet er komplekse og evolusjonært vanskelig å utvikle.

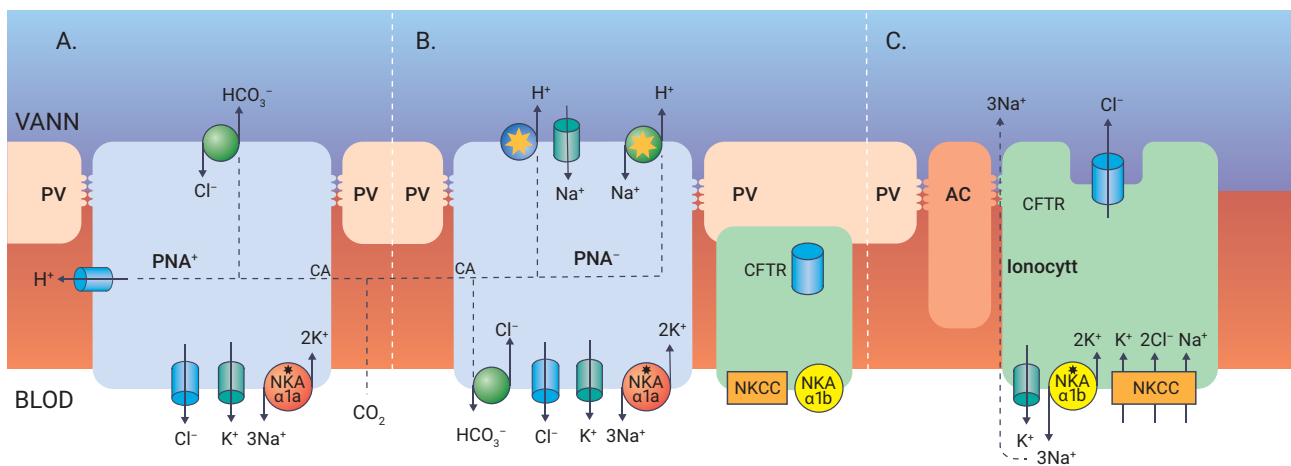
Laksefisk er en spesiell orden med svært stor variasjon i tilpasning til ulike ionemiljøer. Det er en heterokroni (endring i når en hendelse inntreffer) i utviklingen av sjøvannstoleranse hos ulike arter laksefisk. Bruk av estuarier og havet hos laksefisk viser stor variasjon fra ingen bruk hos ikke-anadrome populasjoner av røye (*Salvelinus alpinus*) og ørret (*Salmo trutta*), til nesten umiddelbar utvandring etter klekking som hos stillehavslaksene pukkel-laks (*Oncorhynchus gorbusha*) og ketalaks (*O. keta*). Arter som atlantisk laks, den anadrome formen av regnbueørret («Steelhead») (*O. mykiss*) og sølvslaks (*O. kisutch*) står normalt ett år i ferskvann før de vandrer ut i sjøvann om våren. (se kapittel 21 - Spesiell fokus på oppdrettsarter)

Sjøvannstoleransen øker hos mange laksarter med vekt muligens på grunn av et gunstigere overflate-volumforhold, selv om det finnes unntak. Denne størrelsesavhengige økningen i sjøvannstoleranse er ulik den raske, miljøstyrte, sesongavhengig økningen i sjøvannstoleranse hos smolt av atlantisk laks for eksempel. Smoltifiseringen hos atlantisk laks er også størrelsesavhengig, siden fisken må nå en minimumsstørrelse for å reagere på

ytre miljøforhold. Fordelen med en pre-adaptasjon til sjø er trolig at smolten raskt kan vandre forbi predatorer i en elvemunning og fjord. Med en pre-adaptasjon unngår smolten en økning i ioner som vil redusere aerob kapasitet, svømmeevne og fôropptak. Ved overføring til sjøvann kan man av og til observere det osmo-respiratoriske kompromiss hos atlantisk laks. Laktat (melkesyre) i blodet viser en kortvarig økning trolig fordi blodstrøm i gjellene begrenses for å redusere ioneopptak under den akutte tilpasningsfasen. Kostnaden med dette er redusert oksygenopptak for en kortere periode med anaerob metabolisme.

Det er denne store fleksibiliteten i evnen til å utvikle sjøvannstoleranse mellom ulike arter og innen en art som kan utnyttes for en mer årstidsuavhengig produksjon i lakseoppdrett. Tradisjonelt har man brukt pre-adaptasjon til sjøvann hos atlantisk laks (smoltifisering), men størrelsesavhengig sjøvannstoleranse er også brukt hos både regnbueørret og atlantisk laks. Man må imidlertid være oppmerksom på helse- og velferdsrisiko med produksjonsformer som ligger langt fra artens normale biologi.

De grunnleggende fysiologiske mekanismene for ioneregulering i sjøvann (som økte antall ionocytter, gjelle  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase-aktivitet (NKA), membranpermeabilitet og drikkehastighet) er felles for alle laksefisk. En enkel, hypotetisk modell for endringen i ionocytterne under smoltifisering er vist i **figur 9.13**. Den gjelder atlantisk laks hvor overgangen er glidende og tar noe tid. Hos parr i ferskvann (**A**) dominerer ferskvannsformen NKA  $\alpha 1a$  i ionocytterne. Under smoltifiseringen (**B**) øker antallet celler med saltvannsformen NKA  $\alpha 1b$ , men ionocytten ligger under epitelcellene (PV) og har ikke kontakt med vann. Etter overføring til sjøvann (**C**) har ionocytterne direkte kontakt med sjøvann. Cellene med NKA  $\alpha 1a$  har forsvunnet og cellene med NKA  $\alpha 1b$  har overtatt. Støttecellene (AC) er tydelige og det er etablert en  $\text{Na}^+$  permeabel forbindelse mellom disse cellene og ionocytterne der  $\text{Na}^+$  transporteres ut ved hjelp av en elektrokjemisk gradient. Gjellene er nå ikke lenger tette for ioner som i ferskvann (lekke celleforbindelser også kalt «tight junctions»). Dersom en smoltifisert laks tvinges til å være i ferskvann kan dette føre til et kritisk ionetap. Økning av saliniteten med noen promille eller fôring med saltfôr vil da hjelpe.



**Figur 9.13.** Forenklet modell av endringer i ionocytterne (MRC) og NKA  $\alpha 1a$  og NKA  $\alpha 1b$  under smoltifisering. A: ferskvann, B: ferskvann under smoltifisering, C: sjøvann. MRC: mitokondrierike celler (ionocytter); AC: Støtteceller; PV: gjelle-epitelceller. NKA  $\alpha 1a$ : «ferskvanns-ATPase»; NKA  $\alpha 1b$ : «saltvanns-ATPase»; NKCC:  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$  ko-transporter; CFTR: cystisk fibrose transmembranregulator. Se fig 9.8 og 9.9 for full modell av ionocytter i ferskvann og sjøvann. Modifisert etter McCormick (2013).

## 9.5 SYRE- OG BASEREGULERING HOS FISK

Syre-baseregulering hos virveldyr, inkludert fisk, er nevnt flere steder tidligere i teksten. Men vi vil avslutningsvis her forsøke å gi en mer fokusert diskusjon over temaet som kan være både uoversiktlig og forvirrende. Syre-baseregulering er uløselig knyttet til utskillelse av karbondioksid ( $\text{CO}_2$ ) gjennom reversible hydrerings-/dehydrerings-reaksjoner av  $\text{CO}_2$ :



og påfølgende justering av syre-base likevekter og ekvivalenter som  $H^+$  og  $HCO_3^-$  (Se kapittel 1 og 8 for diskusjon om likevekter og transport av  $CO_2$  i blod). Hos fisk i ferskvann er syre-base-regulering koblet til ioneregulering fordi syre-base-kompensasjon hovedsakelig er avhengig av en direkte overføring av  $H^+$  og  $HCO_3^-$  over gjellene i bytte mot  $Na^+$  og  $Cl^-$ . Regulering av  $NaCl$  over gjellene er igjen nøkkelen til å opprettholde ione- og osmotisk-balanse i fisk. En viktig deltaker i alle tre prosessene er karbonsyreanhydrase (CA), et sinkmetalloenzym som katalyserer hydrerings-/dehydrerings-reaksjonene av  $CO_2$ , og det er derfor kritisk i forbindelse med  $CO_2$ -utskillelse og -transport, ioneregulering og syre-basebalanse.

Syre-base-regulering i fisk er avhengig av metabolske strategier, hvor syre-base-ekvivalenter ( $H^+$  og  $OH^-$  i form av  $HCO_3^-$ ) overføres mellom fisken og det ytre miljøet. Denne utvekslingen skjer først og fremst over gjellene. Denne tilnærmingen er forskjellig fra dyr som lever på land som f.eks. amfibier og pattedyr, hvor syre-base-forstyrrelser reguleres gjennom justeringen av ventilasjon (respirasjonskompensasjon) og/eller utskillelse av urinsyre (metabolsk kompensasjon). Årsaken til forskjeller i strategier mellom fisk og pattedyr skyldes det relativt lave oksygeninnholdet per volumenhet i vannmiljøet, noe som resulterer i høye konveksjonskrav til  $O_2$  i fisk (ventilasjonsvolum per enhet  $O_2$ -opptak). Det høye konveksjonskravet for  $O_2$  begrenser kapasiteten hos fisk til å redusere ventilasjonen uten å påvirke  $O_2$ -opptaket negativt, og medfører samtidig at det arterielle  $CO_2$ -trykket er lavt. Noe som igjen begrenser fiskens kapasitet til å øke pH ved å «blåse ut»  $CO_2$  gjennom hyperventilering. Med unntak av lungefisk, regulerer flertallet av fisk pH i plasma ved å justere  $HCO_3^-$ -nivåene gjennom reguleringen av  $H^+$  og  $HCO_3^-$ . Det er derfor ikke overraskende at aktiviteten i nyrene, (benfisk i ferskvann), er betydelig og påvirket av endring i syre-base-forholdet. Den tilsynelatende «manglende» responsen man ser i nyrene hos sjøvannstilpasset fisk under tilsvarende syre-base-endringer i miljøet er lite forstått. Nyren spiller også en viktig rolle i kompensasjon under en systemisk alkalose, noe som innebærer å senke nivåene av plasma  $HCO_3^-$  ved å øke både ekskresjon av  $HCO_3^-$  over gjelle og nyre. Til tross for vår grunnleggende forståelse av hvordan fisk reagerer på syre-base utfordringer, er de cellulære og molekylære mekanismene som regulerer syre-base-ekvivalentene ved gjellene og nyrene relativt ukjente. Det er bred enighet om at  $HCO_3^-$  og  $H^+$ -utskillelse i gjellen skjer i bytte mot, henholdsvis  $Cl^-$  og  $Na^+$ , og siden de fleste fisk (marine eller ferskvann), regulerer de interne  $NaCl$  nivåene i gjellene, mener man at syre-base- og ioneregulering i fisk er tett koblet med hverandre.

Høye nivåer av enzymet karbonsyreanhydrase (CA) finnes i gjellene til all fisk som har blitt studert, men den fysiologiske rollen til CA i gjellene kan ikke utledes bare fra tilstedeværelse eller aktivitet i gjellen. CA er allment anerkjent for å bidra til både ionebevegelse og syre-base-regulering, men de eksperimentelle bevisene er relativt få.

### 9.5.1 Slimål

Gjellene til stenohalin, marin slimål inneholder mitokondrierike celler (MRC) som man antar har en funksjon i syre-base regulering, selv om disse cellene ikke har stor betydning i ioneregulering. Slimål benytter seg av en osmokonformstrategi. Syre-base regulering i slimål, som i annen fisk, ser ut til å involvere  $Na^+/H^+$  og  $Cl^-/HCO_3^-$  utveksling, og flere av de transportørene som har vært involvert i å drive disse utvekslingene i ben- og bruskfisk, inkludert NHE, V-type  $H^+$ -ATPase og NKA synes å være til stede i gjellene til slimål. Det interessante er at i motsetning til modellene som har vært utviklet for ben-, bruskfisk og niøye, synes alle tre transportørene ut til å være i en enkelt celletype, som antas å være en MRC-celle. Dette medfører generering av tilpassende balanserende responser av acidose versus alkalose, som sannsynligvis innebærer transport mellom cytoplasmatiske vesikler og den apikale eller basolateral membran.

### 9.5.2 Niøye

Niøye eller lampretter inkluderer en rekke anadrome arter, hvor både marine- og ferskvannsstadier forekommer. I Norge finnes fire arter. De ioneregulatoriske og osmoregulatoriske problemene som disse artene står overfor, ligner på de som møtes av marine- eller ferskvannsfisk. Gjellene til niøye er analoge med benfisk, og antas å opprettholde ionisk og osmotisk balanse, selv om den cellulære sammensetningen av gjelleepitelet skiller seg fra benfisk. For eksempel antar man at gjelle CA i niøye bare forekommer i cytoplasmaet. I motsetning til hos benfisk, hvor man finner distinkte blod- og gjellecytosoliske CA-isoformer, er bare én cytosolisk CA påvist i niøye. CA har blitt

lokalisert i gjellene til to niøyearter korokoro (*Geotria australis*) og havniøye (*Perkinsus marinus*), i ionocytter anriket av H<sup>+</sup>-ATPase, hvor man antar at hydrering av CO<sub>2</sub> forsyner protonpumpen med H<sup>+</sup> i en modell lik syre-base-regulering hos ben- og bruskfisk. Det bør merkes at det gjenstår en del forskning før man har den fulle oversikten hvordan syre- og basereguleringen i niøye foregår.

### 9.5.3 Benfisk

Det er minst to populasjoner av ionocytter i regnbueørret, og de skilles på grunnlag av tilstedeværelsen av PNA bindingssteder eller ikke, på de apikale gjellemembranene (se **figur 9.8**). PNA<sup>+</sup> MRC-celler antas å være ansvarlige for baseutskillelse (koblet til Cl<sup>-</sup>-opptak), mens syreutskillelse (koblet til Na<sup>+</sup>-opptak) synes å skje via PNA<sup>-</sup> MRC-celler. Hvis man antar at cytosolisk CA bidrar til ioneopptak ved å katalysere CO<sub>2</sub>-hydrering slik at H<sup>+</sup> og HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> avgis mot Na<sup>+</sup> og Cl<sup>-</sup> opptak, er det rimelig å anta at CA også vil bidra til syre-base-regulering, selv om man delvis mangler empiriske data som understøtter denne antakelsen. Ved hjelp av et *in-vivo*-forsøk i regnbueørret, ble det vist en betydelig reduksjon i netto utskillelse av syre (H<sup>+</sup>) fra gjellene etter behandling med CA hemmeren acetazolamid, noe som viser at CA i gjeller er involvert i syre-base-regulering. Tilsvarende økte netto utskillelsen av syre (H<sup>+</sup>) som en kompensasjon for en systemisk acidose, en effekt av acetazolamidbehandling som ble forsterket av økt CO<sub>2</sub> i vannet (miljøhyperkapni).

Elektronøytrale utvekslinger av Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> og Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> for syre-base-regulering synes også å være aktiv i gjeller hos marine benfisk. Dette på tross av at slike ioneutvekslinger vil øke NaCl-opptaket. Marine benfisk er hypo-osmotiske regulatorer og må transportere NaCl ut mot en konsentrasjonsgradient. Denne tilsynelatende ineffektive løsningen kan ha sin opprinnelse i at benfisk utviklet seg i ferskvann og tilpasset seg sjøvann på et senere tidspunkt i evolusjonen. En rolle for CA i sjøvann er å lette tilgang til H<sup>+</sup> og HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ioner for slike utvekslinger, men merkelig nok gir acetazolamid behandling ingen effekt på netto syreutskillelse (forsøk gjort på slamkryper, *Periophthalmodon schlosseri*). Den cellulære plasseringen av utvekslingsmekanismene, og tilhørende CA sitt bidrag til syre-base-regulering krever mer forskning.

### 9.5.4 Bruskfisk

Det meste av CA-aktivitet i gjellene hos bruskfisk er cytoplasmatisk. Studier tyder på at cytoplasmatisk CA finnes i de fleste celletyper i bruskfisk gjelle-epitel hos bruskfisk. Disse cellene har distinkte populasjoner av NKA-rike og V-type H<sup>+</sup>-ATPase-rike celler. **Figur 9.10** viser en tenkt modell av syre-base reguleringen hos bruskfisk. Syreutskillelse oppnås gjennom en apikal NHE drevet av en innadrettet Na<sup>+</sup>-gradient, etterfulgt av Na<sup>+</sup> fjerning fra cellen via den basolaterale NKA. Baseutskillelse skjer gjennom en apikal anionveksler, muligens en pendrinlignende Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-veksler, og V-type H<sup>+</sup>-ATPase som normalt er i cytoplasmatiske vesikler, men som kan transporteres til den basolaterale membran under alkalose. I de fleste benfiskmodeller bidrar benfisk cytosolisk CA (type II) og CA i plasma (type IV) til syre- eller base-utskillelse ved å katalysere hydreringen av CO<sub>2</sub> til H<sup>+</sup> og HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (**figur 9.10**).

### 9.5.5 Andre organ involvert i syre-baseregulering hos fisk

#### Nyre

Selv om det eksisterer en god del variasjon mellom arter, spiller nyrene hos ferskvannsfisk en betydelig rolle i å regulere systemisk syre-base ubalanse. Flere studier har vist at endringen i renal netto H<sup>+</sup> utskillelse kan utgjøre 100 % av syre-base-reguleringen, men det er generelt akseptert at nyrene bidrar med omtrent 5–30 % av utskillelsesraten av H<sup>+</sup> i kroppen under systemiske pH-endringer. Dermed er det viktigste organet for regulering av H<sup>+</sup>-sekresjon under pH forstyrrelser, fortsatt gjellene. De fleste studier på syre-baseregulering i nyrene hos fisk har blitt utført på ferskvannsararter som produserer store volumer av fortynnet urin. Marine fisk (både ben- og bruskfisk) produserer små mengder urin som inneholder forhøyede nivåer av Ca<sup>2+</sup> og Mg<sup>2+</sup>. De lave urinvolumene kombinert med et tilsynelatende krav om å surgjøre urinen for å hindre dannelsen av Ca<sup>2+</sup> og Mg<sup>2+</sup> utfellinger, er sannsynligvis nøkkelfaktorer som begrenser deltakelse av den marine nyren i syre-basebalansen. Økt CO<sub>2</sub> i Ca<sup>2+</sup> rikt vann er en «klassisk» årsak til nefrokalsinose (utfellinger av kalsium i nyrene).

Som tidligere nevnt regulerer fisk primært blodets pH gjennom metabolske prosesser. For eksempel under respirasjonsindusert acidose reguleres blodets pH ved konstant partialtrykk av CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) via gradvis akkumulering av plasma HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> gjennom endring i



ionevekslingsraten over gjellene. En slik strategi kan være effektiv bare hvis den filtrerte  $\text{HCO}_3^-$  blir reabsorbert, via økt renal  $\text{H}^+$  sekresjon. En vellykket metabolsk kompensasjon av respiratorisk acidose kan bare oppnås hvis den renale  $\text{H}^+$ -sekresjonen økes for å kompensere den økende filtrerte  $\text{HCO}_3^-$ -belastning. Avhengig av arter og hvilken forstyrrelser i gassutvekslingen som har inntruffet kan plasma  $\text{HCO}_3^-$ -nivåer overstige 70 mM hos pH kompenenserende fisk, noe som resulterer i en massiv økning i filtrert  $\text{HCO}_3^-$ -belastning som nødvendiggjør en like massiv økning i  $\text{H}^+$  sekresjon.

#### *Svømmeblæren*

Regulering av svømmeblæren hos fisk uten åpen svømmeblære (fysokliste fisk) er avhengig av sekresjon av  $\text{O}_2$  for å skape en ekstremt høy partialtrykk av  $\text{O}_2$ . Dette skjer ved at  $\text{O}_2$  er frigis fra hemoglobin via «Root-effekten» forårsaket av forsuring av blodet av svømmeblærens gasskjertel. «Root-effekten» reduserer bindingskapasiteten for  $\text{O}_2$  i gasskjertelen (*rete mirabile*) slik at svømmeblæra fylles med gass (Se kapittel 7 Bevegelse og oppdrift). I tillegg bidrar  $\text{CO}_2$ , med en rekke sure metabolitter til forsuring av blodet i gasskjertelen, inkludert melkesyre (melkesyre) og  $\text{H}^+$  som stammer fra  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -utveksling og V-type  $\text{H}^+$ -ATPase aktivitet.

#### *Pseudobranchiene*

Selv om den fysiologiske funksjonen til pseudobranchiene er omdiskutert, er det mye som tyder på at dens rolle er å hjelpe de  $\text{O}_2$ -konsentrerende mekanismene i øyet. Netthinnen er tykk og ikke-vaskularisert, og dermed diffunderer ikke  $\text{O}_2$  inn i retinalvevet. Retina har høy metabolisme og derfor stort oksygenbehov. Det må derfor skapes et ekstremt høyt partialtrykk av  $\text{O}_2$  (kan overstige 1 atm, ~101kPa!) bak øyet for å forsyne retina med  $\text{O}_2$ . Som i svømmeblæren (se ovenfor), antar man mekanisme som forårsake den høye  $\text{O}_2$ -konsentrering er «Root-effekten», hvor forsuring av blodet inn i *rete mirabile* (kapittel 7 Bevegelse og oppdrift) fører til økende frigivelse av  $\text{O}_2$  fra hemoglobin til øyet. Selv om blodet kan forsures i årehinnen (choroidea) så vel som i selve øyet, har det blitt foreslått at pseudobranchiene spiller en avgjørende rolle i prekondisjoneringen av blod før det kommer inn i årehinnen. Dette skjer ved tilsetning av  $\text{CO}_2$  og  $\text{H}^+$  til blodet som går gjennom pseudobranchiene, og dermed bidrar til å forsure RBC-ene slik at terskelen til «Root-effekten» nærmer seg. Slik forhåndspreparering vil gi maksimal frigjøring av  $\text{O}_2$  fra hemoglobin med minimal forsuring. Et slikt miljø er viktig, fordi i motsetning til svømmeblæren, som tåler ekstrem forsuring (pH 6,5), er netthinnevevet lite tolerant til endringer i pH. Mekanismen til forsuring av blodet i pseudobranchiene involverer direkte utskillelse av  $\text{CO}_2$  og utskillelse av  $\text{H}^+$  via  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  utveksling og V-type  $\text{H}^+$ -ATPase.

## 9.6 LITTERATUR

### 9.6.1 Anbefalt Litteratur

- Bone, Q and Moore RH. 2008. Chapter 6. Osmoregulation and ion balance. I: Biology of Fishes, Third edition. Taylor and Francis. 161. ISBN 978-0-415-37562-7
- Brix O. 2002. The physiology of living in water, Handbook of Fish Biology and Fisheries. p. 71. DOI: 10.1002/9780470693803.ch4
- Currie S. and Evans DH. 2021. The physiology of fishes. CRC Press, fifth edition. 240 p. DOI:10.1201/9781003036401
- Currie S and Edwards SL. 2010. The curious case of the chemical composition of hagfish tissues – 50 years on. Comp Biochem Physiol Pt A: Mol Integr Physiol 157, 111. DOI: 10.1016/j.cbpa.2010.06.164
- Farrel AP. 2011. Encyclopedia of Fish Physiology. From Genome to Environment. Academic Press. 2272 p. ISBN 9780123745453
- Noble C, Gismervik K, Iversen MH, Kolarevic J, Nilsson J, Stien LH, og Turnbull JF. 2020. Velferdsindikatorer for regnbueørret i oppdrett: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd. NOFIMA, 309 pp. ISBN 978-82-8296-638-2.



Shadwick R, Farrel AP and Braumer CJ. 2016. Physiology of elasmobranch fishes: Internal processes. Academic Press. Fish Physiology Volume 34B. 551 p. ISBN: 978-0-12-801286-4.

Shadwick R, Farrel AP and Braumer CJ. 2015. Physiology of elasmobranch fishes: Structure and interaction with environment. Academic Press. Fish Physiology Volume 34A - 1st Edition. 422 p. ISBN: 978-0-12-801289-5.

Zimmer AM. and Perry SF. 2022. Physiology and aquaculture: A review of ion and acid-base regulation by the gills of fishes. Fish Fisheries 23:874. doi: <https://doi.org/10.1111/faf.12659>

Wood C. and Eom J. 2021. The osmorepiratory compromise in the fish gill. Comp Biochem Physiol Pt A: Mol Integr Physiol 254:110895. doi: [10.1016/j.cbpa.2021.110895](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.110895)

### 9.6.2 Referanser til figurer og tabeller

Ando M, Mukuda T and Takase I. 2000. Integrated aspects of osmoregulation in eels acclimated to sea water. *Trends Comp Biochem Physiol* 6: 85.

Ando M, Mukuda T and Kozaka T. 2003. Water metabolism in the eel acclimated to sea water: from mouth to intestine. *Comp Biochem Physiol* 136B: 621. doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00179-9

Kirsch R, Meens R and Meister MF. 1981. Osmoregulation chez les teleostéens marins: rôle des branchies et du tube digestif. *Bull Soc Zool France* 106: 31.

Bone Q and Moore, RH. 2008. Chapter 6. Osmoregulation and ion balance. I: Biology of Fishes, Third edition. Taylor and Francis. 161- 187. ISBN 978-0-415-37562-7

Edwards SL and Marshall WS. 2013. Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes. In: McCormick SD, Farrel AP and Braumer CJ (red.). Euryhaline fishes. Fish Physiology Vol 32. Academic Press. 2-32. ISBN: 978-0-12-396951-4

McCormick SD, Farrel AP and Braumer CJ. 2013. Euryhaline fishes. Fish physiology. Volume 32. Academic Press. 559 p. ISBN: 978-0-12-396951-4

McCormick SD. 2013 Smolt physiology and endocrinology. In: McCormick SD, Farrell AP and Braumer CJ. (red.) Fish Physiology, Vol 32, 199. ISBN: 978-0-12-396951-4

Noble C, Nilsson J, Stien LH, Iversen MH, Kolarevic J and Gismervik K. 2018. Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd. NOFIMA, 328pp. ISBN 978-82-8296-531-6.

Yance PA. Organic Osmolytes in Elasmobranchs. I. Shadwick R, Farrel AP and Braumer CJ (Eds). Physiology of elasmobranch Fishes: Internal processes. Academic Press. Fish Physiology Vol 34B, 222. ISBN: 978-0-12-801286-4

## ILLUSTRASJONER OG FIGURER

Følgende har bidratt med figurer eller bilder til kapittel 9. Bidragsyterne beholder sine eventuelle copyrightrettigheter uten forkortelse.

Martin Haugmo Iversen 9.1

Harald Kryvi: 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.11, 9.12

Knut Gangåssæter, Doghouse 9.8, 9.9, 9.10, 9.13