

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ – МОРСКОГО КОТА (*Dasyatis pastinaca* L.) И СКОРПЕНЫ (*Scorpaena porcus* L.)

© 2017 г. Ю.А. Силкин, С.М. Коротков*, Е.Н. Силкина

Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН,
298188, Республика Крым, Феодосия, пгт Курортное, ул. Науки, 24

E-mail: ysilkin@mail.ru

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, 194223, Санкт-Петербург, просп. Горького, 44

E-mail: sergey-korotkov@mail.ru

Поступила в редакцию 10.10.16 г.

Исследована скорость поглощения кислорода в суспензиях эритроцитов двух видов черноморских рыб: хрящевого вида – ската, морского кота (*Dasyatis pastinaca* L.) и костистого вида – скорпены (*Scorpaena porcus* L.). Предложенные стимулы активаторов и ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий имели вполне предсказуемые ответы, свидетельствуя о том, что митохондрии эритроцитов рыб имеют классический набор дыхательных ферментов. Несмотря на то что базовое дыхание эритроцитов у морского кота было выше, чем у скорпены, ответы их красных клеток крови на предлагаемые воздействия, позволяющие исследовать дыхательную активность митохондрий, имели обратную зависимость. Скорости поглощения кислорода в суспензиях эритроцитов скорпены в ответ на предлагаемые стимулы были выше как по амплитуде, так и по продолжительности ответа. Проведенные исследования показали высокий энергетический потенциал митохондрий эритроцитов скорпены и ската. Это может являться энергетической основой для поддержания высоких внутриклеточных концентраций АТФ, необходимой не только для покрытия издержек внутриклеточного метаболизма, но и, возможно, для обеспечения особого режима движения крови в ее капиллярном отделе.

Ключевые слова: рыбы, эритроциты, полярнография, митохондрии.

Хорошо известно, что ядерные эритроциты позвоночных животных, являющиеся полноценными клетками, имеют функциональные митохондрии и потребляют кислород в процессе своей жизнедеятельности [1]. Зрелые ядерные эритроциты позвоночных, в том числе и рыб, обладают метаболической способностью как аэробного, так и анаэробного ресинтеза АТФ. При этом в аэробных условиях ядерные эритроциты продуцируют АТФ для своих потребностей преимущественно (~ на 99%) за счет «дыхания» митохондрий [2], что является их основным отличием от безъядерных клеток млекопитающих, энергетические издержки которых покрываются исключительно гликолитическим путем [3]. Важность кислородного метаболизма продуцирования макроэргических фосфатов в эритроцитах рыб *in vivo* и *in vitro* подчеркивают наблюдения функционального метаболического замедления обмена клеток в анаэробных условиях. Гипоксия хоть и активизирует гликолиз, но лишь на 20% от величины, необходимой для продуцирования догипоксического уровня мак-

роэргов. Таким образом, наблюдаемое замедление обмена у этих клеток обеспечивается прежде всего за счет четкого согласования в эритроцитах механизмов расхода АТФ и ее синтеза. Это может свидетельствовать в пользу того, что эритроциты рыб хорошо адаптированы к гипоксии, имеют гипоксическую толерантность и активизируют аэробный метаболизм при благоприятном кислородном окружении [2].

Несмотря на то что о «дыхании» ядерных эритроцитов позвоночных известно давно, функциональная активность их митохондрий изучена недостаточно. Это касается как небольшого разнообразия видов, взятых для исследования, так и представлений о количестве митохондрий в эритроцитах, топографии их расположения, активности отдельных ферментов и комплексов электрон-транспортной цепи, скорости потребления кислорода и продуцирования АТФ. Пробелы в этой области столь велики, что для некоторых классов позвоночных (земноводные, рептилии и птицы) нет четких микроскопических доказательств существова-

ния митохондрий в зрелых эритроцитах, хотя функциональная активность цитохромоксидазной цепи в этих клетках регистрируется [4,5]. У некоторых саламандр в зрелых эритроцитах не найдено ядро [6]. В эритроцитах других земноводных в непосредственной близости от ядра обнаружено небольшое количество митохондрий, часто имеющих существенные морфологические отклонения в их структуре [7]. У птиц одни исследователи регистрируют наличие митохондрий [8,9], а другие сообщают, что митохондрии идентифицируются только в молодых эритроцитах и исчезают по мере их созревания [10]. Во всяком случае, в отношении митохондриального аппарата для многих классов позвоночных требуются еще много дополнительных исследований.

Известно, что энергетический метаболизм эритроцитов рыб, в частности лососевых, изучен лучше других классов позвоночных [11–14]. У этих рыб установлено наличие активно функционирующих митохондрий, полноценного рибосомального аппарата и, следовательно, способности к биосинтезу белка на протяжении всего жизненного цикла. Благодаря этому эритроциты рыб являются долгоживущими клетками с относительно высоким уровнем дыхательной активности. Это обстоятельство определяет важность исследований по оценке энергетического потенциала митохондрий в эритроцитах у двух видов черноморских рыб. Кроме того, ранее нами была обнаружена теплопродуктивная активность суспензий эритроцитов скорпены *in vitro* [15]. Способность клеток в течение продолжительного времени продуцировать тепло за счет теплового гидролиза АТФ указывает на актуальность изучения митохондриального биоэнергетического комплекса в эритроцитах черноморских рыб – скорпены и ската.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение суспензий эритроцитов. Исследовали скорости поглощения кислорода в суспензиях эритроцитов двух видов черноморских рыб: хрящевого вида – ската, морского кота (*Dasyatis pastinaca* L.) и костистого вида – скорпены (*Scorpaena porcus* L.). Кровь у ската получали пункцией сердца специальной медицинской иглой (Dispomed, Германия) с длинной гепаринизированной силиконовой трубкой. У скорпены кровь получали пункцией хвостовой артерии специально заточенной пипеткой. Кровь собирали в стаканчик с охлажденным до +4°C физиологическим раствором в соотношении 1 : 20. Изотонический физиологический раствор для клеток морского кота имел

следующий состав: 220 мМ NaCl, 300 мМ мочевины, 5 мМ трис-HCl (pH 7,4), для скорпены – 180 мМ NaCl и 10 мМ трис-HCl (pH 7,4). Эритроциты трижды отмывали от плазмы и лейкоцитов, которые после каждого осаждения аккуратно отсасывали с поверхности осажденных клеток микропипеткой. Осаждение эритроцитов проводили на центрифуге с охлаждением модели К-23 (Германия) при скорости 1500 об/мин. Отмытые клетки ресуспендировали до гематокрита, равного 25–30%. Полученные суспензии использовали для проведения опытов по измерению скоростей поглощения кислорода.

Измерение скоростей поглощения кислорода суспензией эритроцитов. Скорости поглощения кислорода суспензией эритроцитов (пг-моль O₂/мин·10⁶ клеток) измеряли полярографическим методом с применением закрытого платинового электрода Кларка на анализаторе Эксперт-001 (НПО «Эконикс эксперт», Москва, Россия) при 26°C в ячейке объемом 1,2 мл. Концентрации добавок трис-глутамата, трис-малата, АДФ, дигитонина, олигомицина, 2,4-динитрофенола, ротенона, трис-сукцината и NaN₃ указаны в подписях к рисункам.

Все использованные реактивы (2,4-динитрофенол, мочевины, сукцинит, NaN₃, NaCl, трис-HCl, трис-ОН, олигомицин, АДФ, глутамат, малат, дигитонин) были получены от фирмы «Sigma» (США).

Статистическая обработка данных. Результаты измерений представлены в виде типичных кривых, полученных для четырех независимых экспериментов. Достоверность различий определяли с помощью критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ядерные эритроциты исследованных рыб, отмывые от плазмы и ресуспендированные в физиологическом растворе в диапазоне 20–30%, показали наличие базового «дыхания» клеточных суспензий (рис. 1–4). При этом активность митохондриального дыхания (при расчете на миллион клеток) в эритроцитах рыбы хрящевого вида – морского кота (*D. pastinaca* L.) была более чем в два раза выше по сравнению с рыбой костистого вида – скорпеной (*S. porcus* L.) и составляла соответственно $14,6 \pm 1,1$ и $6,0 \pm 0,7$ пг-моль O₂/мин·10⁶ клеток. По мнению авторов, расчеты скорости потребления кислорода на клетку (или на определенное их количество) более точно отражают межвидовые различия по этому показателю. В мировой литературе в основном показаны значения дыха-

тельной активности клеток, рассчитанные на объем клеток (мкл, мм³). Это может приводить к ошибочным выводам ввиду широкого диапазона размеров эритроцитов в ряду позвоночных. Примером могут служить расчеты скорости потребления кислорода на объем эритроцитов исследованных нами видов рыб. Так, эритроциты ската почти в три раза больше по объему (800 мкм³) эритроцитов скорпены (300 мкм³). Поэтому пересчет активности на микролитр (мкл) клеток показал более высокие показатели дыхания клеточных суспензий скорпены (в 1 мкл – 3,3·10⁶ клеток) – 19,8 пг-моль O₂·мкл⁻¹ эритроцитов·мин⁻¹ – по сравнению со скатом (в 1 мкл – 1,25·10⁶ клеток), равное 18,3 пг-моль O₂·мкл⁻¹ эритроцитов·мин⁻¹. Полученные значения показателей митохондриального дыхания исследованных видов рыб по сравнению, например, с дыхательной активностью разных возрастных фракций эритроцитов радужной форели (90,0–193,0 пг-моль O₂·мкл⁻¹ эритроцитов·мин⁻¹) были невелики. Максимальной скоростью поглощения кислорода обладала фракция молодых эритроцитов, которая более чем в два раза превосходила скорость потребления кислорода «старых» клеток. Тем не менее скорость «дыхания» даже у старых эритроцитов была в четыре раза выше, чем в суспензиях исследованных нами видов рыб. Возможно, высокие значения митохондриального дыхания в эритроцитах радужной форели были обусловлены особой подготовкой образцов, когда суспензии клеток подвергались часовой аэрации воздухом для насыщения гемоглобином перед измерением. Как указывают авторы, в отдельных опытах скорость потребления кислорода «молодых» эритроцитов была еще выше и составляла 325,0 пг-моль O₂·мкл⁻¹ эритроцитов·мин⁻¹ [12]. Кроме рыб, в литературе имеются данные по скорости потребления кислорода у других представителей позвоночных, имеющих ядерные эритроциты. Так, по данным П.А. Коржуева [1], эритроциты голубя и кур имеют активное аэробное дыхание и утилизируют кислород со скоростью 78,0–90,0 пг-моль O₂·мкл⁻¹ эритроцитов мин⁻¹, а клетки лягушки – со скоростью 51,0 пг-моль O₂·мкл⁻¹ эритроцитов·мин⁻¹. Эти результаты свидетельствуют о том, что эритроциты лососевых рыб не только не уступают, но и превосходят по «дыхательной» активности показатели, найденные для более эволюционно продвинутых позвоночных животных. Эритроциты рыб исследованных нами видов, как уже говорилось, не обладали высокой базовой скоростью утилизации кислорода. В этой связи было важно выяснить, какими сти-

мулами и насколько можно увеличить потребление кислорода в клеточных суспензиях *in vitro*.

На рис. 1–4 представлены результаты проведенных исследований в виде типичных полярографических измерений дыхания эритроцитов морского кота и скорпены. Полярограммы отличались как по набору применяемых стимулов, так и по очередности их применения. Как видно из представленных полярограмм, субстрат первого митохондриального комплекса, содержащий 5 мМ глутамата и 5 мМ малата, во всех случаях вызывал значительное увеличение скоростей поглощения кислорода суспензией эритроцитов исследованных рыб. Особенно высокими были приросты потребления кислорода в суспензиях эритроцитов скорпены, они в 13–37 раз превышали уровни базового дыхания клеточных суспензий (рис. 3, кривая 1; рис. 4, кривые 1 и 2). Даже у обработанных олигомицином эритроцитов скорпены (рис. 3, кривая 2) уровень дыхания увеличивался более чем в пять раз, что значительно превышало этот показатель (1,5 раза) в эритроцитах морского кота (рис. 1, кривая 2). При добавлении этих субстратов глутамата и малата поразительными были не только высокие показатели скорости митохондриального дыхания эритроцитов рыб, но и быстрота ответа, который наступал мгновенно после добавления стимула, без какой-либо лаг-фазы. Такой быстрый ответ свидетельствует о возможном существовании в плазматической мембране эритроцитов рыб специального транспортера или канала, обеспечивающего транспорт субстратов в цитозоль и митохондрии исследуемых клеток. Стимуляция дыхания энергизованных глутаматом и малатом митохондрий, выделенных из эритроцитов электрического ската (*Torpedo marmorata* Risso), была отмечена и в работе [16]. В этой же работе была показана стимуляция дыхания митохондрий при добавлении сукцината, который является субстратом второго митохондриального комплекса.

Интересно отметить, что после воздействия на эритроциты ингибитора первого комплекса дыхательной цепи митохондрий ротенона и разобщителя окислительного фосфорилирования 2,4-динитрофенола наблюдали стимуляцию дыхания эритроцитов двух видов исследованных рыб.

Повторное внесение 100 мкМ 2,4-динитрофенола стимулировало почти двукратное увеличение скорости поглощения кислорода в суспензиях эритроцитов ската (рис. 1, 2) и в 1,2–1,5 раза в суспензиях клеток скорпены (рис. 3, 4). При этом как у морского кота, так и у скорпены эту стимуляцию не тормозили ни две последо-

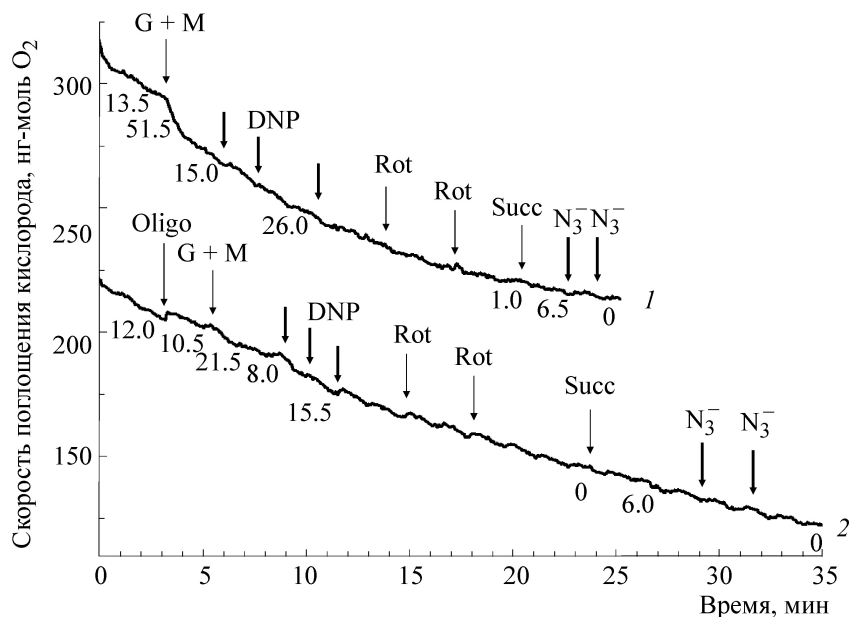


Рис. 1. Скорости поглощения кислорода суспензией эритроцитов морского кота. Эритроциты (25%-й гематокрит) добавляли в среду, содержащую 220 мМ NaCl, 300 мМ мочевины, 5 мМ трис-HCl (pH 7,4). Стрелками соответственно показаны добавки реагентов до концентраций в среде: 5 мМ трис-глутамата и 5 мМ трис-малата (G + M), 100 мкМ 2,4-динитрофенола (DNP), 4 мкМ ротенона (Rot), 5 мМ трис-сукцината (Succ), 5 мМ NaN_3 (N_3^-) и 10 мкг/мл олигомицина (Oligo). Цифрами над кривыми обозначены скорости поглощения кислорода эритроцитами ($\mu\text{г-моль O}_2/\text{мин}\cdot 10^6$ клеток). Представлены типичные кривые для четырех серий независимых экспериментов. Среднеквадратичное отклонение скоростей было в пределах 5% ($p < 0,05$).

вательные добавки 0,01% дигитонина, ни 10 мкг/мл олигомицина – ингибитора митохондриальной H^+ -АТФсинтазы (рис. 2, 4).

Дигитонин, обладая свойствами поверхностно-активного вещества, был применен в наших экспериментах для пермеабиллизации плазматических мембран эритроцитов рыб с целью увеличения проницаемости этой мембраны для АДФ. Сама по себе добавка АДФ не стимулировала поглощение кислорода суспензиями эритроцитов, но после двукратного внесения в среду 0,01% дигитонина скорость потребления кислорода увеличивалась в опытах с эритроцитами морского кота в два раза (рис. 2), а в эритроцитах скорпены – в 6–19 раз (рис. 4).

Предсказуемым было и воздействие ротенона. Две последовательные добавки (3 мкМ) ротенона, являющегося ингибитором I-го дыхательного комплекса митохондрий, эффективно ингибировали поглощение кислорода в суспензиях эритроцитов рыб независимо от ранее предлагаемых стимулов (рис. 1–4). Следует отметить обратимость эффекта блокировки этого процесса ротеноном. Последующая добавка в суспензию эритроцитов рыб 5 мМ сукцината снимала ингибиторный эффект ротенона и увеличивала скорость дыхания у морского кота в 4,0–8,5 раз, а у скорпены этот процесс в неко-

торых случаях носил лавинообразный характер с большим разбросом в разных опытах, в пределах от 11 до 250 раз.

Олигомицин вызывал значительное снижение скоростей поглощения кислорода в суспензиях эритроцитов исследованных рыб. На фоне олигомицина ни у морского кота, ни у скорпены не происходило значимого ускорения дыхательной активности эритроцитов, которое имело место при действии стимуляторов в других экспериментах (рис. 1–4).

Азид натрия, подобно цианиду калия, быстро блокировал поглощение кислорода эритроцитарными суспензиями морского кота и скорпены, действуя необратимо на конечное звено митохондриальной электрон-транспортной цепи при передаче электронов молекуле кислорода.

Использованные стимулы активаторов и ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий имели вполне предсказуемые ответы, свидетельствуя о том, что митохондрии эритроцитов рыб имеют классический набор дыхательных ферментов. Аналогичные исследования на эритроцитах обыкновенного электрического ската (*T. marmorata* Risso) показали наличие классических ответных реакций митохондриальных препаратов этих клеток [16]. Биохими-

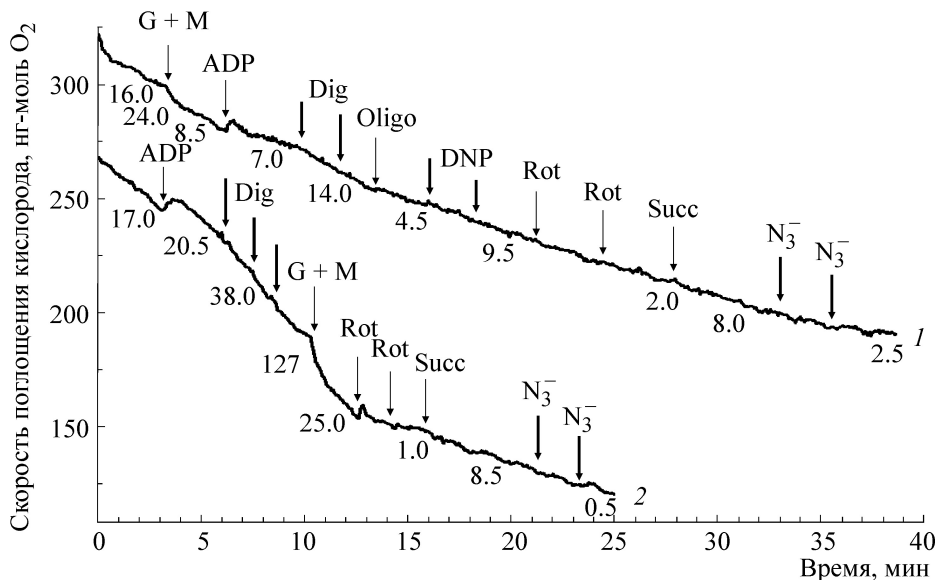


Рис. 2. Скорости поглощения кислорода суспензией пермеабелизованных дигитонином эритроцитов морского кота. Эритроциты (25%-й гематокрит) добавляли в среду, содержащую 220 мМ NaCl, 300 мМ мочевины, 5 мМ трис-НСl (рН 7,4). Стрелками соответственно показаны добавки реагентов до концентраций в среде: 5 мМ трис-глутамата и 5 мМ трис-малата (G + M), 1 мМ АДФ (ADP), 0,01% дигитонина (Dig), 10 мкг/мл олигомицина (Oligo), 100 мкМ 2,4-динитрофенола (DNP), 4 мкМ ротенона (Rot), 5 мМ трис-сукцината (Succ) и 5 мМ NaN_3 (N_3^-). Цифрами над кривыми обозначены скорости поглощения кислорода эритроцитами (пг-моль $\text{O}_2/\text{мин} \cdot 10^6$ клеток). Представлены типичные кривые для четырех серий независимых экспериментов. Среднеквадратичное отклонение скоростей было в пределах 5% ($p < 0,05$).

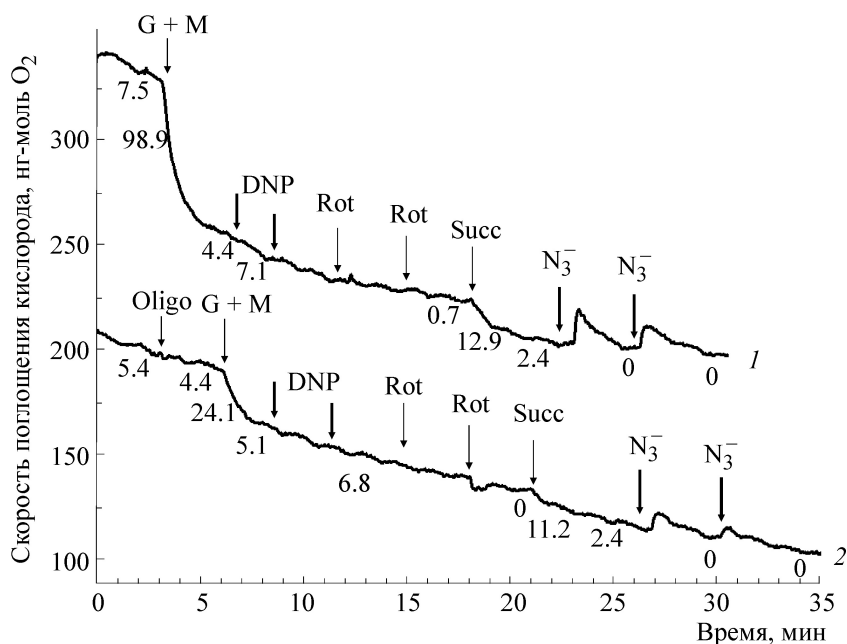


Рис. 3. Скорости поглощения кислорода суспензией эритроцитов скорпены. Эритроциты (25%-й гематокрит) добавляли в среду, содержащую 180 мМ NaCl и 10 мМ трис-НСl (рН 7,4). Остальные обозначения и добавки, как на рис. 1.

ческий анализ митохондрий выявил наличие цитохрома *b*, цитохромов *c + c₁* и *a + a₃*. Солюбилизация митохондриальных препаратов

выявила наличие комплекса I, комплекса III и комплекса IV в их дыхательной цепи. Проведенные нами исследования также показали вы-

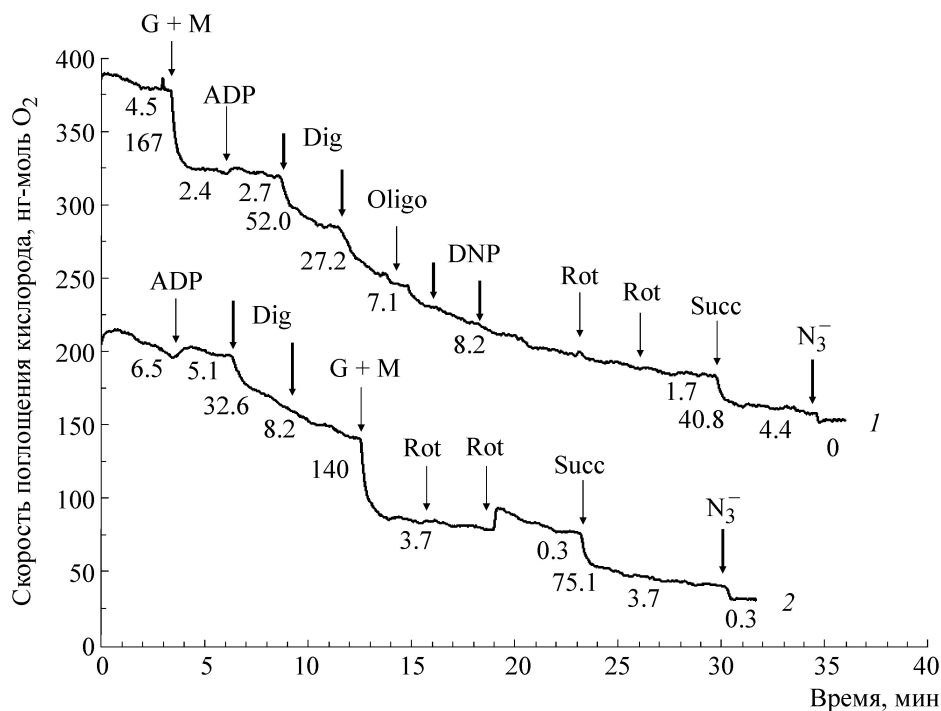


Рис. 4. Скорости поглощения кислорода суспензией пермеабилizованных дигитонином эритроцитов скорпены. Эритроциты (25%-й гематокрит) добавляли в среду, содержащую 180 мМ NaCl и 10 мМ трис-HCl (pH 7,4). Остальные обозначения и добавки, как на рис. 2.

сокие потенциальные возможности митохондрий у исследованных эритроцитов морских рыб. Несмотря на то что базовое дыхание эритроцитов у морского кота было выше, чем у скорпены, ответы их красных клеток крови на предлагаемые воздействия, позволяющие исследовать дыхательную активность митохондрий, имели обратную зависимость. Скорости поглощения кислорода в суспензиях эритроцитов скорпены в ответ на предлагаемые стимулы характеризовались большими скоростями, как по амплитуде, так и по продолжительности ответа (рис. 1–4). Особенно заметными были приросты этих скоростей при добавлении к суспензиям энергетических субстратов – глутамата с малатом или сукцината. В некоторых случаях в суспензиях эритроцитов скорпены скорость дыхания возрастала в 250 раз после добавки сукцината (рис. 4, кривая 2) по отношению к остаточному дыханию после внесения в среду ротенона, а максимальная скорость в отдельных опытах достигала 167,0 пг-моль $O_2 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot 10^6$ клеток (рис. 4, кривая 1) (или 551,0 пг-моль $O_2 \cdot \text{мкл}^{-1}$ эритроцитов-мин⁻¹). Такая высокая скорость митохондриального дыхания в данных условиях эритроцитов скорпены уже была в 1,7 раза выше дыхательной активности молодых эритроцитов радужной форели, равной 325,0 пг-моль $O_2 \cdot \text{мкл}^{-1}$ эритроцитов-мин⁻¹

[12]. Прирост скоростей поглощения кислорода суспензиями эритроцитов морского кота при добавлении исследованных субстратов в большинстве опытов были не столь высокими (рис. 1, 2). Только в одном случае после добавления глутамата с малатом максимальная скорость составила 127,0 пг-моль $O_2 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot 10^6$ клеток (рис. 1, кривая 1) (или 159,0 пг-моль $O_2 \cdot \text{мкл}^{-1}$ эритроцитов-мин⁻¹). Хотя это значительно меньше максимальной дыхательной активности эритроцитов скорпены, можно сказать, что эритроциты морского кота также обладают достаточно активными митохондриями. Возможно, высокий энергетический потенциал митохондрий эритроцитов скорпены и морского кота может быть необходимой энергетической основой для поддержания высоких внутриклеточных концентраций АТФ, а также обеспечения теплопродукционной способности эритроцитов рыб [15]. Мы полагаем, что это происходит за счет работы экто-нуклеотидаз, катализирующих процессы теплового гидролиза АТФ на поверхности мембраны эритроцитов. Видимо, дозозависимый выход АТФ из клеток в процессе деформационного стресса и ее тепловой гидролиз на поверхности эритроцита может влиять на обеспечение особого реологического режима в капиллярном отделе кровотока, названного эффектом Фареуса–Линдгвиста.

Этот феномен двадцатикратного понижения вязкости крови в капиллярах с диаметром менее 300 мкм по сравнению с более крупными сосудами был открыт в первой трети XX века и лежит в основе так называемых «неньютоновских» свойств крови [17].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. П. А. Коржуев, *Гемоглобин* (Наука, М., 1964).
2. R. A. Ferguson, B. L. Tufts, and R. G. Boutilier, *J. Exp. Biol.* **143**, 133 (1989).
3. Е. А. Липунова и М. Ю. Скоркина, *Физиология крови* (Изд-во БелГУ, Белгород, 2007).
4. S. Ogo, C. Bernardes, M. Glass, et al., *J. Comp. Physiol. B* **163**, 614 (1993).
5. H. Zentgraf, B. Deumling, E. Jarasch, and W. Franke, *J. Biol. Chem.* **246**, 2986 (1971).
6. M. Villolobos, P. León, S. K. Sessions, and J. Kezer, *Herpetologica* **44**, 243 (1988).
7. J. Tooze and H. Davies, *J. Cell Sci.* **2**, 617 (1967).
8. K. Beam, S. Alper, G. Palade, and P. Greengard, *J. Cell Biol.* **83**, 1 (1979).
9. F. Leighton, *Vet. Pathol.* **22**, 393 (1985).
10. C. Watts and K. Wheeler, *Biochem. J.* **173**, 899 (1978).
11. R. A. Ferguson and R. G. Boutilier, *J. Exp. Biol.* **143**, 149 (1989).
12. M. C. L. Phillips, C. D. Moyes, and B. L. Tufts, *J. Exp. Biol.* **203**, 1039 (2000).
13. C. D. Moyes, M. L. Sharma, C. Lyons, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1591**, 11 (2002).
14. L. Tiano, D. Fedeli, G. Santoni, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1640**, 105 (2003).
15. Ю. А. Силкин, Е. Н. Силкина и А. Я. Столбов, *Биофизика* **59** (6), 1097 (2014).
16. A. Pica, S. Scacco, F. Papa, et al., *Comp. Biochem. Physiol. Part B* **128**, 213 (2001).
17. R. Fåhræus and T. Lindqvist, *Am. J. Physiol.* **96**, 562 (1931).

The Study of Bioenergetic Characteristics of the Red Blood Cells of Black Sea Fishes – Common Stingray (*Dasyatis pastinaca* L.) and Black Scorpionfish (*Scorpaena porcus* L.)

Yu.A. Silkin*, S.M. Korotkov**, and E.N. Silkina*

*Vyazemsky Karadag Research Station – Nature Reserve, Russian Academy of Sciences, ul. Nauki 24, pos. Kurortnoe, Feodosia, 298188, Republic of Crimea, Russia

**Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, prosp. Toreza 44, St. Petersburg, 194223 Russia

The rate of oxygen uptake in red blood cell suspensions of two Black Sea fish species: cartilaginous fish common stingray (*Dasyatis pastinaca* L.) and teleost black scorpionfish (*Scorpaena porcus* L.) is investigated. The proposed stimuli of activators and inhibitors of the electron transport chain of mitochondria had very predictable responses, indicating that mitochondria in fish erythrocytes have a classical set of respiratory enzymes. Despite the fact that the basic respiratory activity of common stingray erythrocytes was greater than that of scorpionfish ones, the responses of common stingray red blood cells to proposed exposure during investigation of respiratory activity of the mitochondria have an inverse relationship. The rates of oxygen consumption in suspensions of scorpionfish erythrocytes in response to the proposed stimuli were higher as seen in the amplitude and response duration. Investigations have shown a high energy potential of the mitochondria of scorpionfish and stingray red blood cells. This may be the energy basis for maintaining high intracellular concentrations of ATP required not only to maintain an adequate level of intracellular metabolism, but also probably to provide a special mode of blood flow through the capillary beds.

Key words: fish, erythrocytes, polarography, mitochondria