

Aus dem  
Institut für Veterinär-Physiologie  
und dem  
Institut für Veterinär-Pathologie  
des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

**Untersuchungen zur Regulation des Säuren-Basen- und Elektrolythaushaltes beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) bei Normoxie, Hyperkapnie und erhöhten Wasserkonzentrationen von Ammoniak / Ammonium anhand arterieller Blutwerte**

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Matthias Wölm**

Tierarzt aus Gardelegen

Berlin 1997

Journal-Nr. 2117

Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. K. Hartung

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. R. Rudolph

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. em. L. Lyhs

Tag der Promotion: 19.12.1997

*Meiner Familie*

<b>I. EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II. LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>4</b>
1. SÄUREN-BASEN-HAUSHALT: REGULATIONSMECHANISMEN UND -ORGANE.....	4
1.1. PUFFERUNG .....	4
1.2. KIEMEN ALS REGULATIONSORGAN DES SÄUREN-BASEN- UND ELEKTROLYTHAUSHALTES.....	5
1.2.1. WASSERSTOFFIONEN ( $H^+$ ), NATRIUMIONEN ( $Na^+$ ).....	5
1.2.2. BIKARBONAT ( $HCO_3^-$ ), CHLORIDIONEN ( $Cl^-$ ).....	6
1.2.3. $NH_4^+/NH_3$ .....	7
1.3. NIEREN ALS REGULATIONSORGAN DES SÄUREN-BASEN- UND ELEKTROLYTHAUSHALTES.....	9
2. RESPIRATORISCHE STÖRUNGEN DES SÄUREN-BASEN-HAUSHALTES.....	11
2.1. VERHALTEN VON GASEN IN WASSER.....	11
2.2. KOHLENDIOXID: PRODUKTION, TRANSPORT UND ABGABE AN DIE UMWELT.....	12
2.2.1. HYPERKAPNIE.....	15
2.3. AMMONIAK / AMMONIUM: PRODUKTION, TRANSPORT, ABGABE UND WIRKUNG.....	16
2.4. VERBINDUNGEN VON SÄURE-BASEN-HAUSHALT UND SAUERSTOFFVERSORGUNG.....	19
2.4.1. HYPEROXIE .....	20
2.4.2. HYPOXIE .....	21
3. EINFLUSS ZIRKULIERENDER KATECHOLAMINE AUF DEN SÄUREN-BASEN-UND ELEKTROLYT- HAUSHALT .....	23
4. AUSWIRKUNGEN VERÄNDERTER WASSER-PH-WERTE AUF DEN SÄUREN-BASEN- UND ELEK- TROLYTHAUSHALT .....	29
4.1. SAURE $pH_W$ .....	29
4.2. ALKALISCHE $pH_W$ .....	31
5. KONTROLL- BZW. RUHEWERTE BEIM KARPFFEN.....	32
5.1. BLUT-PH, BLUTGASWERTE, BLUT-BIKARBONAT- UND -LAKTATKONZENTRATION .....	32
5.2. HÄMATOKRIT (Hk), HÄMOGLOBINKONZENTRATION (Hb), ERYTHROZYTENKONZENTRATION, MITTLERER HÄMOGLOBINGEHALT DER ERYTHROZYTEN (MCHC) UND MITTLERES ERYTHRO- ZYTENVOLUMEN (MCV).....	34
5.3. ELEKTROLYTKONZENTRATIONEN .....	35
5.4. GESAMTAMMONIAKKONZENTRATION [ $NH_3 + NH_4^+$ ] IM KARPFFENBLUT .....	35
5.5. KATECHOLAMINKONZENTRATION .....	36
<b>II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....</b>	<b>37</b>
<b>6. MATERIAL UND METHODE.....</b>	<b>37</b>
6.1. HALTUNG UND VORBEREITUNG DER VERSUCHSTIERE.....	37

6.2. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	39
6.3. BLUTANALYSEN.....	42
6.4. WASSERANALYSEN.....	43
6.5. STATISTIK.....	44
6.6. PROTOKOLL DER WASSERWERTE $\text{pH}_W$ , $[\text{CO}_2]_W$ , $\text{p}_W\text{O}_2$ , $[\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+]_W$ .....	44
6.6.1. $\text{pH}_W$ .....	44
6.6.2. $[\text{CO}_2]_W$ .....	48
6.6.3. AMMONIAK.....	50
6.6.4. $\text{p}_W\text{O}_2$ .....	52
7. ERGEBNISSE.....	54
7.1. KONTROLLGRUPPE.....	55
7.2. VERSUCHSGRUPPEN.....	60
<b>III. DISKUSSION.....</b>	<b>80</b>
8. METHODIK UND KONTROLLGRUPPE.....	80
9. VERSUCHSGRUPPEN.....	81
9.1. HYPERKAPNIE / AMMONIAKBELASTUNG.....	82
9.2. RÜCKKEHR ZUR NORMOKAPNIE.....	89
<b>IV. ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>92</b>
<b>V. SUMMARY.....</b>	<b>95</b>
<b>VI. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>97</b>
ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE.....	120
<i>Lebenslauf.....</i>	<i>121</i>

## I. Einleitung und Aufgabenstellung

Karpfen sind als bedeutende Wirtschaftsfische verschiedensten Umweltbedingungen ausgesetzt. Das Verbreitungsgebiet der Wildform beschränkt sich auf wärmere Regionen, während Zuchtformen auch in klimatischen Regionen gehalten werden, in denen ein Überleben der Art insbesondere wegen der Notwendigkeit relativ hoher Wassertemperaturen für die Fortpflanzung nicht möglich wäre. Den Anforderungen an die Umgebungstemperatur wird bei der künstlichen Vermehrung Rechnung getragen. Bei Aufzucht und Mast ist die aktive Temperaturgestaltung meist aus ökonomischen Gründen nicht vertretbar, so daß in diesen Phasen stark wechselnde Bedingungen auftreten können. Dies trifft auch auf andere exogene Faktoren zu, die teilweise temperaturabhängig reagieren oder anderweitig schwanken.

Durch Ausscheidungs- und Austauschprozesse beeinflussen Fische den sie umgebenden aquatischen Lebensraum auch selbst. Insbesondere bei hohen Besatzdichten kommt es dadurch zu komplexen Veränderungen der Wasserzusammensetzung, auf die sich das Individuum einstellen muß. Werden kritische Konzentrationen bestimmter Wasserinhaltsstoffe erreicht, führt dies zu Leistungseinschränkungen und gesundheitlichen Belastungen und im Falle der Überschreitung der Regulationsfähigkeit zum Tod.

Diese Arbeit befaßt sich mit der Wirkung veränderter, den Säure-Basen- und Elektrolythaushalt des Karpfens beeinflussende Umweltbedingungen auf verschiedene Blutparameter. Im Vordergrund stehen mit dem Kohlendioxidpartialdruck, der Wasserstoffionenkonzentration und der Ammoniakkonzentration Wasserparameter, die sowohl durch exogene Einflüsse als auch durch die Stoffwechselaktivität der Fische variieren können, sich gegenseitig komplex beeinflussen und deshalb bei Haltung und Transport von Karpfen von Bedeutung sind.

Diese drei Parameter führen bei Überschreitung (und im Fall der Wasserstoffionenkonzentration auch bei Unterschreitung) artspezifischer Grenzwerte zu Leistungsminderung, Krankheit und Tod, werden jedoch in bestimmter Variationsbreite toleriert.

Ziel dieser Arbeit ist es, Verläufe verschiedener Blutparameter zu ermitteln, von denen Rückschlüsse auf Regulationsmechanismen im Toleranzbereich o. g. Wasserparameter möglich sind.

Dazu ist es notwendig, standardisierte Versuchsbedingungen zu schaffen, um andere Einflüsse (z. B. Schwankungen der Temperatur und des Sauerstoffpartialdruckes) gering zu halten.

Da die bestehenden Einrichtungen zur Fischhaltung und Versuchsdurchführung im Institut für Physiologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin bzw. (nach Fusion) des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin (Standort Berlin-Mitte) qualitativ und quantitativ nicht ausreichen, sind für die Durchführung der Versuche Konzeption und Bau von Haltungs-, Vorbereitungs- und Versuchseinrichtungen notwendig. Diese sind den räumlichen Gegebenheiten des Institutes für Physiologie anzupassen, sollen die gewünschten standardisierten Versuchsbedingungen ermöglichen und die Basis für weitere fischphysiologische Untersuchungen am Institut bilden.

Verlaufsuntersuchungen von Blutparametern werden häufig an großen Tierzahlen bei einmaliger Blutentnahme zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt.

In dieser Arbeit sollen Versuche mit mehrmaliger Blutentnahme an relativ wenigen Einzeltieren durchgeführt werden.

Da zur Bestimmung vieler Parameter nur Blutplasma gebraucht wird, ist abweichend von aus der Literatur bekannten Versuchen die Reinfusion gewaschener korpuskulärer Blutbestandteile vorgesehen.

Es wird erwartet, daß mit dieser Methode trotz Entnahme relativ großer Blutmengen genaue Verlaufswerte am Einzeltier zu ermitteln sind und die Reinfusion den Verlust an korpuskulären Blutbestandteilen minimiert.

Da weiterhin zu erwarten ist, daß diese methodische Vorgehensweise aufgrund zu geringen Blutvolumens bei kleinen Karpfen nicht zum Erfolg führt, sind die Versuche an Karpfen mit einer Körpermasse von mehr als 2 kg geplant.

Über starke Erhöhung der Kohlendioxidkonzentration im Wasser (Hyperkapnie) soll bei den Versuchstieren eine Azidose provoziert werden. Zusätzlich wird ein Teil der Tiere erhöhten Ammoniakkonzentrationen im Wasser ausgesetzt, um eventuell vorhandene Auswirkungen derartiger Wasserveränderungen zu erfassen. Das Verhalten der Blutparameter bei anschließender Rückkehr zur Normokapnie soll ebenfalls untersucht werden.

Folgende Blutparameter sollen bestimmt und in die Betrachtung einbezogen werden:

$pH_a$ ,  $p_aCO_2$ ,  $[HCO_3^-]_a$ ; BE;

$p_aO_2$ , Hk,  $[Hb]_a$ ,  $[Erythr.]_a$ , MCHC;

$[Cl^-]_{pl}$ ,  $[Na^+]_{pl}$ ,  $[K^+]_{pl}$ ,  $[Ca^{2+}]_{pl}$ ;

$[Adrenalin]_{pl}$ ,  $[Noradrenalin]_{pl}$ ;

$[NH_3 + NH_4^+]_{pl}$ .

Ultsch et al. (1981) zeigten, daß die Senkung des Wasser-pH ( $pH_W$ ) beim Karpfen zur metabolischen Azidose mit Beeinflussung des Elektrolytstatus führt. Neben fallenden Plasmakonzentrationen von  $Cl^-$  und  $Na^+$  erzeugt die Azidose eine Hypoxämie, die zusätzlich belastend wirkt.

Hyperkapnie des Wassers provoziert ebenfalls eine Azidose bei Karpfen. Hyperkapniebegleitend steigt die Abgabe von  $NH_4^+$ ,  $H^+$  und  $Cl^-$  in das Wasser und die Aufnahme von  $Na^+$  aus dem Wasser (Claiborne & Heisler, 1984; 1986).

Da der Blut-pH fällt und der  $pCO_2$  im Blut steigt, entsteht zusätzlich eine Hypoxämie.

Hypoxämische Bedingungen erfordern regulatorische Antworten, die besonders auf die Gewährleistung der Sauerstoffversorgung ausgerichtet sind.

Karpfen reagieren u. a. mit erhöhten Katecholaminkonzentrationen im Blut (z. B. Mazeaud,

1964; Fuchs & Albers, 1988; Kakuta & Murachi, 1992), wobei stark differierende Ergebnisse bezüglich der absoluten Konzentrationsanstiege und der Relation von Adrenalin zu Noradrenalin bestehen und keine verlässlichen Ergebnisse unter hyperkapnischen Bedingungen existieren.

Katecholamine beeinflussen *in vitro* und *in vivo* den extrazellulären und intrazellulären Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt im Karpfenblut über Modulation der Austausch- und Transportprozesse an der Erythrozytenmembran (z. B. Fuchs & Albers, 1988; Salama & Nikinmaa, 1988), was vor allem der Verbesserung der Sauerstoffversorgung dient.

Das methodische Vorgehen und die Untersuchung der o. g. Blutparameter soll zur Beantwortung folgender Fragen beitragen:

1. Sind die konzipierten Haltungs-, Vorbereitungs- und Versuchseinrichtungen geeignet, standardisierte und streßarme Bedingungen zu gewährleisten?
2. Ist eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die gewählte Blutentnahme- und Reinfusionstechnik ausgeschlossen?
3. In welchem Umfang wird die hyperkapnieinduzierte Azidose und Hypoxämie mit Veränderungen der arteriellen Blutzusammensetzung beantwortet?
4. Sind die von Claiborne & Heisler (1984; 1986) beschriebenen veränderten Ionenaustausch- und -transportprozesse zwischen Karpfen und Wasser bei Hyperkapnie mit veränderten Plasmakonzentrationen dieser Ionen verbunden?
5. Kommt es bei hyperkapnieinduzierter Azidose und Hypoxämie wie bei anderen hypoxämischen Zuständen (Mazeaud, 1964; Fuchs & Albers, 1988; Kakuta & Murachi, 1992) ebenfalls zur Freisetzung von Katecholaminen in das zirkulierende Blut und wie verhält sich dabei deren Konzentration zueinander?
6. In welchem Maße werden ausgelenkte Werte innerhalb des Hyperkapniezeitraumes und in der Posthyperkapniephase reguliert?
7. Beeinflußt eine höhere  $\text{NH}_3 / \text{NH}_4^+$ -Konzentration im Wasser auftretende Veränderungen der Blutzusammensetzung zusätzlich?

## II. Literaturübersicht

### 1. Säuren-Basen-Haushalt: Regulationsmechanismen und -organe

#### 1.1. Pufferung

Durch intra- und extrazelluläre Pufferung ist der Organismus in der Lage, den pH in den Kompartimenten trotz endogenem oder exogenem Anfall saurer oder basischer Substanzen bis zu einem gewissen Grad ohne größere Abweichungen konstant zu halten. Dabei kommt es primär nicht zur Eliminierung dieser Äquivalente. Für die Pufferung stehen dem Organismus verschiedene Puffersysteme zur Verfügung, die jeweils aus einer schwachen Säure und ihrer korrespondierenden Base gebildet werden.

Das bedeutsamste extrazelluläre Puffersystem ist das CO<sub>2</sub> / Bikarbonat-Puffersystem, bei dem die Konzentrationen beider Anteile dieses Systems regulierbar sind (offenes Puffersystem). Bei luftatmenden Tieren erfolgt diese Regulation über Variationen in der Kohlendioxidabgabe in der Lunge und der Ausscheidung und Reabsorption von Bikarbonat- und Wasserstoffionen in den Nieren.

Die besonderen physiko-chemischen Bedingungen im Wasser schränken beim Fisch die Regulationsmöglichkeit des pCO<sub>2</sub> im Blut über die Kiemenatmung stark ein (Perry, 1986). Dies ist begründet durch die niedrige Sauerstofflöslichkeit im Wasser, die z. B. eine respiratorische Kompensation einer Alkalose mittels Hypoventilation erschwert, da gleichzeitig die Sauerstoffaufnahme sinken würde.

Die höhere Pufferkapazität im IZR und EZR besitzen die Nichtbikarbonatpuffer und - bezogen auf die Körperabteilungen - besitzt der IZR bei Fischen eine höhere Pufferkapazität als der EZR (Heisler, 1980; Holeton et al., 1983; Cameron, 1984), wobei Fische, verglichen mit höheren Vertebraten, im IZR eine um den Faktor 1,5 - 2 niedrigere Pufferkapazität aufweisen (Heisler, 1986 a, b; 1990 a).

Beim Elasmobranchier *Scyliorhinus stellaris* gibt Heisler (1980) für die Nichtbikarbonatpufferung einen Anteil von 85 - 96 % an der totalen Pufferungskapazität an, der wiederum zu 98 % auf den IZR entfällt.

Der wichtigste Nichtbikarbonatpuffer des Blutes ist das Hämoglobin, gefolgt von Plasmaproteinen, anorganischem Phosphat und organischem Phosphat in den Erythrozyten.

## 1.2. Kiemen als Regulationsorgan des Säuren-Basen- und Elektrolythaushaltes

Durch miteinander verknüpfte ein- und auswärts gerichtete passive und aktive Ionentransportmechanismen am Epithel sind die Kiemen an der Regulation des Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt beteiligt. Für mehrere Stoffwechselprodukte und Ionen sind sie das Hauptausscheidungs- bzw. -austauschorgan.

### 1.2.1. Wasserstoffionen ( $H^+$ ), Natriumionen ( $Na^+$ )

Überschüssige  $H^+$ -Ionen müssen nach Abpufferung in den einzelnen Körperabteilungen aus dem Organismus entfernt werden. Effektive Mechanismen zur  $H^+$ -Ionen-Ausscheidung sind bei Fischen vor allem an den Kiemen nachgewiesen worden. Als bedeutsamster Mechanismus wird der Austausch von Natriumionen gegen Wasserstoffionen (elektroneutraler Austausch) zwischen umgebendem Wasser und EZR des Fisches beschrieben (Garcia-Romeu & Maetz, 1964; Kerstetter et al., 1970; Maetz & Garcia-Romeu, 1964; Maetz, 1972). Der bei azidotischen Veränderungen des inneren Milieus nach außen gerichtete Wasserstoffionen-Strom kehrt sich bei alkalotischen Veränderungen um.

Maetz (1973) lieferte den Beweis für den direkten Zusammenhang zwischen  $Na^+$ -Fluß und  $H^+/NH_4^+$ -Fluß an den Kiemen des Goldfisches.

Nach neueren Untersuchungen scheint nicht generell eine direkte Kopplung des Transportes von  $H^+$ -Ionen und Natriumionen zu bestehen. Perry & Randall (1981) fanden eine Reduktion der Natriumaufnahme durch das Kiemenepithel der Forelle von 84 - 94 % bei Einsatz von  $0,1 \text{ mmol}^{-1}$  Amilorid (einem Ionenaustauschblocker für Natrium) im Haltungswasser.

Lin & Randall (1991) konnten bei Einsatz von Amilorid keine Beeinflussung der Protonenexkretion feststellen. Dagegen stellten sie eine Hemmung der Protonenexkretion bei Verwendung von Vanadat, Acetazolamid und bei gesenktem pH des Wassers fest. Sie schlußfolgerten daraus, daß die Existenz einer elektrogenen Protonenpumpe in der apikalen Membran der Fischkiemen wahrscheinlicher ist als ein  $Na^+/H^+$ -Austauschmechanismus.

Diese elektrogene Protonenpumpe oder  $H^+$ -ATPase an der Apikalmembran entfernt  $H^+$ -Ionen aus dem Zellinneren und generiert ein negatives Potential an der Innenseite der Apikalmembran. Das negative Potential ist Antrieb für den  $Na^+$ -Einstrom über amiloridsensitive  $Na^+$ -Kanäle. Die Natriumionen werden über eine  $Na^+/K^+(NH_4^+)$ -ATPase an der basolateralen Membran in das Blut ausgeschleust. Der kombinierte Protonen- und Natriumionenaustausch ist somit ein indirekt gekoppelter Transportmechanismus (Lin & Randall, 1991). Als Sitz dieser elektrogenen Protonenpumpen vermuteten Avella et al. (1987) die apikale Membran der Chloridzellen, da diese Zellen reich an Mitochondrien zur Energiebereitstellung sind und die Höhe der Natriumaufnahme an den Forellengiemen sich proportional zu ihrer Anzahl verhält.

Bei hormonell stimulierter Proliferation der Chloridzellen steigt die  $Na^+$ -Aufnahme über das

Kiemenepithel der Regenbogenforelle (Bindon et al., 1994 b).

Lin et al. (1994) konnten mit immunhistochemischen Untersuchungen die Lokalisation der H<sup>+</sup>-ATPase im Kiemenepithel der Regenbogenforelle darstellen. Nach ihren Ergebnissen sind sowohl Chloridzellen als auch Pflasterzellen des Kiemenepithels mit dieser Protonenpumpe ausgestattet.

Goss et al. (1992), Laurent et al (1994) und Morgan et al. (1994) bestätigen die Einbeziehung der Pflasterzellen in die Na<sup>+</sup>-Aufnahme und Protonenexkretion. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Laurent et al. (1994) zeigten sogar eine höhere Ausstattung der Pflasterzellen mit dieser H<sup>+</sup>-ATPase.

Nach Sullivan et al. (1995) ist die H<sup>+</sup>-ATPase in Pflasterzellen des Kiemenepithels der Regenbogenforelle lokalisiert und zeigt bei hyperkapnieinduzierter respiratorischer Azidose steigende Aktivität. Ihre immunhistochemischen und immunelektronenmikroskopischen Untersuchungen ergaben auch, daß die H<sup>+</sup>-ATPase in und an der apikalen Membran lokalisiert ist und bei Normokapnie geringere oder keine Aktivität der Protonenpumpe in den Pflasterzellen vorliegt.

Es existiert demnach sowohl ein elektroneutraler Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauschmechanismus, der in natriumreichem Meerwasser bedeutsamer ist, als auch ein indirekt gekoppelter Transportmechanismus, angetrieben durch die Protonenpumpe des Kiemenepithels.

### 1.2.2. Bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), Chloridionen (Cl<sup>-</sup>)

Maetz und Garcia-Romeu (1964), Kerstetter und Kirschner (1972), De Renzis und Maetz (1973), De Renzis (1975) entdeckten an Goldfisch- bzw. Forellenkiemen einen Austauschmechanismus, der die Abgabe von Bikarbonat an das Wasser gegen die Aufnahme von Chloridionen beinhaltet. Den umgekehrten Austausch wiesen Kormanik und Evans (1979) bei *Opsanus beta* nach. Cameron (1976) erzeugte über einen erhöhten pCO<sub>2</sub> des Wassers eine respiratorische Azidose und wies einen verminderten Chlorideinstrom durch die Kiemen bei gleichzeitig gesteigertem Natriumioneneinstrom nach. Die von Wood et al. (1984) durch Hyperoxie induzierte respiratorische Azidose bei Regenbogenforellen wurde durch einen Bikarbonatanstieg im Plasma bei gleichzeitiger Chloridabgabe innerhalb weniger Stunden kompensiert.

Dagegen führt eine Säuerung des Wassers beim Karpfen auf pH = 4,0 sowohl zum Bikarbonatverlust als auch zum Abfall der Plasma-Chloridkonzentration (Ultsch et al., 1981). Nach Neville (1979 a, b, c) kann auch eine zehnfache Erhöhung der Bikarbonatkonzentration im Wasser die Chloridkonzentration im Plasma bei pH<sub>w</sub> = 4,0 nicht signifikant erhöhen, was auf einen starken passiven Chloridverlust unter diesen Bedingungen schließen läßt. Bei Säuerung des Wassers tritt in Forellenkiemen eine Erhöhung der Enzymaktivität der Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ATP-ase und der HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ATP-ase auf. Trotzdem ist der Ausstrom von Chloridionen höher als der aktive Einstrom von Chloridionen. Dadurch führt ein sinkender pH des Wassers zum Chloridionenverlust (McKeown et al., 1985).

Unter der Voraussetzung, daß die serosale Seite des Kiemenepithels passiv impermeabel für

$\text{HCO}_3^-$  ist, wie von Perry et al. (1982) für die Regenbogenforelle beschrieben, muß die Abgabe von Bikarbonat an intaktem Kiemenepithel als Austausch gegen Chloridionen an der apikalen Membran stattfinden. Der Ionenaustauschinhibitor SITS (4-acetamido-4'-isothiocyanatostilbene-2-2'-disulphonic acid) blockiert den  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Austausch an den Erythrozyten. Dem Wasser zugesetzt, führt er zur Erhöhung des Blut-pH bei der Forelle (Perry et al., 1981) und zum reduzierten Chloridioneneinstrom an den Kiemen (Perry & Randall, 1981).

Von den drei Zelltypen des Kiemenepithels, Pflasterzellen, Schleimzellen und Chloridzellen, scheinen letztere Hauptaufnahmeort der Kiemen für Chloridionen zu sein. Hormonell stimulierte Proliferation dieser Zellart führt zu erhöhter Chloridaufnahme über das Kiemenepithel (Bindon et al., 1994 b), behindert jedoch gleichzeitig den Gasaustausch.

### 1.2.3. $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$

Die Kiemen sind über mehrere Mechanismen zur Ausscheidung bzw. Aufnahme von Ammoniak und Ammoniumionen befähigt.

Evans und Cameron (1986) beschreiben folgende Transportprozesse am Kiemenepithel:

Diffusion von  $\text{NH}_3$ ,

Diffusion von  $\text{NH}_4^+$ ,

Basolateraler  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austausch,

Basolaterale  $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NaCl}$ -Aufnahme,

Apikaler  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austausch.

Die Diffusionsprozesse folgen dabei ihrem Druck- bzw. Konzentrationsgefälle, das normalerweise nach außen gerichteten Transport bewirkt.

Aufgrund des hohen pK-Wertes wird hochtoxisches Ammoniak in den Körperkompartimenten fast vollständig in seine ionisierte Form umgewandelt. Trotzdem überwiegt der Diffusionsanteil des  $\text{NH}_3$  deutlich, was auf die hohe Diffusibilität dieser Verbindung durch Zellmembranen zurückzuführen ist (Heisler, 1980, 1986 a, b, 1990 b; Cameron & Heisler, 1983).

Durch die wesentlich niedrigere Permeabilität des  $\text{NH}_4^+$  gegenüber  $\text{NH}_3$  ist der Anteil des diffundierenden  $\text{NH}_4^+$  am Gesamt-Ammoniak-Ausstrom relativ klein. Cameron und Heisler (1983) berechneten einen theoretischen Anteil von 30 % am Gesamtausstrom von Ammoniak für folgende Bedingungen:

Temperatur = 20 °C,

Blut-pH = 7,85,

pK = 9,44.

An Forellenkienem ermittelten Cameron & Heisler (1986) einen Diffusionskoeffizienten für Ammoniak, der ca. 25 % kleiner ist als der Diffusionskoeffizient im Wasser.

Neben der Diffusion durch Zellmembranen des Kiemenepithels existieren parazelluläre Diffusionswege für Ammoniumionen (Evans & Cameron, 1986; Heisler, 1990 b).

Die erwähnten Austausch- und Kotransportprozesse an der basolateralen und apikalen Membran der Kiemenepithelzellen sowie deren Regulation sind in einem der folgenden Abschnitte dargestellt.

Unter normalen Umweltbedingungen hat die Diffusion von  $\text{NH}_3$  durch das Kiemenepithel keinen direkten Einfluß auf den Säure-Basen-Haushalt, da es zu keiner Verschiebung saurer oder basischer Äquivalente kommt. Auch der geringe Anteil der  $\text{NH}_4^+$ -Diffusion bei Süßwasserfischen unter normalen Umweltbedingungen dürfte nur geringen Einfluß haben, da er im Rahmen der notwendigen Ausscheidung von  $\text{H}^+$  liegt. Energieverbrauchende Austauschprozesse werden besonders bei belastenden Umweltbedingungen aktiviert. Die Beteiligung der verschiedenen nachgewiesenen Austauschmechanismen bei diesen Umweltbedingungen wird in der Literatur unterschiedlich dargestellt. Überwiegend Konsens herrscht jedoch darüber, daß die Ausscheidung von  $\text{NH}_4^+$  (oder  $\text{H}^+$ ) an die Aufnahme von  $\text{Na}^+$  gekoppelt ist. Dem scheinen Ergebnisse von Wilson & Taylor (1992) teilweise zu widersprechen. Sie zeigen, daß die Salinität des Wassers bei gleichzeitig erhöhter Ammoniakkonzentration unterschiedliche Auswirkungen auf den Säure-Basen-Haushalt der Regenbogenforelle hat. Bei seewasseradaptierten Tieren registrieren sie einen Verlust von Wasserstoffionen bei gleichzeitiger Erhöhung der  $\text{Na}^+$ -Plasmakonzentration, was für aktiven  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austausch spricht. Dagegen interpretieren sie die Akkumulation von  $\text{H}^+$  im Plasma und unveränderte  $\text{Na}^+$ -Konzentration bei süßwasseradaptierten Tieren als Beweis für die Aktivierung des  $\text{NH}_4^+/\text{H}^+$ -Austausches.

Nach Wright et al. (1989) gibt es an Forellenkienem eine direkte Interaktion zwischen  $\text{CO}_2$ - und  $\text{NH}_3$ -Exkretion. Sie besteht darin, daß die Hydratation von  $\text{CO}_2$  in der Wassergrenzschicht des Kiemenepithels durch die damit verbundene Säuerung den Diffusionsgradienten für  $\text{NH}_3$  zwischen dem Kiemenepithel und dieser Grenzschicht erhöht, weil diffundiertes Ammoniak ionisiert wird.

In der Schleimschicht des Kiemenepithels findet eine beschleunigte  $\text{CO}_2$ -Hydratation statt, die durch die Carboanhydrase auf der Oberfläche der apikalen Membran katalysiert wird (Wright et al., 1986; Rahim et al., 1988).

Besonders bedeutsam könnte dieser Mechanismus bei alkalischen Veränderungen des Wassers sein, da ein niedriger pH in der Grenzschicht den  $\text{pNH}_3$  senkt und dadurch die Diffusion von  $\text{NH}_3$  aus dem Kiemenepithel in diese Grenzschicht begünstigt (Randall & Wright, 1989; Heisler, 1990 b).

### 1.3. Nieren als Regulationsorgan des Säuren-Basen- und Elektrolythaushaltes

Im Unterschied zu den Ausscheidungsvorgängen der Säugernieren, die bei Azidosen mit reduzierter  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Exkretion und gesteigerter  $\text{Cl}^-$ -Exkretion antworten, um vermehrt  $\text{H}^+$  auszuscheiden und  $\text{HCO}_3^-$  reabsorbieren zu können, gibt es bei Fischen Wechselbeziehungen zwischen den Ausscheidungsprozessen der Kiemen und der Niere, die ebenfalls auf  $\text{H}^+$ -Ausscheidung und Auffüllung der Puffer gerichtet sind und darüber hinaus andere Mechanismen ermöglichen.

Untersuchungen zur Nieren- und Kiemenfunktion von Fischen unter azidotischen Bedingungen zeigen, daß die Ausscheidung von Wasserstoffionen hauptsächlich über die Kiemen erfolgt. Nach körperlicher Belastung beträgt der Anteil der Wasserstoffionenausscheidung über die Nieren bei Regenbogenforellen 8 % gegenüber 92 % Kiemenanteil (Wood 1988), während hyperoxieinduzierter Azidose 7 % (Wood et al. 1984) bzw. 7 - 10 % (Wheatly et al. 1984) und spielt auch bei hyperkapnieinduzierter Azidose gegenüber der Kiemenausscheidung eine untergeordnete Rolle (Perry et al. 1987 b).

Metabolische Azidosen durch Zufuhr mineralischer Säuren mittels Injektion oder über das Haltungswasser werden dagegen bis zu 100 % über die Nierenfunktion kompensiert (50 %, McDonald & Wood 1981; 100 % Wood & Caldwell 1978).

Da die Regulation des Säure-Basen-Haushaltes eng mit der des Elektrolythaushaltes verbunden ist, übernehmen die Nieren als zweites Regulationsorgan neben den Kiemen und im Zusammenspiel mit diesen Funktionen, die über die Ausscheidung saurer oder basischer Äquivalente hinausgehen.

Die Ausscheidungsmengen an Ionen mit dem Urin sind von Filtrations-, Sekretions- und Reabsorptionsprozessen in den Nephronen und ableitenden Harnwegen abhängig. Dabei kann ihre Konzentration im Urin schwanken oder bei wechselnder Urinflußrate konstant bleiben.

Bei respiratorischen Störungen des Säure-Basen-Haushaltes kommt es je nach Ursache zu teilweise differierenden Ausscheidungsprozessen. Hyperoxie und Hyperkapnie steigern die  $\text{Na}^+$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{K}^+$ -Exkretion durch reduzierte Reabsorption dieser Ionen im Tubulussystem der Nieren (Wheatly et al. 1984; Perry et al. 1987 b). Die  $\text{Cl}^-$ -Exkretion wird bei Hyperoxie vermindert (Wheatly et al. 1984); die Reabsorption von  $\text{Cl}^-$  während Hyperkapnie wechselt im Versuchsverlauf (Perry et al. 1987 b).

In beiden Fällen wird die erhöhte  $\text{H}^+$ -Exkretion von gesteigerter  $\text{HCO}_3^-$ -Reabsorption und erhöhter Phosphat- und  $\text{NH}_4^+$ -Ausscheidung begleitet. Die gleichzeitig stattfindenden gegenläufigen Austauschprozesse am Kiemenepithel ( $\text{Na}^+$ -Aufnahme,  $\text{Cl}^-$ -Abgabe) sichern die Homöostase des EZR unter diesen Bedingungen.

Die Elektroneutralität des Urins bei verminderter  $\text{Cl}^-$ -Exkretion wird durch überproportionale  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ausscheidung (gegenüber  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  und  $\text{HCO}_3^-$ ) erreicht (Wheatly et al. 1984; Perry et al. 1987 b).

Letztgenannte Autoren beobachteten bei Regenbogenforellen eine kurzzeitig erhöhte Urinflußrate (0 - 3 h) bei hyperkapnieinduzierter respiratorischer Azidose und langsam steigende Werte der  $\text{NH}_4^+$ -Exkretion, die auch in der Posthyperkapniephase erhöht blieben.

Eine zur metabolischen Azidose führende Hypoxie senkt beim Karpfen die glomeruläre Filtrationsrate (GFR), die Urinflußrate und, damit gekoppelt, die Ausscheidungsmenge von anorganischen Ionen, Ammoniak-N, Proteinen und Laktat. Deren Konzentration ist gleichzeitig erhöht und steigert so den osmotischen Druck des ausgeschiedenen Harnes (Kakuta et al., 1992; Kakuta & Murachi, 1992).

## 2. Respiratorische Störungen des Säuren-Basen-Haushaltes

### 2.1. Verhalten von Gasen in Wasser

Gase liegen in zwei Formen im Wasser vor. Sie werden physikalisch gelöst und bilden chemische Verbindungen. Die physikalische Löslichkeit ist für jedes Gas spezifisch und wird durch den Löslichkeitskoeffizienten bzw. Bunsenschen Absorptionskoeffizienten charakterisiert. Dieser gasspezifische Löslichkeitskoeffizient variiert mit der Temperatur und/oder Salinität des Wassers. Er verhält sich diesen beiden Faktoren gegenüber umgekehrt proportional, so daß er mit steigender Temperatur und/oder Salinität sinkt.

Generell gilt, daß sich der Partialdruck  $p$  eines Gases im Wasser seinem Partialdruck in der angrenzenden Gasphase angleicht und die Menge  $c$  dieses gelösten Gases sich proportional zum Druck in der Gasphase verhält, ausgedrückt durch die Formel  $c = \alpha \cdot p$  (Henry'sches Gesetz, 1803). Dies gilt für jedes Gas in Gasgemischen unabhängig voneinander (Henry-Dalton-Gesetz von der Unabhängigkeit der Partialdrücke, 1807), wodurch jedes Gas in der Gasphase entsprechend seines Partialdruckes in Lösung vorliegt. Der Löslichkeitskoeffizient ist für Kohlendioxid wesentlich höher als für Sauerstoff, was bei gleichen Partialdrücken zu größeren Mengen gelösten Kohlendioxids als Sauerstoffes im Wasser führt.

Folgende Tabelle stellt die Löslichkeitskoeffizienten dieser beiden Gase in destilliertem Wasser und Meerwasser sowie in Luft bei verschiedenen Temperaturen dar ( $\alpha$  in  $\text{nmol} \cdot \text{cm}^{-3} \cdot \text{kPa}^{-1}$ ; Dejours, 1975).

Tabelle 1

Temperatur in °C	destilliertes Wasser		Meerwasser (19 ‰)		Luft O <sub>2</sub> = CO <sub>2</sub>
	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	
0	21,5	759,5	17,1	637,6	440,6
10	16,7	529,3	13,7	450,0	425,0
20	13,7	389,2	11,6	335,6	410,5
30	11,5	294,8	9,9	258,6	397,0
40	10,1	235,0	8,3	220,5	384,3

Die Löslichkeit von NH<sub>3</sub> in wässrigen Lösungen übertrifft die des CO<sub>2</sub> um ca. das 1000fache (Cameron und Heisler, 1983).

Die Angleichung des Partialdruckes zwischen der Gasphase und dem Wasser erfolgt durch Diffusion, dem Partialdruckgefälle folgend.

Entsprechend den Partialdrücken in der Luft liegt normalerweise im Wasser ein hoher pO<sub>2</sub>, ein niedriger pCO<sub>2</sub> und ein vernachlässigbarer pNH<sub>3</sub> vor.

Chemische Verbindungen verschiedener Gase mit Wasser entstehen durch Hydratation. Die entstehende Verbindung dissoziiert in Anionen und Kationen bis zum Erreichen des Dissoziationsgleichgewichtes. Die ionisierten Reaktionspartner fungieren als Protonendonatoren bzw. Protonenakzeptoren, sind nach der Brönstedtschen Definition Säuren bzw. Basen. Das Dissoziationsgleichgewicht wird durch die Dissoziationskonstante  $K_a$  (Dissoziationskonstante der Säuren) charakterisiert.

Dieses chemische Verhalten bedingt bei entsprechend hoher Konzentration der ionisierten Reaktionspartner im Wasser eine Beeinflussung dessen pH-Wertes.

## 2.2. Kohlendioxid: Produktion, Transport und Abgabe an die Umwelt

Kohlendioxid ist Endprodukt des Stoffwechsels, das je nach Art des metabolischen Substrates bei aerobem Stoffwechsel in einem definierten Verhältnis (von 0,7 bis 1) zum verbrauchten Sauerstoff produziert wird (Respiratorischer Quotient).

Der Transport durch Zellmembranen erfolgt mittels Diffusion des gasförmigen  $\text{CO}_2$ . Die Erythrozytenmembran ist zusätzlich passiv permeabel für Ionen wie  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{H}^+$ , so daß hier gleichzeitig die Dissoziationsprodukte des hydrierten  $\text{CO}_2$  diffundieren.

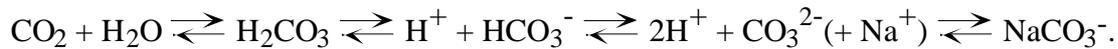
Im IZR ist unter bestimmten Bedingungen außerdem die erleichterte Diffusion des  $\text{CO}_2$  möglich, bei der über die enzymatisch beschleunigte Hydratation des  $\text{CO}_2$  und anschließende Dissoziation ein Diffusionsgradient für  $\text{HCO}_3^-$  aufgebaut wird und die freigesetzten  $\text{H}^+$  durch niedermolekulare Nichtbikarbonatpuffer gepuffert werden. Die reaktionsbeschleunigende Karboanhydrase, im IZR nachgewiesen, macht die Umkehrreaktion am Diffusionsendpunkt möglich, und die Diffusion der niedermolekularen Nichtbikarbonatpuffer ermöglicht den gleichgerichteten  $\text{H}^+$ -Transport (Heisler, 1990 a, b). Dieser Prozeß begründet den gegenüber einfacher  $\text{CO}_2$ -Diffusion beschleunigten Transport von  $\text{CO}_2$  im IZR (Heisler, 1989, 1990 a, b).

Nach Heisler (1990 a) könnte die erleichterte  $\text{CO}_2$ -Diffusion bei Fischen bedeutsam sein, da die niedrigen Konzentrationen an  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{CO}_2$  in den Körperflüssigkeiten eher den Aufbau eines ausreichenden Konzentrationsgradienten für die  $\text{HCO}_3^-$ -Diffusion erwarten lassen.

Im Blutplasma von Fischen scheint dieser Weg nicht möglich zu sein, da hier keine funktionelle Aktivität der Karboanhydrase vorliegt (Randall, 1990).

Der Abtransport des anfallenden  $\text{CO}_2$  erfolgt überwiegend mit dem Blut, wobei dies in verschiedenen Formen geschieht. Der Hauptanteil wird nach Reaktion des  $\text{CO}_2$  mit  $\text{H}_2\text{O}$  zu  $\text{H}_2\text{CO}_3$  und dessen Dissoziation als Bikarbonat transportiert. Ein geringer Anteil wird als physikalisch gelöstes  $\text{CO}_2$  transportiert. Zwei weitere Transportformen sind Karbaminverbindungen und  $\text{NaCO}_3^-$ , wobei die Karbaminverbindungen bei Fischen von untergeordneter Bedeutung sein könnten, da bei verschiedenen Fischarten bestimmte terminale  $\text{NH}_2$ -Endgruppen des Hämoglobins nicht zur  $\text{CO}_2$ -Bindung befähigt sind und  $\text{CO}_2$  an anderen Bindungsstellen des Hämoglobins mit organischem Phosphat konkurriert (Heming et al., 1986; Riggs, 1979).

Die Gleichgewichtsreaktion läßt sich folgendermaßen darstellen:



Das Verhältnis zwischen gasförmigem  $\text{CO}_2$ , pH und  $[\text{HCO}_3^-]$  lässt sich in der Henderson-Hasselbalch-Gleichung ausdrücken:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{pK}'_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]'}{[\text{CO}_2]'} \\ &= \text{pK}'_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]'}{\text{CO}_2 \cdot \text{pCO}_2} \end{aligned}$$

wobei  $[\text{HCO}_3^-]' = [\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{NaCO}_3^-]$

und  $[\text{CO}_2]' = \text{CO}_2 \cdot \text{pCO}_2$ .

Diese Gleichung schließt den hydratisierten und nichthydratisierten physikalisch gelösten Anteil des Kohlendioxids ein.

In wässriger Lösung wird von der Temperatur und Salinität bestimmt;  $\text{pK}'_{\text{H}_2\text{CO}_3}$  ist neben der Temperatur auch von weiteren physiko-chemischen Parametern wie der Ionenstärke und der Natriumionenkonzentration abhängig (Heisler, 1990 b). Deutlich wird dies bei einem Vergleich der relativen Konzentrationen der Reaktionspartner ( $\text{mmol}^{-1}$ ) in Säugerplasma ( $\text{pH} = 7,4$ ;  $[\text{Na}^+] = 140 \text{ mmol/l}$ ) und Meerwasser ( $\text{pH} = 8,5$ ;  $[\text{Na}^+] = 540 \text{ mmol/l}$ ).

Säugerplasma:

$\text{CO}_2$	$\text{H}_2\text{CO}_3$	$\text{HCO}_3^-$	$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{NaCO}_3^-$
0,053	$1,7 \times 10^{-4}$	1	0,004	0,034,

Meerwasser:

CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	NaCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
0,002	7x10 <sup>-6</sup>	1	0,053	0,739.

Der Diffusionsgradient für CO<sub>2</sub> zwischen dem IZR und EZR des Blutes wird durch den Erythrozytenstoffwechsel aufrechterhalten. Durch die Erythrozytenmembran einwärts diffundierendes CO<sub>2</sub> wird mittels der Karboanhydrase stark beschleunigt hydratisiert. Nach Dissoziation anfallende Wasserstoffionen werden überwiegend intraerythrozytär vom Hämoglobin gepuffert, Bikarbonat wird ins Plasma im Austausch mit Cl<sup>-</sup> über Band-3-Proteine der Erythrozytenmembran ausgeschleust. Diese kommen z. B. bei der Forelle in höherer Anzahl und Dichte vor als beim Menschen (Romano & Passow, 1984), bei Knorpelfischen sind sie vorhanden, bei Kieferlosen (Neunauge) fehlt jedoch eine ausreichende Ausstattung und Aktivität, so daß bei ihnen kein vollständiger Jacobs-Stewart-Zyklus ablaufen kann (Henry et al., 1995). Mit dem als Hamburger Shift bekannten Anionenaustausch ist eine Schwellung der Erythrozyten verbunden, da die Aufnahme des osmotisch aktiven Chlorids zum passiven Wassereinstrom führt.

In den Kiemengefäßen liegt das im Stoffwechsel freigesetzte CO<sub>2</sub> überwiegend als Bikarbonat (60 - 90 %, je nach Tierart, Temperatur, Hk u. a.) im Plasma vor (Heisler, 1990 b).

Zwischen Wasser und Blut besteht aufgrund des normalerweise niedrigen pCO<sub>2w</sub> ein hoher pCO<sub>2</sub>-Gradient, der für die niedrigen pCO<sub>2</sub>-Werte im arteriellen Blut wasseratmender Fische verantwortlich ist. Im Blut der Dorsalaorta adulter Karpfen bei einem Wasser-pH = 7,4 und 15 °C beträgt der pCO<sub>2</sub> ca. 3 - 5 mm Hg (Ultsch et al., 1981; Claiborne und Heisler, 1984).

Verglichen mit Säugetieren besteht bei Fischen eine 10 - 60fach geringere pCO<sub>2</sub>-Differenz zwischen Atemmedium und arteriellem Blut.

Über die Kiemen wird der Hauptanteil des CO<sub>2</sub> mittels Diffusion ausgeschieden. Die dafür notwendige Dehydratation des HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> im Blut verläuft ausschließlich in den Erythrozyten als katalysierter Prozeß (Karboanhydrase), obwohl die Kiemenepithelzellen ebenfalls eine ausreichende Ausstattung mit diesem Enzym besitzen (Perry et al., 1982; Perry, 1986; Perry & Laurent, 1990), jedoch nicht an der dem Blutstrom zugewandten Seite (Rahim et al., 1988; Henry et al., 1988).

Weniger als 5 % der gesamten CO<sub>2</sub>-Exkretion erfolgt mittels aktiven HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup>-Austausches an den Kiemen; und die Diffusion von HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ist nicht möglich, da die apikale Seite der Kiemenepithelzellen passiv inpermeabel für Bikarbonat ist (Perry et al., 1982; 1984).

Karboanhydrase kommt im IZR der verschiedenen Zellen des Kiemenepithels vor. Die Chloridzellen enthalten dieses Enzym (Dimberg et al., 1981), und auf der apikalen Oberfläche der Kiemenepithelzellen ist es ebenfalls nachweisbar (Rahim et al., 1988). Es ist im Kiemenschleim und der angrenzenden Wassergrenzschicht enzymatisch aktiv (Wright et al., 1986), wo es nach Hashwell et al. (1980) und Lacy (1983) aus zerstörten Epithelzellen stammt, welche im Kiemenschleim in hoher Anzahl vorkommen.

Die Aktivität der Karboanhydrase führt zur Säuerung des Kiemenschleimes, der Wassergrenzschicht sowie eines begrenzten Wasservolumens (Wright et al., 1986). Der Säuerungsprozeß ist

nach Lin & Randall (1990) vom pH des umgebenden Wassers abhängig, läßt sich bei alkalischem und annähernd neutralem  $\text{pH}_W$  nachweisen, jedoch nicht im sauren Bereich ( $\text{pH}_W = 3,88$ ), bei dem eine Alkalinisierung des Wassers eintritt.

Bei Hemmung ihrer Aktivität durch Zusatz von Acetazolamid steigt die  $\text{CO}_2$ -Diffusion, und die Protonenexkretion sinkt (Lin & Randall, 1991). Es kommt zu einer respiratorischen Azidose mit sinkendem  $\text{pH}_a$  und steigendem  $\text{p}_a\text{CO}_2$  sowie zur Säuerung des IZR der Erythrozyten (Henry et al., 1995).

Der  $\text{pCO}_2$  des arteriellen Blutes ist bei wasseratmenden Fischen nicht Ergebnis eines regulatorischen Prozesses, sondern von den Gasaustauschbedingungen am Kiemenepithel und vor allem vom  $\text{pO}_2$  des Wassers abhängig (Heisler, 1980).

Die Höhe der  $\text{CO}_2$ -Exkretion wird bei gleichbleibendem Hämatokrit vor allem von der Höhe des  $\text{pCO}_2$ -Gradienten zwischen Erythrozyt, Plasma, Kiemenepithel und Wasser bestimmt sowie von der  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Austauschrates an den Erythrozyten, deren Ausstattung mit Karboanhydrase und deren Reaktionsgeschwindigkeit keine limitierenden Faktoren darstellen (Perry et al., 1982 und 1984; Perry, 1986; Perry & Laurent, 1990).

Die Gasaustauschbedingungen variieren auch mit der Struktur des Kiemenepithels. Bei Vergrößerung der Diffusionsstrecke durch hormonell induzierte Proliferation der Chloridzellen zeigen Regenbogenforellen höhere  $\text{p}_a\text{CO}_2$ -Werte unter normoxischen und hypoxischen Wasserbedingungen (Bindon et al., 1994 a, b). Demgegenüber sinkt der  $\text{p}_a\text{CO}_2$  unter normoxischen Bedingungen, wenn die Proliferation der Chloridzellen durch Akklimatisierung an kalziumarmes, weiches Wasser provoziert wurde (Greco et al., 1995), wobei hier eine gestiegene Atemfrequenz und gesenkte Plasmabikarbonatkonzentration zu verzeichnen ist.

### 2.2.1. Hyperkapnie

Verlust oder Umkehrung des  $\text{CO}_2$ -Diffusionsgradienten zwischen Wasser und Fisch behindern die  $\text{CO}_2$ -Abgabe am Kiemenepithel und führen zur Akkumulation von  $\text{CO}_2$  in den Körperflüssigkeiten. Mit dem steigenden  $\text{pCO}_2$  fällt der pH im EZR und IZR (Heisler, 1980; 1990a). Die Kompensation ist auf ventilatorischem Weg nicht möglich. Sie erfolgt überwiegend durch vermehrte  $\text{H}^+$ -Ausscheidung durch Kiemen- und Hautepithelien und Anstieg der Bikarbonatkonzentration, wodurch entsprechend der Henderson-Hasselbalch-Gleichung der ausgeleitete pH steigt. In der Anfangsphase der Hyperkapnie steigt der Plasmabikarbonatgehalt rapide infolge des Eintrittes von Bikarbonat-Äquivalenten aus dem IZR in den EZR. Die folgende Aktivierung von Ionenaustauschmechanismen erreicht das Wiederauffüllen des IZR mit Bikarbonat über den Einstrom von  $\text{HCO}_3^-$  aus dem Wasser. Dabei spielt der aktive  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Austausch als Transportsystem am Kiemenepithel eine wichtige Rolle, während der  $\text{H}^+/\text{Na}^+$ -Austausch an der Protonenabgabe beteiligt ist (Claiborne & Heisler, 1984; Toews et al., 1983; Heisler & Neumann, 1977).

Grad und Dauer der pH-Kompensation über den Bikarbonateinstrom sind artspezifisch und von verschiedenen Faktoren abhängig. Im Meerwasser verläuft sie bei bestimmten Knochen- und Knorpelfischen schnell und annähernd komplett (Heisler et al. 1976 b; 1980; 1988; Heisler & Neumann, 1977; Toews et al., 1983), während sie im Süßwasser wesentlich länger dauert

und/oder inkomplett ausfällt (Jansen & Randall, 1975; Claiborne & Heisler, 1984).

Diese Unterschiede sind zumindest teilweise der hohen Bikarbonatkonzentration im Meerwasser geschuldet, wofür auch Ergebnisse von Dimberg (1988) sprechen. Er erzielte an Regenbogenforellen bei Einsatz bikarbonatreichen Süßwassers und Hyperkapnie innerhalb von 48 h hohe Kompensationsanstiege der Bikarbonatkonzentration im arteriellen und venösen Blut.

Im IZR ist die Kompensation des ausgelenkten pH stärker ausgeprägt als im EZR (Heisler, 1980), was auf die geringere Bikarbonatausgangskonzentration und die höhere Pufferkapazität der Nichtbikarbonatpuffer im IZR zurückzuführen ist (Heisler et al., 1976 a; Heisler, 1980).

Abhängig vom Ausmaß der Hyperkapnie im Wasser und mit dessen O<sub>2</sub>-Gehalt korrelierend, kommt es neben der Beeinflussung des Säure-Basen-Haushaltes vor allem zu Veränderungen in der Sauerstoffversorgung mit regulatorischen Antworten.

Unter normoxischen Umweltbedingungen löst die Hyperkapnie über die resultierende Hypoxämie die Erhöhung des Ventilationsvolumens sowie die Freisetzung von Katecholaminen in den Kreislauf aus (Perry & Kinkead, 1989; Perry et al., 1989 a; Kinkead & Perry, 1991; Takeda, 1991), wobei tierartsspezifische Werte überschritten werden müssen. Nach Takeda (1991) tritt bei Karpfen erst ab einem  $p_{\text{w}}\text{CO}_2 = 15$  Torr eine deutliche Erhöhung der Ventilation auf. Hyperoxie verhindert bei Hyperkapnie die Freisetzung von Katecholaminen in den Kreislauf (Perry et al., 1989 a; Perry & Kinkead, 1989).

Karpfen zeigen eine große CO<sub>2</sub>-Toleranz, die zur CO<sub>2</sub>-Narkotisierung/-Sedierung genutzt wird (Yoshikawa et al., 1988 a, b; Yokoyama et al., 1989). In Versuchen von Yoshikawa et al. (1988) überlebten alle Karpfen  $p_{\text{CO}_2\text{w}}$ -Werte von 100 mm Hg, dem sie 10 h lang ausgesetzt waren, bei gleichzeitig hyperoxischen Wasserbedingungen und einem  $\text{pH}_{\text{w}} = 5,5$ . Bei  $p_{\text{w}}\text{CO}_2 = 125$  mm Hg kam es zu Todesfällen. Kurzzeitige  $p_{\text{w}}\text{CO}_2 = 250$  mm Hg (30 min) und anschließende Werte von 100 mm Hg sowie wiederholte kurzzeitige Werte von 250 mm Hg (stündlich 15 min) überlebten bei Yoshikawa et al. (1988 b) 100 % der Versuchskarpfen. In allen Versuchen trat bei Hyperkapnie unter hyperoxischen Bedingungen eine Steigerung der Atemfrequenz auf und ab bestimmten  $p_{\text{w}}\text{CO}_2$ -Werten unterschiedliche Anästhesiestadien.

### **2.3. Ammoniak / Ammonium: Produktion, Transport, Abgabe und Wirkung**

Bei ammoniothelischen Organismen wie den Knochenfischen stellt Ammoniak das Hauptendprodukt des Stickstoffstoffwechsels dar. Es entsteht überwiegend durch Deamination von Alphaamino-säuren z.B. in Leber, Niere und Kiemen (Cameron & Heisler, 1983) in einer relativen Menge von bis zu 15 % des Sauerstoffverbrauches und muß wegen seiner Toxizität entgiftet bzw. schnell ausgeschieden werden. Bereits die Aufnahme von H<sup>+</sup>-Ionen aus den Körperflüssigkeiten stellt eine Entgiftung dar. Diese Reaktion läßt sich mit der Henderson-Hasselbalch-Gleichung charakterisieren. Der  $\text{pK}'$  dieser Reaktion ist abhängig von der Temperatur, der Salinität und dem Proteingehalt in der entsprechenden Körperflüssigkeit und schwankt zwischen 9,0 - 9,8, so daß im Fisch ca. 99 % des Ammoniaks sofort in seine ionisierte Form umgewandelt werden, ohne enzymatisch katalysiert zu werden, und als NH<sub>4</sub><sup>+</sup> vorliegt (Heisler, 1980; 1984; 1986 a; 1990 a, b; Cameron & Heisler, 1983). Ammoniak ist eine der am freiesten durch Zellmembranen diffundierenden Substanzen und seine Löslichkeit in wässrigen Lösungen ca. 1000mal höher als die des Kohlendioxids (Cameron & Heisler, 1983; Heisler, 1990 a, b). Dieses physiko-chemische Verhalten begründet die niedrige Ammoniakkonzentration im Blutplasma von Knochenfischen.

Entsprechend seiner hohen Diffusibilität kann NH<sub>3</sub> auch bei kleinen Konzentrationsgradienten

an Membranen diffundieren.

Am Kiemenepithel ist normalerweise nur das Partialdruckgefälle zwischen EZR und Wasser entscheidend (Heisler und Cameron, 1983), welches auch bei kleinen Werten u. a. aufgrund des großen Wasservolumens die Ausscheidung des nichtionisierten Ammoniaks ermöglicht. Unter physiologischen Bedingungen werden 45 - 100 % in dieser Form ausgeschieden (Cameron & Heisler, 1983; Wright & Wood, 1985). Der Diffusionskoeffizient des Ammoniak am Kiemenepithel ist niedriger als im Wasser, an Forellenkiemen um ca. 25 % (Cameron & Heisler, 1985), und vom pH abhängig. Er sinkt bei Säuerung des Haltungswassers (Wright & Wood, 1985).

Neben der Diffusion von  $\text{NH}_3$  beschreiben Evans und Cameron (1986) weitere Transportprozesse am Kiemenepithel, die der Ausscheidung der ionisierten Form dienen.

Diffusion von  $\text{NH}_4^+$ :

Sie spielt trotz des normalerweise großen Konzentrationsgradienten zwischen Organismus und Wasser eine untergeordnete Rolle, da der Diffusionskoeffizient für  $\text{NH}_4^+$  weit unter dem für  $\text{NH}_3$  rangiert (Heisler, 1990 a, b). Zum Teil diffundiert  $\text{NH}_4^+$  auf parazellulären Transportwegen durch Epithelien. Dies ist bei Meeresfischen für die Ausscheidung von Ammoniak über die Kiemen bedeutsamer (Evans & Cameron, 1986; Heisler, 1990 a, b).

Ionenaustauschmechanismen für  $\text{NH}_4^+$ :

Sie ermöglichen als aktive Transportmechanismen auch bei niedrigen Konzentrationsgradienten die Ausscheidung von Ammoniak durch das Kiemenepithel.

Nach Maetz & Garcia-Romeu (1964) besteht an Goldfischkiemen ein apikaler  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austauschmechanismus, der durch Erhöhung der Ammoniumkonzentration im Wasser gehemmt wird und bei Injektion von Ammoniumsalzen (i.p.) die  $\text{Na}^+$ -Aufnahme steigert. Die Abhängigkeit des Ammoniakausstromes von der Natriumionenkonzentration im Wasser existiert teilweise auch bei maritimen Teleostern (Evens, 1977).

Dagegen führt die Entfernung der Natriumionen aus dem Wasser nach de Vooy (1968) beim Karpfen nicht zu Veränderungen des Ammoniakausstromes.

Die bei der Regenbogenforelle unter azidotischen Bedingungen beobachtete Senkung der Ammoniakexkretion interpretieren Wright & Wood (1985) als Folge des gehemmten apikalen  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austausches. Lin & Randall (1991) bestätigen diesen Einfluß des sauren  $\text{pH}_w$  auf die Ammoniakexkretion bei der Regenbogenforelle jedoch nicht.

Evans & Cameron (1986) diskutieren die Möglichkeit, daß die Versuchsergebnisse zum apikalen  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austausch auch auf einem apikalen  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausch beruhen können und die Veränderungen im  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -Gleichgewicht passiv folgen. Auch die Amiloridsensitivität des Austauschmechanismus (z. B. Wright & Wood, 1985) könnte sich auf den  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausch beziehen. Die Analyse des Ammoniak- und Natriumtransportes durch die Kiemen durchströmter Kopfpräparate der Regenbogenforelle führen Avella & Bornancin (1989) zu dem Schluß, daß ein indirekt gekoppelter Transport von  $\text{Na}^+$  und aktivem elektrogenen Protonentransport durch die apikale Membran des Kiemenepithels wahrscheinlicher als ein streng gekoppelter elektroneutraler  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausch ist.

Diese elektrogene Protonenpumpe bzw.  $H^+$ -transportierende ATPase ist nachgewiesen. Sie verändert das transepitheliale Potential (TEP) so, daß das dadurch aufgebaute negative Potential auf der Innenseite den  $Na^+$ -Einstrom durch amiloridsensitive Natriumkanäle antreibt (Lin & Randall, 1991).

Ist der Konzentrationsgradient für Ammoniak durch einen erhöhten Partialdruck im Wasser einwärts gerichtet, kommt es zur einwärts gerichteten Diffusion von  $NH_3$ , welches vorher über den  $Na^+/NH_4^+$ -Austausch ausgeschleust wurde. In der Summe wird dabei zugunsten der  $H^+$ -Ausscheidung weniger  $NH_3$  ausgeschieden, und der normalerweise proportionale  $Na^+/NH_4^+$ -Austausch führt zur  $Na^+$ -Aufnahme. Die  $Na^+$ -Konzentration im Wasser sinkt, und die gestiegene Ammoniakkonzentration in den Körperflüssigkeiten bedingt deren Alkalinisierung. Die Rate dieses "Ammoniakpendelmechanismus" ist  $pH_W$ -abhängig. Sie ist bei hohem  $pH_W$  höher, da unter diesen Bedingungen mehr Ammoniak in seiner nichtionisierten Form vorliegt (Cameron & Heisler, 1983; 1985; Heisler, 1984; 1986 a, b; 1990 a, b).

Die basolaterale Membran des Kiemenepithels besitzt eine  $Na^+/K^+$ -aktivierte ATPase (Karnaky, 1980), die auf der  $K^+$ -Seite  $NH_4^+$ -sensitiv ist (Stekhoven & Bonting, 1981; Malery, 1983). Wird diese  $Na^+/K^+(NH_4^+)$ -ATPase durch Ouabain gehemmt, kommt es auch zur Hemmung des Ammoniakausstromes aus der Kiemenepithelzelle (Payan, 1978; Claiborne et al., 1982). Durchströmte Kopfpräparate von *Opsanus beta* zeigen bei Ouabainvorbehandlung keine weitere Veränderung der Ammoniakexkretion durch Amilorid (Evans et al., 1989), wogegen der alleinige Einsatz von Amilorid im Wasser (0,5 und 1 bzw. 0,1 mmol/l) bei der Forelle eine deutliche Senkung der Ammoniakexkretion (Lin & Randall, 1991; Yesaki & Iwama, 1992) und der Netto-Protonenexkretion hervorruft (Lin & Randall, 1991). Letztgenannte Autoren schlußfolgern daraus die Hemmung der basolateralen  $Na^+/K^+(NH_4^+)$ -ATPase durch bei diesen Konzentrationen in die Kiemenepithelzelle eintretendes Amilorid und aus der Äquivalenz der Exkretionsabnahme von Ammoniak und Protonen, daß beide über die  $Na^+/K^+(NH_4^+)$ -ATPase der basolateralen Membran als  $NH_4^+$  in die Kiemenepithelzelle transportiert werden.

Ein weiterer Transportmechanismus für  $NH_4^+$  an der basolateralen Membran ist der  $NH_4Cl+NaCl$ -Kotransport. Er ist Furosemid/Bumetanid-sensitiv (Evans & More, 1988).

Die produzierte und auszuschleudende Ammoniakmenge variiert mit der Stoffwechselaktivität. Nach Nahrungsaufnahme steigt sie stark an, wobei Abhängigkeiten zur aufgenommenen Futtermenge, dem Proteingehalt des Futters und dem zeitlichen Abstand zur Nahrungsaufnahme bestehen (Spannhoff et al., 1985; Chakraborty et al., 1992).

Nach Ogata (1985) ist der postprandiale Anstieg der Ammoniakkonzentration im Blut von Karpfen zwischen Plasma und Erythrozyten unterschiedlich ausgeprägt. Der relative Konzentrationsanteil der Erythrozyten steigt von ca. 45 % auf ca. 85 %. In Versuchen von Ogata & Murai (1987) betrug der relative Anteil des Ammoniaks des Karpfenblutes in den Erythrozyten mehr als 37 %. Die aus diesen Ergebnissen geschlußfolgerte Beteiligung der Erythrozyten am Ammoniaktransport zwischen den Geweben und zu den Ausscheidungsorganen wird von Ogata & Murai (1988) bestätigt. Nach ihnen übersteigt die Ammoniakkonzentration des venösen Blutes im Bulbus arteriosus die des arteriellen Blutes aus der Dorsalaorta wesentlich. In den dazwischen liegenden Kiemen kam es in ihren Versuchen zur Ausscheidung von 38,7 % des im venösen Blut antransportierten Ammoniaks, wobei der Erythrozytenanteil an der Ausscheidung mit 53 % den des Plasmas mit 47 % leicht überstieg.

Wright et al. (1988) beschreiben eine ähnliche Verteilung des Ammoniaks im Blut der Regenbogenforelle. Auch bei ihr übersteigt die Konzentration des Ammoniaks in den Erythrozyten die des Plasmas. Sie schlußfolgern aus ihren Ergebnissen, daß sich unter Ruhebedingungen diese

Verteilung passiv einstellt, indem sie der Wasserstoffionenkonzentration folgt.

Die Toxizität des Ammoniaks ist für die Fischhaltung von großer Bedeutung. Als Stoffwechselprodukt oder Umweltgift kann es sich im Haltungswasser anreichern. Bereits niedrige Konzentrationen können bei langer Expositionszeit zu starken Verlusten führen. Steffens (1976) beobachtete bei Regenbogenforellen, die einer  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -Belastung von 1,6 mg/l (0,017 mg  $\text{NH}_3$ /l bei pH = 7,74 und 10 °C) ausgesetzt waren, nach 12 Monaten eine Mortalitätsrate von 75 %. Die Tiere starben an bakteriellen Infektionen der Kiemen.

Angaben zur  $\text{NH}_3$ -Toleranz verschiedener Fischarten in der Literatur variieren erheblich. Teilweise läßt sich dies mit dem physiko-chemischen Verhalten dieses Stoffes, insbesondere mit seiner pH-abhängigen Dissoziation erklären. Bei hohem  $\text{pH}_W$  ist die Gefährdung deutlich höher, bzw. es wirken bereits niedrigere Ammoniakkonzentrationen im Wasser schädigend (z. B. Schreckenbach et al., 1975; Schreckenbach & Spangenberg, 1978).

Genauere Berechnungen zum Anteil freien Ammoniaks ( $\text{NH}_3$ ) in ammoniumhaltigen Lösungen bei variierenden Wasser-pH-Werten und unterschiedlicher Temperatur liegen von Trussel (1972) und Emerson et al. (1975) vor. Bei 25 °C und einem  $\text{pH}_W = 6,5$  liegt nach ihnen der prozentuale Anteil von  $\text{NH}_3$  bei 0,18 %. Steigt der  $\text{pH}_W$  auf 7,5 bei gleichbleibender Temperatur, steigt auch der prozentuale Anteil des Ammoniaks in der Lösung auf 1,73 bzw. 1,77 %. Bei  $\text{pH}_W = 8,0$  liegt dieser Anteil bereits bei > 5 %.

Karpfen sind gegenüber Ammoniakbelastungen im Wasser weniger empfindlich als Aale und Regenbogenforellen (Wilson et al., 1969). Nach Schäperclaus (1990) sollte in der Karpfenhaltung ein Grenzwert von 0,02 mg/l nicht überschritten werden, weil höhere Konzentrationen zu Schädigungen führen. Als solche gibt er u. a. an: verstärkte Schleimsekretion, Quellung der Epidermis, Blutüberfüllung der Gefäße, Hyperplasie des Kiemenepithels und nachfolgend Hämorrhagien, Histolysen und Nekrosen, Absinken der Erythrozytenzahl und des Hämoglobingehaltes. Bei akuter Intoxikation treten Schocksymptome, Muskelzuckungen, Störungen des Augendrehreflexes, Drehen und ungerichtetes Schwimmen auf.

Kreutzmann und Sordyl (1985) zeigen an Regenbogenforellen den schädigenden Einfluß einer  $\text{pH}_W$ -Erhöhung bei gleichbleibender Gesamtammoniakkonzentration ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) im Wasser, u. a. mit Veränderungen der Hämatopoese und des Blutbildes sowie Leistungsminderungen und erhöhter Mortalität.

Nach Thurston et al. (1981) werden konstante erhöhte Ammoniakkonzentrationen im Wasser besser toleriert als wechselnde Konzentrationspeaks. Nach ihnen existieren bei Forellen, die niedrigen wechselnden Ammoniakkonzentrationen im Wasser ausgesetzt waren, "Akklimationseffekte" mit stärkerer Toleranz gegenüber anschließend hohen Ammoniakkonzentrationen.

## 2.4. Verbindungen von Säure-Basen-Haushalt und Sauerstoffversorgung

Der parallele Gasaustausch von Sauerstoff und Kohlendioxid am Kiemenepithel, verbunden mit den besonderen physiko-chemischen Verhältnissen im Wasser, bedingt Auslenkungen des Säure-Basen-Status durch wechselnden Sauerstoffgehalt des Wassers.

Unter Ruhebedingungen werden ca. 20 % des Sauerstoffes direkt von den aufnehmenden Oberflächenstrukturen (hauptsächlich Kiemen und äußere Haut) verbraucht. Etwa 80 % gelangen

durch das Kiemenepithel in das zirkulierende Blut und werden im Organismus verteilt (Randall, 1990), wobei es interspezifische Variationen gibt - beim europäischen Aal liegt die  $O_2$ -Aufnahme über die Haut oberfläche erheblich höher (LeMoigne et al., 1986) - und der  $O_2$ -Gehalt des Wassers wesentlichen Einfluß hat. Der relative Anteil der  $O_2$ -Aufnahme über die Haut steigt beim Karpfen mit steigendem  $p_{wO_2}$  (Takeda, 1989) und geringfügig bei fallender metabolischer Rate, ohne die Kiemenventilation entlasten zu können, da kaum eine Sauerstoffversorgung der tiefergelegenen Körperschichten erfolgt (Takeda, 1990).

Außerdem beeinflußt die Fließgeschwindigkeit des Wassers an der Körperoberfläche die Sauerstoffaufnahme über die Haut beim Karpfen. Nach Takeda (1993 b) fällt diese bei Geschwindigkeiten unter  $0,7 \text{ cm s}^{-1}$ , wobei die der Haut angrenzende Wassergrenzschicht als Barriere fungiert.

Im Blut wird der überwiegende Teil des  $O_2$  an Hämoglobin gebunden transportiert.

Viele Fischarten besitzen verschiedene Hämoglobinfraktionen in ihren kernhaltigen Erythrozyten mit unterschiedlicher Temperatur- und pH-Sensitivität. Gillen & Riggs (1972) zeigen an drei Hämoglobinfraktionen im Karpfenblut die Abhängigkeit deren  $O_2$ -Affinität vom ATP-Gehalt und der  $CO_2$ -Konzentration. Nach ihnen steigt sie bei Fehlen von ATP und sinkt bei Anwesenheit von  $CO_2$  (Bohr-Effekt). Nach Weber & Lykkeboe (1978) besitzt Karpfenblut vier Hämoglobinfraktionen mit unterschiedlicher  $O_2$ -Affinität, die sich gegenseitig funktionell beeinflussen.

Neben der Beeinflussung der  $O_2$ -Affinität des Hämoglobins durch den  $pCO_2$  und pH (Bohr-Effekt) wird auch die  $O_2$ -Aufnahmefähigkeit des Hämoglobins bei steigendem  $pCO_2$  vermindert (Root-Effekt).

### 2.4.1. Hyperoxie

Hyperoxische Wasserbedingungen treten bei Erhöhung des  $p_{wO_2}$  über Sättigungswerte bei normalem atmosphärischen Druck ( $p_{wO_2} = 150 \text{ Torr}$ ) auf, die in Versuchen durch Sauerstoffbegasung erreicht werden.

Sie provozieren ventilatorische und kardiovaskuläre Anpassungsvorgänge. Der Stimulus für den Atemantrieb, über externe und interne sauerstoffsensitive Chemorezeptoren vermittelt, ist gering, so daß die drastisch gesenkte Ventilation in Verbindung mit einer Vasokonstriktion der Kiemengefäße die Diffusions- und Perfusionsprozesse an den Kiemen reduzieren (Wood & Jackson, 1980). Infolgedessen sinkt die  $CO_2$ -Exkretion am Kiemenepithel und der  $pCO_2$  im Blut steigt, was den Abfall des extra- und intrazellulären pH zur Folge hat. Diese hyperoxieinduzierte respiratorische Azidose ist bei Knorpel- und Knochenfischen beschrieben (z. B. Heisler et al., 1988; Wheatly, 1989). Bei Süßwasserfischen liegen die meisten Kenntnisse zu Hyperoxieauswirkungen bei der Regenbogenforelle vor (Wood & Jackson, 1980; Hobe et al., 1984 a; Wood et al., 1984; Wheatly et al., 1984; Wood & LeMoigne, 1991). Sie kompensiert den gesenkten pH bei hyperoxieinduzierter respiratorischer Azidose durch steigende Bikarbonatkonzentrationen in den Kompartimenten vollständig (Wood & Jackson, 1980; Hobe et al., 1984; Wood, 1991), wobei die Kompensationsmechanismen am Kiemenepithel durch die Nierenfunktion unterstützt werden (Wood & Jackson, 1980; Wheatly et al., 1984).

Generell ähneln sich die Auswirkungen von hyperoxieinduzierter Hyperkapnie und Hyperkapnie des Wassers auf den Fisch. Unterschiede bestehen im zeitlichen Verlauf und der Ausnutzung regulatorischer Mechanismen.

Nach Heisler (1988) steigt der  $pCO_2$  in EZR und IZR langsamer als bei Hyperkapnie des Was-

sers, die pH-Auslenkung ist geringer und ihre Kompensation vollständig.

Da außer Veränderungen des Wasserflusses an den Kiemen und des Blutflusses in den Kiemengefäßen kaum regulatorische Mechanismen aktiviert werden, insbesondere keine Austauschmechanismen am Kiemenepithel gehemmt werden, der Plasmakatecholaminspiegel nicht steigt und die Stoffwechselrate kaum verändert wird, hält Wood (1991) Hyperoxiebedingungen für die Beurteilung des Ionenstromes und des Säure-Basen-Transfers an den Kiemen von Süßwasserfischen als besonders geeignet.

Nach Laurent & Perry (1991) treten bei Hyperoxie morphologische Veränderungen des Kiemenepithels bei Regenbogenforellen auf. In der ersten Phase der Hyperoxie steigt zeitlich begrenzt die Zelloberfläche von Chloridzellen im Kiemenepithel, und es kommt zur Zunahme nekrotischer Zellen - eventuell Folge toxischer Sauerstoffeffekte unter hyperoxischen Bedingungen.

### Literaturangaben über Blutwerte von Karpfen bei Hyperoxie

Takeda (1990 b) gibt Werte für folgende Versuchsbedingungen an:

- Temperatur: 25,3 °C;
- $p_{wO_2} = 313$  Torr und
- $p_{wO_2} = 459$  Torr.

Tabelle 2: Blutwerte von Karpfen unter hyperoxischen Wasserbedingungen

pH	pCO <sub>2</sub> in Torr	pO <sub>2</sub> in Torr	Hk	[Hb] (g/dl)	[MCHC] (g/l)
p <sub>w</sub> O <sub>2</sub> = 313 Torr; arterielles Blut (venöses Blut)					
7,73 (7,75)	9,4 (9,1)	31,0 (12,0)	0,235	7,00	298
p <sub>w</sub> O <sub>2</sub> = 459 Torr; arterielles Blut (venöses Blut)					
7,64 (7,66)	11,3 (11,0)	38,3 (13,6)	0,214	5,98	280

### 2.4.2. Hypoxie\_

Niedrige Sauerstoffkonzentrationen im Wasser werden von Fischen unterschiedlich toleriert. Neben diesen tierartspezifischen Unterschieden tritt eine saisonale Abhängigkeit auf, und die Adaptation an bestimmte Umweltverhältnisse sowie zu erbringende Leistungen spielen eine Rolle.

Die durch Hypoxie aktivierten physiologischen Regulationsmechanismen sind auf die Gewährleistung der Sauerstoffversorgung ausgerichtet und schließen Aufnahme, Transport und Abgabe des Sauerstoffes ein.

Der Struktur des Kiemenepithels kommt für den Gasaustausch besondere Bedeutung zu. Bei der Regenbogenforelle beeinflusst die Zahl und Dichte der Chloridzellen im Epithel wahrscheinlich über die Modulation seiner Dicke und damit der Diffusionsbarriere die Gasaustauschbedingungen und provoziert physiologische Anpassungsmechanismen. Bei hormonell induzierter Zunahme der Chloridzellzahl und -dichte kommt es annähernd zu einer Verdopplung der Dicke der lamellären Blut-Wasser-Barriere ohne gleichzeitigen kompensatorischen Anstieg der lamellären Oberfläche (Bindon et al., 1994 b). Die Auswirkungen auf die Atemgaskonzentration im Blut ist unterschiedlich. Der unter normoxischen Bedingungen unbeeinflusste  $p_{aO_2}$  fällt bei Hypoxie gegenüber Kontrolltieren stärker ab, der  $p_{aCO_2}$  ist bei Normoxie und Hypoxie durch verminderte  $CO_2$ -Exkretion gegenüber der Kontrolle erhöht und der  $pH_a$  bei Normoxie und Hypoxie reduziert.

Gleichzeitig liegen eine niedrigere Atemfrequenz und höhere Ventilationsamplitude bei Normoxie und Hypoxie vor. Eventuell erhöht sich dadurch die funktionelle Oberfläche für den Gastransfer über Ausnutzung distaler Anteile der durch die Chloridzellproliferation verengten interlamellären Wasserkanäle (Bindon et al., 1994 a, b).

Die Proliferation der Chloridzellen tritt bei Regenbogenforellen auch in kalziumarmem, weichem Wasser auf. Sie führt dann zum Abfall des  $p_{aCO_2}$  und der Plasmabikarbonatkonzentration bei gleichzeitiger Steigerung der Atemfrequenz (Greco et al., 1995). Ein gegenüber den Kontrolltieren reduzierter  $pH_a$  tritt hierbei jedoch nur unter hypoxischen Wasserbedingungen auf.

Karpfen beantworten Hypoxie des Wassers mit Erhöhung des Ventilationsvolumens. Die bei Normoxie auftretende rhythmische Atmung mit Atempausen wandelt sich in kontinuierliche Atmung mit erhöhter Atemfrequenz und -tiefe (Lomholdt & Johansen, 1979; Hughes et al., 1983; Glass et al., 1990) wie bei anderen Fischarten (Saunders, 1962; Holeyton & Randall, 1967).

Je nach Grad der Hypoxie variieren die Auswirkungen auf den Säure-Basen-Haushalt des Fisches.

Leichte hypoxische Bedingungen führen über die provozierte Hyperventilation zur verstärkten Abatmung von  $CO_2$  und damit zur respiratorischen Alkalose mit Anstieg des  $pH_i$  und  $pH_e$ .

Kompensierend wird die Ausscheidung von  $HCO_3^-$  erhöht (Hughes et al., 1983; Glass et al., 1990).

Anaerobe Stoffwechselprozesse bei schwerer Hypoxie führen durch Laktatbildung und -freisetzung zur metabolischen Azidose (Itazawa & Takeda, 1978; Johnston & Bernard, 1983; Thomas et al., 1986). Auch hier ist eine Kompensation der  $pH_e$ -Auslenkung möglich (Boutilier et al., 1988), wahrscheinlich jedoch nur bis zu bestimmten  $pO_2$ -Grenzwerten, die tierart- und bedingungsabhängig sind.

Die primär induzierte respiratorische Alkalose wird bei Erreichen eines bestimmten Hypoxiegrades von der metabolischen Azidose abgelöst.

Ein Anstieg der Laktatkonzentration im arteriellen Blut wird beim Karpfen auch dann beobachtet, wenn die hypoxischen Wasserverhältnisse noch keinen signifikanten Einfluß auf den Sauerstoffpartialdruck und die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im arteriellen Blut haben (Glass et al., 1990).

Strenge Hypoxie ( $p_{wO_2} = 25$  Torr) beantwortet der Karpfen zusätzlich mit steigendem Hämatokrit und Hämoglobingehalt sowie erhöhter Sauerstoffkapazität des Hämoglobins bei gleichzeitigem Abfall der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (Itazawa & Takeda, 1978).

Ionenaustauschprozesse an der Erythrozytenmembran beeinflussen den intra- und extrazellulären pH im Blut. Thomas et al. (1986) und Fievet et al. (1987) erklären die Initialphase des pHe-Abfalls während akuter Hypoxie bei der Regenbogenforelle als Folge der  $\beta$ -adrenergen Stimulation des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausches am Erythrozyten.

### 3. Einfluß zirkulierender Katecholamine auf den Säuren-Basen-und Elektrolythaushalt

Erhöhte Konzentrationen zirkulierender Katecholamine werden u. a. bei Hypoxie des Wassers, nach körperlicher Arbeit, bei Azidosen, chirurgischen Eingriffen, teilweise bei Anästhesie und anderen Streßsituationen festgestellt.

Hypoxisch bedingte Anstiege der Konzentrationen zirkulierender Katecholamine sind in der Literatur von vielen Autoren beschrieben worden (z. B. Mazeaud, 1964: Karpfen; Fievet et al., 1987; Perry et al., 1989: Regenbogenforelle; Fuchs & Albers, 1988: Karpfen; Perry & Reid, 1992; Reid & Perry, 1994: Regenbogenforelle, Amerikanischer Aal; Kakuta & Murachi, 1992: Karpfen).

Nach Perry & Reid (1992) ist die Freisetzung der Katecholamine vom Sauerstoffgehalt des Blutes abhängig. Bei der Regenbogenforelle und dem Amerikanischen Aal (*Anguilla rostrata*) liegt diese Konzentration etwa beim  $\text{O}_2$ -Halbsättigungswert des Hb. Thomas et al. (1992) beschreiben eine erhöhte Katecholaminfreisetzung in den Kreislauf von *Salmo fario* beim Absinken des  $\text{p}_a\text{O}_2$  auf 16 Torr, einem Wert, bei dem das Hb zu 50 - 60 % mit Sauerstoff gesättigt ist.

Auch bei hyperkapnieinduzierter Azidose ist nach Perry et al. (1989) der unmittelbare Stimulus für die Mobilisierung der Katecholamine die resultierende Hypoxämie. Blutazidose ist keine Vorbedingung für die Katecholaminmobilisierung (Perry et al., 1991).

Die Freisetzung der Katecholamine erfolgt aus chromaffinen Zellen (Phäochromozyten), die im Körper tierartspezifisch verteilt liegen. Eine dem Nebennierenmark der Säugetiere entsprechende Struktur fehlt bei Fischen (Mazeaud & Mazeaud, 1981).

Viele Knochenfische besitzen in der Kopfniere eine hohe Phäochromozyten-Dichte.

Über welchen Mechanismus die chromaffinen Zellen zur Freisetzung der Katecholamine stimuliert werden ist Gegenstand intensiver Forschung.

Sowohl die Regenbogenforelle als auch der amerikanische Aal reagieren auf cholinerge Stimulation durch Carbachol mit Freisetzung von Katecholaminen in den Kreislauf, wobei es quantitative Unterschiede gibt. Bei der Regenbogenforelle treten höhere Plasmakatecholamin-konzentrationen auf. Die Sensitivität der cholinergen Rezeptoren scheint jedoch zwischen diesen beiden Arten nicht zu differieren (Reid & Perry, 1994).

Die Mobilisierung aus den chromaffinen Zellen der Kopfniere des atlantischen Dorsches erfolgt über Impulse präganglionärer sympathischer Nervenfasern (Nilsson et al., 1976), deren Stimulation zur Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin führt (Nilsson et al., 1976; Wahlqvist, 1981; Perry et al., 1991). Eine bilaterale Denervation der Kopfniere führt je nach äußeren Bedingungen zum Abfall des Katecholaminspiegels im Plasma (Wahlqvist & Nilsson, 1980; Butler et al., 1989) oder ist von keiner Änderung der Adrenalinausschüttung begleitet (Perry et al., 1991).

Wahrscheinlich führt eine starke Hypoxämie ohne nervale Stimulation direkt zur Ausschüttung von Katecholaminen aus chromaffinen Zellen der Kopfniere (Thomas & Perry, 1992; Perry et al., 1991). Eine Beteiligung von O<sub>2</sub>-Chemorezeptoren der Kiemen an der Regulation der zirkulierenden Katecholamine ist trotz ihrer Bedeutung für die Anpassung ventilatorischer und kardiovaskulärer Reaktionen an die äußere und innere Sauerstoffkonzentration nicht bewiesen (Überblick siehe: Randall, 1990).

Imagawa et al. (1996) schlußfolgern aus Untersuchungen zur Verteilung und Innervation chromaffiner Zellen der Kopfniere des Karpfens, daß eine Stimulierung der Sekretion von Katecholaminen wahrscheinlich ebenfalls (zumindest teilweise) über präganglionäre cholinerge Fasern erfolgen kann.

Gleichzeitig spricht die generell geringe Frequenz der synaptischen Verbindungen zu chromaffinen Zellen sowie die Variation der Synapsenverteilung in der Kopfniere mit ausgeprägter synaptischer Verbindung von Nervenendigungen zu chromaffinen Zellen im dorsalen Teil und geringerer synaptischer Verbindung in den beiden ventralen Anteilen nach Meinung o. g. Autoren für eine stärkere endokrine Steuerung dieser Zellen über den Blutstrom. Möglich erscheint dies auch durch die enge Verbindung von Phäochromozyten und Blutgefäßen, die in der Konzentration dieser Zellen um venöse Gefäßstämme und deren tributäre Gebiete zum Ausdruck kommt.

Die Katecholaminsekretion in das zirkulierende Blut zeigt im Verhältnis von Adrenalin zu Noradrenalin generelle tierartige Unterschiede.

Bei Regenbogenforellen wird in den meisten Hypoxieversuchen ein stärkerer Anstieg der PlasmaadrenalinKonzentration als der NoradrenalinKonzentration beobachtet (z. B. Thomas et al., 1991; Fievet et al., 1990; Reid & Perry, 1994; Raaij et al., 1996). Dies ist auch der Fall, wenn die auslösende Hypoxämie durch körperliche Belastung (Nakano & Tomlinson, 1967; Ristori & Laurent, 1985; Butler et al., 1986; Primett et al., 1986; Milligan & Wood, 1987; Tang & Boutilier, 1988), Anästhesie und chirurgische Eingriffe (Gingerich & Drottler, 1989) oder Hyperkapnie des Wassers provoziert wird (Perry et al., 1987 a, 1989). Gleiches trifft für den Amerikanischen Aal (*Anguilla rostrata*) zu (Hyde & Perry, 1990).

Dagegen tritt nach Fuchs & Albers (1988) beim Karpfen durch "air stress" (Herausnehmen des Karpfens aus dem Wasser) ein höherer Anstieg der Plasmakonzentration von Noradrenalin gegenüber Adrenalin auf. Dieses zugunsten des Noradrenalins verschobene Verhältnis beim Karpfen wird auch von Mazeaud (1964) sowie Kakuta & Murachi (1992) beschrieben, von letztgenannten jedoch nicht unter Ruhebedingungen, und von Raaij et al. (1996) bestätigt.

Intraspezifische Unterschiede der Katecholaminmobilisierung bei hypoxämischen Zuständen hängen von der Stärke und Dauer der Hypoxämie sowie von der Geschwindigkeit ihrer Ausprägung ab.

Beim Atlantischen Dorsch (Kabeljau) hängt das Konzentrationsverhältnis der erhöhten Katecholamine zueinander von der Geschwindigkeit der einwirkenden Hypoxie ab. Bei langsamer Einwirkung steigt nur der Adrenalin Spiegel, bei schneller Einwirkung auch der Noradrenalin Spiegel (Perry et al., 1991).

Milde chronische Hypoxie erzeugt bei der Regenbogenforelle nur einen kurzzeitigen Anstieg der Plasmakatecholamine (Thomas et al., 1991). Kinkead & Perry (1991) konnten bei akuter milder Hypoxie keinen signifikanten Anstieg der Plasmakatecholamine trotz veränderter Blutgaswerte und Hyperventilation nachweisen.

Bei strenger Hypoxie zeigt die Regenbogenforelle nach anfänglicher respiratorischer Alkalose einen rapiden Abfall des pH des arteriellen Blutes. Die Konzentration zirkulierender Katechola-

mine verhält sich dabei umgekehrt proportional zum  $\text{pH}_a$  (Perry & Reid, 1992).

Beim Amerikanischen Aal führen gleiche Versuchsbedingungen (je 30 min Hypoxie in Stufen von  $\text{p}_w\text{O}_2 = 20 - 70$  Torr), die bei der Regenbogenforelle eine schnelle Ausprägung der metabolischen Azidose bewirken, teilweise zu einer respiratorischen Alkalose, innerhalb der 30 min aber nicht zur metabolischen Azidose (Perry & Reid, 1992).

Auch beim Karpfen (Nikinmaa et al., 1987 b) und beim Europäischen Aal (Peyraud-Waitzenegger & Soulier, 1989) wird dieser rapide Abfall des arteriellen pH bei akuter Hypoxie nicht beobachtet.

Als Ursache werden Unterschiede in der Katecholaminmobilisierung und Differenzen in der Aktivierung von Austauschprozessen vor allem an der Erythrozytenmembran diskutiert.

Die Regenbogenforelle verändert bei strenger akuter Hypoxie den intrazellulären und extrazellulären Säure-Basen-Status durch  $\beta$ -adrenerge Aktivierung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausches an den Erythrozyten. Sie erhöht den  $\text{pH}_i$  der Erythrozyten und senkt den  $\text{pH}_e$  durch vermehrte Protonenausschleusung aus den Erythrozyten (Thomas et al., 1986; Perry & Reid, 1992; Fievet et al., 1987; Nikinmaa et al., 1987 a). Durch die Alkalinisierung des IZR der Erythrozyten wird der Austausch von  $\text{HCO}_3^-$  und/oder  $\text{OH}^-$  gegen  $\text{Cl}^-$  aktiviert. Die erhöhte  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Konzentration im IZR der Erythrozyten bewirkt einen Wassereinstrom in die Erythrozyten, der zur verstärkten Zellschwellung führt. Die Akkumulation von  $\text{Na}^+$  im Erythrozyten aktiviert eine ouabainsensitive  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Pumpe der Erythrozytenmembran.

Dadurch wird ein Teil des  $\text{Na}^+$  gegen  $\text{K}^+$  ausgetauscht. Volumenregulatorisch setzt ein passiver  $\text{Cl}^-$ -abhängiger  $\text{K}^+$ -Ausstrom ein. Die Auslenkung des extrazellulären pH wird kompensiert. Dagegen bleiben der  $\text{pH}_i$  und die Bikarbonatkonzentration der Erythrozyten erhöht (Genauerer siehe Übersicht: Thomas & Motais, 1990; Thomas & Perry, 1992).

Die  $\beta$ -adrenerge Aktivierung des Natrium-Protonenaustausches an der Erythrozytenmembran ist beim atlantischen Dorsch sowohl über Adrenalin als auch über Noradrenalin stimulierbar und führt zu gleichartigen Veränderungen wie bei der Regenbogenforelle. Dabei besteht eine ca. 3fach höhere Affinität der Rezeptoren der Erythrozytenmembran zu Adrenalin gegenüber Noradrenalin (Berenbrink & Bridges, 1994).

Die folgende Abbildung (nach Nikinmaa & Tufts, 1989; verändert) ist eine schematische Darstellung der  $\beta$ -adrenergen Aktivierung des Natrium-Protonenaustausches an der Erythrozytenmembran von Knochenfischen mit seinen Auswirkungen auf den Intrazellularraum des Erythrozyten und den Extrazellularraum (Blutplasma).

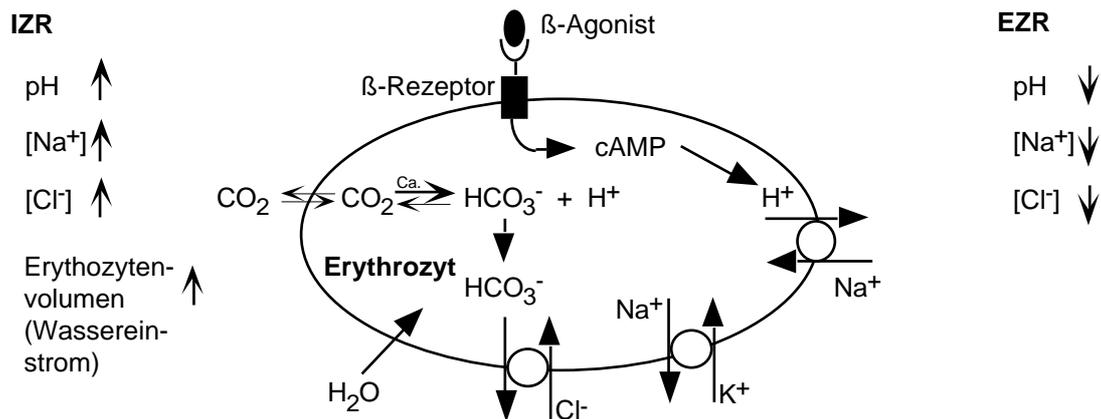


Abb. 1: Nach Bindung von  $\beta$ -Agonisten an  $\beta$ -Rezeptoren der Erythrozytenmembran wird über Aktivierung der Adenylatzyklase der intrazelluläre cAMP-Spiegel erhöht. Dadurch wird der Natrium-Protonenaustauschmechanismus der Erythrozytenmembran aktiviert, was zur Konzentrationserhöhung von Natriumionen im IZR führt. Der Transport der Wasserstoffionen in den EZR senkt den extrazellulären und erhöht den intrazellulären pH. Durch den Anionenaustausch nimmt die intrazelluläre Chloridkonzentration zu. Trotz Aktivierung der Natrium-Kalium-ATPase kommt es zur intrazellulären Akkumulation osmotisch aktiver Ionen, was einen passiven Wassereinstrom und damit die Erythrozytenschwellung bewirkt.

Infolge der erhöhten  $pH_i$ - $pH_e$ -Differenz verbessern sich die Bedingungen für den Sauerstofftransport.

Der Amerikanische Aal ist während hyperkapnieinduzierter respiratorischer Azidose und damit verbundener Hypoxämie nicht zu adrenerger Regulation des  $pH_i$  der Erythrozyten in der Lage (Hyde & Perry, 1990).

Thomas & Motais (1990) halten es für möglich, daß die tierartlich unterschiedliche Ausprägung der metabolischen Azidose bei starker Hypoxie auf die fehlende Mobilisierung von Katecholaminen während hypoxischer Zustände bei diesen Fischarten zurückzuführen ist, bzw. der  $Na^+/H^+$ -Austauscher der Erythrozyten eine geringere Sensitivität besitzt oder langsamer arbeitet.

Nikinmaa et al. (1987 b) untersuchten die Funktion der Erythrozyten des Karpfens bei akuter Hypoxie an unbehandelten und mit dem  $\beta$ -Rezeptorenblocker Propranolol an behandelten Tieren. Sie konnten mit Propranolol die  $Na^+$ -Akkumulation in den Erythrozyten verhindern, damit auch die verstärkte Zellschwellung unterdrücken. Die  $Cl^-$ -Akkumulation in den Erythrozyten blieb durch Propranolol unbeeinflusst. Ein deutlicher Anstieg des  $pH_i$  der Erythrozyten trat nur bei unbehandelten Tieren auf. Aus diesen Ergebnissen schlußfolgern sie, daß auch beim Karpfen die Hypoxie zur Aktivierung des  $\beta$ -adrenergen  $Na^+/H^+$ -Austausches an den Erythrozyten führt.

Salama und Nikinmaa (1988) wiesen die  $\beta$ -adrenerge Aktivierung des  $Na^+/H^+$ -Austausches an Karpfenerythrozyten unter hypoxischen Bedingungen in vitro nach. Die Anzahl der  $\beta$ -Rezeptoren auf der Erythrozytenoberfläche steigt während des Übergangs von Normoxie zu Hypoxie beim Karpfen stark an (Martilla & Nikinmaa, 1988).

Salama & Nikinmaa (1989) beschreiben erhebliche tierartliche Differenzen bei der adrenergen Beeinflussung der Austauschprozesse an der Erythrozytenmembran. Bei ihrem Vergleich von vier Fischarten zeigt die Regenbogenforelle deutlich höhere Anstiege der intraerythrozytären Natriumionenkonzentration als der Karpfen, der die niedrigsten Anstiege erkennen läßt.

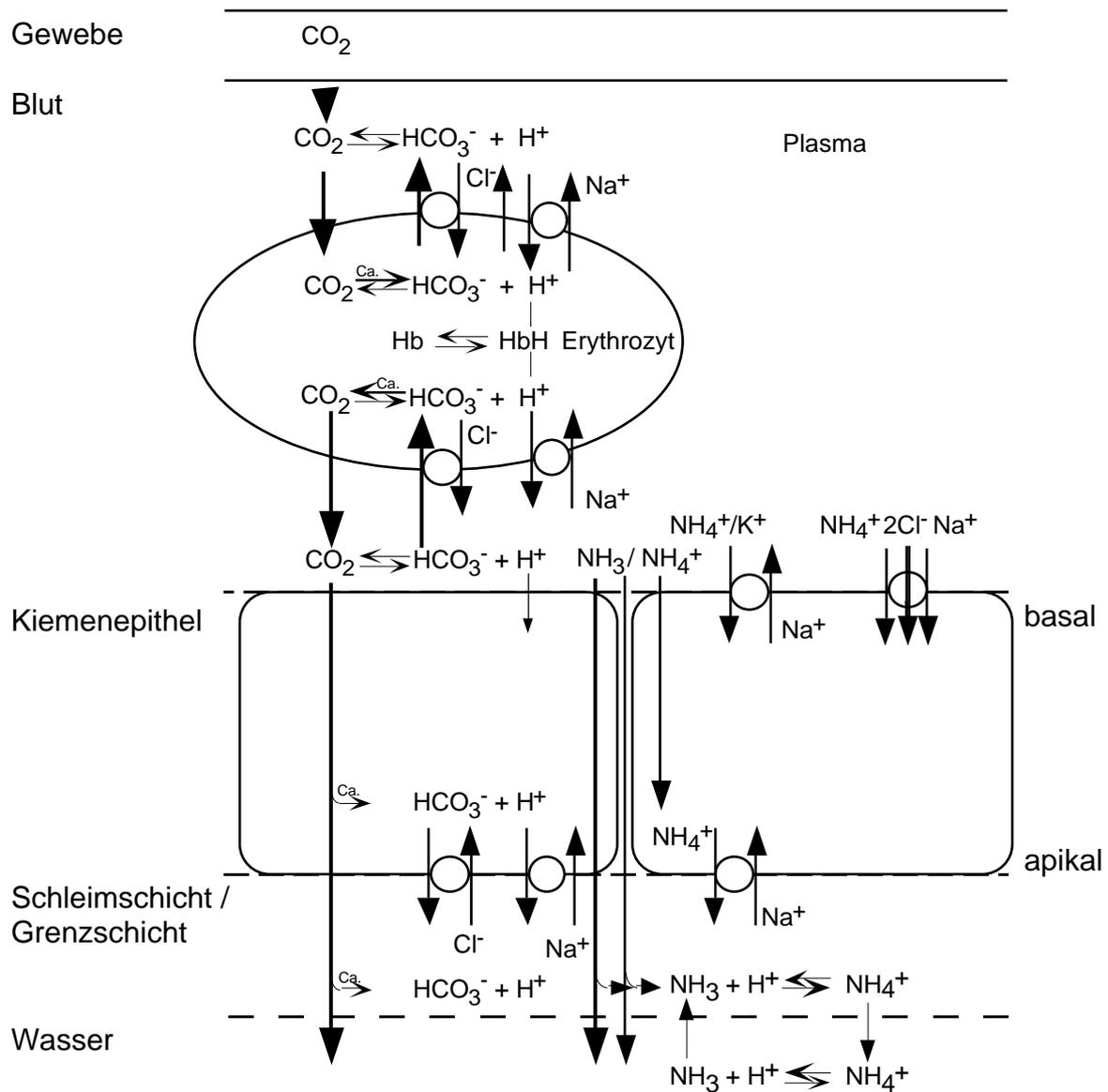
Spezische Unterschiede bestehen in der  $\beta$ -adrenergen Sensitivität der Erythrozyten unter normoxischen Bedingungen und in der saisonalen Abhängigkeit der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschkapazität, die beim Karpfen und der Regenbogenforelle im Winter 2 - 3mal niedriger ist als im Sommer (Nikinmaa & Jensen, 1986; Martilla & Nikinmaa, 1988; Cossins & Kilbey, 1989).

Die in den Blutkreislauf freigesetzten Katecholamine bewirken kardiovaskuläre und/oder ventilatorische Veränderungen, erhöhen durch die Aktivierung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausches an den Erythrozyten die Sauerstoffaffinität und Sauerstoffkapazität des Hb, da der höhere  $\text{pH}_i$  zu gesteigerter Oxygenation des Blutes in den Kiemenkapillaren führt, und führen über die Erhöhung des  $\text{p}_v\text{CO}_2$  und gesteigerte Kooperativität der Hb- $\text{O}_2$ -Bindung zu verbesserter Desoxygenation in den Gewebskapillaren (Mazeaud et al., 1977; Perry & Reid, 1992; Thomas & Perry, 1992).

Beim Karpfen erhöhen sie den Blutglukosespiegel (Adrenalin stärker als Noradrenalin) und scheinen für den Gehalt an freien Fettsäuren im Blut hauptverantwortlich zu sein, wobei Adrenalin die Konzentration freier Fettsäuren erhöht und Noradrenalin diese senkt (Raaij et al., 1995).

Die folgende Abbildung faßt wichtige Transport- und Austauschmechanismen am Erythrozyten und am Kiemenepithel zusammen (ohne Anspruch auf Vollständigkeit).

Abb.2: Schematische Darstellung im Text aufgeführter Transport- und Austauschprozesse



#### 4. Auswirkungen veränderter Wasser-pH-Werte auf den Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt

Die Toleranz einzelner Fischarten gegenüber wechselnden  $\text{pH}_W$  ist unterschiedlich. Der Optimalbereich der meisten Fischarten liegt bei  $\text{pH}_W = 6,5 - 8,0$  (Schäperclaus, 1979). Akute und chronische Abweichungen vom Optimalbereich führen oft zu irreversiblen Schädigungen oder zum Tod des Tieres. Die dabei auftretenden Symptome sind als Säurekrankheit und Laugenkrankheit beschrieben (Liebmann, 1960; Schäperclaus, 1979; Amlacher, 1986). Bandt (1936) ermittelte folgende tödliche  $\text{pH}_W$ -Werte im alkalischen Bereich:

Bachforellen, Regenbogenforellen	9,2
Barsche, Kaulbarsche	9,2
Plötzen	10,4
Hechte	10,7
Karpfen, Schleien	10,8.

Schäperclaus (1926) und Schiemenz (1937) geben tödliche  $\text{pH}_W$ -Werte im sauren Bereich mit  $\text{pH}_W = 4,5 - 5,0$  an, wobei die Empfindlichkeit von Karpfen und Schleie am größten, die der Bachforelle am geringsten ist.

Die interspezifischen Unterschiede in der  $\text{pH}_W$ -Toleranz beruhen auf der Anpassung der einzelnen Fischarten an unterschiedliche Lebensräume. Intraspezifische Unterschiede lassen sich besonders bei komplex veränderten Umweltbedingungen feststellen.

##### 4.1. Saure $\text{pH}_W$

Säuerung des Wassers mit mineralischen Säuren führt zum Abfall des arteriellen Blut-pH bei Fischen. Nachfolgend sind einige Beispiele zu entsprechenden Versuchen bei verschiedenen Fischarten angegeben.

<i>Salmo gairdneri</i>	$\text{pH}_W = 5,0$ (Janssen & Randall, 1975; Holeton et al., 1983)
	$\text{pH}_W = 4,0$ (Neville, 1979 a-c; Wright & Wood, 1985)
<i>Catostomus commersoni</i>	$\text{pH}_W = 4,2$ (Hobe et al., 1984)
<i>Cyprinus carpio</i>	$\text{pH}_W = 5,1 - 3,5$ (Ultsch et al., 1981).

Bei Säuerung des Wassers ( $\text{pH}_W = 3,5$ ) zeigen Karpfen eine Dekompensation des Säure-Basen-Status, die innerhalb weniger Stunden zum Tod führt (Ultsch et al., 1981).

Akute Einwirkung saurer Wasser-pH-Werte senkt die Plasmakonzentration von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  und  $\text{HCO}_3^-$  durch Ionenverlust in erster Linie über die Kiemen (Neville, 1979 a-c; Ultsch et al., 1981; Holeton et al., 1983; Hobe et al., 1984).

Wright & Wood (1985) beobachteten die völlige Hemmung des  $\text{Na}^+$ -Einstroms bei  $\text{pH}_W = 4,0$  bei Regenbogenforellen.

McKoeown et al. (1985) zeigen, daß dem säureinduzierten Abfall der Ionenkonzentrationen im Blut erhöhte Aktivitäten der  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP-ase, der  $\text{Na}^+$ - $\text{NH}_4^+$ -ATP-ase und der  $\text{HCO}_3^-$ -ATP-ase im Kiemengewebe der Regenbogenforelle bei  $\text{pH}_W = 4,9$  entgegenwirken. Auch die Carboanhydraseaktivität im Blut und im Kiemengewebe ist bei  $\text{pH}_W = 4,9$  deutlich erhöht. Sie schließen, daß der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Verlust durch höheren passiven Ausstrom dieser Ionen gegenüber gleichzeitig erhöhtem aktiven Einstrom zustandekommt.

Der  $\text{pCO}_2$  und  $\text{pO}_2$  des Blutes bleibt bei  $\text{pH}_W$ -Senkung meist unbeeinflusst bzw. zeigt nur kurzzeitige Veränderungen direkt nach der  $\text{pH}_W$ -Senkung - der  $\text{pCO}_2$  steigt; der  $\text{pO}_2$  sinkt - (Ultsch et al., 1981; Holeton et al., 1983; Wright & Wood, 1985).

Die bei Karpfen zum Tode führende  $\text{pH}_W$ -Absenkung auf 3,5 erhöht den  $\text{p}_a\text{CO}_2$  und die Laktatkonzentration im arteriellen Blut, bei gleichzeitigem Abfall des  $\text{p}_a\text{O}_2$  (Ultsch et al., 1981).

Ähnliche Ergebnisse liegen bei *Catostomus commersoni* in natürlichem weichen Wasser bei  $\text{pH}_W = 4,2$  vor (Hobe et al., 1984). Bei diesen Tieren steigt gleichzeitig die Ammoniakkonzentration ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) im arteriellen Blut.

Obwohl, physiko-chemisch bedingt, der  $\text{pNH}_3$  in saurem Wasser sehr klein ist, fanden Wright & Wood (1985) bei  $\text{pH}_W = 4,0$  ansteigende  $\text{NH}_4^+$ -Plasmakonzentrationen bei Regenbogenforellen und sinkende Ammoniakausscheidung über die Kiemen. Nach ihrer Ansicht wird der  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ -Austausch am Kiemenepithel unter diesen Bedingungen blockiert.

Lin & Randall (1991) konnten keine signifikant gesenkte Ammoniakexreptionsrate bei der Regenbogenforelle unter gleichen Bedingungen feststellen. Nach ihnen hemmt der niedrige  $\text{pH}_W$  eine elektogene Protonenpumpe an der apikalen Membran des Kiemenepithels. Folge ist ein verminderter Einstrom von  $\text{Na}^+$ , ein gesenkter  $\text{pH}_i$  des Kiemenepithels und die dadurch abnehmende  $\text{NH}_3$ -Konzentration in den Epithelzellen. Sie kann letztlich zur Senkung der Ammoniakexkretion führen.

Die  $\text{pH}_W$ -Senkung auf 4,0 erhöht bei der Regenbogenforelle nicht den Wasserfluß durch die Kiemen. Erst die durch die Säuerung des Wassers provozierte Schleimbildung am Kiemenepithel behindert die Sauerstoffaufnahme und führt deshalb zur allmählichen Steigerung der Kiemenventilation (Packer & Dunson, 1972; Janssen & Randall, 1975).

McDonald et al. (1991) wiesen nach, daß interspezifische Unterschiede in der Kiemenmorphologie mitverantwortlich für die unterschiedliche  $\text{pH}_W$ -Toleranz im sauren Bereich sind. Teilweise beruhen sie auf Differenzen in der passiven Durchlässigkeit parazellulärer Transportwege für Ionen.

Intraspezifische Toleranzunterschiede konnten sie bei Adaptation an unterschiedliche Wasserhärte nachweisen. Bei der Regenbogenforelle bewirkte die Adaptation an weiches Wasser (gegenüber an hartes Wasser adaptierten Tieren) folgende Veränderungen an den Kiemen :

- Zunahme der Lamellendicke,
- Erhöhung der Diffusionsdistanz zwischen Blut und Wasser,
- Steigerung der Chloridzelldichte,
- Schleimzellen nachweisbar.

Die  $\text{pH}_W$ -Toleranz im sauren Bereich nahm im weichen Wasser deutlich ab.

Der  $\text{Na}^+$ -Verlust stieg erheblich, und alle Forellen starben innerhalb von 2 h bei  $\text{pH}_W = 3,25$ .

## 4.2. Alkalische $\text{pH}_W$

Die Anhebung des  $\text{pH}_W$  durch Zusatz von Laugen führt zu erheblichen Störungen des Säure-Basen-Haushaltes und des Elektrolythaushaltes bei Fischen. Das Ausmaß dieser Störungen ist vor allem vom Grad und der Geschwindigkeit des  $\text{pH}_W$ -Anstieges abhängig.

Starke  $\text{pH}_W$ -Erhöhungen in den alkalischen Bereich provozieren ansteigende pH-Werte im Blut (arteriell oder venös). Nachfolgend Beispiele aus der Literatur:

Regenbogenforellen             $\text{pH}_W = 8,7$  und  $9,6$  (Wright & Wood, 1985)  
 $\text{pH}_W = 9,9$  (Lin & Randall, 1990)  
 $\text{pH}_W = 10,1$  (Yesaki & Iwama, 1992)

Karpfen                             $\text{pH}_W = 9,0$  und  $10,0$  (Wölm, 1988).

Der pH-Wert-Anstieg wird vom Abfall des  $\text{pCO}_2$  und der Bikarbonatkonzentration im arteriellen Blut begleitet (Wright & Wood, 1985; Lin & Randall, 1990; Yesaki & Iwama, 1992).

Die Plasmakonzentration an  $\text{Na}^+$  sinkt (Wright & Wood, 1985; Yesaki & Iwama, 1992) durch reduzierten  $\text{Na}^+$ -Einstrom bei gleichzeitig gesteigertem  $\text{Na}^+$ -Ausstrom über die Kiemen (Wright & Wood, 1985; Wilkie et al., 1996). Der Abfall der  $\text{Na}^+$ -Konzentration im Plasma ist bei der Regenbogenforelle von der Härte des Wassers abhängig.

Er ist in weichem Wasser stark erhöht. Weiches Wasser mit  $\text{pH}_W = 10,1$  senkt auch die Plasmakonzentration an  $\text{Cl}^-$  (Yesaki & Iwama, 1992).

Nach neueren Ergebnissen ist die Regenbogenforelle bei chronisch erhöhtem  $\text{pH}_W$  auf  $9,5$  zur Regulation des Blut-pH während der Alkalose befähigt. Sie erreicht dies über steigende Konzentrationen saurer Metabolite ohne Erhöhung der Laktatproduktion (Wilkie et al., 1996).

Ammoniak liegt entsprechend seines  $\text{pK}$ -Wertes bei hohen pH-Werten verstärkt in seiner toxischen, nichtionisierten Form vor.

Im Forellenblut führt der  $\text{pH}_W$ -Anstieg zur Akkumulation von  $\text{NH}_3$  und  $\text{NH}_4^+$  (Wright & Wood, 1985; Lin & Randall, 1990; Yesaki & Iwama, 1992; Wilkie et al., 1996) durch verminderte Ammoniakausscheidung über die Kiemen (Wright & Wood, 1985; Yesaki & Iwama, 1992; Wilkie et al., 1996).

Auch die Toleranz der Regenbogenforelle gegenüber alkalischen Wasser-pH-Werten hängt offensichtlich von der Härte des Wassers ab. Yesaki & Iwama (1992) konnten nachweisen, daß bei hoher Kalziumkarbonatkonzentration im Wasser ( $320 \text{ mg/l}$ ) ein  $\text{pH}_W = 10,1$  196 h überlebt werden, wogegen dieser  $\text{pH}_W$  in weichem Wasser ( $\text{CaCO}_3 = 4 \text{ mg/l}$ ) innerhalb von 96 h zum Tode führt. In weichem,  $\text{Ca}^{2+}$ -armem Wasser führt die pH-Erhöhung auf  $\text{pH}_W = 10,1$  neben dem drastischen Anstieg der Ammoniakkonzentration im Plasma zu einem rapiden Abfall der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Plasmakonzentration. In hartem,  $\text{Ca}^{2+}$ -reichem Wasser ( $320 \text{ mg/l CaCO}_3$ ) fällt der anfängliche Anstieg der Ammoniakkonzentration niedriger aus und bleibt dann relativ konstant. Die Plasmakonzentrationen von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  sind nach 192 h fast unverändert (Yesaki & Iwama, 1992). Dies spricht für stimulierte Ammoniakexkretion über einen  $\text{Na}^+$ -abhängigen Austausch bei hoher  $\text{CaCO}_3$ -Konzentration im Wasser.

Daraus schlußfolgern sie, daß die Wasserhärte bei alkalischen Wasserverhältnissen stabilisierend wirkt und dabei Kalziumionen eine entscheidende Rolle spielen könnten

## **5. Kontroll- bzw. Ruhewerte beim Karpfen**

In der Literatur sind von verschiedenen Autoren Ruhewerte angegeben, die sich entweder auf Kontrollgruppen beziehen oder Ausgangswerte von Versuchsgruppen darstellen.

### **5.1. Blut-pH, Blutgaswerte, Blut-Bikarbonat- und -Laktatkonzentration**

(1Torr = 1mmHg = 133,3224 Pa; 1Pa =  $7,50062 \times 10^{-3}$  Torr)

Tabelle 3: pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>], [Laktat]

pH	pCO <sub>2</sub> in Torr	pO <sub>2</sub> in Torr	[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] in mmol·l <sup>-1</sup>	[Laktat]	Temp. in °C	Autor
<b>arterielles Blut</b>						
7,89	3,78	24,8	-	-	24,5	Itazawa and Takeda (1978)
7,86	3,47	73,2	9,43	1,21 mmol·l <sup>-1</sup>	15,0	Ultsch et al. (1981)
7,87	4,75	44,4	13,8	-	15,0	Claiborne and Heisler (1984)
7,78	5,00	43,1	-	0,75 mmol·l <sup>-1</sup>	20,0	Fuchs and Albers (1988)
8,07	3,30	15,3	14,2	-	10,0	Glass et al. (1990)
8,01	4,00	14,4	13,4	-	20,0	Glass et al. (1990)
7,95	3,90	23,2	-	-	25,3	Takeda (1990)
7,85	5,50	20,4	-	-	25,9	Yamamoto (1991)
7,94	4,04	25,9	-	-	25,3	Takeda (1993 a)

Fortsetzung Tab. 3:

venöses Blut						
-	4,22	11,7	-	-	24,5	Itazawa and Takeda (1978)
7,94	4,20	9,0	-	-	25,3	Takeda (1990)
7,76	-	-	-	7,4 mg/dl	20,0	Kakuta and Murachi (1992)
7,73	-	-	-	8,9 mg/dl	16,0	Kakuta et al. (1992)
7,91	4,74	9,5	-	-	25,3	Takeda (1993 a)

## 5.2. Hämatokrit (Hk), Hämoglobinkonzentration (Hb), Erythrozytenkonzentration, mittlerer Hämoglobingehalt der Erythrozyten (MCHC) und mittleres Erythrozytenvolumen (MCV)

Tabelle 4: Hk, [Hb], [Erythrozyten], [MCHC], MCV

Hk	[Hb]	[Erythr.] in $10^{12} \cdot l^{-1}$	[MCHC]	MCV	Temp. in °C	Autor
arterielles Blut						
0,203	5,55 g/dl	-	-	-	24,5	Itazawa and Takeda (1978)
0,188	3,35 $mmol \cdot l^{-1}$	1,02	18,0 $mmol \cdot l^{-1}$	-	20,0	Fuchs and Albers (1988)
0,202	6,21 g/dl	-	307 g/l	-	25,3	Takeda (1990)
0,245	7,21 g/dl	-	-	-	25,9	Yamamoto (1991)
0,207	6,23 g/dl	-	301 g/l	-	25,3	Takeda (1993 a)
venöses Blut						
0,305	8,3 g/dl	-	-	-	20,0	Kakuta and Murachi (1992)
0,313	8,1 g/dl	1,27	26 g/dl	$243 \mu^3$	16,0	Kakuta et al. (1992)

### 5.3. Elektrolytkonzentrationen

Tabelle 5: Elektrolytkonzentrationen im Blutplasma in  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$

$[\text{Cl}^-]_{\text{pl}}$	$[\text{Na}^+]_{\text{pl}}$	$[\text{K}^+]_{\text{pl}}$	$[\text{Ca}^{2+}]_{\text{pl}}$	Temp. (°C)	Autor
114,1	131,0	2,82	-	15	Ultsch et al. (1981)
112,4	136,2	4,6	-	16	Houston and Smeda (1979)
112,9	133,9	4,0	-	30	Houston and Smeda (1979)
113,4	125,2	4,4	-	20	Fuchs and Albers (1988)
117,5	128,5	2,92	2,3	15	Jensen (1990)
-	127,0	2,9	2,3	20	Kakuta and Murachi (1992)
116	120,8	3,2	5,68	16	Kakuta et al. (1992)

### 5.4. Gesamtammoniakkonzentration $[\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+]$ im Karpfenblut

Tabelle 6:  $[\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+]$  in  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$

Plasma		Erythr.	Versuchsbedingungen			Autor
199		170	48 h nach letzter Fütterung; 25,0 $\pm 0,5$ °C			Ogata (1985)
118,4		191,6	48 h nach letzter Fütterung; 25,0 $\pm 0,5$ °C			Ogata and Murai (1987)
			20 $\pm 0,5$ °C			Ogata and Murai (1988)
<b>Dorsalaorta</b>			<b>Bulbus arteriosus</b>			
Vollblut	Plasma	Erythr.	Vollblut	Plasma	Erythr.	
378	240	626	629	433	963	

### 5.5. Katecholaminkonzentration

molare Masse:Adrenalin = 183,2 g/mol

Noradrenalin = 171,2 g/mol

Tabelle 7: Katecholaminkonzentration im Blutplasma arteriellen oder venösen Blutes

[Adrenalin] <sub>pl</sub>	[Noradrenalin] <sub>pl</sub>	Temp. in °C	Autor
8,19 ± 0,16 nmol·l <sup>-1</sup>	95,2 ± 17,9 nmol·l <sup>-1</sup>	-	Mazeaud (1964)
0,50 ± 0,19 nmol·l <sup>-1</sup>	5,31 ± 3,12 nmol·l <sup>-1</sup>	20	Fuchs and Albers (1988)
0,05 - 0,3 ng/ml (0,27 - 1,64 nmol·l <sup>-1</sup> )	0,05 - 0,5 ng/ml (0,29 - 2,92 nmol·l <sup>-1</sup> )	20	Kakuta and Murachi (1992)

## II. Eigene Untersuchungen

### 6. Material und Methode

#### 6.1. Haltung und Vorbereitung der Versuchstiere

Um die Versuche in entsprechender Qualität durchführen zu können, waren Planung und Bau von Haltungs-, Vorbereitungs- und Versuchseinrichtungen notwendig. Diese sollten bestimmten Anforderungen entsprechen.

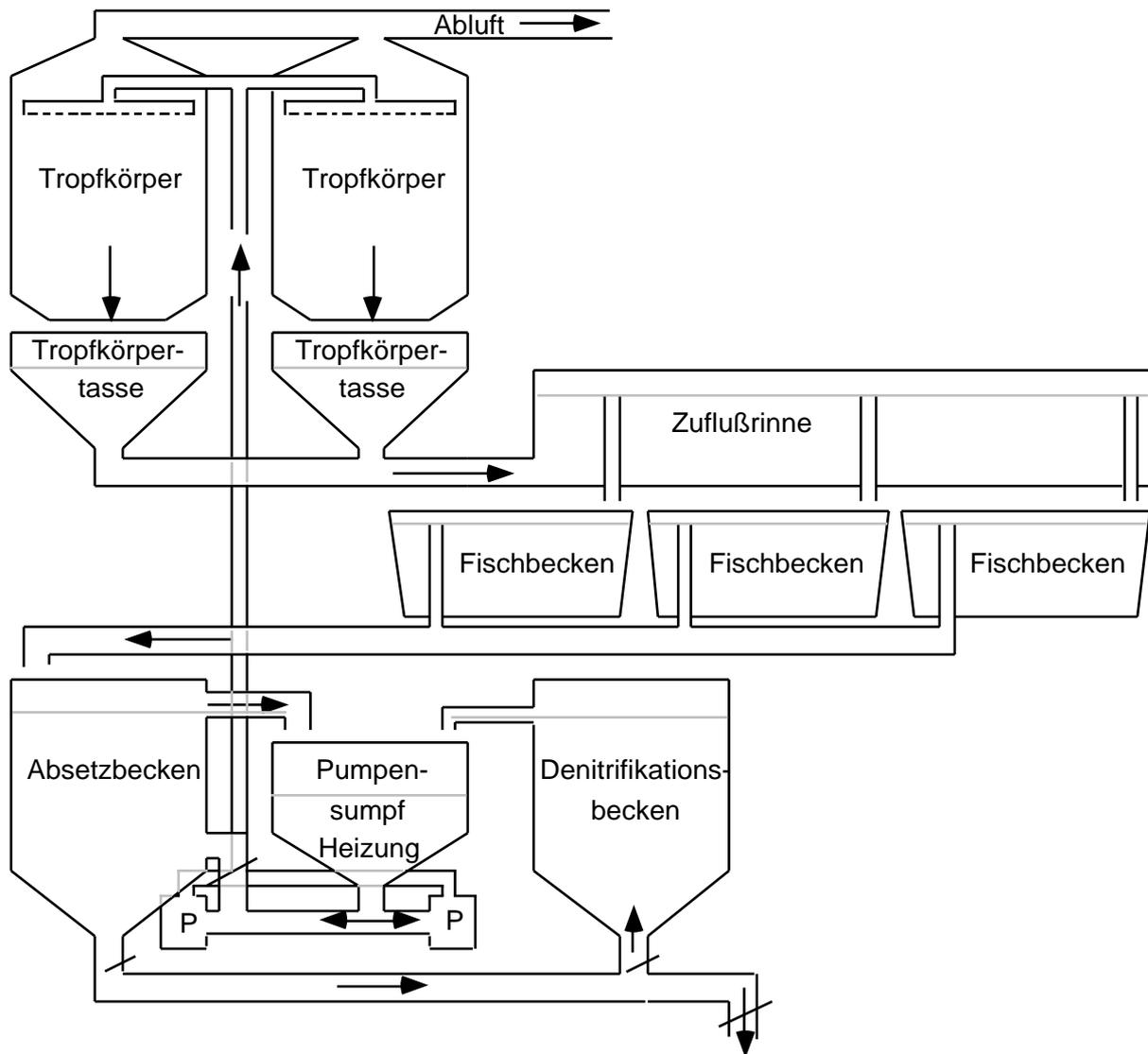
Als wichtigste Anforderungen an die Halteanlage wurden folgende Kriterien zugrunde gelegt:

- Haltungsmöglichkeit einer ausreichenden Zahl größerer Karpfen (bis ca. 5 kg Körpermasse);
- regulierbare, standardisierte Haltungsbedingungen für alle Tiere innerhalb des Haltungssystems;
- gleichmäßig hohe Wasserqualität über lange Zeiträume bei geringem Frischwasser- und Energieverbrauch;
- Erfüllung vorgeschriebener Sicherheitsstandards;
- einfache Übersicht- und Bedienbarkeit;
- Anpassung der Anlagengröße an die räumlichen Gegebenheiten innerhalb des Institutes für Physiologie.

Nach diesen und weiteren Kriterien wurde ein eigenes Konzept entwickelt, welches gemeinsam mit einem Fachmann aus dem Institut für Binnenfischerei (Berlin Friedrichshagen) von der Planung bis zur baulichen Ausführung in einem Institutsraum umgesetzt wurde. Die gestellten Anforderungen waren nur mit einer Kreislaufanlage realisierbar (siehe Abbildung 3, schematisch, nicht maßstabgerecht). Die Berechnung der notwendigen Kapazitäten der entsprechenden Funktionseinheiten (z. B. Pumpen, Heizung, Größe der Tropfkörper, des Denitrifikationsbeckens) erfolgte nach Kriterien für Kreislaufanlagen in der Binnenfischerei. Zugrunde gelegt wurde eine Fischgesamtmasse von 150 kg.

Die Anlagen für die Versuchsvorbereitung und -durchführung wurden in benachbarten Laborräumen errichtet.

Abb. 3: Fischhaltungssystem



Die verwendeten Karpfen beiderlei Geschlechts wurden aus einem Karpfenzucht- und -mastbetrieb bezogen und während sechs Monate vor Versuchsbeginn in den drei Becken der Kreislaufanlage mit geringem kontinuierlichen Frischwasserzufluß (Berliner Leitungswasser) gehalten.

Die Kreislaufanlage gewährleistete über den Gasaustausch in zwei Tropfkörpern mit Drehsprengern durchgängig Sauerstoffkonzentration nahe dem Sättigungswert im Wasser. Anfallender Schlamm wurde täglich aus dem Absetzbecken abgelassen, und ein Denitrifikationsbecken sorgte für den Abbau von stickstoffhaltigen Verbindungen (z. B. Nitrat, Nitrit).

Das Gesamtwasservolumen der Anlage betrug ca. 2000 l und wurde stündlich sechsmal umgewälzt. Frischwasserzufluß, Regeleinrichtungen und Heizung waren im Pumpensumpf installiert. Die kontinuierliche Temperaturmessung sowie Analyse anderer Werte erfolgte im Wasser der Zuflußrinne.

Die letzten zwei Monate vor Versuchsbeginn wurden die Tiere bei einem 12-h-Hell-12-h-Dunkel-Lichtregime und einer Wassertemperatur von  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$  gehalten. Sie wurden regelmäßig zweimal täglich mit handelsüblichem Karpfenfutter gefüttert.

Während der letzten zwei Wochen in der Fischhaltungsanlage und während der Vorbereitungsphase des Versuches wurden die Fische in den Tagesstunden diskontinuierlich bis zu zehnmal mit kleinen Portionen gefüttert, um eine fütterungsbedingte Tagesrhythmik des Verhaltens und verschiedener Blutwerte zu verhindern.

Die Versuchsvorbereitungsphase des Einzeltieres begann mit der Katheterisierung der Aorta dorsalis in Anlehnung an die von Soivio et al (1975) und Ultsch et al. (1981) beschriebene Methode.

Zu diesem Zweck wurden die Karpfen mit MS-222 (Tricainmethanosulfonat, 150 mg/l) in sauerstoffgesättigtem, gepuffertem Wasser anästhesiert. Dieses Anästhetikum wirkt im gewählten Temperaturbereich bei Karpfen schnell, zuverlässig und ist durch kurze Erholungsphasen nach Beendigung der Einwirkung charakterisiert (Hikasa et al., 1985).

Abweichend zu der von Soivio et al (1975) und Ultsch et al. (1981) angewandten Methode wurde die im vorderen Bereich des Maulhöhlendaches eingesetzte sterilisierte Hülse aus Polyethylen beidseitig an den Öffnungsrändern abgeflacht, wobei die äußere Öffnung nach Einsetzen der Hülse und deren Kürzung auf die notwendige Länge kurz erhitzt und geformt wurde. Der Katheter (1 x 0,8 mm, 85 cm lang; Periduralkatheter, Fa. Vygon) wurde unter dem Gaumen in die Aorta dorsalis geführt, wobei Markierungen am Katheter die Ermittlung der genauen Lage der Katheteröffnung ermöglichten. Das freie Ende des Katheters wurde durch die Hülse nach außen geführt, mit dem Spritzenansatz nach Spülung mit steriler, isotonischer Elektrolytlösung (0,1 g NaHCO<sub>3</sub>; 0,2 g KCl; 0,2 g CaCl<sub>2</sub>; 0,9 g NaCl in 1000 ml H<sub>2</sub>O) verschlossen und mit einem Schwimmer versehen. Der Katheter wurde mit Nahtmaterial außerhalb des Tierkörpers an der Hülse befestigt, so daß chirurgische Nähte in der Maulhöhle und an der äußeren Haut nicht notwendig waren.

Nach erfolgter Katheterisierung wurden die Tiere einzeln in durchströmte (200 l/h) Aquarien gesetzt bei sonst gleicher Wasserqualität und gleichen äußeren Bedingungen wie in der Halteanlage. Innerhalb von vier Minuten erwachten die Tiere aus der Narkose und zeigten nach weniger als zehn Minuten normales Verhalten (teilweise bereits mit Futteraufnahme).

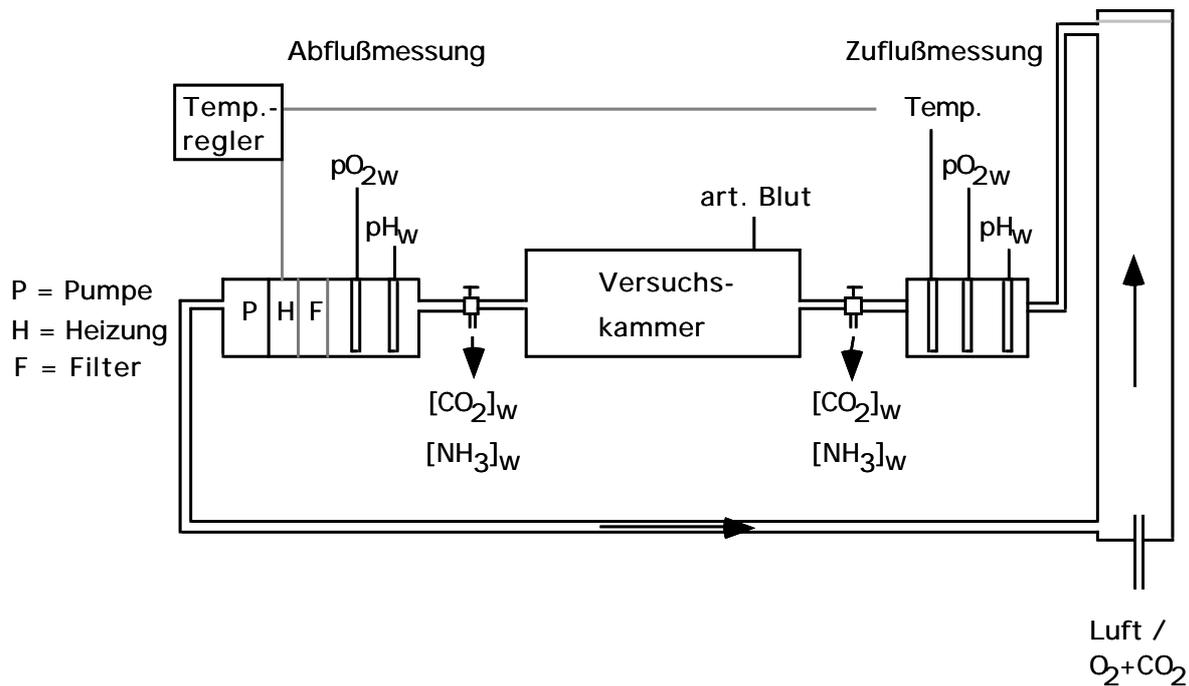
Die Karpfen wurden 48 - 72 h in diesen Vorbereitungsbecken belassen und diskontinuierlich gefüttert. In diesem Zeitraum wurde der Katheter zweimal täglich auf Durchgängigkeit geprüft und gespült.

## 6.2. Versuchsdurchführung

Die Versuchsanlage wurde in einem wärmeisolierten, geräuschgedämpften Raum errichtet. Sie bestand aus einem Zirkulationssystem mit 80 l Wasserinhalt. Als Versuchsbecken dienten zwei selbstgeklebte, der Fischgröße angepaßte Glasaquarien mit eingesetzten Durchlaufstutzen. Der Durchfluß wurde kontinuierlich auf ca. 200 l/h und Versuchsbecken geregelt. Jedes Versuchsbecken gestattete dem Fisch eine normale Körperhaltung und Stellung gegen die Strömung, aber kein Schwimmen und Wenden im Becken. Um Störungen zu vermeiden, war es blickdicht und lichtdurchlässig verkleidet und gegenüber der Außenluft mittels einer Glasscheibe und Silikonabdichtungen weitestgehend abgeschlossen. Der Katheter wurde durch eine Öffnung in der Deckplatte herausgeführt. Die Wassertemperatur wurde auf 25 °C ± 0,1 °C reguliert. Der Sauerstoffpartialdruck am Zulauf betrug kontinuierlich 150 Torr (20 kPa). Dies wurde mittels Belüftung über eine begasbare Säule erreicht, wobei die Membranpumpe außerhalb des Raumes stand, und nur die Luftleitungen in den Raum führten (Begrenzung der Geräuschbelastung).

In den Wasserstrom war ein Filter eingeschaltet. Der Sauerstoffgehalt wurde kontinuierlich gemessen. Zu- und Ablauf der Versuchsbecken enthielten Wasserentnahmeeinrichtungen für weitere Untersuchungen (siehe Abbildung 4, schematisch, nicht maßstabgerecht).

Abb. 4: Versuchsanlage



48 - 72 h vor Versuchsbeginn wurden die Tiere im Vorbereitungsbecken leicht sediert (MS-222, gepuffert) und in das Versuchsbecken umgesetzt. Der Katheter wurde an eine Infusionspumpe (Syrotron 40) angeschlossen und kontinuierlich gespült (1 ml/24 h), um seine Durchgängigkeit bei eingeschränkter Bewegungsfreiheit des Karpfens zu sichern. Der Licht/Dunkel-Rhythmus wurde beibehalten, die Fütterung eingestellt. Bis 12 h vor Versuchsbeginn wurde das Wasser der Versuchsanlage mehrfach gewechselt und der Filter gesäubert.

Die Versuche wurden an je zwei Einzeltieren in drei Gruppen durchgeführt.

### Kontrollgruppe

Die Tiere der Kontrollgruppe (n = 6; Körpermasse:  $4242 \pm 600$  g) verblieben 48 h in der Versuchsanlage ohne äußere Veränderungen der Versuchsbedingungen.

### Versuchsgruppe I: Hyperkapnie

Die Tiere dieser Versuchsgruppe (n = 8; Körpermasse:  $3475 \pm 375$  g) wurden nach der ersten Blutentnahme (07.<sup>00</sup> Uhr) einer Hyperkapnie für die Dauer von 36 h ausgesetzt. Die Begasung der Säule im Versuchskreislauf erfolgte von diesem Zeitpunkt an mit einem Gasgemisch aus 5 % CO<sub>2</sub> und 21 % O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>

(Fa. Alpha-Gas). Die Begasung wurde so eingestellt, daß der  $p_{wO_2}$  150 Torr ( 20 kPa) am Zulauf des Versuchsbeckens betrug.

Nach der achten Blutabnahme wurde die Begasung bis zum Versuchsende mit atmosphärischer Luft durchgeführt.

### Versuchsgruppe II: Hyperkapnie und Ammoniakbelastung

Die Tiere dieser Versuchsgruppe (n = 20; Körpermasse:  $3645 \pm 1.025$  g) erfuhren den gleichen Versuchsablauf wie bei der Versuchsgruppe I. Zusätzlich wurden in diesem Versuch dem Was-

ser nach der fünften Blutentnahme 20 mg/l (ca. 1,11 mmol·l<sup>-1</sup>) NH<sub>4</sub><sup>+</sup> als Ammoniumchlorid (NH<sub>4</sub>Cl) zugesetzt und eine erhöhte NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Konzentration bis zum Versuchsende beibehalten.

Die Ammoniumchloridkonzentration wurde so gewählt, daß voraussichtlich zu keinem Zeitpunkt durch den wechselnden pH<sub>W</sub> freies Ammoniak im Wasser ([NH<sub>3</sub>]<sub>W</sub>) in akut hochtoxischen Konzentrationen auftreten konnte. Zur Kalkulation wurden Angaben von Trussel (1972) und Emerson et al. (1975) zum relativen Anteil des Ammoniaks in ammoniumhaltigen wäßrigen Lösungen in Abhängigkeit von Temperatur und Wasser-pH herangezogen.

Innerhalb von 48 h wurden jedem Tier elf Blutproben entnommen und zeitgleich Wasserproben analysiert. Die Blutentnahme erfolgte luftblasenfrei mit heparinisierten Einwegspritzen. Zu jedem Zeitpunkt wurden zweimal 1,5 ml arterielles Blut innerhalb von drei Minuten aus der Aorta dorsalis entnommen.

Zur Bestimmung des pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, Hämatokrit, der Hämoglobinkonzentration und der Erythrozytenkonzentration wurde arterielles Blut verwendet. Die Ammoniakkonzentration, die Katecholaminkonzentration sowie die Ionenkonzentrationen wurden aus dem arteriellen Blutplasma bestimmt, das bis zur Analyse in flüssigem Stickstoff tiefgefroren wurde.

Da die Entnahme von 33 ml (11 x 3 ml) Blut innerhalb von 48 h mit großer Wahrscheinlichkeit viele der zu bestimmenden Blutparameter verändert hätte, wie z. B. von Soivio et al. (1975) bei der Regenbogenforelle beschrieben, wurde der Blutverlust durch Reinfusion des Hauptanteiles (je ca. 85 %) der korpuskulären Bestandteile erheblich reduziert.

Nach Zentrifugation und Plasmaentnahme wurden die Blutzellen zweimal mit isotonischer Elektrolytlösung aufgeschwemmt, abzentrifugiert und nach erneuter Aufschwemmung (entsprechend des entnommenen Blutvolumens) und Temperatureinstellung auf 25 °C über den Katheter innerhalb von drei Minuten reinfundiert.

Mit dieser Methode war es möglich, den Blutverlust (bezogen auf die korpuskulären Anteile) durch Entnahme auf < 5 ml/48 h zu senken.

In der Dunkelphase wurde das Versuchsbecken gegen Lichteinfall abgeschirmt.

Auftretende Verhaltensänderungen der Tiere (gesteigerte motorische Aktivität) und technische Schwierigkeiten (z. B. Verzögerungen) während der Blutabnahme wurden protokolliert.

Der zeitliche Ablauf ist der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 8: Schema des Versuchsablaufes

Blutentnahme	Zeitpunkt	Kontrollgruppe	Gruppe I	Gruppe II
1	07 <sup>00</sup> Uhr	Ausgangswerte	Ausgangswerte	Ausgangswerte
2	08 <sup>00</sup> Uhr	Normokapnie 1 h	Hyperkapnie 1 h	Hyperkapnie 1 h
3	13 <sup>00</sup> Uhr	6 h	6 h	6 h
4	19 <sup>00</sup> Uhr	12 h	12 h	12 h
5	07 <sup>00</sup> Uhr	24 h	24 h	24 h
6	08 <sup>00</sup> Uhr	25 h	25 h	+ $[\text{NH}_3/\text{NH}_4^+]$ 25 h 1 h
7	13 <sup>00</sup> Uhr	30 h	30 h	30 h 6 h
8	19 <sup>00</sup> Uhr	36 h	36 h	36 h 12 h
9	20 <sup>00</sup> Uhr	37 h	Normokapnie 1 h	Normokapnie 1 h 13 h
10	01 <sup>00</sup> Uhr	42 h	6 h	6 h 18 h
11	07 <sup>00</sup> Uhr	48 h	12 h	12 h 24 h

### 6.3. Blutanalysen

Der Hämatokrit (**Hk**) wurde mit der Hämatokritzentrifuge Janetzki T 32c als Doppelbestimmung aus jeder Blutprobe ermittelt.

Die Hämoglobinkonzentration (**Hb**) wurde photometrisch mit der Cyano-Hb-Methode gemessen.

Die Ermittlung der **Erythrozytenkonzentration** erfolgte nach Erythrozytenzählung in der Bürker-Türk-Zählkammer.

Zur Bestimmung der Ammoniakkonzentration im Plasma ( $[\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+]_{\text{pl}}$ ) wurde die enzymatische Bestimmung mit dem Testkit Sigma 171-3 verwendet.

Die Bestimmung des  $\text{pH}_a$ , des  $\text{p}_a\text{O}_2$  und  $\text{p}_a\text{CO}_2$  und die Berechnung der Bikarbonatkonzentration ( $[\text{HCO}_3^+]_a$ ) sowie des base excess (**BE**) erfolgten mit dem AVL 995-Hb (Medical Instruments Graz/Austria) unter Verwendung von Hämacont-Mikrokapillaren (100 x 1,7 - 1,8 mm).

Die Plasmakonzentrationen von  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  ( $[\text{Na}^+]_{\text{pl}}$ ,  $[\text{K}^+]_{\text{pl}}$ ,  $[\text{Cl}^-]_{\text{pl}}$ ) wurden mit dem AVL 988-3 (Medical Instruments Graz/Austria) bestimmt, die von  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{pl}}$ ) photometrisch (Lange Photometer LP 400).

Katecholamine:

Zur quantitativen Bestimmung der Katecholaminspiegel aus dem Plasma ( $[\text{Adrenalin}]_{\text{pl}}$ ,  $[\text{Noradrenalin}]_{\text{pl}}$ ) erfolgte nach Zugabe eines internen Standards eine selektive Extraktion durch Adsorption an aktiviertes Aluminiumoxid mit anschließender Trennung über HPLC. Dafür wurde das HPLC-Komplettkit für Katecholamine im Plasma der Fa. Chromsystems Instruments + Chemicals GmbH München verwendet.

Die Trennung mit dem HPLC-System der Fa. WATERS wurde mit folgender Gerätekombination durchgeführt:

Injektor:	U6K
Pumpe:	Modell 510
Säule:	Resolve TM; C <sub>18</sub> ; 5 $\mu\text{m}$ ; 3,9x 15 mm
Detektor:	ECD M 460
Flußrate:	1 ml/min.

Zur Auswertung wurde die Auswerteeinheit-Integrator Data-Module 746 (WATERS) benutzt.

Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten wurde nach der Formel: **MCHC** = Hämoglobinkonzentration (in  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) : Hämatokrit ermittelt.

In die Versuchsauswertung wurden nur die Ergebnisse einbezogen, bei denen die Probengewinnung und -analyse laut Protokoll unter den gewünschten Bedingungen erfolgte. Das führte z. B. zum Ausschluß der Ergebnisse von zwei Versuchstieren der Kontrollgruppe und fünf Versuchstieren der Versuchsgruppe II, bei denen ein- oder mehrmalig eine starke motorische Aktivität / Erregung beobachtet wurde, die die Beeinflussung verschiedener Blutparameter vermuten ließ. Diese Vorgehensweise wurde ohne Berücksichtigung tatsächlich aufgetretener Beeinflussung, die für fast alle Parameter nicht nachzuweisen war, durchgeführt.

Einzelergebnisse, bei denen technische Störungen während der Analyse auftraten, wurden ebenfalls unabhängig von ihrer Größe ausgeschlossen.

#### 6.4. Wasseranalysen

Parallel zu jeder Blutentnahme wurden verschiedene Wasserparameter des zu- und abfließenden Wassers bestimmt.

Die Messung des Wasser-pH ( $\text{pH}_w$ ) erfolgte mit Präzisions-Labor-pH-Meßgerät MV 85 (Fa.

Clamann und Grahnert, Dresden) nach vorheriger Eichung mit Standardpuffern.

Der  $pO_2$  des Wassers ( $p_w O_2$ ) wurde elektrochemisch mittels  $pO_2$ -Stabmeßzelle und Meßverstärker M 80 ermittelt.

Zur Messung der Ammoniakkonzentration ( $[NH_3 + NH_4^+]_w$ ) wurden die gassensitive ORION Ammoniak-Elektrode Modell 95-12 und das ORION Ionometer Modell 940 verwendet.

Das gleiche Ionometer diente in Verbindung mit der ORION Kohlendioxid-Elektrode Modell 95-2 zur Ermittlung der Kohlendioxidkonzentration des Wassers ( $[CO_2]_w$ ).

## 6.5. Statistik

Die gemessenen Werte wurden mittels des Statistikprogrammes Statgraphics plus for Windows, Version 1.11 bearbeitet. In den Abbildungen sind jeweils die Mittelwerte  $\pm 1$  Standardfehler dargestellt.

Die Abbildungen der ermittelten Werte wurden im Statistikprogramm Statgraphics plus for Windows erstellt und im Programm Canvas 3.5.3 auf einem Power PC Macintosh Performa 5200 weiterbearbeitet, wobei die X-Achse mit der Darstellung der Blutentnahme annähernd dem zeitlichen Verlauf (siehe Tab. 8) entsprechend gestreckt wurde. Weitere Abbildungen wurden ebenfalls mit dem letztgenannten Programm erstellt.

## 6.6. Protokoll der Wasserwerte $pH_w$ , $[CO_2]_w$ , $p_w O_2$ , $[NH_3 + NH_4^+]_w$

In den folgenden Abbildungen sind die registrierten Wasserwerte im Versuchsverlauf (zu den Blutentnahmezeitpunkten) dargestellt.

### 6.6.1. $pH_w$

#### Kontrollgruppe

Im Versuchsverlauf trat aufgrund der Ausscheidungs- und Austauschprozesse der Versuchstiere eine Säuerung des Haltungswassers ein, wobei der  $pH_w$  des abfließenden Wassers zu jedem Zeitpunkt geringgradig unter dem des Zuflusses lag.

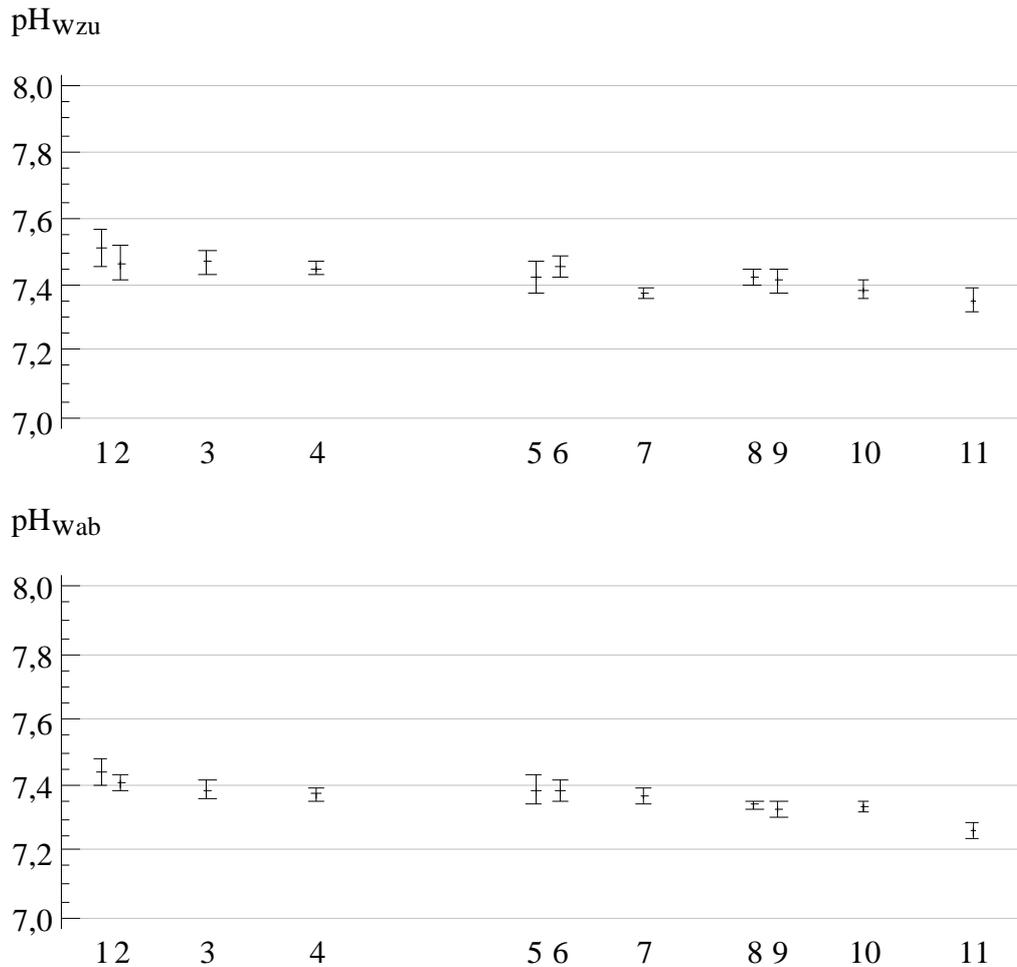


Abb. 5: pH-Werte im Zu- und Abflußwasser der Kontrollgruppe im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

### Versuchsgruppe I

In den Versuchsgruppen wird der  $\text{pH}_{\text{W}}$  maßgeblich von der Hyperkapnie beeinflusst. Die durch sie provozierte Senkung des  $\text{pH}_{\text{W}}$  endet mit Rückkehr zur Normokapnie, wobei die beiden letzten Werte in Versuchsgruppe I ebenfalls unter dem Ausgangswert liegen.

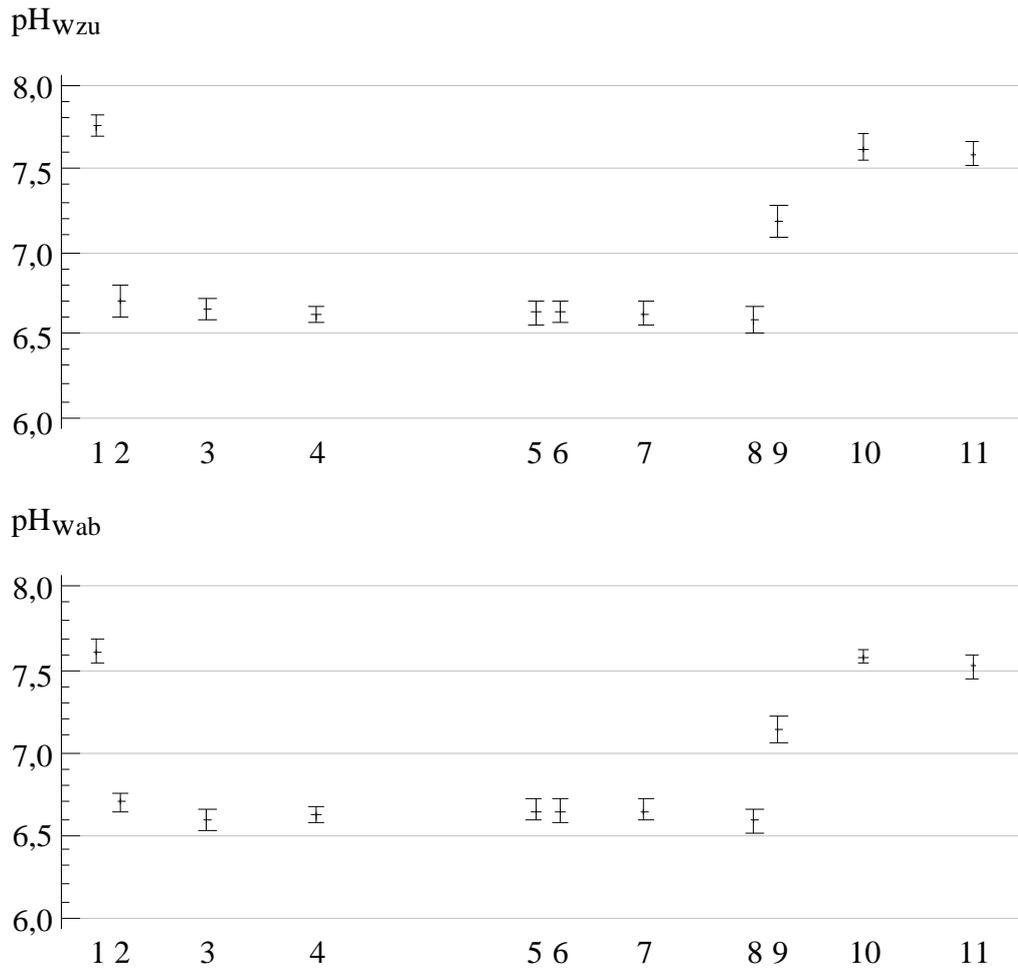


Abb. 6: pH-Werte im Zu- und Abflußwasser der Versuchsgruppe I im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

**Versuchsgruppe II**

In Versuchsgruppe II fällt der abweichende  $\text{pH}_W$ -Verlauf des abfließenden Wassers auf. Die  $\text{pH}_W$ -Differenz zum Zufluß ist größer, und die normokapnischen Endwerte liegen deutlich unter dem Ausgangsniveau und den entsprechenden Zuflußwerten.

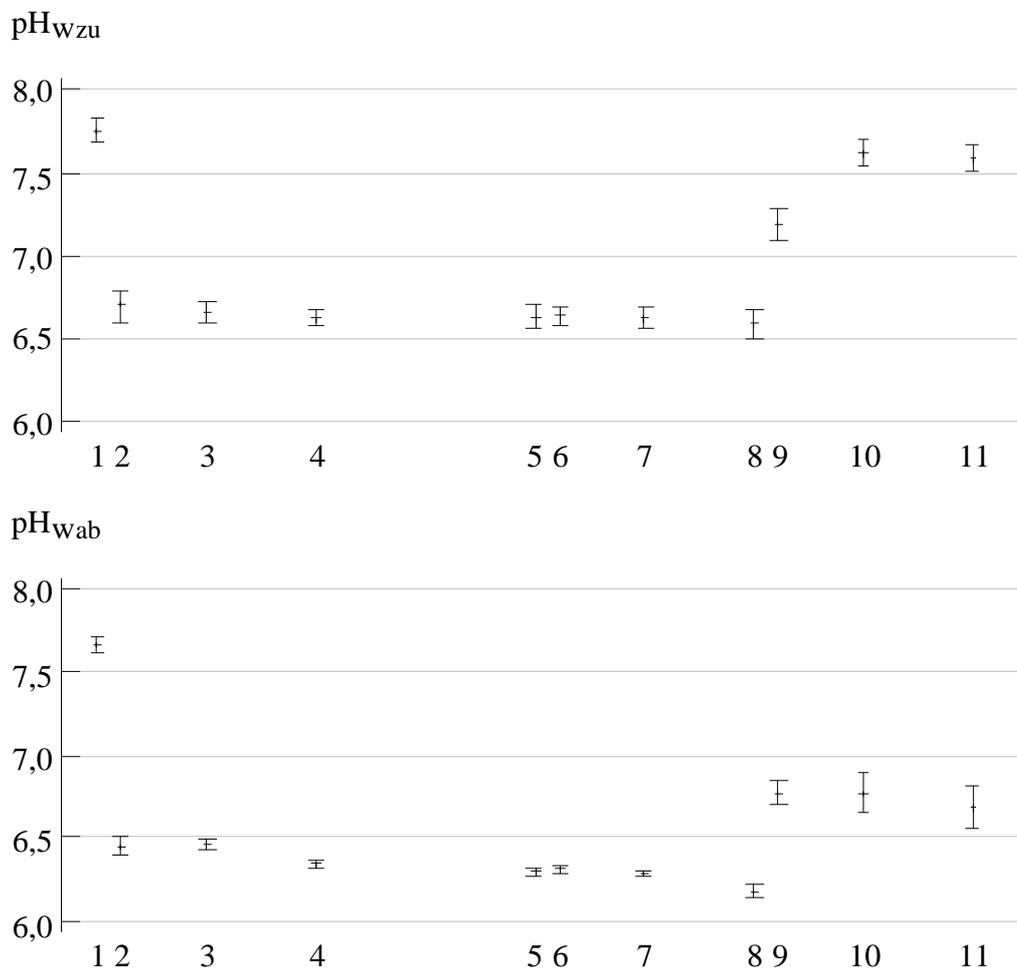


Abb. 7:  $\text{pH}$ -Werte im Zu- und Abflußwasser der Versuchsgruppe II im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

### 6.6.2. [CO<sub>2</sub>]<sub>w</sub>

#### Kontrollgruppe

Im Versuchsverlauf stieg die Kohlendioxidkonzentration im Wasser geringgradig. Durch den Gasaustausch lag die Konzentration im abfließenden Wasser zu jedem Zeitpunkt über der des Zuflusses.

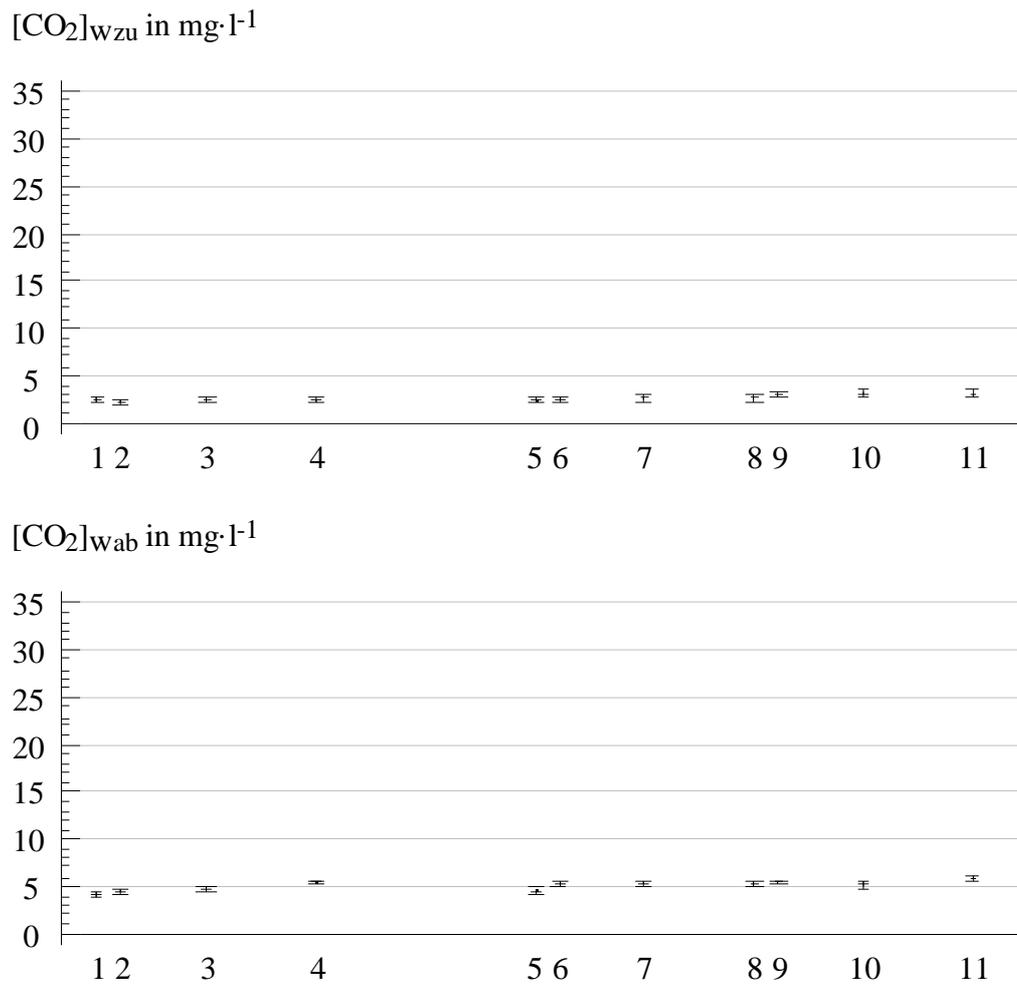


Abb. 8: Kohlendioxidkonzentration im Zu- und Abflußwasser der Kontrollgruppe im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert ± Standardfehler).

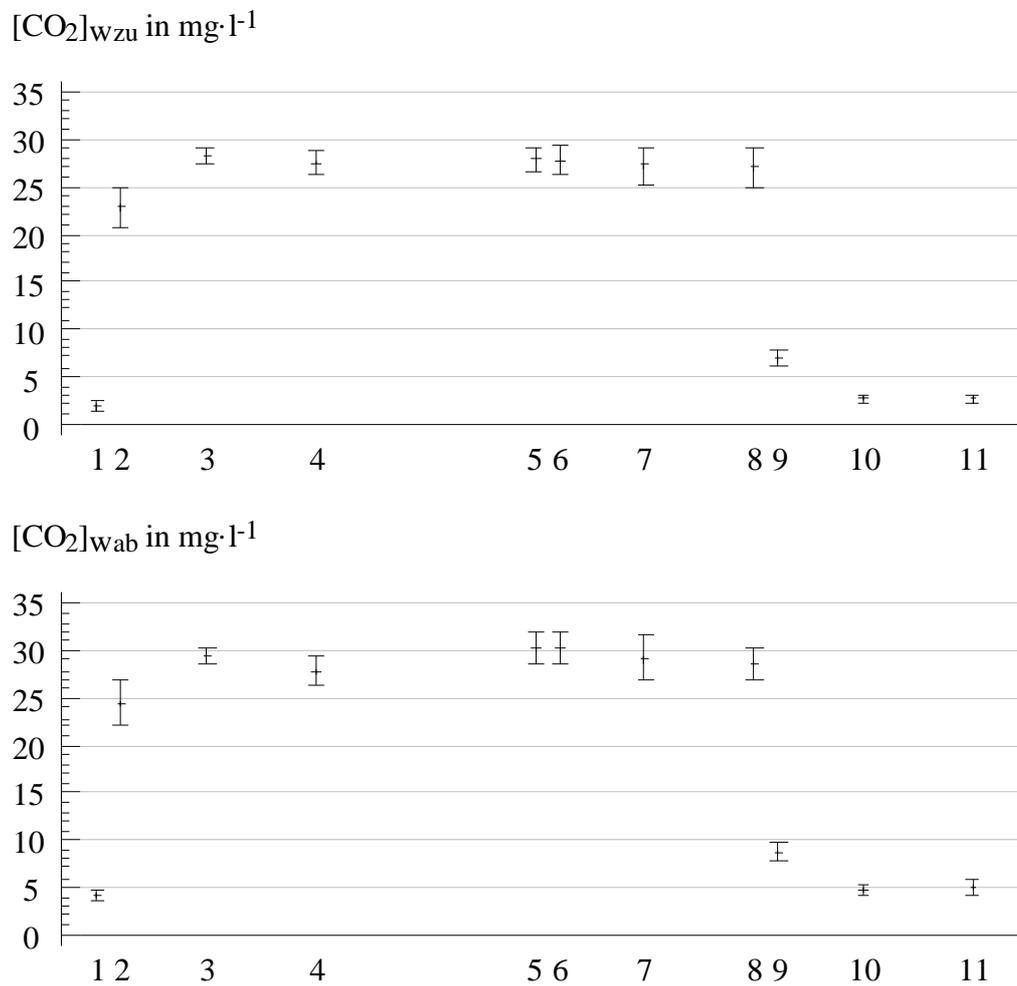
**Versuchsgruppe I**

Abb. 9: Kohlendioxidkonzentration im Zu- und Abflußwasser der Versuchsguppe I im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

In beiden Versuchsguppen ist der Hyperkapnieverlauf deutlich zu erkennen. Die gemessenen Kohlendioxidkonzentrationen im Wasser lagen in Versuchsguppe I leicht über denen der Versuchsguppe II. In beiden Versuchsguppen wurden im abfließenden Wasser zu jedem Zeitpunkt höhere Konzentrationen gemessen als im Zulauf.

Die normokapnischen Endwerte liegen in Versuchsguppe I wie in der Kontrollgruppe leicht über dem Ausgangsniveau, während sie in Versuchsguppe II auf dieses zurückgehen.

## Versuchsgruppe II

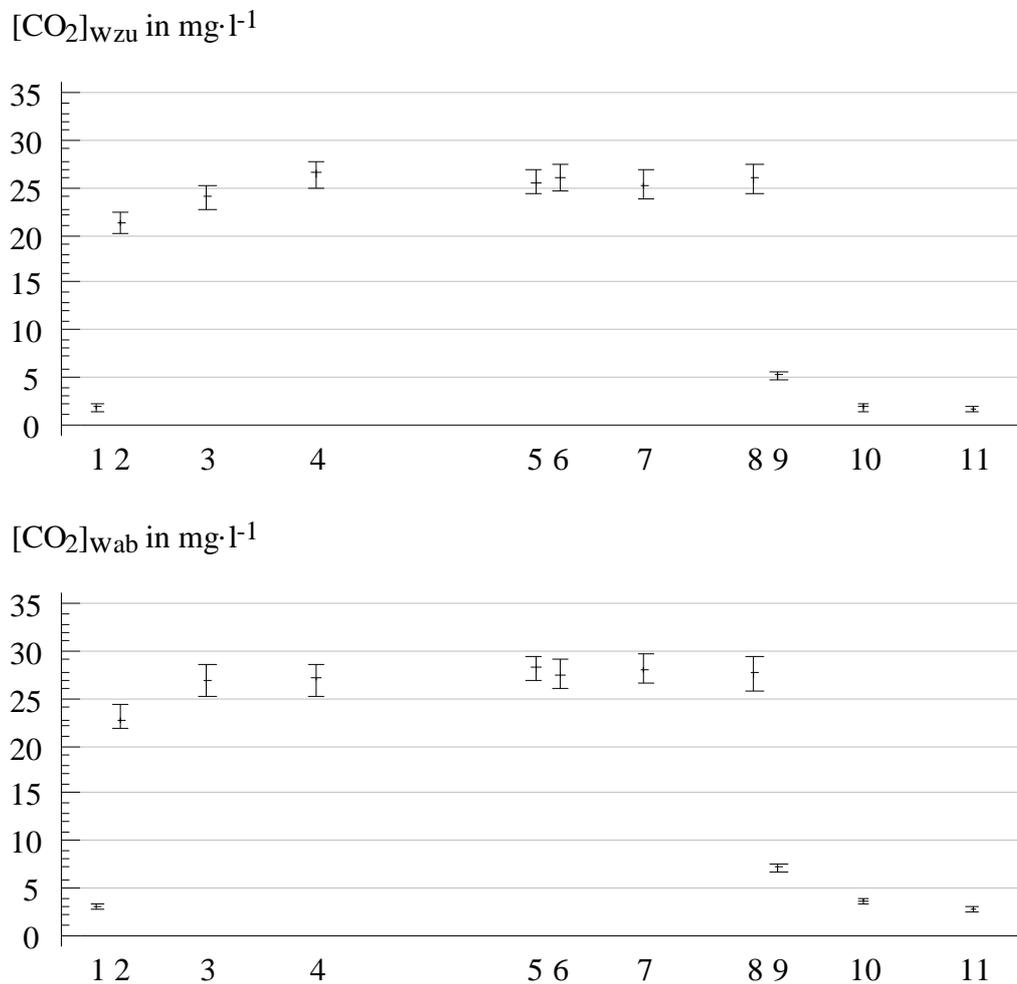


Abb. 10: Kohlendioxidkonzentration im Zu- und Abflußwasser der Versuchsguppe II im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

### 6.6.3. Ammoniak

#### Kontrollgruppe

Die Gesamtammoniakkonzentration des Wassers war in der Kontrollgruppe im gesamten Versuchszeitraum sehr niedrig und lag unter  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

#### Versuchsgruppe I

Hier kam es zum kontinuierlichen Anstieg der Ammoniakkonzentration im Wasser. Erst 12 h nach Beendigung der Hyperkapnie war eine rückläufige Tendenz erkennbar.

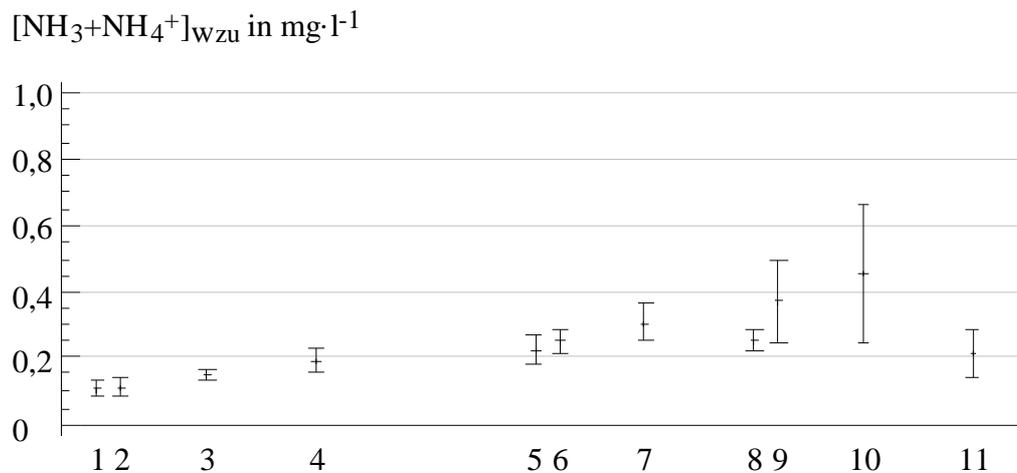


Abb. 11: Gesamtammoniakkonzentration im Zuflußwasser der Versuchsgruppe I im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

### Versuchsgruppe II

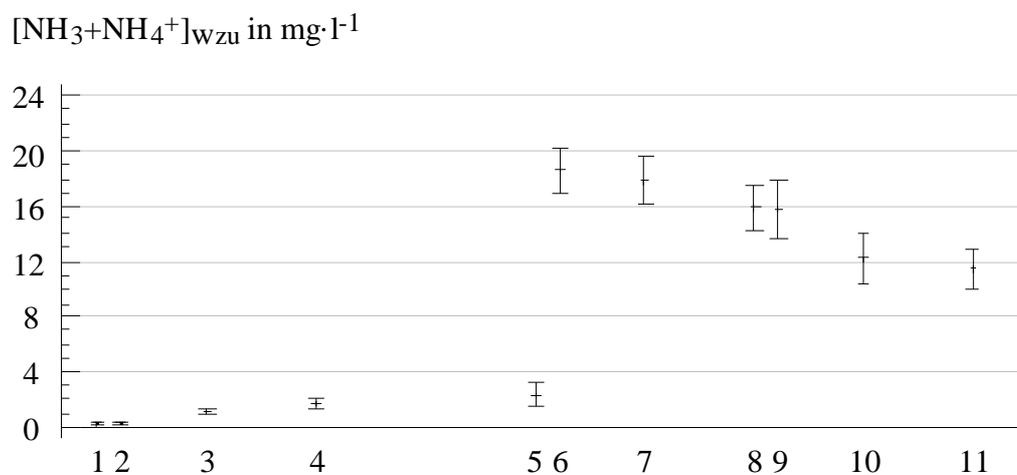


Abb. 12: Gesamtammoniakkonzentration im Zuflußwasser der Versuchsgruppe II im 48stündigen Versuchsverlauf zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

In Versuchsgruppe II stieg die Ammoniakkonzentration im Wasser bis zum Zeitpunkt der Ammoniumchloridzugabe von 20 mg/l NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kontinuierlich.

Ab einer Stunde nach Zugabe von Ammoniumchlorid waren im weiteren Verlauf abnehmende Werte zu registrieren.

#### 6.6.4. $p_{wO_2}$

##### Kontrollgruppe

Innerhalb der Kontrollgruppe kam es im Versuchsverlauf zur Abnahme des Sauerstoffpartialdruckes im zu- und abfließenden Wasser (Abb. 13), wobei die Werte am Zufluß im Bereich der Sauerstoffsättigung blieben.

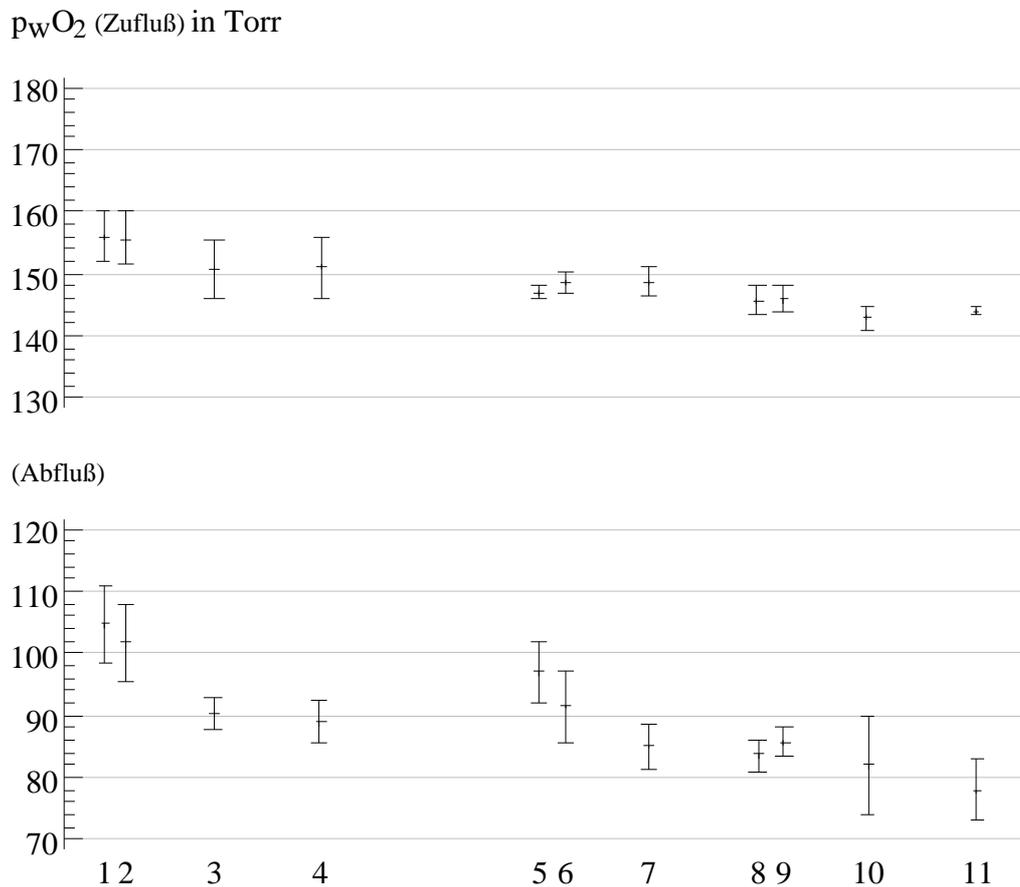


Abb. 13: Sauerstoffpartialdruck im zufließenden (oben) und abfließenden (unten) Wasser der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

### Versuchsgruppe I

In der Versuchsgruppe I fällt eine annähernd parallele Entwicklung des  $p_{wO_2}$  im zu- und abfließenden Wasser in der Hyperkapniephase auf. Nach Rückkehr zur Normokapnie steigt die  $p_{wO_2}$ -Differenz, was auf eine gesteigerte Sauerstoffaufnahme durch die Versuchstiere hindeutet.

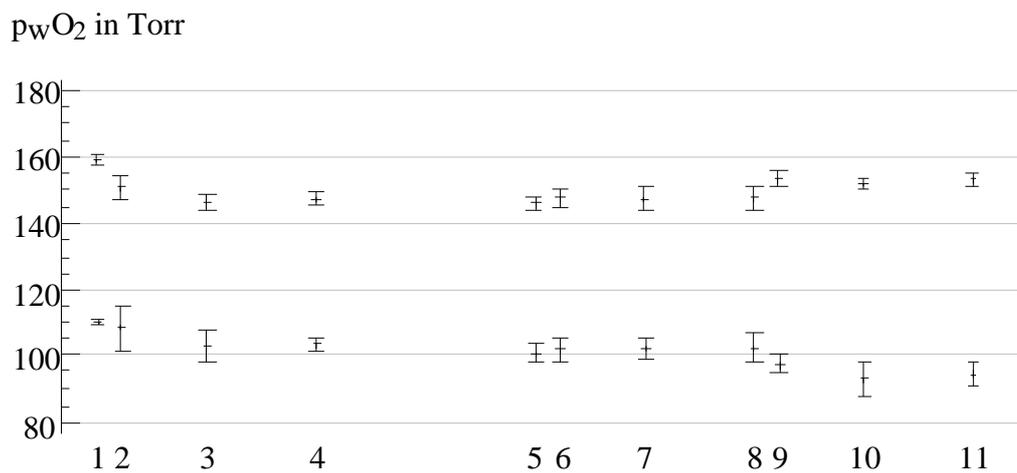


Abb. 14: Sauerstoffpartialdruck im zufließenden (oben) und abfließenden (unten) Wasser der Versuchsgruppe I zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

### Versuchsgruppe II

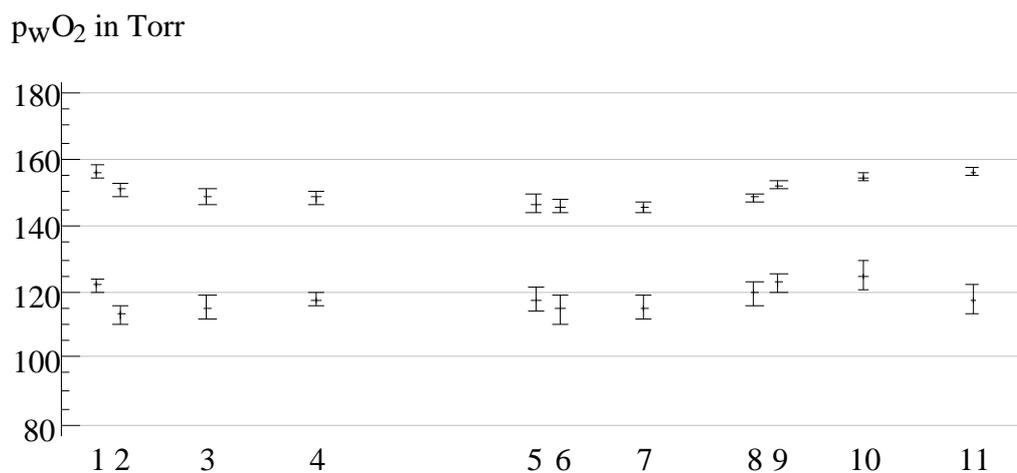


Abb. 15: Sauerstoffpartialdruck im zufließenden (oben) und abfließenden (unten) Wasser der Versuchsgruppe II zu den Zeitpunkten der Blutabnahme (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler).

## 7. Ergebnisse

Tabelle 9 zeigt die ermittelten Werte der Kontrollgruppe während des gesamten Versuchsablaufes sowie die Ausgangswerte, d. h. die Werte der ersten Blutabnahme in den beiden Versuchsgruppen.

Tabelle 9: Blutparameter der Kontrollgruppe und Ausgangswerte der Versuchsgruppen

Parameter	arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung		
Blut der Dorsalaorta	Kontrollgruppe (gesamter Versuch)	Versuchsgruppe I (1. Blutabnahme)	Versuchsgruppe II (1. Blutabnahme)
pH <sub>a</sub>	7,83 $\pm$ 0,03	7,85 $\pm$ 0,06	7,83 $\pm$ 0,06
p <sub>a</sub> CO <sub>2</sub> (kPa)	1,40 $\pm$ 0,13	1,08 $\pm$ 0,18	0,99 $\pm$ 0,12
(Torr)	10,50 $\pm$ 0,98	8,10 $\pm$ 1,35	7,43 $\pm$ 0,90
p <sub>a</sub> O <sub>2</sub> (kPa)	5,45 $\pm$ 1,94	4,94 $\pm$ 1,20	5,90 $\pm$ 1,93
(Torr)	40,88 $\pm$ 14,55	37,05 $\pm$ 9,00	44,25 $\pm$ 14,48
[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] <sub>a</sub> (mmol·l <sup>-1</sup> )	18,15 $\pm$ 1,78	14,69 $\pm$ 1,65	12,73 $\pm$ 1,74
BE (mmol·l <sup>-1</sup> )	-	-3,14 $\pm$ 2,02	-2,12 $\pm$ 1,86
Hk	0,178 $\pm$ 0,021	0,192 $\pm$ 0,031	0,179 $\pm$ 0,036
Hb (mmol·l <sup>-1</sup> )	3,02 $\pm$ 0,26	3,43 $\pm$ 0,61	3,05 $\pm$ 0,66
MCHC (mmol·l <sup>-1</sup> )	17,06 $\pm$ 1,07	17,85 $\pm$ 1,64	17,07 $\pm$ 1,29
[Erythr.] (10 <sup>6</sup> ·mm <sup>-3</sup> )	1,42 $\pm$ 0,16	1,33 $\pm$ 0,18	1,02 $\pm$ 0,20
Blutplasma der Dorsalaorta	arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung		
[Na <sup>+</sup> ] <sub>pl</sub> (mmol·l <sup>-1</sup> )	130,53 $\pm$ 1,69	132,00 $\pm$ 2,62	132,49 $\pm$ 3,24
[K <sup>+</sup> ] <sub>pl</sub> (mmol·l <sup>-1</sup> )	3,10 $\pm$ 0,34	4,53 $\pm$ 1,47	6,22 $\pm$ 1,33
[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>pl</sub> (mmol·l <sup>-1</sup> )	2,90 $\pm$ 0,45	2,26 $\pm$ 0,45	2,31 $\pm$ 0,43
[Cl <sup>-</sup> ] <sub>pl</sub> (mmol·l <sup>-1</sup> )	105,22 $\pm$ 1,76	110,44 $\pm$ 2,76	113,05 $\pm$ 2,20
[NH <sub>3</sub> ] <sub>pl</sub> (μg·ml <sup>-1</sup> )	2,30 $\pm$ 1,27	3,56 $\pm$ 1,76	1,74 $\pm$ 0,92
(mmol·l <sup>-1</sup> )	0,135 $\pm$ 0,074	0,209 $\pm$ 0,103	0,102 $\pm$ 0,054
[Adrenalin] <sub>pl</sub> (ng·ml <sup>-1</sup> )	0,029 $\pm$ 0,019	0,030 $\pm$ 0,012	0,029 $\pm$ 0,012
(nmol·l <sup>-1</sup> )	0,158 $\pm$ 0,104	0,164 $\pm$ 0,066	0,158 $\pm$ 0,065
[Noradr.] <sub>pl</sub> (ng·ml <sup>-1</sup> )	0,963 $\pm$ 0,238	0,906 $\pm$ 0,281	0,798 $\pm$ 0,230
(nmol·l <sup>-1</sup> )	5,625 $\pm$ 1,390	5,292 $\pm$ 1,641	4,661 $\pm$ 1,343

### 7.1. Kontrollgruppe

Der Verlauf der einzelnen Parameter der Kontrollgruppe während des Versuches ist aus den Abbildungen 16 - 20 ersichtlich.

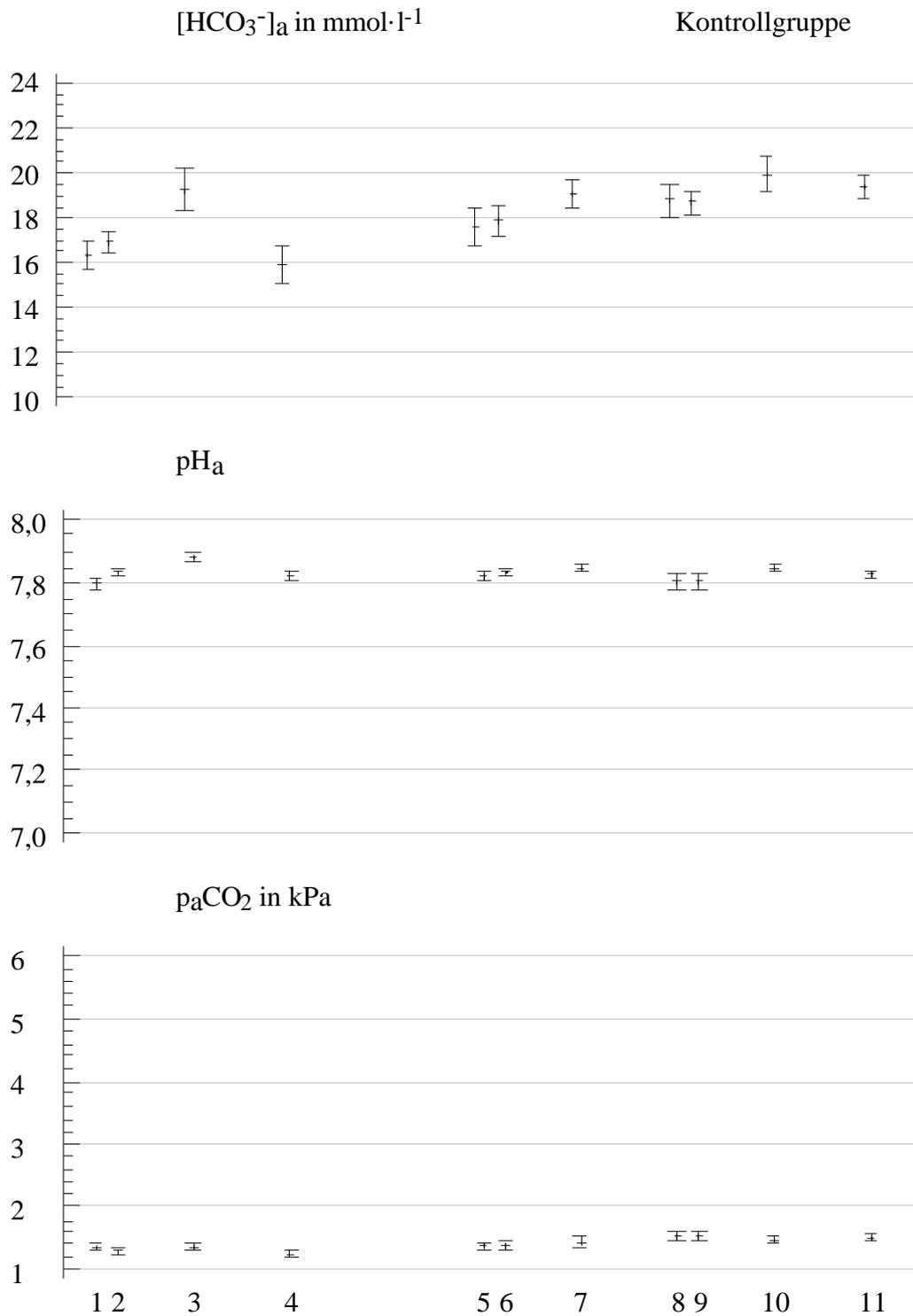


Abb. 16: Bikarbonatkonzentration, pH und Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut der Kontrollgruppentiere (n = 4; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Im Verlauf des Versuches traten geringe Schwankungen des  $\text{pH}_a$  auf. Der leichte Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes im Blut wurde vom Anstieg der Bikarbonatkonzentration begleitet (siehe Abbildung 16).

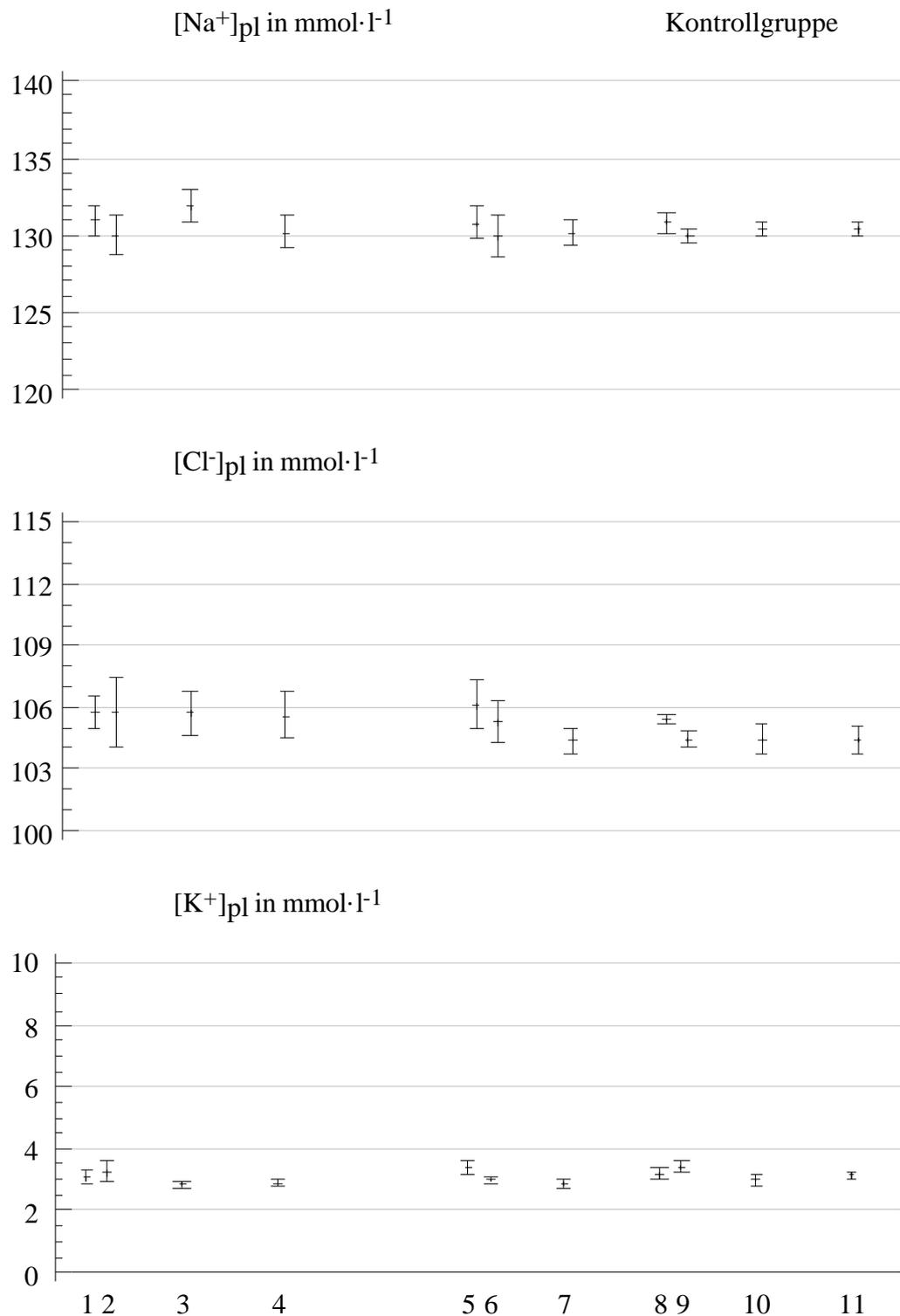


Abb. 17: Natriumionen-, Chloridionen- und Kaliumionenkonzentration im arteriellen Blutplasma der Kontrollgruppentiere ( $n = 4$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die Plasmachloridkonzentration fällt im Versuchsverlauf, während die Na<sup>+</sup>- und K<sup>+</sup>-Konzentrationen nur geringe Variationen erkennen lassen (Abb. 17).

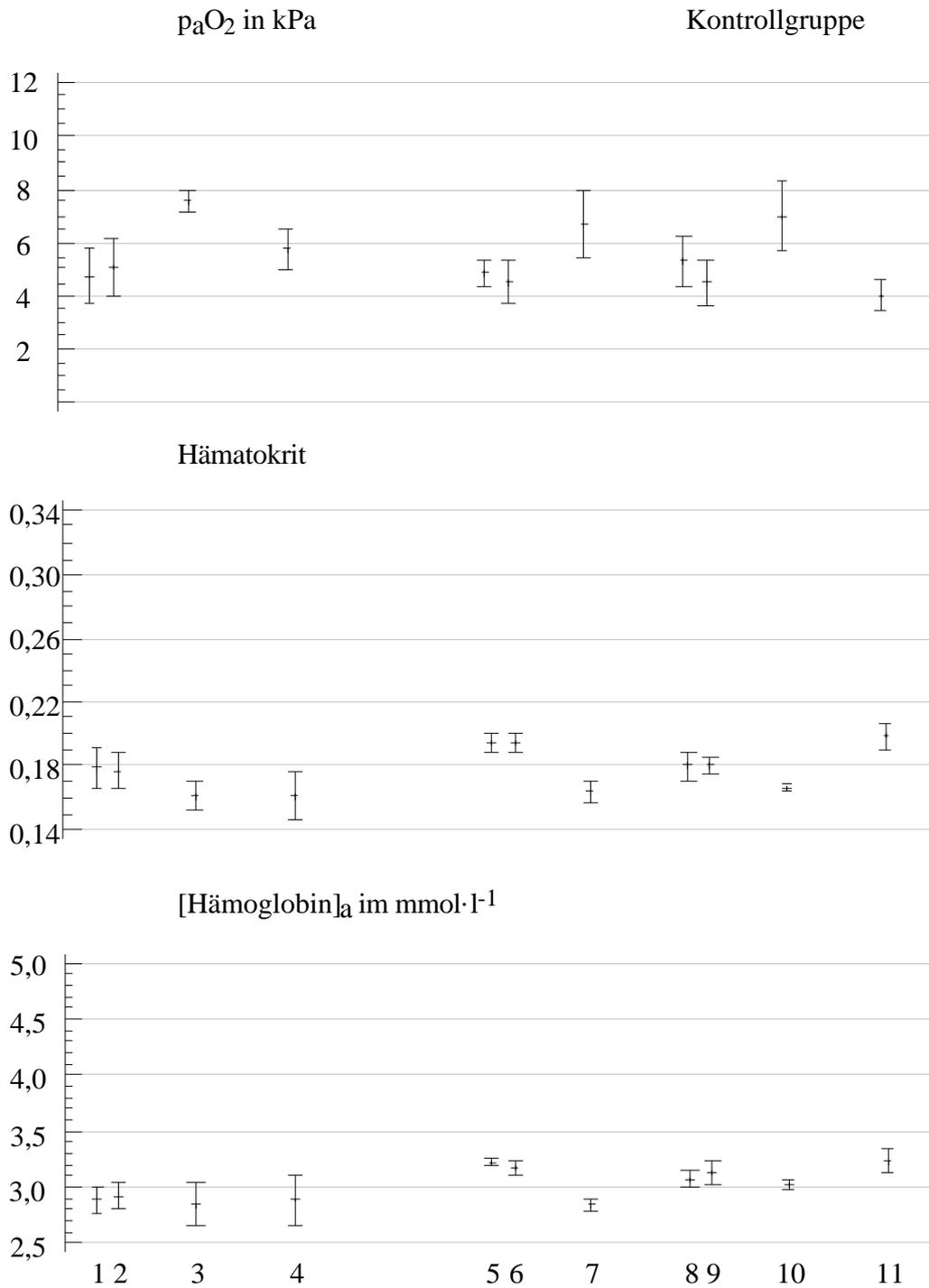


Abb. 18: Sauerstoffpartialdruck, Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration im arteriellen Blut der Kontrollgruppentiere (n = 4; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

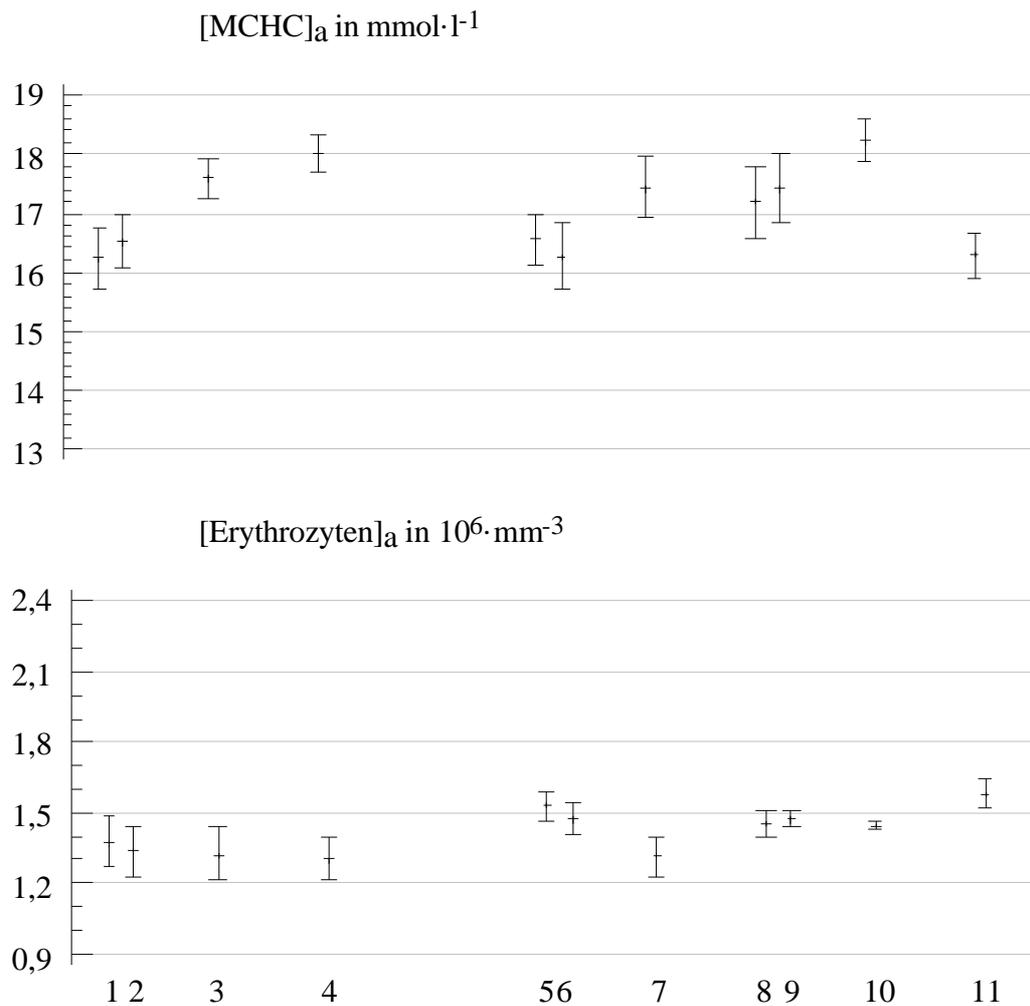


Abb. 19: mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) und Erythrozytenkonzentration im arteriellen Blut der Kontrollgruppentiere ( $n = 4$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Während  $p_aO_2$ , Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration, MCHC und Erythrozytenkonzentration deutliche Variationen im Verlauf des Versuches zeigen (Abb. 19), fallen diese bei der Plasmakonzentration der Katecholamine sehr gering aus (Abb. 20).

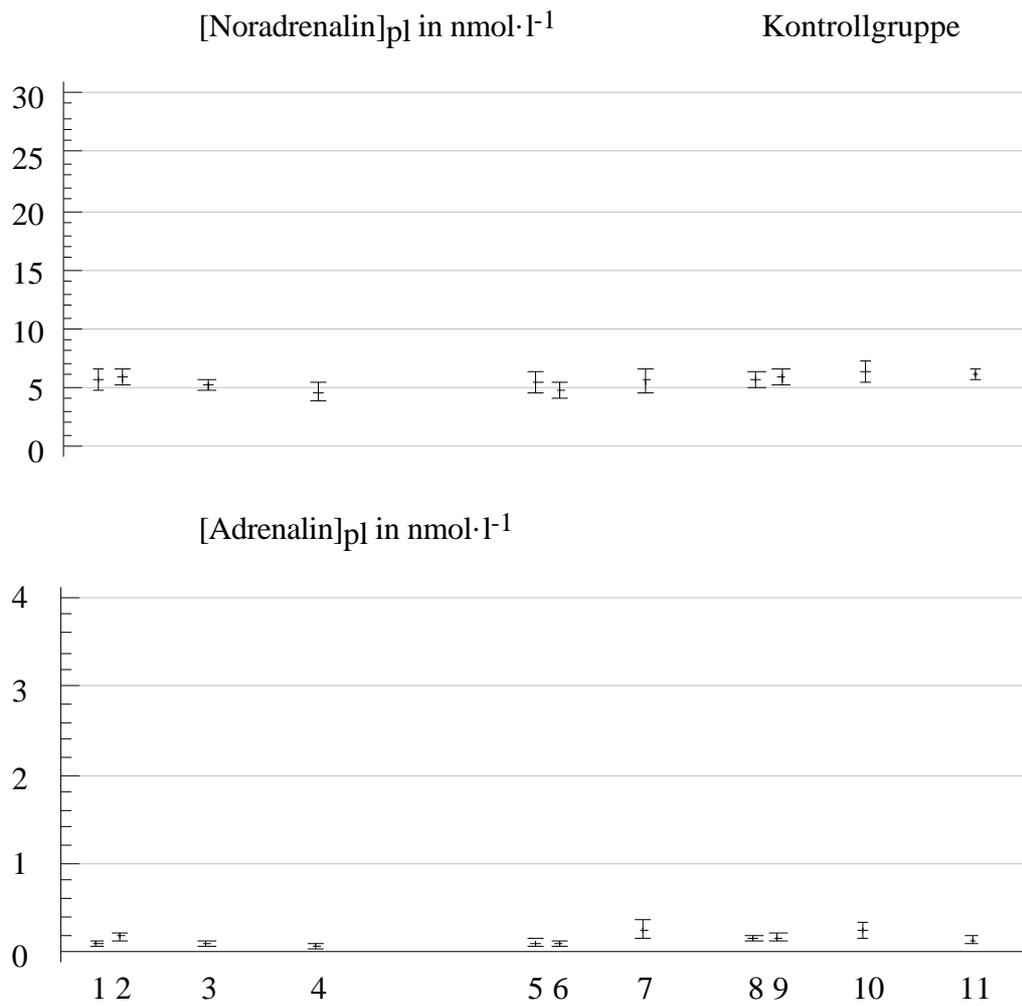


Abb. 20: Noradrenalin- und Adrenalinkonzentration im arteriellen Blutplasma der Kontrollgruppentiere (n = 4; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

## 7.2. Versuchsgruppen

Abbildung 21 zeigt den Verlauf des pH,  $p\text{CO}_2$ ,  $[\text{HCO}_3^-]$  des arteriellen Blutes der Versuchsgruppe I während des gesamten Versuches.

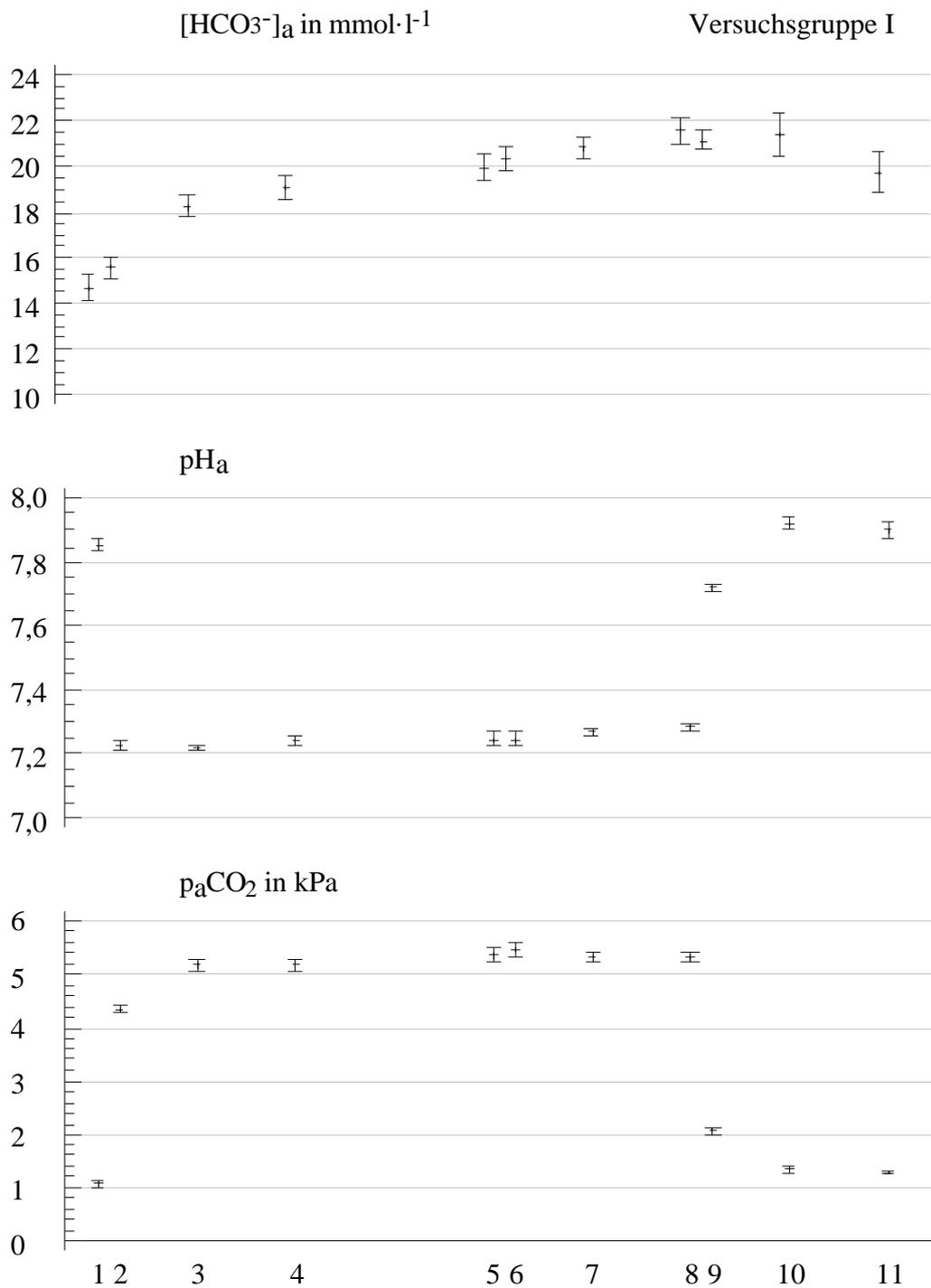


Abb. 21: Bikarbonatkonzentration, pH und Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die Erhöhung des Kohlendioxidpartialdruckes im Wasser auf  $p_w\text{CO}_2 = 38$  Torr (5,07 kPa) führte innerhalb der ersten 6 h zum Abfall des  $\text{pH}_a$  um 0,63 Einheiten bei gleichzeitigem Anstieg des arteriellen Kohlendioxidpartialdruckes auf  $p_a\text{CO}_2 = 5,19 \pm 0,26$  kPa. Im gleichen Zeitraum stieg die Bikarbonatkonzentration um 3,55 mmol/l.

In den darauffolgenden 30 h kam es bei weiterer Erhöhung der Bikarbonatkonzentration auf  $[\text{HCO}_3^-] = 21,56 \pm 1,60$  mmol/l zum Anstieg des  $\text{pH}_a$  um 0,06 Einheiten.

Der rapide Abfall des  $p_a\text{CO}_2$  nach Beendigung der  $\text{CO}_2$ -Begasung führte innerhalb einer Stunde zu einem ebenso rapiden Anstieg des  $\text{pH}_a$  um 0,44 Einheiten auf  $\text{pH}_a = 7,72 \pm 0,03$ .

Die weiterhin hohe Bikarbonatkonzentration bei einem  $p_a\text{CO}_2$  im Bereich des Ausgangswertes bewirkte den leicht über dem Ausgangswert liegenden  $\text{pH}_a$  der letzten beiden Blutabnahmen.

In Abbildung 22 ist der Verlauf des pH,  $p\text{CO}_2$  und der Bikarbonatkonzentration im arteriellen Blut der Versuchsgruppe II während des 48stündigen Versuchsablaufes dargestellt.

Er zeigt prinzipiell die gleichen Tendenzen wie in Versuchsgruppe I.

Im Versuchsverlauf treten gegenüber der Versuchsgruppe I etwas niedrigere  $p\text{CO}_2$ -Werte und Bikarbonatkonzentrationen des arteriellen Blutes bei annähernd gleichem  $\text{pH}_a$ -Verlauf auf.

Die schnellere Angleichung des  $\text{pH}_a$  an seinen Ausgangswert in den letzten 12 Stunden des Versuches ist abweichend auffällig und soll später diskutiert werden.

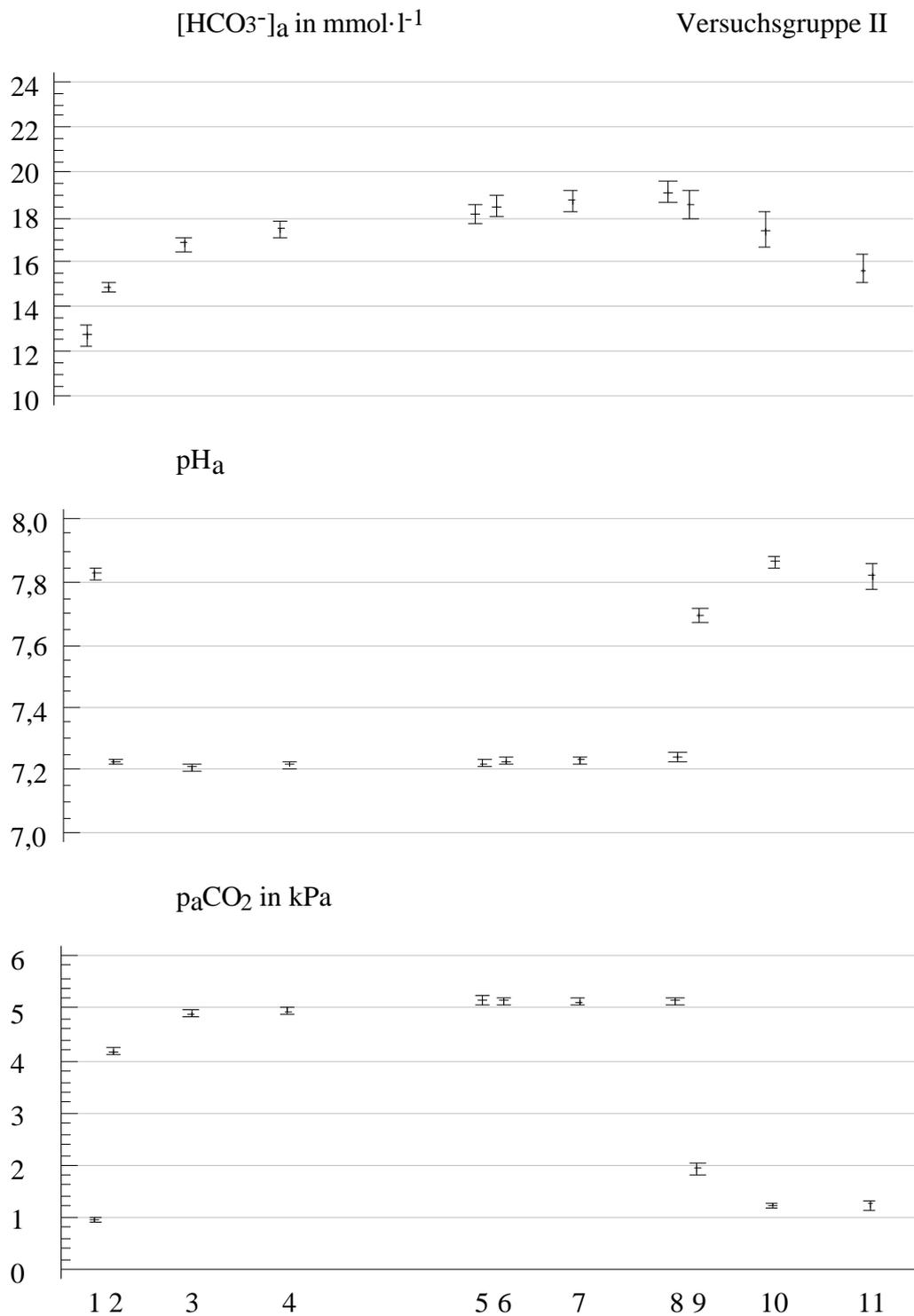


Abb. 22: Bikarbonatkonzentration, pH und Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe II (n = 15; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die Verlaufswerte des Hämokrits, der Hämoglobinkonzentration und der MCHC der Versuchsgruppe I (Abbildung 23) zeigen, daß der Erhöhung des  $p_w\text{CO}_2$  Anstiege des Hk und der Hb- Konzentration auf Maximalwerte von ca. 0,30 beim Hämokrit und ca. 4,2  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  bei der Hämoglobinkonzentration folgten.

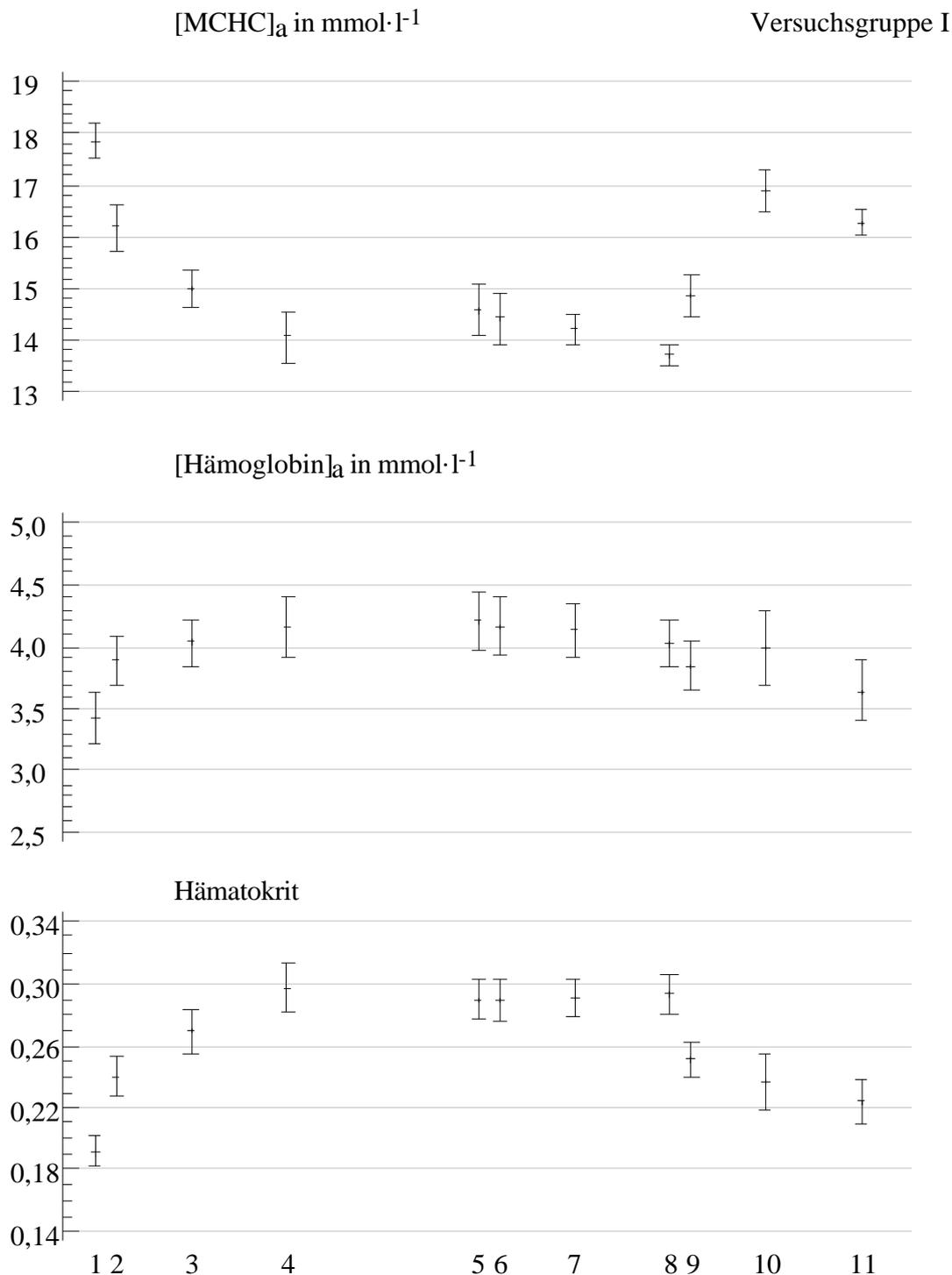


Abb. 23: mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Hämokrit und Hämoglobinkonzentration im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

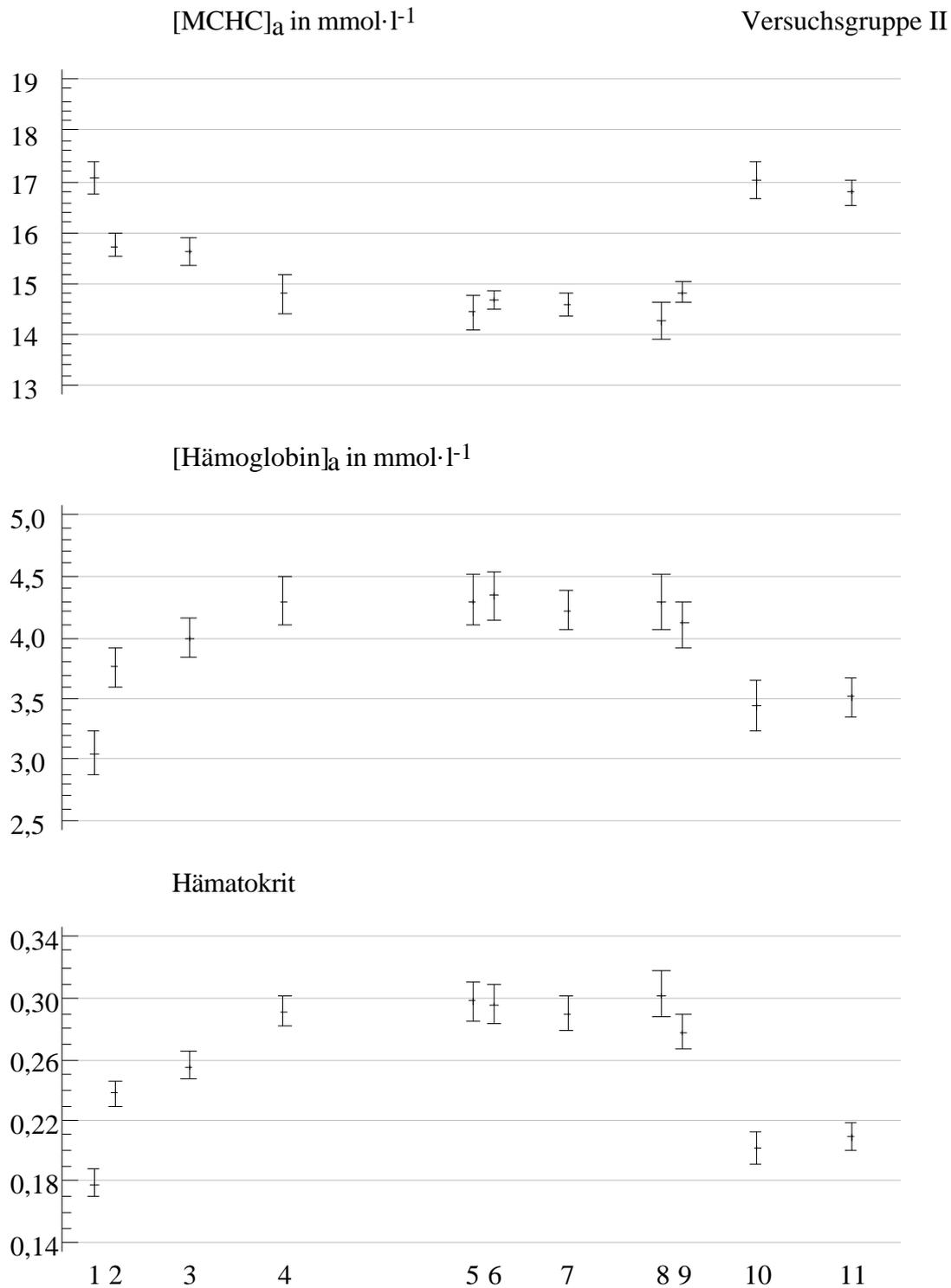


Abb. 24: mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe II (n = 15; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Aus Abbildung 24 wird ersichtlich, daß der Verlauf von MCHC, Hb und Hk der Versuchsgruppe II kaum Unterschiede zur Versuchsgruppe I erkennen läßt. Die hyperkapnieinduzierten Maximalwerte liegen ebenfalls bei ca. 0,30 für Hämatokrit und ca.  $4,3 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  für die Hämoglobinkonzentration. Die errechnete MCHC sinkt in beiden Gruppen in der Hyperkapniephase auf Werte zwischen 14 und 15  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

In der Posthyperkapniephase erfolgte bei diesen drei Parametern eine schnelle Annäherung an die Ausgangswerte.

In beiden Versuchsgruppen korrelieren die Verläufe des Hämatokrits und der Hämoglobinkonzentration mit dem Verlauf der Erythrozytenzahl, die mit einsetzender Hyperkapnie deutlich steigt und erst in der Posthyperkapniephase wieder annähernd auf Ausgangsniveau abfällt, wie aus Abbildung 25 zu erkennen ist.

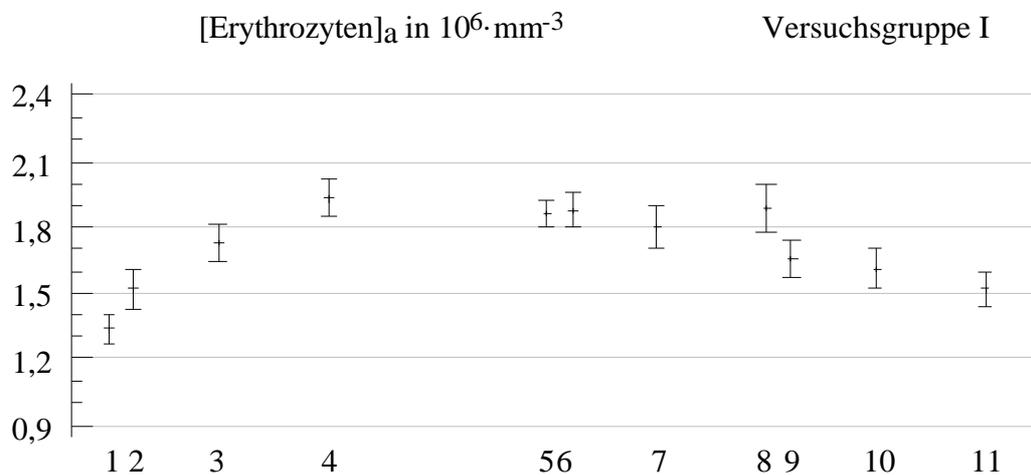


Abb. 25: Erythrozytenkonzentration im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

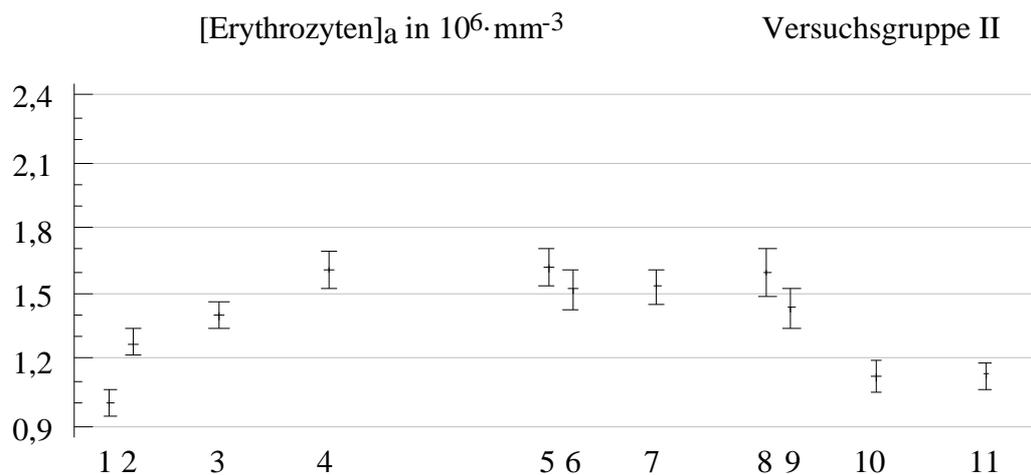


Abb. 26: Erythrozytenkonzentration im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe II ( $n = 15$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Abbildung 27 und 28 zeigen den Verlauf des  $p_{aO_2}$  der beiden Versuchsgruppen. Trotz der hohen Variabilität dieses Parameters ist der hyperkapniebegleitende Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes im arteriellen Blut klar erkennbar, ebenso wie der rapide Abfall innerhalb der ersten Stunde nach Rückkehr zur Normokapnie, der die Tiefstwerte im Versuchsverlauf markiert.

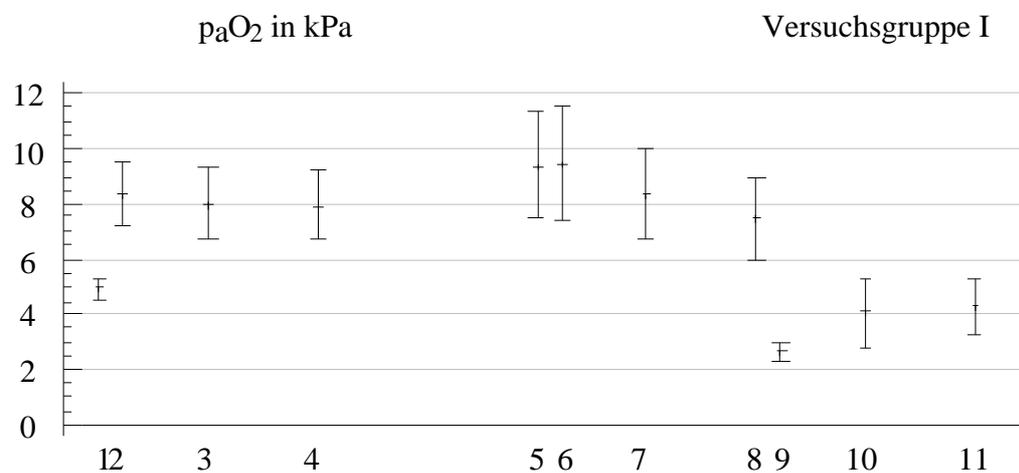


Abb. 27: Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

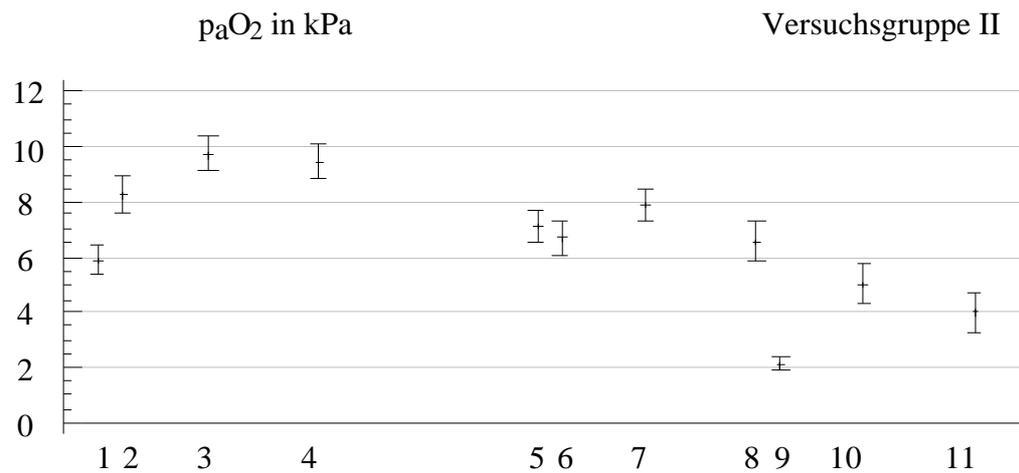


Abb. 28: Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut der Tiere der Versuchsgruppe II (n = 15; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Der Verlauf der Plasmakonzentrationen von Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> und Ca<sup>2+</sup> der Versuchsgruppe I ist in Abbildung 29 dargestellt.

Die Plasmakonzentrationen von Na<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup> fielen im Versuchsverlauf, wobei die Natriumionenkonzentration anfänglich einen leichten Anstieg erkennen ließ. Die höchste Kaliumkonzentration im Plasma wurde eine Stunde nach Rückkehr zur Normokapnie gemessen.

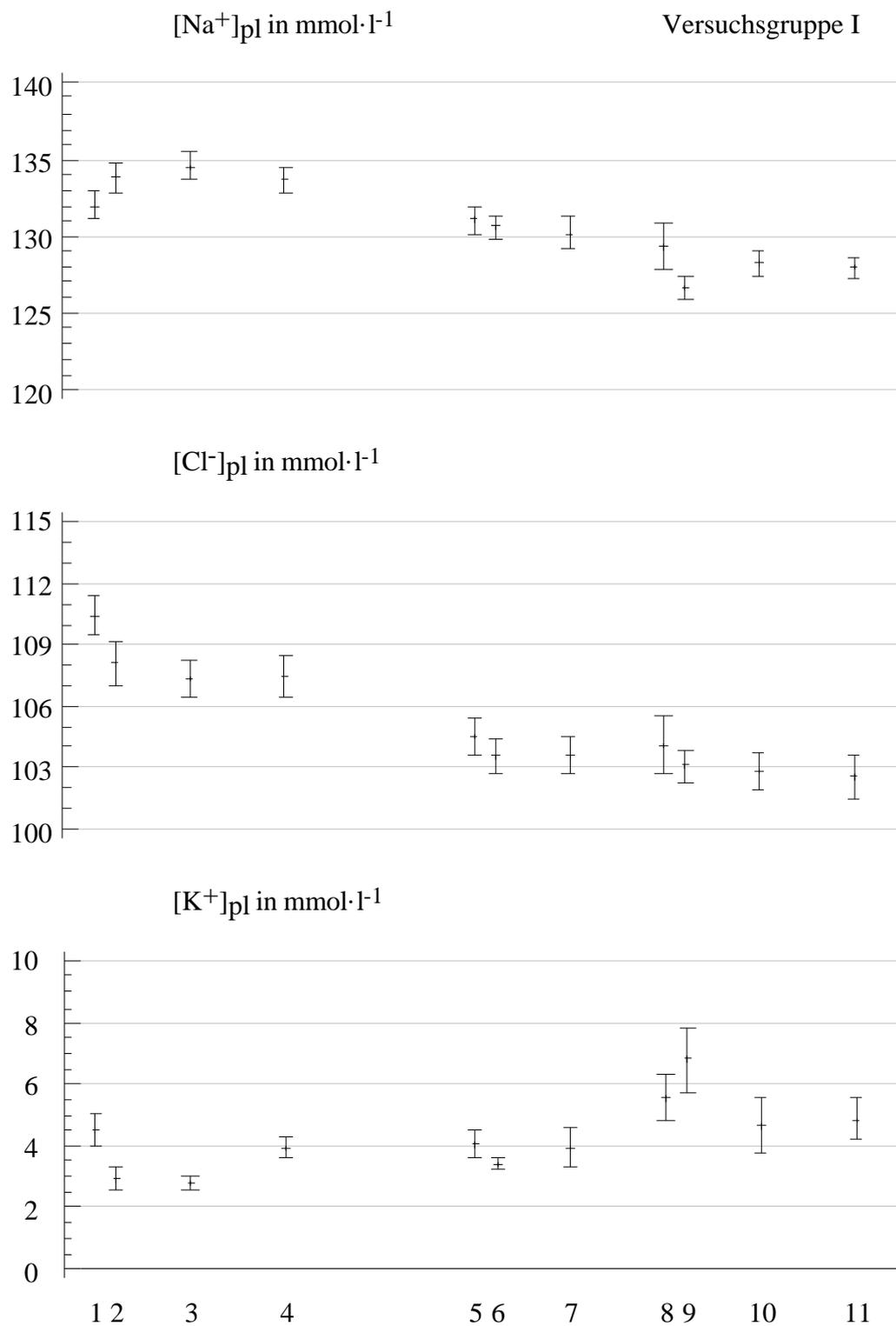


Abb. 29: Natriumionen-, Chloridionen- und Kaliumionenkonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

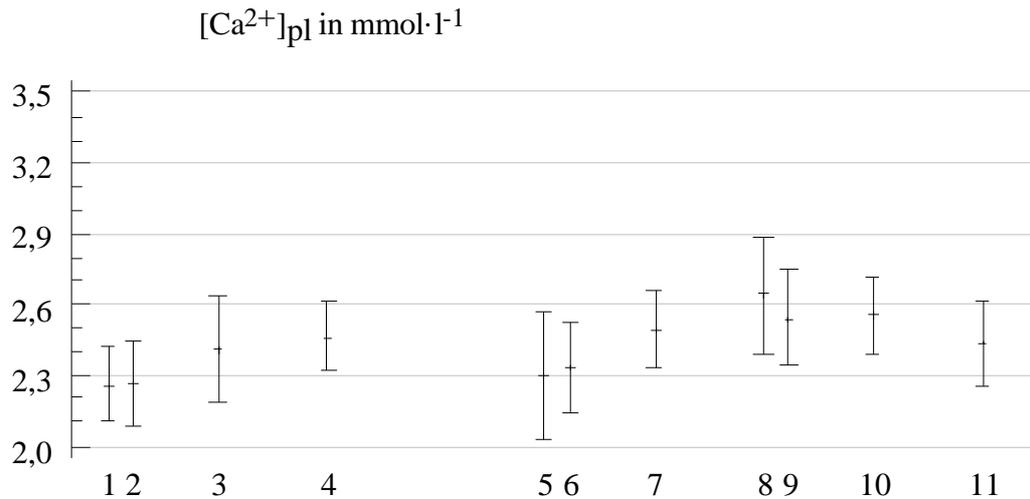


Abb. 30: Kalziumionenkonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die gleichen Parameter mit gleichartigen Veränderungen zeigen die Abbildungen 31 und 32 für Versuchsgruppe II. Hier ist die anfängliche Konzentrationszunahme von  $\text{Na}^+$  zwischen dem Wert der 1. und 3. Blutabnahme auffällig, und die Hyperkapnie wird von einem Anstieg der Kalziumkonzentration begleitet.

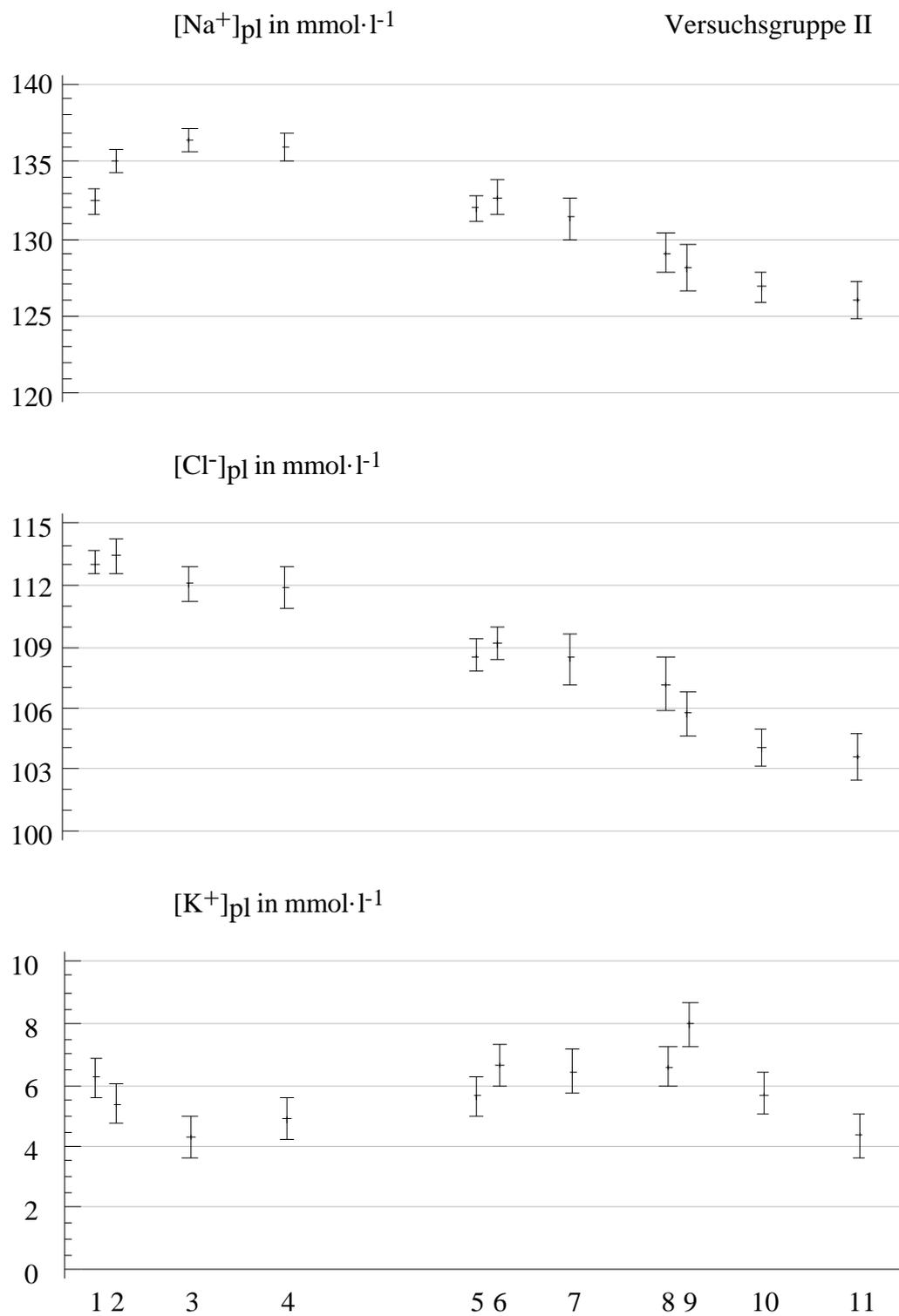


Abb. 31: Natriumionen-, Chloridionen- und Kaliumionenkonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe II ( $n = 15$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

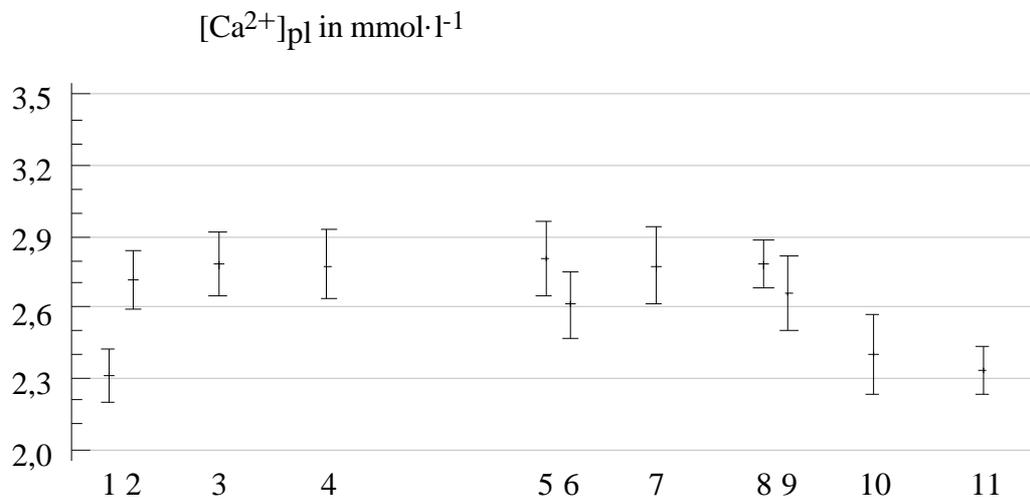


Abb. 32: Kalziumionenkonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe II ( $n = 15$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die Hyperkapnie bewirkte in beiden Versuchsgruppen ansteigende Ammoniakkonzentrationen im arteriellen Blutplasma (Abbildungen 33, 34).

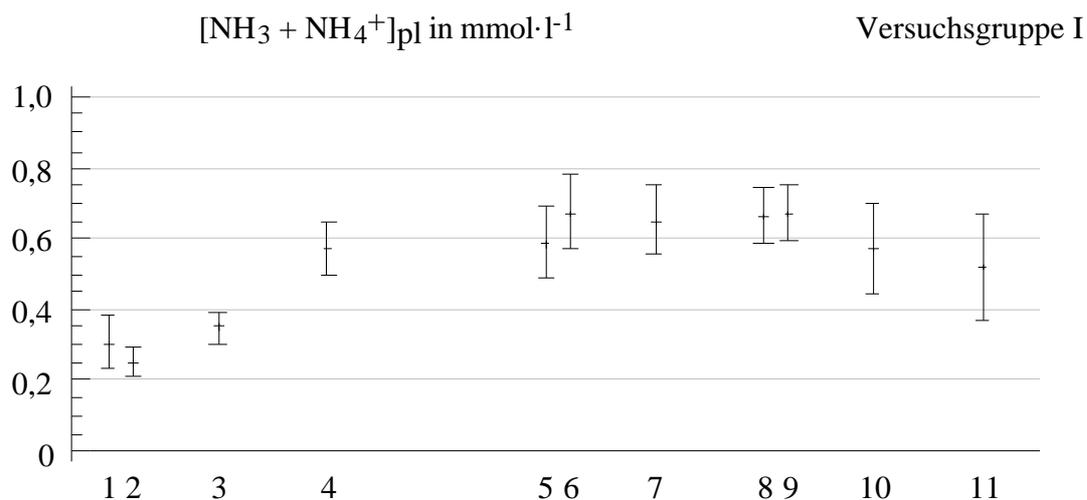


Abb. 33: Gesamtammoniakkonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe I ( $n = 8$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die Zugabe von Ammoniumchlorid zum Haltungswasser nach 24 h in Versuchsgruppe II führte zusätzlich zu einem Anstieg innerhalb dieser Gruppe.

Trotz höherer Ammoniakkonzentration im Wasser fiel die Annäherung an die Ausgangswerte in der Posthyperkapniephase in Gruppe II deutlicher aus.

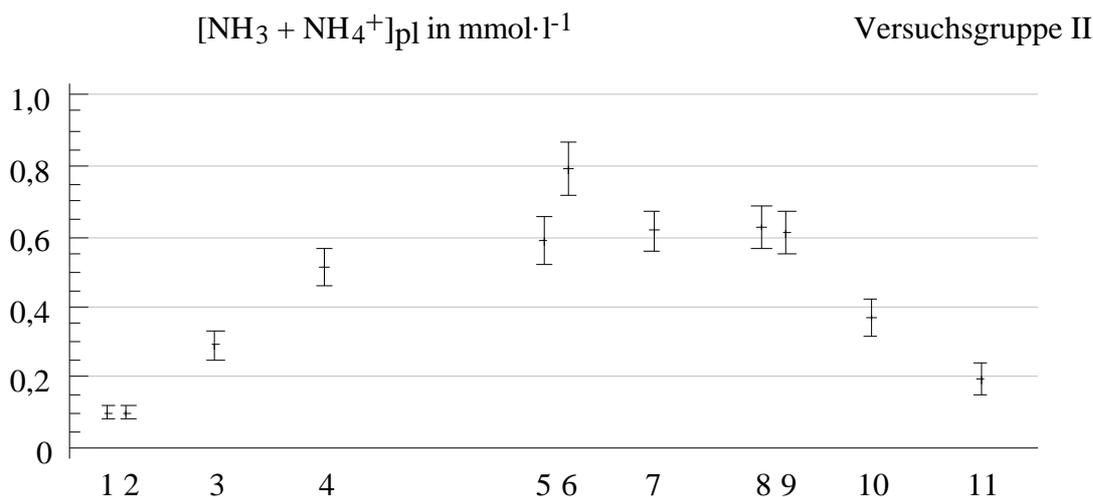


Abb. 34: Gesamtammoniakkonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe II ( $n = 15$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

In Abbildung 35 und 36 sind die Katecholaminkonzentrationen im Blutplasma beider Versuchsgruppen dargestellt.

Deutliche Veränderungen zeigt der Verlauf der NoradrenalinKonzentration in beiden Versuchsgruppen. In der ersten Stunde der Hyperkapnie stieg die NoradrenalinKonzentration im Plasma des arteriellen Blutes auf ca. vierfache Ausgangskonzentration. Erhöhte Werte ließen sich während der gesamten Hyperkapniephase beobachten, wobei in deren Verlauf die Tendenz zum Konzentrationsrückgang zu erkennen ist.

In der ersten Stunde nach Rückkehr zur Normokapnie ist ein deutlicher Rückgang der NoradrenalinKonzentration zu verzeichnen.

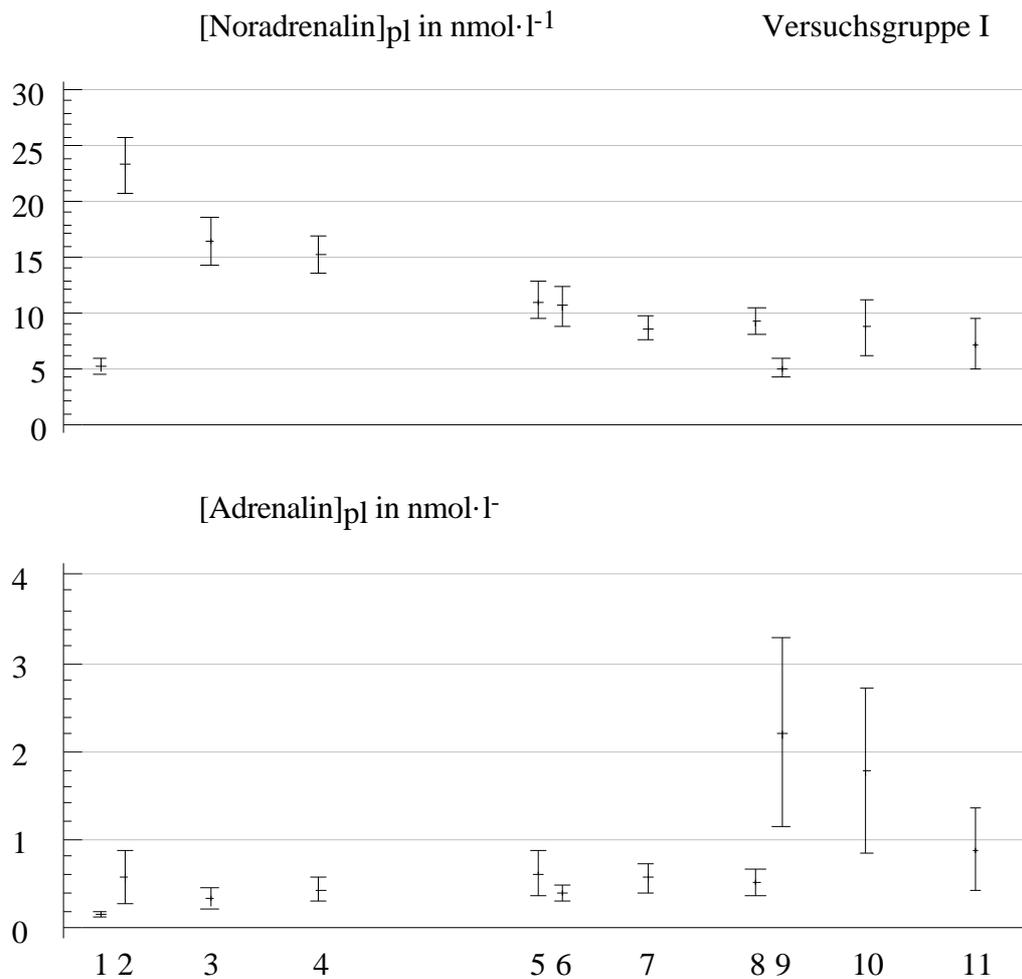


Abb. 35: Noradrenalin- und AdrenalinKonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe I (n = 8; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Die Konzentration zirkulierenden Adrenalins blieb in beiden Versuchsgruppen während der Hyperkapnie unter einem Wert von 1 nmol·l<sup>-1</sup>.

In der Posthyperkapniephase traten in der Versuchsgruppe I stark variierende erhöhte Werte auf.

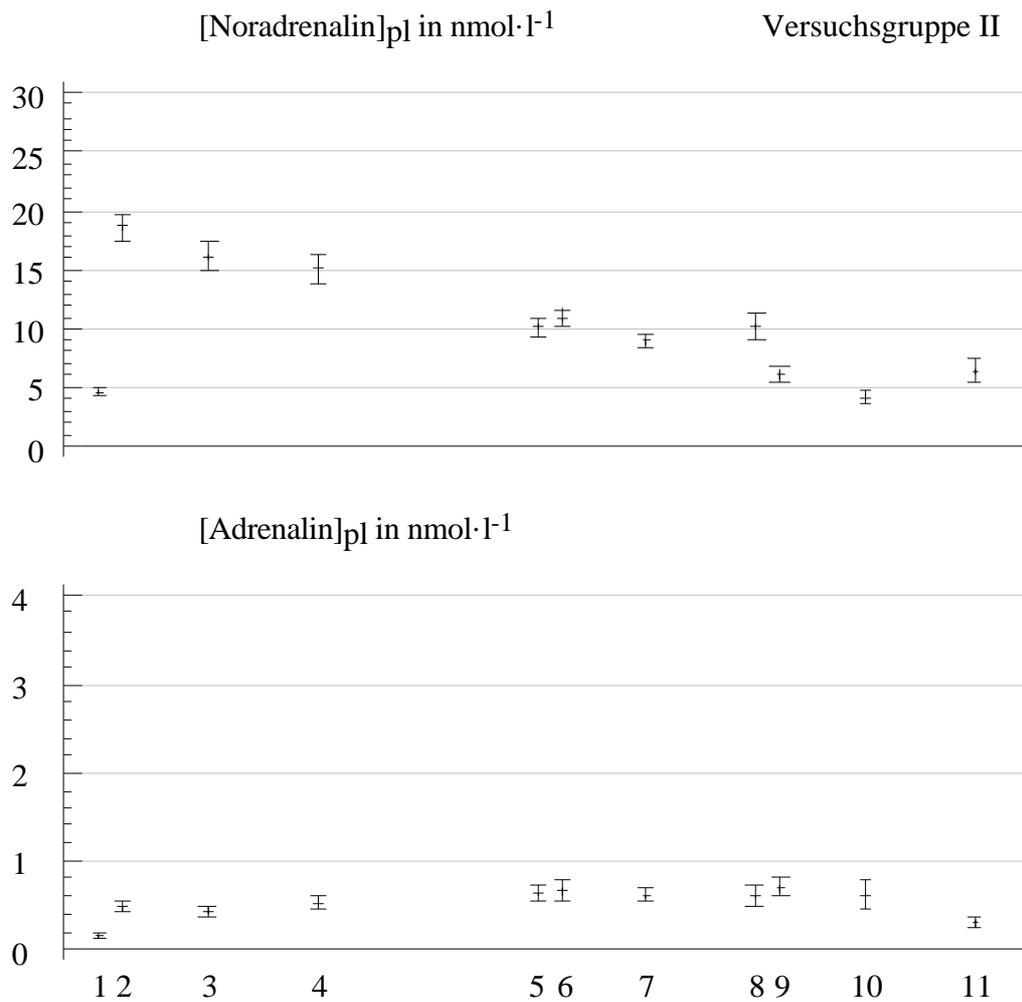


Abb. 36: Noradrenalin- und AdrenalinKonzentration im arteriellen Blutplasma der Tiere der Versuchsgruppe II (n = 15; Mittelwert ± Standardfehler) im 48stündigen Versuchsverlauf.

Wesentliche Unterschiede in der Entwicklung der gemessenen Blutparameter zwischen den Gruppen sind im Vergleich von Differenzwerten deutlicher darstellbar.

Dabei dient der gemessene Wert bei der 1. Blutabnahme als interner Nullwert. Bei dieser Methode haben differierende Ausgangswerte zwischen den Gruppen geringeren Einfluß auf den Verlauf.

Der Vergleich der Differenzwerte der Natriumionenkonzentration im Plasma zeigt in beiden Versuchsgruppen den anfänglichen Anstieg und anschließenden Abfall der Konzentration (Abbildung 37).

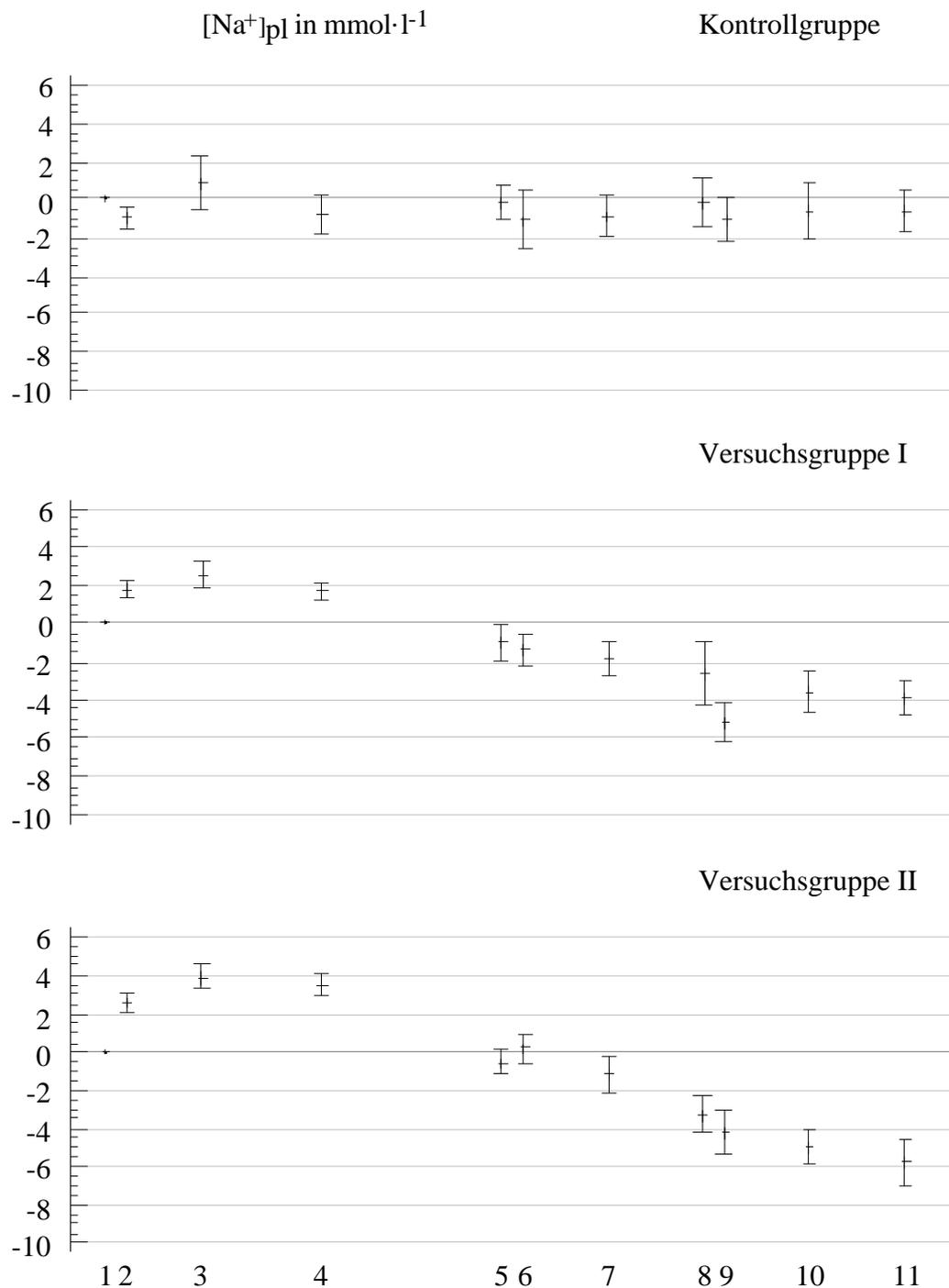


Abb. 37: Differenz der Natriumionenplasmakonzentration zum Ausgangswert bei der 1. Blutabnahme im Versuchsverlauf (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) in  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Dagegen fällt die Chloridkonzentration in den Versuchsgruppen im gesamten Verlauf, und auch die Kontrollgruppe zeigt einen geringen Abfall der Konzentration (Abbildung 38).

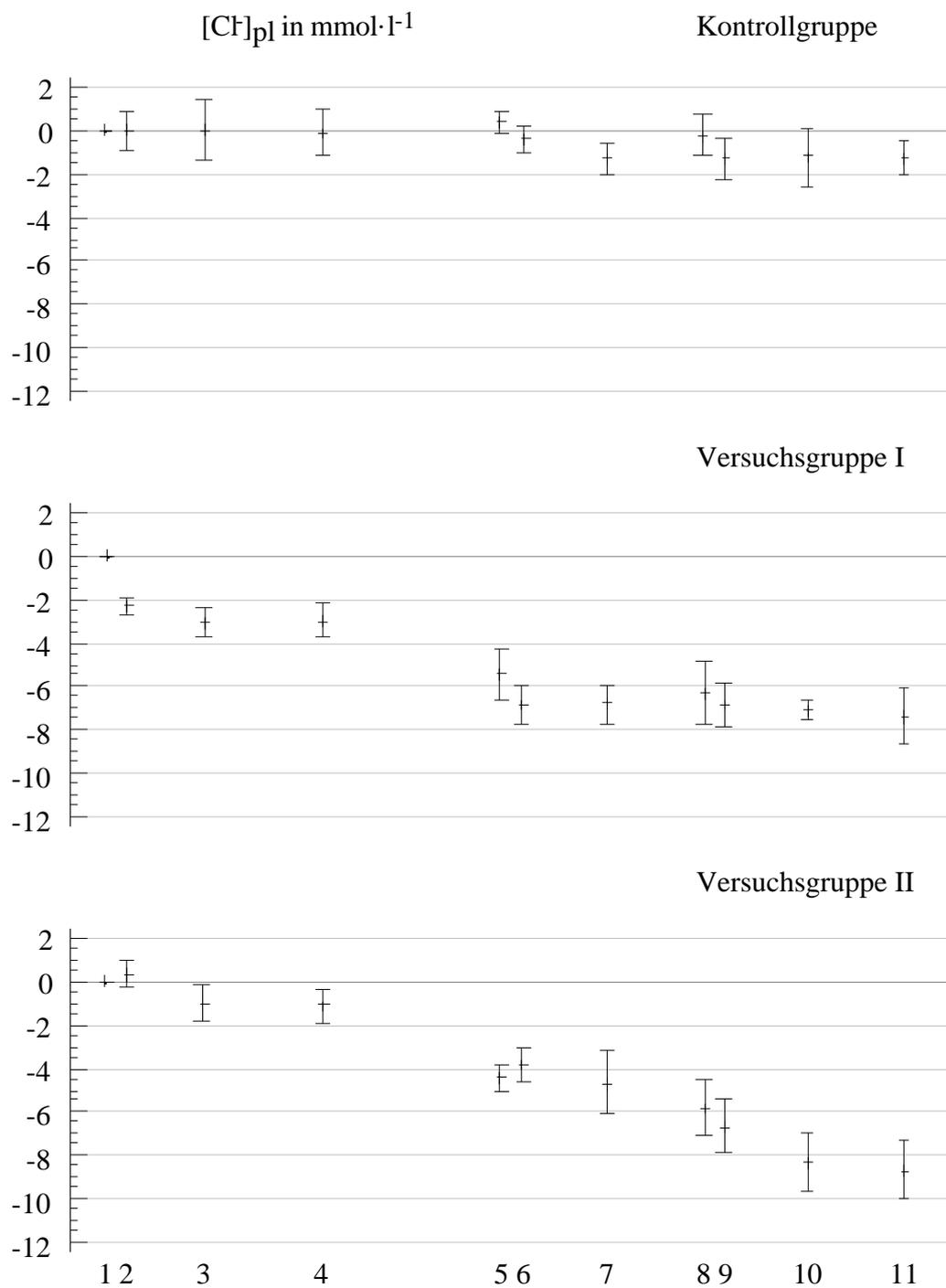


Abb. 38: Differenz der Chloridplasmakonzentration zum Ausgangswert bei der 1. Blutabnahme im Versuchsverlauf (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) in  $mmol \cdot l^{-1}$ .

Bei der Kalziumionenkonzentration ist in der Versuchsgruppe II der hyperkapniebegleitende Konzentrationsanstieg am deutlichsten. Die Kontrollgruppe zeigt eher eine Abnahmetendenz (Abbildung 39).

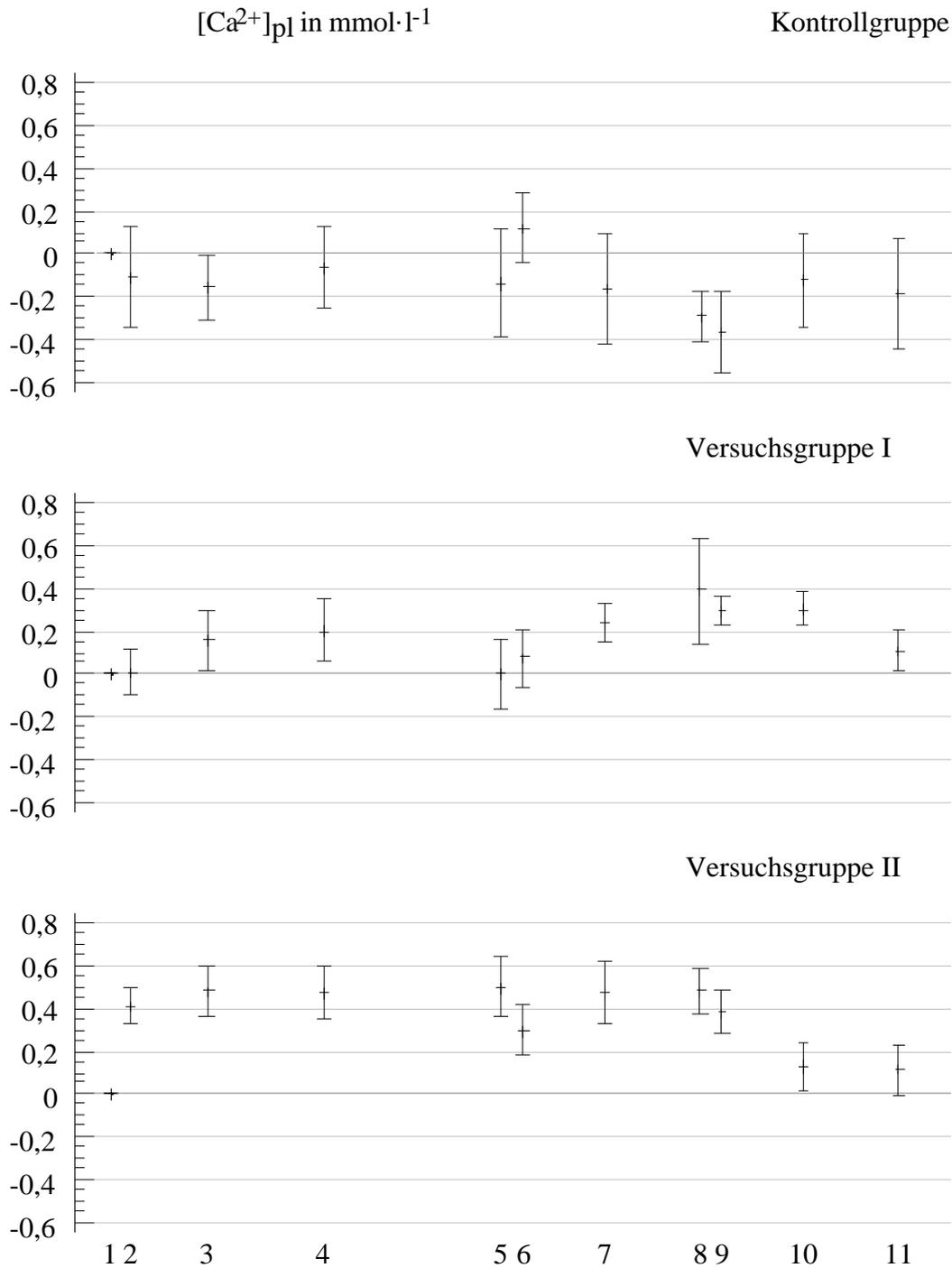


Abb. 39: Differenz der Kalziumionenplasmakonzentration zum Ausgangswert bei der 1. Blutabnahme im Versuchsverlauf (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) in  $mmol \cdot l^{-1}$ .

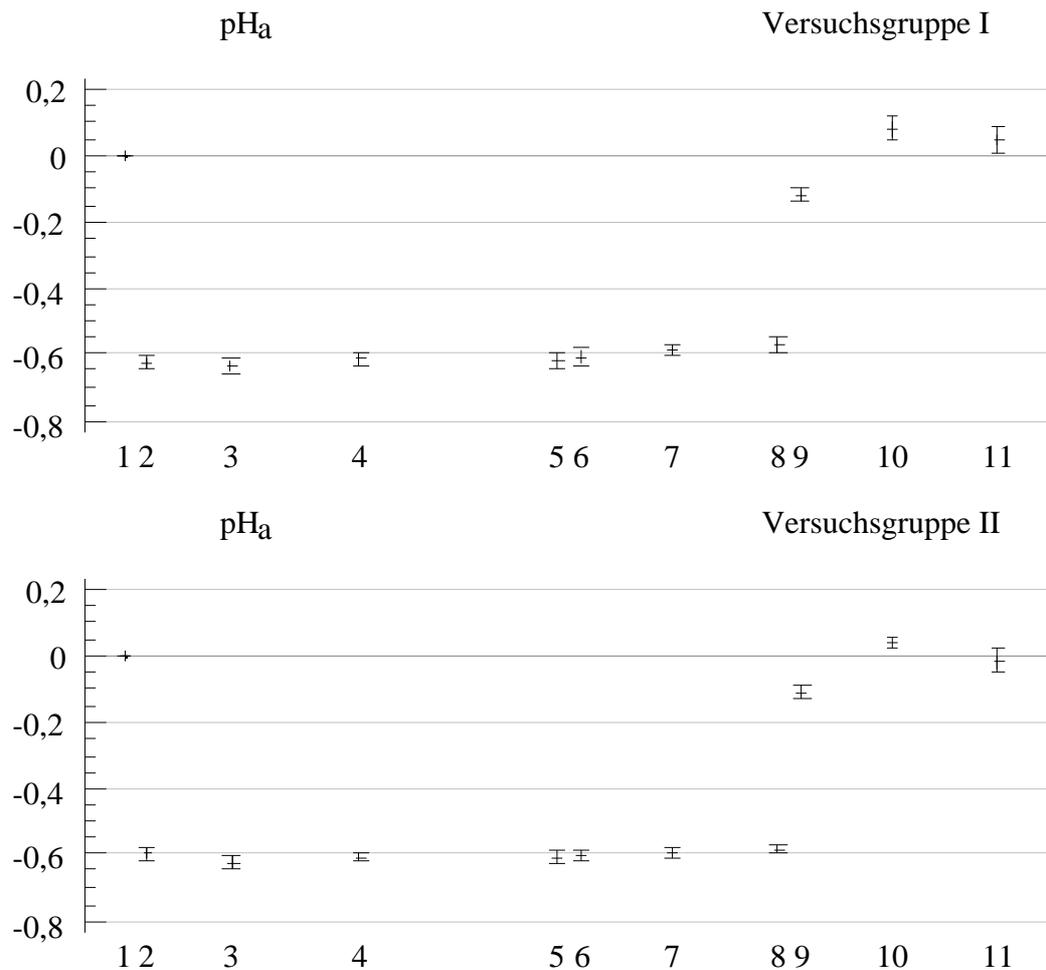


Abb. 40: Differenz der pH-Werte des arteriellen Blutes zum Ausgangswert bei der 1. Blutabnahme im Versuchsverlauf (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler)

Aus Abb. 40 wird ersichtlich, daß in Versuchsgruppe I die Kompensation des ausgelenkten pH<sub>a</sub> geringfügig höher als in Versuchsgruppe II ist.

In Versuchsgruppe I beträgt diese Kompensation ca. 11%, in der Versuchsgruppe II ca. 8% (bezogen auf den jeweils niedrigsten pH<sub>a</sub> in der Hyperkapniephase).

Auch der Anstieg nach Rückkehr zur Normokapnie über die Ausgangswerte fällt deutlicher aus.

Die Entwicklung des Basenüberschusses, BE (Abb. 41) differiert zwischen beiden Versuchsgruppen. In Versuchsgruppe I fällt er in geringerem Maße ( $-12,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) als in Versuchsgruppe II ( $-15,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ), wobei kein Einfluß der höheren  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ - und Chloridkonzentration im Wasser der Versuchsgruppe II zum 6. Blutentnahmezeitpunkt deutlich wird.

Nach Rückkehr zur Normokapnie liegt der BE der Versuchsgruppe I im Bereich der Kontrollgruppe, während er in Versuchsgruppe II bei den letzten beiden Blutentnahmen unter diesen Werten liegt.

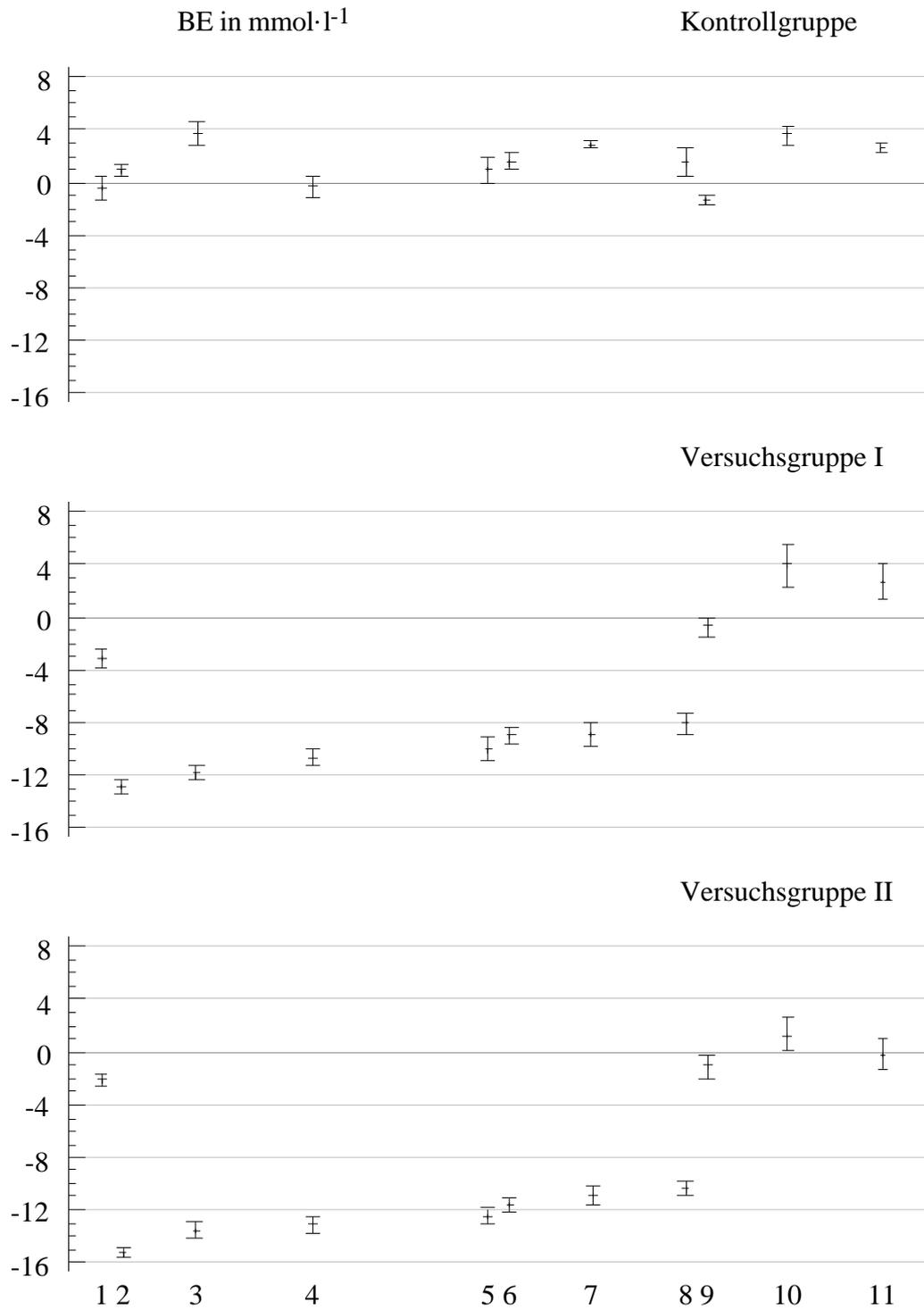


Abb. 41: Basenüberschuß (base excess, BE) im Versuchsverlauf der drei Gruppen (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) in  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$

### III. Diskussion

#### 8. Methodik und Kontrollgruppe

Im Vorfeld der Untersuchungen aufgetretene Fragestellungen hinsichtlich des methodischen Vorgehens sollten mit Hilfe einer Kontrollgruppe beantwortet werden.

Von besonderer Bedeutung erschienen die Einflüsse der Versuchsbedingungen im 48stündigen Verlauf auf die zu untersuchenden Blutparameter. Insbesondere die häufige Blutentnahme und Reinfusion der korpuskulären Blutanteile sowie das Lichtregime wurden als möglicherweise beeinflussende Faktoren in Betracht gezogen.

Die in Tabelle 9 dargestellten Werte der Kontrollgruppe zeigen weitgehende Übereinstimmung mit den Ausgangswerten der beiden Versuchsgruppen. Variationen ergeben sich aus der Entwicklung der erfaßten Parameter im Versuchsverlauf bzw. bei Parametern, die natürlicherweise starken Schwankungen unterliegen.

Die Kontroll- und Ausgangswerte sind mit Angaben anderer Studien (Ultsch et al., 1981; Claiborne & Heisler, 1984; 1986) vergleichbar. Auffällig sind in dieser Untersuchung höhere Werte des Kohlendioxidpartialdruckes im arteriellen Blut gegenüber entsprechenden Werten aus dem Blutplasma bei o. g. Autoren.

Takeda (1990) gibt Gaspartialdrücke im Blut von Karpfen in gleicher Größenordnung unter Hyperoxiebedingungen (ca. zwei- und dreifacher Sauerstoffpartialdruck im Wasser, verglichen mit diesen Versuchen) bei 25 °C an.

Da während dieser Versuche der Sauerstoffpartialdruck des Wassers am Zufluß kontinuierlich bei ca. 20 kPa (ca. 150 Torr) lag, sind die gemessenen Werte nicht auf Hyperoxiebedingungen im eigentlichen Sinne zurückzuführen. Der hohe Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut spricht allerdings für eine geringe Aktivität der Kiemenventilation bei den Versuchstieren, wie sie auch in eigenen Vorversuchen beobachtet wurde. Ursachen sind in den vorliegenden Untersuchungen die gute Abschirmung der Versuchsanlage gegen störende Umwelteinflüsse, die eingeschränkte Bewegungsfreiheit der Versuchstiere sowie der Sauerstoffpartialdruck des Wassers im Sättigungsbereich.

In Verbindung mit den niedrigen Katecholaminkonzentrationen im arteriellen Blut sind diese Werte als Kriterium für die erfolgte Anpassung an die Versuchsbedingungen zu interpretieren und als Ruhewerte unter diesen Versuchsbedingungen anzusehen, da bei annähernder Sauerstoffsättigung des Wassers über die Aktivierung der Atmung und des Herz-Kreislaufsystems durch Einwirkung störender Umwelteinflüsse die erhöhte Kiemenventilation den Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut wesentlich senken würde und höhere Katecholaminkonzentrationen zu erwarten wären.

Im Versuch wurden weder Herz-Kreislaufparameter noch Parameter der Kiemenventilation gemessen. Unter ähnlichen Versuchsbedingungen in eigenen Vorversuchen wurden niedrige Atemfrequenzen und regelmäßige Pausen der Kiemenventilation registriert, eine Form der Ventilation, die von Takeda (1990) für Karpfen unter Hyperoxiebedingungen beschrieben wird, aber auch bei Normoxie des Wassers auftritt (Glass et al., 1990).

Die von bisherigen Methoden leicht abgewandelte Form der Katheterisierung, die ohne chirurgische Nähte in oder außerhalb der Maulhöhle auskommt, gewährleistete gemeinsam mit der kontinuierlichen Katheterspülung mittels Infusionspumpe die ständige Entnahmemöglichkeit arteriellen Blutes.

Wie erwartet, konnte der Verlust korpuskulärer Blutanteile trotz Entnahme relativ großer Blutmengen zur Bestimmung von Parametern aus dem Vollblut und Plasma durch Reinfusion gewaschener korpuskulärer Blutbestandteile sehr gering gehalten werden und hat die analysierten Werte nicht nachweisbar beeinflusst.

Die Variationsbreite und der Verlauf der Blutwerte in der Kontrollgruppe lassen weiterhin den Schluß zu, daß weitere im Versuch notwendige Manipulationen keine relevanten Auswirkungen auf die Ergebnisse hatten.

Lediglich das Lichtregime scheint bei den vorliegenden Untersuchungen verschiedene Blutparameter beeinflusst zu haben. Der Hämatokrit, die Hämoglobinkonzentration und die Erythrozytenzahl erreichten jeweils ein bis zwei Stunden nach Beginn der Hellphase (Licht ein um 6<sup>00</sup> Uhr) ihre Tageshöchstwerte (Abb. 18). Diese beobachteten rhythmischen Schwankungen lassen sich jedoch aufgrund der verwendeten Tierzahl und des kurzen Versuchsverlaufes nicht sicher beurteilen.

Zachmann (1989) stellte einen Anstieg der Schwimmaktivität tagaktiver ungefütterter Karpfen nach Einschalten des Lichtes fest, der von einem kurzzeitigen Konzentrationsanstieg der zirkulierenden Katecholamine begleitet wurde.

Die hier beobachteten Schwankungen lassen sich wahrscheinlich ebenfalls auf Aktivierung nach plötzlichem Einschalten der Lichtquelle zurückführen. Konzentrationsveränderungen der zirkulierenden Katecholamine wurden jedoch nicht registriert. Sie sind innerhalb der ersten Stunde der Hellphase aber nicht auszuschließen, da in diesem Zeitraum keine Blutentnahme erfolgte.

Die im Verlauf des Versuches zunehmende Säuerung des Haltungswassers (Abb. 5) läßt sich auf die Stoffwechselaktivität der Karpfen mit den daraus resultierenden Austausch- und Ausscheidungsvorgängen mit dem Wasser und in das Wasser zurückführen.

In Versuchen von Claiborne und Heisler (1984) wurden neben der Säuerung des Haltungswassers bei der Kontrollgruppe auch steigende Konzentrationen von Bikarbonat und Ammoniumionen im Wasser gemessen. Gleichzeitig nahmen die Konzentrationen von  $\text{Cl}^-$  und  $\text{Na}^+$  im Wasser ab.

Die von verschiedenen Autoren beschriebene zugrunde liegende Nettoaufnahme von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  aus dem Wasser beeinflusst in diesen Versuchen nicht die Höhe der ermittelten Plasmakonzentrationen dieser Ionen.

Bei beiden Ionen wurde eine leichte Abnahme der Konzentration im Plasma während des Versuches festgestellt. Die fallende Chloridionenkonzentration und steigende Bikarbonatkonzentration im arteriellen Blut sprechen für die Regulation des extrazellulären pH mittels  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austausches am Kiemenepithel als Antwort auf den leicht ansteigenden  $\text{p}_a\text{CO}_2$  (Abb. 16, 17).

Der base excess (BE; Abb. 41) schwankt um den Nullwert und leicht darüber.

Im 48stündigen Versuchsverlauf wurde keine Akkumulation von Ammoniumionen bzw. Ammoniak im Haltungswasser registriert.

## 9. Versuchsgruppen

In beiden Versuchsgruppen dienen die Ausgangswerte als interne Kontrollwerte. Sie differieren bei den meisten Parametern zwischen den Gruppen nur in geringem Maße. Der höhere  $\text{p}_a\text{CO}_2$  in Versuchsgruppe I resultiert aus einem etwas höheren  $\text{p}_w\text{CO}_2$  zu diesem Zeitpunkt in dieser

Gruppe und ist wahrscheinlich auch Ursache für andere, gegenüber Versuchsgruppe II leicht differierende Werte.

### 9.1. Hyperkapnie / Ammoniakbelastung

Die Begasung mit 5%igem Kohlendioxidanteil bei annähernder Sauerstoffsättigung des Wassers führte wie in Versuchen von Claiborne & Heisler (1986) zur schnellen Ausprägung einer hyperkapnieinduzierten respiratorischen und metabolischen (gemischten) Azidose mit Anstieg des  $p_a\text{CO}_2$  und deutlichem Abfall des  $\text{pH}_a$  und BE. Die dem Anstieg folgende Plateauphase des  $p_a\text{CO}_2$  endete erst nach Rückkehr zur Normokapnie mit einem rapiden Abfall (Abb. 21, 22, 41).

Der gesunkene Basenüberschuß (BE, Abb. 41), Ausdruck der metabolischen Komponente der Azidose, zeigt den niedrigsten Wert nach einer Stunde Hyperkapnie (Blutabnahme 2). Er steigt bis zum letzten Hyperkapniewert (Blutabnahme 8) in beiden Versuchsgruppen um ca.  $4,8 \text{ mmol}^{-1}$ . Dies ist ein Hinweis auf Regulationsvorgänge des Säuren-Basen-Haushaltes in beiden Gruppen.

Bei Betrachtung der Kohlendioxidkonzentration im zu- und abfließenden Wasser (Abb. 9, 10) wird deutlich, daß für die Karpfen auch in der Hyperkapniephase die Abgabe von  $\text{CO}_2$  möglich war, da zu den Blutentnahmezeitpunkten im abfließenden Wasser höhere Konzentrationen vorlagen. Der  $\text{pH}_w$  lag im abfließenden Wasser entsprechend niedriger (Abb. 6, 7).

Durch ansteigende Bikarbonatkonzentration im Blut wurde in der 36stündigen Hyperkapniephase nur ein geringer Teil der  $\text{pH}_a$ -Senkung kompensiert (Abb. 21, 22).

Nach Claiborne & Heisler (1984) führt der  $[\text{HCO}_3^-]$ -Anstieg während 48stündiger milder Hyperkapnie (1 %  $\text{CO}_2$ ) ebenfalls nur zu einer Teilkompensation des ausgelenkten  $\text{pH}_a$  beim Karpfen. Nach ihnen tritt unter diesen Bedingungen die vollständige pH-Kompensation erst nach zwei Wochen ein (beobachtet an freischwimmenden Karpfen). Ohne Zweifel stellt der Karpfen damit unter den darauf untersuchten Fischarten eine Ausnahme dar. Claiborne & Heisler (1986) erreichten die vollständige  $\text{pH}_a$ -Kompensation nach 19 Tagen milder Hyperkapnie (1%  $\text{CO}_2$ ). Bei Hyperkapnieversuchen mit 5%  $\text{CO}_2$  registrierten sie in den ersten 72 h ansteigende Bikarbonatkonzentrationen und damit steigende  $\text{pH}_a$ -Werte. Im Zeitraum zwischen 72. und 96. Stunde änderte sich die Bikarbonatkonzentration nicht mehr signifikant, der  $\text{pH}_a$  stagnierte und die Transferraten von  $\text{H}^+$  und  $\text{NH}_4^+$  in das Wasser zeigten keine Differenz zu den prähyperkapnischen Kontrollwerten.

Versuche mit Infusion von Bikarbonat bei milder Hyperkapnie konnten den gesenkten  $\text{pH}_a$  nur kurzzeitig in den Kontrollbereich anheben, ohne am generellen Kompensationsverlauf, verglichen mit Versuchen ohne Infusionen, etwas zu ändern.

Mit dem Anstieg des  $p\text{CO}_2$  im Wasser ist die Möglichkeit der  $\text{CO}_2$ -Abgabe für die Versuchstiere stark eingeschränkt. Der normalerweise nach außen gerichtete  $p\text{CO}_2$ -Gradient zwischen Organismus und Wasser kehrt sich um, und es kommt zum Einstrom von Kohlendioxid über das Kiemenepithel in das Blut. Neben den bereits beschriebenen Auswirkungen auf den extrazellulären pH bedingt der erhöhte  $p\text{CO}_2$  eine Hypoxämie, die tierartlich unterschiedlich ab einem bestimmten kritischen Wert zur Erhöhung der Atemfrequenz und -tiefe führt. Für Karpfen gibt Takeda (1991) diesen  $p_w\text{CO}_2$  mit  $>15 \text{ Torr}$  ( $2 \text{ kPa}$ ) an.

Der  $p_{aO_2}$  nimmt durch die Steigerung der Kiemenventilation bei unverändert hohem  $p_{wO_2}$  zu. In beiden Versuchsgruppen ist diese Steigerung innerhalb der ersten Hyperkapniestunde zu beobachten (Abb. 27, 28).

Die Hypoxämie ist auf den fallenden  $pH_i$  der Erythrozyten während der hyperkapnieinduzierten Azidose und den hohen  $pCO_2$  zurückzuführen, da unter diesen Bedingungen die Sauerstoffbindungsfähigkeit des Hämoglobins und damit seine Sauerstoffsättigung abnimmt (Bohr-Effekt, Root-Effekt). Der relative Sauerstoffmangel trotz gesteigerter Kiemenventilation und erhöhtem  $p_{aO_2}$  macht weitere Regulationsschritte zur Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung des Organismus notwendig.

In beiden Versuchsgruppen wurde die hyperkapnieinduzierte Azidose und Hypoxämie mit dem Anstieg des Hämatokrit, der Erythrozytenkonzentration und der Hämoglobinkonzentration beantwortet, wobei die jeweiligen Maximalwerte kaum differieren. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Ausgangswerte in der Versuchsgruppe II etwas niedriger lagen (Abb. 23 - 26).

Als Ursache der Erhöhung dieser Blutwerte ist die Freisetzung von Blutreserven aus Speicherorganen anzusehen. Steigt beim Karpfen der Sauerstoffbedarf bei Stoffwechselaktivierung durch körperliche Arbeit, kommt es zur Entspeicherung der Milz (Yamamoto & Itazawa, 1989; Yamamoto & Ootubo, 1991).

Yamamoto (1991) beschreibt diesen Effekt auch bei Karpfen, die einem Formalinbad ausgesetzt waren und auch unter diesen Bedingungen damit die resultierende Hypoxämie beantworten.

Für die Regenbogenforelle wird die Milzentspeicherung u. a. von Perry & Kinkead (1989) bei akuter hyperkapnieinduzierter Azidose unter normoxischen Versuchsbedingungen beschrieben. Ursache ist nach ihrer Ansicht der Konzentrationsanstieg der zirkulierenden Katecholamine. Gleiche Versuche unter hyperoxischen Bedingungen erzeugen keinen Anstieg der Katecholaminkonzentration im arteriellen Blut und keine Entspeicherung der Milz. Diese können jedoch mittels Adrenalininjektion ausgelöst werden.

Unter normoxischen Bedingungen erzeugt die hyperkapnieinduzierte respiratorische Azidose nur einen Anstieg der AdrenalinKonzentration im arteriellen Blut der Regenbogenforelle. Die Erhöhung der Bluthämoglobinkonzentration über die Freisetzung von Erythrozyten erfolgt bei ihr durch  $\alpha$ -adrenerge Kontraktion der Milz.

Nach letztgenannten Autoren spielen Hämokonzentration durch Plasmaverlust bei der Erhöhung der Hämoglobinkonzentration zumindest bei der Regenbogenforelle eine untergeordnete Rolle, da bei splenektomierten Versuchstieren kein  $\alpha$ -adrenerger [Hb]-Anstieg ausgelöst werden kann.

Gegen Hämokonzentration durch Flüssigkeitsverlust beim Karpfen sprechen Ergebnisse von Kakuta et al. (1992) sowie Kakuta & Murachi (1992), die selbst bei strenger Hypoxie bis zum Verlust des Gleichgewichtes der Tiere keine Veränderungen des osmotischen Druckes und der Proteinkonzentration im Blutplasma feststellen konnten.

In beiden Versuchsgruppen wurde während der gesamten Hyperkapniephase nur ein geringer Anstieg der AdrenalinKonzentration im arteriellen Blut registriert (Abb. 35 u. 36). Das läßt darauf schließen, daß Karpfen bei akuter hyperkapnieinduzierter respiratorischer und metabolischer Azidose unter normoxischen Bedingungen die Anpassung an die Hypoxämie zwar ebenfalls mit Hilfe einer Milzkontraktion erreichen, da sich die Blutwerte in gleicher Weise wie bei der Regenbogenforelle verändern. Hierbei scheinen erhöhte Konzentrationen zirkulierenden Adrenalins jedoch nicht notwendig zu sein.

Innerhalb der ersten Hyperkapniestunde zeigt zirkulierendes Noradrenalin einen deutlichen Konzentrationsanstieg und fällt im weiteren Verlauf kontinuierlich ab. Deshalb erscheint eine

rein nervale Stimulation der Milzkontraktion wahrscheinlicher bzw. ein kombinierter Effekt nervaler und neurohumoraler Stimulation, bei dem Noradrenalin beteiligt ist.

Für die Prädominanz der Noradrenalinfreisetzung bei Streßeinwirkungen auf den Karpfen bzw. unter hypoxischen / hypoxämischen Bedingungen sprechen auch Ergebnisse anderer Autoren (siehe Literaturübersicht).

Bisher lagen für den Karpfen nur wenige Angaben zur Katecholaminkonzentration im zirkulierenden Blut vor, von denen die meisten unter hypoxischen Bedingungen ermittelt wurden. Durch stark differierendes methodisches Vorgehen der Untersucher - z. B. Blutentnahme aus der Dorsalaorta außerhalb des Wassers (Fuchs & Albers, 1988), Schwanzvenenpunktion außerhalb des Wassers (Zachmann, 1989), Herzpunktion außerhalb des Wassers (Kakuta & Murachi, 1992) - sind diese nicht einheitlich und kaum vergleichbar. Angaben zu Katecholaminkonzentrationen im Blut bei hyperkapnieinduzierter Hypoxämie unter normoxischen Wasser-Verhältnissen fehlten völlig. Allerdings gab es *in vitro*-Versuche zur Wirkung der Katecholamine auf den Erythrozytenstoffwechsel unter Einbeziehung hyperkapnischer Bedingungen (z. B. Fuchs & Albers, 1988).

Andere Autoren untersuchten Auswirkungen hyperkapnischer Wasserverhältnisse ohne gleichzeitige Bestimmung der Katecholamine im Blut (z.B. Claiborne & Heisler, 1984; 1986; Takeda, 1991). Deshalb ist hier nur der Vergleich zu Werten möglich, die unter anderen Bedingungen ermittelt wurden.

Kakuta & Murachi (1992) erreichten bei Karpfen unter hypoxischen Bedingungen Anstiege zirkulierender Katecholamine im venösen Blut von 0,05 - 0,3 ng·ml<sup>-1</sup> auf 150 - 300 ng·ml<sup>-1</sup> für Adrenalin, von 0,05 - 0,5 ng·ml<sup>-1</sup> auf 200 - 600 ng·ml<sup>-1</sup> für Noradrenalin und von < 0,04 ng·ml<sup>-1</sup> auf 1 - 5 ng·ml<sup>-1</sup> für Dopamin.

Im Blutplasma der Dorsalaorta registrierten Raaij et al. (1996) unter Hypoxie beim Karpfen ansteigende Katecholaminkonzentrationen auf 2 ng·ml<sup>-1</sup> bei Adrenalin und 50 ng·ml<sup>-1</sup> bei Noradrenalin.

Fuchs & Albers (1988) beschreiben bei Karpfen, die für 15 Minuten aus dem Wasser genommen wurden, die Versechsfachung der NoradrenalinKonzentration im arteriellen Blut auf ca. 30 nmol·l<sup>-1</sup>. Gleichzeitig fällt der Anstieg der AdrenalinKonzentration noch drastischer aus. Sie steigt von 0,50 ± 0,19 nmol·l<sup>-1</sup> unter Ruhebedingungen auf 16,20 ± 5,51 nmol·l<sup>-1</sup>. Diese Art der Streßeinwirkung induziert weitere Veränderungen physiologischer Parameter. Der p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> steigt, p<sub>a</sub>O<sub>2</sub> und p<sub>H</sub><sub>a</sub> fallen, es kommt zur Hypoxämie und zum stoffwechselbedingten Anstieg der Laktatkonzentration. Gleichzeitig steigen Hämatokrit und Erythrozytenvolumen durch Erythrozytenschwellung, was im Abfall der MCHC und dem höheren Wassergehalt der Erythrozyten zum Ausdruck kommt.

Die von Fuchs & Albers (1988) sowie Kakuta & Murachi (1992) bei anderen, zur Hypoxämie führenden Versuchsbedingungen beobachteten Veränderungen stimmen tendenziell mit den in diesen Versuchen ermittelten überein. Entscheidende Unterschiede liegen in der deutlich vermehrten Freisetzung von Adrenalin aus dem chromaffinen Gewebe in das Blut, die hier nicht aufgetreten ist, den absoluten Konzentrationsanstiegen, welche in diesen Versuchen teilweise wesentlich niedriger ausfielen, sowie den differierenden Ausgangswerten.

Insbesondere zu den Ergebnissen von Kakuta & Murachi (1992) fällt die deutliche Diskrepanz der Ausgangsrelation von Adrenalin- zu NoradrenalinKonzentration gegenüber diesen Versuchen auf. Der von ihnen geäußerte Zweifel an der Dominanz des Noradrenalins beim Karpfen bereits unter Ruhebedingungen läßt sich an den vorliegenden Ergebnissen dieser Versuche nicht

teilen. Diese Diskrepanz kann einerseits auf die Verwendung venösen gegenüber arteriellen Blutes zurückzuführen sein, läßt sich jedoch noch eher aus der unterschiedlichen Art der Blutentnahme (bei letztgenannten Autoren: Herzpunktion nach Schlagbetäubung) erklären.

Fuchs & Albers (1988) wiesen bei Entnahme von 12 ml Blut wesentlich höhere Noradrenalin-konzentrationen als bei Entnahme von 4 ml nach. Sie konnten wie Kakuta & Murachi (1992) je Fisch nur eine Blutprobe gewinnen und auswerten.

Die angewandte Methodik in den vorliegenden Versuchen ermöglicht genauere Aussagen zur Konzentration zirkulierender Katecholamine im zeitlichen Verlauf.

Die Ergebnisse zeigen niedrigere Adrenalin-konzentrationen unter Ruhebedingungen, die kaum variieren und nicht von der Blutentnahme beeinflußt werden (Abb. 20).

Vergleicht man die Ergebnisse o. g. Autoren mit den hier vorliegenden, wird deutlich, daß Karpfen auf hypoxämische Zustände nicht einheitlich reagieren.

Die vermehrte Freisetzung von Adrenalin in den Kreislauf bleibt bei Hypoxämie aus, wenn diese durch strenge Hyperkapnie und resultierende gemischte Azidose bei gleichzeitiger Normoxie des Wassers zurückzuführen ist und die Karpfen keiner zusätzlichen Belastung ausgesetzt werden.

Strenge Hypoxie wird auch mit ansteigenden Adrenalin-konzentrationen im Blut beantwortet (Fuchs & Albers, 1988; Kakuta & Murachi, 1992; Raaij et al., 1996).

Fuchs und Albers (1988) konnten bei hyperkapnischer Hypoxie an Karpfenerythrozyten *in vitro* höhere Zunahmen des Erythrozytenvolumens in Anwesenheit von Adrenalin als ohne Adrenalin nachweisen. Dieser zusätzliche Effekt ist durch Propranolol ( $\beta$ -Rezeptorenblocker) blockierbar.

Die Erythrozytenschwellung tritt nach ihnen auch unter normoxischen Bedingungen auf, wenn der pH durch erhöhten  $p\text{CO}_2$  oder Zugabe von HCl gesenkt wird oder nur hypoxische Bedingungen vorliegen. Unter diesen Bedingungen übt Adrenalin *in vitro* ebenfalls den steigernden Effekt auf die Erythrozytenschwellung aus. Dies bestätigen auch Ergebnisse von Salama & Nikinmaa (1988).

Hypoxie und/oder Azidose rufen Veränderungen der Ionenaustauschvorgänge an der Erythrozytenmembran hervor. Die intrazelluläre Konzentration von  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  steigen und bewirken den passiven Wassereinstrom, der zur Erythrozytenschwellung führt. Adrenalin moduliert die Ionenaustauschprozesse zugunsten einer stärkeren Aufnahme von Natriumionen und damit auch von Wasser.

Thomas & Perry (1992) erklären den steigernden Effekt der Katecholamine auf die Erythrozytenschwellung mit der Aktivierung des  $\text{Na}^+ / \text{H}^+$ -Austausches an der Erythrozytenmembran. Er führt zur Alkalinisierung des IZR hauptsächlich durch den Anstieg von  $[\text{OH}^-]$  und  $[\text{HCO}_3^-]$  und über den resultierenden elektroneutralen Austausch zum Einstrom von  $\text{Cl}^-$ . Bei Einwirkung des  $\beta$ -Rezeptorenblockers Propranolol sinkt der  $\text{pH}_i$  der Erythrozyten (Tang et al., 1988).

Die Anhäufung osmotisch aktiver Ionen im IZR erzeugt den passiven Einstrom von Wasser.

Durch die steigende intrazelluläre Natriumionen-konzentration wird eine ouabainsensitive  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Pumpe aktiviert, die der steigenden Natriumionen-konzentration entgegenwirkt und

$[K^+]_i$  erhöht (Borgese et al., 1987).

Nach Bourne & Cossins (1982) sowie Borgese et al. (1987) setzt auch ein passiver  $K^+$ -Ausstrom ein, der als  $Cl^-$ -abhängig und ouabaininsensitiv beschrieben wird.

Bleibt durch Anwesenheit erhöhter Katecholaminkonzentrationen der  $Na^+/H^+$ -Austausch erhöht, kommt es zur Ausbildung eines neuen Gleichgewichtes mit stärkerer  $pH_i$ - $pH_e$ -Differenz zwischen Erythrozyt und Plasma infolge erhöhter Bikarbonatkonzentration im IZR und gesenkter im EZR (Thomas & Perry, 1992). Es garantiert verbesserte Austausch- und Transportbedingungen für Sauerstoff.

Betrachtet man die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) als Gradmesser ihrer Volumenverhältnisse, kam es in der Hyperkapniephase zur Erythrozytenschwellung. Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration fällt in beiden Versuchsgruppen in der Hyperkapniephase auf Werte zwischen ca. 14 und 15  $mmol \cdot l^{-1}$  ab (Abb. 23, 24). Dies entspricht Werten, die auch bei "luftgestreßten" Karpfen beobachtet wurden (Fuchs & Albers, 1988).

Nach Schindler & de Vries (1986) bewirkt bereits kurzzeitige Hypoxie ansteigende Hämoglobinkonzentration im Karpfenerythrozyten aufgrund einsetzender Hämoglobinsynthese. Dieser Kompensationsmechanismus erschien auch bei diesen Versuchsbedingungen möglich, ist aber aus dem Verlauf der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration (MCHC) nicht ableitbar.

Nach Literaturvergleich ist der Sauerstoffpartialdruck des Wassers mit ca. 20 kPa als normoxisch zu bezeichnen. Die respiratorische und metabolische Azidose und resultierende Hypoxämie in der Hyperkapniephase aktiviert jedoch nicht wesentlich die Adrenalinfreisetzung. Somit ist der steigernde Effekt des Adrenalins auf die Erythrozytenschwellung in diesen Versuchen höchstwahrscheinlich auszuschließen, auch im Hinblick auf die *in vitro*-Ergebnisse von Fuchs & Albers (1988), deren verwendete Adrenalinkonzentration ca. 1000fach höher liegt als die in diesen Versuchen *in vivo* ermittelten.

Nach Tetens et al. (1988) sowie Nikinmaa & Tufts (1989) dominieren an der Erythrozytenmembran der Knochenfische  $\beta_1$ -adrenerge Rezeptoren, wodurch Noradrenalin den  $Na^+/H^+$ -Austausch stärker stimuliert als Adrenalin, bereits unter Ruhebedingungen in einer Konzentration von  $10^{-9}$  -  $10^{-8}$   $mol \cdot l^{-1}$ .

Dies drückt sich in einer 60- bis 80fach höheren Rezeptoraffinität der Erythrozytenmembran für Noradrenalin gegenüber Adrenalin bei Regenbogenforellen und Karpfen aus (Tetens et al., 1988; Salama & Nikinmaa, 1990; Salama, 1992).

Daraus läßt sich schlußfolgern, daß die Erythrozytenschwellung in diesen Versuchen Folge der vermehrten  $Cl^-$ -Aufnahme des Erythrozyten (Hamburger-Shift) und des durch Noradrenalin stimulierten  $Na^+/H^+$ -Austausches ist.

Unter Beachtung der *in vitro*-Ergebnisse von Fuchs & Albers (1988) sowie Salama & Nikinmaa (1988) scheint es wahrscheinlich, daß durch stärkere Noradrenalin- und zusätzlich aktivierte Adrenalinfreisetzung die Sauerstoffversorgung mittels stärkerer Alkalinisierung des IZR der Erythrozyten weiter gesteigert werden kann, dafür aber unter diesen Bedingungen keine Notwendigkeit besteht, da andere eingeleitete Kompensationsmechanismen ausreichen.

Im Verlauf der vorliegenden Versuche veränderten sich die Bedingungen für den Ammoniaktransport zwischen Karpfen und Wasser. Durch CO<sub>2</sub>-Begasung verschob sich der pH<sub>W</sub> in den sauren Bereich, wodurch die ionisierte Form aufgrund des pK von 9,4 begünstigt war und freies Ammoniak im Wasser nur in sehr niedriger Konzentration auftreten konnte.

In Versuchsgruppe II führte die Zugabe von Ammoniumchlorid zusätzlich zur Verschiebung des Diffusionsgradienten zwischen Fisch und Wasser.

Nach Claiborne & Heisler (1984) führt milde Hyperkapnie bei Karpfen zu gesteigerter Ammoniakexkretion bei gleichzeitig erhöhter Na<sup>+</sup>-Aufnahme. Bei den vorliegenden Versuchen läßt sich dies anhand leicht ansteigender Gesamtammoniakkonzentrationen im Wasser beider Versuchsgruppen und anfänglicher Erhöhung der Na<sup>+</sup>-Konzentrationen im Plasma vermuten (Abb. 11, 12, 37).

Modellberechnungen von Randall et al. (1991) stützen die Annahme, daß unter diesen Versuchsbedingungen besonders die Diffusion von NH<sub>3</sub> begünstigt sein müßte, da der niedrige pH<sub>W</sub> den Diffusionsgradienten für NH<sub>3</sub> erhöht.

Dem wirkt jedoch die hyperkapnieinduzierte Senkung des pH<sub>a</sub> entgegen, die das Dissoziationsgleichgewicht zugunsten des NH<sub>4</sub><sup>+</sup> verschiebt. Trotzdem müßte die vorliegende pH-Differenz zwischen Plasma und Wasser die Diffusion von NH<sub>3</sub> erleichtern. Die beobachtete Akkumulation von NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> beider Versuchsgruppen in der Hyperkapniephase läßt darauf schließen, daß die erleichterte NH<sub>3</sub>-Diffusion von geringerer Bedeutung für die Ammoniakexkretion war und diese zumindest nicht für längere Zeit erheblich gesteigert worden ist.

Zusätzlich ist von einer Beeinflussung der NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Ausscheidung über die Nieren auszugehen, da bei hypoxisch bedingter metabolischer Azidose weniger Harn mit geringgradig höherem osmotischen Druck ausgeschieden wird (Kakuta et al., 1992; Kakuta & Murachi, 1992). Nach ihnen ist die Kationenausscheidung mit dem Harn aufgrund der geringeren Urinflußrate gesenkt.

Die eigene gewählte Versuchsdurchführung und -anordnung sollte in Versuchsgruppe II eine NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Wasserkonzentration erzeugen, die auch bei wechselnden pH<sub>W</sub> nicht zu einer akut hochtoxischen Konzentration von NH<sub>3</sub> führt. Diese Gefahr hätte in Versuchsgruppe II bei konstanter NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Wasserkonzentration von 20 mg·l<sup>-1</sup> bei Rückkehr zur Normokapnie bestanden, da unter derartigen Bedingungen (pH<sub>W</sub> 7,6) ca. 2,2 % ( 0,44 mg·l<sup>-1</sup>) als NH<sub>3</sub> im Zuflußwasser vorgelegen hätten. Die Konzentrationsabnahme auf ca. 12 mg·l<sup>-1</sup> [NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]<sub>W</sub> durch Austreiben gasförmigen Ammoniaks in der begasten Säule wirkte dem entgegen.

Zwischen den beiden Versuchsgruppen zeigt die Gesamt-Plasma-Ammoniakkonzentration keine Unterschiede (Abb. 33., 34), obwohl direkt nach Ammoniumchloridzugabe in Versuchsgruppe II die NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Konzentration im Wasser auf 20 mg·l<sup>-1</sup> gesteigert wurde und damit mehr als vierzigfach gegenüber Versuchsgruppe I erhöht war (Abb. 11, 12).

Diese Konzentrationserhöhung bewirkte eine kurze deutliche Steigerung der Gesamt-Plasma-Ammoniakkonzentration innerhalb der Versuchsgruppe II (Abb. 34). Als Ursache ist der Einstrom von NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> und deren verminderte Exkretion aufgrund des plötzlich verschobenen Diffusionsgradienten anzusehen.

Dieser einwärts gerichtete Transport bei ähnlich erhöhter Ammoniakkonzentration im Wasser wird auch bei der Regenbogenforelle beobachtet (Wilson & Taylor, 1992).

Da der Transport von  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  von den Geweben zu den Kiemen zu annähernd gleichen Teilen von Erythrozyten und Plasma bewerkstelligt wird (Ogata und Murai, 1987; 1988), lag die Gesamtammoniakkonzentration im arteriellen Blut zu jedem Zeitpunkt höher als die gemessenen Plasmakonzentrationen. Für das präbranchiale Blut sind die Konzentrationen noch höher anzunehmen, da o. g. Autoren im Blut aus dem Bulbus arteriosus höhere Konzentrationen von  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  fanden als in der Dorsalaorta.

Die Akkumulation von Ammoniak im Blutplasma tritt bei  $\text{pH}_W$ -Abweichungen in den sauren oder basischen Bereich auf (Wright & Wood, 1985; Hobe et al., 1984; Lin & Randall, 1990; Yesaki & Iwama, 1992; Wilkie et al., 1996). Im nicht gepufferten Haltungswasser dieser Versuche kann die hyperkapniebegleitende  $\text{pH}_W$ -Senkung ebenfalls ein mitbestimmender Faktor gewesen sein. Dafür könnte auch die Abnahme von  $[\text{Na}^+]_p$  und  $[\text{Cl}^-]_p$  im Verlauf des Versuches sprechen (Abb. 29, 31, 37, 38), da bei Säuerung des Wassers passive Ionenverluste beschrieben sind (Packer & Dunson, 1970, 1972; Leivestad & Muniz, 1976; Neville, 1979 a; Utsch et al., 1981; Holeton et al., 1883; Hobe et al., 1984; Mc Keown et al. 1985).

Die hohen Ammoniakkonzentrationen im Plasma beider Versuchsgruppen können teilweise auf gesteigerten Proteinkatabolismus durch Stoffwechselimbilanz bei unphysiologisch hoher Kohlendioxidkonzentration im Wasser zurückzuführen sein, wie Claiborne & Heisler (1984) vermuteten.

Die gleichartige Entwicklung in beiden Versuchsgruppen trotz stark differierender Wasserkonzentrationen (und damit Abgabebedingungen) bei theoretisch erhöhter Diffusibilität lassen bezüglich der Ammoniakausscheidung über die Kiemen folgende weitere Schlußfolgerungen zu:

1.) Es treten Diffusionsbarrieren für  $\text{NH}_3$  auf, die sowohl die Diffusion durch die Kiemenepithelzellen als auch die parazelluläre Diffusion behindern.

In Betracht kommen Veränderungen des Kiemenepithels sowie dessen aufliegender Schleimschicht, deren Dicke normalerweise  $1\mu\text{m}$  beträgt, jedoch durch Stimulation der Produktion in Schleimzellen zunehmen kann. Als stimulierend sind verschiedene toxische Stoffe und saure  $\text{pH}_W$  beschrieben (Packer & Dunson, 1970, 1972; Wood & Mc Donald, 1982; McDonald et al., 1991; Randall et al., 1991).

Der pH dieser Schleimschicht liegt normalerweise aufgrund der Karboanhydraseaktivität unter dem des eingeatmeten Wassers und begünstigt somit die  $\text{NH}_3$ -Abgabe (siehe Literaturübersicht). In den beiden Versuchsgruppen ist es wahrscheinlicher, daß ihr pH höher als der des Wassers und niedriger als der extrazelluläre pH war und sie somit die pH-begründete Diffusionserleichterung minderte.

Eventuell behindert diese Schicht ebenfalls Ionentransportprozesse am Kiemenepithel und hätte somit die Aufgabe, passive Verluste zu senken.

2.) Die Diffusion von  $\text{NH}_4^+$  wird gleichartig gemindert.

3.) Aktive Prozesse der  $\text{NH}_4^+$ -Ausscheidung über das Kiemenepithel werden behindert. Hierbei kann sowohl der Transport an der Basalmembran in die Kiemenepithelzelle als auch die Ausschleusung an der apikalen Membran betroffen sein.

Kommt beim Karpfen eine elektrogene Protonenpumpe bzw.  $\text{H}^+$ -transportierende ATPase an

der apikalen Membran des Kiemenepithels vor, wie sie bei der Regenbogenforelle beschrieben ist (Avella & Bornancin, 1989; Lin & Randall, 1991; Lin et al., 1994; Laurent et al., 1994; Sullivan et al., 1995), kann durch Kopplung von  $\text{NH}_4^+$ -,  $\text{H}^+$ - und  $\text{Na}^+$ -Transport durch die Kiemenepithelzelle (siehe Literaturübersicht) der Ammoniakanstieg im Plasma auf folgendem Mechanismus beruhen:

Aufgrund des sinkenden  $\text{pH}_W$  in der Hyperkapniephase ist die elektrogene Protonenpumpe nicht in der Lage, ein ausreichend negatives Potential an der Innenseite der apikalen Membran zu generieren. Dadurch reduziert sich der  $\text{Na}^+$ -Einstrom über die Natriumkanäle, und der  $\text{NH}_4^+$ -sensitiven  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase an der basolateralen Membran der Kiemenepithelzelle fehlt  $\text{Na}^+$ , um ausreichend  $\text{NH}_4^+$  in die Zelle transportieren zu können.

Die anfängliche Erhöhung der Natriumionenkonzentration und der gleichzeitig verzögerte Anstieg der Ammoniakkonzentration im Plasma während der Hyperkapnie sind ein Indiz für das Funktionieren dieses Mechanismus in der Anfangsphase der Hyperkapnie.

Auch die sinkende Verfügbarkeit von Natriumionen im Haltungswasser (Claiborne & Heisler, 1986) kann zur Behinderung dieses Transportprozesses beigetragen haben.

Neben der anfänglichen Konzentrationszunahme von Natriumionen und dem kontinuierlichen  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -Anstieg kam es im arteriellen Blutplasma der Versuchsgruppe II zu einem hyperkapniebegleitenden Konzentrationsanstieg von  $\text{Ca}^{2+}$  (Abb. 32, 39), der auch bei Hypoxie beobachtet wird (Kakuta & Murachi, 1992).

Dies ist auf veränderte Aufnahme- und Ausscheidungsprozesse in Kiemen und Niere sowie Mobilisierung von Kalziumkarbonat aus den Knochen zum Zwecke der Bikarbonatauffüllung des EZR zurückzuführen.

## 9.2. Rückkehr zur Normokapnie

Nach Beendigung der  $\text{CO}_2$ -Begasung wurden innerhalb von 12 Stunden je drei Blutproben analysiert. In beiden Versuchsgruppen kehrte der  $\text{pH}_a$  und BE in diesem Zeitraum in den Bereich der prähyperkapnischen Werte zurück, wobei sich 6 h nach Rückkehr zur Normokapnie aufgrund der sich langsam reduzierenden Plasmabikarbonatkonzentration ein über den Ausgangswerten liegender  $\text{pH}_a$  einstellte (Abb. 21, 22, 40, 41).

Dies widerspricht der Ansicht von Claiborne und Heisler (1984), daß beim Karpfen  $\text{p}_a\text{CO}_2$  und  $[\text{HCO}_3^-]_a$  proportional abfallen und dadurch ein pH-overshoot ausbleibt. Es ist anzunehmen, daß dessen Auftreten von der Höhe des  $\text{p}_W\text{CO}_2$  in der Hyperkapniephase und von der Geschwindigkeit der Normokapnieeinstellung sowie von der Verfügbarkeit von Partnern für den aktiven Ionenaustausch am Kiemenepithel abhängt. Eventuell besteht auch ein Zusammenhang mit der Aktivität der Kiemenventilation in dieser Phase, die durch zusätzliche Belastungen beeinflusst werden kann.

In der Posthyperkapniephase fällt die Plasmabikarbonatkonzentration in Versuchsgruppe II im Gegensatz zur Versuchsgruppe I deutlicher (Abb. 21, 22). Wahrscheinlich ist hierfür die höhere Chloridkonzentration im Wasser verantwortlich, die den  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Austausch am Kiemenepithel begünstigt.

Gleichzeitig ist zwischen beiden Versuchsgruppen ein markanter Unterschied in der  $\text{pH}_W$ -Ent-

wicklung zu sehen (Abb. 6, 7). In Versuchsgruppe II fällt die wesentlich höhere  $\text{pH}_W$ -Differenz zwischen zufließendem und abfließendem Wasser auf. Dies ist ein Hinweis für eine bessere Abgabemöglichkeit von Wasserstoffionen in Versuchsgruppe II, die vermutlich mit dem höheren  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Austausch am Kiemenepithel aufgrund höherer Chloridkonzentration im Wasser zusammenhängt.

Auch die Gesamtammoniakkonzentration im Plasma zeigt in Versuchsgruppe II eine schnellere und stärkere Angleichung an prähyperkapnische Werte (Abb. 34), obwohl die Gesamtammoniakkonzentration im Wasser zum Zeitpunkt der letzten Messung ca. 60fach gegenüber der Versuchsgruppe I erhöht ist.

Die Normokapnie wurde innerhalb einer Stunde mit einem starken Konzentrationsabfall des zirkulierenden Noradrenalins in beiden Versuchsgruppen beantwortet (Abb. 35, 36). Ausschlaggebend dürften die verbesserten Bedingungen für den Sauerstofftransport in die Gewebe sein, die mit Beendigung der Hyperkapnie sowie dem damit verbundenen Wegfall der Azidose und Hypoxämie gegeben sind.

In diesem Zeitraum sank der  $\text{p}_a\text{O}_2$  in beiden Versuchsgruppen unter die Ausgangswerte, so daß eine Stunde nach Rückkehr zur Normokapnie die größte Differenz des Sauerstoffpartialdruckes zwischen eingeatmetem Wasser und arteriellem Blut vorlag (Abb. 14, 15, 27, 28). Dies ist neben der Erhöhung der  $\text{O}_2$ -Affinität des Hämoglobins (Umkehrung des Bohr-Effektes) und der Erhöhung der  $\text{O}_2$ -Aufnahmefähigkeit des Hämoglobins (Umkehrung des Root-Effektes) durch den sinkenden  $\text{p}_a\text{CO}_2$  und damit steigenden  $\text{pH}_a$  auch durch die vermutlich reduzierte Kiemenventilation begründet.

Erythrozytenkonzentration, Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration nähern sich nach Rückkehr zur Normokapnie ihren Ausgangswerten, wobei diese Tendenz wiederum in Versuchsgruppe II deutlicher hervortritt (Abb. 23 - 26). Da sich in diesem Zeitraum die Bedingungen für den Sauerstofftransport verbessern, scheint die Auffüllung der Blutspeicher als Hauptursache dieser Veränderungen festzustehen.

Der  $[\text{K}^+]_p$ -Anstieg (Abb. 29, 31) kann auf dem Rücktransport aus dem IZR in den EZR im Blut beruhen.

Da die  $\beta$ -adrenerge Aktivierung des Natrium-Protonenaustausches an der Erythrozytenmembran mit der rapide fallenden Noradrenalinkonzentration im Blut wegfällt und damit ebenfalls der volumenregulatorische Natrium-Kalium-Transport aufhört, kann die erhöhte intraerythrozytäre Kaliumkonzentration (Borgese et al., 1987) nicht mehr aufrechterhalten werden, und  $\text{K}^+$  wird vermehrt in das Plasma abgegeben.

Die  $[\text{Cl}^-]_p$ -Abnahme trotz gesteigerter Aufnahme aus dem Wasser in der Posthyperkapniephase (Claiborne & Heisler, 1984) ist vermutlich durch Transportprozesse in den IZR begründet.

Der Anstieg der MCHC nach Rückkehr zur Normokapnie zeigt in beiden Versuchsgruppen fast identischen Verlauf (Abb. 23, 24). Er ist auf die Senkung des Wassergehaltes der Erythrozyten aufgrund der veränderten intraerythrozytären osmotischen Verhältnisse in diesem Zeitraum zurückzuführen.

Die hohe Adrenalinkonzentration im Blut einzelner Karpfen der Versuchsgruppe I (Abb. 35) bewirkt in dieser Phase keine Beeinflussung der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration (Erythrozytengröße) im Vergleich zur Versuchsgruppe II.

Sie ist auch nach Auswertung der Versuchsprotokolle, aus denen keine zusätzlich störenden

Umwelteinflüsse oder Verhaltensänderungen der Tiere ersichtlich sind, nicht erklärbar.

Offenbar ging sie mit verstärkter Atmung der Versuchstiere bzw. Sauerstoffaufnahme aus dem Wasser einher, die zu erhöhter Sauerstoffpartialdruckdifferenz zwischen zu- und abfließendem Wasser (Abb. 14) in dieser Gruppe führte.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen wird deutlich, daß hyperkapnische Wasserverhältnisse auch bei gleichzeitiger Normoxie starke Auswirkungen auf den Säuren-Basen- und Elektrolythaushalt des Karpfens haben.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen treten vielfältige regulatorische Antworten auf.

Inwiefern Karpfen sich an Hyperkapnie unter normoxischen Bedingungen adaptieren, läßt sich mit den vorliegenden Ergebnissen nicht beantworten und sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

## IV. Zusammenfassung

### **Untersuchungen zur Regulation des Säuren-Basen- und Elektrolythaushaltes beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) bei Normoxie, Hyperkapnie und erhöhten Wasserkonzentrationen von Ammoniak / Ammonium anhand arterieller Blutwerte.**

Die einleitend formulierte Fragestellung läßt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen zusammenfassend folgendermaßen beantworten:

1. Die zur Versuchsdurchführung konzipierten und gebauten Haltungs-, Vorbereitungs- und Versuchseinrichtungen ermöglichen die angestrebten standardisierten Versuchsbedingungen für alle Versuchstiere der drei Gruppen, wobei störende Umwelteinflüsse fast vollständig vermieden werden können.
2. Eine gegenüber Untersuchungen anderer Autoren leicht abgewandelte Katheterisierungstechnik mit kontinuierlicher Katheterspülung im Versuchsverlauf wird beschrieben. Sie gewährleistet eine durchgängige Verfügbarkeit arteriellen Blutes.

Um Verlaufsuntersuchungen von Blutparametern an Einzeltieren ohne Beeinflussung der Werte zu realisieren, wird eine Methode wiederholter Blutentnahme mit Reinfusion der korpuskulären Blutanteile beschrieben und angewandt. Durch Reinfusion von je ca. 85 % der entnommenen korpuskulären Blutbestandteile in steriler isotonischer Elektrolytlösung läßt sich deren Verlust im Versuchsverlauf trotz relativ großer Blutentnahmemengen sehr gering halten. Es treten keine, der wiederholten Blutentnahme geschuldeten, fallenden Werte des Hämatokrit und Hämoglobingehaltes im arteriellen Blut auf. Damit sprechen die ermittelten Blutwerte für die Eignung dieser Methode bei Einsatz an größeren Einzeltieren.

Unter normoxischen und normokapnischen Versuchsbedingungen auftretende geringgradige Veränderungen von Blutwerten korrelieren mit sich ändernden Wasserverhältnissen aufgrund von Ausscheidungs- und Austauschprozessen der Karpfen.

Häufige Blutentnahme und -reinfusion beeinflußt die ermittelten Blutwerte nicht nachweislich. Niedrige, kaum differierende Plasmakatecholaminkonzentrationen sind Ausdruck erfolgter Anpassung an streßarme Versuchsbedingungen und beweisen ebenfalls die Eignung der angewandten Methodik für Verlaufsuntersuchungen am Einzeltier.

3. Die hyperkapnieinduzierte respiratorische und metabolische (gemischte) Azidose und Hypoxämie stimuliert Kompensationsmechanismen, die auf die Regulation des Säuren-Basen-Haushaltes und Verbesserung der Sauerstoffversorgung ausgerichtet sind. Es kommt zur Freisetzung von Erythrozyten aus Blutspeichern. Dies steigert den Hämatokrit und Hämoglobingehalte.

halt des arteriellen Blutes. Gleichzeitig kommt es zur Reduzierung des mittleren korpuskulären Hämoglobingehaltes der Erythrozyten (MCHC) infolge der Erythrozytenschwellung, die aufgrund veränderter Ionenaustauschverhältnisse an der Erythrozytenmembran eintritt.

**4.** Die hyperkapnieinduzierte gemischte Azidose beeinflusst in den vorliegenden Untersuchungen die Konzentration verschiedener Elektrolyte im Blutplasma in ähnlicher Weise wie eine metabolische Azidose durch Zusatz von HCl (Ultsch et al., 1981).

Von Claiborne & Heisler (1984; 1986) für den Karpfen beschriebene Ionenaustauschprozesse zwischen Karpfen und Wasser bei Hyperkapnie und Rückkehr zur Normokapnie korrelieren in den vorliegenden Untersuchungen nur teilweise mit den Plasmakonzentrationen dieser Ionen. In beiden Phasen fallen Natriumionen- und Chloridionenkonzentration im Blutplasma trotz beschriebener stimulierter Aufnahme von  $\text{Na}^+$  in der Hyperkapniephase und von  $\text{Cl}^-$  in der Posthyperkapniephase aus dem Wasser (Claiborne & Heisler, 1984; 1986). Mögliche Ursachen werden diskutiert.

**5.** Erstmals liegen Ergebnisse zum Verlauf der Adrenalin- und NoradrenalinKonzentration im arteriellen Blut bei Normoxie und Hyperkapnie des Wassers vor, die ohne zusätzliche Beeinflussung (z. B. Herausnehmen der Karpfen aus dem Wasser, Herzpunktion, Punktion der Schwanzvene) ermittelt wurden.

Hyperkapnie- / hypoxämiebegleitend treten erhöhte Katecholaminkonzentrationen im arteriellen Blut auf, wobei die Karpfen vor allem erhöhte Noradrenalin Spiegel aufweisen, die sich während 36stündiger Hyperkapnie den Ausgangswerten deutlich annähern. Der von anderen Autoren (z. B. Fuchs & Albers, 1988; Kakuta & Murachi, 1992; Raaij et al., 1996) beobachtete ausgeprägte Konzentrationsanstieg des Adrenalins bei Hypoxie bleibt in diesen Versuchen aus. Die Ursachen dieses Verhaltens werden diskutiert.

Neben ventilatorischen, kardiovaskulären und metabolischen Auswirkungen der gesteigerten NoradrenalinKonzentration scheint auch die Aktivierung des  $\beta$ -adrenergen  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausches an der Erythrozytenmembran zur Verbesserung der Gasaustauschbedingungen möglich. Die auftretenden niedrigen Konzentrationen von Adrenalin in den vorliegenden Versuchen lassen nach Literaturvergleich dessen Beeinflussung dieses Austauschmechanismus eher nicht erwarten.

**6.** Innerhalb des Hyperkapniezeitraumes von 36 Stunden wird in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Claiborne & Heisler (1984; 1986) lediglich eine geringe Kompensation des ausgeklentkten  $\text{pH}_a$  durch steigende Bikarbonatkonzentration beobachtet.

Zwölf Stunden nach Rückkehr zur Normokapnie zeigen die meisten ermittelten Blutparameter eine deutliche Annäherung an prähyperkapnische Werte.

Die Natriumionen- und Chloridionenkonzentrationen im Blutplasma erreichen bei der letzten Blutabnahme ihre niedrigsten Werte.

7. Die Gesamtammoniakkonzentration im Blutplasma steigt bei Hyperkapnie. Zusätzliche Belastung durch Erhöhung der Gesamtammoniakkonzentration im Wasser über Zugabe von Ammoniumchlorid steigert die Konzentration im Blutplasma nur, solange der Konzentrationsgradient zwischen Wasser und arteriellem Blut einwärts gerichtet ist.

Als Ursachen dieser Ergebnisse werden vor allem behinderte Abgabemöglichkeiten für  $\text{NH}_3$  /  $\text{NH}_4^+$  in der Hyperkapniephase am Kiemenepithel gesehen und diskutiert.

Die gewählte Ammoniumchloridkonzentration von  $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  im Wasser hat keinen nachweisbaren zusätzlichen Einfluß auf Parameter des Säuren-Basen-Haushaltes ( $\text{pH}_a$ ,  $\text{p}_a\text{CO}_2$ ,  $[\text{HCO}_3^-]_a$ , BE) in der Hyperkapniephase, ist jedoch vermutlich für den stärkeren Rückgang der Bikarbonatkonzentration im Blutplasma der Versuchsgruppe II in der Posthyperkapniephase verantwortlich, da mehr Substrat für den  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austausch zur Verfügung steht.

Trotz ca. 60fach höherer Gesamtammoniakkonzentration im Wasser der Versuchsgruppe II zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme zeigen die Karpfen dieser Gruppe eine stärkere Angleichung der Gesamtplasmaammoniakkonzentration an die Ausgangswerte in der Posthyperkapniephase als die Tiere der Versuchsgruppe I (nur Hyperkapnie).

Insgesamt scheint der erhöhte Ammoniumchloridgehalt im Wasser in der gewählten Konzentration fördernd auf Austausch- und Regulationsprozesse des Säuren-Basen- und Elektrolythaushaltes in der posthyperkapnischen Phase zu wirken.

## V. Summary

### **Investigations about the regulation of the acid base and electrolyte balance in arterial blood in carp (*Cyprinus carpio* L) under normoxia, hypercapnia and increased concentrations of ammonium in the environment.**

1. The described investigations were performed under precisely standardized experimental conditions, with respect to housing and environmental conditions of the animals.

2. A modified technique of catheterisation was used under continuous rinsing of the catheter to maintain patency of the lumen.

The animals were bled in regular intervals. In order to keep erythrocyte counts constant we used the method of reinfusion of ca 85% of the particulate blood components. This method assured relative constant levels of the hematocrit and hemoglobin values throughout the experiments. This method has proven to be efficient to prevent dramatically reduced values of hematocrit and hemoglobin.

There was a slight shift in blood parameters under normoxic and normocapnic conditions. These changes were correlated with changing environmental conditions in the water, which was influenced by the excretion of metabolic products of the animals. These findings were not influenced by the experimental setup.

The experimental conditions have proven to be suitable to maintain low stress levels (prehypercapnic and control conditions) with respect to catecholamine levels in plasma, which remained at constant concentrations in the low normal range.

3. Hypercapnia-induced respiratory and metabolic acidosis induced compensatory mechanisms, which have a regulatory effect on the acid-base balance, as well as on systemic oxygen supply.

This leads to increased levels of the hematocrit and hemoglobin concentration in arterial blood, as well as an increased volume of the erythrocyte (MCHC reduction). This feature is correlated with changes in the ion-exchange conditions of the erythrocyte membrane.

4. The hypercapnia-induced mixed acidosis is inducing changes in the concentration of several plasma electrolytes, comparable to a HCl-induced metabolic acidosis (Ultsch et al., 1981).

Claiborne and Haisler (1984; 1986) described ion-exchange conditions between carp and the environmental water during and after hypercapnic conditions. These investigations correlated only partially with our results with respect to plasma concentrations of the ions. Sodium and chloride ions on the plasma were greatly reduced in spite of stimulated uptake from the environment of  $\text{Na}^+$  during hypercapnia, and  $\text{Cl}^-$  in the post-hypercapnic phase.

5. These are the first results about adrenalin- and noradrenalin kinetics in arterial blood in carps under normoxic and hypercapnic conditions of the environment. The concentrations (adrenalin and noradrenalin) were determined without extraneous manipulation of the carps.

Increased concentrations of catecholamines in arterial blood (mainly noradrenalin) are induced by hypercapnic-hypoxemic conditions which were maintained over 36 hours, were slowly approaching pre-hypercapnic values during this time period.

In contrast to the findings of Fuchs and Albers (1988), we did not observe increased concentrations of adrenalin with concurrent hypoxemia.

Improvement of the gas-exchange can be influenced by cardiovascular, ventilatory and metabolic effects of increased noradrenalin concentrations, as well as activation of the beta-adrenergic  $\text{Na}^+ / \text{H}^+$  exchanger of the erythrocyte membrane.

The constant low concentrations of adrenalin did most likely not affect the above described exchange conditions.

**6.** During the hypercapnic intervall of 36 hours, there is little compensation of the bicarbonat controlled (influenced)  $\text{pH}_a$  concentration. These results are in concordance with Claiborne and Heisler (1984; 1986).

Twelve hours after reestablishment of normocapnic conditions, most blood parameters approached pre-hypercapnic values.

The lowest plasma concentrations of sodium- and chloride ions were determined at the end of the experiment.

**7.** Total ammonium plasma concentrations are increasing during hypercapnia.

Increased concentrations of ammonium in environmental water, lead to increased plasma ammonium concentrations in arterial blood as long as a concentration gradient is maintained.

The above described results are probably caused by diminished release of ammonium from the gill epithelia under hypercapnic conditions.

The experimentally chosen ammoniumchloride concentration of  $20 \text{ mg l}^{-1}$  has no evident influence of the acid-base balance ( $\text{pH}_a$ ,  $\text{p}_a\text{CO}_2$ ,  $[\text{HCO}_3^-]_a$ , BE) in the hypercapnic phase. This concentration is however possibly responsible for the pronounced reduction of the plasma bicarbonate concentration in experimental group 2. This phenomena is possibly explained by increased substrate availability in exchange for  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ .

In spite of dramatically increased ammonium concentration in environmental water in experimental group 2, there was a more rapid reduction of the plasma ammonium levels during the post-hypercapnic phase, compared to experimental group 1.

In summary there is evidence that the investigated ammoniumchloride concentration in environmental water, seems to be beneficial for regulatory mechanisms of the acid-base and electrolyte balance during the posthypercapnic phase.

## VI. Literaturverzeichnis

- Amlacher, E. (1986):  
Taschenbuch der Fischkrankheiten, Gustav Fischer Verlag Jena.
- Avella, M., & Bornancin, M. (1989):  
A new analysis of ammonia and sodium transport through the gills of the freshwater rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. exp. Biol. **142**: 155-175.
- Avella, M., Masoni, A., Bornancin, M., & Mayer-Gostan, N. (1987):  
Gill morphology and sodium influx in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) acclimated to artificial freshwater environments. J. exp. Zool. **241**: 159-169.
- Bandt, H.J. (1936):  
Der für Fische tödliche pH-Wert im alkalischen Bereich. Z. Fischerei **34**: 359-361.
- Bindon, S.D., Gilmour, K.M., Fenwick, J.C., & Perry, S.F. (1994 a):  
The effects of branchial chloride cell proliferation on respiratory function in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J. exp. Biol. **197**: 47-63.
- Bindon, S.D., Fenwick, J.C., & Perry, S.F. (1994 b):  
Branchial chloride cell proliferation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: Implications for gas transfer. Can. J. Zool. **72**: 1395-1402.
- Butler, P.J., Metcalfe, J.D., & Ginley, S.A. (1986):  
Plasma catecholamines in the lesser spotted dogfish and rainbow trout at rest and during different levels of exercise. J. exp. Biol. **123**: 409-421.
- Butler, P.J., Axelsson, M., Ehrenstrom, F., Metcalfe, J.D., & Nilsson, S. (1989):  
Circulating catecholamines and swimming performance in the Atlantic cod, *Gadus morhua*. J. exp. Biol. **141**: 377-387.
- Borgese, F., Garcia-Romeu, F., & Motais, R. (1987)  
Control of cell volume and ion transport by  $\beta$ -adrenergic catecholamines in erythrocytes of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Physiol., Lond. **382**: 145-157.
- Bourne, P.K., & Cossins, A.R. (1982):  
On the instability of  $K^+$  influx in erythrocytes of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* and the role of catecholamine hormones in maintaining *in vivo* influx activity. J. exp. Biol. **101**: 93-104.
- Boutillier, R.G., Dobson, G., Hoeger, U., & Randall, D.J. (1988):  
Acute exposure to graded levels of hypoxia in rainbow trout (*Salmo gairdneri*):

- metabolic and respiratory adaptations. *Respir. Physiol.* **71**: 69-82.
- Cameron, J.N. (1976):  
Branchial ion uptake in Arctic grayling: resting values and the effects of acid-base disturbance. *J. exp. Biol.* **64**: 711-725.
- Cameron, J.N. (1984):  
Acid-base status of fish at different temperatures. *Am. J. Physiol.* **246**: 452-459.
- Cameron, J.N., & Heisler, N. (1983):  
Studies of ammonia in the rainbow trout: physicochemical parameters, acid-base behavior and respiratory clearance. *J. exp. Biol.* **105**: 107-125.
- Cameron, J.N., & Heisler, N. (1985):  
Ammonia transfer across fish gills: A review. In: *Proceedings in Live Sciences, Circulation, Respiration, and Metabolism*. Gilles, R. (ed.). Springer-Verlag, Heidelberg: 91-100.
- Chakraborty, S.C., Ross, L.G., & Ross, B. (1992):  
The effect of dietary protein level and ration level on excretion of ammonia in common carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **103A**(4): 801-808.
- Claiborne, J.B., & Heisler, N. (1984):  
Acid-base regulation and ion transfers in the carp (*Cyprinus carpio*) during and after exposure to environmental hypercapnia. *J. exp. Biol.* **108**: 25-43.
- Claiborne, J.B., & Heisler, N. (1986):  
Acid-base regulation and ion transfers in the carp (*Cyprinus carpio*): pH compensation during graded long- and short-term environmental hypercapnia, and the effect of bicarbonate infusion. *J. exp. Biol.* **126**: 41-61.
- Claiborne, J.B., Evans, D.H., & Goldstein, L. (1982):  
Fish branchial  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  exchange is via basolateral  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -activated ATPase. *J. exp. Biol.* **96**: 431-434.
- Cossins, A.R., & Kilby, R.V. (1989):  
The seasonal modulation of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger activity in trout erythrocytes. *J. exp. Biol.* **144**: 463-478.
- Dejours, P. (1975)  
*Principles of comparative respiratory physiology*. North. Holl. Publ. Comp., Amsterdam, New York.
- De Renzis, G. (1975):  
The branchial chloride pump in the goldfish *Carassius auratus*: Relationship between  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  and  $\text{Cl}^-/\text{Cl}^-$  exchanges and the effect of thiocyanate. *J. exp. Biol.* **63**: 587-602.

De Renzis, G., & Maetz, J. (1973):

Studies on the mechanism of the chloride absorption by the goldfish gill: Relation with acid-base regulation. *J. exp. Biol.* **59**: 339-358.

Dimberg, K. (1988):

High blood CO<sub>2</sub> levels in rainbow trout exposed to hypercapnia in bicarbonate-rich hard fresh water - a methodological verification. *J. exp. Biol.* **134**: 463-466.

Emerson, K., Russo, R.C., Lund, R.E., & Thurston, R.V. (1975):

Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *J. Fish. Res. Board Can.* **32**: 2379-2383.

Evans, D.H. (1977):

Further evidence for Na<sup>+</sup>NH<sub>4</sub><sup>+</sup> exchange in marine teleost fish. *J. exp. Biol.* **70**: 213-220.

Evans, D.H., & Cameron, J.N. (1986):

Gill Ammonia Transport. *J. exp. Zool.* **239**: 17-23.

- Evans, D.H., & More, K.J. (1988):  
Modes of ammonia transport across the gill epithelium of the dogfish pup (*Squalus acanthias*). J. exp. Biol. **138**: 375-397.
- Evans, D.H., More, K.J., & Robbins, S.L. (1989):  
Modes of ammonia transport across the gill epithelium of the marine teleost fish *Opsanus beta*. J. exp. Biol. **144**: 339-356.
- Fievet, B., Motais, R., & Thomas, S. (1987):  
Role of adrenergic dependent H<sup>+</sup> release from red cells in acidoses induced by hypoxia in trout. Am. J. Physiol. **252**: 269-275.
- Fievet, B., Caroff, J., & Motais, R. (1990):  
Catecholamine release controlled by blood oxygen tension during deep hypoxia in trout: Effect on red blood cell Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger activity. Respir. Physiol. **79**: 81-90.
- Fuchs, D.A., & Albers, C. (1988):  
Effect of adrenaline and blood gas conditions on red cell volume and intra-erythrocytic electrolytes in the carp, *Cyprinus carpio*. J. exp. Biol. **137**: 457-477.
- Garcia-Romeu, F., & Maetz, J. (1964):  
The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh-water fish, *Carassius auratus*. I. Evidence for an independent uptake of sodium and chloride ions. J. Gen. Physiol. **47**: 1195-1207.
- Gillen, R. G., & Riggs, A. (1972):  
Structure and function of the hemoglobins of the carp, *Cyprinus carpio*. J. Biol. Chem. **247**: 6039-6046.
- Gingerich, W. H., & Drottar, K.R. (1989)  
Plasma catecholamine concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and after anesthesia and surgery. Gen. Comp. Endocrinol. **73**: 390-397.
- Glass, M.L., Andersen N.A., Kruhoffer, M., Williams, E.M., & Heisler, N. (1990):  
Combined effects of environmental PO<sub>2</sub> and temperature on ventilation and blood gases in the carp *Cyprinus carpio*. J. exp. Biol. **148**: 1-17.
- Goss, G.G., & Wood, C.M. (1990):  
Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> uptake kinetics, diffusive effluxes and acidic equivalent fluxes across the gills of rainbow trout. I. Responses to environmental hyperoxia. J exp. Biol. **152**: 521-547.
- Goss, G.G., Perry, S.F., Wood, C.M., & Laurent, P. (1992):  
Mechanisms of ion and acid-base regulation at the gills of freshwater fish. J. exp. Zool. **263**: 143-159.
- Greco, A.M., Gilmour, K.M., Fenwick, J.C., & Perry, S.F. (1995)

The effects of softwater acclimation on respiratory gas transfer in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. exp. Biol.* **198**: 2557-2567

Haswell, M.S., Randall, D.J., & Perry, S.F. (1980):

Fish gill carbonic anhydrase: acid-base regulation or salt transport? *Am. J. Physiol.* **238**: R 240-R 245.

Heisler, N. (1980):

Regulation of the acid-base status in fishes. In: *Environmental physiology of fishes*. Ed.: M.-A. Ali, New York, Plenum publishing corp. 123-157.

Heisler, N. (1984):

Acid-base regulation in fishes. In: *Fish Physiology*, vol. XA, Hoar, W. S., & Randall, D. J. (eds.) Academic Press, New York: 315-401.

Heisler, N. (1986 a):

Buffering and transmembrane ion transfer processes. In: *Acid-base regulation in animals*. Heisler, N. (ed.). Elsevier Science, Amsterdam: 3-47.

Heisler, N. (1986 b):

Acid-base regulation in fishes. In: *Acid-base regulation in animals*. Heisler, N. (ed.). Amsterdam. Elsevier Science Publishers: 215-252.

Heisler, N. (1988):

Ion transfer processes as mechanisms for acid-base regulation. In: Comparative pulmonary physiology: current concepts. Lung biology in heart and disease. Wood, S.C. (ed.), (Lenfant, C., exec. ed.) Marcel Dekker, New York **39**: 539-583.

Heisler, N. (1989):

Interactions between gas exchange, metabolism, and ion transport in animals: an overview. Can. J. Zool. **67**: 2923-2935.

Heisler, N. (1990 a):

Acid-base regulation: Interrelationship between gaseous and ionic exchange. In: Advances in Comparative and Environmental Physiology. Vol. 6. R.G. Boutilier (ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 211-251.

Heisler, N. (1990 b):

Mechanisms of Ammonia Elimination in Fishes. In: Truchot, J.P., Lahlou, B. (eds.): Animal Nutrition and Transport Processes. 2. Transport, Respiration and Excretion: Comparative and Environmental Aspects. Comp. Physiol. Basel, Karger, 6: 137-151.

Heisler, N., & Neumann, P. (1977):

Influence of sea-water pH upon bicarbonate uptake induced by hypercapnia in an elasmobranch fish (*Scyliorhinus stellaris*). Pflügers Arch. Suppl. **368**: R 19.

Heisler, N., & Neumann, P. (1980):

The role of physico-chemical buffering and of bicarbonate transfer processes in intracellular pH regulation in response to change of temperature in the larger spotted dogfish (*Scyliorhinus stellaris*). J. exp. Biol. **85**: 99-110.

Heisler, N., Weitz, H., & Weitz, A.M. (1976 a):

Extracellular and intracellular pH with changes of temperature in the dogfish *Scyliorhinus stellaris*. Respir. Physiol. **26**: 249-263.

Heisler, N., Weitz, H., & Weitz, A.M. (1976 b):

Hypercapnia and resultant bicarbonate transfer processes in an elasmobranch fish (*Scyliorhinus stellaris*). Bull. Europ. Physiopath. Resp. **12**: 77-85.

Heisler, N., Toews, D.P., & Holeyton, G.F. (1988):

Regulation of ventilation and acid-base status in the elasmobranch *Scyliorhinus stellaris* during hyperoxia-induced hypercapnia. Respir. Physiol. **71**: 227-246.

Heming, T.A., Randall, D.J., Boutilier, R.G., Iwama, G.K., & Primmitt, D. (1986):

Ionic equilibria in red blood cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*):  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{H}^+$ . Respir. Physiol. **65**: 223-234.

Henry, R. P., Smatresk, N. J., & Cameron, J. N. (1988):

The Distribution of branchial carbonic anhydrase and the effects of gill and erythrocyte carbonic anhydrase inhibition in the channel catfish, *Ictalurus*

- punctatus*. J. exp. Biol. **134**: 201-218.
- Henry, R.P., Boutilier, R.G., & Tufts, B.L. (1995):  
Effects of carbonic anhydrase inhibition on the acid base status in lamprey and trout. Respir. Physiol. **99**: 241-248.
- Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T., & Ogasawara, S. (1986)  
Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thipental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Jpn. J. Vet. Sci. **48**(2): 341-351.
- Hobe, H., Wood, C.M., & M.G. Wheatly (1984):  
The mechanisms of acid base and ionoregulation in the freshwater rainbow trout during environmental hyperoxia and subsequent normoxia. I. Extra- and intracellular acid-base status. Respir. Physiol. **55**: 139-154.
- Hobe, H., Wood, C.M., & McMahan, B.R. (1984):  
Mechanisms of acid-base and ionoregulation in white suckers (*Catostomus commersoni*) in natural soft water. I. Acute exposure to low ambient pH. J. Comp. Physiol. B. **154**: 35-46.
- Holeton, G.F., & Randall, D.J. (1967):  
The effect of hypoxia upon the partial pressure of gases in blood and water afferent and efferent to the gills in rainbow trout. J. exp. Biol. **46**: 317-327.

- Holeton, G.F., Booth, J.H., & Jansz, G.F. (1983)  
Acid base balance and Na<sup>+</sup> regulation in rainbow trout during exposure to, and recovery from, low environmental pH. *J. exp. Zool.* **228**: 21-32.
- Houston, A.H., & Smeda, J.S. (1979)  
Thermoacclimatory changes in the ionic microenvironment of haemoglobin in the stenothermal rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and eurythermal carp (*Cyprinus carpio*). *J. exp. Biol.* **80**: 317-340.
- Hughes, G.M., Albers, C., Muster, D., & Götz, K.H. (1983):  
Respiration of the carp, *Cyprinus carpio* L., at 10 °C and 20 °C and the effects of hypoxia. *J. Fish Biol.* **22**: 613-628.
- Hyde, D.A., & Perry, S.F. (1990):  
Absence of adrenergic red cell pH and oxygen content regulation in American eel (*Anguilla rostrata*) during hypercapnic acidosis in vivo and in vitro. *J. Comp. Physiol. B.* **159**: 687-693.
- Imagawa, T., Kitagawa, H., & Uehara, M. (1996):  
The innervation of the chromaffin cells in the head kidney of the carp, *Cyprinus carpio*; regional differences of the connections between nerve endings and chromaffin cells. *J. Anat.* **188**(1): 149-156.
- Itazawa, Y., & Takeda, T. (1978):  
Gas exchange in the carp gills in normoxic and hypoxic conditions. *Respir. Physiol.* **35**: 263-269.
- Janssen, R.G., & Randall, D.J. (1975):  
The effect of changes in pH and pCO<sub>2</sub> in blood and water on breathing in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Respir. Physiol.* **25**: 235-245.
- Jensen, F.B. (1990)  
Nitrite and red cell function in carp: control factors for nitrite entry, membrane potassium ion permeation, oxygen affinity and methaemoglobin formation. *J. exp. Biol.* **152**: 149-166.

- Johnston, I.A., & Bernard, L.M. (1983):  
Utilization of the ethanol pathway in carp following exposure to anoxia. *J. exp. Biol.* **104**: 73-78.
- Kakuta, I., Namba, K., Uematsu, K., & Murachi, S. (1992):  
Effects of hypoxia on renal function in carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **101 A**(4): 769-774.
- Kakuta, I., & Murachi, S. (1992):  
Renal response to hypoxia in carp, *Cyprinus carpio*: Changes in glomerular filtration rate, urine and blood properties and plasma catecholamines of carp exposed to hypoxic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.* **103 A**(2): 259-267.
- Karnaky, K.J. (1980):  
Ion-secreting epithelia: Chloride cells in the head region of *Fundulus heteroclitus*. *Am. J. Physiol.*, **238**: 185-198.
- Kerstetter, T.H., Kischner L.B., & Rafuse, D. (1970):  
On the mechanisms of sodium ion transport by the irrigated gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Gen. Physiol.* **56**: 342-359.
- Kerstetter, T.H., & Kirschner, L.B. (1972):  
Active chloride transport by the gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. exp. Biol* **56**: 263-272.
- Kinkead, R., & Perry, S.F. (1991):  
The effects of catecholamines on ventilation in rainbow trout during hypoxia or hypercapnia. *Respir. Physiol.* **84**: 77-92.
- Kormanik, G.A., & Evans, D.H. (1979):  
 $\text{HCO}_3^-$ -stimulated  $\text{Cl}^-$  efflux in the gulf toadfish acclimated to sea-water. *J. exp. Zool.* **208**: 13-16.
- Kreutzmann, H.-L., & Sordyl, H. (1985):  
The influence of exposure time and pH-value of the water on the effects of a sublethal  $\text{NH}_3$  stress on the blood parameter of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Zool. Jb. Physiol.* **89**: 427-439.
- Lacy, E.R. (1983):  
Histochemical and biochemical studies of carbonic anhydrase activity in the opercular epithelium of the euryhaline teleost, *Fundulus heteroclitus*. *Am. J. Anat.* **166**: 19-39.
- Laurent, P., & Perry, S.F. (1991):  
Environmental effects on fish gill morphology. *Physiol. Zool.* **64**(1): 4-25.
- Laurent, P., Goss, G.G., & Perry, S.F. (1994):  
Proton pumps in fish gill pavement cells. *Archs. int. Physiol. Biochem. Biophys.*,

**102**: 77-79.

Leivestad, H., & Muniz, I. (1976):

Fish kills at low pH in a Norwegian river. *Nature, Lond.* **259**: 391-392.

Le Moigne, J., Soulier, P., Peyraud-Waitzenegger, M., & Peyraud, C. (1986):

Cutaneous and gill O<sub>2</sub> uptake in the european eel (*Anguilla anguilla* L.) in relation to ambient P<sub>O</sub><sub>2</sub>, 10 - 400 Torr. *Respir. Physiol.* **66**: 341-354.

Liebmann, H. (1960):

Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie, Bd. 2. Gustav Fischer Verlag Jena.

Lin, H., & Randall, D. (1990):

The effect of varying water pH on the acidification of expired water in rainbow trout. *J. exp. Biol.* **149**: 149-160.

Lin, H., & Randall, D. (1991):

Evidence for the presence of an electrogenic proton pump on the trout gill epithelium. *J. exp. Biol.* **161**: 119-134.

Lin, H., Pfeiffer, D.C., Vogl, A.W., Pan, J., & Randall, D.J. (1994):

Immunolocalisation of H<sup>+</sup>-ATPase in the gill epithelia of rainbow trout. *J. exp. Biol.* **195**: 169-183.

- Lomholt, J.P., & Johansen K. (1979):  
Hypoxia acclimation in carp - how it affects O<sub>2</sub> uptake, ventilation, and O<sub>2</sub> extraction from water. *Physiol. Zool.* **52**(1): 38-49.
- Maetz, J. (1972):  
Branchial sodium exchange and ammonia excretion in the goldfish *Carassius auratus*. Effects of ammonia loading and temperature changes. *J. exp. Biol.* **56**: 601-620.
- Maetz, J. (1973):  
Na<sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanges and NH<sub>3</sub> movement across the gills of *Carassius auratus*. *J. exp. Biol.* **58**: 255-275.
- Maetz, J., & Garcia-Romeu, F. (1964):  
The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh water fish, *Carassius auratus*. II. Evidence for NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> exchanges. *J. Gen. Physiol.* **47**: 1209-1227.
- Mallery, C.H. (1983):  
A carrier, enzyme basis for ammonium excretion in teleost gill, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-stimulated Na-dependent ATPase activity in *Opsanus beta*. *Comp. Biochem. Physiol.* **74**: 889-897.
- Martilla, O.N.T., & Nikinmaa, M. (1988):  
Binding of β-adrenergic antagonists <sup>3</sup>H-CGP 12177 to intact rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and carp (*Cyprinus carpio*) red blood cells. *Gen. Comp. Endocrinol.* **70**: 429-435.
- Mazeaud, M. (1964):  
Influence de divers facteurs sur l'adrenalinémie et la noradrenalinémie de la carpe. *C.v. Séanc. Soc. Bio.* **158**: 2018-2020.
- Mazeaud, M.M., & Mazeaud, F. (1981):  
Adrenergic response to stress in fish. In: *Stress and fish*. (A.D. Pickering, ed.), London and New York: Academic Press: 49-75.

- Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., & Donaldson, E.M. (1977):  
Primary and secondary effects of stress in fish: Some new data with a general review. *Trans. Am. Fish. Soc.* Vol. **106**(3): 201-212.
- Mc Donald, D.G., & Wood, C.M. (1981):  
Branchial and renal acid and ion fluxes in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, at low environmental pH. *J. exp. Biol.* **93**: 101-118.
- Mc Koewn, B.A., Geen, G.H., Watson, I.A., Powell, J.F., & Parker, D.B. (1985):  
The effect of pH on plasma electrolytes, carbonic anhydrase and ATP-ase activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and largescale suckers (*Catostomus macrocheilus*). *Comp. Biochem. Physiol.* **80 A**(4): 507-514.
- Milligan, C.L., & Wood, C.M. (1987):  
Regulation of blood oxygen transport and red cell pH<sub>i</sub> after exhaustive activity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and starry flounder (*Platichthys stellatus*). *J. exp. Biol.* **133**: 263-282.
- Morgan, I.J., Potts, W.T.W., & Oates, K. (1994):  
Intracellular ion concentrations in gill epithelial cells of brown trout (*Salmo trutta* L.) determined by X-ray microanalysis. *J. exp. Biol.* **194**: 139-151.
- Nakano, T., & Tomlinson, K. (1967):  
Catecholamine and carbohydrate concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in relation to physical disturbance. *J. Fish. Res. Board Can.* **24**: 1701-1715.
- Neville, C.M. (1979a):  
Sublethal effects of environmental acidification on rainbow trout (*Salmo gairdneri*): *J. Fish. Res. B. Can.*, **36**(1): 84-87
- Neville, C.M. (1979b):  
Influence of mild hypercapnia on the effects of environmental acidification on rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. exp. Biol.* **83**: 345-349.

Neville, C.M. (1979c):

Ventilatory response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased H<sup>+</sup> ion concentration in blood and water. *Comp. Biochem. Physiol.* **63A**: 373-376.

Nikinmaa, M. (1983):

Adrenergic regulation of haemoglobin oxygen affinity in rainbow trout red cells. *J. Comp. Physiol.* **152**: 67-72.

Nikinmaa, M., & Jenssen, F.B. (1986):

Blood oxygen transport and acid-base status of stressed trout (*Salmo gairdneri*): Pre- and postbranchial values in winter fish. *Com. Biochem. Physiol.* **84A**: 391-396.

Nikinmaa, M., Steffensen, J.F., Tufts, B.L., & Randall, D.J. (1987 a):

Control of red cell volume and pH in trout: Effects of isoproterenol, transport inhibitors, and extracellular pH in bicarbonate/carbon dioxide-buffered media. *J. exp. Zool.* **242**: 273-281.

Nikinmaa, M., Cech J.v., J.J., Ryhänen, E.L., & Salama, A. (1987 b):

Red cell function in carp (*Cyprinus carpio*) in acute hypoxia. *Exp. Biol.* **47**: 53-58.

Nikinmaa, M., & Tufts, B.L. (1989):

Regulation of acid and ion transfer across the membrane of nucleated erythrocytes. *Can. J. Zool.* **67**: 3039-3045.

Nilson, S., Abrahamsson, T., & Grove, D.J. (1976):

Sympathetic nervous control of adrenaline release from the head kidney of the cod, *Gadus morhua*. *Comp. Biochem. Physiol.* **55C**: 123-127.

Ogata, H. (1985):

Post-feeding changes in distribution of free amino acids and ammonia in plasma and erythrocytes of carp. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* **51**: 1705-1711.

Ogata, H., & Murai, T. (1987):

Effects of ammonium chloride administration on ammonia and free amino acid levels in erythrocytes and plasma of carp. *Nippon Suisan Gakkaishi* **53**: 1257-1260.

Ogata, H., & Murai, T. (1988):

Changes in ammonia and amino acid levels in the erythrocytes and plasma of carp, *Cyprinus carpio*, during passage through the gills. *J. Fish. Biol.* **33**: 471-479.

Packer, R., & Dunson, W. (1970):

Effects of low environmental pH on blood pH and sodium balance of brook trout. *J. exp. Zool.* **174**: 65-72.

Packer, R., & Dunson, W. (1972):

Anoxia and sodium loss associated with the death of brook trout at low pH.

Comp. Biochem. Physiol. **41A**: 17-26.

Payan, P. (1978):

A study of the  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  exchange across the gill of the perfused head of the trout (*Salmo gairdneri*). J. Comp. Physiol. **124**: 181-188.

Perry, S.F. (1986):

Carbon dioxide excretion in fishes. Can. J. Zool. **64**: 565-572.

Perry, S.F., & Randall, D.J. (1981):

Effects of amiloride and SITS on branchial ion fluxes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. exp. Zool. **215**: 225-228.

Perry, S.F., & Kinkead, R. (1989):

The role of catecholamines in regulating arterial oxygen content during acute hypercapnic acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Respir. Physiol. **77**: 365-378.

Perry, S.F., & Laurent, P. (1990):

The role of carbonic anhydrase in carbon dioxide excretion, acid-base balance and ionic regulation in aquatic gill breathers. In: Animal Nutrition and Transport Processes. 2. Transport, Respiration and Excretion. J.P. Truchot and B. Lahlou, eds. Karger, Basel, Comp. Physiol. **6**: 39-57.

- Perry, S.F., & Reid, S.D. (1992):  
Relationship between blood O<sub>2</sub> content and catecholamine levels during hypoxia in rainbow trout and american eel. *Am.J. Physiol.*, **263** R: 240-249.
- Perry, S.F., Haswell, M.S., Randall, D.J., & Farrell, A.P. (1981):  
Branchial ionic uptake and acid-base regulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. exp. Biol.* **92**: 289-303.
- Perry, S.F., Davie, P.S., Daxboeck, C., & Randall, D.J. (1982):  
A comparison of CO<sub>2</sub> excretion in a spontaneously ventilating blood-perfused trout preparation and saline-perfused gill preparations: Contribution of the branchial epithelium and red blood cell. *J. exp. Biol.* **101**: 47-60.
- Perry, S.F., Payan, P., & Girard, P. (1984):  
Effects of perfusate HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and pCO<sub>2</sub> on chloride uptake in perfused gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish Aquat. Sci.* **12**: 1768-1773.
- Perry, S.F., Malone, S., & Ewing, D. (1987 a):  
Hypercapnic acidosis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I Branchial ionic fluxes and blood acid-base status. *Can. J. Zool.* **65**: 888-895.
- Perry, S.F., Malone, S., & Ewing, D. (1987 b):  
Hypercapnic acidosis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). II Renal ionic fluxes. *Can. J. Zool.* **65**: 896-902.
- Perry, S.F., Kinkead, R., Gallagher, P., & Randall, D.J. (1989):  
Evidence that hypoxemia promotes catecholamine release during hypercapnic acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Respir. Physiol.* **77**: 351-364.
- Perry, S.F., Fritsche, R., Kinkead, R., & Nilsson, S. (1991):  
Control of catecholamine release in vivo and in situ in the Atlantic cod (*Gadus morhua*) during hypoxia. *J. exp. Biol.* **155**: 549-566.
- Perry, S.F., Goss, G.G., & Laurent, P. (1992):  
The interrelationships between gill chloride cell morphology and ionic uptake in four freshwater teleosts. *Can. J. Zool.* **70**: 1775-1786.
- Peyrand-Waitzenegger, M., & Soulier, P. (1989):  
Ventilatory and circulatory adjustments in the European eel (*Anguilla anguilla* L.) exposed to short-term hypoxia. *Exp. Biol.* **48**: 107-122.
- Primmatt, D.R.N., Randall, D.J., Mazeaud, M., & Boutilier, R.G. (1986):  
The role of catecholamines in erythrocytic pH regulation and oxygen transport in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during exercise. *J. exp. Biol.* **122**: 139-148.
- Raaij, M. T. M. van, Thillart, Geejm van den, Hallemeesch, M., Balm, P. H. M., & Steffens, A. B. (1995):  
Effects of arterially infused catecholamines and insulin on plasma glucose and

- free fatty acids in carp. *Am. J. Physiol.* **268**: R1163-R1170.
- Raaij, M. T. M. van, Thillart, Geejm van den, Vianen, G. J., Pit, D. S. S., Balm, P. H. M., & Steffens, A. B. (1996):  
Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, L.) and common carp (*Cyprinus carpio*, L.) during deep hypoxia and subsequent recovery. *J. Comp. Physiol. B, Biochemical, Systemic and Environmental Physiology* **166**(7): 443-452.
- Rahim, S.M., Delauney, J., & Laurent, P. (1988):  
Identification and immunocytochemical localization of two different carbonic anhydrase isoenzymes in teleostean fish erythrocytes and gill epithelia. *Histochemistry* **89**: 451-459.
- Randall, D.J. (1988):  
The interaction between carbon dioxide and ammonia excretion and water pH in fish. *Can. J. Zool.* **67**: 2939-2942.
- Randall, D.J. (1990):  
Control and co-ordination of gas exchange in water breathers. In: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, ed. R.G. Boutelier. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 1990: 253-278.
- Randall, D.J., & Wright, P.A. (1989):  
The interaction between carbon dioxide and ammonia excretion and water pH in fish. *Can. J. Zool.* **67**: 2936-2942.
- Randall, D.J., Lin, H., & Wright, P.A. (1991):  
Gill water flow and the chemistry of the boundary layer. *Physiol. Zool.* **64**: 26-38.
- Reid, S.G., & Perry, S.F. (1994)  
Storage and differential release of catecholamines in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and american eel (*Anguilla rostrata*). *Physiol. Zool.* **67**(1): 216-237.
- Riggs, A. (1979):  
Studies of the hemoglobins of Amazonian fishes: an overview. *Comp. Biochem. Physiol.* **62A**: 257-271.
- Ristori, M.T., & Laurent, P. (1985):  
Plasma catecholamines and glucose during moderate exercise in the trout: comparisons with bursts of violent activity. *Exp. Biol.* **44**: 247-253.
- Romano, L., & Passow, H. (1984):  
Characterization of anion transport system in trout red blood cell. *Am. J. Physiol.*, **246**: C 330-C 338.
- Salama, A. (1992):  
The  $\beta$ -adrenergic response of teleost red blood cells - intra- and interspecific

differences in its occurrence and magnitude. Academic Dissertation, University of Helsinki, Finland.

Salama, A., & Nikinmaa, M. (1988):

The adrenergic responses of carp (*Cyprinus carpio*) red cells: Effects of PO<sub>2</sub> and pH. *J. exp. Biol.* **136**: 405-416.

Salama, A., & Nikinmaa, M. (1989):

Species differences in the adrenergic responses of fish red cells: studies on whitefish, pikeperch, trout and carp. *Fish Physiol. Biochem.* vol **6**(3): 167-173.

Saunders, R.L. (1962):

The irrigation of the gills in fishes. II. Efficiency of oxygen uptake in relation to respiratory flow activity and concentrations of oxygen and carbon dioxide. *Can. J. Zool.* **40**: 817-862.

Schäperclaus, W. (1926):

Karpfenerkrankungen durch saures Wasser in Heide- und Moorgegenden. *Z. Fischerei* **24**: 493-520.

Schäperclaus, W. (1979):

Fischkrankheiten. Akademie-Verlag, Berlin.

Schäperclaus, W. (1990):

Fischkrankheiten. Akademie-Verlag, Berlin.

Schiemenz, F. (1937):

Saures Wasser in säuregefährdeten Teichwirtschaften. Erkennen und erste Hilfe bei Sauerwasser in säuregefährdeten Teichwirtschaften. *Fischerei-Ztg.* **40**: 197-200.

Schindler, J. F., & de Vries, U. (1986):

Scanning cytophotometry of carp, *Cyprinus carpio* L., erythrocyte populations: the influence of short-term hypoxic environment and the recovery period following severe bleeding. *J. Fish. Biol.* **28**: 741-752.

Schreckenbach, K., & Spangenberg, R. (1978):

pH-Wert abhängige Ammoniakvergiftungen bei Fischen und Möglichkeiten ihrer Beeinflussung. *Z. Binnenfischerei DDR* **25**(10): 299-314.

Schreckenbach, K., Spangenberg, R., & Krug, S. (1975):

Die Ursache der Kiemennekrose. *Z. Binnenfischerei DDR* **22**(9): 257-288.

Soivio, A.; Nyholm, K., & Westman, K. (1975):

A technique for repeated sampling of the blood of individual resting fish. *J. exp. Biol.* **63**: 207-217.

Spannhoff, L., Wacke, R., & Oheim, U. (1985):

Investigations into factors affecting the blood ammoniac concentration in rainbow

trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Zool. Jb. Physiol. **89**: 137-155.

- Steffens, W. (1976):  
Zur NH<sub>3</sub>-Empfindlichkeit der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*). Z. Binnenfischerei DDR **23**(10): 315-319.
- Stekhoven, F.S., & Bonting, S.L. (1981):  
Transport adenosine triphosphatases: Properties and functions. *Physiol Rev.* **61**: 1-76.
- Sullivan, G.V., Fryer, J.N., & Perry, S.F. (1995):  
Immunolocalisation of proton pumps (H<sup>+</sup>-ATPase) in pavement cells of rainbow trout gill. *J. exp. Biol.* **198**: 2619-2629.
- Takeda, T. (1989):  
Cutaneous and gill O<sub>2</sub> uptake in the carp, *Cyprinus carpio*, as a function of ambient pO<sub>2</sub>. *Comp. Biochem. Physiol.*, **94A**: 205-208.
- Takeda, T. (1990):  
Cutaneous and gill O<sub>2</sub> uptake in the carp, *Cyprinus carpio*, as a function of metabolic rate. *Comp. Biochem. Physiol.* **94**: 425-427.
- Takeda, T. (1990):  
Ventilation, cardiac output and blood respiratory parameters in the carp, *Cyprinus carpio*, during hyperoxia. *Resp. Physiol.* **81**: 227-240.
- Takeda, T. (1991):  
Regulation of blood oxygenation during short-term hypercapnia in the carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **98A**(3/4): 517-521.
- Takeda, T. (1993 a):  
Effects of exercise-stress on ventilation, cardiac output and blood respiratory parameters in the carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **106A**(2): 277-283.
- Takeda, T. (1993 b):  
Effect of experimental ventilation, cardiac of the skin on cutaneous oxygen uptake in the carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **106A**(3): 547-550.

- Tang, Y., & Boutilier, R.G. (1988):  
Correlation between catecholamine release and degree of acidotic stress in trout. *Am. J. Physiol.* **255**: R395 -R399.
- Tang, Y., Nolan, S., & Boutilier, R.G. (1988):  
Acid-base regulation following acute acidosis in seawater-adapted rainbow trout, *Salmo gairdneri*: a possible role for catecholamines. *J. exp. Biol.* **134**: 297 - 312.
- Tetens, V., Lykkeboe, G., & Christensen, N.J. (1988):  
Potency of adrenaline and noradrenaline for  $\beta$ -adrenergic proton extrusion from red cells of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. exp. Biol.* **134**: 267-280.
- Thomas, S., & Motais, R. (1990):  
Acid-base balance and oxygen transport during acute hypoxia in fish. In: Truchot, J.P., Lahlou, B. (eds): *Animal nutrition and transport processes. 2. Transport, respiration and excretion: Comparative and environmental aspects.* *Comp. Physiol.* Basel, Karger, 1990, vol. **6**: 76-91.
- Thomas, S., & Perry, S.F. (1992):  
Control and consequences of adrenergic activation of red blood cell  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange on blood oxygen and carbon dioxide transport in fish. *J. exp. Zool.* **263**: 160-175.
- Thomas, S., Fievet, B., & Motais, R. (1986):  
Effect of deep hypoxia on acid-base balance in trout: role of ion transfer processes. *Am. J. Physiol.* **250**: R319-R327.
- Thomas, S., Kinkead, R., Walsh, P.J., Wood, C.M., & Perry, S.F. (1991):  
Desensitization of adrenaline-induced red blood cell  $\text{H}^+$  extrusion in vitro after chronic exposure of rainbow trout to moderate environmental hypoxia. *J. exp. Biol.* **156**: 233-248.
- Thomas, S., Perry, S.F., Permec, Y., & Maxime, V. (1992):  
Metabolic alkalosis and the response of the trout, *Salmo fario*, to acute severe hypoxia. *Respir. Physiol.* **87**: 91-104.

- Thurston, R.V., Chakoumakos, C., & Russo, R.C. (1981):  
Effect of fluctuating exposures on the acute toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cutthroat trout (*S. clarki*). *Water Research* **15**: 911-917.
- Toews, D.P., Holeton, G.F., & Heisler, N. (1983):  
Regulation of the acid-base status during environmental hypercapnia in the marine teleost fish *Conger conger*. *J. exp. Biol.* **107**: 9-20.
- Trussel, R.P. (1972).  
The present un-ionized ammonia in aqueous ammonia solutions at different pH levels and temperatures. *J. Fish. Res. Board Can.* **29**: 1005-1007.
- Ultsch, G.R., Ott, M.E., & Heisler, N. (1981):  
Acid-base and electrolyte status in carp (*Cyprinus carpio*) exposed to low environmental pH. *J. exp. Biol.* **93**: 65-80.
- Vooys, C.G.N. de (1968):  
Formation and excretion of ammonia in Teleostei. I. Excretion of ammonia through the gills. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **76**: 268-272.
- Wahlqvist, J. (1981):  
Branchial vascular effects of catecholamines released from the head kidney of the Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Mol. Physiol.* **1**: 235-241.
- Wahlqvist, J., & Nilsson, S. (1980):  
Adrenergic control of the cardio-vascular system of the Atlantic cod, *Gadus morhua*. during stress. *J. Comp. Physiol.* **137**: 145-150.
- Weber, R. E., & Lykkeboe, G. (1978):  
Respiratory adaptations in carp blood. Influences of Hypoxia, red cell organic phosphates, divalent cations and CO<sub>2</sub> on hemoglobin- oxygen affinity. *J. comp. Physiol.* **128**: 127-137.
- Wheatly, M.G. (1989):  
Physiological responses of the crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana) to environmental hyperoxia. I. Extracellular acid base and electrolyte status and trans-branchial exchange. *J. exp. Biol.* **143**: 33-51.
- Wheatly, M.G., Hobe, H., & Wood, C.M. (1984):  
The mechanisms of acid-base and ionoregulation in the freshwater rainbow trout during environmental hyperoxia and subsequent normoxia. II. The role of the kidney. *Respir. Physiol.* **55**: 155-173.
- Wilkie, M.P., Simmons, H.E., & Wood, C.M. (1996):  
Physiological adaptations of rainbow trout to chronically elevated water pH (pH = 9.5). *J. exp. Zool.* **274**: 1-14.
- Wilson, R.P., Anderson, R.O., & Bloomfield, R.A. (1969):  
Ammonia toxicity in selected fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* **28**: 107-118.

- Wilson, R.W., & Taylor, E.W. (1992):  
Transbranchial ammonia gradients and acid-base responses to high external ammonia concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) acclimated to different salinities. *J. exp. Biol.* **166**: 95-112.
- Wölm, M. (1988)  
Einfluß der Temperatur auf den Säure-Basen-Haushalt beim Karpfen (*Cyprinus carpio*). Berlin, Humboldt-Univ., Fachr. Veterinärmed., Diplomarbeit.
- Wood, C.M. (1988):  
Acid-base and ionic exchanges at gills and kidney after exhaustive exercise in the rainbow trout. *J. exp. Biol.* **136**: 461-481.
- Wood, C.M. (1991):  
Branchial ion and acid-base transfer in freshwater teleost fish: Environmental hyperoxia as a probe. *Physiol. Zool.* **64**(1): 68-102.
- Wood, C.M., & Caldwell, F.H. (1978):  
Renal regulation of acid-base balance in a freshwater fish. *J. exp. Biol.* **205**: 301-308.
- Wood, C.M., & Jackson, E.B. (1980):  
Blood acid-base regulation during environmental hyperoxia in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Respir. Physiol.* **42**: 351-372.
- Wood, C. M., & Le Moigne, J. (1991):  
Intracellular acid-base responses to environmental hyperoxia and normoxic recovery in rainbow trout. *Resp. Physiol.* **86**: 91-113.
- Wood, C.M., Wheatly, M.G., & Hobe, H. (1984):  
The mechanisms of acid-base and ionoregulation in the freshwater rainbow trout during environmental hyperoxia and subsequent normoxia. III. Branchial exchanges. *Respir. Physiol.* **55**: 175-192.
- Wright, P.A., & Wood, C.M. (1985):  
An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: effects of environmental pH change and sodium uptake blockade. *J. exp. Biol.* **114**: 329-353.
- Wright, P.A., Heming, T.A., & Randall, D.J. (1986):  
Downstream pH changes in water flowing over the gills of rainbow trout. *J. exp. Biol.* **126**: 499-512.
- Wright, P.A., Wood, C.M., & Randall, D.J. (1988):  
An in vitro and in vivo study of the distribution of ammonia between plasma and red cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. exp. Biol.* **134**: 423-428.
- Wright, P.A., Randall, D.J., & Perry, S.F. II (1989):  
Fish gill water boundary layer: a site of linkage between carbon dioxide and

- ammonia excretion. *J. Comp. Physiol.* **158**: 627-635.
- Yamamoto, K. (1991):  
Effects of formalin on gas exchange in the gills of carp *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **98C**(2/3): 463-465.
- Yamamoto, K., & Takeda, Y. (1989)  
Erythrocyte supply from the spleen of exercised carp. *Comp. Biochem. Physiol.* **92A**: 133-144.
- Yamamoto, K., & Ootubo, N. (1991):  
Relationship of spleen to body weight before and after contraction in the carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.* **99A**(3): 381-382.
- Yesaki, T.Y., & Iwama, G.K. (1992):  
Survival, acid-base regulation, ion regulation, and ammonia excretion in rainbow trout in highly alkaline hard water. *Physiol. Zool.* **65**(4): 763-787.
- Yokoyama, Y., Yoshikawa, H., Ueno, S., & Mitsuda, H. (1989):  
Application of CO<sub>2</sub>- anesthesia combined with low temperature for long-term anesthesia in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi* **55**(7): 1203-1209.
- Yoshikawa, H., Ishida, Y., Ueno, S., & Mitsuda, H. (1988):  
Changes in depth of anesthesia of the carp anesthetized with a constant level of CO<sub>2</sub>. *Nippon Suisan Gakkaishi* **54**(3): 457-462.
- Yoshikawa, H., Ishida, Y., Ueno, S., & Mitsuda, H. (1988 a):  
The use of sedating action of CO<sub>2</sub> for long-term anesthesia in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi* **54**(4): 545-551.
- Zachmann, A. (1989):  
Circadiane Rhythmik bei Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) unter Einfluß verschiedener Umweltfaktoren. Univ. Karlsruhe, Diss.

## Abkürzungen und Symbole

[ ] <sub>a, e, i, pl, v, w</sub>	Konzentrationsangaben im entsprechenden Kompartiment (arterielles Blut, extrazellulärer Raum, intrazellulärer Raum, Plasma des Blutes, venöses Blut, Wasser)
BE	base excess, Basenüberschuß
Ca.	Carboanhydrase
Erythr.	Erythrozyten
EZR	Extrazellularraum
Hb	Hämoglobin
Hk	Hämatokrit
IZR	Intrazellularraum
MCHC	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
[NH <sub>3</sub> + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ]	Gesamtammoniakkonzentration
Noradr.	Noradrenalin
P <sub>a, e, i, v, w...</sub>	Partialdruck im entsprechenden Kompartiment
pH <sub>a, e, i, pl, v, w</sub>	pH-Wert im entsprechenden Kompartiment
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
pNH <sub>3</sub>	Ammoniakpartialdruck
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck

Weitere Abkürzungen werden im Text erklärt.

## Lebenslauf

Matthias Wölm, geboren am 28. September 1961 in Gardelegen

Eltern:	<u>Eva</u> Maria Wölm, geb. Rother, Lehrerin <u>Erwin</u> Erich Wölm, Lehrer
1968 - 1976	Polytechnische Oberschule in Gardelegen
1976 - 1980	Erweiterte Oberschule Geschwister Scholl in Gardelegen
1980	Abitur
1980 - 1983	Wehrdienst
1983 - 1988	Studium der Veterinärmedizin an der Humboldt-Universität zu Berlin
1988	Staatsexamen, Diplomarbeit am Institut für Physiologie der Fachrichtung Veterinärmedizin der Humboldt-Universität zu Berlin
1988 - 1990	Forschungsstudent am Institut für Physiologie
01.03. 1990	Approbation
1990 - 1993	wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Physiologie
1993 - 1997	wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Veterinär-Pathologie des FB Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
seit Dez. 1997	eigene Tierarztpraxis für Pathologie in Hamburg