

АНАЛИЗ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ КАПИЛЛЯРНОГО ОБМЕНА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ *CARASSIUS AURATUS* (L.)

Д. В. Гарина^{1,2}, А. Д. Феденева², А. С. Васильев¹,
И. Ю. Торопыгин^{1,3}, А. Э. Филиппова¹, А. М. Андреева^{1,*}

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н; e-mail: *aam@ibiw.ru

²Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова,
150003 г. Ярославль, ул. Советская, 14

³Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
119121 г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

Поступила в редакцию 10.03.2025

Исследовали закономерности капиллярного обмена (КО) белков сыворотки крови как фактора регуляции водного и осмотического гомеостаза в организме рыб на примере серебряного карася. Проведен анализ сезонной динамики барьерных свойств стенки капилляра мышечного типа к белку сыворотки крови с помощью коэффициента отражения общего белка от стенки капилляра (СК). Максимальные величины коэффициента рассчитаны для весенней выборки рыб, минимальные — для летней, промежуточного типа — для осенней. Такая динамика предполагает максимально выраженную барьерную функцию КС весной и осенью, и минимальную — летом в период подготовки к нересту. Причиной слабо выраженной барьерной функции СК летом является, вероятно, резкое нарастание в летний период концентрации общего белка в интерстиции рыб до уровня плазмы и выше. Данное обстоятельство не позволяет объяснить сезонную динамику КО белка плазмы рыб в свете классической гипотезы Старлинга, но вписывается в формат разработанной для рыб безальбуминовой модели КО, которая характеризует снижение барьерной функции СК как приспособление для выравнивания осмоляльностей жидкостей внутренней среды организма при подготовке рыб к нересту, который характеризуется высокой напряженностью всех обменных процессов.

Ключевые слова: серебряный карась, сыворотка крови, интерстициальная жидкость, капиллярный обмен белков, стенка капилляра мышечного типа.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-62-69

ВВЕДЕНИЕ

Капиллярный обмен (КО) белков плазмы крови лежит в основе водного обмена внутри организма у всех позвоночных животных. Общий вклад белков плазмы в осмотическое давление плазмы незначителен [Nguyen, Kurtz, 2006; Levick, Michel, 2010; Bulat, Klarica, 2014]. В то же время их роль в регуляции капиллярного потока жидкости, а значит, и в контроле осмотического гомеостаза в организме, оценивается как ключевая [Andreeva, 2020]. КО белков плазмы наземных позвоночных описывает обновленная модель Старлинга [Michel, 1997]. В этой группе животных стенка капилляра (СК) выполняет функцию барьера для белка плазмы, поэтому в интерстициальной жидкости (ИЖ) содержится небольшое количество белка плазмы, а в некоторых отделах капиллярной сети он отсутствует [Чернух и др., 1984 (Chernukh et al., 1984)]. Модель Старлинга объясняет поддержание осмотического гомеостаза в организме животных участием сил Старлинга для координации капиллярного потока жидкости, а именно, силы гидростатического давления, создаваемого работой сердца, и силы коллоидно-осмотического давления, создаваемого белками плазмы. Обилие белка в ИЖ рыб [Olson, 1992; Olson et al., 2003] противоречит

этому принципу, ставя под сомнение корректность использования данной модели для рыб. Разработанная специально для рыб “безальбуминовая” модель КО [Andreeva, 2020] исходит из защитной роли общего белка в ИЖ, предотвращающего осмотический шок при изменении условий среды (температура, соленость, pH), а также из факта отсутствия у большинства костистых рыб сывороточного альбумина, которому традиционно отводится роль ключевого осмотически активного фактора плазмы позвоночных.

В данной работе для характеристики КО белков и барьерной функции СК мы применили коэффициент отражения белка от СК. У высших позвоночных коэффициент отражения (Б) используется для характеристики барьерных свойств СК в отношении индивидуальных белков [Michel, 1997] и общего белка (ОБ) плазмы (сыворотки крови) [Olson, 2011]. Ранее мы использовали этот коэффициент для оценки капиллярного обмена ОБ сыворотки крови на примере дальневосточных красноперок рода *Tribolodon* [Andreeva et al., 2015]. В данной работе мы рассчитывали коэффициент отражения общего белка у серебряного карася с внесением

поправки на высокое содержание внутриклеточных белков в составе ИЖ.

Цель работы — анализ сезонной динамики концентрации общего белка в сыворотке крови и интерстициальной жидкости белых

мышц, коэффициента отражения общего белка от стенки капилляра мышечного типа и ее барьерной функции у серебряного карася *Carassius auratus* (L.) в свете безальбуминовой гипотезы капиллярного обмена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сведения об объекте исследования.

Работа выполнена на серебряных карасях *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), отловленных в Барском пруду пос. Борок Некоузского р-на Ярославской области в мае, июне, августе и

сентябре 2023 г. После отлова рыб измеряли, взвешивали, определяли пол, стадию зрелости половых продуктов [Сакун, Буцкая, 1968 (Sakun, Butskaya, 1968)] (табл. 1).

Таблица 1. Морфометрические показатели карасей из разных выборок

Table 1. Morphometric parameters of goldfishes from different samples

Выборка Sample	Количество, экз. Number, ind.	Масса, г Mass, g	Длина, см Length, sm	Пол, стадия зрелости гонад Sex, stage of gonadal maturity
Май May	6	27.0±5.1	11.8±0.6	4 самки (II–III), 1 самец (II), 1 самка (II)
Июнь June	10	31.1±2.6	12.7±0.4	6 самок (IV), 1 самка (II–III), 3 самки (III)
Сентябрь September	5	50.4±9.5	14.3±0.9	2 самки (II), 1 самка (II–III), 2 самки (III)

Отбор крови, получение образцов сыворотки крови и ИЖ белых мышц. Кровь отбирали после каудотомии из хвостовых сосудов рыб в пробирки Эппендорф, отстаивали ее в течение часа при комнатной температуре и затем в течение 3–4 часов при 4°C до образования сгустка. Отстоявшуюся сыворотку отбирали дозатором в пробирки, хранили до начала анализа при 4°C (не более 7 дней).

Образцы интерстициальной жидкости (ИЖ) белых мышц получали путем напитывания ею предварительно взвешенных полосок хроматографической бумаги Watmann 3MM (1x4 мм) [Andreeva et al., 2008]. Для этого справа от жаберной крышки рыбы удаляли чешуйный покров, тщательно вытирали поверхность бумажной салфеткой, после чего делали надрез кожи, осторожно, чтобы не задеть мышцы, приподнимали слой кожи, чтобы образовался так называемый «карман», в который вкладывали бумажки для напитывания ИЖ. Через 3–5 мин полоски помещали в микропробирки и хранили при +4°C.

Разделение белков сыворотки и ИЖ с помощью электрофореза. Белки сыворотки крови и ИЖ разделяли методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) [Галь и др., 1982], а также методом двухмерного градиентного электрофореза. Использовали электрофоретические камеры (Хеликон, Россия) на 10, 20 и 30 лунок, источник питания «Эльф-8» («ДНК-технология», Россия). Для приготовления разделяющего и концентрирующего ПААГ использовали трис-HCl буфер с рН

8.9 и 6.9 соответственно. В лунки, сформированные в концентрирующем геле, вносили 1.5 мкл сыворотки (6–8 мкг белка), разведенной таким же количеством 40%-ного раствора сахарозы для утяжеления образца. Полоски с ИЖ вносили в лунки пинцетом, осторожно прижимая их ко дну лунки. В качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин БСА (Serva, Germany), внесенный в количестве 3 мкг в отдельную лунку. БСА использовали как маркер для расчетов по определению концентрации общего белка в интерстициальной жидкости белых мышц в ПП ONE-Dscan (см. раздел ниже). После окончания электрофореза гель фиксировали в 7%-ной трихлоруксусной кислоте в течение 35–40 мин, после чего окрашивали 0.01%-ным раствором Coomassie R-250, приготовленным на смеси этанол-уксусная кислота-вода в соотношении 10:1:30.

Определение концентрации общего белка в сыворотке крови. Содержание общего водорастворимого белка в сыворотке крови рыб определяли микробиуретовым методом [Itzhaki, Gill, 1964].

Определение концентрации общего белка в ИЖ белых мышц. В программе ONE-Dscan, Ver 1.31 (Scanalytic Inc.) рассчитывали площади пиков денситограмм маркерного белка БСА ($S_{\text{БСА}}$) и образца интерстициальной жидкости мышц ($S_{\text{ИЖ}}$). Учитывая известное количество внесенного в лунку БСА (3 мкг), по пропорции рассчитывали количество внесенного в лунку общего белка ИЖ. По разности веса напитанной подложки и подложки без ИЖ

(Δ) определяли массу самой ИЖ и ее объем. Плотность (ρ) ИЖ мышц условно считали равной 1.0, учитывая ее значение у рыб (1.05), определенное Ольсоном К. [Olson, 1992]. Объем рассчитывали по формуле:

$$V_{\text{ИЖ}} = m_{\text{ИЖ}} / \rho_{\text{ИЖ}},$$

где $V_{\text{ИЖ}}$ — объем ИЖ, $m_{\text{ИЖ}}$ — масса ИЖ, $\rho_{\text{ИЖ}}$ — плотность ИЖ.

Расчет коэффициента отражения белков от стенки капилляра. Для оценки КО общего сывороточного белка рыб использовали расчетную формулу коэффициента отражения B для индивидуальных белков [Michel, Phillips, 1985]. Адаптированный для ОБ коэффициент ($B/$) [Andreeva et al., 2015] рассчитывали по формуле:

$$B/ = (C_{\text{СК}} - C_{\text{ИЖ}}) / C_{\text{СК}},$$

где $C_{\text{СК}}$ и $C_{\text{ИЖ}}$ — концентрации общего белка в сыворотке крови и ИЖ соответственно.

Наличие в ИЖ карася значительного количества внутриклеточного белка парвальбумина (Parv) потребовало внести еще одну поправку в коэффициент отражения. Parv не имеет отношения к КО белка сыворотки и вносит помехи в интерпретацию барьерной функции капиллярной стенки в отношении белка плазмы, так как попадает в ИЖ при

деградации мышечных волокон. Величину коэффициента отражения с поправкой на парвальбумин (B^*) рассчитывали по формуле:

$$B^* = [C_{\text{СК}} - (C_{\text{ИЖ}} - C_{\text{Parv}})] / C_{\text{СК}}$$

Идентификация белков с помощью масс-спектрометрии MALDI. Белки идентифицировали с помощью MALDI [Andreeva et al., 2019]. Масс-спектры (ms) получали на тандемном MALDI-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex II BRUKER (Германия), оснащенный УФ лазером (Nd) в режиме положительных ионов в линейной моде, с использованием рефлектрона и в тандемном режиме. Масс-спектры обрабатывали с помощью программного пакета Alex Analysis 2.4 (Bruker Daltonics, Германия). При помощи программы Mascot (опция “пептидный фингерпринт”, www.matrixscience.com) проводили поиск в базе данных NCBI среди белков всех организмов. Белки-кандидаты, имеющие параметр достоверности score > 83 в базе данных NCBI, считали определенными надежно ($p < 0.05$). При необходимости получали спектры фрагментации ms/ms отдельных пептидов в тандемном режиме. С использованием программного обеспечения Biotoools 3.0 (Bruker Daltonics, Германия) проводили поиск по ms/ms.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Электрофоретическое разделение белков сыворотки крови и интерстициальной жидкости. Электрофореграммы сыворотки крови и интерстициальной жидкости мышц в период с мая по сентябрь представлены на рис. 1.

2. Идентификация и расчет относительного содержания парвальбумина в ИЖ. В ИЖ мышц, в отличие от сыворотки крови, появляются два белка с высоким относительным содержанием (рис. 1). Поскольку ИЖ является фильтратом плазмы крови, то состав ее белков идентичен таковому плазмы. Однако с помощью MALDI было показано, что эти два доминантных белка ИЖ являются изоформами внутриклеточного белка парвальбумина в виде его тримера и тетрамера с молекулярными массами $M_r \sim 36$ и ~ 50 kDa соответственно: parvalbumin 2 [*C. auratus*], AET79255.2, M_r 11648, score 114]. Кроме этих изоформ, в ИЖ обнаружены незначительные количества димеров Parv ($M_r \sim 20$ –30 kDa). На рис. 2 димеры, тримеры и тетрамеры парвальбумина обозначены как Parv2, Parv3, Parv4 соответственно. Суммарное относительное содержание всех изоформ парвальбумина в ИЖ составило 59% (май), 50% (июнь) и 40% (сентябрь) общего белка ИЖ.

3. Сезонная динамика коэффициента отражения общего белка с учетом содержания парвальбумина в интерстициальной жидкости белых мышц. Полученные данные по величинам концентрации общего белка в сыворотке крови и ИЖ, и по расчетным величинам коэффициента отражения ($B/$, B^*) карасей представлены в таблице 2.

Представленные в таблице сезонные показатели концентрации ОБ и в сыворотке и в ИЖ характеризуются минимальными величинами в весенний период, значительным приростом в летний период (в ИЖ отмечен 11-кратный прирост) и снижением (до промежуточных величин) осенью. Динамику концентрации ОБ в сыворотке крови можно представить в виде ряда “ 54 ± 2.9 (май) \rightarrow 64 ± 3.3 (июнь) \rightarrow 59 ± 7.6 (сентябрь)”;

в ИЖ “ 4.9 ± 0.5 (май) \rightarrow 56 ± 6.9 (июнь) \rightarrow 20 ± 2.2 (сентябрь)”. Те же тенденции прослеживаются и для величин коэффициентов отражения: $B/$ — “ 0.91 (май) \rightarrow 0.06 (июнь) \rightarrow 0.66 (сентябрь)”, B^* — “ 0.96 (май) \rightarrow 0.53 (июнь) \rightarrow 0.79 (сентябрь)”.

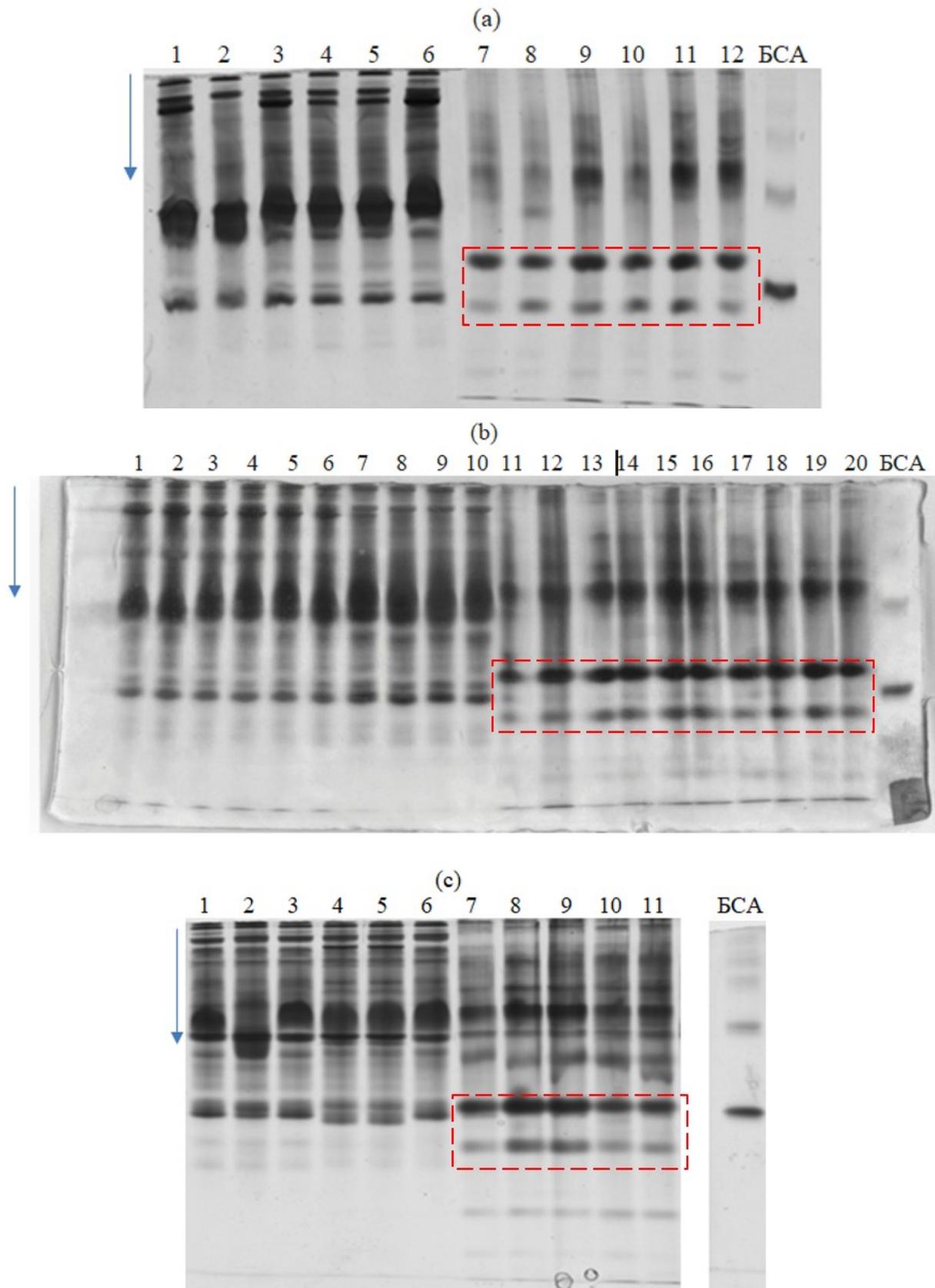


Рис. 1. Электрофорез сыворотки и интерстициальной жидкости карасей, пойманных в мае (а), июне (б) и сентябре (с): сыворотка крови — 1–6 (а), 1–10 (б), 1–2 (в), 1–6 (с); ИЖ — 7–12 (а), 11–20 (б), 7–11 (с). Пунктиром выделена область двух доминирующих белков ИЖ.

Fig. 1. Electrophoresis of serum and interstitial fluid of goldfishes caught in May (a), June (b) and September (c): blood serum — 1–6 (a), 1–10 (b), 1–2 (c), 1–6 (c); interstitial fluid — 7–12 (a), 11–20 (b), 7–11 (c). The dotted line highlights the region of two dominant IF proteins.

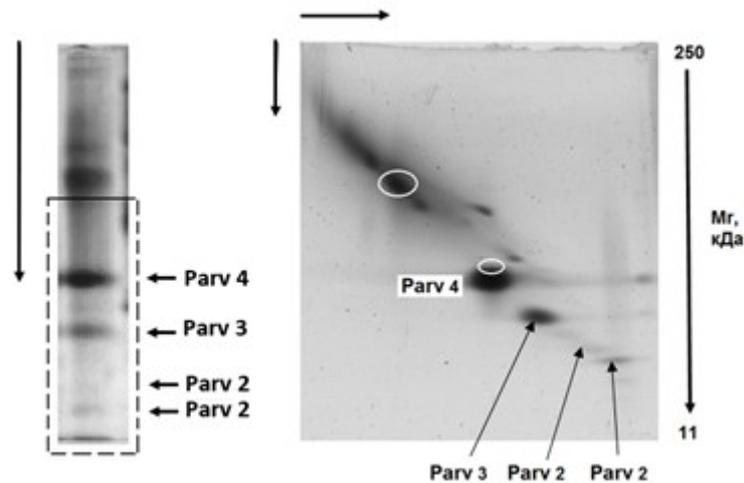


Рис. 2. Электрофорез интерстициальной жидкости белых мышц серебряного карася июньской выборки: слева диск-Е, справа — 2D-SDS-электрофорез. Справа от 2D-Е дана шкала молекулярных масс (от 250 до 11 кДа). Parv2, 3, 4 — изоформы парвальбумина: димер, тример и тетрамер соответственно.

Fig. 2. Electrophoresis of the interstitial fluid of the white muscles of the golffishes from the June sample: on the left is the disc-electrophoresis, on the right is the 2D-SDS-electrophoresis. To the right of 2D-E is the molecular mass scale (from 250 to 11 kDa). Parv2, 3, 4 are isoforms of parvalbumin: a dimer, trimer and tetramer, respectively.

Таблица 2. Сезонная динамика значения коэффициента отражения белка в период с весны по осень

Table 2. Seasonal dynamics of the protein reflectance coefficient value from spring to autumn

Сезон Season	Концентрация общего белка в сыворотке, мг/мл Total serum pro- tein concentra- tion, mg*ml ⁻¹	Концентрация общего белка в ин- терстициальной жидкости мг/мл Total protein concen- tration in interstitial fluid, mg*ml ⁻¹	Концентрация белка парвальбумина в ИЖ, мг/мл Parvalbumin protein con- centration in IL, mg*ml ⁻¹	Значение ко- эффициента отражения Б/ Reflectance coefficient value Б/	Значение коэффициента отражения Б* Reflectance coefficient value Б*
Май May	54±2.9	4.9±0.5	2.9±0.4	0.91	0.96
Июнь June	64±3.3	56±6.9	28±3.5	0.06	0.53
Сентябрь September	59±7.6	20±2.2	7.8±1.3	0.66	0.79

ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружение в диск-электрофорезе интерстициальной жидкости доминантных пятен парвальбумина внесло существенные коррективы в расчет коэффициентов отражения, дающих представление о барьерной функции капиллярной стенки в отношении белков. Обилие внутриклеточного белка парвальбумина в интерстиции рыб не находит объяснения в модели капиллярного обмена Старлинга, но интерпретируется как “норма” в свете “безальбуминовой” модели [Andreeva, 2020]. Последняя учитывает природу рыб как низших водных позвоночных, чья сердечно-сосудистая система не нуждается в антигравитационных приспособлениях для поднятия давления крови (а значит, и в высоком коэффициенте отражения), и к тому же не имеет настоящей лимфатической

системы для эффективного отвода белка из межклеточного пространства.

Общая тенденция сезонной динамики коэффициента отражения — без поправки на обилие парвальбумина и с поправкой, — не меняется: максимальная барьерная функция капиллярной стенки в отношении общего белка имеет место в мае; в июне происходит ее снижение, а в сентябре увеличение. Однако, с учетом особо высокого прироста концентрации парвальбумина в ИЖ в июне, общая кривая динамики коэффициента отражения с поправкой выглядит более сглажено и не интерпретируется как обрушение барьерной функции стенки в период нереста.

Именно в этот период (июнь, нерест) обменные процессы характеризуются особой напряженностью. В сыворотке концентрация белка нарастает на 14%, а в ИЖ в 11 раз. Возрастание концентрации общего белка в плазме объясняется активацией его синтеза в печени перед нерестом. Ранее мы описали, что в этот период происходит “сброс” избыточного белка плазмы в интерстиций, в связи с осмотическими ограничениями по допустимому уровню общего белка во внутрисосудистом пространстве [Andreeva et al., 2019]. В настоящем исследовании мы показали, что прирост общего белка в ИЖ происходит не столько за счет такого “сброса” белка (из плазмы через стенку капилляра в интерстиций), сколько за счет парвальбумина. Последний попадает в ИЖ, предположительно, при разрыве мышечных волокон, вследствие интенсификации этого процесса в июне, концентрация парвальбумина в ИЖ увеличивается по сравнению с маем в 9 раз.

В свете безальбуминовой модели КО “сброс” общего белка из плазмы в интерстиций предохраняет рыб от оводнения плазмы и сбоев

в работе сердечно-сосудистой системы; а снижение барьерной функции капиллярной стенки в период наиболее активного белкового синтеза и накопление белка в ИЖ можно охарактеризовать как приспособление для выравнивания осмотических условий жидкой внутренней среды организма у рыб как низших водных позвоночных. Более тонкое выравнивание осмоляльностей плазмы и ИЖ, вероятно, корректируется за счет механизма ассоциации-диссоциации белков по обе стороны капиллярной стенки [Andreeva et al., 2019].

Перекрытие величин рассчитанных нами показателей коэффициентов B^* (0.63–0.96) с коэффициентами отражения индивидуальных белков B (например, альбумина) у человека и собаки (~0.9) [Perl, 1975], вероятно, отражает общие черты капиллярного обмена белков всех позвоночных животных. Только у рыб этот коэффициент характеризует в значительной степени более медленную работу сердца и скорости потока крови, а также отсутствие эффективного отведения белка из интерстициального пространства [Koltowska et al., 2013].

ВЫВОДЫ

1. Динамика концентрации общего белка в сыворотке крови и в ИЖ белых мышц характеризуется минимальными показателями в мае и максимальными в июне, в преднерестовый период.

2. В составе интерстициальной жидкости белых мышц серебряного карася обнаружены высокие концентрации внутриклеточного белка парвальбумина, максимальная концентрация которого достигается в июне, в канун нереста.

3. Максимальные показатели коэффициента отражения общего белка сыворотки крови серебряного карася (в мае) перекрывается с индивидуальными коэффициентами отражения у модельных видов млекопитающих, что указывает на общие черты КО всех позвоночных.

4. Снижение коэффициента отражения у карася в период подготовки к нересту указывает на снижение барьерных свойств капиллярной стенки в этот период годового цикла. В свете безальбуминовой модели такое ослабление барьерной функции характеризуется как приспособление для снижения риска нежелательных осмотических эффектов (возможных при высокой концентрации белка в плазме), что достигается “сбросом” избыточного белка плазмы в интерстиций. Высокие концентрации белка в интерстиции выполняют защитную функцию, направленную на выравнивание осмоляльностей жидкостей внутренней среды организма рыб.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания №124032500015-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гааль Э., Медьеша Г., Верещкеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. М.: Мир, 1982. 448 с.
- Саун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадий зрелости и изучения половых циклов рыб. М.: Рыбное хозяйство, 1968. С. 36.
- Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция. М.: Медицина, 1984. С. 432.
- Andreeva A.M. Structural organization of plasma proteins as a factor of capillary filtration in Pisces (review) // Inland Water Biol. 2020. Vol. 13. P. 664–673. DOI: 10.1134/S1995082920060036.
- Andreeva A.M., Lamash N.E., Serebryakova M.V., Ryabtseva I.P. Seasonal dynamics in capillary filtration of plasma proteins in eastern redbfins of the genus *Tribolodon* (Cyprinidae) // J. Ichthyol. 2015. Vol. 55. P. 723–733. DOI: 10.1134/S003294521505001X.

- Andreeva A.M., Ryabtseva I.P., Bol'shakov V.V. Analysis of permeability of capillaries of various parts of the microcirculatory system to plasma proteins in some representatives of bony fish // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2008. Vol. 44, № 2. P. 251–253. DOI: 10.1134/S002209300802014X.
- Andreeva A.M., Vasiliev A.S., Toropygin I.Y. et al. Involvement of apolipoprotein A in maintaining tissue fluid balance in goldfish *Carassius auratus* // *Fish Physiol. Biochem.* 2019. Vol. 45. P. 1717–1730. DOI: 10.1007/s10695-019-00662-1.
- Bulat M., Klarica M. Fluid filtration and reabsorption across microvascular walls: control by oncotic or osmotic pressure? (secondary publication) // *Croatian Medical J.* 2014. Vol. 55. P. 291–298.
- Itzhaki R.F., Gill D.M. A microbiuret method for estimating proteins // *Anal. Biochem.* 1964. Vol. 9. P. 401–410.
- Koltowska K., Betterman K.L., Harvey N.L., Hogan B.M. Getting out and about: the emergence and morphogenesis of the vertebrate lymphatic vasculature // *Development.* 2013. Vol. 140. P. 1857–1870. DOI: 10.1242/dev.089565.
- Levick J., Michel C. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle // *Cardiovasc. Res.* 2010. Vol. 87. P. 198–210. DOI: 10.1093/cvr/cvq062.
- Michel C.C. Starling: The formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years // *Exp. Physiol.* 1997. Vol. 82. P. 1–30. DOI: 10.1113/expphysiol.1997.sp004000.
- Michel C.C., Phillips M.E. Steady-state fluid filtration at different capillary pressures in perfused frog mesenteric capillaries // *J. Physiol.* 1987. Vol. 388. P. 421–435. DOI: 10.1113/jphysiol.1987.sp016622.
- Nguyen M.K., Kurtz I. Quantitative interrelationship between Gibbs-Donnan equilibrium, osmolality of body fluid compartments, and plasma water sodium concentration // *J. Appl. Physiol.* 2006. Vol. 100. P. 1293–1300. DOI: 10.1152/jappphysiol.01274.2005.
- Olson K.R. Blood and extracellular fluid volume regulation: role of the renin-angiotensin system, kallikrein-kinin system, and atrial natriuretic peptides // *Fish Physiol.* 1992. Vol. 12. Part B. P. 135–254. DOI: 10.1016/S1546-5098(08)60010-2.
- Olson K.R. Design and physiology of capillaries and secondary circulation. Circulatory Fluid Balance and Transcapillary Exchange // *Encyclopedia of Fish Physiology.* 2011. P. 1154–1160.
- Olson K.R., Kinney D.W., Dombkowski R.A., Duff D.W. Transvascular and intravascular fluid transport in the rainbow trout: Revisiting Starling's forces, the secondary circulation and interstitial compliance // *J. Exp. Biol.* 2003. Vol. 206. P. 457–467. DOI: 10.1242/jeb.00123.
- Perl W. Convection and permeation of albumin between plasma and interstitium // *Microvascular Res.* 1975. Vol. 10. P. 83–94. DOI: 10.1016/0026-2862(75)90022-9.

REFERENCES

- Andreeva A.M. Structural organization of plasma proteins as a factor of capillary filtration in Pisces (review). *Inland Water Biol.*, 2020, vol. 13, pp. 664–673. doi: 10.1134/S1995082920060036.
- Andreeva A.M., Lamash N.E., Serebryakova M.V., Ryabtseva I.P. Seasonal dynamics in capillary filtration of plasma proteins in eastern redbfins of the genus *Tribolodon* (Cyprinidae). *J. Ichthyol.*, 2015, vol. 55, pp. 723–733. doi: 10.1134/S003294521505001X.
- Andreeva A.M., Ryabtseva I.P., Bol'shakov V.V. Analysis of permeability of capillaries of various parts of the microcirculatory system to plasma proteins in some representatives of bony fish. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, 2008, vol. 44, no. 2, pp. 251–253. doi: 10.1134/S002209300802014X.
- Andreeva A.M., Vasiliev A.S., Toropygin I.Y. et al. Involvement of apolipoprotein A in maintaining tissue fluid balance in goldfish *Carassius auratus*. *Fish Physiol. Biochem.*, 2019, vol. 45, pp. 1717–1730. doi: 10.1007/s10695-019-00662-1.
- Bulat M., Klarica M. Fluid filtration and reabsorption across microvascular walls: control by oncotic or osmotic pressure? (secondary publication). *Croatian Medical J.*, 2014, vol. 55, pp. 291–298.
- Chernuh A.M., Aleksandrov P.N., Alekseev O.V. Mikrocirkulyaciya [Microcirculation]. Moscow, Meditsina, 1984. 432 p. (In Russian)
- Gaal' E., Med'eshi G., Verecke L. Elektroforez v razdelenii biologicheskikh makromolekul [Electrophoresis in the Separation of Biological Macromolecules]. Moscow, Mir, 1982. 448 p. (In Russian)
- Itzhaki R.F., Gill D.M. A microbiuret method for estimating proteins. *Anal. Biochem.*, 1964, vol. 9, pp. 401–410.
- Koltowska K., Betterman K.L., Harvey N.L., Hogan B.M. Getting out and about: the emergence and morphogenesis of the vertebrate lymphatic vasculature. *Development*, 2013, vol. 140, pp. 1857–1870. doi: 10.1242/dev.089565.
- Levick J., Michel C. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc. Res.*, 2010, vol. 87, pp. 198–210. doi: 10.1093/cvr/cvq062.
- Michel C.C. Starling: The formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. *Exp. Physiol.*, 1997, vol. 82, pp. 1–30. doi: 10.1113/expphysiol.1997.sp004000.
- Michel C.C., Phillips M.E. Steady-state fluid filtration at different capillary pressures in perfused frog mesenteric capillaries. *J. Physiol.*, 1987, vol. 388, pp. 421–435. doi: 10.1113/jphysiol.1987.sp016622.
- Nguyen M.K., Kurtz I. Quantitative interrelationship between Gibbs-Donnan equilibrium, osmolality of body fluid compartments, and plasma water sodium concentration. *J. Appl. Physiol.*, 2006, vol. 100, pp. 1293–1300. doi: 10.1152/jappphysiol.01274.2005.
- Olson K.R. Blood and extracellular fluid volume regulation: role of the renin-angiotensin system, kallikrein-kinin system, and atrial natriuretic peptides. *Fish Physiol.*, 1992, vol. 12, part B, pp. 135–254. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60010-2.

- Olson K.R. Design and physiology of capillaries and secondary circulation. Circulatory Fluid Balance and Transcapillary Exchange. *Encyclopedia of Fish Physiology*, 2011, pp. 1154–1160.
- Olson K.R., Kinney D.W., Dombkowski R.A., Duff D.W. Transvascular and intravascular fluid transport in the rainbow trout: Revisiting Starling's forces, the secondary circulation and interstitial compliance. *J. Exp. Biol.*, 2003, vol. 206, pp. 457–467. doi: 10.1242/jeb.00123.
- Perl W. Convection and permeation of albumin between plasma and interstitium. *Microvascular Res.*, 1975, vol. 10, pp. 83–94. doi: 10.1016/0026-2862(75)90022-9.
- Sakun O.F., Buckaya N.A. Opredelenie stadij zrelosti i izucheniya polovyh ciklov ryb [Determination of maturity stages and study of sexual cycles of fish]. Moscow, Rybnoe khozyaistvo, 1968. 36 p. (In Russian)

ANALYSIS OF SEASONAL DYNAMICS OF CAPILLARY EXCHANGE OF BLOOD SERUM PROTEINS OF GOLDFISH *CARASSIUS AURATUS* (L.)

**D. V. Garina^{1,2}, A. D. Fedenyova², A. S. Vasiliev¹,
I. Yu. Toropygin^{1,3}, A. E. Filippova, A. M. Andreeva^{1*}**

¹*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences
152742 Borok, Russia; e-mail: *aam@ibiw.ru*

²*P.G. Demidov Yaroslavl State University; 150003 Sovetskaya Str. 14, Yaroslavl, Russia*

³*V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences
119121 Pogodinskaya st., 10, Moscow, Russia*

Revised 10.03.2025

The study of the patterns of blood serum proteins capillary exchange (CE) as a factor regulating water and osmotic homeostasis in the fish organism has been started using the example of goldfish *Carassius auratus* (L.). The analysis of the seasonal dynamics of the barrier properties of the muscle-type capillary wall to the blood serum protein has been carried out using the coefficient of the reflectance of total protein from the capillary wall (CW). The maximum values of the coefficient are calculated for spring, the minimum ones for summer, and the intermediate value for autumn. Such dynamics assume the most pronounced barrier function of the CW in spring and autumn, and the minimum one in summer during the period of preparation for spawning. The reason for this is a significant summer increase in the concentration of total protein in the interstitium of fish to a level comparable to that of blood serum and higher. This circumstance does not allow us to explain the seasonal dynamics of fish plasma protein capillary exchange within the framework of the classical Starling hypothesis, but fits well into the format of the albumin-free CE model developed for fish [Andreeva, 2020]. This model characterizes a decrease in the barrier function of CW as an adaptation for equalizing the osmolality of the body's internal fluids during the preparation of fish for spawning, which is characterized by high intensity of all metabolic processes.

Keywords: goldfish, blood serum, interstitial fluid, capillary protein exchange, muscle-type capillary wall