

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Павлова Надежда Сергеевна

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ЭЛЕМЕНТОВ ПРОЛАКТИНОВОЙ ОСИ
ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS L.*
В ОСМОРЕГУЛЯЦИИ И РЕПРОДУКЦИИ

1.5.5. Физиология человека и животных

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Смирнова Ольга Вячеславовна
доктор биологических наук, профессор

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Биология трёхиглой колюшки <i>Gasterosteus aculeatus L.</i>	13
1.2. Осморегуляция у рыб.....	18
1.2.1. Органы осморегуляции рыб в морской и пресной воде	18
1.2.2. Осморегуляторная функция жабр.....	19
1.2.3. Осморегуляторная функция почек.....	23
1.2.4. Осморегуляторная функция кишечника	26
1.2.5. Осморегуляторная функция кожи.....	28
1.3. Опсины и зрение рыб	29
1.3.1. Механизм действия опсинов и их классификация	29
1.3.2. Пластичность экспрессии опсинов рыб	31
1.3.3. Пластичность экспрессии опсинов рыб	33
1.4. Пролактиновая ось рыб	34
1.4.1. Два пролактина рыб: сравнение с млекопитающими	34
1.4.2. Пролактиновые рецепторы рыб	37
1.4.3. Осморегуляторная функция пролактина рыб.....	40
1.4.4. Репродуктивная функция пролактина рыб	43
1.4.5. Влияние пролактина на сетчатку рыб.....	45
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	47
2.1. Биологический материал	47
2.1.1. Экспериментальные группы животных.....	47
2.2. Материалы.....	47
2.3. Экспериментальные методы	50
2.3.1. Эксперименты <i>in vivo</i>	50
2.3.2. Методы обработки материала	53
2.3.3. Статистическая обработка результатов.....	58

3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	60
3.1. Изменение морфометрических показателей и концентраций Na^+ и K^+ у самок и α -самцов в экспериментальных моделях.....	60
3.1.1. <i>Изменение морфометрических показателей</i>	<i>60</i>
3.1.2. <i>Изменение концентрации ионов Na^+ и K^+ в плазме крови</i>	<i>64</i>
3.2. Изменение экспрессии генов пролактиновой оси у самок и α -самцов в моделях пресноводной адаптации	66
3.2.1. <i>Изменение экспрессии генов пролактина <i>prl1</i> и пролактинподобного гормона <i>prl2</i> в мозге</i>	<i>66</i>
3.2.2. <i>Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов <i>prlra</i> и <i>prlrb</i> в ткани мозга, почек, жабр и кишечника.....</i>	<i>70</i>
3.3. Изменение экспрессии генов ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника у самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации	75
3.3.1. <i>Изменение экспрессии генов α-субъединицы Na^+/K^+-АТФазы....</i>	<i>75</i>
3.3.2. <i>Изменение экспрессии генов транспортёров NKCC и NCC.....</i>	<i>78</i>
3.3.3. <i>Изменение экспрессии генов ECAC и NHE</i>	<i>81</i>
3.3.4. <i>Корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров.....</i>	<i>84</i>
3.4. Сравнение экспрессии генов пролактина и ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды	85
3.4.1. <i>Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов</i>	<i>87</i>
3.4.2. <i>Изменение экспрессии генов α-субъединицы Na^+/K^+-АТФазы....</i>	<i>89</i>
3.4.3. <i>Изменение экспрессии генов транспортёров NKCC и NCC.....</i>	<i>92</i>
3.4.4. <i>Изменение экспрессии генов ECAC и NHE</i>	<i>94</i>
3.4.5. <i>Корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров.....</i>	<i>97</i>
3.5. Изменение экспрессии генов опсинов в сетчатке самок и α -самцов.....	97

3.5.1. Модель сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации, а также модель гиперпролактинемии в условиях морской воды	97
3.6. Изменение экспрессии генов пролактиновой оси в ткани мозга α -самцов в фазе конкуренции и в фазе демонстрации родительского поведения	101
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	103
4.1. Изменение физиологических показателей колюшек в моделях пресноводной адаптации и гиперпролактинемии	103
4.2. Изменение экспрессии генов пролактиновой оси у самок и α -самцов колюшек при пресноводной адаптации	104
4.2.1. Изменение экспрессии гена пролактина <i>prl1</i> и гена пролактинподобного гормона <i>prl2</i> в моделях пресноводной адаптации у самок и α -самцов	105
4.2.2. Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов <i>prlra</i> и <i>prlrb</i> в ткани мозга, почек, жабр и кишечника самок и α -самцов при хронической пресноводной адаптации	109
4.3. Изменение экспрессии генов ионных транспортёров в ткани ключевых осморегуляторных органов: жабр и кишечника самок и α -самцов в модели пресноводной адаптации	114
4.3.1. Na^+/K^+ -АТФаза: изоформы <i>a1a</i> , <i>a2a</i> и <i>a3a</i>	114
4.3.2. NKCC-транспортёры	116
4.3.3. Транспортёры NCC и NHE2	117
4.4. Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров в жабрах и кишечнике α - и ω -самцов в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды	119
4.5. Изменение экспрессии генов опсинов в сетчатке у самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды	122

4.6. Изменение экспрессии генов пролактинов и пролактиновых рецепторов в мозге α -самцов в стадии конкуренции и самцов в фазе демонстрации родительского поведения	126
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	127
ВЫВОДЫ	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	131

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования проблемы и степень ее разработанности. Многие виды рыб совершают миграции, анадромные (из водоёмов с морской водой в водоёмы с пресной водой) или катадромные (из водоёмов с пресной водой в водоёмы с морской водой). Смена среды обитания, сопровождающаяся изменением осмотичности воды являются неотъемлемой частью жизненного цикла этих видов. В большинстве случаев миграционное поведение связано с размножением; от эффективности изменения регуляции водно-солевого баланса может зависеть успешность размножения и численность популяции. Приспособление организма к гипо- или гиперосмотическим условиям регулируется гормонами, при этом ключевую роль в адаптации рыб к пресной воде во время миграции из морей в реки играет пролактин [Manzon, 2002; McCormick, 2001]. Эффекты пролактина можно разделить на две группы: участие в поддержании гомеостаза организма и в регуляции размножения. Вторая группа эффектов у млекопитающих более выражена, чем первая, а у низших позвоночных превалирует гомеостатическая функция пролактина, в частности, регуляция водно-солевого баланса. На примере разных видов показано, что пролактин способствует адаптации к гипоосмолярной среде и выживанию рыб, переходящих из морской воды в пресную во время нерестовой миграции [Breves et al., 2016; Mohammed-Geba et al., 2017; Prunet, Boeuf, Houdebine, 1985; Seale et al., 2014; Watanabe, Itoh, Kaneko, 2016; Yada, Takahashi, Hirano, 1991].

В нашей лаборатории разрабатывается гипотеза о том, что в условиях патологии пролактин млекопитающих способен проявлять свои эволюционно древние функции, и изучается осморегуляторная функция пролактина у млекопитающих. Однако для лучшего понимания функций, на которые стоит обращать внимание, необходимы исследования пролактина на рыбах. Большинство таких работ проведено на эвригалинных рыбах, где пластичность осморегуляции и возможные влияния на неё пролактина сильно выражены, однако у этих видов отсутствует половое и родительское поведение, поэтому рыб в предшествующих исследованиях не делили по полу, полагая идентичность механизмов регуляции у

самок и самцов. У млекопитающих пролактин играет важную роль в половом, и родительском, в частности, отцовском, поведении. Половое поведение рыб, меняющих окрас в брачный период, при этом тесно сопряжено с узнаванием партнёра и, в случае наличия конкуренции за полового партнёра, также в распознавании особей-конкурентов. Поэтому объект исследования пролактина рыб для корректного анализа эволюции пролактиновой оси должен соответствовать следующим критериям: эвригалинностью и наличием ярко выраженного и хорошо определяемого брачного периода, а также полового поведения. В качестве такого объекта была выбрана трёхиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus*, на которой представляется возможным исследовать не только тонкости пролактиновой регуляции водно-солевого баланса в брачный период и изучить зависимость осморегуляторной функции от пола, но и оценить влияние пролактина на восприятие брачной окраски.

Кроме того, колюшка является хорошим *in vivo*-тестом на загрязнение окружающей среды антиандрогенами, и уточнение её пролактиновой оси в практическом плане важно для перспектив определения связи пролактиновой оси с эстрогенной и андрогенной активностью, что может увеличить точность интерпретирования результата подобного теста [Katsiadaki et al., 2006].

Пролактин вовлечён в регуляцию репродуктивных процессов у рыб: созревание гонад, сперматогенез, вителлогенез, стероидогенез. В ходе репродуктивного периода уровень пролактина в крови рыб меняется. Так, во время заботы о потомстве отмечено повышение уровня пролактина у самок некоторых видов рыб при инкубации икринок во рту самки [Whittington, Wilson, 2013]. Всё это указывает на то, что пролактин у рыб также выполняет две ключевые функции, однако ранее в исследованиях роли пролактина в осморегуляции у рыб эти функции не рассматривали с учётом пола особи. Ввиду участия пролактина в регуляции репродукции особенности его осморегуляторных эффектов у самок и самцов также могут различаться, но роли пролактина в адаптации осморегуляторных процессов к полу и тем самым в подготовке организмов разного пола к размножению остаётся неизученной.

В последние несколько лет пролактиновая ось рыб рассматривается исследователями не только в контексте осморегуляции, но также в реализации других функций, уже показанных для млекопитающих. Отдельно можно выделить работы, касающиеся репродуктивной функции пролактина у рыб. На данный момент показана связь между пролактиновой осью рыб и репродукцией, однако ни у осморегуляторной, ни у репродуктивной функции пролактиновой оси рыб механизмы остаются не изученными. Более того, подавляющее большинство работ рассматривает эти две функции пролактиновой оси в отрыве друг от друга. Так, в исследованиях по изучению осморегуляторных влияний пролактина животных не делят по половому признаку, а репродуктивные эффекты пролактина у эвригалинных рыб изучают вне условий изменения солёности воды.

К мишеням пролактина как осморегуляторного гормона рыб, относятся NCC-обменник, Na^+/K^+ -АТФаза, NBC-обменник в осморегуляторных органах. Для пролактина как репродуктивного гормона рыб, показано его участие в физиологии гонад, связь со стероидогенезом, стероидными гормонами и родительским поведением для небольшого количества видов рыб [Boeuf et al., 1994; Breves et al., 2013; Breves et al., 2017; Breves et al., 2020a; Cavaco et al., 2003; Eckert et al., 2001; Ferlazzo et al., 2012; Gallis, Lasserre, Belloc, 1979; Lee et al., 2006; Leena, Oommen, 2000; Madsen, Nishioka, Bern, 1997; Madsen Steffen, Bern Howard, 1992; Noh, Lim, Kim, 2013; Onuma et al., 2010; Rubin, Specker, 1992; Ruiters et al., 1986; Seale et al., 2019; Singh et al., 1988; Slijkhuis et al., 1984; Tacon et al., 2000; Tan et al., 1988; Weber, Grau, 1999; Young et al., 1988].

В данной научно-квалификационной работе были изучены различия, связанные с полом, в реализации осморегуляторной функции пролактина у трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus L.* как вида, обладающего и широкой пластичностью регуляции водно-солевого баланса, и проявляющего репродуктивное и родительское поведение.

Целью данной работы было исследование роли пролактина в адаптации к полу процессов осморегуляции и цветового зрения в брачный период трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus L.* в брачный период.

Задачи работы

1. Оценить динамику изменения элементов пролактиновой оси у самок и α -самцов трёхиглой колюшки в ходе пресноводной адаптации:

1а) оценить динамику изменения экспрессии генов пролактина *prl1*, *prl2* в ткани мозга;

1б) оценить изменение чувствительности к пролактину (по изменению экспрессии генов рецепторов пролактина *prlra*, *prlrb*) ткани мозга, почек, жабр и кишечника.

2. Оценить изменение осморегуляторной функции жабр и кишечника особей трёхиглой колюшки в ходе пресноводной адаптации и участие в ней пролактина:

2а) у самок и α -самцов оценить изменение экспрессии генов ионных транспортёров (α -субъединиц Na^+/K^+ -АТФазы *atp1a1*, *atp1a2*, *atp1a3*; НКСС-обменника *nkcc1a*, *nkcc2*; NСС-транспортёра *ncc*; NHE-транспортёров *nhe2*, *nhe3*; ЕСАС-транспортёра *esac*);

2б) у самок и α -самцов изучить корреляции между экспрессией генов ионных транспортёров и экспрессией генов пролактиновых рецепторов;

2в) у α - и ω -самцов изучить влияние экзогенного овечьего пролактина на экспрессию генов ионных транспортёров в условиях морской воды.

3. Изучить участие пролактина в регуляции цветового зрения у самок и α -самцов трёхиглой колюшки:

3а) оценить изменение экспрессии генов опсинов (*sws1*, *sws2*, *rh2*, *lws*) в сетчатке в модели пресноводной адаптации;

3б) оценить изменение экспрессии генов опсинов при администрации экзогенного пролактина в условиях морской воды.

4. Сравнить уровни экспрессии генов пролактиновой оси *prl1*, *prl2*, *prlra*, *prlrb* в мозге самцов в нерестовом периоде и во время демонстрации родительского поведения.

Научная новизна исследования. В настоящей работе впервые было проведено исследование половых различий изменения элементов пролактиновой оси трёхиглой колюшки при адаптации особей к пресной воде. Впервые для рыб было показано, впервые для рыб, что пролактиновая ось под влиянием пресноводной адаптации у самцов и самок модифицируется по-разному. Получены приоритетные данные о неодинаковом у самцов и самок изменении осморегуляторной функции жабр и кишечника при пресноводной адаптации. Для колюшек доказано различное изменение осморегуляторной функции жабр и

кишечника у α - и ω -самцов под влиянием экзогенного пролактина. Также впервые было показано, что одним из эффектов пролактина является изменение экспрессии генов опсинов в сетчатке. Таким образом, выявлена новая функция пролактина у рыб – адаптация цветового зрения при переходе особей в пресную воду – также по-разному реализующаяся у самцов и самок трёхиглой колюшки.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные позволяют расширить современные знания о пролактиновой оси у низших позвоночных и её эволюции. Взаимосвязь осморегуляторной и репродуктивной функций пролактина у рыб способствует лучшему пониманию взаимосвязи этих функций у млекопитающих.

Полученные результаты в дальнейшем, возможно, будут применимы в аквакультуре. Будучи достаточно простым и недорогим в содержании объектом, трёхиглая колюшка имеет перспективу стать модельным объектом для промысловых видов рыб, в изучении применения гормональной терапии в аквакультуре. Поскольку для пролактина у рыб показан иммуномодуляторный эффект, его применение в аквакультуре может выходить за рамки «классических» функций регуляции водно-солевого баланса и репродукции [Paredes et al., 2013; Yada et al., 1999].

Методология и методы исследования. В работе проводилось моделирование пресноводной адаптации на самках и самцах трёхиглой колюшки в репродуктивный период. Колюшек отлавливали в Белом море во время нереста, разделяли выборки по полу особей, после чего опытные группы переносили в аквариумы с пресной водой; контрольные группы содержали в аквариумах с морской водой. Для моделирования эффекта экзогенного пролактина в условиях морской воды особям, содержавшимся в аквариумах с морской водой, делали внутрибрюшинные инъекции овечьего пролактина один раз в сутки в течение трёх суток; контрольным группам вводили физ. раствор. Для сравнения самцов во время нереста и в фазе родительского поведения ткани фиксировали сразу после отлова особей.

У особей измеряли морфометрические параметры, содержание ионов Na^+ и K^+ в плазме крови методом атомно-абсорбционной спектрометрии, а также экспрессию генов интереса в тканях с использованием метода ОТ-ПЦР в реальном времени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Пролактиновая ось самок и самцов *G. aculeatus* модифицируются по-разному при адаптации организма к пресной воде. При этом пролактинподобный

гормон *prl2* может иметь большее значение для организма самцов трёхиглой колюшки, нежели самок.

2. Осморегуляторная функция самок и самцов *G. aculeatus* меняется неодинаково при адаптации к пресной воде и связана с пролактиновой осью как у самок, так и у самцов.

3. У самок *G. aculeatus* элементы пролактиновой оси связаны с осморегуляцией сильнее, чем у самцов.

4. Выявлена новая функция пролактина для рыб – адаптации цветового зрения *G. aculeatus* при переходе в пресную воду – реализация которой также зависит от пола особей.

5. Показана ключевая роль пролактинового рецептора *b* в мозге у самцов *G. aculeatus* в стимуляции родительского поведения.

Степень достоверности результатов исследований. Полученные в рамках выполнения работы данные статистически достоверны и воспроизводимы. Набор используемых экспериментальных методик оптимален для решения поставленных задач. Обзор литературы и обсуждение подготовлены с использованием современной и актуальной литературы.

Апробация материалов диссертации. Результаты данной диссертационной работы были представлены на Одиннадцатой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, Россия, 2016); на Interdisciplinary Approaches in Fish Skeletal Biology (IAFSB) 5th Conference (Тавира, Альгарве, Португалия, 2018); на III молодежной школе-конференции «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» (Звенигородская биологическая станция, Россия, 2019); на VI Съезде физиологов СНГ (Дагомыс, Россия, 2019); на Ломоносовских чтениях 2021 (Москва, Россия, 2021); на X Международной научно-практической конференции «Морские исследования и образование. MARESEDU-2021» (Москва, Россия, 2021); на IV Всероссийской молодежной школе-конференции «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» (Звенигородская биологическая станция, Россия, 2023); на XII Международной научно-практической конференции «Морские исследования и образование – MARESEDU 2023» (Москва, Россия, 2023); на конференции «Достижения и перспективы фундаментальной физиологии: к столетию кафедры физиологии человека и животных МГУ» (Москва, Россия, 2024). Диссертационная работа апробирована 17 июля 2025 года на заседании

кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 печатных работ: 4 статей в периодических изданиях, индексируемых аналитическими базами Scopus, Web of Science, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.03.06 по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных, и 5 тезисов в сборниках докладов международных и всероссийских научных конференций.

Личный вклад автора. Личный вклад соискателя Павловой Н. С. присутствует на каждом этапе выполнения диссертационной работы и заключается в планировании и подготовке экспериментов, отлове особей трёхиглой колюшки, проведении экспериментов, заборе и фиксации материала, проведении атомно-абсорбционной спектрометрии и ОТ-ПЦР в реальном времени, статистической обработке данных, написании тезисов докладов и статей, представлении результатов работы на конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 152 страницах, содержит 43 рисунка и 18 таблиц. Список цитируемой литературы включает 283 источника, из них 276 на иностранном языке.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Биология трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L.

Трёхиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus*, L. (семейство колюшковые *Gasterosteidae*, отряд колюшкообразные *Gasterosteiformes*, инфракласс костистые *Teleostei*, подкласс лучеперые *Actinopterygii*, класс костные *Osteichthyes*, надкласс рыбы *Pisces*) – вид рыб, широко распространённый в бассейнах северной части Северного Ледовитого, Атлантического и Тихого океанов. В европейской части России трёхиглая колюшка распространена от Кольского полуострова и Новой Земли до Чёрного моря; а также в бассейне Баренцева, Белого, Балтийского, Черного морей и Тихого океана, см. Рисунок 1 [Bell, Foster, 1994; Зюганов, 1991; Решетников и др., 2003].



Рисунок 1 – Ареал обитания трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. (по [Решетников и др., 2003])

По отношению к условиям солёности воды рыбы делятся на стеногалинных и эвригалинных. Стеногалинные рыбы практически не способны адаптироваться к колебаниям солёности воды и считаются либо пресноводными, либо морскими видами. Виды, способные адаптироваться к сильным изменениям солёности, называются эвригалинными, и среди всех видов костистых рыб их количество не превышает 3–5% [Davenport, 1985]. Трёхиглая колюшка является эвригалинным

видом рыб: они живут и в пресной, и в морской воде, предпочитая тихое течение, стоячую или слабопроточную воду [Takvam et al., 2021; Taugbøl et al., 2014].

По экологическому признаку различают три формы колюшек: морскую, пресноводную и проходную. Морская форма обитает в прибрежной зоне морей и размножается на мелководье (соленость до 20–25 ‰). В России особи данной формы в основном обитают в Кандалакшском заливе Белого моря, а также в Баренцевом и Черном морях, где ведут пелагический образ жизни, уходя довольно далеко в открытое море [Зюганов, 1991].

Проходные колюшки живут в море, но в весенне-летний период размножаются в пресных водах, выходя в ручьи, реки или озёра. После нереста взрослые особи гибнут или уходят обратно в море и зимуют над большими глубинами. Морская и проходная формы могут переходить друг в друга. Пресноводные колюшки живут и размножаются в пресных водах, не выходя в море, даже если пресноводный водоем не изолирован от него [Зюганов, 1991].

Колюшки питаются зоопланктоном и бентосом, причём бентос преобладает (личинки насекомых, прежде всего мелкие личинки хирономид и др.), зарослевым планктоном, высшими ракообразными, моллюсками, собственной икрой и растительностью. Молодь колюшки потребляет преимущественно эпибентических веслоногих и ветвистоусых рачков [Зюганов, 1991].

Колюшка ведет стайный образ жизни, внутри стай наблюдается конкуренция за пищу. Взрослые особи зачастую держатся среди растительности; молодь часто поднимается и к поверхности воды. Более крупные стаи колюшка образует перед размножением, после чего рассредоточивается и ведет скрытный образ жизни [Зюганов, 1991].

Морфологической особенностью, которая дала родовое название, является наличие колючек: трёх на спине и двух на брюшной стороне. У самцов колючки обычно крупнее в сравнении с самками. Тело у колюшек относительно высокое, сжатое с боков, резко понижающееся к хвостовому плавнику. Соотношение длины к высоте тела в среднем составляет 4:1 или 5:1, в длину особи данного вида редко достигают 100 мм, обычно длина тела составляет 35–80 мм [Зюганов, 1991].

Тело голое, лишено чешуи и взамен покрыто рядом поперечных роговых пластинок (Рисунок 2) на протяжении тела от головы до хвоста. Число пластинок варьирует от 30 до 35, не изменяется с возрастом, не зависит от времени года. Ряд наблюдений показал, что их количество сохраняется неизменным и у молоди рыб.

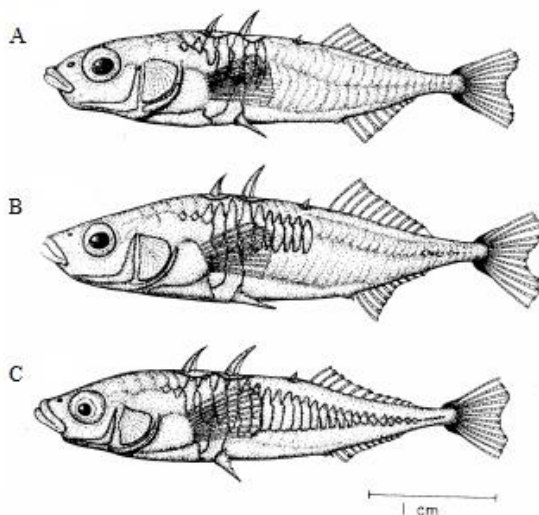


Рисунок 2 – Три основные морфы особей трехиглой колюшки: А. *leiurus*; В. *semiarmatus*; С. *trachurus* (по [Bell, Foster, 1994])

По степени развития пластин на теле различают три морфы колюшек: *trachurus*, с полным рядом пластин вдоль всего тела (Рисунок 2), *leiurus* с малым числом пластин (до 14), расположенных только позади головы. Третья морфа, *semiarmatus*, является промежуточной между этими двумя: имеется покрытый пластинами участок в передней части тела и, затем, после промежутка, серия пластин в каудальной части (всего от 12 до 30). Изредка встречаются особи колюшек без пластин на теле. В разных частях ареала частота встречаемости морф различна, между ними возможны переходы, в ряде случаев показана репродуктивная изоляция между ними [Cresko et al., 2007; Зюганов, 1991].

Существует корреляция между морфой и склонностью к миграциям: уходящие на нерест в реки популяции обычно состоят из особей с полным набором пластин, хотя в европейских популяциях часто встречаются и две другие формы, но в значительно меньшем количестве. Также распространены популяции, состоящие большей частью из особей с малым числом пластин. Соотношение же морф в пресноводных популяциях неоднозначно [Cresko et al., 2007; Зюганов, 1991].

Голова удлинённая, относительно большая и несколько заострённая, глаз сравнительно крупный. Рыло короче заглазничного отдела головы, верхняя челюсть короче нижней. Окраска тела у колюшки варьирует в зависимости от типа водоема и сезона, изменяется и к периоду нереста. Зимой у живущей в море колюшки бока и брюхо серебристого цвета, спина и верх головы синие. Летом задняя часть головы и верх тела вплоть до боковой линии чёрновато-серые. Пресноводные колюшки из водоемов с тёмной водой или с густой растительностью имеют серебристое светлое брюхо и тёмную (коричневую или зеленую) спину. На теле могут встречаться тёмные пятна, описаны также особи полностью чёрной окраски [Tinghitella, Lehto, Lierheimer, 2018; Зюганов, 1991].

К моменту нереста окраска самцов и самок меняется: формируется брачный наряд, причем интенсивность окраски увеличивается и сохраняется до конца периода размножения. Спина и глаза самцов приобретают синюю окраску, бока — серебристую, а нижняя часть головы, брюхо и основания плавников становятся красного цвета. У самок изменения выражаются в формировании непосредственно перед нерестом тёмных поперечных полос на спине и боках тела, нижняя сторона туловища становится бледно-жёлтой, вскоре после икрометания эта окраска исчезает [Tinghitella, Lehto, Lierheimer, 2018; Зюганов, 1991].

Средняя продолжительность жизни трёхиглой колюшки составляет порядка 2–3 лет, в некоторых случаях – до пяти. Половозрелости достигает уже к возрасту одного года. Длина тела до 11 см, масса до 9 г.

Время начала нереста (с конца марта по конец августа) зависит от температуры и длины светового дня. В более северных широтах нерест приходится на летние месяцы. Нерест порционный. Во время нереста самцы демонстрируют иерархическую структуру и сложное брачное и родительское поведение. Иерархию самца можно оценить по степени выраженности его брачного окраса [Tinghitella, Lehto, Lierheimer, 2018; Зюганов, 1991]. На Рисунке 3 представлены окрасы α - и ω -самца, а также самки морской популяции колюшек.



Рисунок 3 – Внешний вид α -, ω -самца и также самки *G. aculeatus* L. морской морфы в период нереста

Сложная иерархическая структура, наблюдающаяся у самцов колюшек в брачный период и являющаяся частью их брачного поведения, выражается в следующем: самцы отделяются от группы и находят гнездовые территории, на которых строят гнездо, если их не тревожат другие особи. При проникновении на территорию другого самца хозяин демонстрирует агрессивное поведение. Настоящие нападения более редки [Páll, Mayer, Borg, 2002; Зюганов, 1991].

Самцы строят гнёзда в мелководных зонах водоёма, где вода достаточно прогрета и прозрачна, обычно на глубине 20–50 сантиметров. Строительство гнезда включает следующие этапы: выкапывается неглубокая ямка в песке, в которую собирается гнездовой материал (зачастую нити водорослей), далее он уплотняется и скрепляется особой слизью, вырабатываемой почками. В итоге формируется своеобразный клубок, в котором проделывается сквозной тоннель. Функция самки сводится исключительно к икрометанию, после чего она покидает гнездо, отложив порядка сотни икринок. Причем зачастую один самец собирает в гнезде несколько порций икры от разных самок [Páll, Mayer, Borg, 2002; Зюганов, 1991].

Забота об икринках и молоди колюшек является функцией самца. Родительское поведение выражается, в первую очередь, в изгнании чужаков (рыб обоего пола своего вида, других видов, прочих хищников) и в вентиляции икры. Последнее осуществляется за счет характерного «обмахивающего» движения. Самец гонит к гнезду воду чередующимися движениями вперед грудных плавников. Для удержания на месте используются взмахи хвоста. Происходит

перемешивание воды и поступление новых порций кислорода [Páll, Mayer, Borg, 2002; Wootton, 1984; Зюганов, 1991; Решетников и др., 2003].

1.2. Осморегуляция у рыб

1.2.1. Органы осморегуляции рыб в морской и пресной воде

Осморегуляция – один из важнейших процессов гомеостаза любых животных. К ключевым органам осморегуляции рыб относятся жабры, где реализуется активный ионный обмен с внешней средой; кишечник, где происходит избирательный захват ионов и всасывание воды, а также, в меньшей степени, почки, у пресноводных видов рыб образующие большой объём разбавленной мочи, а у морских видов – небольшой объём концентрированной мочи (см. Рисунок 4). В последнее время у рыб в качестве важного органа водно-солевого баланса также рассматривается кожа. У эвригалинных видов, которые в течение жизни испытывают резкие смены солёности воды, осморегуляторные механизмы максимально гибкие [Edwards, Marshall, 2012; Wright, 2021].

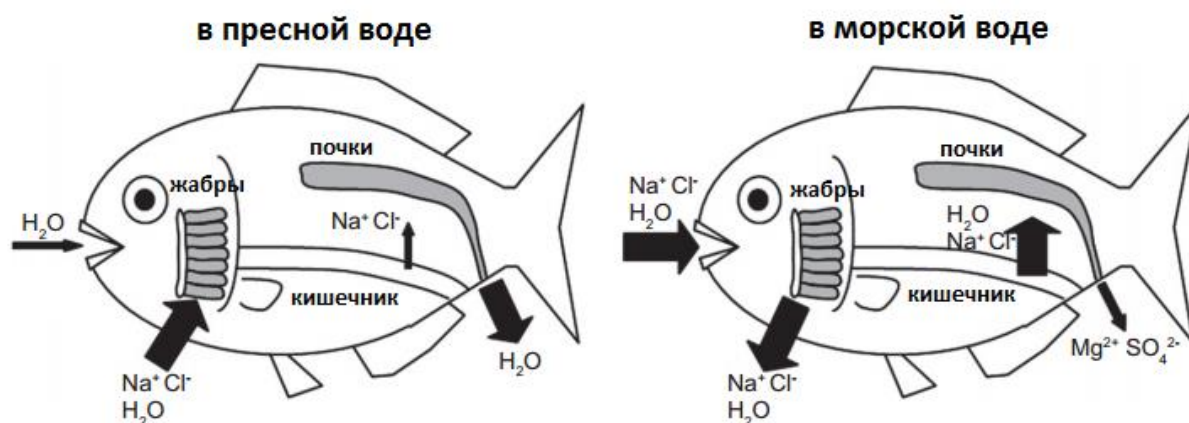


Рисунок 4 – Основные органы осморегуляции в условиях морской и пресной воды и степень их вклада в задержку/выведение ионов (по [Takei et al., 2014])

Механизмы осморегуляции рыб переменны, несмотря на наличие у них общих принципов, которые могут у разных видов реализовываться различно, и по своему разнообразию превосходят механизмы поддержания водно-солевого баланса у наземных животных. В основном пресноводные рыбы для поддержания водно-солевого баланса должны активно захватывать из окружающей среды ионы,

в первую очередь, Na^+ и Cl^- ; морским рыбам необходимо выводить избыточные двухвалентные катионы (Mg^{2+} , SO_4^{2-}) из организма. Различия же в механизмах осморегуляции заключаются как в различном вкладе осморегуляторных органов, так и в количестве типов ионоцитов (клеток, осуществляющих трансмембранный обмен ионов) в них, а также в количестве ионных переносчиков, находящихся в мембранах ионоцитов [Dymowska et al., 2014; Guh, Lin, Hwang, 2015; Takei, 2000; Wright, 2021].

При миграции, сопровождающейся сменой солёности воды, осморегуляторная функция у эвригалинных костистых рыб претерпевает значительные изменения. В почках изменяются скорость клубочковой фильтрации и скорость канальцевой реабсорбции. При адаптации организма к условиям низкой солёности воды наблюдается повышение скорости клубочковой фильтрации и снижение канальцевой реабсорбции, и наоборот при миграции рыб из пресной воды в морскую [Takvam et al., 2021].

1.2.2. Осморегуляторная функция жабр

В противоположность млекопитающим, у которых подавляющий вклад в осморегуляторную функцию вносят почки, водно-солевой баланс рыб поддерживается несколькими органами, ключевыми из которых являются жабры. Эпителий жабр состоит из клеток пяти основных типов: недифференцированных, мукозных, сквамозных, нейроэпителиальных клеток, а также ионоцитов. Ионоциты (в некоторых работах хлоридные клетки, богатые митохондриями клетки) – клетки, функцией которых является транспорт ионов, от других клеток отличаются большим количеством митохондрий. У разных видов рыб в различных внешних условиях клетки данного типа занимают от одного до десяти процентов площади поверхности жабр. Ионоциты также можно классифицировать в несколько подтипов [Breves et al., 2020a; Dymowska, Hwang, Goss, 2012; Evans, Piermarini, Choe, 2005].

В XX веке на основании данных электронной микроскопии выделили два субтипа ионоцитов: в жабрах морских видов рыб были описаны ионоциты с

высокой электронной плотностью, а у пресноводных видов – ионоциты с низкой электронной плотностью. Данные субтипы назвали β - и α -хлоридными клетками соответственно [Pisam, Caroff, Rambourg, 1987]. Впоследствии было показано, что функции ионоцитов более специфичны, но ионоциты со схожими функциями были названы по-разному у разных видов. В настоящее время утвердилась система названий функционально различных ионоцитов [Dymowska, Hwang, Goss, 2012].

Эпителий жабр пресноводного вида *Danio rerio* имеет как минимум пять типов ионоцитов, каждый из которых уникален по набору ионных транспортёров и каналов. Номенклатура ионоцитов опирается на главный из экспрессируемых клеткой переносчиков.

HR-клетки (H^+ -ATPase-rich) осуществляют транспорт ионов Na^+ , HCO_3^- , NH_4^+ . Транспорт иона Na^+ у пресноводного вида *Danio rerio* происходит внутрь организма благодаря натриевому каналу на апикальной стороне клетки (его структура пока не установлена) и Na^+/K^+ -АТФазе (5-й подтип 1-го типа α -СЕ) на базальной. NH_4^+ -ион в клетке образует аммиак, который выводится посредством резус-гликопротеина Rhcg1 на апикальной стороне клетки, и протон, покидающий клетку через H^+ -АТФазу или NHE3-обменник (Na^+/H^+ -антипорт), расположенные на апикальной стороне клетки. Снаружи ионоцита на апикальной мембране расположен фермент карбоангидраза (CA15), способствующая дегидратации бикарбонат-иона HCO_3^- до углекислого газа CO_2 , который свободно диффундирует внутрь ионоцита и посредством карбоангидразы второго типа (CA2) гидратируется до бикарбонат-иона. В дальнейшем HCO_3^- выводится из клетки через анионный обменник (AE1, HCO_3^-/Cl^- -антипорт) на базолатеральной мембране [Guh, Lin, Hwang, 2015; Lee et al., 2011; Lin et al., 2008; Yan et al., 2007].

NaR-клетки (Na^+/K^+ -ATPase-rich) транспортируют ион кальция внутрь организма. Из внешней среды Ca^{2+} поступает через эпителиальный кальциевый канал ECaC на апикальной мембране и далее покидает клетку с помощью либо PMCA (мембранная кальциевая АТФаза), либо NCX-обменника (Na^+/Ca^{2+} -антипорт), расположенных на базолатеральной мембране. Также на ней находится Na^+/K^+ -АТФаза (1-й подтип 1-го типа α -СЕ), обуславливающая транспорт иона

натрия для дальнейшего вторичного транспорта [Guh, Lin, Hwang, 2015; Liao et al., 2007; Pan et al., 2005].

NCC-клетки (Na^+/Cl^- -контранспортер) участвуют в транспорте ионов Na^+ и Cl^- . На апикальной мембране клетки расположен Na^+/Cl^- -контранспортер (NCC), на базолатеральной – хлорный канал 2с (ClC2), NBC (контранспортер ионов Na^+ и HCO_3^- , у пресноводных рыб выводит ионы из клетки), а также Na^+/K^+ -АТФаза (2-й подтип 1-го типа α -СЕ) [Guh, Lin, Hwang, 2015; Hsu et al., 2014].

SLC26-клетки (solute carrier 26-expressing) экспрессируют на апикальную мембрану ионный переносчик SLC26 ($\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -антипорт), на базолатеральную – Na^+/K^+ -АТФазу (1-й подтип 1-го типа α -СЕ) [Guh, Lin, Hwang, 2015].

KS-клетки (K^+ -secreting) отвечают за экскрецию иона калия. Базолатеральную мембрану K^+ пересекает посредством Na^+/K^+ -АТФазы (4-й подтип 1-го типа α -СЕ), и покидает клетку с апикальной стороны через калиевые каналы входящего выпрямления Kir1.1 [Abbas et al., 2011; Guh, Lin, Hwang, 2015].

Ионоциты эвригалинных рыб были хорошо исследованы на мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* и радужной форели *Oncorhynchus mykiss*.

У мозамбикской тилапии обнаружено четыре типа ионоцитов.

Тип I считается «универсальным», не меняющимся в зависимости от солёности, и обнаруживается у тилапий, адаптированных и к пресной, и к солёной воде. Некоторые исследователи считают его незрелым ионоцитом. Он характеризуется наличием Na^+/K^+ -АТФазы на базальной мембране и K^+ -каналом ROMKa на апикальной [Hiroi et al., 2005].

Тип II описан только у тилапий, обитающих в условиях пресной воды, после адаптации к условиям морской воды этот тип ионоцитов не обнаруживается в жабрах. Такие ионоциты считаются клетками, «захватывающими ионы», что важно при адаптации к гипоосмотическим условиям. На базолатеральной мембране у данных клеток обнаружены Na^+/K^+ -АТФаза и NBC1-транспортёр (контранспортер ионов Na^+ и HCO_3^-), на апикальной – NCC2-переносчик (Na^+/Cl^- -контранспортер). Основная функция ионоцитов типа II – захват ионов Na^+ и Cl^- [Hiroi et al., 2005].

Ионоциты типа III описаны у пресноводных тилапий. Для клеток этого типа описано наличие Na^+/K^+ -АТФазы и NKCC1a -переносчика ($\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ -контранспортер) на апикальной мембране, и ROMKa канала и NHE3 -транспортера (осуществляющего Na^+/H^+ -антипорт) на базальной мембране.

Тип IV описан для морских тилапий; после адаптации к пресной воде данный тип ионоцитов не обнаруживается. У ионоцитов типа IV на базолатеральной мембране находится Na^+/K^+ -АТФаза и NKCC1a -переносчик, на базальной мембране – ROMKa канал и NHE3 -транспортер, а также CFTR (Cl^- -канал) на апикальной мембране [Hiroi et al., 2005].

Существует гипотеза, что ионоциты типа III и IV являются одними и теми же клетками, быстро меняющими манифестацию CFTR при смене осмолярности среды [Hiroi et al., 2008].

Ионоциты радужной форели *Oncorhynchus mykiss* делят на два типа согласно их способности связывать агглютинин арахиса PNA^+ и PNA^- . У обоих типов клеток обнаруживается Na^+/K^+ -АТФаза на базолатеральной мембране и кальциевый канал ECaC на апикальной. У PNA^+ -клеток на базолатеральной мембране также присутствует NKCC1 -транспортер, на апикальной – NHE3b -переносчик и Rhcg1 -белок, играющий важную роль в выведении ионов NH_4^+ . При этом у форелей, акклиматизированных к морской воде, на апикальной мембране PNA^+ -ионоцитов находится CFTR, в отличие от форелей, находившихся в условиях пресной воды, что указывает на схожесть функции PNA^+ -ионоцитов радужной форели и ионоцитов тилапии типа III и IV [Dymowska, Hwang, Goss, 2012; Hiroi, McCormick, 2012; Ivanis, Braun, Perry, 2008].

Так, механизмы жаберной осморегуляции разнообразны и могут различаться даже у разных эвригалинных рыб, у которых можно наблюдать быструю смену типов ионоцитов при изменении солёности воды. Однако у всех рыб в ионоцитах встречаются Na^+/K^+ -АТФаза, NKCC -транспортер и NHE -транспортер.

Для трёхиглой колюшки на основании протеомного анализа было показано, что жабры отвечают не только за осморегуляторную функцию, но также

регулируют кислотно-щелочной баланс и экскрецию азота [Evans, Claiborne, 2008; Li, Kültz, 2020].

1.2.3. Осморегуляторная функция почек

Выделительная система рыб включает в себя почки, мочевой канал и мочевой пузырь. Почки рыб представляют из себя два лентовидных тёмно-красных образования, расположенных между плавательным пузырьём и позвоночником, и делятся на три отдела: передний (головная почка) и задний (туловищная почка). Разные отделы почки различаются физиологией, функциями и у некоторых видов рыб анатомическим строением. Основная функция передней почки – гематопоз, иммунитет, эндокринная функция, а функцию осморегуляции выполняет туловищная почка. В условиях пресной воды почки эвригалинных рыб производят большой объём разбавленной мочи, в условиях морской воды – в 20 раз меньше по объёму мочи, богатой двухвалентными катионами. Почка эвригалинных рыб способна быстро переключаться между этими двумя режимами функционирования в зависимости от солёности воды [Anderson, Loewen, 1975; Beyenbach, 2004].

В мезонефральной почке рыб кора не выражена, петля Генле отсутствует. Сосуды, клубочки и тубулы переплетаются и перемежаются с гематопозитической тканью, что наиболее выражено в передней части почки – головной почке [Resende et al., 2010]. Нефрон представляет из себя клубочек и ренальную трубочку, которую разделяют на несколько сегментов, выполняющих разные функции и обладающих различными гистологическими особенностями: первый проксимальный сегмент (столбчатый эпителий, крупные митохондрии, большое количество пероксисом, клетки осуществляют активный эндоцитоз), второй проксимальный сегмент (столбчатый эпителий, развитый аппарат Гольджи), дистальную трубочку (кубический эпителий, микроворсинки) и собирательную трубочку (кубический эпителий, присутствие гладкомышечных клеток). Анатомические и физиологические особенности каждого из этих отделов варьируются в зависимости от условий обитания вида и (в случае эвригалинных видов рыб) в зависимости от того, к воде какой солёности акклиматизировано животное [Anderson, Loewen,

1975; Elger et al., 2000; Takvam et al., 2021]. Собираательные трубочки впадают в мочевой канал почки, и два мочевых канала сливаются, образуя мочевой пузырь [Nickman et al., 1969].

В условиях пресной воды скорость клубочковой фильтрации у рыб высокая (4–16 мл/кг в час), и превышает таковую у рыб в морской воде (0,2–1,5 мл/кг в час) больше, чем в десять раз. Экскретируемая моча у рыб в условиях пресной воды имеет низкую осмолярность (20–50 мОсм/л) относительно морских видов (300 мОсм/л). Подобная высокая пластичность выделительной системы достигается благодаря изменению давления крови в сосудах и перфузии нефронов. Также на некоторых видах рыб (например, радужной форели) показано включение различного количества клубочков в условиях разной солёности среды: в пресной воде в процессе фильтрации участвует в десять раз больше нефронов, чем в морской воде [Brown et al., 1980; Elger, 1987; McDonald et al., 2007; Takvam et al., 2021]. Таким образом, у эвригалинных рыб физиология почки может переключаться с преимущественной фильтрации в пресной воде на преимущественную экскрецию в морской воде.

Основная функция обоих проксимальных сегментов ренальной трубочки – экскреция ионов Mg^{2+} , что особенно выражено у морских и акклиматизированных к морской воде рыб. Экскреция Mg^{2+} заключается в апикальном экзоцитозе богатых этими ионами везикул [Renfro, 1999]. У многих видов морских и пресноводных рыб проксимальные сегменты участвуют в реабсорбции ионов Na^+ и Cl^- и глюкозы. Na^+/K^+ -АТФаза обнаруживается на базолатеральной мембране этих клеток, вклад в реабсорбцию натрия также может вносить Na^+/H^+ -обменник и Na^+ -глюкозный контранспортер [Dantzler, 2003; Ivanis, Braun, Perry, 2008; Katoh et al., 2008; Nishimura, Imai, 1982; Teranishi, Kaneko, 2010]. В регуляции $NaCl$ в организме может принимать участие $NKCC1$ -транспортёр, обнаруженный в клетках проксимальных сегментах морских рыб на базолатеральной мембране, пресноводных рыб – апикальной мембране, и таким образом опосредующий экскрецию или реабсорбцию соли [Katoh et al., 2008].

Другая функция проксимального канальца нефрона рыб – кальциевый транспорт. В зависимости от солёности воды, в которой обитает организм, проксимальный каналец осуществляет либо реабсорбцию (в условиях пресной воды), либо секрецию (в условиях морской воды) Ca^{2+} . При этом практически у всех видов рыб концентрация Ca^{2+} в плазме крови довольно стабильная (около 1,5 мМ) и не зависит от условий обитания вида. К описанным для рыб кальциевым переносчикам относятся: Ca^{2+} -АТФаза, ECaC -канал [Allen et al., 2011; Marshall, 2005; Sheetal, Peter, Peter, 2020; Wilson, Wilson, Grosell, 2002].

В дистальных трубчатках NaCl реабсорбируется как у морских, так и у пресноводных видов рыб. К ионным транспортёрам, описанным в данной структуре нефрона рыб, относятся Na^+/K^+ -АТФаза и ClC2 (Cl^- -канал) в базолатеральной мембране, и NKCC2 -транспортер ($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -транспортер) и NCC -транспортер (Na^+/Cl^- -котранспортер) в апикальной мембране [Kato et al., 2011; Katoh et al., 2008; Miyazaki et al., 2002; Wojciechowski et al., 2018]. Реабсорбция воды в дистальных трубчатках выше у морских рыб, чем у пресноводных, хотя экспрессия аквапоринов показана не только для дистальных трубочек, но и для проксимальных канальцев почек рыб [Beyenbach, 2004; Katoh et al., 2008].

Na^+/K^+ -АТФаза играет в клетках эпителия почки рыб, как и прочих позвоночных животных, ключевую роль, являясь основным первично активным ионным транспортёром, создающим трансмембранный потенциал. Данный переносчик особенно важен для процессов реабсорбции, и его экспрессия зависит от осмолярности воды, однако на разных видах данные расходятся. Так, активность Na^+/K^+ -АТФазы повышается при переносе из пресной воды в морскую у обыкновенного лаврака *Dicentrarchus labrax*, клиновидной подошвы *Dicologlossa cuneata*, ханоса *Chanos chanos* и японской медаки *Oryzias latipes* и наоборот, при переносе из морской воды в пресную у полосатого басса *Morone saxatilis*, зелёного тетраодона *Tetradon nigroviridis*, японского угря *Anguilla japonica* и индийской медаки *Oryzias dancena* [Herrera et al., 2009; Hiroi, McCormick, 2012; Lin, Tsai, Lee, 2004; Madsen et al., 1994; Nebel et al., 2005; Tang et al., 2010; Tang, Lai,

Lee, 2012; Venturini et al., 1992; Yang et al., 2016]. Одновременно с этим есть виды рыб, демонстрирующие стабильную активность Na^+/K^+ -АТФазы почек при изменениях в солёности воды. К ним относятся атлантический лосось *Salmo salar*, морской лещ *Sparus auratus* и сенегальская соля *Solea senegalensis* [Arjona et al., 2007; McCormick, Moyes, Ballantyne, 1989; Sangiao-Alvarellos et al., 2005].

Экспрессия генов различных субъединиц Na^+/K^+ -АТФазы (у рыб описаны $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ - субъединицы) при миграциях, сопровождающихся изменением солёности воды, также видоспецифична. Так, у тилапии *Oreochromis sp.* в условиях морской воды в почке преобладали субъединицы $\alpha 1$ и $\alpha 3$, а в условиях пресной воды – $\alpha 2$ -субъединица. У ханоса *Chanos chanos*, наоборот, $\alpha 1$ -субъединица была описана как основная в условиях пресной воды, а уровни экспрессии генов $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ -субъединиц не зависели от солёности воды [Yang et al., 2016; Zhu et al., 2018]. Учитывая, что осморегуляторные механизмы сильно варьируют у рыб и видоспецифичны, можно ожидать разный вклад Na^+/K^+ -АТФазы как таковой, а также различных её субъединиц в эпителии почек в процессы реабсорбции в условиях адаптации.

1.2.4. Осморегуляторная функция кишечника

Наравне с жабрами, кишечник является ключевым осморегуляторным органом рыб [Takei et al., 2014]. У видов, обитающих в пресной воде, эта функция кишечника выражается в абсорбции ионов Na^+ и Cl^- , а у морских видов – в абсорбции воды и поддержании кальциевого гомеостаза, что в основном реализуется путём выведения ионов кальция из организма в просвет кишки.

У морских видов рыб пищевой комок разбавляется в желудке, и после поступления в кишечник является слабогиперосмотичным относительно крови. Транспорт воды из люмена (просвета кишки) сопряжён с котранспортом ионов Na^+ и Cl^- , и осуществляется NCC - и NKCC2 -обменниками, расположенными на апикальной мембране энтероцитов. При этом ключевым обменником считается NKCC2 , поскольку на ряде морских видов рыб было показано, что фуросемид или буметанид (блокаторы NKCC -транспортёра) полностью ингибируют абсорбцию

ионов Na^+ и Cl^- . Такой же эффект показывало применение Ba^{2+} , блокатора K^+ -каналов, на основании чего были сделаны выводы о ключевой роли K^+ -каналов как источников трансмембранного градиента K^+ для работы NKCC2-обменника [Ando and Subramanyam, 1990; Ando, Wong, and Takei, 2014; Esbaugh and Cutler, 2016; Frizzell et al., 1984; Loretz, 1995]. Экспрессия генов этого транспортёра также повышается при акклимации к морской воде эвригалинных рыб мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus*, оливковой камбалы *Paralichthys olivaceus*, золотистого спара *Sparus aurata* и пятнистого морского окуня *Lateolabrax maculatus* [Ando, Wong, Takei, 2014; Esbaugh, Cutler, 2016; Gregório et al., 2013; Kim et al., 2013; Li et al., 2014; Zhang et al., 2019]. Для европейского и японского угрей было показано, что экспрессия гена, кодирующего NKCC2-обменник, максимальна в проксимальных отделах кишечника и снижается к дистальной его части. Экспрессия гена, кодирующего NCC1-транспортёр, наоборот, минимальна в начальных отделах кишки и увеличивается к его ректальной части. Также было показано, что в условиях пресной воды, по сравнению с морской, суммарная экспрессия NCC1-транспортёра в кишечнике выше. Для трёхиглой колюшки была описана более высокая экспрессия гена NCC1-обменника по сравнению с NKCC2-обменником [Cutler, Cramb, 2008; Takei, 2021; Watanabe et al., 2011].

На апикальной мембране энтероцитов тилапии также был описан антипортер NHE (Na^+/Cl^- -обменник) и $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -антипортер. На базолатеральной мембране энтероцитов на протяжении всей длины кишечника показана экспрессия Na^+/K^+ -АТФазы, которая, как и в эпителии жабр и почек, является ключевым первичным транспортёром клеток, создавая трансмембранный потенциал и трансмембранный градиент Na^+ . На протяжении всей длины кишечника абсорбируется до 85% жидкости и практически все ионы Na^+ и Cl^- (до 99%) [Cutler, Cramb, 2002; Howard, Ahearn, 1988; Kim et al., 2008; Larsen et al., 2009; Parmelee, Renfro, 1983; Sleet, Weber, 1982].

Двухвалентные ионы Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , присутствующие в морской воде, в кишечнике не всасываются, и по мере абсорбции воды и ионов Na^+ и Cl^- , концентрируются, что затрудняет дальнейшую абсорбцию воды. Однако это

компенсирует энтероцитная секреция HCO_3^- -ионов посредством $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменника, локализованного на апикальной мембране энтероцитов. На работу данного обменника используется порядка 60–70% абсорбированных ионов Cl^- . Бикарбонат-ионы образуют магниевые и кальциевые соли MgCO_3 и CaCO_3 , что не только способствует экскреции из организма ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} , но также снижению их концентрации в содержимом кишечника, что облегчает дальнейшую абсорбцию воды. В отличие от млекопитающих, у рыб возможности почек экскретировать ионы кальция ограничены, поэтому уменьшение их концентрации в кишечнике посредством образования CaCO_3 поддерживает кальциевый гомеостаз рыб и является наиболее эффективным способом вывести ионы кальция из организма. Около половины ионов кальция в просвете кишки находится в виде CaCO_3 , и таким образом лимитируется количество доступных к абсорбции свободных ионов Ca^{2+} . В случае нахождения рыбы в пресной воде образования CaCO_3 не происходит, и все поступающие в организм с водой ионы Ca^{2+} находятся в доступной форме [Grosell, 2006; Walsh et al., 1991; Whittamore, Cooper, Wilson, 2010; Wilson, Grosell, 2003; Wilson, Wilson, Grosell, 2002].

1.2.5. Осморегуляторная функция кожи

Литературные данные, посвящённые осморегуляторной функции кожи, представлены в существенно меньшем количестве, по сравнению с жабрами, почками и кишечником. Большинство современных авторов в основном упоминают кожу как основной орган осморегуляции рыб в процессе эмбрионального развития. В ходе эмбриогенеза рыб, до окончательного формирования эпителия жабр, кожа является главным органом, поддерживающим водно-солевой баланс, осуществляя транспорт ионов Na^+ , Ca^{2+} и Cl^- . В коже мальков *Danio rerio* описаны ионоциты, экспрессирующие H^+ -АТФазу, Na^+/K^+ -АТФазу, NHE3 -обменник (Na^+/H^+ -антипортер) и NCC -котранспортёр. Более того, кожа, но не жабры, почки или кишечник мальков *Danio rerio* реагировала на изменения солёности и pH воды изменением экспрессии генов вышеперечисленных ионных обменников [Guh, Lin, Hwang, 2015; Lewis, Kwong, 2018; Lin, Hwang, 2016; Lin et al., 2008].

Тем не менее, ряд авторов считает, что большая часть (54-80%) инкреторного транспорта Ca^{2+} у костистых рыб осуществляется через кожу. Для кожи *Danio rerio*, мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* и медаки *Oryzias latipes* было показано наличие всех типов ионоцитов, изначально описанных в жабрах этих видов [Evans, Piermarini, Choe, 2005; Hiroi et al., 2008; Hwang, 2009; Hwang, Lee, Lin, 2011; Inokuchi et al., 2009; McCormick, Hasegawa, Hirano, 1992; Perry, Wood, 1985; Wu et al., 2010].

1.3. Опсины и зрение рыб

Спектральные характеристики света в толще морской воды меняются в зависимости от глубины, и отличаются от таковых в пресноводных водоёмах. Так, в морской воде на больших глубинах в спектре преобладает сине-фиолетовая (коротковолновая, 400–520 нм), в прибрежных морских зонах – жёлто-зелёная (средневолновая, 500–600 нм), а в пресноводных реках и озёрах – красная (длинноволновая, 600–700 нм) область [Costa, Novo, Telmer, 2013; Nynatten Van et al., 2021]. Виды рыб, которым в жизненном цикле характерны миграции с переходом из морской воды в пресную или наоборот, демонстрируют пластичность механизмов цветного зрения. Это обеспечивает им эффективную адаптацию к новым условиям обитания. Для трёхиглой колюшки, для которой характерны не только миграции, но и сложное половое поведение, основанное на визуальном выборе партнеров самками и конкуренции между самцами, необходима пластичность цветового зрения и его регуляция [Marques et al., 2017; Rennison et al., 2016].

1.3.1. Механизм действия опсинов и их классификация

Сетчатка играет ключевую роль в восприятии света организмом. Она состоит из нескольких типов нервных клеток, расположенных слоями. Слой клеток, расположенный ближе всего к сосудистой оболочке глаза, образован фоточувствительными клетками: палочками и колбочками. Палочки осуществляют восприятие интенсивности света и отвечают за чёрно-белое зрение. Колбочки чувствительны к свету определённой длины волны, а наличие в сетчатке животных

нескольких типов колбочек, каждый из которых реагирует на разные участки спектра, обуславливает цветное зрение [Saha, Servetnick, Grainger, 1992; Wässle, Boycott, 1991].

На мембране фоточувствительных клеток располагаются фоторецепторы, состоящие из ретиналя, являющегося хромофором, связанного с рецепторным белком из группы опсинов. Внутриклеточная трансдукция сигнала опсином осуществляется посредством G-белка. В состав молекулы опсина входит семь трансмембранных α -спиральных доменов, образующие лиганд-связывающий карман. Ретиналь связан с седьмой спиралью через Шиффово основание. После взаимодействия фотона света с ретиналем он переходит из цис-конформации в транс-конформацию, что приводит к диссоциации субъединиц G_i -белка и дальнейшему внутриклеточному сигналингу, приводящему к закрытию Na^+ - и Ca^{2+} -каналов на мембране фоточувствительных клеток. Гиперполяризация фоточувствительной клетки приводит к генерации рецепторного потенциала [Porter et al., 2012].

В состав разных типов фоторецепторов входят разные опсины, что определяет спектр чувствительности палочек и колбочек (Рисунок 5). В палочках экспрессируется родопсин (класс RH1), чувствительный во всём спектре видимого света, что определяет высокую чувствительность палочек к уровню освещённости. Цветовое зрение осуществляется различными классами опсинов, присутствующих в колбочках. У трёхглазой колюшки описаны четыре класса опсинов. LWS – длинноволновый, с максимальной чувствительностью в красно-зелёной части спектра ($\lambda_{max} = 566\text{--}638$ нм). RH2 – средневолновый опсин, чувствительный к свету зелёно-голубой части спектра ($\lambda_{max} = 514\text{--}546$ нм). Коротковолновых опсинов два: SWS2, чувствительный в сине-фиолетовой области ($\lambda_{max} = 434\text{--}441$ нм), и SWS1, воспринимающий в фиолетовой-ультрафиолетовой части спектра ($\lambda_{max} = 365\text{--}382$ нм) [Bowmaker, 2008; Brock et al., 2018; Yokoyama, 2000].

У разных видов животных количество опсинов и их сочетания различаются и могут зависеть от среды обитания и образа жизни. Животные могут иметь несколько разных опсинов одного класса или не иметь их вообще. При мутациях в

генах опсинов и при замене ретиналя, входящего в состав пигмента, на 3-дегидроретиналь может изменяться спектр поглощения. У разных видов рыб описывают до десяти опсинов, которые возникли ввиду дупликаций генов и их дальнейшего дивергентного расхождения [Bowmaker, 2008; Marshall, Carleton, Cronin, 2015].

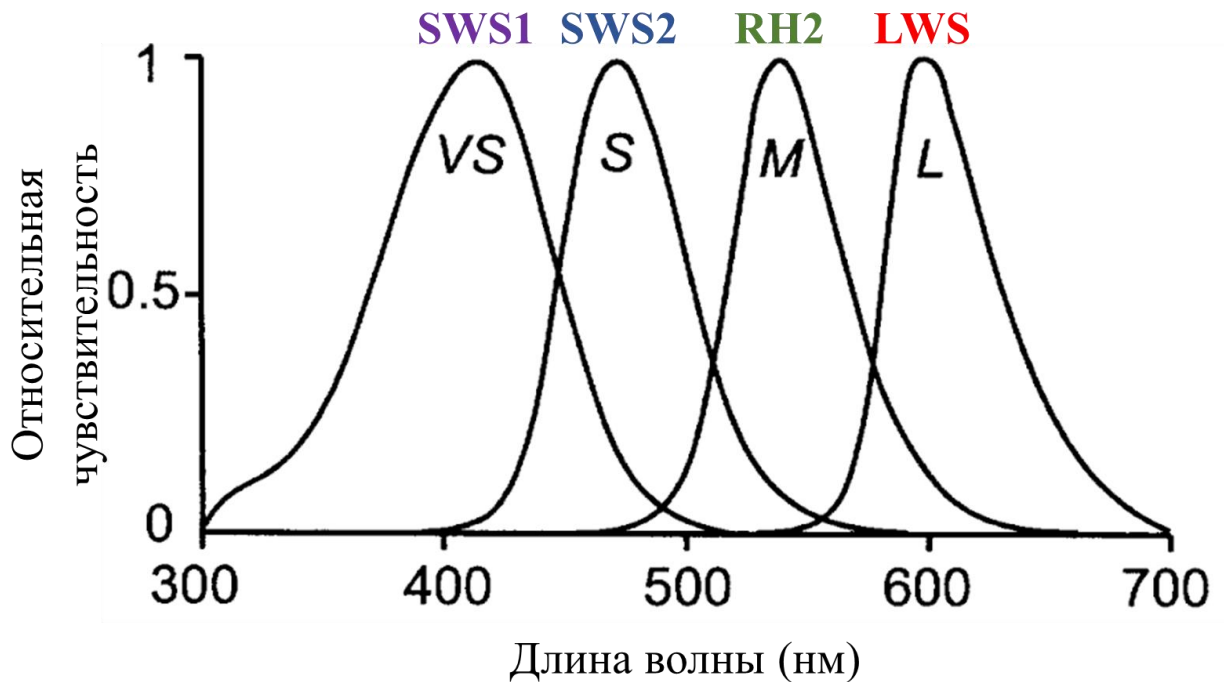


Рисунок 5 – Относительная чувствительность четырёх типов колбочек рыб к световому излучению определяется белком опсином, экспрессируемым в клетке: SWS1 ($\lambda_{\max} = 365\text{--}382$ нм.), SWS2 ($\lambda_{\max} = 434\text{--}441$ нм.), RH2 ($\lambda_{\max} = 514\text{--}546$ нм.), LWS ($\lambda_{\max} = 566\text{--}638$ нм.). Рисунок составлен по [Kelber, Vorobyev, Osorio, 2003]

Экспрессия опсинов напрямую влияет на чувствительность особей к определенным длинам волн. В исследовании на цихлидах озера Малави показано, что повышенная экспрессия гена опсина LWS коррелирует с более высокой чувствительностью к красному излучению [Smith et al., 2012].

1.3.2. Пластичность экспрессии опсинов рыб

В течение жизни в сетчатке рыб динамично меняется чувствительность к свету разных частей спектра, соотношение колбочек и палочек и экспрессия опсинов разных классов. На жёлтом окуне *Perca flavescens*, атлантическом лососе *Salmo salar* и кумже *Salmo trutta* было показано, что с возрастом происходит утрата

чувствительности к ультрафиолетовому излучению [Bowmaker, Kunz, 1987; Kunz, 1987; Loew, Wahl, 1991]. У атлантического лосося такие изменения происходят из-за апоптоза колбочек, содержащих воспринимающий УФ-излучение опсин. При этом на месте погибших колбочек формируются новые палочки. Вероятно, такое изменение в сетчатке некоторых видов рыб происходит при переходе рыб с возрастом к жизни в более глубоких водах, где наблюдается другая поляризация света [Kunz et al., 1994; Kunz, 2006]. Для некоторых видов подобная потеря чувствительности к УФ-излучению является обратимой. При возвращении взрослых особей радужной форели в пресные воды в период нереста утраченная ранее способность воспринимать ультрафиолетовое излучение восстанавливается [Allison et al., 2006].

У гуппи *Poecilia reticulata* на ювенильных стадиях в сетчатке преобладают коротко- и средневолновые опсины SWS2B и RH2-2, в то время как у взрослых особей популяций колбочек, содержащих эти опсины, падает. Это сопровождается увеличением популяции колбочек с длинноволновым опсином LWS, то есть зрение гуппи с возрастом становится более чувствительно к красному свету. Для самок это может принимать участие в различении брачной окраски самцов во время брачного периода, а для самцов в идентификации соперников и поиске пищи, богатой каротиноидами, т.к. именно каротиноиды обуславливают брачную окраску [Laver, Taylor, 2011].

Экспрессия опсинов у рыб также может изменяться во время брачного периода и зависеть от пола. Так, японская медака демонстрирует более высокую экспрессию опсинов всех типов в летний период по сравнению с зимним, что может быть связано с наступлением периода размножения. Если во время этого периода нокаутировать ген опсина LWS, то медака теряет интерес к особям с красным брачным окрасом. У цихлид в озере Малави наблюдаются видоспецифичные различия в экспрессии опсинов между самцами и самками [Sabbah et al., 2010; Shimmura et al., 2017].

Такие условия среды обитания, как солёность и прозрачность воды, а также глубина и освещённость водоёма, влияют на состав опсинов в сетчатке рыб. У рыб,

живущих при низкой освещённости воды, наблюдается преобладание опсинов SWS2A, RH2A и LWS, чувствительных в области длинных волн [Escobar-Camacho et al., 2017]. У группы, которых содержали в условиях оранжевого освещения, экспрессия опсина LWS выше, чем у рыб, выращенных при зеленом освещении. У группы, выращенных в мутной воде, повышена чувствительность к красной области спектра [Ehlman et al., 2015; Sakai et al., 2016].

На киллифиш *Lucania goodei* была показана высокая экспрессия опсинов SWS1 и SWS2B, которые воспринимают фиолетовое и ультрафиолетовое излучение, и низкая экспрессия опсинов LWS и RH2, воспринимающих оранжево-красную область спектра, в сетчатке рыб, обитающих в прозрачной ручейной воде, по сравнению с особями того же вида, живущими в мутных заболоченных водоёмах [Fuller et al., 2004].

1.3.3. Пластичность экспрессии опсинов рыб

Для трехиглой колюшки описаны все четыре типа опсинов колбочек, кодирующиеся четырьмя генами соответственно. Экспрессия генов опсинов у колюшки также пластична и зависит от сезона и условий окружающей среды [Rennison et al., 2016; Rennison, Owens, Taylor, 2012]. Так, во время брачного периода и самки, и самцы трехиглой колюшки становятся более чувствительны к красному цвету. Данное изменение сопутствует появлению у самок предпочтений при выборе партнера, а у самцов периода конкуренции за территорию [Boulcott, Braithwaite, 2007]. Более того, у самцов колюшки интенсивность брачного окраса положительно коррелирует с экспрессией гена опсина LWS, чувствительного в красной области спектра. Таким образом, самцы, занимающие более высокое положение в социальной иерархии, способны лучше распознавать потенциальных конкурентов [Brock et al., 2018].

Глубина и освещённость водоёма также влияют на цветовое зрение трехиглой колюшки. Установлена зависимость уровней экспрессии опсинов в сетчатке самцов колюшки от глубины расположения построенного гнезда. Различия в интенсивности экспрессии генов зрительных пигментов

обнаруживаются уже при разнице глубин в два метра. Подобные изменения связаны в первую очередь с уровнем освещённости и могут проявляться уже через несколько недель после перехода в более глубокие воды. При этом у самцов снижается экспрессия гена SWS1, и, соответственно, чувствительность к коротковолновому излучению [Veen et al., 2017].

Солёность воды также оказывает влияние на экспрессию опсинов в сетчатке трёхиглой колюшки. Рыбы, относящиеся к морской и пресноводной форме, различаются по данному показателю: у рыб пресноводной формы наблюдается сниженная экспрессия опсина SWS1 и повышенная экспрессия RH-2 по сравнению с особями морской формы. Таким образом, пресноводные колюшки более чувствительны к сине-зеленой области спектра и менее восприимчивы к ультрафиолетовому и фиолетовому излучению [Rennison et al., 2016].

1.4. Пролактиновая ось рыб

1.4.1. Два пролактина рыб: сравнение с млекопитающими

Пролактин (далее Prl) – пептидный гормон семейства соматотропина, в которое также входят плацентарный лактоген и соматолактин, присутствующий только у рыб. Длина пептидной цепи пролактина варьирует от 190 до 200 аминокислотных остатков, в зависимости от вида животного, стабилизирована тремя дисульфидными мостиками. И у млекопитающих, и у рыб сначала синтезируется прогормон, от которого в дальнейшем происходит отщепление сигнальной последовательности (28 аминокислот у млекопитающих, 24 аминокислоты у рыб). В отличие от млекопитающих, у большинства костистых рыб нет N-концевого дисульфидного мостика [Bole-Feysot et al., 1998; Rand-Weaver, 1993; Wallis, 1992; Whittington and Wilson, 2013]. У млекопитающих присутствует одна форма пролактина, в то время как у рыб и некоторых других позвоночных, в том числе, цыплят и ящериц, описан пролактин-подобный гормон. Ввиду того, что он гомологичен изначально известному пролактину и имеет сходство к пролактиновым рецепторам, пролактин-подобный гормон получил название Prl-2. Пролактин, открытый ранее у рыб и имеющий большее сходство с пролактином млекопитающих, соответственно, называется Prl-1. Длина

полипептидной цепи пролактина и пролактинподобного гормона у разных видов рыб варьирует, но обычно в состав Prl-2 входит меньше аминокислот, чем в состав Prl-1. Для некоторых рыб пролактины называют в соответствии количеству аминокислотных остатков в каждом из них (например, у тилапии Prl-1 называют пролактином-188, а Prl-2 пролактином-177). Третичные структуры Prl-2 и Prl-1 очень сходны, особенно в области 1 петли, что позволяет Prl-2 избирательно взаимодействовать с пролактиновыми рецепторами [Huang et al., 2009; Wang et al., 2010].

Гены обоих пролактинов рыб, как и гены гормонов всего семейства соматотопина, имеют 4 интрона и 5 экзонов. Prl-1 у всех рыб, как упоминалось ранее, стабилизирован лишь двумя дисульфидными мостиками, в отличие от млекопитающих, в то время как у Prl-2 описаны все три дисульфидные связи. Исключение составляют только акулы, Prl-2 которых имеет два дисульфидных мостика. Интересно, что у рыбы фугу обнаружено два варианта гена Prl-2, так называемые Prl-2a и Prl-2b [Goffin et al., 1996; Huang et al., 2009; Wang et al., 2010].

Гомология Prl-1 и Prl-2 внутри одного вида достаточно низка по сравнению с гомологией Prl-1 и Prl-2 между различными видами. Это позволяет сделать вывод о раннем расхождении этих двух генов и их независимой эволюции у разных видов. При этом отмечается, что на ген пролактина млекопитающих больше похож Prl-1 рыб, а при сравнении аминокислотной последовательности Prl-1 некоторых видов рыб (в частности, леща и *Danio rerio*) гомология Prl-1 внутри группы костистых рыб была гораздо выше, чем между рыбами и тетраподами [Chang, Huang, Lo, 1992; Doliana et al., 1994; Huang et al., 2009; Noso et al., 1993; Santos et al., 1999].

Структура пролактина и его гомология внутри разных таксонов животных обращает на себя внимание исследователей, которые занимаются филогенетикой рыб. Наличие двух гормонов, не являющихся различными сплайсинговыми формами одного гена, а продуктами разных генов, объясняется теорией дубликации генома, дважды произошедшей в эволюционном развитии рыб. Результатом первой дубликации стали два гена, каждый из которых после второй дубликации разделился на соматотропин и соматолактин и *prl-1* и *prl-2* соответственно [Bu et al., 2015; Power, 2005; Venkatesh, 2003].

Методы молекулярной биологии и иммуноферментного анализа позволили идентифицировать ткани, которые продуцируют пролактин-1 у тетрапод и рыб. Основным органом эндокринной секреции пролактина-1 у всех животных является гипофиз, однако множество тканей также секретируют пролактин. У людей к ним относятся: молочная железа, мозг, холангиоциты, децидуальные клетки плаценты, сетчатка глаза, тимус, селезёнка, лимфоциты, фибробласты, эндометрий, кожа, простата, гематопозитические клетки. При этом гипофизарная секреция пролактина является эндокринной, в то время как пролактин, выделяющийся из других тканей, в основном оказывает ауто- и паракринные эффекты. Характер питуитарной секреции пролактина отличается волнообразной динамикой, связанной с волнообразным паттерном секреции дофамина, основного регулятора, при этом негативного, центрального выделения пролактина. Экстрапитуитарная секреция пролактина подобной волновой динамикой не обладает [Ben-Jonathan et al., 1996; Ben-Jonathan, Hnasko, 2001; Hnasko et al., 2006].

Секреция пролактина-1 у костистых рыб, как и у млекопитающих, является центральной, гипофизарной. Минорными источниками данного гормона являются кишечник (второй по активности экспрессии пролактина орган), семенники, яичники, жабры и печень. В этих органах он оказывает паракринную или аутокринную регуляцию [Clarke, Vern, 2012; Imaoka, Matsuda, Mori, 2000; Santos et al., 1999]. Экспрессия гена пролактинподобного гормона *prl2* в гипофизе рыб не обнаружена, однако наблюдается в сетчатке глаза и в мозге *Danio rerio*; в минорных количествах – в почке. Отмечается участие Prl-2 в развитии мозга и сетчатки глаза у рыб [Huang et al., 2009].

Экспрессия гена пролактина в гипофизе млекопитающих находится под контролем белка из семейства белков гомеодомена POU Pit 1, поэтому посттрансляционные модификации Pit 1 могут регулировать и влиять на экспрессию пролактина. Модуляция активности Pit 1 позволяет ему лимитировать количество пролактина, синтезируемого лактотрофами гипофиза. Подобная регуляция питуитарной экспрессии Prl-1 наблюдается и у рыб, что было доказано на карпе *Cyprinus carpio*. Pit 1-связывающие домены ДНК зависят от цАМФ и

кальция, поэтому активация этих внутриклеточных систем приводит к повышению секреции пролактина лактотрофами гипофиза [Ben-Jonathan, Hnasko, 2001; Ben-Jonathan, LaPensee, LaPensee, 2008; Kausel et al., 2006].

В экстрапитуитарных тканях, продуцирующих пролактин-1, его секреция находится под контролем не Pit 1, а под действием другого промотора, и в результате разнообразия сайленсеров и енхансеров влияния на промотор *prl1* могут быть как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения секреции *prl1* [Ben-Jonathan, LaPensee, LaPensee, 2008].

Экспрессия гена *prl2* у рыб также не зависит от Pit 1. Ген *prl2* имеет другой промотор, активируемый такими транскрипционными факторами как STAT, CREB, Sp1 и NFAT [Wang et al., 2010].

1.4.2. Пролактиновые рецепторы рыб

Рецепторы пролактина, как и рецепторы соматотропина, лептина и эритропоэтина, относятся к классу I суперсемейства цитокиновых рецепторов. У млекопитающих присутствуют длинная, средняя и короткая изоформы рецептора пролактина, образующиеся путём альтернативного сплайсинга и имеющие консервативные внеклеточные домены и вариативные внутриклеточные (в частности, у короткой формы отсутствует box2, за счёт чего она не проводит сигнал, опосредованный STAT-белками) [Vole-Feysot et al., 1998].

У рыб описано два рецептора пролактина, являющиеся продуктами двух генов. Рецептор пролактина, обнаруженный ранее, получил название PrlR-1 или PrlRa, и имеет больше гомологии с рецептором пролактина млекопитающих. Рецептор, открытый позднее, назвали PrlR-2 или PrlRb. Оба рецептора имеют наибольшее сходство с длинной изоформой пролактинового рецептора млекопитающих. Структура PrlR-2 очень сходна со структурой PrlR-1 и вообще всего класса рецепторов цитокинов, однако у PrlR-2, как у короткой изоформы рецептора млекопитающих, отсутствует домен box2. PrlR-1 больше, чем PrlR-2, схож с длинной изоформой рецептора пролактина млекопитающих [Higashimoto et al., 2001; Prunet et al., 2000; Sandra et al., 1995; Santos et al., 2001; Tse et al., 2000]. В

настоящее время отсутствует единая система названий рецепторов, и у некоторых видов, в частности, колюшки, рецепторы обозначаются буквами а и б без соотнесения их с пролактиновыми рецепторами других видов. Поэтому в данный момент остаётся неизвестным, какой из пролактиновых рецепторов трёхиглой колюшки является box2-содержащим, а в каком box2 отсутствует.

Для *Danio rerio* также было показано, что только Prl-1 может активировать PrlR-1 и PrlR-2, в то время как Prl-2 активирует лишь PrlR-1. При этом большим сродством к PrlR-1 обладает Prl-1 в сравнении с Prl-2. Как Prl-1, так и Prl-2 *Danio rerio* взаимодействуют со своими рецепторами подобно человеческому пролактину ввиду сильной гомологии рецептор-связывающих доменов. Впервые механизм сигналинга пролактина путём тримеризации с двумя молекулами рецептора для рыб был показан у форели [Huang et al., 2009; Rouzic et al., 2001].

Наиболее хорошо изучена передача сигнала внутрь клетки длинной изоформой пролактинового рецептора, с которой связан каскад JAK/STAT, универсальный для всех позвоночных. Нерецепторные тирозиновые киназы JAK, связанные с примембранным участком внутриклеточного домена длинной изоформы рецептора, после активации фосфорилируют тирозиновые остатки внутриклеточного домена рецептора, что позволяет связаться с ними SH2-доменам транскрипционных факторов семейства STAT (signal transducers and activators of transcription).

Затем JAK активируют фосфорилированием STAT, они димеризуются и транспортируются в ядро, где активируют гены, имеющие в своём промоторе гамма-интерферон чувствительный элемент (GAS).

Терминация сигналинга происходит с помощью активируемых белками STAT белков семейства SOCS, которые конкурируют за сайты связывания STAT с рецептором и инактивируют JAK. Помимо этого, SOCS могут направлять промежуточные звенья каскада на протеосомную деградацию [Bole-Feysot et al., 1998; Howard, Flier, 2006].

JAK/STAT-сигналинг пролактина, хорошо изученный у *Danio rerio*, осуществляется при участии JAK1, JAK2a и JAK2b и STAT1, STAT3, STAT5.1 и

STAT5.2. Молекулы JAK и STAT Danio rerio обладают высокой гомологией (60–90%) со своими аналогами у млекопитающих [Conway et al., 1997; Lewis, Ward, 2004; Oates et al., 1999a; Oates et al., 1999b; Yamashita et al., 2002].

Несмотря на то, что остальные способы сигналинга пролактиновых рецепторов, такие как PI3K-путь, Src-путь, Fin-путь, MAPK-каскад пока не были показаны для рыб *in vivo*, вероятность возможности их осуществления, по мнению некоторых учёных, очень велика ввиду того, что: у млекопитающих и рыб активация пролактиновых рецепторов идентична; высока гомология белков, принимающих участие в передаче сигнала, найденных у млекопитающих и рыб; некоторые антитела и ингибиторы, специфичные для сигнальных каскадов млекопитающих, с успехом применяются в исследованиях на рыбах. К тому же есть данные о том, что в линии клеток при лигандзависимой активации только PrlR-1 мог активировать промотор Spi [Huang et al., 2007; Nguyen, Stellwag, Zhu, 2008].

Оба типа пролактиновых рецепторов рыб экспрессируются в осморегуляторных органах: жабрах, почках, кишечнике, что связывают с влиянием пролактина на водно-солевой баланс. При этом у морского леща, азиатского паралихта (*Paralichthys olivaceus*) и *Kryptolebias marmoratus* в жабрах преимущественно экспрессировался рецептор второго типа, а в почках и кишечнике – первого.

Оба рецептора экспрессируются одинаково интенсивно в гонадах (за исключением паралихта, для которого показана экспрессия рецепторов в гонадах самцов, но не самок), в остальных тканях экспрессия пролактиновых рецепторов слабая с небольшим преобладанием PrlR-1 над PrlR-2 [Bole-Feysot et al., 1998; Higashimoto et al., 2001; Huang et al., 2007; Khong et al., 2009; Santos et al., 2001].

У тилапии *Oreochromis niloticus* есть только один тип рецептора пролактина, и его представленность в тканях схожа с таковой у других рыб: он активно экспрессируется в жабрах, почках и кишечнике, а также в меньшем количестве в других тканях, таких как мозг, кожа, гонады, селезёнка и даже на лимфоцитах [Auperin et al., 1995; Pierce et al., 2007; Rhee et al., 2010; Sandra et al., 2000].

1.4.3. Осморегуляторная функция пролактина рыб

Пролактин у рыб первоначально был известен как осморегуляторный гормон, в частности, как гормон, обуславливающий адаптацию к пресной воде. Осморегуляторные ткани рыб, включая кожу, характеризуются высокой экспрессией пролактиновых рецепторов [Khong et al., 2009; Lee, Kaneko, Aida, 2006; Sandra et al., 2000; Santos et al., 2001; Yuan et al., 2017].

У гипофизэктомированных тилапий экзогенный пролактин способствует адаптации к пресной воде, опосредуя активацию NCC-клеток жабр и усиление их рециклизации. При пересадке тилапий из морской воды в пресную концентрация обоих пролактинов в плазме растёт, а при обратном пересадке из пресной воды в морскую – повышается экспрессия пролактиновых рецепторов в жабрах [Breves et al., 2010, 2011; Pierce et al., 2007]. В ходе адаптации нильской тилапии *Oreochromis niloticus* к солоноватой воде функции пролактина и пролактинподобного гормона различаются: пролактин регулирует транспорт ионов Na^+ и Cl^- через мембрану, а пролактинподобный гормон вносит вклад в осморегуляцию, лишь понижая проницаемость мембран для воды. Для мозамбикской тилапии *O. Mossambicus* характерен равный вклад обоих гормонов в осморегуляцию [Auperin et al., 1994; Young et al., 1988].

На жабры пролактин оказывает влияние через оба типа своих рецепторов, экспрессирующихся непосредственно ионоцитами [Santos et al., 2001; Weng, Lee, Hwang, 1997]. В ткани жабр обыкновенного лаврака *Dicentrarchus labrax* относительные количества мРНК пролактинового рецептора а были выше после пресноводной адаптации, а экспрессия гена пролактинового рецептора б менялась в противоположную сторону [L'Honoré et al., 2020]. Предположительно, поскольку жабры непосредственно контактируют с внешней средой, при переходе рыб в пресную воду экспрессия генов пролактиновых рецепторов ионоцитов жабр изменяется быстрее, чем генов пролактина лактотрофов гипофиза, и начальные стадии пресноводной адаптации регулируются именно таким механизмом, а изменения концентрации пролактина в плазме наблюдаются на поздних стадиях. У мозамбикской тилапии подобные изменения были описаны в ходе изучения

быстрой адаптации особей к суточным колебаниям солёности воды: концентрация обоих пролактинов в плазме изменялась незначительно в течение суток, в отличие от уровней мРНК пролактиновых рецепторов 1 и 2 в жабрах. При этом снижение экспрессии генов рецепторов пролактина было более динамичным, чем увеличение, и наблюдалась обратная зависимость экспрессии гена пролактинового рецептора 1 и прямая зависимость гена пролактинового рецептора 2 от солёности воды [Pavlosky et al., 2019; Seale et al., 2019].

Действие пролактина на активность Na^+/K^+ -АТФазы жабр неодинаково для разных видов рыб: у некоторых он её понижает (*Chelon labrosus*, *Salmo trutta*, *Oncorhynchus mykiss*, *Morone saxatilis*), у некоторых повышает (*Salmo salar* L., *Anabas testudineus*), а у некоторых видов рыб не влияет на активность переносчика (*Ictalurus punctatus*, *Oreochromis mossambicus*) [Boeuf et al., 1994; Eckert et al., 2001; Gallis, Lasserre, Belloc, 1979; Leena, Oommen, 2000; Madsen, Nishioka, Bern, 1997; Madsen Steffen, Bern Howard, 1992; Young et al., 1988]. Влияние пролактина на экспрессию в жабрах Na^+/K^+ -АТФазы также разное для разных видов рыб: он в разных исследованиях понижал (*Sparus sarba*) или не влиял (*Salmo trutta*) на интенсивность экспрессии транспортера [Deane, Kelly, Woo, 1999; Seidelin, Madsen, 1999]. В жабрах гипофизэктомированной мозамбикской тилапии при пресноводной адаптации наблюдается снижение экспрессии мРНК Na^+/K^+ -АТФазы. У особей, которым при этом вводили экзогенный пролактин, количества мРНК Na^+/K^+ -АТФазы были сопоставимы с таковыми у рыб, не претерпевших гипофизэктомию до переноса в пресную воду [Tipsmark et al., 2011].

У мозамбикской тилапии и *Danio rerio* пролактин стимулирует захват из внешней среды ионов Na^+ и Cl^- , увеличивая экспрессию гена NCC2 на апикальной мембране NCC-ионоцитов, при этом не влияя на другие натриевые переносчики, как *in vivo*, так и *in vitro* [Breves et al., 2013; Breves et al., 2017; Breves, 2019].

Пролактин оказывает влияние на морфологию, развитие и количество ионоцитов. Также было показано его положительное влияние на развитие NCC-ионоцитов, которые осуществляют перенос ионов натрия и хлора внутрь организма, при переносе рыб в пресную воду. При выключении работы гена

пролактина у *Danio rerio* наблюдалось уменьшение популяции NCC-ионоцитов [Breves et al., 2010, 2013; Foskett, Machen, and Bern, 1982; Madsen et al., 1997; McCormick, 1995]. Таким образом, в жабрах пролактин влияет на NCC-ионоциты.

Эффект, оказываемый пролактином на почки рыб, диуретический и антинатрийуретический.

Влияние пролактина на ионные переносчики в почке у разных видов рыб варьирует: он может как увеличивать (*Chelon labrosus*), так и уменьшать (*Salmo salar*, *Salmo trutta*) активность Na^+/K^+ -АТФазы [Gallis, Lasserre, Belloc, 1979; Madsen, Nishioka, Bern, 1997; McCormick, Moyes, Ballantyne, 1989]. Однако эндокринная регуляция почек у рыб и её молекулярные механизмы исследованы не очень детально.

В кишечнике действие пролактина также видоспецифично: у большинства он снижает абсорбцию воды и ионов Na^+ и Cl^- , и подавляет активность Na^+/K^+ -АТФазы. Для некоторых лососевых видов был показан противоположный эффект [Collie, Hirano, 1987; Kelly, Chow, Woo, 1999]. Пролактин снижает секрецию HCO_3^- в кишечнике морского леща *in vitro*, подавляя экспрессию гена NBC-обменника ($\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -котранспортёр) [Breves et al., 2020b; Ferlazzo et al., 2012]. В кишечнике мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* была показана экспрессия генов обоих пролактиновых рецепторов (*prlr1* и *prlr2*), при этом экспрессия гена *prlr2* у адаптированных к условиям морской воды тилапий была выше по сравнению с пресноводными [Breves et al., 2020b; Seale et al., 2014].

Поскольку осморегуляторный эффект пролактина выражается в адаптации к условиям гипоосмотичности, логично предположить, что секреторная активность лактотрофов, в свою очередь, зависит от солёности воды, в которой находится животное. Для японского угря *Anguilla japonica* это было показано методами ПЦР в реальном времени и гибридизацией *in situ*: при помещении рыб в воду с высокой по отношению к пресной воде концентрацией NaCl гипофизарная экспрессия генов пролактина снижалась. Примечательно, что при помещении особей в воду с высоким содержанием CaCl_2 данный эффект не наблюдался, что позволяет сделать вывод о том, что активность пролактинпродуцирующих клеток гипофиза

регулируется в первую очередь концентрацией ионов Na^+ [Katayama et al., 2020]. Данные РНК-секвенирование мозга нильской тилапии свидетельствуют в пользу того, что после длительной (49 дней) адаптации особей к условиям морской воды экспрессия гена пролактина-1 изменилась сильнее остальных, притом в негативную сторону [Liu et al., 2018]. Наоборот, при адаптации особей азиатского паралихта *Paralichthys olivaceus* к гипоосмотическим условиям количество мРНК пролактина в гипофизе повышалось, достигая пикового значения на пятый день [Yuan et al., 2017]. В плазме мозамбикской тилапии также была показана повышенная концентрация пролактина у особей, находившихся в пресной воде, по сравнению с особями, находившимися в морской воде. Этот параметр отрицательно коррелировал с осмолярностью плазмы крови [Pavlosky et al., 2019].

Таким образом, в качестве основной и общей для подавляющего большинства рыб мишени пролактина выделяют NCC -ионоциты жабр, а прочие мишени и влияние на них пролактина видоспецифично. Для полного понимания эффектов пролактиновой регуляции необходимо выявлять его влияние на Na^+/K^+ -АТФазу почек и кишечника, поскольку функции, осуществляемые ими, могут вносить сильный вклад в водно-солевой баланс рыб.

1.4.4. Репродуктивная функция пролактина рыб

Репродуктивная функция пролактина стала предметом изучения гораздо позднее осморегуляторной. Имеющуюся на данный момент информацию по этой теме можно объединить по суммарным физиологическим эффектам и проявлениям, однако общие для рыб механизмы, посредством которых пролактин опосредует репродуктивные эффекты, пока выделить сложно.

Обнаружение пролактиновых рецепторов в ткани гонад, а также на сперматогониях и ооцитах рыб свидетельствует в пользу влияния пролактина на репродукцию. Впрочем, на данный момент остается неясным, какие именно молекулярные механизмы вовлечены в регуляцию. Как мРНК пролактиновых рецепторов, так и её белковый продукт были обнаружены в ткани гонад ряда видов рыб: мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus*, нильской тилапии

Oreochromis niloticus, золотистого спара *Sparus aurata*, азиатского паралихта *Paralichthys olivaceus*, золотой рыбки *Carassius auratus*, рыбы фугу *Takifugu rubripes* и звёздчатой камбалы *Platichthys stellatus* [Cavaco et al., 2003; Ederly et al., 1984; Higashimoto et al., 2001; Lee, Kaneko, Aida, 2006; Noh, Lim, Kim, 2013; Sandra et al., 2000; Santos et al., 2001; Tse et al., 2000]. На основании этих данных можно сделать предположение о вовлечённости пролактина в процессы сперматогенеза, вителлогенеза и, возможно, овуляции. У *Paralichthys olivaceus* наблюдается зависимость экспрессии гена *prlr* в гонадах от пола: рецепторы идентифицировали у самцов, но не у самок [Cavaco et al., 2003; Higashimoto et al., 2001].

Другим свидетельством в пользу связи пролактина с репродуктивной функцией, является связь пролактиновой и гонадотропной осей. Для рыб, в частности, золотистого спара *Sparus aurata*, было показано стимулирующее влияния эстрогеновой оси на пролактиновую, что согласуется с данными, полученными на млекопитающих. На кете *Oncorhynchus keta* было обнаружено, что половые стероиды и гонадотропин-рилизинг гормон регулируют уровень пролактина во время созревания рыб. По мере развития гонад лягушкового клариевого сома *Clarius batrachus* была обнаружена корреляция между уровнями пролактина и гонадотропинов, которые достигали своего максимума во время нереста [Brinca, Fuentes, Power, 2003; Cavaco et al., 2003; Onuma et al., 2010; Singh, Singh, 1981]. Также было обнаружено участие пролактина в развитии гонад у самок и самцов и стероидогенезе у мозамбикской тилапии, у гуппи *Poecilia reticulata* – в стероидогенезе ооцитов, у обыкновенного фундулюса *Fundulus heteroclitus* – также в развитии гонад [Rubin, Specker, 1992; Singh et al., 1988; Tan et al., 1988].

Существенный вклад в физиологию репродуктивной системы пролактин может вносить, влияя на поведение рыб, в частности, есть ряд работ, показывающих значимость пролактина для регуляции полового поведения в период постройки гнезда и родительского поведения самцов. В поддержку этому служит тот факт, что у млекопитающих и птиц часто существует связь между содержанием пролактина в плазме и уровнем андрогенов в период отцовского родительского поведения. Особи, которым были сделаны инъекции пролактина овец, демонстрировали увеличение

частоты вентиляции своих пустых гнезд. Степень воздействия пролактина зависит от дозы, причем слишком высокие концентрации приводят к ингибированию процессов обмахивания. Также влияние пролактина на родительское поведение было показано для ряда других костистых рыб, в частности, на примере цихлиформных рыб, вынашивающих свое потомство во рту [Ruiter de et al., 1986; Slijkhuis et al., 1984]. Так, у мозамбикской и нильской тилапии регистрируются повышенный уровень пролактина-177 и в период нереста, и после него, когда мальки живут во рту у самки [Tacon et al., 2000; Weber, Grau, 1999].

1.4.5. Влияние пролактина на сетчатку рыб

Для сетчатки пролактин является трофическим фактором и снижает дегенеративные процессы, оказывая антиапоптотическое действие. У *Danio rerio* после нокаута гена пролактина увеличивается количество апоптотических клеток в мозге и глазах [Nguyen, Zhu, 2009].

Prl2, пролактиноподобный гормон, описанный у рыб, экспрессируется в основном в мозге и глазах зебра фиш *Danio rerio*. Пролактиноподобный гормон секретируется во всех трех нейронных слоях сетчатки: ганглионарном, внешнем и внутреннем ядерных. Подавление экспрессии гена *prl2* в этих слоях сетчатки приводит к снижению экспрессии *isl-1* – фактора дифференциации клеток сетчатки. Таким образом, пролактиноподобный гормон играет важную роль в раннем развитии сетчатки *Danio rerio* [Huang et al., 2009].

Возможно, некоторые свои эффекты пролактин может оказывать на сетчатку опосредованно через гормоны гонадотропной оси. Поэтому регуляция экспрессии генов опсинов колюшки половыми стероидами заслуживает упоминания.

У самцов трехиглой колюшки андрогены положительно регулируют экспрессию гена опсина LWS *lws*. У кастрированных особей экспрессия данного опсина снижена, но восстанавливается после введения экзогенных андрогенов [Shao et al., 2014].

Введение тестостерона самцам золотой рыбки вызывает изменение их реакций на зрительные стимулы, в том числе на самок. Если при этом ввести

антагонист эстрогенового рецептора β , то эффект блокируется. Это свидетельствует о важности ароматизации тестостерона в процессе его влияния на сетчатку [Yue et al., 2018]. При введении андрогенов самкам золотой рыбки они демонстрировали в ответ на зрительные стимулы реакции, характерные для самцов в брачный период [Thompson et al., 2004].

На самках гамбузии установлено, что повышение концентрации экзогенного β -эстрадиола приводит к дозозависимому изменению экспрессии генов опсинов *sws2a*, *rh2*, *rh1*, а также повышению экспрессии генов андрогенных рецепторов *ara* и *ar β* в сетчатке этих рыб [Friesen, Ramsey, Cummings, 2017].

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Биологический материал

2.1.1. Экспериментальные группы животных

Работа проводилась на половозрелых особях трёхиглой колюшки *G. aculeatus* L., отловленных в нерестовый период из прибрежной зоны Ругозёрской губы Белого моря у Беломорской биологической станции имени Н. А. Перцова в июне 2016, 2017, 2018 и 2019 гг. Ориентируясь на размер и окрас особей, их делили по полу и формировали контрольные и экспериментальные выборки самок и самцов. Особей содержали в одинаковых непрозрачных аквариумах объёмом 20 л., поддерживая естественный уровень освещения и температурный режим. До проведения экспериментов особей адаптировали к условиям в течение суток. По окончании эксперимента у рыб собирали плазму крови для определения концентрации ионов Na^+ и K^+ , измеряли морфометрические показатели (длина и масса тела, масса печени, гонад и почек), фиксировали материал (в зависимости от эксперимента) ткани мозга (вместе с гипофизом), жабр, кишечника, сетчатки для анализа экспрессии генов интереса в IntactRNA (Evrogen, Россия).

2.2. Материалы

1. *Материалы для модели пресноводной адаптации и гиперпролактинемии:*
 - аквариумы объёмом 20 л с непрозрачными синими стенками;
 - сачки и ёмкости для отсадки особей;
 - инсулиновые шприцы для инъекций объёмом 1 мл;
 - раствор Рингера для рыб;
 - oPrl (лиофилизированный овечий пролактин, National hormone and peptide program, Лос-Анджелес, США).
2. *Материалы для препаровки особей и фиксации тканей:*
 - набор инструментов для хирургических операций: пинцет, глазные пинцеты, ножницы, микроскальпель;
 - реагент IntactRNA (Evrogen, Россия);

- пробирки объемом 1,5 мл (SSIBio, Калифорния, США);
- пробирки объемом 0,2 мл (SSIBio, Калифорния, США);
- весы аналитические РА 64С (OHAUS, Швейцария).

3. *Материалы для атомно-абсорбционной спектроскопии:*

- трихлоруксусная кислота (Диа-М, Россия);
- спектрометр Квант-2м1 (Кортэк, Россия).

4. *Материалы для выделения РНК из тканей:*

- пробирки объемом 1,5 мл (SSIBio, Калифорния, США);
- пестики для гомогенизации (SSIBio, Калифорния, США);
- реагент ExtractRNA (Evrogen, Россия);
- хлороформ (Химмед, Россия);
- ацетат натрия (NaAc, 3М, pH=5,5);
- линейный акриламид;
- безРНКазная вода;
- колонки RNEasy (Evrogen, Россия);
- β-меркаптоэтанол (Sigma, США);
- 70° этиловый спирт.

5. *Материалы для проведения электрофореза:*

- форезная камера;
- трансиллюминатор;
- бромистый этидий (Sigma, США);
- агароза (Helicon, Россия);
- буфер TBE (Sigma, США).

6. *Материалы для проведения обратной транскрипции:*

- амплификатор BioRad T100 (BioRad, США);
- пробирки объемом 0,2 мл (SSIBio, Калифорния, США);
- MMLV-kit: MMLV-ревертаза, ДТТ, dNTP, 5-кратный буфер для проведения ОТ (Evrogen, Россия);
- вырожденные праймеры (Evrogen, Россия);

- безРНКазная вода.

7. Материалы для проведения ПЦР в реальном времени:

- амплификатор для проведения ПЦР в реальном времени StepOnePlus (Applied Biosystems, США);
- амплификатор для проведения ПЦР в реальном времени Bio Rad CFX96 Real-Time System C100 Touch Thermal Cycler (BioRad, США);
- набор для проведения ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем SYBRgreen и низкой концентраций ROX (Evrogen, Россия);
- праймеры к генам интереса и референсным генам (Evrogen, Россия, см. Таблицу 1).

Таблица 1 – Последовательности праймеров для ПЦР в реальном времени

Белковый продукт	Ген	Нуклеотидная последовательность, 5'-3'	Длина ампликона
Пролактин	<i>prl1</i>	for ACCTGGACTCGCATTTGCCTCTC rev AAGGTCGACTCTGGTACTTGAAG	125
Пролактинподобный гормон	<i>prl2</i>	for TCCAATAAAGCCCTAGAGATGAG rev AGGCTGCTGACGGTGTGCTTAT	113
Пролактиновый рецептор a	<i>prlra</i>	for CGGCGATCTGGGTCAACTAC rev GGAGGATTAGGCTGAACGATGT	112
Пролактиновый рецептор b	<i>prlrb</i>	for CGACGACAGCCCTCTACTT rev GACGTGTA CTCTGCCACTT	132
$\alpha 1$ -субъединица Na^+/K^+ -АТФазы	<i>atp1a1</i>	for ACCTGGACGATCACAAGTTAACC rev TGGAAAGACCCCTGGCTAGA	120
$\alpha 2$ -субъединица Na^+/K^+ -АТФазы	<i>atp1a2</i>	for ACAATCCCTCCGGTCACATT rev CATATGCTGCTGCACCTGT	103
$\alpha 3$ -субъединица Na^+/K^+ -АТФазы	<i>atp1a3</i>	for AGCCGAGATCCCCTTCAACTCCA rev GCTCCTTCCCCTGCACCAGGA	124
НКСС1a-обменник	<i>nkcc1a</i>	for TGTCCTCATCACTGCCATCA rev CATAGCCGAAGTAGCCAG	135
НКСС2-обменник	<i>nkcc2</i>	for GTGTGGTCAGAGGAGGAGGA rev TGGCAAAGGCAAAAATAAGG	112
НСС-транспортёр	<i>ncc</i>	for GTTCTTGCTGACTTGGTGGG rev ACCTCGGGCTTCTTGTAGAC	126
ЕСАС (Ca^{2+} -насос)	<i>ecac</i>	for TTCGAGAGAGGAGCTCTCGG rev GGGCTCGTTGATGAGTTCAGG	110
Na^+/H^+ NHE2-обменник	<i>nhe2</i>	for TGCCTGCCCAACGA rev TGGCGTGGCGTCTTATCAA	130
Na^+/H^+ NHE3-обменник	<i>nhe3</i>	for TCCTACCTGACCGCTGAGATG rev CGCCACAGAAGGTGATCGA	116

Продолжение Таблицы 1

Белковый продукт	Ген	Нуклеотидная последовательность, 5'-3'	Длина ампликона
Опсин SWS1 (коротковолновая область)	<i>sws1</i>	for TGGAGCAGGTACATCCCTGA rev GAGCTGCTACAGCTCGAAGA	184
Опсин SWS2 (коротковолновая область)	<i>sws2</i>	for GCAAGCCGCTTGGTAACTTC rev TCTGGGATGTACCTGCTCC	124
Опсин RH2 (область волн средней длины)	<i>rh2</i>	for GTACCTTCCTGAGGGCATG rev GGCTGCGGCAGCTTTGACT	135
Опсин LWS (длинноволновая область)	<i>lws</i>	for GCTGCGGCTAACCCTGGA rev ACATGAACGGAAGTCCCGG	126
Рибосомальный белок 13 α	<i>rpl13α</i>	for CACCTTGGTCAACTTGAACAGTG rev TCCCTCCGCCCTACGAC	178
Убиквитин с	<i>ubc</i>	for AGACGGGCATAGCACTTGC rev CAGGACAAGGAAGGCATCC	180
Трансдуцин	<i>gnat2</i>	for GTTACTGCTTGGTGCTGGTG rev CTTCCTGTGCATTCTCCTGTGA	211

2.3. Экспериментальные методы

2.3.1. Эксперименты *in vivo*

А. Модель острой пресноводной адаптации в динамике

Особей отлавливали в нерестовый период 18–20 июня 2018 года, разделяли по полу. Далее формировали группы самок и самцов, которые содержали отдельно, и в течение 24 часов адаптировали к условиям эксперимента. Контрольные группы (группы «К», $n = 6$) самок и самцов колюшек содержали в условиях морской воды. Экспериментальные группы содержали в пресной воде в течение 3, 6, 12, 18 и 24 часов (группы «3», «6», «12», «18» и «24» соответственно, $n = 6$). Воду в аквариумах меняли регулярно, в контрольном аквариуме смену морской воды осуществляли в том же режиме, что и смену пресной воды для опытных групп. По окончании эксперимента у самок, а также у α -самцов измеряли морфометрические показатели, забирали ткань мозга вместе с гипофизом и фиксировали в IntactRNA для определения уровней мРНК генов *prl1*, *prl2*, *prlra*, *prlrb*. Схематическое изображение эксперимента представлено на Рисунке 6а.

Б. Модель хронической пресноводной адаптации

Особей отлавливали в нерестовый период 5–7 июня 2016 года, особей разделяли по полу и адаптировали к условиям эксперимента в течение 24 часов.

Контрольные группы (группы «К», $n = 6$) содержали в морской воде, экспериментальные группы содержали в пресной воде в течение 72 часов (группы «72», $n = 6$). По окончании эксперимента у особей самок и α -самцов измеряли морфометрические показатели, забирали ткань мозга вместе с гипофизом, ткань почек, жабр и кишечника и фиксировали в IntactRNA для определения уровней мРНК генов *prl1*, *prl2* (в мозге), *prlra*, *prlrb* (во всех исследуемых тканях). Схематическое изображение эксперимента представлено на Рисунке 6б.

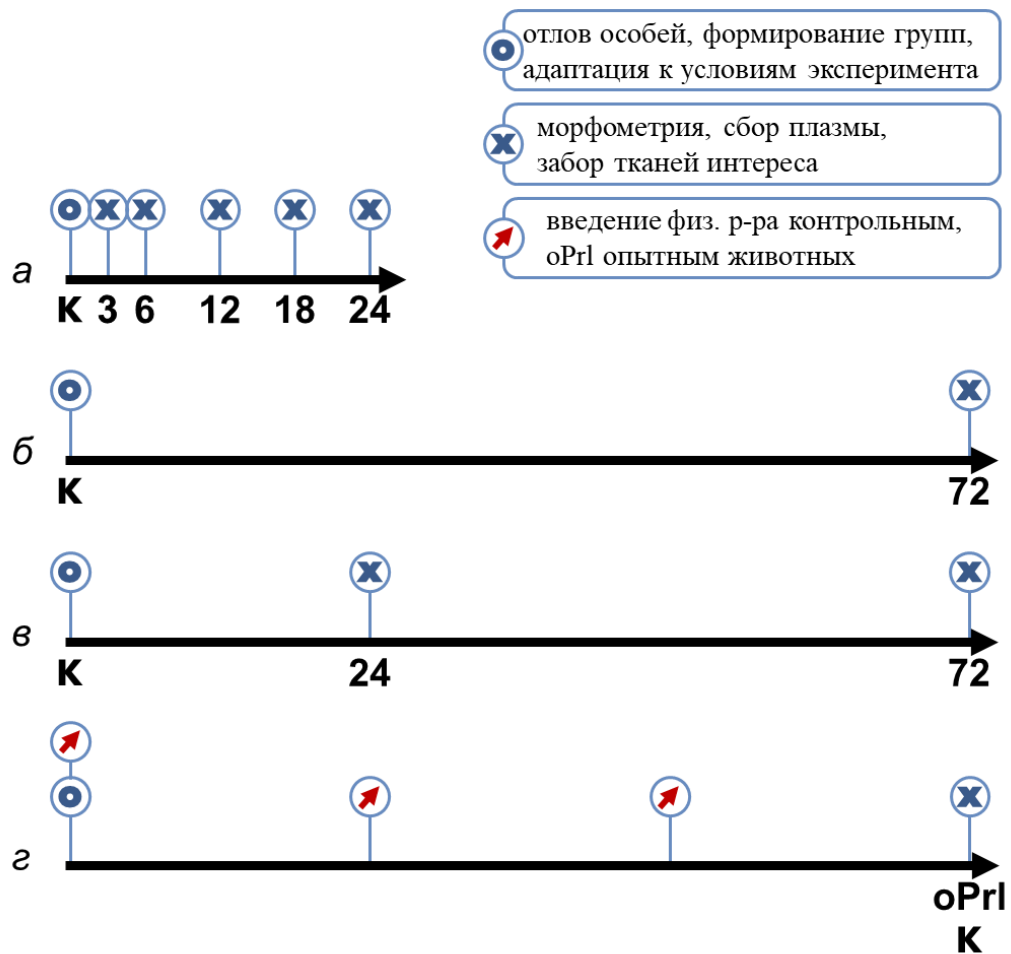


Рисунок 6 – Дизайн экспериментальной части: модель острой (а), хронической (б), сочетанной острой и хронической (в) пресноводной адаптации, модель гиперпролактинемии в условиях морской воды (г)

В. Модель сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации

Отлов особей производили в нерестовый период 15–17 июня 2019 года. Все особи были разделены по полу, сформированы выборки самок и самцов, которые содержались отдельно, далее особи были адаптированы к условиям эксперимента

в течение 24 часов. Контрольные группы (группы «К», n = 6) содержали в морской воде, экспериментальные переносили в пресную воду на 24 (острая ПА, группы «24») и 72 (хроническая ПА, группы «72», n = 6) часа. По окончании эксперимента у особей самок, α - и ω -самцов измеряли морфометрические показатели, собирали плазму крови для измерения концентрации ионов Na^+ и K^+ , забирали ткань мозга вместе с гипофизом, жабр, кишечника, сетчатки и фиксировали в IntactRNA для определения уровней мРНК генов *prl1*, *prl2* (в мозге), *prlra*, *prlrb* (в мозге, жабрах и кишечнике), *atp1a1*, *atp1a2*, *atp1a3*, *nkcc1a*, *nkcc2*, *ncc*, *nhe2*, *nhe3*, *ecac* (в жабрах и кишечнике), *sws1*, *sws2*, *rh2*, *lws* (в сетчатке). Схематическое изображение эксперимента представлено на Рисунок 6в.

Г. Модель гиперпролактинемии в условиях морской воды

Отлов особей производили в нерестовый период 15–17 июня 2019 года. Все особи были разделены по полу, сформированы выборки самок и самцов, которые содержались отдельно, далее особи были адаптированы к условиям эксперимента в течение 24 часов. Особей контрольных групп (группы «К», n = 6) содержали в условиях морской воды и в течение 3 суток раз в сутки им внутривентриально вводили физиологический раствор Рингера для холоднокровных в объёме 50 мкл. Особей экспериментальных групп (группы «oPrl», n = 6) также содержали в условиях морской воды, и в течение 3 суток раз в сутки им внутривентриально вводили раствор овечьего пролактина oPrl в объёме 50 мкл, концентрация 14 МЕ/мл. По окончании эксперимента у животных измеряли морфометрические показатели, плазму крови для измерения концентрации ионов Na^+ и K^+ , отбирали ткань мозга вместе с гипофизом, жабр, кишечника, сетчатки и фиксировали в IntactRNA для определения уровней мРНК генов *prl1*, *prl2* (в мозге самок и α -самцов), *prlra*, *prlrb* (в мозге, жабрах и кишечнике самок и α -самцов), *sws1*, *sws2*, *rh2*, *lws* (в сетчатке самок и α -самцов), *atp1a1*, *atp1a2*, *atp1a3*, *nkcc1a*, *nkcc2*, *ncc*, *nhe2*, *nhe3*, *ecac* (в жабрах и кишечнике у α - и ω -самцов). Схематическое изображение эксперимента представлено на Рисунке 6г.

Д. Сравнение α -самцов в фазе нереста и самцов в фазе родительского поведения

Особей отлавливали 25–30 июня 2017 года. Группу самцов во время нереста (группа «Нерест», $n = 8$) набрали во время нерестового периода, после чего отдельно отловили самцов, находящихся неподвижно над гнездом и проветривающих их плавниками (группа «Гнездо», $n = 6$). У особей сразу после отлова отбирали ткань мозга вместе с гипофизом и фиксировали в IntactRNA для определения уровней мРНК генов *prl1*, *prl2*, *prlra*, *prlrb*.

2.3.2. Методы обработки материала

А. Сбор материала

Предварительно в эппендорфы объёмом 1,7 мл вносили реагент IntactRNA (Evrogen): по 0,5 мл для жабр, 0,75 мл для мозга, почек и сетчатки, 1 мл для кишечника.

До выведения животного из эксперимента фотографировали окрас его тела, измеряли длину тела и вес (после промакивания салфеткой). При выведении животных из *in vivo* экспериментов использовали метод декапитации: животное придерживали пинцетом, и отсекали голову ножницами. После этого собирали кровь, не допуская её смешивания с тканевой жидкостью. В дальнейшем крови давали отстояться, центрифугировали и полученную фракцию сыворотки замораживали и хранили при минус 70 °С. После отбора крови извлекали органы в следующей последовательности: мозг, сетчатка, почки, жабры, кишечник. При извлечении мозга действовали крайне аккуратно, стараясь не разрушать структуру, чтобы не возникло вероятности забора мозга без гипофиза. Ввиду анатомических особенностей турецкого седла рыб, мозг извлекали вместе с гипофизом – основным источником пролактина у млекопитающих и рыб. При извлечении жабр срезали и фиксировали только жаберные лепестки. При заборе почек предварительно взвешивали материал; из двух почек забирали только одну. При заборе кишечника его предварительно промывали, чтобы избавиться от части бактериальной массы. Также измеряли вес печени.

Образцы ткани, фиксированные в IntactRNA, далее замораживали при температуре минус 20°C, затем исследовали методом ПЦР в реальном времени.

Б. Данные морфометрии

Собранные данные морфометрии (длина и масса тела, масса печени, почек, гонад) использовали для расчёта показателей эстрогенной активности – гепатосоматического индекса ($\text{ГпСИ}, \frac{m_{\text{печени}}}{m_{\text{тела}}}$), андрогенной активности – нефросоматического индекса ($\text{НСИ}, \frac{m_{\text{почек}}}{m_{\text{тела}}}$), гонадосоматического индекса ($\text{ГнСИ}, \frac{m_{\text{гонад}}}{m_{\text{тела}}}$).

В. Определение концентрации Na^+ и K^+ в плазме

Для определения концентрации ионов Na^+ и K^+ в плазме крови использовали метод атомно-абсорбционной спектрометрии. В 5% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ) растворяли сыворотку крови (производили разведения 1:200, 1:100 и 1:50) и помещали образец в атомизатор. В атомизаторе образец распылялся в пламени горелки, образуя атомный пар, через который проходил луч света, испускаемый специальной лампой с полым катодом, содержащим определяемый элемент. После прохождения луча через атомный пар монохроматор пропускал к фотоприемнику только свет с одной длиной волны, поглощаемый исследуемым атомом. В результате фиксируется оптическая плотность атомного пара. Для определения концентрации иона зафиксированные значения пересчитываются по калибровочной кривой, полученной с использованием ряда стандартных растворов.

Определение концентрации Na^+ и K^+ проводили с помощью спектрометра Квант-2м1 (Кортэк, Россия), используя стандартные растворы NaCl (с концентрациями Na^+ от 0,5 до 2 мг/л), и KCl (с концентрациями K^+ от 0,5 до 2 мг/л), содержащие 5% ТХУ. Оптическое поглощение Na^+ измеряли при длине волны 589,6 нм, K^+ – при длине волны 766,5 нм. Для атомизации анализируемых элементов использовали воздушно-пропановую смесь.

Г. Выделение РНК из тканей интереса

Все этапы выделения РНК производили в стерильном ламинаре, использовали одноразовые стерильные носики; пестики для гомогенизирования предварительно замачивали в 0,1% растворе DEPC и автоклавировали.

Тотальная РНК из мозга, жабр, почек и кишечника была выделена модифицированным фенол-хлороформным методом. Из образцов, фиксированных IntactRNA удаляли фиксатор, оставляя образец в пробирке. Далее вносили 1 мл реагента ExtractRNA (Evrogen) и тщательно гомогенизировали ткань, смешивая её с реагентом. Данный лизат считали матричным, из него отбирали 100 мкл материала и разбавляли в 10 раз ExtractRNA для более эффективного выделения РНК. Матричный лизат замораживали и при необходимости производили повторные выделения. Разбавленный лизат инкубировали 5-10 минут при комнатной температуре, далее центрифугировали (+4 °С, 10 минут, 14000g). Отбирали ~600 мкл супернатанта, который смешивали с 500 мкл хлороформа, и далее в течение 5 минут вортиксовали 3-4 раза. Затем смесь центрифугировали (+4 °С, 15 минут, 14000g), и отбирали водную фазу (~400 мкл), который смешивали с 500 мкл хлороформа, вортиксовали 3 раза. Смесь центрифугировали в тех же условиях, и отбирали водную фазу (~150 мкл), стараясь не задеть другие слои, и переносили в отдельную пробирку. К водной фазе добавляли 1/10 объёма NaAc, 3мкл линейного акриламида и 3 объёма 95%-го этилового спирта, дважды переосаждённого; тщательно смешивали до выпадения белого хлопьевидного осадка. Смесь инкубировали 30 минут при минус 20 °С, затем центрифугировали (+4 °С, 15 минут, 14000 g), удаляли супернатант, добавляли 0,5 мл 70%-го этилового спирта в безРНКазной воде, центрифугировали (+4 °С, 5 минут, 14000 g), удаляли супернатант и давали высохнуть осадку при открытой крышке. Далее осадок растворяли в 30 мкл безРНКазной воды.

Выделение тотальной РНК из сетчатки проводилось с помощью автоматизированной системы для выделения нуклеиновых кислот QIAcube. Предварительно проводилось препарирование образцов с выделением сетчатки с последующим гомогенизированием в растворе RLT (450 мкл RLT + 4,5 мкл β-

меркаптоэтанола на один образец). Далее отбирали 250 мкл гомогената и добавляли к 250 мкл буфера RLT. Центрифугировали 2 минуты при максимальных оборотах. Отбирали 350 мкл супернатанта, переносили на S-block и устанавливали его в прибор. Выделение проводили, используя протокол RNeasy Tissue protocol, объем элюата составлял 90 мкл.

Д. Проведение электрофореза

Перед обратной транскрипцией образцы исследовали методом электрофореза для контроля качества выделения РНК.

Для приготовления геля смешивали 50 мл 0,5-кратного буфера TBE, 0,75 г сухой агарозы и разогревали в микроволновой печи до получения гомогенной смеси. При остывании добавляли 2 мкл бромистого этидия и выливали смесь в форму со вставленным гребёнками. После застывания геля его помещали в камеру для электрофореза, наносили в лунки смесь из 3 мкл образца и 1 мкл лидирующего красителя. Электрофорез проводили при 100В в течение 15 минут. По интенсивности свечения в ультрафиолетовом свете трансиллюминатора полос, соответствующих рибосомальной РНК, определяли приблизительное количество выделенной РНК.

Е. Проведение обратной транскрипции

Для проведения синтеза кДНК на холоде готовили общую смесь для п реакций: 2п мкл безРНКазной воды, 2п мкл dNTP, 2п мкл DTT, 4п мкл 5-кратного буфера, 1п мкл MMLV-ревертазы в разведении 1:4.

Смесь РНК и вырожденных праймеров (3мкл РНК, 3 мкл вырожденных праймеров, 3 мкл воды) инкубировали 2 минуты при 70 °С, затем сразу перемещали в лёд и добавляли 11 мкл из общей смеси, после инкубировали при температуре 42 °С 1 час в амплификаторе BioRad T100, BioRad.

Ж. Проведение ПЦР в реальном времени

ПЦР в реальном времени проводили с использованием амплификатора Real-time StepOnePlus, Applied Biosystems, амплификатора Bio Rad CFX96 Real-Time

System C100 Touch Thermal Cycler, BioRad, и смеси для проведения ПЦР в реальном времени с красителем SYBRgreen и низкой концентрацией референсного красителя ROX (Evrogen). Для проведения ПЦР использовали одноразовые 96-луночные плашки и оптическую плёнку. Каждую реакцию с использованием кДНК проводили в трёх повторностях; для каждой комбинации ткани и исследуемого гена также проводили безревертазные контроли, где в качестве матрицы использовали раствор выделенной РНК, разведённой так же, как и кДНК, с целью контроля амплификации фрагмента геномной ДНК. Если безревертазный контроль был отрицательным, значения ПЦР с матрицы кДНК использовали для расчётов.

Объём одной реакции составил 20 мкл: 11,6 мкл H2OmQ, 4 мкл смеси с SYBR, 0,4 мкл смеси прямого и обратного праймеров (концентрация 10 пикомоль/миллилитр), 4 мкл НК-матрицы, предварительно разведённой в 5 раз H2OmQ.

Протокол ПЦР в реальном времени:

- 1) прогрев при температуре 95 °С в течение 5 минут (для активации полимеразы);
- 2) денатурация ДНК при температуре 95 °С в течение 15 с;
- 3) отжиг праймеров при температуре 60 °С в течение 20 с;
- 4) элонгация при температуре 72 °С в течение 20 с (на этой же стадии происходит анализ флуоресценции в пробах);
- 5) денатурация ДНК при 95 °С в течение 2 минут;
- 6) снижение температуры до 60 °С с дальнейшим повышением температуры до 95 °С с шагом в 0,3 °С и анализом флуоресценции в пробах.

Стадии 2–4 повторялись 40 циклов.

3. Подбор специфических праймеров для ПЦР в реальном времени

Для поиска последовательности генов интереса (*prl1*, *prl2*, *prlra*, *prlrb*, *atp1a1*, *atp1a2*, *atp1a3*, *nkcc1a*, *nkcc2*, *ncc*, *ecac*, *nhe2*, *nhe3*, *sws1*, *sws2*, *rh2*, *lws*) использовали базу ensemble.org. Специфические пары праймеров подбирали вручную, при подборе соблюдали следующие условия:

- праймеры подбирали на стык экзонов;
- длина праймеров 18–24 нуклеотида;
- длина ампликона 100–200 нуклеотидов;
- температура отжига праймеров 60 °С;
- праймеры только к кодирующему участку последовательности гена.

Референсные гены были взяты из литературных источников [Dalton et al., 2015; Hibbeler, Scharsack, Becker, 2008]. При этом, ориентируясь на литературные данные, для нормирования экспрессии генов *prl1*, *prl2*, *prlra*, *prlrb*, *atp1a1*, *atp1a2*, *atp1a3*, *nkcc1a*, *nkcc2*, *ncc*, *ecac*, *nhe2*, *nhe3* в качестве пары референсных генов использовали гены *rbp13a* и *ubc*, а для нормирования экспрессии генов *sws1*, *sws2*, *rh2*, *lws* в качестве пары референсных генов использовали гены *ubc* и *gnat2*, как наиболее подходящие для нормирования экспрессии генов в сетчатке. Последовательности праймеров к генам интереса и референсным генам, а также длина ампликонов представлены в Таблице 1.

2.3.3. Статистическая обработка результатов

Абсолютную интенсивность экспрессии гена интереса в ткани для каждого животного рассчитывали по формуле (приведён пример для гена *prl1*):

$$R(prl1) = \frac{\sqrt{(Erbp13a)^{C_{rbp13a}} \cdot (Eubc)^{C_{ubc}}}}{(Eprl1)^{C_{prl1}}}, \quad (1)$$

где E – эффективность амплификации для соответствующей пары праймеров; C_t – усреднённый по трём значениям цикл достижения образцом определённого уровня флуоресценции во время ПЦР в реальном времени.

В каждой плашке помимо экспериментальных животных также находился образец-калибратор – сборная проба, в которой наблюдалась экспрессия всех генов интереса и референсных генов. Далее все абсолютные значения интенсивности экспрессии гена нормализовывали на абсолютное значение интенсивности экспрессии гена калибратора, чтобы устранить возможные различия реакционной смеси в разных плашках, и получали относительную интенсивность экспрессии гена.

Статистическую обработку проводили в программе GraphPad Prism6. Предварительно для всех выборок были определены и исключены выбросы, поэтому в результатах n в некоторых случаях меньше, чем изначально было животных в группе. Для каждого из параметров морфометрии и экспрессии каждого из генов в каждой ткани для вида *Gasterosteus aculeatus* ранее не проводились исследования, поэтому необходимо было проверить нормальность распределения этих параметров. Для проверки использовали тест Шапиро–Уилка на объединённых выборках или же на выборках для самок и самцов отдельно, если на объединённой выборке параметр не был нормально распределён, предполагая возможные половые отличия.

Достоверность различий между группами исследовали с помощью двухфакторного критерия two-way ANOVA (в случае прохождения выборкой теста на нормальность), или же тестом Краскела – Уоллиса с поправкой Тьюки (в случае ненормального распределения параметра). Для параметров, изначально имеющих разные значения у самок и самцов (морфометрические показатели) использовали однофакторный критерий one-way ANOVA, отказавшись от поиска очевидно присутствующих половых различий. Парные сравнения (самцов в фазе нереста с самцами в фазе родительского поведения, а также морфометрических параметров у самок и самцов по отдельности в модели хронической пресноводной адаптации) проводили с использованием теста Манна – Уитни. Корреляции между исследуемыми параметрами проводили с использованием критерия Спирмена.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Изменение морфометрических показателей и концентраций Na^+ и K^+ у самок и α -самцов в экспериментальных моделях

Морфометрические показатели и концентрации ионов Na^+ и K^+ являются физиологическими параметрами, отражающими функциональное изменение организма в ходе адаптации к условиям пресной воды или как ответ на введение пролактина. Оценка изменений этих параметров с одной стороны, позволяет охарактеризовать исследованные выборки, с другой стороны, подтвердить наличие физиологического ответа на организменном уровне.

3.1.1. Изменение морфометрических показателей

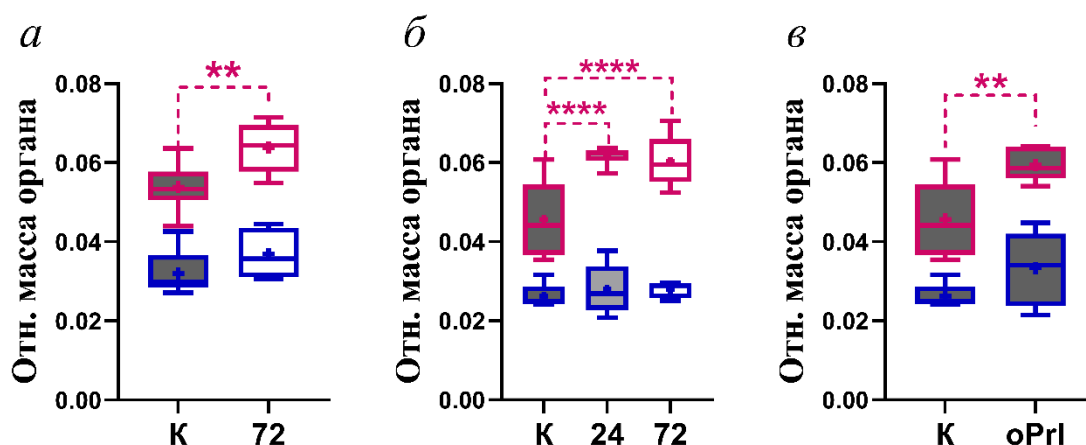


Рисунок 7 – Изменение гепатосоматического индекса у самок (красный контур ящичков) и α -самцов в модели хронической (а), сочетанной острой и хронической (б) пресноводной адаптации, а также при гиперпролактинемии в условиях морской воды (в). Здесь и далее выборка самок обозначена красным контуром ящичков, α -самцов обозначена синим контуром ящичков, цвет ящичков соответствует экспериментальной группе: тёмно-серый – контрольные особи, содержащиеся в условиях морской воды, светло-серый – группа острой пресноводной адаптации, содержащаяся в пресной воде в течение 24 часов, белый – группа хронической пресноводной адаптации, содержащаяся в пресной воде в течение 72 часов. Здесь и далее линии ящичков отражают медиану, точки – среднее, границы ящичков – интерквартильный разброс, усы – разброс от минимального до максимального значения. Статистическая обработка: критерий Манна – Уитни (а, в); one-way ANOVA (б). ** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,0001$

Во всех экспериментах средняя длина тела особей составила для самок $7,42 \pm 0,3$ см, для α -самцов $6,55 \pm 0,28$ см. Средняя масса самок составила $4,94 \pm 0,85$ г., α -самцов – $2,73 \pm 0,77$ г.

В ходе пресноводной адаптации, как хронической (Рисунок 7а, 7б), так и острой (Рисунок 7б) гепатосоматический индекс (ГпСИ) самок значительно повышался. При введении овечьего пролактина в условиях морской воды этот эффект у самок воспроизводился (Рисунок 7в). У самцов гепатосоматический индекс не менялся ни в зависимости от пресноводной адаптации, ни на фоне введения овечьего пролактина в условиях морской воды (Рисунок 7а, 7б, 7в).

Нефросоматический индекс (НСИ) ни у самцов, ни у самок, не зависел от пресноводной адаптации и не менялся в моделях хронической (Рисунок 8а) и сочетанной (Рисунок 8б) пресноводной адаптации. Также нефросоматический индекс ни у самцов, ни у самок не менялся на фоне введения овечьего пролактина в условиях морской воды (Рисунок 8в).

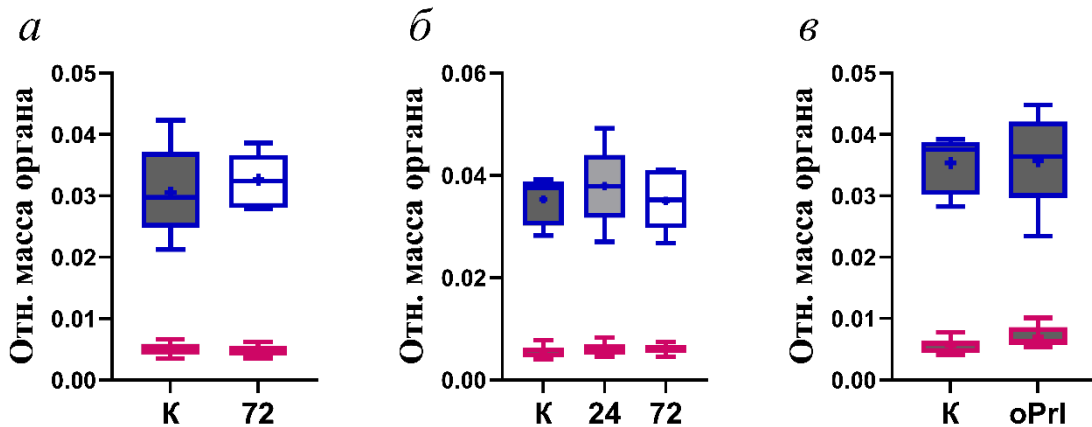


Рисунок 8 – Изменение нефросоматического индекса у самок и α -самцов в модели хронической (а), сочетанной острой и хронической (б) пресноводной адаптации, а также при гиперпролактинемии в условиях морской воды (в). Статистическая обработка: критерий Манна – Уитни (а, в); one-way ANOVA (б)

Гонадосоматический индекс (ГнСИ) самок значительно не менялся ни в модели хронической (Рисунок 9а), ни в сочетанной острой и хронической (Рисунок 9б)

пресноводной адаптации. Введение овечьего пролактина в условиях морской воды также не привело к значимому изменению этого параметра (Рисунок 9в).

Гонадосоматический индекс α -самцов значимо не менялся ни в модели хронической (Рисунок 10а), ни в сочетанной острой и хронической (Рисунок 10б) пресноводной адаптации. Введение овечьего пролактина в условиях морской воды также не привело к значимому изменению этого параметра (Рисунок 10в).

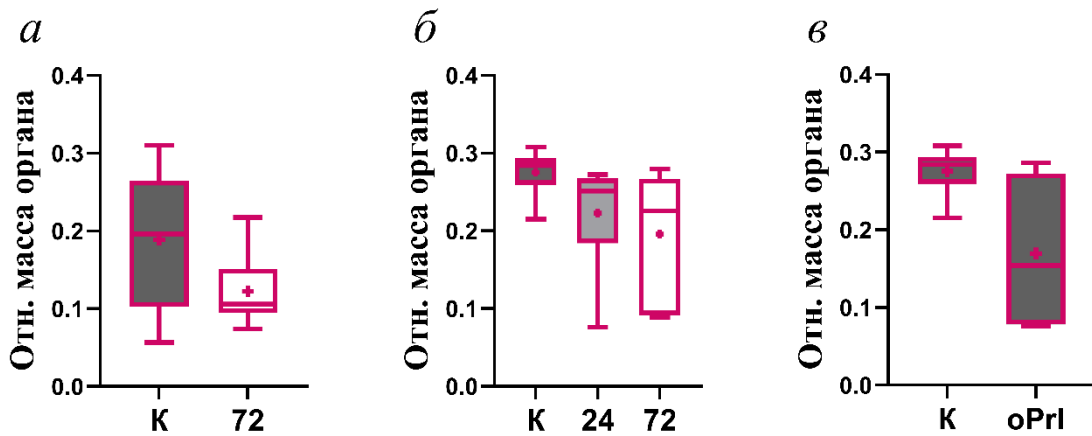


Рисунок 9 – Изменение гонадосоматического индекса у самок в модели хронической (а), сочетанной острой и хронической (б) пресноводной адаптации, а также при гиперпролактинемии в условиях морской воды (в). Статистическая обработка: критерий Манна – Уитни (а, в); one-way ANOVA (б)

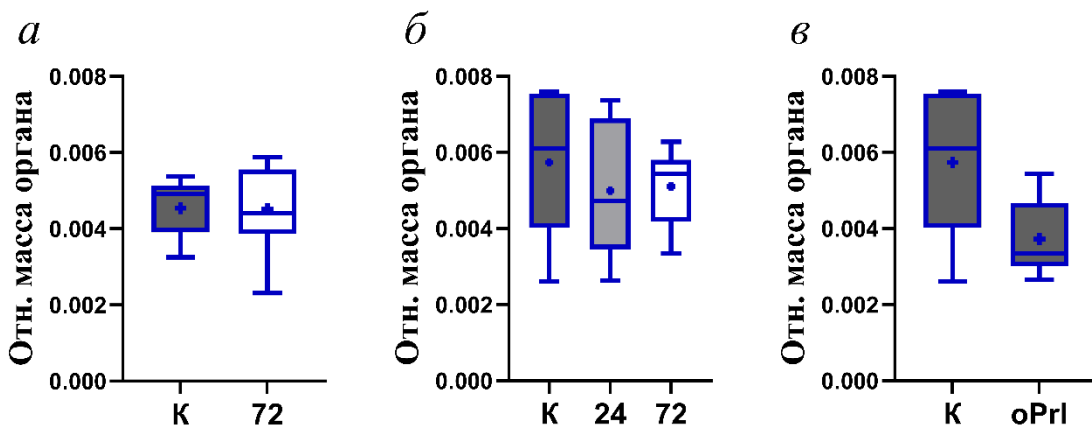


Рисунок 10 – Изменение гонадосоматического индекса у α -самцов в модели хронической (а), сочетанной острой и хронической (б) пресноводной адаптации, а также при гиперпролактинемии в условиях морской воды (в). Статистическая обработка: критерий Манна – Уитни (а, в); one-way ANOVA (б)

Сводные данные об описательных характеристиках гепатосоматического, нефросоматического и гонадосоматического индексов групп, представленных на Рисунках 7-10, представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Описательная статистика морфометрических показателей самок и самцов колюшек. ГпСИ – гепатосоматический индекс, НСИ – нефросоматический индекс, ГнСИ – гонадосоматический индекс; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Показатель (ед.изм.)	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К (2016) ♀	ГпСИ (у.е.)	0,0538	0,0054	0,0505	0,0534	0,0577	0,0072
	НСИ (у.е.)	0,0050	0,0009	0,0042	0,0052	0,0059	0,0017
	ГнСИ (у.е.)	0,1888	0,0846	0,1026	0,1963	0,2646	0,162
К (2016) ♂-♂	ГпСИ (у.е.)	0,0319	0,0061	0,0284	0,0299	0,0367	0,0083
	НСИ (у.е.)	0,0306	0,0070	0,0249	0,0298	0,0371	0,0122
	ГнСИ (у.е.)	0,0045	0,0008	0,0039	0,0049	0,0051	0,0012
72 (2016) ♀	ГпСИ (у.е.)	0,0638	0,0066	0,0578	0,0645	0,0696	0,0118
	НСИ (у.е.)	0,0048	0,0009	0,0040	0,0048	0,0056	0,0016
	ГнСИ (у.е.)	0,1224	0,0499	0,0945	0,1059	0,1517	0,0572
72 (2016) ♂-♂	ГпСИ (у.е.)	0,0369	0,0063	0,0310	0,0357	0,0435	0,0125
	НСИ (у.е.)	0,0327	0,0039	0,0281	0,0324	0,0367	0,0086
	ГнСИ (у.е.)	0,0045	0,0011	0,0039	0,0044	0,0056	0,0017
К (2019) ♀	ГпСИ (у.е.)	0,0457	0,0096	0,0367	0,0441	0,0545	0,0178
	НСИ (у.е.)	0,0057	0,0013	0,0045	0,0059	0,0064	0,0019
	ГнСИ (у.е.)	0,2756	0,0317	0,2593	0,2837	0,2935	0,0342
К (2019) ♂-♂	ГпСИ (у.е.)	0,0262	0,0029	0,0243	0,0248	0,0287	0,0044
	НСИ (у.е.)	0,0353	0,0047	0,0302	0,0376	0,0388	0,0086
	ГнСИ (у.е.)	0,0057	0,0019	0,0040	0,0061	0,0075	0,0035
24 (2019) ♀	ГпСИ (у.е.)	0,0617	0,0023	0,0604	0,0624	0,0631	0,0027
	НСИ (у.е.)	0,0059	0,0013	0,0049	0,0057	0,0069	0,002
	ГнСИ (у.е.)	0,2229	0,0745	0,1842	0,2513	0,2677	0,0835
24 (2019) ♂-♂	ГпСИ (у.е.)	0,0280	0,0062	0,0227	0,0269	0,0338	0,0111
	НСИ (у.е.)	0,0379	0,0078	0,0317	0,0379	0,0440	0,0123
	ГнСИ (у.е.)	0,0049	0,0018	0,0035	0,0047	0,0069	0,0034
72 (2019) ♀	ГпСИ (у.е.)	0,0604	0,0065	0,0551	0,0595	0,0660	0,0109
	НСИ (у.е.)	0,0062	0,0009	0,0053	0,0065	0,0068	0,0015
	ГнСИ (у.е.)	0,1958	0,0870	0,0914	0,2258	0,2668	0,1754
72 (2019) ♂-♂	ГпСИ (у.е.)	0,0280	0,0019	0,0257	0,0289	0,0295	0,0038
	НСИ (у.е.)	0,0350	0,0059	0,0297	0,0352	0,0411	0,0114
	ГнСИ (у.е.)	0,0051	0,0010	0,0042	0,0054	0,0058	0,0016
oPrl (2019) ♀	ГпСИ (у.е.)	0,0593	0,0040	0,0560	0,0586	0,0640	0,008
	НСИ (у.е.)	0,0069	0,0018	0,0056	0,0063	0,0086	0,003
	ГнСИ (у.е.)	0,1695	0,0982	0,0781	0,1542	0,2721	0,194
oPrl (2019) ♂-♂	ГпСИ (у.е.)	0,0334	0,0091	0,0238	0,0341	0,0420	0,0182
	НСИ (у.е.)	0,0357	0,0076	0,0297	0,0364	0,0421	0,0124
	ГнСИ (у.е.)	0,0038	0,0010	0,0030	0,0034	0,0047	0,0017

3.1.2. Изменение концентрации ионов Na^+ и K^+ в плазме крови

Концентрация ионов Na^+ в плазме крови и у самок, и у α -самцов значительно снижалась начиная с 24 часов пресноводной адаптации.

Данный эффект наблюдался и через 72 часа после переноса особей в пресную воду (Рисунок 11а). Введение овечьего пролактина в условиях морской воды не повлияло на концентрацию Na^+ в плазме крови ни у самок, ни у α -самцов (Рисунок 11б).

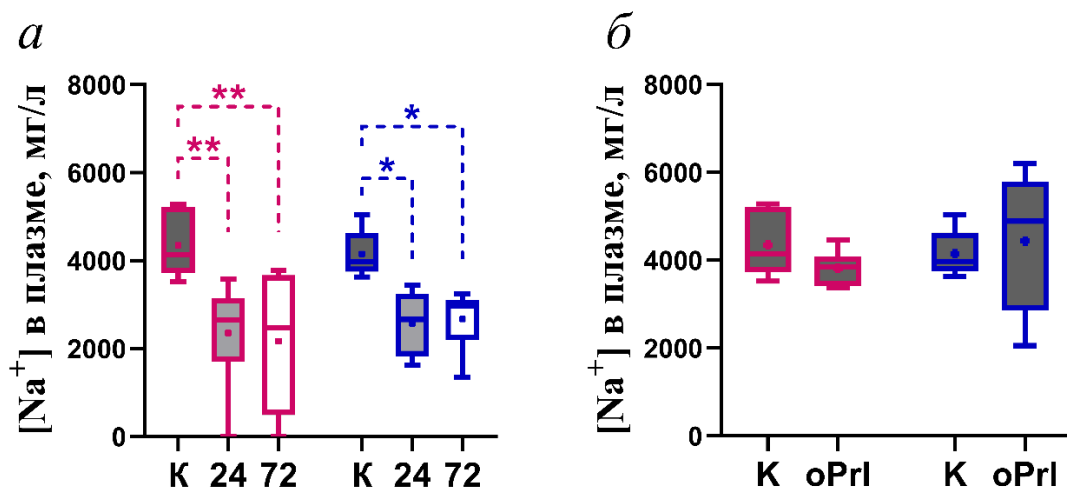


Рисунок 11 – Изменение концентрации ионов Na^+ (мг/мл) в плазме крови у самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической (а) пресноводной адаптации, а также при гиперпролактинемии в условиях морской воды (б). Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Концентрация ионов K^+ в плазме крови ни у самок, ни у α -самцов не менялась значительно в ходе острой и хронической пресноводной адаптации (Рисунок 12а). Введение овечьего пролактина в условиях морской воды не повлияло на концентрацию K^+ в плазме крови самок.

У α -самцов на фоне введения пролактина концентрация ионов K^+ значительно повысилась по сравнению с контрольной группой (Рисунок 12б).

Сводные данные об описательных характеристиках концентраций ионов Na^+ и K^+ в плазме крови колюшек представлены в Таблице 3.

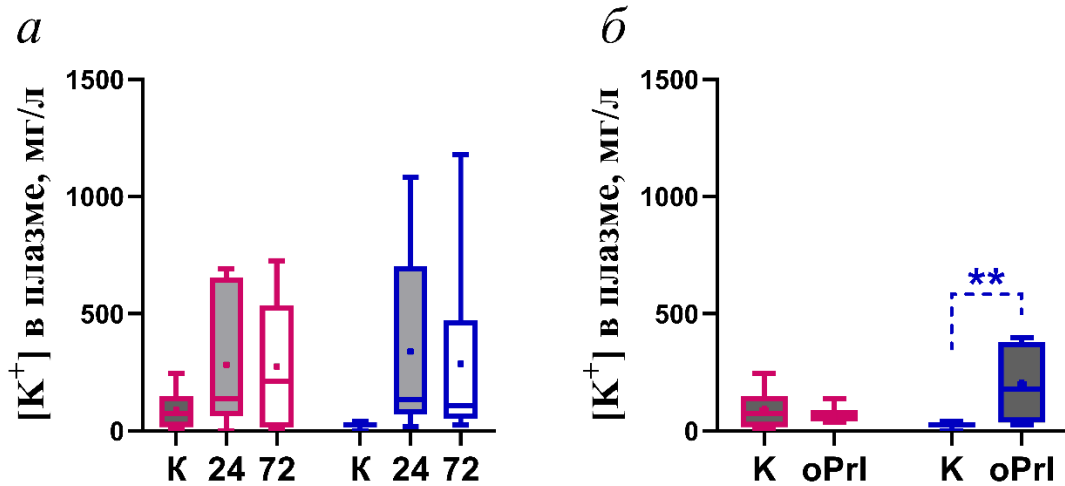


Рисунок 12 – Изменение концентрации ионов K^+ (мг/мл) в плазме крови у самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической (а) пресноводной адаптации, а также при гиперпролактинемии в условиях морской воды (б). Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$

Таблица 3 – Описательная статистика концентраций ионов Na^+ и K^+ в плазме крови морфометрических показателей самок и α -самцов колюшек в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации; $N = 6$ для каждой из групп

Группа, пол	Показатель (ед.изм.)	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К, ♀	[Na^+] (мг/л)	4347	741	3721	4146	5219	1498
	[K^+] (мг/л)	90	86	17	73	149	132
К, α -♂	[Na^+] (мг/л)	4150	536	3749	3974	4629	880
	[K^+] (мг/л)	25	14	16	26	38	22
24, ♀	[Na^+] (мг/л)	2359	1240	1701	2654	3148	1447
	[K^+] (мг/л)	282	303	62	138	654	591
24, α -♂	[Na^+] (мг/л)	2579	751	1831	2660	3249	1418
	[K^+] (мг/л)	339	415	70	135	702	631
72, ♀	[Na^+] (мг/л)	2170	1544	490	2477	3669	3179
	[K^+] (мг/л)	275	280	15	212	537	522
72, α -♂	[Na^+] (мг/л)	2678	696	2202	2961	3104	902
	[K^+] (мг/л)	287	444	53	109	473	419
oPrl, ♀	[Na^+] (мг/л)	3819	399	3416	3849	4082	666
	[K^+] (мг/л)	66	38	40	54	89	49
oPrl, α -♂	[Na^+] (мг/л)	4434	1618	2855	4893	5784	2929
	[K^+] (мг/л)	201	173	35	178	378	343

3.2. Изменение экспрессии генов пролактиновой оси у самок и α -самцов в моделях пресноводной адаптации

3.2.1. Изменение экспрессии генов пролактина *prl1* и пролактинподобного гормона *prl2* в мозге

Экспрессия гена пролактина *prl1* в мозге самок значительно повышалась во всех моделях пресноводной адаптации (Рисунок 13). В модели суточной динамики острой пресноводной адаптации относительные уровни мРНК гена *prl1* группы, адаптированной к пресной воде в течение 24 часов, были значимо выше по сравнению с контрольной группой, а также группами, акклимированными к пресной воде в течение 3 и 6 часов (Рисунок 13а). В модели хронической пресноводной адаптации данный параметр также был значимо выше у самок после 72-часовой пресноводной адаптации в сравнении с контрольной группой (Рисунок 13б). В модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации данный эффект наблюдается начиная с 24 часов акклимации к пресной воде и сохраняется у группы, адаптированной к условиям пресной воды в течение 72 часов (Рисунок 13в).

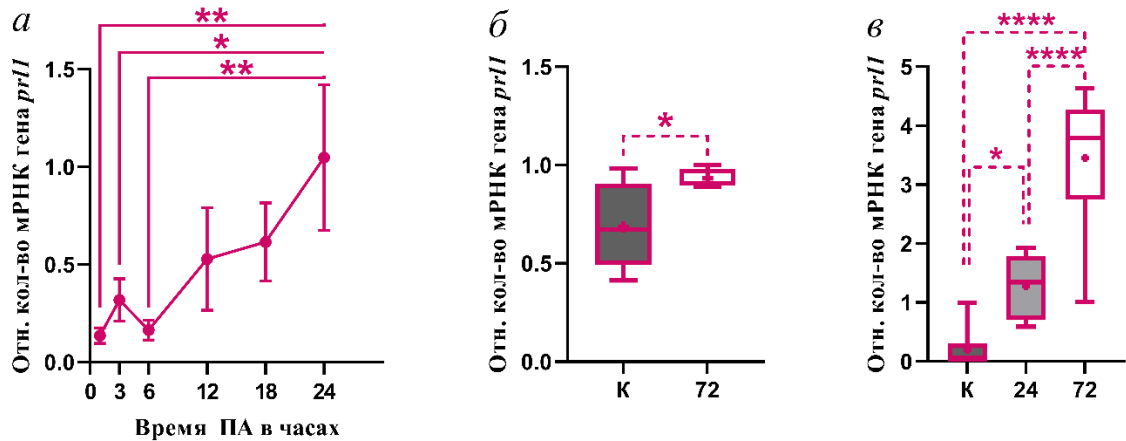


Рисунок 13 –Изменение относительного уровня мРНК гена пролактина *prl1* в мозге самок в моделях острой (а), хронической (б) и сочетанной острой и хронической (в) пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,0001$

В мозге α -самцов экспрессия гена пролактина *prl1* не менялась значимо ни в модели острой (Рисунок 14а), ни хронической (Рисунок 14б), ни сочетанной острой и хронической (Рисунок 14в) пресноводной адаптации.

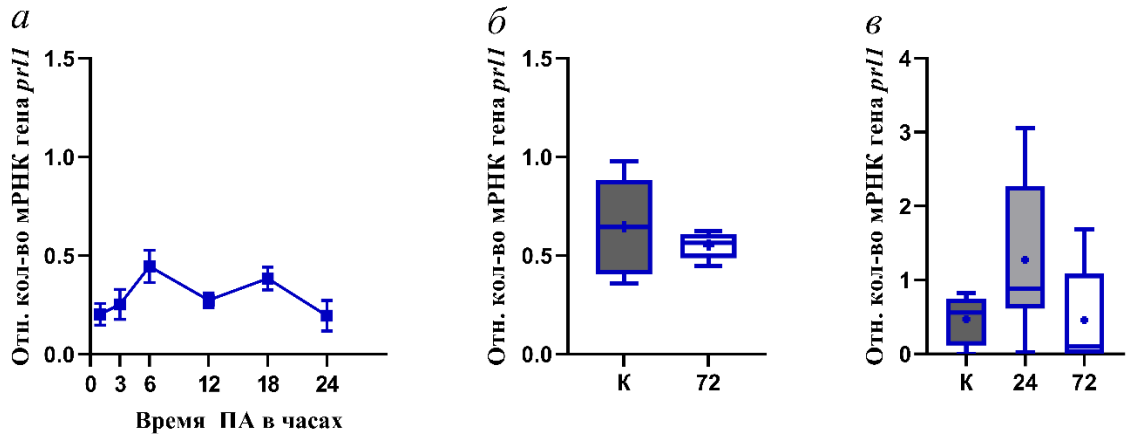


Рисунок 14 – Изменение относительного уровня мРНК гена пролактина *prl1* в мозге α -самцов в моделях острой (а), хронической (б) и сочетанной острой и хронической (в) пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA

В условиях морской воды значения относительной экспрессии гена *prl1* в мозге самок и α -самцов наблюдаются на сопоставимом уровне (Рисунок 15а, 15б). В группах колюшек, адаптированных к условиям пресной воды в течение 72 часов, как в модели хронической, так и в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации, экспрессия гена *prl1* в мозге самок была значимо выше по сравнению с α -самцами (Рисунок 15а, 15б).

Экспрессия гена пролактинподобного гормона *prl2* в ткани мозга самок и α -самцов наблюдалась на разрешающей грани метода в контрольных и опытных группах (после 24- и 72-часовой адаптации к условиям пресной воды) колюшек в моделях хронической и сочетанной пресноводной адаптации. В модели динамики острой пресноводной адаптации в контрольных группах и группах, адаптированных к условиям пресной воды в течение 24 часов, экспрессия гена *prl2* также была на разрешающей границе метода. Наличие экспрессии гена *prl2* в мозге как самок, так и α -самцов было детектировано в группах, адаптированных к пресной воде в течение 12 и 18 часов (Рисунок 16). Уровень экспрессии *prl2* в этих

группах значительно отличался по сравнению с контрольными группами того же пола. В группах, адаптированных к условиям пресной воды в течение 12 и 18 часов относительные уровни мРНК гена *prl2* в мозге α -самцов были значительно выше, чем у самок (Рисунок 16).

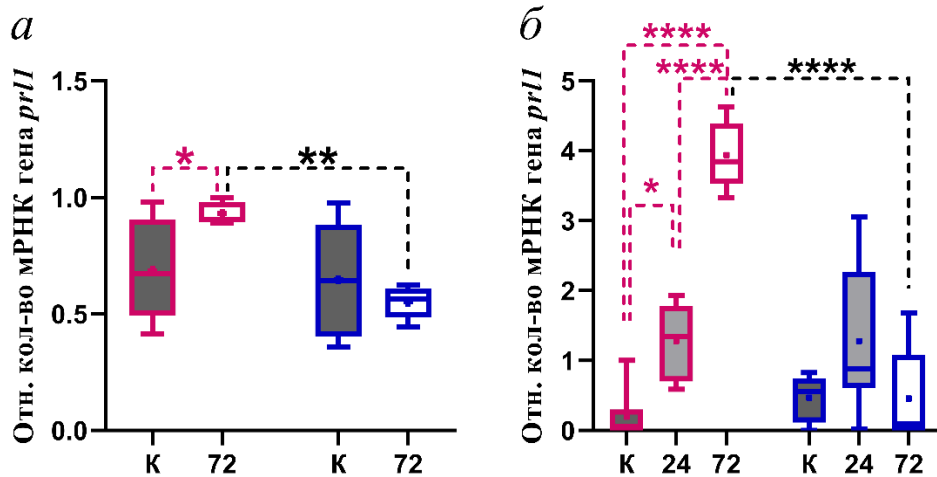


Рисунок 15 – Изменение относительного уровня мРНК гена пролактина *prl1* в мозге самок и α -самцов в моделях хронической (а), и сочетанной острой и хронической (б) пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,0001$

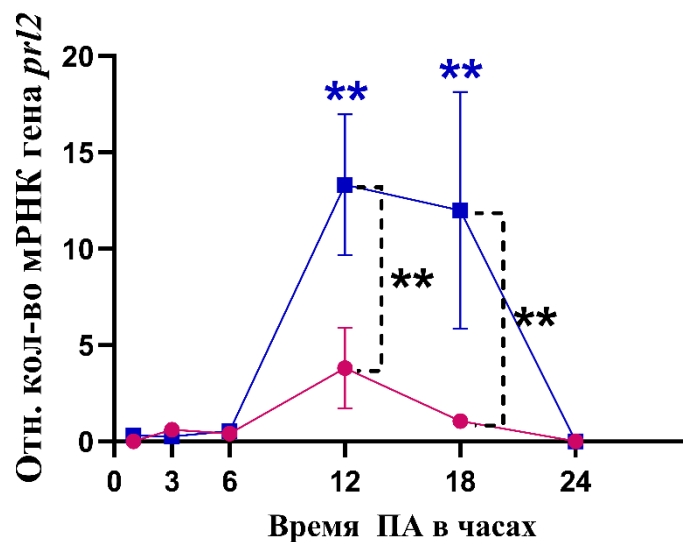


Рисунок 16 – Изменение относительного уровня мРНК гена пролактинподобного гормона *prl2* в мозге самок и α -самцов в модели острой пресноводной адаптации. По оси X – время ПА в часах, К – контрольная группа. Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$. Цветом группы выделены значимые отличия относительно контроля, чёрным цветом обозначены значимые различия между группами самок и самцов

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *prl1* и *prl2* в ткани мозга самок и α -самцов колюшек в моделях острой (24 ч.), хронической (72 ч.) ПА, а также в модели сочетанной ПА, представленные на Рисунках 13-16, представлены в Таблицах 4 и 5.

Таблица 4 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *prl1* и *prl2* в ткани мозга самок и α -самцов колюшек в моделях острой (24 ч) пресноводной адаптации; N = 6 для каждой из групп

Пол	Ген	Время ПА в часах	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
♀	<i>prl1</i>	0	0,136	0,0998	0,0317	0,1596	0,2016	0,1699
		3	0,318	0,2663	0,1068	0,2684	0,5273	0,4205
		6	0,1644	0,1156	0,0565	0,1646	0,2721	0,2156
		12	0,5275	0,6451	0,0556	0,1908	1,331	1,2754
		18	0,6151	0,4913	0,1762	0,4908	1,207	1,0308
		24	1,048	0,9147	0,0048	1,140	1,855	1,8502
α -♂	<i>prl1</i>	0	0,2035	0,1354	0,1076	0,1657	0,3466	0,239
		3	0,2526	0,1871	0,0834	0,219	0,4672	0,3838
		6	0,446	0,2205	0,2455	0,512	0,6455	0,4
		12	0,2739	0,0932	0,1849	0,2793	0,3215	0,1366
		18	0,3839	0,1417	0,2466	0,3797	0,4927	0,2461
		24	0,1955	0,1890	0,0467	0,1229	0,3942	0,3475
♀	<i>prl2</i>	0	0	0	0	0	0	0
		3	0,6092	0,7576	0,0572	0,1423	1,395	1,3378
		6	0,4112	0,4366	0	0,4712	0,7923	0,7923
		12	3,81	5,163	0,5084	1,046	8,287	7,7786
		18	1,051	0,9295	0	1,11	2,016	2,016
		24	0	0	0	0	0	0
α -♂	<i>prl2</i>	0	0,3136	0,2982	0	0,4324	0,5679	0,5679
		3	0,25	0,1393	0,1195	0,2428	0,3879	0,2684
		6	0,5366	0,4122	0,1457	0,5241	0,9402	0,7945
		12	13,33	7,324	8,474	10,52	20,99	12,516
		18	11,99	13,77	1,212	4,964	26,27	25,058
		24	0	0	0	0	0	0

Таблица 5 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии гена *prl1* в ткани мозга самок и α -самцов колюшек в моделях хронической (72 ч) и сочетанной (24 ч. и 72 ч.) пресноводной адаптации; N = 6 для каждой из групп

Модель	Группа, пол	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
Хроническая ПА	К, ♀	0,6859	0,2057	0,4931	0,6729	0,9067	0,4136
	К, α -♂	0,6466	0,2374	0,4042	0,644	0,8821	0,4779
	72, ♀	0,9316	0,04652	0,896	0,9071	0,9794	0,0834
	72, α -♂	0,5513	0,06692	0,4874	0,5643	0,6085	0,1211
Сочетанная, острая и хроническая ПА	К, ♀	0,1979	0,394	0,0021	0,0587	0,3005	0,2984
	К, α -♂	0,4696	0,3338	0,1137	0,5575	0,7493	0,6356
	24, ♀	1,278	0,5299	0,7006	1,342	1,780	1,0794
	24, α -♂	1,276	1,078	0,6105	0,8823	2,268	1,6575
	72, ♀	3,938	0,4894	3,526	3,849	4,395	0,869
	72, α -♂	0,4543	0,7157	0,0006	0,0977	1,086	1,0854

3.2.2. Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов *prlra* и *prlrb* в ткани мозга, почек, жабр и кишечника

Экспрессия гена пролактинового рецептора а *prlra* в мозге самок значительно увеличивалась в группе адаптации к пресной воде в течение 72 часов по сравнению с контролем; у α -самцов значимых различий по этому параметру между группами выявлено не было (Рисунок 17а). В условиях морской воды экспрессия гена *prlra* в мозге α -самцов по сравнению с самками наблюдалась на значимо более высоком уровне, после 72 часов пресноводной адаптации – на сопоставимом уровне (Рисунок 17а).

Экспрессия гена пролактинового рецептора б *prlrb* в мозге самок значительно увеличивалась в группе адаптации к пресной воде в течение 72 часов по сравнению с контролем; у α -самцов значимых различий по этому параметру между группами выявлено не было (Рисунок 17б).

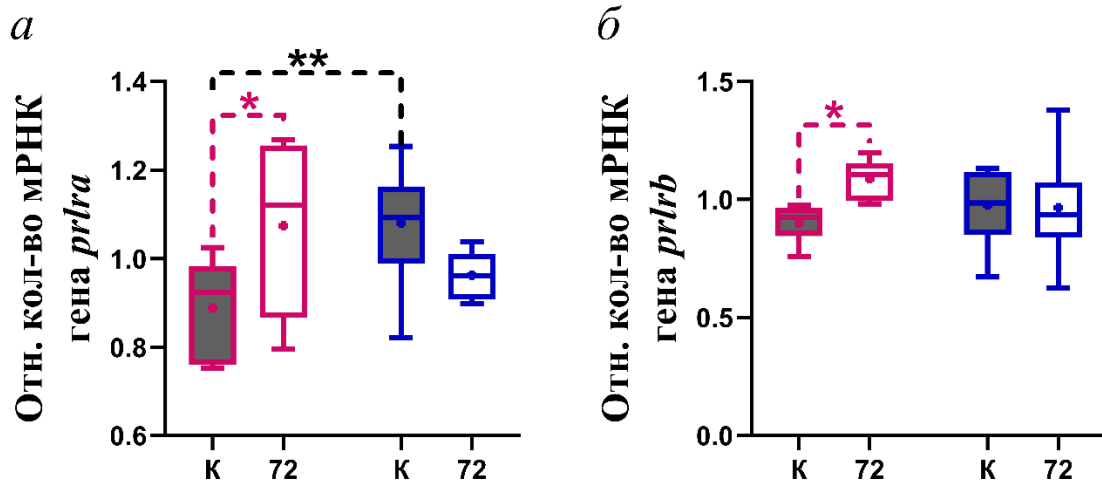


Рисунок 17 – Изменение относительной экспрессии генов пролактиновых рецепторов *prlra* (а) и *prlrb* (б) в ткани мозга самок и α -самцов в модели хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Экспрессия гена *prlra* в почках колюшек в ходе 72-часовой пресноводной адаптации не изменилась значимо относительно контроля ни у самок, ни у α -самцов (Рисунок 18а). Как в условиях морской воды, так и после 72-часовой адаптации к пресной воде в почках самок экспрессия гена *prlra* была значимо выше по сравнению с α -самцами (Рисунок 18а).

Экспрессия гена *prlrb* в почках колюшек при 72-часовой пресноводной адаптации значимо увеличилась у самок, значимо уменьшилась у α -самцов (Рисунок 18б). В условиях морской воды экспрессия гена *prlrb* в почках самок и α -самцов наблюдалась на сопоставимом уровне, в группе 72-часовой пресноводной адаптации этот параметр был значимо выше у самок по сравнению с α -самцами (Рисунок 18б).

Экспрессия гена *prlra* в жабрах колюшек при 72-часовой пресноводной адаптации не изменилась значимо ни у самок, ни у α -самцов (Рисунок 19а). Различия, связанные с полом, по экспрессии гена *prlra* в жабрах, не были выявлены ни в условиях морской воды, ни в группах колюшек, адаптированных к пресной воде в течение 72 часов (Рисунок 19а).

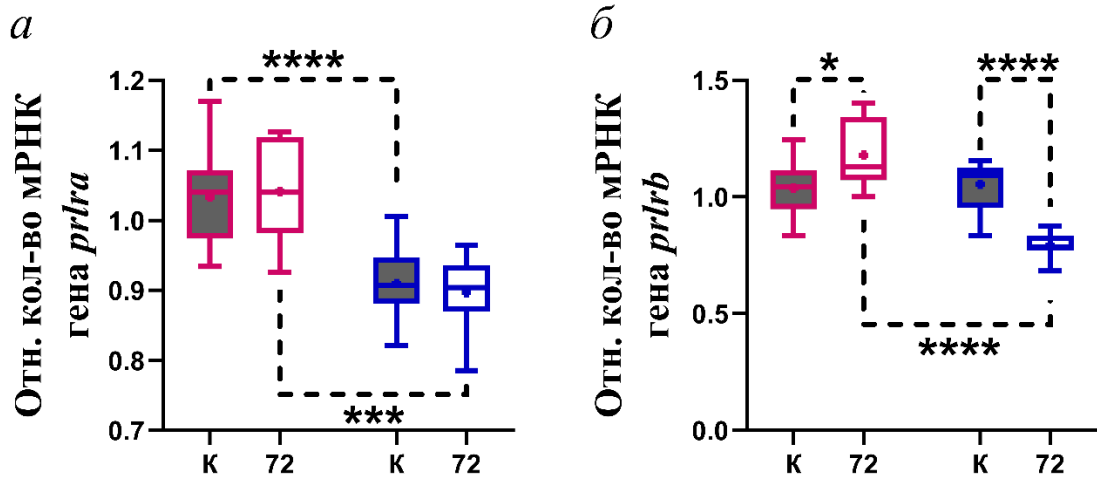


Рисунок 18 – Изменение относительной экспрессии генов пролактиновых рецепторов *prlra* (а) и *prlrb* (б) в почках самок и α -самцов в модели хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$

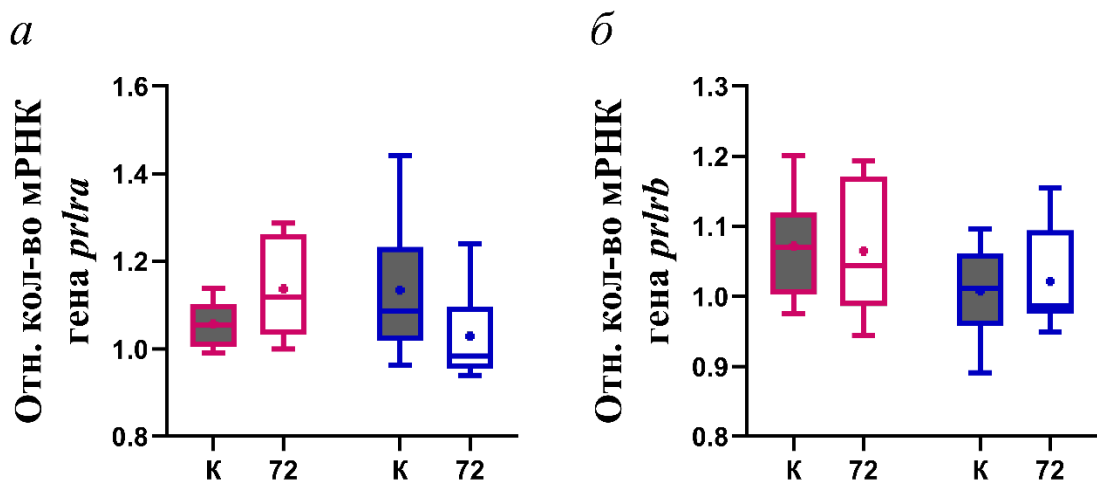


Рисунок 19 – Изменение относительной экспрессии генов пролактиновых рецепторов *prlra* (а) и *prlrb* (б) в жабрах самок и α -самцов в модели хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA

Экспрессия гена *prlrb* в жабрах колюшек при 72-часовой пресноводной адаптации не изменилась значимо ни у самок, ни у α -самцов (Рисунок 19б). Различия, связанные с полом, по экспрессии гена *prlrb* в жабрах, не были выявлены ни в условиях морской воды, ни в группах колюшек, адаптированных к пресной воде в течение 72 часов (Рисунок 19б).

Экспрессия гена *prlra* в кишечнике колюшек при 72-часовой пресноводной адаптации не изменилась значимо ни у самок, ни у α -самцов (Рисунок 20а). Различия, связанные с полом, по экспрессии гена *prlra* в кишечнике, не были выявлены ни в условиях морской воды, ни в группах колюшек, адаптированных к пресной воде в течение 72 часов (Рисунок 20а).

Экспрессия гена *prlrb* в кишечнике колюшек при 72-часовой пресноводной адаптации значимо уменьшилась как у самок, так и у α -самцов (Рисунок 20б). Различия, связанные с полом, по экспрессии гена *prlrb* в кишечнике, не были выявлены ни в условиях морской воды, ни в группах колюшек, адаптированных к пресной воде в течение 72 часов (Рисунок 20б).

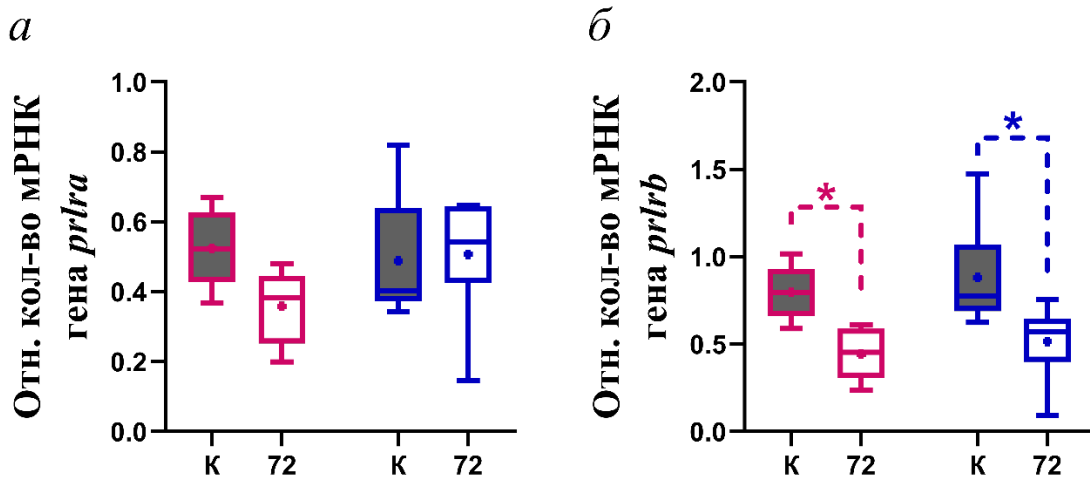


Рисунок 20 – Изменение относительной экспрессии генов пролактиновых рецепторов *prlra* (а) и *prlrb* (б) в кишечнике самок и α -самцов в модели хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *prlra* и *prlrb* в тканях мозга, почек, жабр и кишечника самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 72-часовой адаптации к пресной воде, представленные на Рисунках 17-20, представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *prlra* и *prlrb* в тканях мозга, почек, жабр и кишечника самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 72-часовой адаптации к пресной воде; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах	
К, ♀	Мозг	<i>prlra</i>	0,8881	0,1091	0,7593	0,9237	0,9830	0,2237	
		<i>prlrb</i>	0,8991	0,076	0,8451	0,9258	0,9666	0,1215	
	Почки	<i>prlra</i>	1,033	0,0661	0,9738	1,04	1,072	0,0982	
		<i>prlrb</i>	1,038	0,1269	0,9485	1,043	1,113	0,1645	
	Кишечник	<i>prlra</i>	1,057	0,0514	1,004	1,053	1,102	0,098	
		<i>prlrb</i>	1,072	0,06986	1,003	1,07	1,12	0,117	
	Жабры	<i>prlra</i>	0,5243	0,1089	0,4283	0,5227	0,6282	0,1999	
		<i>prlrb</i>	0,7974	0,157	0,6623	0,7952	0,9299	0,2676	
	К, α -♂	Мозг	<i>prlra</i>	1,081	0,1269	0,9887	1,093	1,163	0,1743
			<i>prlrb</i>	0,9772	0,166	0,8519	0,9857	1,115	0,2631
		Почки	<i>prlra</i>	0,91	0,053	0,8816	0,9069	0,9471	0,0655
			<i>prlrb</i>	1,054	0,1	0,9537	1,093	1,126	0,1723
Кишечник		<i>prlra</i>	1,134	0,1429	1,018	1,086	1,233	0,215	
		<i>prlrb</i>	1,008	0,0662	0,958	1,011	1,061	0,103	
Жабры		<i>prlra</i>	0,489	0,1813	0,3727	0,4041	0,6406	0,2679	
		<i>prlrb</i>	0,8828	0,3084	0,6891	0,7765	1,07	0,3809	
72, ♀		Мозг	<i>prlra</i>	1,074	0,2068	0,866	1,12	1,256	0,39
			<i>prlrb</i>	1,088	0,0839	0,9954	1,105	1,155	0,1596
		Почки	<i>prlra</i>	1,041	0,0778	0,9814	1,04	1,118	0,1366
			<i>prlrb</i>	1,18	0,1513	1,072	1,129	1,343	0,271
	Кишечник	<i>prlra</i>	1,137	0,1151	1,033	1,119	1,263	0,23	
		<i>prlrb</i>	1,065	0,0964	0,9861	1,043	1,171	0,1849	
	Жабры	<i>prlra</i>	0,3584	0,1047	0,2524	0,3838	0,4448	0,1924	
		<i>prlrb</i>	0,4448	0,1456	0,3086	0,4540	0,5897	0,2811	
	72, α -♂	Мозг	<i>prlra</i>	0,9629	0,05093	0,9084	0,9608	1,01	0,1016
			<i>prlrb</i>	0,9661	0,2121	0,8389	0,9373	1,073	0,2341
		Почки	<i>prlra</i>	0,8968	0,05291	0,8702	0,9038	0,9362	0,066
			<i>prlrb</i>	0,7929	0,0532	0,774	0,782	0,8349	0,0609
Кишечник		<i>prlra</i>	1,029	0,09692	0,9546	0,9837	1,095	0,1404	
		<i>prlrb</i>	1,022	0,0702	0,9753	0,9866	1,094	0,1187	
Жабры		<i>prlra</i>	0,5069	0,1851	0,4251	0,5432	0,6446	0,2195	
		<i>prlrb</i>	0,5161	0,2245	0,3987	0,5708	0,6447	0,246	

3.3. Изменение экспрессии генов ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника у самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации

3.3.1. Изменение экспрессии генов α -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы

Экспрессия гена $\alpha 1$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы *atp1a1* в модели острой и хронической пресноводной адаптации не менялась ни у самок, ни у α -самцов ни в жабрах, ни в кишечнике (Рисунок 21а, 21б). В группе колюшек после 72 часов пресноводной адаптации экспрессия гена *atp1a1* в жабрах самок была значимо выше по сравнению с α -самцами (Рисунок 21а).

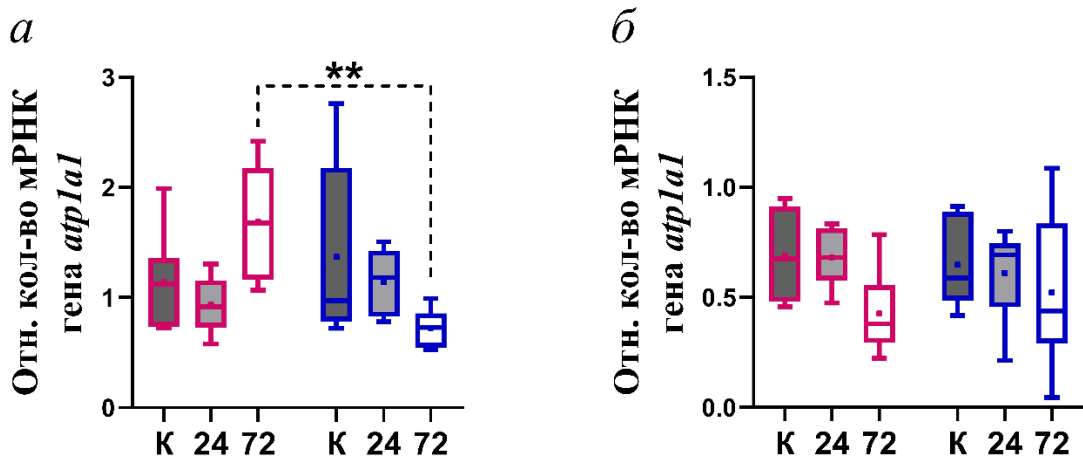


Рисунок 21 – Изменение относительной экспрессии гена *atp1a1* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$

Экспрессия гена $\alpha 2$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы *atp1a2* в ткани жабр и кишечника контрольной и экспериментальных групп самок и α -самцов наблюдалась на разрешающей границе метода, либо не наблюдалась.

Экспрессия гена $\alpha 3$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы *atp1a3* в модели острой и хронической пресноводной адаптации не менялась ни у самок, ни у α -самцов в ткани жабр (Рисунок 22а). В условиях морской воды в ткани жабр экспрессия гена *atp1a3* у самок наблюдалась на значимо более высоком уровне по сравнению с α -самцами (Рисунок 22а).

В ткани кишечника самок экспрессия гена *atp1a3* в ходе пресноводной адаптации значительно увеличивалась начиная с 24 часа (Рисунок 22б). В ткани кишечника α -самцов экспрессия гена *atp1a3* в ходе пресноводной адаптации значительно не менялась. В условиях морской воды интенсивность экспрессии гена *atp1a3* в кишечнике самок и α -самцов наблюдалась на сопоставимом уровне. После 72-часовой адаптации к пресной воде экспрессия гена *atp1a3* в кишечнике самок была значительно выше по сравнению с α -самцами (Рисунок 22б).

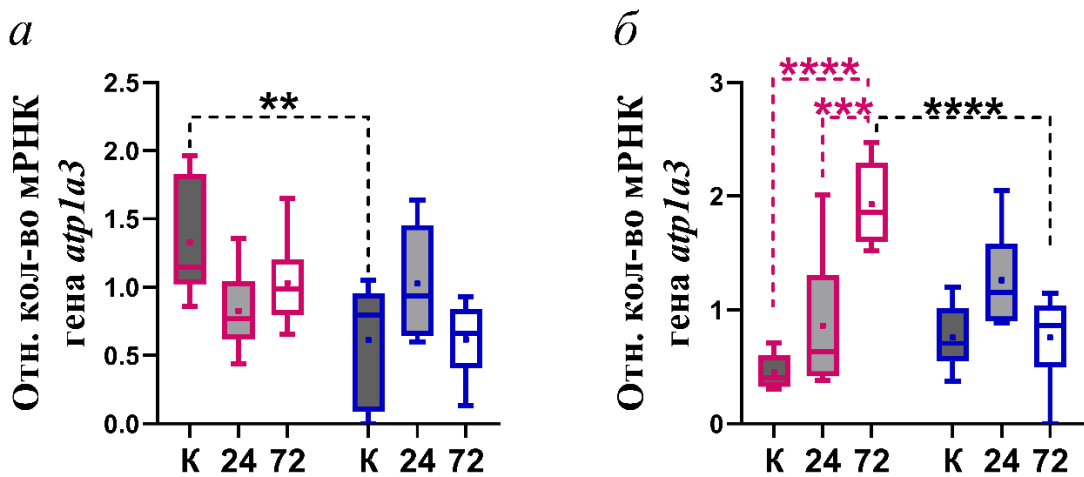


Рисунок 22– Изменение относительной экспрессии гена *atp1a3* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$

Отношение уровней экспрессии генов *atp1a1* и *atp1a3* в жабрах в модели пресноводной адаптации не менялось ни у самок, ни у α -самцов (рисунок 23а). В условиях морской воды, в группах адаптации к пресной воде в течение 24 и 72 часов различия по данному параметру, связанные с полом особей, не наблюдались (Рисунок 23а).

В ткани кишечника самок отношение уровней экспрессии генов *atp1a1* и *atp1a3* значительно снижалось в модели пресноводной адаптации начиная с 24 часа (Рисунок 23б). В условиях морской воды обнаружены различия, связанные с полом: у самок данный параметр был значительно выше по сравнению с α -самцами (Рисунок 23б).

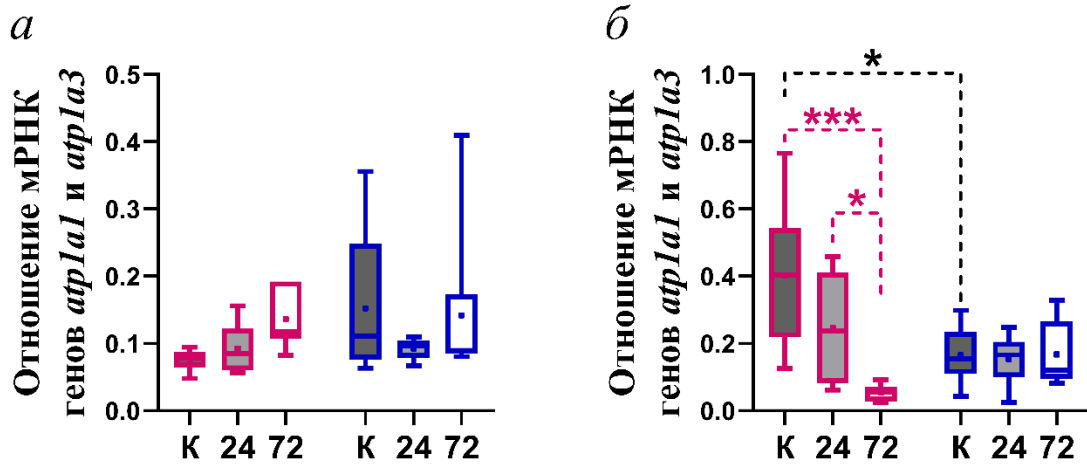


Рисунок 23 – Изменение отношения экспрессии генов *atp1a1* и *atp1a3* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *atp1a1* и *atp1a3* в жабрах и кишечнике самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде, представленные на Рисунках 21-22, представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *atp1a1*, *atp1a3* в жабрах и кишечнике самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К, ♀	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,142	0,4595	0,7357	1,124	1,36	0,6243
		<i>atp1a3</i>	1,33	0,4381	1,022	1,15	1,83	0,808
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,6907	0,234	0,4797	0,6745	0,9132	0,4335
		<i>atp1a3</i>	0,4522	0,1607	0,3249	0,4019	0,6002	0,2753
К, α -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,369	0,821	0,7811	0,9727	2,179	1,3979
		<i>atp1a3</i>	0,6133	0,4433	0,0861	0,7971	0,9532	0,86714
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,6485	0,2023	0,4844	0,587	0,8886	0,4042
		<i>atp1a3</i>	0,7588	0,2872	0,5475	0,7073	1,018	0,4705
24, ♀	Жабры	<i>atp1a1</i>	0,9343	0,2555	0,7289	0,919	1,156	0,4271
		<i>atp1a3</i>	0,8251	0,307	0,6198	0,7678	1,044	0,4242
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,681	0,1395	0,5755	0,6803	0,8148	0,2393
		<i>atp1a3</i>	0,8612	0,6214	0,4154	0,6366	1,308	0,8926

Продолжение Таблицы 7

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
24, α -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,138	0,3083	0,8268	1,182	1,427	0,6002
		<i>atp1a3</i>	1,027	0,43	0,6455	0,9334	1,456	0,8105
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,6103	0,2129	0,4554	0,6932	0,7448	0,2894
		<i>atp1a3</i>	1,262	0,4442	0,8989	1,152	1,583	0,6841
72, ♀	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,688	0,5545	1,165	1,676	2,173	1,008
		<i>atp1a3</i>	1,031	0,3368	0,796	0,9889	1,206	0,41
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,4268	0,1981	0,2926	0,3796	0,5547	0,2621
		<i>atp1a3</i>	1,929	0,3709	1,602	1,859	2,295	0,693
72, α -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	0,7224	0,1747	0,5461	0,7278	0,8555	0,3094
		<i>atp1a3</i>	0,6174	0,2932	0,4099	0,6639	0,8432	0,4333
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,5222	0,356	0,2916	0,4377	0,8362	0,5446
		<i>atp1a3</i>	0,758	0,4062	0,4967	0,8673	1,041	0,5443

3.3.2. Изменение экспрессии генов транспортёров НКСС и НСС

Экспрессия гена НКСС1а-обменника *nkssl1a* в ткани жабр самок в модели пресноводной адаптации значительно снижалась начиная с 24-го часа (Рисунок 24а). В ткани жабр α -самцов экспрессия гена *nkssl1a* также снижалась к 72-му часу пресноводной адаптации. Ни в контрольной, ни в экспериментальных группах различия, связанные с полом, по экспрессии гена *nkssl1a* в жабрах выявлены не была (Рисунок 24а).

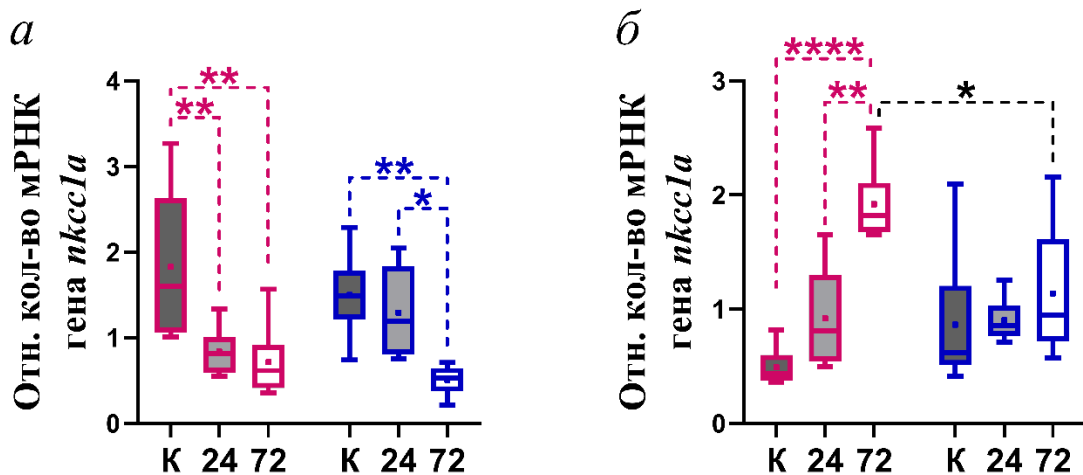


Рисунок 24 – Изменение относительной экспрессии гена *nkssl1a* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,0001$

Экспрессия гена *nkss1a* в ткани кишечника самок в модели пресноводной адаптации значительно увеличивалась к 72-му часу (Рисунок 24б). У α -самцов в кишечнике значимых различий между экспериментальными и контрольной группой по экспрессии гена *nkss1a* выявлено не было (Рисунок 24б).

Экспрессия гена NKCC2-обменника *nkss2* в ткани жабр самок и α -самцов не менялась в модели пресноводной адаптации (Рисунок 25а). Значимые различия, связанные с полом, по экспрессии данного гена в ткани жабр не были обнаружены ни в условиях морской воды, ни после пресноводной адаптации (Рисунок 25а).

Экспрессия гена *nkss2* в кишечнике самок значительно снижалась в модели пресноводной адаптации начиная с 24-го часа (Рисунок 25б). У α -самцов в кишечнике экспрессия гена *nkss2* значительно не различалась между группами (Рисунок 25б). Ни в условиях морской воды, ни после пресноводной адаптации различия, связанные с полом, выявлены не были (Рисунок 25б).

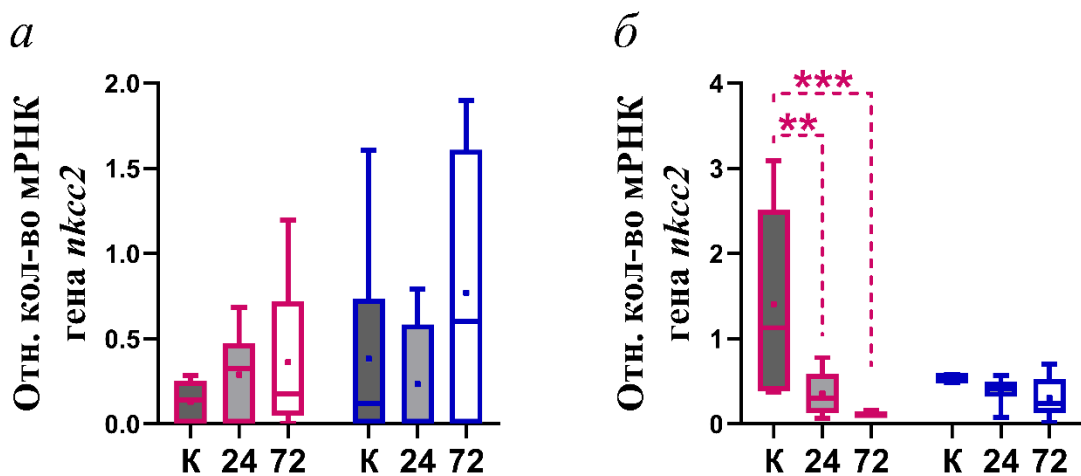


Рисунок 25 – Изменение относительной экспрессии гена *nkss2* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

Экспрессия гена NCC-транспортёра *nss* в ткани жабр самок и α -самцов не менялась в модели пресноводной адаптации (Рисунок 26а). Значимые различия, связанные с полом, по экспрессии данного гена в ткани жабр не были обнаружены ни в условиях морской воды, ни после пресноводной адаптации (Рисунок 26а).

В ткани кишечника самок экспрессия гена *ncc* не менялась в ходе пресноводной адаптации (Рисунок 26б). В ткани кишечника самцов в модели пресноводной адаптации экспрессия гена *ncc* значительно увеличилась (Рисунок 26б).

Ни в условиях морской воды, ни после пресноводной адаптации, значимые различия данного параметра, ассоциированные с полом, выявлены не были (Рисунок 26б).

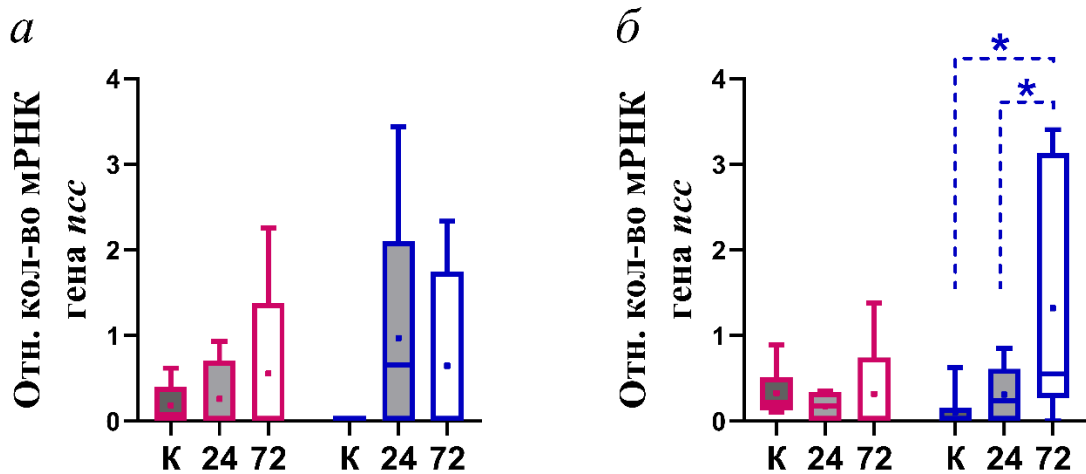


Рисунок 26 – Изменение относительной экспрессии гена *ncc* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *nkcc1a*, *nkcc2* и *ncc* в жабрах и кишечнике самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде, представленные на Рисунках 24-26, представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *nkcc1a*, *nkcc2* и *ncc* в жабрах и кишечнике самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К, ♀	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,829	0,8673	1,062	1,599	2,628	1,566
		<i>nkcc2</i>	0,1301	0,1291	0	0,142	0,2543	0,2543
		<i>ncc</i>	0,1855	0,2506	0	0,0811	0,403	0,403

Продолжение Таблицы 8

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К, ♀	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,4913	0,1693	0,3723	0,4339	0,5987	0,2264
		<i>nkcc2</i>	1,405	1,116	0,3813	1,13	2,512	2,1307
		<i>ncc</i>	0,3283	0,2964	0,1263	0,2202	0,5196	0,3933
К, α-♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,498	0,4969	1,213	1,488	1,781	0,568
		<i>nkcc2</i>	0,3817	0,6267	0	0,1191	0,7354	0,7354
		<i>ncc</i>	0	0	0	0	0	0
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,8645	0,6243	0,5079	0,6172	1,203	0,6951
		<i>nkcc2</i>	0,5328	0,0497	0,4808	0,5379	0,5798	0,099
		<i>ncc</i>	0,104	0,2547	0	0	0,156	0,156
24, ♀	Жабры	<i>nkcc1a</i>	0,836	0,2809	0,5923	0,8164	1,008	0,4157
		<i>nkcc2</i>	0,2888	0,2625	0	0,3243	0,4718	0,4718
		<i>ncc</i>	0,2612	0,4154	0	0	0,7098	0,7098
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,9176	0,45	0,5417	0,8076	1,302	0,7603
		<i>nkcc2</i>	0,3552	0,2671	0,1263	0,3045	0,5931	0,4668
		<i>ncc</i>	0,1752	0,1542	0	0,1824	0,3398	0,3398
24, α-♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,293	0,542	0,8006	1,194	1,835	1,0344
		<i>nkcc2</i>	0,2338	0,352	0	0	0,5845	0,5845
		<i>ncc</i>	0,972	1,425	0	0,6558	2,102	2,102
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,9026	0,1919	0,7654	0,8534	1,032	0,2666
		<i>nkcc2</i>	0,3918	0,1672	0,3196	0,4135	0,4984	0,1788
		<i>ncc</i>	0,3113	0,3638	0	0,241	0,6131	0,6131
72, ♀	Жабры	<i>nkcc1a</i>	0,7134	0,4382	0,4109	0,6157	0,9167	0,5058
		<i>nkcc2</i>	0,3621	0,4534	0,0474	0,175	0,7213	0,6739
		<i>ncc</i>	0,5581	0,9406	0	0	1,382	1,382
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	1,918	0,344	1,674	1,821	2,107	0,433
		<i>nkcc2</i>	0,1131	0,0388	0,0722	0,1127	0,151	0,0788
		<i>ncc</i>	0,3189	0,5625	0	0	0,7443	0,7443
72, α-♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	0,5038	0,1828	0,3716	0,5269	0,6462	0,2746
		<i>nkcc2</i>	0,7691	0,7889	0	0,6016	1,609	1,609
		<i>ncc</i>	0,6476	1,034	0	0	1,746	1,746
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	1,137	0,5792	0,718	0,9451	1,613	0,895
		<i>nkcc2</i>	0,3058	0,242	0,1329	0,2392	0,5262	0,3933
		<i>ncc</i>	1,32	1,497	0,2766	0,552	3,135	2,8584

3.3.3. Изменение экспрессии генов *ESAC* и *NHE*

Экспрессия гена кальциевого канала *ESAC* *esac* в ткани жабр колюшек не менялась значимо ни у самок, ни у α-самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации (Рисунок 27а).

Ни в контрольной, ни в экспериментальных группах различия, связанные с полом, выявлены не были (Рисунок 27а).

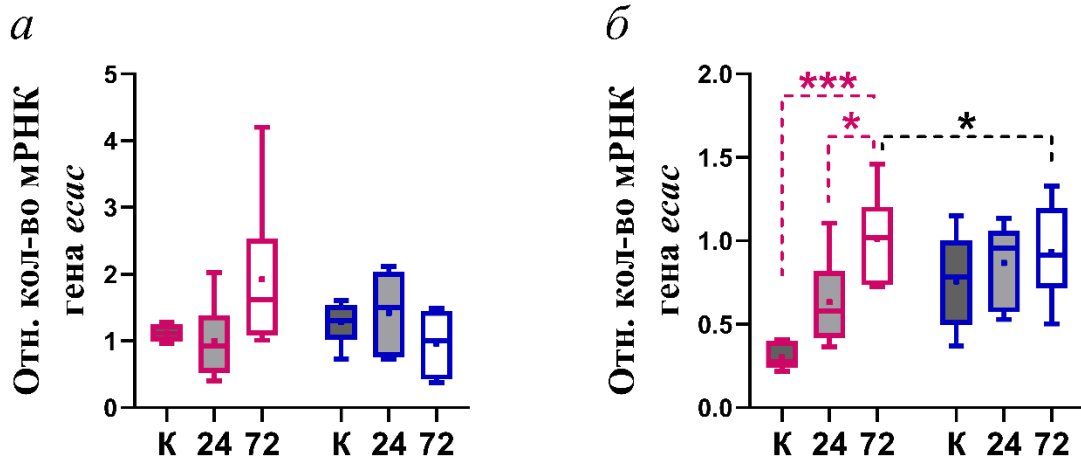


Рисунок 27 – Изменение относительной экспрессии гена *esac* в жабрах (*a*) и кишечнике (*б*) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$

В ткани кишечника самок в модели пресноводной адаптации наблюдалось значимое увеличение экспрессии гена *esac* (Рисунок 27б). У α -самцов значимые изменения этого параметра не были обнаружены. В условиях морской воды экспрессия гена *esac* в кишечнике самок была значимо ниже по сравнению с α -самцами; после 24 и 72 часов пресноводной адаптации различия, связанные с полом, не наблюдались (Рисунок 27б).

Экспрессия гена Na^+/H^+ -обменника NHE2 *nhe2* в ткани жабр колюшек не менялась значимо ни у самок, ни у α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации (Рисунок 28а). Ни в контрольной, ни в экспериментальных группах различия, связанные с полом, выявлены не были (Рисунок 28а).

Экспрессия гена *nhe2* в ткани кишечника самок значимо увеличивалась в модели пресноводной адаптации к 72 часу (Рисунок 28б). У α -самцов экспрессия гена *nhe2* в кишечнике не менялась в модели пресноводной адаптации. Ни в контрольной, ни в экспериментальных группах различия, связанные с полом, выявлены не были (Рисунок 28б).

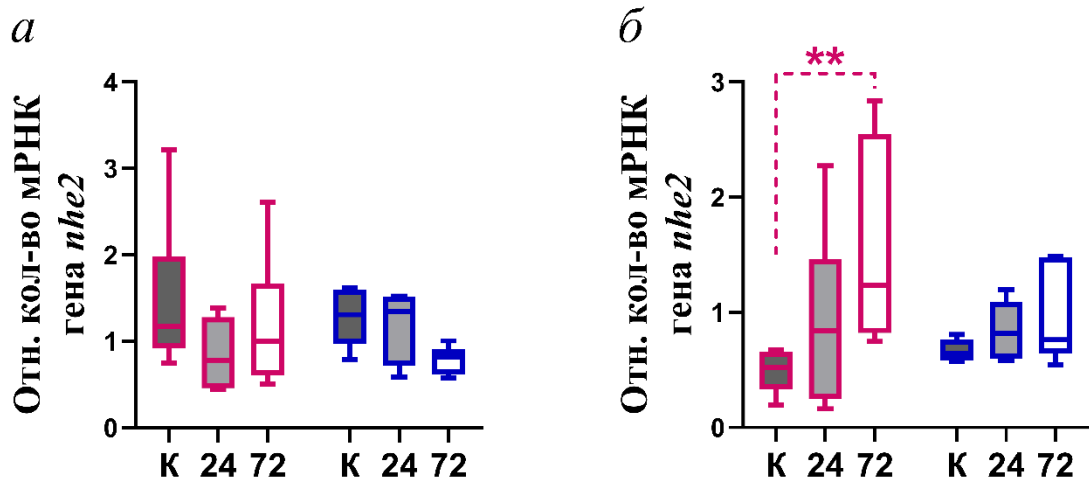


Рисунок 28 – Изменение относительной экспрессии гена *nhe2* в жабрах (а) и кишечнике (б) самок и α -самцов в модели острой и хронической пресноводной адаптации. Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$

Экспрессия гена Na^+/H^+ -обменника NHE3 *nhe3* как в ткани жабр, так и в ткани кишечника и у самок, и у α -самцов в модели пресноводной адаптации не была обнаружена либо детектировалась на разрешающей грани метода.

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *esac* и *nhe2* в жабрах и кишечнике самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде, представленные на Рисунках 27-28, представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *nkssl1a*, *nkssl2* и *nss* в жабрах и кишечнике самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, а также после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К, ♀	Жабры	<i>esac</i>	1,12	0,1342	0,9893	1,116	1,252	0,2627
		<i>nhe2</i>	1,474	0,8948	0,9154	1,17	1,978	1,0626
	Кишечник	<i>esac</i>	0,3031	0,0819	0,238	0,276	0,401	0,163
		<i>nhe2</i>	0,4913	0,1816	0,3311	0,5232	0,658	0,3269
К, α -♂	Жабры	<i>esac</i>	1,279	0,3315	1,014	1,301	1,534	0,52
		<i>nhe2</i>	1,288	0,3373	0,9704	1,307	1,595	0,6246
	Кишечник	<i>esac</i>	0,7566	0,2888	0,4953	0,7839	1,004	0,5087
		<i>nhe2</i>	0,6664	0,0969	0,581	0,6438	0,7632	0,1822

Продолжение Таблицы 9

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
24, ♀	Жабры	<i>esac</i>	1,002	0,5809	0,5219	0,9271	1,387	0,8651
		<i>nhe2</i>	0,8505	0,3916	0,4589	0,7819	1,279	0,8201
	Кишечник	<i>esac</i>	0,6321	0,2775	0,4174	0,5806	0,8199	0,4025
		<i>nhe2</i>	0,9295	0,7869	0,2485	0,8395	1,459	1,2105
24, α-♂	Жабры	<i>esac</i>	1,419	0,6411	0,762	1,501	2,035	1,273
		<i>nhe2</i>	1,163	0,421	0,7199	1,341	1,516	0,7961
	Кишечник	<i>esac</i>	0,8667	0,2485	0,5732	0,957	1,06	0,4868
		<i>nhe2</i>	0,8458	0,2546	0,5977	0,8171	1,092	0,4943
72, ♀	Жабры	<i>esac</i>	1,923	1,175	1,084	1,619	2,535	1,451
		<i>nhe2</i>	1,184	0,7594	0,6074	1,001	1,666	1,0586
	Кишечник	<i>esac</i>	1,013	0,2787	0,7336	1,019	1,204	0,4704
		<i>nhe2</i>	1,595	0,9115	0,822	1,234	2,549	1,727
72, α-♂	Жабры	<i>esac</i>	0,958	0,4918	0,4244	1,003	1,451	1,0266
		<i>nhe2</i>	0,7863	0,1604	0,6174	0,8155	0,908	0,2906
	Кишечник	<i>esac</i>	0,9343	0,2921	0,7154	0,9167	1,198	0,4826
		<i>nhe2</i>	0,9516	0,4194	0,6446	0,7625	1,478	0,8334

3.3.4. Корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров

Для групп самок и α-самцов проведён анализ корреляций экспрессии исследованных генов ионных транспортёров и генов пролактиновых рецепторов.

Значимые корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике самок представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Значимые корреляции экспрессии генов пролактиновых рецепторов и генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике самок колюшек. R и p указаны по критерию Спирмена

Ткань	Ген 1	Ген 2	r	p
Жабры	<i>prlra</i>	<i>prlrb</i>	0,93	< 0,00001
Жабры	<i>prlra</i>	<i>atp1a3</i>	0,76	0,0002
Жабры	<i>prlrb</i>	<i>atp1a3</i>	0,86	< 0,00001
Жабры	<i>prlra</i>	<i>nkcc1a</i>	0,75	0,0004
Жабры	<i>prlrb</i>	<i>nkcc1a</i>	0,87	< 0,0001

Продолжение Таблицы 10

Ткань	Ген 1	Ген 2	r	p
Жабры	<i>prlra</i>	<i>nhe2</i>	0,95	< 0,0001
Жабры	<i>prlrb</i>	<i>nhe2</i>	0,96	< 0,0001
Кишечник	<i>prlra</i>	<i>prlrb</i>	0,63	0,005
Кишечник	<i>prlra</i>	<i>atp1a3</i>	-0,715	0,0009
Кишечник	<i>prlrb</i>	<i>atp1a3</i>	-0,65	0,004
Кишечник	<i>prlra</i>	<i>atp1a1 / atp1a3</i>	0,61	0,007
Кишечник	<i>prlrb</i>	<i>nkcc1a</i>	-0,72	0,0008

У α -самцов значимая корреляция выявлена только между экспрессией генов *prlrb* и *atp1a3* в ткани жабр ($r = 0,68$; $p = 0,0003$; критерий Спирмена).

3.4. Сравнение экспрессии генов пролактина и ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды

Содержание ионов Na^+ в плазме крови α -самцов значимо не различалось между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. У ω -самцов также не было обнаружено различий по данному параметру при сравнении контрольной и экспериментальной групп (Рисунок 29а). В условиях морской воды концентрация содержания Na^+ в плазме крови α - и ω -самцов значимо не различалось. На фоне внутрибрюшинного введения овечьего пролактина (oPr1) между группами α - и ω -самцов значимых различий также не было обнаружено (Рисунок 29а).

Содержание ионов K^+ в плазме крови α -самцов на фоне введения oPr1 было значимо выше по сравнению с контрольной группой. У ω -самцов не было обнаружено различий по данному параметру при сравнении контрольной и экспериментальной групп (Рисунок 29б). В условиях морской воды концентрация содержания K^+ в плазме крови α - и ω -самцов значимо не различалось. На фоне

внутрибрюшинного введения овечьего пролактина (oPrl) между группами α - и ω -самцов значимых различий также не было обнаружено (Рисунок 29б).

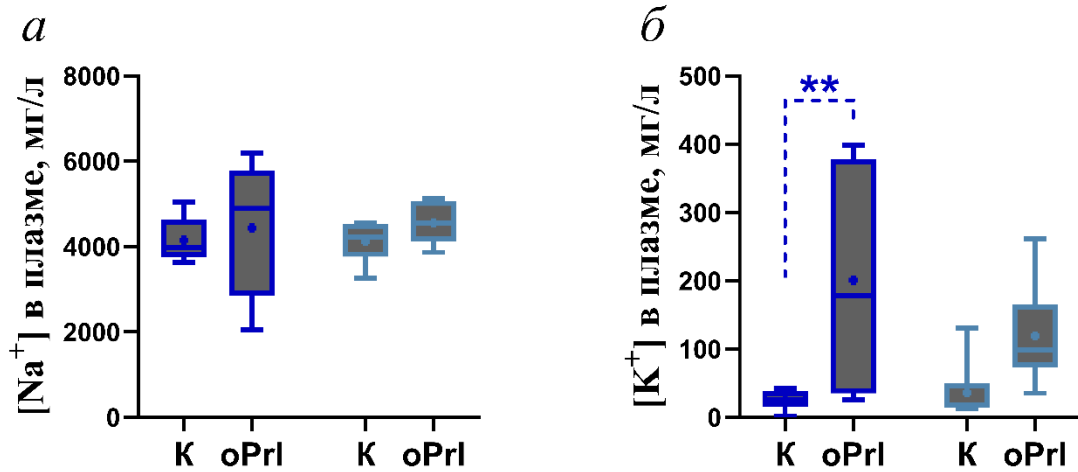


Рисунок 29 – Изменение концентрации ионов Na^+ (а) и K^+ (б) в плазме крови α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$

Сводные данные об описательных характеристиках концентраций ионов Na^+ и K^+ в плазме крови α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPrl, представленные на Рисунке 29, представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Описательная статистика концентраций ионов Na^+ и K^+ в плазме крови α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPrl; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Показатель (ед.изм.)	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
K, α -♂	[Na^+] (мг/л)	4150	536	3749	3974	4629	880
	[K^+] (мг/л)	25	14	16	26	38	22
K, ω -♂	[Na^+] (мг/л)	4123	482	3765	4233	4538	773
	[K^+] (мг/л)	36	47	15	18	49	34
oPrl, α -♂	[Na^+] (мг/л)	4434	1618	2855	4893	5784	2929
	[K^+] (мг/л)	201	173	35	178	378	343
oPrl, ω -♂	[Na^+] (мг/л)	4557	515	4122	4544	5072	950
	[K^+] (мг/л)	119	77	73	99	165	92

3.4.1. Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов

Экспрессия гена пролактинового рецептора а *prlra* в ткани жабр α -самцов на фоне введения oPrI в условиях морской воды наблюдалась на значимо более высоком уровне относительно контрольной группы (в условиях морской воды на фоне введения физиологического раствора) (Рисунок 30а). У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 30а).

Экспрессия гена пролактинового рецептора а *prlra* в ткани кишечника α -самцов на фоне введения oPrI в условиях морской воды наблюдалась на значимо более высоком уровне относительно контрольной группы (в условиях морской воды на фоне введения физиологического раствора) (Рисунок 30б). У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 30б).

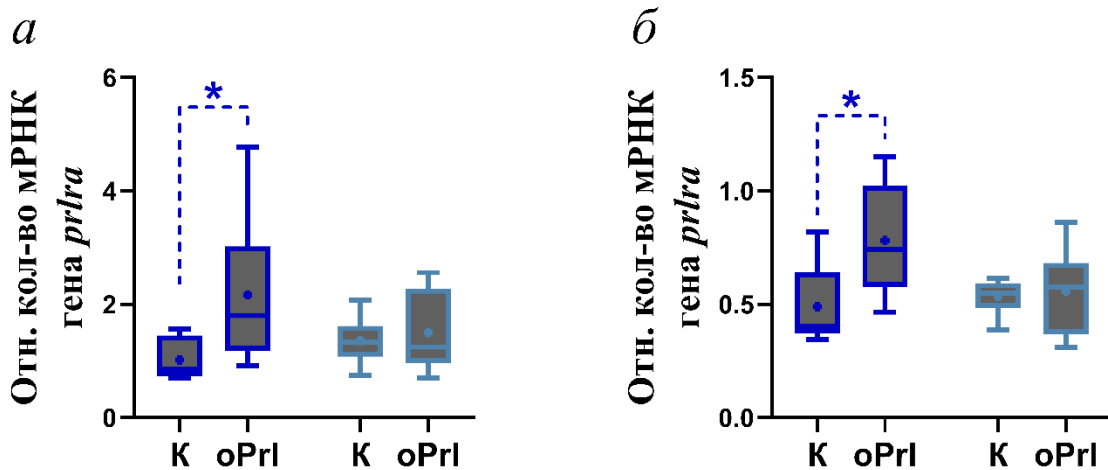


Рисунок 30 – Изменение относительной экспрессии гена *prlra* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Экспрессия гена пролактинового рецептора б *prlrb* в ткани жабр α -самцов на фоне введения oPrl в условиях морской воды наблюдалась на значимо более высоком уровне относительно контрольной группы (в условиях морской воды на фоне введения физиологического раствора) (Рисунок 31а).

У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 31а).

Экспрессия гена пролактинового рецептора б *prlrb* в ткани кишечника α -самцов на фоне введения oPrl в условиях морской воды наблюдалась на значимо более низком уровне относительно контрольной группы (в условиях морской воды на фоне введения физиологического раствора) (Рисунок 31б).

У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 31б).

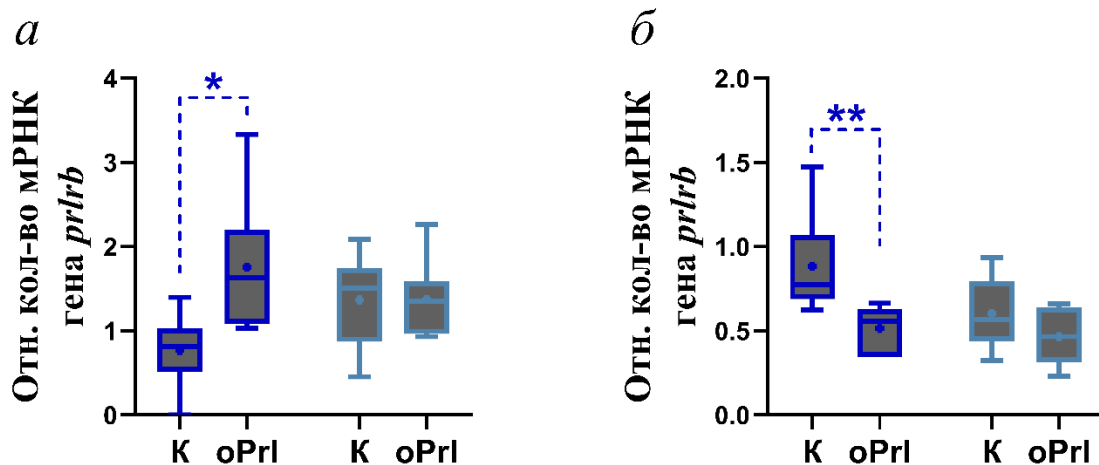


Рисунок 31 – Изменение относительной экспрессии гена *prlrb* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *prlra* и *prlrb* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в

условиях морской воды без и на фоне введения oPrl, представленные на Рисунках 30-31, представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *prlra* и *prlrb* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPrl; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К α -♂	Жабры	<i>prlra</i>	1,018	0,3743	0,7264	0,853	1,45	0,7236
		<i>prlrb</i>	0,7686	0,4547	0,5116	0,8118	1,03	0,5184
	Кишечник	<i>prlra</i>	0,489	0,1813	0,3727	0,4041	0,6406	0,2679
		<i>prlrb</i>	0,8828	0,3084	0,6891	0,7765	1,07	0,3809
К ω -♂	Жабры	<i>prlra</i>	1,357	0,4317	1,077	1,336	1,619	0,542
		<i>prlrb</i>	1,757	0,843	1,08	1,63	2,199	1,119
	Кишечник	<i>prlra</i>	0,5335	0,0796	0,4833	0,5491	0,593	0,1097
		<i>prlrb</i>	0,5146	0,1377	0,345	0,5574	0,63	0,285
oPrl α -♂	Жабры	<i>prlra</i>	2,165	1,377	1,177	1,802	3,02	1,843
		<i>prlrb</i>	1,367	0,5645	0,8717	1,507	1,75	0,8783
	Кишечник	<i>prlra</i>	0,7819	0,2535	0,5765	0,7415	1,022	0,4455
		<i>prlrb</i>	0,6022	0,2188	0,438	0,5655	0,7935	0,3555
oPrl ω -♂	Жабры	<i>prlra</i>	1,5	0,7147	0,9694	1,249	2,277	1,3076
		<i>prlrb</i>	1,373	0,4782	0,964	1,353	1,588	0,624
	Кишечник	<i>prlra</i>	0,5557	0,1934	0,3685	0,5768	0,6817	0,3132
		<i>prlrb</i>	0,4657	0,1676	0,313	0,4657	0,6388	0,3258

3.4.2. Изменение экспрессии генов α -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы

Экспрессия гена $\alpha 1$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы *atp1a1* в ткани жабр α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани жабр ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPrl по сравнению с контрольной группой (Рисунок 32а). Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 32а).

Экспрессия гена *atp1a1* в ткани кишечника α -самцов на фоне введения oPrl в условиях морской воды наблюдалась на значимо более высоком уровне относительно контрольной группы (Рисунок 32б). У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 32б).

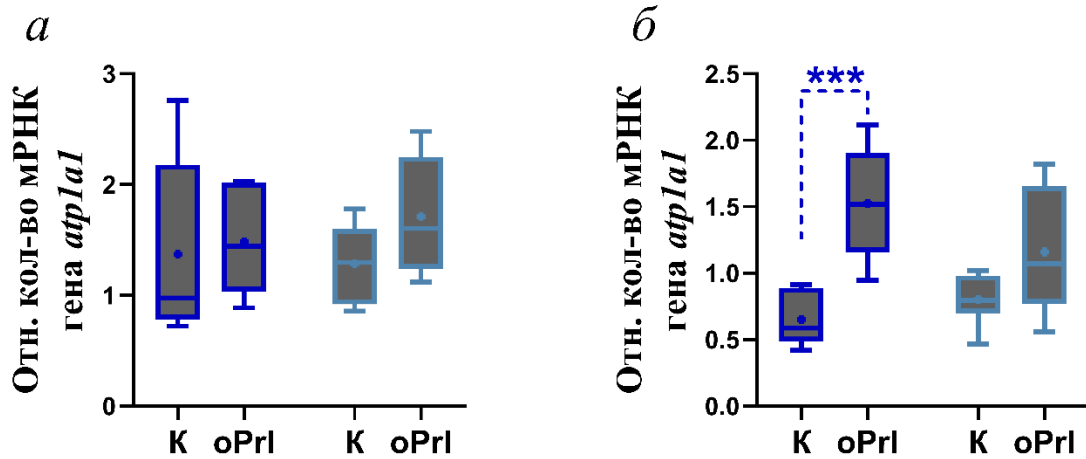


Рисунок 32 – Изменение относительной экспрессии гена *atp1a1* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; *** – $p < 0,001$

Экспрессия гена $\alpha 3$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы *atp1a3* в ткани жабр α -самцов на фоне введения oPr1 в условиях морской воды наблюдалась на значительно более высоком уровне относительно контрольной группы (Рисунок 33а). У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 33а).

Экспрессия гена *atp1a3* в ткани кишечника α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани кишечника ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPr1 по сравнению с контрольной группой (Рисунок 33б). Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 33б).

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *atp1a1* и *atp1a3* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPr1, представленные на Рисунках 32-33, представлены в Таблице 13.

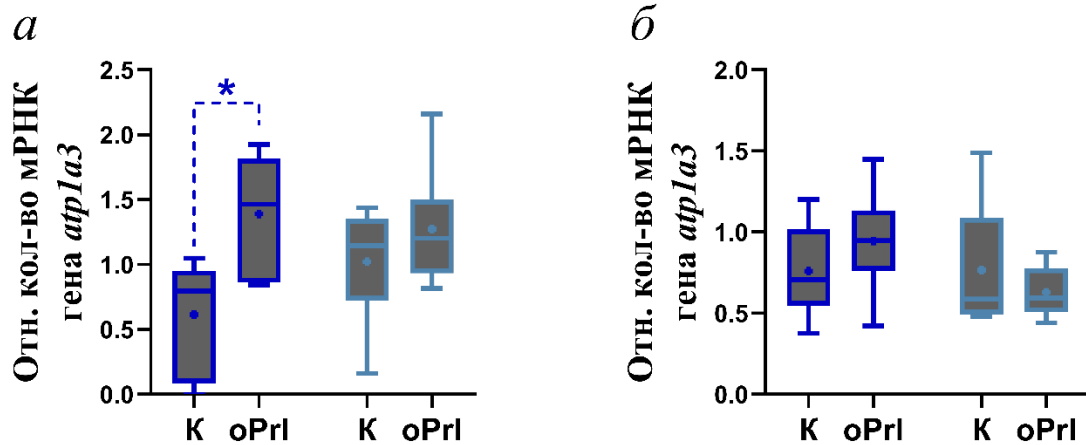


Рисунок 33 – Изменение относительной экспрессии гена *atp1a3* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Таблица 13 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *atp1a1* и *atp1a3* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPrI; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К α -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,369	0,821	0,7811	0,9727	2,179	1,3979
		<i>atp1a3</i>	0,6133	0,4433	0,086	0,7971	0,9532	0,8672
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,6485	0,2023	0,4844	0,587	0,8886	0,4042
		<i>atp1a3</i>	0,7588	0,2872	0,5475	0,7073	1,018	0,4705
К ω -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,482	0,5011	1,031	1,443	2,018	0,987
		<i>atp1a3</i>	1,391	0,4922	0,8609	1,466	1,816	0,9551
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	1,526	0,4169	1,156	1,519	1,904	0,748
		<i>atp1a3</i>	0,945	0,3293	0,7614	0,948	1,134	0,3726
oPrI α -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,285	0,3567	0,9196	1,297	1,599	0,6794
		<i>atp1a3</i>	1,021	0,4585	0,7228	1,147	1,353	0,6302
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	0,802	0,1937	0,6969	0,7926	0,9798	0,2829
		<i>atp1a3</i>	0,7655	0,3952	0,4924	0,5867	1,089	0,5966
oPrI ω -♂	Жабры	<i>atp1a1</i>	1,71	0,5436	1,238	1,605	2,25	1,012
		<i>atp1a3</i>	1,273	0,468	0,935	1,203	1,501	0,566
	Кишечник	<i>atp1a1</i>	1,16	0,4704	0,7701	1,071	1,656	0,8859
		<i>atp1a3</i>	0,6295	0,1578	0,5067	0,5939	0,7772	0,2705

3.4.3. Изменение экспрессии генов транспортёров NKCC и NCC

Экспрессия гена *nkcc1a* в ткани жабр α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани жабр ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPrl по сравнению с контрольной группой (Рисунок 34а). Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 34а).

Экспрессия гена *nkcc1a* в ткани кишечника α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани кишечника ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPrl по сравнению с контрольной группой (Рисунок 34б). Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 34б).

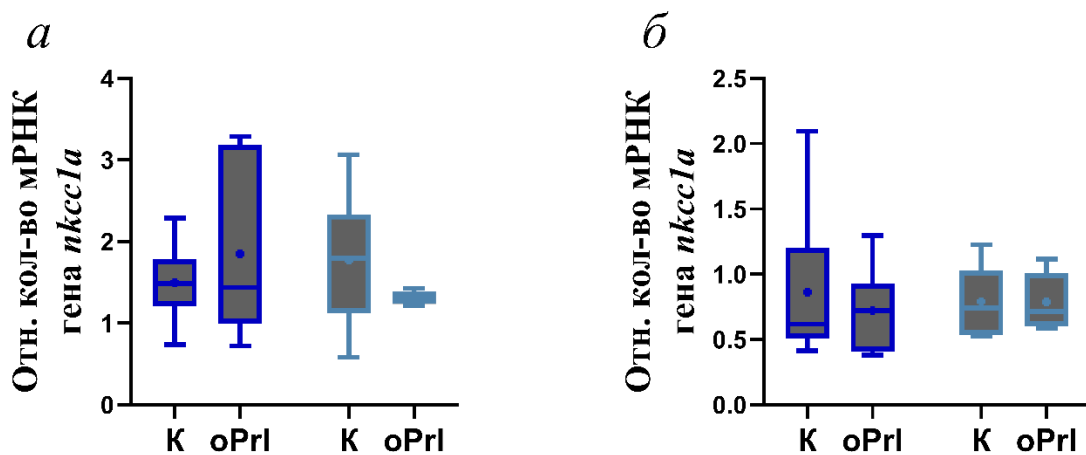


Рисунок 34 – Изменение относительной экспрессии гена *nkcc1a* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA

Экспрессия гена *nkcc2* в ткани жабр α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани жабр ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPrl по сравнению с контрольной группой (Рисунок 35а). Ни для контрольной, ни для

опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 35а).

Экспрессия гена *nkcc2* в ткани кишечника α -самцов на фоне введения oPr1 в условиях морской воды наблюдалась на значимо более высоком уровне относительно контрольной группы (Рисунок 35б). У ω -самцов данный параметр не различался значимо между контрольной и опытной группами. Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 35б).

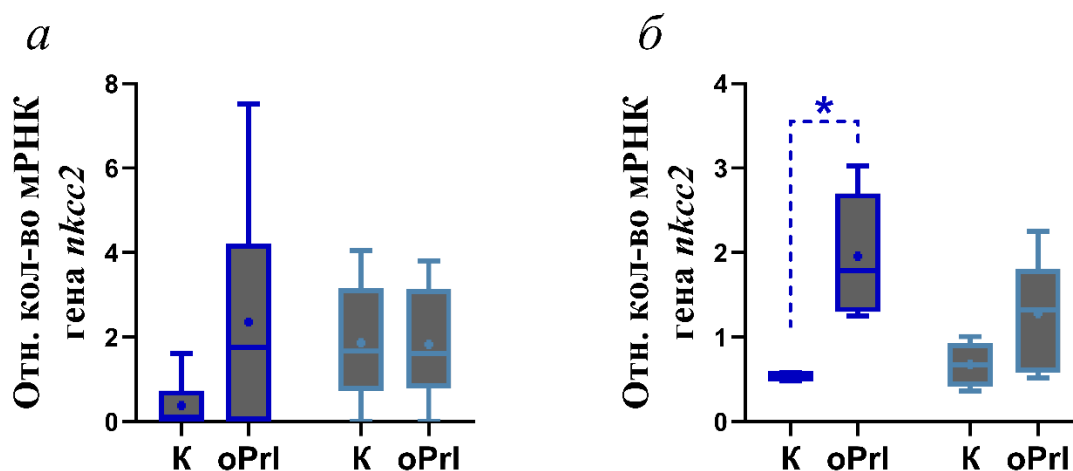


Рисунок 35 – Изменение относительной экспрессии гена *nkcc2* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Экспрессия гена *ncs* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды детектировалась на разрешающей границе метода либо не детектировалась.

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *nkcc1a* и *nkcc2* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPr1, представленные на Рисунках 34-35, представлены в Таблице 14.

Таблица 14 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *nkcc1a* и *nkcc2* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPr1; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К α -♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,498	0,4969	1,213	1,488	1,781	0,568
		<i>nkcc2</i>	0,3817	0,6267	0	0,1191	0,7354	0,7354
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,8645	0,6243	0,5079	0,6172	1,203	0,6951
		<i>nkcc2</i>	0,5328	0,0497	0,4808	0,5379	0,5798	0,099
К ω -♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,852	1,097	0,994	1,437	3,18	2,186
		<i>nkcc2</i>	2,36	2,854	0	1,764	4,215	4,215
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,7246	0,331	0,4101	0,7225	0,9283	0,5182
		<i>nkcc2</i>	1,958	0,7153	1,297	1,784	2,701	1,404
oPr1 α -♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,773	0,8251	1,126	1,797	2,332	1,206
		<i>nkcc2</i>	1,871	1,424	0,7312	1,669	3,156	2,4248
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,7897	0,272	0,5339	0,7432	1,028	0,4941
		<i>nkcc2</i>	0,6769	0,2546	0,4197	0,6723	0,9317	0,512
oPr1 ω -♂	Жабры	<i>nkcc1a</i>	1,307	0,0816	1,234	1,295	1,384	0,15
		<i>nkcc2</i>	1,832	1,363	0,7873	1,607	3,14	2,3527
	Кишечник	<i>nkcc1a</i>	0,7855	0,2128	0,6017	0,7139	1,01	0,4083
		<i>nkcc2</i>	1,279	0,6853	0,5771	1,326	1,804	1,2269

3.4.4. Изменение экспрессии генов *ESAC* и *NHE*

Экспрессия гена *esac* в ткани жабр α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани жабр ω -самцов этот параметр на фоне введения oPr1 наблюдался на более низком уровне по сравнению с контрольной группой (Рисунок 36а). Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 36а).

Экспрессия гена *esac* в ткани кишечника α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани кишечника ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPr1 по сравнению с контрольной группой (Рисунок 36б). Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 36б).

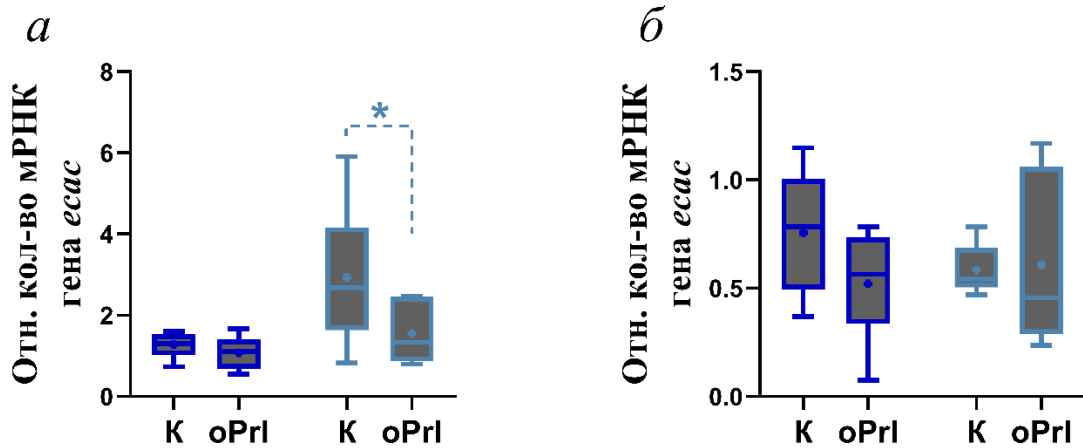


Рисунок 36 – Изменение относительной экспрессии гена *esac* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Экспрессия гена *nhe2* в ткани жабр α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани жабр ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPrI по сравнению с контрольной группой (Рисунок 37а).

Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 37а).

Экспрессия гена *nhe2* в ткани кишечника α -самцов значимо не различалась между контрольной группой и группой гиперпролактинемии в условиях морской воды. В ткани кишечника ω -самцов этот параметр также не менялся при введении oPrI по сравнению с контрольной группой (Рисунок 37б).

Ни для контрольной, ни для опытной группы различий, связанных с иерархическим положением самца, выявлено не было (Рисунок 37б).

Экспрессия гена *nhe3* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды детектировалась на разрешающей границе метода либо не детектировалась.

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *esac* и *nhe2* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в

условиях морской воды без и на фоне введения oPr1, представленные на Рисунках 36-37, представлены в Таблице 15.

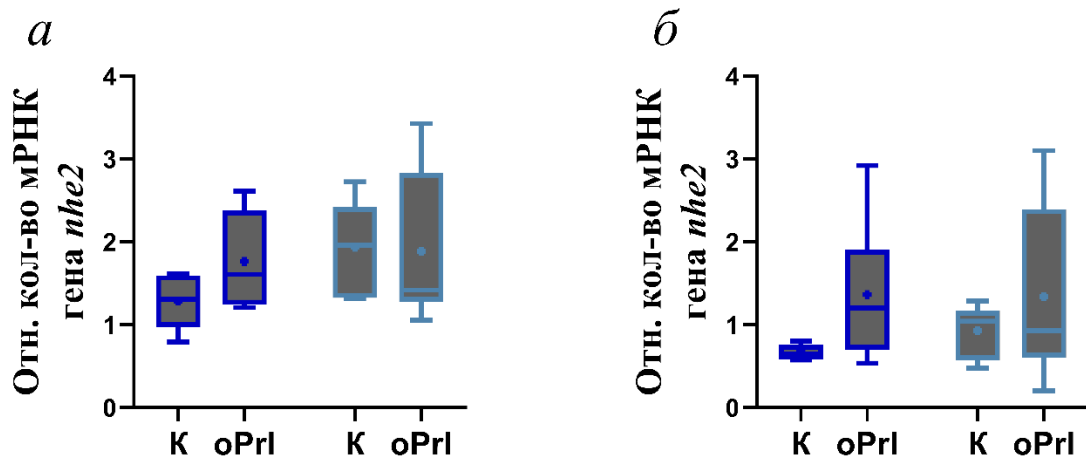


Рисунок 37 –Изменение относительной экспрессии гена *nhe2* в ткани жабр (а) и кишечника (б) α -самцов (синий контур) и ω -самцов (голубой контур) в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды. Статистическая обработка: two-way ANOVA

Таблица 15 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *esac* и *nhe2* в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов колюшек в условиях морской воды без и на фоне введения oPr1; N = 6 для каждой из групп

Группа, пол	Ткань	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К α -♂	Жабры	<i>esac</i>	1,279	0,3315	1,014	1,301	1,534	0,52
		<i>nhe2</i>	1,288	0,3373	0,9704	1,307	1,595	0,6246
	Кишечник	<i>esac</i>	0,7566	0,2888	0,4953	0,7839	1,004	0,5087
		<i>nhe2</i>	0,6664	0,0968	0,581	0,6438	0,7632	0,1822
К ω -♂	Жабры	<i>esac</i>	1,077	0,4046	0,682	1,103	1,402	0,72
		<i>nhe2</i>	1,766	0,6033	1,241	1,609	2,382	1,141
	Кишечник	<i>esac</i>	0,5211	0,2675	0,3359	0,5638	0,7348	0,3989
		<i>nhe2</i>	1,365	0,8619	0,7016	1,207	1,904	1,2024
oPr1 α -♂	Жабры	<i>esac</i>	2,933	1,731	1,639	2,687	4,163	2,524
		<i>nhe2</i>	1,935	0,563	1,325	1,96	2,421	1,096
	Кишечник	<i>esac</i>	0,5845	0,1155	0,5046	0,5419	0,6867	0,1821
		<i>nhe2</i>	0,931	0,3165	0,5764	1,042	1,168	0,5916
oPr1 ω -♂	Жабры	<i>esac</i>	1,551	0,7441	0,8704	1,339	2,461	1,5906
		<i>nhe2</i>	1,885	0,9343	1,277	1,419	2,836	1,559
	Кишечник	<i>esac</i>	0,6079	0,3917	0,2883	0,4558	1,061	0,7727
		<i>nhe2</i>	1,343	1,077	0,6	0,9322	2,394	1,794

3.4.5. Корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров

Значимые корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике α - и ω -самцов представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Значимые корреляции экспрессии генов пролактиновых рецепторов и генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике самок колюшек. R и p указаны по критерию Спирмена

Группа	Ткань	Ген 1	Ген 2	r	p
α -самцы	Жабры	<i>prlra</i>	<i>prlrb</i>	0,978	< 0,0001
α -самцы	Жабры	<i>prlra</i>	<i>atp1a3</i>	0,676	0,022
α -самцы	Жабры	<i>prlrb</i>	<i>atp1a3</i>	0,694	0,018
α -самцы	Кишечник	<i>prlrb</i>	<i>atp1a1</i>	-0,6	0,04
α -самцы	Кишечник	<i>prlra</i>	<i>nkcc2</i>	0,924	0,0004
α -самцы	Кишечник	<i>prlrb</i>	<i>nkcc2</i>	-0,706	0,0336
ω -самцы	Жабры	<i>prlra</i>	<i>prlrb</i>	0,73	0,007
ω -самцы	Жабры	<i>prlrb</i>	<i>ecac</i>	0,7	0,011

3.5. Изменение экспрессии генов опсинов в сетчатке самок и α -самцов

3.5.1. Модель сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации, а также модель гиперпролактинемии в условиях морской воды

Экспрессия гена опсина *SWS1 sws1* в ткани сетчатки самок в модели пресноводной адаптации значимо увеличивалась на 24-й час пресноводной адаптации, но снижалась к 72-му часу до сопоставимого с контрольной группой уровня (Рисунок 38а). У α -самцов в сетчатке этот параметр не менялся в модели пресноводной адаптации. Различия, связанные с полом, были выявлены в группе, адаптированной к пресной воде в течение 24 часов: в сетчатке самок экспрессия гена *sws1* наблюдалась на значимо более высоком уровне по сравнению с сетчаткой α -самцов (Рисунок 38а).

У самок в сетчатке экспрессия гена *sws1* не менялась после введения oPr1 в условиях морской воды, у α -самцов этот параметр значительно повышался по сравнению с контрольной группой (Рисунок 38б).

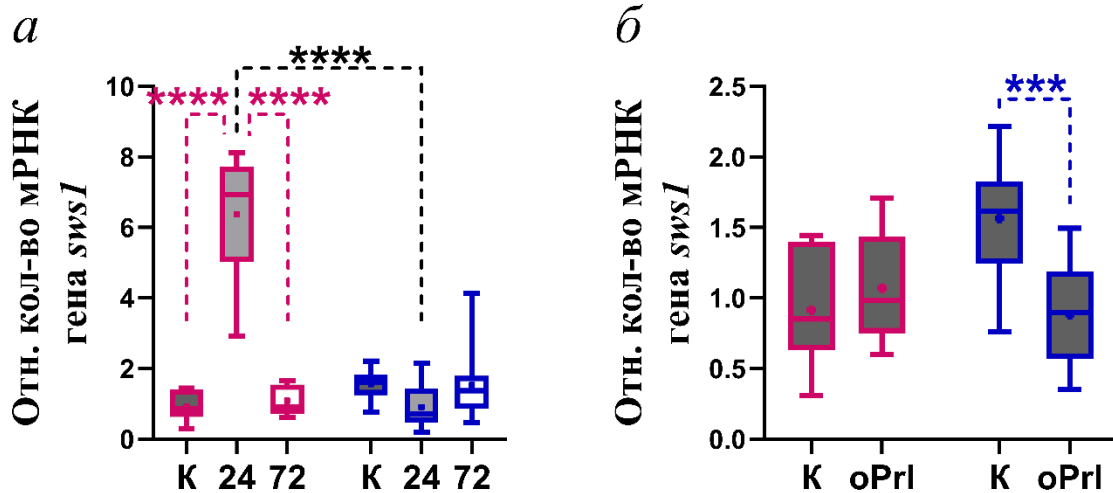


Рисунок 38 –Изменение относительной экспрессии гена *sws1* в сетчатке самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации (а) и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды (б). Статистическая обработка: two-way ANOVA; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$

Экспрессия гена опсина SWS2 *sws2* в ткани сетчатки как самок, так и α -самцов в модели пресноводной адаптации значительно снижалась начиная с 24 и до 72 часа пресноводной адаптации (Рисунок 39а). Различия, связанные с полом, ни в контрольной группе, ни в опытных, выявлены не были (Рисунок 39а).

У самок в сетчатке экспрессия гена *sws2* значительно снижалась после введения oPr1 по сравнению с контрольной группой. У α -самцов этот показатель не зависел от введения oPr1 (Рисунок 39б). Ни в группе, которой вводили oPr1, ни в контрольной группе различия, связанные с полом, выявлены не были (Рисунок 39б).

Экспрессия гена опсина RH2 *rh2* в ткани сетчатки самок, но не α -самцов в модели пресноводной адаптации значительно увеличилась на 72-й час пресноводной адаптации по сравнению с контрольной группой (Рисунок 40а). Различия, связанные с полом, ни в контрольной группе, ни в опытных, выявлены не были (Рисунок 40а).

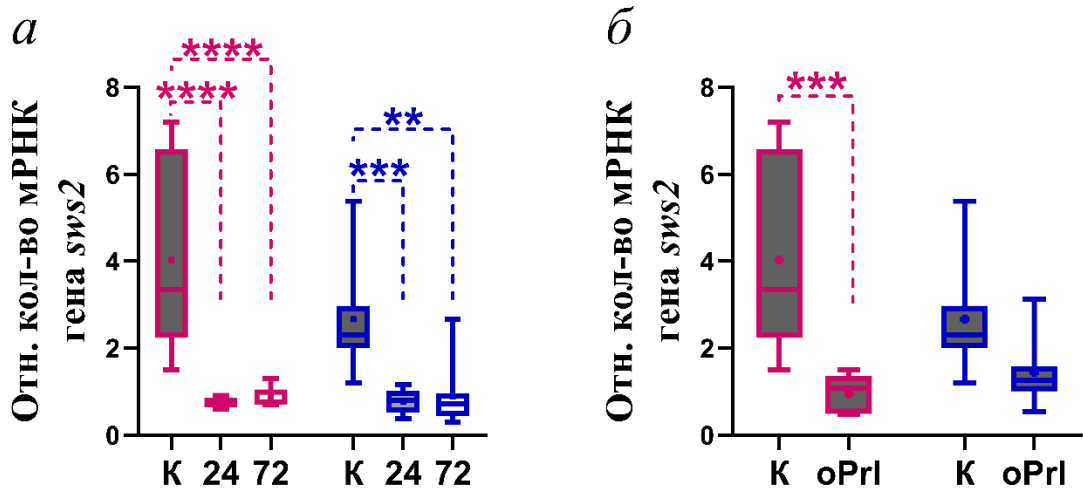


Рисунок 39 – Изменение относительной экспрессии гена *sws2* в сетчатке самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации (а) и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды (б). Статистическая обработка: two-way ANOVA; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$.

Ни у самок, ни у α -самцов в сетчатке экспрессия гена *rh2* в сетчатке значимо не менялась после введения oPrI по сравнению с контрольной группой (Рисунок 40б). Ни в группе, которой вводили oPrI, ни в контрольной группе различия, связанные с полом, выявлены не были (Рисунок 40б).

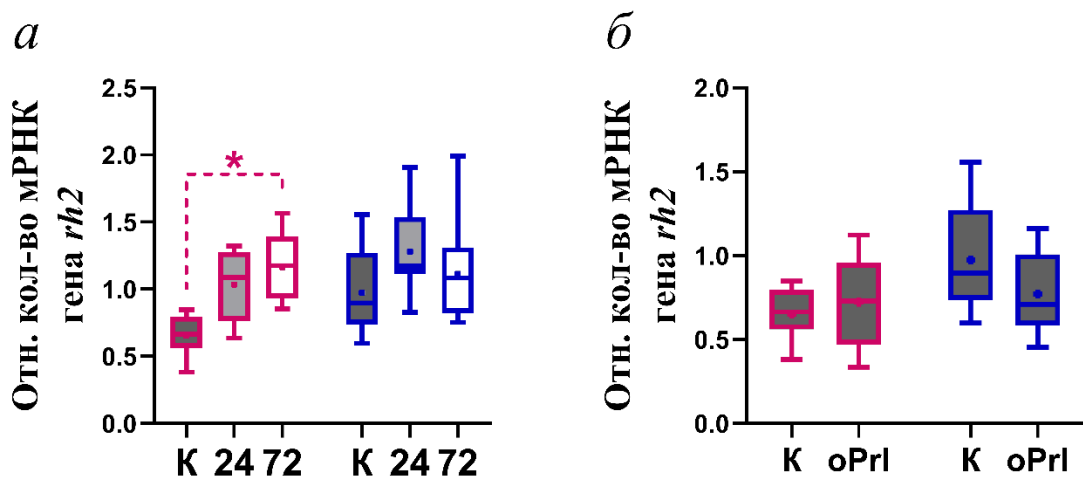


Рисунок 40 – Изменение относительной экспрессии гена *rh2* в сетчатке самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации (а) и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды (б). Статистическая обработка: two-way ANOVA; * – $p < 0,05$

Экспрессия гена опсина LWS *lws* в ткани сетчатки ни самок, ни α -самцов не менялась значимо в модели пресноводной адаптации (Рисунок 41а). В условиях морской воды были выявлены различия, связанные с полом: у самок в сетчатке экспрессия гена *lws* наблюдалась на более низком уровне по сравнению с α -самцами (Рисунок 41а).

Ни у самок, ни у α -самцов в сетчатке экспрессия гена *lws* значимо не менялась после введения oPr1 по сравнению с контрольной группой (Рисунок 41б).

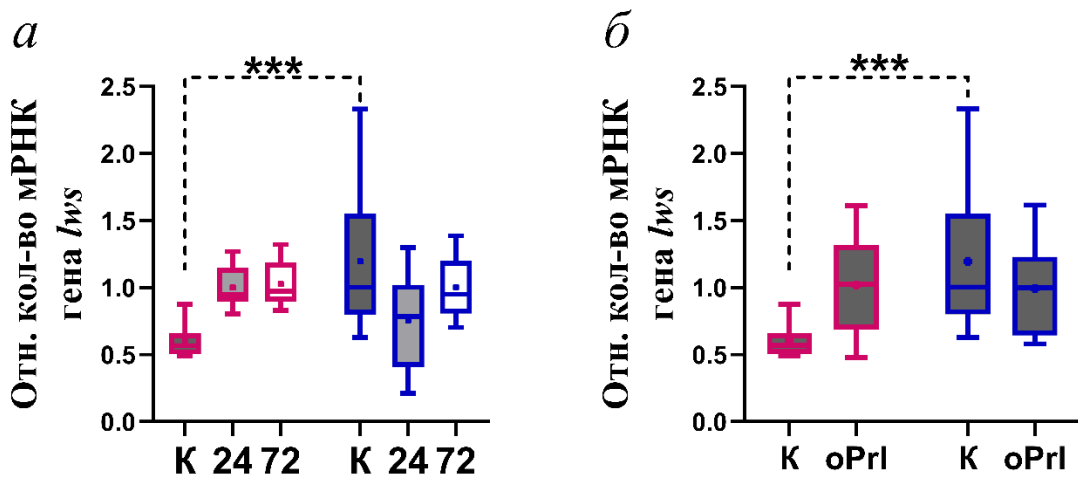


Рисунок 41 – Изменение относительной экспрессии гена *lws* в сетчатке самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации (а) и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды (б). Статистическая обработка: two-way ANOVA; *** – $p < 0,001$

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *sws1*, *sws2*, *rh2* и *lws* в ткани сетчатки самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде и на фоне введения oPr1, представленные на Рисунках 38-41, представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *sws1*, *sws2*, *rh2* и *lws* в ткани сетчатки самок и α -самцов колюшек в условиях морской воды, после 24- и 72-часовой адаптации к пресной воде и на фоне введения oPrl

Группа, пол, N	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
К ♀ N=12	<i>sws1</i>	0,9143	0,4273	0,6317	0,8505	1,402	0,7703
	<i>sws2</i>	4,033	2,252	2,237	3,341	6,572	4,335
	<i>rh2</i>	0,6524	0,16	0,5605	0,6634	0,7967	0,2362
	<i>lws</i>	0,6065	0,1459	0,5038	0,5668	0,6623	0,1585
К α -♂ N=12	<i>sws1</i>	1,563	0,4124	1,243	1,618	1,826	0,583
	<i>sws2</i>	2,668	1,104	2,008	2,302	2,976	0,968
	<i>rh2</i>	0,9738	0,321	0,7357	0,8965	1,272	0,5363
	<i>lws</i>	1,198	0,5387	0,8009	1,003	1,553	0,7521
24 ♀ N=6	<i>sws1</i>	6,37	1,901	5,018	6,935	7,731	2,713
	<i>sws2</i>	0,7617	0,1198	0,637	0,7903	0,8546	0,2176
	<i>rh2</i>	1,034	0,2697	0,7647	1,087	1,279	0,5143
	<i>lws</i>	1,001	0,1636	0,8941	0,9511	1,148	0,2539
24 α -♂ N=6	<i>sws1</i>	0,9007	0,5995	0,4616	0,7059	1,428	0,9664
	<i>sws2</i>	0,7711	0,2699	0,52	0,8029	1,023	0,503
	<i>rh2</i>	1,281	0,3286	1,113	1,172	1,538	0,425
	<i>lws</i>	0,7543	0,3702	0,4102	0,7843	1,023	0,6128
72 ♀ N=6	<i>sws1</i>	1,085	0,4403	0,713	0,9066	1,547	0,834
	<i>sws2</i>	0,8596	0,2471	0,7132	0,7699	1,051	0,3378
	<i>rh2</i>	1,166	0,2664	0,9324	1,177	1,393	0,4606
	<i>lws</i>	1,028	0,1819	0,8965	0,9743	1,186	0,2895
72 α -♂ N=6	<i>sws1</i>	1,542	0,9949	0,8738	1,371	1,796	0,9222
	<i>sws2</i>	0,8876	0,6563	0,4383	0,7205	0,964	0,5257
	<i>rh2</i>	1,113	0,3469	0,8217	1,085	1,311	0,4893
	<i>lws</i>	1,004	0,2339	0,8064	0,9503	1,2	0,3936
oPrl ♀ N=6	<i>sws1</i>	1,069	0,3988	0,7517	0,9818	1,434	0,6823
	<i>sws2</i>	0,9558	0,449	0,4931	1,083	1,355	0,8619
	<i>rh2</i>	0,7231	0,283	0,4715	0,729	0,959	0,4875
	<i>lws</i>	1,02	0,4062	0,6869	1,024	1,32	0,6331
oPrl α -♂ N=6	<i>sws1</i>	0,8816	0,3359	0,5678	0,8961	1,187	0,6192
	<i>sws2</i>	1,445	0,7037	1,009	1,265	1,591	0,582
	<i>rh2</i>	0,7711	0,234	0,5826	0,7105	1,008	0,4254
	<i>lws</i>	0,9937	0,3669	0,6445	1,001	1,231	0,5865

3.6. Изменение экспрессии генов пролактиновой оси в ткани мозга α -самцов в фазе конкуренции и в фазе демонстрации родительского поведения

Экспрессия гена пролактина *prl1* в ткани мозга значимо не различалась между группами α -самцов и самцов в фазе демонстрации родительского поведения (Рисунок 42a). Экспрессия гена пролактинового рецептора *prlra* в ткани мозга

значимо не различалась между группами α -самцов и самцов в фазе демонстрации родительского поведения (Рисунок 42б). Экспрессия гена пролактинового рецептора β *prlr β* в ткани мозга самцов в фазе демонстрации родительского поведения наблюдалась на более высоком уровне по сравнению с группой α -самцов в фазе конкуренции (Рисунок 42в).

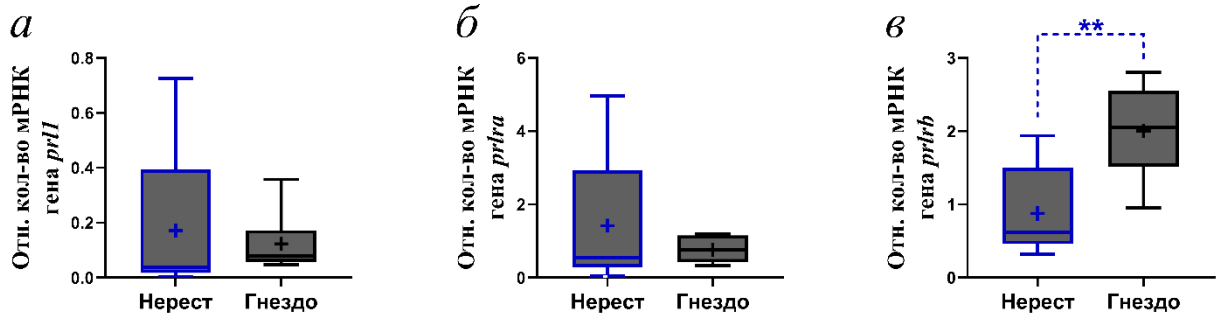


Рисунок 42 –Изменение относительной экспрессии генов *prl1* (а), *prlra* (б), *prlr β* (в) в ткани мозга α -самцов в фазе конкуренции (группа «Нерест») и самцов в фазе демонстрации родительского поведения (группа «Гнездо»). Статистическая обработка: критерий Манна – Уитни; ** – $p < 0,01$

Сводные данные об описательных характеристиках относительных уровней экспрессии генов *prl1*, *prlra*, *prlr β* в ткани мозга α -самцов в фазе конкуренции и самцов в фазе демонстрации родительского поведения, представленные на Рисунке 42, представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Описательная статистика относительных уровней экспрессии генов *prl1*, *prlra*, *prlr β* в ткани мозга α -самцов в фазе конкуренции и самцов в фазе демонстрации родительского поведения; N = 6 для каждой группы

Группа, пол, N	Ген	Среднее	Стандартное отклонение	1 квартиль	Медиана	3 квартиль	Межквартильный размах
Нерест α -♂	<i>prl1</i>	0,1717	0,3108	0,0172	0,0367	0,3936	0,3763
	<i>prlra</i>	1,416	1,799	0,2926	0,5405	2,930	2,6374
	<i>prlrβ</i>	0,8758	0,6102	0,4597	0,6155	1,498	1,0383
Гнездо ♂	<i>prl1</i>	0,1224	0,1173	0,0573	0,0788	0,1725	0,1151
	<i>prlra</i>	0,7683	0,3510	0,4157	0,7563	1,155	0,7393
	<i>prlrβ</i>	2,006	0,6495	1,514	2,055	2,551	1,037

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1. Изменение физиологических показателей колюшек в моделях пресноводной адаптации и гиперпролактинемии

В данной главе представлено обсуждение результатов, опубликованных в 2 статьях Павловой и соавт. [Павлова, Неретина, Смирнова, 2024а; Смирнова, Абрамичева, Павлова, 2024]. Анализ изменения морфометрических показателей, а также концентрации ионов Na^+ и K^+ в плазме крови колюшек позволяет провалидировать экспериментальные модели и оценить физиологический ответ самок и α -самцов на перенос в гипоосмолярную среду и введение пролактина в условиях морской воды.

Гепатосоматический индекс (относительная масса печени) является маркёром эстрогенной активности особей, и увеличивается в нерестовый период у самок. Это связано с тем, что в репродуктивный период эстрогены стимулируют синтез и секрецию печенью в кровь белка вителлогенина, который является одним из мажорным компонентом желтка [Mahalingam, Santhanam, 2023; Meucci, Arukwe, 2006; Núñez-Rodríguez et al., 2020; Ryffel, 1978]. Так, изменение относительной массы печени косвенно отражает активность гонадотропной оси самок. В настоящей работе показано, что при пресноводной адаптации (в моделях хронической, а также сочетанной острой и хронической ПА) гепатосоматический индекс самок значительно увеличивается, начиная с первых суток после переносу в пресную воду (Рисунок 7а, 7б). Таким образом, при пресноводной адаптации у самок колюшек увеличивается продукция эстрогензависимого вителлогенина, что свидетельствует в пользу большей готовности к репродукции. Повышение гепатосоматического индекса самок также наблюдалось после введения экзогенного пролактина (Рисунок 7в), что подтверждает наличие у колюшки взаимосвязи пролактина и эстрогенов, известную как у млекопитающих, так и у рыб [Li et al., 2024; Onuma et al., 2005].

Нефросоматический индекс (относительная масса почек) у самцов отражает активность андрогенов. Почки в размножении самцов трёхиглой колюшки играют

ключевую роль, так как именно они производят андрогензависимый спиггин – белок, которым самцы укрепляют гнёзда для икры, склеивая травинки и песчинки. Продукция и секреция спиггина происходит в почках, это андрогензависимый процесс, свидетельствующий о готовности самцов к размножению [Jones et al., 2001]. Вместе с тем в моделях пресноводной адаптации и в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды изменение этого показателя у α -самцов не наблюдалось (Рисунок 8а, 8б, 8в). Это может быть связано с тем, что α -самцы в ходе эксперимента не изменили своё положение в иерархии.

24- и 72-часовая адаптация как самок, так и α -самцов *G. aculeatus* к пресной воде сопровождалась уменьшением концентрации ионов Na^+ в плазме крови относительно контрольной группы (Рисунок 11а). При этом между точками в 24 часа и 72 часа пресноводной адаптации различия не были обнаружены, предположительно, ввиду того, что механизмы долговременной адаптации осморегуляторной функции у самок колюшек активируются между первыми и третьими сутками пребывания в пресной воде.

Изменение концентрации ионов K^+ в плазме крови в модели пресноводной адаптации не было отмечено ни у самок, ни у α -самцов колюшек (Рисунок 12а), однако у α -самцов этот параметр увеличивался по сравнению с контролем после введения oPrl (Рисунок 12б).

Таким образом, ввиду изменения морфометрических показателей, ассоциированных с репродукцией и концентраций ионов Na^+ и K^+ в плазме крови особей при пресноводной адаптации, были провалидированы модели пресноводной адаптации и гиперпролактинемии в условиях морской воды.

4.2. Изменение экспрессии генов пролактиновой оси у самок и α -самцов колюшек при пресноводной адаптации

В данной главе представлено обсуждение результатов, опубликованных в 2 статьях Павловой и соавт. [Павлова et al., 2022; Павлова, Неретина, Смирнова, 2020; Павлова, Неретина, Смирнова, 2024b].

4.2.1. Изменение экспрессии гена пролактина *prl1* и гена пролактинподобного гормона *prl2* в моделях пресноводной адаптации у самок и α -самцов

В ткани мозга самок экспрессия гена *prl1* достоверно повышалась при адаптации к пресной воде во всех трёх проведённых экспериментах. Этот показатель был выше, чем у неадаптированных самок, и после 24 часов, и после 72 часов их пребывания в пресной воде. После 72 часов адаптации к пресной воде он был также достоверно выше, чем после 24 часов. Таким образом, в мозге самок в первые 72 часа адаптации к гипоосмотическим условиям экспрессия гена *prl1* растёт (Рисунок 13). Таким образом, рост экспрессии гена пролактина в мозге самок при пресноводной адаптации сопровождается повышением эстрогенной активности организма (Рисунок 7а, 7б) и, как следствие, большей готовностью к размножению.

В моделях хронической и сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации не было выявлено общей закономерности изменения экспрессии гена *prl2* в мозге самок. Было показано, что после 24 и 72 часов пребывания самок трёхиглой колюшки в условиях пресной воды, как и в условиях морской воды, экспрессия этого гена в мозге отсутствует. Экспрессия гена *prl2* в мозге самок была выявлена только в модели динамики острой пресноводной адаптации на 12-й и 18-й час, и это отличие не было значимым относительно контрольной группы (Рисунок 16). Таким образом, можно предположить, что пролактинподобный гормон у самок не влияет на долговременную адаптацию организма к гипоосмотическим условиям, либо выполняет минорную роль по сравнению с пролактином.

В целом повышение экспрессии гена *prl1* в мозге самок при адаптации к пресной воде по сравнению с условиями морской воды согласуется с данными литературы, полученными на выборках без разделения по полу. У самок колюшки, как у ряда других видов рыб, (*Argyrosomus regius*, *Danio rerio*, *Oreochromis mossambicus*, *Scophthalmus maximus*, *Paralichthys olivaceus*) также характерна стимуляция экспрессии гена пролактина в условиях пресноводной адаптации,

однако стоит учитывать, что данные исследования были выполнены для общих выборок, включающих в себя особей обоих полов без разделения по полу [Liu et al., 2020; Mohammed-Geba et al., 2017; Moorman et al., 2014; Shu et al., 2016; Watanabe, Itoh, Kaneko, 2016; Yuan et al., 2017]. Таким образом, экспрессия гена *prl1* у самок колюшек, как и у других эвригалинных видов рыб, положительно зависит от гипоосмолярности внутренней среды, которая, судя по литературным данным, может напрямую влиять на экспрессионную и секреторную активность лактотрофов гипофиза стимулируется при переходе в пресную воду, о чём свидетельствует повышение экспрессии генов пролактина [Dobolyi et al., 2020; Mohammed-Geba et al., 2017; Shu et al., 2016; Watanabe, Itoh, Kaneko, 2016]. Однако, поскольку в своих исследованиях другие авторы особей не делили по полу, подобное сравнение с особями обоих полов другого вида не может являться максимально корректным. В литературе отсутствуют данные по изучению изменения экспрессии или уровня белкового продукта гена *prl2* в ходе пресноводной адаптации.

Экспрессия гена *prl1* в мозге самцов была обнаружена во всех группах, но достоверно не менялась в экспериментах по пресноводной адаптации (Рисунок 14). Общей закономерности изменения экспрессии гена *prl2* в мозге самцов во всех трёх экспериментах по адаптации трёхиглой колюшки к пресной воде выявлено не было. В эксперименте по 24-часовой пресноводной адаптации экспрессия данного гена не наблюдалась в условиях морской воды, повышалась через 12 и 18 часов пребывания самцов в пресной воде, но падала к 24 часу (см. Рисунок 16). В эксперименте по изучению 72-часовой пресноводной адаптации мРНК гена *prl2* в мозге самцов не обнаруживалась ни в контрольной, ни в опытной группе. В эксперименте по сравнению эффектов 24- и 72-часовой пресноводной адаптации экспрессия гена пролактинподобного гормона обнаруживалась в мозге контрольных самцов, как α -, так и ω .

У ω -самцов после 24- и 72-часового пребывания в пресной воде экспрессии этого гена обнаружено не было (см. Рисунок 33). Поскольку именно самцы, но не самки трёхиглой колюшки демонстрируют половое и родительское поведение,

можно предположить, что механизмы пролактиновой регуляции у самцов могут быть более комплексными и могут находиться под влиянием множества факторов.

Полученные данные, касающиеся экспрессии генов пролактина и пролактинподобного гормона у самцов при адаптации к пресной воде, плохо согласуются с литературными. Для большинства видов рыб показана стимуляция пролактиновой оси, что наиболее часто проявляется в изменении экспрессии гена пролактина. Однако, как было показано на мозамбикской тилапии, для понимания вклада пролактиновой оси ключевую роль играет именно её комплексный анализ, включая его рецепторы на тканях-мишенях [Breves et al., 2020b; Seale et al., 2014].

Пролактин известен как гормон пресноводной адаптации рыб. В данной работе показано, что экспрессия генов пролактина в мозге колюшек меняется в ходе пресноводной адаптации. Во всех трёх моделях пресноводной адаптации в мозге самок экспрессия гена *prl1* значительно увеличивалась, у α -самцов – не менялась (Рисунок 13, 14). Таким образом, отсутствовавшие в условиях морской воды различия между самками и α -самцами различия по этому параметру обнаруживались к 72 часу пресноводной адаптации (Рисунок 15).

Вместе с этим экспрессия гена *prl2* в мозге и самок, и α -самцов в условиях морской воды и после 24 и 72 часов пресноводной адаптации не была обнаружена, но значительно повышалась у особей обоих полов на 12-й и 18-й час пресноводной адаптации с преобладанием у α -самцов по сравнению с самками (Рисунок 16).

Известно, что динамика повышения уровней мРНК пролактинов в мозгу видоспецифична, а пик экспрессии у разных видов рыб наблюдается в разные периоды после помещения рыб в пресную воду. Так, у азиатского паралихта *Paralichthys olivaceus* скорость реакции пролактиновой оси на гипоосмотические условия отставленная: концентрация пролактина в плазме и уровень мРНК пролактина в мозгу начинают повышаться на 2-е сутки пребывания в пресной воде; а уровень мРНК достигает пика через 5 суток после перехода рыбы в пресную воду [Yuan et al., 2017]. У мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* во время перехода в пресную воду повышение в мозгу уровня мРНК гена пролактина-177, который гомологичен *prl1* трёхиглой колюшки, отмечено через 24 ч, а максимум

изменений – к 48-му ч адаптации к пресной воде; повышение уровня мРНК гена пролактина188 (гомологичен *prl2* колюшки) наблюдалось с 6 ч адаптации к пресной воде [Breves et al., 2011]. При этом повышение концентрации белка пролактина-177 в плазме зарегистрировано, начиная с 6 ч, а пролактина188 – с 24-го ч адаптации.

У *Kryptolebias marmoratus* экспрессия гена *prl1* начинает значимо повышаться уже на 6-й ч, и достигает пика к 12-му ч пресноводной адаптации [Rhee et al., 2010]. В упомянутых экспериментах исследуемых особей не делили по половому признаку. Следует учесть, что если, как и в случае трёхиглой колюшки, динамика изменения экспрессии мРНК двух пролактинов отличается у особей разного пола, то эти временные рамки могут быть сдвинуты в зависимости от пола рыб.

Наши данные позволяют оценить как скорость активации пролактиновой оси трёхиглой колюшки в гипоосмотических условиях, так и половую специфичность реакции элементов оси на эти условия. Так, экспрессия гена *prl1* возрастала через 24 ч только у самок, а гена *prl2* – через 12 ч только у самцов (Рисунок 15, 16). В целом эти данные неплохо согласуются с динамикой экспрессии генов пролактинов, наблюдаемой у мозамбикской тилляпии. Однако тот факт, что у особей разного пола при помещении в пресную воду увеличивается экспрессия разных генов пролактинов, может свидетельствовать в пользу того, что осморегуляторная функция пролактина у самок и самцов выполняется разными генами-паралогами. Эта гипотеза требует подтверждения, поскольку различия пролактиновой оси, связанные с полом, в контексте её осморегуляторной функции изучаются впервые.

Кроме того, поскольку экспрессия гена *prl1* в условиях морской воды отмечена и у самок, и у самцов, причём на сопоставимом уровне, а экспрессия гена *prl2* не зарегистрирована, можно предположить наличие базовой, общей для обоих полов, функции *prl1* и выполнение *prl2* исключительно осморегуляторной функции у самцов.

4.2.2. Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов *prlra* и *prlrb* в ткани мозга, почек, жабр и кишечника самок и α -самцов при хронической пресноводной адаптации

Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов в мозгу самцов и самок во время адаптации к пресной воде было различно для рецепторов *a* и *b*. Подробную интерпретацию данных затрудняет отсутствие в литературе информации о возможности обоих пролактинов активировать оба пролактиновых рецептора у трёхиглой колюшки. Тем не менее можно проанализировать влияние адаптации к пресной воде на изменение уровней мРНК пролактиновых рецепторов в целом.

Под действием 72-часовой пресноводной адаптации в ткани мозга самок колюшек сонаправленно изменению экспрессии гена *prl1* изменяется и экспрессия генов обоих пролактиновых рецепторов (Рисунок 17а, 17б). На основании этих результатов можно предположить участие пролактина в регуляции транскрипции генов *prlra* и *prlrb* в мозге самок трёхиглой колюшки, либо возможную сонаправленную регуляцию генов *prl1*, *prlra* и *prlrb* в ткани мозга. Известно, что у млекопитающих экспрессия пролактиновых рецепторов положительно зависит в том числе от самого пролактина [Kavarthapu, Dufau, 2022]. В сравнении, у мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* в условиях пресной воды экспрессия гена *prlr2* в гипофизе ниже, чем в условиях морской воды, а экспрессия гена *prlr1* не зависит от солёности воды [Hewage et al., 2023; Moorman et al., 2014]. Следовательно, однонаправленная регуляция экспрессии генов пролактина и его рецепторов в мозге может зависеть не только от пола особи, но и от вида рыб, и может быть связана с видоспецифическими особенностями репродукции.

В ткани почек колюшек от солёности среды зависела экспрессия гена *prlrb*, достоверно повышаясь у самок, но снижаясь у самцов под влиянием пресноводной адаптации (Рисунок 18б). Противоположный эффект у особей разного пола может быть связан с эффектом половых стероидов. Так, для человека была показана положительная регуляция экспрессии гена пролактинового рецептора со стороны

эстрадиола [Banks, Trott, Hovey, 2024; Kavarthapu, Dufau, 2022; Leondires et al., 2002]. Переход в гипоосмолярную среду сопровождается выбросом кортизола и сравним с кратковременной стрессовой реакцией. Это может быть сопряжено с усилением андрогенных эффектов у самцов, классически антагонистичных эстрогенным эффектам.

В ткани жабр экспрессия обоих генов пролактиновых рецепторов достоверно не изменилась под влиянием пресноводной адаптации ни у самок, ни у самцов (Рисунок 19а, 19б). Схожие результаты были получены в эксперименте по изучению механизмов активной и пассивной адаптации к пресной воде на смешанной по полу выборке азиатского паралихта *Paralichthys olivaceus*. Вне зависимости от поведенческого типа адаптации, экспрессия рецептора пролактина в ткани жабр *P. olivaceus* достоверно не менялась [Zeng et al., 2022]. В жабрах тилапии *Oreochromis mossambicus* экспрессия гена пролактинового рецептора *prlr1* наблюдалась на более высоком уровне у особей, содержащихся в условиях пресной воды по сравнению с морским контролем, в то время как экспрессия гена *prlr2* достоверно не различалась между особями обеих групп [Moorman et al., 2014]. В другом исследовании было показано, что при адаптации и *O. mossambicus*, и *O. niloticus* к морской воде, уже в первые сутки у особей обоих видов экспрессия гена второго пролактинового рецептора достоверно снижается [Yamaguchi et al., 2018]. Подобные видовые различия могут быть связаны с тем, что тилапии обычно обитают в среде с динамично меняющейся солёностью, и чувствительность их жабр к пролактину, а также экспрессия ионных транспортёров обладают большей пластичностью [Seale et al., 2019]. В жабрах *Scophthalmus maximus*, *Paralichthys olivaceus* и *Acanthopagrus schlegelii* в условиях пресноводной адаптации экспрессия гена единственного известного для этих видов пролактинового рецептора *prlr* также повышалась [Liu et al., 2020; Nagarajan et al., 2023; Yuan et al., 2017]. Тем не менее, учитывая достоверное повышение экспрессии гена пролактина *prl1* в мозге у самок трёхиглой колюшки, можно предположить больший вклад пролактина в регуляцию ткани жабр самок в условиях пресной воды, несмотря на отсутствие изменения содержания в ткани мРНК *prlra* и *prlrb* при адаптации к пресной воде.

В ткани кишечника экспрессия гена *prlr_b* достоверно снизилась как у самок, так и у самцов (Рисунок 20б). Похожие данные были получены на мозамбикской тилапии, в кишечнике которой при адаптации к морской воде достоверно растёт экспрессия гена *prlr₂*. Следовательно, у мозамбикской тилапии в условиях пресной воды экспрессия *prlr₂* в кишечнике ниже [Seale et al., 2014; Takahashi et al., 2007]. Один из эффектов пролактина в кишечнике рыб – уменьшение захвата Na^+ , поэтому снижение экспрессии гена *prlr_b* в ходе пресноводной адаптации может рассматриваться как компенсаторный механизм для повышения захвата ионов Na^+ из просвета кишечника [Manzon, 2002].

Интересно отметить, что экспрессия гена *prlr_a* в жабрах, почках и кишечнике не изменилась достоверно в ходе 72-часовой пресноводной адаптации ни у самок, ни у самцов (Рисунки 18а, 19а, 20а). Это позволяет выдвинуть предположение о том, что пролактиновый рецептор *b*, но не *a*, является ключевым в регуляции водно-солевого баланса.

В условиях морской воды различия, связанные с полом особей, наблюдались в экспрессии гена *prlr_a* в мозге и почках (Рисунок 17а, 17б). И мозг, и почки принимают участие в репродукции у колюшек: мозг по причине наличия у колюшек сложного репродуктивного и родительского поведения, а в почках у самцов под влиянием андрогенов синтезируется белок спиггин, который они используют для построения гнёзд. Нефросоматический индекс самцов (Рисунок 8а, 8б) при пресноводной адаптации остался столь же высоким, как и в условиях морской воды, поскольку самцы так же остались на этапе установления иерархии. Возможно, репродуктивная функция пролактина реализуется преимущественно через пролактиновый рецептор *a*, однако данное предположение требует дополнительных доказательств. Так, по данным литературы, пролактин стимулирует экспрессию гена *egr-1* в гипоталамусе крыс, в то время как этот ген повышается в мозге самцов колюшек в период заботы о потомстве [Blume et al., 2009; Kent, Bell, 2018].

Сохранились различия в экспрессии гена *prlr_a* в почке с преобладанием у самок по сравнению с самцами (Рисунок 18а). Предположительно, транскрипция

гена *prlra* в ткани почек регулируется преимущественно половыми гормонами, включая половые стероиды, и в меньшей степени зависит непосредственно от пролактина и условий солёности воды. Экспрессия гена *prlrb* в почках, которая в условиях морской воды у самок и самцов наблюдалась на сопоставимом уровне, после пресноводной адаптации была достоверно выше у самок (Рисунок 18б). Известно, что в условиях пресноводной адаптации в почках *Scophthalmus maximus*, *Paralichthys olivaceus* и *Acanthopagrus schlegelii* экспрессия гена единственного известного для этих видов рыб пролактинового рецептора *prlr* достоверно повышалась по сравнению с контролем [Liu et al., 2020; Nagarajan et al., 2023; Yuan et al., 2017]. Таким образом, эффект адаптации к условиям пресной воды, оказываемый на экспрессию гена пролактинового рецептора *b* в почках самок колюшек согласуется с литературными данными, полученными на других видах рыб без разделения выборки по полу.

Наличие половых различий в экспрессии гена пролактина в пресной воде, предположительно, связано с эффектом половых стероидов, в первую очередь, эстрадиола. Эстрогены стимулируют секрецию пролактина не только у млекопитающих, но также у рыб как *in vitro*, так и *in vivo* на примере *Oreochromis mossambicus* и *Clarias batrachus* [Kavarthapu, Dufau, 2022; Saha, Chakraborty, Das, 2021; Singh, Singh, 1981]. На *O. niloticus* было показано, что экспрессия гена пролактинового рецептора 2 *prlr2* в ткани яичников положительно регулируется эстрадиолом [Zhang et al., 2010]. Эффекты андрогенов и пролактина в репродуктивном периоде рыб противопоставляются: андрогены принимают участие в опосредовании фазы конкуренции между самцами и ухаживания за самками, а пролактин – последующую заботу о потомстве у таких видов, как *Lepomis macrochirus* и *Gasterosteus aculeatus* [Cunha et al., 2019; Páll, Mayer, Borg, 2002]. Следовательно, условия пресной воды и стимуляция пролактиновой оси у самок при пресноводной адаптации могут вовлекать гонадотропную ось в потенцирование эффекта пролактина, оказываемого на почки, в то время как у самцов вклад пролактина в регуляцию этого органа снижается. В результате данной работы можно выдвинуть предположение о наличии регуляции эстрогенами

экспрессии не только гена пролактина, но и генов пролактиновых рецепторов в мозге и почке.

Интересно отметить, что различия, связанные с полом, наблюдаются только в мозге и почках трёхиглой колюшки. Мозг и почки являются органами, зависящими от внутренних факторов, и их чувствительность к пролактину в условиях адаптации к пресной воде уже проявляет зависимость от пола. Более того, оба органа непосредственно участвуют в репродукции колюшек либо в плане поведения (мозг), либо в плане продукции ползависимых белков (синтез спиггина в почках самцов). Различная чувствительность мозга и почек к пролактину у особей разного пола способствует соответствующим репродуктивным функциям.

Наоборот, несмотря на различную степень активации пролактиновой оси со стороны центральной секреции у самок и самцов колюшек, чувствительность жабр и кишечника к пролактину не зависит от пола. Поскольку и жабры, и кишечник контактируют не только с внутренней, но и с внешней средой, их ответ может во многом определяться влияниями со стороны внешней среды. Опосредованные пресноводной адаптацией влияния пролактиновой оси со стороны внутренней среды могут вносить минорную роль. Тем не менее, поскольку у самок экспрессия гена *prll* достоверно выше, чем у самцов, после пресноводной адаптации, даже при одинаковой чувствительности жабр и кишечника, у самок и самцов итоговый эффект может различаться. Таким образом, пролактин может способствовать пресноводной адаптации в соответствии с полом особей.

Различия в ответе элементов пролактиновой оси самок и самцов в условиях пресноводной адаптации могут быть обусловлены принципиально разными репродуктивными стратегиями самок и самцов колюшек. В то время как репродуктивная стратегия самок сводится исключительно к выбору наиболее подходящего партнёра и нересту, половое поведение самцов включает в себя фазы, требующие различных поведенческих реакций, и предполагает поочерёдную смену конкурентного, полового и родительского поведения. Таким образом, в работе установлена зависимость осморегуляторной функции пролактина от пола рыб, по-разному проявляющаяся в условиях разной солености.

4.3. Изменение экспрессии генов ионных транспортёров в ткани ключевых осморегуляторных органов: жабр и кишечника самок и α -самцов в модели пресноводной адаптации

В данной главе представлено обсуждение результатов анализа относительных уровней экспрессии генов ионных транспортёров в ключевых осморегуляторных органах самок и α -самцов в модели пресноводной адаптации. Эта часть работы посвящена исследованию зависимости экспрессии генов ионных транспортёров, чувствительных к пресноводной адаптации и/или действию пролактина, в жабрах и кишечнике трёхиглой колюшки от пола и условий солёности среды. Полученные результаты показывают, что изменения экспрессии ионных транспортёров выражены сильнее у самок, что, предположительно, связано с большей активацией пролактиновой оси [Pavlova et al., 2022; Pavlova, Neretina, Smirnova, 2020; Pavlova, Neretina, Smirnova, 2024]. Данные по изменению экспрессии ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника у колюшек, а также наши предыдущие работы, подтверждают нашу гипотезу о том, что при пресноводном переходе у самок по сравнению с самцами сильнее стимулируется пролактиновая ось и меняется осморегуляторная функция. Таким образом, половые различия в осморегуляторной пластичности у трёхиглой колюшки, по-видимому, являются адаптивными и связаны как с гормональной регуляцией, так и с репродуктивным состоянием животных.

4.3.1. Na^+/K^+ -АТФаза: изоформы $\alpha 1a$, $\alpha 2a$ и $\alpha 3a$

Ген $\alpha 2a$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы экспрессировался на разрешающей границе метода ПЦР в реальном времени и значительно ниже по сравнению с генами $\alpha 1a$ и $\alpha 3a$ -субъединиц и в жабрах, и в кишечнике у особей обоих полов. Это позволяет предположить, что в ключевых осморегуляторных органах колюшки $\alpha 2a$ -субъединица Na^+/K^+ -АТФазы не играет важную функциональную роль, что согласуется с данными, полученными на других видах рыб: лососевых, цихлидах, ханосе *Chanos chanos* и медаке *Oryzias latipes* [Bystriansky et al., 2006; McCormick

et al., 2013; Tipsmark et al., 2011; Yang et al., 2019]. Не только для рыб, но и для млекопитающих показана минорная экспрессия $\alpha 2a$ -субъединицы в органах водно-солевого обмена и превалирующая экспрессия в мышцах [Bollinger et al., 2016].

Экспрессия гена $\alpha 1a$ -субъединицы, которая в жабрах лососевых, цихлид и медаки является осмозависимой, в жабрах ни у самцов, ни у самок колюшек не менялась достоверно при пресноводном переходе (Рисунок 21а). Только в условиях хронической пресноводной адаптации (72 ч.) у самок она была значимо выше по сравнению с группой самцов, однако полученные данные требуют дополнительных подтверждений на больших выборках [Bystriansky et al., 2006; Mackie et al., 2005; Madsen, Kiilerich, Tipsmark, 2009; McCormick et al., 2013; McCormick, Regish, Christensen, 2009; Richards et al., 2003; Tipsmark et al., 2011]. В ткани кишечника экспрессия *atp1a1* достоверно не менялась ни у самок, ни у самцов колюшек (Рисунок 21б). В сравнении с мозамбикской тилапией, у которой в ходе адаптации к пресной воде экспрессия *atp1a1* в кишечнике снижается, трёхиглая колюшка, предположительно, обладает меньшей пластичностью экспрессии данной субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы [Seale et al., 2014].

Экспрессия гена $\alpha 3a$ -субъединицы, которая по литературным данным, проявляет большую пластичность в ткани кишечника, но не жабр, у колюшек также наиболее зависела от условий солёности среды в кишечнике, и только у самок, но не самцов (Рисунок 22). Повышение экспрессии *atp1a3* в кишечнике у самок согласуется с литературными данными, полученными на мозамбикской тилапии *Oreochromis mossambicus* (без разделения выборки по полу): у особей, содержащихся в пресной воде, отмечено повышение экспрессии *atp1a3* во всех сегментах кишечника по сравнению с особями, находившимися в морской воде [Seale et al., 2014]. Предположительно, за счёт этого соотношение экспрессии гена $\alpha 1a$ - к экспрессии гена $\alpha 3a$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы снижается в кишечнике самок во время пресноводного перехода, и таким образом, вклад $\alpha 3a$ -субъединицы значительно выше в условиях пресной воды (Рисунок 23б).

Таким образом, при переходе в гипоосмотическую среду, именно у самок, но не самцов колюшек, отмечаются более сильные изменения экспрессии различных

α -субъединиц Na^+/K^+ -АТФазы, за счёт чего можно предположить большую по сравнению с самцами задержку ионов во внутренней среде. Вовлечённость пролактина в регуляцию экспрессии генов α -субъединиц Na^+/K^+ -АТФазы у самок косвенно подтверждается наличием значимой сильной положительной корреляции уровней мРНК генов обоих пролактиновых рецепторов с уровнями мРНК генов как *atp1a1*, так и *atp1a3*.

4.3.2. НКСС-транспортёры

Для многих эвригалинных рыб известно, что из семейства НКСС-обменников в жабрах ключевым является НКСС1а, а в кишечнике – НКСС2 [Hiroi et al., 2008; Inokuchi et al., 2008; Zhang et al., 2019]. Это подтверждается и для трёхиглой колюшки: экспрессия *nkcc1a* в жабрах снижалась у особей обоих полов при переходе в пресную воду (Рисунок 24а), а *nkcc2* снижалась в кишечнике, но только у самок (Рисунок 25б). Эти векторы регуляции согласуются с данными по тилапии, муммихогу, морскому окуню и японскому угрю [Breves et al., 2022; Hiroi et al., 2008; Watanabe et al., 2011; Zhang et al., 2019]. В то же время, отсутствие различий, связанных с полом и пресноводным переходом, в экспрессии гена *nkcc2* в жабрах и самок, и самцов, также согласуется с данными литературы, по которым НКСС2 либо слабо, либо совсем не экспрессируется в ионоцитах, как и у тилапии, угря и морского окуня [Wu YuChing, Lin LiYih, Lee TsungHan, 2003; Zhang et al., 2019].

Отдельного внимания заслуживает рост экспрессии гена *nkcc1a* в кишечнике у самок при пресноводной акклимации – эффект, не характерный для других видов рыб (Рисунок 24а). Полученные данные позволяют предположить, что оба транспортёра могут быть специфичны к разным частям мембраны клеток: НКСС1а – на апикальной, а НКСС2 – на базолатеральной мембране клеток кишечника, и таким образом, у самок может реализовываться не только снижение выведения ионов в кишечнике при пресноводной акклимации (в связи со снижением экспрессии *nkcc2*, что приведёт к снижению НКСС2 на базолатеральной мембране), но и увеличение захвата ионов из просвета кишечника (в связи с

повышением экспрессии *nkcc1a*, что приведёт к повышению NKCC1a на апикальной мембране). Данная гипотеза требует дополнительного подтверждения в дальнейших работах с применением методов не только молекулярной биологии, но и иммуногистохимии.

У самцов экспрессия гена *nkcc2* в кишечнике и жабрах при пресноводном переходе не изменялась (Рисунок 25). Экспрессия гена *nkcc1a* у самцов снижалась достоверно к 72 часам адаптации в жабрах, но не в кишечнике (Рисунок 24). Это указывает на меньшую пластичность системы НКСС у самцов по сравнению с самками.

4.3.3. Транспортёры NCC и NHE2

Экспрессия гена *ncc*, кодирующего транспортёр NCC, отвечающий за захват Na^+ и Cl^- из внешней среды, была стабильной в жабрах и кишечнике самок (Рисунок 26). В кишечнике самцов экспрессия *ncc* возрастала, что согласуется с наблюдениями для медаки и муммихога в ткани жабр [Bollinger et al., 2016; Breves et al., 2022; Hiroi et al., 2008]. У японского угря NCC в кишечнике обнаруживается в прямой кишке, и выше у особей в условиях пресной воды по сравнению с особями в условиях морской воды, что хорошо согласуется с нашими данными, полученными на самцах [Watanabe et al., 2011]. Также, у мозамбикской тилапии отмечается положительная регуляция NCC в ткани жабр со стороны пролактина, и большая представленность в условиях пресной воды по сравнению с морской [Watanabe, Itoh, Kaneko, 2016].

Для гена *nhe2*, кодирующего Na^+/H^+ -обменник, увеличение экспрессии отмечалось только у самок в кишечнике, а не в жабрах. Это контрастирует с данными для других видов, таких как киллифиш, гольян *Cyprinodon variegatus variegatus* и анчоус *Coilia nasus*: у них в условиях низкой солёности среды жаберная экспрессия *nhe2* увеличивается [Brix et al., 2015; Gao et al., 2022; Scott et al., 2005]. Это может свидетельствовать о смещении осморегуляторной активности у колюшек в сторону кишечника у самок. У многих видов рыб, таких как муммихог, микижа и анчоус, экспрессия гена *nhe2* в осморегуляторных органах либо не

детектируется, либо не зависит от пресноводной адаптации [Breves et al., 2022; Gao et al., 2022; Genz, Esbaugh, Grosell, 2011]. Таким образом, NHE2-обменник у разных видов рыб вовлечён в работу разных органов осморегуляции, и наличие его зависимости от пресноводного перехода видоспецифично, а у трёхиглой колюшки также зависит от пола особей.

Полученные результаты позволяют заключить, что у самок трёхиглой колюшки при пресноводной адаптации происходит более выраженная перестройка экспрессии генов ионных транспортёров. Это касается повышения экспрессии *atp1a3*, *nkcc1a* и *nhe2* в кишечнике. У самцов аналогичные изменения не выявлены или выражены значительно слабее.

Полученные данные позволяют выдвинуть гипотезу, что одной из причин этого может быть большая активация пролактиновой оси у самок: повышение экспрессии *prll* в мозге у самок, повышение чувствительности к пролактину в мозге и почках, а также рост гепатосоматического индекса при переходе в пресную воду [Pavlova et al., 2022; Pavlova, Neretina, Smirnova, 2020; Pavlova, Neretina, Smirnova, 2024]. Анализ корреляций подтверждает эту гипотезу: у самок экспрессия *prlra* и *prlrb* тесно связана с уровнями *atp1a1*, *atp1a3* и *nkcc1a* как в жабрах, так и в кишечнике (табл. 2). Напротив, у самцов корреляции единичны.

Интересно, что в жабрах у самок *prlra* и *prlrb* демонстрируют положительные корреляции с генами, экспрессия которых не всегда повышается при пресноводном переходе (например, *nkcc1a* снижается). Это может указывать на более сложную модель регуляции – прямую или опосредованную, возможно, с участием кортизола [Guh, Lin, Hwang, 2015]. В кишечнике у самок, напротив, обнаружены отрицательные корреляции между генами пролактиновых рецепторов с *atp1a3* и *nkcc1a*, что может свидетельствовать о разных механизмах регуляции в разных органах (Таблица 2).

С точки зрения адаптации, более выраженная осморегуляторная реакция у самок может быть связана с физиологической нагрузкой: в нерестовый период масса самок значительно превышает массу самцов (4,94 г против 2,73 г), что требует более активного водно-солевого обмена. Таким образом, половые различия

в регуляции экспрессии генов при пресноводной адаптации могут быть результатом как гормональных, так и морфо-физиологических особенностей особей разных полов.

Представленные данные демонстрируют, что при переходе трёхиглой колюшки в пресную воду осморегуляторная перестройка затрагивает как жабры, так и кишечник, однако наиболее выражена она в кишечнике самок. Показано, что экспрессия генов ключевых ионных транспортёров – *atp1a3*, *nkcc1a* и *nhe2* – повышается у самок в кишечнике, тогда как у самцов значимых изменений не наблюдается, за исключением роста экспрессии *ncc*. В то же время в жабрах у обеих полов снижается экспрессия *nkcc1a*, а другие изменения менее выражены и лишь частично согласуются с литературными данными для других видов.

На фоне этих различий нами обнаружены органоспецифичные и зависимые от пола корреляции между экспрессией генов пролактиновых рецепторов и генов ионных транспортёров, указывающие на возможное участие пролактина в регуляции осморегуляторной функции преимущественно у самок. Эти результаты подтверждают гипотезу о более высокой пластичности осморегуляторной системы у самок и предполагают, что особенности водно-солевого обмена колюшек связаны с полом особей и пролактиновой осью в репродуктивный период.

4.4. Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров в жабрах и кишечнике α - и ω -самцов в модели гиперпролактинемии в условиях морской воды

Поскольку у самцов в модели пресноводной адаптации, в отличие от самок, не была выявлена сильная стимуляция экспрессии гена *prll*, а также менее выражены эффекты, ассоциированные с действием пролактина, было решено сравнить самцов различного иерархического положения на фоне стимуляции экзогенным пролактином. Участие пролактина в родительском поведении самцов колюшек давно известно и показано, однако данных о вовлечении пролактиновой оси в фазу конкуренции между самцами до сих пор остаётся неизученным [Ruiter de et al., 1986; Slijkhuis et al., 1984].

Установление иерархии среди самцов позвоночных классически ассоциируется с половым стероидным гормоном тестостероном. У низших позвоночных активной формой андрогена является не только сам тестостерон, но и 11-кетотестостерон, и концентрация обоих этих андрогенов в плазме рыб положительно коррелирует с положением самца в иерархии. Это было показано для ряда рыб, включая *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis niloticus*, *Cichlasoma dimerus*, *Astatotilapia burtoni* [Golan, Levavi-Sivan, 2013; Huffman et al., 2012; Maruska, 2015; Maruska et al., 2022; Maruska, Fernald, 2010; Oliveira, Almada, Canario, 1996; Parikh, Clement, Fernald, 2006; Pfennig et al., 2012]. Для этих видов показано, что уровни обоих андрогенов увеличивают репродуктивное поведение, агрессивное поведение по отношению к другим самцам, а также ухаживание за самкой.

Пролактин и тестостерон у рыб функционально связаны, однако небольшой объём литературных данных противоречив. Так, для морского окуня показано, что тестостерон, в отличие от эстрадиола, не активирует промотор ни одного гена пролактинового рецептора, а для мозамбикской тилапии известны данные, согласно которым пролактин стимулирует секрецию тестостерона гонадами только у нерестящихся самцов [Huang et al., 2007; Rubin, Specker, 1992]. Таким образом, можно предположить вовлечение пролактина в иерархию и у самцов трёхиглой колюшки.

Полученные в рамках данной работы результаты показывают, что пролактиновая ось α - и ω -самцов неодинаково реагирует (посредством изменения экспрессии генов пролактиновых рецепторов) на гиперпролактинемию в условиях морской воды. Также даже без пресноводной адаптации это сопровождается изменением экспрессии генов некоторых ионных транспортёров в осморегуляторных тканях самцов. Согласно изменению экспрессии изученных генов, а также корреляции между ними, были составлены сводные схемы для α - и ω -самцов (Рисунок 43).

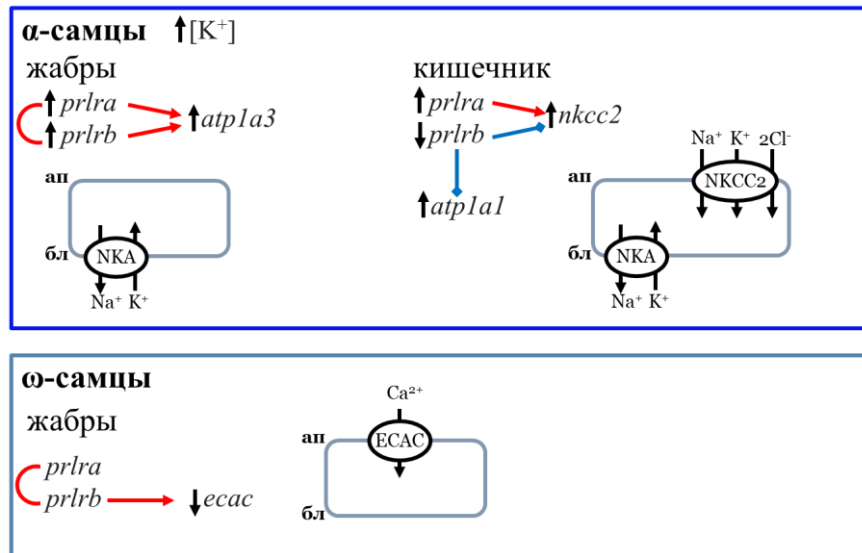


Рисунок 43 – Сводная схема изменения экспрессии генов ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника α - и ω -самцов после введения пролактина в условиях морской воды. Представлены только значимые изменения экспрессии (стрелки вверх и вниз), и значимые корреляции (красной линией положительные, синей линией отрицательные)

Различие в реакции самцов разного иерархического положения на введение пролактина обнаруживались в концентрации ионов K^+ в плазме: у α -, но не ω -самцов на фоне введения пролактина этот показатель увеличивался (Рисунок 29). Интересно отметить, что пролактиновая ось на уровне экспрессии генов *prlra* и *prlrb* неодинаково меняется у α - и ω -самцов после введения пролактина. У α -самцов в ткани жабр увеличивалась экспрессия генов обоих пролактиновых рецепторов *prlra* и *prlrb*, в ткани кишечника экспрессия гена *prlra* увеличивалась, *prlrb* – уменьшалась (Рисунок 30, 31). Следовательно, можно предположить, что под влиянием пролактина у α -самцов потенциально ткань жабр будет сенсibilизирована к действию пролактина, то есть гормон положительно регулирует экспрессию рецепторов. У ω -самцов изменение в экспрессии генов пролактиновых рецепторов в осморегуляторных органах выявлено не было (Рисунки 30, 31). Вместе с этим и у α -, и у ω -самцов в жабрах уровни мРНК генов обоих пролактиновых рецепторов положительно коррелировали друг с другом, что говорит о сорегуляции обоих пролактиновых рецепторов (табл. 3).

У α -самцов в жабрах увеличивалась экспрессия гена *atp1a3*, и положительно коррелировала с экспрессией генов *prlra* и *prlrb* (Рисунок 33б). В ткани кишечника

α -самцов увеличивалась экспрессия гена *nkcc2*, положительно коррелирующая с экспрессией гена *prlra* и отрицательно – с экспрессией гена *prlrb* (Рисунок 35б). Экспрессия гена *prlrb*, уменьшающаяся на фоне введения пролактина, также отрицательно коррелировала с экспрессией гена *atpla1* в кишечнике α -самцов, которая увеличивалась после введения пролактина (Рисунок 32б).

У ω -самцов под влиянием экзогенного пролактина изменилась только экспрессия гена *esac* в жабрах в сторону снижения (Рисунок 36а). Экспрессия гена *esac* также положительно коррелировала с экспрессией гена *prlrb*, что даёт возможность предположить их функциональную связь, однако этот эффект требует дальнейшего изучения.

Общий тренд изменений экспрессии генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров в осморегуляторных тканях α - и ω -самцов колюшки свидетельствует в пользу большей зависимости осморегуляторной функции от пролактина у α -самцов по сравнению с ω -самцами. Таким образом, несмотря на то, что ранее в моделях пресноводной адаптации нами не было выявлено повышение экспрессии гена *prl1* у самцов, пролактин может быть вовлечён в процессы доминирования и установления иерархии среди самцов в нерестовый период. Альтернативное объяснение полученных результатов может основываться на том, что у ω -самцов доказан более слабый эндокринный статус по сравнению с α -самцами, что может включать и пролактиновую ось [Maruska et al., 2022].

4.5. Изменение экспрессии генов опсинов в сетчатке у самок и α -самцов в модели сочетанной острой и хронической пресноводной адаптации и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды

В данной главе представлено обсуждение результатов, опубликованных в статье Павловой и соавт. [Pavlova et al., 2022].

Экспрессия гена *sws1* у самок трёхиглой колюшки в условиях пресноводной адаптации не находится под контролем пролактина, в отличие от самцов. Различный ответ пролактинов (*prl1* и *prl2*) самок и α -самцов трёхиглой колюшки на острую и хроническую пресноводную адаптацию частично подтверждается

отсутствием у самок и наличием у α -самцов пролактин-индуцированного ингибирования экспрессии гена *sws1*, кодирующего коротковолновый опсин SWS1, чувствительный в ультрафиолетово-синей области спектра, в ткани сетчатки (Рисунок 38а). Что примечательно, в сетчатке глаза самок колюшек после острой адаптации к пресной воде экспрессия гена *sws1* повышалась, но в группе хронической адаптации этот показатель был на уровне, сопоставимом с контрольной группой. Введение пролактина не оказывало влияния на экспрессию гена *sws1* (Рисунок 38б). Подобный эффект можно связать с возможной регуляцией экспрессии гена опсина *sws1* в сетчатке глаз самок колюшек со стороны кортизола, являющегося ключевым гормоном острой пресноводной адаптации у рыб [Watanabe, Itoh, Kaneko, 2016]. В ряде работ на млекопитающих описано влияние кортизола на большинство структур глаза, включая сетчатку и фоторецепторные клетки [Sulaiman, Kadmiel, Cidlowski, 2018]. Однако подобное предположение требует дальнейшего более детального изучения. В сетчатке глаза α -самцов острая пресноводная адаптация сопровождалась снижением экспрессии гена *sws1*, в отличие от самок, у которых наблюдалось повышение его экспрессии (Рисунок 38а). Изменение экспрессии гена *sws1* у α -самцов частично согласуется с литературными данными для общей популяции: по данным других исследователей экспрессия гена *sws1* в ткани сетчатки была выше у резидентных морских колюшек в сравнении с резидентными пресноводными [Rennison et al., 2016]. Одновременно с этим при хронической пресноводной адаптации экспрессия гена *sws1* в сетчатке α -самцов колюшек не отличалась от таковой в контрольной группе. Поскольку эффект пресноводной адаптации на экспрессию данного гена наблюдается только в первые 24 ч, мы предполагаем его пролактин-независимый характер в модели пресноводной адаптации и возможное влияние кортизола на экспрессию гена *sws1* у α -самцов. Несмотря на отсутствие эффекта 72-часовой пресноводной адаптации на экспрессию гена *sws1* в сетчатке глаза α -самцов колюшек, введение экзогенного пролактина в течение 72 ч приводило к её снижению (38б). Подобный эффект может быть объяснён тем, что при переходе в пресную воду экспрессия генов *prl1* и *prl2* у самцов не повышалась, и, следовательно, в модели пресноводной

адаптации отсутствие эффектов, оказываемых на сетчатку пролактином, может быть объяснено отсутствием увеличения пролактиновой регуляции сетчатки. Таким образом, ген *sws1*, кодирующий коротковолновый опсин SWS1, в сетчатке глаза регулируется пролактином у α -самцов, но не у самок трёхиглой колюшки.

Снижение экспрессии гена *sws2* у самок и α -самцов трёхиглой колюшки в условиях пресноводной адаптации может индуцироваться пролактином. Экспрессия гена *sws2*, кодирующего опсин, чувствительный в синей области спектра, в сетчатке глаза трёхиглой колюшки менялась схожим образом у самок и α -самцов, как в модели пресноводной адаптации, так и после введения пролактина (Рисунок 39). Как у самок, так и у α -самцов при острой и хронической пресноводной адаптации экспрессия гена *sws2* в сетчатке глаза снижалась. Аналогичный эффект оказало введение пролактина в условиях морской воды. Таким образом, можно с высокой долей вероятности утверждать, что снижение чувствительности цветового зрения самок и самцов трёхиглой колюшки к синей области спектра в условиях пресноводной адаптации опосредовано пролактином. Также нельзя исключать возможный эффект кортизола, который также классически ассоциируют с пресноводной адаптацией рыб [Watanabe, Itoh, Kaneko, 2016]. Однако данное предположение требует более подробного изучения.

Повышение экспрессии генов *rh2* и *lws* у самок и α -самцов трёхиглой колюшки в условиях пресноводной адаптации не опосредовано пролактином. Экспрессия генов *rh2* и *lws*, кодирующих длинноволновые опсины RH2 и LWS, чувствительных в зелёной и красной областях спектра соответственно, в сетчатке глаз самок трёхиглой колюшки повышалась при острой и хронической пресноводной адаптации (Рисунки 40а, 41а), что свидетельствует в пользу повышения чувствительности цветового зрения к длинноволновому излучению. Однако, поскольку этот эффект не воспроизводился при введении пролактина в условиях морской воды (Рисунки 40б, 41б), можно предположить пролактин-независимый характер изменения экспрессии данных опсинов. Изменение экспрессии данных опсинов при пресноводной адаптации может быть результатом влияния эстрогенов, для которых ранее был показан стимулирующий эффект на

экспрессию *rh2* и *lws* в сетчатке обыкновенной гамбузии *Gambusia affinis* [Friesen, Ramsey, Cummings, 2017]. У α -самцов, в отличие от самок колюшек, экспрессия генов *rh2* и *lws* в сетчатке глаз не менялась при адаптации к пресной воде, и, как и у самок, не менялась в условиях морской воды после введения пролактина (Рисунки 40, 41). С одной стороны, это доказывает пролактин-независимый характер регуляции длинноволновых опсинов у самок и α -самцов трёхиглой колюшки, с другой – может подтверждать гипотезу о возможном положительном влиянии эстрогенов на эти опсины у самок, но оставляет открытым вопрос об опосредованном половыми гормонами, а не пролактином, изменении цветового зрения рыб в условиях пресноводной адаптации.

Таким образом, цветовое зрение у самок и α -самцов трёхиглой колюшки в условиях пресноводной адаптации меняется неодинаково. Для самок при хронической пресноводной адаптации показано пролактин-зависимое снижение экспрессии гена *sws2* и пролактин-независимое повышение экспрессии генов *rh2* и *lws*. Сочетанное повышение чувствительности зрения самок к длинноволновой области спектра и снижение чувствительности в коротковолновой способствует лучшему распознаванию красного и зелёного цвета, что может иметь ключевое значение для распознавания полового партнёра во время нереста. Изменение цветового зрения α -самцов при пресноводной адаптации сопряжено с уменьшением чувствительности в коротковолновой части спектра, опосредованным пролактин-зависимым снижением экспрессии гена *sws2*, в то время как экспрессия генов остальных опсинов не меняется. Тем не менее подобное изменение транскрипционной активности сетчатки α -самцов также может способствовать итоговому повышению чувствительности к длинноволновой части спектра.

Можно заключить, что адаптивные эффекты пролактина при пресноводных миграциях трёхиглой колюшки проявляются не только в регуляции водно-солевого обмена, но также цветового зрения, и они могут различаться у самок и α -самцов.

4.6. Изменение экспрессии генов пролактинов и пролактиновых рецепторов в мозге α -самцов в стадии конкуренции и самцов в фазе демонстрации родительского поведения

В ранних работах, посвящённых роли пролактина у самцов трёхиглой колюшки, был выявлен эффект пролактиновой стимуляции родительского поведения самцов: при администрации пролактина самцы, охраняющие гнездо, чаще обмахивали его плавниками, что вентилирует икринки [Ruiter de et al., 1986; Slijkhuis et al., 1984]. Эти данные впервые позволили установить участие пролактина в родительской заботе у колюшек, однако на данный момент структуры мозга, вовлечённые у самцов в этот процесс и участие разных пролактиновых рецепторов в нём были не изучены. Интересно, что администрация окситоцина, функционально связанного с пролактином, также приводит к увеличению родительского поведения самцов колюшек [Dan et al., 2024].

В данной работе проведено сравнение экспрессии генов пролактиновой оси: обоих пролактинов *prl1* и *prl2*, а также их рецепторов *prlra* и *prlrb* – в ткани мозга (вместе с гипофизом) у α -самцов в нерестовом периоде и самцов на гнезде. Эти две фазы нереста были отобраны с одной стороны как ключевые, с другой стороны, как наиболее противоположные по поведению самца. Было выдвинуто предположение о неодинаковом изменении экспрессии генов пролактиновой оси в мозге в исследованных группах.

При сравнении экспрессии генов элементов пролактиновой оси в мозге морских α -самцов трёхиглой колюшки в начале нереста с самцами, охраняющими гнездо с кладкой икры, была обнаружена повышенная экспрессия гена *prlrb* у самцов, охраняющих гнездо (Рисунок 42в). Таким образом, мозг самцов, проявляющих родительское поведение, становится более чувствителен к действию пролактина. Данные, полученные в настоящей работе, дополняют уже имеющиеся в литературе, и на их основании можно предположить, что именно пролактиновый рецептор *b* у самцов колюшки играет ключевую роль в стимуляции родительского поведения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе впервые для рыб пролактиновая ось была рассмотрена в контексте и осморегуляторных, и репродуктивных эффектов. Установлено, что у самок основной гомолог пролактина кодируется геном *prl1*. У самцов в первые 12–18 часов пресноводной адаптации происходит увеличение экспрессии гена другого гомолога пролактина *prl2*. Показано, что в ходе пресноводной адаптации у самок по сравнению с самцами меняется экспрессия большего количества элементов пролактиновой оси. Чувствительность к пролактину мозга и почек более сильно и зависимо от пола меняется в ходе пресноводной адаптации по сравнению с тканью жабр и кишечника, для которых не обнаружено половых различий. У самок при пресноводной адаптации осморегуляторная функция также меняется сильнее, чем у самцов, и изменение экспрессии генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике сорегулируется с пролактиновыми рецепторами. Вместе с тем, при стимуляции экзогенным пролактином у самцов было показано наличие эффекта на экспрессию генов ионных транспортёров жабр и кишечника, зависимый от положения самца в иерархии. Для самцов предположено участие пролактинового рецептора *b* в родительском поведении.

Впервые для рыб изучено влияние пресноводной адаптации и пролактина на экспрессию генов опсинов в сетчатке и адаптацию цветового зрения, также зависимую от пола особей. Полученные данные позволяют заключить о влиянии пролактина на цветовое зрение колюшек, проявляющееся по-разному в зависимости от пола. Глобальный тренд – снижение чувствительности цветового зрения в коротковолновой области спектра при пресноводной адаптации – может быть объяснён более низкой прозрачностью пресной воды по сравнению с морской и в результате, более быстрым рассеянием света коротковолновой области спектра. Как следствие, в пресной воде зрение в синей области спектра неадаптивно.

Данная работа первая, в которой продемонстрированы различные для рыб разного пола эффекты пролактина во время пресноводного перехода на осморегуляцию и чувствительность цветового зрения. Предполагается, что пролактин адаптирует организм трёхиглых колюшек к условиям пресной воды в

зависимости от пола, а у самцов ещё в зависимости от положения в иерархии. Таким образом, репродуктивные эффекты пролактина могут проявляться ещё у низших позвоночных.

Механизмы, обуславливающие адаптацию анадромных рыб к пресной воде во время миграции, остаются изученными не полностью, а известные общие принципы гормональной регуляции водно-солевого баланса у мигрирующих рыб требуют уточнения, поскольку могут существенно различаться у самок и самцов. Пролактиновая ось, ранее не считавшаяся связанной с полом рыбы в контексте пресноводной адаптации, может иметь гораздо более сложный механизм осуществления своих функций, который, несомненно, представляет интерес для дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. При адаптации особей трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. к пресной воде пролактиновая ось стимулируется сильнее у самок по сравнению с самцами, что приводит к появлению в условиях пресной воды различий в пролактиновой оси, связанных с полом особи.

2. Осморегуляторная функция жабр и кишечника *G. aculeatus* при пресноводной адаптации также модифицируется неодинаково: у самок по сравнению с самцами экспрессия большего количества генов ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника меняется и коррелирует с экспрессией генов пролактиновых рецепторов.

3. Снижение экспрессии гена *nkcc1a* в жабрах при адаптации к пресной воде происходит независимо от пола особи *G. aculeatus*.

4. Положение в иерархии самцов *G. aculeatus* ассоциировано с пролактиновой осью и регуляцией водно-солевого обмена: при введении пролактина в условиях морской воды экспрессия генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника α - самцов модифицируется сильнее по сравнению с ω -самцами.

5. Выявлена новая функция пролактина рыб – адаптация цветового зрения *G.*

aculeatus к пресной воде при снижении солёности – реализация которой также зависит от пола особи.

6. Установлено, что при реализации родительского поведения мозг самцов становится более чувствителен к пролактину за счёт роста экспрессии гена пролактинового рецептора *b*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МЕ – международная единица
 ПА – пресноводная адаптация
 ТХУ – трихлоруксусная кислота
atp1a1 – ген $\alpha 1$ а-субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы
atp1a2 – ген $\alpha 2$ а-субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы
atp1a3 – ген $\alpha 3$ а-субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы
esac – ген канала ЕСАС рыб
 ЕСАС – эпителиальный Ca^{2+} -канал
ncc – ген NCC-транспортёра рыб
 NCC – Na^+/Cl^- -котранспортёр
nkcc1a – ген NKCC1а-транспортёра рыб
nkcc2 – ген NKCC2-транспортёра рыб
 NKCC – $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ -котранспортёр
nhe2 – ген NHE2-обменника рыб
nhe3 – ген NHE3-обменника рыб
 NHE – Na^+/H^+ -обменник
 oPrl – овечий пролактин
prl1 – ген пролактина рыб
 Prl1 – пролактин рыб
prl2 – ген пролактинподобного гормона рыб
 Prl2 – пролактинподобный гормон рыб
prlra – ген пролактинового рецептора *a* рыб
prlrb – ген пролактинового рецептора *b* рыб
lws – ген опсина LWS рыб
rh2 – ген опсина RH2 рыб
sws1 – ген опсина SWS1 рыб
sws2 – ген опсина SWS2 рыб

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зюганов, В. В. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны / В. В. Зюганов. – 1991.
2. Павлова, Н. Р. Экспрессия генов опсинов в сетчатке глаза самок и самцов трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L.: зависимость от пресноводной адаптации и пролактина / Н. Р. Павлова [и др.] // Биохимия (Москва). – 2022. – Т. 87, № 2. – Р. 278–288.
3. Павлова, Н. С. Динамика экспрессии генов пролактиновой оси в мозгу самок и самцов трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (Gasterosteidae) при кратковременной адаптации к пресной воде / Н. С. Павлова, Т. В. Неретина, О. В. Смирнова // Вопросы ихтиологии. – 2020. – Т. 60, № 2. – Р. 202–208.
4. Павлова, Н. С. Зависимость от пола экспрессии гена пролактина в мозге и генов *na/k*-атфазы в жабрах трёхиглой колюшки *gasterosteus aculeatus* L. При пресноводной адаптации / Н. С. Павлова, Т. В. Неретина, О. В. Смирнова // Труды XII Международной научно-практической конференции "Морские исследования и образование (MARESEDU-2023)". Морская биология, Т. III (IV). – Тверь : ПолиПРЕСС, 2024а.
5. Павлова, Н. С. Экспрессия генов пролактина и пролактиновых рецепторов у трёхиглой колюшки *g. Aculeatus* L.: зависимость от пола и пресноводной адаптации / Н. С. Павлова, Т. В. Неретина, О. В. Смирнова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2024б. – Т. 60, № 5. – Р. 562–572.
6. Решетников, Ю. Р. Атлас пресноводных рыб России : в 2 томах / под ред. Ю. С. Решетникова. – М., 2003.
7. Смирнова, О. В. Осморегуляция и репродукция: эволюционные тренды функций пролактина от рыб к млекопитающим / О. В. Смирнова, П. А. Абрамичева, Н. С. Павлова // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2024. – Т. 79, № 2S. – С. 46–54.
8. Abbas, L. Functional and developmental expression of a zebrafish Kir1. 1 (ROMK) potassium channel homologue *Kcnj1* / L. Abbas [et al.] // J. Physiol. – 2011. – Vol. 589, № 6. – Р. 1489–1503.
9. Allen, P. J. The influence of environmental calcium concentrations on calcium flux, compensatory drinking and epithelial calcium channel expression in a freshwater cartilaginous fish / P. J. Allen [et al.] // J. Exp. Biol. – 2011. – Vol. 214, № 6. – Р. 996–1006.
10. Allison, W. T. Degeneration and regeneration of ultraviolet cone photoreceptors during development in rainbow trout / W. T. Allison [et al.] // J. Comp. Neurol. – 2006. – Vol. 499, № 5. – Р. 702–715.
11. Anderson, B. G. Renal morphology of freshwater trout / B. G. Anderson, R. D. Loewen // Am. J. Anat. – 1975. – Vol. 143, № 1. – Р. 93–113.
12. Ando, M. Bicarbonate transport systems in the intestine of the seawater eel / M. Ando, M. V. Subramanyam // J. Exp. Biol. – 1990. – Vol. 150, № 1. – Р. 381–394.
13. Ando, M. Mechanisms of guanylin action on water and ion absorption at different regions of seawater eel intestine / M. Ando, M. K. S. Wong, Y. Takei // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. – 2014. – Vol. 307, № 6. – Р. R653–R663.

14. Arjona, F. J. Osmoregulatory response of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to changes in environmental salinity / F. J. Arjona [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* – 2007. – Vol. 148, № 2. – P. 413–421.
15. Auperin, B. Evidence that two tilapia (*Oreochromis niloticus*) prolactins have different osmoregulatory functions during adaptation to a hyperosmotic environment / B. Auperin [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 1994. – Vol. 12, № 1. – P. 13–24.
16. Auperin, B. Regulation of gill prolactin receptors in tilapia (*Oreochromis niloticus*) after a change in salinity or hypophysectomy / B. Auperin [et al.] // *J. Endocrinol.* – 1995. – Vol. 145, № 2. – P. 213–220.
17. Banks, C. M. The prolactin receptor: A cross-species comparison of gene structure, transcriptional regulation, tissue-specificity, and genetic variation / C. M. Banks, J. F. Trott, R. C. Hovey // *J. Neuroendocrinol.* – 2024. – P. e13385.
18. Bell, M. A. Introduction to the evolutionary biology of the threespine stickleback / M. A. Bell, S. A. Foster // *Evol. Biol. threespine stickleback.* – 1994. – Vol. 1. – P. 27.
19. Ben-Jonathan, N. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor / N. Ben-Jonathan, R. Hnasko // *Endocr. Rev.* – 2001. – Vol. 22, № 6. – P. 724–763.
20. Ben-Jonathan, N. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects / N. Ben-Jonathan [et al.] // *Endocr. Rev.* – 1996. – Vol. 17, № 6. – P. 639–669.
21. Ben-Jonathan, N. What can we learn from rodents about prolactin in humans? / N. Ben-Jonathan, C. R. LaPensee, E. W. LaPensee // *Endocr. Rev.* – 2008. – Vol. 29, № 1. – P. 1–41.
22. Beyenbach, K. W. Kidneys sans glomeruli / K. W. Beyenbach // *Am. J. Physiol. Physiol.* – 2004. – Vol. 286, № 5. – P. F811–F827.
23. Blume, A. Prolactin induces Egr-1 gene expression in cultured hypothalamic cells and in the rat hypothalamus / A. Blume [et al.] // *Brain Res.* – 2009. – Vol. 1302. – P. 34–41.
24. Boeuf, G. Stimulation of parr-smolt transformation by hormonal treatment in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) / G. Boeuf [et al.] // *Aquaculture.* – 1994. – Vol. 121, № 1–3. – P. 195–208.
25. Bole-Feysot, C. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice / C. Bole-Feysot [et al.] // *Endocr. Rev.* – 1998. – Vol. 19, № 3. – P. 225–268.
26. Bollinger, R. J. Does Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exhibit a gill Na⁺/K⁺-ATPase isoform switch during salinity change? / R. J. Bollinger [et al.] // *J. Comp. Physiol. B.* – 2016. – Vol. 186. – P. 485–501.
27. Boulcott, P. Colour perception in three-spined sticklebacks: sexes are not so different after all / P. Boulcott, V. A. Braithwaite // *Evol. Ecol.* – 2007. – Vol. 21, № 5. – P. 601–611.
28. Bowmaker, J. K. Evolution of vertebrate visual pigments / J. K. Bowmaker // *Vision Res.* – 2008. – Vol. 48, № 20. – P. 2022–2041.
29. Bowmaker, J. K. Ultraviolet receptors, tetrachromatic colour vision and retinal mosaics in the brown trout (*Salmo trutta*): age-dependent changes / J. K. Bowmaker, Y. W. Kunz // *Vision Res.* – 1987. – Vol. 27, № 12. – P. 2101–2108.

30. Breves, J. P. *clc-2c* is regulated by salinity, prolactin and extracellular osmolality in tilapia gill / J. P. Breves [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 59, № 4. – P. 391–402.
31. Breves, J. P. Dynamic gene expression of GH/PRL-family hormone receptors in gill and kidney during freshwater-acclimation of Mozambique tilapia / J. P. Breves [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* – 2011. – Vol. 158, № 2. – P. 194–200.
32. Breves, J. P. Hormonal regulation of aquaporin 3: opposing actions of prolactin and cortisol in tilapia gill / J. P. Breves [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 230, № 3. – P. 325–337.
33. Breves, J. P. Molecular targets of prolactin in mummichogs (*Fundulus heteroclitus*): Ion transporters/channels, aquaporins, and claudins / J. P. Breves [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2022. – Vol. 325. – P. 114051.
34. Breves, J. P. Osmoregulatory actions of prolactin in the gastrointestinal tract of fishes / J. P. Breves [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2020b. – P. 113589.
35. Breves, J. P. Prolactin controls branchial *clcn2c* but not *atp1a1a. 2* in zebrafish *Danio rerio* / J. P. Breves // *J. Fish Biol.* – 2019. – Vol. 94, № 1. – P. 168–172.
36. Breves, J. P. Prolactin regulates transcription of the ion uptake Na^+/Cl^- cotransporter (*ncc*) gene in zebrafish gill / J. P. Breves [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 369, № 1–2. – P. 98–106.
37. Breves, J. P. Prolactin restores branchial mitochondrion-rich cells expressing Na^+/Cl^- cotransporter in hypophysectomized Mozambique tilapia / J. P. Breves [et al.] // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* – 2010. – Vol. 299, № 2. – P. R702–R710.
38. Breves, J. P. Salinity-dependent expression of *ncc2* in opercular epithelium and gill of mummichog (*Fundulus heteroclitus*) / J. P. Breves [et al.] // *J. Comp. Physiol. B.* – 2020a. – Vol. 190, № 2. – P. 219–230.
39. Brinca, L. The regulatory action of estrogen and vasoactive intestinal peptide on prolactin secretion in sea bream (*Sparus aurata*, L.) / L. Brinca, J. Fuentes, D. M. Power // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 131, № 2. – P. 117–125.
40. Brix, K. V. Comparative evaluation of Na^+ uptake in *Cyprinodon variegatus variegatus* (Lacepede) and *Cyprinodon variegatus hubbsi* (Carr)(Cyprinodontiformes, Teleostei): Evaluation of NHE function in high and low Na^+ freshwater / K. V. Brix [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* – 2015. – Vol. 185. – P. 115–124.
41. Brock, C. D. Opsin expression predicts male nuptial color in threespine stickleback / C. D. Brock [et al.] // *Ecol. Evol.* – 2018. – Vol. 8, № 14. – P. 7094–7102.
42. Brown, J. A. Angiotensin and single nephron glomerular function in the trout *Salmo gairdneri* / J. A. Brown [et al.] // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* – 1980. – Vol. 239, № 5. – P. R509–R514.
43. Bu, G. Extra-pituitary prolactin (PRL) and prolactin-like protein (PRL-L) in chickens and zebrafish / G. Bu [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 220. – P. 143–153.
44. Bystriansky, J. S. Reciprocal expression of gill Na^+/K^+ -ATPase alpha-subunit isoforms $\alpha 1a$ and $\alpha 1b$ during seawater acclimation of three salmonid fishes that vary in their salinity tolerance / J. S. Bystriansky [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2006. – Vol. 209, № 10. – P. 1848–1858.

45. Cavaco, J. E. B. Quantification of prolactin (PRL) and PRL receptor messenger RNA in gilthead seabream (*Sparus aurata*) after treatment with estradiol-17 β / J. E. B. Cavaco [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2003. – Vol. 68, № 2. – P. 588–594.
46. Chang, Y. S. Molecular cloning of silver carp and bighead carp prolactin / Y. S. Chang, F. L. Huang, T.-B. Lo // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1992. – Vol. 87, № 2. – P. 260–265.
47. Clarke, W. C. Comparative endocrinology of prolactin / W. C. Clarke, H. A. Bern // *Horm. proteins Pept.* – 2012. – Vol. 8. – P. 105–197.
48. Collie, N. L. Mechanisms of hormone actions on intestinal transport / N. L. Collie, T. Hirano // *Vertebr. Endocrinol. Fundam. Biomed. Implic.* – 1987. – Vol. 2. – P. 239–270.
49. Conway, G. Jak1 kinase is required for cell migrations and anterior specification in zebrafish embryos / G. Conway [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1997. – Vol. 94, № 7. – P. 3082–3087.
50. Costa, M. P. F. Spatial and temporal variability of light attenuation in large rivers of the Amazon / M. P. F. Costa, E. Novo, K. H. Telmer // *Hydrobiologia.* – 2013. – Vol. 702, № 1. – P. 171–190.
51. Cresko, W. A. Studies of threespine stickleback developmental evolution: progress and promise / W. A. Cresko [et al.] // *Genetica.* – 2007. – Vol. 129, № 1. – P. 105–126.
52. Cunha, A. A. P. Androgen and prolactin manipulation induces changes in aggressive and nurturing behavior in a fish with male parental care / A. A. P. Cunha [et al.] // *Horm. Behav.* – 2019. – Vol. 116. – P. 104582.
53. Cutler, C. P. Differential expression of absorptive cation-chloride-cotransporters in the intestinal and renal tissues of the European eel (*Anguilla anguilla*) / C. P. Cutler, G. Cramb // *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 149, № 1. – P. 63–73.
54. Cutler, C. P. Two isoforms of the Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter are expressed in the European eel (*Anguilla anguilla*) / C. P. Cutler, G. Cramb // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes.* – 2002. – Vol. 1566, № 1–2. – P. 92–103.
55. Dalton, B. E. Variable light environments induce plastic spectral tuning by regional opsin coexpression in the African cichlid fish, *Metriacroma zebra* / B. E. Dalton [et al.] // *Mol. Ecol.* – 2015. – Vol. 24, № 16. – P. 4193–4204.
56. Dan, U. Oxytocin influences parental care in male threespine stickleback across multiple time scales / U. Dan [et al.] // *Horm. Behav.* – 2024. – Vol. 166. – P. 105652.
57. Dantzler, W. H. Regulation of renal proximal and distal tubule transport: sodium, chloride and organic anions / W. H. Dantzler // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2003. – Vol. 136, № 3. – P. 453–478.
58. Davenport, J. Osmotic control in marine animals / J. Davenport // *Symp. Soc. Exp. Biol.* – 1985. – Vol. 39. – P. 207–244.
59. Deane, E. E. Hormonal modulation of branchial Na⁺-K⁺-ATPase subunit mRNA in a marine teleost *Sparus sarba* / E. E. Deane, S. P. Kelly, N. Y. Woo // *Life Sci.* – 1999. – Vol. 64, № 20. – P. 1819–1829.
60. Dobolyi, A. Secretion and Function of Pituitary Prolactin in Evolutionary Perspective / A. Dobolyi [et al.] // *Front. Neurosci.* – 2020. – Vol. 14. – P. 621.

61. Doliana, R. The prolactin of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): cloning of cDNA and efficient expression in *Escherichia coli* / R. Doliana [et al.] // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1994. – Vol. 33, № 6. – P. 1117–1126.
62. Dymowska, A. K. Acid-sensing ion channels are involved in epithelial Na⁺ uptake in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* / A. K. Dymowska [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2014. – Vol. 307, № 3. – P. C255–C265.
63. Dymowska, A. K. Structure and function of ionocytes in the freshwater fish gill / A. K. Dymowska, P.-P. Hwang, G. G. Goss // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2012. – Vol. 184, № 3. – P. 282–292.
64. Eckert, S. M. Hormonal control of osmoregulation in the channel catfish *Ictalurus punctatus*. / S. M. Eckert [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 122, № 3. – P. 270–286.
65. Edery, M. Prolactin receptors in tilapia (*Sarotherodon mossambicus*) tissues: binding studies using 125I-labeled ovine prolactin / M. Edery [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1984. – Vol. 56, № 1. – P. 19–23.
66. Edwards, S. L. Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes / S. L. Edwards, W. S. Marshall // *Fish physiology* : Elsevier, 2012. – P. 1–44.
67. Ehlman, S. M. Developmental plasticity in vision and behavior may help guppies overcome increased turbidity / S. M. Ehlman // *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. sensory, neural, Behav. Physiol.* – 2015. – Vol. 201, № 12. – P. 1125–1135.
68. Elger, M. The branchial circulation and the gill epithelia in the Atlantic hagfish, *Myxine glutinosa* L / M. Elger // *Anat. Embryol. (Berl)*. – 1987. – Vol. 175, № 4. – P. 489–504.
69. Elger, M. Urinary tract / M. Elger [et al.] // *The laboratory fish* : Elsevier, 2000. – P. 385–413.
70. Esbaugh, A. J. Intestinal Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransporter 2 plays a crucial role in hyperosmotic transitions of a euryhaline teleost / A. J. Esbaugh, B. Cutler // *Physiol. Rep.* – 2016. – Vol. 4, № 22.
71. Escobar-Camacho, D. The opsin genes of amazonian cichlids / D. Escobar-Camacho [et al.] // *Mol. Ecol.* – 2017. – Vol. 26, № 5. – P. 1343–1356.
72. Evans, D. H. Osmotic and ionic regulation in fishes / D. H. Evans, J. B. Claiborne // *Osmotic and ionic regulation*. – CRC Press, 2008. – P. 295–366.
73. Evans, D. H. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste / D. H. Evans, P. M. Piermarini, K. P. Choe // *Physiol. Rev.* – 2005. – Vol. 85, № 1. – P. 97–177.
74. Ferlazzo, A. Prolactin regulates luminal bicarbonate secretion in the intestine of the sea bream (*Sparus aurata* L.) / A. Ferlazzo [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2012. – Vol. 215, № Pt 21. – P. 3836–3844.
75. Foskett, J. K. Chloride secretion and conductance of teleost opercular membrane: effects of prolactin / J. K. Foskett, T. E. Machen, H. A. Bern // *Am. J. Physiol.* – 1982. – Vol. 242, № 3. – P. R380–R389.
76. Friesen, C. N. Differential sensitivity to estrogen-induced opsin expression in two poeciliid freshwater fish species / C. N. Friesen, M. E. Ramsey, M. E. Cummings // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 246. – P. 200–210.
77. Frizzell, R. A. Potassium transport by flounder intestinal mucosa / R. A.

- Frizzell [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1984. – Vol. 246, № 6 Pt 2. – P. F946– F9451.
78. Fuller, R. C. Population variation in opsin expression in the bluefin killifish, *Lucania goodei*: a real-time PCR study / R. C. Fuller [et al.] // *J. Comp. Physiol. A, Neuroethol. sensory, neural, Behav. Physiol.* – 2004. – Vol. 190, № 2. – P. 147–154.
79. Gallis, J. L. Freshwater adaptation in the euryhaline teleost, *Chelon labrosus*. I. Effects of adaptation, prolactin, cortisol and actinomycin D on plasma osmotic balance and (Na⁺-K⁺)ATPase in gill and kidney / J. L. Gallis, P. Lasserre, F. Belloc // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1979. – Vol. 38, № 1. – P. 1–10.
80. Gao, J. Genome-wide identification of the NHE gene family in *Coilia nasus* and its response to salinity challenge and ammonia stress / J. Gao [et al.] // *BMC Genomics.* – 2022. – Vol. 23, № 1. – P. 526.
81. Genz, J. Intestinal transport following transfer to increased salinity in an anadromous fish (*Oncorhynchus mykiss*) / J. Genz, A. J. Esbaugh, M. Grosell // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* – 2011. – Vol. 159, № 2. – P. 150–158.
82. Goffin, V. Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen, and related proteins in mammals / V. Goffin [et al.] // *Endocr. Rev.* – 1996. – Vol. 17, № 4. – P. 385–410.
83. Golan, M. Social dominance in tilapia is associated with gonadotroph hyperplasia / M. Golan, B. Levavi-Sivan // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 192. – P. 126–135.
84. Gregório, S. F. Adaptation to different salinities exposes functional specialization in the intestine of the sea bream (*Sparus aurata* L.) / S. F. Gregório [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2013. – Vol. 216, № Pt 3. – P. 470–479.
85. Grosell, M. Intestinal anion exchange in marine fish osmoregulation / M. Grosell // *J. Exp. Biol.* – 2006. – Vol. 209, Pt 15. – P. 2813–2827.
86. Guh, Y.-J. Osmoregulation in zebrafish: ion transport mechanisms and functional regulation / Y.-J. Guh, C.-H. Lin, P.-P. Hwang // *EXCLI J.* – 2015. – Vol. 14. – P. 627–659.
87. Herrera, M. Osmoregulatory changes in wedge sole (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881) after acclimation to different environmental salinities / M. Herrera [et al.] // *Aquac. Res.* – 2009. – Vol. 40, № 7. – P. 762–771.
88. Hewage, T. M. G. Temperature modulates the osmosensitivity of tilapia prolactin cells / T. M. G. Hewage [et al.]. – 2023.
89. Hibbeler, S. Housekeeping genes for quantitative expression studies in the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* / S. Hibbeler, J. P. Scharsack, S. Becker // *BMC Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 9. – P. 1–10.
90. Hickman, C. P. Fish physiology / C. P. Hickman [et al.] // *Kidney.* – 1969. – P. 91–239.
91. Higashimoto, Y. Structure and tissue distribution of prolactin receptor mRNA in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*): conserved and preferential expression in osmoregulatory organs / Y. Higashimoto [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 123, № 2. – P. 170–179.
92. Hiroi, J. Evidence for an apical Na-Cl cotransporter involved in ion uptake in a teleost fish / J. Hiroi [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2008. – Vol. 211, Pt 16. – P. 2584–2599.
93. Hiroi, J. Functional classification of mitochondrion-rich cells in euryhaline

Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) embryos, by means of triple immunofluorescence staining for Na⁺/K⁺-ATPase, Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter and CFTR anion channel / J. Hiroi [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2005. – Vol. 208, № Pt 11. – P. 2023–2036.

94. Hiroi, J. New insights into gill ionocyte and ion transporter function in euryhaline and diadromous fish / J. Hiroi, S. D. McCormick // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2012. – Vol. 184, № 3. – P. 257–268.

95. Hnasko, R. PV-1 is Negatively Regulated by VEGF in the Lung of Cav-1, but not Cav-2, Null Mice / R. Hnasko [et al.] // *Cell Cycle.* – 2006. – Vol. 5, № 17. – P. 2012–2020.

96. Honoré, T. Inter-individual variability in freshwater tolerance is related to transcript level differences in gill and posterior kidney of European sea bass / T. L'Honoré [et al.] // *Gene.* – 2020. – Vol. 741. – P. 144547.

97. Howard, J. K. Attenuation of leptin and insulin signaling by SOCS proteins / J. K. Howard, J. S. Flier // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 17, № 9. – P. 365–371.

98. Howard, J. N. Parallel antiport mechanisms for Na⁺ and Cl⁻ transport in herbivorous teleost intestine / J. N. Howard, G. A. Ahearn // *J. Exp. Biol.* – 1988. – Vol. 135. – P. 65–76.

99. Hsu, H.-H. A new model for fish ion regulation: identification of ionocytes in freshwater- and seawater-acclimated medaka (*Oryzias latipes*) / H.-H. Hsu [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2014. – Vol. 357, № 1. – P. 225–243.

100. Huang, X. Discovery of a novel prolactin in non-mammalian vertebrates: evolutionary perspectives and its involvement in teleost retina development / X. Huang [et al.] // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4, № 7. – P. e6163.

101. Huang, X. The presence of two distinct prolactin receptors in seabream with different tissue distribution patterns, signal transduction pathways and regulation of gene expression by steroid hormones / X. Huang [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 194, № 2. – P. 373–392.

102. Huffman, L. S. Rising StARs: behavioral, hormonal, and molecular responses to social challenge and opportunity / L. S. Huffman [et al.] // *Horm. Behav.* – 2012. – Vol. 61, № 4. – P. 631–641.

103. Hwang, P.-P. Ion regulation in fish gills: recent progress in the cellular and molecular mechanisms / P.-P. Hwang, T.-H. Lee, L.-Y. Lin // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2011. – Vol. 301, № 1. – P. R28–R47.

104. Hwang, P.-P. Ion uptake and acid secretion in zebrafish (*Danio rerio*) / P.-P. Hwang // *J. Exp. Biol.* – 2009. – Vol. 212, № Pt 11. – P. 1745–1752.

105. Imaoka, T. Extrapituitary expression of the prolactin gene in the goldfish, African clawed frog and mouse / T. Imaoka, M. Matsuda, T. Mori // *Zoolog. Sci.* – 2000. – Vol. 17, № 6. – P. 791–796.

106. Inokuchi, M. Gene expression and morphological localization of NHE3, NCC and NKCC1a in branchial mitochondria-rich cells of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) acclimated to a wide range of salinities / M. Inokuchi [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* – 2008. – Vol. 151, № 2. – P. 151–158.

107. Inokuchi, M. Morphological and functional classification of ion-absorbing mitochondria-rich cells in the gills of Mozambique tilapia / M. Inokuchi [et al.] // *J. Exp.*

Biol. – 2009. – Vol. 212, № Pt 7. – P. 1003–1010.

108. Ivanis, G. Renal expression and localization of SLC9A3 sodium/hydrogen exchanger and its possible role in acid-base regulation in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / G. Ivanis, M. Braun, S. F. Perry // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 3. – P. R971–R978.

109. Jones, I. Molecular cloning and characterization of spiggin: An androgen-regulated extraorganismal adhesive with structural similarities to von Willebrand factor-related proteins / I. Jones [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276, № 21. – P. 17857–17863.

110. Katayama, Y. Seawater transfer down-regulates C-type natriuretic peptide-3 expression in prolactin-producing cells of Japanese eel: Negative correlation with plasma chloride concentration / Y. Katayama [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 507. – P. 110780.

111. Kato, A. Differential expression of Na⁺-Cl⁻ cotransporter and Na⁺-K⁺-Cl⁻ cotransporter 2 in the distal nephrons of euryhaline and seawater pufferfishes / A. Kato [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 2. – P. R284–R297.

112. Katoh, F. Distinct Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter localization in kidneys and gills of two euryhaline species, rainbow trout and killifish / F. Katoh [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2008. – Vol. 334, № 2. – P. 265–281.

113. Katsiadaki, I. Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive in vivo test for detection of environmental antiandrogens / I. Katsiadaki [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2006. – Vol. 114, № suppl. 1. – P. 115–121.

114. Kausel, G. Modular changes of cis-regulatory elements from two functional Pit1 genes in the duplicated genome of *Cyprinus carpio* / G. Kausel [et al.] // *J. Cell. Biochem.* – 2006. – Vol. 99, № 3. – P. 905–921.

115. Kavarthapu, R. Prolactin receptor gene transcriptional control, regulatory modalities relevant to breast cancer resistance and invasiveness / R. Kavarthapu, M. L. Dufau // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2022. – Vol. 13. – P. 949396.

116. Kelber, A. Animal colour vision-behavioural tests and physiological concepts / A. Kelber, M. Vorobyev, D. Osorio // *Biol. Rev.* – 2003. – Vol. 78, № 1. – P. 81–118.

117. Kelly, S. P. Effects of prolactin and growth hormone on strategies of hypoosmotic adaptation in a marine teleost, *Sparus sarba* / S. P. Kelly, I. N. Chow, N. Y. Woo // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 113, № 1. – P. 9–22.

118. Kent, M. Changes in behavior and brain immediate early gene expression in male threespined sticklebacks as they become fathers / M. Kent, A. M. Bell // *Horm. Behav.* – 2018. – Vol. 97. – P. 102–111.

119. Khong, H.-K. Prolactin receptor mRNA is upregulated in discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) skin during parental phase / H.-K. Khong [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 153, № 1. – P. 18–28.

120. Kim, Y. K. Molecular characterization and gene expression of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter2 (NKCC2) in the gastrointestinal tract of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) during the four days after infection with *Streptococcus parauberis* / Y. K. Kim [et al.] // *Mar. Freshw. Behav. Physiol.* – 2013. – Vol. 46, № 3. – P. 145–157.

121. Kim, Y. K. Rectal water absorption in seawater-adapted Japanese eel *Anguilla*

japonica / Y. K. Kim [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2008. – Vol. 151, № 4. – P. 533–541.

122. Kunz, Y. W. Review of development and aging in the eye of teleost fish / Y. W. Kunz // *Neuroembryology Aging.* – 2006. – Vol. 4, № 1–2. – P. 31–60.

123. Kunz, Y. W. The fate of ultraviolet receptors in the retina of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) / Y. W. Kunz [et al.] // *Vision Res.* – 1994. – Vol. 34, № 11. – P. 1375–1383.

124. Kunz, Y. W. Tracts of putative ultraviolet receptors in the retina of the two-year-old brown trout (*Salmo trutta*) and the Atlantic salmon (*Salmo salar*) / Y. W. Kunz // *Experientia.* – 1987. – Vol. 43, № 11–12. – P. 1202–1204.

125. Larsen, E. H. The lateral intercellular space as osmotic coupling compartment in isotonic transport / E. H. Larsen [et al.] // *Acta Physiol. (Oxf).* – 2009. – Vol. 195, № 1. – P. 171–186.

126. Laver, C. R. J. S. RT-qPCR reveals opsin gene upregulation associated with age and sex in guppies (*Poecilia reticulata*) – a species with color-based sexual selection and 11 visual-opsin genes / C. R. J. Laver, J. S. Taylor // *BMC Evol. Biol.* – 2011. – Vol. 11. – P. 81.

127. Lee, K. M. Prolactin and prolactin receptor expressions in a marine teleost, pufferfish *Takifugu rubripes* / K. M. Lee, T. Kaneko, K. Aida // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 146, № 3. – P. 318–328.

128. Lee, K. M. Prolactin gene expression and gill chloride cell activity in fugu *Takifugu rubripes* exposed to a hypoosmotic environment / K. M. Lee [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 149, № 3. – P. 285–293.

129. Lee, Y.-C. Anion exchanger 1b, but not sodium-bicarbonate cotransporter 1b, plays a role in transport functions of zebrafish H⁺-ATPase-rich cells / Y.-C. Lee [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 2. – P. C295–C307.

130. Leena, S. Hormonal control on enzymes of osmoregulation in a teleost, *Anabas testudineus* (BLOCH): an in vivo and in vitro study / S. Leena, O. V. Oommen // *Endocr. Res.* – 2000. – Vol. 26, № 2. – P. 169–187.

131. Leondires, M. P. Estradiol stimulates expression of two human prolactin receptor isoforms with alternative exons-1 in T47D breast cancer cells / M. P. Leondires [et al.] // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2002. – Vol. 82, № 2–3. – P. 263–268.

132. Lewis, L. Zebrafish as a Model System for Investigating the Compensatory Regulation of Ionic Balance during Metabolic Acidosis / L. Lewis, R. W. M. Kwong // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 4.

133. Lewis, R. S. Conservation, duplication and divergence of the zebrafish *stat5* genes / R. S. Lewis, A. C. Ward // *Gene.* – 2004. – Vol. 338, № 1. – P. 65–74.

134. Li, J. Proteomics of Osmoregulatory Responses in Threespine Stickleback Gills / J. Li, D. Kültz // *Integr. Comp. Biol.* – 2020. – Vol. 60, № 2. – P. 304–317.

135. Li, W. Differential involvement of cAMP/PKA-, PLC/PKC- and Ca²⁺/calmodulin-dependent pathways in GnRH-induced prolactin secretion and gene expression in grass carp pituitary cells / W. Li [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2024. – Vol. 15. – P. 1399274.

136. Li, Z. Expression of key ion transporters in the gill and esophageal-gastrointestinal tract of euryhaline Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*

acclimated to fresh water, seawater and hypersaline water / Z. Li [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. e87591.

137. Liao, B.-K. Expression and water calcium dependence of calcium transporter isoforms in zebrafish gill mitochondrion-rich cells / B.-K. Liao [et al.] // BMC Genomics. – 2007. – Vol. 8. – P. 354.

138. Lin, C. H. Expression and distribution of Na, K-ATPase in gill and kidney of the spotted green pufferfish, *Tetraodon nigroviridis*, in response to salinity challenge / C. H. Lin, R. S. Tsai, T. H. Lee // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. – 2004. – Vol. 138, № 3. – P. 287–295.

139. Lin, C.-H. The Control of Calcium Metabolism in Zebrafish (*Danio rerio*) / C.-H. Lin, P.-P. Hwang // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – Vol. 17, № 11.

140. Lin, T.-Y. Carbonic anhydrase 2-like a and 15a are involved in acid-base regulation and Na⁺ uptake in zebrafish H⁺-ATPase-rich cells / T.-Y. Lin [et al.] // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2008. – Vol. 294, № 5. – P. C1250–C1260.

141. Liu, Y. Brain Transcriptome Profiling Analysis of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Under Long-Term Hypersaline Stress / Y. Liu [et al.] // Front. Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 219.

142. Liu, Z. Cloning and molecular characterization of PRL and PRLR from turbot (*Scophthalmus maximus*) and their expressions in response to short-term and long-term low salt stress / Z. Liu [et al.] // Fish Physiol. Biochem. – 2020. – Vol. 46, № 2. – P. 501–517.

143. Loew, E. R. A short-wavelength sensitive cone mechanism in juvenile yellow perch, *Perca flavescens* / E. R. Loew, C. M. Wahl // Vision Res. – 1991. – Vol. 31, № 3. – P. 353–360.

144. Loretz, C. A. 2 Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells / C. A. Loretz // Fish physiology : Elsevier, 1995. – P. 25–56.

145. Mackie, P. Osmoregulation and gene expression of Na⁺/K⁺ ATPase in families of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts / P. Mackie [et al.] // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 2005. – Vol. 62, № 11. – P. 2661–2672.

146. Madsen, S. S. Antagonism of prolactin and growth hormone: impact on seawater adaptation in two salmonids, *Salmo trutta* and *Oncorhynchus mykiss* / S. S. Madsen, A. Bern Howard // Zoolog. Sci. – 1992. – Vol. 9, № 4. – P. 775–784.

147. Madsen, S. S. Multiplicity of expression of Na⁺, K⁺-ATPase α -subunit isoforms in the gill of Atlantic salmon (*Salmo salar*): cellular localisation and absolute quantification in response to salinity change / S. S. Madsen, P. Kiilerich, C. K. Tipsmark // J. Exp. Biol. – 2009. – Vol. 212, № 1. – P. 78–88.

148. Madsen, S. S. Physiology of seawater acclimation in the striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum) / S. S. Madsen [et al.] // Fish Physiol. Biochem. – 1994. – Vol. 13, № 1. – P. 1–11.

149. Madsen, S. S. Prolactin antagonizes seawater acclimation in the anadromous striped bass, *Morone saxatilis* / S. S. Madsen, R. S. Nishioka, H. A. Bern // Advances in comparative endocrinology : Monduzzi Editore Italy, 1997. – P. 1011–1015.

150. Mahalingam, A. Vitellogenesis and Reproductive Strategies in Fishes / A. Mahalingam, P. Santhanam // Vitellogenin in Fishes-Diversification, Biological Properties, and Future Perspectives : Springer, 2023. – P. 105–121.

151. Manzon, L. A. The role of prolactin in fish osmoregulation: a review / L. A.

Manzon // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 125, № 2. – P. 291–310.

152. Marques, D. A. Convergent evolution of SWS2 opsin facilitates adaptive radiation of threespine stickleback into different light environments / D. A. Marques [et al.] // *PLoS Biol.* – 2017. – Vol. 15, № 4. – P. e2001627.

153. Marshall, J. Colour vision in marine organisms / J. Marshall, K. L. Carleton, T. Cronin // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2015. – Vol. 34. – P. 86–94.

154. Marshall, W. S. Ion transport, osmoregulation, and acid-base balance / W. S. Marshall // *Physiol. fishes.* – 2005. – P. 177–230.

155. Maruska, K. P. Endocrine and neuroendocrine regulation of social status in cichlid fishes / K. P. Maruska [et al.] // *Horm. Behav.* – 2022. – Vol. 139. – P. 105110.

156. Maruska, K. P. Social transitions cause rapid behavioral and neuroendocrine changes / K. P. Maruska // *Integr. Comp. Biol.* – 2015. – Vol. 55, № 2. – P. 294–306.

157. Maruska, K. P. Steroid receptor expression in the fish inner ear varies with sex, social status, and reproductive state / K. P. Maruska, R. D. Fernald // *Bmc Neurosci.* – 2010. – Vol. 11. – P. 1–17.

158. McCormick S. D. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish / S. D. McCormick // *Am. Zool.* – 2001. – Vol. 41, № 4. – P. 781–794.

159. McCormick, S. D. Calcium uptake in the skin of a freshwater teleost / S. D. McCormick, S. Hasegawa, T. Hirano // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1992. – Vol. 89, № 8. – P. 3635–3638.

160. McCormick, S. D. Differential regulation of sodium--potassium pump isoforms during smolt development and seawater exposure of Atlantic salmon / S. D. McCormick [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2013. – Vol. 216, № 7. – P. 1142–1151.

161. McCormick, S. D. Distinct freshwater and seawater isoforms of Na⁺/K⁺-ATPase in gill chloride cells of Atlantic salmon / S. D. McCormick, A. M. Regish, A. K. Christensen // *J. Exp. Biol.* – 2009. – Vol. 212, № 24. – P. 3994–4001.

162. McCormick, S. D. Hormonal control of gill Na⁺, K⁺-ATPase and chloride cell function / S. D. McCormick // *Fish physiology* : Elsevier, 1995. – P. 285–315.

163. McCormick, S. D. Influence of salinity on the energetics of gill and kidney of Atlantic salmon (*Salmo salar*) / S. D. McCormick, C. D. Moyes, J. S. Ballantyne // *Fish Physiol. Biochem.* – 1989. – Vol. 6, № 4. – P. 243–254.

164. McDonald, L. L. Research, monitoring, and evaluation of fish and wildlife restoration projects in the Columbia River Basin: lessons learned and suggestions for large-scale monitoring programs / L. L. McDonald [et al.] // *Fisheries.* – 2007. – Vol. 32, № 12. – P. 582–590.

165. Meucci, V. The environmental estrogen, 4-nonylphenol modulates brain estrogen-receptor-and aromatase (CYP19) isoforms gene expression patterns in Atlantic salmon (*Salmo salar*) / V. Meucci, A. Arukwe // *Mar. Environ. Res.* – 2006. – Vol. 62. – P. S195–S199.

166. Miyazaki, H. Kidney-specific chloride channel, OmClC-K, predominantly expressed in the diluting segment of freshwater-adapted tilapia kidney / H. Miyazaki [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2002. – Vol. 99, № 24. – P. 15782–15787.

167. Mohammed-Geba, K. Molecular performance of Prl and Gh/Igf1 axis in the Mediterranean meager, *Argyrosomus regius*, acclimated to different rearing salinities / K. Mohammed-Geba [et al.] // *Fish Physiol. Biochem.* – 2017. – Vol. 43, № 1. – P. 203–216.

168. Moorman, B. P. The osmoregulatory effects of rearing Mozambique tilapia in a tidally changing salinity / B. P. Moorman [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 207. – P. 94–102.

169. Nagarajan, G. Effects of Osmotic Stress on the mRNA Expression of prl, prlr, gr, gh, and ghr in the Pituitary and Osmoregulatory Organs of Black Porgy, *Acanthopagrus schlegelii* / G. Nagarajan [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 6.

170. Nebel, C. Differential freshwater adaptation in juvenile sea-bass *Dicentrarchus labrax*: involvement of gills and urinary system / C. Nebel [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2005. – Vol. 208, № Pt 20. – P. 3859–3871.

171. Nguyen, N. Prolactin functions as a survival factor during zebrafish embryogenesis / N. Nguyen, Y. Zhu // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2009. – Vol. 153, № 1. – P. 88–93.

172. Nguyen, N. Prolactin-dependent modulation of organogenesis in the vertebrate: Recent discoveries in zebrafish / N. Nguyen, E. J. Stellwag, Y. Zhu // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 148, № 4. – P. 370–380.

173. Nishimura, H. Control of renal function in freshwater and marine teleosts / H. Nishimura, M. Imai // *Fed. Proc.* – 1982. – Vol. 41, № 8. – P. 2355–2360.

174. Noh, G. E. Characterization of genes encoding prolactin and prolactin receptors in starry flounder *Platichthys stellatus* and their expression upon acclimation to freshwater / G. E. Noh, H. K. Lim, J.-M. Kim // *Fish Physiol. Biochem.* – 2013. – Vol. 39, № 2. – P. 263–275.

175. Noso, T. The primary structure of sturgeon prolactin: phylogenetic implication / T. Noso [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1993. – Vol. 91, № 1. – P. 90–95.

176. Núñez-Rodríguez, J. Identification and structural characterization of the factors involved in vitellogenesis and its regulation in the African Osteoglossiforme of aquacultural interest *Heterotis niloticus* (Cuvier, 1829) / J. Núñez-Rodríguez [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2020. – Vol. 296. – P. 113532.

177. Nynatten, A. Van Recreated Ancestral Opsin Associated with Marine to Freshwater Croaker Invasion Reveals Kinetic and Spectral Adaptation / A. Van Nynatten [et al.] // *Mol. Biol. Evol.* – 2021. – Vol. 38, № 5. – P. 2076–2087.

178. Oates, A. C. Gene duplication of zebrafish JAK2 homologs is accompanied by divergent embryonic expression patterns: only jak2a is expressed during erythropoiesis / A. C. Oates [et al.] // *Blood.* – 1999b. – Vol. 94, № 8. – P. 2622–2636.

179. Oates, A. C. Zebrafish stat3 is expressed in restricted tissues during embryogenesis and stat1 rescues cytokine signaling in a STAT1-deficient human cell line / A. C. Oates [et al.] // *Dev. Dyn. an Off. Publ. Am. Assoc. Anat.* – 1999a. – Vol. 215, № 4. – P. 352–370.

180. Oliveira, R. F. Social modulation of sex steroid concentrations in the urine of male cichlid fish *Oreochromis mossambicus* / R. F. Oliveira, V. C. Almada, A. V. M. Canario // *Horm. Behav.* – 1996. – Vol. 30, № 1. – P. 2–12.

181. Onuma, T. A. Changes in gene expression for GH/PRL/SL family hormones in the pituitaries of homing chum salmon during ocean migration through upstream migration / T. A. Onuma [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 166, № 3. – P. 537–548.

182. Onuma, T. Effects of salmon GnRH and sex steroid hormones on expression

of genes encoding growth hormone/prolactin/somatolactin family hormones and a pituitary-specific transcription factor in masu salmon pituitary cells in vitro / T. Onuma [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 143, № 2. – P. 129–141.

183. Páll, M. K. Androgen and behavior in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. II. Castration and 11-ketoandrostenedione effects on courtship and parental care during the nesting cycle / M. K. Páll, I. Mayer, B. Borg // *Horm. Behav.* – 2002. – Vol. 42, № 3. – P. 337–344.

184. Pan, T.-C. Epithelial Ca(2+) channel expression and Ca(2+) uptake in developing zebrafish / T.-C. Pan [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2005. – Vol. 289, № 4. – P. R1202–1211.

185. Paredes, M. Immunomodulatory effect of prolactin on Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophage function / M. Paredes [et al.] // *Fish Physiol. Biochem.* – 2013. – Vol. 39, № 5. – P. 1215–1221.

186. Parikh, V. N. Androgen level and male social status in the African cichlid, *Astatotilapia burtoni* / V. N. Parikh, T. S. Clement, R. D. Fernald // *Behav. Brain Res.* – 2006. – Vol. 166, № 2. – P. 291–295.

187. Parmelee, J. T. Esophageal desalination of seawater in flounder: role of active sodium transport / J. T. Parmelee, J. L. Renfro // *Am. J. Physiol.* – 1983. – Vol. 245, № 6. – P. R888–R893.

188. Pavlosky, K. K. The effects of transfer from steady-state to tidally-changing salinities on plasma and branchial osmoregulatory variables in adult Mozambique tilapia / K. K. Pavlosky [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2019. – Vol. 227. – P. 134–145.

189. Pavlova, N. S. Dynamics of prolactin axis genes in the brain of male and female three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* (Gasterostidae) during short-term freshwater adaptation / N. S. Pavlova, T. V. Neretina, O. V. Smirnova // *J. Ichthyol.* – 2020. – Vol. 60. – P. 299–304.

190. Pavlova, N. S. Expression of Opsin Genes in the Retina of Female and Male Three-Spined Sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* L.: Effect of Freshwater Adaptation and Prolactin Administration / N. S. Pavlova [et al.] // *Biochem.* – 2022. – Vol. 87, № 3. – P. 215–224.

191. Pavlova, N. S. Expression of Prolactin Axis Genes in the Three-Spined Stickleback *G. aculeatus* L.: Sex Dependence and Freshwater Adaptation / N. S. Pavlova, T. V. Neretina, O. V. Smirnova // *J. Evol. Biochem. Physiol.* – 2024. – Vol. 60, № 5. – P. 1909–1919.

192. Perry, S. F. Kinetics of branchial calcium uptake in the rainbow trout: effects of acclimation to various external calcium levels / S. F. Perry, C. M. Wood // *J. Exp. Biol.* – 1985. – Vol. 116, № 1. – P. 411–433.

193. Pfennig, F. The social status of the male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) influences testis structure and gene expression / F. Pfennig [et al.] // *Reproduction.* – 2012. – Vol. 143, № 1. – P. 71–84.

194. Pierce, A. L. Prolactin receptor, growth hormone receptor, and putative somatolactin receptor in Mozambique tilapia: tissue specific expression and differential regulation by salinity and fasting / A. L. Pierce [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 154, № 1–3. – P. 31–40.

195. Pisam, M. Two types of chloride cells in the gill epithelium of a freshwater-adapted euryhaline fish: *Lebistes reticulatus*; their modifications during adaptation to saltwater / M. Pisam, A. Caroff, A. Rambourg // *Am. J. Anat.* – 1987. – Vol. 179, № 1. – P. 40–50.
196. Porter, M. L. Shedding new light on opsin evolution / M. L. Porter [et al.] // *Proceedings. Biol. Sci.* – 2012. – Vol. 279, № 1726. – P. 3–14.
197. Power, D. M. Developmental ontogeny of prolactin and its receptor in fish / D. M. Power // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 142, № 1–2. – P. 25–33.
198. Prunet, P. Molecular characterization of the prolactin receptor in two fish species, tilapia *Oreochromis niloticus* and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: a comparative approach / P. Prunet [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 78, № 12. – P. 1086–1096.
199. Prunet, P. Plasma and pituitary prolactin levels in rainbow trout during adaptation to different salinities / P. Prunet, G. Boeuf, L. M. Houdebine // *J. Exp. Zool.* – 1985. – Vol. 235, № 2. – P. 187–196.
200. Rand-Weaver, M. Evolution of the structure of the growth hormone and prolactin family / M. Rand-Weaver // *Endocrinol. Growth, Dev. Metab. Vertebr.* – 1993. – P. 13–42.
201. Renfro, J. L. Recent developments in teleost renal transport / J. L. Renfro // *J. Exp. Zool.* – 1999. – Vol. 283, № 7. – P. 653–661.
202. Rennison, D. J. Opsin gene duplication and divergence in ray-finned fish / D. J. Rennison, G. L. Owens, J. S. Taylor // *Mol. Phylogenet. Evol.* – 2012. – Vol. 62, № 3. – P. 986–1008.
203. Rennison, D. J. Rapid adaptive evolution of colour vision in the threespine stickleback radiation / D. J. Rennison [et al.] // *Proceedings. Biol. Sci.* – 2016. – Vol. 283, № 1830.
204. Resende, A. D. Histological and stereological characterization of brown trout (*Salmo trutta f. fario*) trunk kidney / A. D. Resende [et al.] // *Microsc. Microanal. Off. J. Microsc. Soc. Am. Microbeam Anal. Soc. Microsc. Soc. Canada.* – 2010. – Vol. 16, № 6. – P. 677–687.
205. Rhee, J.-S. Effects of salinity and endocrine-disrupting chemicals on expression of prolactin and prolactin receptor genes in the euryhaline hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. / J.-S. Rhee [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 152, № 4. – P. 413–423.
206. Richards, J. G. Na⁺/K⁺-ATPase α -isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer / J. G. Richards [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2003. – Vol. 206, № 24. – P. 4475–4486.
207. Rouzic, P. L. Evidence of rainbow trout prolactin interaction with its receptor through unstable homodimerisation. / P. L. Rouzic [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 172, № 1–2. – P. 105–113.
208. Rubin, D. A. In vitro effects of homologous prolactins on testosterone production by testes of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) / D. A. Rubin, J. L. Specker // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1992. – Vol. 87, № 2. – P. 189–196.
209. Ruiter, A. J. de The effect of prolactin on fanning behavior in the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. / A. J. de Ruiter [et al.] // *Gen. Comp.*

Endocrinol. – 1986. – Vol. 64, № 2. – P. 273–283.

210. Ryffel, G. U. Synthesis of vitellogenin, an attractive model for investigating hormone-induced gene activation / G. U. Ryffel // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1978. – Vol. 12, № 3. – P. 237–246.

211. Sabbah, S. Functional diversity in the color vision of cichlid fishes / S. Sabbah [et al.] // *BMC Biol.* – 2010. – Vol. 8. – P. 133.

212. Saha, I. Prolactin Influences Different Aspects of Fish Biology / I. Saha, A. Chakraborty, S. Das // *Asian J. Biol. Life Sci.* – 2021. – Vol. 10, № 1. – P. 51.

213. Saha, M. S. Vertebrate eye development / M. S. Saha, M. Servetnick, R. M. Grainger // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 1992. – Vol. 2, № 4. – P. 582–588.

214. Sakai, Y. Effects of light environment during growth on the expression of cone opsin genes and behavioral spectral sensitivities in guppies (*Poecilia reticulata*) / Y. Sakai [et al.] // *BMC Evol. Biol.* – 2016. – Vol. 16, № 1. – P. 106.

215. Sandra, O. Expression cloning of a cDNA encoding a fish prolactin receptor / O. Sandra [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1995. – Vol. 92, № 13. – P. 6037–6041.

216. Sandra, O. Expression of the prolactin receptor (tiPRL-R) gene in tilapia *Oreochromis niloticus*: tissue distribution and cellular localization in osmoregulatory organs / O. Sandra [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* 2000. – Vol. 24, № 2. – P. 215–224.

217. Sangiao-Alvarellos, S. Time course of osmoregulatory and metabolic changes during osmotic acclimation in *Sparus auratus* / S. Sangiao-Alvarellos [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2005. – Vol. 208, № Pt 22. – P. 4291–4304.

218. Santos, C. R. Cloning, characterization, and tissue distribution of prolactin receptor in the sea bream (*Sparus aurata*) / C. R. Santos [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2001. – Vol. 121, № 1. – P. 32–47.

219. Santos, C. R. Cloning, expression, and tissue localisation of prolactin in adult sea bream (*Sparus aurata*) / C. R. Santos [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 114, № 1. – P. 57–66.

220. Scott, G. R. Gene expression after freshwater transfer in gills and opercular epithelia of killifish: insight into divergent mechanisms of ion transport / G. R. Scott [et al.] // *J. Exp. Biol.* – 2005. – Vol. 208, № 14. – P. 2719–2729.

221. Seale, A. P. Effects of salinity and prolactin on gene transcript levels of ion transporters, ion pumps and prolactin receptors in Mozambique tilapia intestine / A. P. Seale [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 206. – P. 146–154.

222. Seale, A. P. Systemic versus tissue-level prolactin signaling in a teleost during a tidal cycle. / A. P. Seale [et al.] // *J. Comp. Physiol. B.* – 2019. – Vol. 189, № 5. – P. 581–594.

223. Seidelin, M. Endocrine control of Na⁺,K⁺-ATPase and chloride cell development in brown trout (*Salmo trutta*): interaction of insulin-like growth factor-I with prolactin and growth hormone / M. Seidelin, S. S. Madsen // *J. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 162, № 1. – P. 127–135.

224. Shao, Y. T. Androgens increase lws opsin expression and red sensitivity in male three-spined sticklebacks / Y. T. Shao [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 6. – P. e100330.

225. Sheetal, G. S. In vitro action of matrix metalloproteinases 2 and 9 inhibitors on Na⁺/K⁺-ATPase, H⁺/K⁺-ATPase and PMCA activities in the osmoregulatory

epithelia of climbing perch (*Anabas testudineus* Bloch) / G. S. Sheetal, V. S. Peter, M. C. S. Peter // *J. Endocrinol. Reprod.* – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. 19–29.

226. Shimmura, T. Dynamic plasticity in phototransduction regulates seasonal changes in color perception / T. Shimmura [et al.] // *Nat. Commun.* – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 412.

227. Shu, Y. The basal function of teleost prolactin as a key regulator on ion uptake identified with zebrafish knockout models / Y. Shu [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 1–12.

228. Singh, H. Regulation of gonadal steroidogenesis in *Fundulus heteroclitus* by recombinant salmon growth hormone and purified salmon prolactin / H. Singh [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1988. – Vol. 72, № 1. – P. 144–153.

229. Singh, S. P. Prolactin level in relation to gonadotrophin concentration during different phases of annual reproductive cycle in the freshwater catfish, *Clarias batrachus* (Linn.) / S. P. Singh, T. P. Singh // *Ann. Endocrinol. (Paris)*. – 1981. – Vol. 42, № 2. – P. 159–168.

230. Sleet, R. B. The rate and manner of seawater ingestion by a marine teleost and corresponding seawater modification by the gut / R. B. Sleet, L. J. Weber // *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* – 1982.

231. Slijkhuis, H. Parental fanning behavior and prolactin cell activity in the male three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. / H. Slijkhuis [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1984. – Vol. 54, № 2. – P. 297–307.

232. Smith, A. R. Relative LWS cone opsin expression determines optomotor thresholds in Malawi cichlid fish / A. R. Smith [et al.] // *Genes. Brain. Behav.* – 2012. – Vol. 11, № 2. – P. 185–192.

233. Sulaiman, R. S. Glucocorticoid receptor signaling in the eye / R. S. Sulaiman, M. Kadmiel, J. A. Cidlowski // *Steroids*. – 2018. – Vol. 133. – P. 60–66.

234. Tacon, P. Effect of egg deprivation on sex steroids, gonadotropin, prolactin, and growth hormone profiles during the reproductive cycle of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus* / P. Tacon [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2000. – Vol. 117, № 1. – P. 54–65.

235. Takahashi, H. Prolactin receptor and proliferating/apoptotic cells in esophagus of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in fresh water and in seawater / H. Takahashi [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 152, № 2–3. – P. 326–331.

236. Takei, Y. Comparative physiology of body fluid regulation in vertebrates with special reference to thirst regulation / Y. Takei // *Jpn. J. Physiol.* – 2000. – Vol. 50, № 2. – P. 171–186.

237. Takei, Y. Diverse mechanisms for body fluid regulation in teleost fishes / Y. Takei [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2014. – Vol. 307, № 7. – P. R778–R792.

238. Takei, Y. The digestive tract as an essential organ for water acquisition in marine teleosts: lessons from euryhaline eels / Y. Takei // *Zool. Lett.* – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 10.

239. Takvam, M. Ion Transporters and Osmoregulation in the Kidney of Teleost Fishes as a Function of Salinity / M. Takvam [et al.] // *Front. Physiol.* – 2021. – Vol. 12.

240. Tan, C. H. Tilapia prolactin stimulates estradiol-17 β synthesis in vitro in vitellogenic oocytes of the guppy *Poecilia reticulata* / C. H. Tan [et al.] // *J. Exp. Zool.* – 1988. – Vol. 248, № 3. – P. 361–364.

241. Tang, C.-H. Effects of salinity acclimation on Na(+)/K(+)-ATPase responses and FXD11 expression in the gills and kidneys of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) / C.-H. Tang, D.-Y. Lai, T.-H. Lee // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2012. – Vol. 163, № 3–4. – P. 302–310.

242. Tang, C.-H. Elevated Na⁺/K⁺-ATPase responses and its potential role in triggering ion reabsorption in kidneys for homeostasis of marine euryhaline milkfish (*Chanos chanos*) when acclimated to hypotonic fresh water / C.-H. Tang [et al.] // *J. Comp. Physiol. B, Biochem. Syst. Environ. Physiol.* – 2010. – Vol. 180, № 6. – P. 813–824.

243. Taugbøl, A. Small changes in gene expression of targeted osmoregulatory genes when exposing marine and freshwater threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) to abrupt salinity transfers / A. Taugbøl [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 9. – P. e106894.

244. Teranishi, K. Spatial, cellular, and intracellular localization of Na⁺/K⁺-ATPase in the sterically disposed renal tubules of Japanese eel. / K. Teranishi, T. Kaneko // *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc.* – 2010. – Vol. 58, № 8. – P. 707–719.

245. Thompson, R. R. Visual sex discrimination in goldfish: seasonal, sexual, and androgenic influences / R. R. Thompson [et al.] // *Horm. Behav.* – 2004. – Vol. 46, № 5. – P. 646–654.

246. Tinghitella, R. M. Color and behavior differently predict competitive outcomes for divergent stickleback color morphs / R. M. Tinghitella, W. R. Lehto, V. F. Lierheimer // *Curr. Zool.* – 2018. – Vol. 64, № 1. – P. 115–123.

247. Tipsmark, C. K. Switching of Na⁺, K⁺-ATPase isoforms by salinity and prolactin in the gill of a cichlid fish / C. K. Tipsmark [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 209, № 2. – P. 237–244.

248. Tse, D. L. Molecular cloning and expression studies of a prolactin receptor in goldfish (*Carassius auratus*) / D. L. Tse [et al.] // *Life Sci.* – 2000. – Vol. 66, № 7. – P. 593–605.

249. Veen, T. Plasticity contributes to a fine-scale depth gradient in sticklebacks' visual system / T. Veen [et al.] // *Mol. Ecol.* – 2017. – Vol. 26, № 16. – P. 4339–4350.

250. Venkatesh, B. Evolution and diversity of fish genomes / B. Venkatesh // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 2003. – Vol. 13, № 6. – P. 588–592.

251. Venturini, G. Serum ions concentration and ATPase activity in gills, kidney and oesophagus of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Pisces, Perciformes) during acclimation trials to fresh water / G. Venturini [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Physiol.* – 1992. – Vol. 103, № 3. – P. 451–454.

252. Wallis, M. The expanding growth hormone/prolactin family / M. Wallis // *J. Mol. Endocrinol.* – 1992. – Vol. 9, № 3. – P. 185–188.

253. Walsh, P. J. Carbonate deposits in marine fish intestines: a new source of biomineralization / P. J. Walsh [et al.] // *Limnol. Oceanogr.* – 1991. – Vol. 36, № 6. – P. 1227–1232.

254. Wang, Y. A novel prolactin-like protein (PRL-L) gene in chickens and zebrafish: cloning and characterization of its tissue expression / Y. Wang [et al.] // *Gen.*

Comp. Endocrinol. – 2010. – Vol. 166, № 1. – P. 200–210.

255. Wässle, H. Functional architecture of the mammalian retina / H. Wässle, B. B. Boycott // *Physiol. Rev.* – 1991. – Vol. 71, № 2. – P. 447–480.

256. Watanabe, S. Electroneutral cation-Cl⁻ cotransporters NKCC2 β and NCC β expressed in the intestinal tract of Japanese eel *Anguilla japonica* / S. Watanabe [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2011. – Vol. 159, № 4. – P. 427–435.

257. Watanabe, S. Prolactin and cortisol mediate the maintenance of hyperosmoregulatory ionocytes in gills of Mozambique tilapia: exploring with an improved gill incubation system/ S. Watanabe, K. Itoh, T. Kaneko // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 232. – P. 151–159.

258. Weber, G. M. Changes in serum concentrations and pituitary content of the two prolactins and growth hormone during the reproductive cycle in female tilapia, *Oreochromis mossambicus*, compared with changes during fasting / G. M. Weber, E. G. Grau // *Comp. Biochem. Physiol. Part C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 124, № 3. – P. 323–335.

259. Weng, C. F. Immune localization of prolactin receptor in the mitochondria-rich cells of the euryhaline teleost (*Oreochromis mossambicus*) gill / C. F. Weng, T. H. Lee, P. P. Hwang // *FEBS Lett.* – 1997. – Vol. 405, № 1. – P. 91–94.

260. Whittamore, J. M. HCO₃⁻ secretion and CaCO₃ precipitation play major roles in intestinal water absorption in marine teleost fish in vivo / J. M. Whittamore, C. A. Cooper, R. W. Wilson // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2010. – Vol. 298, № 4. – P. R877–R886.

261. Whittington, C. M. The role of prolactin in fish reproduction / C. M. Whittington, A. B. Wilson // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 191. – P. 123–136.

262. Wilson, R. W. Intestinal bicarbonate secretion by marine teleost fish-why and how? / R. W. Wilson, J. M. Wilson, M. Grosell // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – Vol. 1566, № 1–2. – P. 182–193.

263. Wilson, R. W. Intestinal bicarbonate secretion in marine teleost fish-source of bicarbonate, pH sensitivity, and consequences for whole animal acid-base and calcium homeostasis / R. W. Wilson, M. Grosell // *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes.* – 2003. – Vol. 1618, № 2. – P. 163–174.

264. Wojciechowski, D. Activation of renal Cl⁻-K⁺ chloride channels depends on an intact N terminus of their accessory subunit barttin / D. Wojciechowski [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2018. – Vol. 293, № 22. – P. 8626–8637.

265. Wootton, R. J. A functional biology of sticklebacks / R. J. Wootton. – Univ of California Press, 1984.

266. Wright, P. A. Cutaneous respiration and osmoregulation in amphibious fishes / P. A. Wright // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2021. – Vol. 253. – P. 110866.

267. Wu YuChing, W. Y. Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-cotransporter: a novel marker for identifying freshwater-and seawater-type mitochondria-rich cells in gills of the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus* / W. Y. Wu YuChing, L. L. Lin LiYih, L. T. Lee TsungHan. – 2003.

268. Wu, S.-C. Ammonium-dependent sodium uptake in mitochondrion-rich cells of medaka (*Oryzias latipes*) larvae / S.-C. Wu [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* –

2010. – Vol. 298, № 2. – P. C237–C250.

269. Yada, T. Effects of prolactin and growth hormone on plasma immunoglobulin M levels of hypophysectomized rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* / T. Yada [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 115, № 1. – P. 46–52.

270. Yada, T. Seasonal changes in seawater adaptability and plasma levels of prolactin and growth hormone in landlocked sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) and amago salmon (*O. rhodurus*) / T. Yada, K. Takahashi, T. Hirano // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1991. – Vol. 82, № 1. – P. 33–44.

271. Yamaguchi, Y. Acute salinity tolerance and the control of two prolactins and their receptors in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Mozambique tilapia (*O. mossambicus*): A comparative study / Y. Yamaguchi [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 257. – P. 168–176.

272. Yamashita, S. Stat3 Controls Cell Movements during Zebrafish Gastrulation / S. Yamashita [et al.] // *Dev. Cell.* – 2002. – Vol. 2, № 3. – P. 363–375.

273. Yan, J.-J. Gene expression of Na⁺/H⁺ exchanger in zebrafish H⁺-ATPase-rich cells during acclimation to low-Na⁺ and acidic environments / J.-J. Yan [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2007. – Vol. 293, № 6. – P. C1814–C1823.

274. Yang, W.-K. Different Modulatory Mechanisms of Renal FXYD12 for Na⁽⁺⁾-K⁽⁺⁾-ATPase between Two Closely Related Medakas upon Salinity Challenge / W.-K. Yang [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2016. – Vol. 12, № 6. – P. 730–745.

275. Yang, W.-K. Gene expression of Na⁺/K⁺-ATPase α -isoforms and FXYD proteins and potential modulatory mechanisms in euryhaline milkfish kidneys upon hypoosmotic challenges / W.-K. Yang [et al.] // *Aquaculture.* – 2019. – Vol. 504. – P. 59–69.

276. Yokoyama, S. Molecular evolution of vertebrate visual pigment / S. Yokoyama // *Prog. Retin. Eye Res.* – 2000. – Vol. 19, № 4. – P. 385–419.

277. Young, P. S. Effects of salinity, hypophysectomy, and prolactin on whole-animal transepithelial potential in the tilapia *Oreochromis mossambicus* / P. S. Young [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 1988. – Vol. 71, № 3. – P. 389–397.

278. Yuan, M. Dynamic responses of prolactin, growth hormone and their receptors to hyposmotic acclimation in the olive flounder *Paralichthys olivaceus* / M. Yuan [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 254. – P. 8–13.

279. Yue, S. Acute effects of sex steroids on visual processing in male goldfish / S. Yue [et al.] // *J. Comp. Physiol. A, Neuroethol. sensory, neural, Behav. Physiol.* – 2018. – Vol. 204, № 1. – P. 17–29.

280. Zeng, J. Differential branchial response of low salinity challenge induced prolactin in active and passive coping style olive flounder / J. Zeng [et al.] // *Front. Physiol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 913233.

281. Zhang, K. Spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) cftr, nkcc1a, nkcc1b and nkcc2: genome-wide identification, characterization and expression analysis under salinity stress / K. Zhang [et al.] // *J. Ocean Univ. China.* – 2019. – Vol. 18, № 6. – P. 1470–1480.

282. Zhang, Y. The second prolactin receptor in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): molecular characterization, tissue distribution and gene expression / Y. Zhang [et al.] // *Fish Physiol. Biochem.* – 2010. – Vol. 36, № 2. – P. 283–295.

283. Zhu, H. Characterization and expression of Na⁽⁺⁾/K⁽⁺⁾-ATPase in gills and

kidneys of the Teleost fish *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis urolepis hornorum* and their hybrids in response to salinity challenge / H. Zhu [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* – 2018. – Vol. 224. – P. 1–10.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность Ольге Вячеславовне Смирновой за чуткое руководство, ценные советы, помощь и поддержку на всех этапах исследования; Татьяне Владимировне Неретиной за поддержку в методологической части и помощь в организации исследования; Татьяне Александровне Балакиной за моральную, мотивационную поддержку; Татьяне Анатольевне Щелкуновой за обсуждение результатов; Наталье Сергеевне Сиротиной за моральную поддержку; Полине Александровне Абрамичевой за мотивацию и моральную поддержку; Альбине Рафаиловне Гизатулиной за техническую помощь; Елизавете Дмитриевне Снигиревой за мотивационную поддержку.

Автор выражает отдельную благодарность Александру Борисовичу Цетлину за возможность работать на беломорской биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова и Андрею Андреевичу Прутковскому за возможность проведения экспериментов в аквариальном корпусе.

Автор выражает большую благодарность Елизавете Андреевне Климановой и Сидоренко Светлане Владимировне за помощь в освоении метода атомно-абсорбционной спектрометрии и предоставление возможности работы на приборе.

Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ за положительное отношение, всестороннюю помощь и поддержку.

Автор выражает большую благодарность всем сотрудникам беломорской биологической станции за поддержку и положительные эмоции в ходе выполнения работы.

Автор выражает чрезвычайную благодарность родным за поддержку и веру: Виктории Николаевне Шпиньковой, Сергеем Дмитриевичу Павлову, Виолетте Дмитриевне Горбуновой, Дмитрию Сергеевичу Павлову и Тамаре Сергеевне Лещёвой.

Автор выражает благодарность друзьям за мотивационную поддержку и веру в успех работы: Василине Гедзун, Наталье Зориной, Валерии Сошниковой, Никите Подкуйченко, Тимофею Самсонову, Владиславу Михалевскому, Полине Богайчук, Богдану Сотникову.