

СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА ТИРЕОИДНЫХ И ПОЛОВЫХ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В КРОВИ МОЛОДИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

© 2019 г. Е. В. Ганжа¹, Е. Д. Павлов¹, *

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук,
Ленинский проспект, 33, Москва, 119071 Россия

*e-mail: p-a-v@nxt.ru

Поступила в редакцию 20.12.2018 г.

После доработки 12.01.2019 г.

Принята к публикации 06.02.2019 г.

Исследована суточная динамика содержания тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови годовиков радужной форели. Выявлены половые различия суточной динамики исследованных гормонов и показателя отношения тестостерона к эстрадиолу-17β. Показано, что максимумы и минимумы концентраций тиреоидных гормонов в течение суток у самок и самцов находятся в противофазе.

Ключевые слова: радужная форель *Oncorhynchus mykiss*, тироксин, трийодтиронин, тестостерон, эстрадиол-17β

DOI: 10.1134/S0320965219040065

ВВЕДЕНИЕ

Естественный ареал радужной форели *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) приурочен к северным широтам [11, 12, 16]. Благодаря высокой пластичности вида радужная форель распространена за пределами своего ареала [8], в том числе в горных районах тропиков.

Ранее были проведены исследования в рыбноводном хозяйстве Клонг-Кланх Южного Вьетнама (провинция Ламдонг), где выращивали радужную форель [2, 3]. Показано, что из-за климатических условий провинции, в значительной степени отличающихся от оптимальных для радужной форели (высокая температура воды – до 26.7°C, низкий уровень растворенного кислорода – 6–7 мг/л), наблюдаются выраженные аномалии в ее репродуктивной системе, зачастую приводящие к стерильности. Известно, что тиреоидные гормоны наряду с половыми стероидными участвуют в формировании и развитии гонад [4, 13]. Регуляция синтеза этих гормонов, как и многих других, в организме во многом определяется внешними факторами [6, 14].

Один из методов оценки физиологического состояния рыб – определение суточной динамики уровня гормонов в крови [1, 7, 10]. Концентрация многих гормонов, в частности тиреоидных и половых стероидных, зависит от времени суток и приурочена к определенным физиолого-биохимическим процессам, происходящим в организме [1, 6].

Цель работы – оценить суточную динамику тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови годовиков радужной форели при выращивании в условиях горных районов Южного Вьетнама.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал собирали в апреле 2013 г. в экспериментальном рыбноводном хозяйстве Klong-Klanch, Research Institute of Aquaculture № 3 (провинция Ламдонг, Вьетнам). Хозяйство расположено на плато высотой 1485 м над уровнем моря, 12°10′29.88″ с.ш. и 108°41′52.98″ в.д.

За сутки до отбора проб крови годовиков (14 мес) радужной форели пересаживали в круглый бассейн (диаметр 1.5, глубина 0.7 м) и прекращали кормить. Температура воды была 15.0–16.5°C. Пробы крови отбирали с 3-го по 4-е марта вечером на закате (В) в 18:00 ч (~10² лк), ночью (Н) в 23:30 ч (10⁻²–10⁻⁴ лк), перед рассветом (Пр) в 05:30 ч (10–10² лк), утром после рассвета (У) в 06:30 ч (10²–10³ лк), днем (Д) в 12:30 ч (10⁴ лк). Процедура отбора проб крови длилась ≤1 ч. Далее измеряли длину тела по Смитту (*FL*), массу тела и определяли пол. Всего исследовано 16 самок и 17 самцов радужной форели.

Кровь прижизненно отбирали у рыб из хвостовой вены за анальным плавником в шприц объемом 1–2 мл, в зависимости от размера особи. Объем отобранной крови варьировал от 300 до 750 мкл. Плазму крови получали стандартным способом. Методом иммуноферментного анали-

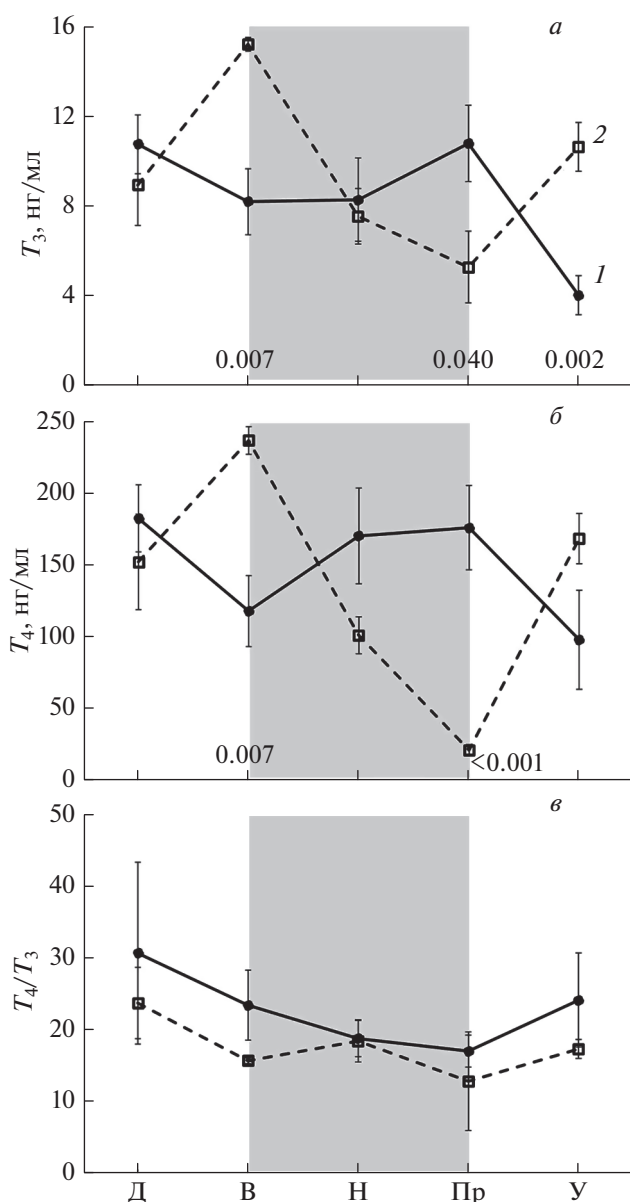


Рис. 1. Суточная динамика T_3 (а), T_4 (б) и их отношения (T_4/T_3) (в) в крови самок (1) и самцов (2) радужной форели; Д – день, В – вечер, Н – ночь, Пр – перед рассветом, У – утро. Затененная область характеризует темный период суток (В, Н, Пр); над осью абсцисс обозначены уровни значимости (при $p < 0.05$) по U-критерию Манна–Уитни в конкретный период суток между самками и самцами по концентрациям гормонов.

за с использованием тест-наборов производства DRG (ФРГ) на приборе Mindray MR 96A (КНР) определяли концентрацию тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3), тестостерона (T_s) и эстрадиола- 17β (E). В каждой пробе содержание этих гормонов исследовали в трех повторностях. Рассчитывали соотношение тиреоидных гормонов (T_4/T_3) и половых стероидных гормонов (T_s/E). Показа-

тель T_4/T_3 использовали для оценки изменений регуляции энергетических процессов в организме и установления зависимой динамики их содержания в крови, поскольку известно, что T_4 в результате дейодирования расщепляется до активной формы – T_3 [5, 9, 15].

При статистической обработке материала использовали критерии Краскела–Уоллиса, Муда и U-критерий Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Длина радужной форели в период отбора проб у самок и самцов была 31.6 ± 0.97 (25.0–39.5)¹ и 30.4 ± 0.98 (21.6–37.0) см соответственно. Масса самок достигала 424 ± 37.9 (227–780) г, самцов – 383 ± 34.7 (133–645) г. Все исследованные самки и большая часть самцов имели половые железы массой ~1 г. Самцов с относительно развитыми половыми железами (средняя масса гонад – 13.5 г) было 4 экз. Концентрации исследованных гормонов у самцов с гонадами разного размера достоверно не различались ($p > 0.05$).

Тиреоидные гормоны. Содержание тиреоидных гормонов в крови годовиков радужной форели связано ($p < 0.05$ для T_3 по критерию Муда и $p < 0.05$ для T_4 по критерию Краскела–Уоллиса) с временем суток.

Среднесуточная концентрация T_3 составила 9.5 ± 0.66 нг/мл у самцов и 8.7 ± 0.72 нг/мл у самок (рис. 1а), среднесуточная концентрация T_4 – 134.2 ± 11.00 нг/мл у самцов и 153.7 ± 12.85 нг/мл у самок (рис. 1б). Во все временные периоды взятия проб динамика концентраций тиреоидных гормонов в крови самок и самцов находилась в противофазе.

Среднесуточное значение показателя T_4/T_3 равнялось 23.9 ± 3.86 у самок и 17.7 ± 1.65 у самцов (рис. 1в). Минимальные значения этого показателя зафиксированы и у самок, и у самцов перед рассветом, а максимальные – днем.

Половые стероидные гормоны. Уровни половых стероидных гормонов T_s и E связаны с временем суток ($p < 0.05$ и $p < 0.01$ соответственно, здесь и далее по критерию Краскела–Уоллиса) и полом рыб ($p < 0.001$ и $p < 0.01$ соответственно), показатель T_s/E зависит только от пола радужной форели ($p < 0.001$).

Среднесуточная концентрация T_s у самок ниже, чем у самцов – 3.2 ± 0.33 и 7.3 ± 0.56 нг/мл соответственно ($p < 0.001$, здесь и далее по U-критерию Манна–Уитни) (рис. 2а). Среднесуточная концентрация E у самок выше ($p < 0.01$), чем у самцов

¹Здесь и далее: перед скобками – среднее значение показателя и его ошибка, в скобках – min–max показателя.

– 137.0 ± 12.10 и 82.3 ± 5.95 пг/мл соответственно (рис. 2б).

У самок показатель T_s/E заметно ниже ($p < 0.001$), чем у самцов – 61.8 ± 9.71 и 205.4 ± 25.19 соответственно (рис. 2в). Как у самок, так и у самцов T_s/E достигает максимума перед рассветом.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Была выявлена суточная динамика концентраций в крови тиреоидных и половых стероидных гормонов у радужной форели в возрасте 14 мес. Она была обусловлена как общими физиологическими процессами, приуроченными к определенному суточному ритму, так и индивидуальными различиями в физиологическом состоянии рыб.

Уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови различался у самок и самцов в зависимости от времени суток – по концентрациям T_4 , T_3 и E суточная динамика находилась в противофазе. Динамика показателя T_s/E в течение суток у самок и самцов выражалась на разном количественном уровне, средние значения показателя в любой интервал наблюдений у самок выше, чем у самцов. Следовательно, показатель T_s/E может быть использован для прижизненного определения пола рыб при отсутствии внешних морфологических признаков полового диморфизма. Суточные изменения показателя T_4/T_3 , напротив, не были связаны с половым диморфизмом и, вероятно, указывали на сходный процесс дейодирования у самок и самцов радужной форели в течение суток.

Уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у самцов радужной форели повышался в светлое время и снижался ночью. У самок повышение тиреоидных гормонов происходило в ночное время, а снижение – в утреннее. Полученные результаты частично согласуются с литературными данными. Известно, что у пестряток атлантического лосося *Salmo salar* L. T_4 повышается в светлое время, а T_3 снижается [7]. На примере канального сомика *Ictalurus punctatus* (Rafinesque, 1818) показано, что летом (июль) уровни в крови T_3 и T_4 в светлое время суток (с утра до вечера) повышаются более, чем в 2 раза [10]. Авторы указанных работ не обнаружили половых различий по суточной динамике тиреоидных гормонов.

Отметим общие закономерности в суточной динамике исследованных гормонов у радужной форели и близкородственного вида – черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* (Pallas, 1814) [1]. Для самок и самцов как одного, так и другого вида характерно суточное изменение уровня тиреоидных гормонов в противофазе (обратная зависимость). У радужной форели и черноморской кумжи совпадают временные интервалы изменения

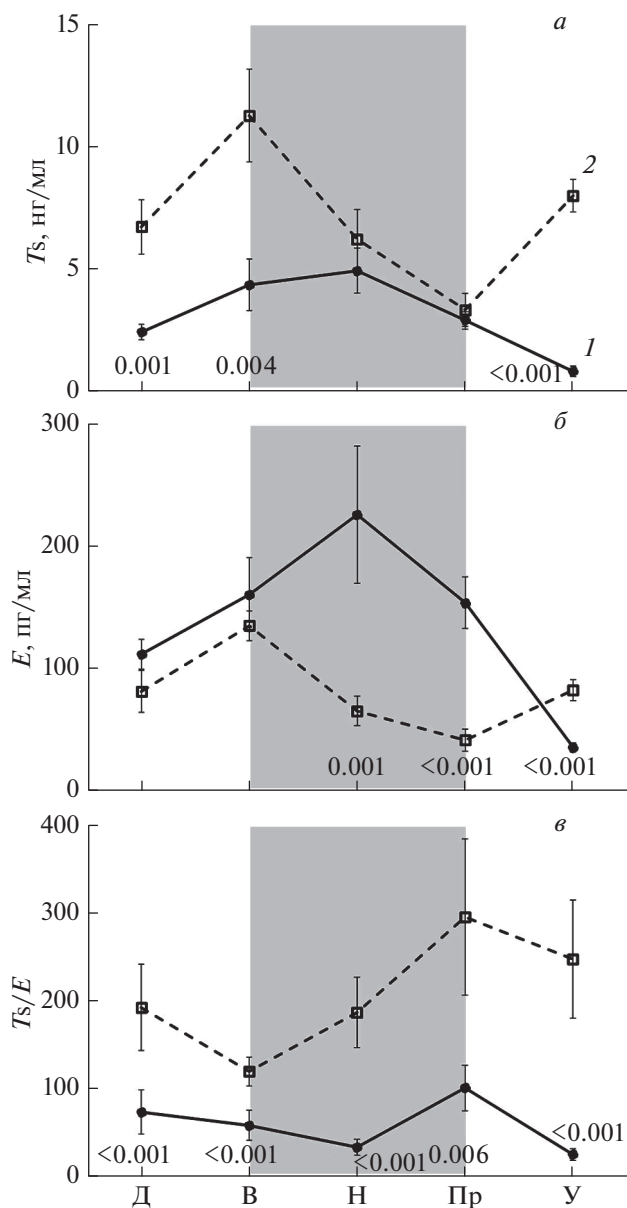


Рис. 2. Суточная динамика T_s (а), E (б) и их соотношение (T_s/E) (в) в крови самок (1) и самцов (2) радужной форели. Остальные обозначения, как на рис. 1.

концентраций T_3 и значений T_4/T_3 (максимумы) у самцов и уровня T_s (минимумы) у самок.

Выводы. Таким образом, в суточной динамике концентраций гормонов, исследованных в крови радужной форели, выражен половой диморфизм. У самцов суточная динамика концентраций тиреоидных и половых стероидных гормонов совпадает – наблюдается прямая корреляция между изменениями уровня гормонов. У самок прослеживается как прямая, так и обратная зависимость (в вечерние часы). Суточная динамика тиреоидных гормонов отражает ряд процессов, происходящих в

организме, один из которых – миграционное поведение рыб [7].

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам Приморского отделения Российско-вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра за помощь при сборе материала; Д.С. Павлову и М.И. Шатуновскому (Институт проблем экологии и эволюции РАН) за ценные замечания по тексту рукописи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РЫБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН “Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России” и Российско-вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра (программа “Эколан 3.2”).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ганжа Е.В., Павлов Е.Д., Костин В.В. Павлов Д.С. Суточная динамика тиреоидных и половых стероидных гормонов в крови годовиков жилой формы черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* // Изв. РАН. Сер. биол. 2015. № 1. С. 90–94.
2. Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. Состояние половых желез годовиков триплоидной радужной форели в высокогорных условиях южного Вьетнама при воздействии андрогенного гормона // Вопр. ихтиологии. 2013. Т. 53. № 6. С. 726–740.
3. Павлов Е.Д., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ти Хуан Ту. Состояние половых желез молоди триплоидной форели *Oncorhynchus mykiss* в условиях южного Вьетнама после искусственной инверсии пола // Вопр. ихтиологии. 2010. Т. 50. № 5. С. 675–684.
4. Comeau L.A., Campana S.E. Correlations between thyroidal and reproductive endocrine status in wild Atlantic cod // Can. Techn. Rept. Fish. Aquat. Sci. 2006. № 2682. 14 p.
5. Cyr D.G., Eales J.G. Interrelationships between thyroidal and reproductive endocrine systems in fish // Fish Biol. and Fisher. 1996. V. 6. P. 165–200.
6. Dolomatov S.I., Kubyshkin A.V., Kutia S.A., Zukow W. Role of thyroid hormones in fishes // J. Health Sci. 2013. V. 3. № 9. P. 279–296.
7. Ebbesson L.O.E., Bjornsson B.T., Ekstrom P., Stefansson S.O. Daily endocrine profiles in parr and smolt *Atlantic salmon* // Comp. Biochem. Physiol. 2008. V. 151. № 4. P. 698–704.
8. <https://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=239&AT=rainbow+trout>.
9. Hulbert A.J. Thyroid hormones and their effects a new perspective // Biological review. 2000. V. 75. P. 519–631.
10. Loter T.C., MacKenzie D.S., McLeese J., Eales J.G. Seasonal changes in channel catfish thyroid hormones reflect increased magnitude of daily thyroid hormone cycles // Aquaculture. 2007. V. 262. P. 451–460.
11. MacCrimmon H.R., Gordon J.D. Salmonid spawning runs and estimated ova production in Normandale Creek of Lake Erie // J. Great Lakes Res. 1981. V. 7. P. 155–161.
12. MacCrimmon H.R., Gots B.L. Rainbow trout in the Great Lakes // Ontario Ministry of Natural Resources. 1972. 66 p.
13. Nelson E.R., Allan E.R., Pang F.Y., Habibi H.R. Thyroid hormone and reproduction: regulation of estrogen receptors in goldfish gonads // Mol. Reprod. Dev. 2010. V. 77. № 9. P. 784–794.
14. Pavlov D.S., Ganzha E.V., Nemova N.N. et al. The Level of Thyroid and Sex Steroid Hormones in the Brown Trout *Salmo trutta* in Three Rivers of Karelia // Inland Water Biol., 2019. V. 12. № 2. P. 225–230. doi 10.1134/S1995082919020111.
15. Shields C.A., Eales J.G. Thyroxine 5'-monodeiodinase activity in hepatocytes of rainbow trout, *Salmo gairdneri*: distribution, effects of starvation, and exogenous inhibitors // Gen. Comp. Endocrinol. 1986. V. 63. P. 334–343.
16. Stolz J., Schnell J. Trout. Pennsylvania: Stackpole Books, 1991. 370 p.

Diurnal Dynamics of Thyroid and Sex Steroid Hormones in the Blood of the Juveniles of Rainbow Trout

E. V. Ganzha^a and E. D. Pavlov^{a,*}

^aSevertsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr., 33, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: p-a-v@nxt.ru

The diurnal dynamics of the level of thyroid and sex steroid hormones have been studied in the blood of the yearlings of rainbow trout. Sexual distinctions are revealed in diurnal dynamics of these hormones and rate of the relation of testosterone to estradiol-17 β . An inverse relationship is found between the maximum and minimum levels of thyroid hormones in females and males.

Keywords: rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, thyroxine, triiodothyronin, testosterone, estradiol-17 β