

УДК 597.531.574.24.575.117.2

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОЛАКТИНОВОЙ ОСИ В МОЗГУ САМОК И САМЦОВ ТРЁХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS* (GASTEROSTEIDAE) ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ АДАПТАЦИИ К ПРЕСНОЙ ВОДЕ

© 2020 г. Н. С. Павлова^{1, *}, Т. В. Неретина², О. В. Смирнова¹

¹Московский государственный университет, Москва, Россия

²Беломорская биологическая станция МГУ, Приморский, Республика Карелия, Россия

*E-mail: pav.nad.ser@gmail.com

Поступила в редакцию 01.11.2019 г.

После доработки 14.11.2019 г.

Принята к публикации 20.11.2019 г.

Изучена экспрессия генов пролактиновой оси (пролактин *Prl1*, пролактинподобный гормон *Prl2*, пролактиновый рецептор а *PrlRa*, пролактиновый рецептор b *PrlRb*) в мозгу самок и самцов трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* при адаптации к пресной воде. Через 24 ч после перемещения из морской воды в пресную экспрессия гена *Prl1* у самок достоверно выше относительно контрольной группы (морская вода) и самцов в той же временной точке. Изменения экспрессии гена *Prl2* у самок и *Prl1* у самцов не обнаружены. У самцов после 12 и 18 ч адаптации к пресной воде отмечена более высокая экспрессия гена *Prl2* относительно контрольной группы. Экспрессия гена *PrlRa* у самцов в морской воде выше, чем у самок, при адаптации к пресной воде не меняется у самок, а у самцов уменьшается, начиная с 3 ч перехода в пресную воду. Различия в экспрессии гена *PrlRb* между самками и самцами в морской воде не выявлены, однако через 24 ч пресноводной адаптации этот параметр у самок выше, чем у самцов. Изменения экспрессии элементов пролактиновой оси в ходе пресноводной адаптации носят зависимый от пола характер, и вклад пролактина и пролактинподобного гормона в адаптацию к пресной воде самок и самцов колюшки существенно различается.

Ключевые слова: трёхиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus*, пролактин, пролактинподобный гормон, пролактиновый рецептор, осморегуляция, пресноводная адаптация.

DOI: 10.31857/S0042875220020198

Многие виды рыб совершают анадромные или катадромные миграции, их переход в пресную воду из морской и наоборот и адаптация к новым условиям являются неотъемлемой частью жизненного цикла. 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 (McCormick, 2001; Manzon, 2002).

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 (Prunet et al., 1985; Yada et al., 1991; Seale et al., 2014; Breves et al., 2016; Mohammed-Geba et al., 2016; Watanabe et al., 2016). 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 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 связь механизмов размножения и осморегуляции у рыб до сих пор остаётся неясной.

Гены пролактина и его рецептора у рыб дуплицированы. Белок, наиболее гомологичный пролактину млекопитающих (Prl188), называется пролактином, или пролактином-1 (Prl1). Короткий белок Prl177 называется пролактинподобным гормоном, или пролактином-2 (Prl2). Между собой гены обоих пролактинов рыб обладают низкой степенью гомологии. Два пролактиновых рецептора (PrlRa и PrlRb) имеют схожую конформационную организацию, но низкую аминокислотную гомологичность и примерно в равной степени гомологичны длинной изоформе рецептора пролактина млекопитающих. На *Danio rerio* показано, что Prl1 способен активировать оба типа рецепторов, а Prl2 аффинен только к одному из двух типов рецепторов, однако сродство разных пролактинов к их рецепторам может различаться у разных видов рыб (Huang et al., 2007; Xigui et al., 2009). При переходе рыб из морской в пресную воду экспрессия гена пролактина и его содержание в крови у разных видов повышаются в разное время. Достоверный рост этих параметров замечен уже в течение первых суток пресноводной адаптации (Seale et al., 2006, 2012; Chang et al., 2007; Breves et al., 2011; Moorman et al., 2015; Yuan et al., 2017).

Исследование различий пролактиновой оси у особей разного пола в контексте адаптации рыб к пресной воде представляет интерес для понимания эволюционного развития функций пролактина. В качестве объекта для исследования пролактиновой оси рыб и её различий, связанных с полом, выбрана трёхиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus*. Этот вид интересен эвригалинностью, наличием фенотипических половых различий в брачный период и выраженным половым и родительским поведением (Wootton, 1984; Зюганов, 1991). Пролактиновая ось у трёхиглой колюшки практически не изучена. Исследование динамики изменений экспрессии элементов пролактиновой оси в течение пресноводной адаптации самок и самцов представляет специальный интерес для понимания гормональной регуляции водно-солевого баланса у мигрирующих рыб.

Цель данного исследования — изучить динамику экспрессии элементов пролактиновой оси (генов *Prl1*, *Prl2*, *PrlRa*, *PrlRb*) в мозгу самок и самцов трёхиглой колюшки в течение первых 24 ч адаптации к пресной воде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Половозрелых особей трёхиглой колюшки морфы *trachurus* в преднерестовом состоянии отловили в Кандалакшском заливе Белого моря в июне 2018 г. Из них сформировали по шесть экспериментальных групп самок и самцов, в каждую

группу входило по шесть рыб примерно одного размера: длина тела по Смитту (*FL*) самок составила 7.2 ± 0.35 см, самцов — 6.3 ± 0.3 см. В течение первых суток каждую группу колюшек содержали в одинаковых 20-литровых аквариумах с морской водой для адаптации к условиям эксперимента. Температура воды, поступающей в аквариумах, была такая же, как и в месте поимки рыб ($\sim 15\text{--}17^\circ\text{C}$). Морскую воду полностью (20 л) меняли в аквариуме каждые 6 ч без пересадки рыб, для уменьшения стресса животных замену воды проводили медленно.

По прошествии суток отобрали мозг (вместе с гипофизом) у самок и самцов контрольной группы, которая моделировала физиологическое состояние рыб перед нерестом. В остальных аквариумах морскую воду заменяли на пресную той же температуры, стремясь к минимальной смене прочих условий: на этот период (не более 10 мин) рыб пересаживали в идентичный аквариум с морской водой, а затем возвращали в исходный аквариум уже с пресной водой. Рыб кормили аквариумным кормом, отслеживая, чтобы он постоянно был в наличии. Световой режим полностью соответствовал естественному. Компрессоры для аэрации не использовали; в ходе эксперимента ни одно животное не проявило признаков недостатка кислорода в воде. У самок и самцов экспериментальных групп материал отбирали через 3, 6, 12, 18 и 24 ч после пересадки в пресную воду. Процедура отбора мозга занимала <1 мин с момента декапитации рыбы.

Полученные образцы хранили в фиксирующей жидкости IntactRNA (“Evrogen”, Россия). РНК выделяли фенол-хлороформным методом с полиакриламидным осаждением нуклеиновых кислот (ExtractRNA) (“Evrogen”, Россия). Для синтеза кДНК использовали MMLV-ревертазу и случайные праймеры (“Evrogen”, Россия). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени использовали амплификатор Real-time StepOnePlus (“Applied Biosystems”, США) и смесь для проведения ПЦР в реальном времени с красителем SYBRgreen и низкой концентрацией референсного красителя ROX (“Evrogen”, Россия). Каждую реакцию с использованием кДНК проводили в трёх повторностях; для каждого исследуемого гена также проводили безревертазные контроли амплификации фрагмента геномной ДНК. Если безревертазный контроль был отрицательным, значения ПЦР с матрицы кДНК использовали для расчётов. Подробно методика описана Пирсом и соавторами (Pierce et al., 2007). При проведении ПЦР в реальном времени данные экспрессии генов интереса (*Prl1*, *Prl2*, *PrlRa*, *PrlRb*) нормировали на уровень экспрессии двух референсных генов (*Rbp13a*, *ubc*). Для расчётов использовали следующую формулу:

Нуклеотидные последовательности праймеров для количественной ПЦР и константы эффективности их амплификации (температура отжига 60°C)

Ген	Нуклеотидная последовательность, 5'-3'	Эффективность амплификации
<i>Prl1</i>	<u>ACCTGGACTCGCATTTGCCTCTC</u> <u>AAGGTCCGACTCTGGTACTTGAAG</u>	1.9796
<i>Prl2</i>	<u>TCCAATAAAGCCCTAGAGATGAG</u> <u>AGGCTGCTGACGGTGTGCTTAT</u>	1.5443
<i>PrlRa</i>	<u>CGGCGATCTGGGTCAACTAC</u> <u>GGAGGATTAGGCTGAACGATGT</u>	2.0000
<i>PrlRb</i>	<u>CGACGACAGCCCTCTACTT</u> <u>GACGTGTACTCTGCCCCACTT</u>	1.9020
<i>Rbp13α</i>	<u>CACCTTGGTCAACTTGAACAGTG</u> <u>TCCCTCCGCCCTACGAC</u>	1.7750
<i>ubc</i>	<u>AGACGGGCATAGCACTTGC</u> <u>CAGGACAAGGAAGGCATCC</u>	1.7477

Примечание. Над чертой — нуклеотидная последовательность прямого праймера, под чертой — нуклеотидная последовательность обратного праймера.

$$R(Prl) = \frac{\sqrt{(ERbp13\alpha)^{CtRbp13\alpha} \times (Eubc)^{Ctubc}}}{(EPrl1)^{CtPrl1}},$$

где R — относительный уровень мРНК гена интереса, E — эффективность амплификации гена, Ct — усреднённый по трём значениям цикл достижения порогового уровня флуоресценции. Последовательности праймеров к генам интереса и референсным генам, а также константы эффективности их амплификации указаны в таблице.

Статистическую обработку проводили в программе GraphPad Prism6, использовали критерий two-way ANOVA для множественных сравнений и t -test для парного сравнения уровней экспрессии генов между контрольными самками и самцами.

При проведении исследования все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольной группе (морская вода) как для самок, так и для самцов выявлена экспрессия генов *Prl1*, *PrlRa*, *PrlRb* в мозгу (рис. 1). При этом уровень мРНК гена *PrlRa* у самцов был достоверно выше, чем у самок ($p = 0.0001$, t -test). Экспрессия гена *Prl2* не была обнаружена у самцов и самок.

У самок после перевода в пресную воду экспрессия гена *Prl1* в мозгу повышалась, и через 24 ч была достоверно выше исходного уровня, то же наблюдали у самок, находившихся в пресной воде 3 и 6 ч (рис. 2а). Достоверное увеличение экспрессии гена *Prl2* относительно контроля выявлено у самок, находившихся в пресной воде 12 и 18 ч (рис. 2б). На протяжении 24 ч адаптации к гипоосмотическим условиям экспрессия гена *PrlRa* не менялась (рис. 2в), а экспрессия гена *PrlRb* через 24 ч становилась достоверно выше, чем у самок через 6, 12 и 18 ч содержания в пресной воде (рис. 2г).

У самцов экспрессия гена *Prl1* в мозгу не менялась на протяжении 24 ч адаптации к гипоосмотическим условиям (рис. 2а). Экспрессия гена *Prl2* выявлена у самцов, находившихся в пресной воде 12 и 18 ч. Данное повышение уровня мРНК достоверно отличалось от всех остальных групп: неадаптированных, а также находившихся в пресной воде 3, 6 и 24 ч самцов (рис. 2б). В морской воде у самцов наблюдался достоверно более высокий уровень мРНК гена *PrlRa*, чем в течение всего периода адаптации к пресной воде (рис. 2в). Экспрессия гена *PrlRb* у самцов не менялась после пребывания в пресной воде и была сопоставима с таковой у самок в условиях морской воды и в течение первых 18 ч пребывания в пресной воде (рис. 2г).

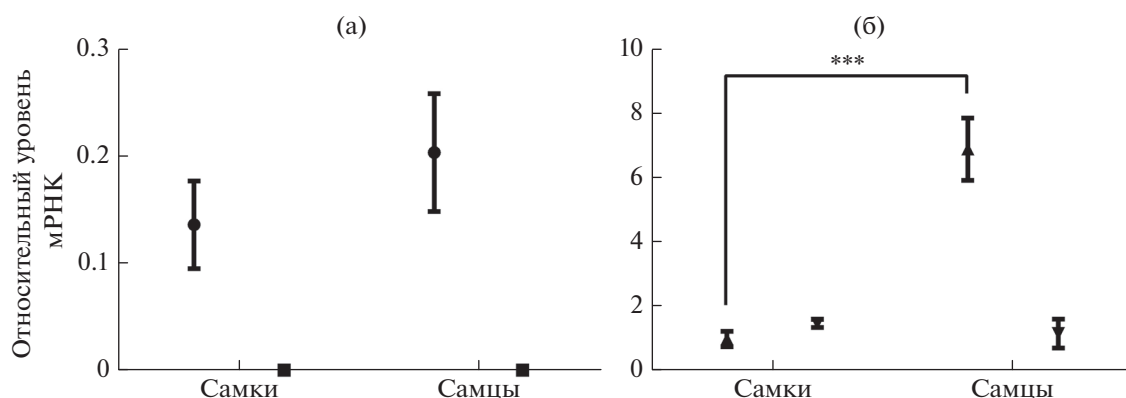


Рис. 1. Экспрессия исследованных генов в мозгу самок и самцов трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* в условиях морской воды: а – *Prl1* (●) и *Prl2* (■), б – *PrlRa* (▲) и *PrlRb* (▼); представлены средние значения по группам ($n = 6$ в каждой группе) и стандартная ошибка (I); ***различия между самками и самцами достоверны при $p < 0.001$, t -test.

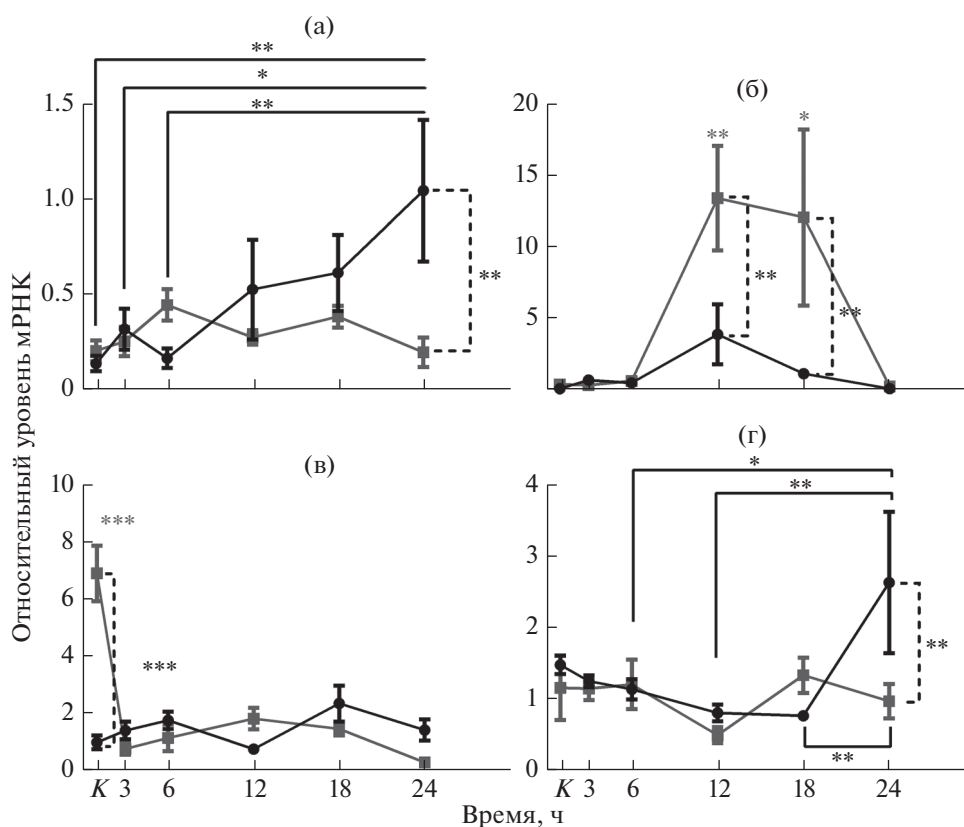


Рис. 2. Динамика экспрессии исследованных генов в мозгу самок (●) и самцов (■) трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* в течение 24-часовой адаптации к пресной воде: а – *Prl1*, б – *Prl2*, в – *PrlRa*, г – *PrlRb*; К – контроль (морская вода); различия между указанными временными точками у самок и у самцов относительно всех остальных точек, а также между самками и самцами достоверны при p : * < 0.05 , ** < 0.01 , *** < 0.0001 (two-way ANOVA); ост. обозначения см. на рис. 1.

Уровни мРНК гена *Prl1* (рис. 2а) у самок и самцов в морской воде, а также после 3, 6, 12 и 18 ч содержания в пресной воде были сопоставимы, тогда как после 24 ч пребывания в пресной воде экспрессия гена *Prl1* у самок была достоверно выше,

чем у самцов ($p = 0.0017$). Экспрессия гена *Prl2* у самцов была достоверно выше, чем у самок через 12 ($p = 0.0293$) и 18 ч ($p = 0.0044$) пребывания в пресной воде; в контроле и после 3, 6 и 24 ч адаптации к пресной воде экспрессия гена *Prl2* не вы-

явлена ни у самок, ни у самцов (рис. 2б). Экспрессия гена *PrlRa* у самцов была достоверно выше, чем у самок, в морской воде ($p < 0.0001$), а после 3, 6, 12, 18 и 24 ч содержания в пресной воде уровни мРНК гена *PrlRa* у самок и самцов были сопоставимы (рис. 2в). Экспрессия гена *PrlRb* у самок была достоверно выше, чем у самцов, после 24 ч пребывания в пресной воде ($p = 0.0099$); в морской воде, а также по прошествии 3, 6, 12 и 18 ч содержания в пресной воде уровни мРНК гена *PrlRb* у самок и у самцов были сопоставимы (рис. 2г).

ОБСУЖДЕНИЕ

Пролактин известен как гормон пресноводной адаптации рыб. В нашем исследовании показано, что экспрессия обоих генов пролактина и двух генов пролактиновых рецепторов зависит от того, претерпевает ли морская трёхиглая колюшка пресноводную адаптацию или нет. В целом повышение экспрессии генов *Prl1* и *Prl2* при адаптации к пресной воде согласуется с данными литературы. У колюшки, как у ряда других видов рыб (Mohammed-Geba et al., 2016; Shu et al., 2016; Watanabe et al., 2016), пролактиновая ось стимулируется при переходе в пресную воду, о чём свидетельствует повышение экспрессии генов пролактинов.

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 сут пребывания в пресной воде; а уровень мРНК достигает пика через 5 сут после перехода рыбы в пресную воду (Yuan et al., 2017). По данным Бревеца (Breves et al., 2011), у мозамбикской тилипии *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 ч адаптации к пресной воде; повышение уровня мРНК гена пролактина-188 (гомологично *Prl2* колюшки) наблюдалось с 6 ч адаптации к пресной воде. При этом повышение концентрации белка пролактина-177 в плазме зарегистрировано начиная с 6 ч, а пролактина-188 — с 24-го ч адаптации. У *Kryptolebias marmoratus* экспрессия гена *Prl1* начинает значимо повышаться уже на 6-й ч, и достигает пика к 12 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 (рис. 2а, 2б). В целом эти данные неплохо согласуются с динамикой экспрессии генов пролактинов, наблюдаемой у мозамбикской тилипии. 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.

Изменение экспрессии генов пролактиновых рецепторов в мозгу самцов и самок во время адаптации к пресной воде было различно для рецепторов а 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. В условиях морской воды у самцов по сравнению с самками наблюдается более высокая экспрессия гена *PrlRa* (рис. 2в). Мы предполагаем, что это может быть связано с репродуктивной ролью пролактина у рыб, которая может реализоваться через *PrlRa*. Половое поведение у самок трёхиглой колюшки выражено слабо, а у самцов — сильно и проявляется в агрессии к другим самцам, строительстве гнезда, ухаживании за самками и защите икры (Wootton, 1984; Whittington, Wilson, 2013). Возможно, в данных процессах *PrlRa*, преобладающий в мозгу самцов в условиях морской солёности, играет более важную роль, чем *PrlRb*; а экспрессия *PrlRa* понижается при переходе в пресную воду из-за стресса и изменения превалирующей функции пролактина с репродуктивной на осморегуляторную. Данная гипотеза, однако, требует большей доказательной базы и подробного изучения молекулярных механизмов взаимосвязи гипоосмотических условий, половых гормонов и стресса с пролактиновой осью.

В настоящей работе показано наличие связанных с полом различий в экспрессии генов пролактинов и их рецепторов в мозгу в процессе краткосрочной адаптации к пресной воде у трёхиглой колюшки. У самок в ходе адаптации повышается экспрессия генов *Prl1* и *PrlRb*, у самцов — возрастает *Prl2* и снижается экспрессия гена *PrlRa*. Полученные результаты свидетельствуют в пользу возможного разделения осморегуляторной функции пролактина между двумя его паралогами у самок и самцов, а также о большей роли в регуляции полового поведения пролактинового рецептора *PrlRa* по сравнению с *PrlRb*. Наши данные доказывают наличие половых различий элементов пролактиновой оси, представленных в мозгу, в ходе пресноводной адаптации и уточняют лидирующую функцию *Prl1* в адаптации к пресной воде у самок и *Prl2* — у самцов.

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.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований, проект № 18-34-00734.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зюганов В.В. 1991. Семейство колюшковых (Gasterosteidae) мировой фауны. Фауна СССР. Рыбы. Т. 5. Вып. 1. Л.: Наука, 266 с.
- Breves J.P., Seale A.P., Helms R. et al. 2011. Dynamic gene expression of GH/PRL-family hormone receptors in gill and kidney during freshwater-acclimation of Mozambique tilapia // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 158A. № 2. P. 194–200.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.10.030>
- Breves J.P., Inokuchi M., Yamaguchi Y., et al. 2016. Hormonal regulation of aquaporin 3: opposing actions of prolactin and cortisol in tilapia gill // *J. Endocrinol.* V. 230. № 3. P. 325–337.
<https://doi.org/10.1530/joe-16-0162>
- Chang Y.J., Min B.H., Choi C.Y. 2007. Black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*) prolactin cDNA sequence: mRNA expression and blood physiological responses during freshwater acclimation // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 147B. № 1. P. 122–128.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2007.01.006>
- Huang X., Jiao B., Fung C.K. et al. 2007. 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 // *J. Endocrinol.* V. 194. № 2. P. 373–392.
<https://doi.org/10.1677/joe-07-0076>
- Manzon L.A. 2002. The role of prolactin in fish osmoregulation: a review // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 125. № 2. P. 291–310.
<https://doi.org/10.1006/gcen.2001.7746>
- McCormick S.D. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish // *Amer. Zool.* V. 41. № 4. P. 781–794.
[https://doi.org/10.1668/0003-1569\(2001\)041\[0781:ecooit\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1668/0003-1569(2001)041[0781:ecooit]2.0.co;2)
- Mohammed-Geba K., González AA., Suárez RA. et al. 2016. Molecular performance of *Prl* and *Gh/Igf1* axis in the Mediterranean meager, *Argyrosomus regius*, acclimated to different rearing salinities // *Fish. Physiol. Biochem.* V. 43. № 1. P. 203–216.
<https://doi.org/10.1007/s10695-016-0280-9>
- Moorman B.P., Lerner D.T., Grau E.G., Seale A.P. 2015. The effects of acute salinity challenges on osmoregulation in Mozambique tilapia reared in a tidally changing salinity // *J. Exp. Biol.* V. 218. № 5. P. 731–739.
<https://doi.org/10.1242/jeb.112664>
- Pierce A.L., Fox B.K., Davis L.K. et al. 2007. Prolactin receptor, growth hormone receptor, and putative somatolactin receptor in Mozambique tilapia: tissue specific expression and differential regulation by salinity and fasting // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 154. № 1–3. P. 31–40.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.06.023>
- Prunet P., Boeuf G., Houdebine L.M. 1985. Plasma and pituitary prolactin levels in rainbow trout during adaptation to different salinities // *J. Exp. Zool.* V. 235. № 2. P. 187–196.
<https://doi.org/10.1002/jez.1402350205>
- Rhee J.-S., Kim R.-O., Seo J.S. et al. 2010. Effects of salinity and endocrine-disrupting chemicals on expression of prolactin and prolactin receptor genes in the euryhaline hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus* // *Comp. Biochem. Physiol.* V. 152C. № 4. P. 413–423.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.07.001>
- Seale A.P., Fiess J.C., Hirano T. et al. 2006. Disparate release of prolactin and growth hormone from the tilapia pituitary in response to osmotic stimulation // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 145. № 3. P. 222–231.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2005.09.006>
- Seale A.P., Moorman B.P., Stagg J.J. et al. 2012. Prolactin177, prolactin188 and prolactin receptor 2 in the pituitary of the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, are differentially osmosensitive // *J. Endocrinol.* V. 213. № 1. P. 89–98.
<https://doi.org/10.1530/joe-11-0384>
- Seale A.P., Stagg J.J., Yamaguchi Y. et al. 2014. Effects of salinity and prolactin on gene transcript levels of ion transporters, ion pumps and prolactin receptors in Mozambique tilapia intestine // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 206. P. 146–154.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.07.020>
- Shu Y., Lou Q., Dai Z. et al. 2016. The basal function of teleost prolactin as a key regulator on ion uptake identified with zebrafish knockout models // *Sci. Rept.* V. 6. Art. № 18597.
<https://doi.org/10.1038/srep18597>
- Watanabe S., Itoh K., Kaneko T. 2016. Prolactin and cortisol mediate the maintenance of hyperosmoregulatory iono-

cytes in gills of Mozambique tilapia: exploring with an improved gill incubation system // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 232. P. 151–159.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.04.024>

Whittington C.M., Wilson A.B. 2013. The role of prolactin in fish reproduction // *Ibid.* V. 191. P. 123–136.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.05.027>

Wootton R.J. 1984. The functional biology of sticklebacks. Berkeley; Los Angeles: Univ. Calif. Press, 265 p.

Xigui H., Hui M.N.Y., Liu Y. et al. 2009. Discovery of a novel prolactin in non-mammalian vertebrates: evolutionary perspectives and its involvement in teleost retina development //

PLoS One. V. 4. № 7. P. e6163.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006163>

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

[https://doi.org/10.1016/0016-6480\(91\)90293-f](https://doi.org/10.1016/0016-6480(91)90293-f)

Yuan M., Jia Q., Wang T. et al. 2017. Dynamic responses of prolactin, growth hormone and their receptors to hypotonic acclimation in the olive flounder *Paralichthys olivaceus* // *Ibid.* V. 254. P. 8–13.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.09.005>