

УДК 577.171.53:597.2/.5

ФУНКЦИИ ИОНОЦИТОВ И ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИОННОГО ОБМЕНА У РЫБ

© 2021 г. Н. Л. Рендаков*

Институт биологии — обособленное подразделение Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, Петрозаводск, Россия

*e-mail: nrend@mail.ru

Поступила в редакцию 31.08.2020 г.

После доработки 20.10.2020 г.

Принята к публикации 20.10.2020 г.

Обобщены данные о функциях ионоцитов жабр и о воздействии гормонов на ионный обмен у рыб. Описаны ионоциты HR (клетки, богатые H^+ -АТФазой), NaR (клетки, богатые Na^+/K^+ -АТФазой), NCCC (клетки, экспрессирующие Na^+ - Cl^- -котранспортеры), SLC26C (клетки, экспрессирующие транспортеры растворенных веществ SLC26) и KE (K^+ -экскретирующие клетки), обнаруженные у пресноводной рыбы данио-рерио. Приведены сведения о функциях каждого типа ионоцитов, а также об ионных переносчиках, характерных для них. Изложены современные данные о гормонах, оказывающих положительное и отрицательное воздействие на транспорт Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- , H^+ и NH_4^+ через жабры. Приводятся нерешенные вопросы в области гормональной регуляции ионного обмена у рыб, а также очерчиваются перспективы дальнейших исследований.

Ключевые слова: гормоны, ионоциты, ионный обмен, осморегуляция

DOI: 10.31857/S0042132421020071

ВВЕДЕНИЕ

В ходе эволюции у позвоночных животных развились сложные механизмы ионной и осмотической регуляции, необходимые для поддержания водно-солевого обмена. У рыб ионо- и осморегуляция осуществляется жабрами, почками и кишечником, при этом основными осморегуляторными органами взрослых рыб считаются жабры: они непосредственно контактируют с внешней средой и обеспечивают большую часть трансэпителиального ионного обмена (Evans et al., 2005; Takei et al., 2014; Guh et al., 2015; Yan, Hwang, 2019). У эмбрионов и личинок костистых рыб, у которых жабры еще не развиты, функция ионного обмена реализуется эпителием кожи и желточного мешка (Hiroi, McCormick, 2012).

Ионный обмен осуществляется специализированными клетками — ионоцитами. Первоначально ионоциты были обнаружены в жабрах европейского угря (*Anguilla anguilla*) и были названы “клетками, секретирующими хлорид-ионы”, что отражало их функцию (Keys, Willmer, 1932). В дальнейшем у многих других костистых рыб эти клетки называли сначала хлоридными, а еще позднее — клетками, богатыми митохондриями (mitochondria-rich cells, MRC). В современной литературе используется термин “ионоциты”,

который более предпочтителен, поскольку эти клетки участвуют не только в секреции Cl^- , но и в других процессах. Так, они необходимы для поглощения ионов в пресной воде, для регуляции кислотно-щелочного равновесия и для экскреции аммония (Hiroi, McCormick, 2012).

Подавляющее большинство видов рыб являются стеногалинными, то есть живут либо в пресной, либо в морской воде и не способны переносить значительные изменения солёности среды. Остальные рыбы (считается, что около 5% видов) — эвригалинные, они обладают физиологическими механизмами, которые позволяют им адаптироваться к широкому диапазону изменений солёности водной среды (McCormick, 2001; Evans et al., 2005).

У морских, пресноводных и эвригалинных рыб регуляция ионного обмена существенно различается, поскольку эти рыбы сталкиваются с различным ионным составом и концентрацией ионов в водной среде.

Так, в пресной воде рыбы пассивно поглощают воду и теряют ионы солей. Чтобы противодействовать этому, они должны активно поглощать ионы (в основном, Na^+ и Cl^-) с помощью ионоцитов жаберного эпителия, которые оснащены для этого набором белков-переносчиков (ионных

каналов). Транспорту ионов способствует электрический градиент, создаваемый Na^+/K^+ -АТФазой (НКА), расположенной на базолатеральной мембране ионоцитов (Marshall, Grosell, 2006; Shaughnessy, McCormick, 2018).

В морской воде рыбы теряют воду и “нагружаются” ионами солей, поступающих в организм по градиенту концентрации. Для противодействия этому ионоциты жаберного эпителия морских рыб, а также эвригалинных рыб, оказавшихся в морской среде (например, при катадромной миграции), должны активно экскретировать ионы. Экскреция Cl^- происходит трансцеллюлярно, то есть ионы хлора проходят сквозь ионоциты жабр. При этом они сначала поступают из крови в ионоциты через базолатеральный $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ -ко-транспортёр (НКСС), а затем выводятся наружу через апикальный канал трансмембранного регулятора кистозного фиброза (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR). Экскреция Na^+ происходит по электрическому градиенту, заданному ионами хлора, парацеллюлярно, то есть через межклеточные “протекающие” плотные контакты (“leaky” tight junctions) жаберного эпителия (McCormick, 2001; Evans et al., 2005; Takei et al., 2014; Shaughnessy, McCormick, 2018). Экскреция этих ионов в морской воде также в большой степени зависит от активности НКА.

Ионный обмен у морских рыб был изучен раньше, чем у пресноводных, что объясняется, по-видимому, тем, что механизмы транспорта ионов в пресной воде более разнообразны и осуществляются с участием большего количества разных типов клеток. Более высокое разнообразие ионоцитов у пресноводных рыб может быть связано с более высокой вариабельностью состава пресноводной среды по сравнению с морской (Marshall, 2002; Wilson, Laurent, 2002; Takei et al., 2014). Кроме того, предполагается, что предками рыб были морские протопозвоночные, которые затем многократно заселяли пресные и солоноватые водоемы (Smith, 1932; Marshall, 2002; Evans et al., 2005; Ditrach, 2007; Dymowska et al., 2012). Когда в результате каких-либо геологических событий формируются новые пресные водоемы, могут возникать и новые адаптации к данному местобитанию. Например, трехглазая колюшка (*Gasterosteus aculeatus*) имеет особенности, позволяющие этому виду рыб эволюционировать в сторону пресноводных форм. У колюшек такая эволюция может занимать несколько поколений, причем эти процессы происходили неоднократно на протяжении геологической истории пресноводных озер (Marshall, Grosell, 2006). Низкие концентрации хлорида натрия и хлорида кальция в некоторых пресноводных водоемах могут активировать совершенно иные наборы ионных переносчиков, не характерные для соленой и солоноватой воды,

что также увеличивает разнообразие механизмов ионного транспорта. По этим причинам понятно, что одна единственная модель работы транспорта ионов не сможет объяснить ионную регуляцию у всех пресноводных рыб (Marshall, Grosell, 2006).

Осморегуляторные механизмы проявляют наибольшую гибкость у эвригалинных и, в частности, диадромных (проходных) видов рыб, которые в ходе своего жизненного цикла испытывают чрезвычайные изменения солёности среды. Выживание этих рыб при перемещении между пресной и морской водой зависит от своевременного переключения функции ионоцитов жаберного эпителия, при котором поглощение ионов сменяется экскрецией соли или наоборот (McCormick, 2012; Takei et al., 2014; Shaughnessy, McCormick, 2018).

Эвригалинные виды рыб часто используются при изучении осморегуляции. Особенно это относится к двум группам мигрирующих рыб – анадромным лососевым и катадромным угревым. Для данных рыб характерны большие различия в механизмах ионного обмена и, особенно, в гормональной его регуляции (Takei et al., 2014). Среди других модельных видов в данной области исследований можно назвать таких эвригалинных рыб как тилапии (*Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis niloticus*), фундулюсы (*Fundulus heteroclitus*), паралихты (*Paralichthys olivaceus*), лавраки (*Dicentrarchus labrax*), оризии (*Oryzias latipes*) и ханосы (*Chanos chanos*).

В данном обзоре в основном обобщены сведения об ионоцитах и их гормональной регуляции у пресноводного вида данио-рерио (*Danio rerio*); кроме того, приведены некоторые данные об осморегуляции у эвригалинных рыб – японской оризии (*Oryzias latipes*), радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) и некоторых других. Белки-переносчики ионов и механизмы ионного обмена у данио-рерио изучены детальнее, чем у других стеногалинных пресноводных видов. Это связано, в частности, с тем, что данио-рерио – классический модельный вид, у которого просеквенирован геном и наиболее полно изучены сигнальные пути пролиферации, дифференцировки и развития ионоцитов (Esaki et al., 2007, 2009; Guh, Hwang, 2017).

ТИПЫ И ФУНКЦИИ ИОНОЦИТОВ ДАНИО-РЕРИО И ЯПОНСКОЙ ОРИЗИИ

У пресноводных данио-рерио и японской оризии обнаружено несколько типов ионоцитов (Dymowska et al., 2012; Guh, Hwang, 2017; Yan, Hwang, 2019).

В жабрах и коже данио-рерио выявлено по меньшей мере 5 типов ионоцитов: 1) клетки, богатые H^+ -АТФазой (H^+ -АТФase rich, HR), 2) клетки,

Таблица 1. Характеристика ионоцитов и переносчиков ионов у пресноводной рыбы данио-рерио

Ионоциты	Расположение переносчика	Переносчики ионов	Функции ионоцитов	Источник
HR	Апикально	H ⁺ -АТФаза (НА)	Поглощение Na ⁺ и HCO ₃ ⁻ , экскреция H ⁺ и NH ₄ ⁺	Lin et al., 2006, 2008; Horng et al., 2007; Yan et al., 2007; Shih et al., 2008, 2012, 2013; Liao et al., 2009; Lee et al., 2011
		Na ⁺ /H ⁺ -обменник 3b (NHE3b)		
		Переносчик NH ₄ ⁺ резус-глико-протеин (Rhcg1)		
	Базолатерально	Cl ⁻ /HCO ₃ ⁻ -обменник, или анионный обменник 1b (AE1b)		
		Na ⁺ /K ⁺ -АТФаза (atp1a1a.5)		
Апикально	Карбоангидраза CA15a			
В цитозоле	Карбоангидраза CA2-подобная a			
NaR	Апикально	Эпителиальный Ca ²⁺ -канал (ECaC)	Поглощение Ca ²⁺	Pan et al., 2005; Liao et al., 2009
	Базолатерально	Ca ²⁺ -АТФаза 2 плазматической мембраны (PMCA2)		
		Na ⁺ /Ca ²⁺ -обменник 1b (NCX1b)		
	NKA (atp1a1a.1)			
NCCC	Апикально	Na ⁺ -Cl ⁻ -котранспортер 2b (NCC2b), он же NCC-like 2 и SLC12A10.2	Поглощение Na ⁺ и Cl ⁻	Liao et al., 2009; Wang et al., 2009, 2015; Lee et al., 2011
	Базолатерально	Cl ⁻ -канал 2c (CLC2c)		
		Na ⁺ -HCO ₃ ⁻ -котранспортер 1b (NBCe1b)		
		NKA (atp1a1a.2)		
SLC26C	Апикально	Транспортеры растворенных веществ 26 SLC26A3 и SLC26A4	Экскреция HCO ₃ ⁻ и поглощение Cl ⁻	Bayaa et al., 2009; Perry et al., 2009
	Базолатерально	NKA (atp1a1a.1)		
KE	Апикально	K ⁺ -канал (Kir1.1)	Экскреция K ⁺	Abbas et al., 2011

богатые Na⁺/K⁺-АТФазой (Na⁺/K⁺-ATPase rich, NaR), 3) клетки, экспрессирующие Na⁺-Cl⁻-котранспортеры (Na⁺-Cl⁻-cotransporter cells, NCCC), 4) клетки, экспрессирующие транспортеры растворенных веществ 26 (solute carrier 26 cells, SLC26C) и 5) K⁺-экскретирующие клетки (KE) (Guh, Hwang, 2017; Yan, Hwang, 2019). Функции ионоцитов данио-рерио и локализация ионных переносчиков в них представлены в табл. 1.

Роль транспортера NBCe1 (переносчика HCO₃⁻) в регуляции кислотно-щелочного равновесия неизвестна. В клетках SLC26C не идентифицированы никакие другие переносчики, кроме SLC26 и NKA. Кроме того, отсутствует информация о каких-либо переносчиках, кроме Kir1.1, в клетках KE, а также неизвестно физиологическое значение экскреции K⁺ (Guh, Hwang, 2017).

У эвригалинной японской оризии, обитающей в пресной воде, имеются следующие ионоциты: 1) клетки-обменники ионов натрия и водорода (Na⁺/H⁺-exchanger cells, NHEC), 2) клетки с эпителиальными Ca²⁺-каналами (ECaC-expressing cells, ECaCC), 3) NCCC и 4) клетки HR. Клетки NHEC обеспечивают экскрецию H⁺, NH₄⁺ и K⁺, а также поглощение Na⁺. Ионоциты ECaCC отвечают за поглощение Ca²⁺, а NCCC — за поглощение Na⁺ и Cl⁻. Функция ионоцитов HR у пресноводной оризии не установлена (Yan, Hwang, 2019).

У оризии, акклимированной к морской воде, обнаружены ионоциты типа SW (от англ. sea water — морская вода), а также добавочные клетки (accessory cells, AC). Такой набор ионоцитов характерен для рыб, обитающих в морской среде, и у оризии они функционируют типичным для морских рыб

образом. Так, ионоциты SW осуществляют экскрецию H^+ , NH_4^+ , K^+ , Na^+ и Cl^- . Экскреция Na^+ происходит парацеллюлярным путем, через межклеточное пространство между ионоцитами и добавочными клетками. Функция клеток AC полностью пока не раскрыта (Yan, Hwang, 2019).

Считается, что ионоциты жабр у рыб (а также кожи рыбных эмбрионов) и клетки почечных канальцев у млекопитающих обладают большим сходством в механизмах ионного транспорта и в структуре транспортных белков (Yan, Hwang, 2019). Например, клетки HR данио-рерио и клетки NHE3 японской оризии подобны клеткам проксимальных отделов почечных канальцев и вставочным α -клеткам собирательных трубочек почек млекопитающих, поскольку они так же осуществляют поглощение Na^+ и экскрецию H^+ и NH_4^+ . Кроме того, клетки NCCS данио-рерио и японской оризии подобны клеткам дистальных извитых канальцев млекопитающих, поскольку они аналогичным образом поглощают Na^+ и Cl^- , а клетки NaR данио-рерио и ECaC-клетки оризии проявляют сходство с клетками почек млекопитающих в способности осуществлять поглощение (или реабсорбцию) Ca^{2+} .

Таким образом, ионоциты данио-рерио и японской оризии изучены довольно подробно, и хотя не все их функции в настоящее время раскрыты, можно утверждать, что данные виды рыб успешно используются при изучении эпителиального транспорта ионов и его регуляции.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИОНОЦИТОВ ДАНИО-РЕРИО

Ионоциты, богатые H^+ -АТФазой

Ионоциты HR содержат апикально локализованную H^+ -АТФазу. Первоначально они были идентифицированы в коже эмбрионов и жабрах взрослых рыб как клетки, наиболее активно экскретирующие кислоту (точнее, кислотные эквиваленты, то есть протоны) (Lin et al., 2006; Hwang et al., 2007; Hwang, Chou, 2013). На апикальной мембране этих ионоцитов колокализуются также NHE3b и Rhcg1 (переносчик NH_4^+). Базолатерально расположены AE1b и $\alpha 1$ -субъединицы NKA (atp1a1a.5). В этих клетках идентифицированы также две карбоангидразы – мембраносвязанная апикальная карбоангидраза CA15a и цитозольная CA2-подобная карбоангидраза a (Esaki et al., 2007; Yan et al., 2007; Lin et al., 2008; Shih et al., 2008; Liao et al., 2009; Lee et al., 2011; Hwang, Chou, 2013).

Ионоциты типа HR данио-рерио аналогичны по механизмам транспорта и экспрессии белков-переносчиков клеткам проксимальных почечных

канальцев и вставочным клеткам почек (типа A) (Hwang, Chou, 2013). Учитывая это, клетки кожи эмбрионов данио-рерио могут оказаться полезной альтернативной моделью при изучении транспорта ионов в почках других позвоночных, в том числе и человека (Hwang, Chou, 2013).

Экскрецию H^+ через апикальную мембрану клеток HR у данио-рерио обеспечивают два переносчика – NA и NHE3b. Эксперименты показали, что NA играет более важную роль в экскреции кислотных эквивалентов, чем NHE3b (Shih et al., 2012; Hwang, Chou, 2013).

В отличие от млекопитающих, которые экскретируют мочевины как основной побочный продукт азотного обмена, костистые рыбы являются в основном аммонителами, то есть они экскретируют азот главным образом в виде аммония. Поскольку костистые рыбы могут экскретировать NH_4^+ непосредственно в окружающую воду, им не требуется затрачивать энергию на превращение NH_4^+ в менее токсичную мочевины. Возможно, что жабры рыб экскретируют не ионы NH_4^+ , а газ NH_3 , что предполагается в исследованиях по связыванию кислотных эквивалентов в составе NH_4^+ . При этом закисление слоя воды, прилегающего к жабрам, облегчает экскрецию NH_4^+ (Wright et al., 1989). Показано также, что сопряженная работа NHE3 и Rhcg1 не только опосредует связывание кислотных эквивалентов в составе экскретируемого NH_4^+ , но и необходима для поглощения ионоцитами Na^+ (Wu et al., 2010; Hwang, Chou, 2013).

Поглощение Na^+ и HCO_3^- ионоцитами HR требует наличия карбоангидраз и других базолатеральных переносчиков, что роднит их с клетками проксимальных канальцев и собирательных трубочек в почках млекопитающих (Hwang, Chou, 2013).

Ионоциты, богатые NKA

Отличие ионоцитов NaR от ионоцитов HR первоначально было продемонстрировано путем мечения кожи эмбрионов данио-рерио моноклональными антителами к α -субъединице NKA (Liao et al., 2007; Hwang, Chou, 2013). Апикально на мембране этих ионоцитов расположены каналы ECaC, базолатерально – PMCA, NCX и NKA (изоформа atp1a1a.1) (Hwang, Chou, 2013).

У данио-рерио идентифицированы шесть изоформ PMCA и семь изоформ NCX, из которых только PMCA2 и NCX1b колокализуются в клетках NaR (Liao et al., 2007). Кроме того, из шести генов $\alpha 1$ -субъединицы NKA в клетках NaR экспрессируется только atp1a1a.1 (Liao et al., 2009).

Набор переносчиков Ca^{2+} в клетках NaR данио-рерио подобен таковому в Ca^{2+} -поглощающих клетках почек и кишечника млекопитающих (Hoenderop et al., 2005). У млекопитающих поглощение кальция через апикальные мембраны тесно связано с TRPV5/6 (ортологи ECaC данио-рерио), NCX1 и PMCA1b. Транспорт Ca^{2+} через переносчик TRPV6 является скоростью-лимитирующим этапом в витамин D-зависимом поглощении Ca^{2+} (Hoenderop et al., 2005; Hwang, Chou, 2013).

Акклимация данио-рерио к среде с низким содержанием Ca^{2+} , которая, как известно, приводит к стимуляции поглощения Ca^{2+} (Pan et al., 2005), увеличивает также и экспрессию мРНК *esac* (Liao et al., 2007). Кроме того, экспрессия *esac*, но не *pmca2* и *ncx1b*, зависит от воздействия гормонов, таких как станниокальцин (Tseng et al., 2009), кортизол (Lin et al., 2011) и витамин D (Lin et al., 2012). В целом, данные литературы показывают, что регуляция трансэпителиального поглощения Ca^{2+} путем воздействия на ECaC проявляет консервативные свойства в филогенетическом ряду от рыб до млекопитающих (Hwang, Chou, 2013).

Ионоциты, экспрессирующие Na^+ - Cl^- -котранспортеры

Показано, что котранспортер NCC2b (он же NCC-like 2 или SLC12A10.2) локализован у данио-рерио на апикальной мембране в отдельной группе ионоцитов, отличной от идентифицированных ранее клеток HR и NaR. Данные ионоциты были признаны аналогичными клеткам дистальных извитых канальцев почек млекопитающих, которые также экспрессируют Na^+ - Cl^- -котранспортеры и участвуют в поглощении Na^+ и Cl^- (Wang et al., 2009; Hwang, Chou, 2013).

Поглощение Na^+ у данио-рерио происходит главным образом за счет работы переносчика NHE3b (в ионоцитах HR), а NCC, по-видимому, играет в этом процессе минимальную или вспомогательную роль (Esaki et al., 2009; Hwang, Chou, 2013). Функциональная избыточность, связанная с участием в обмене Na^+ двух переносчиков — NHE3 и NCC, представляется консервативной от данио-рерио до млекопитающих. В проксимальных канальцах почек млекопитающих массовая реабсорбция Na^+ осуществляется с помощью переносчика NHE3, тогда как тонкая регуляция реабсорбции Na^+ достигается другими, избыточными механизмами, и в частности, с помощью NCC в дистальных извитых канальцах (Hwang, Chou, 2013).

Базолатерально в ионоцитах NCCC данио-рерио расположены переносчики ионов NKA (*atp1a1a.2*) и NBCe1b (Liao et al., 2009; Lee et al., 2011). Апикальный транспортер NCC переносит

Na^+ из окружающей среды в клетки, а базолатеральные NBCe1b и NKA (*atp1a1a.2*) могут направлять внутриклеточные ионы Na^+ из эпителиоцитов в кровоток, однако в литературе имеется недостаточно молекулярно-физиологических доказательств такой работы переносчиков (Hwang, Chou, 2013).

У данио-рерио экспрессируется также 12 генов хлоридных каналов семейства *clc* (Cl^- channel). Из них в жабрах и коже данио-рерио только ген *clc-2c* коэкспрессировался с геном *ncc2b* (экспрессия *ncc2b* является маркерным признаком ионоцитов NCCC). По-видимому, канал CLC-2c необходим для перемещения Cl^- из ионоцитов в кровь (Wang et al., 2015).

Ионоциты, экспрессирующие транспортеры растворенных веществ SLC26

В собирательных трубочках млекопитающих вставочные клетки типа В коэкспрессируют апикальный пендрин (SLC26A4) и базолатеральную НА, играя основную роль в экскреции HCO_3^- , что необходимо для поддержания кислотно-щелочного гомеостаза (Wagner et al., 2011). У данио-рерио были идентифицированы три представителя семейства SLC26, а именно SLC26A3, SLC26A4 и SLC26A6C (Bayaa et al., 2009; Perry et al., 2009). мРНК, кодирующая эти белки, а также сам белок SLC26A3, экспрессируются в определенных типах клеток в жабрах эмбрионов и взрослых особей, при этом небольшая часть (менее 10%) клеток, экспрессирующих SLC26A3, коэкспрессирует также базолатеральную NKA (*atp1a1a.1*) (Bayaa et al., 2009; Perry et al., 2009; Hwang, Chou, 2013).

Ионоциты, экскретирующие K^+

В одной из групп ионоцитов данио-рерио, отличной от ионоцитов HR, NaR и NCCC, была показана экспрессия $\alpha 1$ -субъединиц NKA подтипа *atp1a1a.4* (Liao et al., 2009). Оказалось, что вместе с *atp1a1a.4* в ионоцитах кожи эмбрионов данио-рерио колокализуются мРНК переносчика, ортологичного каналу Kir1.1 человека (Abbas et al., 2011). Kir1.1 является K^+ -каналом, ортологом ROMK-канала (renal outer medullary K^+ channel, то есть K^+ -канал мозгового вещества почек) млекопитающих (Abbas et al., 2011). Было показано, что потеря функции Kir1.1 приводит к транзиторной тахикардии с последующей брадикардией (Abbas et al., 2011), то есть к эффектам, наблюдаемым при гиперкалиемии у человека (Kahloon et al., 2005).

Хотя наличие калиевых токов в этих клетках доказано не было, ионоциты, экспрессирующие Kir1.1, получили название K^+ -секретирующих

Таблица 2. Гормоны и другие сигнальные вещества, регулирующие обмен некоторых ионов у данио-рерио

Ионы	Гормоны, повышающие уровень ионов в крови	Гормоны, снижающие уровень ионов в крови
Ca ²⁺	Паратгормон (PTH) Белок, родственный паратгормону (PTHrP) Кортизол Витамин D (1,25(OH) ₂ D ₃) Пролактин Соматотропин Сероводород	Кальцитонин (СТ) Станниокальцин (STC-1) Витамин D (24,25(OH) ₂ D ₃)
Na ⁺	Кортизол Пролактин Ренин-ангиотензиновая система (РАС) Катехоламины	Сероводород
Cl ⁻	Пролактин	STC-1 Пептид, относящийся к гену кальцитонина (CGRP)
H ⁺	—	Кортизол Эндотелин 1 Рецептор α, родственный эстрогеновому рецептору (ERRα) STC-1

клеток (Abbas et al., 2011; Hwang, Chou, 2013). На наш взгляд, уместнее было бы называть эти клетки K⁺-экскретирующими, поскольку понятие “секреция” ассоциируется главным образом с железами внутренней и внешней секреции. В зарубежных работах для обозначения транспорта ионов из организма часто используют термин “секреция”, а об экскреции говорят лишь в случае выделения каких-либо продуктов обмена веществ, например, в случае выделения ионов NH₄⁺ (Hwang, Chou, 2013).

РОЛЬ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ИОННОГО ОБМЕНА РЫБ

Изменения окружающей среды быстро воздействуют на ионный состав и осмотическое давление жидкостей организма у рыб, и для компенсации этих воздействий они должны быстро и эффективно регулировать трансэпителиальный перенос ионов. Поскольку нейроэндокринная система является главным посредником между сигналами внешней среды и физиологическими реакциями, она является наиболее важной частью осморегуляторных механизмов (Guh et al., 2015).

В гормональной регуляции ионного обмена можно выделить две группы процессов: 1) быстрая настройка, происходящая в течение минут или часов, за счет уже существующих ионоцитов

и белков-переносчиков и 2) долгосрочная регуляция, осуществляющаяся в течение часов или дней за счет изменений в количестве ионоцитов и в экспрессии переносчиков (Hwang, Chou, 2013). В процессах быстрой регуляции в основном участвуют гормоны, действующие через рецепторы плазматических мембран (например, адреналин), а в долгосрочной регуляции больше проявляется роль гормонов, воздействующих на транскрипцию в клеточном ядре (например, стероидных гормонов).

Для некоторых гормонов, классический механизм действия которых заключается в воздействии на генетический аппарат клетки, были показаны и неклассические, не геномные механизмы регуляции. Так, еще в середине XX в. было обнаружено, что стероиды могут оказывать быстрые негеномные эффекты (Duval et al., 1983), однако их детальное изучение началось лишь в последние десятилетия, в том числе и у рыб (Das et al., 2018).

В таблице 2 приведен список гормонов и других сигнальных молекул, которые регулируют ионный обмен у данио-рерио.

Гормональная регуляция поглощения Ca²⁺

Известны следующие гормоны, принимающие участие в регуляции кальциевого обмена у данио-рерио: пролактин, соматотропин (гормон роста), паратгормон, белок, родственный парат-

гормону, кортизол, витамин D, кальцитонин и станниокальцин (Hoshijima, Hirose, 2007; Tseng et al., 2009; Lafont et al., 2011; Lin et al., 2011, 2012).

Некоторые из указанных гормонов могут оказывать положительное действие на уровень Ca^{2+} (то есть гиперкальциемическое, или кальциотропное), другие – отрицательное (гипокальциемическое).

К гиперкальциемическим гормонам относятся: пролактин, соматотропин, PTH, PTHrP и кортизол. Витамин D в зависимости от молекулярной формы может проявлять у рыб как гиперкальциемическое действие, так и противоположное (Fraser, 2017).

Хорошо известным фактом является то, что у эвригалинных рыб пролактин необходим для акклимации к пресной воде, а соматотропин – к морской (Manzon, 2002; Evans et al., 2005; Hwang, Chou, 2013). В исследовании, ставшем классическим, было показано, что гипофизэктомированные фундулюсы (*Fundulus heteroclitus*) могли выжить в пресной воде только в том случае, если они получали экзогенный пролактин (Pickford, Phillips, 1959). Последующие работы выявили, что выживание рыб в данном случае было связано со снижением потери ионов, а не со стимуляцией их поглощения (Potts, Evans, 1966). Позднее было показано, что инъекции пролактина восстанавливают осмоляльность плазмы крови у гипофизэктомированных канальных сомиков (*Ictalurus punctatus*) в пресной воде (Evans et al., 2005).

Гиперкальциемическое действие пролактина тесно связано с его осморегуляторным действием. У эвригалинных костистых рыб перенос из морской воды в пресную приводит к значительному повышению уровня пролактина в плазме крови, что необходимо для ограничения потери Na^+ (Arakawa et al., 1993). Одновременно пролактин усиливает поглощение ионов Ca^{2+} из окружающей пресной воды, в которой содержание этих ионов ниже, чем в морской воде. Однако, если солевая нагрузка отсутствует, то изменение концентрации Ca^{2+} в окружающей среде у рыб, адаптированных либо только к пресной воде, либо только к морской, по-видимому, является менее эффективным стимулятором секреции пролактина (Arakawa et al., 1993; Wongdee, Charoenphandhu, 2013).

На угре (*Anguilla rostrata*), акклимированном к пресной воде, было продемонстрировано, что инъекция овечьего пролактина, а также гиперпролактинемия, вызванная трансплантацией гипофиза, значительно повышают концентрацию Ca^{2+} в плазме крови за счет повышения активности РМСА в жаберных эпителиоцитах (Flik et al., 1989a). У самцов тилапии (*Oreochromis mossambicus*) 8-дневное введение пролактина увеличивало поступление Ca^{2+} в жабы при одновременном

уменьшении оттока этих ионов, что приводило к гиперкальциемии (Wongdee, Charoenphandhu, 2013).

При акклимации эмбрионов данио-рерио к разбавленной в 20 раз пресной воде (0.8 мкМ Ca^{2+}) наблюдалась стимуляция транскрипции генов, кодирующих пролактин, соматотропин и PTH. При добавлении к воде 16 мкМ CaCl_2 транскрипция указанных генов возвращалась к исходному уровню (Hoshijima, Hirose, 2007). Однако более детальная информация о роли пролактина и соматотропина в ионном гомеостазе у стеногалинной рыбки данио-рерио отсутствует (Hwang, Chou, 2013).

Работы о воздействии соматотропного гормона на кальциевый обмен у рыб немногочисленны. Показано, что у особой мозамбикской тилапии (*Oreochromis mossambicus*), которым вводили соматотропин, уровень кальция в чешуе и костях был немного, но достоверно более низким, чем у контрольных рыб (Flik et al., 1993). У радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*), на которую воздействовали гормоном роста, концентрация Ca^{2+} в плазме крови была выше, чем в контрольной группе (Zhu et al., 2013). Таким образом, соматотропин предположительно оказывает гиперкальциемический эффект, хотя количество видов рыб, на которых этот эффект изучался, весьма ограничено (Hwang, Chou, 2013).

Паратиреоидный гормон (parathyroid hormone, PTH), или паратгормон, экспрессируется в паращитовидных железах высших позвоночных. У млекопитающих паратгормон функционирует как гиперкальциемический гормон, который может стимулировать реабсорбцию Ca^{2+} почками, воздействуя на экспрессию переносчика Ca^{2+} (Hoenderop et al., 2005; van Abel et al., 2005; Guh et al., 2015).

Предполагается, что паращитовидные железы млекопитающих эволюционно происходят из жаберной ткани рыб (Okabe, Graham, 2004). Эволюция паращитовидных желез избавила наземных позвоночных от необходимости поглощать Ca^{2+} из воды, позволив им регулировать уровень Ca^{2+} в сыворотке с помощью сигнального пути CaSR–PTH (CaSR – calcium-sensing receptor, кальций-чувствительный рецептор). Таким образом, паращитовидные железы могут быть одним из механизмов, обеспечивших возможность существования позвоночных в наземной среде (Okabe, Graham, 2004; Lin et al., 2014).

Паращитовидные железы у рыб, по-видимому, отсутствуют, однако у них были идентифицированы два паралога *Pth* – *Pth1* и *Pth2* (Gensure et al., 2004). Экспрессия генов *Pth* была зарегистрирована в нескольких тканях данио-рерио, среди которых жабы, мышцы и мозг (Okabe,

Graham, 2004; Lin et al., 2014). Уровень Ca^{2+} в сыворотке крови золотой рыбки (*Carassius auratus*) повышался после инъекции гетерологичного РТН1 (Suzuki et al., 2011). Такой же эффект наблюдался у данио-рерио (Lin et al., 2014; Guh et al., 2015; Guh, Hwang, 2017).

Кроме РТН, у ряда рыб был обнаружен другой представитель семейства РТН, а именно белок, родственник паратгормону (parathyroid hormone-related protein, РТНгР). Считается, что РТНгР сыграл ключевую роль в эволюции животных, что обусловлено значением этого белка в формировании легочных альвеол, необходимых наземным позвоночным для дыхания в воздушной среде (Abbink, Flik, 2007; Torday, 2013). РТНгР вырабатывается во многих тканях и оказывает широкий спектр физиологических действий внутриклеточно, паракринно и эндокринно. Ключевая роль РТНгР для нормальной жизнедеятельности была продемонстрирована на мышцах с нокаутом гена *Pthrp* (или его рецептора), что приводило к смерти животных при рождении в связи с отсутствием у них альвеол (Guerreiro et al., 2007; Torday, 2013).

РТНгР – гормон с плейотропным действием, который оказывает среди прочих и гиперкальциемические эффекты. Так, воздействие N-концевого пептида (1–38)РТНгР приводило к дозозависимому усилению накопления Ca^{2+} у личинок золотистого спара (*Sparus aurata*) (Guerreiro et al., 2007; Guh, Hwang, 2017). РТНгР был открыт у человека в 1987 г. в связи с некоторыми формами рака, вызывающими повышение уровня Ca^{2+} в крови. Данное состояние получило название гуморальной раковой гиперкальциемии (humoral hypercalcemia of malignancy, ННМ) (Abbink, Flik, 2007). Гиперкальциемия, возникающая при неконтролируемой секреции РТНгР, является следствием резорбции костей и подавления экскреции Ca^{2+} с мочой, что наблюдается также при гиперпаратиреозе (Guerreiro et al., 2007).

Другим гормоном, оказывающим влияние на обмен Ca^{2+} , является кортизол. Было обнаружено, что в отличие от млекопитающих, у которых кортизол оказывает гипокальциемическое действие (Patschan et al., 2001), у рыб этот гормон действует как стимулятор поглощения Ca^{2+} . Еще в 1989 году было показано, что вода с низким содержанием Ca^{2+} может вызывать повышение уровня кортизола у пресноводной радужной форели (*Oncorhynchus mykiss gairdnerii*) (Flik, Perry, 1989). У этого же вида рыб воздействие экзогенного кортизола приводит к активации экспрессии мРНК и белка ЕСаС в жабрах (Shahsavarani, Perry, 2006).

У эмбрионов данио-рерио экзогенный кортизол вызывал усиление поглощения Ca^{2+} , а также экспрессии *esac*, но не влиял на экспрессию

мРНК таких переносчиков Ca^{2+} как *pmca2* и *ncx1b* (Lin et al., 2011; Hwang, Chou, 2013). При этом показано, что увеличение экспрессии *esac* и поглощения Ca^{2+} может быть заблокировано морфолиновым нокаутом рецепторов GR (глюкокортикоидных), но не MR (минералокортикоидных), что служит убедительным доказательством того, что воздействие кортизола на работу ионоцитов осуществляется в основном через сигнальный путь рецепторов GR (Lin et al., 2011; Hwang, Chou, 2013).

В связи с отсутствием у костистых рыб альдостеронсинтазы, необходимой для синтеза альдостерона, кортизол у них является основным кортикостероидом (Nelson, 2003). Кортизол может связываться как с GR, так и с MR, хотя и с различным сродством, при этом каждый из сигнальных путей оказывает различное воздействие на транскрипцию генов, кодирующих переносчики ионов в жабрах (Kiilerich et al., 2007). Различие в воздействии кортизола на обмен Ca^{2+} у наземных млекопитающих и у рыб может быть связано с различием в путях поглощения Ca^{2+} у этих групп животных (Hwang, Chou, 2013).

Кроме того, установлено, что сигнальный путь кортизол–GR регулирует экспрессию рецептора и фермента синтеза витамина D (Lin et al., 2011), что предполагает, что воздействие кортизола на поглощение Ca^{2+} может быть опосредовано другими факторами (Guh, Hwang, 2017).

Жизненно необходимым гормоном, регулирующим поглощение Ca^{2+} у млекопитающих, является витамин D. Комплексы витамина D_3 и рецептора витамина D (vitamin D receptor, VDR) могут усиливать экспрессию белков TRPV5 и TRPV6 (ортологов ЕСаС) млекопитающих посредством связывания с витамин D-чувствительными элементами (vitamin D response elements, VDRE) в промоторных областях генов кальциевых переносчиков. Именно таким образом комплекс витамин D_3 –VDR может активировать транскрипцию гена *esac* (он же *trpv5*) и, таким образом, ускорять поглощение Ca^{2+} (Hoenderop et al., 2005; Hwang, Chou, 2013). По этой причине данный сигнальный путь является важным регулятором кальциевого гомеостаза у млекопитающих. Гиперкальциемическое действие витамина D является консервативным и сохраняется от рыб до наземных позвоночных (Hwang, Chou, 2013). Однако, в отличие от наземных позвоночных, формой витамина D, содержащейся в максимальной концентрации в крови радужной форели, является не $25(OH)D_3$, а $1,25(OH)_2D_3$ (Fraser, 2017).

У рыб, по-видимому, нет такой строгой специфичности распределения ферментов гидроксилирования витамина D_3 по органам, которая имеется у человека (Graff et al., 1999). Так, у радужной

форели (*Oncorhynchus mykiss gairdnerii*) (Hayes et al., 1986), атлантической трески (*Gadus morhua*) (Sundell et al., 1992), карпа (*Cyprinus carpio*) и азиатского паралихта (*Paralichthys olivaceus*) (Takeuchi, 1994) $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ синтезируется в печени, а не в почках, как у млекопитающих. При этом у ряда рыб активность 1α -гидроксилазы, необходимой для синтеза данной формы гормона, обнаружена также и в почках (Graff et al., 1999; Fraser, 2018).

Имеются сведения о том, что биологическое действие гормона $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ проявляется только в пресной воде, а после перемещения эвригалинных рыб в морскую среду, где требуется не поглощение Ca^{2+} , а его экскреция, начинает действовать другая форма гормона с противоположной активностью – $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Fraser, 2017). Такое изменение в работе двух форм гормона опосредовано экспрессией их рецепторов, которая, предположительно, зависит от концентрации Ca^{2+} в окружающей среде (Fraser, 2017).

Введение витамина D вызывало увеличение уровня Ca^{2+} в плазме крови у трески (*Gadus morhua*) (Sundell et al., 1993), а также дозозависимую гиперкальцемию у карпа (*Cyprinus carpio*) (Swagup et al., 1991). Экзогенный витамин D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), так же, как и экзогенный кортизол, приводил к увеличению поглощения Ca^{2+} и экспрессии *esac* у эмбрионов данио-рерио, не оказывая при этом воздействия на экспрессию *pmca* и *ncx* (Lin et al., 2012; Hwang, Chou, 2013).

К гипокальциемическим гормонам относятся STC-1 и СТ.

Станниокальцин (stanniocalcin) секретируется тельцами Станниуса, небольшими эндокринными железами, прикрепленными к почкам костистых рыб (Wagner et al., 1986; Guh, Hwang, 2017). Показано, что STC-1 проявляет гипокальциемическое действие, которое заключается в подавлении поглощения Ca^{2+} (Wagner et al., 1986; Yan, Hwang, 2019). Гипокальциемическое действие STC-1 хорошо установлено у многих видов рыб (Yeung et al., 2012). У эмбрионов данио-рерио нокаун гена *stc1* морфолиновыми олигонуклеотидами приводил к увеличению содержания Ca^{2+} , поглощения Ca^{2+} и экспрессии *esac*. Эти данные позволяют предполагать, что STC-1 данио-рерио подавляет экспрессию гена *esac*, что, в свою очередь, приводит к подавлению поглощения Ca^{2+} у рыб (Tseng et al., 2009; Yan, Hwang, 2019).

Хронический стресс, индуцированный дексаметазоном, вызывал снижение уровня Na^+ , Cl^- и Ca^{2+} , а также понижал секрецию STC из телец Станниуса у радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) (Pierson et al., 2004). Это может свидетельствовать о том, что STC-1 участвует в гомеостазе ионов, отличных от Ca^{2+} (Yan, Hwang, 2019).

Кальцитонин (calcitonin) – небольшой пептид (32 аминокислотных остатка), вырабатываемый у млекопитающих парафолликулярными С-клетками щитовидной железы (Baldisserotto, 2019). У костистых рыб СТ синтезируется в основном в ультимобранхиальной железе (Guh et al., 2015). Ультимобранхиальная железа происходит из последнего глоточного мешочка. Она гомологична С-клеткам щитовидной железы млекопитающих. В эмбриогенезе млекопитающих С-клетки входят в состав щитовидной железы как парафолликулярные клетки. У данио-рерио слияния С-клеток с щитовидной железой не происходит, и эти клетки остаются в виде отдельной ультимобранхиальной железы (Holden et al., 2013).

СТ считается гипокальциемическим гормоном рыб и млекопитающих (Evans et al., 2005; Guh et al., 2015). Было показано, что инъекция гомологичного или гетерологичного СТ вызывает гипокальциемические эффекты у разных видов рыб, среди которых скат-хвостокол (*Dasyatis akajei*) (Sasayama et al., 1992), обыкновенный карп (*Cyprinus carpio*) (Chakrabarti, Mukherjee, 1993) и золотая рыбка (*Carassius auratus*) (Sasayama et al., 1993). У эмбрионов данио-рерио, на которых воздействовали водой с высоким содержанием Ca^{2+} , экспрессия гена кальцитонина и его рецептора была повышена, тогда как экспрессия *esac* снижалась (Lafont et al., 2011). Некоторые результаты предполагают наличие двухфазного эффекта СТ. У эмбрионов данио-рерио опосредованное СТ снижение поглощения Ca^{2+} приводит к краткосрочной гипокальциемии. Это, в свою очередь, может активировать гиперкальциемические сигнальные пути, что приводит к компенсации дисбаланса кальциевого обмена при посредстве гиперкальциемических гормонов и различных переносчиков Ca^{2+} (Hwang, Chou, 2013). Таким образом, в работе кальцитотропных и гипокальциемических гормонов могут проявляться “плюс-минус-взаимодействия”.

Гормональная регуляция поглощения Na^+ и Cl^-

У костистых рыб, обитающих в морской воде, осмотическая потеря воды уравнивается посредством заглатывания воды с последующим поглощением NaCl в кишечнике (Hickman Jr., 1968). Возникающая в результате этого солевая нагрузка добавляется к той, которая происходит за счет диффузионного проникновения соли через жабры. Суммарный солевой баланс восстанавливается за счет активной экскреции NaCl жаберным эпителием, поскольку отсутствие петли Генле в нефронах не позволяет рыбам продуцировать мочу более гиперосмотичную, чем плазма крови (Evans et al., 2005).

В пресной воде рыбы, напротив, должны активно поглощать Na^+ и Cl^- , поскольку осмоляльность плазмы крови в этих условиях выше осмоляльности среды (Edwards, Marshall, 2012). Обмен ионов натрия и хлора у пресноводных рыб регулируется такими сигнальными молекулами как кортизол, пролактин, катехоламины, сероводород, STC-1, пептиды CGRP, а также ренин-ангиотензиновой системой. Из этих факторов гипонатриемическим является сероводород, а гипохлоремическими – STC-1 и CGRP.

Кортизол считается переключателем водно-солевого обмена при перемещении рыб между морской и пресной средой (McCormick, 2001; Evans et al., 2005; Takei et al., 2014; Guh et al., 2015; Guh, Hwang, 2017). Вместе с тем роль кортизола в осморегуляции двойственна, поскольку у эвригалинных видов рыб он участвует в адаптации как к соленой, так и к пресной воде (McCormick, 2001). Для дифференцировки ионоцитов жабр по морскому типу необходимо совместное действие кортизола и соматотропина, по пресному – кортизола и пролактина (McCormick, 2001; Sakamoto, McCormick, 2006).

У данио-рерио кортизол участвует в регуляции поглощения Na^+ (Kumai et al., 2012a). Такая функция кортизола опосредована рецепторами GR, а не MR, что было показано как в фармакологических исследованиях, так и в экспериментах с нокдауном генов (Guh, Hwang, 2017).

С другой стороны, имеются доказательства того, что кортизол может подавлять потерю Na^+ , изменяя проницаемость эпителия. Воздействие экзогенного кортизола на личинок данио-рерио приводило к значительному увеличению экспрессии белков плотных контактов – окклюдина-а и клаудина-б, что сопровождалось снижением парацеллюлярной проницаемости при воздействии кислой среды (Kwong, Perry, 2013). Данные эффекты кортизола также опосредованы рецепторами GR, поскольку нокдаун рецепторов GR устранял воздействие кортизола на парацеллюлярную проницаемость. К тому же, у морфантов с отключенными GR воздействие кислой среды вызывало более выраженное увеличение парацеллюлярной проницаемости (и более значительную потерю Na^+ путем диффузии), чем у рыб в контрольной группе (Kwong, Perry, 2013).

Гормон гипофиза пролактин необходим для адаптации к пресной воде, однако механизмы воздействия пролактина на транспорт отдельных видов ионов долгое время не были раскрыты (Manzon, 2002; Sakamoto, McCormick, 2006; Breves et al., 2014; Guh et al., 2015).

На эвригалинной мозамбикской тилляпии (*Oreochromis mossambicus*) и на данио-рерио было показано, что в пресной воде пролактин стимулирует дифференцировку NCC-экспрессирующих

ионоцитов и, соответственно, экспрессию переносчиков NCC (Breves et al., 2014; Guh, Hwang, 2017). Учитывая, что у данио-рерио NCC является ключевым фактором, необходимым для поглощения не только Na^+ , но и Cl^- , эти данные позволяют предполагать, что пролактин влияет у рыб и на обмен Cl^- .

Значение пролактина для поглощения ионов было дополнительно подтверждено в исследованиях на личинках данио-рерио с нокаутом гена пролактина. В этих работах показано, что при адаптации к пресной воде пролактин играет ключевую роль в регуляции именно поглощения ионов, а не только осмолярности. В жаберной области тела личинок с нокаутом гена пролактина к пятому дню после оплодотворения снижалась экспрессия NCC2b и количество ионоцитов NCCC, что приводило к нарушению у этих мутантных рыб поглощения Na^+ и Cl^- на шестой день после оплодотворения (Guh, Hwang, 2017).

Хорошо известно значение системы ренин-ангиотензин II в усилении реабсорбции соли в почках млекопитающих (Guh et al., 2015). Имеются доказательства того, что данная гормональная система влияет на обмен ионов и у рыб. Так, показано, что компенсаторное усиление поглощения Na^+ у личинок данио-рерио при остром воздействии кислой или бедной ионами воды может быть частично заблокировано антагонистом рецептора ангиотензина II. Кроме того, нокдаун гена ренина предотвращает стимуляцию поглощения Na^+ после острого воздействия кислой или бедной ионами воды (Kumai et al., 2014). Действие PAC в данных условиях, по-видимому, не зависит от кортизола, поскольку ни RU486 (антагонист GR), ни нокдаун GR не влияли на стимуляцию поглощения Na^+ в этих условиях (Kumai et al., 2014; Guh, Hwang, 2017).

Катехоламины, высвобождаемые либо из нервных окончаний, либо из хромаффинных клеток (Reid et al., 1998), играют важную роль в ионной регуляции пресноводных рыб, воздействуя на α - и β -адренергические рецепторы (Evans et al., 2005; Guh et al., 2015). Показано, что катехоламины вносят вклад в поглощение Na^+ ионоцитами данио-рерио (Evans et al., 2005; Hwang, Chou, 2013). В частности, нокаут β -адренергических рецепторов специфическими морфолиновыми олигонуклеотидами приводил к нарушению поглощения Na^+ в кислой или бедной ионами воде (Kumai et al., 2012b).

Хотя большая часть исследований фокусирует внимание на гормональных механизмах, участвующих в стимуляции поглощения Na^+ и Cl^- , работы на данио-рерио позволили обнаружить отрицательную регуляцию поглощения соли у рыб. Было показано, что сероводород (H_2S), газ, игра-

ющий важную роль в регуляции кардиореспираторной функции и сенсинге кислорода, может стимулировать поглощение Ca^{2+} (Kwong, Perry, 2015). Кроме того, эта сигнальная молекула является отрицательным регулятором поглощения Na^+ . Так, добавление в подкисленную воду, в которой находились эмбрионы данио-рерио, сульфата натрия (гидролизующегося с образованием H_2S) приводило к значительному снижению поглощения Na^+ . Такой эффект не наблюдался у морфантов данио-рерио, у которых по причине нокаута *gcm2* отсутствуют ионоциты HR, и Na^+ поглощается в основном ионоцитами NCCC. Это позволяет предполагать, что H_2S воздействует на поглощение Na^+ через переносчики NHE3b, а не NCC2b (Guh, Hwang, 2017).

Относительно мало известно о гипохлоремических эффектах гормонов у рыб. Такие эффекты могут оказывать STC-1 и пептид CGRP.

Выше уже упоминалось о том, что станниокальцин подавляет поглощение Ca^{2+} . Дальнейшие исследования показали, что STC-1 оказывает более широкое действие на ионный обмен, не ограниченное воздействием только на обмен Ca^{2+} (Chou et al., 2015). Так, сверхэкспрессия STC-1 приводила к снижению экспрессии ECaC, NCC и HA с сопутствующим снижением содержания Ca^{2+} , Na^+ и Cl^- в организме, а также к уменьшению секреции H^+ . Нокаун гена *stc-1* вызывал обратные эффекты. Кроме того, увеличение экспрессии STC-1 вызывало снижение количества клеток-предшественников ионоцитов и зрелых ионоцитов в коже эмбрионов данио-рерио. Таким образом, STC-1 является отрицательным регулятором количества ионоцитов и соответствующим образом снижает их функциональную активность (Chou et al., 2015).

Другим регулятором поглощения Cl^- является пептид, относящийся к гену кальцитонина (calcitonin gene-related peptide, CGRP). CGRP – сплайс-вариант кальцитонина, но в отличие от последнего CGRP обладает не гипокальциемическим, а гипохлоремическим действием. Увеличение экспрессии CGRP у личинок данио-рерио приводило к снижению экспрессии NCC2b и к замедлению поглощения Cl^- , и наоборот. Данный эффект осуществляется через изменение количества клеток NCCC, поскольку нокаун *crlr1* (рецептора CGRP) приводил к увеличению плотности клеток, экспрессирующих NCC2b (Guh, Hwang, 2017).

Гормональная регуляция экскреции H^+

Сведения о гормональной регуляции кислотно-щелочного равновесия у рыб фрагментарны. В большинстве исследований по этой теме вни-

мание фокусируется на регуляции транспорта ионов при низких значениях pH (“кислотный стресс” в противоположность “щелочному”). Имеются сведения, что после воздействия подкисленной воды происходит повышение уровня таких гормонов, как кортизол (Kumai et al., 2012a), пролактин (Flik et al., 1989b), соматолактин (Kakizawa et al., 1996), эндотелин I (Guh et al., 2014) и ангиотензин II (Kumai et al., 2014).

Известно, что у рыб кортизол участвует в регуляции экскреции H^+ . Так, при хроническом введении кортизола в брюшную полость пресноводной радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) наблюдалось повышение активности HA, осуществляющей экскрецию H^+ в жабрах (Lin, Randall, 1993). Воздействие экзогенного кортизола приводило к усилению экскреции H^+ и увеличению экспрессии переносчиков, связанных с экскрецией H^+ , в оболочке желточного мешка эмбрионов данио-рерио (Lin et al., 2015). Кроме того, показано, что это усиление опосредовано главным образом рецепторами GR, а не MR и достигается не только за счет регуляции общего количества ионоцитов HR, но и за счет усиления работы отдельных ионоцитов HR (Lin et al., 2015; Guh, Hwang, 2017).

Воздействие кортизола приводит к увеличению количества ионоцитов (в том числе, клеток HR) через GR-зависимое увеличение экспрессии фактора Foxi3a (Cruz et al., 2013). Это предполагает, что кортизол влияет на секрецию H^+ , по крайней мере, частично, регулируя пролиферацию и дифференцировку ионоцитов HR (Cruz et al., 2013; Guh et al., 2015).

Эндотелины – это семейство из трех пептидов, состоящих из 21 аминокислотного остатка. К семейству относятся эндотелины 1, 2 и 3 (EDN1, EDN2 и EDN3), которые участвуют во множестве физиологических процессов, в частности, в регуляции тонуса сосудов и транспорта воды и ионов в почках (Kohan et al., 2011). EDN1 является регулятором секреции H^+ в почках млекопитающих (Wesson, 2011).

Сверхэкспрессия EDN1 приводит к усилению экскреции H^+ из кожи эмбрионов, тогда как нокаун рецептора эндотелина *ednraa* вызывает значительное снижение экскреции протонов, индуцированной EDN1 или закислением среды (Guh et al., 2014, 2015).

Рецептор α , родственник эстрогеновому рецептору (estrogen-related receptor α), – орфанный ядерный рецептор, который играет важную роль в адаптивных метаболических реакциях в условиях, сопровождающихся увеличением энергетических затрат, таких как воздействие холода, физическая нагрузка и голодание (Villena, Kralli, 2008). Важно, что метаболизм в этих условиях обычно

сопровождается усилением продукции органических кислот, которые могут угрожать кислотно-щелочному равновесию организма (Guh et al., 2016). Нокдаун гена *esrra*, продуктом которого является $ERR\alpha$, нарушает экскрецию H^+ как в организме в целом, так и в отдельных ионоцитах HR. Это сопровождается снижением количества клеток HR, а также снижением экспрессии генов, необходимых для экскреции H^+ и энергетического метаболизма (Guh et al., 2016). Таким образом, $ERR\alpha$ модулирует экскрецию H^+ , воздействуя на экспрессию переносчиков, дифференцировку ионоцитов и энергетический метаболизм (Guh, Hwang, 2017).

Еще одним регулятором экскреции H^+ является станниокальцин. Сверхэкспрессия STC-1 приводила к снижению экспрессии NA и к уменьшению секреции H^+ . Нокдаун гена *stc-1* вызывал обратные эффекты (Chou et al., 2015).

Гормональная регуляция экскреции NH_4^+ и мочевины

В отличие от млекопитающих, которые экскретируют в качестве конечного продукта азотного обмена мочевину, костистые рыбы в основном являются аммонителликами, то есть экскретируют азот главным образом в виде аммония. Поскольку костистые рыбы могут экскретировать NH_4^+ непосредственно в окружающую воду, им не требуется затрачивать энергию на превращение NH_4^+ в менее токсичную мочевину. Возможно также, что жабры рыб экскретируют не ионы NH_4^+ , а газ NH_3 , что предполагается в исследованиях по связыванию кислотных эквивалентов в составе NH_4^+ . При этом закисление слоя воды, прилегающего к жабрам, облегчает экскрецию NH_4^+ (Wright et al., 1989).

О гормональной регуляции экскреции NH_4^+ известно крайне мало (Wilkie, 2002). Поскольку аммиак и аммоний являются у рыб естественными конечными продуктами катаболизма белков (Wright, Wood, 2012), гормоны, стимулирующие такой катаболизм (например, кортизол), по-видимому, должны способствовать образованию аммония и, возможно, его экскреции.

Не все рыбы являются аммонителликами. Например, жабун (*Opsanus beta*) обладает полностью функциональным циклом орнитин–мочевина и является одной из немногих костистых рыб, которые, будучи взрослыми, могут выделять свои азотистые отходы в основном в виде мочевины (то есть является уреотеликом) (Fulton et al., 2017). В природе жабуны экскретируют азот в виде 50% мочевины и 50% аммиака. Выведение мочевины служит “химическим плащом”, частично маски-

рующим запах аммиака и защищающим от хищников (Varimo, 2004). В лабораторных условиях, при создании стрессующей среды (перенаселенность или ограничение подвижности) и повышении уровня кортизола, у жабуна может быть индуцирована почти 100%-ная уреотелия (Hopkins et al., 1995; Wood et al., 1997, 2001), что связано с активацией ферментов выработки мочевины (Hopkins, et al., 1995) и с увеличением в жабрах экспрессии белка-переносчика tUT, необходимого для облегченной диффузии мочевины (Walsh et al., 2000). Мочевина выделяется при этом через tUT отдельными импульсами, длящимися от одного до трех часов, один или два раза в день (Wood et al., 1995, 1997, 1998). Кроме того, кортизол участвует в регуляции пульсирующей экскреции мочевины, т.к. за два–четыре часа до импульса экскреции мочевины уровень кортизола в плазме крови понижается, затем происходит экскреция, и уровень кортизола быстро восстанавливается (Wood et al., 1997, 2001). Снижение уровня кортизола не индуцирует пульсирующую секрецию мочевины напрямую (Wood et al., 1997, 2001, 2003). Считается, что этот эффект опосредован серотонином и его рецептором (Wood et al., 2003; Fulton et al., 2017;).

Уреотеликами являются рыбы, адаптированные к жизни в щелочной среде с очень высокими значениями pH (Wilkie, Wood, 1996). Вполне возможно, что и у них продукция и секреция мочевины регулируются кортизолом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возможность существования рыб какого-либо вида в определенном диапазоне значений солености среды зависит от эффективности осморегуляторных механизмов и, в частности, от возможностей гормональной регуляции. Считается, что современные костистые рыбы произошли от морских протопозвоночных (Evans et al., 2005), которые затем многократно заселяли пресные и солоноватые водоемы (Smith, 1932; Marshall, 2002; Ditrach, 2007; Dymowska et al., 2012). Заселение пресных водоемов было бы невозможным без адаптивных перестроек эндокринной системы и эффекторных органов, осуществляющих осморегуляцию – жабр, кишечника и почек. Разнообразие ионоцитов жабр и регулирующих их гормонов у разных видов рыб может быть следствием именно неоднократного заселения пресных водоемов. Такому разнообразию, конечно, способствовала и полногеномная дупликация, произошедшая при формировании костистых рыб и обеспечившая необходимый для эволюции генетический материал.

На органном уровне существенной особенностью эндокринной системы рыб является отсутствие парашитовидных желез при наличии двух

дополнительных желез, отсутствующих у млекопитающих, а именно телец Станниуса и урофиза (Bentley, 2002). Урофиз расположен в каудальной части спинного мозга и вырабатывает два гормона, необходимых для жизни рыб в морской среде, — уротензин I и уротензин II. На нескольких видах морских рыб показано, что уротензин I стимулирует экскрецию Cl^- , а уротензин II — подавляет (Marshall, 2019). Детальное рассмотрение функции уротензинов выходит за рамки данного обзора, поскольку его темой является в основном регуляция ионного обмена в пресноводной среде.

Несмотря на разнообразие, многие системы ионной регуляции проявляют консерватизм. Консерватизм проявляется, во-первых, в сходстве белков-переносчиков, обеспечивающих транспорт ионов и в жабрах рыб, и в почках млекопитающих, включая человека. Во-вторых, довольно консервативны некоторые системы гормональной регуляции, например, структура и сигнальные пути паратгормона, кальцитонина, витамина D и их рецепторов.

Механизмы гормональной регуляции ионного обмена у рыб рассматриваются во многих обзорных статьях и монографиях (Bentley, 2002; Norris, Lopez, 2011; Dymowska et al., 2012; McCormick, 2012; Norris, Carr, 2013; Takei et al., 2014; Guh, Hwang, 2017; Baldisserotto, 2019; Yan, Hwang, 2019). Несмотря на столь активное изучение этих механизмов, остаются нерешенные вопросы. Так, имеются вопросы о двойственной роли кортизола, проявляющейся в адаптации рыб как к морской, так и к пресной воде. Кортизол — гормон стресса. Означает ли это, что стресс может способствовать адаптации к изменению солености среды? Проявляется ли это у всех рыб, в том числе у тех, которые претерпевают метаморфоз, связанный с нерестовой миграцией (лососевые, угревые)? Как это связано со стресс-реактивностью у разных видов рыб?

Известно также, что кортизол осуществляет как глюкокортикоидные, так и минералокортикоидные эффекты, причем и те, и другие эффекты осуществляются через глюкокортикоидные рецепторы (GR). До сих пор неясно, каков функциональный лиганд (лиганды) минералокортикоидных рецепторов (MR). Какова роль этих рецепторов? Одинакова ли она у рыб разных групп?

Механизм действия витамина D также является актуальной темой в исследованиях по биохимии рыб. Относительно этого гормона-витамина было много вопросов, часть из которых получила ответы лишь в последние годы. Откуда рыбы получают витамин D? Если для этого необходимо воздействие солнечного света, то как рыбы могут получить это воздействие, обитая на большой глубине под водой? Зачем у некоторых рыб накапливаются большие количества витамина D?

Как проявляется у рыб недостаточность витамина D?

Среди паракринных и аутокринных регуляторов в последние годы большое внимание уделяется так называемым газовым медиаторам, или газотрансмиттерам (gasotransmitters), к которым относятся, в частности, монооксид азота (NO), монооксид углерода (CO) и сероводород (H_2S). Возникают вопросы: передается ли воздействие таких сигнальных молекул от особи к особи, особенно у стайных рыб? Как эти молекулы взаимодействуют с промышленными загрязнителями? Насколько консервативны эффекты этих медиаторов?

Наличие большого количества регуляторов предполагает возможность пересечения их сигнальных путей (cross-talk). Примером пересечения сигнальных путей в механизмах осморегуляции является синергизм эффектов кортизола и соматотропина. Известно, что соматотропин увеличивает экспрессию рецепторов кортизола в жабрах данио-рерио, а также увеличивает чувствительность интерреналовой ткани почек к АКТГ. Однако взаимодействия возможны и между разными системами организма. Известно, что у млекопитающих глюкокортикоиды оказывают иммуносупрессивное действие. В какой степени эти эффекты проявляются у рыб разных экологических и систематических групп? Как это отражается на процессах осморегуляции?

Итак, механизмы регуляции ионного обмена рыб реализуются сложной системой ионоцитов, ионных каналов и гормонов, необходимых для их согласованной работы. Несмотря на значительные достижения биологии последних десятилетий, остаются многие вопросы, ответы на которые смогут быть получены в дальнейших исследованиях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках бюджетной темы № 0218-2019-0076 (№ г.р. АААА-А17-117031710039-3).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Abbas L., Hajhashemi S., Stead L.F. et al. Functional and developmental expression of a zebrafish Kir1.1

- (ROMK) potassium channel homologue Kcnj1 // *J. Physiol.* 2011. V. 589. № 6. P. 1489–1503.
- Abbink W., Flik G. Parathyroid hormone-related protein in teleost fish // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2007. V. 152. № 2–3. P. 243–251.
- Arakawa E., Hasegawa S., Kaneko T., Hirano T. Effects of changes in environmental calcium on prolactin secretion in Japanese eel, *Anguilla japonica* // *J. Comp. Physiol. B.* 1993. V. 163. №2. P. 99–106.
- Baldisserotto B. Fish osmoregulation / Eds B. Baldisserotto, J.M. Mancera Romero, B.G. Kapoor. Taylor & Francis Group: CRC Press, 2019. 540 p.
- Barimo J.F. Dogmas and controversies in the handling of nitrogenous wastes: ureotely and ammonia tolerance in early life stages of the gulf toadfish, *Opsanus beta* // *J. Exp. Biol.* 2004. V. 207. № 12. P. 2011–2020.
- Bayaa M., Vulesevic B., Esbaugh A. et al. The involvement of SLC26 anion transporters in chloride uptake in zebrafish (*Danio rerio*) larvae // *J. Exp. Biol.* 2009. V. 212. № 20. P. 3283–3295.
- Bentley P.J. The fishes // *Endocrines and osmoregulation: a comparative account in vertebrates.* Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2002. P. 187–231.
- Breves J.P., McCormick S.D., Karlstrom R.O. Prolactin and teleost ionocytes: new insights into cellular and molecular targets of prolactin in vertebrate epithelia // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2014. V. 203. P. 21–28.
- Chakrabarti P., Mukherjee D. Studies on the hypocalcemic actions of salmon calcitonin and ultimobranchial gland extracts in the freshwater teleost *Cyprinus carpio* // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1993. V. 90. № 3. P. 267–273.
- Chou M.-Y., Lin C.-H., Chao P.-L. et al. Stanniocalcin-1 controls ion regulation functions of ion-transporting epithelium other than calcium balance // *Int. J. Biol. Sci.* 2015. V. 11. №2. P. 122–132.
- Cruz S.A., Chao P.-L., Hwang P.-P. Cortisol promotes differentiation of epidermal ionocytes through Foxi3 transcription factors in zebrafish (*Danio rerio*) // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2013. V. 164. № 1. P. 249–257.
- Das C., Thraya M., Vijayan M.M. Nongenomic cortisol signaling in fish // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2018. V. 265. P. 121–127.
- Ditrich H. The origin of vertebrates: a hypothesis based on kidney development // *Zool. J. Linn. Soc.* 2007. V. 150. № 2. P. 435–441.
- Duval D., Durant S., Homo-Delarche F. Non-genomic effects of steroids interactions of steroid molecules with membrane structures and functions // *Biochim. Biophys. Acta Rev. Biomembr.* 1983. V. 737. № 3–4. P. 409–442.
- Dymowska A.K., Hwang P.-P., Goss G.G. Structure and function of ionocytes in the freshwater fish gill // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2012. V. 184. № 3. P. 282–292.
- Edwards S.L., Marshall W.S. Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes // *Euryhaline fishes* / Eds S.D. McCormick, A.P. Farrell, C.J. Brauner. V. 32. 2012. P. 1–44.
- Esaki M., Hoshijima K., Kobayashi S. et al. Visualization in zebrafish larvae of Na⁺ uptake in mitochondria-rich cells whose differentiation is dependent on foxi3a // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2007. V. 292. № 1. P. R470–R480.
- Esaki M., Hoshijima K., Nakamura N. et al. Mechanism of development of ionocytes rich in vacuolar-type H⁺-ATPase in the skin of zebrafish larvae // *Dev. Biol.* 2009. V. 329. № 1. P. 116–129.
- Evans D.H., Piermarini P.M., Choe K.P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste // *Physiol. Rev.* 2005. V. 85. № 1. P. 97–177.
- Flik G., Atsma W., Fenwick J.C. et al. Homologous recombinant growth hormone and calcium metabolism in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, adapted to fresh water // *J. Exp. Biol.* 1993. V. 185. № 1. P. 107–119.
- Flik G., Perry S.F. Cortisol stimulates whole body calcium uptake and the branchial calcium pump in freshwater rainbow trout // *J. Endocrinol.* 1989. V. 120. № 1. P. 75–82.
- Flik G., Fenwick J.C., Wendelaar Bonga S.E. Calcitropic actions of prolactin in freshwater North American eel (*Anguilla rostrata* LeSueur) // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 1989a. V. 257. № 1. P. R74–R79.
- Flik G., van der Velden J.A., Seegers H.C.M. et al. Prolactin cell activity and sodium fluxes in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) after long-term acclimation to acid water // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1989b. V. 75. № 1. P. 39–45.
- Fraser D.R. Evolutionary biology: mysteries of vitamin D in fish // *Vitamin D: Volume 1: Biochemistry, physiology and diagnostics.* Elsevier: Academic Press, 2018. P. 13–27.
- Fulton J., LeMoine C.M.R., Bucking C. et al. A waterborne chemical cue from Gulf toadfish, *Opsanus beta*, prompts pulsatile urea excretion in conspecifics // *Physiol. Behav.* 2017. V. 171. P. 92–99.
- Gensure R.C., Ponugoti B., Gunes Y. et al. Identification and characterization of two parathyroid hormone-like molecules in zebrafish // *Endocrinology.* 2004. V. 145. № 4. P. 1634–1639.
- Graff L.E., Lie O., Aksnes L. *In vitro* hydroxylation of vitamin D₃ and 25-hydroxy vitamin D₃ in tissues of Atlantic salmon *Salmo salar*, Atlantic mackerel *Scomber scombrus*, Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* and Atlantic cod *Gadus morhua* // *Aquac. Nutr.* 1999. V. 5. № 1. P. 23–32.
- Guerreiro P.M., Renfro J.L., Power D.M. et al. The parathyroid hormone family of peptides: structure, tissue distribution, regulation, and potential functional roles in calcium and phosphate balance in fish // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2007. V. 292. № 2. P. R679–R696.
- Guh Y.-J., Hwang P.-P. Insights into molecular and cellular mechanisms of hormonal actions on fish ion regulation derived from the zebrafish model // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2017. V. 251. P. 12–20.
- Guh Y.-J., Lin C.-H., Hwang P.-P. Osmoregulation in zebrafish: ion transport mechanisms and functional regulation // *EXCLI J.* 2015. V. 14. P. 627–659.
- Guh Y.-J., Tseng Y.-C., Yang C.-Y., Hwang P.-P. Endothelin-1 regulates H⁺-ATPase-dependent transepithelial H⁺ secretion in zebrafish // *Endocrinology.* 2014. V. 155. № 5. P. 1728–1737.

- Guh Y.-J., Yang C.-Y., Liu S.-T. et al. Oestrogen-related receptor α is required for transepithelial H^+ secretion in zebrafish // Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 2016. V. 283. № 1825. P. 20152582.
- Hayes M.E., Guiland-Cumming D.F., Russell R.G.G., Henderson I.W. Metabolism of 25-hydroxycholecalciferol in a teleost fish, the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // Gen. Comp. Endocrinol. 1986. V. 64. № 1. P. 143–150.
- Hickman Jr. C.P. Ingestion, intestinal absorption, and elimination of seawater and salts in the southern flounder, *Paralichthys lethostigma* // Can. J. Zool. 1968. V. 46. № 3. P. 457–466.
- Hiroi J., McCormick S.D. New insights into gill ionocyte and ion transporter function in euryhaline and diadromous fish // Respir. Physiol. Neurobiol. 2012. V. 184. № 3. P. 257–268.
- Hoenderop J.G.J., Nilius B., Bindels R.J.M. Calcium absorption across epithelia // Physiol. Rev. 2005. V. 85. № 1. P. 373–422.
- Holden J.A., Layfield L.L., Matthews J.L. The zebrafish: atlas of macroscopic and microscopic anatomy. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2013. 147 p.
- Hopkins T.E., Wood C.M., Walsh P.J. Interactions of cortisol and nitrogen metabolism in the ureogenic gulf toadfish *Opsanus beta* // J. Exp. Biol. 1995. V. 198. № 10. P. 2229–2235.
- Horng J.-L., Lin L.-Y., Huang C.-J. et al. Knockdown of V-ATPase subunit A (atp6v1a) impairs acid secretion and ion balance in zebrafish (*Danio rerio*) // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. 2007. V. 292. № 5. P. R2068–R2076.
- Hoshijima K., Hirose S. Expression of endocrine genes in zebrafish larvae in response to environmental salinity // J. Endocrinol. 2007. V. 193. № 3. P. 481–491.
- Hwang P.-P., Chou M.-Y. Zebrafish as an animal model to study ion homeostasis // Pflügers Arch. Eur. J. Physiol. 2013. V. 465. № 9. P. 1233–1247.
- Kahloon M.U., Aslam A.K., Aslam A.F. et al. Hyperkalemia induced failure of atrial and ventricular pacemaker capture // Int. J. Cardiol. 2005. V. 105. № 2. P. 224–226.
- Kakizawa S., Kaneko T., Hirano T. Elevation of plasma somatolactin concentrations during acidosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // J. Exp. Biol. 1996. V. 199. № 5. P. 1043–1051.
- Keys A., Willmer E.N. 'Chloride secreting cells' in the gills of fishes, with special reference to the common eel // J. Physiol. 1932. V. 76. № 3. P. 368–378.
- Kiilerich P., Kristiansen K., Madsen S.S. Cortisol regulation of ion transporter mRNA in Atlantic salmon gill and the effect of salinity on the signaling pathway // J. Endocrinol. 2007. V. 194. № 2. P. 417–427.
- Kohan D.E., Inscho E.W., Wesson D., Pollock D.M. Physiology of endothelin and the kidney // Comprehensive physiology. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2011. P. 883–919.
- Kumai Y., Bernier N.J., Perry S.F. Angiotensin-II promotes Na^+ uptake in larval zebrafish, *Danio rerio*, in acidic and ion-poor water // J. Endocrinol. 2014. V. 220. № 3. P. 195–205.
- Kumai Y., Nesan D., Vijayan M.M., Perry S.F. Cortisol regulates Na^+ uptake in zebrafish, *Danio rerio*, larvae via the glucocorticoid receptor // Mol. Cell. Endocrinol. 2012a. V. 364. № 1–2. P. 113–125.
- Kumai Y., Ward M.A.R., Perry S.F. β -Adrenergic regulation of Na^+ uptake by larval zebrafish *Danio rerio* in acidic and ion-poor environments // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. 2012. V. 303. № 10. P. R1031–R1041.
- Kwong R.W.M., Perry S.F. Cortisol regulates epithelial permeability and sodium losses in zebrafish exposed to acidic water // J. Endocrinol. 2013. V. 217. № 3. P. 253–264.
- Kwong R.W.M., Perry S.F. Hydrogen sulfide promotes calcium uptake in larval zebrafish // Am. J. Physiol. Physiol. 2015. V. 309. № 1. P. C60–C69.
- Lafont A.-G., Wang Y.-F., Chen G.-D. et al. Involvement of calcitonin and its receptor in the control of calcium-regulating genes and calcium homeostasis in zebrafish (*Danio rerio*) // J. Bone Miner. Res. 2011. V. 26. № 5. P. 1072–1083.
- Lee Y.-C., Yan J.-J., Cruz S.A. et al. Anion exchanger 1b, but not sodium-bicarbonate cotransporter 1b, plays a role in transport functions of zebrafish H^+ -ATPase-rich cells // Am. J. Physiol. Physiol. 2011. V. 300. № 2. P. C295–C307.
- Liao B.-K., Chen R.-D., Hwang P.-P. Expression regulation of Na^+ - K^+ -ATPase $\alpha 1$ -subunit subtypes in zebrafish gill ionocytes // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. 2009. V. 296. № 6. P. R1897–R1906.
- Liao B.-K., Deng A.-N., Chen S.-C. et al. Expression and water calcium dependence of calcium transporter isoforms in zebrafish gill mitochondrion-rich cells // BMC Genomics. 2007. V. 8. № 1. P. 354.
- Lin H., Randall D.J. H^+ -ATPase activity in crude homogenates of fish gill tissue: inhibitor sensitivity and environmental and hormonal regulation // J. Exp. Biol. 1993. V. 180. № 1. P. 163–174.
- Lin L.-Y., Horng J.-L., Kunkel J.G., Hwang P.-P. Proton pump-rich cell secretes acid in skin of zebrafish larvae // Am. J. Physiol. Physiol. 2006. V. 290. № 2. P. C371–C378.
- Lin T.-Y., Liao B.-K., Horng J.-L. et al. Carbonic anhydrase 2-like a and 15a are involved in acid-base regulation and Na^+ uptake in zebrafish H^+ -ATPase-rich cells // Am. J. Physiol. Physiol. 2008. V. 294. № 5. P. C1250–C1260.
- Lin C.-H., Shih T.-H., Liu S.-T. et al. Cortisol regulates acid secretion of H^+ -ATPase-rich ionocytes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos // Front. Physiol. 2015. V. 6. P. 328.
- Lin C.-H., Su C.-H., Hwang P.-P. Calcium-sensing receptor mediates Ca^{2+} homeostasis by modulating expression of PTH and stanniocalcin // Endocrinology. 2014. V. 155. № 1. P. 56–67.
- Lin C.-H., Su C.-H., Tseng D.-Y. et al. Action of vitamin D and the receptor, VDR α , in calcium handling in zebrafish (*Danio rerio*) // PLoS One. 2012. V. 7. № 9. P. e45650.
- Lin C.-H., Tsai I.-L., Su C.-H. et al. Reverse effect of mammalian hypocalcemic cortisol in fish: cortisol stimulates Ca^{2+} uptake via glucocorticoid receptor-mediated vitamin D $_3$ metabolism // PLoS One. 2011. V. 6. № 8. P. e23689.

- Manzon L.A.* The role of prolactin in fish osmoregulation: a review // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2002. V. 125. № 2. P. 291–310.
- Marshall W.S.* Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} and Zn^{2+} transport by fish gills: retrospective review and prospective synthesis // *J. Exp. Zool.* 2002. V. 293. № 3. P. 264–283.
- Marshall W.S.* Rapid regulation of ion transport in mitochondrion-rich cells // *Fish osmoregulation.* CRC Press: Science Publishers, 2019. P. 395–426.
- Marshall W.S., Grosell M.* Ion transport, osmoregulation, and acid-base balance // *The physiology of fishes.* Taylor & Francis Group: CRC Press, 2006. P. 177–230.
- McCormick S.D.* Endocrine control of osmoregulation in teleost fish // *Am. Zool.* 2001. V. 41. № 4. P. 781–794.
- McCormick S.D.* Smolt physiology and endocrinology // *Euryhaline fishes.* Elsevier: Academic Press, 2012. P. 199–251.
- Nelson D.R.* Comparison of P450s from human and fugu: 420 million years of vertebrate P450 evolution // *Arch. Biochem. Biophys.* 2003. V. 409. № 1. P. 18–24.
- Norris D.O., Carr J.A.* Vertebrate endocrinology. Elsevier: Academic Press, 2013. 585 p.
- Norris D.O., Lopez K.H.* Hormones and reproduction of vertebrates, Volume 1: Fishes. Elsevier: Academic Press, 2011. 288 p.
- Okabe M., Graham A.* The origin of the parathyroid gland // *PNAS USA.* 2004. V. 101. № 51. P. 17716–17719.
- Pan T.-C., Liao B.-K., Huang C.-J. et al.* Epithelial Ca^{2+} channel expression and Ca^{2+} uptake in developing zebrafish // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2005. V. 289. № 4. P. R1202–R1211.
- Patschan D., Loddenkemper K., Buttgerit F.* Molecular mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis // *Bone.* 2001. V. 29. № 6. P. 498–505.
- Perry S.F., Vulesevic B., Grosell M., Bayaa M.* Evidence that SLC26 anion transporters mediate branchial chloride uptake in adult zebrafish (*Danio rerio*) // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2009. V. 297. № 4. P. R988–R997.
- Pickford G.E., Phillips J.G.* Prolactin, a factor in promoting survival of hypophysectomized killifish in fresh water // *Science.* 1959. V. 130. № 3373. P. 454–455.
- Pierson P.M., Lamers A., Flik G., Mayer-Gostan N.* The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2004. V. 137. № 3. P. 263–271.
- Potts W.T.W., Evans D.H.* The effects of hypophysectomy and bovine prolactin on salt fluxes in freshwater-adapted *Fundulus heteroclitus* // *Biol. Bull.* 1966. V. 131. № 2. P. 362–368.
- Reid S.G., Bernier N.J., Perry S.F.* The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release // *Comp. Biochem. Physiol. Part C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 1998. V. 120. № 1. P. 1–27.
- Sakamoto T., McCormick S.D.* Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2006. V. 147. № 1. P. 24–30.
- Sasayama Y., Suzuki N., Oguro C. et al.* Calcitonin of the stingray: comparison of the hypocalcemic activity with other calcitonins // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1992. V. 86. № 2. P. 269–274.
- Sasayama Y., Ukawa K.-I., Kai-Ya H. et al.* Goldfish calcitonin: purification, characterization, and hypocalcemic potency // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1993. V. 89. № 2. P. 189–194.
- Shahsavarani A., Perry S.F.* Hormonal and environmental regulation of epithelial calcium channel in gill of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2006. V. 291. № 5. P. R1490–R1498.
- Shaughnessy C.A., McCormick S.D.* Reduced thermal tolerance during salinity acclimation in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) can be rescued by prior treatment with cortisol // *J. Exp. Biol.* 2018. V. 221. № 6. P. jeb169557.
- Shih T.-H., Horng J.-L., Hwang P.-P., Lin L.-Y.* Ammonia excretion by the skin of zebrafish (*Danio rerio*) larvae // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2008. V. 295. № 6. P. C1625–C1632.
- Shih T.-H., Horng J.-L., Lai Y.-T., Lin L.-Y.* Rhcg1 and RhbG mediate ammonia excretion by ionocytes and keratinocytes in the skin of zebrafish larvae: H^+ -ATPase-linked active ammonia excretion by ionocytes // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2013. V. 304. № 12. P. R1130–R1138.
- Shih T.-H., Horng J.-L., Liu S.-T. et al.* Rhcg1 and NHE3b are involved in ammonium-dependent sodium uptake by zebrafish larvae acclimated to low-sodium water // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2012. V. 302. № 1. P. R84–R93.
- Smith H.W.* Water regulation and its evolution in the fishes // *Q. Rev. Biol.* 1932. V. 7. № 1. P. 1–26.
- Sundell K., Bishop J.E., Björnsson B.T., Norman A.W.* 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in the Atlantic cod: plasma levels, a plasma binding component, and organ distribution of a high affinity receptor // *Endocrinology.* 1992. V. 131. № 5. P. 2279–2286.
- Sundell K., Norman A.W., Björnsson B.T.* 1,25(OH) $_2$ vitamin D_3 increases ionized plasma calcium concentrations in the immature Atlantic cod *Gadus morhua* // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1993. V. 91. № 3. P. 344–351.
- Suzuki N., Danks J.A., Maruyama Y. et al.* Parathyroid hormone 1 (1–34) acts on the scales and involves calcium metabolism in goldfish // *Bone.* 2011. V. 48. № 5. P. 1186–1193.
- Swarup K., Das V.K., Norman A.W.* Dose-dependent vitamin D_3 and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 -induced hypercalcemia and hyperphosphatemia in male cyprinoid *Cyprinus carpio* // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Physiol.* 1991. V. 100. № 2. P. 445–447.
- Takei Y., Hiroi J., Takahashi H., Sakamoto T.* Diverse mechanisms for body fluid regulation in teleost fishes // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2014. V. 307. № 7. P. R778–R792.
- Takeuchi A.* Comparative studies on vitamin D in vertebrates, especially in fish // *Vitamins (Japan).* 1994. V. 68. P. 55–64.
- Torday J.S.* Evolution and cell physiology. 1. Cell signaling is all of biology // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2013. V. 305. № 7. P. C682–C689.
- Tseng D.-Y., Chou M.-Y., Tseng Y.-C. et al.* Effects of stanniocalcin 1 on calcium uptake in zebrafish (*Danio rerio*) embryo // *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 2009. V. 296. № 3. P. R549–R557.
- van Abel M., Hoenderop J.G.J., van der Kemp A.W.C.M. et al.* Coordinated control of renal Ca^{2+} transport proteins by parathyroid hormone // *Kidney Int.* 2005. V. 68. № 4. P. 1708–1721.

- Villena J.A., Kralli A. ERR α : a metabolic function for the oldest orphan // Trends Endocrinol. Metab. 2008. V. 19. № 8. P. 269–276.
- Wagner G.F., Hampong M., Park C.M., Copp D.H. Purification, characterization, and bioassay of teleocalcin, a glycoprotein from salmon corpuscles of *Stannius* // Gen. Comp. Endocrinol. 1986. V. 63. № 3. P. 481–491.
- Wagner C.A., Mohebbi N., Capasso G., Geibel J.P. The anion exchanger pendrin (SLC26A4) and renal acid-base homeostasis // Cell. Physiol. Biochem. 2011. V. 28. № 3. P. 497–504.
- Walsh P.J., Heitz M.J., Campbell C.E. et al. Molecular characterization of a urea transporter in the gill of the gulf toadfish (*Opsanus beta*) // J. Exp. Biol. 2000. V. 203. № 15. P. 2357–2364.
- Wang Y.-F., Tseng Y.-C., Yan J.-J. et al. Role of SLC12A10.2, a Na-Cl cotransporter-like protein, in a Cl uptake mechanism in zebrafish (*Danio rerio*) // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. 2009. V. 296. № 5. P. R1650–R1660.
- Wang Y.-F., Yan J.-J., Tseng Y.-C. et al. Molecular physiology of an extra-renal Cl⁻ uptake mechanism for body fluid Cl⁻ homeostasis // Int. J. Biol. Sci. 2015. V. 11. № 10. P. 1190–1203.
- Wesson D.E. Endothelins and kidney acidification // Endothelin in renal physiology and disease. Basel: Karger Medical and Scientific Publishers, 2011. P. 84–93.
- Wilkie M.P. Ammonia excretion and urea handling by fish gills: present understanding and future research challenges // J. Exp. Zool. 2002. V. 293. № 3. P. 284–301.
- Wilkie M.P., Wood C.M. The adaptations of fish to extremely alkaline environments // Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol. 1996. V. 113. № 4. P. 665–673.
- Wilson J.M., Laurent P. Fish gill morphology: inside out // J. Exp. Zool. 2002. V. 293. № 3. P. 192–213.
- Wongdee K., Charoenphandhu N. Regulation of epithelial calcium transport by prolactin: from fish to mammals // Gen. Comp. Endocrinol. 2013. V. 181. P. 235–240.
- Wood C., Hopkins T., Hogstrand C., Walsh P. Pulsatile urea excretion in the ureagenic toadfish *Opsanus beta*: an analysis of rates and routes // J. Exp. Biol. 1995. V. 198. № 8. P. 1729–1741.
- Wood C., Hopkins T., Walsh P. Pulsatile urea excretion in the toadfish (*Opsanus beta*) is due to a pulsatile excretion mechanism, not a pulsatile production mechanism // J. Exp. Biol. 1997. V. 200. № 6. P. 1039–1046.
- Wood C.M., Gilmour K.M., Perry S.F. et al. Pulsatile urea excretion in gulf toadfish (*Opsanus beta*): evidence for activation of a specific facilitated diffusion transport system // J. Exp. Biol. 1998. V. 201. № 6. P. 805–817.
- Wood C.M., McDonald M.D., Sundin L. et al. Pulsatile urea excretion in the gulf toadfish: mechanisms and controls // Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol. 2003. V. 136. № 4. P. 667–684.
- Wood C.M., Warne J.M., Wang Y. et al. Do circulating plasma AVT and/or cortisol levels control pulsatile urea excretion in the gulf toadfish (*Opsanus beta*)? // Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol. 2001. V. 129. № 4. P. 859–872.
- Wright P.A., Wood C.M. Seven things fish know about ammonia and we don't // Respir. Physiol. Neurobiol. 2012. V. 184. № 3. P. 231–240.
- Wright P.A., Randall D.J., Perry S.F. Fish gill water boundary layer: a site of linkage between carbon dioxide and ammonia excretion // J. Comp. Physiol. B. 1989. V. 158. № 6. P. 627–635.
- Wu S.-C., Horng J.-L., Liu S.-T. et al. Ammonium-dependent sodium uptake in mitochondrion-rich cells of medaka (*Oryzias latipes*) larvae // Am. J. Physiol. Physiol. 2010. V. 298. № 2. P. C237–C250.
- Yan J.-J., Chou M.-Y., Kaneko T., Hwang P.-P. Gene expression of Na⁺/H⁺ exchanger in zebrafish H⁺-ATPase-rich cells during acclimation to low-Na⁺ and acidic environments // Am. J. Physiol. Physiol. 2007. V. 293. № 6. P. C1814–C1823.
- Yan J.-J., Hwang P.-P. Novel discoveries in acid-base regulation and osmoregulation: a review of selected hormonal actions in zebrafish and medaka // Gen. Comp. Endocrinol. 2019. V. 277. P. 20–29.
- Yeung B.H.Y., Law A.Y.S., Wong C.K.C. Evolution and roles of stanniocalcin // Mol. Cell. Endocrinol. 2012. V. 349. № 2. P. 272–280.
- Zhu T., Zhang T., Wang Y. et al. Effects of growth hormone (GH) transgene and nutrition on growth and bone development in common carp // J. Exp. Zool. Part A Ecol. Genet. Physiol. 2013. V. 319. № 8. P. 451–460.

Hormonal Regulation of Ion Exchange in Fish

N. L. Rendakov*

Institute of Biology, Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

*e-mail: nrend@mail.ru

Data on gill ionocyte functions and on effects of hormones on ion exchange in fish are summarized. Ionocytes HR (H⁺-ATPase-rich), NaR (Na⁺/K⁺-ATPase-rich), NCCC (Na⁺-Cl⁻-cotransporters expressing cells), SLC26C (solute carrier 26 expressing cells) and KE (K⁺-excreting cells) found in freshwater zebrafish are described. Information on the functions of each type of ionocytes, as well as on the ion transporters characteristic of them, is given. The current data on hormones that have positive and negative effects on Ca²⁺, Na⁺, Cl⁻, H⁺ and NH₄⁺ transport through the gills are presented. Unresolved issues in the field of hormonal regulation of ion exchange in fish are listed, and further research directions are outlined.

Keywords: hormones, ionocytes, ion exchange, osmoregulation