

УДК 591

ОВОДНЕНИЕ ООЦИТОВ КОСТИСТЫХ РЫБ

© 2010 г. М. Н. Скоблина

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

119334 Москва, ул. Вавилова, д. 26

E-mail: skoblina38@mail.ru

Поступила в редакцию 02.02.09 г.

Окончательный вариант получен 23.04.09 г.

Собраны данные об оводнении ооцитов костистых рыб в процессе созревания, стимулированного *in vivo* или *in vitro* гонадотропными или стероидными гормонами. Рассматриваются причины оводнения, его динамика и некоторые механизмы, обеспечивающие поступление воды и ионов в ооцит.

Ключевые слова: ооцит, фолликул, созревание, оводнение, овуляция, гонадотропные гормоны, стероиды, бентосные яйца, пелагические яйца, щелевые контакты, протеолиз белков желтка, неорганические ионы, аквапорины, мембранный рецептор прогестагенов, ядерный рецептор прогестагенов, костистые рыбы.

Более 100 лет тому назад Фултон показал, что целый ряд морских костистых рыб выметывает прозрачные пелагические яйца. Перед выметыванием ооциты в яичнике непрозрачные и одновременно с приобретением прозрачности резко увеличиваются в объеме, при этом снижается удельная плотность яйца, так что оно становится способным плавать в морской воде обычной плотности, т. е. становится пелагическим (Fulton, 1891). Автор установил, что подобные изменения происходят и при созревании тонущих (бентосных) яиц, но в этом случае количество абсорбированной жидкости гораздо меньше (Fulton, 1898). Долгие годы эти данные не привлекали внимания, однако позднее оводнение ооцитов некоторых костистых рыб, описанное Фултоном, наблюдали и другие исследователи, кроме того, было описано оводнение ооцитов и других видов костистых рыб. Оказалось, что изменение объема ооцитов невелико у пресноводных рыб и у рыб, выметывающих икру в солоноватую воду (Hisose, 1976; Iwamatsu, 1978; Wallace, Selman, 1978, 1979; Craik, Harvey, 1984, 1986; Selman et al., 1993). У рыб, выметывающих яйца в морскую воду, объем яиц увеличивается многократно, иногда в сотни раз (Wallace, Selman, 1981; Craik, Harvey, 1984, 1986; Watanabe, Kuo, 1986; LaFleur, Thomas, 1991).

Первичной причиной увеличения объема и веса фолликула является увеличение содержания воды (Greeley et al., 1991). Считается, что оводнение ооцитов костистых рыб в процессе созревания является уникальным явлением среди позвоночных (Wallace, Selman, 1978).

Оводнение ооцита оценивают, измеряя увеличение его объема (Greeley et al., 1986, 1991; Finn et al., 2002a, Chen et al., 2003), сырого веса (Greeley et al.,

1991; Milla et al., 2006) или содержания в нем воды (Craik, Harvey, 1987; Finn et al., 2002a; Chen et al., 2003).

Остановимся на некоторых характерных особенностях процесса оводнения ооцитов костистых рыб. В литературных источниках рассматриваются две причины увеличения поступления воды в ооциты: накопление пептидов и свободных аминокислот (САК), возникающих при гидролизе белков желтка ооцита, и накопление неорганических ионов.

РОЛЬ САК И БЕЛКОВ В ОВОДНЕНИИ

Хорошо известно, что рост ооцита в фолликуле происходит преимущественно благодаря накоплению синтезированного печенью белка желтка — вителлогенина. Попав в ооцит, вителлогенин претерпевает частичный процессинг и накапливается в желточных гранулах. У многих костистых рыб в процессе созревания ооцитов (критерием созревания обычно служит разрушение ядра ооцита — зародышевого пузырька, РЗП) происходит дополнительное расщепление белков желтка протеолитическими ферментами лизосом. Эти ферменты активируются в ооците в процессе созревания в определенное время (Carnevali et al., 2006). Механизм избирательного процессинга определенных белков желтка не известен (Patino, Sullivan, 2002).

О протеазах, участвующих в процессинге белков желтка при созревании ооцитов рыб, выметывающих пелагические и бентосные яйца, известно немного. У дорады (*Sparus auratus*) в протеолизе белков желтка участвует катепсин L (Carnevalli et al., 1999), у данио (*Danio rerio*) — катепсины В и L (Carnevalli et al., 2006), у вераспера (*Verasper moseri*) (Matsubara et al.,

2003) и обыкновенного фундулюса (*Fundulus heteroclitus*) (Raldua et al., 2006) – катепсин В. Почему у разных рыб в этом процессе участвуют разные протеазы, неясно.

Локализация катепсинов определена в ооцитах обыкновенного фундулюса. Все катепсины (в крупных вителлогенных фолликулах фундулюса иммуноцитохимически выявляются катепсины L, В, F) окружают желточные глобулы. В процессе созревания ооцитов *in vitro* под действием мейозиндуцирующего стероида (МИС) катепсин F исчезает, катепсин L инактивируется, а катепсин В превращается из профермента в активный фермент, который выявляется по краям центральной массы жидкого желтка, где сливаются желточные глобулы (Raldua et al., 2006).

Данные о подавляющем влиянии бафиломицина А₁, специфического ингибитора вакуолярной протонной АТФазы (V-АТФазы), на оводнение ооцитов черного каменного окуня (*Centropristes striata*) (Selman et al., 2001), фундулюса (Raldua et al., 2006) и догады (Fabra et al., 2006) указывают на то, что рН, по-видимому, является ключевым регулятором деградации белков желтка. Измерения рН цитоплазмы проведены в созревающих ооцитах вераспера (Matsubara et al., 2003) и обыкновенного фундулюса (Raldua et al., 2006). Показано, что в процессе созревания ооцитов происходит резкое снижение рН цитоплазмы, он снова становится нейтральным в зрелом ооците перед овуляцией (Matsubara et al., 2003; Raldua et al., 2006). Предполагается, что изменения рН у вераспера контролируются МИС (Matsubara et al., 2003), у фундулюса подкисленная цитоплазма вокруг желточных глобул обнаружена в ооцитах до их обработки МИС. Это хорошо согласуется с увеличением энзиматической активности катепсина В в не обработанных МИС фолликулах фундулюса, хотя ее увеличение несколько ниже, чем в созревающих ооцитах (Raldua et al., 2006).

Стройную гипотезу о роли протеолиза белков желтка в оводнении ооцитов создал Грилей с соавторами (Greeley et al., 1986). Чтобы лучше понять связь между оводнением и протеолизом белков желтка, сравнили протеолиз в ооцитах костистых рыб, выметывающих яйца в пресную, солоноватую (бентосные яйца) и морскую воду (пелагические яйца). Размер (диаметр) ооцитов пресноводных костистых рыб в процессе созревания меняется мало. Так, у чернополосой цихлозома (*Cichlosoma nigrofasciatum*), золотой рыбки (*Carasius auratus*) и обыкновенной тернеции (*Gymnocorymbus ternetzi*) изменения диаметра не обнаружено. У суматранского барбуса (*Barbus tetrazona*) диаметр ооцита увеличивается с 0.85 до 0.90 мм (5.9%), а у трехлинейного разбора (*Rasbora trilineata*) – с 0.74 до 0.80 мм (8.1%) (Greeley et al., 1986). Данные об оводнении ооцитов в процессе созревания недавно получены для радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*). В этом случае оводнение измеряли по разнице сырого веса ооцитов и яиц.

Оно оказалось равным в среднем 24.7% (Milla et al., 2006).

Белки ооцитов пресноводных рыб при созревании изменяются мало. У чернополосой цихлозома, золотой рыбки и обыкновенной тернеции они до и после созревания практически идентичны. Только у суматранского барбуса и трехлинейного разбора, размер ооцитов которых изменяется в процессе созревания, происходит заметный протеолиз белков желтка. Но и у них изменения минимальны, они касаются, главным образом, увеличения концентрации одного большого белка желтка (98–100 кДа) за счет снижения концентрации других (109–118 кДа). Кроме того, у них увеличивается концентрация минорного белка с молекулярной массой 25 кДа. Несмотря на довольно значительное (по сравнению с барбусом и разбором) оводнение ооцитов радужной форели, электрофореграммы ее ооцита перед созреванием и овулировавшего яйца оказались практически идентичными. Это позволяет предполагать, что в процессе созревания и овуляции ооцитов форели протеолиз белков желтка не происходит или он очень незначителен (Milla et al., 2006).

В процессе созревания ооцитов у рыб, выметывающих яйца в солоноватую воду, диаметр ооцитов увеличивается в разной степени. Так, у обыкновенного фундулюса он увеличивается с 1.4 до 2.0 мм (42.8%), у большого фундулюса (*F. grandis*) – с 1.6 до 2.2 мм (37.5%), у майского фундулюса (*F. majalis*) – с 1.7 до 2.5 мм (47%). У изменчивого карапузика (*Cypripinodon variegates*) диаметр ооцитов увеличивается с 0.85 до 1.2 мм (41%), у хомодеса (*Chasmodes saburrae*) – с 0.80 до 1.00 мм (25%), у пятнистого дормитатора (*Dormitator maculatus*) – с 0.28 до 0.30 мм (7%), у гобиемеллуса (*Gobionellus boleosoma*) – с 0.25 до 0.33 мм (32%). Таким образом, у пятнистого дормитатора диаметр ооцита увеличивается менее чем на 10%, в то время как у изменчивого карапузика и трех видов фундулюса – на 40–50%.

У трех видов фундулюса в процессе созревания ооцитов самый большой белок с молекулярной массой 123 кДа исчезает, но увеличивается концентрация белков с меньшими молекулярными массами (103, 77, 42, 25 и 19 кДа). У изменчивого карапузика, хомодеса, гобиемеллуса и пятнистого дормитатора белки ооцита в процессе созревания изменяются сходным образом. Увеличение диаметра ооцита, по-видимому, коррелирует со степенью изменения белков в процессе созревания. В ооцитах, диаметр которых увеличивается в большей степени (виды фундулюса и карапузик), происходят относительно более выраженные изменения белков желтка при созревании, чем в ооцитах, диаметр которых в процессе созревания увеличивается незначительно (пятнистый дормитатор), и происходят относительно небольшие изменения белков.

Бросающимся в глаза различием между пресноводными видами, с одной стороны, и видами, выметывающими тонущие яйца в солоноватую воду, с

другой, является судьба белка с приблизительной молекулярной массой 160 кДа в незрелых ооцитах чернополосой цихлазомы, пятнистого дормитатора и гобионеллуса. В то время как у пресноводного вида чернополосой цихлазомы этот белок еще есть в созревших ооцитах, у видов, выметывающих яйца в солоноватую воду, — пятнистого дормитатора и гобионеллуса — он полностью исчезает в процессе созревания.

Ооциты морских видов с пелагическими яйцами поглощают огромное количество воды, и их диаметр увеличивается во много раз (Greeley et al., 1986), соответственно, у них и изменения белков ооцитов в процессе созревания наиболее значительны. У всех этих видов наиболее крупный основной белок желтка (104–108 кДа) при созревании полностью исчезает, в то время как концентрация белка меньшего размера (90 кДа) увеличивается. Исключение составляет черная кефаль (*Mugil cephalus*), у которой концентрация даже этого белка при созревании снижается, а концентрация более мелких белков при созревании ооцитов снижается или они исчезают вовсе, в результате чего в зрелых яйцах появляются еще более мелкие и многочисленные белки или увеличивается их концентрация (Greeley et al., 1986).

Высокофосфорилированные белки обычно не представлены в ооцитах и яйцах пресноводных рыб; в тех случаях, когда они обнаружены, белки не претерпевают существенных изменений. У морских и эстуарных костистых рыб, выметывающих тонущие яйца, высокофосфорилированные белки ооцитов в яйцах замещены более мелкими, столь же фосфорилированными белками. У морских видов с пелагическими яйцами высокофосфорилированные белки полностью исчезают в процессе созревания (Greeley et al., 1986).

Детальное исследование оводнения ооцитов обыкновенного фундулюса, широко используемого в лабораторной практике, показало, что действительное соотношение между протеолизом белков желтка и оводнением сложнее, чем представлялось ранее (Greeley et al., 1986). Макферсон с соавторами (McPherson et al., 1989) стимулировали созревание ооцитов обыкновенного фундулюса МИС *in vitro* и инкубировали их в средах, подавляющих оводнение (вазелиновое масло или солевой раствор без ионов калия), или перед обработкой МИС удаляли фолликулярные оболочки (что тоже подавляло оводнение ооцитов). Во всех случаях ооциты созревали, но не оводнялись, хотя протеолиз белков оказался сходным (McPherson et al., 1989). Дальнейшее исследование роли протеолиза белков желтка в оводнении ооцитов фундулюса проведено Ралдуа с соавторами (Raldua et al., 2006). Оказалось, что при подавлении бафиломицином A_1 протеолиза в ооцитах фундулюса, созревающих *in vitro* в среде, содержащей ионы калия, их поступление в ооцит снижалось и так же резко снижалось последующее оводнение (Raldua et al., 2006). Авторы считают, что подавление

протеолиза белков желтка *in vivo* может снизить создание новых мест связывания ионов калия в ооците, предотвращая их накопление пассивной диффузией из капилляров и снижая увеличение осмотического давления в ооците. Таким образом, облегченное протеолизом накопление ионов калия в ооците по электрохимическому градиенту могло бы служить физиологическим механизмом, участвующим в оводнении ооцитов фундулюса. Предполагается также, что оводнение ооцитов рыб обеспечивается и/или регулируется самим ооцитом, а не фолликулярными клетками (Raldua et al., 2006). Этому предположению противоречат упоминавшиеся данные Макферсона с соавторами (McPherson et al., 1989), поскольку удаление фолликулярных клеток, окружающих ооциты фундулюса, которые обработаны МИС в среде с ионами калия, не нарушает протеолиз и созревание, но подавляет оводнение. Фолликулярные клетки, так или иначе, участвуют в оводнении ооцитов фундулюса.

В целом гипотеза Грилея с соавторами (Greeley et al., 1986), по-видимому, сохраняет актуальность. Во всяком случае, в одном из последних обзоров (Carnevali et al., 2006) речь идет о положительной корреляции между оводнением ооцита и образованием САК и более мелких белков в процессе протеолиза. Бентосные яйца имеют небольшой пул САК, что коррелирует с частичной деградацией белков желтка с более высокой молекулярной массой. В пелагических яйцах пул САК относительно велик, что совпадает с исчезновением некоторых белков желтка. Это хорошо видно на примере четырех видов одного семейства губановых с бентосными или пелагическими яйцами. Бентосные яйца и ооциты обоих типов имеют небольшой пул САК, в котором доминирует таурин; пелагические яйца имеют большой пул САК с приблизительно одинаковым количеством заменимых и незаменимых аминокислот. У двух видов с бентосными яйцами — радужного (*Labrus bergylta*) и красного (*L. mixtus*) губанов — САК в процессе созревания ооцитов не образуются, и профиль белков желтка остается практически постоянным. У третьего вида с бентосными яйцами — темнополового губана (*Crenilabrus melops*) — в ооцитах происходит частичная деградация белка с молекулярной массой 112 кДа и одновременно образуется небольшой пул САК. У гребенчатого губана (*Stenolabrus rupestris*), вида с пелагическими яйцами, в ооцитах образуется большой пул САК, что совпадает с исчезновением белка с молекулярной массой 112 кДа (Finn et al., 2002b).

РОЛЬ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ИОНОВ В ОВОДНЕНИИ

Гипотеза, объясняющая увеличение поглощения воды ооцитом накоплением в нем неорганических ионов, была предложена Хирозом (Hirose, 1976). Действительно, показано, что в процессе созревания

ния в цитоплазме ооцита накапливаются неорганические ионы (Watanabe, Kuo, 1986; Craik, Harvey, 1987; Greeley et al., 1991). Чаще всего основной причиной поглощения воды ооцитами как *in vivo*, так и *in vitro*, является поступление ионов калия и в меньшей степени – натрия (Greeley et al., 1991; Wallace et al., 1992).

Ионы калия и натрия могут служить основным или даже единственным осмолитом, обеспечивающим поступление воды в ооциты рыб, выметывающих бентосные яйца (Greeley et al., 1991). Так, у обыкновенного фундулюса в поглощении воды созревающими *in vitro* ооцитами участвуют ионы калия и натрия (Greeley et al., 1991; Wallace et al., 1992). Концентрация ионов натрия увеличивается на протяжении всего созревания, а ионов калия – только до РЗП. При этом увеличение концентрации ионов калия вдвое превосходит увеличение таковой ионов натрия, а поступление ионов калия происходит быстрее, чем поступление воды, что приводит к новому увеличению концентрации ионов калия. Волас с соавторами (Wallace et al., 1992) показали также, используя среды без ионов натрия или калия, что оводнение, но не созревание, ооцитов обыкновенного фундулюса строго зависит от концентрации ионов калия в среде. Авторы сделали вывод о том, что этот катион является основной причиной осмотического поглощения воды при созревании ооцитов фундулюса (Wallace et al., 1992). В фолликулах медаки (*Oryzias latipes*) в течение созревания и овуляции *in vitro* увеличивалась концентрация ионов натрия (Hirose, Ishida, 1974; Hirose, 1976). У нильской тиляпии (*Tilapia nilotica*) (Babiker, Ibrahim, 1979) и аю (*Plecoglossus altivelis*) (Chen et al., 2003) индуцированной гормонами овуляции также предшествует увеличение концентрации ионов натрия. Интересно, что дополнительное увеличение их концентрации в ооцитах аю происходит при выметывании яиц, когда отмечено заметное увеличение объема яйца и содержания воды. В этот же период у аю отмечено небольшое поглощение ионов хлора. Концентрация ионов калия, кальция и магния поддерживается на приблизительно постоянном уровне (Chen et al., 2003). В процессе оводнения ооцитов атлантической сельди (*Clupea harengus*) больше всего увеличивается концентрация ионов хлора, однако основную роль в поглощении воды играют, по-видимому, ионы калия и фосфора: только их концентрации остаются постоянными, в то время как концентрации всех других ионов (хлора, натрия, аммония и магния) снижаются (Kristoffersen, Finn, личн. сообщение).

Резкое абсолютное увеличение концентрации ионов, связанное с оводнением, происходит и в ооцитах рыб с пелагической икрой. У атлантической трески (*Gadus morhua*), камбалы обыкновенной (*Pleuronectes plates*) (Craik, Harvey, 1984), камбалы малоголовой (*Microstomus kitt*) (Thorsen, Fhyn, 1991) и дорады (Fabra et al., 2005, 2006) при оводнении ооцитов значительно увеличивается концентрация ионов

калия и незначительно – натрия. У черного каменного окуня накапливаются ионы калия и натрия, но абсолютное количество калия вдвое превышает таковое натрия (Selman et al., 2001). В ооцитах крокера обыкновенного (*Micropogonias undulatus*) и пятнистого судачьего горбыля (*Cynoscion nebulosus*) в процессе оводнения *in vivo* накапливаются ионы калия, кальция и магния, но не натрия (LaFleur, Thomas, 1991). За оводнение ооцитов черной кефали (Watanabe, Kuo, 1986) ответственны ионы калия и хлора. Ионы хлора играют существенную роль в оводнении ооцитов атлантической трески (Thorsen et al., 1996) и атлантического палтуса (*Hippoglossus hippoglossus*). У палтуса концентрация ионов калия в ооцитах увеличивается главным образом после овуляции, вслед за быстрым увеличением концентрации ионов хлора и фосфора на ранних этапах оводнения (Finn et al., 2002a).

О механизмах, обеспечивающих накопление в ооцитах в процессе оводнения даже “основных” ионов – калия и натрия, известно немного. Исследование градиентов концентраций, существующих в процессе созревания ооцитов аю, помогает понять, какой транспортный механизм играет основную роль в регуляции поступления ионов калия и натрия в процессе созревания. Внутриклеточная концентрация ионов калия была значительно выше его концентрации в плазме крови. Концентрация ионов калия в ооците была выше, чем в плазме, в процессе созревания в 25.5–34.2 раза, в процессе овуляции – в 16.92 раза и при выметывании яиц – в 21.3 раза. С другой стороны, концентрация ионов натрия исходно была выше в плазме крови: на стадии созревания в 1.55–1.86 раза выше, чем в ооцитах, а на стадии овуляции – в 1.25 раза. Однако при выметывании икры это отношение изменяется: внутриклеточный уровень ионов натрия в ооците становится в 1.09 раза выше, чем в плазме. Диффузия ионов натрия по градиенту концентраций в начале процесса объясняет увеличение их концентрации в ооците в процессе созревания. Однако ясно, что ко времени выметывания икры должен функционировать активный механизм транспорта для обеспечения постоянного увеличения концентрации внутриклеточного натрия. Уровень внутриклеточного калия в ооците остается постоянным в процессе созревания. Для поддержания такого состояния должно происходить активное закачивание ионов калия в ооцит для противодействия градиенту концентраций, способствующему его выходу из ооцита. Таким образом, в то время как для достижения увеличения концентрации ионов натрия в созревающем ооците должны работать пассивные и активные транспортные системы, для поддержания концентрации ионов калия на одинаковом уровне должны работать активные потребляющие энергию механизмы (Chen et al., 2003).

Лафлер и Томас (LaFleur, Thomas 1991) выяснили роль Na^+ , K^+ -АТФазы в оводнении ооцитов рыб с

пелагическими яйцами — у обыкновенного крокера и пятнистого судачьего горбыля. У этих видов в процессе оводнения активность Na^+ , K^+ -АТФазы в ткани яичника увеличивается в три раза, а концентрация фермента на 50%. Кроме того, показано, что инкубация фолликулов обыкновенного крокера с оубаином или амилоридом — блокаторами Na^+ , K^+ -АТФазы и натриевых каналов соответственно — подавляет оводнение ооцитов, индуцированное гонадотропином. Авторы предполагают, что гонадотропин может регулировать активность и концентрацию Na^+ , K^+ -АТФазы, действуя на соматические клетки и/или ооцит. (Данных, свидетельствующих о действии гонадотропина непосредственно на ооцит, нет.) Чен с соавторами (Chen et al., 2003) обнаружили положительную корреляцию между изменением концентрации ионов натрия и калия и изменением активности Na^+ , K^+ -АТФазы в процессе оводнения яиц аю (коэффициент корреляции 0.972 и 0.887 при расчете на сухой и сырой вес соответственно) и предположили, что в активном транспорте ионов натрия в бентосные яйца тоже играет роль Na^+ , K^+ -АТФаза.

О регуляции активности и синтеза Na^+ , K^+ -АТФазы, участвующей в оводнении ооцитов в овариальном фолликуле рыб и ее клеточной локализации, данных нет. В опытах Воласа с соавторами на фолликулах обыкновенного фундулуса (Wallace et al., 1992) относительно высокие концентрации оубаина (10^{-5} М) не влияли на оводнение ооцитов *in vitro*, не влияли и различные ингибиторы ионных каналов. На основании этих данных авторы предполагают, что в оводнении ооцитов обыкновенного фундулуса типичная Na^+ , K^+ -АТФаза не участвует. Серда с соавторами (Serda et al., 2007) считают, что в фолликулах обыкновенного фундулуса, возможно, существует Na^+ , K^+ -АТФаза, нечувствительная к оубаину (Hansen, 2003). Предполагается, что в процессе оводнения может участвовать и альтернативный механизм — котранспорт Na^+ - K^+ -2 Cl^- (Wallace et al., 1992), который, как считается, задействован в механизмах регуляции объема в различных соматических клетках (Pedersen et al., 2006). Однако никаких данных об участии этого механизма в оводнении ооцитов нам найти не удалось.

Поскольку основным источником ионов для ооцита является плазма крови, непосредственно с ним не соприкасающаяся, скорее всего, ионы сначала попадают в фолликулярные клетки. Как они оказываются в ооците?

РОЛЬ ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ

Ранее уже упоминалось, что в отсутствие фолликулярных оболочек ооциты фундулуса не оводняются даже в той небольшой степени, в которой оводняются интактные фолликулы. Другими словами, фолликулярные клетки (клетки гранулезы) необходимы для оводнения ооцита (McPherson et al., 1989).

У пресноводных и морских костистых рыб межклеточные контакты между ооцитом и клетками гранулезы опосредуются различными структурами. Среди них особенно известны гетерологичные щелевые контакты, через которые из клетки в клетку могут переходить молекулы с молекулярной массой до 1200 кДа (Bruzzone et al., 1996). Одним из основных событий, происходящих при созревании ооцитов низших позвоночных, является втягивание отростков ооцита и клеток гранулезы, так что межклеточные контакты при подготовке ооцита к овуляции нарушаются (York et al., 1993).

Уже упоминалось, что оводнение окруженного фолликулярными оболочками ооцита строго зависит от присутствия ионов калия в среде (Wallace et al., 1992). При этом способность ионов калия обеспечивать оводнение фолликула постепенно утрачивается в процессе созревания, по мере того как ооцит теряет связь с окружающими фолликулярными клетками. Волас с соавторами предположили, что механизм поглощения ионов калия фолликулом локализован в фолликулярных клетках, а в ооцит ионы переносятся через гетерологичные щелевые контакты (Wallace et al., 1992). Для того чтобы охарактеризовать процесс более подробно, авторы удаляли различные слои фолликулярной оболочки. Обработка фолликулов стероидом после удаления верхних слоев фолликулярной оболочки (поверхностного эпителия и теки) и ооцита, лишенного всех оболочек, приводила к тому, что оводнение интактного фолликула составляло 68 и 16% соответственно. Несколько сниженное оводнение при удалении поверхностного эпителия и теки может объясняться частичной потерей в этом процессе фолликулярных клеток (Wallace et al., 1992).

Серда с соавторами (Serda et al., 1993) получили доказательства, подтверждающие роль щелевых контактов в оводнении ооцитов фундулуса. Они показали, что активатор протеинкиназы С (форболовый эфир форбол-12-миристат-13-ацетат) и 1-октанол, которые разобщают щелевые контакты, подавляют оводнение, стимулированное МИС в фолликулах фундулуса. Таким образом, переход ионов калия из фолликулярных клеток в ооцит у обыкновенного фундулуса может быть пассивным процессом, хотя точный механизм его накопления в клетках гранулезы неизвестен.

Для ооцитов рыб с пелагическими яйцами подобный обусловленный щелевыми контактами механизм перемещения ионов калия не показан. Однако обнаружен переход красителя между ооцитом и клетками гранулезы в достигших дефинитивного размера ооцитах обыкновенного крокера (Yoshizaki et al., 2001), что предполагает существование функционирующих щелевых контактов. Кроме того, у крокера и красного морского карася (*Pagrus major*) обработка фолликулов гонадотропином для приобретения компетенции к созреванию (и оводнению) сопровождается увеличением мРНК коннексинов

(белков щелевых контактов) и межклеточных контактов между ооцитом и клетками гранулезы (Chang et al., 2000; Choi, Takashima, 2000; Yoshizaki et al., 2001; Bolamba et al., 2003). Эти наблюдения хорошо согласуются с данными о роли щелевых контактов при перемещении ионов калия в созревающий ооцит рыб с пелагическими яйцами (Cerdea et al., 2007).

Увеличение концентрации ионов в процессе оводнения может быть обусловлено различными причинами. Так, подобное увеличение ионов фосфора связано, по-видимому, с дефосфорилированием определенных белков желтка, часто фосвитина (Kristoffersen, Finn, 2009). Кроме щелевых контактов в транспорте ионов могут, по-видимому, участвовать ионные каналы. Данные об увеличении концентрации ионов хлора в оволированных яйцах атлантической трески, атлантического палтуса и атлантической сельди (Thorsen et al., 1996; Finn et al., 2002a; Kristoffersen, Finn, личн. сообщение) свидетельствуют в пользу предположения о движении ионов хлора по электрохимическому градиенту (Thorsen et al., 1996) через хлорные каналы (Kristoffersen, Finn, личн. сообщение).

ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ ВКЛАД ИОНОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ ОСМОЛИТОВ В ОВОДНЕНИЕ ООЦИТОВ

У видов с пелагическими яйцами САК обычно играют заметную роль в оводнении ооцитов. Так, концентрация ионов натрия, калия и свободных аминокислот в процессе созревания ооцита черного каменного окуня увеличивается в 2, 4 и более чем в 10 раз соответственно (Selman et al., 2001). Однако вклад органических и неорганических осмолитов в оводнение ооцитов у разных видов рыб различен. Так, в оводнении ооцитов атлантического палтуса САК создают приблизительно 50% осмоляльности желтка, ионы хлора, калия, фосфора и аммония — остальные 50% (Finn et al., 2002a). В ооцитах камбалы и трески количество САК в процессе созревания увеличивается в 5 раз. При этом количество ионов значительно увеличивается при созревании ооцитов камбалы и гораздо меньше при созревании ооцитов трески (Craig, Harvey, 1987). Авторы приняли молекулярный вес аминокислот за 142 и рассчитали молярное отношение (аминокислоты/ионы калия + + ионы натрия). Оказалось, что у трески оно составляет 1.2 в ооцитах и 4.9 — в яйцах, а у камбалы — 1.3 и 1.6 соответственно. Это означает, что вклад аминокислот в оводнение созревающих ооцитов трески значительно больше, чем неорганических катионов, а у камбалы наоборот: вклад неорганических катионов гораздо существенней (Craig, Harvey, 1987).

В яйцах двух подвидов трески (отложенных в солоноватую и в морскую воду) САК составляют приблизительно половину от общего пула осмолитов (в солоноватой воде — 43, в морской — 56%). Другую

половину в обоих случаях составляют ионы хлора, аммония и калия. Концентрация ионов хлора и аммония в яйцах выше в солоноватой воде, чем в морской. Общее количество осмолитов в яйцах в солоноватой воде почти вдвое превышает таковое в морской воде. Однако если учесть объем, то окажется, что концентрации осмолитов почти сходны в обоих типах яиц (Thorsen et al., 1996).

Серда с соавторами (Cerdea et al., 2007) на основании литературных данных (Greeley et al., 1991; Chen et al., 2003) показали, что в бентосных яйцах ряда рыб концентрации САК (включая таурин) вместе с ионами калия и натрия могут объяснить не более 55% измеренной осмоляльности созревающего ооцита. Авторы пришли к выводу о том, что в механизме оводнения таких ооцитов могут участвовать и другие осмотические эффекторы. Как и у ооцитов рыб с пелагическими яйцами, в их оводнении могут принимать участие ионы хлора, кальция, магния, бикарбоната, аммония и т.д., концентрации которых не измерены (Cerdea et al., 2007). Недавно показано, что в бентосных яйцах атлантической сельди САК составляют 29% измеренной осмоляльности, остальное же приходится, главным образом, на долю ионов калия, фосфора, хлора и аммония (Kristoffersen, Finn, личн. сообщение).

Данных о последовательности процессов поступления ионов в ооциты и гидролиза белков желтка почти нет. У доразы гидролиз белков желтка и накопление ионов калия происходят практически одновременно. Действительно, гидролиз белка с молекулярной массой 103 кДа и снижение молекулярной массы белка с 96 до 90 кДа приблизительно совпадают со временем РЗП (между его миграцией и разрушением) и завершаются к окончательному созреванию (ооцит перед овуляцией с полностью прозрачной цитоплазмой и с одной жировой каплей). Ооцит накапливает ионы калия на протяжении созревания, но наибольшее их поступление, по-видимому, происходит со стадии РЗП до окончательного созревания (Fabra et al., 2006). Мнения о возможных взаимоотношениях между протеолизом белков желтка и поступлением ионов калия в ооциты различны. Так, Селман с соавторами (Selman et al., 2001) предполагают, что у черного каменного окуня, выметывающего пелагические яйца, оводнение ооцитов представляет собой двухступенчатый процесс: 1) поступление ионов калия способствует “разборке” кристаллического желтка и слиянию желточных сфер и 2) подкисление желточных сфер активирует протеолиз белков желтка и оводнение. С другой стороны, как уже отмечалось, Ралдуа с соавторами (Raldúa et al., 2006) считают, что поступление ионов калия в ооцит обыкновенного фундулюса, выметывающего бентосные яйца, может в значительной степени определяться протеолизом белков желтка, обеспечивающим образование новых мест связывания для ионов калия и их накопление. Однако пока оба предположения не доказаны для конкретных

изучаемых видов, нет оснований говорить о различных отношениях между протеолизом белков желтка и поступлением ионов калия в ооцитах видов с пелагическими и бентосными яйцами.

ДИНАМИКА ОВОДНЕНИЯ

У разных видов рыб оводнение происходит на разных стадиях созревания ооцитов. Увеличение размера фолликула фундулюса в процессе мейотического созревания *in vivo* можно соотнести со стадиями созревания ооцита (Wallace, Selman, 1978; Greeley et al., 1986). Размер фолликула начинает увеличиваться во время просветления желтка в начале созревания. Оводнение наиболее выражено между началом созревания и РЗП, когда объем фолликула удваивается. Увеличение объема продолжается и в преовуляторный период и завершается ко времени овуляции. Объем ооцита в фолликулах, содержащих преовуляторный ооцит, увеличивается в 2.5 раза по сравнению с исходным (Wallace, Selman, 1978; Greeley et al., 1986). У черной кефали содержание воды увеличивается с 59.6% в завершившем рост ооците до 85.3% на стадии выметывания икры (при этом оно увеличивается в процессе миграции ЗП на 9.39, до стадии овуляции – на 11.41 и до стадии выметывания икры – на 4.9%) (Chen et al., 2003). В ооцитах аю содержание воды увеличивается с 60.5% в завершившем рост ооците до 79.4% на стадии выметывания икры (при этом оно увеличивается в процессе миграции ЗП на 0.9, до стадии овуляции – на 8.3 и до стадии выметывания икры – на 9.7%) (Chen et al., 2003). Другими словами, в ооцитах фундулюса (Wallace, Selman, 1978; Greeley et al., 1986) и черной кефали оводнение происходит на протяжении всего процесса созревания, главным образом, между РЗП и овуляцией (Watanabe, Kuo, 1986), а у аю оно наиболее выражено во время овуляции и выметывания яиц. В это время в ооцитах аю дополнительно увеличивается концентрация ионов натрия (Chen et al., 2003). У медаки значительное увеличение содержания ионов натрия и воды происходит во время овуляции *in vitro*. Судя по приведенному в работе рисунку (Hirose, 1976), основное увеличение объема происходит после РЗП. У вьюна оводнение ооцита начинается в ходе созревания и продолжается во время овуляции – диаметр овулировавшего яйца достоверно выше диаметра оводненного неовулировавшего ооцита (Саат, 1980). Эти данные свидетельствуют о том, что различия в оводнении ооцитов у костистых рыб не только количественные, но и временные (Chen et al., 2003).

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА ОВОДНЕНИЕ

Поскольку оводнение ооцитов костистых рыб осуществляется во время созревания, считается, что его стимулирует МИС. Оводнение фолликулов вьюна *in vitro* различалось при разных гормональных

воздействиях. Самый высокий процент созревания и оводнения ооцитов вьюна получен при комбинированном воздействии на фолликулы прогестерона и хорионического гонадотропина (Саат, 1980).

Инъекции нильской тилапии кортизола, кортикостерона и эстрадиола стимулируют овуляцию и оводнение ооцитов. В результате такой обработки концентрация ионов натрия снижается в мышцах и увеличивается в яичнике. Тот же эффект вызывает и хорионический гонадотропин человека. Эстрон, эстриол и прогестерон не вызывают овуляцию, но влияют на содержание воды и концентрацию ионов натрия в мышцах и яичнике (Babiker, Ibrahim, 1979).

В опытах *in vitro* на ооцитах радужной форели обнаружено, что их оводнение может быть индуцировано *in vitro* 17,20β-дигидропрогестероном (17,20β-ДГП) и кортизолом, а созревание – только 17,20β-ДГП (Milla et al., 2006).

Показано, что ингибитор транскрипции актиномицин Д (АД) подавляет оводнение ооцитов обыкновенного крокера, стимулированное *in vitro* гонадотропином или гидрокортизоном. В тех же условиях созревание ооцитов, стимулированное этими гормонами, не подавляется АД (LaFleur, Thomas, 1991). Эти данные свидетельствуют о том, что в отличие от созревания в оводнении ооцитов важную роль играет классический (ядерный) прогестагеновый рецептор (Pinter, Thomas, 1995), участвующий в стимуляции овуляции (Pinter, Thomas, 1999). О том, что основными эффекторами оводнения ооцитов являются САК и неорганические ионы, говорилось достаточно подробно. Вероятно, ядро контролирует и поступление ионов, и образование САК. Уже отмечалось, что состав и активность ферментов, осуществляющих вторичный процессинг белков желтка, закономерно меняется в процессе созревания, стимулированного МИС (Carnevali et al., 2006; Raldua et al., 2006), и зависит от внутриклеточного pH (Matsubara et al., 2003; Raldua et al., 2006). Изменения последнего тоже активируются МИС (Matsubara et al., 2003). С другой стороны, показано, что кортизол в физиологических концентрациях способен вызывать оводнение ооцитов радужной форели без созревания. Такое оводнение сходно с индуцированным МИС, но влияние кортизола и МИС не аддитивно (Milla et al., 2006), т.е. механизмы действия этих гормонов на оводнение ооцитов отличаются. Более того, в ооцитах обыкновенного фундулюса протеолиз происходит в отсутствие стероида, хотя изменения объема практически отсутствуют, а созревания не происходит. Следовательно, протеолиз белков желтка у фундулюса не зависит от стероида (McPherson et al., 1989). Авторы считают, что специфический процессинг белков желтка и ядерное созревание у фундулюса – независимые процессы. Они предлагают два объяснения этому наблюдению: протеолитические процессы в ооците (до созревания или одновременно с ним) регулируются какими-то другими внешними или внутренними стимулами,

отличающимися от МИС, или протеолиз белков желтка происходит в ооците в отсутствие любых стимулов (McPherson et al., 1989). Подводя итог всему вышесказанному, приходится признать, что данные о гормональной регуляции оводнения ооцитов костистых рыб чрезвычайно противоречивы. Оводнение ооцитов, по-видимому, контролируется ядром, при этом оно может быть: 1) стимулировано МИС; 2) стимулировано какими-то (внешними или внутренними) стимулами, отличными от МИС (механизм действия которых отличен от такового МИС); 3) осуществляться в отсутствие любых стимулов. Поскольку в большинстве случаев опубликованные результаты получены на фолликулах одного–двух видов рыб, нельзя сказать, характерны ли они только для этого вида рыб или для многих. Не приведено никаких данных об оводнении незрелых ооцитов радужной форели после обработки кортизолом (Milla et al., 2006). Для того чтобы иметь более полное представление о гормональной регуляции оводнения ооцитов у разных видов костистых рыб, необходимо существенно расширить круг изучаемых объектов.

Очень необычны данные о роли рецепторов прогестерона в оводнении ооцитов. Оводнение, происходящее в процессе созревания ооцита, которое прогестерон стимулирует, связываясь с мембранным рецептором, регулируется ядерным рецептором гормона. Означает ли это, что для оводнения ооцитов необходимы оба рецептора? Данных о наличии ядерного рецептора прогестерона в фолликуле практически нет. Показано только, что он присутствует в яичнике пятнистого судачьего горбыля (Pinter, Thomas, 1995) и что хорионический гонадотропин человека вызывает 10-кратное увеличение количества мембранных рецепторов (Thomas, 1994), но никак не влияет на количество ядерных (Pinter, Thomas, 1999).

В последнее время появились данные об активности конкретных генов в преовуляторном яичнике радужной форели на различных стадиях созревания ооцитов (Vobe et al., 2006). Авторы обнаружили увеличение или снижение экспрессии более 300 генов, действие большинства которых ранее не изучали или было неизвестно в преовуляторном яичнике рыб. Для нас особенно интересно, что перед овуляцией наблюдали значительное увеличение экспрессии генов аквапорина-4 (*AQP4*) и педрина (*slc26*). К гену *AQP4* мы вернемся немного позже. Сейчас же остановимся на гене *slc26*, который кодирует переносчики ионов семейства независимых от натрия транспортеров хлора/иода. Количество мРНК гена *slc26* в процессе созревания и оводнения ооцита увеличивается в 1500 раз, а между ооцитами на стадии раннего и позднего вителлогенеза различий в количестве мРНК этого гена не обнаружено. Данные авторов свидетельствуют о том, что у пресноводных рыб (радужная форель) оводнение ооцитов обеспечивается переносчиками ионов (Vobe et al., 2006).

РОЛЬ АКВАПОРИНОВ В ПРОЦЕССЕ ОВОДНЕНИЯ ООЦИТОВ РЫБ

Вода может проникать в клетки благодаря диффузии через плазматическую мембрану или по аквапориновым водным каналам. Аквапорины представляют собой семейство небольших гидрофобных белков мембраны, облегчающих пассивное движение воды. Скорость диффузии непосредственно через мембрану очень мала, по каналам вода движется со скоростью, более высокой на один-два порядка. Для осуществления диффузии воды через клеточную мембрану затрачивается много энергии, химические ингибиторы процесса неизвестны. Энергия, необходимая для движения воды по каналам, невелика и эквивалентна энергии диффузии воды в массе раствора, а проницаемость большинства аквапоринов подавляется соединениями ртути. У млекопитающих обнаружено, по крайней мере, 13 аквапоринов, которые экспрессируются в различных тканях и отличаются различной регуляцией и избирательностью. Одни избирательно пропускают воду (аквапорины), другие – воду, глицерин и некоторые нейтральные молекулы (акваглицеропорины) (Agre et al., 2002; Agre, 2006). У микроорганизмов, растений, беспозвоночных и позвоночных животных известна структура более 200 аквапоринов, но роль многих из них пока остается не выясненной (Agre et al., 2002).

Рыбы, выметывающие плавающие, сильно оводненные яйца представляют очень хорошую модель для исследования возможной роли аквапоринов в оводнении ооцитов. Фабра с соавторами (Fabra et al., 2005) показали, что увеличение объема ооцита дорады после стимуляции МИС (17 α ,20 β -ДГП) происходит прогрессивно в течение приблизительно 10 ч, за это время объем ооцита увеличивается в 4,5, а содержание воды в – 1,4 раза. Оводнение ооцитов ускоряется в течение приблизительно 2 ч после завершения протеолиза основного белка желтка. Относительно быстрое увеличение объема ооцита дорады при мейотическом созревании согласуется с ролью водных каналов в этом процессе.

Из ткани яичника дорады был клонирован ген белка с характерными признаками аквапорина, структурно и функционально родственной *AQP1* млекопитающих и названный *Sparus aurata AQP1* яичника (*SaAQP1o*). В процессе роста и созревания ооцитов дорады уровень мРНК *SaAQP1o* не меняется. На ранних стадиях вителлогенеза он локализован в цитоплазме ооцита, в пузырьках, расположенных в кортикальной ооплазме, и в дальнейшем медленно смещается к плазматической мембране. Полное смещение *SaAQP1o* в микроворсинки плазматической мембраны обнаружено вскоре после разрушения ЗП и незадолго до завершения гидролиза соответствующих белков и пика поступления ионов калия, которые повышают осмотическое давление, приводящее к опосредованному *SaAQP1o* транспор-

ту воды (Fabra et al., 2005, 2006). Чтобы оценить функциональное значение *SaAQP1o*, окруженные фолликулярными оболочками ооциты дорады, претерпевающие оводнение *in vitro*, обрабатывали хлористой ртутью, которая дозозависимо подавляла их оводнение. Полученные результаты оказались сходными с результатами изменения под влиянием хлористой ртути проницаемости ооцитов шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*), экспрессирующими *SaAQP1o*, что служит еще одним доказательством роли этого белка в оводнении ооцитов дорады. Поступление воды из крови и овариальной жидкости может происходить и благодаря пассивной диффузии через мембраны фолликулярных клеток и ооцита. Физиологическая роль *SaAQP1o* может состоять в ускорении поглощения воды, что обеспечивает хорошо контролируемую систему. Авторы считают, что для более точного определения роли *SaAQP1o* в процессе оводнения ооцитов дорады необходимо использовать более специфические ингибиторы транспорта воды – специфические антитела или siРНК (Fabra et al., 2006).

Используя филогенетическую реконструкцию и геномный анализ, удалось показать, что костистые рыбы в отличие от тетрапод имеют два тесно связанных паралога гена *AQP1*, названные соответственно *Aqp1a* и *Aqp1b* (прежнее название *SaAQP1o*). Оба гена характерны только для костистых рыб. И тот и другой белки функционируют как водные каналы, но к оводнению ооцитов имеет отношение только *Aqp1b*.

Проницаемость для воды ооцитов шпорцевой лягушки, которым вводили мРНК *Aqp1b* дорады или угря, увеличивалась в восемь раз, *Aqp1b* сенегальской солеи (*Solea senegalensis*) – в шесть раз и *Aqp1b* данио – в четыре раза. Хлористая ртуть снижала проницаемость таких ооцитов, а β-меркаптоэтанол частично восстанавливал ее (Tingaud-Sequeira et al., 2008).

Функциональный ген *Aqp1b* экспрессируется в основном в яичниках морских и проходных рыб. Авторы исследовали характер экспрессии этого гена у костистых рыб, принадлежащих к различным таксономическим группам, которые характеризуются также различной репродуктивной стратегией. Определения были проведены на камбалообразных (морские), угревых (европейский угорь *Anguilla anguilla* проходной: живет в пресной воде и мигрирует в море для размножения), карпообразных – данио (строго пресноводный). ПЦР-анализ в реальном времени подтвердил, что у дорады, солеи и европейского угря транскрипты *Aqp1b* были обычными для зрелых (оводненных) яичников. В отличие от этого, у данио транскрипты *Aqp1b* обнаружены на более низком и сходном уровне в мозгу, яичниках и семенниках. Итак, характер экспрессии гена *Aqp1b* у пресноводных рыб или резко отличается от такового у видов, живущих в солоноватой или морской воде, или этот ген не обнаружен в их геноме (Tingaud-Sequeira et al., 2008).

Как уже отмечалось ранее, в преовуляторном яичнике радужной форели впервые наблюдали значительное увеличение экспрессии гена *AQP4*, кодирующего нечувствительный к ртути аквапорин-4. Количество мРНК гена *AQP4* увеличивается в шесть раз в поствителлогенезе и в двенадцать – на стадии созревания (Vobe et al., 2006). Показано, что проницаемость ооцитов шпорцевой лягушки, экспрессирующих *AQP4*, резко увеличивается (Hasegawa et al., 1994). Эти данные позволяют предполагать, что аквапорин-4 играет какую-то роль на заключительных этапах оогенеза у форели. О локализации его в фолликуле радужной форели ничего не известно (Vobe et al., 2006). Возможно, аквапорин-4 участвует в завершающих этапах оогенеза и у других животных. Недавно показано, например, что отсутствие у мышей гена *AQP4* приводит к снижению плодовитости: в результате индуцированной гормонами суперовуляции образуется меньше яйцеклеток и снижается размер зародышей (Sun et al., 2009).

ОВОДНЕНИЕ *in vivo* И *in vitro*

Оводнение ооцитов *in vivo* и *in vitro* сравнивали у обыкновенного фундулюса (Wallace, Selman, 1978; McPherson et al., 1989; Wallace et al., 1992), выюна (*Misgurnus fossilis*) (Саат, 1980), радужной форели (Milla et al., 2006) и у обыкновенной морской и малоголовой камбал (Thorsen, Fyhn, 1996). Оказалось, что оводнение ооцитов фундулюса и форели *in vitro* выражено слабее, чем *in vivo*. Так, у фундулюса ооциты оводняются *in vitro* меньше, чем *in vivo* приблизительно на 1/3, а у форели – на 8.8%. Показано, что у этих видов оводнение не связано с гидролизом белков желтка (McPherson et al., 1989; Milla et al., 2006), следовательно, оно связано с накоплением в ооцитах неорганических ионов. Изменением концентрации какого иона обусловлено оводнение ооцитов форели, неизвестно. У фундулюса оводнение фолликулов связано в основном с увеличением концентрации ионов калия: *in vitro* их накапливается 180 нМ/фолликул, а *in vivo* – 270 нМ/фолликул, что хорошо соответствует снижению увеличению объема (66%), наблюдаемому *in vitro* (Wallace et al., 1992).

Причиной сниженного поступления ионов калия *in vitro* может быть, по мнению авторов (Wallace et al., 1992), нарушение нормальных путей доставки катиона и присутствие эпителия, ограничивающего поступление иона из среды в ооцит. В опытах на фолликулах выюна *in vitro* использовано 11 сред. Оказалось, что при созревании ооцитов *in vivo* они обычно тоже оводняются сильнее, чем при созревании *in vitro* в разных средах, кроме модифицированной среды Вольфа и Квимби (Саат, 1980). Возможно, это связано с тем, что моляльность такой среды ниже остальных использованных сред. Торсен и Фин (Thorsen, Fyhn, 1996) показали, что созревшие *in vitro* ооциты двух видов камбалы имеют такую же

фракцию тотального пула аминокислот, присутствующих в свободной форме, как и яйца, оводненные *in vivo*, — вне зависимости от того, присутствовали ли САК в среде инкубации или нет. Пул САК в яйцах увеличивался в 10–15 раз по сравнению с таковым в ооцитах. Профили САК яиц были практически идентичны, за исключением того, что в ооцитах, созревших *in vitro*, концентрация таурина была ниже (Thorsen, Fyhn, 1996). Авторы предполагают, что основу осмотического давления, необходимого для поступления воды в ооциты, создает частичный гидролиз определенных белков до САК. К сожалению, не приведены диаметры ооцитов этих видов камбалы, созревших *in vivo* и *in vitro*, поэтому нельзя сказать, снижается ли оводнение их ооцитов при созревании *in vitro*, как это наблюдается у фундулуса и форели.

СВЯЗЬ ОВОДНЕНИЯ С СОЗРЕВАНИЕМ ООЦИТОВ

В норме оводнение ооцитов у большинства исследованных видов рыб происходит в процессе созревания, однако в опыте эти процессы могут быть разобщены. Уже упоминалось, что ооциты фундулуса созревают в отсутствие оводнения (McPherson et al., 1989; Wallace et al., 1992; Raldua et al., 2006). Созревание ооцитов без оводнения наблюдалось и у других костистых рыб. Показано, что после обработки ингибиторами тиоловых протеаз стимулированных МИС ооцитов данио (Carnevali et al., 2006) и бафиломицином A₁ ооцитов черного каменного окуня (Selman et al., 2001) и дорады (Fabra et al., 2006) в ооцитах исчезали кристаллические включения в желточных гранулах, сами ооциты становились прозрачными и претерпевали РЗП, не увеличиваясь в размере (Selman et al., 2001; Carnevali et al., 2006; Fabra et al., 2006). Более того, в ооцитах фундулуса обработка ингибитором практически не влияла на время РЗП по сравнению с контролем (Raldua et al., 2006). С другой стороны, уже говорилось о том, что оводнение ооцитов может происходить в отсутствие созревания. Напомним, что кортизол стимулирует оводнение ооцитов радужной форели *in vitro*, не вызывая их созревания (Milla et al., 2006), *in vivo* сходное явление наблюдалось в ооцитах тилапии (Babiker, Ibrahim, 1979). Процесс оводнения ооцитов без созревания совсем не изучен. До тех пор, пока не будет показано, что он аналогичен процессу, происходящему в созревающем ооците, нельзя исключить, что механизм этих процессов различен и они сходны лишь внешне. Напомним, что действие МИС и кортизола на оводнение ооцитов радужной форели не аддитивно.

ПРОТИВОРЕЧИЕ МЕЖДУ СНИЖЕНИЕМ ПРОНИЦАЕМОСТИ ООЦИТА В ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ И ОВОДНЕНИЕМ

Уже отмечалось, что в ооцитах медаки значительное увеличение содержания ионов натрия и воды происходит в процессе овуляции *in vitro*, в основном после РЗП (Hirose, 1976). С другой стороны, в процессе созревания ооцита медаки приобретают резистентность к условиям гипотонии перед выметыванием в воду, становясь менее проницаемыми для воды и мелких молекул нейтральных растворов: проницаемость для воды ооцитов медаки приблизительно в два раза выше на стадии ЗП, чем на МП. (Изменение проницаемости ооцитов не связано с изменением свойств хориона, поскольку его удаление на стадии МП не вызывало изменений объема ооцитов (Valdez et al., 2005).) Возникает определенное противоречие: наибольшее поглощение воды происходит на стадиях созревания ооцита, когда проницаемость его мембраны заметно снижается. Определение соотношения оводнения ооцита и проницаемости его мембраны необходимо, конечно, проводить на созревающих ооцитах одной самки. Было бы особенно интересно сравнить два эти параметра в ооцитах рыб, оводнение которых происходит на разных стадиях созревания.

РОЛЬ ОВОДНЕНИЯ В ОВУЛЯЦИИ

Показано, что у карпа (*Cyprinus carpio*) и золотой рыбки в процессе естественной и индуцированной гормоном овуляции содержание воды в яичнике у овулирующих самок выше, чем у неовулирующих (Clemens, Grant, 1964). Авторы пришли к выводу о том, что оводнение представляет собой часть процесса овуляции и его можно стимулировать экстрактом гипофиза. Сходные результаты получены для аю, у которой содержание воды в яичнике увеличивалось после инъекции хорионического гонадотропина человека (Hirose et al., 1974). Авторы также делают вывод о необходимости оводнения для овуляции ооцитов аю.

У лиманды иокогамской (*Limanda yokohamae*) процесс овуляции описан более подробно: инъекция хорионического гонадотропина человека способствует поглощению воды и увеличению веса рыбы на 20%. Через кровь большая часть воды попадает в яичник; 70% воды, поступающей в яичник самки, абсорбируется достигшими дефинитивного размера ооцитами, созревающими или овулирующими. Это приводит к увеличению объема ооцитов на 67% в течение 48 ч после инъекции гормона. В это время практически всегда происходит овуляция. Очень резкая абсорбция воды созревающим ооцитом может увеличивать внутреннее давление или натяжение оболочки фолликула, достаточное для того, чтобы вызвать их разрушение, т.е. овуляцию (Oshiro, Hibiya, 1981). Для медаки показано, что перед овуляцией фолликулярный слой постепенно диссоциирует, высказы-

вается предположение о том, что оводнение может механически способствовать разрушению фолликула (Pendergrass, Schroeder, 1976). Предполагается также, что оводнение играет важную роль в овуляции ооцитов пятнистого судачьего горбыля (Pinter, Thomas, 1999), дальневосточного морского карася (*Acanthopagrus schlegeli*) (Yueh, Chang, 2000) и радужной форели (Milla et al., 2006).

Между тем четкой корреляции между долей ооцитов выюна, овулировавших в разных средах и при разных гормональных воздействиях, и оводнением не обнаружено (Саат, 1980). Возможно, это отчасти связано с тем, что сравнивали средние проценты соответственно овулировавших ооцитов и оводнения их у пяти самок при очень значительном разбросе результатов. Кроме того, овуляция представляет собой чрезвычайно сложный процесс, и РЗП и оводнения ооцита явно недостаточно для его осуществления. Оводнение может быть необходимым, но недостаточным элементом процесса овуляции.

Из всего сказанного ясно, что наши представления о механизмах процесса оводнения ооцитов костистых рыб еще очень неполны, хотя в последние десятилетия достигнуты определенные успехи в исследовании этой проблемы. Так, выяснено, что основными осмолитами, обеспечивающими процесс оводнения, являются неорганические ионы (Hirose, 1976; Greely et al., 1991; Finn et al., 2002b) и САК, возникающие в процессе вторичного гидролиза белков желтка (Greeley et al., 1986; Finn et al., 2002a; Carnevali et al., 2006). Установлена положительная корреляция между образованием САК в процессе протеолиза и оводнением ооцита. Показано, что бентосные яйца имеют небольшой пул САК, что коррелирует с частичной деградацией белков желтка. В пелагических яйцах пул САК относительно велик, что совпадает с исчезновением некоторых белков желтка (Finn et al., 2002a; Carnevali et al., 2006).

Данные о подавляющем влиянии ингибитора вакуолярной протонной АТФазы на оводнение ооцитов ряда видов рыб (Selman et al., 2001; Fabra et al., 2006; Raldua et al., 2006) и измерения рН цитоплазмы в процессе созревания ооцитов (Matsubara et al., 2003; Raldua et al., 2006) свидетельствуют о том, что рН является ключевым регулятором деградации белков желтка. Однако о локализации и регуляции активности протонной АТФазы и активности ферментов, осуществляющих вторичный процессинг, практически ничего неизвестно. Неизвестен и механизм избирательного процессинга определенных белков желтка (Patino, Sullivan, 2002).

На основании сравнения концентраций ионов в ооците и внешней среде авторы обычно приходят к выводу о том, активные или пассивные механизмы участвуют в доставке ионов в ооцит, но какие именно — в большинстве случаев остается неизвестным. Роль Na^+ , K^+ -АТФазы в оводнении ооцитов показана только для обыкновенного крокера и пятнистого

судачьего горбыля (LaFleur, Thomas, 1991), о локализации фермента в фолликуле ничего не известно. Предположение о возможном участии в оводнении ооцитов котранспортера Na^+ - K^+ - 2Cl^- было высказано очень давно (Wallace et al., 1992), но так и не получило ни подтверждения, ни опровержения.

Участие фолликулярных клеток в доставке ионов в ооцит показано для обыкновенного фундулюса (McPherson et al., 1989). Вопрос о том, как ионы проникают в ооцит на стадиях, когда щелевые контакты между ооцитом и фолликулярными клетками перестали существовать, даже не ставится. Не высказано никаких предположений о механизме активного транспорта ионов натрия в овулировавшее яйцо аю (Chen et al., 2003) и ионов калия в овулировавшее яйцо палтуса (Finn et al., 2002a). В последнем случае такой транспорт могла бы обеспечивать Na^+ , K^+ -АТФаза, если она локализована в мембране ооцита и не интернализуется в процессе созревания, как это наблюдается в ооцитах шпорцевой лягушки (Richter et al., 1984) и испанского тритона (Canaux et al., 1995).

Некоторые очень существенные утверждения, переходящие из обзора в обзор, основаны на данных, полученных на ооцитах одного вида рыб. Это относится, например, к утверждениям о роли в оводнении ооцитов следующих факторов: активности генов (подавляющее влияние АД на стимулированное гормонами оводнение ооцитов описано только у обыкновенного крокера (LaFleur, Thomas, 1991)); классического прогестагенового рецептора (описан только у пятнистого судачьего горбыля (Pinter, Thomas, 1995)); щелевых контактов между фолликулярными клетками и ооцитом (подавляющее влияние ингибиторов щелевых контактов описано только у фундулюса (Cerda et al., 1993)) и т.д.

Оводнение ооцитов без созревания описано у двух видов нильской тилляпии (Babiker, Ibrahim, 1979) и радужной форели (Milla et al., 2006), однако никаких характеристик этого процесса не приводится.

В последнее время появились исследования роли аквапоринов в оводнении ооцитов костистых рыб (Fabra et al., 2005, 2006; Tingaud-Sequeira et al., 2008), однако остается непонятным, каковы механизмы поступления воды в созревшие и овулировавшие ооциты. Этот вопрос особенно интересен, поскольку обнаружено несоответствие между снижением проницаемости плазматической мембраны ооцита медаки при созревании (Valdez et al., 2005) и его оводнением на поздних стадиях созревания (Hirose, 1976).

Будем надеяться, что в дальнейших исследованиях процесса оводнения ооцитов костистых рыб будут получены ответы на большинство возникающих в настоящее время вопросов.

Автор выражает глубокую признательность Б.Ф. Гончарову и А.А. Минину за ценные замечания при подготовке статьи.

* * *

После того как обзор был сдан в печать, нам удалось познакомиться с еще одной работой, которая имеет прямое отношение к рассматриваемой теме (Kagawa et al., 2009). В этом исследовании авторы изучали механизм оводнения ооцитов японского речного угря *in vivo* и *in vitro*. Их выводы об участии фолликулярных клеток в процессе оводнения ооцитов угря, о независимости процесса оводнения от созревания ооцита, о том, что созревание и оводнение ооцитов регулируются разными гормонами, а также об участии аквапоринов в процессе оводнения хорошо согласуются с данными, приведенными в обзоре. Напротив, в отличие от авторов (Cerde et al., 1993), изучавших процесс оводнения ооцитов у фундулюса, Кагава с соавторами не обнаружили подавляющего влияния ингибиторов щелевых контактов на оводнение ооцитов японского угря и на основании этих данных пришли к предварительному выводу о том, что щелевые контакты не играют роль в оводнении. Однако, как признают сами авторы, окончательные выводы делать еще рано, поскольку они не выяснили, подавляют ли использованные ингибиторы проводимость щелевых контактов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Caam T.B. Созревание и овуляция ооцитов вьюна *in vitro* в разных средах и при разных гормональных воздействиях // Онтогенез. 1980. Т. 11. С. 545–554.
- Agre P. The aquaporin water channels // Proc. Am. Thorac. Soc. 2006. V. 3. P. 5–11.
- Agre P., King L.S., Yasui M. et al. Aquaporin water channels – from atomic structure to clinical medicine // J. Physiol. 2002. V. 542. P. 3–16.
- Babiker M.M., Ibrahim H. Studies on the biology of reproduction in the cichlid *Tilapia nilotica* (L.): effects of steroid and trophic hormones on ovulation and ovarian hydration // J. Fish. Biol. 1979. V. 15. P. 21–30.
- Bobé J., Montfort J., Nguyen T., Fostier A. Identification of new participants in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) oocyte maturation and ovulation processes using cDNA microarrays // Reprod. Biol. Endocrinol. 2006. V. 4. P. 39–55.
- Bolamba D., Patino R., Yoshizaki G., Thomas P. Changes in homologous and heterologous gap junction contacts during maturation-inducing hormone-dependent meiotic resumption in ovarian follicles of *Atlantic croaker* // Gen. Comp. Endocrinol. 2003. V. 131. P. 291–295.
- Bruzzone R., White T.W., Paul D.L. Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signaling // Eur. J. Biochem. 1996. V. 238. P. 1–27.
- Canaux S., Foulquier F., Duprat A.M., Moreau M. Regulation of Na⁺, K⁺ ATPase activity during meiotic maturation of *Pleurodeles waltl* oocytes. Role of calcium // Int. J. Devel. Biol. 1995. V. 39. P. 327–333.
- Carnevali O., Carletta R., Cambi A. et al. Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*: Involvement of two lysosomal proteinases // Biol. Reprod. 1999. V. 60. P. 140–146.
- Carnevali O., Cionna C., Tosti L. et al. Role of cathepsins in ovarian follicle growth and maturation // Gen. Comp. Endocrinol. 2006. V. 146. P. 195–203.
- Cerde J.L., Petrino T.R., Wallace R.A. Functional heterologous gap junctions in *Fundulus* ovarian follicles maintain meiotic arrest and permit hydration during oocyte maturation // Devel. Biol. 1993. V. 160. P. 228–235.
- Cerde J., Fabra M., Raldua D. Physiological and molecular basis of fish oocyte hydration // The fish oocyte / Eds. Babin P.J. et al. Netherlands: Springer, 2007. P. 349–396.
- Chang X., Patino R., Yoshizaki G. et al. Hormonal regulation and cellular distribution of connexin 32.2 and connexin 32.7 RNAs in the ovary of *Atlantic croaker* // Gen. Comp. Endocrinol. 2000. V. 120. P. 146–156.
- Chen Y.N., Hsieh S.L., Kuo C.M. Changes in oocyte and blood plasma osmotic components of ayu, *Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel during oocyte maturation // Aquaculture Res. 2003. V. 34. P. 859–867.
- Choi C.Y., Takashima F. Molecular cloning and hormonal control in the ovary of connexin 31.5 mRNA and correlation with the appearance of oocyte maturational competence in red seabream // J. Exp. Biol. 2000. V. 203. P. 3299–3306.
- Clemens H.P., Grant F.B. Gonadal hydration of carp (*Cyprinus carpio*) and goldfish (*Carassius auratus*) after injections of pituitary extracts // Zoologica. 1964. V. 49. P. 193–210.
- Craik J.C.A., Harvey S.M. Biochemical changes occurring during final maturation of eggs of some marine and freshwater teleosts // J. Fish Biol. 1984. V. 24. P. 599–610.
- Craik J.C.A., Harvey S.M. Phosphorus metabolism and water uptake during final maturation of ovaries of teleost with pelagic and demersal eggs // J. Marine Biol. 1986. V. 90. P. 285–289.
- Craik J.C.A., Harvey S.M. The causes of buoyancy in egg of marine teleosts // J. Mar. Biol. Assoc. 1987. V. 67. P. 169–182.
- Fabra M., Raldua D., Power D.M. et al. Marine fish egg hydration is aquaporin-mediated // Science. 2005. V. 307. P. 545.
- Fabra M., Raldua D., Bozzo M. et al. Yolk proteolysis and aquaporin-10 play essential roles to regulate fish oocyte hydration during meiosis resumption // Devel. Biol. 2006. V. 295. P. 250–262.
- Finn R.N., Ostby G.C., Norberg B., Fyhn H.J. *In vivo* oocyte hydration in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*); proteolytic liberation of free amino acids, and ion transport, are driving forces for osmotic water influx // J. Exp. Biol. 2002a. V. 205. P. 211–224.
- Finn R.N., Wamboldt M., Fyhn H.J. Differential processing of yolk proteins during oocyte hydration in fishes (Labridae) that spawn benthic and pelagic eggs // Mar. Ecol. Prog. 2002b. Ser. 237. P. 217–226.
- Fulton T.W. On the growth and maturation of the ovarian eggs of teleostean fishes // Fish. Broad. Scotland Ann. Rep. 1891. V. 9. P. 243–268.

- Fulton T.W. On the growth and maturation of the ovarian eggs of teleostean fishes // *Ibid.* 1898. V. 16. P. 88–134.
- Greeley M.S., Calder D.R., Wallace R.A. Changes in teleost yolk proteins during oocyte maturation: correlation of yolk proteolysis with oocyte hydration // *Comp. Biochem. Physiol.* 1986. V. 84B. P. 1–9.
- Greeley M.S., Hols H., Wallace R.A. Changes in size, hydration and low molecular weight osmotic effectors during meiotic maturation of *Fundulus* oocytes *in vivo* // *Ibid.* 1991. V. 100A. P. 639–647.
- Hansen O. Rat resistance vessels preferentially contain the ouabain-insensitive $\alpha 1$ isoform of Na, K-ATPase // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003. V. 986. P. 642–643.
- Hasegawa H., Ma T., Skach W. et al. Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 5497–5500.
- Hirose K. Endocrine control of ovulation in medaka (*Oryzias latipes*) and ayu (*Plecoglossus altivelis*) // *J. Fish. Res. Bd. Can.* 1976. V. 33. P. 989–994.
- Hirose K., Ishida R. Effects of cortisol and human chorionic gonadotropin (hCG) on ovulation in ayu *Plecoglossus altivelis* (Temminck and Schlegel) with special respects to water and ion balance // *J. Fish Biol.* 1974. V. 6 (5). P. 557–564.
- Hirose K., Hirano T., Ishida R. Effects of salmon gonadotropin on ovulation in ayu, *Plecoglossus altivelis*, with special reference to water balance // *Comp. Biochem. Physiol.* 1974. V. 47A. P. 283–289.
- Iwamatsu T. Studies on oocyte maturation of the medaka, *Oryzias latipes*. VI. Relationship between the circadian cycle of oocyte maturation and activity of the pituitary gland // *J. Exp. Zool.* 1978. V. 206. P. 355–364.
- Kagawa H., Horiuchi Y., Kasuga Y., Kishi T. Oocyte hydration in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) during meiosis resumption and ovulation // *J. Exp. Zool. Part A. Ecol. Genet. Physiol.* 2009. V. 311A. P. 752–762.
- LaFleur G.J., Jr., Thomas P. Evidence for a role of Na^+, K^+ -ATPase in the hydration of Atlantic croaker and spotted seatrout oocytes during final maturation // *J. Exp. Zool.* 1991. V. 258. P. 126–136.
- Matsubara T., Nagae M., Chkubo M. et al. Multiple vitellogenesis and their unique roles in marine teleost // *Fish Physiol. Biochem.* 2003. V. 28. P. 295–299.
- McPherson R., Greeley M.S., Wallace R.A. The influence of yolk protein proteolysis on hydration in oocytes of *Fundulus heteroclitus* // *Devel. Growth Diff.* 1989. V. 31. P. 475–483.
- Milla S., Jalabert B., Rime H. et al. Hydration of rainbow trout oocyte during meiotic maturation and *in vitro* regulation by 17,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one and cortisol // *J. Exp. Biol.* 2006. V. 209. P. 1147–1156.
- Oshiro T., Hibiya T. Water absorption of oocytes in the plaice *Limanda yokohamae* during meiotic maturation and its role in rupturing follicles // *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 1981. V. 47. P. 835–841.
- Patino R., Sullivan C.V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish // *Fish Physiol. Biochem.* 2002. V. 26. P. 57–70.
- Pedersen S.F., O'Donnell M.E., Anderson S.E. et al. Physiology and pathophysiology of Na^+/H^+ exchange and $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransport in the heart, brain, and blood // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006. V. 291. P. R1–R25.
- Pendergrass P., Schroeder P. The ultrastructure of the thecal cell of the teleost, *Oryzias latipes*, during ovulation *in vitro* // *J. Reprod. Fertil.* 1976. V. 47. P. 229–233.
- Pinter J., Thomas P. Characterization of a progesterone receptor in the ovary of the spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus* // *Biol. Reprod.* 1995. V. 52. P. 667–675.
- Pinter J., Thomas P. Induction of ovulation of mature oocytes by the maturation-inducing steroid 17,20 β ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one in the spotted seatrout // *Gen. Comp. Endocrinol.* 1999. V. 115. P. 200–209.
- Raldua D., Fabra M., Bozzo M.G. et al. Cathepsin B-mediated yolk protein degradation during killifish oocyte maturation is blocked by a H^+ -ATPase inhibitor: Effects on the hydration mechanism // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006. V. 290. P. R456–R466.
- Richter H.P., Jung D., Passow H. Regulatory changes of membrane transport and ouabain binding during progesterone-induced maturation of *Xenopus* oocytes // *J. Membr. Biol.* 1984. V. 79. P. 203–210.
- Selman K., Wallace R.A., Sarka A., Qi X. Stages of oocyte development in the zebrafish, *Brachydanio rerio* // *J. Morph.* 1993. V. 218. P. 203–224.
- Selman A.K., Wallace R.A., Cerda J. Bafilomycin A1 inhibits proteolytic cleavage and hydration but not yolk crystal disassembly or meiosis during maturation of sea bass // *J. Exp. Zool.* 2001. V. 290. P. 265–278.
- Sun X., Zhang J., Fan Y. et al. Aquaporin-4 deficiency induces subfertility in female mice // *Fertil. Steril.* 2009. In Press.
- Thomas P. Hormonal control of final oocyte maturation in scianid fishes // *Perspectives in comparative endocrinology* / Eds. Davey K.G. et al. Ottawa: Natl. Res. Conn. Canada, 1994. P. 619–625.
- Thorsen A., Fyhn H.J. Osmotic effectors during preovulatory swelling of marine fish eggs // *Reproductive physiology of fishes* / Eds. Scott A.P. et al. Sheffield: Univ. Sheffield, 1991. P. 312–314.
- Thorsen A., Fyhn H.J. Final oocyte maturation *in vivo* and *in vitro* in marine fishes with pelagic eggs; yolk protein hydrolysis and free amino acid content // *J. Fish Biol.* 1996. V. 48. P. 1195–1209.
- Thorsen A., Kjiebu O.S., Fyhn H.J., Solemdal P. Physiological mechanisms of buoyancy in eggs from brackish water cod // *Ibid.* 1996. V. 48. P. 457–477.
- Tingaud-Sequeira A., Chauvigne F., Fabra M. et al. Structural and functional divergence of two fish aquaporin-1 water channels following teleost-specific gene duplication // *BMC Evol. Biol.* 2008. V. 8. P. 259–277.
- Valdez D.M., Jr., Miyamoto A., Hara T. et al. Water- and cryoprotectant-permeability of mature and immature oocytes in the medaka (*Oryzias latipes*) // *Cryobiology.* 2005. V. 50. P. 93–102.
- Wallace R.A., Selman K. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. I. Preliminary observations on oocyte maturation *in vivo* and *in vitro* // *Devel. Biol.* 1978. V. 62. P. 354–369.
- Wallace R.A., Selman K. Physiological aspects of oogenesis in two species of sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* L.

- and *Apeltes quadracus* (Mitchill) // J. Fish Biol. 1979. V. 14. P. 551–564.
- Wallace R.A., Selman K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts // Am. Zool. 1981. V. 21. P. 325–343.
- Wallace R.A., Greeley M.S., Jr., McPherson R. Analytical and experimental studies on the relationship between Na^+ , K^+ , and water uptake during volume increases associated with *Fundulus* oocyte maturation *in vitro* // J. Comp. Physiol. [B]. 1992. V. 162. P. 241–248.
- Watanabe W.O., Kuo C.M. Water and ion balance in hydrating oocytes of the grey mullet, *Mugil cephalus* (L.), during hormone-induced final maturation // J. Fish. Biol. 1986. V. 28. P. 425–437.
- York W.S., Patino R., Thomas P. Ultrastructural changes in follicle cell-oocyte associations during development and maturation of the ovarian follicle in Atlantic croaker // Gen. Comp. Endocrinol. 1993. V. 92. P. 402–418.
- Yoshizaki G., Patino R., Thomas P. et al. Effects of maturation-inducing hormone on heterologous gap junctional coupling in ovarian follicles of Atlantic croaker // Ibid. 2001. V. 124. P. 359–366.
- Yueh W.S., Chang C.F. Morphological changes and competence of maturing oocytes in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* // Zool. Studies. 2000. V. 39. P. 114–122.

Hydration of Oocytes in Bony Fishes

M. N. Skoblina

Kol'tsov Institute of Biology of Development, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia
e-mail: skoblina38@mail.ru

Abstract—Data are collected on the hydration of oocytes in bony fishes during maturation stimulated by gonadotropic or steroid hormones *in vivo* and *in vitro*. The reasons for hydration, its dynamics, and certain of the mechanisms ensuring income of water and ions into the oocyte are considered.

Key words: oocyte, follicle, maturation, hydration, ovulation, gonadotropic hormones, steroids, benthic eggs, pelagic eggs, gap junctions, yolk proteins proteolysis, inorganic ions, aquaporines, membrane receptor of progestagens, nuclear receptor of progestagens, bony fishes.