



Van Balığı (Alburnus tarichi) Solungaç, Böbrek ve Sindirim Kanalı Dokularında Üreme Göçü Esnasında Akuaporin 3 Proteinindeki Değişimin İncelenmesi

*Makale Bilgisi / Article Info
Alındı/Received: 26.07.2023
Kabul/Accepted: 30.12.2023
Yayımlandı/Published: 27.02.2024

Investigation of Changes in Aquaporin 3 Protein in Van Fish (Alburnus tarichi) Gill, Kidney and Digestive Tract Tissues During Reproductive Migration

Zehra ALKAN^{*}, Ahmet Regaib OĞUZ

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Van, Türkiye

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

Öz

Van Gölü, Türkiye'nin en büyük gölü ve aynı zamanda dünyanın sayılı sodalı göllerinden biridir. Van balığı (Alburnus tarichi), Van Gölü'nün fiziko-kimyasal (tuzluluk oranı %22, pH 9.8) koşullarına uyum sağlayan tek omurgalı türüdür. Anadromik bir balık olup ve nisan-temmuz ayları arasında gölden tatlı sulara göç eder. Üremesini tamamlayan balıklar göl ortamına geri dönerler. Göç sırasında farklı su ortamlarına maruz kalan balıklarda adaptasyonu sağlamak için solungaç, böbrek, sindirim kanalı gibi dokularda bazı değişimler meydana gelir. Bu çalışmada Van Gölü ve Karasu Çayı'ndan örneklenen balıkların solungaç, böbrek ve sindirim sisteminde adaptasyonda önemli rol oynayan Akuaporin 3 transmembran proteini immünohistokimyasal olarak incelendi. Çalışma sonucunda solungaçlarda bulunan Akuaporin 3 transmembran proteininin Karasu Çayı'ndan örneklenen balıklarda işaretlenmediği görüldü. Böbrek dokusundaki Akuaporin 3 transmembran proteininin örnek alınan bölgeye ve dokudaki yerleşimine göre farklılık gösterdiği belirlendi. Bağırsağın ön ve arka kısımlarında bulunan Akuaporin 3 transmembran proteininin örneklenen lokaliteler arasında farklılık gösterdiği ve işaretlenmenin epitel hücrelerinde olduğu gözlemlendi. Su ve gliserol taşınmasında rol oynayan Akuaporin 3 transmembran proteininin Van balığı ozmoregülatör dokularında değişim göstererek adaptasyonda etkili olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler:

Akuaporin, Sindirim Kanalı, Solungaç, Böbrek, Van Balığı

Abstract

Lake Van is the largest lake in Turkey and also one of the few soda lakes in the world. Van fish (Alburnus tarichi) is the only vertebrate species that adapts to the physico-chemical (salinity ratio %22, pH 9.8) conditions of Lake Van. It is an anadromic fish and migrates from the lake to fresh waters between April and July. Fish that have completed their reproduction return to the lake environment. Some changes occur in tissues such as gills, kidneys and digestive tracts in order to adapt to fish that are exposed to different aquatic environments during migration. In this study, Aquaporin 3 transmembrane protein, which plays an important role in adaptation in the gill, kidney and digestive system of fish sampled from Lake Van and Karasu Stream, was examined immunohistochemically. As a result of the study, it was observed that the Aquaporin 3 transmembrane protein found in the gills was not marked in the fish sampled from the Karasu Stream. It was determined that Aquaporin 3 transmembrane protein in kidney tissue differed according to the sample area and its localization in the tissue. It was observed that Aquaporin 3 transmembrane protein found in the anterior and posterior parts of the intestine differed between the sampled localities and the labeling was in epithelial cells. It can be said that Aquaporin 3 transmembrane protein, which plays a role in water and glycerol transport, is effective in adaptation by showing changes in the osmoregulatory tissues of Van fish.

Keywords:

Aquaporin, Digestive tract, Gill, Kidney, Van Fish

1. Giriş

Su, tüm insan hücrelerinin ve dokularının ana bileşenidir ve tüm omurgalı, omurgasız, tek hücreli organizmalar ve bitkiler için de geçerlidir. Tarihsel olarak, suyun hidrofobik membranlar boyunca taşınmasının, spesifik

olmayan su geçişi gerçekleştiği kabul edilmiştir. Agre vd. (2001)'nin yapmış olduğu çalışmada, insan eritrositleri ve kurbağaların idrar kesesi gibi belirli hücre veya dokularda artan su geçirgenliği gözlemlenmiş ve sonuç olarak belirli su kanallarının da var olduğu düşünülmüştür.

Akuaporinler, tüm yaşam formlarında bulunan, biyolojik membranlardan hücre içine ve dışına hızlı bir şekilde su ve küçük çözünen maddelerin geçişine izin veren, yaklaşık 30 kDa'lık küçük transmembran kanal proteinlerinin bir üst ailesidir (Chutia vd. 2022). Akuaporinler öncelikle, su hareketlerinin hipertonic veya hipotonik koşullar tarafından yönlendirildiği biyolojik zarlardan suyun taşınmasını kolaylaştırır. Teleost balıklar gibi suda yaşayan organizmalar, deniz suyu (hiperozmotik) veya tatlısu (hipoozmotik) tarafından ortaya çıkan ozmotik zorluklara uyum sağlamak ve hayatta kalmak için farklı mekanizmalara sahiptirler (Cuesta vd. 2019). Ozmotik dengeyi sağlamak için su kanallarına ihtiyaç vardır. Bu nedenle, akuaporinlerin balık su homeostazının korunmasında çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Engelund ve Madsen 2011).

Akuaporinler, memelilerde olduğu gibi balıklarda da su taşınmasında hücresel, doku ve organizma düzeylerinde farklı roller üstlenirler. Akuaporinlerin çeşitliliği üzerine çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Filogenetik analizler sonucunda bu proteinlerin üç alt aileye gruplandırılabilceği ifade edilmiştir (Cerdà ve Finn 2010). Akuaporin alt ailesi su geçişi için oldukça seçicidir ve AQP-0, 1, 2, 4, 5, 6 ve 8'den oluşur, buna karşılık "akuagliseroporinler" alt ailesi su, gliserol ve bu tür çözünen maddelerin geçişine izin verir ve 3, 7, 9 ve 10 Akuaporinlerden oluşur. Ayrıca AQP-3, 7, 9, 10 metaloidlerin yüklü ve yüklü olmayan moleküllerinin difüzyonunu kolaylaştırıp, arsenik, antimondur ve metalloid homeostazında çok önemli rol oynarlar (Ishibashi vd. 2009).

Van Gölü Türkiye'nin en büyük dünyanın ise sayılı tuzlu-sodali göllerindedir (Danulat ve Kempe 1992). Van Gölü'nün tuzlu-sodali özelliklerinden dolayı gölde sınırlı sayıda tür yaşamaktadır. Bu türler, omurgalı olan Van balığı (*Alburnus tarichi*) ile birkaç omurgasız türdür. Son yıllarda başka bir türün (Erciş Çöpçü balığı, *Oxynoemacheilus ercisanus*) varlığı da keşfedilse de bu tür sınırlı alanlar içerisinde yaşamaktadır ve tür hakkında fazla bilgiye rastlanılamamıştır (Akkuş vd. 2021). Van Balığı Cyprinidae familyasına ait omurgalı bir tür olup göl suyunda yaşayan anadrom özelliklere sahiptir (Oğuz 2015, Şen vd. 2015). Balıklar üremek için gölden larvalar için daha uygun olan tatlı sulara göç eder. Üremeyi tamamladıktan sonra göle geri dönerler. Van Balığı üreme dönemi boyunca göl ve akarsuyun farklı fiziko-kimyasal ortam şartlarında yaşarlar ve bu değişen ortam şartlarına uyum sağlayarak yaşamlarını sürdürürler. Van Gölü balıkları sodali-tuzlu sudan tatlısuya uyum sağlamak için histolojik ve moleküler değişikliklere ihtiyaç duyar (Oğuz 2018). Van Gölü %0.22 tuzluluk, 9.8 pH ve 153 mEqxl-1 alkaliniteye, Karasu Çayı %0.29 tuzluluk, 8.01 pH ve 49.8 mEqxl-1 alkaliniteye sahip fiziko-kimyasal

şartları birbirinden farklı iki akuatik ortamdır. Bu çalışmada iki farklı ortamdaki örneklenen balık solungaç, böbrek ve sindirim kanalı dokularından bazı Akuaporin 3 transmembran proteindeki değişimler incelendi.

2. Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan balıklar için gerekli olan izinler Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (05/02/2021 tarih ve 13453 sayılı yazı) ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan (2021/02-14) alınmıştır.

Çalışmalarda kullanılan balıklar üreme göçünün başladığı 15 Nisan-15 Temmuz ayları arasında Van Gölü (n=20) ve Karasu Çayı'ndan (n=20) fanyalı ağlar ve serpe ağlar ile yakalandı.

2.1 Histoloji

Diseksiyonla balıklardan solungaç, böbrek ve sindirim kanalı (bağırsak) doku örnekleri 24 saat süreyle %4'lük Paraformaldehit solüsyonunda tespit edildi ve %70'lik alkol içerisine alındı. Dokular daha sonra dereceli alkol serilerinden (% 70-80-90-100) ve ksilolden geçirilerek parafine gömüldü (Bancroft ve Gamble 2008). Parafine gömülen dokulardan mikrotom (Micron HM 315, Almanya) yardımıyla 5 µm'lik kesitler adhesiv lamlara alındı.

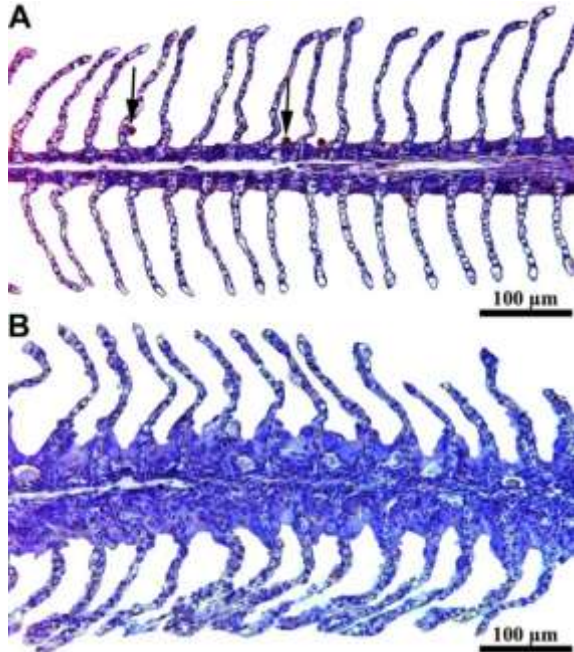
2.2 İmmünohistokimya

İmmünohistokimyasal boyamalar ticari kit ile (Thermo, Amerika) gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal boyamada kesitler endojen peroksidazın önlenmesi için peroksidaz solüsyon içerisinde 10 dakika bekletildi. Dokular 2'şer dakika olacak şekilde 3 kez PBS ile yıkanıldı. Serum blok solüsyonu dokunun üzerine 100 µL eklendi ve 10 dakika bekletildi. Nemli ortamda işaretlenecek proteinlere ait primer antikor (Akuaporin 3; Elabscience, E-AB-17294) sulandırılarak 100 µL eklenerek 60 dakika bekletildi. Dokular tekrar PBS ile 2'şer dakika 3 kez yıkanıldı. Dokulara 100 µL biyotinlenmiş sekonder antikor eklenerek 10 dakika bekletildi. PBS ile 3 kez 2'şer dakika yıkanıldı. Daha sonra kullanılacak kromojen (Thermo, USA) taze hazırlanarak dokular üzerine eklenildi ve renk reaksiyonunun oluşması gözlemlendi. Renk oluşumundan sonra preparatlar Ksilolden geçirildi. Dokular entellan ile kapatılarak, dijital kamera bağlı ışık mikroskobu (Leica DMI 6000B, Almanya) ile incelendi ve görüntüleri alındı.

3. Bulgular

Van Gölü ve Karasu Çayı'ndan örneklenen balık solungaç, böbrek ve sindirim kanalı dokularında Akuaporin 3 transmembran proteini immünohistokimyasal olarak işaretlendi. Solungaç doku epitelindeki Akuaporin 3

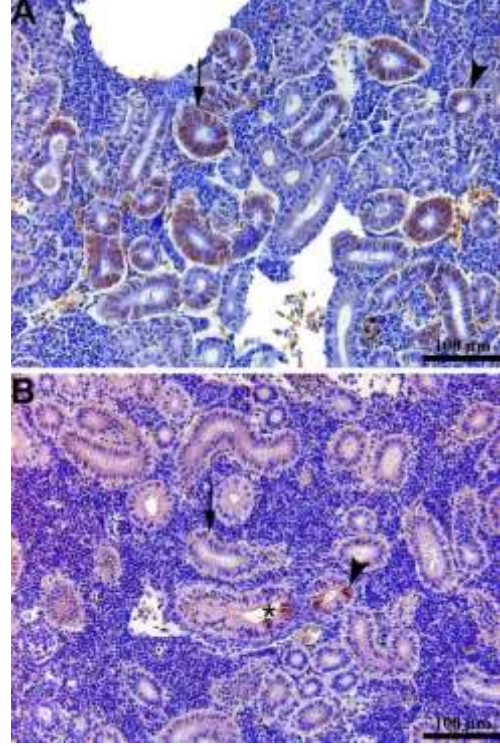
transmembran proteini mitokondrice zengin hücreler içerisinde pozitif olarak işaretlendi. İşaretlemenin solungaç dokusunun primer lamel ve sınırlıda olsa sekonder lamel epitelindeki mitokondrice zengin hücrelerde olduğu belirlendi. Solungaçlarda bulunan pavament hücre, mukus hücre ve diğer hücrelerde ise herhangi bir işaretleme gözlenmedi. Akarsudan örneklenen balık solungaç dokusunda ise işaretlenmenin olmadığı gözlendi (Şekil 3.1.) Böbrek dokusunda Akuaporin 3 proteininin böbrek tübül hücrelerinin apikal kısmında bulunduğu, ancak bu hücrelerin fırça sınırına lokalize olmadığı gözlendi. Göl ortamından örneklenen balık böbrek dokularında Akuaporin 3 transmembran proteininin proksimal tübüllerde distal tübüllere oranla apikal kutupta daha yoğun olduğu gözlendi. Ayrıca akarsu ortamından alınan balık böbrek dokusunda proksimal tübüllerde işaretleme olmadığı distal tübüllerde yer alan bazı epitel hücrelerde işaretlemenin olduğu belirlendi. Aynı zamanda her iki örnekleme ortamında da Akuaporin 3'ün az da olsa bazı eritrositlerde nonspesifik olarak işaretlendiği gözlendi (Şekil 3.2.).



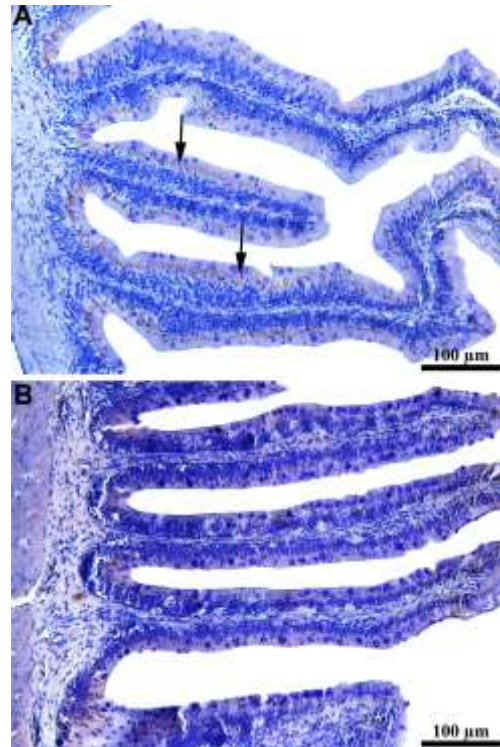
Şekil 3.1. Van Gölü'nden ve Karasu Çayı'ndan örneklenen Van balığı solungaç dokusunda Akuaporin 3 transmembran protein içeren hücrelerinin görünümü (A, Van Gölü; B, Karasu Çayı).

Sindirim kanalı dokusunda her ne kadar farklı hücre tipleri bulunsun da yüzey epitelde bulunan ve yüzey absorbtif hücreleri olarak tanımlanan enterosit hücrelerinde Akuaporin 3 transmembran proteininin bazolateral olarak işaretlendiği gözlendi (Şekil 3.3.). Aynı zamanda göl ve akarsu örnekleri kıyaslandığında sadece

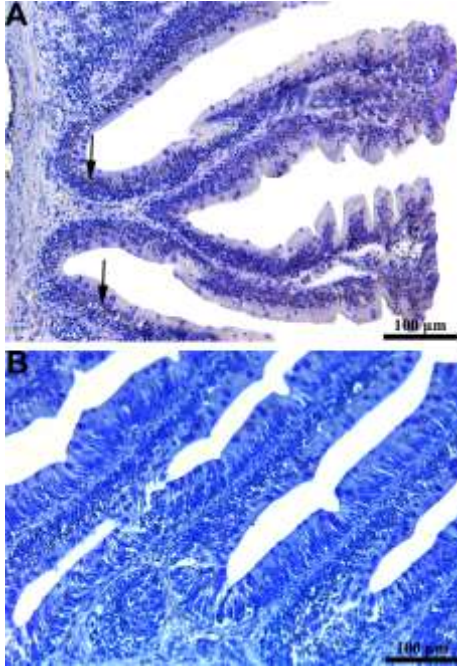
göl örneklerinin pozitif olarak işaretlendiği belirlendi. Göl örnekleri de kendi içerisinde kıyaslandığında anterior bağırsak kısmının posterior bağırsak kısmından daha yoğun işaretlendiği gözlendi (Şekil 3.3.; Şekil 3.4.).



Şekil 3.2. Van Gölü'nden ve Karasu Çayı'ndan örneklenen Van balığı böbrek dokusunda Akuaporin 3 transmembran protein içeren hücrelerinin görünümü (A, Van Gölü; B, Karasu Çayı; ok, Proksimal tübül; ok başı, distal tübül; *, toplama kanalı).



Şekil 3.3. Van Gölü'nden ve Karasu Çayı'ndan örneklenen Van balığı anterior dokusunda Akuaporin 3 transmembran protein içeren hücrelerinin görünümü (A, Van Gölü; B, Karasu Çayı).



Şekil 3.4. Van Gölü'nden ve Karasu Çayı'ndan örneklenen Van balığı posterior dokusunda Akuaporin 3 transmembran protein içeren hücrelerinin görünümü (A, Van Gölü; B, Karasu Çayı).

4. Tartışma ve Sonuç

Kemikli balık solungaçlarında gliserol, üre ve amonyak taşıyan Akuagliseroprotein olan Akuaporin 3 varlığı tespit edilmiştir (Lignot vd. 2002, Tjpsmark vd. 2010). Balıklarda Akuaporin 3 transmembran proteininin solungaç dokusundaki rolü tam olarak bilinmese de solungaç boyunca su ve amonyak taşımada rol oynayabileceği bildirilmiştir (Cutler vd. 2007). Teleost solungaç dokularında, Akuaporin 3 transmembran proteinleri mitokondrice zengin hücrelerde bulunduğu bildirilmiştir (Brunelli vd. 2010). Ayrıca Akuaporin 3 proteininin bazı türlerde dehidrasyonun önlenmesi de dahil olmak üzere bir dizi farklı işleve sahip olabileceği ve mitokondrice zengin hücre haricindeki diğer epitel hücre tiplerinde (pillar ve aksesuar hücreleri) de bulunabileceği ifade edilmiştir (Cutler vd. 2007). Bu sonuç, bu hücrelerin tuzlusu balıklarında su/gliserol taşınmasında aktif bir rol oynadığını göstermektedir. Japon Yılan balığı üzerinde yapılan bir çalışma, balıkların tatlısudan tuzlusuya transferini takiben branşiyal Akuaporin 3 mRNA seviyelerinde bir düşüş olduğu bildirilmiştir (William vd. 2006). Avrupa Yılan balığının (*Anguilla anguilla*) tatlısu ve deniz suyuna maruz bırakılması sonucu solungaç dokusundaki Akuaporin 3'ün tuzlu suya maruz bırakılan balık solungaç dokularında azaldığı bildirilmiştir. Bu değişimin solungaçların ozmoregülasyonunda önemli bir

rol oynadığı ifade edilmiştir (Lignot vd. 2002). Akuaporin 3'ün Tatlısu ve deniz suyuna adapte edilmiş Mozambik Tilapiası (*Oreochromis mossambicus*) solungaç mitokondrice zengin hücrelerinde bazolateral olarak lokalize olduğunu bildirmiştir.

Solungaç Akuaporin 3'ün, mitokondrice zengin hücrelerinin fonksiyonel farklılaşmasını tetikleyebileceği ve osmoresepsiyonda yer aldığını bildirilmiştir (Watanabe vd. 2005). Daha önceki çalışmaların aksine Jung vd. (2012) tuzlusuya adapte edilen Atlantik killifish (*Fundulus heteroclitus*)'in solungaçlarında Akuaporin 3'ün mRNA seviyesinin tatlısuya oranla arttığı bildirilmiştir. Benzer olarak Van balığı solungaç dokularında Akuaporin 3'ün gölden örneklenen solungaçlarda pozitif reaksiyon gösterirken akarsu ortamından yakalanan balıklarda herhangi bir işaretlenme olmadığı belirlendi. Bu durum farklı sucul habitatlarda solungaçlarda diğer akuaporinler veya farklı transmembran proteinler rol oynayabilir.

Akuaporin 3, vücuttaki çeşitli dokularda ve özellikle teleost böbreklerinde eksprese edilen bir kanal proteindir (Cutler vd. 2007). Memelilerde, Akuaporin 3, tübül hücrelerinin bazolateral zarlarında bulunur ve suyun yeniden emilmesinde bir rolünün olduğu bilinmektedir (Knepper vd. 1996). Akuaporin 3 tuzluluğa maruz bırakılan Aynalı Sazanın (*Cyprinus carpio*) böbrek dokusunda daha yoğun boyanmış ve bu boyama sadece tübül hücrelerinin apikal zarıyla sınırlı kalmıştır. Daha yüksek tuzluluklarda (9 ve 12 ppt), hem proksimal tübül hem de distal tübül hücrelerinde ise daha yoğun bir immün işaretlenme görülmüştür (Salati vd. 2014). Engelund ve Madsen (2015)'in yaptığı bir çalışmada deniz suyuna maruz bırakılan Atlantik somonunun böbreğinde akuaporin 3'ün proksimal böbrek tübüllerinde lokalize olduğunu ve akuaporin 3'ün tuzlulukla ve balığın gelişim dönemiyle bir ilgisinin olmadığını bildirmişlerdir. Renal tübülün distal kısımlarının tatlısu balıklarında düşük geçirgenliğe sahip olduğu, ancak suyun korunması gereken tuzlusu balıklarında daha yüksek geçirgenliğe sahip olduğu düşünülmektedir (Marshall ve Grosell 2005). Tuzlu suya adaptasyon sırasında Atlantik somonunun böbrek dokusundaki Akuaporin 3 yoğunluğu tatlısu dokularına oranla tuzludan alınan balık böbrek dokularında daha yoğun olduğu bildirilmiştir. Tuzlusuya adapte edilen somonlarda akuaporin 3 değişimlerinin böbreklerde sıvı dengesi ve suyun yeniden emilimi ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Tjpsmark vd. 2010). Gölden örneklenen balıkların böbrek dokusunda bulunan proksimal tübüllerde Akuaporin 3 transmembran proteini pozitif işaretlenirken, akarsudan örneklenen balık böbrek dokusundaki proksimal tübüllerinde ise işaretlenmenin olmadığı gözlemlendi. Ayrıca akarsu ortamından alınan balık

böbrek dokusunda ise distal tübüllerde az oranda işaretlenmenin olduğu proksimal tübüllerde ise işaretlenmenin olmadığı belirlendi. Van Gölünden örneklenen balıkların böbreklerinde akuaporin 3 yoğunluğu balığın göl ortamındaki hipertonic ortamda vücuttaki suyun korunması ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Avrupa yılan balığının tatluya aktarıldığında Akuaporin 3'ü eksprese eden az sayıda uzun ince goblet hücresi bulunduğu, tuzlusuya adapte olan sindirim kanalında Akuaporin 3'ü eksprese eden goblet hücrelerinin arttığı ve bu hücrelerin şekil olarak daha geniş veya daha yuvarlak olduğu bildirilmiştir. Akuaporin 3'ün bu hücrelerden mukus sıvısı salgılanmasında görev aldığı ifade edilmiştir (Lignot vd. 2002). Cutler vd. (2007)'nin yaptığı çalışmada yine yılan balığında Akuaporin 3 proteini, bağırsakta epitelyal hücre tabakasında bulunan büyük makrofaj benzeri hücrelerde pozitif olarak işaretlenmişlerdir. Gökkuşluğu alabalığı sindirim kanalı dokusunda Akuaporin 3 yoğunluğunun tuzlu su ortamında daha yoğun olduğu belirtilmiştir (Kim vd. 2016). Anadrom olan Nehir Kirpi balığı (Takifugu obscurus) farklı tuzluluklara maruz bırakıldıktan sonra sindirim kanalında bulunan Akuaporin 3 proteinin tuzluluğa paralel olarak artış gösterdiği bildirilmiştir (Jeong vd. 2014). Bu sonuçlara paralel olarak yaptığımız bu çalışmada da sindirim kanalı dokusunda bulunan Akuaporin 3'ün göl ortamında daha yoğun olduğu ve literatür ile uyumlu olduğu belirlendi. Ayrıca Akuaporin 3 sadece mukoza tabakasındaki epitelyal hücrelerde işaretlenmiş diğer hücre tiplerinde herhangi bir işaretlenme gözlenmemiştir. Van Gölü acısu özelliği ile daha önce çalışılan alanlardaki akuatik ortamlardan oldukça farklıdır. Aynı zamanda göldeki tuzluluk bilinenin aksine sadece NaCl'den kaynaklanmaz (Çiftçi vd. 2008). Van balığı solungaç dokularındaki akuaporin 3'ün sadece mitokondrice zengin hücrelerinde ve göl örneklerinde işaretlenmesi artan tuzluluğa adaptasyonu için gerekli olduğu düşünülmektedir. Teleostlarda osmoregülasyon, solungaçlar, bağırsak ve böbreğin entegre olarak iyon ve su taşıma aktiviteleri ile sağlanır. Van balığı böbrek dokusunda göl ortamında yoğun görülen Akuaporin 3'ün dehidrasyonu önlemede rolü olduğu söylenebilir. Akuaporin 3 transmembran proteinin Van balığı bağırsağında göl ortamından örneklenen balıklarda yüksek olmasının osmoregülasyondan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; Van balığında osmoregülasyonda rol oynayan farklı dokularda incelenen Akuaporin 3 transmembran protein yoğunluğunun ve lokalizasyonun farklı sucul alanlarda değişim gösterdiği gözlenmiştir. Bu nedenle incelenen Akuaporin 3 proteinin balığın farklı sucul alanlardaki adaptasyonunda önemli bir role sahip olduğu söylenebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından FDK-2021-9672 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Etik Standartlar Bildirgesi

Yazarlar tüm etik standartlara uyduklarını beyan ederler.

Yazarlık Katkı Beyanı

Yazar 1: Kaynaklar, Araştırma, Analiz, Yazma

Yazar 2: Proje yöneticisi, Fikir sahibi, Araştırma, Analiz, Yazma

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların bu makalenin içeriğiyle ilgili olarak beyan edecekleri hiçbir çıkar çatışması yoktur.

Verilerin Kullanılabilirliği

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler, yayınlanan bu makaleye dahil edilmiştir.

5. Kaynaklar

- Agre, P., Borgnia, M. J., Yasui, M., Neely, J. D., Carbrey, J., Kozono, D. and King, L.S., 2001. Discovery of the aquaporins and their impact on basic and clinical physiology. *Academic Press*, 51(1),1-38.
[https://doi.org/10.1016/S1063-5823\(01\)51003-0](https://doi.org/10.1016/S1063-5823(01)51003-0)
- Akkuş, M., Sarı, M., Ekmekçi, F.G. and Yoğurtçuoğlu, B., 2021. The discovery of a microbialite-associated freshwater fish in the world's largest saline soda lake, Lake Van (Turkey). *Zoosystematics and Evolution*, 97(1), 181-189.
<https://doi.org/10.3897/zse.97.62120>
- Bancroft, J.D. and Gamble, M., 2008. *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier health sciences: Beijing, China, 131-140.
- Brunelli, E., Mauceri, A., Salvatore, F., Giannetto, A., Maisano, M. and Tripepi, S., 2010. Localization of aquaporin 1 and 3 in the gills of the rainbow wrasse *Coris julis*. *Acta Histochemica*, 112(3), 251-258.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2008.11.030>
- Cerdà, J. and Finn, R.N., 2010. Piscine aquaporins: an overview of recent advances. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 313(10), 623-650.
<https://doi.org/10.1002/jez.634>
- Chutia, P., Das, M., Goswami, N., Choudhury, M., Saha, N. and Sarma, K., 2022. Deciphering the role of aquaporin 1 in the adaptation of the stinging catfish *Heteropneustes fossilis* to environmental hypertonicity by molecular dynamics simulation studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41, 1-15.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2027272>
- Cuesta, A., Meseguer, J. and Esteban, M.Á., 2019. Fish Osmoregulation. In Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban,

- M. A (Ed.). Chapter 1. Immune and Osmoregulatory System Interaction. (1-34.). CRC Press: Boca Raton, USA.
- Cutler, C.P., Martinez, A.S. and Cramb, G., 2007. The role of aquaporin 3 in teleost fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148(1), 82-91. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.09.022>
- Çiftçi, Y., Işık, M.A., Alkeveli, T. and Yeşilova, Ç., 2008. Van Gölü havzasının çevre jeolojisi. *Jeoloji Mühendisliği Dergisi*, 32(2), 45-77.
- Danulat, E. and Kempe, S., 1992. Nitrogenous waste excretion and accumulation of urea and ammonia in *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae) endemic to Lake Van (Eastern Turkey). *Fish Physiology and Biochemistry*, 9(5), 377-386. <https://doi.org/10.1007/BF02274218>
- Engelund, M.B. and Madsen, S., 2011. The role of aquaporins in the kidney of euryhaline teleosts. *Frontiers in Physiology*, 2, 51-56. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00051>
- Engelund, M.B. and Madsen, S., 2015. Tubular localization and expressional dynamics of aquaporins in the kidney of seawater-challenged Atlantic salmon. *Journal of Comparative Physiology B*, 185, 207-223. <https://doi.org/10.1007/s00360-014-0878-0>
- Ishibashi, K., Hara, S. and Kondo, S., 2009. Aquaporin water channels in mammals. *Clinical and Experimental Nephrology*, 13(2), 107-117. <https://doi.org/10.1007/s10157-008-0118-6>
- Jeong, S.Y., Kim, J.H., Lee, W.O., Dahms, H.U. and Han, K.N., 2014. Salinity changes in the anadromous river pufferfish, *Takifugu obscurus*, mediate gene regulation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, 205-219. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9837-z>
- Kim, N.N., Choi, Y.J., Lim, S.G., Kim, B.S. and Choi, C.Y., 2016. Effects of recombinant aquaporin 3 and seawater acclimation on the expression of aquaporin 3 and 8 mRNAs in the parr and smolt stages of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ocean and Polar Research*, 38(2), 103-113. <http://dx.doi.org/10.4217/OPR.2016.38.2.103>
- Knepper, M. A., Wade, J. B., Terris, J., Ecelbarger, C. A., Marples, D., Mandon, B. and Nielsen, S., 1996. Renal aquaporins. *Kidney International*, 49(6), 1712-1717. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.253>
- Lignot, J.H., Cutler, C.P., Hazon, N. and Cramb, G., 2002. Immunolocalisation of aquaporin 3 in the gill and the gastrointestinal tract of the European eel *Anguilla anguilla* (L.). *Journal of Experimental Biology*, 205(17), 2653-2663. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.17.2653>
- Marshall W.S. and Grosell M., 2005. Ion transport, osmoregulation, and acid-base balance. *The Physiology of Fishes* (3rd ed.), edited by, Evans D, Claiborne JB. Boca Raton, FL: CRC, 2006.
- Oğuz, A.R., 2015. Histological changes in the gill epithelium of endemic Lake Van Fish (*Chalcalburnus tarichi*) during migration from alkaline water to freshwater. *North-Western Journal of Zoology*, 11(1), 51-57.
- Oğuz, A.R., 2018. Development of osmoregulatory tissues in the Lake van fish (*Alburnus tarichi*) during larval development. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(1), 227-233. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0427-3>
- Salati, A.P., Ferrando, S., Movahedinia, A., Gambardella, C. and Gallus, L., 2014. Effect of different levels of salinity on immunolocalization of Na⁺-K⁺ ATPase and Aquaporin 3 in kidney of common carp *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*, 15(1), 45-49.
- Şen, F., Paruğ, Ş.Ş. and Elp. M., 2015. İnci Kefali'nin (*Alburnus tarichi*, *Güldenstädt*, 1814) dünü, bugünü ve geleceği üzerine projeksiyonlar. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 25(3), 347-356. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.236420>
- Tipsmark, C.K., Sørensen, K. J. and Madsen, S.S., 2010. Aquaporin expression dynamics in osmoregulatory tissues of Atlantic salmon during smoltification and seawater acclimation. *Journal of Experimental Biology*, 213(3), 368-379. <https://doi.org/10.1242/jeb.034785>
- Watanabe, S., Kaneko, T. and Aida, K., 2005. Aquaporin-3 expressed in the basolateral membrane of gill chloride cells in Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* adapted to freshwater and seawater. *Journal of Experimental Biology*, 208(14), 2673-2682. <https://doi.org/10.1242/jeb.01684>
- William, K.F., Au, D.W. and Wong, C. K., 2006. Characterization of ion channel and transporter mRNA expressions in isolated gill chloride and pavement cells of seawater acclimating eels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346(4), 1181-1190. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.028>