

## Streszczenie

Zarówno u ssaków, jak i ryb, neutrofile są pierwszymi leukocytami rekrutowanymi do miejsca zapalenia, co ma kluczowe znaczenie dla efektywnej odpowiedzi immunologicznej. Proces ten regulują między innymi chemokiny CXC oraz receptory chemokinowe (CXCR). Nowe dowody wskazują, że chemokiny CXC mogą również brać udział w regulacji odpowiedzi na stres. Odpowiedź na stres jest mechanizmem konserwatywnym ewolucyjnie, a ryby stanowią szczególnie intrygujący model badań dotyczących wpływu stresu na odporność, ponieważ nerka głowowa, w której zachodzi produkcja hormonów stresu, jest również ich głównym narządem hematopoetycznym, a zatem hormony stresu mogą wpływać na dojrzewanie i aktywność leukocytów na zasadzie oddziaływań parakrynnych. Ponadto u wszystkich kręgowców stres wywołuje szybką mobilizację neutrofilii do krwi. Z drugiej strony zaburzenia związane z neutrofilią wskazują, że wywołana stresem redystrybucja neutrofilii stanowi poważne wyzwanie w kontekście powszechnego zastosowania przeciwzapalnych glikokortykoidów.

Celem obecnej pracy było zbadanie udziału hormonów stresu w redystrybucji neutrofilii z narządów/tkanek hematopoetycznych oraz roli chemokin CXC i ich receptorów (CXCR) w tym procesie. Ponadto badano, czy stres wywołuje zmiany w składzie i różnorodności mikrobioty jelitowej, oraz jak wywołana antybiotykami dysbioza mikrobioty jelitowej wpływa na aktywację osi stresu i wywołaną stresem redystrybucję neutrofilii, ich dojrzewanie i aktywność. W tym kontekście sprawdzano też udział sygnalizacji TLR/Myd88 w regulacji redystrybucji dojrzałych i niedojrzałych neutrofilii pod wpływem kortyzolu i podczas zapalenia. Badania prowadzono na karpniu (*Cyprinus carpio* L.) i larwach danio pręgowanego (*Danio rerio*).

W przypadku karpia wykazano, że podczas ostrego stresu redystrybucja neutrofilii z narządów hematopoetycznych (głównie z nerki głowowej) do krwi jest regulowana przez interakcję kortyzolu z wewnątrzkomórkowymi receptorami glikokortykoidowymi (Gr). Dodatkowo stwierdzono, że chemokiny Cxcl12 i Cxcl8 oraz ich receptory, odpowiednio Cxcr4 i Cxcr1/Cxcr2 wpływają na aktywację osi stresu. Wykazano również, że chemokiny CXC wpływają na retencję (Cxcl12 *via* Cxcr4) oraz redystrybucję (Cxcl8 *via* Cxcr1 i Cxcr2) neutrofilii. Stwierdzono, że w regulację tych procesów są także zaangażowane czynniki stymulujący kolonie granulocytów (poprzez receptor Gcsf(r) i metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej 9 (Mmp9). Dodatkowo zaobserwowano, że antybiotyki i stres wywołują zmiany w mikrobiocie jelitowej karpia, które prowadzą do dysbiozy. Z kolei dysbioza i stres wpływają na granulocytopenię, proces dojrzewania neutrofilii nerki głowowej, ich aktywność,

redystrybucję oraz wywołują zależne od limfocytów Th17 zapalenie w jelitach karpia, które manifestuje się m.in. zwiększonym naciekiem neutrofilem.

Ustalono również, że u larw danio przęgowanego do miejsca zapalenia są rekrutowane zarówno niedojrzałe jak i dojrzałe neutrofile, a stymulacja larw kortyzolem *in vivo* istotnie zwiększa liczbę dojrzałych neutrofilem w miejscu zapalenia. Ponadto, zahamowanie sygnalizacji zależnej od MyD88 zmniejsza liczbę komórek niedojrzałych w ognisku zapalenia i istotnie obniża liczbę dojrzałych neutrofilem zrekrutowanych do ogniska zapalenia podczas stymulacji kortyzolem.

Wyniki obecnej pracy potwierdzają ważną adaptacyjną rolę wzajemnych interakcji pomiędzy układem hormonalnym a układem odpornościowym. Biorąc pod uwagę kluczowe znaczenie neutrofilem jako komórek pierwszej linii obrony, zwiększenie ich liczby w krążeniu wydaje się korzystne w sytuacjach ostrego stresu, kiedy podczas reakcji walki i ucieczki zwiększa się ryzyko urazów i zakażenia. Należy jednak pamiętać, że interakcja ta ma charakter bardzo złożony i jednym z jej ważnych elementów jest także mikrobiota.

Wyjaśnienie mechanizmów związanych z wpływem stresu na odporność jest jednym z ważniejszych wyzwań w obszarze badań interakcji układów neuroendokrynnego i immunologicznego. Wyniki obecnej pracy wskazują na potrzebę odejścia od prewencyjnego stosowania antybiotyków w akwakulturze oraz ograniczenia w niej działania czynników stresogennych. Badania te mogą w przyszłości zostać wykorzystane w celu opracowania i ulepszenia strategii kontroli zdrowia ryb.

**Słowa kluczowe:** stres, neutrofile, chemokiny CXC, kortyzol, mikrobiota, karp