

KATARZYNA KŁAK, MAGDALENA CHADZIŃSKA

*Zakład Immunologii Ewolucyjnej  
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Jagielloński  
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków  
E-mail: katarzyna.klak@doctoral.uj.edu.pl  
magdalena.chadzinska@uj.edu.pl*

## CZY RYBY ULEGAJĄ STRESOWI?

### WSTĘP

Reakcja stresowa stanowi kluczowy mechanizm regulacyjny, umożliwiający utrzymanie homeostazy, aktywowany po zaburzeniu „milieu intérieur” organizmu. Słowo „stres” jest zaskakująco trudne do zdefiniowania. Wiele z dotychczas proponowanych definicji osiąga jednak konsensus, w którym stres stanowi fizjologiczną reakcję na stresor (GONZALO i współaut. 2003, SCHRECK i TORT 2016). Efekty działania stresorów są dwojakie: wywołują stan zagrożenia lub zaburzenia równowagi homeostatycznej i generują skoordynowany zbiór reakcji behawioralnych i fizjologicznych, które umożliwiają kompensację i/lub adaptację oraz pokonanie zagrożenia. W przypadku doświadczania intensywnego, przewlekłego stresu, fizjologiczna reakcja na stres może stracić swoją wartość adaptacyjną, co może skutkować zahamowaniem wzrostu, rozrodu czy zmniejszoną odpornością na patogeny (WENDELAAR BONGA 1997).

Procesy biorące udział w zachowaniu równowagi fizjologicznej integrują komponenty neuroendokrynne, autonomiczne, metaboliczne i behawioralne (SCHRECK i TORT 2016). U ssaków zidentyfikowano dwie główne osie sygnalizacyjne, stanowiące zintegrowaną reakcję fizjologiczną na zaistniałe niebezpieczeństwo/stresor: (i) aktywacja osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (ang. hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA) i (ii) aktywacja osi układ współczulny-rdzeń nad-

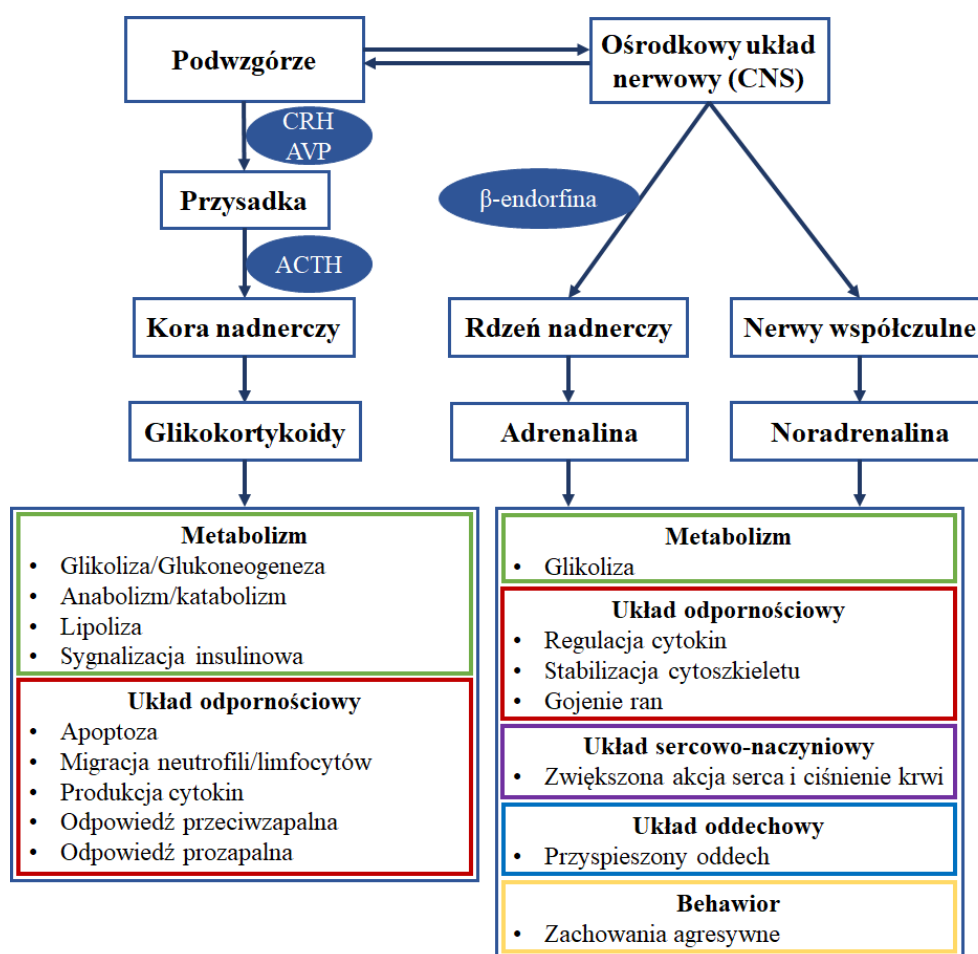
nerczy (ang. symphatetic-adrenal medullary axis, SAM) (Ryc. 1). W pierwszym przypadku reakcja na stresor jest inicjowana na poziomie podwzgórza, które uwalnia kortykoliberynę (ang. corticotropin-releasing hormone, CRH) i wazopresynę (ang. arginine vasopressin, AVP). Hormony te przekazują sygnał do przysadki mózgowej, inicjując tym samym uwalnianie hormonu adrenokortykotropowego/kortykotropiny (ang. adrenocorticotrophic hormone, ACTH), który stymuluje korę nadnerczy do uwolnienia glikokortykoidów (GK) (Ryc. 1). Głównymi krążącymi hormonami glikokortykoidowymi są kortyzol (u ludzi, większości innych ssaków i ryb) lub kortykosteron (u gryzoni, ptaków i większości gadów). Aktywacja SAM jest o wiele szybsza, a w jej wyniku dochodzi do uwalniania z rdzenia nadnerczy adrenaliny/epinefryny i noradrenaliny/norepinefryny z obwodowych nerwów współczulnych (Ryc. 1). Oś SAM inicjuje tzw. reakcję „walki lub ucieczki” (ang. fight or flight), która obejmuje zintegrowaną reakcję behawioralną w przypadku poczucia zagrożenia lub ostrego stresu, a także zmiany metaboliczne i reakcję układu odpornościowego (Ryc. 1) (WENDELAAR BONGA 1997, CHEN i współaut. 2015).

### „CZUĆ SIĘ JAK RYBA W WODZIE” – STRESORY W ŚRODOWISKU WODNYM

Chociaż opis przebiegu reakcji stresowej opiera się przede wszystkim na badaniach przeprowadzonych na ssakach, w pełni do-

**Słowa kluczowe:** ryby, reakcja na stres, oś stresu, allostaza, dobrostan zwierząt, interakcje neuro-endokrynno-immunologiczne

\*Praca finansowana ze źródeł Narodowego Centrum Nauki (grant nr UMO-2019/33/B/NZ6/00402) oraz subwencji N18/DBS/000009.



Ryc. 1. Funkcje biologiczne regulowane przez dwie osie stresu.

Oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) jest aktywowana stresem fizycznym lub psychicznym. Uwalnianie kortykoliberyny (CRH) i wazopresyny (AVP) z podwzgórza powoduje wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) przez przysadkę mózgową. ACTH następnie stymuluje uwalnianie glikokortykoidów z kory nadnerczy. Oś układ współczulny-rdzeń nadnerczy (SAM) jest skoordynowaną odpowiedzią na różnorodny stres, w której pośredniczy uwalnianie katecholamin. Krające glikokortykoidy i katecholaminy oddziałują na wiele różnych komórek: powodują zmiany behawioralne, metaboliczne i immunologiczne oraz w obrębie układu sercowo-naczyniowego i oddechowego (wg CHEN i współaut. 2015, zmodyfikowana).

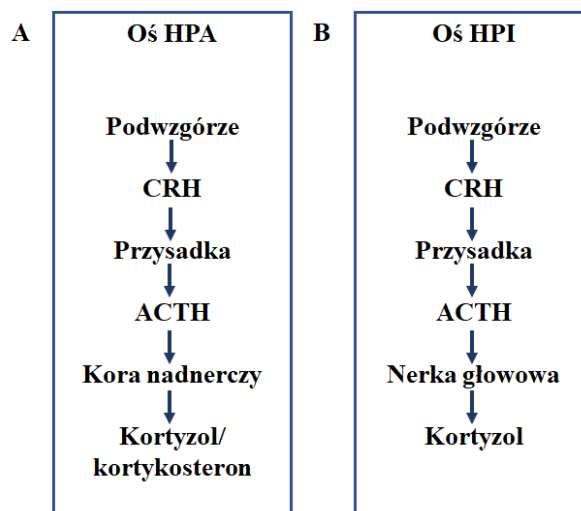
tyczy on również niższych kręgowców. W porównaniu do kręgowców lądowych, szczególnie ciekawym modelem badawczym są ryby, m.in. ze względu na odmienną środowiska, w którym żyją. Identyfikacja stresu u ryb w warunkach naturalnych, laboratoryjnych lub w akwakulturze jest skomplikowana i w zasadzie jest decyzją arbitralną, z powodu różnorodności parametrów behawioralnych, fizjologicznych oraz wielu czynników łagodzących lub nasilających wpływ stresorów. Istotny wpływ na przebieg reakcji stresowej u ryb mają temperatura i jakość wody, pora roku, wiek, płeć, genetyczne lub nabyte cechy indywidualne, czynniki społeczne oraz różnice w obrębie szczepów lub gatunków. Do powszechnych bodźców stresowych wywołujących zintegrowaną reakcję stresową u ryb należą nagle lub ekstremalne zmiany w środowisku (zmiana tempera-

tury i zasolenia wody oraz jej zmętnienie), interakcje z innymi zwierzętami (drapieżnictwo, pasożyty, konkurencja) oraz ingerencja człowieka, w tym praktyki związane z akwakulturą (połowy, manipulacje, transport) oraz zanieczyszczenie wody (metale ciężkie i substancje chemiczne) (WENDELAAR BONGA 1997, SPAGNOLI i współaut. 2016, BALDISSE-RA i współaut. 2020, URBINATI i współaut. 2020). Reakcja ryb na czynniki stresowe ma wiele cech charakterystycznych dla tej grupy organizmów. Są one związane z bliskim kontaktem tych zwierząt z otaczającym środowiskiem wodnym, przez skrzel i jelito (w wodzie morskiej). Stresory działające na skrzel wpływają na równowagę wodno-mineralną. Stanowi to jeden z głównych powodów wysokiej podatności ryb na zanieczyszczenia wody. Innym powodem jest duża różnorodność i wyjątkowa wrażliwość sensorycz-

na powłok ciała ryb. Percepcja sensoryczna stresora warunkuje wywołanie reakcji stresowej zarówno u ryb, jak i innych kręgowców. Ryby reagują na szkodliwe zanieczyszczenia chemiczne i wiele innych stresorów na poziomach intensywności często znacznie niższych od tych, które są odczuwalne dla zwierząt lądowych (WENDELAAR BONGA 1997).

Zgodnie z koncepcją allostazy (ogólny stan równowagi utrzymywany poprzez liczne zmiany wieloukładowe, które odpowiadają przewidywanym wymaganiom środowiskowym), aby zwierzę mogło pokonać zagrożenie, reakcja stresowa musi być kompensacyjna i adaptacyjna. Taki adaptacyjny typ reakcji stresowej to eustres. Koszt, jaki organizm musi ponieść reagując na stres, to ładunek allostacyjny. Niski ładunek allostacyjny lub eustres może mieć pozytywny wpływ na kondycję ryb (stres mobilizujący). Jeżeli odpowiedź nie powiedzie się lub będzie niewystarczająca, następuje przeciążenie allostacyjne. Zazwyczaj obserwuje się to w warunkach przewlekłego (chronicznego) stresu, gdy ryby nie są w stanie skutecznie radzić sobie z ciągłym wyzwaniem stresowym, a reakcja stresowa traci wymiar adaptacyjny, staje się dysfunkcyjna i ostatecznie ma niekorzystne skutki. Ten stan braku przystosowania określono jako dystres (SAMARAS i współaut. 2018).

Pomimo odmiennych środowisk, mechanizm reakcji stresowej u ryb wykazuje wiele podobieństw do kręgowców lądowych (znaczna konserwatywność ewolucyjna). Istnieją trzy główne etapy reakcji na czynniki stresowe: alarmowa, przystosowania (oporności) oraz kompensacji lub wyczerpania (śmierć). Charakter reakcji na stres zależy od natężenia i czasu trwania stresora. Zasadniczo we wszystkich przypadkach faza alarmowa polega na uruchamianiu systemów zaangażowanych w „walkę i ucieczkę” i, co ważne, radzenia sobie ze stresem. Podczas etapu przystosowania zachodzi przywrócenie norm homeostatycznych – ryba pokonuje stresor, co umożliwi stopniową kompensację lub następuje faza wyczerpania (przewlekły stres), prowadząca do śmierci (SCHRECK i TORT 2016). W obrębie mechanizmów zintegrowanej odpowiedzi na stres u ryb podstawowa reakcja na stresor obejmuje aktywację dwóch osi neuroendokrynych. Oś układ współczulny-komórki chromafinowe prowadzi do wydzielania katecholamin (adrenaliny i noradrenaliny) z komórek chromafinowych, homologu rdzenia nadnerczy u ssaków, które u ryb są rozproszone lub występują w małych skupiskach w nerce głowowej (WENDELAAR BONGA 1997, GALHARDO i OLIVEIRA 2009, URBINATI i współaut. 2020). Druga to oś podwzgórze-przysadka-komórki



Ryc. 2. Porównanie osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA, A) u ssaków i osi podwzgórze-przysadka-komórki śródnerkowe nerki głowowej (HPI, B) u ryb.

CRH, kortykoliberyna; ACTH, hormon adrenokortykotropowy (wg NARDOCCI i współaut. 2014, zmodyfikowana).

śródnerkowe nerki głowowej (ang. hypothalamus-pituitary-interrenal axis, HPI), która jest funkcjonalnym analogiem osi przysadkowo-nadnerczowej u ssaków (HPA) (BRAITHWAITE i EBBESSON 2014, NARDOCCI i współaut. 2014). Schematyczne porównanie osi HPA u ssaków i HPI u ryb przedstawia Ryc. 2. Warto w tym miejscu wspomnieć, że u ryb nerka głowowa jest narządem parzystym, znajdującym się w przedniej części jamy brzusznej, za skrzelami. Jest ona funkcjonalnym homologiem szpiku kostnego i nadnerczy u ssaków (WENDELAAR BONGA 1997, GORISSEN i FLIK 2016).

Zarówno u ssaków, jak i u ryb, wtórne reakcje na zaistniały stresor obejmują natychmiastowe działanie, na poziomie krwi i tkanek, uwolnionych katecholamin i kortykosteroidów. Odpowiedzi wtórne stanowią mierzalne zmiany poziomu glukozy, kwasu mlekowego i głównych jonów (np. chlorków sodu i potasu) we krwi oraz tkankowego poziomu glikogenu i białek szoku cieplnego (ang. heat shock proteins, HSP) (BARTON 2002). Aktywacja osi współczulno-adrenergicznej powoduje zmiany w układzie sercowo-naczyniowym i oddechowym oraz pomaga w mobilizacji zapasów energetycznych w związku ze zwiększeniem zapotrzebowania metabolicznego. Oś HPI reguluje nie tylko metabolizm energetyczny, ale także równowagę wodno-mineralną. Ma to związek z faktem, że aldosteron (główny hormon mineralokortykoidowy, odpowiedzialny za resorpcję i utrzymywanie fizjologicznego stężenia sodu

u ssaków) u ryb nie występuje lub występuje w bardzo niskich stężeniach (WENDELAAR BONGA 1997, SPENCERA i DEAK 2017).

Przedłużona ekspozycja na stresor może także prowadzić do uogólnionej reakcji całego organizmu. Przykładowo, stres ma hamujący wpływ m.in. na reprodukcję ryb i hamuje ich wzrost. Ogólna odporność na choroby może w stresie również podlegać daleko idącym zmianom i prowadzić do immunosupresji, dramatycznie zwiększając zapadalność na choroby i w konsekwencji śmiertelność ryb (WENDELAAR BONGA 1997, GALHARDO i OLIVEIRA 2009).

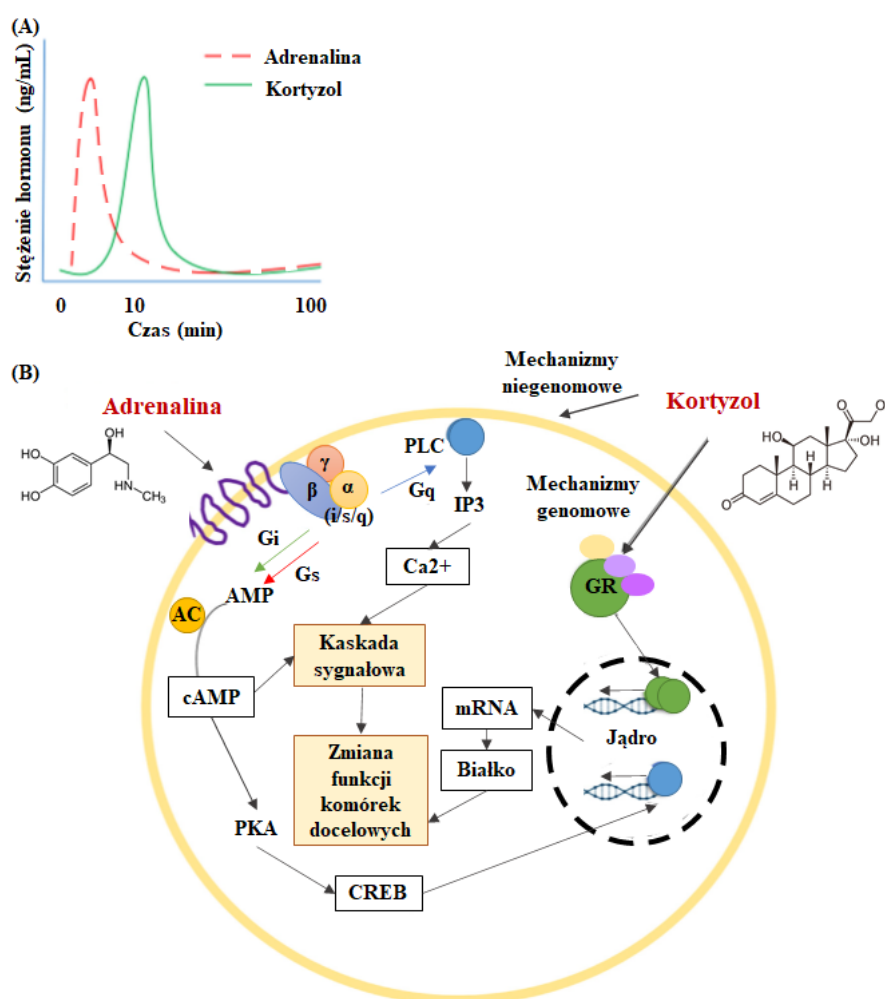
### JAK RYBY SIĘ STRESUJĄ? MECHANIZMY REGULACJI ODPOWIEDZI STRESOWEJ

Kiedy ryby są narażone na stresor, fizjologiczna reakcja stresowa jest inicjowana przez centralny układ nerwowy, po rozpoznaniu rzeczywistego lub postrzeganego zagrożenia. Współczulne włókna nerwowe, które unerwiają komórki chromafinowe, stymulują uwalnianie katecholamin. Tkanka chromafinowa znajduje się głównie w przednim obszarze nerki głównej (BARTON 2002, SCAPIGLIATI i współaut. 2007). Ponieważ katecholaminy, a głównie adrenalina, u ryb doskonałokostnych są zmagazynowane w komórkach chromafinowych, ich uwalnianie jest szybkie, a poziom krążących hormonów stresu natychmiast wzrasta i następnie są one szybko usuwane z krążenia (Ryc. 3A). Działanie adrenaliny polega na szybkiej mobilizacji glukozy, co zaspokaja zapotrzebowanie na energię, wywołane przez stresor (BARTON 2002, FAUGHT i współaut. 2016). Adrenalina działa poprzez receptory  $\alpha$ - lub  $\beta$ -adrenergiczne (ADR), które należą do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR) i moduluje odpowiedź komórkową poprzez fosforylację/defosforylację docelowych białek (Ryc. 3B). Chociaż adrenalina wpływa na zmiany transkrypcyjne, w tym geny zaangażowane w metabolizm i odpowiedź immunologiczną, dominująca rola tego hormonu u ryb jest niezależna od regulacji transkrypcji (BARTON 2002, CHADZIŃSKA i współaut. 2012, FAUGHT i współaut. 2016). U ssaków adrenalina aktywuje białko wiążące element odpowiedzi na cAMP (ang. cAMP response element-binding protein, CREB), kluczowy czynnik transkrypcyjny zaangażowany w regulację metaboliczną podczas stresu. Jednak rola CREB w szlaku sygnalizacji reakcji stresowej, w której pośredniczy adrenalina, nie jest jak dotąd wyjaśniona u ryb (FAUGHT i współaut. 2016).

Uwalnianie kortyzolu u ryb jest opóźnione w stosunku do katecholamin (wzrost po-

ziomu kortyzolu następuje w ciągu od kilku minut do kilku godzin) (Ryc. 3A) (FAUGHT i współaut. 2016, BALDISSERA i współaut. 2020). Wolniejsza odpowiedź tkanek na stymulację kortyzolem zwykle obejmuje syntezę białek efektorowych, które ułatwiają mobilizację i relokację substratów energetycznych, w tym uzupełnianie wyczerpanych zapasów glikogenu. U ryb aktywacja osi HPI rozpoczyna się od podwzgórza, które odbiera sygnały przesyłane z ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Wykrywanie stresującego sygnału stymuluje nerwy podwzgórzowe do wydzielania kortykoliberyny. CRH stymuluje komórki kortykotropowe przedniego płata przysadki do wydzielania hormonu adrenokortykotropowego. ACTH wiąże się ze specyficznym receptorem MC2 (ang. melanocortin receptor 2, MC2R) na powierzchni komórek śródnerkowych i aktywuje szlak sygnałowy prowadzący do wydzielania kortyzolu jako produktu końcowego aktywacji osi HPI. W przeciwieństwie do komórek chromafinowych, synteza i uwalnianie kortyzolu z komórek śródnerkowych nerki głównej są opóźnione i łatwo mierzalne. W rezultacie poziom krążącego kortyzolu jest powszechnie stosowany jako wskaźnik stresu doświadczanego przez ryby (BARTON 2002, UREN WEBSTER i współaut. 2020). Kontrola uwalniania kortyzolu odbywa się poprzez ujemne sprzężenie zwrotne, na wszystkich poziomach osi HPI (BARTON 2002). Kortykosteroidy wywierają wpływ na tkanki docelowe poprzez dwa odrębne mechanizmy znane jako genomowe i niegenomowe szlaki sygnałowe (DAS i współaut. 2018, URBINATI i współaut. 2020). W działaniu hormonów kortykosteroidowych pośredniczą wewnątrzkomórkowe receptory, działające jako ligandozależne czynniki transkrypcyjne (PRUNET i współaut. 2006). Ryby doskonałokostne wykazują ekspresję większej liczby receptorów kortykosteroidowych, w porównaniu z innymi kręgowcami. Podobnie jak u ssaków, u ryb opisano dwa rodzaje receptorów kortyzolu: mineralokortykoidowe (MR) i glikokortykoidowe (GR) (STOLTE i współaut. 2008).

W genomowym szlaku sygnalizacyjnym hydrofobowy kortyzol dostaje się do komórki i aktywuje cytoplazmatyczne czynniki transkrypcyjne, takie jak receptor GR (Ryc. 3B). Aktywny kompleks hormon-receptor przemieszcza się do jądra, gdzie zachodzi jego dimeryzacja. Jako homodimer wiąże się ze specyficznymi elementami odpowiedzi na glikokortykoidy (ang. glucocorticoid responsive elements, GRE), w promotorze genów docelowych regulujących metabolizm glukozy, poziom jonów, behavior i odporność (transaktywacja/transrepresja) (ALSOP i VIJAYAN 2009). Ponieważ proces ten prowa-



Ryc. 3. Molekularny mechanizm działania hormonów stresu.

Zmiany stężenia adrenaliny i kortyzolu w osoczu w odpowiedzi na stres (A). Transdukcja sygnału wewnątrz komórki (B). Adrenalina za pośrednictwem receptorów adrenergicznych sprzężonych z białkiem G ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) inicjuje wewnątrzkomórkowe kaskady sygnalizacyjne: za pośrednictwem białka Gs stymuluje cyklazę adenylową (AC) i powoduje wzrost poziomu cAMP, natomiast za pośrednictwem białka Gi prowadzi do zahamowania AC i spadku poziomu cAMP. Fosforylacja kinazy białkowej A (PKA), powoduje aktywację czynnika transkrypcyjnego CREB. Kompleks adrenalina-receptor-białko Gq stymuluje fosfolipazę C (PLC), która katalizuje powstawanie trisfosforanu inozytoli (IP3). IP3 inicjuje wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia  $\text{Ca}^{2+}$ . Kortyzol działa na ścieżce genomowej wiążąc się z wewnątrzkomórkowymi receptorami GR. Dochodzi do dimeryzacji kompleksów ligand-receptor i ich translokacji do jądra, gdzie indukują transkrypcję genu poprzez przyłączenie do GRE (wg FAUGHT i współaut. 2016, VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2017).

dzi do syntezy białek *de novo*, sygnalizacja genomowa jest wolniejsza, natomiast okres jej trwania jest dłuższy (synteza swoistych białek regulatorowych zachodzi minimum po 30 minutach od ekspozycji na kortyzol, następnie stopniowo rozwija się ich działanie). Z kolei sygnalizacja niegenomowa jest szybka (od sekund do minut), ponieważ komórki efektorowe są modulowane przez aktywację kaskady sygnalizacyjnej, w tym cyklicznych nukleotydów cAMP (cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan), cGMP (cykliczny guanozylo-3',5'-monofosforan), jonów wapnia  $\text{Ca}^{2+}$ , trisfosforanu inozytoli IP3 (ang. inositol 1,4,5-trisphosphate) i kinaz białko-

wych (GRZANKA i JARZĄB 2009, DAS i współaut. 2018). W rozróżnianiu tych dwóch mechanizmów nie należy opierać się wyłącznie na czasie pojawienia się efektów biologicznych, ponieważ mogą również istnieć mechanizmy niegenomowe ujawniające się po dłuższym czasie (GRZANKA i JARZĄB 2009). Główną różnicą między tymi dwoma szlakami jest to, że podczas gdy szlak genomowy obejmuje aktywację transkrypcji i translacji genu za pośrednictwem steroidów, efekty niegenomowych szlaków przekazywania sygnałów są niezależne od regulacji genów (DAS i współaut. 2018).

U ryb występują dwa zduplikowane geny *GR* (*GR1* i *GR2*), których transkrypcja prowadzi do powstania funkcjonalnych białek (wyjątek: danio pręgowany, u którego występuje tylko jeden *GR*) (ALSOP i VIJAYAN 2009, DAS i współaut. 2018). Ponadto, gen *GR1* posiada dwa warianty: *GR1a* i *GR1b*. Co ciekawe, zduplikowane receptory wymagają różnych stężeń kortyzolu (odpowiednio niskich i wysokich, które odpowiadają podstawowemu poziomowi kortyzolu i jego stężeniu w warunkach stresu), aby zainicjować aktywację tych receptorów w komórkach efektorowych (zdolność do transaktywacji) (BURY i STURM 2007, STOLTE i współaut. 2008, URBINATI i współaut. 2020). Chociaż w badaniach zaproponowano istnienie receptora błonowego pośredniczącego w szybkiej aktywacji szlaków sygnałowych w odpowiedzi na stymulację glikokortykoidami, do tej pory nie został on zsekwencjonowany w żadnym modelu zwierzęcym. Mechanizm działania tych receptorów w szybkiej sygnalizacji niegenomowej jest jak dotąd u ryb nieznan. Zaproponowano cztery modele niegenomowego działania, dzięki którym kortyzol wywołuje szybką sygnalizację stresową u ryb doskonałokostnych: (i) zmiany fizykochemiczne dwuwarstwy lipidowej w wyniku interkalacji kortyzolu (bez udziału receptora), (ii) aktywacja błonowego GR, (iii) aktywacja receptorów błonowych niezależnych od GR, (iv) niezależne od receptorów błonowych otwarcie kanałów  $Ca^{2+}$  i wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia (DAS i współaut. 2018). Uważa się, że niegenomowe szlaki sygnalizacyjne skutkują wzmocnieniem następujących po nich efektów genomowych. Z kolei genomowe mechanizmy działania tego hormonu dostarczają niezbędnych białek do nietranskrypcyjnego przekazu sygnału (GRZANKA i JARZĄB 2009). Wszystkie te mechanizmy tworzą szeroki zakres możliwości zróżnicowanych regulacji za pomocą kortyzolu (BURY i STURM 2007, STOLTE i współaut. 2008).

## WPLYW STRESU NA FIZJOLOGIĘ RYB

Podstawowym mechanizmem adaptacji podczas stresu jest realokacja docelowego wykorzystania zasobów energetycznych (inwestowanych np. podczas wzrostu i reprodukcji), w kierunku działań wymagających intensyfikacji, takich jak oddychanie, poruszanie się, osmoregulacja i regeneracja tkanek, w celu przywrócenia homeostazy i zachowania integralności funkcjonalnej. Powoduje to obniżenie kondycji ryb podczas stresu przewlekłego i w czasie regeneracji po stresie. W odpowiedzi wtórnej, po percepcji bodźca stresowego następuje mobilizacja substratów bogatych w energię, wyczerpanie

zapasów glikogenu w wątrobie, podniesienie poziomu glukozy w osoczu i ogólne zahamowanie syntezy białek (WENDELAAR BONGA 1997).

U ryb mięśnie stanowią ponad połowę masy ciała, dlatego zmiany ich wielkości mają szczególne znaczenie dla wzrostu. Wzrost mięśni jest konsekwencją wielu procesów umożliwiających absorpcję składników odżywczych ze środowiska oraz ich wykorzystanie do wzrostu liczby i wielkości miocytów. Ze względu na duży koszt energetyczny reakcji stresowej, w efekcie obserwuje się zmniejszenie lub brak wzrostu, a parametry takie jak zmiana masy ciała lub wydajność metaboliczna, są stosowane jako wskaźniki stresu ryb (WENDELAAR BONGA 1997, SADOUL i VIJAYAN 2016). Ostry i przewlekły stres zwykle wiąże się ze zwiększonym tempem metabolizmu, ocenianym u ryb na podstawie obserwowanej hiperglikemii (poziom glukozy w osoczu jest dodatnio skorelowany z tempem metabolizmu). Stres wpływa również na wzrost poprzez bezpośrednie hamowanie molekularnych mechanizmów miogenezy i hormonalnej regulacji wzrostu. Ostry stres moduluje poziomy hormonu wzrostu (ang. growth hormone, GH) w krążeniu, co sugeruje interakcję między osią stresu i osią GH u ryb. Stres unieruchomienia, nagła zmiana temperatury lub zakażenie bakteryjne zmniejszają poziom GH u ryb (SADOUL i VIJAYAN 2016). Stres wpływa również na równowagę osmotyczną płynów ustrojowych, zwiększając utratę wody u ryb morskich oraz jej napływ w przypadku ryb słodkowodnych (WENDELAAR BONGA 1997).

Obciążenie allostatyczne spowodowane stresem zmniejsza także sprawność reprodukcyjną u ryb obu płci. Chociaż większość badań donosi o hamującym wpływie stresu na rozród, istnieją warunki, w których kortykosteroidy mogą mieć działanie stymulujące. Większość z tych efektów obserwuje się u samic w okresie okołooowulacyjnym (MILLA i współaut. 2009). Wiele badań wykazało wzmacniającą lub bezpośrednio stymulującą rolę kortykosteroidów w dojrzewaniu oocytów *in vitro* (GOETZ 1983, PATIÑO i THOMAS 1990). Z kolei hamujący wpływ stresu na rozród może się przejawiać w sposób bezpośredni poprzez zmniejszenie szans przeżycia osobników dorosłych lub w wyniku niewydolności rozrodczej. Stres ogranicza rozród także poprzez wpływ na dojrzewanie (hamowanie rozwoju jajników i jąder), hamowanie tarła i owulacji oraz jakość gamet i potomstwa (wytwarzanie mniejszych jaj i larw). Długoterminowe skutki stresu dla potomstwa pozostają jednak w dużej mierze nieopisane. Efekty hormonalne działania stresu obejmują supresję wytwarzania hormonów podwzgórza

(np. gonadoliberyna, GnRH), przysadki (np. hormon folikulotropowy, FSH; hormon luteinizujący, LH) i gonad (np. testosteron, T i estradiol, E2), przy czym najsilniejszy jest wpływ stresu na wytwarzanie androgenów i estrogenów. Zrozumienie mechanizmów zakłócania reprodukcji przez stres komplikuje fakt, że hormony modulowane stresem mogą mieć działanie ogólnoustrojowe, a także wywierać bezpośredni wpływ na hormony regulujące układ rozrodczy, a badania eksperymentalne często nie pozwalają na ich rozróżnienie (PANKHURST 2016).

Istnieje także wiele efektów trzeciorzędowych wynikających z pierwotnych i wtórnych reakcji na stres, np. zmiany behawioru. Podczas stresu u ryb obserwuje się przykładowo: pobudzenie, lęk, zmniejszony apetyt (zredukowane żerowanie). W warunkach laboratoryjnych zwiększony poziom kortyzolu jest skorelowany ze zmniejszoną eksploracją zbiornika, skototaksją (szukanie schronienia w ciemnym miejscu), tigmotaksją (pływanie przy ścianach zbiornika), nieregularnym pływaniem, nurkowaniem i nagłymi, krótkotrwałymi unieruchomieniami (SPAGNOLI i współaut. 2016). W warunkach naturalnych podczas narażenia na chroniczny stres, poza znaczącymi zmianami we wzorcu pływania, utrzymujący się wyższy poziom stresu może wpłynąć na zachowania względem drapieżników, np. może spowodować zwiększenie intensywności poszukiwania schronienia, zmienić zachowania terytorialne i zakłócić procesy pamięciowe (GALHARDO i OLIVEIRA 2009). Istnieją również stresory, które mogą wywoływać specyficzny efekt, np. substancje toksyczne, których działanie ukierunkowane jest na konkretne układy fizjologiczne (YADA i TORT 2016).

## WPLYW STRESU NA ODPORNOŚĆ RYB

### ODPORNOŚĆ RYB A ODPORNOŚĆ SSAKÓW

Ryby są pierwszymi kręgowcami, które w pełni wykształciły odporność wrodzoną i nabytą. Należy także pamiętać, że u ryb pierwszą linię obrony stanowi nabłonek jelit, skrzel i skóry, a tkanki łączne są bogate w komórki odpornościowe. Najważniejszymi komórkami odporności wrodzonej ryb, tak jak u ssaków, są fagocytujące neutrofile i makrofagi (których prekursorami są monocyty). Zainfekowane komórki mogą być również zabijane przez komórki NCC (ang. non-specific cytotoxic cells), będące odpowiednikiem ssaczycych komórek NK (ang. natural killer). Komórki te wytwarzają białka bakteriobójcze i/lub lityczne (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009).

Podobnie jak u ssaków, również u ryb w obrębie odpowiedzi nabytej można wyróżnić odpowiedź typu komórkowego z udziałem limfocytów T i odpowiedź humoralną, w której główną rolę odgrywają limfocyty B, jedne z kluczowych komórek odpornościowych u ryb. Co ciekawe, komórki te u ryb wykazują cechy charakterystyczne dla odpowiedzi wrodzonej i nabytej. Odpowiadają za wydzielanie przeciwciał, produkcję cytokin, ale wykazują też zdolności fagocytarne (YADA i TORT 2016). Nabyta odpowiedź immunologiczna zapewnia układowi odpornościowemu kręgowców zdolność do rozpoznawania i zapamiętywania określonych patogenów oraz do uzyskania silniejszej i szybszej odpowiedzi podczas kolejnego zetknięcia się z tym samym patogenem. Zainicjowanie odpowiedzi immunologicznej wymaga specyficznego rozpoznania antygeny. Główne białka kompleksu zgodności tkankowej (ang. major histocompatibility complex, MHC) prezentują fragmenty antygeny na powierzchni komórek prezentujących antygen (ang. antigen-presenting cell, APC). Limfocyty T, za pomocą specyficznego receptora TCR (ang. T-cell receptor), rozpoznają antygeny związane z cząsteczkami MHC. U ssaków występuje podział funkcji limfocytów T w obrębie ich różnych typów. Występują limfocyty pomocnicze T (Th), które wspierają funkcję limfocytów B, i cytotoksyczne limfocyty T (Tc), które atakują i zabijają komórki zainfekowane wirusem. Komórki Th za pomocą ko-receptora CD4 wiążą MHC klasy II, podczas gdy komórki Tc charakteryzują się obecnością ko-receptora CD8, który wiąże MHC klasy I. Taki podział funkcji nie jest w pełni ustalony u ryb, chociaż leukocyty ryb wykazują aktywność cytotoksyczną. Ponadto, u doskonałokostnych limfocyty T wykazują obecność CD4, CD8 i MHC klasy I (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009, URBINATI i współaut. 2020). Ryby doskonałokostne okazują się być wyjątkowe pod względem organizacji genów MHC, ponieważ w przeciwieństwie do innych grup kręgowców, ich geny MHC klasy I i klasy II nie tworzą kompleksu. W związku z tym dla genów MHC u ryb doskonałokostnych zaproponowano nazwę genów zgodności tkankowej (ang. major histocompatibility, MH) (RAKUS 2008). Rozpoznanie określonego antygeny prezentowanego przez MHC na powierzchni APC prowadzi do ekspansji klonalnej specyficznych limfocytów B i T (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009). Limfocyty B wykazują na swojej powierzchni ekspresję receptorów (ang. B-cell receptor, BCR) i wydzielają je w postaci przeciwciał (CASTRO i TAFALLA 2015). Swoiste przeciwciała wydzielane przez limfocyty B przyłączają się do patogenu, co powoduje opsonizację i zwiększoną fagocytozę

patogenów. Pierwsze związanie antygeny indukuje komórki pamięci, które po kolejnym zetknięciu z antygenem powodują szybszą i bardziej efektywną odpowiedź nabytą. Limfocyty T swoiste dla antygeny zabijają zainfekowane komórki gospodarza lub wspomagają wytwarzanie przez limfocyty B przeciwciał specyficznych dla antygeny (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009, URBINATI i współaut. 2020). Makrofagi są głównymi APC u ryb, ale u niektórych gatunków opisano również komórki dendrytyczne, które są ważnymi APC u ssaków. U ryb obecne są zatem wszystkie podstawowe funkcje odporności nabytej, jednak w porównaniu z ssakami repertuar ich przeciwciał jest bardziej ograniczony (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009, MAGNADOTTIR 2010, SECOMBES i WANG 2012). Ryby doskonałokostne posiadają trzy różne klasy przeciwciał: IgM, IgT (zwane również IgZ u niektórych gatunków, np. danio pręgowanego) oraz IgD. IgM i IgD są obecne u wszystkich ryb doskonałokostnych i wydają się być niezbędnymi przeciwciałami, natomiast IgT/Z występują tylko u niektórych z nich. IgM jest najbardziej powszechną immunoglobuliną w surowicy oraz śluzie skóry i pełni kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej, natomiast IgT jest główną immunoglobuliną w błonie śluzowej jelita (YADA i TORT 2016). Ogólnie uważa się, że ograniczenie repertuaru przeciwciał ryb w porównaniu do ssaków, wynika m.in. z faktu, iż u ryb nie zachodzi (lub jest znacznie ograniczone) zjawisko przełączania klas przeciwciał (z IgM do różnych izotypów Ig) (SECOMBES i WANG 2012, CASTRO i TAFALLA 2015). Przełączanie klas polega na rekombinacji miejscowo specyficznej, w której dochodzi do zastąpienia regionu stałego łańcucha ciężkiego przeciwciała (BARRETO i współaut. 2005). Całokształt tych zmian jest definiowany jako przełączanie klas, ponieważ klasa przeciwciała jest określana przez region stały łańcucha ciężkiego, który jest ważny dla określenia jego funkcji efektorowej. Zmiana klasy nie wpływa na swoistość przeciwciał względem antygeny (nie dochodzi do modyfikacji części zmiennej) (STAVNEZER i AMEMIYA 2004, BARRETO i współaut. 2005). Chociaż limfocyty B ssaków i ryb mają wiele wspólnych cech, ich znaczenie w obronie organizmu może w niektórych przypadkach nie być porównywalne. Na przykład u ssaków fagocytujące limfocyty B są ograniczone do jamy otrzewnej i stanowią 10-15% wszystkich limfocytów B, podczas gdy u ryb doskonałokostnych są rozpowszechnione ogólnoustrojowo (w tym we krwi, śledzionie i nerce głowowej) i stanowią 60% populacji limfocytów B. Zatem wrodzona rola limfocytów B u ryb wydaje się

być o wiele ważniejsza niż u ssaków (YADA i TORT 2016). Podczas infekcji szybka, ale zazwyczaj krótkotrwała wrodzona odpowiedź immunologiczna poprzedza bardziej trwałą i specyficzną adaptacyjną odpowiedź immunologiczną. U ryb ten okres opóźnienia może wynosić nawet 10-12 tygodni, o czym należy pamiętać, rozważając profilaktykę szczepień ryb (MAGNADOTTIR 2010).

Do tkanki limfoidalnej ryb należą nerka głowowa, grasica, śledziona i tzw. zbiory limfoidalne (ang. gut-associated lymphoid tissue, GALT), występujące w ścianie jelit (GWIZDON 2019). W przeciwieństwie do wyższych kręgowców, ryby nie mają węzłów chłonnych i migdałków. Posiadają natomiast centra melanomakrofagowe (ang. melanomacrophage centers, MMC), które są uważane za homolog ośrodków rozmnażania (ang. germinal centres, GC) znajdujących się we wtórnych narządach limfatycznych ssaków (SECOMBES i WANG 2012). MMC występują w całym ciele, a koncentrują się głównie w śledzionie, wątrobie i nerkach. Ponadto, ryby nie posiadają szpiku kostnego i kępek Peyera (WENDELAAR BONGA 1997). Sugeruje się jednak podobieństwo głównych skupisk GALT w środkowym odcinku jelit z kępkami Peyera ssaków (GWIZDON 2019). Największymi narządami limfoidalnymi i immunokompetentnymi u ryb są nerka głowowa i śledziona. Jak już wspomniano, nerka głowowa pełni rolę szpiku kostnego. Zawiera komórki krwiotwórcze, w obrębie których zachodzi proces tworzenia komórek mieloidalnych i limfoidalnych (WENDELAAR BONGA 1997). U ryb dojrzałych immunologicznie śledziona jest wtórnym narządem limfoidalnym. Pełniona przez nią funkcja dotyczy odpowiedzi wrodzonej i nabytej (obecność makrofagów i limfocytów T i B) oraz produkcji czerwonych krwinek (erytropoeza) (WENDELAAR BONGA 1997, MYSZKOWSKA 2019, BALDISSERA i współaut. 2020). Grasica, która wraz z dojrzewaniem podlega inwolucji, podobnie jak u ssaków, u wielu, ale nie wszystkich gatunków ryb doskonałokostnych, działa jako centrum dojrzewania limfocytów T (WENDELAAR BONGA 1997, MYSZKOWSKA 2019).

Dojrzewanie, proliferacja, różnicowanie i aktywność leukocytów ryb są oczywiście regulowane przez cytokiny i ich receptory. W zależności od stadium zakażenia i funkcji poszczególnych rodzajów komórek, komórki odpornościowe wytwarzają różne typy cytokin. Wśród tych cytokin wyróżniamy: interleukiny (IL), interferony (IFN), chemokiny (chemotaktyczne cytokiny), które regulują migrację komórek (chemotaksja) i inne cytokiny, do których np. należą czynniki martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factors, TNFs) oraz czynniki stymulujące wzrost ko-



lonii (ang. colony-stimulating factors, CSFs) (CASTRO i TAFALLA 2015). Cytokiny mogą wywierać różnorodny wpływ na wzrost i różnicowanie komórek. Dla wielu cytokin wytwarzanych u ssaków, u ryb wykazano występowanie ortologów. Pomimo niskiego stopnia homologii sekwencji, zachowane są ich istotne motywy i struktury trójwymiarowe. W układzie odpornościowym kręgowców prozapalne cytokiny, w tym czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- $\alpha$ ), interleukina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) i interleukina 6 (IL-6), indukują odpowiedź ostrej fazy i uwalnianie chemokin. Następnie uwalniana jest interleukina 12 (IL-12), co z kolei stymuluje uwalnianie interferonu typu II: interferonu-gamma (IFN- $\gamma$ ). W porównaniu do ssaków, odpowiedź prozapalna u ryb charakteryzuje się pierwszą falą ekspresji TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$ , a następnie ekspresją chemokin i maksymalnym wzrostem ekspresji IL-12 (CHADZIŃSKA i współaut. 2008). TNF- $\alpha$  wykazuje ekspresję konstytutywną w nerwe głowowej i skrzelach oraz może być indukowany przez stymulację makrofagów nerki głowowej lipopolisacharydem (LPS), pochodzącym z bakterii Gram-ujemnych. TNF- $\alpha$  kontroluje także wewnątrzkomórkową replikację patogenów i indukuje proliferację komórek. Bierze również udział w stymulacji wytwarzania tlenku azotu (NO). IL-1 $\beta$  wydzielana przez makrofagi stymuluje proliferację tymocytów (dojrzewających limfocytów T), inicjuje reakcję ostrej fazy oraz aktywuje makrofagi i limfocyty T. Ekspresja IL-12 może być indukowana w makrofagach nerki po infekcjach bakteryjnych i wirusowych. Z kolei IFN- $\gamma$ , wytwarzany głównie przez NCC i limfocyty T, aktywuje makrofagi w celu zwiększenia ich aktywności bakteriofagowej w tym wytwarzania NO i chemokin. Chemokiny występują we wszystkich klasycznych narządach odpornościowych i biorą udział w kierowaniu leukocytów do miejsca zapalenia. Sygnalizacja komórek odpornościowych ma decydujące znaczenie dla szybkiego i skutecznego zwalczania patogenów. Niewielkie ilości cytokin mogą generować silne odpowiedzi zapalne i wymagana jest ścisła kontrola nad ich wytwarzaniem, aby zapobiec uszkodzeniu komórek gospodarza. Jak już wspomniano, cytokiny ryb wykazują podobne działanie do ich odpowiedników u ssaków, jednak stopień ich podobieństwa jest różny. Stopień homologii sekwencji między ortologami cytokin ludzi i ryb wynosi zazwyczaj około 20 do 30%. Sugeruje to istotne różnice w wiązaniu lub powinowactwie do przeciwciał, receptorów lub białek wiążących (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009). Warto także wspomnieć, że w związku ze zjawiskiem duplikacji genomu (ang. whole genome duplication, WGD), które mia-

ło miejsce w ewolucji ryb, wiele genów, w tym genów kodujących cytokiny, występuje u nich w formie zduplikowanej. Ewolucja genów kodujących cytokiny i ich receptory także obejmowała wiele duplikacji mniejszej puli genów oraz różnicowanie sekwencji i funkcji ich produktów. Należy wspomnieć, że po WGD większość zduplikowanych genów powraca do systemu pojedynczych genów poprzez mutacje utraty funkcji. Jednak w niektórych przypadkach zduplikowane geny są zachowywane i przechodzą subfunkcjonalizację, w której dwa geny dzielą funkcję oryginalnego genu, lub neofunkcjonalizację, w której mutacje nadają jednemu z genów nową funkcję. Zduplikowane geny mogą być również zachowywane w celu zachowania zdolności do fenotypowego buforowania mutacji (ang. genetic robustness) (ALSOP i VIJAYAN 2009). Danio pręgowany ma około 2900 par zduplikowanych genów, w obrębie około 20 000 genów kodujących białka (BLOMME i współaut. 2006, ALSOP i VIJAYAN 2009). Stwierdzono, że cytokiny są jednymi z najszybciej ewoluujących białek, co prawdopodobnie wynika z wysokiej presji ze strony patogenów. Jednak pomimo tych zastrzeżeń kręgowce wydają się być grupą dość jednorodną pod względem aktywności biologicznej wywieranej przez cytokiny na komórki docelowe (SCAPIGLIATI i współaut. 2007, VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009).

#### STRES ZWIĘKSZA PODATNOŚĆ NA ZAKAŻENIA

Badania w zakresie neuroendokrynologii i immunologii ujawniły imponującą liczbę wspólnych ligandów, receptorów i szlaków sygnałowych, poprzez które układ nerwowy, hormonalny i odpornościowy współdziałają w celu koordynowania allostazy. Wiele receptorów sklasyfikowanych jako typowe receptory hormonalne ulega ekspresji na/w leukocytach, a na poziom ich ekspresji może wpływać stymulacja immunologiczna. Wśród nich są także receptory adrenergiczne i receptory GR. Z kolei na typowych komórkach neuroendokrynnych występują receptory dla cytokin (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2017). Układ nerwowy, odpornościowy i hormonalny u kręgowców współpracują ze sobą, w przetwarzaniu informacji i reagowaniu na bodźce zewnętrzne lub wewnętrzne, szczególnie w sytuacji stresowej, gdy konieczna jest szybka reakcja (TORT 2011, YADA i TORT 2016). Układ nerwowy moduluje natychmiastową ogólną odpowiedź wrodzoną oraz aktywność hormonalną. Uwalniane hormony stresu przygotowują układ odpornościowy na potencjalne wyzwania (np. infekcję, regenerację ran). Tym samym rozpoznanie stresu przez układ nerwowy jest wczesnym sy-

gnałem ostrzegawczym dla układu odpornościowego. Ta interakcja występuje u wszystkich kręgowców i angażuje cząsteczki takie jak: CRH, ACTH, GK, aminy biogenne i cytokiny. Z tego względu, odpowiedź na stres charakteryzuje się zaangażowaniem komórek odpornościowych i neuroendokrynych na poziomie ogólnosystemowym (YADA i TORT 2016).

Stres może modulować zarówno przebieg wrodzonej jak i nabytej reakcji odpornościowej. Przykładowo u ssaków stwierdzono, że w stymulowanych LPS monocytach i makrofagach, adrenalina hamuje tworzenie wolnych rodników tlenowych poprzez receptor adrenergiczny  $\beta$ 2-AR. Ponadto, adrenalina, noradrenalina i agoniści receptorów  $\beta$ -adrenergicznych hamują syntezę i uwalnianie prozapalnych cytokin, takich jak TNF- $\alpha$  i IL-12, jednocześnie promując wydzielanie przeciwzapalnej interleukiny-10 (IL-10). Zastosowanie agonistów  $\beta$ 2-AR hamuje syntezę IFN- $\gamma$  przez komórki Th1, ale nie wpływa na syntezę IL-4 przez komórki Th2 (prawdopodobnie z powodu braku  $\beta$ 2-AR na komórkach Th2). Katecholaminy mogą pośrednio wpływać na migrację i proliferację limfocytów, wytwarzanie przeciwciał i lizę komórek poprzez regulację poziomu cAMP (YANG i GLASER 2002, CHADZIŃSKA i współaut. 2012).

Glikokortykoidy wydają się mieć immunosupresyjne właściwości o złożonym działaniu. Wykazano bowiem, że mogą pobudzać apoptozę niektórych populacji leukocytów, hamować uwalnianie cytokin, osłabiać migrację i proliferację leukocytów oraz aktywność komórek NK. U ssaków GK zwiększają w monocytach ekspresję genów związanych z fagocytozą komórek apoptotycznych oraz wpływają na wzrost migracji monocytów do miejsca infekcji (ENGELSMA i współaut. 2002, TORT 2011). GK hamują również szlak jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), co prowadzi do zmniejszenia produkcji cytokin prozapalnych, takich jak IL-1, IL-6 i TNF (TORT 2011). GK są powszechnie stosowane jako środki immunosupresyjne w chorobach zapalnych i autoimmunologicznych (ENGELSMA i współaut. 2002, DHABHAR 2009). Jednak klasyczny pogląd, że GK działają wyłącznie immunosupresyjnie jest obecnie kwestionowany, ponieważ wydaje się, że w warunkach fizjologicznych GK mogą wywierać zróżnicowany wpływ regulując układ odpornościowy. Przykładowo, w warunkach stresowych, obserwuje się limfopenię, zmniejszoną proliferację limfocytów i zwiększoną ich apoptozę, a z drugiej strony podczas stresu następuje bardzo szybki wzrost względnej liczby krążących

granulocytów obojętnochłonnych (ENGELSMA i współaut. 2002, PIJANOWSKI i współaut. 2015). GK wpływają na migrację leukocytów, powodując redystrybucję krążących leukocytów do różnych przedziałów ciała. Apoptoza odgrywa kluczową rolę w prawidłowym rozwoju i regulacji układu odpornościowego i jest indukowana przez GK podczas selekcji i różnicowania tymocytów i komórek B. Kortyzol zmniejsza natomiast i opóźnia apoptozę neutrofilów (ENGELSMA i współaut. 2002, RONCHETTI i współaut. 2018). Odnotowuje się również zróżnicowany wpływ GK na ekspresję cytokin. Z jednej strony uwalnianie cytokin prozapalnych, w tym typowych cytokin limfocytów T pomocniczych (Th1): interleukiny-2 (IL-2) i interferonu- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), jest silnie tłumione przez GK. Z drugiej strony stymulowana jest ekspresja wielu cytokin limfocytów T pomocniczych (Th2) w tym interleukiny-4 (IL-4) i IL-10 (ENGELSMA i współaut. 2002). Sądzi się zatem, że GK indukują przesunięcie równowagi limfocytów pomocniczych T (Th) z komórek Th1 i komórkowej odpowiedzi immunologicznej, w kierunku komórek Th2, które biorą udział w wytwarzaniu przeciwciał, głównie poprzez hamowanie syntezy IL-12 (cytokiny stymulującej komórki Th1) przez komórki dendrytyczne i makrofagi (CHADZIŃSKA i współaut. 2012). Badania przeprowadzone na myszach wykazały, że podczas infekcji *Listeria monocytogenes*, stres unieruchomienia może hamować migrację leukocytów i produkcję cytokin Th1, indukując jednocześnie ekspresję cytokin Th2. Na przykład, wśród studentów medycyny zaobserwowano zwiększoną częstość zakażeń górnych dróg oddechowych w czasie sesji egzaminacyjnej. Ponadto wykazano, że przedłużone okresy stresu akademickiego są związane ze znacznym spadkiem poziomu IgA w ślinie. Sugeruje to, że osoby doświadczające stresu akademickiego wykazują osłabienie pierwszej linii obrony przed patogenami atakującymi błonę śluzową układu żołądkowo-jelitowego, a zatem są bardziej podatne na choroby zakaźne (YANG i GLASER 2002).

Wpływ stresu na układ odpornościowy jest również szeroko badany u ryb. Badania dotyczące wpływu katecholamin na funkcje immunologiczne ryb wykazały, iż aktywność fagocytarna makrofagów pstrąga tęczowego zmniejsza się po zastosowaniu agonistów receptorów  $\alpha$ - i  $\beta$ -adrenergicznych *in vitro*. Ponadto ligandy receptorów adrenergicznych modulują produkcję reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS). Działanie katecholamin u ryb przejawia się również w komponentach odpowiedzi nabytej. Wykazano, iż agonista receptora  $\beta$ -ADR tłumia, natomiast działanie *in vitro* agoni-

stów receptora  $\alpha 2$ -ADR wzmacnia odpowiedź humoralną leukocytów śledziony. Sympatektomia (odnerwienie współczulne) *in vivo*, przeprowadzona przed (ale nie po) immunizacji, powoduje zwiększenie odpowiedzi humoralnej, co wskazuje na hamowane przez katecholaminy wydzielania przeciwciał we wczesnych stadiach odpowiedzi adaptacyjnej (CHADZIŃSKA i współaut. 2012). W badaniach dotyczących wpływu stresu na odporność, które zostały przeprowadzone na czterech, różnych pod względem podatności na infekcje, liniach karpia (R3, R3xR8, K i R2) zaobserwowano, że ryby o wyższej podatności na infekcje, wykazują silniejszą reakcję stresową (PLJANOWSKI i współaut. 2015). Ryby są szczególnie ciekawym modelem badań nad wpływem stresu na odporność, ze względu na unikatowe wśród kręgowców funkcje nerki główowej. Jak już wspomniano, narząd ten zespala komponenty wszystkich trzech układów regulujących i w związku z tym daje możliwość bezpośrednich interakcji neuroimmunoendokrynnych (TORT 2011, NARDOCCI i współaut. 2014). Nerka główowa tworzy tym samym specyficzne środowisko dojrzewania np. dla monocytów/makrofagów, w którym podlegają bezpośredniemu, parakrynnemu działaniu hormonów stresu. Makrofagi to niezwykle plastyczne komórki, wykazujące zjawisko polaryzacji, w wyniku której dochodzi do powstawania komórek klasycznie aktywowanych M1 (makrofagi prozapalne) i alternatywnie aktywowanych M2 (makrofagi przeciwzapalne). Wyniki badań przeprowadzonych na karpkach, w których wpływ stresu/kortyzolu na polaryzację makrofagów badano *in vitro* (kortyzol) i *in vivo* (stres unieruchomienia) sugerują, że kortyzol *in vitro* i stres *in vivo* kierują monocyty/makrofagi nerki główowej na ścieżkę polaryzacji alternatywnej. Badania te potwierdzają, że podobnie jak u ssaków, także u ryb glikokortykoidy są istotnymi stymulatorami alternatywnej polaryzacji makrofagów (MACIUSZEK i współaut. 2019). Funkcje nerki główowej, do których należy wytwarzanie, dojrzewanie i różnicowanie komórek odpornościowych (leukocytów) oraz uwalnianie kortyzolu i katecholamin są kluczowe, kiedy zachodzi potrzeba uruchomienia systemowej reakcji na stres (VERBURG-VAN KEMENADE i współaut. 2009, 2017; YADA i TORT 2016). Podobnie jak u ssaków, hormony stresu u ryb wykazują działanie immunomodulacyjne. Kortyzol jako dominujący steroid w reakcji stresowej ma szeroki i zróżnicowany wpływ na układ odpornościowy. Stwierdzono na przykład, że u karpia stres zmniejsza liczbę krążących limfocytów B i odpowiedź przeciwciał po immunizacji *in vivo*, a także hamuje ekspresję cytokin prozapalnych *in vitro*. Stres często

działa immunosupresyjnie, przeciwdziałając potencjalnie szkodliwym skutkom zbyt silnej odpowiedzi prozapalnej, jednak ostry stres i związane z nim uwalnianie kortyzolu może wywierać działanie stymulujące (STOLTE i współaut. 2008, TORT 2011). Stres wywołuje zmiany w liczbie i szybkości rekrutacji komórek odpornościowych, które są kierowane do tkanek lub narządów w celu zwiększenia skutecznej ochrony immunologicznej. Wiąże się to z istotnymi różnicami w rozmieszczeniu leukocytów w różnych obszarach ciała. Pod wpływem stresu zachodzą zmiany w liczbie leukocytów, zależnie od ich typów. Liczba limfocytów jest znacznie zmniejszona, natomiast liczba fagocytów (neutrofilii i monocytów/makrofagów) wzrasta, np. kortyzol indukuje apoptozę limfocytów, natomiast hamuje apoptozę neutrofilii, co wskazuje na selektywną regulację wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej (DHABHAR 2009, TORT 2011, CHADZIŃSKA i współaut. 2012, PLJANOWSKI i współaut. 2015). Poziom leukocytów we krwi jest zależny od intensywności i czasu trwania stresu. Ostry, krótkotrwały stres stymuluje wytwarzanie leukocytów w nerce główowej, co skutkuje wzrostem w krążeniu liczby leukocytów, a konkretnie neutrofilii. W wyniku ciągłego stresu różne subpopulacje leukocytów, głównie limfocyty, koncentrują się w narządach docelowych, w których działa bodziec stresowy, dlatego zarówno centralne narządy limfatyczne, jak i krew wykazują spadek liczby tych komórek. Uważa się, że wywołana stresem neutrofilia, czyli zwiększenie liczby neutrofilii w układzie krążenia, jest odpowiedzią adaptacyjną, ponieważ przedłuża żywotność komórek, które tworzą pierwszą linię obrony przeciwko patogenom. Biorąc pod uwagę kluczowe znaczenie neutrofilii w pierwszej linii obrony, przedłużenie ich życia, a tym samym utrzymanie większej liczby krążących neutrofilii jest korzystne w sytuacjach ostrego stresu, kiedy reakcja walki i ucieczki zwiększa szansę na zranienie, a tym samym zakażenie. Warto jednak wspomnieć, że u ryb kortyzol nie tylko zwiększa liczbę granulocytów obojętnochłonnych we krwi, ale również hamuje migrację tych komórek do uszkodzonych miejsc lub zmian zapalnych i spowalnia gojenie się ran (WENDELAAR BONGA 1997). Ponadto wysokie poziomy kortyzolu u ryb i skorelowana z tym immunosupresja, wiąże się ze zmniejszoną odpornością na patogeny oportunistyczne (bakterie, grzyby, pierwotniaki lub wirusy) lub na eksperymentalne zakażenie patogenami, co prowadzi do chorób i zwiększonej śmiertelności (WENDELAAR BONGA 1997, BALDISSERA i współaut. 2020).

W kontekście wpływu stresu na odporność należy także wspomnieć o ważnym

aspekcie wpływu kortyzolu na mikrobiom. Badania przeprowadzone na łososiu atlantyckim wykazały bowiem, że wzrost stężenia kortyzolu po ekspozycji na łagodny stresor wiąże się ze zmianami w różnorodności i składzie mikrobiomu jelitowego. W szczególności dotyczy to zmniejszonej liczebności bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Carnobacterium*, oraz zwiększonej liczebności kilku rodzajów, wywołujących zapalenie i oportunistycznych, bakterii patogennych. Biorąc pod uwagę fundamentalny wpływ mikrobioty i jej metabolitów na wiele aspektów zdrowia gospodarza, sugeruje to, że zaburzenie mikrobiomu jelitowego prawdopodobnie przyczynia się do niekorzystnego wpływu stresu na funkcje układu immunologicznego i odporność na choroby (DAWOOD 2020, UREN WEBSTER i współaut. 2020).

### PODSUMOWANIE

Reakcja stresowa jest mechanizmem konserwatywnym ewolucyjnie. Tym samym istnieje wiele podobieństw między reakcjami na stres kręgowców wodnych i lądowych. Wskazuje to, że historia ewolucji tych mechanizmów, mających fundamentalne znaczenie adaptacyjne, trwa co najmniej 400 milionów lat. Potwierdza to wysokie, sięgające 93%, podobieństwo sekwencji głównych przekaźników neuroendokrynych i ich receptorów zaangażowanych w kontrolę reakcji na stres (WENDELAAR BONGA 1997, ENGELSMA i współaut. 2002). Stanowi to wyraźny kontrast względem różnorodności mediatorów immunologicznych. Również funkcje głównych hormonów stresu są podobne. Wzrost poziomu katecholamin w osoczu (pierwszych neurotransmiterów), stanowi niespecyficzny sygnał alarmowy lub reakcję aktywacji, która prowadzi do szybkiej mobilizacji substratów energetycznych oraz zwiększonego poboru i transferu tlenu. Wzrost krążącego kortyzolu następuje wolniej i trwa dłużej, ułatwiając (glukoneogeneza) lub łagodząc (przywrócenie zaburzonej równowagi wodnomineralnej) działanie katecholamin. Podobieństwa dotyczą również hamującego wpływu stresu na wzrost, rozmnażanie i funkcje immunologiczne (WENDELAAR BONGA 1997).

Z ewolucyjnego punktu widzenia tego rodzaju efekty to kompromisy ewolucyjne (w ramach zjawiska trade off) lub koszty dostosowania, które występują wówczas, gdy korzystna zmiana jednej cechy jest powiązana ze szkodliwą zmianą innej. Jest to również podstawowa zasada teorii ewolucji historii życiowych organizmów (optymalna alokacja zasobów). W przypadku funkcji immunologicznych warto pamiętać, że o ile krótkoter-

minowe immunosupresyjne działanie hormonów stresu może mieć funkcję adaptacyjną (ponieważ zapobiega nadmiernej aktywacji układu odpornościowego i wiąże się z oszczędnościami energetycznymi), w perspektywie długoterminowej może stracić wymiar adaptacyjny i promować rozwój chorób. Homeostaza organizmu obejmuje złożoną sieć sygnalizacji hormonalnej i cytokinowej, w której przekaźniki układu neuroendokrynego i układu odpornościowego blisko współpracują. Zarówno stres, jak i odpowiedź immunologiczna muszą być pod ścisłą kontrolą, aby zapobiec potencjalnym szkodliwym działaniom w obrębie sygnalizacji komórkowych w organizmie.

Warto w tym miejscu raz jeszcze podkreślić, że ryby stanowią interesujący model do badań ewolucji odporności, a w szczególności interakcji neuro-endokryno-immunologicznych. W przeciwieństwie do ssaków, u ryb produkcja kortyzolu (komórki śródnerkowe), katecholamin (komórki chromafinowe) oraz hematopoeza i produkcja przeciwciał są zespolone w obrębie jednego narządu – nerki główowej. Zatem jest to krytyczne miejsce bezpośrednich interakcji parakrynych między układem odpornościowym a neuroendokrynym. Konieczne są jednak dalsze badania nad rybami doskonałokostnymi w celu poznania i lepszego zrozumienia ewolucyjnego znaczenia dwukierunkowej interakcji immunoneuroendokrynej u różnych gatunków. Zrozumienie komórkowych mechanizmów neuroendokrynej regulacji odpowiedzi immunologicznej u ryb pozwoli na opracowanie nowych strategii farmaceutycznych i terapeutycznych w celu zapobiegania chorobom wywoływanym lub pogłębianym przez stres. Intensywna akwakultura charakteryzuje się szeregiem procedur, które należy badać pod kątem ogólnego dobrostanu ryb (m.in. gęstość obsady w zbiornikach, metody połowów, transportu i uśmiercania). Nie ulega wątpliwości, że ryby ulegają stresowi, który wpływa na funkcjonowanie wielu narządów i tkanek. Należy o tym pamiętać w kontekście powracających każdego roku w okolicach świąt Bożego Narodzenia, dyskusji na temat humanitarnych połowów tych zwierząt, ich transportu i sprzedaży. Przedstawione w tym artykule wyniki badań dotyczących stresu u ryb podkreślają konieczność ulepszania i opracowywania nowych narzędzi i metod, które można wykorzystać do oceny wpływu stosowanych w akwakulturze procedur na dobrostan i zapewnić obiektywne informacje, które pomogą określić i zdefiniować granice dopuszczalnych warunków w niewoli, a także niwelować towarzyszące im czynniki stresogenne.

## Streszczenie

Mechanizm reakcji na stres jest konserwatywny ewolucyjnie, w związku z tym mimo odmiennego środowiska życia, odpowiedź stresową ryb doskonałokostnych charakteryzuje wiele podobieństw do kregowców lądowych. Obejmują one główne przekaźniki osi układu współczulny-komórki chromafinowe (odpowiednik osi układu współczulny-rdzeń nadnerczy) oraz osi podwzgórze-przysadka-komórki śródnierkowe nerki główowej (funkcjonalny analog osi podwzgórze-przysadka-nadnercza), a także ich główne funkcje. Współdziałanie układu neuroendokrynnego i układu odpornościowego stanowi integralną część fizjologii, nieodzowną dla utrzymania homeostazy. Zakłócenie złożonych interakcji neuro-endokrynno-immunologicznych ma negatywny wpływ na stan zdrowia i ogólny dobrostan zwierząt i ludzi. Ryby doskonałokostne stanowią szczególnie intrygujący model w zakresie badań wpływu stresu na odporność, ponieważ funkcje immunologiczne i hormonalne są u nich zintegrowane w obrębie jednego narządu - nerki główowej. W konsekwencji procesy immunologiczne podlegają bezpośredniej modulacji parakrynnnej. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie przeglądu aktualnej wiedzy na temat przebiegu reakcji stresowej u ryb i jej roli w regulacji odporności ryb.

## LITERATURA

- ALSOP D., VIJAYAN M., 2009. *The zebrafish stress axis: Molecular fallout from the teleost-specific genome duplication event*. Gen. Comp. Endocrinol. 161, 62-66.
- BARRETO V. M., PAN-HAMMARSTROM Q., ZHAO Y., HAMMARSTROM L., MISULOVIN Z., NUSSENZWEIG M. C., 2005. *AID from bony fish catalyzes class switch recombination*. J. Exp. Med. 202, 733-738.
- BALDISSERA M. D., DE FREITAS SOUZA C., VAL A. L., BALDISSEROTTO B., 2020. *Involvement of purinergic signaling in the Amazon fish *Pterygoplichthys pardalis* subjected to handling stress: Relationship with immune response*. Aquaculture 514, doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734481.
- BARTON B., 2002. *Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids*. Integr. Comp. Biol. 42, 517-525.
- BLOMME T., VANDEPOELE K., DE BODT S., SIMILION C., MAERE S., VAN DE PEER Y., 2006. *The gain and loss of genes during 600 million years of vertebrate evolution*. Gen. Biol. 7, doi: 10.1186/gb-2006-7-5-r43.
- BRAITHWAITE V. A., EBBESSON L. O. E., 2014. *Pain and stress responses in farmed fish*. OIE Revue Scientifique et Technique 33, 245-253.
- BURY N. R., STURM A., 2007. *Evolution of the corticosteroid receptor signalling pathway in fish*. Gen. Comp. Endocrinol. 153, 47-56.
- CASTRO R., TAFALLA C., 2015. *Overview of fish immunity*. [W:] *Mucosal health in aquaculture*. BECK B. H., PEATMAN E. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 3-54.
- CHADZIŃSKA M., LEON-KLOOSTERZIEL K. M., PŁYTYCZ B., VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., 2008. *In vivo kinetics of cytokine expression during peritonitis in carp: Evidence for innate and alternative macrophage polarization*. Dev. Comp. Immunol. 32, 509-518.
- CHADZIŃSKA M., TERTIL E., KEPKA M., HERMSEN T., SCHEER M., VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., 2012. *Adrenergic regulation of the innate immune response in common carp (*Cyprinus carpio* L.)*. Dev. Comp. Immunol. 36, 306-316.
- CHEN Y., ARSENAULT R., NAPPER S., GRIEBEL P., 2015. *Models and methods to investigate acute stress responses in cattle*. Animals 5, 1268-1295.
- DAS C., THRAYA M., VIJAYAN M. M., 2018. *Nongenomic cortisol signaling in fish*. Gen. Comp. Endocrinol. 265, 121-127.
- DAWOOD M. A. O., 2020. *Nutritional immunity of fish intestines: important insights for sustainable aquaculture*. Rev. Aquacult., doi.org/10.1111/raq.12492.
- DHABHAR F. S., 2009. *Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: Implications for immunoprotection and immunopathology*. NeuroImmunoModulation 16, 300-317.
- ENGELSMA M. Y., HUISING M. O., VAN MUISWINKEL W. B., FLIK G., KWANG J., SVELKOUH H. F. J., VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., 2002. *Neuroendocrine-immune interactions in fish: a role for interleukin-1*. Vet. Immunol. Immunopathol. 87, 467-479.
- FAUGHT E., ALURU N., VIJAYAN M. M., 2016. *The molecular stress response*. [W:] *Biology of stress in fish: fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 113-166.
- GALHARDO L., OLIVEIRA R. F., 2009. *Psychological stress and welfare in fish*. Ann. Rev. Biomed. Sci. 11, 1-20.
- GOETZ F. W., 1983. *Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes*. [W:] *Reproduction behavior and fertility control: fish physiology*. HOAR W. S., RANDALL D. J., DONALDSON E. M. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 117-170.
- GONZALO A., CARRASCO G. A., VAN DE KAR L. D., 2003. *Neuroendocrine pharmacology of stress*. Eur. J. Pharmacol. 463, 235-272.
- GORISSEN M., FLIK G., 2016. *The endocrinology of the stress response in fish: an adaptation-physiological view*. [W:] *Biology of stress in fish: fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 75-111.
- GRZANKA A., JARZAB J., 2009. *Niegenomowy mechanizm działania glikokortykosteroidów*. Pneumonologia i Alergologia Polska 77, 387-393.
- GWIZDON M., 2019. *Wpływ żywienia karpia na kształtowanie się parametrów immunologicznych jelita*. [W:] *Uwarunkowania utrzymania dobrostanu zwierząt w Polsce*. TRUSZKOWSKI W. (red.). Katedra Agrotechnologii, Zarządzania Produkcją Rolniczą i Agrobiznesu, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, 44-53.
- MACIUSZEK M., RYDZ L., ŚWITAKOWSKA I., VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., CHADZIŃSKA M., 2019. *Effects of stress and cortisol on the polarization of carp macrophages*. Fish Shellfish Immunol. 94, 27-37.
- MAGNADOTTIR B., 2010. *Immunological Control of Fish Diseases*. Marine Biotechnol. 12, 361-379.
- MILLA S., WANG N., MANDIKI S. N. M., KESTEMONT P., 2009. *Corticosteroids: Friends or foes of teleost fish reproduction?* Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol. 153, 242-251.
- MYSZKOWSKA A., 2019. *Ocena parametrów stresu oksydacyjnego w śledzionie w powiązaniu z żywieniem karpia*. [W:] *Uwarunkowania utrzy-*

- mania dobrostanu zwierząt w Polsce. TRUSZKOWSKI W. (red.). Katedra Agrotechnologii, Zarządzania Produkcją Rolniczą i Agrobiznesu, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, 54-61.
- NARDOCCI G., NAVARRO C., CORTÉS P. P., IMARAI M., MONTOYA M., VALENZUELA B., JARA P., ACUÑA-CASTILLO C., FERNÁNDEZ R., 2014. *Neuroendocrine mechanisms for immune system regulation during stress in fish*. *Fish Shellfish Immunol.* 40, 531-538.
- PANKHURST N. W., 2016. *Reproduction and development*. [W:] *Biology of stress in fish: fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 295-331.
- PATÍÑO R., THOMAS P., 1990. *Induction of maturation of atlantic croaker oocytes by 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ ,21-trihydroxy-4-pregnen-3-one in vitro: Consideration of some biological and experimental variables*. *J. Exp. Zool.* 255, 97-109.
- PIJANOWSKI L., JURECKA P., IRNAZAROW I., KEPKA M., SZWEJSER E., VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., CHADZIŃSKA M., 2015. *Activity of the hypothalamus-pituitary-interrenal axis (HPI axis) and immune response in carp lines with different susceptibility to disease*. *Fish Physiol. Biochem.* 41, 1261-1278.
- PRUNET P., STURM A., MILLA S., 2006. *Multiple corticosteroid receptors in fish: From old ideas to new concepts*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147, 17-23.
- RAKUS K. L., 2008. *Major histocompatibility (MH) polymorphism of common carp: link with disease resistance*. Doctor of Philosophy, Wageningen University.
- RONCHETTI S., RICCI E., MIGLIORATI G., GENTILI M., RICCARDI C., 2018. *How glucocorticoids affect the neutrophil life*. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1-12.
- SADOUL B., VIJAYAN M. M., 2016. *Stress and growth*. [W:] *Biology of stress in fish: fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 167-205.
- SCHRECK C. B., TORT L., 2016. *The concept of stress in fish*. [W:] *Biology of stress in fish: fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 35, 1-34.
- SAMARAS A., ESPÍRITO SANTO C., PAPANDROULAKIS N., MITRIZAKIS N., PAVLIDIS M., HÖGLUND E., PELGRIM T. N. M., ZETHOF J., SPANINGS F. A. T., VINDAS M. A., EBBESSON L. O. E., FLIK G., GORISSEN M., 2018. *Allostatic load and stress physiology in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead seabream (*Sparus aurata* L.)*. *Front. Endocrinol.* 9, 1-13.
- SCAPIGLIATI G., BUONOCORE F., MAZZINI M., 2007. *Biological activity of cytokines: an evolutionary perspective*. *Curr. Pharmaceut. Design* 12, 3071-3081.
- SECOMBES C. J., WANG T., 2012. *The innate and adaptive immune system of fish*. [W:] *Infectious disease in aquaculture: prevention and control*. AUSTIN B. (red.). Elsevier Inc., 3-68.
- SPAGNOLI S., LAWRENCE C., KENT M. L., 2016. *Stress in fish as model organisms*. [W:] *Biology of stress in fish: fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 35, 541-564.
- SPENCERA R. L., DEAK T., 2017. *A users guide to HPA axis research*. *Physiol. Behav.* 178, 43-65.
- STAVNEZER J., AMEMIYA C. T., 2004. *Evolution of isotype switching*. *Semin. Immunol.* 16, 257-275.
- STOLTE E. H., NABUURSC S. B., BURYD N. R., STURMD A., FLIK G., SAVELKOULA H. F. J., VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., 2008. *Stress and innate immunity in carp: Corticosteroid receptors and pro-inflammatory cytokines*. *Mol. Immunol.* 46, 70-79.
- TORT L., 2011. *Stress and immune modulation in fish*. *Dev. Comp. Immunol.* 35, 1366-1375.
- URBINATI E. C., ZANUZZO F. S., BILLER J. D., 2020. *Stress and immune system in fish*. [W:] *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. BALDISSEROTTO B., URBINATI E. C., CYRINO J. E. P. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 93-114.
- UREN WEBSTER T. M., RODRIGUEZ-BARRETO D., CONSUEGRA S. GARCIA DE LEANIZ C., 2020. *Cortisol-Related Signatures of Stress in the Fish Microbiome*. *Front. Microbiol.* 11, 1-9.
- VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., STOLTE E. H., METZ J. R., CHADZIŃSKA M., 2009. *Neuroendocrine-immune interactions in teleost fish*. [W:] *Fish neuroendocrinology, Fish physiology*. BERNIER N. J., VAN DER KRAAK G., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 313-364.
- VERBURG-VAN KEMENADE B. M. L., COHEN N., CHADZIŃSKA M., 2017. *Neuroendocrine-immune interaction: Evolutionarily conserved mechanisms that maintain allostasis in an ever-changing environment*. *Dev. Comp. Immunol.* 66, 2-23.
- WENDELAAR BONGA S. E., 1997. *The stress response in fish*. *Physiol. Rev.* 77, 591-625.
- YADA T., TORT L., 2016. *Stress and disease resistance: immune system and immunoendocrine interactions*. [W:] *Biology of stress in fish: Fish physiology*. SCHRECK C. B., TORT L., FARRELL A. P., BRAUNER C. J. (red.). Academic Press, Elsevier Inc., United States, 365-403.
- YANG E., GLASER R., 2002. *Stress-induced immunomodulation and the implications for health*. *Int. Immunopharmacol.* 2, 315-324.

**KOSMOS Vol. 70, 1, 57–71, 2021**

KATARZYNA KLAK, MAGDALENA CHADZIŃSKA

*Department of Evolutionary Immunology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, 9 Gronostajowa Str.,  
30-387 Kraków, E-mail: katarzyna.klak@doctoral.uj.edu.pl, magdalena.chadzinska@uj.edu.pl*

#### CAN FISH GET STRESSED?

##### Summary

Mechanism of the stress response is evolutionary well-conserved, therefore, despite the different living environment, teleost fish share many similarities with terrestrial vertebrates. These involve the main transmitters of the hypothalamic-sympathetic-chromaffin cells axis (the sympathetic-adrenal medullary axis equivalent) and the hypothalamic-pituitary-interrenal axis (functional analog of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis), as well as their principal functions. The cooperation between neuroendocrine and immune systems form an integrated part of physiology in maintaining homeostasis. The disturbance of these complex neuroendocrine-immune interactions has a negative impact on the health status and welfare of animals as well as human beings. Teleost fish form an especially intriguing model in the field of study stress-immune interactions, as they integrate immune and endocrine functions in one organ – the head kidney. Consequently, immune processes may straightforward undergo paracrine modulation. The aim of this work is to provide an overview of the current knowledge about the stress response in fish and its role in the regulation of fish immunity.

Key words: fish, stress response, stress axis, allostasis, animal welfare, neuroendocrine-immune interaction