

## Streszczenie

Neutrofile i makrofagi są najważniejszymi leukocytami biorącymi udział w aktywacji oraz regulacji mechanizmów wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Znaczenie tych komórek dla funkcjonowania układu odpornościowego zostało dobrze scharakteryzowane u ssaków, natomiast mniej wiadomo o roli tych komórek i mechanizmach regulujących ich działanie w innych grupach kręgowców, w tym u ryb.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu immunostymulacji i/lub stresu na aktywność neutrofili i monocytów/makrofagów karpia (*Cyprinus carpio* L.).

Stwierdzono, że fagocyty karpia, podobnie jak komórki ssaków, w odpowiedzi na immunostymulanty: lipopolisacharyd (LPS), kwas poliinozynowo-policytydylowy (poli I:C), zymosan oraz ester forbolu (PMA) wytwarzają zewnątrzkomórkowe sieci – ET (ang. *extracellular traps*). Co ciekawe, produkcja ET nie jest pobudzana w obecności wysoko oczyszczonego LPS i/lub interferonu gamma (rcINF- $\gamma$ 2).

Wytwarzane przez fagocyty karpia struktury ET mają postać włókien DNA, do których przyłączone są histony oraz białkowe składniki ziarnistości. Zaobserwowano, że tempo i intensywność formowania sieci zależy od zastosowanego stymulanta, jego stężenia i czasu inkubacji. Ponadto rodzaj stymulanta determinuje, czy w reakcję tworzenia ET zaangażowane są wolne rodniki tlenowe (ROS). W odpowiedzi na PMA lub poli I:C proces produkcji ET przez neutrofile jest zależny od ROS, natomiast rodniki te nie biorą udziału w inicjacji wytwarzania sieci w komórkach stymulowanych LPS. Powstawanie ET w sposób niezależny od ROS potwierdzają też badania dotyczące wpływu stresu na aktywność neutrofili karpia. Z doświadczeń tych wynika między innymi, że u ryb linii K stres hamuje zdolność neutrofili do przeprowadzania wybuchu tlenowego, ale nie wiąże się to z istotnymi zmianami w formowaniu ET przez te komórki. Obniżona produkcja ROS u karpia K jest prawdopodobnie konsekwencją indukowanego stresem wzrostu ekspresji genu dla przeciwwzpalnej interleukiny 10 (IL-10).

Wykorzystanie w badaniach różnych linii karpia pozwoliło ponadto wykazać, że u tych ryb stres w odmienny sposób oddziałuje na wydzielanie kortyzolu oraz w różnym stopniu pobudza ekspresję genów związanych z reakcją stresową. Dowiedziono, że szczególną rolę podczas tego typu odpowiedzi odgrywa prozapalna interleukina 1beta (IL-1 $\beta$ ). Co więcej, okazało się, że karpie bardziej wrażliwe na zakażenia bakteryjne i pasożytnicze cechuje silniejsza aktywacja osi stresu w porównaniu do ryb bardziej

odpornych na te patogeny. Sugeruje to, iż wzmożona reakcja na stres może być przyczyną większej podatności na infekcje.

Podsumowując, procesy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, w których biorą udział neutrofile i makrofagi, mają podobny przebieg w różnych grupach kręgowców. Jednym z takich mechanizmów jest zdolność fagocytów do tworzenia struktur ET. Występujące niekiedy rozbieżności w odpowiedzi na poszczególne czynniki mogą wynikać z odmiennej budowy oraz ekspresji receptorów. Różnice w aktywacji mechanizmów odpornościowych u ryb i ssaków są najprawdopodobniej konsekwencją heterogenicznego środowiska życia tych zwierząt, charakteryzującego się obecnością innych patogenów oraz zróżnicowanym narażeniem na stres.



podpis promotora