

14



# Fiskeimmunologi

Tore Seternes

UiT Norges arktiske universitet

## SAMMENDRAG

Alle levende dyr og planter trenger en beskyttelse mot mikroorganismer som vil gå til angrep. I naturen finnes det tusenvis av ulike bakterier, virus, sopp og parasitter som godt kan tenke seg å bruke oss som kilde til næring. Av den grunn er et velfungerende forsvarssystem nødvendig for at vi skal overleve lenge nok til å formere oss. For å fungere må forsvarssystemet først skille mellom det som er en del av individet selv og strukturer som tilhører fremmede mikroorganismer eller vev. For å skille mellom eget og fremmed må det ha en form for spesifisitet. Det må også kunne skille mellom friskt vev og dødt vev. Det må ha evne til å bekjempe inntrengere, reparere skader og derved gi beskyttelse mot sykdom. Det må ha celler og løselige stoffer som kan flytte seg rundt i kroppen og signaler som forteller hvor skaden eller inntrengeren er. En annen viktig egenskap til forsvarssystemet er evnen til å huske. Det kan huske en tidligere inntrenger og bekjempe denne raskere ved neste møte. For å klare alle disse oppgavene består dette forsvarssystemet av en rekke organer, celler og molekyler som alle arbeider sammen i det vi kaller immunapparatet eller immunsystemet.

## 14.1 INTRODUKSJON

Immunapparatet deles ofte inn i det medfødte immunsystem (også kalt det uspesifikke eller native immunforsvar) og det spesifikke eller ervervede/adaptive immunsystem. I dette kapitlet skal vi lære mer om fiskens immunsystem, hvordan er dette systemet bygd opp og hvordan er det organisert hos fisk. Vi skal lære om primære immunorganer hvor forsvarscellene, de hvite blodcellene produseres og om sekundære immunorganer hvor cellene modnes og aktiveres. I dette kapitlet er fiskens immunsystem delt i 3 linjer. Den første linjen består av en fysisk/kjemisk barriere som dannes av slim, slimhinner og hud. Den andre linjen består av molekyler og celler i det medfødte/ uspesifikke immunsystemet mens den tredje linjen danner det spesifikke eller adaptive immunsystemet.

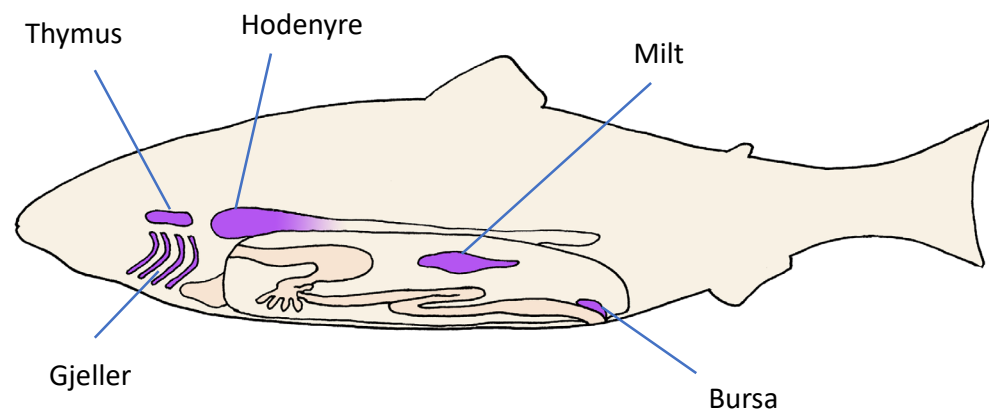
Fisken har som alle andre dyr et forsvarssystem mot infeksjose bakterier, virus, sopp og parasitter, samt andre traumer og skader som kan oppstå når som helst under intensiv produksjon av fisk i oppdrett. Deler av immunsystemet aktiveres tidlig i fiskens liv. Allerede noen dager etter klekking har fisken et funksjonelt men primitivt forsvar som består av forsvarsceller og molekyler, men det er først 3-8 måneder etter klekking man regner immunsystemet som ferdig utviklet. Fisken har systemer som kan registrere sykdom og skade, iverksette tiltak for å bekjempe sykdomsfremkallende mikroorganismer før den til slutt kan reparere eventuelle skader og få vevet tilbake i normal tilstand eller danne såkalt arrvev for å erstatte ødelagte celler og vev. I tillegg har fiskens forsvarssystem, som pattedyrs, evne til å lære og huske. Ved at fiskens forsvarssystem kan lære og huske vil den kunne sende ut både molekyler og celler i vevene som kan forsterke forsvarssystemet og gjøre fisken i stand til å bekjempe bakterier, virus og sopp før de rekker å forårsake skade og sykdom neste gang. Prinsippet for læring og hukommelse utnytter man i dag ved vaksiner. En vaksine kan f.eks. bestå av døde bakterier som injiseres i fisken. Disse døde bakteriene forårsaker ikke sykdom, men de lærer immunsystemet å kjenne igjen den aktuelle bakterien slik at den kan bekjempes på et tidligere stadium før den rekker å forårsake sykdom og død. Det finnes vaksiner mot både bakterier og virus, med hele eller deler av bakterier/virus, levende og døde bakterier og virus i tillegg til ny teknologi som DNA og RNA vaksiner. Ved bruk av DNA/RNA vaksiner produserer fisken selv deler av bakterier og virus. Felles for alle vaksiner er at de utnytter den kunnskapen

man har om fiskens immunsystem. Og det er slik at jo mer kunnskap man får om immunsystemet jo bedre vaksiner kan man lage.

## 14.2 IMMUNSYSTEMETS ORGANER

Immuncellene eller de hvite blodcellene består blant annet av granulocytter, makrofager og lymfocytter med ulike og spesialiserte oppgaver i immunforsvaret. Felles for de fleste immuncellene er at de vandrer rundt i kroppen og er klare til å forsvare kroppen til enhver tid. Makrofagene starter som monocytter i sirkulasjonen, men blir til makrofager når de kommer ut i vevene. Hos pattedyr dannes cellene i benmarg og sirkulerer mellom organene via blod og lymfe. Fisk mangler både lymfeknuter og benmarg, men har andre organer som har lignende funksjon. Hodenyre og thymus er sentrale organer i oppbygningen/dannelsen av immuncellene og kalles derfor primære immunologiske organer. Milten er et sekundært immunologisk organ hvor blodet filtreres og immuncellene aktiveres. I tillegg har vi diffust lymfoid vev i tarm og gjeller som ofte også kalles sekundære immunologiske organer. De hvite blodceller som granulocytter og monocytter/makrofager og lymfocytter har ulike funksjoner i fiskens forsvarssystem. Felles for alle de hvite blodcellene er at de dannes fra stamceller i hodenyre og milt med unntak av T-lymfocytene som også dannes i thymus. Immunologiske organer kalles også lymfoide organer. **Figur 14.1** viser en fisk med immunologiske organer markert.

**Figur 14.1.** Viser organer med immunfunksjon hos atlantisk laks. Nyre og thymus utgjør de primære immunologiske organer hvor immuncellene dannes. Nyren har også funksjoner som sekundært immunologisk organ sammen med milten, hvor blant annet immuncellene modnes til aktive og effektive celler som beskytter laksen mot ulike potensielle inntrengere. Det finnes også store ansamlinger av immunceller i gjeller og bursa, men funksjonene til disse organene er ikke kjent.



### 14.2.1 Hodenyre

Nyren hos fisk ligger langs ryggen øverst i bukhulen. Den er rød på farge og kalles ofte blodranden (se kapittel 2). Funksjonelt deles nyren i to deler hodenyren og baknyren. Hodenyren består av det man kaller bloddannende eller hematopoietisk vev. Her dannes stort sett alle blodceller inkludert immunologisk viktige celler som monocytter, granulocytter, lymfocytter og trombocytter. I tillegg finnes det store mengder modne celler som i noen tilfeller kan være aktiverte andre steder i kroppen. Plasmaceller er navnet på aktiverte B-lymfocytter som produserer antistoffer og man kan finne ganske mange slike aktiverte B-lymfocytter i nyren. Blodforsyningen til hodenyren går gjennom det man kaller sinusoider eller lekke blodkar. Her kan næringsstoffer og i enkelte tilfeller nye blodceller ferdes fritt mellom vev og blod. Det finnes også makrofager rundt sinusoidene som fjerner partikulært materiale fra blodet og presenterer disse for B- og T lymfocytene slik at immunsystemet kan aktiveres. I tillegg har endotelcellene i sinusoidene spesielt hos laks en evne til å rense blodet for løselige avfallsstoffer. Melanomakrofagsentre er samlinger av brune makrofager som er spredt rundt i både hode- og bak-nyre. De kan ta opp partikler fra blodet og man spekulerer i om den brune fargen skyldes antioksidanter den bruker i fordøyelsen av partikler og annet materiale den kan ta opp fra sirkulasjonen/blodet. Baknyren består av ekskretoriske komponenter som nefroner, samlerør og utførselsganger. I baknyren produseres urin som i nyrene hos pattedyr. Baknyren er også involvert i osmoregulering hos fisk som skifter miljø fra ferskvann til saltvann eller motsatt (se kapittel 2 og 9).

### 14.2.2 Milt

Milten er et mørkerødt organ som ligger i bukhulen, i fettvevet over tarmen. Milten består funksjonelt av to deler, rød pulpa og hvit pulpa. Hos fisk er det ofte vanskelig å skille den røde pulpaen fra den hvite. Den røde pulpaen inneholder mye blod, og er derfor rød av farge, i tillegg til diverse hvite blodceller. Den hvite pulpaen inneholder store mengder hvite blodceller og mindre blod. I pattedyr inneholder den hvite pulpaen blodårer med tykke vegger kalt ellipsoider med makrofager som en krage rundt på utsiden. Disse makrofagene vil presentere antigener for B- og T-lymfocytter som vil dele seg i mange millioner celler og danne klumper av aktiverte lymfocytter eller germinale sentre som er hvit av farge. De kalles germinale eller kim sentre av den grunn at det er her celledelingen starter. Hos fisk kan man ikke se hverken ellipsoider eller germinale sentre og den hvite pulpaen er derfor vanskelig å identifisere.

### 14.2.3 Thymus

Thymus hos fisk ligger øverst i gjellehulen over gjellefilamentene under et tynt epitellag. Organet er paret organ dvs at det er to like deler, en på hver side av fisken. I thymus dannes og utvikles T-lymfocytterne til funksjonelle T-lymfocytter som har lært å skille eget fra fremmed vev.

### 14.2.4 Lymfoid vev i tarm, slimhinner og gjeller

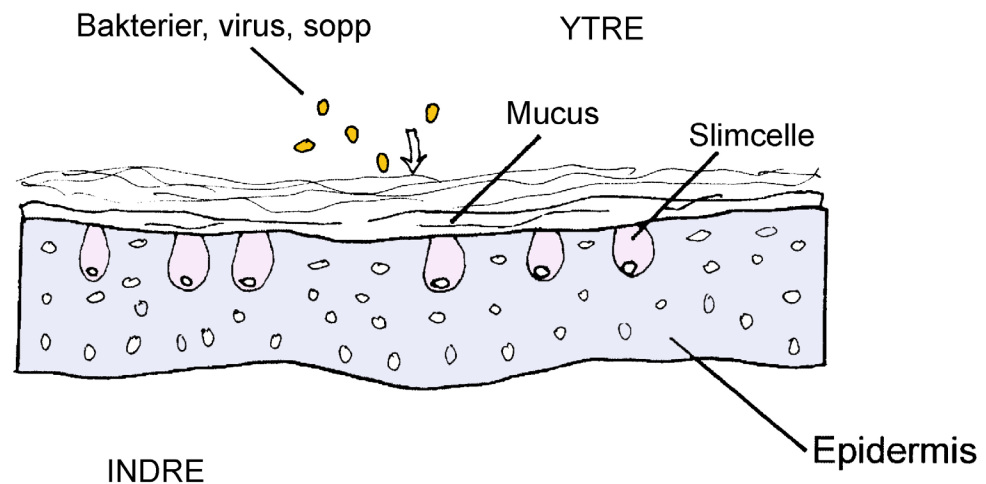
I tarmen og slimhinnene hos fisk finnes frittliggende lymfoide celler. Noen ganger kan man finne ansamlinger av immunceller i disse organene og da kalles de mukosa-assosiert lymfoid vev eller tarm-assosiert lymfoid vev (for tarm se også kapittel 11 Tarmens fysiologi). I tillegg er det funnet et organ kalt bursa bakerst i tarmen som inneholder en samling av T-lymfocytter med ukjent funksjon. I tarmen fordøyes maten og det kan være mange ulike mikroorganismer med maten på vei gjennom fordøyelsessystemet. Den bakre delen av tarmen har sin egen mikroflora og der er det mengder av ulike bakterier som heldigvis ikke alle er sykdomsfremkallende. Det at man har immunceller i tarmen er nok en viktig del av forsvarssystemet mot bakterier og virus som kommer med mat og væskeinntak.

Også i gjeller er det tett kontakt mellom omgivelser og blod. Kun et lite tynt epitellag skiller blodet fra vannet og miljøet utenfor. Tykkelsen på dette epitelet kan være mindre enn en tiendels rød blodcelle. Dette epitelet er svært følsomt og kan være utsatt for skade og må derfor ha et eget forsvarssystem. I gjellene kan det produseres store mengder slim. I tillegg har epitelcellene mot omgivelsene evne til å dele seg å lage et tykkere celleglag som kan tåle mere påvirkning. Men et tykkere celleglag kan gi dårligere gassutveksling og en generelt dårligere velferd hos fisken. Det tykke epitelcellelaget kan flasse av og bli erstattet av nytt tynt epitel om irritasjonsmomentet blir borte. Mellom filamentene er det funnet ansamlinger av immunologiske celler og da spesielt T-lymfocytter som kalles gjelleassosiert eller interbrankialt lymfoid vev avhengig av hvor i gjellene man finner cellene. Hvilken funksjon disse cellene har er fortsatt ukjent, men at de kan være viktige for å holde gjellene fri for infeksjon kan være lett å forstå.

## 14.3 IMMUNSYSTEMETS FØRSTE LINJE – EN FYSISK OG KJEMISK BARRIERE

Hvordan registrerer fisken at noe er galt? For å forstå dette er det viktig å ha litt bakgrunn om hvordan fiskens overflater er bygd opp. Fisken har som alle andre levende skapninger en hud. Fiskens hud er spesiell ved at alle cellegagene er levende og dekket av et slimlag. I tillegg har den som alle andre dyr slimhinner på innsiden av munn og fordøyelseskanal som er i kontakt med omgivelsene. All føde som fisken tar inn må gjennom fordøyelseskkanalen og kan inneholde både bakterier/virus/sopp og ikke minst giftstoffer som kan forårsake skade. Også gjellevevet er i nær kontakt med vann og derfor veldig mottakelig for mulig sykdom og skade.

**Figur 14.2.** Viser den ytre barrieren til fisken i form av mukus (slimlag) og epitelceller (i hud og slimhinner) som beskytter mot ytre farer som bakterier, virus og sopp. Slimlaget hos fisken inneholder flere molekyler som kan hindre bakterier å binde seg til og vokse på overflaten til fisken. Sammen med huden og slimhinnene utgjør slimlaget den første linjen i fiskens forsvartssystem mot potensielle inntrengere.

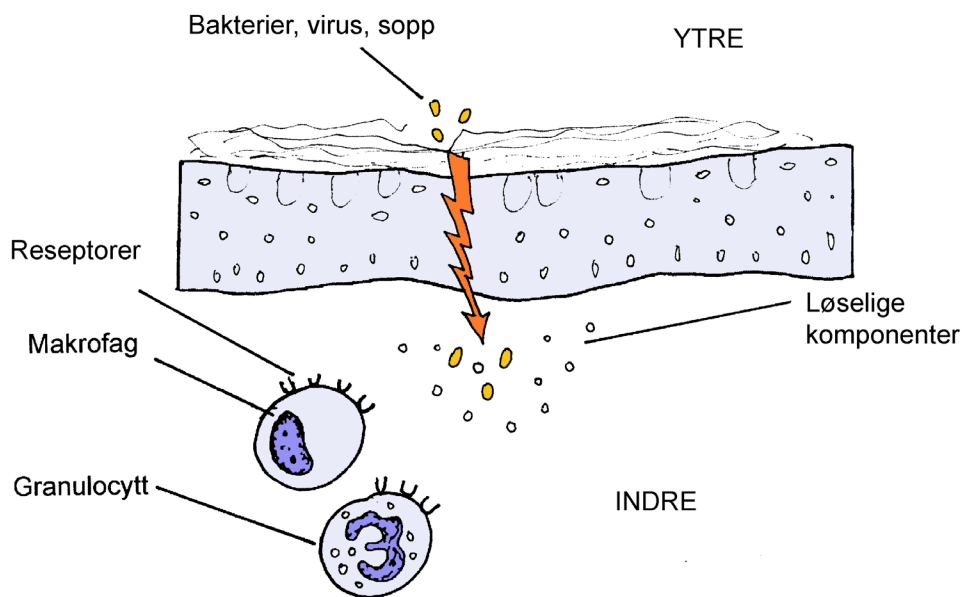


Både hud, gjeller og slimhinner i fordøyelseskanaalen hos fisk er dekket av et slimlag. Dette sammen med epitelet ytterst danner første linje i immunforsvaret og har som oppgave å holde fremmede og potensielt skadelige organismer ute. I **figur 14.2** viser vi hvordan huden og det ytterste hudlaget, epidermis er dekket av et slimlag. Slimet er seigt, viskøst og svært klebrig samtidig som at det produseres kontinuerlig og danner en strøm av slim som fanger og tar hånd om ulike partikler, bakterier og virus. Dette slimet inneholder også ulike enzymer og kjente antimikrobielle stoffer som kan ta livet av og inaktivere mulige angripere eller annen forurensning i vannet. Ved infeksjon eller feks ved større mengder partikler i vann vil fisken kunne respondere ved å produsere store mengder slim. Dette er veldig likt menneskers evne til å produsere slim i form av snørr. Hvilke mekanismer og signaler som øker slimproduksjon hos fisk er ikke veldig kjent. Det man vet er at stress, sult og håndtering kan øke slimproduksjonen kraftig og at denne økningen skjer ganske raskt, gjerne i løpet av sekunder og minutter. Selve huden består av tre lag, epidermis, dermis og hypodermis (se også kapittel 2 for illustrasjoner). Epidermis er ytterst og består av flerlaget plateepitel som hviler på en basalmembran og som er mellom 10 og 20 cellelag tykt. I tillegg inneholder epidermis slimceller og andre celletyper som sensoriske nevroner, pigmentceller og enkelte hvite blodceller. Slimceller er spesialiserte epitelceller som kan produsere mucin. Enkelte immunceller involvert i forsvar kan man også finne i epidermis. Cellene i epidermis er i kontakt med omgivelsene og reagerer lite på ytre stimuli. Cellene kalles keratocytter men inneholder ikke keratin som våre hudceller. Det ytterste hudlaget hos fisk er levende og cellene i epidermis erstattes kontinuerlig uavhengig av stimuli og omgivelse. Celledelingen skjer ved basalmembranen og det blir en evig strøm av celler som går i retning mot omgivelsene. Om den ytterste cellen infiseres/skades vil den bare dø og falle av uten å sett i gang noen voldsom reaksjon. Det er vist at keratocytene beveger seg i flak som et snøras og kan tette igjen små sår og skader. Ved mild eller liten skade/irritasjon kan cellene i epidermis reagere ved at de blir større (hypertrofi) eller deler seg (hyperplasi) og lager et tykkere lag. Dette skjer ofte i gjellene ved irritasjon av f.eks partikler eller parasitter. Både hypertrofi og hyperplasi vil øke avstanden mellom vann og blod slik at gassutveksling ikke fungerer optimalt. Fisken vil under slike forhold være mer mottakelig for sykdom og stress.

#### 14.4 IMMUNSYSTEMETS ANDRE LINJER – DET USPESIFIKKE/ MEDFØDTE IMMUNFORSVAR

Noen ganger vil en skade eller mikroorganisme passere den fysiske og kjemiske barrieren som danner første linje og møte immunsystemets andre forsvarslinje – det uspesifikke/medfødte immunforsvar. Det uspesifikke immunforsvaret består av spesialiserte celler og løselige molekyler som har som hovedoppgave å angripe og ødelegge enhver potensiell skadelig inntrenger. Hvite blodceller som makrofager, granulocytter, naturlige dreperceller og eosinofile granulære celler/mastceller utgjør den cellulære delen av det uspesifikke im-

munforsvaret. De løselige komponentene kan være ulike proteiner som lysiner som dreper inntrengere, opsoniner som setter merkelapp på inntrengere, veksthemmere som hindrer vekst av inntrengere og/eller agglutinerer som får inntrengere til å klistre seg sammen. De aktiverte forsvarecellene skiller ut signalstoffer i form av en rekke ulike cytokiner. Cytokinerne er løselige proteiner som fungerer som sterke signalstoffer som initierer og regulerer immunresponsen. Eksempel på cytokiner er interleukiner og interferoner. Interleukiner er signalstoffer som produseres ved bakterieinfeksjoner og interferonene som produseres ved virusinfeksjoner gjør cellene mindre mottakelige for virusinfeksjoner. Felles for interleukiner og interferoner er at de produseres av immunceller som en respons på skade for å fortelle fisken at nå er det alvor og det er på tide å respondere.



**Figur 14.3.** Når fremmede mikroorganismer som bakterier, virus eller sopp har passert den ytre barrieren vil de møte løselige og cellulære komponenter i immunforsvaret. Makrofager og granulocytter er hvite blodceller med oppgaver i fiskens forsvartssystem. Granulocytene kommer først til skadestedet, mens makrofagene strømmer til skadestedet senere for å rydde opp og fjerne skadelige og forhåpentligvis uskadeliggjorte bakterier, virus og sopp. Komplementsystemet består av flere løselige proteiner som gir signaler og merker mulige invaderende mikroorganismer. I tillegg kan komplementsystemet drepe bakterier ved å lage hull i bakteriene.

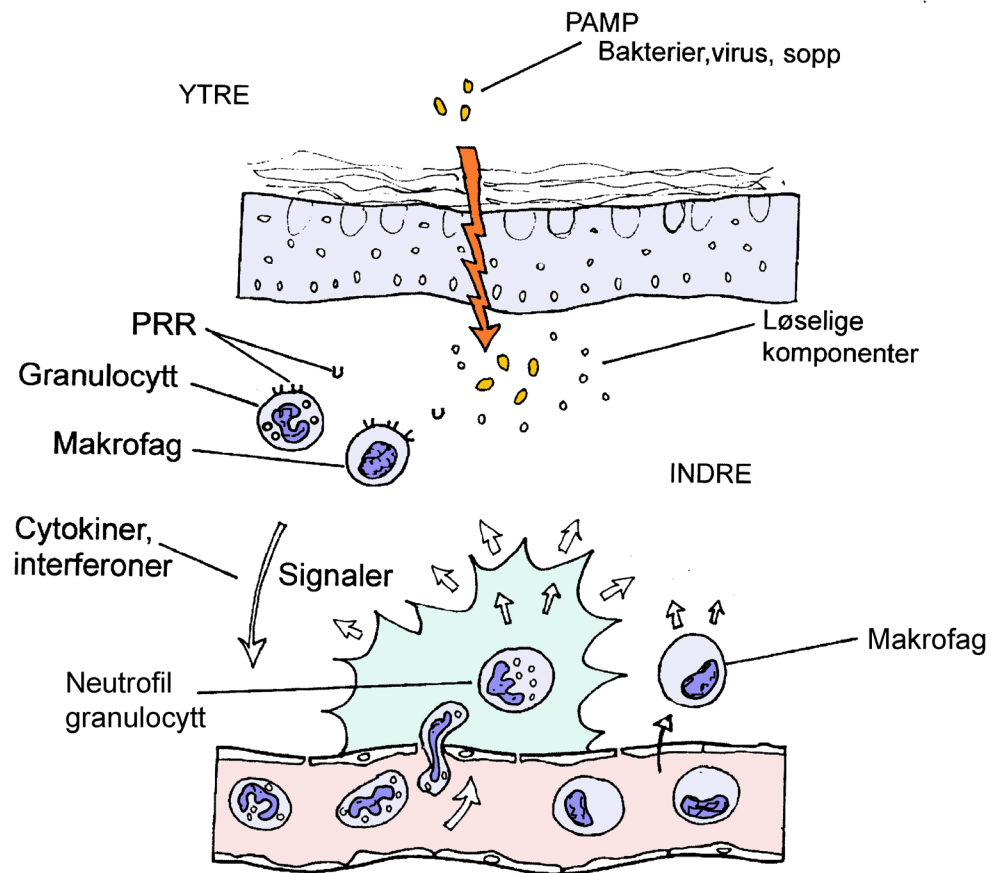
Det uspesifikke immunforsvaret kalles ofte det medfødte immunforsvaret av den enkle grunn at det har liten evne til å lære og stort sett er uforandret gjennom hele livsløpet. Hvordan kjenner dette systemet igjen skade? Bakterier og virus inneholder molekyler i form av proteiner eller polysakkarider som bare disse organismene uttrykker eller har. Disse molekylene kaller vi patogen assosierte molekulære mønstre (PAMP) og fiskens hvite blodceller har reseptorer som kan kjenne igjen slike PAMP'er. Disse reseptorene kaller vi mønster gjenkjennerende reseptorer eller PRR (pattern recognition receptors). Når en PRR binder en PAMP vil cellene aktiveres og sende ut signaler som forteller at her er det fare på ferde og vi må respondere raskt. Dette har vi forsøkt å vise i **figur 14.3** hvor bakterier, sopp eller virus kommer i kontakt med hvite blodceller som aktiveres og sender signaler. Det er ikke bare de hvite blodcellene som reagerer på PAMP'er. Ulike proteiner i komplementsystemet vil kunne binde til PAMP'er og gi opphav til signaler og aktivering av celler. Andre typer skader som slag og sårddannelse vil også kunne aktivere det uspesifikke immunforsvaret.

#### 14.4.1 Betennelse

Reaksjonen på skade kan være voldsom og prosessen som settes i gang kaller vi betennelse. Hos oss mennesker kjennetegnes betennelse av hevelse, rødhet, varme og smerte. Hos fisk er betennelsesprosessen lik med unntak av varme og smerte. Fisken føler nok smerte, men hvorvidt fiskens smertefølelse er lik vår form for smerte vet man i dag lite om. Under betennelsesresponsen er det primære målet å begrense skaden. Skaden i dette tilfellet kan være infeksjons, men det kan også være en fysisk skade i form av slag eller rift. Det første som skjer, er at forsvarecellene sender et signal i form av fersk cytokiner. Dette øker blodgjennomstrømningen til skadestedet. Deretter vil de aktiverte forsvarecellene gi et signal til endotelcellene i blodårevæggen om å lage rom slik at spesialiserte immunceller (hvite blodceller) fra blodet kan komme ut i vevet. I **figur 14.4** viser vi hvordan forsvarecellene aktiveres, sender ut signaler som rekrutterer andre forsvareceller til området med skade. Endotelcellene vil samtidig uttrykke proteiner (reseptorer) på overflaten som både alarmer cellen og binder andre proteiner på overflaten til de hvite blodcellene slik at de bremses



**Figur 14.4.** De løselige og cellulære komponentene av immunforsvaret har molekyler og reseptorer som kjenner igjen fremmede substanser. PRR: patogenmønster gjenkjennerende reseptor, PAMP: Patogen assosierte molekyllære mønstre. PAMP'er er deler av mikroorganismer som ikke er til stede i friske, uinfiserte celler og som gjenkjennes som fremmede. Når en PRR på en celle gjenkjenner en PAMP vil den hvite blodcellen aktiveres og sende ut signaler (f.eks. cytokiner) som igangsetter en betennelse. Denne betennelsen gjør at mange flere immunceller (granulocytter og makrofager) kommer til skadestedet fra blodet for å kunne bekjempe og om mulig reparere skaden.



opp og til slutt stopper opp i området rundt skadestedet. Man kan ofte se hvite blodceller som ruller sakte langs endotelcelleveggen på utkikk etter slike proteiner som klistrer. De rullende hvite blodcellene får på den måten god tid til å undersøke endotelcellene for å se om noe er galt med disse. De røde blodcellene beveger seg helt uavhengig av de hvite og vil bevege seg med mye større hastighet i blodårene. De nøytrofile granulocytterne vil være de første cellene som entrer skadestedet. Disse cellene produseres i hodenyren og sirkulerer med blodet til det blir en skade og behov for dem. Cellene kalles granulocytter av den enkle grunn at de inneholder store mengder granula eller korn. Disse kornene er små bobler fylt med enzymer (som lysozym og myeloperoxidase) og som har som formål å inaktivere eller drepe en eventuell inntrenger. Cellene vil ankomme skadestedet og slipper ut sine aktive granulaer/korn. Disse enzymene skiller ikke mellom eget og fremmed og kan i enkelte tilfeller også ta livet av egne celler og vev i tillegg til den fremmede bakterien som har forvillet seg inn på et område hvor den ikke skal være. Den neste cellen som vil komme til skadestedet er monocytten. Når monocytten entrer vevet blir den til en makrofag. Makrofagen er en fagocyt (stor eter) og har som oppgave å rydde opp etter granulocyttenes herjinger. Makrofagen vil spise opp partikler og cellerester og skiller ikke mellom fremmede og egne cellerester. De kan spise både bakterier og døde celler og prosessen de bruker kalles fagocytose. Når en bakterie eller celle spises av en makrofag vil den havne i et fagolysosom inne i cella som er fylt med enzymer og frie radikaler. Disse molekylene vil både drepe og bryte ned bakterier og mulige inntrengere. De fordøyde restene av bakterier og celler består blant annet av proteiner. Disse proteinene vil presenteres for den 3 linjen i fiskens forsvarssystem: Det spesifikke immunsystemet. Når årsaken til skade er fjernet vil skaden repareres. Om skaden er liten vil vevet bli som normalt, men om skaden er større erstattes ofte funksjonelt vev med arvev.

#### 14.4.2 Komplementsystemet

Ved skade aktiveres også fiskens koagulasjonssystem for å hindre lekkasje av vevsvæsker

og blod. Om en blodåre skades og man får en blødning vil skaden tettes igjen av blodplater og sammen med en rekke ulike proteiner med ulike funksjoner som alle har til felles at de utløses av selve skaden. Noen av disse proteinene har som funksjon å tette selve skaden ved at blodet blir tykkere og koagulerer mens andre vil i tillegg alarmere og initiere betennelse. Komplementsystemet er et slikt system av proteiner som aktiveres ved skade eller infeksjon.

Komplementsystemet består en rekke ulike proteiner som virker sammen og setter i gang det man kaller en kaskaderespons når systemet aktiveres. Når komplementsystemet aktiveres er det et sentralt protein man kaller C3 som er involvert. C3 aktiveres og spaltes til to ulike proteiner, kalt C3a og C3b. C3a virker som signal og merkelapp. C3b protein aktiverer C5 til C5a og C5b. C5b aktiverer nye proteiner som tilsatt aktiverer et protein kalt C9. C9 lager et kompleks som binder til og lager hull på bakterien som da dør. På denne måten vil en bakterie til slutt aktivere hundrevis om ikke tusenvis av proteiner i det man kaller en kaskade. C3 kan aktiveres direkte av bakterier via en PAMP (pathogen-associated-molecular patterns) som er komponenter (mønstre) av bakteriene som immunsystemet gjenkjenner, men det kan også aktiveres via antistoffer som produseres via det spesifikke immunsystem. Man kaller aktivering via antistoffer en klassisk aktivering, og en aktivering via PAMP en alternativ aktivering. Aktivert C3 kan også aktivere komplementsystemet på nytt.

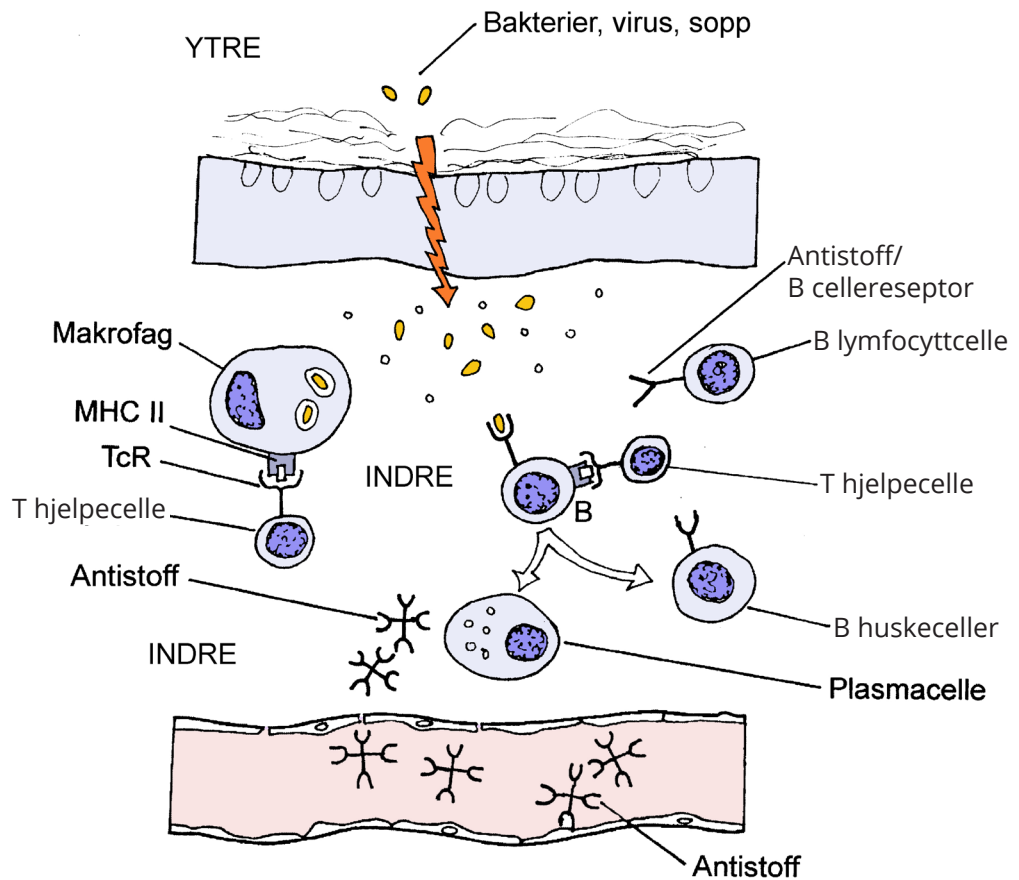
## 14.5 DET SPESIFIKKE IMMUNSYSTEMET

### 14.5.1 Den humorale del av det spesifikke immunsystemet

Det spesifikke immunsystemet består av en humoral løselig del og en cellulær del og danner den tredje linjen i fiskens immunforsvar. Den humorale delen består av løselige molekyler kalt immunglobuliner/ antistoffer som produseres av B-lymfocytter. B-lymfocytene er utstyrt med et membranbundet IgM (antistoff også kalt B celle reseptor) som har spesifisitet/ kjenner igjen ulike inntrengere. Når disse B-lymfocytene aktiveres vil noen bli til plasmaceller som produserer 10 000 vis av antistoffmolekyler per minutt som skilles ut i blod og vevsvæsker mens andre vil dele seg og bli til såkalte hukommelsesceller som kan sirkulere i fisken i månedsvis om ikke år i påvente av nye og like inntrengere. Antistoffene er spesielle molekyler som består av en konstant del som aktiverer ulike hvite blodceller og en variabel del som står for spesifisitet og binding til bakterier, virus, sopp og parasitter. Antistoffenes funksjon er å nøytralisere inntrengeren samtidig som den setter på en merkelapp som de hvite blodcellene kjenner igjen. Evne til å nøytralisere kommer av at antistoffene pakker inn feks en bakterie slik at bakterien i seg selv ikke får kontakt med omgivelsene. Hos mennesker og pattedyr er dette med antistoffer og spesifisitet en svært komplisert prosess. En enkelt uaktivert B-lymfocytt vil på sin overflate uttrykke et antistoffmolekyl som er unikt og helt forskjellig fra en annen B-lymfocytt. Det betyr at deler av antistoffet med den såkalte konstante delen vil være lik mens den delen som står for spesifisitet og gjenkjenning av fremmede stoffer, den såkalte V regionen vil være ulik fra B-lymfocytt til B-lymfocytt. **Figur 14.5** viser hvordan B-lymfocytene binder til antigener i form av bakterier, virus eller sopp, aktiveres og deler seg før de blir til antistoff produserende plasmaceller som skiller ut antistoffer til blodsirkulasjonen, eller blir til B-huskeceller som er klare til neste gang samme antigen kommer forbi.



**Figur 14.5.** Det spesifikke immunsystemet består av B-celler og T celler. B-cellene produserer spesifikke antistoffer som gjenkjenner antigener som kan være bakterier, virus og sopp. Antistoffene sendes ut i sirkulasjonen og virker som merkelapper for de hvite blodcellene som fører til at invaderende agens fjernes eller ødelegges mer effektivt. Antistoffene kan også binde til og nøytralisere mikroorganismen slik at den ikke rekker å gjøre skade. I tillegg vil B-cellene dele seg og bli til huskeceller. Huskecellene reagerer raskt og effektivt neste gang fisken møter samme mikroorganisme. Dette prinsippet utnytter man ved vaksiner. En vaksine vil få fisken til å danne antistoffer og huskeceller. T hjelper cellene er viktige for å sette i gang produksjonen av antistoffer. TcR: T celle reseptor, BcR: B celle reseptor/antistoff, Th: T hjelper celle,



Når vi vet at kroppen og blodet inneholder milliarder av B-lymfocytter og hver enkelt av disse uttrykker en V-region som er ulik alle andre, blir dette svært komplisert. Det første spørsmålet er hvordan kan cellene lage så mange proteiner med ulike V regioner? Vi har ikke nok gener til å lage så mange forskjellige varianter av et enkelt protein. Det andre spørsmålet er minst like viktig. Hvordan kan det ha seg at alle disse B-lymfocytene som uttrykker ulike v regioner ikke kjenner igjen våre egne proteiner og angriper våre egne celler? Hvordan kan det ha seg at en celle som lages en plass i kroppen, hos oss i benmargen, kan skille alle andre proteiner og strukturer fra deler av kroppen som øyet, uten at disse cellene noen gang har vært i øyet? I mennesker og pattedyr er disse prosessene veldig godt kjent og kartlagt. Man vet også at noen ganger kan det hele gå feil og man får det man kaller autoimmune sykdommer hvor våre egne celler angriper eget vev i den tro at dette vevet er noe fremmed. Leddgikt hos mennesker og pattedyr er en slik autoimmun sykdom. I fisk er disse prosessene mindre kjent og man vet etter hvert at selv om mye er likt så er det fortsatt mye ulikt og man er ikke helt sikker på hvordan det hele henger sammen. Fisk har både B-lymfocytter og antistoffer. Antistoffene hos fisk har spesifisitet og man vet at antallet variable V regioner er høyt. V regionene dannes ved noe som heter genetisk rekombinasjon og reorganisasjon, dvs at man har et sett gener og så velges noen av disse etter lottoprinsippet. Man har x antall V regioner, x antall J regioner og x antall D regioner. Av disse plukkes 1 V, 1 J og 1 D for å settes sammen til en hel V region. Ved en genetisk kartlegging har man funnet ut at fisk kan lage  $10^9$  ulike V regioner. Mennesker og pattedyr har noen flere og kan lage  $10^{12}$  ulike V regioner. Mennesker og pattedyr har 6 ulike klasser (isotyper) av antistoffer med ulik funksjon på den konstante delen av molekylet mens fisk kun har 3 ulike, IgM som finnes i blod og vevsvæsker, IgT i slim og slimhinner og IgD som finnes bundet til membraner, men som man fortsatt ikke vet så mye om.

Ved vaksiner av fisk eller gjennomgått infeksjon kan man finne en økning i mengden spesifikk IgM mot vaksineantigen eller infeksjonsstoffs agens. Dvs at man vet at fiskens B-lymfocytter aktiveres og produserer antistoffmolekyler som skilles ut i vev og vevsvæsker som

en respons på vaksinasjon og infeksjon. For noen bakterier som f.eks *Aeromonas salmonicida*, som gir sykdommen furunkulose, har mengden spesifikt antistoff i blodet en direkte sammenheng med beskyttelse mot sykdommen. For andre sykdommer er ikke sammenhengen like klar. I mennesker dannes B-lymfocytene i benmargen og går igjennom en komplisert modningsprosess hvor B-lymfocytter med antistoffer som kjenner igjen egne molekyler fjernes. Fisk har ikke benmarg og B-lymfocytene dannes i hodenyren og milten. Hvordan og hvor modningen av B-lymfocytene skjer i fisk er mere ukjent. Men man antar at noen av prosessene for modning må være like. Når det gjelder aktivering av B-lymfocytter i fisk så er denne aktiveringen ganske lik det som skjer i pattedyr. Man har en direkte aktivering via kryssbinding til flere antistoffer på B-lymfocytens overflate eller den mere klassiske aktiveringen hvor både makrofager og T-lymfocytter er involvert. Ved aktivering vil den enkelte B-lymfocytt gå fra å uttrykke antistoffmolekyler på celleoverflaten til å produsere 1000vis av antistoffmolekyler per minutt som den sender ut til omgivelsene. En slik B-lymfocytt som skiller ut store mengder antistoffer kalles for en plasmacelle. Hvor lenge en slik plasmacelle kan leve er usikkert hos fisk, men man vet i dag at etter vaksinasjon kan man måle forhøyet IgM som kjenner igjen vaksineantigenet, i opptil et år etter vaksinerings.

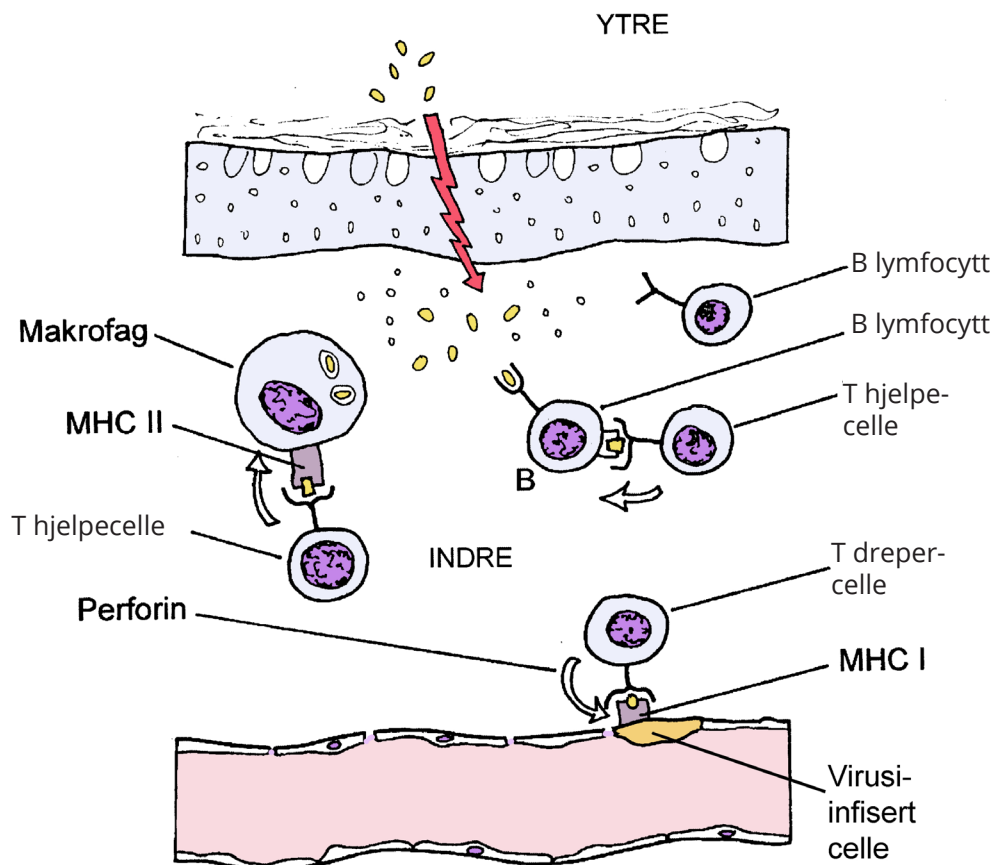
Hos mennesker og pattedyr vil en aktivert B-lymfocytt gjennomgå en celledeling såkalt proliferasjon før B-lymfocytten velger å bli en plasmacelle som produserer antistoffer. Den kan også velge å bli noe man kaller en hukommelsescelle. En hukommelsescelle vil kunne sirkulere rundt i blodbanen i årevis før den igjen treffer på det aktuelle antigenet som aktiverte den i første omgang. Prinsippet er da at neste gang den møter antigenet så er det en million celler som aktiveres istedenfor den ene første gangen den ble aktivert. Og har man en million celler vil prosessen i teorien være ganske mye raskere og mer effektiv. Man vet også at aktiverte B-lymfocytter kan lage antistoffer som av ulike klasser med ulik funksjon gjennom en såkalt isotype switch og at disse cellene kan gjennomgå noe som kalles affinitetsmodning og produsere antistoffer som kjenner igjen antigenet bedre og binde antigenet med større kraft. I tillegg har mennesker og pattedyr lymfeknuter og det man kaller germinale sentre. I lymfeknutene vil antigener fra vevene samles og fanges, makrofager vil spise, ødelegge og presentere disse til B-Lymfocytene som da prolifererer og danner såkalte germinale sentre med millioner om ikke milliarder av like B-lymfocytter. I de germinale sentrene skjer også det man kaller isotypeswitch, det vil si at man får ulike klasser antistoffer produsert fra samme B-lymfocytt. Fisk har hverken lymfeknuter eller germinale sentre og man kan derfor spekulere litt om proliferasjon og dannelse av B-lymfocytter er en viktig forsvarsmekanisme i fisk. Om fiskens B-lymfocytter ikke prolifererer er det ikke sikkert at fisken har like mange hukommelsesceller. Da kan den beskyttende effekten vi ser ved vaksinerings av fisk være en effekt av den initiale produksjonen av antistoffer og ikke av en ny cellepopulasjon. Man vet at fisk heller ikke gjennomgår det man kaller en isotypeswitch. Man vet heller ikke om antistoffene hos fisk gjennomgår såkalt affinitetsmodning. Med affinitetsmodning mener man at den enkelte B lymfocytten etter aktivering vil produsere antistoffer som binder sterkere til antigenet. Noen mener at fisken har en affinitetsmodning, men at den er i lavere grad enn i pattedyr. Men her er meningene delte og man har etter hvert forstått at i pattedyr og mennesker så er det et utall muligheter for aktivering av B-lymfocytter og at alt ikke følger boken som man tidligere har trodd. Lokal aktivering av B-lymfocytter er vist i pattedyr og senere tids arbeider viser at B-lymfocytene hos fisk aktiveres lokalt, for eksempel ved injeksjonssted uten en foregående proliferasjon.

#### 14.5.2 Den cellulære del av det spesifikke immunsystemet

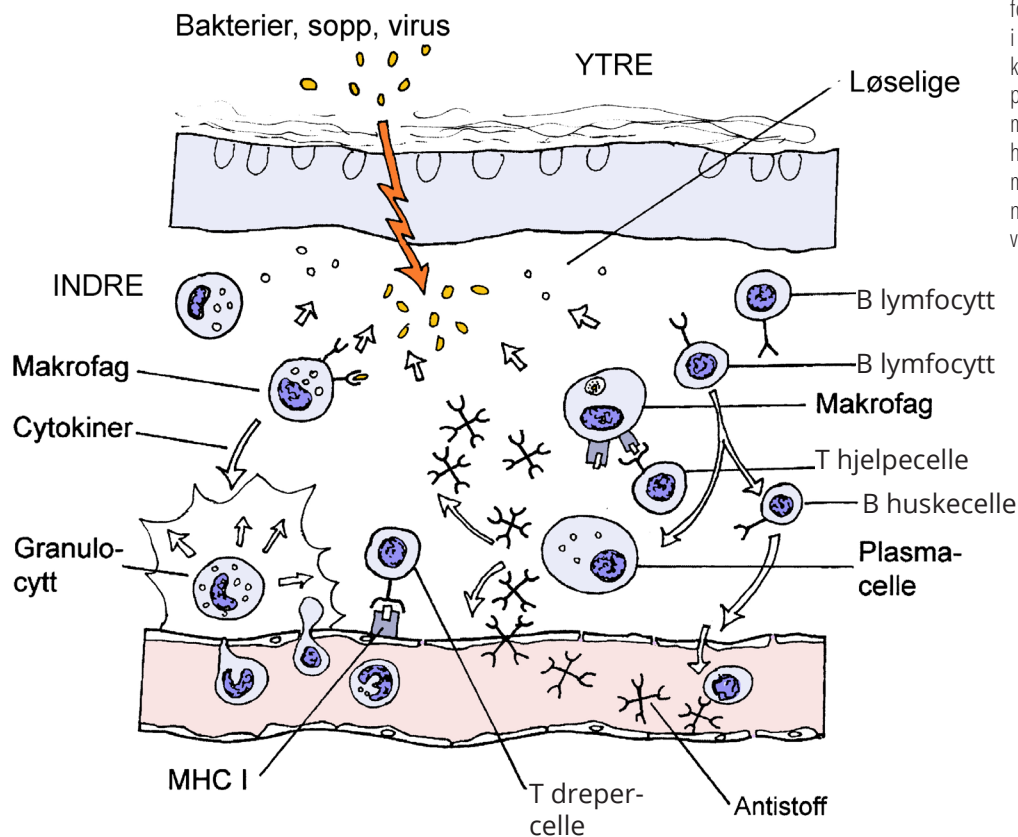
Antistoffer virker på utsiden av cellene og beskytter lite mot infeksiøse agens som virus og intracellulære bakterier. For å bekjempe virus og intracellulære bakterier har vi derfor den cellulære delen av det spesifikke immunsystemet. Denne delen av immunsystemet består av T-lymfocytter og disse er godt karakterisert hos fisk. T-lymfocytene uttrykker også antigenspesifikke reseptorer (T celle reseptor) på sin overflate. At de er antigenspesifikke betyr at de kjenner igjen bestemte strukturer på overflaten til cellene som forteller T-lymfocytten at denne cellen er syk og infisert av en bakterie eller et virus. Til forskjell fra antistoffmolekylene fra B-lymfocytene vil ikke disse reseptorene skilles ut i store mengder og sendes rundt i blod og vevsvæsker. Disse reseptorene sitter fast på membranen til T-lymfocytene gjennom hele immunresponsen. Når en T-lymfocytt kommer i nærheten av en virusinfisert celle vil den først kjenne igjen et molekyl som heter MHC klasse I (Major histokompatibility complex klasse I). Dette molekylet finnes på alle celler og er ganske spesielt. Det vil i tillegg til seg selv alltid ha med seg en del av cellenes indre proteiner ut på overflaten. Når en T-lymfocytt gjenkjenner et MHC klasse I molekyl vil det først binde til MHC

molekylet, og deretter vil T-lymfocyttten undersøke proteinet som MHC klasse I molekylet har med seg fra det indre av cellen. Om dette proteinet ikke er en del av cellen selv, men f.eks. et fremmed protein fra et virus eller en bakterie vil T-lymfocyttten bli aktivert. Den kan da dele seg og bli til en huskecelle eller utvikle seg til en drepercelle som tar livet av den infiserte cellen. I **figur 14.6** illustrerer vi hvordan en T-lymfocytt aktiveres av en virusinfisert celle via MHC klasse I. Samtidig vil den aktiverte T-lymfocyttten sende ut signaler i form av cytokiner som vil alarmere resten av immuncellene i kroppen. Når T-lymfocyttten binder et spesielt MHC molekyl på andre immunceller som kalles MHC klasse II vil signalene fra T-lymfocyttten gi B-lymfocyttene beskjed om å aktiveres. Dette er et av kroppens sikkerhetssystemer for å hindre uønsket aktivering av immunsystemet mot egne vev. For å få en god immunrespons i form av høyt antistoff produksjon må både makrofager med MHC klasse II, T-lymfocyttter og B-lymfocyttter aktiveres samtidig. Det finnes unntak fra alle regler og det finnes noen antigener/molekyler som kan aktivere systemet uten at alle cellene er på plass. Man kan tenke seg at dette er spesielle strukturer som representerer noe som kroppen kjenner igjen som spesielt farlig. Som B-lymfocyttene har hver eneste ikke aktiverte T-lymfocytt sin unike antigenspesifikke reseptor som dannes ved hjelp av genetisk reorganisering og rekombinasjon. Mengden T-lymfocyttter i fisk er svært høy og flere strukturer i gjeller (interbrankialt lymfoid vev) og tarm (bursa) har vist seg å inneholde svært mange T-lymfocyttter. Hvorfor dette tallet er så høyt hos fisk vet man ikke, men det kan godt være at fiskens T-lymfocyttter har flere og andre funksjoner enn T-lymfocyttene i pattedyr. Man kan tenke seg at en andel eller populasjon av T-lymfocyttene hos fisk kan være en del av andrelinjeforsvaret hos fisken i tillegg til å være en av hoveddelene i tredjelinjens.

**Figur 14.6.** Virus formerer seg inne i cellene og kan ikke oppdages av antistoffene som sirkulerer i blodet. T dreper celler (T cytotoxiske celler) kjenner igjen og dreper virusinfiserte celler. Det finnes også en klasse NK-celler (naturlige dreperceller) som kan drepe celler som er infisert med virus. T-cellene kjenner igjen MHC molekyler på cellenes overflate. MHC I molekyler kan inneholde et virusprotein eller et protein fra cellen selv. Det er kun når MHC molekylet inneholder et virusprotein T-cellen vil aktiveres og drepe den virusinfiserte cellen. Det finnes også T hjelper celler som har som funksjon å gi signaler til B-cellene og dermed forbedre antistoffresponsen. T hjelper cellene aktiveres av MHC II molekyler som kan inneholde deler av bakterier og sopp i tillegg.



I **figur 14.7** har vi satt sammen de ulike delene av det som utgjør immunforsvaret hos fisk. Dette er en forenklet versjon som mangler spesifikke detaljer. En utgave av bladet Naturen fra universitetsforlaget (se referanselisten) gir en svært god og mer detaljert beskrivelse av fiskens fantastiske immunsystem. Det er verdt å merke seg at immunsystemet kan være ganske ulikt mellom arter. I dette kapitlet er det i hovedsak presentert det man har funnet i laks og laksefisk. Hos marine arter som torsk og rognkjeks kan immunsystemet være ulikt selv om hovedtrekkene er like.



**Figur 14.7.** Viser alle fiskens forsvarsprosesser som settes i gang ved en infeksjon. Det er komplekse og veldig regulerte prosesser som involverer mange molekyler og celler. De hvite blodcellene granulocytter, makrofager, B og T celler og naturlige dreper cellene har alle viktige funksjoner.

## 14.6 ANBEFALT LITTERATUR

Naturen [doi.org/10.18261/issn.1504-3118-2020-05-01](https://doi.org/10.18261/issn.1504-3118-2020-05-01)

Secombes CJ and Buchmann K. 2022. Principles of fish immunology: from cells and molecules to host protection. Springer. ISBN-13. 978-303085419

Bjørngen H and Koppang EO 2021. Anatomy of teleost fish immune structures and organs. Immunogenetics 73, 53. [doi.org/10.1007/s00251-020-01196-0](https://doi.org/10.1007/s00251-020-01196-0)

## ILLUSTRASJONER OG FIGURER

Illustrasjonene er utviklet i samarbeid med kapitelforfatter og Harald Kryvi som deler rettighetene til figurene.