

18



# Stress i fisk

Angelico Madaro<sup>1</sup> og Rolf Erik Olsen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Havforskningsinstituttet <sup>2</sup>Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

## SAMMENDRAG

I dette kapitlet vil vi se på stressforskningens historie fra de tidligere pionerene til utviklingen av moderne stressteorier som homeostase og allostase. Stressets grunnlag som en subjektiv respons som starter i hjernen og de to viktigste fysiologiske stressaksene, hypothalamus-kromaffin aksen og hypothalamus-hypofyse-interrenal aksene beskrives. Mekanismene bak begrepet primær, sekundær og tertiær stressrespons diskuteres også før kapitlet avsluttes med reguleringsmekanismene fisk og dyr har for håndtering av kronisk stress, herunder såkalt feedback regulering.

## 18.1 STRESS OG DENS HISTORIE

### 18.1.1 Tidlig utvikling av stressteori

Begrepet stress er i dag en del av dagligtalen, men slik har det ikke alltid vært. Det vi nå forbinder med stress som angst og velferdsutfordringer har vært kjent i tusener av år, sannsynligvis enda lengre. De gamle grekerne brukte ord som balanse, harmoni eller likevekt. For Epikur (341-271 BC) inkluderte ett godt liv det å oppnå ataraksi, frihet fra bekymring. Hippokrates (460-370 BC) mente at helse var harmoni og sykdom disharmoni, og at naturen leget alle sykdommer. Han beskrev også flere tilstander av det som i dag er symptomatisk for stress som hjertebank, smerter som forflytter seg (migrerende smerte), pustevansker og klump i halsen.

Den moderne tanken om stress ble i hovedsak utviklet av tre briljante forskere Claude Bernard (1813-1878) grunnla den eksperimentelle medisinen i verket sitt «*Introduction à la médecine expérimentale*» (1865) (**figur 18.1**). Her skrev han om tanken bak eksperimentet i medisin og biologi, og forklarte hva som gjør en vitenskapelig teori god og hva som gjør forskeren så viktig. Boken er en av de klassiske bøkene som den dag i dag leses av studenter og forskere. Han var også klar over begrensningene i forskningen. Ett av hans viktigste argumenter var at når fakta motsier etablert kunnskap, så må forskeren forlate gjeldende teori selv om det motsier holdningene til mer etablerte autoriteter. Dette er absolutt gyldig i dag, og det er mange eksempler på hvor resultater ikke blir offentliggjort eller til og med lagt vekk da de ikke passer inn i de aksepterte modellene. Hans bidrag til stressteori kommer blant annet som et resultat av hans årelange arbeider med bukspyttkjertelen og hvordan den bidrar til fettfordøyelsen og til leverens funksjon med å utskille sukker fra glykogenlagre. Her utviklet han tanken om at cellene i en organisme må bade i et stabilt væskefylt miljø som er uavhengig av det ytre miljø rundt organismen. Han skrev "Stabiliteten av det indre miljø [*milieu intérieur*] er en betingelse for et fritt og uavhengig liv". Han brukte fire eksempler til å illustrere dette, som kroppstemperatur, væskemengde, oksygenmengde og metabolske lagre (energilager).

**Figur 18.1.** Claude Bernard (1813-1878) en av grunnleggerne av moderne forskning.



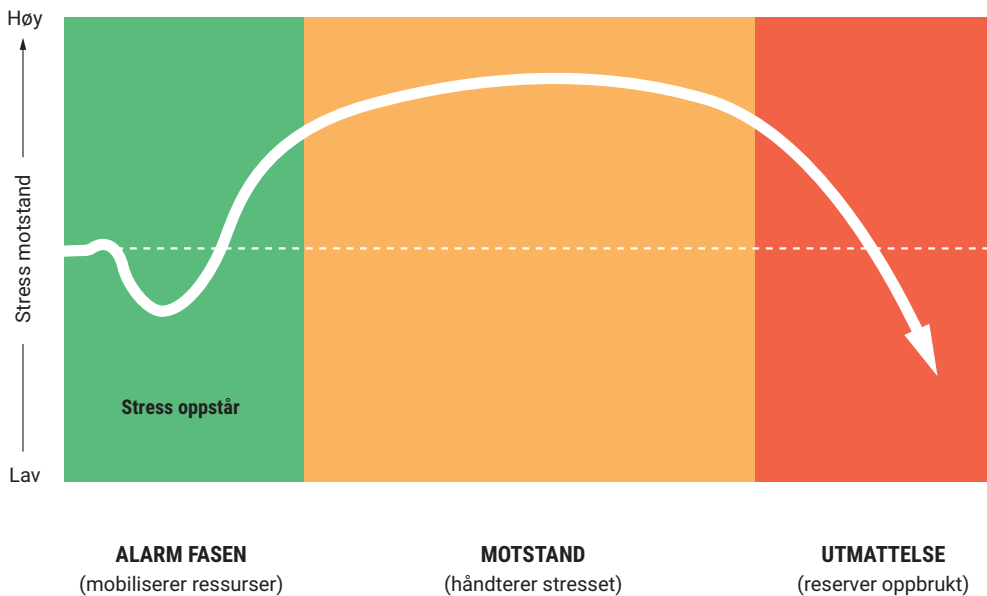
Fysiologen Walter Bradford Cannon (1871-1945) fulgte i Bernard sine fotspor og definerte ordet homeostase, (Greek: "homeoios", samme og "stasis", stillstand) som refererte til en stabil tilstand hvor det indre miljø som glukosenivået i blod, oksygenmetning og kjernetemperatur holdes innom akseptable grenser. For å muliggjøre slike reguleringer trenger organismen sensorer som oppdager endringer i homeostasen slik at det kan utføres justeringer som opprettholder *milieu intérieur*. Eksempelvis nevnte han at når kjernetemperaturen faller, vil musklens skjelving øke varmeproduksjonen samtidig som blodstrømmen til huden reduseres for å redusere varmetapet. Han utvidet også konseptet sitt til psykososiale trusler for homeostasen. Han viste at akutt følelsesmessig ubehag, traumatisk smerte eller eksponering for akutt kulde vil aktivere en automatisk respons som han gav navnet slåss eller flykt (fight or flight). Ifølge Cannon er denne responsen et overlevelsesinstinkt. Ifølge teorien prosesseres signalet i amygdala (hjernens limbiske system) som sender signalet til hypothalamus som er en del av mellomhjernen, og så til binyremargen som skiller ut adrenalin og på den måten aktiverer den sympatiske delen av det autonome nervesystemet, det sympato-adrenerge systemet. Det selvstyrende autonome nervesystemet er delt inn i sympatisk, parasympatisk og det enteriske nervesystem. Aktiveringen fører til typiske responser som hurtig pust, økt hjerterate, høyt blodtrykk og blodstrøm til musklene for å optimalisere kroppen for slåss eller flukt responsen.

Hans Selye (1907-1982) var født i Wien (da en del av det Østerrike-Ungarske monarki) men bodde mesteparten av sitt voksne liv i Canada. Selye redefinerte ordet stress fra fysikkens verden og brukte det egentlig på en noe uheldig måte i biologien. I fysikk er stress den belastningen som må til for at ett objekt skal deformeres. Selye brukte stress på responsen i seg selv og ikke på konsekvensen, noe som førte til endel forvirring blant hans samtidige, og også i årene etterpå. I ettertid skrev han (1965) "*Jeg skulle ha kalt mitt fenomen for "belastnings syndromet" og det det forårsaker "stress." Men, jeg innså ikke forskjellen. Da jeg gjorde det, hadde ordet "stress" blitt så akseptert i medisinen at det ikke kunne endres. Jeg måtte derfor finne opp begrepet "stressor" til å beskrive det som forårsaker fysiologisk stress*". Disse begrepene brukes relativt uforandret den dag i dag.

For Selye var stress summen av alle uspesifikke systemiske reaksjoner i kroppen som utviklet seg etter eksponering av en belastning. For ham var responsen lik uavhengig om årsaken, stressoren, var fysisk eller mental.

Han kalte responsen for det "Generelle Tilpasnings Syndrom", bedre kjent med sitt engelske navn «General Adaptation Syndrome, (GAS) (figur 18.2). Han delte syndromet inn i tre deler. Det første er *Alarmfasen*, som er en kort og rask respons for å hankes med hendelsen, mye analogt med Cannon sitt "slåss eller flykt" med aktivering av sympatisk nettverk og adrenalin. Hvis stressituasjonen vedvarer går responsen inn i en fase som kalles *Motstand* eller tilpasning. Her forsøker kroppen å reetablere sine funksjoner for å motstå belastningen den er utsatt for. Dette innebærer blant annet aktivering av energilagre som glukose, fettstoffer og aminosyrer. Når disse tiltakene fungerer, vil kroppen *Gjenopprette* ho-

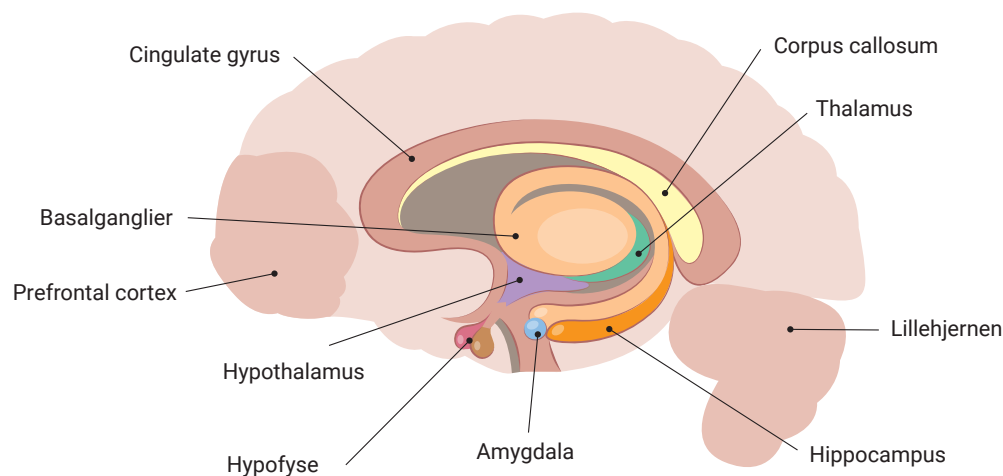
meostasen. Dersom det høye energiforbruket ikke reduseres og belastningen er vedvarende, vil energireservene i kroppen bli uttømt og en vil gå inn i *Utmattelsesfasen* hvor kroppen ikke er i stand til å opprettholde normale funksjoner. Med dette etablerte han en sammenheng mellom alvorlig stressbelastning og lidelser som fysisk sykdom (diabetes, tarm eller hjerte-kar sykdommer), mentale lidelser, og til slutt, død.



**Figur 18.2.** Generelt tilpasningssyndrom (general adaptation syndrome, GAS). Syndromet går gjennom en alarmfase hvor stresset oppfattes etterfulgt av en motstandsfasen hvor en prøver å håndtere stresset. Dersom det lykkes, går man tilbake til utgangspunktet. Hvis ikke går organismen inn i en utmattelsesfase hvor reservene er oppbrukt.

Selv om Cannons ide om "fight or flee" og Selye's GAS enda blir mye brukt i lærebøker og litteratur, har konseptet stress utviklet seg betydelig i løpet av de siste 50 år. Den største utfordringen var at stressresponsen ble ansett som lik uansett årsak, og at homeostasen i stor grad var synonymt med det å gjenvinne likevekten. Utover 1970 årene ble det klart at hjernen ikke bare var en tom boks i sammenheng med stress. Hjernen er derimot dypt involvert i oppfattelse, tolking og igangsetting av stress og hvor responsen også modifiseres av kognitive prosesser som erkjennelse, oppfatning og tenking. Videre ble det klart at stress oppfattes ulikt mellom individer, og at det er et betydelig element av læring og ulike strategier for å håndtere belastningen. Bevissthet og forutsigbarhet er derfor blitt viktige elementer av stressteorien. Stress involverer mange deler av hjernen hvor responsen til disse belastningene vil variere med alvorlighetsgrad av stresset. Stress kan oppfattes som fysiologiske «nødsituasjoner» som er relativt sjeldne. Som oftest innebærer det en forventning eller spenning som involverer tolking av trusselen ut fra tidligere erfaring eller medfødt programmering. I mennesker er dette stresset hovedsakelig kontrollert av følelseshjernen, de limbiske strukturene hippocampus og amygdala og den tenkende hjernen, den fremre pannelappen (prefrontal cortex) (**figur 18.3**). Mandelhjernen (amygdala) er hjernens alarmsentral. Den sender signalene videre på to måter, den raske og den langsomme veien. Den raske veien sender faresignalene videre til hypothalamus og videre ut i kroppen slik at kroppens forsvarsrespons settes i gang. Den langsomme veien involverer evaluering av realiteten og alvoret i situasjonen. Amygdala husker godt og spiller en viktig rolle for læring av assosiasjoner. Den kommuniserer med hippocampus som er hjernens bibliotek og henter frem minner om tidligere hendelser, og hjelper dermed til med å sortere ut hva som er farlig og ikke. I den fremre pannelappen bearbeides informasjonen og holdes tilbake i arbeidsminnet i en kort periode. Her tolkes informasjonen, slik at en kan reflektere over og foreta logiske og bevisste avgjørelser etter at en er eksponert for stress. Ett annet område i den fremre pannelappen har med innsikt og forståelse, men den har ikke direkte tilknytningslinjer til amygdala.

**Figur 18.3.** Illustrasjon over human hjerne med de hjernedelene som omtales i dette kapitlet, det limbiske system (her vises cingulate gyrus, hippocampus, amygdala) samt hypothalamus, hypofyse og prefrontal cortex.



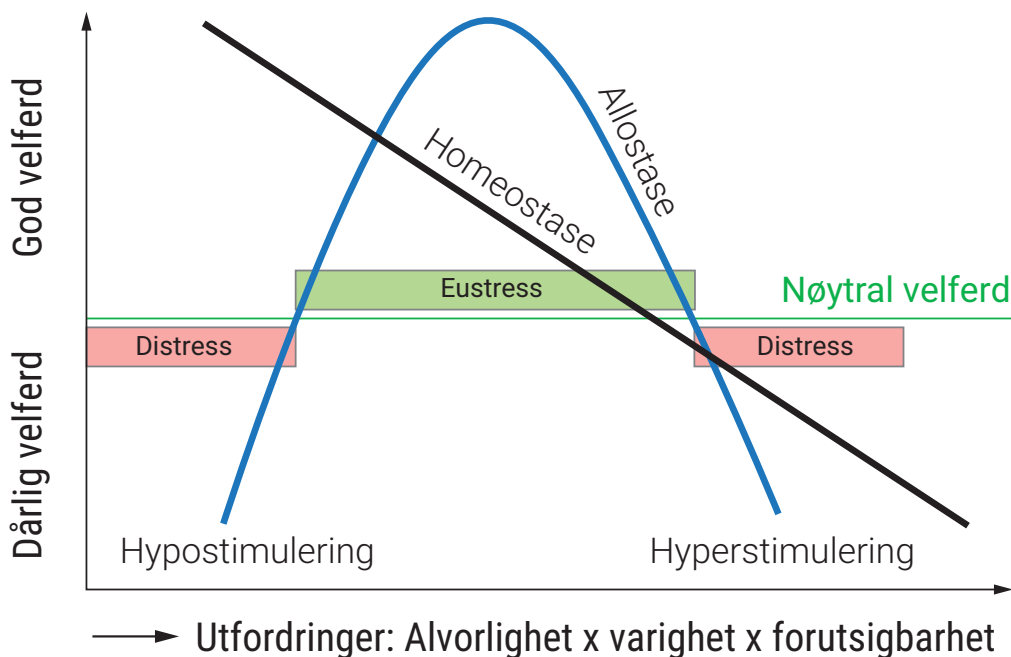
Summen av bearbeidingen i amygdala, hippocampus og den fremre pannelappen vil bidra sterkt til uttrykket i stressresponsen. Signalene fra amygdala, hippocampus og den fremre pannelappen samles i den fremre delen av hypothalamus. Hypothalamus er et overordnet kontrollorgan som integrerer sensoriske og endokrine signaler, prosesserer dem og bidrar til en koordinert respons gjennom fremre og bakre hypofyse, hjernebarken (eller ekvivalente elementer i fisk), hjernestammen, ryggmargen og det autonome nervesystemet (sympatiske og parasympatiske nervesystemet). Den styrer en rekke livsnødvendige funksjoner som væskebalanse, kroppstemperatur, endel av hormonsystemet og fordøyelse. Stress håndteres spesielt i en del av fremre hypothalamus kalt det periventrikulære område siden det ligger rundt hjernes tredje ventrikkel. Her styres det sympatiske nervesystemet for umiddelbar respons etter eksponering av stress, og også den tregere responsen som kalles hypothalamus-hypofyse-aksen som fører til produksjonen av kortisol. Årsaken til at stress aktiverer to akser ligger i at den sympatiske responsen er utrolig rask, og fører nervetråder inn i mange vev som responderer umiddelbart på utfordringen, samtidig som adrenalin skilles ut fra binyrene i pattedyr eller hodenyrene i fisk. Summen er forberedelse til «frys, slåss eller flykt», som sees i redusert appetitt, mobilisering av glukose til energi, økt blodtilførsel til prioriterte organ og økt oksygenopptak. Den tregere responsen fra hypothalamus hypofyse interrenal aksene (eng. hypothalamus pituitary interrenal axis, HPI) bidrar gjennom kortikosteroider (ofte kortisol) til å bygge opp energilagre. I tillegg vil denne responsen undertrykke flere normale energikrevende prosesser som appetitt, kjønnsmodning, immunresponser og lignende.

### 18.1.2 Nyere stressteori, allostase

Ifølge teorien om homeostase vil et dyr som eksponeres for endringer i omgivelsene reagere med adferdsmessige eller fysiologiske mottiltak med det formål å beholde et konstant indre miljø. Denne hypotesen sier at organismen som eksponeres for stress vil justere de fysiologiske parameterne og gjenvinne likevekten (homeostasen). Men det er mange situasjoner hvor det åpenbart vil være vanskelig å returnere til den opprinnelige likevekten. For eksempel, dersom blodtrykket plutselig stiger, vil en homeostatisk korreksjon innebære en umiddelbar reduksjon i hjerterate og slagvolum, noe som kan føre til oksygenmangel i kroppen. En annen utfordring med homeostaseteorien er at den ikke er lagd for å minimere feil. Ett klassisk eksempel her er at en endring i blodtrykk må skje **FØR** man reiser seg fra en stol. Hvis ikke vil denne **FEILEN** føre til ett dramatisk fall i blodtrykket (ortostatisk hypotensjon) med påfølgende svimmelhet eller besvimelse. Dette betyr at det må være et bevisst system på plass som kan forutse endringer av behov og regulere før den kritiske situasjonen oppstår.

Problemet med å forklare slike avvik i homeostasemodellen fikk amerikanerne Peter Sterling og Joseph Eyer (1988) til å foreslå ett nytt begrep, allostase, som innebærer «stabilitet gjennom endring» (**figur 18.4**). Modellen har nå blitt ett rammeverk for de mange kompliserte psykologiske prosesser som vi nå vet skjer under stress. I allostasemodellen går man videre fra den typiske og enkle «responsmodellen» til en mer forutsigbar transaksjonell, kognitiv og vurderende modell av stress, hvor kapasiteten til å tilpasse seg endringer i omgivelsene (plastisiteten) blir sentral, og som ikke er forbundet med et tidligere settpunkt.

Det innebærer at en organisme forutser endringer i behov og inntar nye settpunkter ved å justere og koordinere fysiologiske, adferdsmessige og nevroendokrine responser. Dette vil igjen mobilisere kroppens energireserver etter behov for å regulere det indre miljøet. Eksempelvis innebærer det forberedelsen til å stå opp fra en stol. Modellen gir hjernen en sentral rolle i stressresponsen som regulator av signalbaner i kroppens nervesystem og binyrehormonene, og dermed regulering av fysiologiske responser som blant annet inkluderer immunsystemet og hjerte-karsystemet.



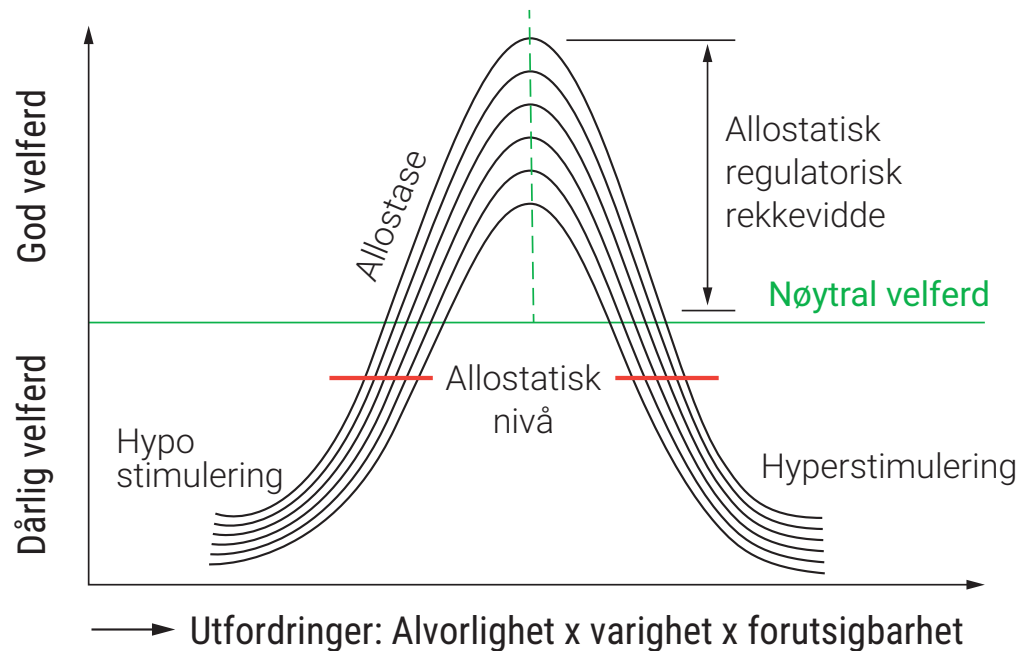
**Figur 18.4.** Forskjellen mellom allostase og homeostase. Homeostase er representert med en sort line nedover mot høyre. Den forutsetter en god velferd når utfordringene fra omgivelsene er små (venstre), og en synkende velferd når utfordringene øker (høyre). Allostase prinsippet vises i den u-formede blå kurven. Her vil svært lav stimuli (venstre) og svært høy stimuli (høyre) forårsake kronisk stress (distress) som vil føre til dårlig velferd, vekst og helse. I allostase vil området mellom de to ytterpunktene gi positivt stress (eustress) og øke dyrets ytelse. Basert på Korte et al. 2007.

Alle organismer erfarer sesongmessige eller daglige utfordringer (stressorer) som må håndteres. Det kan være matmangel, jakt på bytte eller det å bli jaktet på selv. Under normale forhold, klarer dyret gjennom en rekke allostatiske responser å håndtere disse endringene. Men, dersom belastningene blir konstante eller skjer over lang tid, så vil det dannes ett allostatisk nivå («allostatic state»). Disse endringene er i hovedsak kortvarige positive og adaptive tilstander som er viktig for overlevelse av arten. Summen av de ulike belastningene kalles allostatisk belastning (allostatic load). Disse kommer med en kostnad; hvor dyrets evne til regulering blir redusert (**figur 18.5**). Dersom dyret nå utsettes for ytterligere belastninger som sykdom, parasitt, høyt antall predatorer, menneskelig aktivitet eller konkurranse mellom individene, så kan den allostatiske belastningen øke såpass mye at kroppens fleksibilitet utmattes. I slike tilfeller vil man kunne oppleve en allostatisk overbelastning hvor det er for lite ressurser og energi for å opprettholde alle kroppsfunksjoner. Dette kan utvikle seg til en lang rekke lidelser som redusert immunitet og raskere celledød.

Mens kronisk stress og allostatisk overbelastning etter hvert er blitt velkjente begreper så er det mindre fokus på at også svært lite stimulering, hypostimulering, kan være stressende. De fleste har kanskje sett enkelte dyr i dyrehager som bare kan bevege seg på ett svært lite areal, og ikke får mental eller fysisk stimulering. Dette kan føre til frustrasjoner, stress og ødeleggelse av dyrenes fysiske og mentale helse. Eksempler på dette kan være spastiske typer bevegelser. En kronisk hypostimulert hjerne vil ha redusert eller endret utvikling av hjernens nervebaner siden overlevelsen av nevronene er avhengig av å bli aktivert av innkommende signaler (venstre side i **figur 18.4**). Dette fenomenet benevnes ofte som "bruk det eller mist det" (use it or lose it).



**Figur 18.5.** Allostatisk belastning definert som kronisk avvik i det regulatoriske systemet som fører til at det etableres ett nytt settpunkt gjennom justering av regulatormekanismene. Dette nye nivået karakteriseres av en smalere toleranse dersom en utsettes for ytterligere belastning. Dersom dyret også klarer å håndtere et nytt stress, vil det igjen etableres et nytt settpunkt. Hvis ikke, vil man nå allostatisk overload, hvor systemet bryter sammen og kontrollen tapes. (modifisert fra Korte et al. 2007)



## 18.2 STRESS I FISK

Selv om stressorer kan være forskjellige når det gjelder type, intensitet og varighet, er den fysiologiske stressresponsen bredt inndelt i tre hovedfaser: den primære, sekundære og tertiære responsen (se **figur 18.5**). Etter at stresset oppfattes, starter den **primære stressresponsen** eller «alarmfasen». Det er her kroppen starter prosessen med å mobilisere energi som leder til kjemp eller flykt responsen. Prosessen inkluderer først og fremst aktivering av det sympatiske nettverket. Det sympatiske systemet sender neuroendokrine impulser via kolinergiske ganglier (acetylkolin som transmittorsubstans) direkte til organer (innerverer) som hjerte, muskel og mage-tarmsystemet til beinfisk (teleoster) og genererer umiddelbare responser. En lang nervefiber går også helt til hodenyrene i de fleste høyere fisk og frigjør katekolaminer (adrenalin og noradrenalin) lagret i kromaffine celler (også kalt suprarenale celler) til blodet. Hormonene spres så gjennom blodomløpet rundt i kroppen og vil bidra til den primære stressresponsen. Nivået av katekolaminer i blodet øker svært raskt, og siden de brytes fort ned, vil nivået deretter synke relativt raskt. Den primære stressresponsen aktiverer også den andre stressaksen kalt hypothalamus-hypofyse-interrenal (HPI) aksen. Her vil celler i hypothalamus stimulere utskillelse av adrenokortikotropisk hormon fra hypofysen, som transporteres til hodenyrene hvor de stimulerer de interrenale cellene til å produsere glukokortikoider (oftest kortisol) som skilles ut i sirkulasjonssystemet. Siden glukokortikoider må lages før de skilles ut øker mengden i blod langt senere enn for katekolaminer. På den andre siden kan nivået være forhøyet i mange timer alt avhengig av type og intensitet av stresset. Katekolaminene og kortisol har forskjellige funksjoner under en stressrespons.

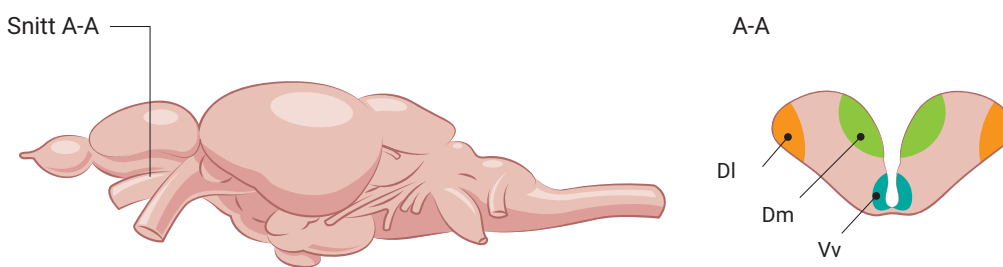
Den primære stressresponsen med glukokortikoidene og katekolaminene regulerer så den **sekundære stressresponsen**. Her starter de prosessene som gjør fisken i stand til å håndtere stresset, frys, flykt eller slåss responsen. Katekolaminene vil mobilisere energi ved å forbedre oksygentransport (e.g. øke hjerte- og respirasjons-frekvens, perfusering av gjeller og gjellepermeabilitet), prioritere oksygenering av muskler, øke deler av immunresponsen, og gjøre energi tilgjengelig via nedbryting av glykogen. Kortisol vil bidra til å bygge opp energilagrene (glykogen og glukose) og om nødvendig bryte ned protein for å generere energi. Kortisol vil også mobilisere fettreserver for energi og vil, om stresset vedvarer, ha flere langtidseffekter som blir diskutert nedenfor. I sum vil den sekundære stressresponsen føre til flere fysiologiske endringer som bedrer fiskens evne til å håndtere stress og samtidig forårsake endringer i en rekke fysiologiske parametere som ionebalansen i plasma og vev (som  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}^+$ ) og metabolitter (glukose, melkesyre), endringer i blodcellene (svelling, utskillelse av flere røde blodceller) som også kan brukes til å måle effekten av stress.

Dersom belastningen er håndterbar, vil fisken enten gå tilbake til tidligere settpunkt eller innstille seg på ett nytt settpunkt, en allostatisk balanse. Dersom aktiveringen fortsetter eller gjentas hyppig vil stresset bli kronisk og fisken vil oppleve en allostatisk overbelastning. Under slike omstendigheter vil stresset gå inn i ett maladaptivt stadium som ofte benevnes som en **tertiær stressrespons**. Fisken vil nå ha en samlet energikostnad som er høyere enn det den klarer å kompensere for med økt matinntak. Den vil da begynne å prioritere ressursbruken og slå av mange viktige biologiske prosesser for å overleve. Det betyr at vekst og fôrintak reduseres, kjønnsmodning stanses eller reverseres. Immunsystemet vil nedreguleres noe som fører til økt mottakelighet for sykdom og redusert sårhelingssevne. En kan også se endringer i fiskens atferd, som for eksempel unormale svømmemønstre.

### 18.2.1 Hjernestrukturer relatert til stress i fisk

Fisk har ikke ett typisk limbisk system på samme måte som i pattedyr, og de har heller ikke neokorteks som blant annet inneholder den fremre pannelappen. Siden neokorteks i pattedyr er nødvendig for høyere kognitive evner som språk, romforståelse, læring, og abstrakt tenking, ble det lenge argumentert med at fisk ikke hadde en høyere bevissthet og følelser, og dermed begrenset evne for læring og hukommelse. På tross av dette, har det lenge vært kjent at fisk har avansert adferd, hukommelse og evner til læring som gjør at de kan reagere på utfordringer etter mønstre som må indikere en form for bevissthet. De senere års forskning tyder da også på at mange av funksjonene som finnes i det limbiske system hos pattedyr også finnes i ett område i fiskens hjerne som heter telencephalon (**figur 18.6**). I fisk ligger telencephalon foran midthjernen som har to store optiske lapper (lober) og hos laksefisk bak en utvekst av fremre telencephalon som kalles lukteloben, bulbus olfactorius, som mottar signalene fra luktegropene (se kapittel 2,3 og 4).

Fiskens hjerneområder som er beslektet til pattedyrs hippocampus og amygdala finnes i ett område i telencephalon som heter pallium. De er navngitt etter området de er funnet. Det dorsolaterale (Dl) og dorsomediale (Dm) pallium sitter i øvre del av pallium (dorsalt) og mot ytre (lateral) eller indre del (medial). Det dorsolaterale pallium er vist å ha mange av de funksjonene som man i pattedyr finner i hippocampus som læring og korttidshukommelse, mens det dorsomediale pallium har mange av egenskapene til amygdala. Det er sannsynlig at disse områdene er videre delt i flere mindre områder med distinkte funksjoner. Den ventrale (nedre, mot buken) del av det ventrale telencephalon (Vv) har blitt foreslått til å ha samme funksjon som det laterale septum i pattedyr som humør, motivasjon og romlig adferd.



**Figur 18.6.** Område for limbiske strukturer i telencephalon i fisk. Fiskehjerne med snitt gjennom telencephalon (A-A) viser plasseringen av dorsolaterale pallium (Dl), dorsomediale pallium (Dm) og ventrale telencephalon (Vv). Delvis basert på Vindas et al. 2017.

### 18.2.2 Sympatisk stress respons (rask) – fryse, flykt eller slåss

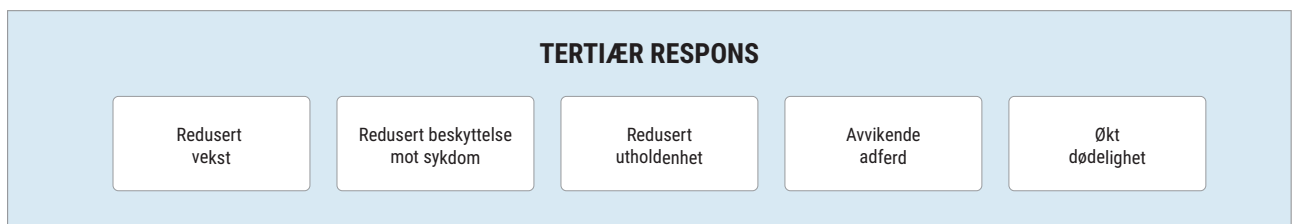
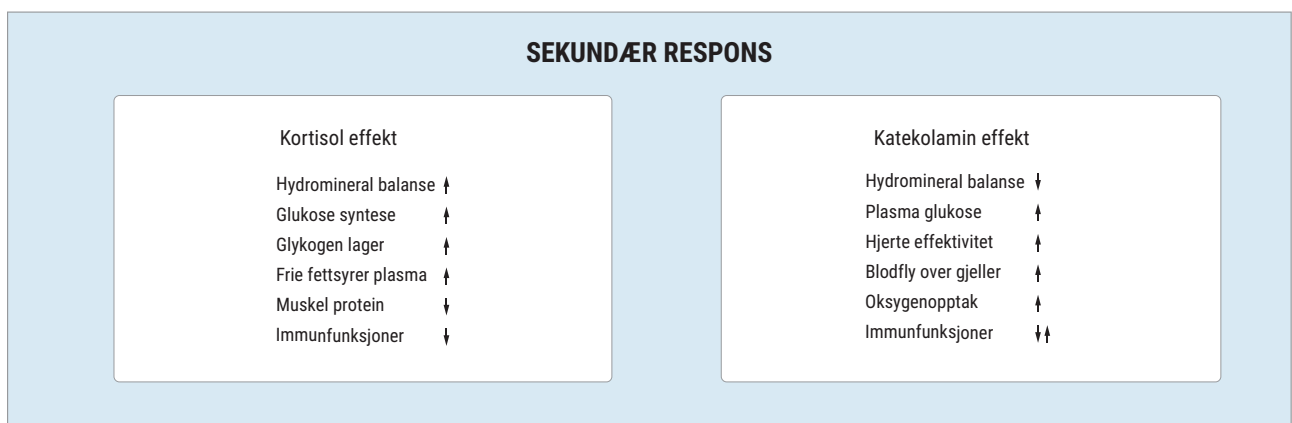
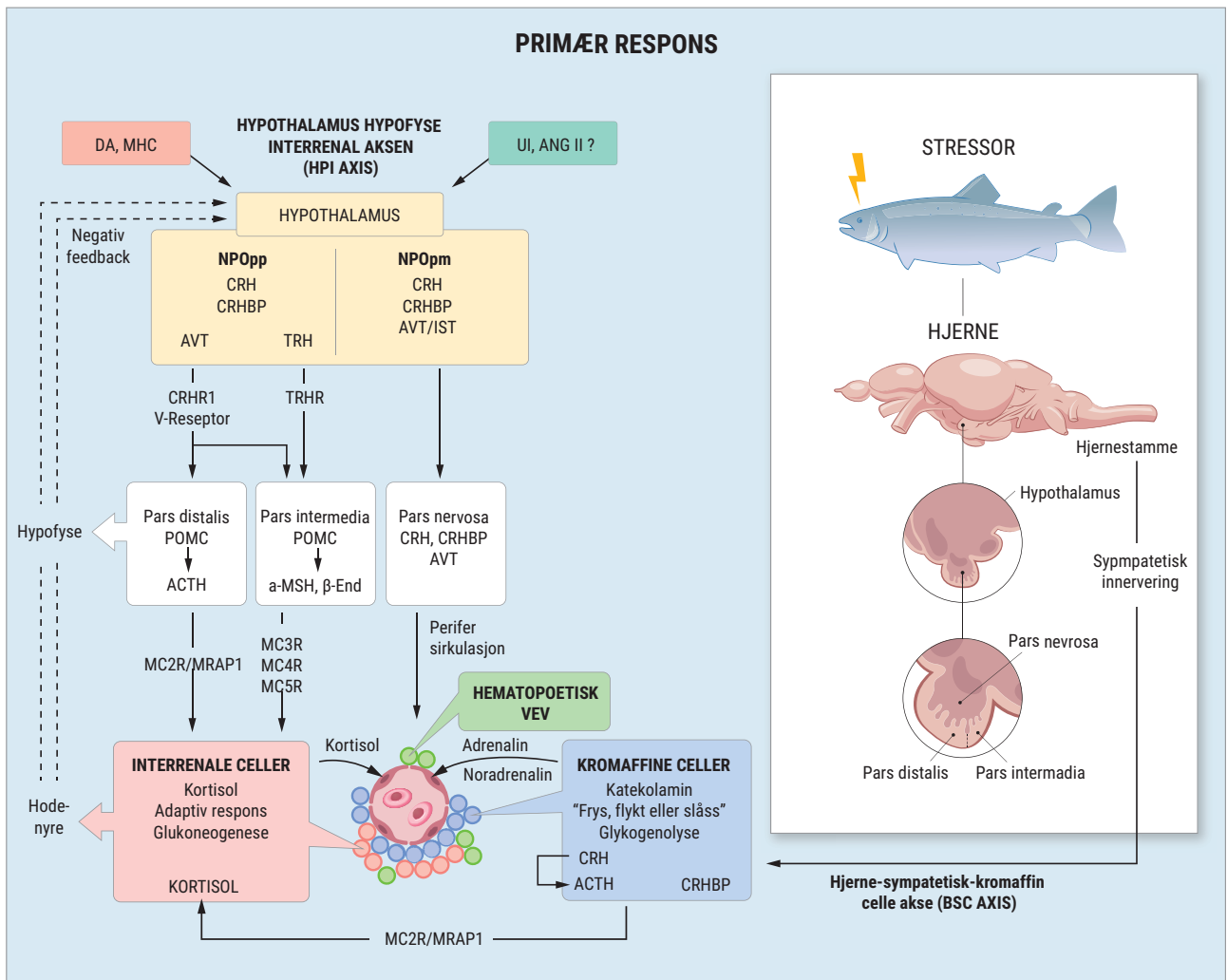
I pattedyr går signalene av en oppfattet stressor til flere områder med ansamlinger av nerve-cellekjerner (nukleus) i det paraventrikulære området, som paraventrikulær nukleus, arcuat nukleus (Arc, analog med nucleus lateralis tuberis i fisk), og i det laterale hypothalamus (**figur 18.7**, les også kapittel 3, det autonome nervesystemet for mer informasjon om nervesystemets organisering). Her samles signalene og aktiverer sympatiske nevroner av det autonome nervesystemet som sender signalene videre ned hjernestammen og ryggmargen. Alle nevronene i det autonome nervesystemet er myelinert og kolinergiske, dvs. at de bruker acetylkolin som neurotransmittor ved synapsene. Disse kalles pregangliske nevroner. Når de sympatiske nevronene forlater ryggmargen (og det sentrale nervesystemet) møter de en ny klynge av nevroner, ganglia, som aktiveres av acetylkolin. Disse postganglion nevronene infiltrerer målorganene. Når de blir aktivert skiller disse nevronene i hovedsak ut noradrenalin (kan variere fra organ til organ) som neurotransmittor i synapsene (noradrenerg) og vil generere en respons. Innervering av det autonome nervesystemet inn i



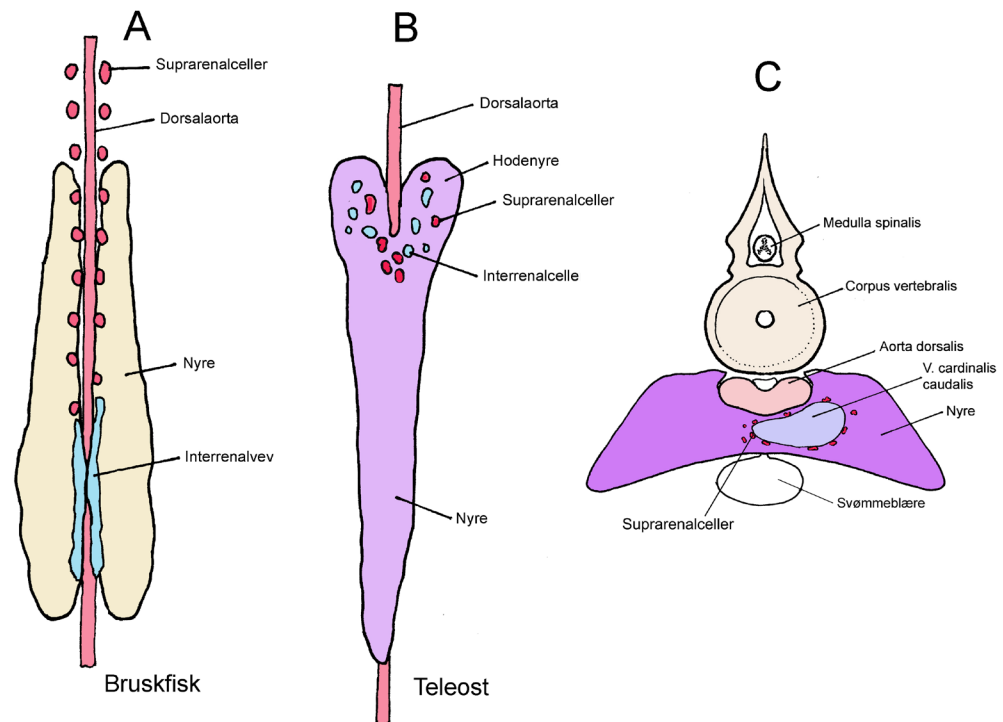
organer sikrer en svært hurtig respons etter eksponering for en stressor. Hvilke organer som aktiveres vil variere noe mellom arter, og det er en betydelig fylogenetisk komponent involvert. Relativt lite er kjent om de mest primitive fiskene som kjeveløse fisk eller rundmunner (Cyclostomata). I slimål er det ingen innervring av hjerte som det er i de fleste høyere arter. Men de har kromaffinceller i hjertet som bidrar betydelig i stressresponsen. De har også kolinergiske nevroner inn i bukhulen som blant annet kontrollerer galleblæren. I bruskfisk (Elasmobranchii) er det nevroner til flere organer som hjerte, urogenitalier, innvoller, svelg og øye (iris). I teleoster er innerveringen mer omfattende og inkluderer hjerte, urogenitalier, innvoller, svømmeblære (i de arter som har det), øye, gjeller og blodårer.

I de fleste arter vil pregangliske, kolinerge fibre gå videre til kromaffine celler. I primitive bruskfisk (Elasmobranchii) ligger kromaffincellene parvis og segmentert langs aorta på hver side av ryggmargen nær sympatiske ganglia. I teleoster derimot, er kromaffincellene samlet i hodenyrene rundt grenene av den bakre kardinalvenen. Ved aktivering vil acetylkolin skilles ut i synapsene og aktivere reseptorer på de kromaffine cellene. Den viktigste reseptoren ser ut til å være nikotinreseptor. Dette er en ionotrop reseptor som innebærer at den åpner en ionekanal hvor  $\text{Na}^+$  diffunderer inn i cellen (og ofte  $\text{Ca}^{2+}$ ) og  $\text{K}^+$  ut. Dette fører til endringer i cytoskjelettet slik at sekretoriske granuler med katekolaminer smelter sammen med cellemembranen slik at de skilles ut. Kromaffincellene kan også ha muskarinreseptorer. Dette er en metabotrop reseptor som betyr at acetylkolin binder seg til en G-proteinkoblet reseptor som så aktiverer signalveier inne i cellen. Rollen til muskarinreseptorer er imidlertid noe uklart og det er sannsynligvis også stor artsvariasjon. Siden katekolaminene er lagret i vesikler skilles de ut umiddelbart etter at signalet ankommer cellene, og siden de ligger helt opp til venene (aorta i bruskfisk) vil de nå kroppens organer på svært kort tid (**figur 18.8**).

**Figur 18.7.** Oversikt over hypothalamus hypofyse interrenal aksens (HPI) og de endokrine og fysiske responser (primær, sekundær og tertiær respons) som følge av stress i en typisk teleost fisk. I hypothalamus sender neuroendokrine celler i den ventrale (parvocellulære) delen av nucleus preopticus (NPOpp) ut nevroner som bruker kortikotropin frigjørende hormon (CRH) som neurotransmitter til hypofysen hvor det aktiverer CRH-reseptoren (CRHR1) på kortikotrope celler slik at de til slutt skiller ut adrenokortikotrop hormon (ACTH). Parallele nevroner som grenser til NPO sender CRH bindeprotein (CRH-BP) til de samme cellene. CRH-BP binder CRH og hemmer binding til CRHR1 og vil hemme aktivering av stressaksen. Forholdet mellom CRH og CRHBP bestemmer graden av aktivering av stressresponsen. NPOpp cellene uttrykker også arginin vasotocin (AVT). Celler som produserer melanofor stimulerende hormon ( $\alpha$ -MSH) i pars intermediata er under kontroll av hypothalamus (CRH/CRH-BP) og tyroid frigjørende hormon (TRH via dens reseptor TR). ACTH signalet går via MC2R-MRAP1-reseptor komplekset (2 MCR2 og 4 MRAP1) som er spesifikt for ACTH.  $\alpha$ -MSH som produseres ved stress kan stimulere syntesen av kortisol og kan også fungere som et anorektisk signal. Neuroendokrine celler i den dorsale delen av den magnocellulære seksjonen av NPO (NPOpm) projiserer til den neurohemale delen av pars intermediata (utstillelse av hormoner i blod) og ut i den generelle sirkulasjonen. Prikkete linjer viser negativ feedback på alle nivåer av HPI aksens. Resultater som viser til produksjon av CRH og CRH-BP i kromaffine celler antyder en ultra-kort feedback hemmingsmekanisme. Andre neuroendokrine signaler kan være stimulerende (grønn boks) som for Urocortin 1 (UI), angiotensin II (ANG-II), arginin vasotocin (AVT) og isotocin (IST), eller hemmende (rød boks) som for dopamin (DA) og melanin konsentrerende hormon (MCH) på hypothalamus og dermed også på stress-aksen. Mengden av kortisol og katekolaminer som skilles ut etter den primære stressresponsen driver så den sekundære stressresponsen som er en serie med fysiologiske justeringer som er kritisk for umiddelbar håndtering av stresset og dermed overlevelse. Dersom stresset vedvarer og fisken ikke er i stand til å tilpasse seg, så vil stresset gå over i en tertiær respons som innebærer ødeleggende konsekvenser for fisken. Modifisert fra Virtanen et al. 2023.



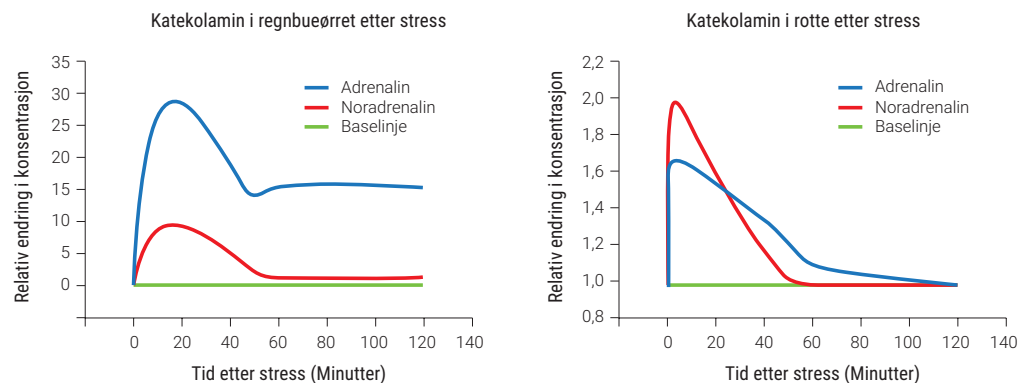
**Figur 18.8.** Lokalisering av suprarenalceller (kromaffine celler) og interrenalkjertler i en bruskfisk og en teleost. A) I bruskfisk er interrenalt vev (kortisol produksjon) skilt fra kromaffine celler som ligger rundt dorsalaorta. B) I teleoster er suprarenalcellene og interrenale celler samlokalisert i hodenyrene. C) Merk at i hodenyren hos teleoster ligger dorsalaorta (aorta dorsalis) svært nær og over kardinalvenen (vena caudalis caudalis). Endokrine celler ligger organisert rundt kardinalvenen hvor de skiller ut hormonene.



Kromaffine celler kan inneholde subpopulasjoner som inneholder enten adrenalin eller noradrenalin. Hvor mye som produseres i de ulike cellepopulasjonene er i stor grad artsavhengig og sannsynligvis også påvirket av andre faktorer. I slimål inneholder kromaffincellene i hjertet mye adrenalin og mindre noradrenalin mens cellene rundt bakre kardinalvene nesten bare inneholder noradrenalin. Bruskfisk som havmus og pigghå har ofte høye konsentrasjoner av katekolaminer i cellene rundt aorta som domineres av noradrenalin i forholdet 3:2 over adrenalin (havmus, pigghå). I hodenyrene av mange teleoster er adrenalin det viktigste katekolaminet (mange torskefisk, laksefisker, ål (*Anguilla rostrata*), men ofte med betydelige mengder noradrenalin. I mange karpefisk er mengden lagret katekolaminer liten, og ofte er det bare noradrenalin som blir påvist.

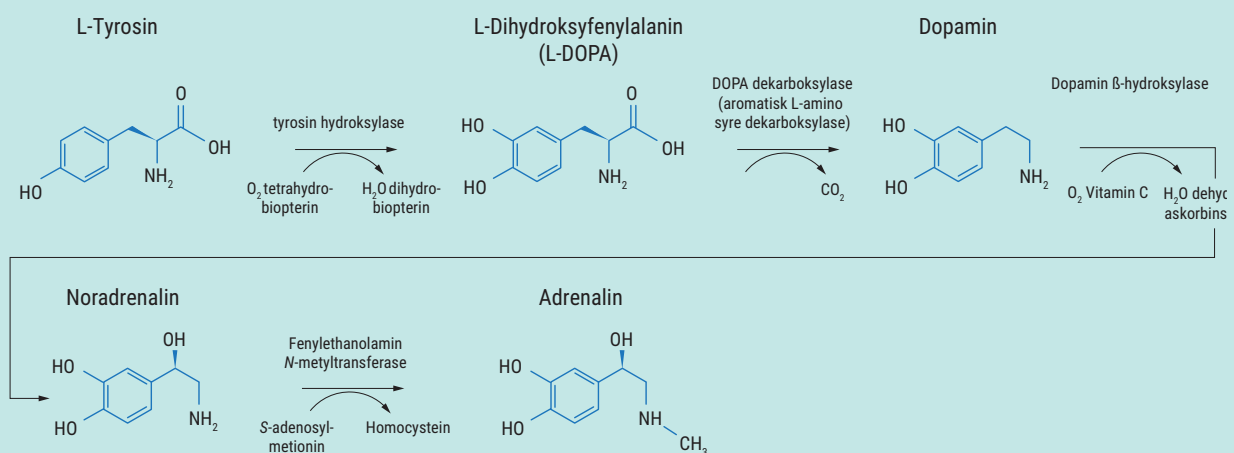
Hos mennesker varer økningen av katekolaminer i blod etter stress bare i noen få minutter før verdiene kommer tilbake til utgangspunktet. I fisk øker også katekolaminnivåene like etter stress, men i mange arter kan det ta lang tid før verdiene synker til utgangspunktet. I regnbueørret kan man finne forhøyede verdier i mer enn 8 timer etter stress (**figur 18.9**).

**Figur 18.9.** Relative endringer i plasma konsentrasjonen av katekolaminer i regnbueørret og rotter etter stress. Legg merke til at de relative endringene generelt er langt større i regnbueørret enn hos rotter, og kan vare mye lengre.



### Kunnskapsboks 1, syntese av katekolamin

Syntesen av katekolaminer tar utgangspunktet i aminosyren tyrosin. De to første stegene skjer i cytoplasma hvor tyrosin hydroksyleres av tyrosin hydroxylase (TH) til dihydroksyfenylalanin (L-DOPA) (**figur 18.10**). Dette er ett regulatorsteg som bestemmer hvor mye noradrenalin som lages. I det andre steget vil enzymet aromatisk L-aminosyre dekarboksylase (AADC, eller DOPA dekarboksylase) dekarboksylere L-DOPA til dopamin. Enzymet har bred substrat-spesifisitet og finnes i store mengder slik at L-DOPA ikke vil akkumulere over tid. Dopamin vil så inkorporeres i sekretoriske granulaer som inneholder enzymet dopamin- $\beta$ -hydroksylase (D $\beta$ H) som omdanner det til noradrenalin. I noen kromaffinceller transporteres noradrenalin fra granulaene til cellens cytoplasma hvor de metyleres til adrenalin ved hjelp av fenyletanolamin-N-metyltransferase (PNMT). I andre celler vil noradrenalin bli værende i granulaene. Syntesen av katekolaminer er plastisk og påvirkes av mange faktorer. For eksempel vil tyrosin hydroksylase og dermed katekolaminsyntesen hemmes av sine egne produkter som dopamin og noradrenalin. Dette kalles negativ tilbakemelding (feedback) og bidrar til å unngå overstimulering. På den andre siden så vil økt sympatetisk stimulering fra hypothalamus også gi økt mengde kortisol eller adrenokortikotropisk hormon (ACTH; se under) som vil øke aktiviteten til TH. Fra regnbueørret vet man at kronisk økt systemiske kortisolmengder hindrer nedbrytning av D $\beta$ H slik at katekolaminsyntesen og lagring øker.

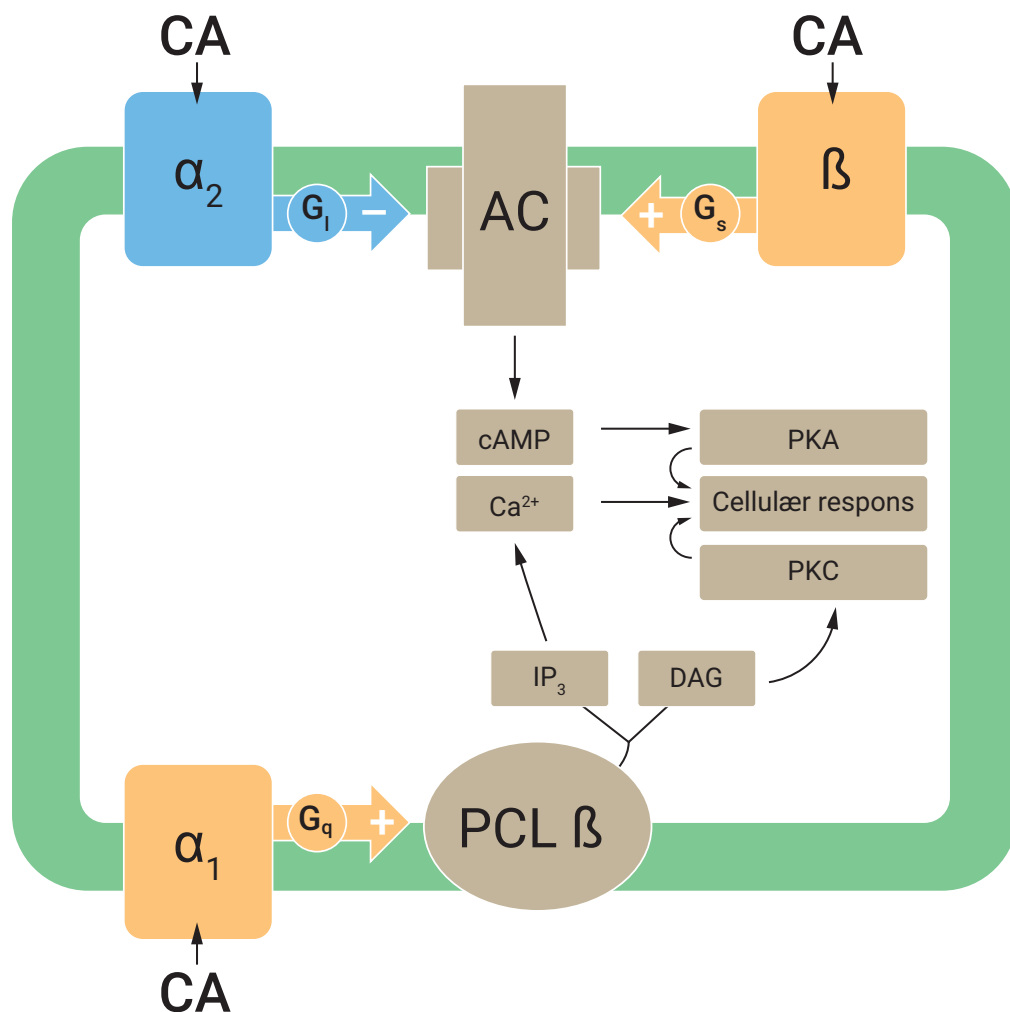


**Figur 18.10.** Synteseporet for adrenalin og noradrenalin.

### 18.2.3 Effekt av adrenalin og noradrenalin på den sekundære stressresponsen

Adrenalin og noradrenalin vil påvirke stressresponsen både via blod eller synapser innervert i de ulike vev. Dette skjer gjennom binding til spesielle adrenerge reseptorer (AR) på målcelle (figur 18.11). Foreløpig er 3 typer identifisert med flere subtyper i hver gruppe. Dette er  $\alpha_1$  (A, B, C);  $\alpha_2$  (A, B, C, D);  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  og  $\beta_3$ . Reseptorene er del av en større superfamilie av heterotrimetriske (bundet til tre peptidkjeder) ( $\alpha\beta\gamma$ ) G-protein koblede transmembran reseptorer (går gjennom membranen) (se også kapittel 3). Denne gruppen inkluderer også reseptorer for andre peptidhormoner som ACTH, vasopressin, dopamin og bioaktive aminer. AR er vidt uttrykt både i det sentrale nervesystemet og i perifert vev. Alle  $\beta$ -reseptorene deler en felles signalvei, men dette ser ikke ut til å være tilfelle for  $\alpha_1$ - og  $\alpha_2$ -AR.  $\alpha$ -AR er koblet med og aktiverer ett G-protein kjent som Gq. Dette fører til videre aktivering av fosfolipase C (PLC) som hydrolyserer fosfatidylinositol bifosfat (PIP<sub>2</sub>) til inositol 1,4,5-trisfosfat (IP<sub>3</sub>) og diacylglycerol (DAG). Dette forårsaker frigjøring av intracellulær Ca<sup>2+</sup> som en second messenger (sekundær budbringer) slik at protein kinase C (PKC) aktiveres. Protein kinase C kontrollerer aktiviteten til en lang rekke enzymer gjennom fosforylering og defosforylering.

**Figur 18.11.** Oversikt over signalveiene etter binding av katekolaminer til  $\alpha$ - eller  $\beta$ -adrenoreseptor på celleoverflatene. Piler viser retningen av signalene hvor + og - viser om det er stimulerende eller hemmende veier. G refererer til G-protein; AC, adenylsyklase; PLC  $\beta$ , fosfolipase  $\beta$ ; IP<sub>3</sub>, inositol 1,4,5-trisfosfat; DAG, diacylglycerol; PKA og PKC er protein kinase A og C respektivt. Modifisert fra Fabri et al. 1998.



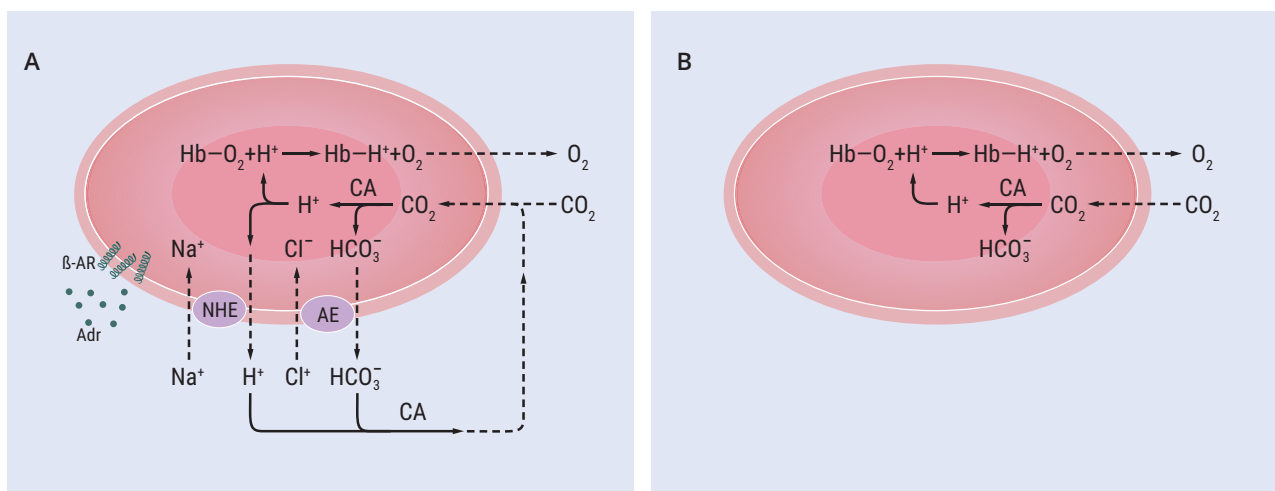
$\beta$ -AR er funnet i alle fisk som er undersøkt til dags dato.  $\beta$ -AR er koblet til  $G_s$  som fører til aktivering av AC og akkumulering av cAMP som second messenger. Komplekset mellom katekolaminer og  $\beta$ -AR endrer konformasjonen av G-proteinet som aktiverer en kaskade via protein-protein interaksjoner. Guaninrifosfat (GTP) binder til  $\alpha$ -subenheten av G-proteinet som forblir aktiv til GTP hydrolyseres til guaninedifosfat (GDP). Stimuleringen induserer adenylsyklase (AC) som katalyserer nedbrytingen av ATP til cAMP. Økende mengde cAMP aktiverer protein kinase A (PKA) som deltar i en rekke prosesser. For eksempel kan den fosforilere L-typen av Ca<sup>2+</sup> kanaler som øker opptaket av Ca<sup>2+</sup> og leder til økt hjerterate.  $\alpha_2$ -AR er hovedsakelig antatt å være inhibitoriske reseptorer.

Generelt vil adrenalin ha størst effekt på hjertets sammentrekning både når det gjelder endringer i hjerterate og slagvolum. Studier har vist at begge disse mekanismene kan stimuleres av  $\beta$ -AR, og økende mengde cAMP forårsaker PKA fosforylering av (SL) L-type Ca<sup>2+</sup> kanaler i sarkolemma som fører til økt transport av Ca<sup>2+</sup>. Noradrenalin er en vasokonstriktor som stimulerer  $\alpha_1$  reseptorer til å begrense blodstrømmen til perifert vev, og øke blodtrykk og blodforsyning til muskel. Dette vil bedre evnen til å slåss eller flykte i akutte situasjoner. Dette varierer imidlertid mye mellom arter.

Styrken på den adrenerge stressresponsen til vev, og mengden katekolaminer som lagres i kromaffincellene vil påvirkes av faktorer som miljø, oksygenmetning i vann, fiskens alder, utviklingsstadium og tidligere erfaring med samme stressor. I noen tilfeller er det individforskjeller i sympatetisk aktivering mellom fisk som kan forklares av personlighet og dermed ulik overlevelsesstrategi når de utsettes for stress. Når brunørret (*Salmo trutta*) ble utfordret med hypoksi og aggresjon responderte noen med aktiv unnvikelse eller aggresjon (høy respons gruppe) mens andre reagerte med å bli uvirksom med lav aggresjon (lav

respons gruppe). Når disse ble utfordret med 45 minutter isolasjon var plasmamengden av adrenalin og noradrenalin 2,5 og 3 ganger høyere i høyrespons gruppen.

Under stress vil også kapasiteten til oksygen-opptak og -transport forbedres. Katekolaminer vil stimulere perfusjonen (ekspansjon) av sekundærlamellene og dermed også utveksling av både oksygen og vann. Dette bedrer oksygenopptaket, men fører også til mindre kontroll av vanntransport over vevet. I sjøvann vil fisken da lettere miste vann til omgivelsene ved osmose. Denne effekten er også kjent som et respiratorisk-osmoregulatorisk kompromiss mellom gassutveksling og osmoregulatorisk belastning hvor fordelene mellom bedret oksygenopptak må balanseres mot økt permeabilitet og tap av vann. Blodets evne til å øke transport av  $O_2$  økes også gjennom en katekolindusert kontraksjon av milt som øker antallet røde blodceller i sirkulasjonen. Selv om dette i stor grad er umodne erythrocytter (røde blodceller; RBC), så økes evnen til å transportere oksygen. Mekanismen er svært utbredt i teleoster, men mangler i primitive teleoster og bruskfisk. De røde blodlegemene er også viktige for å fjerne  $CO_2$  fra perifert vev og for å transportere dem ut av kroppen. Dette skjer ved hjelp av enzymet karbonsyreanhydrase som hydrerer  $CO_2$  til  $H_2CO_3$ . Dette dissosierer til  $H^+$  og  $HCO_3^-$ . Karbonat eksporteres ut av cellene i bytte mot klorid  $Cl^-$  (kloridskift) (se kapittel 8). Under stress øker  $CO_2$  produksjonen, og som konsekvens øker også syreproduksjonen,  $H^+$  i cellene. Ukontrollert reduksjon av pH i blodcellene vil ha mange skadelige konsekvenser som denaturering av proteiner og ødeleggelse av oksygentransport. For å unngå dette har teleoster reseptorer ( $\beta$ -AR) på membranen av de røde blodcellene som aktiveres av katekolaminer. Aktivering øker intracellulær cAMP som i sin tur aktiverer en  $Na^+/H^+$  antiporter slik at  $Na^+$  byttes mot intracellulær  $H^+$  samtidig som den elektrokjemiske gradienten opprettholdes. Kostnaden er at  $Na^+$  og  $Cl^-$  konsentrasjonen i cellene øker. Dette fører til økt strøm av vann slik at de røde blodcellene sveller. Som en konsekvens vil hematokrit (andelen røde blodceller i plasma) øke og kan brukes som ett mål på stress. I laks kan hematokrit øke fra under 30 til 45% under stress. Siden disse prosessene er energikrevende, synker også cellenes ATP-nivåer. Den samlede adrenerge effekten på de røde blodcellene er bl.a. økt pH, økt cellevolum og økt bindingsaffinitet av oksygen til hemoglobin. Dette gir økt evne til å ta opp oksygen ved gjellene og transport til vev. Flere arter av bruskfisk ser ikke ut til å ha en tydelig adrenerg respons etter stress. Det samme gjelder noen arter som karpe og flyndre ved normale oksygenivå. Laksefisk har derimot en klar respons etter stress både under normale og hypoksiske forhold. Det er imidlertid store sesongmessige variasjoner som kan føre til produksjon av nye typer røde blodceller som er mer sensitiv til adrenerge påvirkninger. Akutt eller kronisk stress (som kortisol) kan også ha en positiv feedback gjennom å mobilisere flere reseptorer ( $\beta$ -AR) til overflaten av de røde blodcellene og på den måten gi en større respons når de eksponeres for katekolaminer (**figur 18.12**).



**Figur 18.12.** Effekt av adrenalin på røde blodlegemer i fisk. A) Teleoster har  $\beta$ -AR reseptorer som ved binding av adrenalin (Adr) starter en  $Na^+/H^+$  transportør (NHE) som bytter intracellulær  $H^+$  med  $Na^+$ . B) Enkelte teleoster og bruskfisk har ikke en katekolaminindusert pumpe som kan fjerne protoner fra de røde blodlegemene. Merk at teleoster også har en anionbytter (AE) som regulerer kloridskiftet. CA; karbonsyreanhydrase, Hb; hemoglobin. Modifisert fra Jensen 2004.



En viktig rolle til katekolaminer er å mobilisere tilgjengelig energi, først og fremst gjennom å øke mengde sirkulerende glukose. I lever vil katekolaminer stimulere reseptorer ( $\beta$ -AR) som igjen vil aktivere ulike enzymer (glykogen syntetase; Gsase, glykogen fosforylase; GPase), som vil føre til at glykogen (glykogenolyse) brytes ned til glukose. I tillegg vil syntese av sukker fra andre tilgjengelige råstoffer som aminosyrer og melkesyre øke gjennom stimulering av glukoneogenese. Katekolaminer mobiliserer også lipidlagre gjennom aktivering av enzymer som triacylglycerol-lipase gjennom cAMP-avhengig aktivering av protein kinase A (PKA). Dette resulterer i nedbryting av triglyserider til glyserol og frie fettsyrer. Men dette er en noe tregere prosess som bare på sikt vil øke tilgjengelig energi, men ikke umiddelbart etter akutt stress.

Immunsystemet i benfisk er på mange måter likt det vi finner hos pattedyr med lymfoide organer som tymus, milt og hodenyre. Men benfisk mangler benmarg og har et redusert lymfatisk system. De har også spesifikt (adaptivt) og medfødt (innat) immunsystem med makrofager, neutrofiler, NK celler og T- og B-lymfocytter (se kapittel 14 Fiskens immunsystem). Det sympatiske hypothalamus-kromaffin systemet påvirker immunsystemet på flere måter. Det skjer spesielt gjennom katekolaminreseptorene  $\alpha$ -AR and  $\beta$ -AR som uttrykkes på de fleste immunceller. Vanligvis regner man  $\beta$ -AR som de viktigste adrenoeseptorene i immuncellene hvor de generelt hemmer det medfødte og spesifikke immunsystemet. Effekten ser ut til å variere en del mellom arter, og ikke minst mellom de ulike katekolaminene. Adrenalin vil, i likhet med kortisol, i hovedsak dempe immunresponsen mens noradrenalin enten ikke har noen effekt eller så kan den gi en svak forsterking av immunresponsen. Når makrofager fra gyllen havkaruss ble dyrket i nærvær av lipopolysakkarider, så genererte dette en betennelsesreaksjon gjennom produksjonen av proinflammatoriske cytokiner som IL-1 $\beta$ . Når adrenalin ble tilsatt, så hemmet dette IL-1 $\beta$  produksjonen og dermed også betennelsen.

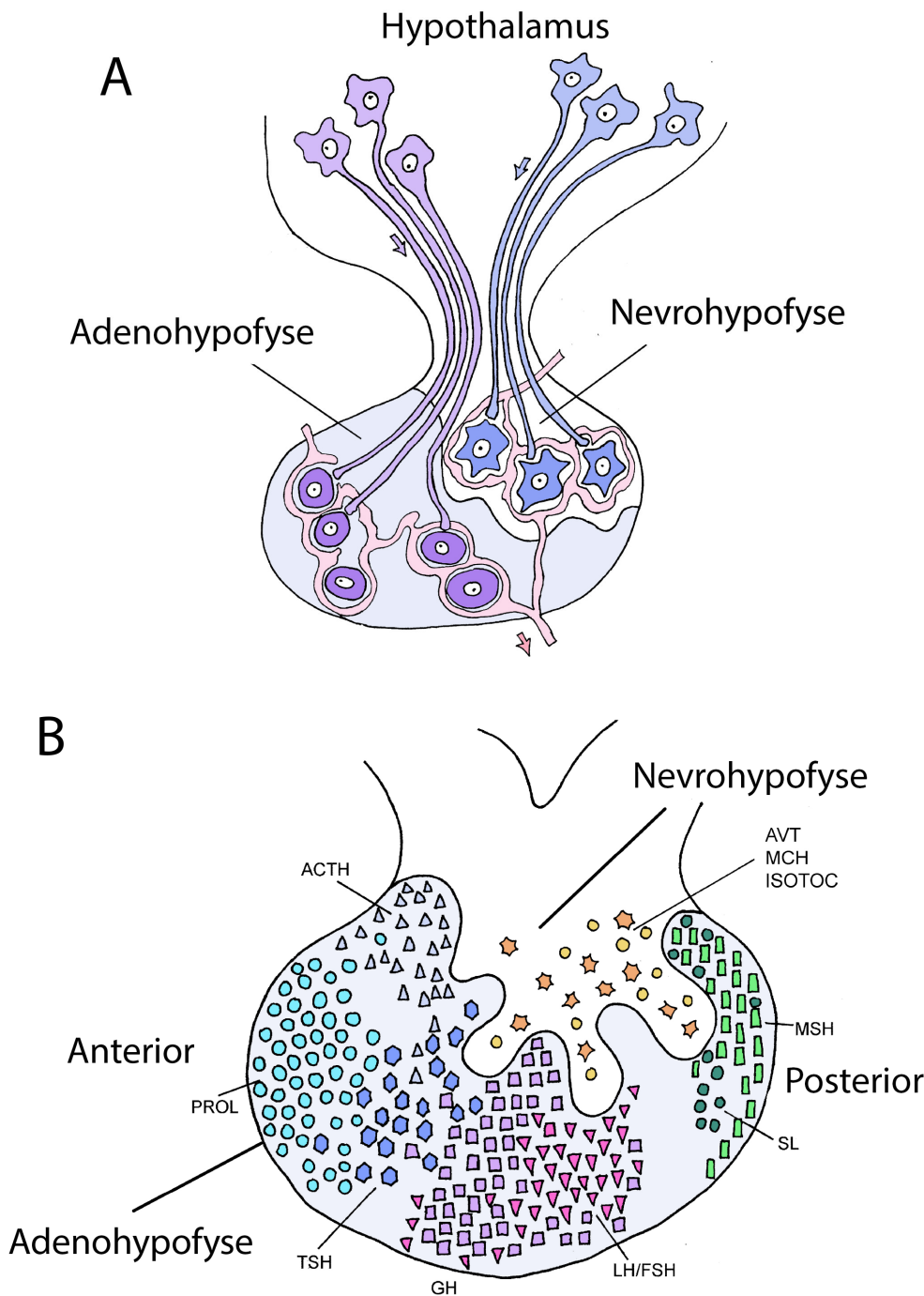
I pattedyr og fisk forårsaker akutt stress en vandring av immunceller som lymfocytter og monocytter til perifert vev som skinn. Stimulering i pattedyr skjer gjennom lokalt produsert noradrenalin (skilt ut fra kolinergiske synapser infiltrert i vev) og sirkulerende katekolaminer fra binyrene. Mekanismene antas å være analoge i fisk. I regnbueørret og atlantisk laks har man observert reduksjon i sirkulerende lymfocytter etter stress som tyder på økt vandring ut i perifert vev. Dette er en evolusjonær tilpasning til at stress gjør dyrene bedre i stand til å håndtere vevsskade med påfølgende infeksjoner dersom stresset leder til skader (slåss eller flykt).

## 18.3 NEVROENDOKRIN REGULERING, HYPOTHALAMUS-HYPOFYSE-INTERRENAL AKSEN

### 18.3.1 Hypothalamus hypofyse aksene

Når fisk utsettes for stress vil signalene aktivere klynger av nevroner i det preoptiske (NPO) området som ligger i den fremre delen av hypothalamus. NPO kan deles inn i nerveklynger kalt parvocellular (NPOpp) og magnocellular (NPOpm). Fra NPOpp går nevroner ned til hypofysens forlapp (pars distalis). Her skiller de ut hormonet kortikotropin frigjørende hormon (corticotropin releasing hormone, CRH) ved de nevrosekretoriske terminalene som stimulerer kortikotrope celler til å syntetisere hormonet kortikotropin (adrenokortikotrop hormon, ACTH) fra prohormonet proopiomelanocortin (POMC). ACTH vil så skilles ut i blodet og stimulere reseptorene på interrenalkjertlene i binyrene i pattedyr eller i hodenyrene i benfisk og igangsette produksjon av og utskillelse av kortisol.

Det er flere andre nevroner som går fra NPOpp til hypofysens forlapp som kan påvirke stressresponsen (**figur 18.13** og **figur 18.7**). Dette inkluderer arginine vasotocin (AVT), dopamin (DA), somatostatin, thyrotropin-releasing hormon (TRH) og melanocyt konsentrerende hormon (melanocyte concentrating hormone, MCH). CRH familien (se 18.3.2) inkluderer også urotensin I (UI), urocortin-1 (Ucn1, i pattedyr) og urocortin-2 og -3. NPOpm skiller ut isotocin (IST) (også kalt oxytocin i sebrafisk) og AVT i nevrohemale områder i hypofysens midtlapp (pars intermedia) som begge kan påvirke stressresponsen. En annen gruppe nevroner skiller ut CRH, AVP og isotocin (IST) til hypofysens baklapp (pars nervosa) og MSH celler. I pars nervosa frigjør CRH nevronene CRH direkte til blod som kan transporteres til perifert vev. Dette stemmer med observasjoner av unormalt høye mengder CRH i fiskeplasma etter stress.



**Figur 18.13.** A ) Direkte forbindelser mellom hypothalamus og hypofysen i en teleost fisk. Aksoner fra neurohypofysen vil enten direkte innnervere celler i adenohypofysen eller terminere før cellene slik at neuro-hormoner kan diffundere mot målcellene. Cellene kan enten stimuleres (eller hemmes) til å produsere og skille ut hormoner. Hormonene vil så diffundere fra cellene og inn i hypofysens arterielle blod som omgir cellene og transportere dem ut med det venøse blodet, og derfra til målorganene. B) Celledistribusjon i hypofysen. Den fremre, del av adenohypofysen (rostral pars distalis) inneholder kortikotrope celler som skiller ut ACTH og prolaktin (PROL) og den proksimale delen av adenohypofysen, proksimale pars distalis, hvor det er celler som produserer veksthormon (GH), gonadotroper som skiller ut gonadotropisk hormon (GTH) og tyrotroper som skiller ut tyroid-stimulerende hormon (TSH). Celler i pars intermediata produserer melanofor-stimulerende hormon (MSH) og celler som skiller ut somatolaktin (SL), som er viktig i ioneregulering.

**18.3.2 Kortikotropin frigjørende hormon (CRH) og CRH reseptorer**

CRH er sannsynligvis det viktigste hormonet som regulerer stressaksen ved at CRH nevrone går fra hypothalamus til hypofysen hvor CRH stimulerer ACTH produksjonen. CRH er ett peptid som består av 41 aminosyrer. Det foreligger i flere paraloger. Etter den første hele genomdupliseringen (2R WGD) oppsto to paraloger kalt CRH1 og CRH2, men den siste versjonen er tapt både i pattedyr og i teleostere. Ved den neste hele genomdupliseringen (WG3) økte antallet CRH1 gener til to hvor paralogene kalles CRH1a og CRH1b. Som følge av den siste genomdupliseringen i Salmoniformes og Cypriniformes (4R WGD) har det oppstått kopier av både CRH1a og CRH1b. I atlantisk laks har man i dag påvist fire paraloger kalt CRH1a1, CRH1a2, CRH1b1 og CRH1b2 som alle uttrykkes i hjernen. Se kapittel 6 for mer om gendupliseringer.

Noen fisk er også unike i det de har produksjon av CRH utenfor hjernen. I benfisk lages CRH i det kaudale nevrosekretoriske systemet (urofysen; CNSS) eller i såkalte Dahlgren celler plassert i enden av ryggraden. CNSS produserer også andre hormoner, blant annet urotensin I (UI) og urotensin II (UII) som veldig lik CRH i oppbygning, og kan aktivere CRH reseptorer. CNSS antas derfor å ha betydelig kontroll over hypofysen når det gjelder tilpasning til miljøet som osmoregulering, reproduksjon, ernæring og stress-relaterte responser. UI regulerer kortisolproduksjonen og kan ha en spesiell funksjon i regulering av blodstrøm i mage-tarmsystemet. UII er en vasokonstriktor i arterier og er foreslått som viktig for reguleringen av vann- og ione-transport. CRH produseres også i kromaffincellene i hodenyrene. Selv om funksjonene til CRH i hodenyrene ikke er helt forstått, så antas det å være involvert i dannelsen av en kort tilbakekoblingsløyfe (feedback) under stress.

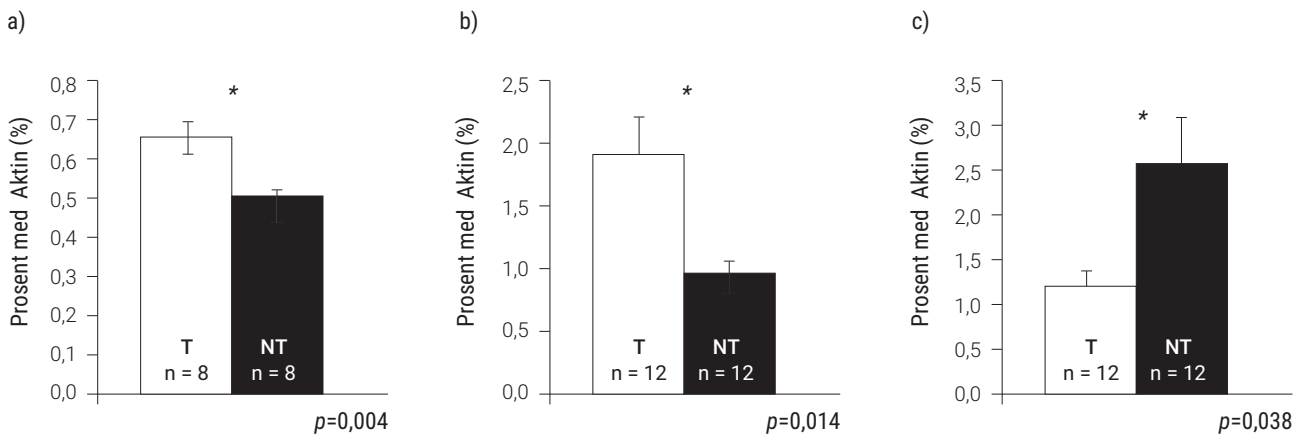
CRH fungerer gjennom G protein-koblede reseptorer (GPCR) (se kapittel 3) og har cAMP (adenylosyklase) som second messenger. De fleste cellene i vertebrater har to hovedtyper reseptorer kalt CRHR1 og CRHR2. De finnes også i flere varianter og det er stor forskjell i hvilke vev de uttrykkes i, og deres affinitet for substrat. I mennesker uttrykkes CRHR1 i hjernen og nervevev. I det perifere nervesystemet er uttrykket lavere i vev som hud, milt, hjerte, lever, genitalia og binyrene. CRHR2- $\alpha$  uttrykkes primært i perifert vev, mens CRHR2- $\beta$  hovedsakelig uttrykkes i hjernen. Dette har mange likheter med det man har observert i fisk. I den afrikanske cikliden *Astatotilapia burtoni*, er uttrykket av mRNA for CRHR1 høyest i hjernen, og noe lavere i hypofyse, gjeller, milt og nyrer. CRHR2 ser derimot til å uttrykkes både i hjernen og hypofyse i tillegg til perifert vev som gjeller, milt og genitalia. Slike forskjeller kan være artsspesifikke eller betinget av at det er utviklet andre funksjoner for reseptorene.

CRHR1 er den viktigste reseptoren i stress-aksen siden den induserer syntese og sekresjon av ACTH og dens prekursor (POMC) samt flere andre peptidhormoner i hypofysen som respons på stress. CRHR2 ser ut til å være mer perifert involvert i stress-relaterte fysiologiske og adferdsmessige responser som vaskulær motstand (vasokonstriksjon), blodtrykk, appetitt, læring og angst. Disse responsene vil i større grad gå via nevroner utenom de hjerneområdene som responderer på den endokrine stress aksen.

En annen viktig komponent i CRH systemet er CRH bindeprotein (CRH-BP). Dette er et 322 aminosyre protein som er strukturelt forskjellig fra CRH reseptorene. Funksjonen er primært å justere tilgjengeligheten av fri CRH. Når CRH-BP binder til CRH hemmes aktiveringen av stressaksen. CRH-BP kan også binde til UI/Ucn1 med høyere affinitet enn for CRH. Uttrykket av CRH-BP er absolutt høyest i hjernen, men mindre mengder mRNA er også funnet i muskel, milt, lever, nyrer og hjerte og viser til muligheter for direkte regulering av respons også i disse vevene. I hjernen hos regnbueørret er mengden mRNA av CRH-BP høyest i optisk tektum, preoptisk område, hypothalamus og hypofyse samt bakre delen av hjernen.

Det er interessant å merke seg at det også er individuelle forskjeller mellom CRH aksene i fisk. I den afrikanske cikliden *Astatotilapia burtoni*, er det funnet økt mRNA av CRH og CRHR1 i hjernen og hypofyse respektivt i territoriale ciklider sammenlignet med ikke-territoriale fisk. På den andre siden, så var mengden CRH-BP i hypofysen høyere i individer som ikke hadde territorial adferd (**figur 18.14**).

CRH kan også ha en direkte anorektisk effekt. Den uttrykkes i sentrale områder som er involvert i appetittregulering (e.g. telencephalon, POA, og hypothalamus). En del av mekanismen ser ut til å ligge i at  $\alpha$ MSH aktiverer CRH nevroner gjennom MC4R.



**Figur 18.14.** mRNA uttrykk av A) CRH, B) CRHR1 og C) CRHBP i terretoriale og ikke terretoriale ciklider. T=terretoriale, NT= ikke-terretoriale (Chen and Fernald 2008 med tillatelse).

### 18.3.3 Pro-opiomelanocortin (POMC) familien

POMC er et peptid med omkring 222-232 aminosyrer som varierer noe mellom arter. Genet for POMC er godt konservert mellom vertebrater. Transkripsjonen økes av CRH. Peptidet er et viktig utgangspunkt for flere peptidhormoner med svært mange funksjonsområder fra stress til energibalanse. Den er hovedsakelig uttrykt i hypofysen, men pomc mRNA har også blitt påvist i den ventrale delen av hypothalamus og i perifert vev. To paraloger (POMC A and POMC B) er blitt funnet i karpe, sebrafisk og flyndre. På bakgrunn av den ekstra gendupliseringen i laksefisk, er det foreslått at regnbueørret kan ha minst 3 funksjonelle POMC gener.

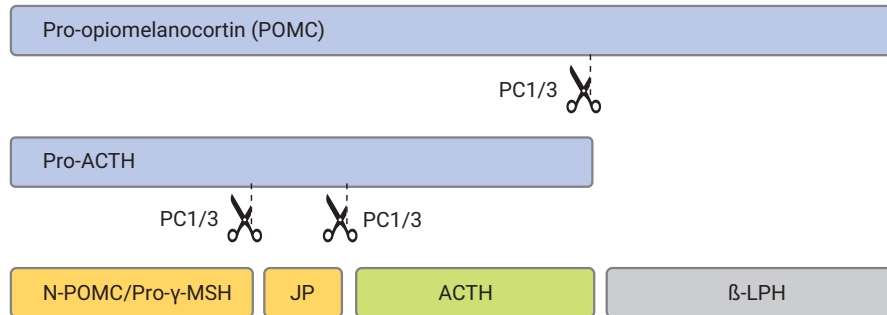
Når CRH signalene når hypofysen, aktiveres minst to cellepopulasjoner som uttrykker POMC, de kortikotrope cellene i hypofysens frontallapp (pars distalis) og melanotrope celler i hypofysens mellomlapp (pars intermedia). I de kortikotrope cellene splittes POMC opp i mindre peptidkjeder av prohormon konvertaser (prohormone convertases, PC). PC1/3 deler POMC slik at det dannes ACTH og  $\beta$ -lipotropin ( $\beta$ -LPH) (**figur 18.15**). ACTH vil så gå ut i det systemiske blodløpet og aktivere reseptorer primært på interrenalcellene som vil ende i produksjon av kortisol. Det er uklart i hvor stor grad  $\beta$ -LPH er involvert i selve stressresponsen. Noen studier i pattedyr antyder at den påvirker sterolsyntese i binyrer og lipolytisk aktivitet (mobilisere energi).

I de melanotrope cellene som også inneholder PC2 vil ACTH prosesseres videre til  $\alpha$ -melanocytstimulerende hormon ( $\alpha$ -MSH) og kortikotropin-lignende intermediat-peptid (CLIP) og samtidig splitte  $\beta$ -LPH til  $\beta$ -MSH og  $\beta$ -endorfin ( $\beta$ -END). Bioaktiviteten til  $\alpha$ -MSH og  $\beta$ -endorfiner bestemmes gjennom acetylering-deacetylering (koble på eller koble av en acetatgruppe). Mens  $\alpha$ -MSH blir mer potent etter acetylering, reduseres den i  $\beta$ -endorfiner.  $\beta$ -endorfinene er en viktig del av ett system kalt opioid reseptor antagonist, som finnes i mange organer, hjernen og i immuncellene. I pattedyr er  $\beta$ -endorfiner smertelindrende (analgesi) og er involvert i belønning og likevektssystemer. Syntesen øker under akutt og kronisk stress og er viktige også under avslutningen av stressresponsen. Hvordan dette fungerer i fisk er enda uklart.

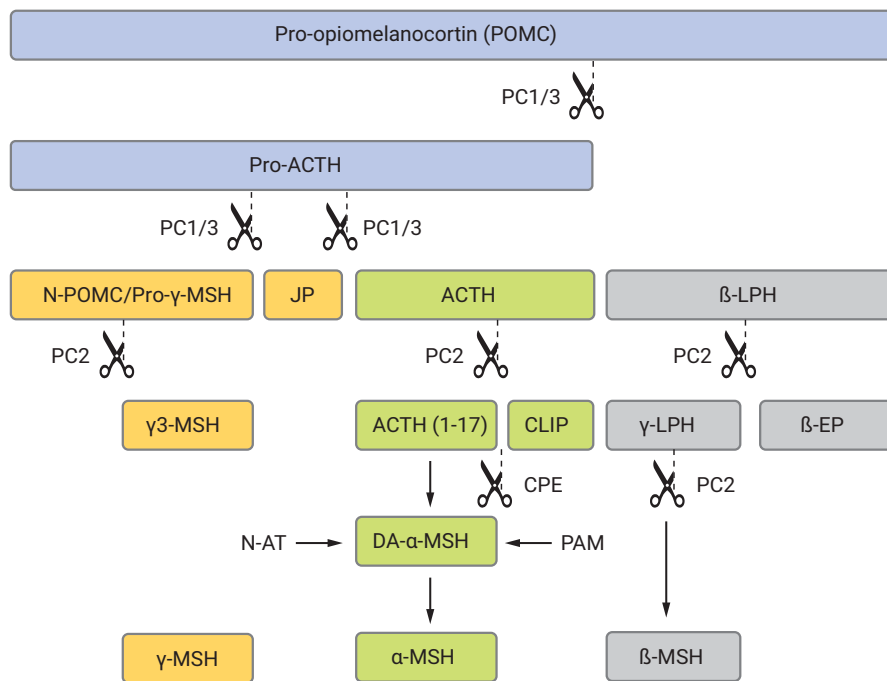
Selv om POMC systemet er godt konservert, så varierer det en del mellom arter. Noen av de største forskjellene ser man i noen kjeveløse fisk hvor det uttrykkes to distinkte og ulike POMC gener. I niøye syntetiseres det i kortikotrope celler et mRNA som koder for proopiocortin (POC), prekursoren for ACTH og  $\beta$ -End mens det i melanotrope celler uttrykkes et mRNA som koder for proopiomelanotropin (POM), prekursoren til begge MSH og den andre  $\beta$ -End (**figur 18.15**). Uttrykket av hver enkelt reseptor vil variere med nervesystemet gjennom kroppen. Dette vil gi grunnlag for ulike responser på disse hormonene i kroppen.

**Figur 18.15.** A og B. Prosessering av pro-opiomelanocortin i mennesker A) hypofysen, og B) hypothalamus, hud og hypofysens pars intermedia (Modifisert etter Harno et al. 2018, med tillatelse).

a) Bearbeiding i fremre del av hypofysen hos mennesker



b) Behandling i hypothalamus, hud, pars intermedia av hypofysen



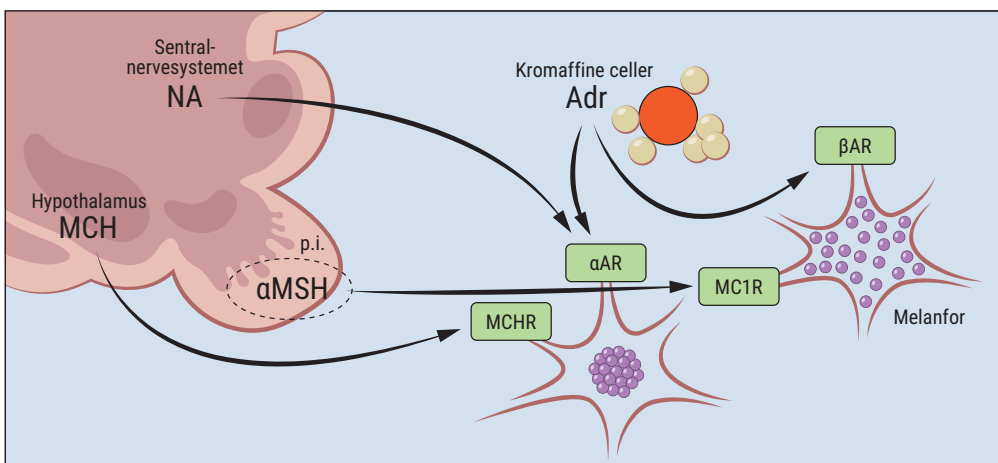
**Kunnskapsboks 2, melanokortin reseptor**

Melanokortin reseptorene (MCxR) hører til en familie av transmembran GPCR (herunder MC1R, MC2R, MC3R MC4R MC5R) som aktiveres av flere peptider med opprinnelse i POMC, som  $\alpha$ -MSH og ACTH. Signalet fra MC4R går gjennom en GPCR-uavhengig mekanisme som involverer kalium kanaler. Siden det er betydelig overlapp i aminosyresekvensene mellom ACTH og  $\alpha$ MSH, så er det sannsynlig at noen av MRC variantene aktiveres av begge peptidene. ACTH og  $\alpha$ -MSH vil aktivere alle 5 melanokortin reseptorene i pattedyr, fugler, amfibier og teleoster. Affiniteten til de ulike reseptorene vil imidlertid variere. MC2R er ett av få unntak fra regelen. Det vil bare binde til ACTH og ingen andre melanokortid peptider. I fisk er MC2R nesten utelukkende funnet på interrenalkjertlene, og i telencephalon og hypothalamus sammen med MC4R og MC5R.

CRH er den mest potente stimulatoren av ACTH syntese i fisk gjennom POMC. Men kortisolproduksjonen (og styrken på stressresponsen) er ikke nødvendigvis avhengig av CRH. Responsen vil også påvirkes av andre hormoner som AVT, MCH og DA. CRH og AVT regnes som de mest sentrale til å stimulere utskilling av ACTH fra kortikotrope celler, mens DA og MCH vil redusere produksjonen av ACTH. Dopaminergiske nevroner går fra POA til hypofysens frontallapp hvor de hemmer ACTH utskillelsen via DA-reseptorer. DA ser ut til å være spesielt viktig for regulering av ACTH hvor den under normale (ikke stress) omstendigheter sørger for å holde konsentrasjonen av ACTH lav.

Funksjonen til  $\alpha$ MSH er mindre klarlagt enn for ACTH, men kronisk stress og CRH vil i mange fiskearter øke produksjonen av  $\alpha$ MSH (og størrelsen på de  $\alpha$ MSH produserende cellene i hypofysen). Hvorvidt  $\alpha$ MSH påvirker kortisolproduksjonen direkte er usikkert. Produksjonen av  $\alpha$ MSH i hypofysen hemmes av melanin-konsentrerende hormon (MCH).

Reseptoren  $\alpha$ MSH kan også være involvert i pigmentering av skinnen på fisk. Fisk tenderer til å få mørkere hudfarge under stress og en mulig mekanisme er at  $\alpha$ MSH fra hypofysens mellomlapp aktiverer MC1R på skinncellene slik at melanosom-organelle i cellene stimuleres til å lage melanin og spre pigmentene slik at skinnen ser mørkere ut (**figur 18.16**). Genet for reseptoren uttrykkes hovedsakelig i skinn. MCH har motsatt effekt og vil føre til at melaninet trekkes inn i granulaene i melanosomene. Katekolaminene noradrenalin (fra nervefibre) og adrenalin (fra de kromaffine cellene) er også involvert i skinnfarge. Effekten vil være avhengig av typen reseptorer de aktiverer. Stimulering av  $\alpha$ AR gir aggregering av melanin og lysere farge, mens  $\beta$ AR vil lede til at melanin blir spredt ut med resulterende mørkere farge. Slike endringer i skinnfarge som følge av stress og vil ofte gi farger som ligner omgivelsene. Effekten av  $\alpha$ MSH vil variere fra art til art, og ikke minst livsstadiet til fisken, og andre faktorer i omgivelsene (som for eksempel om laks er i ferskvann eller sjøvann).



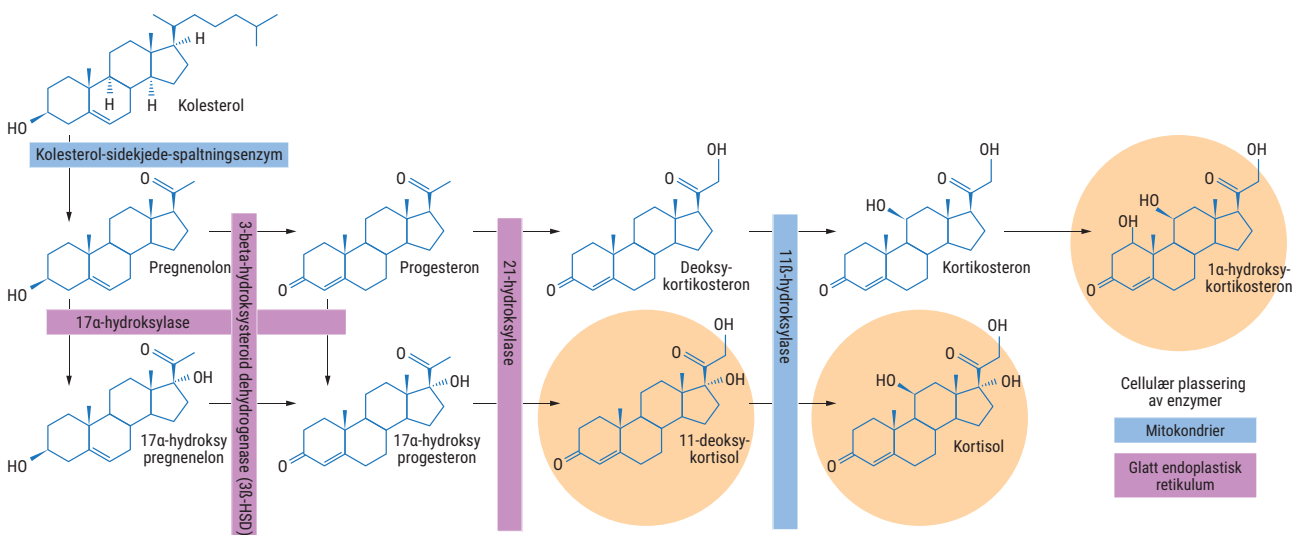
**Figur 18.16.** Mulig mekanisme for endring av skinnfarge som følge av stress. Skinnfarge forårsakes av samling eller spredning av melaningranulaer i melanofores celler. Melanin konsentrerende hormon (MCH) som skilles ut fra hypothalamus vil forårsake samling (aggregering) av melaningranulaer i disse cellene, mens  $\alpha$ -MSH fra hypofysens pars intermedia vil forårsake spredning av granulaene. Effekten av MCH og  $\alpha$ -MSH går via deres reseptorer på de melantropiske cellene og heter henholdsvis MCH reseptor (MCHR) og melanokortin-1 reseptor (MC1R). I tillegg vil noradrenalin fra nervefibre og hodenyre og adrenalin fra hodenyre påvirke melaningranulaene. Når  $\alpha$  adrenerg reseptor ( $\alpha$ AR) stimuleres vil granulaene aggregere mens når  $\beta$  adrenerg reseptor ( $\beta$ AR) stimuleres vil melaningranulaene spres. Basert på van der Salm 2005.

#### 18.4 INTERRENAL KJERTELEN

I mer primitive fiskearter som brusfisk, er kromaffine områder plassert parvis og segmentert langs aorta ved ryggraden mens interrenalvevet gjerne ligger sentrert mot nedre del av nyren. I benfisk ser man at disse to celletypene samles i fremre del av nyren rundt de bakre kardinalvenene som nevnt over. Interrenalkjertelens viktigste oppgave er å produsere kortisol på stimulus fra ACTH. Etter at ACTH er skilt ut i hypofysen vil den følge blodet til den blir bundet til en G-koblet protein reseptor, melanokortin reseptor 2 (MC2R) i plasmamembranen på hodenyrenes interrenalkjertler. Her starter den kaskaden som leder til syntese og sekresjon av kortisol. I utgangspunktet danner ikke ACTH noen stabil binding til MC2R. For at det skal skje må bindingen stabiliseres ved hjelp av ett annet GPCR kalt MRAP1 i de fleste fisk (melanokortin 2 reseptor støtteprotein 1; MRAP1). I regnbueørret oppreguleres uttrykket av MRAP1 i hodenyrene under stress, og det er en sterk sammenheng mellom MRAP1 og kortisol. Fisk har også ett annet MRAP protein kalt MRAP 2. I sebrafisk kan MC4R være ACTH reseptor når det blir uttrykt sammen med MRAP2a. Dette tyder på et kompleks system for kortikosteroid syntese i fisk som vi pr i dag ikke har full oversikt over.

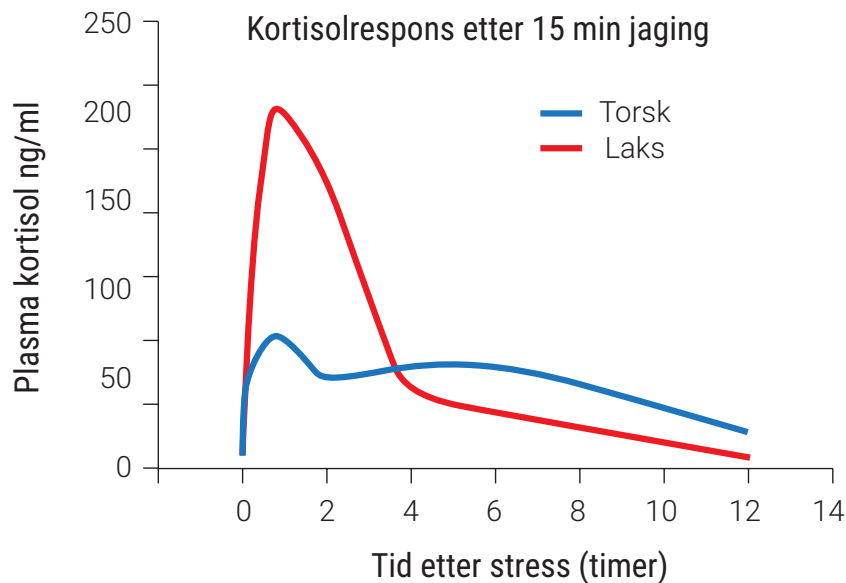


Binding av ACTH til MC2R fører til aktivering av det steroidogene akutte regulatoriske proteinet (steroidogenic acute regulatory protein; STAR) som transporterer kolesterol gjennom den indre mitokondriamembranen (**figur 18.17**). Dette er ett hastighetsbegrensende steg i kortisolsyntesen. Syntesen begynner med kolesterol 20-22 desmolase (P450 side chain cleavage (P450sc)) som fjerner sidekjeden til kolesterol slik at det dannes pregnenolon. Deretter omdannes pregnenolon til progesteron ved hjelp av 3- $\beta$  hydroksysteroid dehydrogenase (3 $\beta$ -HSD) og så videre til 17 $\beta$ -hydroksyprogesteron ved hjelp av 17 $\alpha$  hydroksylase. Deretter dannes 11-deoksykortisol ved hjelp av 21-hydroksylase. I primitive fisk som niøye ser det ut til at syntesen stanser ved 11-deoksykortisol som ser ut til å være det primære kortikosteroidet. I teleoster går syntesen videre til kortisol katalysert av 11 $\beta$ -hydroksylase (cyp11A1). Bruskfisk har en alternativ syntesevei hvor progesteron brukes som substrat for 21-hydroksylase til deoksykortikosteron som går videre til kortikosteron ved hjelp av CYP11B. Dette omdannes så til 1 $\alpha$ -hydroksykortikosteron som ser ut til å være det primære kortikosteroidet i bruskfisk. Det er interessant å merke seg at dette er nesten hele syntesen av aldosteron som er mineralkortikoid i pattedyr, noe teleoster ikke har. I teleoster er kortisol både stresshormon og mineralkortikoid (regulerer ionebalansen).



**Figur 18.17.** Kortisolsyntesen i fisk. Fargekodene viser hvor syntesen foregår. Merk at kortisolsyntesen foregår i mitokondrier. Orange sirkler viser de primære produktene med kortisoleffekt i ulike fiskeslag. Fisk fra tidligere i evolusjonen bruker 11-deoksykortisol, teleoster bruker kortisol mens mange bruskfisk har 1 $\alpha$ -hydroksykortikosteron.

Når kortisol er produsert skilles den ut i den systemiske sirkulasjonen. Selv om ACTH når hodenyrene i løpet av kort tid, må kortisol syntetiseres, og det tar tid. Normalt begynner utskillelsen av mindre mengder innen minutter og øker jevnt i laksefisk til den når en topp etter omkring 60-120 minutter før den går sakte tilbake til hvilenivå 8-12 timer senere. Responsen vil imidlertid variere mye med temperatur, art og utviklingsstadium. Responsen vil også påvirkes av frekvensen og varigheten av stressoren, og fisken sin evne til å tilpasse seg stressoren over tid. I laksefisk øker kortisol gjerne med 30-50 ganger basalnivåene, opp til 300 ng/ml plasma. I andre fisk som torsk er økningen mye mindre, og en typisk stressrespons vil innebære plasmakortisol på rundt 60-80 ng/ml (**figur 18.18**). Ved alvorlig stress kan verdien være langt høyere. På grunn av at kortisol er lett å analysere, og gir en høy respons, har den blitt en av de mest benyttede parametre for å måle stress i fisk.



**Figur 18.18.** Kortisolresponsen i torsk og laks etter å ha blitt jaget i 15 minutter (Modifisert etter Olsen et al. 2003, 2008)

#### 18.4.1 Glukokortikoid reseptorene

Når kortisol skilles ut i blodet vil effekten i all hovedsak være aktivering av glukokortikoid- (GR) og mineralokortikoid-reseptorer (MR). Effektene kan være både genomiske og ikke-genomiske hvorav de genomiske er best kartlagt. GR er den viktigste reseptoren i benfisk, og finnes i alle vev og celler i kroppen. De fleste benfisker har to gener for GR, *gr-1* og *gr-2*. I tillegg er det artsspesifikke undervarianter for hver av disse. Eksempelvis vil noen teleoster ha *gr-1a* og *gr-1b*. Ett studie i laks har funnet 2 homologe gener for *gr-1* and *gr-2*. Dette åpner opp for totalt 8 alternative undervarianter. Med så mange mulige varianter kan det ha blitt utviklet ulike funksjonaliteter med ulik spesialisering under ulike stressorer.

GR er normalt lokalisert i cellens cytoplasma hvor den er inaktiv i ett chaperon-kompleks med HSP-90, HSP-70, FKBP51 og p53 (chaperonene stabiliserer proteiner som GR i cytoplasma). Når kortisol kommer til cellen, vil den på grunn av sin fettløselighet diffundere over plasmamembranen og binde seg til GR i cytoplasma. Bindingen starter en konformasjonsendring av GR som fører til en frigjøring fra chaperon komplekset. To kortisol-GR komplekser vil så smelte sammen (dimerisere) og så gå inn i cellekjernen. Her binder GR dimeren seg spesifikt til et palindrom (leses likt i begge retninger) DNA-sekvens (AGAACA nnnn TGTTCT) kalt glukokortikoid respons element (GRE). Bindingen fører vanligvis til induksjon av transkripsjon, eller transaktivering (transcriptional transactivation) av målgener. En viktig funksjon til kortisol er at det kan redusere uttrykket av enkelte pro-inflammatoriske gener. I disse tilfellene vil aktivert GR via GRE undertrykke inflammatoriske transkripsjonsfaktorer. Dette kalles transkripsjonell transrepressjon (transcriptional transrepression).

Affiniteten til GR1 and GR2 for kortisol varierer. GR2 er mer følsom ved lave konsentrasjoner av kortisol og antas derfor å være mer aktiv under normale situasjoner. GR-1 er derimot mest aktiv under stress hvor mengden kortisol øker.

Kortisol kan også initiere responser som ikke involverer genuttrykk. Disse ikke-genom veiene kan involvere protein-protein interaksjoner etter at kortisol er bundet til GR som endrer hastigheten på en prosess eller endrer spesifisiteten til reseptoren. Fordelen med direkte effekter er at de vil være svært raske, fra sekunder til minutter, siden det ikke er behov for aktivering av transkripsjonsfaktorer og translasjon for å fungere. I flekket slangehode, *Channa punctata*, reduserer kortisol aktiviteten av fagocytter fra milt (innate immunsystem) innen 15 minutter, mye kortere enn det som ville skjedd gjennom genregulering. Mekanismene er generelt lite beskrevet.

#### 18.4.2 Mineralkortikoid reseptorene

I pattedyr binder mineralkortikoid reseptoren (MR) mineralkortikoidet aldosteron), en som ligand som er svært viktig for ione- og væske-balansen. På grunn av den store likheten mellom aldosteron og kortisol så vil MR binde kortisol med større affinitet enn aldosteron. For å unngå aktivering, og å prioritere MR for aldosteron, inneholder mange vev også 11 $\beta$ -hydroksysteroid dehydrogenase 2 (11 $\beta$ -HSD2), som vil omdanne kortisol til det inaktive kortison. I noen vev uttrykkes ikke 11 $\beta$ HSD2. I de tilfellene vil glukokortikoider aktivere reseptoren.

Aldosteron er imidlertid et terrestrisk hormon som hos fisk bare finnes i lungefisk. Fisk har likevel en MR som vil aktiveres av en rekke ligander inklusive kortisol, 11-deoksykortisol, 11-deoksykortikosteron og progesteron. MR genet inneholder også en GRE-sekvens i promotorområdet som vil generere respons som følge av eksponering av høye mengder kortisol.

I sebrafisk tyder resultater på at MR kan være spesielt viktig for regulering av stressrespons i tidlige livsstadier og at den kan ha en generell funksjon i å påvirke responsen til GR. Både GR og MR er involvert i adferdsrespons og i demping av HPI aksene hvor GR er kritisk for å beholde lav kortisolkonsentrasjon utenom stress (e.g. oppregulering av 11 $\beta$ -HSD2), mens MR kan være mer involvert i oppfattelsen av stress og for regulering av kortisolmengden etter stress. I sebrafisk kan MR ha en funksjon under hvile (ikke stress) som stimulerer anabolisme, oppbygging av vev og proteiner og som hemmer nedbryting av proteiner for energi (hemme proteolytiske enzymer).

#### 18.4.3 Kortisol i den sekundære stressresponsen

En konsekvens av stress er at katekolaminer mobiliserer glykogenlagrene og glukose forbrukes (**figur 18.7**). I leveren vil kortisol via GR oppregulere glukoneogenesen ved å øke aktiviteten til enzymer som fosfoenolpyruvat karboksykinase (PEPCK) og glukose-6-fosfatase. Glukoneogenesen er det motsatte av glykolyse (nedbryting av glukose) og kan bruke aminosyrer, glyserol eller melkesyre som substrat. Melkesyre vil være en viktig kilde da den dannes i glykolyse hvor det ikke er tilstrekkelig med oksygen til stede for å bruke Krebs syklusen og respirasjonskjeden. Kortisol vil også stimulere glykogensyntese gjennom økt uttrykk av glykogen syntase. Den vil også øke nedbryting av fettlagre (lipolyse) for å øke mengden frie fettsyrer som kan brukes til energiproduksjon. Dette vil bidra til å bygge opp energinivåene og holde høye blodnivåer av glukose så lenge stresset pågår.

Redusert appetitt og fôrinntak er nødvendig for å håndtere stress. Kortisol er vist å hemme produksjonen av neuropeptid Y (NPY) som er en sentral appetittstimulator (orexigen). Ghrelin syntetiseres i mage og tarm hos fisk og produksjonen kan reduseres av kortisol. Det er en sterk appetittstimulator og stimulator av NPY genet. CFR, POMC og  $\alpha$ -MSH som også produseres under stress er alle appetitthemmere (anorexigen). Leptin er et peptidhormon som produseres i flere organer, men hovedsakelig i lever i de fleste fisk. Det er en betydelig appetitthemmer, og produksjonen øker ved stress. Kortisol vil også hemme produksjonen av veksthormon (GH) i hypofysen, og insulin-lik-vektfaktor (IGF) i lever. I noen tilfeller er det også vist at kortisol vil øke produksjonen av IGF bindingsprotein (IGFBP) i lever som vil føre til redusert mengde av IGF i plasma. I regnbueørret førte administrering av kortisol til halvering av fôrinntak, redusert plasma GH, økt mRNA av lever leptin og CRH i det preoptiske området og økt uttrykk av lever CRHBP.

Kortisol er en svært potent hemmer av immunitet. Det skjer gjennom flere mekanismer, blant annet gjennom at GR binder til GRE på viktige pro-inflammatoriske transkripsjonsfaktorer som NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) og AP-1 (activator protein 1). Dette reduserer produksjonen av pro-inflammatoriske cytokiner. Videre vil hemming av andre faktorer som MAPK (mitogen-activated protein kinase) nedregulere toll-liknende reseptor (TLR), og kapasiteten til å gjenkjenne patogener. Mens det er liten uenighet i at kronisk stress med økt kortisolutsiktelse er immunsuppressiv og kan redusere antallet immunceller, er det uklart hvordan akutt stress påvirker immuniteten. Ulike studier rapporterer om oppregulering av immunitet, ingen effekt eller til og med reduksjon, ofte avhengig av hvilken del av immunsystemet som studeres.

Stress er også vist å utfordre epitellagene i fisk. Stress vil føre til at fisken slipper slim, sannsynligvis i ett forsøk på å fjerne en potensiell trussel eller patogen. De okkluderende

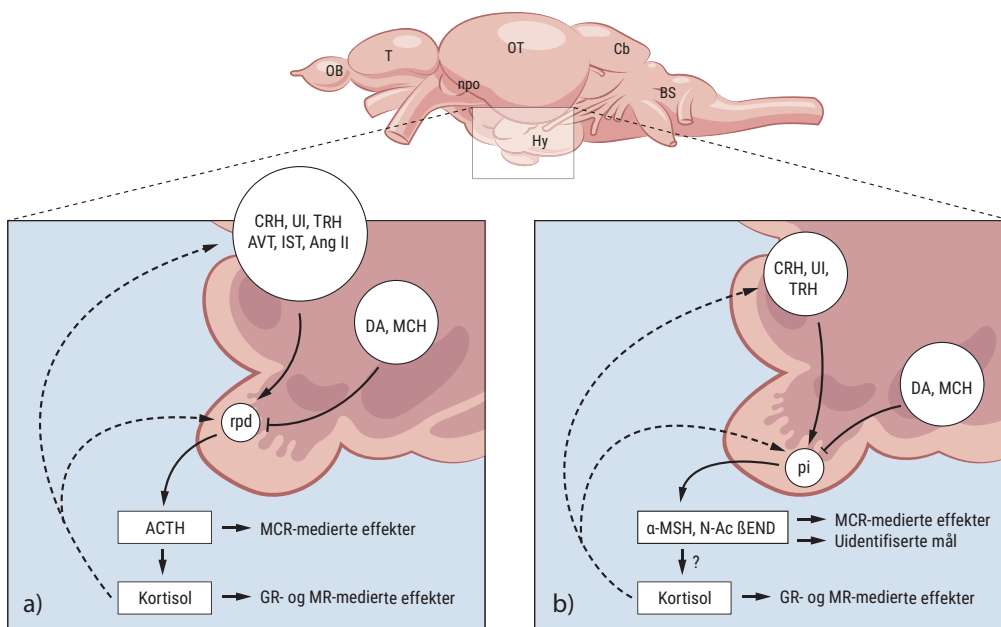
celleforbindelse (ticht junction kompleksene) som holder epitel cellene sammen, vil også utvides slik at paracellulær transport øker i en periode. Dette vil føre til midlertidig tap av ione- og vann-kontroll. I alvorlige tilfeller er det rapportert om skader på gjeller, skinn og tarm som nekrose (celledød), blødninger eller funksjonelle skader i epitelet.

I svært mange fiskearter er kortisol et viktig mineralkortikoid som regulerer ionebalansen både i ferskvann og sjøvann. I ferskvann stimulerer kortisol, noen ganger sammen med prolaktin, opptaket av ioner ( $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$ ) som er nødvendige for opprettholdelse av ionebalansen. Kortisol ble opprinnelig beskrevet som ett «sjøvannshormon» siden det er svært viktig for utviklingen av sjøvannstoleransen i fisk som laks og ål. Her bidrar kortisol til å øke aktiviteten på  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaser og ionetransportører i fiskenes gjeller som øker kapasiteten til utskillelse av  $\text{Cl}^-$ . I gjellene vil kortisol øke aktiviteten av  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  og  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase både *in vivo* og *in vitro*.

Mens katekolaminene nedregulerer ionebalansen, så er kortisol viktig for å gjenopprette hydromineralbalansen blant annet ved å produsere glukose. Opprettholdelse av ionebalansen er en energikrevende prosess som i stor grad benytter aktiv transport (ATP). For å redusere kostnaden til osmoregulering, skjer det at kommersielle oppdrettere akklimerer fisk til brakkvann før de gjennomgår håndteringsoperasjoner som overføring av fisk til nye kar. Man kan også benytte brakkvann for å lette sårheling på fisk. Redusert kostnad til osmoregulering vil bedre fiskens energibudsjett til å håndtere stress.

### 18.5 REGULATORMEKANISMER (FEEDBACK) ETTER AKUTT STRESS

Glukokortikoider regulerer også sin egen utskillelse (tilbakekoblingsmekanisme) gjennom aktivering av GR og MR i celler langs HPI aksens (figur 18.19). Dette inkluderer mange hjernerregioner og fremre del av hypofysen. Den viktigste funksjonen til tilbakekoblingsmekanismene er å stanse eller redusere effekten av HPI aksens ved stress.



**Figur 18.19.** Feedback regulering av stressresponsen. Det preoptiske området og hypothalamus er de primære områdene som er involvert i regulering av den kortikotrope og melanotrope aksens i teleostere. A) I den kortikotrope aksens er ACTH den primære stimulator for kortisolsyntese, men aktiviteten reguleres av flere undergrupper av reseptorer. Kortisol har en direkte negativ effekt på kortikotrope celler i hypofysen for å redusere ACTH syntesen. Kortisol vil også regulere flere andre faktorer som regulerer ACTH/kortisol syntesen. I den B) melanotrope aksens vil  $\alpha$ -MSH og N-Ac  $\beta$ -END regulere kortisolsyntesen i teleostere (artsavhengige effekter er vist som ? i figuren). Mens effekten av  $\alpha$ -MSH går via dens reseptor MCR, så går effekten av kortisol via kortikosteroid reseptorene GR og MR som er målene for N-Ac  $\beta$ -END. Kortisol vil ha negativ effekt på melanotrope celler i hypofysen og andre faktorer som påvirker syntesen. Hele piler indikerer stimulering mens prikkete linjer viser til hemmende effekt (feedback inhibering). CRH, kortikotropin-frigjørende hormon; UI, urotensin I; TRH, thyrotropin frigjørende hormon; AVT, arginine vasotocin; Ang II, angiotensin II; DA, dopamin; GR, glukokortikoid reseptor; IST, isotocin; MCH, melanin konsentrerende hormon; MCR, melanokortin reseptorer; MR, mineralkortikoid reseptor; N-acetyl  $\beta$ -endorfiner (N-Ac  $\beta$ -END). Hjerneområdene er delt inn i hypothalamus (Hy); nucleus preopticus (npo); olfactory bulb (OB); optisk tektum (OT); hypofyse (P); rostral pars distalis (rpd); telencephalon (T); hjernestamme (Bs); lillehjernen, cerebellum (Cb). Basert på Bernier et al. 2009.

Selv om dette er relativt lite undersøkt i fisk, ser mekanismene ut til å være relativt like som det i pattedyr. Regulering av HPI aksene kan kategoriseres som raske og sene responser. De raske responsene (sekunder til minutter) er i hovedsak ikke-genom signaler, mens de sakte responsene (timer til dager) er genomregulerte. De raske responsene går via membran-induserte signalveier som inkluderer cAMP, Ca<sup>2+</sup>, og ulike proteinkinaser. På tross av mange forsøk på å identifisere mulige membranbunde reseptorer, står man enda uten gode beviser for eksistensen av slike i noen dyremodell. De genome veiene inkluderer overføring av kortisol over cellemembranen og binding til intracellulære reseptorer av en nukleær steroidreseptor superfamilie. Disse kan enten hemme eller aktivere gen-transkripsjon og -translasjon, noe som tar relativt lang tid, men effektene vil som regel vare lengre.

Nedregulering av HPI aksene med kortisol vil redusere CRH utskillelsen i PVN eller produksjonen av ACTH fra POMC i hypofysens kortikotrope celler. Uttrykket av CRH-R1 på membranen kan reguleres på mange måter både før og etter transkripsjon, som for eksempel gjennom styrt mRNA nedbryting. Dette har blitt observert i parr av atlantisk laks hvor uttrykket av *CRHR1* mRNA i hypofysen ble betydelig redusert i kronisk stresset fisk sammenlignet med fisk som bare var akutt stresset.

Økte plasmanivåer av både kortisol og ACTH vil påvirke mRNA mengden av POMC i hypofysen og kan dermed støtte negativ kontroll av egne nivåer. Mengde POMC er også avhengig av typen stress. Langvarige stressorer som hypoksi og sult, gir høye mengder mRNA av POMC i hypofysen og hypothalamus, og nivåene vil holde seg høy over lang tid. Det er derfor en mulig sammenheng mellom POMC nivået hos ørret og den typiske reduksjonen av energiforbruk og appetitt man ser når de er utsatt for ulike typer kronisk stress. Dette kan bety at deler av den genomiske responsen av kortisol gjennom POMC kan være direkte relatert til kontroll av appetitt og energiforbruk.

Negativ feedback er også observert i hodenyrer. Det er bevis for en svært kort løkke hvor kortisol produsert i hodenyrene kontrollerer steroidogene gener, og dermed kortisolproduksjonen, i hodenyrene. GR ser ut til å regulere transkripsjonen av StAR i hodenyrene i regnbueørret. En mulig mekanisme er at kortisol virker gjennom CREB som igjen påvirker StAR transkripsjonen.

Det er også mye som tyder på at det i noen arter kan være parakrin regulering (effekter naboceller utøver på hverandre) mellom kromaffine celler og interrenalkjertler. I noen fisk som havabbor, men ikke gyllen havkaruss, øker katekolamin produksjonen av kortisol fra interrenalkjertlene, mens det motsatte ser ut til å skje i karpe. Betydningen av slike sammenhenger er uklare, men hurtig stimulering av kortisolproduksjonen kan være svært viktig når fisk raskt har behov for å bygge opp energilagrene.

## 18.6 KRONISK STRESS OG DEN TERTIÆRE STRESSRESPONSEN

Fisk som utsettes for stress vil reagere med ett sett responser som tar sikte på å optimalisere mestring og overlevelse. Hovedmålet med responsen er å omfordele metabolsk energi bort fra anabole aktiviteter (dvs. vekst og reproduksjon) og mot aktiviteter som er nødvendig for å gjenopprette allostasen og sørge for overlevelse. Det er en stor grad av samhandling mellom katekolaminer og kortisol hvor katekolaminene optimaliserer potensialet for energibruk mens kortisol bygger opp energireservene og lukker ned funksjoner som ikke er livsnødvendige. Dersom stresset blir svært alvorlig og helst repeterende eller langvarig, vil fisken forsøke å unnsnippe stressoren eller forsøke å etablere ett nytt allostatisk nivå, habituering. Dersom det ikke er mulig, vil fisken stå i en konstant alarmberedskap som hindrer appetitt, vekst, og ikke minst oppbygging av energireserver og nødvendig vedlikehold. Fisken vil med andre ord bli presset over sine tålegrenser hvor energikostnaden med håndtering av stresset er høyere enn tilgjengelig energi. Fisken vil da nærme seg allostatisk overbelastning (hyperstimulering, høyre side allostatisk kurve, **figur 18.4**). I praktisk akvakultur vil dette kunne sees som redusert appetitt, fordøyelse, vekst og en generell reduksjon i kondisjonsfaktor som betyr at den forbrenner interne fettkilder for energi. Reduksjoner i energibudsjettene vil også føre til at energikrevende kjønnsmodning utsettes og gonader tilbakedannes om mulig. Immunsystemet vil også nedreguleres kraftig slik at fisk lettere vil utsettes for sykdom og sårheling reduseres.

Disse konsekvensene av kronisk stress kalles også **tertiære effekter** av stress. Noen av reguleringsmekanismene er godt beskrevet takket være de mange likhetene mellom stressresponsene til akvatiske og terrestriske virveldyr, inkludert den strukturelle identiteten (katekolaminer) eller likheten (kortisol i teleoster, kortisol eller kortikosteron hos de terrestriske virveldyrene) av de primære nevroendokrine mekanismene som er involvert i kontrollen av stressresponsen. Det har imidlertid vist seg vanskelig å påvise kronisk stress i fisk, spesielt det som ligger i overgangen høy allostatisk belastning og overbelastning hvor man ikke nødvendigvis ser de store effektene på vekst eller dødelighet. Dette kan være områder hvor fiskens immunsystem blir nedregulert med påfølgende økt dødelighet av opportunistiske patogener. Å finne gode og pålitelige markører for overvåking av kronisk stress vil være viktig for å ha god fiskevelferd og for å unngå unødvendig utvikling av sykdom.

En av årsakene til at det er vanskelig å definere kronisk stress i fisk, er at stress i utgangspunktet er en emosjonell respons. Selv om vi i dag vet at fisk har emosjonelle responser, så vet vi ikke hvordan dens kapasitet er til subjektiv opplevelse av stressoren, hvordan den oppfatter belastningen, vurderer den, og hvilken type bevissthet den har. Mangel på slik kunnskap fører ofte til at man fokuserer på metriske målinger av kortisol og andre parametere man fra human litteratur vet sier noe om styrken av stressresponsen mens den subjektive opplevelsen, fiskens følelsesmessige dimensjon har blitt tillatt mindre vekt.

## 18.7 LITTERATUR

### 18.7.1 Anbefalt litteratur

- Alfonso S, Gesto M, and Sadoul B 2021. Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *J Fish Biol*, 98, 1496. [doi.org/10.1111/jfb.14599](https://doi.org/10.1111/jfb.14599)
- Das C, Thraya M and Vijayan MM 2018. Nongenomic cortisol signaling in fish. *Gen Comp Endocrinol*, 265, 121. [doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.04.019](https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.04.019)
- Dores RM, Liang L, Davis P, Thomas AL and Petko B. 2016. 60 YEARS OF POMC: Melanocortin receptors: evolution of ligand selectivity for melanocortin peptides. *J Mol Endocrinol*, 56, T119. [doi.org/10.1530/JME-15-0292](https://doi.org/10.1530/JME-15-0292)
- Fabbri E and Moon TW 2016. Adrenergic signaling in teleost fish liver, a challenging path. *Comp Biochem Physiol Pt B*, 199, 74. [doi.org/10.1016/j.cbpb.2015.10.002](https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2015.10.002)
- Faught E, Aluru N and Vijayan MM 2016. The Molecular Stress Response (pp. 113). In: *Fish Physiology series Vol 35: Biology of stress in fish*. Scherck CD, Tort L, Farrell, AP and Brauner CJ (eds). [doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00004-7](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00004-7)
- Gjerstad JK, Lightman SL and Spiga F 2018. Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility. *Stress*, 21, 403. [doi.org/10.1080/10253890.2018.1470238](https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1470238)
- Gorissen M and Flik G. 2016. The Endocrinology of the Stress Response in Fish (pp. 75). n: *Fish Physiology series Vol 35: Biology of stress in fish*. Scherck CD, Tort L, Farrell, AP and Brauner CJ (eds). [doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00003-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00003-5)
- Guidi J, Lucente M, Sonino N and Fava GA 2021. Allostatic load and its impact on health: A systematic review. *Psychother Psychosom*, 90, 11. [doi.org/10.1159/000510696](https://doi.org/10.1159/000510696)
- Guo H and Dixon B 2021. Understanding acute stress-mediated immunity in teleost fish. *Fish Shellfish Immunol Rep*, 2, 100010. [doi.org/10.1016/j.fsirep.2021.100010](https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2021.100010)
- Kristiansen TS, Madaro A, Stien LH, Bracke MBM and Noble CBT-F P. 2020. Chapter 6 - Theoretical basis and principles for welfare assessment of farmed fish. *Fish Physiol*, 38, 193. [doi.org/10.1016/bs.fp.2020.09.006](https://doi.org/10.1016/bs.fp.2020.09.006)



- Lai F, Royan MR, Gomes AS, Espe M, Aksnes A, Norberg B, Gelebart V and Rønnestad I. 2021. The stress response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): identification and functional characterization of the corticotropin-releasing factor (CRH) paralogs. *Gen Comp Endocrinol*, 313, 113894. [doi.org/10.1016/j.ygcen.2021.113894](https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2021.113894)
- Leder EH and Silverstein JT. 2006. The pro-opiomelanocortin genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): duplications, splice variants, and differential expression. *J Endocrinol*, 188, 355. [doi.org/10.1677/joe.1.06283](https://doi.org/10.1677/joe.1.06283)
- Løvmo SD, Madaro A, Whatmore P, Bardal T, Østensen MA, Sandve SR and Olsen RE. 2020. Mid and hindgut transcriptome profiling analysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) under unpredictable chronic stress. *Royal Soc Open Sci*, 7. [doi.org/10.1098/RSOS.191480](https://doi.org/10.1098/RSOS.191480)
- Madaro A, Folkedal O, Maiolo S, Alvanopoulou M and Olsen RE. 2018. Effects of acclimation temperature on cortisol and oxygen consumption in Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolt exposed to acute stress. *Aquaculture*, 497, 331. [doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.056](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.056)
- Madaro A, Kristiansen TS and Pavlidis MA. 2020. How Fish Cope with Stress? In: Kristiansen TS, Fernö A, Pavlidis M and van de Vis H. (eds.) *The Welfare of Fish*. *Animal Welfare*, vol 20. Springer, Cham. [doi.org/10.1007/978-3-030-41675-1\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41675-1_11)
- Madaro A, Nilsson J, Whatmore P, Roh H, Grove S, Stien LH and Olsen RE. 2023. Acute stress response on Atlantic salmon: a time-course study of the effects on plasma metabolites, mucus cortisol levels, and head kidney transcriptome profile. *Fish Physiol Biochem*, 49, 97. [doi.org/10.1007/s10695-022-01163-4](https://doi.org/10.1007/s10695-022-01163-4)
- Madaro A, Olsen RE, Kristiansen TS, Ebbesson LOE, Nilsen TO, Flik G and Gorissen M. 2015. Stress in Atlantic salmon: response to unpredictable chronic stress. *J Exp Biol*, 218, 2538. [doi.org/10.1242/jeb.120535](https://doi.org/10.1242/jeb.120535)
- Olsen RE, Sundell K, Ringø E, Myklebust R, Hemre G-I, Hansen T and Karlsen Ø. 2008. The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture*, 280, 232. [doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.006](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.006)
- Scanzano A and Cosentino M. 2015. Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Front Pharmacol*, 6. [doi.org/10.3389/fphar.2015.00171](https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00171)
- Schreck CB and Tort L. 2016. The Concept of Stress in Fish. *Fish Physiol*, 35, 1. [doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1)
- Schreck CB, Tort L, Farrell AP and Brauner CJ (eds). 2016. *Fish Physiology: Biology of stress in fish*. Academic Press. ISBN: 978-0-12-802728-8
- Seeley KE, Proudfoot KL and Edes AN. 2022. The application of allostasis and allostatic load in animal species: A scoping review. *PLOS ONE*, 17, e0273838. [doi.org/10.1371/journal.pone.0273838](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273838)
- Soto-Rivera CL and Majzoub JA. 2017. Adrenocorticotrophin. In: *The Pituitary* (pp. 47–83). Elsevier. [doi.org/10.1016/B978-0-12-804169-7.00003-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804169-7.00003-9)
- Sterling P. 2012. Allostasis: A model of predictive regulation. *Physiol Behav*, 106, 5. [doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.06.004](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.06.004)
- Sterling P and Eyer J. 1988. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. In S. Fisher & J. Reason (Eds.), *Handbook of Life Stress, Cognition and Health* (John Wiley, pp. 629–649). <https://doi.org/10.1002/smi.2460050311>
- Wendelaar Bonga SE. 1997. The stress response in fish. *Physiol Rev*, 77, 591. [doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591](https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591)

### 18.7.2 Referanser til figurer og tabeller.

- Bernier, NJ, Flik G and Klaren PHM. 2009. Chapter 6 Regulation and Contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response in fishes. In: Bernier NJ, Van Der Kraak G, Farrell AP and Brauner CJ (eds.). Fish physiology: Fish neuroendocrinology. Academic Press. [doi.org/10.1016/S1546-5098\(09\)28006-X](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(09)28006-X)
- Chen CC and Fernald, RD. 2008. Sequences, expression patterns and regulation of the corticotropin-releasing factor system in a teleost. *Gen Comp Endocrinol* 157, 148. [doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.04.003](https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.04.003)
- Fabbri E, Capuzzo A and Moon TW 1998. The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: an overview. *Comp Biochem Physiol Pt C*, 120, 177. [doi.org/10.1016/S0742-8413\(98\)10017-8](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(98)10017-8)
- Harno E, Ramamoorthy TG, Call AP and White A. 2018. POMC: The physiological power of hormone processing. *Physiol Rev* 98, 2381. [doi.org/10.1152/physrev.00024.2017](https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2017)
- Jensen FB. 2004. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> transport. *Acta Physiol*. [doi.org/10.1111/j.1365-201X.2004.01361.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.2004.01361.x)
- Korte SM, Olivier B and Koolhaas JM. 2007. A new animal welfare concept based on allostasis. *Physiol Behav* 92, 422. [doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.10.018](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.10.018)
- Olsen RE, Sundell K, Hansen T, Hemre G-I, Myklebust R, Mayhew TM and Ringø E. 2003. Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. An electron microscopical study. *Fish Physiol Biochem* 26, 211. [doi.org/10.1023/A:1026217719534](https://doi.org/10.1023/A:1026217719534)
- Olsen RE, Sundell K, Ringø E, Myklebust R, Hemre G-I, Hansen T and Karlsen Ø. 2008. The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture*, 280, 232. [doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.006](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.006)
- van der Salm AL. 2005. Thesis:  $\alpha$ -MSH in fish. Functions in stress responses and skin colour change. Nijmegen. Holland. [https://repository.ubn.ru.nl/bitstream/handle/2066/26955/26955\\_alphinfi.pdf](https://repository.ubn.ru.nl/bitstream/handle/2066/26955/26955_alphinfi.pdf)
- Vinda, MA, Gorissen M, Höglund E, Flik G, Tronci V, Damsgård B, Thörnqvist P-O, Nilsen TO, Winberg S, Øverli Ø and Ebbesson LO. 2017. How do individuals cope with stress ? Behavioural, physiological and nevron differences between proactive and reactive coping styles in fish. *J Exp Biol* 220, 153213. [doi.org/10.1242/jeb.153213](https://doi.org/10.1242/jeb.153213)
- Virtanen MI, Brinchmann MF, Patel DM and Iversen MH. 2023. Chronic stress negatively impacts wound healing, welfare, and stress regulation in internally tagged Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Front Physiol*, 14. [doi.org/10.3389/fphys.2023.1147235](https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1147235)

## LLUSTRASJONER OG FIGURER

Bildene er fra kildene som vist under. Eventuelt copyrightrettigheter og eierskap beholdes uten avkortning.

Depositphoto: 18.1.

Knut Gangåssæter, Doghouse: 18.2, 18.3, 18.4, 18.5, 18.6, 18.7, 18.9, 18.10, 18.11, 18.12, 18.14, 18.15, 18.16, 18.17, 18.18, 18.19.

Harald Kryvi: 18.8, 18.13.