

# Neuro-hormonska regulacija stresnog odgovora i učinak na imunost domaćih životinja



Romana Turk\*, Ivana Jukić, M. Samardžija, Mirna Robić i Maja Belić

## Uvod

U modernoj farmskoj intenzivnoj proizvodnji stres ima znatan utjecaj na reprodukciju, prirast, proizvodnost i kvalitetu proizvoda životinjskog podrijetla kao i na imunost životinja i sklonost bolestima. Ulogu stresa u nastanku bolesti prvi je opisao dr. Hans Selye 1936. godine koji je istraživanjima na štakorima uočio da se djelovanjem različitih uzročnika ili štetnih podražaja pojavljuju iste ili slične promjene koje je nazvao opći adaptacijski sindrom. Kasnije je sam autor preimenovao opći adaptacijski sindrom u stresni odgovor koji predstavlja kronološki tijek odgovora organizma na stresore s produženim djelovanjem, a sastoji se od tri faze: faze alarmne reakcije, faze rezistencije i faze iscrpljenosti (Selye, 1976.). Danas, 80 godina nakon objave prvog članka na temu stresnog odgovora te brojnih istraživanja i znanstvenih publikacija, više nije upitno je li stres čimbenik u imunosupresiji i razvoju bolesti, ali je ostalo mnogo prostora za istraživanje kompleksne interakcije stresnog odgovora i imunskog sustava.

## Stres i stresni odgovor

Stres je nespecifični odgovor organizma na djelovanje nokse, odnosno u biološkom smislu, stres je interakcija između štetnog podražaja i obrane organizma. Razlikuje se pozitivni stres ili eustres i negativni stres, odnosno distres (Selye, 1976.). Eustres je isključivo kratkotrajan i djeluje kao pozitivni stimulans, primjerice izlazak životinja iz staje na pašu, dok distres može biti kratkotrajan, ali i/ili dugotrajan i uvijek djeluje kao negativni stimulans na organizam. Jedno od ključnih pitanja u početku istraživanja stresa bilo je zašto se bolesti kojima je pogodovao stres različito očituju. Naime, svaka noksa djeluje kao stresor uzrokujući stres i specifičnu akciju, a odgovor leži upravo u specifičnim akcijama stresora koje se razlikuju od nokse do nokse. Specifična akcija utječe na ciljne organe na različite načine dok stres kao nespecifična akcija djeluje kroz opći adaptacijski sindrom (Selye, 1950.). Osim o specifičnoj akciji stresora, očitovanje bolesti ovisi i o endogenim

Dr. sc. Romana TURK\*, mag. med. biochem., izvanredna profesorica, (dopisni autor, e-mail: rturk@vuf.hr), dr. sc. Mirna ROBIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Maja BELIĆ, dr. med. vet., docentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Ivana JUKIĆ, dr. med. vet., Hrvatska

(dob, spol, pasmina, prethodne bolesti) i egzogenim (hranidba i uvjeti držanja) čimbenicima jedinke.

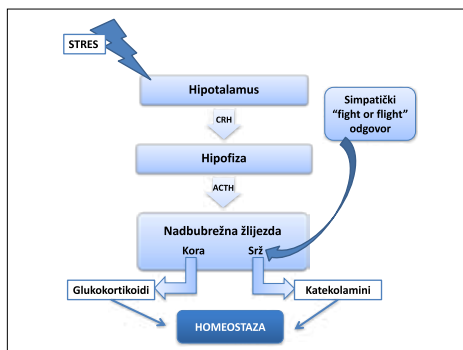
Pri djelovanju nokse organizam prelazi iz stanja homeostaze u stanje alostaze. Alostaza je stanje održavanja stabilnosti kroz promjene, fundamentalni proces putem kojega se organizam prilagođava predvidljivim i nepredvidljivim događajima (McEwen i Wigfield, 2003.). Stresni odgovor je alostatičko stanje pri kojem se mijenja koncentracija hormona osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda te citokina. Alostaza je proces koji podržava homeostazu, a stresni odgovor je način na koji dolazi do ponovnog uspostavljanja homeostaze.

Opći adaptacijski sindrom, odnosno stresni odgovor je korisna fiziološka reakcija na stres, a sastoji se od tri faze: faze alarmne reakcije, faze rezistencije i faze iscrpljenosti. Faza alarmne reakcije poznata je i pod nazivom "fight or flight response" („bori se ili bježi“), a obilježja ove faze su izlučivanje adrenalina, noradrenalina i kortizola. Izlučivanje ovih hormona dovodi do povećanja arterijskog tlaka, povećanog dotoka krvi u aktivne mišiće, uz istodobno smanjivanje protoka krvi u organima probavnog i drugih sustava koji nisu nužni za obavljanje brze motoričke aktivnosti, povećava se koncentracija glukoze u krvi povećanom glikogenolizom u jetri, ubrzava se intenzitet staničnog metabolizma u cijelom tijelu, povećava se mišićna snaga, mentalna aktivnost i ubrzano je zgrušavanje krvi (Guyton i Hall, 2006.). Tijekom faze rezistencije, koncentracije hormona nadbubrežne žlijezde stalno su povišene iznad fizioloških granica nastojeći prevladati učinak stresora što na koncu dovodi do treće faze, faze iscrpljenosti. Tijekom faze iscrpljenosti dolazi do gubitka adaptacijske energije i alostatički teret postaje prevelik te često dolazi do očitovanja bolesti, jer je imunosti sustav suprimiran dugotrajnim izlučivanjem kortizola.

## Mehanizam neuro-hormonske regulacije stresnog odgovora

Stresni odgovor započinje aktivacijom središnjeg živčanog sustava koji prepoznaje neki stresor kao prijetnju homeostazi. Stresni odgovor čini kombinacija promjene ponašanja, odgovora autonomnog živčanog sustava te neuroendokrinog i imunosnog odgovora, što zajedno može rezultirati povratkom u homeostazu ili razvitkom patološkog stanja (slika 1.). Najjednostavniji i često prvi način rješavanja stresora je promjena ponašanja kada se životinja svojim ponašanjem želi osloboditi stresora, npr. bijeg od predatora. Stresor može biti biološke, fizikalne, kemijske ili psihogene naravi, zbog čega je u nekim slučajevima promjena ponašanja od nikakve ili male koristi (Moberg i Mench, 2000.).

Aktivacijom autonomnog živčanog sustava, odnosno simpatikusa, dolazi do promjena u kardiovaskularnom, dišnom i gastrointestinalnom sustavu, egzokrinim žlijezdama i srži nadbubrežne žlijezde. Adrenalin otpušten iz postganglijskih simpatičkih živčanih završetaka koji idu iz srednjih cervikalnih i cervikotorakalnih ganglija veže se na  $\beta 2$  adrenergične receptore u plućima što dovodi do relaksacije glatkih mišića bronhiola, većeg respiratornog volumena, odnosno efikasnije oksigenacije krvi. Osim na

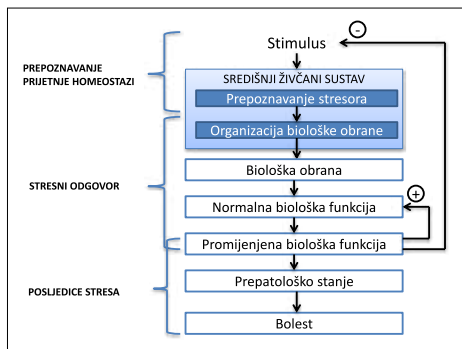


Slika 1. Model biološkog odgovora životinje na stres (prema Moberg i Mench, 2000.).

receptore u plućima adrenalin se veže i na  $\beta_1$  receptore u srcu gdje pojačava snagu kontrakcija i ubrzava rad srca. Vežanjem adrenalina na receptore glatkih mišićnih stanica krvnih žila dolazi do vazokonstrukcije i povećanja arterijskog krvnog tlaka.

Srž nadbubrežne žlijezde čine kromafinske stanice koje predstavljaju rudimentirani postganglijski neuron te izlučuju katekolamine, adrenalin i noradrenalin, na podražaj preganglijskih simpatičkih neurona. Povezanost stresa s korom nadbubrežne žlijezde jedno je od prvih saznanja tijekom početnih istraživanja o stresu (Selye, 1936.). Aktivnost osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda dovodi do otpuštanja steroidnih hormona iz kore nadbubrežne žlijezde. Hipotalamus izlučuje kortikotropin oslobađajući hormon (CRH) koji putem hipotalmus-hipofiznog portalnog sustava stimulira adenohipofizu na izlučivanje adrenokortikotropnog hormona (ACTH) koji stimulira sintezu steroidnih hormona kore nadbubrežne žlijezde iz kolesterola. Izlučivanje ACTH potiču i vazopresin, oksitocin te katekolamini (slika 2.).

Glukokortikoidi imaju ulogu u promoviranju glukoneogeneze iz neugli-kohidratnih izvora, masti i proteina, odnosno u stvaranju energije koja je potrebna za održavanje stresnog odgovora kada su energetske potrebe organizma povećane. Adrenalin potpomaže i oslobađanje energije stimulirajući glikogenolizu i lipolizu. Održavanje konstantne koncentracije glukokortikoida u krvi neophodno je za homeostazu, dok kronično povišene koncentracije dovode do katabolizma proteina, hiperglikemije, imunosupresije, podložnosti infekcijama, depresiji, ali i smanjenoj mentalnoj sposobnosti (McEwen i Sapolsky, 1995.). Povišena koncentracija glukokortikoida u krvi negativnom povratnom spregom inhibira daljnje izlučivanje CRH iz hipotalamusa, odnosno ACTH iz adenohipofize.



Slika 2. Glavne komponente osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (prema Moberg i Mench, 2000.).

Tijekom stresnog odgovora povećana je sekrecija hormona rasta (GH), a reducirana je sekrecija inzulinu sličnog čimbenika rasta I (IGF-I). Povećana koncentracija hormona rasta u cirkulaciji antagonizira učinke inzulina putem receptora za hormon rasta na ciljnom perifernom tkivu što rezultira očuvanjem glukoze u krvi. Ovaj endokrini odgovor rezultira preusmjeravanjem energije za rast u energiju za preživljavanje. Nutritivni stres će dovesti do stresnog odgovora tijekom kojeg će koncentracija hormona rasta u krvi biti povišena, a koncentracija IGF-I biti snižena. Izuzetak su glodavci u kojih je prilikom distresa snižena i koncentracija hormona rasta i IGF-I. Kronično povećana razina glukokortikoida inhibira GH i tako suprimira rast tijekom stresnog odgovora (Dhabhar, 2009.).

Tijekom stresnog odgovora inhibira se normalno odvijanje spolnog ciklusa jer visoka koncentracija kortizola suprimira izlučivanje gonadotropin otpuštajućeg hormona (GnRH) pa su koncentracije folikulostimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) niske. Reducirana sekrecija LH tijekom kroničnog stresa uočena je u većine domaćih životinja (Moberg, 1991.). Izlučivanje prolaktina tijekom izloženosti dugotrajnom stresu također je sniženo. Odgovor reproduktivnog sustava na stres

može varirati u odnosu na duljinu trajanja stresa. Kratkotrajni stresori često ne utječu na reprodukciju ili imaju stimulirajući učinak na nju (Liptrap i Raeside, 1983.). Akutni stres izazvan transportom, novim okolišom ili miješanjem skupina svinja u prisutnosti i bez prisutnosti nerasta inducira pubert u nazimica. Stres utječe na smanjenu plodnost tako što interferira s mehanizmima koji kontroliraju pojavu estrusa i stvaranje zrelih jajnih stanica (Dobson i Smith, 2000.). U krava je uočeno da visoka temperatura okoliša kao okolišni stresor djeluje tako da reducira trajanje i intenzivnost estrusa, folikuli su manji i niže su koncentracije estrogena i progesterona (Wolfenson i sur., 2000.), a tihi estrus češće se uočava tijekom ljetnih u odnosu na zimske mjesece (Rodtian i sur., 1996.).

## Odgovor imunskog sustava na stres

Interakcija imunskog sustava sa stresnim odgovorom još je uvijek velikim dijelom misterij iz razloga što oba ovise o mnoštvu promjenjivih čimbenika što otežava istraživanja čiji su rezultati često suprotstavljeni. Prve pretpostavke da stres utječe na imunski sustav životinje potječu od opažanja povećanog broja oboljelih životinja izloženih stresnom okolišu pa je danas generalno prihvaćeno da stres suprimira imunski sustav.

Stres može suprimirati, potencirati ili ne imati nikakav učinak na imunski sustav ovisno o tipu stresora (psihički, fizički, itd.), o genskim svojstvima jedinke, starosti, društvenoj hijerarhiji te je li stres akutnog ili kroničnog djelovanja (Salak-Johnston i McGlone, 2007.). Akutni ili kratkotrajni stres može potaknuti urođeni ili stečeni imunski odgovor, dok kronični ili dugotrajni stres može suprimirati imunost smanjenjem imunskih stanica i njihove funkcije ili drugim imunosupresivnim mehanizmima (Dhabhar, 2009.). Smatra se da u domaćih životinja osim

okoliša u kojem obitavaju bitnu ulogu ima društvena hijerarhija. Tako pri djelovanju istog stresora dominantnije životinje mogu potencirati aktivaciju pojedinih imunskih komponenti, dok subordinatne životinje suprimiraju te iste imunskie komponente. Time se može objasniti zašto pojedine životinje unutar skupine različito reagiraju na stresore (Salak-Johnston i McGlone, 2007.).

Većina stresom potaknutih imunskih funkcija pod nadzorom su autonomnog živčanog sustava, odnosno simpatičkog sustava, glukokortikoidnih hormona i drugih komponenata osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (Sapolsky i sur., 2000.). Osim medijatora stresa i drugi neuroendokrini čimbenici kao što su prolaktin, vazoaaktivni crijevni polipeptidi, kolecistokinini, hormon rasta i serotonin mogu se otpuštati tijekom stresa (Joëls i Baram, 2009.).

Pojedini stresori pojačavaju staničnu imunost, a suprimiraju humoralnu dok pojedini djeluju obrnuto te dolazi do disbalansa komponenata imunskog sustava. Također, poticanje stanične i humoralne imunosti ovisi i o duljini djelovanja stresora. Akutni stres posredovan je staničnom imunosti dok kronični stres stimulira humoralnu imunost i inhibira staničnu djelujući na ekspresiju citokina te tako utječe na prijemljivost organizma za mikroorganizme i tijekom infekcije (Elenkov i Chrousos, 1999.). Gotovo sve stanice imunskog sustava imaju receptore za jedan ili više hormona koji se otpuštaju tijekom stresnog odgovora pa se pretpostavlja da oni imaju direktan učinak na imunskie stanice (Glaser i Kiecolt-Glaser, 2005., Radek, 2010.).

Kronični stres suprimira imunski sustav i povećava prijemljivost za mikroorganizme (Dhabhar i McEwen, 1997.). Kronična izloženost stresu rezultira metaboličkim promjenama tijekom kojih reaktivni kisikovi spojevi i oksidacijski stres imaju znatnu destruktivnu ulogu. Glukokortikoidi i adrenalin doprinose procesu oksidacijskog stresa stimulirajući povećava-

no stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (Behl i sur., 1997., Mao i sur., 2006.). U slučaju da količina antioksidanata nije dostatna za neutralizaciju prevelike količine reaktivnih kisikovih spojeva može doći do oksidacijskog oštećenja makromolekula, modifikacije metaboličkih putova i promjena u integritetu stanične membrane što na koncu dovodi do ozljede i smrti stanice te nastanka bolesti (Nordberg i Arner, 2001.). Niska razina antioksidanata može umanjiti funkcionalnost limfocita i makrofaga, primjerice njihovu fagocitnu aktivnost i mikrobiološku toksičnost (Sordillo i Aitken, 2009.). Oksidacijski stres se smatra dijelom mnogih patoloških stanja značajnih za proizvodnju i dobrobit farmских životinja kao što su: mastitis, reprodukcije bolesti preživača, respiratorne i crijevne bolesti goveda i svinja te parazitskih bolesti malih preživača (Politis i sur., 2004., Turk i sur., 2012.).

Izlaganje farmских životinja različitim stresorima kao što je dugi transport ili promjene u hranidbi povezano je s povećanom koncentracijom proteina akutne faze u serumu (Arthington i sur., 2003., Saco i sur., 2003.). Stoga se pojedini protein akutne faze kao primjerice haptoglobin i Pig-MAP smatraju indikatorima stresa u goveda i svinja (Pineiro i sur., 2007., Lomborg i sur., 2008.). Objektivni laboratorijski kriteriji za procjenu stresa u domaćih životinja još nisu otkriveni. Smatra se da proteomika može biti korisna za postizanje toga cilja, jer omogućava pregled čitavog adaptivnog odgovora organizma na stresno stanje i pruža informacije o biomarkerima koji mogu biti značajni indikatori dobrobiti životinja, a temelje se na molekularnoj analitici (Bassols i sur., 2014., Almeida i sur., 2015.).

## Učinak glukokortikoida na imunosni sustav

Glukokortikoidi su danas u širokoj uporabi u veterinarskoj i humanoj

medicini kao protuupalni lijekovi. Glukokortikoidi mogu suprimirati sazrijevanje, diferencijaciju i proliferaciju svih imunosnih stanica (Sternberg, 2006.) i potaknuti apoptozu nezrelih T i B limfocita i zrelih T limfocita (Sapolsky i sur., 2000.). Glukokortikoidi također suprimiraju transkripciju i translaciju mRNA za IL-1 u leukocitima, brzo smanjuju kemotaksiju limfocita, monocita i granulocita i reduciraju broj cirkulirajućih limfocita, eozinofila, bazofila, makrofaga i monocita (Dhabhar i McEwen, 1997., Sapolski i sur., 2000.). Kortizol stabilizira lizosomske membrane i tako smanjuje količinu oslobođenih proteolitičkih enzima iz destruiranih stanica, a smanjuje i stvaranje leukotriena i prostaglandina iz arahidonske kiseline. Smanjuje kapilarnu permeabilnost posljedično manjoj količini oslobođenih proteolitičkih enzima pa se gubi manje plazme u tkivo. Kortizol smanjuje migraciju leukocita i fagocitozu oštećenih stanica, suprimira stvaranje T limfocita i protutijela koji promoviraju upalu, snižava tjelesnu temperaturu tako što reducira otpuštanje IL-1 od strane leukocita, a IL-1 je jedan od glavnih ekscitanata u hipotalamusnom termoregulacijskom centru. Snižavanjem temperature smanjuje se vazodilatacija krvnih žila. Osim što djeluje tako da sprječava upalu, kortizol potiče njenu rezoluciju ako je već nastala (Guyton i Hall, 2006.). Hormoni uključeni u stresni odgovor mijenjaju promet, sazrijevanje i diferencijaciju stanica imunosnog sustava, ekspresiju adhezivnih molekula, kemoatraktanata, čimbenika stanične migracije te stvaranje upalnih medijatora (Webster i sur., 2002., Yang i Glaser, 2002.). Glukokortikoidi i katekolamini inhibiraju stvaranje proupalnih citokina poput IL-12, TNF- $\alpha$  te stimuliraju stvaranje protuupalnih citokina kao što su IL-4 i IL-10. Na taj se način aktivacijom stresnog odgovora stimulira negativna povratna spregra kojom se sprječava

prekomjerni imunوسي odgovor uz preveliko otpuštanje proupalnih citokina i drugih medijatora s velikim potencijalom za oštećenje tkiva (Elenkov i Chrousos, 2002.).

Povišena koncentracija kortizola u krvi dovodi do eozinopenije i limfocitopenije, djeluje atrofično na sva limfatična tkiva u organizmu pa je i količina T limfocita i protutijela koja se stvaraju manja. Policitemija se uočava pri visokoj koncentraciji kortizola u krvi zbog povećanog broja eritrocita. Nalaz limfopenije, eozinopenije, neutrofilije i monocitoze naziva se stresni leukogram. Sve komponente ne moraju uvijek biti prisutne u svake životinje. Monocitoza je tako česta u pasa, u mačaka se javlja povremeno dok je u konja i goveda rijetko viđena, a nastaje zbog preraspodjele monocita iz perifernog u centralni odjeljak krvotoka. Neutrofilija se javlja zbog povećanog otpuštanja neutrofila iz koštane srži i preraspodjele neutrofila iz perifernog u centralni odjeljak krvotoka, eozinopenija zbog smanjenog otpuštanja eozinofila iz koštane srži i povećanog ulaska i raspadanja eozinofila u tkivima. Osim stresnog leukograma tijekom stresnog odgovora javlja se hiperglikemija u krvi koja nastaje zbog smanjene osjetljivosti masnog i limfatičnog tkiva na inzulin te lipolitičkog i proteolitičkog učinka kortizola na tkiva. Poznato je da je stres čest pokretač uvjetovanih zaraznih bolesti na primjer, kompleks respiratornih zaraznih bolesti goveda kada je uz viruse i bakterije, stres prilikom transporta najčešće odgovoran za nastup bolesti. Neutrofilija je uobičajena u životinja u stresu, a nastaje zbog djelovanja glukokortikoida i otpuštanja rezervi iz koštane srži (Kelley i sur., 1981.).

## Učinak katekolamina na bakterijski rast i virulenciju

Aktivacijom simpatičkog živčanog sustava dolazi do sekrecije acetilkolina

s preganglijskih simpatičkih vlakana u srž nadbubrežne žlijezde što inducira brzu sekreciju adrenalina u krvotok i noradrenalina sa simpatičkih živčanih završetaka u limfoidne organe. Blizina živčanih završetaka i imunosi stanica u limfoidnim organima pospješuje učinak noradrenalina (Yang i Glaser, 2000.). Gotovo sve limfoidne stanice posjeduju  $\beta$  adrenergične receptore, a podtip  $\beta_2$  adrenergični receptori su najznačajniji za regulaciju imunosi sustava (Webster i sur., 2002.). Nakon što se adrenalin i noradrenalin vežu na  $\beta_2$  adrenergične receptore dolazi do konformacijskih promjena receptora te se kroz pretvorbu gvanozin difosfata (GDP) u gvanozin trifosfat (GTP) aktivira G-protein što stimulira enzime na indukciju proizvodnje cikličkog adenzin monofosfata (cAMP) koji može modulirati ekspresiju citokina (Elenkov i Chrousos, 1999.).

Adrenalin i noradrenalin mogu poticati ili suprimirati aktivnost makrofaga ovisno o ekspresiji makrofagnih adrenergičnih receptora (Boomershine i sur., 1999.). Ako se vežu na  $\alpha_2$  adrenergične receptore stimulirati će makrofage što će rezultirati smanjenim bakterijskim rastom i povećanom produkcijom peroksinitrita (Miles i sur., 1996.). Vežanje noradrenalina na  $\beta_2$  adrenergične receptore za vrijeme bakterijske infekcije s *M. avium subsp. avium* inhibira se antibakterijska aktivnost makrofaga i smanjuje se proizvodnja dušikovog oksida (Boomershine i sur., 1999.).

Katekolamini potiču rast i utječu na virulenciju mnogih Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija. Katekolamini, a naročito noradrenalin uklanjaju željezni ion s transferina i laktoferina čineći ga slobodnim za bakterijske stanice. Željezo je esencijalni nutritivni element za rast i preživljavanje većine bakterija te je to jedan od načina kako katekolamini stimuliraju rast bakterija (Lyte i Ernst, 1992.). Katekolamini stimuliraju i

stvaranje biofilma ETEC povećavajući tako rezistenciju bakterija na antibiotike i njihovu adheziju na mukozu cekuma i kolona (Chen i sur., 2003.). *In vivo* istraživanja dokazala su da se pri stresu nalaze veće količine *E. coli* u izmetu junadi (Brownline i Grau, 1967.), ovce (Grau i sur., 1969.), mladih svinja (Dowd i sur., 2007.) i teladi (Brown i sur., 1997.). Istraživanja su pokazala da kokoši pod stresom imaju u cirkulaciji povećanu koncentraciju noradrenalina što potencira kolonizaciju bakterije *Sallmonele enteritidis* u crijevima (Knowles i Broom, 1993.). Dokazano je da noradrenalin djeluje na pokretljivost i invazivnost bakterije *Campylobacter jejuni* (Everest, 2007.), promovira rast *Bordetelle bronchiseptica* (Anderson i Armstrong, 2006.), *Pseudomonas aeruginose* (Hegde i sur., 2009.), *Listerie monocytogenes* (Coulanges i sur., 1997.) i mnogih drugih bakterija.

## Reduciranje stresa domaćih životinja genskom selekcijom

Prepoznavanje stresa kao ključnog negativnog čimbenika dobrobiti životinja koji često pokreće razvoj bolesti u životinja naveo je znanstvenike da pokušaju reducirati osjetljivost životinje na stres. Kroz proces domestikacije koji se odvijao kroz nekoliko tisuća godina, većina životinja koje su ekonomski značajne za gospodarstvo razvile su određenu toleranciju na okoliš i podražaje što bi za divlje životinje predstavljao veliki stres (Moberg i Mench, 2000.). U tih životinja eliminacija ljudskog čimbenika i modificiranje životnog prostora pridonijeli bi smanjenju stresa, ali u domestikiranih životinja u intenzivnom uzgoju tog prostora je sve manje pa znanstvenici pokušavaju djelovati na druge čimbenike koji određuju osjetljivost na stresore.

S obzirom da se zna da je gensko naslijeđe jedan od unutarnjih čimbenika koji određuje osjetljivost životinje na stres,

odnosno prepoznavanje stresora kao prijetnju homeostazi, nastoji se smanjiti utjecaj stresa selekcioniranjem životinja koje pokazuju povećanu otpornost na stres. Treba naglasiti da se pri tome misli na reduciranje distresa, a ne stresa općenito jer prisutnost stresa nije uvijek jednaka patnji, ali izlaganje životinje stimulansima i uvjetima koji vode čestoj aktivaciji stresnog odgovora imaju štetne učinke na rast, reprodukciju i rezistenciju na bolesti (Johnson i sur., 1992.). Redukcija distresa je poželjna, a potpuna eliminacija stresa je nemoguća i ne bi bila spojiva sa životom. Stres je biološki odgovor jedinke na prijetnju homeostazi i neophodan je za život, a život bez stresa jednak je smrti (Selye, 1976.).

Prednosti smanjenja osjetljivosti na stresore uključivala bi bolji rast i konverziju hrane, povećana reprodukcijska svojstva, smanjenju pojavnosti bolesti te poboljšanje dobrobiti životinja. Farmakološkim pripravcima može se djelovati na regulaciju neuroendokrinog sustava, ali to ne predstavlja prikladno i dugotrajno rješenje (Moberg i Mench, 2000.), stoga se selekcijski uzgoj životinja nametnuo kao najbolja ideja. Rezultati nekoliko istraživanja su utvrdili da unutar jedne populacije postoje vidljive varijacije u magnitudi stresnog odgovora na identični stresni podražaj (Berger i sur., 1987., Cummins i Gevirtz, 1993., Marsland i sur., 1995.).

Neke od varijacija mogle bi biti pod utjecajem vanjskih čimbenika kao što su hranidba i uvjeti držanja životinje, a dio varijacija je zasigurno uvjetovan genskim naslijeđem. Jedan od najznačajnijih modifikatora fenotipskog utjecaja na stresnu osjetljivost je spolna zrelost. U sisavaca postoji osobiti spolni dimorfizam u odgovoru osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda na stres (Vamvakopoulos i Chrousos, 1993.). Smanjena podražljivost mužjaka na stresor korelira s povišenom razinom androgenih hormona (Handa i sur., 1994.), a povećana podražljivost ženki

povezana je s povišenom koncentracijom estrogena (Spinedi i sur., 1994.). Socijalni status je dokazan i kao utjecajan čimbenik individualne osjetljivosti životinje na stresor (Sapolski, 1988.).

Peradarska industrija jedna je od prvih koja je počela ulagati velike napore u gensku selekciju peradi prema ukupnom smanjenju osjetljivost na stres. Još od 1959. godine počelo se raspravljati o selekcioniranju purana s ciljem smanjenja osjetljivosti na stres (Brown, 1959.), a od tada je učinjen znatan napredak u razumijevanju fiziologije i patologije stresa u domaće peradi.

Osjetljivost na stres smatra se jednim od najvećih problema i u intenzivnom uzgoju svinja (Pfeiffer i Von Lengerken, 1991.). Svinje koje su manje osjetljive na stres imaju bolju konveziju hrane i brže rastu od svinja osjetljivijih na stres. Moguće je prepoznati svinje s različitim strategijama podnošenja stresa, "aktivnog" ili "pasivnog" pomoću promjene ponašanja na kratkotrajno obuzdavanje (Schouten i Wiegant, 1997.). U svinja se još uvijek ne provodi selekcijski uzgoj s ciljem reduciranja osjetljivosti na stres, ali se pokušava eliminirati PPS (Engl. *porcine stress syndrome*) ili tzv. halotan stres gen, povezan s visokom osjetljivošću na stres (Pfeiffer i Von Lengerken, 1991.).

Kao i u drugih intenzivno držanih životinja okolišni stresori mogu imati značajni štetni učinak na rast (Pickering, 1993.), reprodukciju (Campbell i sur., 1992.) i otpornost na bolesti (Pickering i Pottinger, 1989.) uzgojnih riba. Selektivni uzgoj riba započeo je s ciljem poboljšanja proizvodnih svojstava (Tave, 1993.). S obzirom na vezu između osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda i imunosupresije, stresni odgovor jedinke predložen je kao indirektni selektivni kriterij za podložnost bolesti jedinke (Refstie, 1982., Fevolden i sur., 1991.). Kao i u drugih kralježaka tako i u riba osjetljivost na stres pod utjecajem je

genskog naslijeđa. Razlike u magnitudi kortizola uočene su u pet različitim linija kalifornijske pastrve koje su držane u identičnim uvjetima i koje su povremeno izložene jednakim stresorima (Pickering i Pottinger, 1989.). Rezultati su dokazali da je stresna osjetljivost u riba nasljedna i da je moguć selekcijski uzgoj riba na smanjenju stresnu osjetljivost (Pottinger i sur., 1994.).

## Sažetak

Stres je nespecifični odgovor organizma na stresor kojeg organizam doživljava kao prijetnju homeostazi. Svaki stresor prouzroči stres i specifičnu akciju, a očitovanje bolesti, osim o specifičnoj akciji stresora, ovisi o unutarnjim čimbenicima jedinke (dob, spol, pasmina, gensko naslijeđe) i vanjskim čimbenicima (hranidba, način držanja i dr.). Razlikuju se dva tipa stresa: pozitivni (eustres) i negativni stres (distres). Stresni odgovor je korisna fiziološka reakcija na stres, a sastoji se od tri faze: faze alarmne reakcije, faze rezistencije i faze iscrpljenosti, a čine ga kombinacija promjene ponašanja, odgovora autonomnog živčanog sustava te neuroendokrinog i imunološkog odgovora. Krajnji rezultat stresnog odgovora može biti povratak u homeostazu ili razvoj patološkog stanja. Glavnu ulogu u regulaciji stresnog odgovora imaju hormoni nadbubrežne žlijezde i simpatički živčani sustav. Stres može suprimirati, potencirati ili ne imati nikakav učinak na imunostni sustav ovisno o tipu stresora (psihički, fizički itd.), o genskim svojstvima jedinke, starosti, društvenoj hijerarhiji i akutnom ili kroničnom tijeku djelovanja. Akutni stres pobuđuje staničnu imunost dok kronični stres stimulira humoralnu imunost i inhibira staničnu djelujući na ekspresiju citokina te tako utječe na prijemljivost za mikroorganizme i tijekom infekcije. Pri dužem djelovanju stresora imunostni sustav je suprimiran posredstvom osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda. Utjecajem na gensko naslijeđe kao na unutarnji čimbenik, selekcijskim uzgojem se pokušava smanjiti osjetljivost životinja na stres što posljedično rezultira bržim rastom, boljom rasplodnom sposobnošću i smanjenom pojavnošću bolesti.

**Ključne riječi:** stres, stresni odgovor, nadbubrežna žlijezda, imunost, selekcijski uzgoj



## Literatura

1. ALMEIDA, A., A. BASSOLS, E. BENDIXEN, M. BHADE, F. CECILIANI, S. CRISTOBAL, D. ECKERSALL, K. HOLLUNG, F. LISACEK, G. MAZZUCHELLI, M. MCLAUGHLIN, I. MILLER, J. NALLY, J. PLOWMAN, J. RENAUT, P. RODRIGUES, P. RONCADA, J. STARIČ and R. TURK (2015): Animal board invited review: advances in proteomics for animal and food sciences. *Animal* 9, 1-17.
2. ANDERSON, M. T. and S. K. ARMSTRONG (2006): The Bordetella bfe system: growth and transcriptional response to siderophores, catechols and neuroendocrine catecholamines. *J. Bacteriol.* 188, 5731-5740.
3. ARTHINGTON, J. D., S. D. EICHER, W. E. KUNKLE and F. G. MARTIN (2003): Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 81, 1120-1125.
4. BASSOLS, A., R. TURK and P. RONCADA (2014): A proteomics perspective: From animal welfare to food safety. *Curr. Protein Pept. Sci.* 15, 156-168.
5. BEHL, C., F. LEZOUALC'H, T. TRAPP, M. WIDMANN, T. SKUTELLA and F. HOLSBOER (1997): Glucocorticoids enhance oxidative stress-induced cell death in hippocampal neurons *in vitro*. *Endocrinology* 138, 101-106.
6. BERGER, M., BOSSERT, S. KRIEG, J.-C. DIRLICH, G. ETTMEIER, W. SCHREIBER and D. VON ZERSEN (1987): Interindividual differences in the susceptibility of the cortisol system: an important factor for the degree of hypercortisolism in stress situations. *Biol. Psychol.* 22, 1327-1339.
7. BOOMERSHINE, C. S., W. P. LAFUSE and B. S. ZWILLING (1999): Beta 2 adrenergic receptor stimulation inhibits nitric oxide generation by *Mycobacterium avium* infected macrophages. *J. Neuroimmunol.* 101, 68-75.
8. BROWN, C. A., B. G. HARMON, T. ZHAO and M. P. DOYLE (1997): Experimental *Escherichia coli* O157:H7 carriage in calves. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 27-32.
9. BROWN, K. I. (1959): Stress and its implications in poultry production. *Worlds Poultry Sci. J.* 15, 255-263.
10. BROWNLIE, L. E. and F. H. GRAU (1967): Effect of food intake on growth and survival of salmonellas and *Escherichia coli* in the bovine rumen. *J. Gen. Microbiol.* 46, 125-134.
11. CAMPBELL, P. M., T. G. POTTINGER and J. P. SUMPTER (1992): Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biol. Reprod.* 47, 1140-1150.
12. CHEN, C., D. R. BROWN, Y. XIE, B. T. GREEN and M. LYTE (2003): Catecholamines modulate *Escherichia coli* O157:H7 adherence to murine cecal mucosa. *Shock* 20, 183-188.
13. CUMMINS, S. E. and R. N. GEVIRTZ (1993): The relationship between daily stress and urinary cortisol in a normal population: an emphasis on individual differences. *Behav. Med.* 19, 129-134.
14. CUOLANGES, V., P. ANDRE, O. ZIEGLER, L. BUCHHEIT and D. VIDON (1997): Utilization of iron-catecholamine complexes involving ferric reductase activity in *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 65, 2778-2785.
15. DHABHAR, F. S. and B. S. McEWEN (1997): Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity *in vivo*: potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav. Immun.* 11, 286-306.
16. DHABHAR, F. S. (2009): Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation* 16, 300-317.
17. DOBSON, H. and R. F. SMITH (2000): What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim. Reprod. Sci.* 60, 743-752.
18. DOWD, S. E., T. R. CALLAWAY and J. MOROWTESCH (2007): Handling may cause increased shedding of *Escherichia coli* and total coliforms in pigs. *Foodborne Pathog. Dis.* 4, 99-102.
19. ELENKOV, I. J. and G. P. CHROUSOS (1999): Stress, cytokine patterns and susceptibility to disease. *Balilieres Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 13, 583-595.
20. ELENKOV, I. J. and G. P. CHROUSOS (2002): Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 966, 290-303.
21. EVEREST, P. (2007): Stress and bacteria: microbial endocrinology. *Gut* 56, 1037-1038.
22. FEVOLDEN, S. E., T. REFSTIE and K. H. RØED (1991): Selection for high and low cortisol stress response in atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 95, 53-65.
23. GLASER, R. and J. K. KIECOLT-GLASER (2005): Stressed induced immune dysfunction: implications for health. *Nat. Rev. Immunol.* 5, 243-251.
24. GRAU, F. H., L. E. BROWNLIE and M. G. SMITH (1969): Effects of food intake on number of salmonellas and *Escherichia coli* in rumen and faeces of sheep. *J. Appl. Bacteriol.* 32, 122-127.
25. GUYTON, A. C. and J. E. HALL (2006): Textbook of medical physiology. 11<sup>th</sup> ed., Saunders Elsevier, Philadelphia.
26. HANDA, R. J., K. M. NUNLEY, S. A. LORENS, J. P. LOUIE, R. F. MCGIVERN and M. R. BOLLNOW (1994): Androgen regulation of adrenocorticotropin and corticosterone secretion in the male rat following novelty and foot shock stressors. *Physiol. Behav.* 55, 117-124.
27. HEDGE, M., T. K. WOOD and A. JAYARAMAN (2009): The neuroendocrine hormone norepinephrine increases *Pseudomonas aeruginosa* PA14 virulence through the las quorum-sensing pathway. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 763-776.
28. JOËLS, M. and T. Z. BARAM (2009): The neuro-symphony of stress. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 459-466.
29. JOHNSON, E. O., T. C. KAMILARIS, G. P. CHROUSOS and P. W. GOLD (1992): Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and

- behavioural homeostasis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 16, 115-130.
30. KELLEY, K. W., C. A. OSBORNE, J. F. EVERMANN, S. M. PARISH and D. J. HINRICHS (1981): Whole blood leukocyte vs. separated mononuclear cell blastogenesis in calves: time dependent changes after shipping. *Can. J. Comp. Med.* 45, 259-258.
  31. KNOWLES, T. and D. BROOM (1993): Effect of catching method on the concentration of plasma-corticosterone in end-of-lay battery hens. *Vet. Rec.* 21, 527-528.
  32. LIPTRAP, R. M. and J. I. RAESIDE (1983): Effect of cortisol on the response to gonadotrophin releasing hormone in the boar. *J. Endocrinol.* 97, 75-81.
  33. LOMBORG, S. R., L. R. NIELSEN, P. M. HEEGAARD and S. JACOBSEN (2008): Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Vet. Res. Commun.* 32, 576-582.
  34. LYTE, M. and S. ERNST (1992): Catecholamine induced growth of gram negative bacteria. *Life Sci.* 50, 203-212.
  35. MAO, W., C. IWAI, P. C. KENG, R. VULAPALLI and C. S. LIANG (2006): Norepinephrine-induced oxidative stress causes PC-12 cell apoptosis by both endoplasmatic reticulum stress and mitochondrial intrinsic pathway: inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase survival pathway. *Am. J. Physiol.-Cell Ph.* 290, 1373-1384.
  36. MARSLAND, A. L., S. B. MANUCK, T. V. FAZZARI, C. J. STEWART and B. S. RABIN (1995): Stability of individual differences in cellular immune responses to acute psychological stress. *Psychosom. Med.* 57, 295-298.
  37. McEWEN, B. S. and R. M. SAPOLSKY (1995): Stress and cognitive function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5, 205-216.
  38. McEWEN, B. S. and J. C. WIGFIELD (2003): The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm. Behav.* 43, 2-15.
  39. MILES, B. A., W. P. LAFUSE and B. S., ZWILLING (1996): Binding of alpha-adrenergic receptors stimulates the anti-mycobacterial activity of murine peritoneal macrophages. *J. Neuroimmunol.* 71, 19-24.
  40. MOBERG, G. P. (1991): How behavioral stress disrupts the endocrine control of reproduction of domestic animals. *J. Dairy Sci.* 74, 304-311.
  41. MOBERG, G. P. and J. A. MENCH (2000): The biology of animal stress - basic principles and implication for animal welfare, CABI Publishing, New York, USA.
  42. NORDBERG, J. and E. S. ARNER (2001): Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 1287-1312.
  43. PFEIFFER, H. and G. VON LENGERKEN (1991): Reduction of stress and stress susceptibility in pigs as prerequisite for high results. 1. stress reduction serves effective exploitation of the genetic merit in pigs. *Arch. Tierzucht* 2, 141-150.
  44. PICKERING, A. D. (1993): Growth and stress in fish production. *Aquaculture* 111, 51-63.
  45. PICKERING, A. D. and T. G. POTTINGER (1989): Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol. Biochem.* 7, 253-258.
  46. PINEIRO, M., C. PINEIRO, R. CARPINTERO, J. MORALES, F. M. CAMPBELL, P. D. ECKERSALL, M. J. TOUSSAINT and F. LAMPREAVE (2007): Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. *Vet. J.* 173, 669-674.
  47. POLITIS, I., I. BIZELIS, A. TSIARAS and A. BALDI (2004): Effect of vitamin E supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd. *J. Dairy Res.* 71, 273-278.
  48. POTTINGER, T. G., T. A. MORAN and J. A. W. MORGAN (1994): Primary and secondary indices of stress in the progeny of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) selected for high and low responsiveness to stress. *J. Fish Biol.* 44, 149-163.
  49. RADEK, K. A. (2010): Antimicrobial anxiety: the impact of stress on anti-microbial immunity. *J. Leukoc. Biol.* 88, 263-277.
  50. REFSTIE, T. (1982): Preliminary results: Differences between rainbow trout families in resistance against vibriosis and stress. *Dev. Comp. Immunol.* 2, 205-209.
  51. RODTIAN, P., G. KING, S. SUBROD and P. PMNGPIACHAN (1996): Oestrus behaviour of Holstein cows during cooler and hotter tropical season. *Anim. Reprod. Sci.* 45, 47-58.
  52. SACO, Y., M. J. DOCAMPO, E. BREGA, X. MANTECA, A. DIESTRE, F. LAMPREAVE and A. BASSOLS (2003): Effect of transport stress on serum haptoglobin and pig-MAP in pigs. *Anim. Welfare* 12, 403-409.
  53. SALAK-JOHNSON, J. L. and J. J. McGLONE (2007): Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle. *J. Anim. Sci.* 85, E81-E88.
  54. SAPOLSKY, R. M. (1988): Individual differences and the stress response: studies of a wild primate. *Adv. Exp. Med. Biol.* 245, 399-411.
  55. SAPOLSKY, R. M., L. M. ROMERO and A. U. MUNCK (2000): How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev.* 21, 55-89.
  56. SCHOUTEN, W. G. P. and V. M. WIEGANT (1997): Individual responses to acute and chronic stress in pigs. *Acta Physiol. Scand.* 640, 88-91.
  57. SELYE, H. (1936): A Syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature* 138: 32.
  58. SELYE, H. (1950): Stress and the general adaptation syndrome. *Brit. Med. J.* 1, 1383-1392.
  59. SELYE, H. (1976): Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. *Can. Med. Assoc. J.* 115, 53-56.
  60. SORDILLO, L. M. and S. L. AITKEN (2009): Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128, 104-109.

61. SPINEDI, E., M. SALAS, A. CHISARI, M. PERONE, M. CARINO and R. C. GAILLARD (1994): Sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis response to inflammatory and neuroendocrine stressors. *Neuroendocrinology* 60, 609-617.
62. STERNBERG, E. M. (2006): Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 318-328.
63. TAVE, D. (1993): Genetics for fish hatchery managers. 2<sup>nd</sup> ed., Avi Publishing Company, Westport, Connecticut.
64. TURK, R., C. PIRAS, M. KOVAČIĆ, M. SAMARDŽIJA, H. AHMED, M. DE CANIO, A. URBANI, Z. F. MEŠTRIĆ, A. SOGGIU, L. BONIZZI and P. RONCADA (2012): Proteomics of inflammatory and oxidative stress response in cows with subclinical and clinical mastitis. *J. Proteom.* 75, 4412-4428.
65. VAMVAKOPOULOS, N. C. and G. P. CHROUSOS (1993): Evidence of direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression. Potential implications for the sexual dimorphism of the stress response and immune/inflammatory reaction. *J. Clin. Invest.* 92, 1896-1902.
66. WEBSTER, J. I., L. TONELLI and E. M. STERNBERG (2002): Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 20, 125-163.
67. WOLFENSON, D., Z. ROTH and R. MEIDAN (2000): Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspect. *Anim. Reprod. Sci.* 61, 535-547.
68. YANG, E. V. and R. GLASER (2000): Stress-induced immunomodulation: impact on immune defences against infectious diseases. *Biomed. Pharmacother.* 54, 245-250.
69. YANG, E. V. and R. GLASER (2002): Stress-induced immunomodulation and the implications for health. *Int. Immunopharmacol.* 2, 315-324.

## Neuro-hormonal regulation of stress response and its impact on immunity of domestic animals

Romana TURK, Mag. Med. Biochem., PhD, Associate Professor, Mirna ROBIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Maja BELIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Ivana JUKIĆ, DVM, Croatia

Stress is a non-specific response of the body to a stressor that is perceived as a threat to homeostasis. Each stressor causes stress and a specific action. Manifestation of the disease depends on the specific action of the stressor, and specific internal (age, gender, breed, genetic inheritance) and external (nutrition, housing conditions, etc.) factors. There are two types of stress, positive (eustress) and negative stress (distress). The stress response is a useful physiological response and consists of three phases: alarm reaction, resistance phase and exhaustion phase. It is a combination of behavioral responses, responses of the autonomic nervous system, and neuroendocrine and immune response. The final result of stress response can be the reestablishment of homeostasis or the development of pathological conditions. The main roles in the regulation of stress response are played by the adrenal hormones

and the sympathetic nervous system. Stress can suppress, potentiate or have no effect on the immune system, depending on the type of stressor (mental, physical, etc.), genetic properties of the individual, age, social hierarchy and whether the effects are acute or chronic. Acute stress enhances cellular immunity while chronic stress enhances humoral immunity suppressing cellular immunity and increasing susceptibility to infection. If stress is prolonged, the immune system is suppressed through the hypothalamic-pituitary-adrenal gland axis. The influence of genetic heritage as an intrinsic factor is used to reduce the sensitivity of animals to stress in order to support growth and reproductive capability and to reduce the incidence of disease.

**Key words:** *stress, stress response, adrenal glands, immunity, selective breeding*