

Imunski sistem rib: osnovne značilnosti in primerjava z imunskim sistemom sesalcev

Ida DJURDJEVIČ^{1,2}

Delo je prispelo 29. septembra 2025, sprejeto 30. decembra 2025.
Received September 29, 2025; accepted December 30, 2025.

Imunski sistem rib: osnovne značilnosti in primerjava z imunskim sistemom sesalcev

Izvleček: Imunski sistem rib obsega prirojeno in pridobljeno imunost, ki skupaj zagotavljata zaščito pred patogeni v vodi. Prirojena imunost je pri ribah pomembnejša kot pri sesalcih, saj je vzpostavitev pridobljene počasnejša in manj učinkovita. Prvo linijo obrambe predstavljajo fizične pregrade in mukozne površine (koža, škrge, črevesje), ki preprečujejo vdor patogenov. Prirojena imunost vključuje celične komponente (eozinofilne granularne celice, nevtrofilci, makrofagi, dendritične celice, nespecifične citotoksične celice) ter humoralne dejavnike (lizocim, transferin, lektini, C-reaktivni protein, komplement). Ti omogočajo hitro prepoznavo in uničenje mikroorganizmov s fagocitozo, vnetjem in lizo. Pridobljena imunost rib temelji na limfocitih T in B ter nastanku protiteles. Najpomembnejši izotip je tetramerni IgM (najpogostejši v serumu), ostala sta IgD in IgT (vloga v mukozni aktivnosti). Pomembni vlogi pridobljenega imunskega sistema sta specifičnost (preko V(D)J rekombinacij in somatskih hipermutacij) ter imunski spomin, ki omogoča trajno zaščito. V primerjavi s sesalci imajo protitelesa rib manjšo variabilnost in afiniteto ter nekatere posebnosti (odsotnost molekul DM), vendar še vedno omogočajo nevtralizacijo patogenov, aktivacijo komplementa in opsonizacijo. Posebna značilnost rib je variabilnost imunskega odziva, pogojena z zunanjimi dejavniki (temperaturo, slanostjo). Kljub razlikam v primerjavi s sesalskim, imunski sistem rib izkazuje ohranjene evolucijske značilnosti, ki omogočajo usklajeno delovanje prirojene in pridobljene imunosti ter zagotavljajo zaščito in dolgoročni imunski spomin.

Ključne besede: ribe, prave kostnice, imunologija, imunski sistem rib, prirojeni imunski sistem, pridobljeni imunski sistem, protitelesa, celične komponente, humoralni dejavniki, imunski spomin, sesalci, primerjava

Fish Immune System: Main characteristics and its comparison with mammalian immunity

Abstract: The fish immune system consists of innate and adaptive immunity, which together provide defence against waterborne pathogens. Innate immunity is more pronounced in fish than in mammals, as adaptive responses develop slowly and are less effective. The first line of defence consists of physical barriers and mucosal surfaces (skin, gills, gut), which block pathogen entry. Innate immunity includes cellular components (eosinophil granular cells, neutrophils, macrophages, dendritic cells, nonspecific cytotoxic cells) and humoral factors (lysozyme, transferrin, lectins, C-reactive protein, complement). These ensure rapid recognition and elimination of microbes through phagocytosis, inflammation, and lysis. Adaptive immunity relies on T and B lymphocytes, as well as antibody production. The main isotype is tetrameric IgM (abundant in serum); others are IgD and IgT (role in mucosal activity). Its essential features are specificity, mediated by V(D)J recombination and somatic hypermutation, and immunological memory. Compared to mammals, fish antibodies display lower variability and affinity and lack certain molecules (such as DM), yet still perform neutralisation, complement activation, and opsonisation. A distinctive feature of fish is the variability of immune responses, strongly influenced by external factors (temperature, salinity). Despite differences from mammals, the fish immune system preserves evolutionary features that ensure coordination between innate and adaptive immunity and provide effective, long-lasting protection.

Key words: fish, teleostei, immunology, fish immune system, innate immunity, adaptive immunity, antibodies, cellular components, humoral factors, immunological memory, mammals, comparison

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Ljubljana, Slovenija

² Korespondenčna avtorica, e-naslov: ida.djurdjevic@bf.uni-lj.si

1 IMUNSKI SISTEM RIB

Primarna vloga imunskega sistema je zaščita živih organizmov pred okužbami, ob tem pa prispeva tudi k ohranjanju njihovega notranjega ravnovesja. Med posameznimi vrstami in skupinami organizmov se razlikuje tako po akterjih kot po mehanizmih delovanja. V osnovi so nekateri procesi udeleženi v imunskem odzivu precej enostavni, ostali spet visoko kompleksni, vsi pa nujno potrebni za učinkovito obrambo organizma – njihovo neustrezno delovanje vodi v okužbo, razvoj bolezni ali celo smrt.

V tem pregledu se bomo osredotočili na ključne komponente ter akterje imunskega sistema rib (zlasti pravih kostnic), njegove mehanizme delovanja ter ga primerjali z bolj poznanim imunskim sistemom sesalcev. Imunski sistem rib in sesalcev je rezultat milijonov let evolucije, ki je ohranila številne podobnosti in prinesla tudi pomembne razlike v strukturi, funkciji in regulaciji imunskih odzivov. Obe skupini imata razvite tako prirojene (nespecifične) kot tudi pridobljene (specifične) imunske mehanizme, hkrati sta si pa v nekaterih točkah precej različni – med drugim v organizaciji limfatičnih organov, raznolikosti imunskih celic, razpoložljivih imunoglobulinskih razredih in načinih odzivanja na patogene.

Ribe so heterogena skupina organizmov, katerim je skupno, da so hladnokrvni (poikilotermni) vretenčarji s škrgami kot glavnim dihalnim organom. Njihovo telo je zaščiteno z luskami in/ali mukusom. Delimo jih na brezčeljustnice (Agnatha), hrustančnice (Chondrichthyes) in kostnice (Osteichthyes), ki jih naprej delimo v več razredov, od katerih so najbolj zastopane prave kostnice (Teleostei). Čeprav imata skupini hrustančnice in kostnice že osnovne komponente imunosti, primerljive s tistimi pri sesalcih, se je intenzivnejše raziskovanje njihovega imunskega sistema začelo šele v zadnjih desetletjih (Kordon in sod., 2021). Predvsem prave kostnice, kot najbolj evolucijsko napredna skupina rib in s tem z največ elementi podobnimi sesalskim, so tiste, na katerih sloni večina novejših raziskav imunskega sistema pri ribah; zato bo tudi ta pregled osredotočen na to skupino organizmov.

Imunski sistem vseh vretenčarjev sestavljata dve glavni veji: prirojeni in pridobljeni imunski sistem. Prirojeni imunski sistem je prva linija obrambe, ki se odzove takoj ob vstopu mikrobov, vendar teh ne prepozna specifično in ne tvori imunskega spomina; vključuje fizične pregrade, celične procese in humoralne komponente. Prirojeni imunski sistem je filogenetsko starejši, nekateri njegovi elementi so prisotni že pri rastlinah in insektih (Litman in sod., 2010).

Če okužba v organizmu traja dlje časa, se aktivi-

ra pridobljeni imunski sistem, katerega osnovni nosilci so limfociti B in T ter protitelesa. Ta se od prirojene razlikuje po tem, da deluje zelo specifično – prepozna točno določenega povzročitelja – in si stik z njim »zapomni«. Ob ponovni okužbi zato reagira hitreje in močnejše. Vendar je pri ribah prirojeni imunski sistem v primerjavi s sesalskim šibkejši: razvija se počasneje, protitelesa vztrajajo krajši čas in zaščita ni tako dolgotrajna.

Prve limfocitom podobne celice, sposobne specifičnega imunskega odziva po imunizaciji, so se pojavile pred približno 500 milijoni let pri brezčeljustnicah, kot sta piškur in glenavica (Brazeau in Friedman, 2015; Flajnik in Kasahara, 2010). Nekateri ključne komponente pridobljenega imunskega sistema pa segajo v silur, približno 430 milijonov let nazaj, ko so se pojavili prvi vretenčarji s čeljustjo, npr. morski psi (N. C. Smith in sod., 2019).

2 LIMFATIČNI ORGANI IN NJIHOVA ORGANIZACIJA

Limfatični organi prevzemajo pri organizmih pomembno nalogo imunskega odziva, saj v njih nastajajo limfociti; te organe imenujemo primarni limfatični organi, sekundarni limfatični organi pa so tisti, kjer limfociti zorijo in se aktivirajo. Pri sesalcih štejemo med primarna limfatična organa kostni mozeg in priželjc (timus), med sekundarne pa vranico in bezgavke, pomembno vlogo pri njih imajo pa tudi razpršena limfatična tkiva sluznic.

Pri ribah se primarni in sekundarni limfatični organi med vrstami močno razlikujejo. Brezčeljustnice nimajo razvitih pravih limfatičnih organov in so tako odvisne predvsem od delovanja limfatičnih tkiv, ki se nahajajo znotraj drugih, primarno nelimfatičnih organov. Pri hrustančnicah najdemo že malenkost naprednejši imunski sistem, ki pa vsebuje nekatere unikatne limfatične organe, kot so Leydigsov organ (nahaja se v steni požiralnika) in epigonalni organ, specializirana za hematopoezo in zorenje limfocitov, ter spiralna zaklopka v črevesju, ki ima pomembno vlogo pri mukozni imunosti (Firdaus-Nawi in Zamri-Saad, 2016). Pri nekaterih hrustančnicah pa poleg teh unikatnih organov najdemo tudi priželjc (timus) in vranico, ki sta pomembna limfatična organa, prisotna tudi pri sesalcih. Vlogo primarnega limfatičnega organa pri hrustančnicah sicer prevzema ledvica.

Pri pravih kostnicah najdemo nekatere primarne in sekundarne limfatične organe, ki so primerljivi s tistimi pri sesalcih, vključno s timusom, vranico in različnimi oblikami sluzničnega limfatičnega tkiva (MALT,

Preglednica 1: Primerjava limfatičnih organov, prisotnih pri pravih kostnicah in sesalcih**Table 1:** Comparison of lymphatic organs present in teleost fish and mammals

		Prave kostnice (teleostei)	Sesalci
Primarni limfatični organi	Primarni hemato-poetski organ	Prednja ledvica – analog kostnemu mozgu, prevzema tudi endokrino vlogo nadledvične žleze	Kostni mozeg v dolgih in ploščatih kosteh; nima endokrine funkcije
	Timus/priželjc	Prisoten; dozorevanje celic T, brez jasno določene skorje in sredice	Prisoten; dobro organizirani lobuli
Sekundarni limfatični organi	Vranica	Prisotna; ima belo in rdečo pulpo, a brez germinalnih centrov – prisotni so melanomakrofagni centri	Prisotna; bela pulpa z germinalnimi centri za zorenje celic B
	Bezgavke	Odsotne	Prisotne
	Limfatična tkiva sluznic	Razpršena MALT (GALT, GIALT, SALT, NALT)	MALT (GALT (Pejerjeve lise), NALT, BALT)
	Zadnja ledvica (me-zonefros)	Poleg filtracije krvi prevzema vlogo sekundarnega limfatičnega organa	Vloga filtracije krvi in izločanja odpadnih produktov v seč

angl. mucosa-associated lymphoid tissue) (preglednica 1). Najbolj izrazita razlika med imunskim sistemom rib in sesalcev je odsotnost kostnega mozga pri ribah. Pri pravih kostnicah ga nadomešča sprednji (anteriorni) del ledvice, imenovan tudi prednja ledvica (pronefros, angl. head kidney). Gre torej za primarni organ za tvorbo krvnih celic (hematopoetski organ), ki hkrati opravlja tudi endokrino vlogo. V tem pogledu je funkcionalno podoben nadledvični žlezi pri sesalcih, saj poleg nastajanja krvnih celic sodeluje tudi pri hormonskem uravnavanju, npr. pri odzivu na stres. Skupaj s timusom in vranico predstavlja glavni limfatični sistem rib. Timus je prisoten sicer pri obeh skupinah, vendar je pri ribah strukturno enostavnejši, saj nima jasno ločene skorje (korteksa) od sredice (medule). Pomemben del limfatičnih tkiv oz. celic najdemo pri ribah tudi v spolnih žlezah (gonadah), črevesju (GALT, angl. gut-associated lymphoid tissue), koži (SALT, angl. skin-associated lymphoid tissue), škrgah (GIALT, angl. gill-associated lymphoid tissue) in nosni votlini (NALT, angl. nasal-associated lymphoid tissue) (Mokhtar in sod., 2023). Limfni sistem, ločen od krvnega obtoka, je bil dokazan le pri nekaterih vrstah pravih kostnic, vendar je ta obtok bistveno poenostavljen in ne vsebuje limfnih vozlov (Küchler in sod., 2006). Tudi to je najverjetneje eden od razlogov za omejitve oz. za zapozneli odziv pridobljenega imunskega sistema rib.

3 PRIROJENI IMUNSKI SISTEM

Pri ribah, tako kot pri sesalcih, predstavlja prirojeni imunski sistem prvo linijo obrambe, ki se okrepi v zelo kratkem času po stiku s patogenom, a ne zagotavlja

dolgoročne zaščite (Turvey in Broide, 2010). V primerjavi s sesalci ima ta oblika imunskega odziva pri njih še večjo vlogo in je zaradi nezmožnosti hitrega odziva pridobljenega imunskega sistema ter njegove slabše učinkovitosti bistvena za preprečitev vstopa in širjenja patogenov (Whyte, 2007).

Celice, ki delujejo v prirojenem imunskem sistemu, prepoznajo tuje strukture s pomočjo posebnih receptorjev za prepoznavanje vzorcev (PRR, angl. pattern recognition receptors). PRR prepoznajo patogene preko patogenom lastnih molekularnih vzorcev (PAMP, angl. pathogen-associated molecular patterns), ki jih v celicah gostitelja ni. Poleg tega lahko zaznajo tudi organizmu lastne, s poškodbo povezane molekularne vzorce (DAMP, angl. damage-associated molecular patterns), ki se sproščajo iz poškodovanih celic (Santoni in sod., 2015). Med PAMP prištevamo med drugim lipopolisaharide (LPS) iz stene gramnegativnih bakterij, lipoteihoično kislino (LTA) iz grampozitivnih bakterij, fosfolipomanan iz mikobakterij, hemaglutinin iz virusov, pa tudi beta glukan in hitin; med DAMP pa spadajo gostiteljeva DNA ali RNA, jedrni protein HMGB1, S100 proteini in proteini vročinskega šoka (HSP, angl. heat-shock proteins) (Kordon, Karsi, in sod., 2018).

Ob prepoznavi PAMP ali DAMP se preko PRR sproži signalna kaskada, ki vodi v aktivacijo transkripcijskih dejavnikov: jedrnega dejavnika NF- κ B in dejavnika interferonskega odziva (IRF, angl. interferon response factor). To sproži produkcijo vnetnih citokinov, kemotaktičnih citokinov (kemokinov) in interferonov (Y. Li in sod., 2017), hkrati se aktivirajo različni obrambni mehanizmi, kot so fagocitoza, avtofagija, programirana celična smrt in procesiranje citokinov (Detric in sod., 2013; Lamkanfi in Dixit, 2014).

Pri ribah razdelimo prirojeni imunski sistem v tri glavne komponente: (1) fizične pregrade na površini, (2) celične komponente (makrofagi, dendritične celice, granulociti, nespecifične citotoksične celice (NCC), eozinofilne granularne celice (EGC)) in (3) humoralne komponente (citokini, komplement). Ključni celični in humoralni mehanizmi so sicer ohranjeni tako pri ribah kot sesalcih, so se pa pri ribah zaradi njihovega vodnega okolja razvile nekatere strukturne in funkcionalne posebnosti, ki odražajo prilagoditve na specifične pogoje njihovega življenjskega prostora.

3.1 FIZIČNI MEHANIZMI PRIROJENEGA IMUN-SKEGA SISTEMA RIB

Med strukturne oz. površinske dejavnike pri ribah štejemo luske, mukozni sloj ter epitelijske celice na površini kože, škrg in prebavnega trakta. Ti imajo bistveno vlogo pri omejevanju okužbe (Magnadottir, 2010).

Luske predstavljajo predvsem mehansko zaščito, poleg epitelijskih celic gre torej za prvo fizično pregrado, ki jo najdemo na ali v koži in ki ovira direkten vstop patogenov.

Mukus, ki ga najdemo na površini kože rib in ga proizvajajo čašaste celice, vsebuje številne protimikrobne in imunske učinkovine, kot so protibakterijski peptidi, lektini, pentraksini, lizocim, proteini komplementa in imunoglobulin IgM. Te snovi delujejo kot prva kemična zaščita, saj patogenom preprečujejo vstop v organizem ali jih neposredno uničujejo (Aranishi in Nakane, 1997; Boshra in sod., 2006; Saurabh in Sahoo, 2008).

Epitelijske celice epidermisa delujejo kot fizična bariera pred vdorom tujkov. Med njimi pa najdemo tudi imunske celice, kot so makrofagi, eozinofili in limfociti (Ángeles Esteban, 2012; Fischer in sod., 2006). Poleg odstranjevanja mikroorganizmov s telesne površine je integriteta epitelijske neposredno povezana tudi z ohranjanjem osmotskega ravnovesja.

3.2 CELIČNI MEHANIZMI PRIROJENEGA IMUN-SKEGA SISTEMA RIB

Prirojena imunost predstavlja prvo linijo obrambe pred okužbo in deluje hitro, vendar nespecifično, saj ne razlikuje med posameznimi sevi ali vrstami patogenov. Za razliko od pridobljene imunosti ne vzpostavi imunskega spomina, lahko pa z izločanjem citokinov in drugih signalnih molekul pomembno vpliva na njeno aktivacijo (Secombes, 1996).

V prirojeni celično posredovani imunosti rib pravih kostnic sodeluje več vrst levkocitov, ki delujejo

usklajeno pri prepoznavanju, fagocitozi in uničevanju patogenov. Mednje sodijo granulociti, makrofagi, dendritične celice in nespecifične citotoksične celice (NCC), ki skupaj tvorijo glavno efektorsko mrežo tega sistema. Granulociti in makrofagi so odgovorni predvsem za fagocitozo in sprožanje vnetnega odziva, medtem ko so NCC značilne izključno za ribe in funkcionalno primerljive z naravnimi celicami ubijalkami (NK) sesalcev, saj ciljajo na protozoje in z virusi okužene celice (Secombes, 1996).

Ključnega pomena pri aktivaciji teh celic so receptorji PRR, zlasti Tollu podobni receptorji (TLR), ki zaznavajo ohranjene molekularne strukture mikrobov in sprožijo kaskado signalov, ki vodijo do protivnetnega odziva.

3.2.1 Antigen predstavitevne celice

Antigen predstavitevne celice (APC) imajo osrednjo vlogo pri povezovanju prirojenega in pridobljenega imunskega odziva, saj prepoznajo, procesirajo in predstavljajo antigene limfocitom T. Pri sesalcih med glavne APC sodijo monociti/makrofagi, dendritične celice in limfociti B, ki patogene prepoznavajo preko PRR ali, v primeru celic B, preko B-celičnega receptorja (BCR). Po endocitozi antigene razgradijo na peptide in jih predstavljajo na površini z molekulami poglobitnega kompleksa tkivne skladnosti (MHC). Molekule MHC razreda I predstavljajo znotrajcelične antigene citotoksičnim celicam T ($CD8^+$), medtem ko MHC razreda II predstavljajo zunajcelične antigene celicam T pomagal-kam ($CD4^+$) (Keech in sod., 2010; Vyas in sod., 2008). Aktivacija APC vključuje tudi izražanje kostimulator-nih molekul (npr. B7-1/CD80 in B7-2/CD86), ki sprožijo izločanje citokinov in diferenciacijo celic T (Chen in Flies, 2013).

V zadnjem desetletju je bilo več raziskav usmerjenih v identifikacijo in funkcionalno karakterizacijo APC pri ribah, pri katerih so bile opisane njihove morfološke in molekularne značilnosti (povzeto po Kordon in sod., 2018).

3.2.1.1 Makrofagi

Makrofagi so 'aktivirane' oziroma zrele oblike mononuklearnih levkocitov (monocitov). Nahajajo se v skoraj vseh živalskih tkivih. Gre za fagocitne celice, ki na svoji površini izražajo PRR, ki prepoznavajo PAMP (npr. LPS, LTA, peptidoglikan). Po vezavi patogena le tega endocitirajo v vezikle – fagosome, ki se z lizosomi združijo v fagolizosome, kjer pride do razgradnje patogena (M. Á. Esteban in sod., 2015). Poleg fagocitoze makrofagi proizvajajo tudi protibakterijske molekule, kot

so dušikovi in reaktivni kisikovi radikali, ter na ta način uničujejo patogene. Imajo receptorje za komplement in za Fc-del protiteles ter poleg molekul MHC razreda I izražajo tudi molekule MHC razreda II in kostimulirane molekule, kar jih uvršča med profesionalne APC (Wu in Kaiser, 2011).

Pri ribah se makrofagi razvijejo med primarno hematopoezo. Pri cebrici (*Danio rerio*) se tako prvi makrofagi razvijejo iz lateralnega mezoderma v 12–24 urah po oploditvi (Herbomel in sod., 1999; Rombout in sod., 2005). Za populacije makrofagov pri vretenčarjih velja, da se vzdržujejo same in sicer tako, da monociti, ki krožijo v krvi, ob okužbi dozoriijo v tkivne makrofage, kar je bilo dokazano tudi pri ribah (Hodgkinson in sod., 2015). Novejše raziskave pri sesalcih nakazujejo, da predhodniki tkivnih makrofagov izvirajo tudi iz drugih tkiv, prisotnih med embrionalnim razvojem (kot npr. rumenjaka vrečka in fetalna jetra) (Ginhoux in Jung, 2014; Perdiguero in Geissmann, 2016).

Makrofage pri ribah običajno najdemo v obeh slojih timusa, tako skorji kot sredici. V timusu pravih kostnic so odkrili tri vrste makrofagov; melanomakrofage, monocite in večjedrne fagocitne celice, ki nastanejo s spajanjem aktiviranih makrofagov. Poleg tega so makrofagi prisotni tudi v drugih limfatičnih organih, krvi, peritonealni votlini ter med notranjim in zunanjim faringealnim epitelijem (povzeto po Firdaus-Nawi in Saad, 2016). Posebej pomembna je njihova prisotnost v prednji ledvici, kjer sodelujejo pri fagocitozi in bakterični aktivnosti proti različnim patogenom, vključno z zajedavci, plesnimi in bakterijami (Bennani in sod., 1995; Esteban in sod., 1998; Muñoz in sod., 2000; Qiu in sod., 2016). V nekaterih primerih so celo dokazali večjo fagocitozno aktivnost peritonealnih makrofagov v primerjavi z monociti in makrofagi, ki so jih izolirali iz krvi ali prednje ledvice (Esteban in Meseguer, 1997). Aktivnost peritonealnih makrofagov so potrdili pri več vrstah pravih kostnic, med drugim pri šarenki (*Oncorhynchus mykiss*), brancinu (*Dicentrarchus labrax*) in sprehajajočemu somu (*Clarias batrachus*) (Afonso in sod., 1998; Do Vale in sod., 2002; Mamnur Rashid in sod., 2002).

Posebnost makrofagov pri ribah v primerjavi s tisti pri sesalcih je fagocitoza antigenov tudi pri nižjih temperaturah, kar je posledica prilagoditve na poikilotermni način življenja (Kordon in sod., 2018).

Pri sesalcih sicer delimo makrofage v dva po funkciji različna tipa. Eni so klasično aktivirani makrofagi – M1, drugi pa alternativno aktivirani makrofagi – M2 (Hodgkinson in sod., 2015). M1 makrofagi imajo protimikrobno in protitumorsko aktivnost ter onemogočijo celično proliferacijo. Vloga M2 makrofagov je protivnetna, promovirajo celično proliferacijo in celjenje (Mills,

2012). Makrofagi lahko zamenjajo način delovanja (M1 ali M2) glede na signale, ki jih prejmejo iz okolja (Murray in Wynn, 2011). Podobno so tudi pri ribah makrofage opredelili kot M1 in M2 na podlagi funkcionalnih podobnosti s skupinama pri sesalcih (Neumann in sod., 2000), pri cebrici pa so potrdili tudi preklapljanje med obema fenotipoma in s tem visoko plastičnost makrofagov kot odziv na spremembe v okolju (Nguyen-Chi in sod., 2015).

Makrofagi imajo kot profesionalne APC pomembno vlogo tudi pri iniciaciji pridobljene imunosti. Ob vnetju so monociti s kemotakso vpoklicani na mesto okužbe, kjer se diferencirajo v vnetne makrofage. Ti fagocitirajo in obdelajo zunajcelične antigene ter jih predstavijo limfocitom T, s čimer spodbujajo diferenciacijo celic pomagalk tipa 1 (Th1) in tipa 17 (Th17) (Flannigan in sod., 2015).

Vloga makrofagov kot APC je bila potrjena pri več vrstah pravih kostnic, med drugim pri lososih (*Oncorhynchus sp.*), krapu (*Cyprinus carpio*), tilapiji (*Oreochromis niloticus*) in brancinu (*Dicentrarchus labrax*), kjer makrofagi izražajo molekule MHC razreda II (Brubacher in sod., 2000; Vallejo in sod., 1992). Pri napihovalki (*Tetraodon nigroviridis*) so monociti pokazali izražanje molekul družine B7, ki sodelujejo pri stimulaciji in uravnavanju odziva limfocitov T, kar potrjuje tudi njihovo sposobnost predstavitve antigenov in vlogo pri aktivaciji pridobljene imunosti (Sugamata in sod., 2009).

3.2.1.2 Dendritične celice

Dendritične celice (DC) so ključne predstavnice APC, ki sodelujejo tako pri prirojenem kot pridobljenem imunskem odzivu vretenčarjev (Mildner in Jung, 2014). Prisotne v večini tkiv delujejo kot »varnostniki« – zaznavajo prisotne patogene oz. antigene in jih transportirajo v sekundarna limfatična tkiva. Tam jih predstavljajo celicam T in tako uravnavajo pridobljeni imunski odgovor (Alvarez in sod., 2008; Summerfield in sod., 2015).

V zadnjih dveh desetletjih so pri več vrstah pravih kostnic na podlagi morfologije in/ali funkcije opisali ter okarakterizirali DC. Na primer, v celičnih kulturah iz ledvice cebrice so opisali celice z značilno dendritično morfologijo, ki so bile sposobne aktivirati limfocite T (Lugo-Villarino in sod., 2010; Wittamer in sod., 2011). Podobne celice so nato našli tudi pri šarenki v prednji ledvici in zadnji ledvici ter vranici. Te so poleg dendritične morfologije kazale še sposobnost migracije v limfatična tkiva, fagocitoze ter aktivacije prek ligandov TLR (Bassity in Clark, 2012).

Pri pravih kostnicah so poleg tega potrdili izraža-

nje kostimulatornih molekul, značilnih za APC sesalcev, ki aktivirajo naivne celice T. Lin in sod. (2009) so pri cebrici potrdili izražanje pomembnih kostimulatornih molekul, kot so CD80/CD86 in CD83. Zoccola in sod. (2015) so pri baramudi (*Lates calcarifer*) potrdili ekspresijo molekul MHC razreda II in molekularnega markerja DC-SCRIPT ter pokazali, da se izražanje slednjega ob okužbi poveča. Pokazali so tudi, da se nezrele DC najprej premaknejo iz prednje ledvice proti mestu okužbe, nato pa v vranico, kjer antigen predstavijo celicam T in s tem spodbudijo njihovo proliferacijo.

Ena od oblik DC pri sesalcih so tudi Langerhansove celice (LC), ki so prisotne v epidermisu kože, kjer hitro po okužbi zaznajo prisotnost patogenov (Igyártó in Kaplan, 2013). Številne študije so potrdile obstoj celic, podobnih LC, tudi pri pravih kostnicah. Med drugim so jih identificirali pri atlantskem lososu (*Salmo salar*) in šarenki v prednji ledvici ter vranici (Lovy in sod., 2008), Lovy in sod. (2006) pa so te celice med okužbo našli v škrgah kraljevskega lososa (*Oncorhynchus tshawytscha*). Kordon in sod. (2016) so LC identificirali v prednji ledvici, vranici in škrgah kanalskega soma (*Ictalurus punctatus*).

3.2.1.3 Limfociti B

Čeprav je primarna vloga limfocitov B produkcija protiteles v okviru pridobljene imunosti, imajo te celice pomembno vlogo tudi v prirojenem imunskem odgovoru. Dolgo je sicer veljalo, da celice B niso sposobne endocitoze večjih delcev, kar so ovrgli Souwer in sod. leta 2009, ko so dokazali, da so humane celice B preko B celičnega receptorja endocitirale živo *Salmonella typhimurium*.

Pri sesalcih delimo limfocite B na več skupin, ki imajo drugačne vloge in jih najdemo na različnih lokacijah v telesu; delimo jih na celice B-1 (te se dodatno delijo na B-1a in B-1b), celice B-2 (ali folikularne) in celice B marginalne cone (MZ) (Zhang, 2013). Celice B-2 se odzovejo na antigen s sodelovanjem celic T pomagalk v germinalnih centrih, kjer proizvajajo visoko afinitetna protitelesa z visoko specifičnostjo za antigen (Tafalla in sod., 2017). Nasprotno celice B-1 in MZ delujejo neodvisno od celic T pomagalk ter proizvajajo nizkoafinitetna protitelesa s širokim spektrom delovanja, kar omogoča hitro obrambo – predvsem v okviru mukozne zaščite (Tafalla in sod., 2017; X. Zhang, 2013). Parra in sod. so leta 2012 pokazali, da so celice B-1 oz. natančneje celice B-1a pri miškah tiste s povečano fagocitno aktivnostjo, obe podskupini celic B-1 pa sta bili sposobni tvoriti fagolizosome in uničiti ponotranjene (internalizirane) bakterije ter predstaviti njihove anti-

gene celicam T pomagalkam (CD4⁺). Pri celicah B-2 je bila fagocitna aktivnost bistveno nižja.

Fagocitno aktivnost in znotrajcelično uničenje mikrobov so dokazali tudi pri limfocitih B, prisotnih pri pravih kostnicah. Pri cebrici so limfociti B tako fagocitirali topne kot netopne antigene (L. Zhu in sod., 2014), pri šarenki pa so zaznali fagocitno aktivnost in nastanek fagolizosomov, kar dokazuje protibakterijsko delovanje limfocitov B (J. Li in sod., 2006). Fagocitozo dokazali tudi pri atlantskem lososu, trski (*Gadus morhua*) in kanalskem somu (Kordon in sod., 2018; Øverland in sod., 2010). Poleg tega je bila pri cebrici dokazana tudi njihova vloga kot APC, ki preko MHC tipa II predstavljajo antigene celicam CD4⁺, jih aktivirajo in tako zaženejo pridobljeni imunski odziv (L. Zhu in sod., 2014).

3.2.2 Receptorji za prepoznavo molekularnih vzorcev (PRR)

Pri sesalcih ločimo pet glavnih družin receptorjev PRR: TLR (Toolu podobni receptorji; angl. Tool-like receptors), CLR (lektinski receptorji C tipa, angl. C-type lectin receptors), NLR (NOD-podobni receptorji angl. NOD-like receptors), RLR (RIG-I-podobni receptorji angl. RIG-I-like receptors) in ALR (AIM2 podobni receptorji, angl. AIM2-like receptors) (Brubaker in sod., 2015). Membranski receptorji TLR in CLR zaznavajo zunanje mikrobne molekule (PAMP) in tvorijo prvo obrambno linijo pred patogeni, medtem ko se citoplazemski receptorji NLR, RLR in ALR odzivajo na intracelularne patogene ali s poškodbami povezane molekule. Ko prepoznajo PAMP, receptorji sprožijo signalne kaskade (prek transkripcijskih dejavnikov NF- κ B in IRF), ki vodijo v proizvodnjo pro-vnetnih citokinov in interferonov ter v akutni vnetni odziv.

Podobno imajo tudi prave kostnice širok nabor receptorjev PRR, ki jih uvrščamo v štiri družine: TLR, CLR, NLR in PGRP (peptidoglikan prepoznavajoče proteine, angl. peptidoglycan recognition proteins). V družino PGRP torej uvrščamo PRR, ki prepoznavajo peptidoglikane grampozitivnih in gramnegativnih bakterij in imajo visoko ohranjeno strukturo med nevretenčarji in vretenčarji – gre torej za evolucijsko starejšo družino od TLR, CLR in NLR, ki izvira iz amidazne encimske družine (Boltaña in sod., 2011).

Pri pravih kostnicah so prav tako identificirali še gene za receptorje CLR, NLR (npr. NOD1, NOD2 in NOD3) in RLR ter receptorje, ki posredno prepoznavajo patogene – npr. Fc receptorje, komponente komplemента in scavenger receptorje (Meng in sod., 2012; Poynter in sod., 2015; P. D. Smith in sod., 2011; van der

Vaart in sod., 2012). Do sedaj pa pri ribah niso našli receptorjev PRR iz družine ALR (Aoki in sod., 2015).

3.2.2.1 Tollu podobni receptorji (TLR)

Pri pravih kostnicah so receptorje TLR prvič odkrili pri zlati ribici (*Carassius auratus auratus*) leta 2003 (Stafford in sod., 2003), kmalu zatem pa še pri napihovalki (*Fugu rubripes*) (Oshiumi in sod., 2003) in cebrici (Jault in sod., 2004). Takano s sodelavci je leta 2011 pri japonski iverki (*Paralichthys olivaceus*) identificiral kar 11 homologov TLR.

Receptorji TLR so pri ribah številčnejši kot pri sesalcih. Pri pravih kostnicah so identificirali vsaj 17 različnih receptorjev TLR. Tako pri sesalcih kot pravih kostnicah najdemo: TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 in TLR9 (Roach in sod., 2005; Takano in sod., 2011). Dodatni receptorji TLR, ki so jih odkrili pri pravih kostnicah, so: pri napihovalki TLR14, TLR21-23 (Oshiumi in sod., 2003), pri cebrici TLR18-22 (Jault in sod., 2004; Meijer in sod., 2004), pri kanalskem somu pa kar 20 različnih TLR-jev, vključno s TLR26, ki je edinstven za to vrsto (Quiniou in sod., 2013).

Tako kot pri sesalcih tudi pri ribah receptorji TLR prepoznavajo evlucijsko ohranjene unikatne molekule, prisotne pri mikrobih (PAMPs). Ta prepoznava povzroči vnetni odziv, ki sproži aktivacijo prirojene imunosti (Akira in sod., 2006).

Za razliko od sesalskih pa nekateri receptorji TLR pri ribah kažejo dodatne specializacije. Na primer, receptor TLR5 pri ribah ne prepozna samo bakterijskega flagelina (kot pri sesalcih), ampak lahko pri nekaterih vrstah reagira tudi na virusno dsRNA (Weber, 2022). Nedavna študija je pokazala, da ima beli amur (*Ctenopharyngodon idella*) dve kopiji TLR5, od katerih ena zazna virusno dsRNA in sproži protivirusni signal – funkcijo, ki je v sesalskem receptorju TLR5 izginila (Liao in sod., 2022). Ta primer kaže, da receptorji TLR pri pravih kostnicah niso le številčnejši, temveč so pogosto tudi funkcionalno bolj raznoliki v primerjavi s sesalci.

Če povzamemo, so pri pravih kostnicah identificiranih več kot 80 PRR-jev iz družin TLR, RLR in NLR, čeprav so ligandi potrjeni le za nekaj od njih (npr. TLR5, TLR9, TLR19, TLR21, TLR22, RLR MDA5, LGP2 ter NOD1, NOD2). Ta obsežna raznolikost PRR pri ribah omogoča hitro in specifično prepoznavanje raznovrstnih patogenov v vodnem okolju.

3.2.3 Granulociti

Granulociti, ki jih pri ribah poznamo tudi pod imenom polimorfonuklearni (PMN) levkociti, imajo

značilno morfologijo; njihova citoplazma vsebuje številne manjše granule, po katerih jih delimo na tri tipe: nevtrofilce, bazofilce in eozinofilce (Firdaus-Nawi in Saad, 2016).

Nevtrofilci so največji med granulociti, gre za profesionalne fagocitne celice, ki kot prve potujejo po krvi do mesta okužbe (Havixbeck in Barreda, 2015; Katzenback in Belosevic, 2009). Na mestu okužbe aktivirani nevtrofilci fagocitirajo patogen in iz znotrajceličnih granul sproščajo toksične snovi, ki patogen uničijo (Fleurova in Balabanova, 2013; Rieger in sod., 2012), hkrati pa sproščajo tudi nevtrofilne izvencelične pasti (NET; angl. neutrophil extracellular traps) iz protimikrobnih proteinov, ki patogenu onemogočijo širjenje (Brinkmann in sod., 2004; Palić in sod., 2007; Pijanowski in sod., 2013).

Eozinofilci imajo pri sesalcih pomembno vlogo pri alergičnih vnetnih reakcijah in pri uničevanju parazitov (Acharya in Ackerman, 2014). Prav tako naj bi imeli tudi pri pravih kostnicah podobno vlogo pri uničevanju parazitov, kar so dokazali v raziskavi na cebrici, kjer so bili eozinofilci morfološko podobni tistim pri sesalcih in so se z degranulacijo in proliferacijo odzvali na okužbo s helminti (Balla in sod., 2010).

Bazofilci so najmanj številčni granulociti, ki jih v krvi pravih kostnic najdemo le redko (Tavares-Dias, 2006). Vezava imunoglobulinov razreda D na njihovo površino sproži nastanek protimikrobnih snovi (npr. katelicidna, pentraksina-3 in defenzina) (Edholm in sod., 2011).

Tako kot makrofage, tudi granulocite najdemo v limfatičnih tkivih, krvi in peritonealni votlini (Ainsworth, 1992). Na njihovo razporejenost v tkivih, krvi in drugih telesnih tekočinah vpliva veliko dejavnikov, kot so sezonske spremembe, bolezni, okoljska onesnažila ter rokovanje in transport. (Fletcher, 1986; Lamas in Ellis, 1994).

3.2.4 Nespecifične citotoksične celice (NCC)

Nespecifične citotoksične celice (NCC) pri pravih kostnicah veljajo za evlucijski analog naravnih celic ubijalk (NK; angl. natural killer cells) sesalcev. Delijo si namreč kar nekaj podobnosti; oba tipa celic prepoznata in uničujeta tarčne celice preko kompetentnega litičnega cikla, tarčne celice za lizo so pri obeh tipih podobne, le-te prepoznavajo na enak način in imajo enake efekte, da lizo patogenih organizmov (Jaso-Friedmann in sod., 1993; Mali in sod., 2017). Študije na NCC pri pravih kostnicah so pokazale, da so med njihovimi tarčami podobno kot pri celicah NK rakaste celice in z virusom okužene celice, dodatno pa celo nekateri protozoji (Whyte, 2007). NCC so najbolj aktivne v prednji ledvici

pravih kostnic, citolitično aktivnost pa so opazili tudi pri NCC iz vranice in periferne krvi, kjer so sicer precej redke (Evans in sod., 1984 cit. Kordon in sod., 2018).

Podobno kot pri NK je tudi pri NCC za njihovo citotoksično delovanje potreben neposreden celični stik s tarčno celico (Evans in Jaso-Friedmann, 1992). Pri nekaterih vrstah rib, npr. morskih psih, so makrofagi tisti, ki so odgovorni za spontano citotoksičnost (McKinney in sod., 1986).

Poleg podobnosti najdemo kar nekaj specifik, po katerih se NCC razlikujejo od celic NK; mednje sodi kinetika delovanja in morfologija ter specifičnost tarčnih celic (Evans in Jaso-Friedmann, 1992). Celice NK so velike in bogate z litičnimi granulami (granulirane), NCC pravih kostnic pa so majhne, agranulirane in po obliki spominjajo na monocite (Mokhtar in sod., 2023). V primerjavi s celicami NK so NCC bolj učinkovite in hitreje pri uničevanju okuženih celic, prav tako lahko lizirajo celice v širšem temperaturnem območju, torej tudi pri nižjih temperaturah. Za razliko od celic NK se NCC ne reciklirajo – po delovanju ne preživijo in ne zmorejo napada na novo tarčo (Mali in sod., 2017).

Kljub splošno priznanemu načelu, da prirojena imunost nima imunskega spomina, so v zadnjem desetletju odkrili nekaj novih vlog celic NK in monocitov/makrofagov, ki naj bi imele nekatere lastnosti, sicer značilne za adaptivni imunski odziv – specifičnost in spomin proti antigenu. Tako naj bi se ob ponovnem srečanju odzvale hitreje in močnejše na že poznani antigen. Netea (2013) opredeli te imunske odgovore kot »trenirano (priučeno) imunost« (angl. trained immunity). Gre torej za sposobnost monocitov in makrofagov, da po prvem stiku z antigenom spremenijo epigenetski profil preko modifikacije histonov, celice NK pa s spremembami na membranskih receptorjih, kar privede do tega, da ob ponovnem stiku z antigenom te celice reagirajo hitreje in siloviteje. Ta učinek je neodvisen od celic T in B in tako omogoča dodatno zaščito pred ponovnimi okužbami preko mehanizmov prirojene imunosti.

Tako kot pri sesalcih so nekatere raziskave pokazale, da tudi pri pravih kostnicah prisotni β -glukani inducirajo trenirano imunost (Petit in Wiegertjes, 2016). Kato in sod. (2011) so pri vrsti morskega lista (*Paralichthys olivaceus*) tako opazili, da vakcinacija z oslabljenim sevom bakterije *Mycobacterium bovis* (cepivo BCG) povzroči izrazito povečanje vnetnih citokinov (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF α) in izboljšano zaščito proti okužbi z mikobakterijami. Njihove ugotovitve nakazujejo, da so nekateri mehanizmi imunske zaščite po cepljenju delovali tudi preko prirojenih odzivov, tipičnih za trenirano imunost.

3.2.5 Mastociti oz. eozinofilne granularne celice (EGC)

Mastociti (tkivni bazofilci) so mononuklearne celice, ki izvirajo iz hematopoetskih matičnih celic. Pri sesalcih nastajajo v kostnem mozgu in se med razvojem preselijo v periferna tkiva, kjer dozori (Sfacteria in sod., 2015). Mastociti imajo nepravilno obliko in vsebujejo številne citoplazemske granule (Dezfuli in sod., 2011). Vsebujejo biološko aktivne mediatorje, kot so histamin in serotonin, ter litične encime in protimikrobne beljakovine (Galindo-Villegas in sod., 2016). Pri človeku mastocite razvrščamo v dve glavni skupini glede na sestavo proteaz v njihovih sekretornih granulah: MC(T), ki vsebujejo predvsem tripazo, ter MC(TC), ki poleg tripaze vsebujejo še kimazo in karboksipeptidazo (Fong in Crane, 2025).

Pri ribah so bile opisane celice, podobne mastocitom, imenovane eozinofilne granularne celice (EGC). Te celice so po svoji ultrastrukturi in funkciji primerljive s sesalskimi mastociti, vendar nimajo neposrednih homologov skupin MC(T) in MC(TC). Podobno kot sesalski mastociti nastajajo v krvotvornih organih teleostov in nato migrirajo v tkiva, kjer dozori.

EGC igrajo pomembno vlogo pri prirojenem kot tudi pridobljenem imunskem odzivu. Pri pravih kostnicah se EGC na okužbe odzovejo z migracijo in degranulacijo (Mulero in sod., 2007). Degranulacija pomeni sprostitve vsebine granul v zunajcelično okolje, kar sproži obrambni odziv in lokalno vnetje; pri tem se izločajo vnetni mediatorji, med katerimi so biogeni amini (histamin), lipidni mediatorji (prostaglandini in levkotrieni), proteaze ter citokini in kemokini (kot so TNF- α , GM-CSF, IL-4 in IL-6) (Heib in sod., 2008; Theoharides in sod., 2012). Ti mediatorji povzročijo vazodilatacijo, povečano prepustnost žil in privabljanje nevtrofilcev in makrofagov na mesto okužbe. EGC izražajo tudi receptorje TLR in RIG-I, kar jim omogoča prepoznavanje patogenov ter njihovo fagocitozo in uničenje z encimskimi in oksidativnimi mehanizmi (St. John in Abraham, 2013). Poleg tega lahko antigene predstavijo limfocitom T prek molekul MHC razreda I in II ter s tem vplivajo na aktivacijo celic pridobljene imunosti (Henz in sod., 2001; Maurer in sod., 2003).

Zaradi svoje vloge pri zaznavanju patogenov se EGC pri pravih kostnicah pojavljajo v vezivnem tkivu, koži, škrgnih filamentih, črevesju in možganih (Dezfuli in sod., 2010). Prav tako se odzovejo na invazijo helmintov v mukoznih predelih, prebavnem traktu in škrgah (Firdaus-Nawi in Saad, 2016). Pri nekaterih pravih kostnicah so identificirali Fc-receptorju podobne molekule, vključno s topnimi oblikami, ki vežejo IgM; vendar pa je membransko izražanje klasičnega Fc μ R na

EGC pri pravih kostnicah še slabo dokumentirano in verjetno variira med vrstami (npr. IpFcRI pri pikastemu somiču (*Ictalurus punctatus*)) (Nayak in sod., 2010).

3.3 HUMORALNI MEHANIZMI PRIROJENEGA IMUNSKEGA SISTEMA RIB

Poleg celičnih komponent imajo prave kostnice mnoge nespecifične humoralne mehanizme, ki so med evlucijsko najstarejšimi oblikami imunske zaštite pri vretenčarjih in so v veliki meri ohranjeni tudi pri sesalcih. Ti vključujejo različne encime, plazemske proteine, sestavine sistema komplementa in citokine, ki skupaj omogočajo hitro prepoznavanje, nevtralizacijo in odstranjevanje patogenov. Humoralni dejavniki ne delujejo le kot prva linija obrambe, temveč tudi kot pomemben most med prirojeno in pridobljeno imunostjo, saj s svojim delovanjem vplivajo na aktivacijo fagocitov, limfocitov in sprožitev specifičnega imunskega odziva (Magnadóttir, 2006; Saurabh in Sahoo, 2008).

3.3.1 Lizocim

Lizocim je encim, ki ga izločajo levkociti in ima pri ribah širši spekter delovanja v primerjavi s sesalci (Demers in Bayne, 1997). Prisoten je v številnih organizmih, vse od bakteriofagov, rastlin, nevretenčarjev in vretenčarjev. Pri vretenčarjih je prisoten v slini, mukusu in krvi in ima antibiotični učinek, ter je pokazatelj nespecifičnih imunskih funkcij (Ferraboschi in sod., 2021).

Pri ribah lizocim izločajo predvsem nevtrofilci, v manjši meri pa tudi monociti in makrofagi (Saurabh in Sahoo, 2008). Zato ga najdemo predvsem v organih, ki so bogati z levkociti, kot so prednja ledvica in na mestih pogostega stika z antigeni: škрге, koža, črevesje in ikre (Lie in sod., 1989). Tako pri sladkovodnih kot morskih vrstah so lizocim zaznali še v mukusu, periferni krvi in nekaterih drugih tkivih (Ebran in sod., 2000; Fagan in sod., 2003).

Pri sesalcih deluje lizocim primarno tako, da poškoduje peptidoglikanski sloj bakterijske celične stene. Pri gramnegativnih bakterijah, ki imajo zunanjo membrano, ki zakriva peptidoglikanski sloj, deluje s sistemom komplementa in ostalimi encimi, ki najprej oslabijo zunanji sloj stene (Saurabh in Sahoo, 2008) in tako omogočijo lizocimu dostop in uničenje globljih struktur (Iacono in sod., 1980), kar poveča permeabilnost in povzroči propad bakterijske celice. Pri ribah pa ima lizocim povečan protibakterijski učinek tako proti grampozitivnim kot tudi gramnegativnim bakterijam ob odsotnosti komplementa (Saurabh in Sahoo, 2008).

To lahko pripišemo prilagoditvi aminokislinske sestave lizocima pri ribah in večji sposobnosti destabilizacije zunanje membrane gramnegativnih bakterij, kar najverjetneje izvira iz evlucijske prilagoditve rib na okolje, bogato z gramnegativnimi bakterijami (Saurabh in Sahoo, 2008). Dodatno lizocim preprečuje vertikalni prenos nekaterih bakterij med ribami (Yousif in sod., 1994). Poleg antibakterijske funkcije lizocim promovira tudi fagocitozo direktno preko aktivacije granulocitov oziroma polimorfonuklearnih levkocitov in makrofagov ali posredno preko opsonizacije (Saurabh in Sahoo, 2008).

3.3.2 Alkalna fosfataza

Poleg lizocima je pomemben encim, ki deluje v prirojenem imunskem sistemu rib, tudi alkalna fosfataza (ALP). Gre za lizosomski encim, ki je prisoten predvsem v mukusu (na koži in črevesju) in v krvnem serumu (Nigam in sod., 2012). ALP sodeluje pri zmanjševanju toksičnosti mikrobnih komponent, z defosforilacijo lipopolisaharidov namreč preprečuje pretiran vnetni odziv. Njena aktivnost se dokazano poveča ob stresu (Ross in sod., 2000), ob okužbah s paraziti (Fast in sod., 2002) ter med celjenjem površinskih ran (Rai in sod., 2013), kar potrjuje njeno vlogo pri vzdrževanju homeostaze in regeneraciji tkiv. V epitelijskih in fagocitnih celicah mukoznih površin deluje kot pomemben regulator vnetja in sestavni del prve linije imunske obrambe pri ribah.

3.3.3 Sistem komplementa

Sistem komplementa je eden ključnih mehanizmov humoralnega dela prirojenega imunskega sistema, njegova primarna vloga je prepoznavanje evlucijsko ohranjenih antigenov pogostih patogenov, kar vodi v aktivacijo proteolitičnih kaskad in v končni fazi uničenje mikroorganizmov. Sestavlja ga več kot 35 proteinov, tako topnih kot membransko vezanih celičnih receptorjev, poleg svoje primarne vloge v prirojenem imunskem sistemu pa predstavlja most med prirojenim in pridobljenim imunskim odzivom (Dunkelberger in Song, 2010; Gasque, 2004). Kot tak nosi mnogo različnih vlog: vpliva na vnetno vazodilatacijo, lizo bakterij in okuženih celic, fagocitozo tujkov in čiščenje apoptotiziranih celic. Njegovo baktericidno aktivnost so dokazali tudi pri več vrstah rib (Mokhtar in sod., 2023).

Sistem komplementa pri ribah ima veliko vzporednic s tistim pri sesalcih, s tem da je pri ribah raznolikost komponent komplementa še večja; zaradi večkratnih duplikacij genoma imajo ribe vsaj pet izooblik C3 proteina znotraj posamezne vrste, kar najverjetneje

vodi do širšega nabora mikrobnih molekul, ki jih prepozna njihov prirojeni imunski sistem (povzeto po Holland in Lambris, 2002).

Podobno kot pri sesalcih se sistem komplementa tudi pri večini rib aktivira preko treh poti: klasične, alternativne in lektinske. Edina izjema so brezčeljustnice, kjer ni klasične in litične poti aktivacije (pri njih tako ne pride do nastanka kompleksa MAC (angl. membrane attack complex)) (Nonaka in sod., 1994). Klasična pot je sicer pogostejša pri sesalcih in vključuje nastanek kompleksa med antigenom in protitelesom (Gasque, 2004). Aktivira se z vezavo Fc dela IgG ali IgM s C1q komponento C1 kompleksa, kar sproži nadaljnjo kaskado (Kishore in Reid, 2000; Muller-Eberhard, 1986). Lahko jo aktivirajo tudi proteini akutne faze ali neposredno virus, bakterija ali z virusom okužene celice (Holland in Lambris, 2002). Podobno kot pri sesalcih je klasična pot tudi pri pravih kostnicah aktivirana z vezavo C1q komponente s protitelesom, le da gre tu za IgM, IgD ali IgT protitelesa. Prav tako pa lahko poteče aktivacija klasične poti neodvisno od protiteles, kjer se C1q veže neposredno na površino bakterij, virusov ali gliv, in ima pri pravih kostnicah še večji pomen, saj je aktivirana s strani prirojene imunosti. C1q tako pri njih deluje kot PRR, saj se direktno veže na PAMP in v primerjavi s sesalci prepozna tudi širši nabor prepoznavnih vzorcev (povzeto po Boshra in sod., 2006).

Alternativna pot je aktivna tako v serumu rib kot sesalcev, vendar ima pri ribah večji pomeni, saj deluje neodvisno od protiteles, je torej aktivirana direktno s strani virusov, bakterij, gliv in celo tumorskih celic ter zagotavlja hitro obrambo pred patogeni (Holland in Lambris, 2002). Poleg tega sistem komplementa preko alternativne poti povzroči lizo eritrocitov mnogih živalskih vrst (pri človeku npr. povzroči lizo izključno kunčjih eritrocitov), kar potrjuje širši nabor molekul, ki jih prepoznavajo prave kostnice, kar je posledica mnogih izooblik posameznih komponent komplementa (Oriol Sunyer in Tort, 1995).

Lektinska pot je po delovanju podobna klasični, vendar se pri ribah sproži brez protiteles – kompleks C1 je nadomeščen z lektinom, ki se ob vezavi na manozo na površini mikrobov aktivira in sproži kaskado komplementa (Fujita in sod., 2004). Po aktivaciji komplementa so mikrobi fagocitirani in lizirani iz strani makrofagov ali citotoksičnih celic.

3.3.4 C reaktivni protein

C reaktivni protein (CRP) je topna molekula, ki jo sintetizirajo predvsem jetra, v manjši meri tudi vranica in ledvice, in je prvi protein, ki ga najdemo v krvni plazmi ob tkivni poškodbi, okužbi ali vnetju, pri čemer

se njegova koncentracija v krvni plazmi lahko poveča tudi za več velikostnih redov. Odkrili so ga leta 1930 in ga identificirali kot prvo molekulo, ki v prirojenem imunskem sistemu prepozna specifične mikrobne vzorce (Mantovani in sod., 2008).

CRP je pri ribah eden pomembnejših proteinov akutne faze okužbe. Prepozna fosforilholin in druge polisaharidne strukture na površini bakterij, gliv in poškodovanih celic ter s tem omogoča aktivacijo komplementa prek C1q in opsonizacijo patogenov za fagocitozo. Zaradi teh lastnosti predstavlja enega ključnih humoralnih efektorjev prirojene imunosti pri ribah (Mantovani in sod., 2008). Prisotnost homolognih genov in podobnih funkcij pri različnih skupinah rib, med drugimi pri šarenki, tilapiji (*Tilapia mossambica*), pikastemu somiču in japonski jegulji (*Anguilla japonica*) kaže, da gre za evolucijsko zelo ohranjen mehanizem obrambe, ki se je pojavil že pri zgodnjih vretenčarjih (Murai in sod., 1990; Nunomura, 1991; Ramos in Smith, 1978; Szalai in sod., 1994).

3.3.5 Transferin

Transferin je glikoprotein, katerega primarna naloga je, da v varni obliki prenaša železo po telesu – od mest absorpcije, uporabe ali shranjevanja do drugih delov telesa, kjer je železo potrebno (Gomme in sod., 2005). Čeprav je železo nujno za rast in preživetje, je v prevelikih količinah toksično za celice (Kohgo in sod., 2008). Zato je natančno uravnavanje med fiziološko ustreznimi in prekomernimi koncentracijami železa nujno za vzdrževanje homeostaze.

Sinteza transferina poteka predvsem v jetrih, od koder se izloča v kri, najdemo ga pa tudi v možganih in centralnem živčnem sistemu, testisih, jajčniki, vranici, mlečni žlezi in ledvicah (Lambert in sod., 2005). Transferin kot komponenta prirojene imunosti deluje tako, da veže železo in s tem zmanjšuje njegovo razpoložljivost za mikroorganizme (angl., nutritional immunity), kar ustvarja neugodno okolje za njihovo rast in zmanjša njihovo infektivnost (J. Chen in sod., 2009; Jurecka, Irnazarow, in sod., 2009; Jurecka, Wiegertjes, in sod., 2009). Pri ribah predstavlja transferin pomemben protein akutne faze, njegova koncentracija v plazmi pa se poveča ob okužbah, izpostavljenosti stresu ali poškodbah tkiv, zato se pogosto uporablja kot biološki označevalec imunskega odziva in splošnega fiziološkega stanja organizma (Magnadottir in sod., 2005).

Prisotnost transferina so dokazali v vseh treh skupinah rib, tako pri brezčeljustnicah, hrustančnicah in pri preko 100 vrstah pravih kostnic (povzeto po Firdaus-Nawi in Saad, 2016).

3.3.6 Lektini

Lektini so proteini z mnogimi različnimi funkcijami. Zaradi njihove zmožnosti vezave na ogljikove hidrate in aglutinacije celic so jih sprva uvrščali med hemaglutinine (Russell in Lumsden, 2005). Poznamo dva tipa lektinov, od kalcija neodvisni S lektini in od kalcija odvisni C lektini (Radhakrishnan in sod., 2023).

Lektine pri ribah najdemo v mukusu na koži in v ikrah. Glavni funkciji lektinov v imunskem sistemu sta aglutinacija patogenov in spodbujanje fagocitoze (Ewart in sod., 1999; Fock in sod., 2001). Lektini, prisotni v ikrah, imajo funkcijo inhibicije rasti nekaterih patogenov (Voss in sod., 1978), na ta način nudijo zaščito razvijajočim se ikram pred zunanjimi patogeni in pred morebitnim prenosom patogenov iz matere.

Prisotnost lektinov tipa C, galektinov in pentraksinov so dokazali pri vseh treh skupinah rib, od najbolj enostavnih brezčeljustnic do evlucijsko bolj naprednih pravih kostnic, kot sta npr. losos in krap (Vasta in sod., 2004).

3.3.7 Citokini

Citokini so signalne molekule, ki omogočajo spoznavanje med celicami imunskega sistema in uravnavajo potek imunskega odziva. Pri ribah so, podobno kot pri drugih vretenčarjih, prisotni skoraj vsi glavni citokinski sistemi, ki sodelujejo pri protivirusni, protivnetni in imunoregulacijski zaščiti (Castro in sod., 2008). Gre za proteine ali glikoproteine, ki sprožijo protivirusno obrambo v celicah s tem, da inhibirajo virusno replikacijo (Samuel, 2001).

Med njimi so ključni interferoni (IFN), interleukini (IL-1 β , IL-6) in dejavnik tumorske nekroze- α (angl. tumor necrosis factor- α , TNF- α) (Robertsen, 2006; Snegaroff, 1993).

Interferoni so glavni citokini protivirusne obrambe in jih delimo v tri skupine. IFN tipa I (npr. IFN- α in IFN- β) delujejo preko receptorja IFNAR in inducirajo protivirusne gene (ISG), IFN tipa II (IFN- γ) imajo širše delovanje in sodelujejo v celično posredovani imunosti ob odgovoru na velik nabor različnih patogenov, IFN tipa III pa ščitijo predvsem mukozne površine (Redmond in sod., 2019). Posebnost IFN tipa I pri ribah je njihova genska struktura s petimi eksoni in štirimi introni. Introni so se pri sesalcih in pticah izgubili, kar nakazuje na ohranitev izvirne strukture pri ribah (Robertsen in sod., 2003).

Med drugimi citokini imata pomembno vlogo IL-1 β in TNF- α , ki sodita med zgodnje protivnetne citokine. IL-1 β se sprošča po aktivaciji PRR s PAMP in DAMP ter spodbuja izločanje drugih distalnih citoki-

nov, kot sta IL-6 in IL-8; poleg tega IL-8 deluje kot adjuvans v kombinaciji z bakterijskimi cepivi in ojača nastanek protiteles. Zaradi večkratne duplikacije celotnega genoma so pri pravih kostnicah geni za IL-1 β in TNF- α pogosto prisotni v več kopijah (npr. pri salmonidih do štiri). TNF- α aktivira makrofage in spodbuja fagocitozo ter produkcijo dušikovega oksida, s čimer pomembno prispeva k protivnetnemu odzivu (povzeto po Mokhtar in sod., 2023).

4 PRIDOBLENI IMUNSKI SISTEM

Pridobljena imunost predstavlja zadnjo linijo obrambe organizma pred patogeni in se aktivira, ko prirojena imunost ne zmore premagati okužbe. Pridobljena imunost opredeljujeta dve bistveni značilnosti – specifičnost in spomin. Je namreč visoko specifična za patogen, nudi pa tudi vsaj dolgotrajno, pogosto celo trajno zaščito pred njim. Aktivirana je s strani antigenov in prirojene imunosti (Rubio-Godoy, 2010).

Prve limfocitom podobne celice, sposobne specifičnega imunskega odziva, so se pojavile pri brezčeljustnicah, kot sta piškur in glenavica, pred približno 500 milijoni let (Brazeau in Friedman, 2015; Flajnik in Kasahara, 2010). Te vrste že imajo edinstven sistem pridobljene imunosti, ki temelji na variabilnih limfocitnih receptorjih (VLR), nastalih z genskimi rekombinacijami levcijsko bogatih ponovitev (Kasamatsu in sod., 2010), značilnimi za višje vretenčarje. V siluru, pred okoli 430 milijoni let, z nastankom prvih vretenčarjev s čeljustjo, pa so se pojavile glavne komponente klasičnega pridobljenega imunskega sistema: T-celični receptorji (TCR), poglobitni kompleks tkivne skladnosti (MHC), imunoglobulini (Ig) ter gena RAG1 in RAG2 (angl., recombination-activating gene), odgovorna za aktivacijo V(D) J rekombinacije. Ta sistem je omogočil izjemno raznolikost antigenskih receptorjev in s tem evlucijski preboj v kompleksnosti imunskega odziva pri vretenčarjih (Fugmann in sod., 2006; Litman in sod., 2010; Veríssimo in sod., 2023).

V primerjavi s sesalci je pridobljeni imunski sistem pri ribah zapoznel in manj učinkovit. Razloge za to lahko pripišemo že omenjeni manjši kompleksnosti limfatičnih tkiv, pa tudi drugim razlogom, kot so počasna proliferacija in zorenje limfocitov ter manjše število različnih razredov protiteles (Magnadóttir in sod., 2005; Magnadóttir, 1998).

Pridobljeni imunski sistem, ki ga sestavljajo predvsem limfociti, delimo na humoralni in celično posredovani imunski odziv (Uribe in sod., 2011). Pri humoralnem odzivu delujejo limfociti B, ki po aktivaciji tvorijo protitelesa in tako ščitijo pred zunajceličnimi

antigeni, kot so prosti mikrobi ali njihovi toksini. Pri celično posredovani imunosti pa delujejo limfociti T, ki se po aktivaciji diferencirajo v citotoksične celice T (CD8⁺) ali celice T pomagalke (CD4⁺) (Nakanishi in sod., 2015). Ta veja imunskega odziva deluje predvsem prek neposrednega stika efektorskih celic z okuženimi ali spremenjenimi celicami ali prek citokinov, ki jih izločajo celice T pomagalke in s katerimi aktivirajo druge celice (npr. makrofage). Zaradi tega ima celično posredovan imunski odziv ključno vlogo pri odstranjevanju znotrajceličnih patogenov in nadzoru tumorskih celic.

Visoko specifičnost in s tem izjemno prilagodljivost pridobljenega imunskega sistema omogočata rekombinacija variabilnih (V; angl. variable), raznolikih (D; angl. diversity) in združevalnih (J; angl. joining) genskih segmentov ter somatske hipermutacije (Chaplin, 2010; Litman in sod., 2010). Ta mehanizma omogočata, da se razmeroma majhno število genov prevede v ogromno število različnih antigenskih receptorjev, izraženih na posameznih limfocitih. Rezultat je visoka specifičnost receptorjev pridobljenega imunskega sistema in naraščanje afinitete protiteles ob ponovnem stiku z istim antigenom. Pri V(D)J rekombinaciji sodelujeta limfocitno specifična encima RAG1 in RAG2 (angl., *recombination-activating genes*), ki prepoznata rekombinacijske signalne sekvence in cepita tarčno DNA, s čimer omogočita preureditev genskih segmentov (Carmona in sod., 2016; Fugmann in sod., 2006).

Gene za V(D)J so identificirali pri več vrstah pravih kostnic, med drugimi pri cebrici, šarenki in napihovalki fugu (*Takifugu rubripes*) (Mashoof in Criscitiello, 2016). Prav tako so tudi pri pravih kostnicah potrdili delovanje genov RAG1 in RAG2, kar kaže, da pri njih poteka rekombinacija V(D)J segmentov po enakem mehanizmu kot pri sesalcih (Greenhalgh in Steiner, 1995; Willett in sod., 1997). Poleg tega so pri pravih kostnicah dokazali tudi encim za aktivacijo somatskih hipermutacij (AID; angl. activation-induced cytidine deaminase), ki sproži hipermutacije v genu za protitelo in s tem – kot pri sesalcih – omogoča zorenje afinitete protiteles (Barreto in sod., 2005).

Pri vsakem limfocitu B ali T pride do ireverzibilne V(D)J rekombinacije, ki generira edinstveno zaporedje antigenskega receptorja. Ta sprememba je specifična za posamezno celico in se ohrani v vseh njenih potomkah, tako da vsi limfociti istega kлона izražajo enak, za antigen specifičen receptor, kot izvorna celica. Med temi celicami nastanejo tudi spominske celice B in T, ki ne sodelujejo neposredno v obrambi, ampak zagotavljajo dolgotrajno imunsko zaščito ob ponovni izpostavitvi istemu antigenu (Firdaus-Nawi in Saad, 2016).

Spominske celice so bile potrjene tudi pri pravih kostnicah, čeprav je njihov imunski spomin organiziran

drugače kot pri sesalcih, saj ne tvorijo germinalnih centrov. Piazzon in sod. (2015) so pri imuniziranem krapu opisali proliferacijo spominskih celic T ob ponovni stimulaciji, kar predstavlja jasen funkcionalni dokaz T-celičnega imunskega spomina. Dodatno so Chan in sod. (2024) pri isti vrsti pokazali dolgotrajno vztrajanje populacije IgM⁺ celic B z občasnimi, cikličnimi proliferativnimi valovi. Takšna dinamika kaže, da pri pravih kostnicah B-celični spomin ni vzdrževan kot mirujoča celična populacija, temveč kot funkcionalno stabilna, periodično reaktivirana populacija, kar predstavlja funkcionalni ekvivalent spominskih celic B pri sesalcih in potrjuje obstoj dolgoročnega adaptivnega imunskega spomina pri pravih kostnicah.

4.1 CELIČNI MEHANIZMI PRIDOBLENEGA IMUNSKEGA SISTEMA RIB

Pri celični oziroma celično posredovani imunosti imajo poglavito vlogo limfociti T. Gre torej za specifičen imunski odziv, v katerega so poleg limfocitov T vključeni še elementi naravne imunosti (makrofagi, dendritične celice, nevtrofilci, eozinofilci, bazofilci, mastociti in nespecifične citotoksične celice (NCC) (Mokhtar in sod., 2023). Kot odziv na antigen se s pomočjo mehanizmov naravne imunosti aktivirajo za antigen specifične celice T, ki izločajo številne citokine (npr. IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-17, IL-10, TGF- β), ti pa usmerjajo imunski odziv ter spodbujajo proliferacijo in diferenciacijo drugih imunskih celic (Liang in sod., 2024).

Celično posredovana imunost varuje organizem z aktivacijo za antigen specifičnih citotoksičnih celic T (CD8⁺), ki sprožijo apoptozo celic, ki izražajo epitope tujih antigenov na svoji površini. Celično posredovana imunost je tako usmerjena na patogene, ki preživijo fagocitozo, in patogene, ki okužijo nefagocitne celice. Čeprav je najbolj uspešna pri odstranjevanju z virusi okuženih celic, deluje tudi pri zaščiti pred okužbami z glivami, protozoji, znotrajceličnimi bakterijami in pa tudi proti rakastim celicam (Laing in Hansen, 2011).

Celično posredovana imunost ima pomembno vlogo tudi pri transplantacijskih reakcijah. Poleg klasičnega zavračanja presadka, kjer imunski sistem gostitelja prepozna tuje MHC molekule presadka, so pri nekaterih ribah opisali tudi pojav, analogen reakciji presadka proti gostitelju (angl. graft-versus-host disease – GVHD) pri sesalcih. V teh primerih presajeni imunokompetentni limfociti, predvsem celice T CD4⁺ in CD8⁺, napadejo tkiva prejemnika (Manning in Nakanishi, 1996 cit. po Firdaus-Nawi in Saad, 2016).

4.1.1 Limfociti T

Limfociti T oz. celice T imajo ključno vlogo pri celično posredovani imunosti pridobljenega imunskega odziva. Ime so dobili po timusu, kjer dozorevajo. Od drugih limfocitov pa jih ločimo po prisotnosti specifičnega antigenskega receptorja, T-celičnega receptorja (TCR), na njihovi površini (Nakanishi in sod., 2015). Hrstančnice in kostnice so najbolj enostavni vretenčarji s timusom, pri njih tako najdemo limfocite T primerljive s tistimi pri sesalcih.

TCR nastane s preureditvijo segmentov V(D)J in omogoča specifično prepoznavo antigenov. Pri sesalcih je TCR transmembranski glikoprotein tipa I s kratkim citoplazemskim repom, povezan s kompleksom CD3, ki vsebuje intracelularno signalno domeno (ITAM) in prenaša aktivacijske signale v celico. Skupaj tvorita kompleks TCR:CD3, ki je evolucijsko ohranjen tudi pri pravih kostnicah (Castro in sod., 2011; Shang in sod., 2008).

Transkripcijski dejavniki, ki so udeleženi v razvoju limfocitov T pri pravih kostnicah (npr. Ikaros, Lck), so zelo podobni tistim pri sesalcih (Willett in sod., 2001). Poleg molekularnih so tudi celični mehanizmi razvoja celic T ohranjeni pri vseh vretenčarjih s čeljustjo (povzeto v Kordon in sod., 2021).

Pri sesalcih so celice T prisotne predvsem v dveh linijah glede na verigo heterodimernega T-celičnega receptorja (TCR): $\alpha\beta$ -TCR in $\gamma\delta$ -TCR (N. C. Smith in sod., 2019). Celice T z $\alpha\beta$ -TCR so prisotne predvsem v krvi in sekundarnih limfatičnih organih ter sodelujejo v klasičnem, sistemskem adaptivnem imunskem odzivu, ki je odvisen od predstavitve antigenov preko molekul MHC. Nasprotno so celice $\gamma\delta$ -T pretežno lokalizirane v epitelijskih in bariernih tkivih, kot so koža in sluznice, ter v manjšem deležu tudi v periferni krvi, kjer delujejo kot lokalni, hitri in tkivno vezani imunski nadzor; pri sesalcih predstavljajo približno 5 % vseh celic T (Carding in Egan, 2002).

Podobno tudi pri pravih kostnicah najdemo genetski zapis za TCR α , β , γ in δ verige, kar kaže na zgodnji evolucijski izvor obeh linij celic T (povzeto v Kordon in sod., 2021). Pri cebrici (*Danio rerio*) predstavljajo celice $\gamma\delta$ -T 7–20 % vseh limfocitov v krvi in limfatičnih organih (F. Wan in sod., 2017), kar je bistveno več kot pri sesalcih. Funkcionalno se celice $\gamma\delta$ -T razlikujejo od celic $\alpha\beta$ -T tudi v načinu prepoznavanja antigenov: celice $\gamma\delta$ -T lahko antigene prepoznajo neposredno, brez potrebe po predstavitvi preko molekul MHC, medtem ko celice $\alpha\beta$ -T prepoznavajo peptide antigenov, vezane na molekule MHC (Konigshofer in Chien, 2006).

Celice $\alpha\beta$ -T lahko dodatno razdelimo še na dve populaciji celic, citotoksične celice T ($CD8^+$) in celice

T pomagalke ($CD4^+$). Celice T $CD8^+$ se aktivirajo ob predstavitvi peptidov iz znotrajceličnih antigenov iz strani molekul MHC razreda I in uničujejo okužene celice. Celice T $CD4^+$ so po drugi strani aktivirane s strani peptidov, ki izhajajo iz zunajceličnih antigenov in so predstavljeni preko molekul MHC razreda II (Kordon in sod., 2021).

Naivne celice T $CD4^+$ so izjemno pomembne pri regulaciji imunskega odziva in zelo plastične in heterogene (J. Zhu in sod., 2010). Lahko se diferencirajo v 5 tipov efektorskih celic T (Th1, Th2, Th17, Th9 in Th22), tri tipe regulatornih celic T (Treg, Th3, Tr-1) in spominske celice T (Annunziato in Romagnani, 2009; Wan in Flavell, 2009).

Pri številnih vrstah rib so dokazali prisotnost zrelih celic $\alpha\beta$ -T, ki jih pri pravih kostnicah najdemo v timusu in v ostalih limfatičnih tkivih, kot so prednja ledvica, vranica, pa tudi v mukoznih tkivih črevesja, kože in škrg (Nakanishi in sod., 2015). Poleg tega so dokazali tudi izražanje genov, povezanih z njihovo funkcijo, vključno z TCR, CD3, CD4, CD8 ter MHC I in II. Vse to nakazuje na prisotnost celic pomagalk $CD4^+$ in citotoksičnih celic $CD8^+$ pri ribah, podobno kot pri višjih vretenčarjih (Fischer in sod., 2013).

4.1.2 Poglavitni kompleks tkivne skladnosti

Poglavitni kompleks tkivne skladnosti (PHK, oziroma MHC, angl. major histocompatibility complex) je skupina genov, katerih produkti — molekule MHC razreda I in II — imajo ključno vlogo v pridobljenem imunskem sistemu vretenčarjev. Ti membranski glikoproteini sodelujejo pri vezavi in predstavitvi antigenov preko peptidov limfocitom T, s čimer omogočajo prepoznavanje okuženih ali spremenjenih celic ter usmerjajo nadaljnji imunski odziv. Geni za molekule MHC razreda I in II so značilni za vse vretenčarje s čeljustjo in so bili identificirani tudi pri številnih vrstah pravih kostnic.

Pri sesalcih sta sistema MHC razreda I in II funkcionalno komplementarna in skupaj omogočata nadzor nad znotrajceličnimi in zunajceličnimi antigeni. Molekule MHC razreda I so izražene na vseh celicah z jedrom ter v svojem vezavnem žlebu vežejo peptide, ki izvirajo iz znotrajceličnih antigenov. Te peptide na celični površini predstavljajo citotoksičnim celicam T ($CD8^+$), kar omogoča prepoznavanje z virusi okuženih ali maligno spremenjenih celic (Hewitt, 2003). Nasprotno so molekule MHC razreda II omejene na profesionalne APC, kot so dendritične celice, makrofagi in limfociti B, ter predstavljajo peptide, procesirane iz zunajceličnih antigenov, celicam T pomagalkam ($CD4^+$) (Cho in Roche, 2013; Hewitt, 2003).

Pri sesalcih pravilno nalaganje antigenskih peptidov na molekule MHC razreda II omogoča molekula DM (HLA-DM), heterodimer, sestavljen iz α in β verige, ki odstrani CLIP fragment iz vezavnega mesta na molekuli MHC II in s tem omogoči vezavo ustreznih antigenskih peptidov. Ortologi genov DMA in DMB, ki kodirajo molekule DM, so bili potrjeni pri pticah in dvoživkah, kar kaže na njihovo evolucijsko ohranjenost znotraj tetrapodov, medtem ko pri ribah ti geni doslej niso bili identificirani (povzeto po Dijkstra in sod., 2013).

Pri pravih kostnicah so molekule MHC razreda I in II izražene v različnih tkivih, zlasti v vranici in prednji ledvici, ki predstavljata glavna limfatična organa pri ribah (N. C. Smith in sod., 2019). Podobno kot pri sesalcih so tudi pri večini pravih kostnic molekule MHC razreda II izražene predvsem na profesionalnih APC, kar kaže na evolucijsko ohranjenost njihove osnovne funkcije (Yamaguchi in sod., 2019). Kljub temu pa so bile v nekaterih linijah pravih kostnic opisane pomembne odstopajoče prilagoditve. Zlasti pri predstavnikih družine Gadidae, kot je atlantska trska (*Gadus morhua*), so ugotovili popolno izgubo genov za molekule MHC razreda II in z njimi povezanih koreceptorjev. Posledično te vrste ne morejo več uporabljati klasičnega mehanizma predstavitve zunajceličnih antigenov celicam T CD4⁺. To pomanjkanje je očitno kompenzirano z razširjenim repertoarjem molekul MHC razreda I, kar omogoča učinkovitejšo predstavitev znotrajceličnih antigenov in vzdrževanje imunskega ravnovesja (N. C. Smith in sod., 2019).

Za razliko od tetrapodov pri pravih kostnicah niso identificirali genov za molekule DM, ki so pri sesalcih ključne za odstranjevanje CLIP fragmenta in nalaganje peptidov na molekule MHC razreda II (Dijkstra in sod., 2013). Kljub odsotnosti teh komponent eksperimentalni podatki kažejo, da so osnovne vloge molekul MHC razreda I in II pri ribah ohranjene. Ob antigenskih stimulacijah se njihovo gensko izražanje izrazito poveča, kar potrjuje njihovo vlogo v protivirusni in protibakterijski zaščiti (Scharsack in sod., 2007; Smith in sod., 2019). To nakazuje, da so se pri pravih kostnicah razvili alternativni mehanizmi odstranjevanja CLIP in nalaganja peptidov, ki omogočajo učinkovito predstavitev antigenov kljub odsotnosti klasične DM-odvisne poti. Čeprav ti mehanizmi še niso v celoti pojasnjeni, predstavljajo pomemben primer evolucijske plastičnosti imunskega sistema rib (povzeto po Dijkstra in sod., 2013).

Aktivacija celic T pri vretenčarjih temelji na zaporedju treh signalov, ki zagotavljajo specifičnost in ustrezno regulacijo imunskega odziva. Prvi signal predstavlja interakcija med T-celičnim receptorjem (TCR) in kom-

pleksom MHC:peptid na površini APC, kar omogoča specifično prepoznavanje antigena. Drugi signal tvorijo kostimulatorne molekule, predvsem CD28 na celicah T ter CD80 in CD86 na APC, ki potrjujejo pravilnost aktivacije. Tretji signal predstavljajo citokini, ki jih izločijo aktivirane APC in usmerjajo diferenciacijo aktiviranih celic T v specifične efektorske ali spominske populacije. Podobno kot pri sesalcih so bili tudi pri pravih kostnicah identificirani vsi ključni elementi tega signalnega sistema, vključno z geni za CD28, CD80 in CD86 (povzeto po Kordon in sod., 2021) ter citokini, potrebnimi za diferenciacijo limfocitov T (Ashfaq in sod., 2019). To potrjuje, da je osnovna zasnova interakcije med molekulami MHC in limfociti T evolucijsko ohranjena, čeprav so se nekatere podrobnosti signalizacije in regulacije med glavnimi skupinami vretenčarjev prilagodile njihovim specifičnim imunskim strategijam.

4.2 HUMORALNI MEHANIZMI PRIDOBLJENEGA IMUNSKEGA SISTEMA RIB

S pojmom humoralne imunosti mislimo predvsem na proces izločanja protiteles in spremljajoče procese, kot so aktivacija celic Th2, sproščanje citokinov, nastanek zarodnih centrov, preklapljanje med razredi (izotipi) imunoglobulinov, zorenje afinitete in nastanek spominskih celic B, nevtralizacija patogenov in toksinov, aktivacija komplementa, opsonizacija, spodbujanje fagocitoze ter uničenje patogena (Janeway, 2001).

Protitelesa proizvajajo in izločajo zreli limfociti B, ki jih imenujemo celice plazmatke. Celice T pomagale CD4⁺ dodatno stimulirajo celoten proces s pomočjo citokinov in neposredne interakcije, kar omogoča učinkovito vezavo protiteles na antigene, ki so na površini mikroorganizma, ter njihovo usmeritev v uničenje (Firdaus-Nawi in Saad, 2016).

Pri ribah se humoralna imunost med različnimi vrstami razlikuje, hkrati je precej različna tudi od humoralne imunosti pri drugih skupinah živali (tudi sesalcev), saj je močno odvisna od zunanjih pogojev, kot so temperatura in slanost. Vseeno lahko postavimo nekaj vzporednic med humoralno pridobljeno imunostjo rib s tisto pri sesalcih, kot so npr. struktura imunoglobulinov, sodelovanje celic B in T, funkcije protiteles pri nevtralizaciji antigenov, fiksacija komplementa in opsonizacija (Firdaus-Nawi in Saad, 2016).

4.2.1 Limfociti B

Osrednje celice humoralne imunosti so limfociti B. Ti lahko delujejo kot APC, lahko se diferencirajo v spominske celice B po interakciji z antigenom ali v

protitelesa izločujoče celice oziroma celice plazmatke, ki jih pri ribah imenujemo tudi ASC (angl. antibody-secreting cells) (Chan in sod., 2024). Pri ribah je izvor naivnih limfocitov B v primarnem limfatičnem organu prednji ledvici (Zapata in sod., 2006). Vir mnogih limfocitov B je tudi sekundarni limfatični organ, vraničca, medtem ko so nekateri limfociti B, predvsem celice ASC, prisotni tudi v nelimfatičnih tkivih, kot so črevesje, koža in škrge. Zhao in sod. (2008) so na primer dokazali prisotnost ASC v koži kanalskega soma, kjer predstavljajo vir mukoznih protiteles.

4.2.2 Imunoglobulini

Imunoglobulini (Ig) so ključni proteini humoralnega dela pridobljene imunosti pri vretenčarjih. V organizmu se pojavljajo v dveh oblikah – kot membranski receptorji na površini limfocitov B (B-celični receptorji BCR) ali pa kot topna protitelesa v prosti (sekretorni) obliki, ki krožijo po krvi in drugih telesnih tekočinah in nevtralizirajo ali opsonizirajo patogene (Smith in sod., 2019). Sestavljata jih dve identični težki verigi (H) in dve identični lahki verigi (L) (z izjemami pri morskih psih in kamelidih). Obe verigi imata na N-terminalnem koncu variabilno domeno (V_H oz. V_L), medtem ko se na C-koncu nahaja konstantna domena (C_H oz. C_L). Variabilne domene omogočajo specifično prepoznavo antigenov, konstantne pa določajo efektorske lastnosti protiteles; prav razlike v konstantnem delu težkih verig opredeljujejo posamezne izotipe imunoglobulinov (Mashoof in Criscitiello, 2016).

Na splošno velja, da imajo ribe v primerjavi z višjimi vretenčarji manjše število imunoglobulinskih izotipov (Kaattari in sod., 1998) ter omejeno gensko raznolikost protiteles, kar se pogosto odraža v nižji specifičnosti in tudi nižji afiniteti protiteles (Pasquier, 1982).

Pri hrustančnicah so do sedaj opisali tri glavne razrede protiteles, IgM, IgD/W in IgNAR, pri pravih kostnicah pa IgM, IgD in IgT/IgZ (T pri teleostih, Z pri cebrici), pri čemer vse tri izotipske oblike niso prisotne pri vseh raziskanih vrstah (Rombout in sod., 2014). Za razliko od sesalcev pri nobeni skupini rib niso bili identificirani izotipi IgG, IgA in IgE. Ker sta IgM in IgD prisotna pri večini vrst rib in vretenčarjev, veljata za evolucijsko najstarejša razreda imunoglobulinov (Fillatreau in sod., 2013).

Imunoglobuline najdemo pri kostnicah tako sistemsko v krvni plazmi kot tudi v mukoznih tkivih vključno s kožo, črevesjem, mukusom škrge in žolčem. Ob primarni okužbi se prave kostnice odzovejo s tvorbo specifičnih protiteles, medtem ko je ob ponovni izpostavitvi odziv praviloma hitrejši in intenzivnejši, kar

kaže na vzpostavitev imunskega spomina in poudarja pomen vakcinacije v akvakulturi (Morrison in Nowak, 2002).

4.2.2.1 IgM

IgM je najpogostejši imunoglobulin v serumu pravih kostnic. Izražen je lahko na površini limfocitov B kot del B-celičnega receptorja ali pa v topni obliki v serumu ali mukusu, kjer je prisoten v obliki tetramera (Acton in sod., 1971). Takšna zgradba zagotavlja osem vezavnih mest za antigen, kar se razlikuje od pentamerne oblike IgM pri višjih vretenčarjih in hrustančnicah (Kobayashi in sod., 1984). Pri morskih psih sta v serumu prisotni dve obliki IgM, monomerna (7S) in pentamerna (19S) – poimenovani glede na njuna sedimentacijska koeficienta – med katerima lahko med humoralnim odzivom pride tudi do funkcionalnega preklopa (Mashoof in Criscitiello, 2016).

Tetramerni IgM je bil dokazan pri mnogih vrstah pravih kostnic; sestavljen je iz težkih verig velikosti približno 70 kDa in lahkih verig velikost 15–22 kDa (Tort in MacKenzie, 2003). Pri ribah ni prisotna J-veriga (joiner peptid), ki pri sesalcih omogoča polimerizacijo IgM, zato je stabilnost tetramerne strukture zagotovljena predvsem z disulfidnimi vezmi med verigami (Kaattari in sod., 1998b). Število teh vezi naj bi bilo povezano tako z afiniteto BCR za antigen, kot tudi s funkcionalno učinkovitostjo IgM, saj večje število povezav omogoča učinkovitejše izvajanje različnih efektorskih funkcij.

IgM pri pravih kostnicah sodeluje tako v prirojeni kot pridobljeni imunosti. Med njegove glavne funkcije sodijo aktivacija komplementa, pospeševanje fagocitoze in aglutinacija antigenov ter citotoksični učinki (Firdaus-Nawi in Saad, 2016; Mashoof in Criscitiello, 2016). Ob primarni imunizaciji pride v serumu do hitrega porasta koncentracije IgM, medtem ko je ob ponovni izpostavitvi izboljšanje afinitete protiteles praviloma omejeno, kar odraža posebnosti zorenja afinitete pri ribah (Mashoof in Criscitiello, 2016).

4.2.2.2 IgD

Imunoglobulinski razred IgD, ki je homologen IgD pri sesalcih, je bil pri ribah prvič opisan leta 1997 pri kanalskem somu (Wilson in sod., 1997). Podobno kot pri sesalcih tudi pri pravih kostnicah IgM in IgD nastajata iz istega lokusa za težko verigo imunoglobulinov, pri čemer je izbira izraženega izotipa posledica alternativnega procesiranja RNA. Pri teleostih to vključuje alternativno spajanje preurejenih segmentov V(D)J s konstantnimi geni C δ , pri čemer IgD ohrani prvi ekson C μ 1, kar vodi v nastanek himernih molekul, sestavljene

nih iz ene μ -domene, ki ji sledi vrstno specifično različno število δ -domen (Hansen in sod., 2005).

V serumu rib je IgD bistveno manj zastopan kot IgM; njegove koncentracije se gibljejo med 2 in 80 $\mu\text{g/ml}$, medtem ko koncentracija IgM običajno dosega 800–9000 $\mu\text{g/ml}$ (Mashoof in Criscitiello, 2016). Funkcionalna vloga IgD pri ribah še ni povsem pojasnjena, vendar številni podatki kažejo, da je lahko vpleten predvsem v prirojeno imunost. Edholm in sod. (2011) so pokazali, da se IgD kanalskega soma lahko veže na bazofilce in spodbuja izločanje vnetnih citokinov, kljub temu da ne kaže izrazite antigenske specifičnosti.

IgD je lahko izražen v membransko vezani ali topni obliki in je poleg mukoznih tkiv prisoten tudi v večini limfatičnih organov, vključno s prednjo ledvico, vranico in škrgami (Mashoof in Criscitiello, 2016).

4.2.2.3 IgT/IgZ

Imunoglobulinski izotip IgT, v literaturi včasih poimenovan tudi IgZ (pri cebrici), je značilen izključno za prave kostnice in ga pri ostalih ribah, sesalcih in pticah ne najdemo. Neodvisno so ga kot prvi opisali Hansen in sod. (2005) pri šarenki (*Oncorhynchus mykiss*; IgT) ter skoraj sočasno Danilova in sod. (2005) pri cebrici (*Danio rerio*; IgZ). Čeprav je IgT prisoten pri večini pravih kostnic, so znane tudi izjeme, kot sta na primer medaka (*Oryzias latipes*) in kanalski som.

Molekula IgT običajno vsebuje štiri konstantne domene, podobno kot IgM, pri čemer alternativno procesiranje RNA omogoča izražanje bodisi IgT bodisi IgM iz istih variabilnih (V) segmentov (Mashoof in Criscitiello, 2016). Funkcionalno je IgT povezan predvsem z mukozno imunostjo: deluje na sluznicah, zlasti v črevesju, kamor se transportira preko polimernega imuno-

globulinskega receptorja, ter sodeluje pri vzdrževanju ravnovesja med gostiteljem in črevesno mikrobioto.

Čeprav je vloga IgT pri pravih kostnicah funkcionalno primerljiva z vlogo IgA pri sesalcih, ne gre za njuno evolucijsko ekvivalenta, saj sta izotipa filogenetsko oddaljena. Njuna specializacija za mukozno imunost je zato najverjetneje rezultat konvergentne evolucije, ki odraža prilagoditev imunskega sistema različnim fiziološkim in okoljskim pogojem (Y.-A. Zhang in sod., 2010).

4.2.2.4 Protitelesa v krvi in na sluznicah

Pri ribah so imunoglobulini prisotni tako v krvni plazmi kot tudi v mukusu, ki prekriva površino kože, črevesja in škrg (Morrison in Nowak, 2002). Ker so ta mukozna tkiva stalno izpostavljena patogenom iz vodnega okolja, predstavlja lokalna protitelesna obramba ključen element zaščite. Kljub temu sta sistemski (plazemski) in mukozni imunski odziv pri ribah vsaj delno ločena.

Raziskave so pokazale, da intravenozna imunizacija sproži izrazit sistemski protitelesni odziv, medtem ko je povečanje koncentracije protiteles v mukusu razmeroma šibko, kar kaže na funkcionalno delitev med sistemsko in mukozno humoralno imunostjo. Nasprotno pa mukozna imunizacija, zlasti ob uporabi ustreznih adjuvansov, povzroči občutno povečanje titrov protiteles v mukoznih tkivih (Firdaus-Nawi in sod., 2011; Grabowski in sod., 2004).

Ti podatki nakazujejo, da se protitelesa, ki jih proizvajajo plazmatke v sistemskih limfatičnih organih, lahko vsaj delno prenesejo iz krvnega obtoka na mukozne površine (Cain in sod., 2000), čeprav pomemben delež mukoznega odziva izvira iz lokalne produkcije protite-

Preglednica 2: Primerjava komponent pridobljenega imunskega sistema med pravih kostnicami in sesalci

Table 2: Comparison of general adaptive immune components between teleost fish and mammals

	Prave kostnice (teleostei)	Sesalci
Limfociti T in B	+	+
B-celični receptor	+	+
T-celični receptor	+	+
Mehanizem raznolikosti	V(D)J rekombinacija	V(D)J rekombinacija
RAG geni	+	+
Aktivacijsko inducirana citidinska deaminaza (AID)	+	+
Somatske hipermutacije	+	+
Germinalni/zarodni center	–	+
Razredno preklapljanje (CSR, angl. class switch recombination)	–	+
Ig izotipi	IgM, IgD in IgT/Z	IgM, IgD, IgG, IgE in IgA

*Povzeto po Kordon in sod., 2021

les. Na ta način se imunski sistem rib prilagaja dvojnemu zahtevam: hitremu humoralnemu odzivu v serumu ter učinkoviti lokalni zaščiti sluznic pred vdorom patogenov iz okolja.

Povzetek glavnih komponent pridobljenega imunskega sistema pravih kostnic ter njihova primerjava s tistimi pri sesalcih je prikazan v preglednici 2.

5 ZAKLJUČEK

Imunski sistem rib predstavlja evlucijsko star, a izjemno dinamičen sistem, ki združuje mehanizme prirojene in pridobljene imunosti ter je učinkovito prilagojen specifičnim razmeram vodnega okolja. Čeprav se v več vidikih razlikuje od imunskega sistema sesalcev, te razlike ne pomenijo manjše funkcionalnosti, temveč odražajo različne evlucijske rešitve za doseganje enakega cilja – učinkovite zaščite pred patogeni.

Pri ribah prirojena imunost predstavlja ključno prvo linijo obrambe in omogoča hiter, nespecifičen odziv, zlasti na mukoznih površinah kože, škrg in črevesja, ki so stalno izpostavljene mikroorganizmom iz okolja. Ta odziv vključuje številne celične komponente, kot so nespecifične citotoksične celice (NCC), eozinofilne granularne celice, nevtrofilci, monociti in makrofagi, ter humoralne dejavnike, med drugim lizocim, transferin, lektine, sistem komplementa in C-reaktivni protein. Nedavne raziskave kažejo, da lahko prirojena imunost pri ribah zagotavlja tudi omejeno obliko imunskega spomina, vendar visoko specifično prepoznavo patogenov in dolgotrajno imunološko zaščito omogoča predvsem pridobljeni imunski sistem.

Pridobljena imunost pri pravih kostnicah temelji na delovanju limfocitov T in B, imunoglobulinov ter molekularnih mehanizmov, kot so V(D)J rekombinacija, somatske hipermutacije in raznolikost imunoglobulinskih izotipov. Kljub odsotnosti nekaterih struktur in mehanizmov, značilnih za sesalce (npr. germinalnih centrov, Peyerjevih lis ali molekul DM), omejenemu številu izotipov in praviloma nižji afiniteti protiteles, prave kostnice ohranjajo številne evlucijsko ohranjene principe imunskega odziva. Hkrati so razvile specifične prilagoditve, kot so tetramerni IgM kot glavni serumski imunoglobulin, prisotnost IgT kot ključnega izotipa mukozne imunosti, širši temperaturni razpon delovanja NCC ter alternativni mehanizmi predstavitve antigenov preko molekul MHC razreda II.

Razumevanje imunskega sistema rib ima poleg temeljnega znanstvenega pomena tudi neposredno aplikativno vrednost, zlasti na področju akvakulture. Poznavanje mehanizmov pridobljene imunosti je osnova za razvoj učinkovitih cepiv in strategij za izboljša-

nje zdravstvenega varstva gojenih vrst, kar prispeva k trajnostnemu gospodarjenju z vodnimi organizmi. Ribe tako predstavljajo ne le pomemben model za proučevanje evlucije imunskega sistema vretenčarjev, temveč tudi konkreten primer, kjer temeljno znanje neposredno podpira uporabno biologijo.

6 LITERATURA

- Acharya, K. R., in Ackerman, S. J. (2014). Eosinophil Granule Proteins: Form and Function. *Journal of Biological Chemistry*, 289(25), 17406–17415. <https://doi.org/10.1074/jbc.R113.546218>
- Acton, R. T., Weinheimer, P. F., Hall, S. J., Niedermeier, W., Shelton, E., in Bennett, J. C. (1971). Tetrameric Immune Macroglobulins in Three Orders of Bony Fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(1), 107–111. <https://doi.org/10.1073/pnas.68.1.107>
- Afonso, A., Lousada, S., Silva, J., Ellis, A. E., in Silva, M. T. (1998). Neutrophil and macrophage responses to inflammation in the peritoneal cavity of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A light and electron microscopic cytochemical study. *Diseases of Aquatic Organisms*, 34, 27–37. <https://doi.org/10.3354/dao034027>
- Ainsworth, A. J. (1992). Fish granulocytes: Morphology, distribution, and function. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 123–148. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90060-B](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90060-B)
- Akira, S., Uematsu, S., in Takeuchi, O. (2006). Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*, 124(4), 783–801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>
- Alvarez, D., Vollmann, E. H., in Von Andrian, U. H. (2008). Mechanisms and Consequences of Dendritic Cell Migration. *Immunity*, 29(3), 325–342. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.08.006>
- Ángeles Esteban, M. (2012). An Overview of the Immunological Defenses in Fish Skin. *International Scholarly Research Notices*, 2012(1), 853470. <https://doi.org/10.5402/2012/853470>
- Annunziato, F., in Romagnani, S. (2009). Heterogeneity of human effector CD4⁺T cells. *Arthritis Research & Therapy*, 11(6), 257. <https://doi.org/10.1186/ar2843>
- Aoki, T., Takano, T., in Hikima, J. (2015). DNA vaccine-mediated innate immune response triggered by PRRs in teleosts. *Fisheries Science*, 81(2), 205–217. <https://doi.org/10.1007/s12562-014-0845-4>
- Aranishi, F., in Nakane, M. (1997). Epidermal proteases of the Japanese eel. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16(6), 471–478. <https://doi.org/10.1023/A:1007736804243>
- Ashfaq, H., Soliman, H., Saleh, M., in El-Matbouli, M. (2019). CD4: A vital player in the teleost fish immune system. *Veterinary Research*, 50, 1. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0620-0>
- Balla, K. M., Lugo-Villarino, G., Spitsbergen, J. M., Stachura, D. L., Hu, Y., Bañuelos, K., ... Traver, D. (2010). Eosinophils in the zebrafish: Prospective isolation, characterization, and eosinophilia induction by helminth determi-

- nants. *Blood*, 116(19), 3944–3954. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-267419>
- Barreto, V. M., Pan-Hammarstrom, Q., Zhao, Y., Hammarstrom, L., Misulovin, Z., in Nussenzweig, M. C. (2005). AID from bony fish catalyzes class switch recombination. *Journal of Experimental Medicine*, 202(6), 733–738. <https://doi.org/10.1084/jem.20051378>
- Bassity, E., in Clark, T. G. (2012). Functional Identification of Dendritic Cells in the Teleost Model, Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *PLOS ONE*, 7(3), e33196. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033196>
- Bennani, N., Schmid-Alliana, A., in Lafaurie, M. (1995). Evaluation of phagocytic activity in a teleost fish, *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology*, 5(3), 237–246. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(05\)80017-8](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(05)80017-8)
- Boltaña, S., Roher, N., Goetz, F. W., in MacKenzie, S. A. (2011). PAMPs, PRRs and the genomics of gram negative bacterial recognition in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1195–1203. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.02.010>
- Boshra, H., Li, J., in Sunyer, J. O. (2006). Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), 239–262. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.04.004>
- Brazeau, M. D., in Friedman, M. (2015). The origin and early phylogenetic history of jawed vertebrates. *Nature*, 520(7548), 490–497. <https://doi.org/10.1038/nature14438>
- Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., ... Zychlinsky, A. (2004). Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*, 303(5663), 1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- Brubacher, J. L., Secombes, C. J., Zou, J., in Bols, N. C. (2000). Constitutive and LPS-induced gene expression in a macrophage-like cell line from the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Developmental & Comparative Immunology*, 24(6–7), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(00\)00019-7](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(00)00019-7)
- Brubaker, S. W., Bonham, K. S., Zanoni, I., in Kagan, J. C. (2015). Innate Immune Pattern Recognition: A Cell Biological Perspective. *Annual review of immunology*, 33, 257–290. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112240>
- Cain, K. D., Jones, D. R., in Raison, R. L. (2000). Characterisation of mucosal and systemic immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using surface plasmon resonance. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(8), 651–666. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0280>
- Carding, S. R., in Egan, P. J. (2002). $\gamma\delta$ T cells: Functional plasticity and heterogeneity. *Nature Reviews Immunology*, 2(5), 336–345. <https://doi.org/10.1038/nri797>
- Carmona, L. M., Fugmann, S. D., in Schatz, D. G. (2016). Collaboration of RAG2 with RAG1-like proteins during the evolution of V(D)J recombination. *Genes & Development*, 30(8), 909–917. <https://doi.org/10.1101/gad.278432.116>
- Castro, R., Bernard, D., Lefranc, M. P., Six, A., Benmansour, A., in Boudinot, P. (2011). T cell diversity and TcR repertoires in teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 31(5), 644–654. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.08.016>
- Castro, R., Martin, S. A. M., Bird, S., Lamas, J., in Secombes, C. J. (2008). Characterisation of γ -interferon responsive promoters in fish. *Molecular Immunology*, 45(12), 3454–3462. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.03.015>
- Chan, J. T. H., Picard-Sánchez, A., Dedić, N., Majstorović, J., Rebl, A., Holzer, A. S., in Korytář, T. (2024a). Immunological memory in a teleost fish: Common carp IgM⁺ B cells differentiate into memory and plasma cells. *Frontiers in Immunology*, 15, 1493840. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1493840>
- Chan, J. T. H., Picard-Sánchez, A., Dedić, N., Majstorović, J., Rebl, A., Holzer, A. S., in Korytář, T. (2024b). Immunological memory in a teleost fish: Common carp IgM⁺ B cells differentiate into memory and plasma cells. *Frontiers in Immunology*, 15, 1493840. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1493840>
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S3–S23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.980>
- Chen, J., Wang, J., Meyers, K. R., in Enns, C. A. (2009). Transferrin-Directed Internalization and Cycling of Transferrin Receptor 2. *Traffic*, 10(10), 1488–1501. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00961.x>
- Chen, L., in Flies, D. B. (2013). Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nature Reviews Immunology*, 13(4), 227–242. <https://doi.org/10.1038/nri3405>
- Cho, K. J., in Roche, P. A. (2013). Regulation of MHC Class II-Peptide Complex Expression by Ubiquitination. *Frontiers in Immunology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00369>
- Danilova, N., Bussmann, J., Jekosch, K., in Steiner, L. A. (2005). The immunoglobulin heavy-chain locus in zebrafish: Identification and expression of a previously unknown isotype, immunoglobulin Z. *Nature Immunology*, 6(3), 295–302. <https://doi.org/10.1038/ni1166>
- Demers, N. E., in Bayne, C. J. (1997). The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental & Comparative Immunology*, 21(4), 363–373. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(97\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(97)00009-8)
- Deretic, V., Saitoh, T., in Akira, S. (2013). Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology*, 13(10), 722–737. <https://doi.org/10.1038/nri3532>
- Dezfuli, B. S., Giari, L., Lui, A., Lorenzoni, M., in Noga, E. J. (2011). Mast cell responses to *Ergasilus* (Copepoda), a gill ectoparasite of sea bream. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(4–5), 1087–1094. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.02.005>
- Dezfuli, B. S., Pironi, F., Giari, L., in Noga, E. J. (2010). Immunocytochemical localization of piscidin in mast cells of infected seabass gill. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(3), 476–482. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.12.012>
- Dijkstra, J. M., Grimholt, U., Leong, J., Koop, B. F., in Hashimoto, K. (2013). Comprehensive analysis of MHC class II genes in teleost fish genomes reveals dispensability of the peptide-loading DM system in a large part of vertebrates. *BMC Evolutionary Biology*, 13(1), 260. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-260>
- Do Vale, A., Afonso, A., in Silva, M. T. (2002). The professional phagocytes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*

- L.): Cytochemical characterisation of neutrophils and macrophages in the normal and inflamed peritoneal cavity. *Fish & Shellfish Immunology*, 13(3), 183–198. <https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0394>
- Dunkelberger, J. R., in Song, W.-C. (2010). Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Research*, 20(1), 34–50. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.139>
- Ebran, N., Julien, S., Orange, N., Auperin, B., in Molle, G. (2000). Isolation and characterization of novel glycoproteins from fish epidermal mucus: correlation between their pore-forming properties and their antibacterial activities. *Biochimica et biophysica acta*, 1467(2), 271–280. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(00\)00225-x](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(00)00225-x)
- Edholm, E.-S., Bengten, E., in Wilson, M. (2011). Insights into the function of IgD. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1309–1316. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.03.002>
- Ellis, A. E. (2001). Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. 2001. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8–9), 827–839. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00038-6)
- Esteban, M. Á., Cuesta, A., Chaves-Pozo, E., in Meseguer, J. (2015). Phagocytosis in Teleosts. Implications of the New Cells Involved. *Biology*, 4(4), 907–922. <https://doi.org/10.3390/biology4040907>
- Esteban, M. A., in Meseguer, J. (1997). Factors influencing phagocytic response of macrophages from the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): An ultrastructural and quantitative study. *The Anatomical Record*, 248(4), 533–541. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199708\)248:4%253C533::AID-AR5%253E3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199708)248:4%253C533::AID-AR5%253E3.0.CO;2-M)
- Esteban, M. A., Mulero, V., Muñoz, J., in Meseguer, J. (1998). Methodological aspects of assessing phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by leucocytes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by flow cytometry and electron microscopy. *Cell and Tissue Research*, 1998(1), 133–141. <https://doi.org/10.1007/s004410051105>
- Evans, D. L., in Jaso-Friedmann, L. (1992). Nonspecific cytotoxic cells as effectors of immunity in fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 109–121. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(92\)90059-7](https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90059-7)
- Ewart, K. V., Johnson, S. C., in Ross, N. W. (1999). Identification of a pathogen-binding lectin in salmon serum. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 123(1), 9–15. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(99\)00002-X](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(99)00002-X)
- Fagan, M. S., O'Byrne-Ring, N., Ryan, R., Cotter, D., Whelan, K., in Mac Evilly, U. (2003). A biochemical study of mucus lysozyme, proteins and plasma thyroxine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during smoltification. *Aquaculture*, 222(1–4), 287–300. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00128-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00128-5)
- Fast, M. D., Sims, D. E., Burka, J. F., Mustafa, A., in Ross, N. W. (2002). Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(3), 645–657. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00109-5](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00109-5)
- Ferraboschi, P., Ciceri, S., in Grisenti, P. (2021). Applications of Lysozyme, an Innate Immune Defense Factor, as an Alternative Antibiotic. *Antibiotics*, 10(12), 1534. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121534>
- Fillatreau, S., Six, A., Magadan, S., Castro, R., Sunyer, J. O., in Boudinot, P. (2013). The Astonishing Diversity of Ig Classes and B Cell Repertoires in Teleost Fish. *Frontiers in Immunology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00028>
- Firdaus-Nawi, M., Noraini, O., Sabri, M. Y., Siti-Zahrah, A., Zamri-Saad, M., in Latifah, H. (2011). The effects of oral vaccination of *Streptococcus agalactiae* on stimulating gut-associated lymphoid tissues (GALTs) in tilapia (*Oreochromis spp.*). *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 34(1), 137–143. Pridobljeno s <http://psasir.upm.edu.my/id/eprint/10839/>
- Firdaus-Nawi, M., in Saad, M. (2016). *Major components of fish immunity: A review*. 39, 393–420.
- Fischer, U., Koppang, E. O., in Nakanishi, T. (2013). Teleost T and NK cell immunity. *Fish & Shellfish Immunology*, 35(2), 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.04.018>
- Fischer, U., Utke, K., Somamoto, T., Köllner, B., Ototake, M., in Nakanishi, T. (2006). Cytotoxic activities of fish leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), 209–226. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.013>
- Flajnik, M. F., in Kasahara, M. (2010). Origin and evolution of the adaptive immune system: Genetic events and selective pressures. *Nature Reviews Genetics*, 11(1), 47–59. <https://doi.org/10.1038/nrg2703>
- Flannigan, K. L., Geem, D., Harusato, A., in Denning, T. L. (2015). Intestinal Antigen-Presenting Cells. *The American Journal of Pathology*, 185(7), 1809–1819. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.02.024>
- Flerova, E. A., in Balabanova, L. V. (2013). Ultrastructure of granulocytes of teleost fish (Salmoniformes, Cypriniformes, Perciformes). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 49(2), 223–233. <https://doi.org/10.1134/S0022093013020126>
- Fletcher, T. C. (1986). Modulation of nonspecific host defenses in fish. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 12(1–4), 59–67. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(86\)90110-8](https://doi.org/10.1016/0165-2427(86)90110-8)
- Fock, W. L., Chen, C. L., Lam, T. J., in Sin, Y. M. (2001). Roles of an endogenous serum lectin in the immune protection of blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pallus) against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 11(2), 101–113. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0297>
- Fong, M., in Crane, J. S. (2023). Histology, mast cells. V *StatPearls*. StatPearls Publishing. Pridobljeno s <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499904/>
- Fugmann, S. D., Messier, C., Novack, L. A., Cameron, R. A., in Rast, J. P. (2006). An ancient evolutionary origin of the Rag1/2 gene locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(10), 3728–3733. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509720103>
- Fujita, T., Matsushita, M., in Endo, Y. (2004). The lectin-complement pathway – its role in innate immunity and evolution. *Immunological Reviews*, 198(1), 185–202. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.0123.x>

- Galindo-Villegas, J., Garcia-Garcia, E., in Mulero, V. (2016). Role of histamine in the regulation of intestinal immunity in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 64, 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.02.013>
- Gasque, P. (2004). Complement: A unique innate immune sensor for danger signals. *Molecular Immunology*, 41(11), 1089–1098. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.06.011>
- Ginhoux, F., in Jung, S. (2014). Monocytes and macrophages: Developmental pathways and tissue homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 14(6), 392–404. <https://doi.org/10.1038/nri3671>
- Gomme, P. T., McCann, K. B., in Bertolini, J. (2005). Transferrin: Structure, function and potential therapeutic actions. *Drug Discovery Today*, 10(4), 267–273. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(04\)03333-1](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03333-1)
- Grabowski, L. D., LaPatra, S. E., in Cain, K. D. (2004). Systemic and mucosal antibody response in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), following immunization with *Flavobacterium columnare*. *Journal of Fish Diseases*, 27(10), 573–581. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00576.x>
- Hansen, J. D., Landis, E. D., in Phillips, R. B. (2005). Discovery of a unique Ig heavy-chain isotype (IgT) in rainbow trout: Implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(19), 6919–6924. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500027102>
- Havixbeck, J. J., in Barreda, D. R. (2015). Neutrophil Development, Migration, and Function in Teleost Fish. *Biology*, 4(4), 715–734. <https://doi.org/10.3390/biology4040715>
- Heib, V., Becker, M., Taube, C., in Stassen, M. (2008). Advances in the understanding of mast cell function. *British Journal of Haematology*, 142(5), 683–694. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07244.x>
- Henz, B. M., Maurer, M., Lippert, U., Worm, M., in Babina, M. (2001). Mast cells as initiators of immunity and host defense. *Experimental Dermatology*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2001.100101.x>
- Herbomel, Philippe, Thisse, B., in Thisse, C. (1999). Ontogeny and behaviour of early macrophages in the zebrafish embryo. *Development*, 126(17), 3735–3745. <https://doi.org/10.1242/dev.126.17.3735>
- Hewitt, E. W. (2003). The MHC class I antigen presentation pathway: Strategies for viral immune evasion. *Immunology*, 110(2), 163–169. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2003.01738.x>
- Hodgkinson, J. W., Grayfer, L., in Belosevic, M. (2015). Biology of Bony Fish Macrophages. *Biology*, 4(4), 881–906. <https://doi.org/10.3390/biology4040881>
- Holland, M. C. H., in Lambris, J. D. (2002). The complement system in teleosts. *Fish & Shellfish Immunology*, 12(5), 399–420. <https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0408>
- Iacono, V. J., MacKay, B. J., DiRienzo, S., in Pollock, J. J. (1980). Selective Antibacterial Properties of Lysozyme for Oral Microorganisms. *Infection and Immunity*, 29(2), 623–632. <https://doi.org/10.1128/iai.29.2.623-632.1980>
- Igyártó, B. Z., in Kaplan, D. H. (2013). Antigen presentation by Langerhans cells. *Current Opinion in Immunology*, 25(1), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.11.007>
- Janeway, C. A. (2001). How the immune system protects the host from infection. *Microbes and Infection*, 3(13), 1167–1171. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01477-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01477-0)
- Jaso-Friedmann, L., Leary, J. H., in Evans, D. L. (1993). Nonspecific Cytotoxic Cells in Fish: Antigenic Cross-Reactivity of a Function Associated Molecule with the Intermediate Filament Vimentin. *Cellular Immunology*, 148(1), 208–217. <https://doi.org/10.1006/cimm.1993.1103>
- Jault, C., Pichon, L., in Chluba, J. (2004). Toll-like receptor gene family and TIR-domain adapters in *Danio rerio*. *Molecular Immunology*, 40(11), 759–771. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2003.10.001>
- Jurecka, P., Irnazarow, I., Stafford, J. L., Ruszczyk, A., Taverne, N., Belosevic, ... Wiegertjes, G. F. (2009). The induction of nitric oxide response of carp macrophages by transferrin is influenced by the allelic diversity of the molecule. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(4), 632–638. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.10.007>
- Jurecka, P., Wiegertjes, G. F., Rakus, K. Ł., Pilarczyk, A., in Irnazarow, I. (2009). Genetic resistance of carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Trypanoplasma borreli*: Influence of transferrin polymorphisms. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127(1–2), 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.09.006>
- Kaattari, S., Evans, D., Klemer, J., Kaattari, S., Evans, D., in Kierae, J. (1998a). Varied redox forms of teleost IgM: An alternative to isotypic diversity? *Immunological Reviews*, 166(1), 133–142. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01258.x>
- Kaattari, S., Evans, D., Klemer, J., Kaattari, S., Evans, D., in Kierae, J. (1998b). Varied redox forms of teleost IgM: An alternative to isotypic diversity? *Immunological Reviews*, 166(1), 133–142. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01258.x>
- Kasamatsu, J., Sutoh, Y., Fugo, K., Otsuka, N., Iwabuchi, K., in Kasahara, M. (2010). Identification of a third variable lymphocyte receptor in the lamprey. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(32), 14304–14308. <https://doi.org/10.1073/pnas.1001910107>
- Kato, G., Kato, K., Saito, K., Pe, Y., Kondo, H., Aoki, T., in Hiro-no, I. (2011). Vaccine efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG against *Mycobacterium* sp. Infection in amberjack *Seriola dumerili*. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(2), 467–472. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.11.002>
- Katzenback, B. A., in Belosevic, M. (2009). Isolation and functional characterization of neutrophil-like cells, from goldfish (*Carassius auratus* L.) kidney. *Developmental & Comparative Immunology*, 33(4), 601–611. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.10.011>
- Keech, C. L., Pang, K. C., McCluskey, J., in Chen, W. (2010). Direct antigen presentation by DC shapes the functional CD8⁺ T-cell repertoire against the nuclear self-antigen La-SSB. *European Journal of Immunology*, 40(2), 330–338. <https://doi.org/10.1002/eji.200939522>
- Kishore, U., in Reid, K. B. M. (2000). C1q: Structure, function, and receptors. *Immunopharmacology*, 49(1–2), 159–170. [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(00\)80301-X](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(00)80301-X)
- Kobayashi, K., Tomonaga, S., in Kajii, T. (1984). A second class of immunoglobulin other than IgM present in the

- serum of a cartilaginous fish, the skate, *Raja kenojei*: Isolation and characterization. *Molecular Immunology*, 21(5), 397–404. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(84\)90037-3](https://doi.org/10.1016/0161-5890(84)90037-3)
- Kohgo, Y., Ikuta, K., Ohtake, T., Torimoto, Y., in Kato, J. (2008). Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *International Journal of Hematology*, 88(1), 7–15. <https://doi.org/10.1007/s12185-008-0120-5>
- Konigshofer, Y., in Chien, Y. (2006). $\gamma\delta$ T cells—Innate immune lymphocytes? *Current Opinion in Immunology*, 18(5), 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2006.07.008>
- Kordon, Adef O., Abdelhamed, H., Ahmed, H., Park, J. Y., Karsi, A., in Pinchuk, L. M. (2018). Phagocytic and Bactericidal Properties of Channel Catfish Peritoneal Macrophages Exposed to Edwardsiella ictaluri Live Attenuated Vaccine and Wild-Type Strains. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02638>
- Kordon, Adef Othman, Karsi, A., in Pinchuk, L. (2018). Innate Immune Responses in Fish: Antigen Presenting Cells and Professional Phagocytes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(9). https://doi.org/10.4194/1303-2712-v18_9_11
- Kordon, A. O., Pinchuk, L., in Karsi, A. (2021). Adaptive Immune System in Fish. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(4). <https://doi.org/10.4194/TRJ-FAS20235>
- Kordon, A. O., Scott, M. A., Ibrahim, I., Abdelhamed, H., Ahmed, H., Baumgartner, W., ... Pinchuk, L. M. (2016). Identification of Langerhans-like cells in the immunocompetent tissues of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 58, 253–258. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.09.033>
- Küchler, A. M., Gjini, E., Peterson-Maduro, J., Cancilla, B., Wolburg, H., in Schulte-Merker, S. (2006). Development of the Zebrafish Lymphatic System Requires Vegfc Signaling. *Current Biology*, 16(12), 1244–1248. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.05.026>
- Laing, K. J., in Hansen, J. D. (2011). Fish T cells: Recent advances through genomics. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1282–1295. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.03.004>
- Lamas, J., in Ellis, A. E. (1994). Atlantic salmon (*Salmo salar*) neutrophil responses to *Aeromonas salmonicida*. *Fish & Shellfish Immunology*, 4(3), 201–219. <https://doi.org/10.1006/fsim.1994.1019>
- Lambert, L. A., Perri, H., Halbrooks, P. J., in Mason, A. B. (2005). Evolution of the transferrin family: Conservation of residues associated with iron and anion binding. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 142(2), 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.07.007>
- Lamkanfi, M., in Dixit, V. M. (2014). Mechanisms and Functions of Inflammasomes. *Cell*, 157(5), 1013–1022. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.007>
- Li, J., Barreda, D. R., Zhang, Y.-A., Boshra, H., Gelman, A. E., LaPatra, S., Tort, L., in Sunyer, J. O. (2006). B lymphocytes from early vertebrates have potent phagocytic and microbicidal abilities. *Nature Immunology*, 7(10), 1116–1124. <https://doi.org/10.1038/ni1389>
- Li, Yajuan, Li, Yuelong, Cao, X., Jin, X., in Jin, T. (2017). Pattern recognition receptors in zebrafish provide functional and evolutionary insight into innate immune signaling pathways. *Cellular & Molecular Immunology*, 14(1), 80–89. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.50>
- Liang, W., Li, Kang, Gao, H., Li, Kunming, Zhang, J., Zhang, Q., Jiao, X., Yang, J., in Wei, X. (2024). Full T-cell activation and function in teleosts require collaboration of first and co-stimulatory signals. *Zoological Research*, 45(1), 13–24. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2023.053>
- Liao, Z., Yang, C., Jiang, R., Zhu, W., Zhang, Y., in Su, J. (2022). Cyprinid-specific duplicated membrane TLR5 senses dsRNA as functional homodimeric receptors. *The EMBO Reports*, 23(8), EMBR202154281. <https://doi.org/10.15252/embr.202154281>
- Lie, Ø., Evensen, Ø., Sørensen, A., in Frøysadal, E. (1989). Study on lysozyme activity in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms - DISEASE AQUAT ORG*, 6, 1–5. <https://doi.org/10.3354/dao006001>
- Lin, A.-F., Xiang, L.-X., Wang, Q.-L., Dong, W.-R., Gong, Y.-F., in Shao, J.-Z. (2009). The DC-SIGN of Zebrafish: Insights into the Existence of a CD209 Homologue in a Lower Vertebrate and Its Involvement in Adaptive Immunity. *The Journal of Immunology*, 183(11), 7398–7410. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803955>
- Litman, G. W., Rast, J. P., in Fugmann, S. D. (2010). The origins of vertebrate adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 10(8), 543–553. <https://doi.org/10.1038/nri2807>
- Lovy, J., Wright, G. M., in Speare, D. J. (2008). Comparative Cellular Morphology Suggesting the Existence of Resident Dendritic Cells Within Immune Organs of Salmonids. *The Anatomical Record*, 291(4), 456–462. <https://doi.org/10.1002/ar.20674>
- Lovy, J., Wright, G., in Speare, D. (2006). Morphological presentation of a dendritic-like cell within the gills of chinook salmon infected with *Loma salmonae*. *Developmental & Comparative Immunology*, 30(3), 259–263. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.06.003>
- Lugo-Villarino, G., Balla, K. M., Stachura, D. L., Bañuelos, K., Werneck, M. B. F., in Traver, D. (2010). Identification of dendritic antigen-presenting cells in the zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(36), 15850–15855. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000494107>
- Magnadóttir, B. (1998). Comparison of immunoglobulin (IgM) from four fish species. *Búvísindi*, 12, 47–59
- Magnadóttir, B. (2010). Immunological Control of Fish Diseases. *Marine Biotechnology*, 12(4), 361–379. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9279-x>
- Magnadóttir, B., Lange, S., Gudmundsdóttir, S., Bogwald, J., in Dalmo, R. (2005). Ontogeny of humoral immune parameters in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 19(5), 429–439. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.010>
- Mali, P., Bhattacharya Sanyal, K., Dash, G., in Mukherjee, D. (2017). Nonspecific cytotoxic cells (NCC) in fish: A review. *Journal of interacademia*, 21(3), 372–378.
- Mamnur Rashid, M., Sardar, M., in Islam, M. R. (2002). In vitro phagocytic study of blood leucocytes and peritoneal macrophages of walking catfish *Clarias batrachus* (Ham.) against *Aeromonas hydrophila* and *Escherichia coli*. *Bangla-*

- desh *Journal of Fisheries Research*, 6(1), 35–41. Pridobljeno s <http://hdl.handle.net/1834/33179>
- Mantovani, A., Garlanda, C., Doni, A., in Bottazzi, B. (2008). Pentraxins in Innate Immunity: From C-Reactive Protein to the Long Pentraxin PTX3. *Journal of Clinical Immunology*, 28(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9126-7>
- Mashoof, S., in Criscitiello, M. F. (2016). Fish Immunoglobulins. *Biology*, 5(4), 45. <https://doi.org/10.3390/biology5040045>
- Maurer, M., Theoharides, T., Granstein, R. D., Bischoff, S. C., Bienenstock, J., Henz, B., ... Galli, S. (2003). What is the physiological function of mast cells? *Experimental Dermatology*, 12(6), 886–886. <https://doi.org/10.1111/j.0906-6705.2003.0109a.x>
- McKinney, E. C., Haynes, L., in Droese, A. L. (1986). Macrophage-like effector of spontaneous cytotoxicity from the shark. *Developmental & Comparative Immunology*, 10(4), 497–508. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(86\)90171-0](https://doi.org/10.1016/0145-305X(86)90171-0)
- Meijer, A. H., Gabby Krens, S. F., Medina Rodriguez, I. A., He, S., Bitter, W., Ewa Snaar-Jagalska, B., in Spaink, H. P. (2004). Expression analysis of the Toll-like receptor and TIR domain adaptor families of zebrafish. *Molecular Immunology*, 40(11), 773–783. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2003.10.003>
- Meng, Z., Zhang, X., Guo, J., Xiang, L., in Shao, J. (2012). Scavenger Receptor in Fish Is a Lipopolysaccharide Recognition Molecule Involved in Negative Regulation of NF- κ B Activation by Competing with TNF Receptor-Associated Factor 2 Recruitment into the TNF- α Signaling Pathway. *The Journal of Immunology*, 189(8), 4024–4039. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201244>
- Mildner, A., in Jung, S. (2014). Development and Function of Dendritic Cell Subsets. *Immunity*, 40(5), 642–656. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.04.016>
- Mills, C. D. (2012). M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. *Critical Reviews in Immunology*, 32(6), 463–488. <https://doi.org/10.1615/critrevimmunol.v32.i6.10>
- Mokhtar, D. M., Zaccane, G., Alesci, A., Kuciel, M., Hussein, M. T., in Sayed, R. K. A. (2023). Main Components of Fish Immunity: An Overview of the Fish Immune System. *Fishes*, 8(2), 93. <https://doi.org/10.3390/fishes8020093>
- Morrison, R. N., in Nowak, B. F. (2002). The antibody response of teleost fish. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 11(1), 46–54. <https://doi.org/10.1053/saep.2002.28241>
- Mulero, I., Sepulcre, M. P., Meseguer, J., García-Ayala, A., in Mulero, V. (2007). Histamine is stored in mast cells of most evolutionarily advanced fish and regulates the fish inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(49), 19434–19439. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704535104>
- Muller-Eberhard, H. J. (1986). The Membrane Attack Complex of Complement. *Annual Review of Immunology*, 4, 503–528. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.04.040186.002443>
- Muñoz, P., Álvarez-Pellitero, P., in Sitjà-Bobadilla, A. (2000). Modulation of the in vitro activity of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) phagocytes by the myxosporean parasite *Sphaerospora dicentrarchi* (Myxosporea: Bi-valvulida). *Fish & Shellfish Immunology*, 10(7), 567–581. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0272>
- Murai, T., Kodama, H., Naiki, M., Mikami, T., in Izawa, H. (1990). Isolation and characterization of rainbow trout C-reactive protein. *Developmental & Comparative Immunology*, 14(1), 49–58. [https://doi.org/10.1016/0145-305X\(90\)90007-2](https://doi.org/10.1016/0145-305X(90)90007-2)
- Murray, P. J., in Wynn, T. A. (2011). Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 723–737. <https://doi.org/10.1038/nri3073>
- Nakanishi, T., Shibasaki, Y., in Matsuura, Y. (2015). T Cells in Fish. *Biology*, 4(4), 640–663. <https://doi.org/10.3390/biology4040640>
- Nayak, D. K., Tang, A., Wilson, M., Miller, N. W., in Bengtén, E. (2010). Channel catfish soluble Fc γ R binds conserved linear epitopes present on C μ 3 and C μ 4. *Molecular immunology*, 47(6), 1306–1316. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.11.026>
- Netea, M. G. (2013). Training innate immunity: The changing concept of immunological memory in innate host defence. *European Journal of Clinical Investigation*, 43(8), 881–884. <https://doi.org/10.1111/eci.12132>
- Neumann, N. F., Stafford, J. L., in Belosevic, M. (2000). Biochemical and functional characterisation of macrophage stimulating factors secreted by mitogen-induced goldfish kidney leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(2), 167–186. <https://doi.org/10.1006/fsim.1999.0236>
- Nguyen-Chi, M., Laplace-Builhe, B. ryl, Travnickova, J., Luz-Crawford, P., Tejedor, G., Tien Phan, Q., ... Djouad, F. (2015). Identification of polarized macrophage subsets in zebrafish. *eLife*, 4, e07288. Pridobljeno s <https://elifesciences.org/articles/07288>
- Nigam, A. K., Kumari, U., Mittal, S., in Mittal, A. K. (2012). Comparative analysis of innate immune parameters of the skin mucous secretions from certain freshwater teleosts, inhabiting different ecological niches. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(5), 1245–1256. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9613-5>
- Nonaka, M., Takahashi, M., in Sasaki, M. (1994). Molecular cloning of a lamprey homologue of the mammalian MHC class III gene, complement factor B. *The Journal of Immunology*, 152(5), 2263–2269. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.152.5.2263>
- Nunomura, W. (1991). C-reactive protein in eel: Purification and agglutinating activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1076(2), 191–196. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(91\)90265-2](https://doi.org/10.1016/0167-4838(91)90265-2)
- Oriol Sunyer, J., in Tort, L. (1995). Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by the alternative complement pathway. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 45(3), 333–345. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(94\)05430-Z](https://doi.org/10.1016/0165-2427(94)05430-Z)
- Oshiumi, H., Tsujita, T., Shida, K., Matsumoto, M., Ikeo, K., in Seya, T. (2003). Prediction of the prototype of the human Toll-like receptor gene family from the pufferfish, *Fugu rubripes*, genome. *Immunogenetics*, 54(11), 791–800. <https://doi.org/10.1007/s00251-002-0519-8>

- Øverland, H. S., Pettersen, E. F., Rønneseth, A., in Wergeland, H. I. (2010). Phagocytosis by B-cells and neutrophils in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 28(1), 193–204. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.10.021>
- Palić, D., Andreassen, C. B., Ostojić, J., Tell, R. M., in Roth, J. A. (2007). Zebrafish (*Danio rerio*) whole kidney assays to measure neutrophil extracellular trap release and degranulation of primary granules. *Journal of Immunological Methods*, 319(1–2), 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2006.11.003>
- Parra, D., Rieger, A. M., Li, J., Zhang, Y.-A., Randall, L. M., Hunter, C. A., ... Sunyer, J. O. (2012). Pivotal Advance: Peritoneal cavity B-1 B cells have phagocytic and microbicidal capacities and present phagocytosed antigen to CD4⁺ T cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 91(4), 525–536. <https://doi.org/10.1189/jlb.0711372>
- Pasquier, L. D. (1982). Antibody diversity in lower vertebrates—Why is it so restricted? *Nature*, 296(5855), 311–313. <https://doi.org/10.1038/296311a0>
- Perdiguer, E. G., in Geissmann, F. (2016). Development and maintenance of resident macrophages. *Nature immunology*, 17(1), 2–8. <https://doi.org/10.1038/ni.3341>
- Petit, J., in Wiegertjes, G. F. (2016). Long-lived effects of administering β -glucans: Indications for trained immunity in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 64, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.03.003>
- Piazzon, M. C., Wentzel, A. S., Tijhaar, E. J., Rakus, K. L., Vanderplassen, A., Wiegertjes, G. F., in Forlenza, M. (2015). Cyprinid Herpesvirus 3 II10 Inhibits Inflammatory Activities of Carp Macrophages and Promotes Proliferation of Igm⁺ B Cells and Memory T Cells in a Manner Similar to Carp II10. *The Journal of Immunology*, 195(8), 3694–3704. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500926>
- Pijanowski, L., Golbach, L., Kolaczowska, E., Scheer, M., Verburg-van Kemenade, B. M. L., in Chadzinska, M. (2013). Carp neutrophilic granulocytes form extracellular traps via ROS-dependent and independent pathways. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(5), 1244–1252. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.02.010>
- Poynter, S., Lissner, G., Monjo, A., in DeWitte-Orr, S. (2015). Sensors of Infection: Viral Nucleic Acid PRRs in Fish. *Biology*, 4(3), 460–493. <https://doi.org/10.3390/biology4030460>
- Qiu, W., Liu, S., Chen, J., Hu, L., Wu, M., in Yang, M. (2016). The primary culture of carp (*Cyprinus carpio*) macrophages and the verification of its phagocytosis activity. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, 52(1), 10–19. <https://doi.org/10.1007/s11626-015-9942-7>
- Quiniou, S. M. A., Boudinot, P., in Bengtén, E. (2013). Comprehensive survey and genomic characterization of Toll-like receptors (TLRs) in channel catfish, *Ictalurus punctatus*: Identification of novel fish TLRs. *Immunogenetics*, 65(7), 511–530. <https://doi.org/10.1007/s00251-013-0694-9>
- Radhakrishnan, A., Chellapandian, H., Ramasamy, P., in Jeyachandran, S. (2023). Back2Basics: Animal lectins: an insight into a highly versatile recognition protein. *Journal of Proteins and Proteomics*, 14(1), 43–59. <https://doi.org/10.1007/s42485-022-00102-4>
- Rai, A. K., Saikia, P., in Mech, B. (2013). Histochemical Localization of Alkaline Phosphatase Activity during Cutaneous Wound Healing In a Catfish under Acid Stress. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(8), 1–9.
- Ramos, F., in Smith, A. C. (1978). The C-reactive protein (CRP) test for the detection of early disease in fishes. *Aquaculture*, 14(3), 261–266. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(78\)90099-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(78)90099-6)
- Redmond, A. K., Zou, J., Secombes, C. J., Macqueen, D. J., in Dooley, H. (2019). Discovery of All Three Types in Cartilaginous Fishes Enables Phylogenetic Resolution of the Origins and Evolution of Interferons. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01558>
- Rieger, A. M., Konowalchuk, J. D., Grayfer, L., Katzenback, B. A., Havixbeck, J. J., Kiemle, M. D., ... Barreda, D. R. (2012). Fish and Mammalian Phagocytes Differentially Regulate Pro-Inflammatory and Homeostatic Responses In Vivo. *PLOS ONE*, 7(10), e47070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047070>
- Roach, J. C., Glusman, G., Rowen, L., Kaur, A., Purcell, M. K., Smith, K. D., ... Aderem, A. (2005). The evolution of vertebrate Toll-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(27), 9577–9582. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502272102>
- Robertson, B. (2006). The interferon system of teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), 172–191. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.010>
- Robertson, B., Bergan, V., Røkenes, T., Larsen, R., in Albuquerque, A. (2003). Atlantic Salmon Interferon Genes: Cloning, Sequence Analysis, Expression, and Biological Activity. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 23(10), 601–612. <https://doi.org/10.1089/107999003322485107>
- Rombout, J. H. W. M., Yang, G., in Kiron, V. (2014). Adaptive immune responses at mucosal surfaces of teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 40(2), 634–643. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.020>
- Rombout, J., Huttenhuis, H., Picchietti, S., in Scapigliati, G. (2005). Phylogeny and ontogeny of fish leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 19(5), 441–455. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.007>
- Ross, N. W., Firth, K. J., Wang, A., Burka, J. F., in Johnson, S. C. (2000). Changes in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of Aquatic Organisms*, 41, 43–51. <https://doi.org/10.3354/dao041043>
- Rubio-Godoy, M. (2010). Teleost fish immunology. Review. *Rev. Mex. Tec. Pec.*, 1, 43–57.
- Russell, S., in Lumsden, J. S. (2005). Function and heterogeneity of fish lectins. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108(1–2), 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.08.004>
- Samuel, C. E. (2001). Antiviral Actions of Interferons. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 778–809. <https://doi.org/10.1128/cmr.14.4.778-809.2001>
- Santoni, G., Cardinali, C., Morelli, M. B., Santoni, M., Nabissi, M., in Amantini, C. (2015). Danger- and pathogen-associated molecular patterns recognition by pattern-recognition

- tion receptors and ion channels of the transient receptor potential family triggers the inflammasome activation in immune cells and sensory neurons. *Journal of Neuroinflammation*, 12(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0239-2>
- Saurabh, S., in Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: An important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39(3), 223–239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x>
- Scharsack, J. P., Kalbe, M., in Schaschl, H. (2007). Characterization of antisera raised against stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) MHC class I and class II molecules. *Fish & Shellfish Immunology*, 23(5), 991–1002. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.03.011>
- Secombes, C. J. (1996). The nonspecific immune system: Cellular defenses. V G. Iwama in T. Nakanishi (ur.), *Fish Physiology (Let. 15, str. 63–103)*. San Diego, CA: Academic Press (Elsevier). [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60272-1](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60272-1)
- Sfacteria, A., Brines, M., in Blank, U. (2015). The mast cell plays a central role in the immune system of teleost fish. *Molecular Immunology*, 63(1), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.02.007>
- Shang, N., Sun, X.-F., Hu, W., Wang, Y.-P., in Guo, Q.-L. (2008). Molecular cloning and characterization of common carp (*Cyprinus carpio* L.) TCR γ and CD3 γ/δ chains. *Fish & Shellfish Immunology*, 24(4), 412–425. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.12.007>
- Smith, N. C., Rise, M. L., in Christian, S. L. (2019). A Comparison of the Innate and Adaptive Immune Systems in Cartilaginous Fish, Ray-Finned Fish, and Lobe-Finned Fish. *Frontiers in Immunology*, 10, 2292. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02292>
- Smith, P. D., Smythies, L. E., Shen, R., Greenwell-Wild, T., Gliozzi, M., in Wahl, S. M. (2011). Intestinal macrophages and response to microbial encroachment. *Mucosal Immunology*, 4(1), 31–42. <https://doi.org/10.1038/mi.2010.66>
- Snegaroff, J. (1993). Induction of interferon synthesis in rainbow trout leucocytes by various homeotherm viruses. *Fish & Shellfish Immunology*, 3(3), 191–198. <https://doi.org/10.1006/fsim.1993.1019>
- Souwer, Y., Griekspoor, A., Jorritsma, T., de Wit, J., Janssen, H., Neefjes, J., in van Ham, S. M. (2009). B Cell Receptor-Mediated Internalization of Salmonella: A Novel Pathway for Autonomous B Cell Activation and Antibody Production1. *The Journal of Immunology*, 182(12), 7473–7481. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802831>
- St. John, A. L., in Abraham, S. N. (2013). Innate Immunity and Its Regulation by Mast Cells. *The Journal of Immunology*, 190(9), 4458–4463. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203420>
- Stafford, J. L., Ellestad, K. K., Magor, K. E., Belosevic, M., in Magor, B. G. (2003). A toll-like receptor (TLR) gene that is up-regulated in activated goldfish macrophages. *Developmental & Comparative Immunology*, 27(8), 685–698. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(03\)00041-7](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(03)00041-7)
- Sugamata, R., Suetake, H., Kikuchi, K., in Suzuki, Y. (2009). Teleost B7 Expressed on Monocytes Regulates T Cell Responses1, 2. *The Journal of Immunology*, 182(11), 6799–6806. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803371>
- Summerfield, A., Auray, G., in Ricklin, M. (2015). Comparative Dendritic Cell Biology of Veterinary Mammals. *Annual Review of Animal Biosciences*, 3(1), 533–557. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-111009>
- Szalai, A. J., Bly, J. E., Clem, L. W., Szalai, A. J., Bly, J. E., in Clem, L. W. (1994). Changes in serum concentrations of channel catfish phosphorylcholine-reactive protein in response to inflammatory agents, low temperature-shock and infection by the fungus *Saprolegnia* sp. *Fish and Shellfish Immunology*, 4(5), 323–336.
- Tafalla, C., González, L., Castro, R., in Granja, A. G. (2017). B Cell-Activating Factor Regulates Different Aspects of B Cell Functionality and Is Produced by a Subset of Splenic B Cells in Teleost Fish. *Frontiers in Immunology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00295>
- Takano, T., Kondo, H., Hirono, I., Endo, M., Saito-Taki, T., in Aoki, T. (2011.). *Toll-like receptors in teleosts*. V M. G. Bondad-Reantaso, J. B. Jones, F. Corsin, in T. Aoki (ur.), *Diseases in Asian aquaculture VII* (pp. 197–208). Selangor, Malaysia: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Tavares-Dias, M. (2006). Cytochemical method for staining fish basophils. *Journal of Fish Biology*, 69(1), 312–317. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01106.x>
- Theoharides, T. C., Alysandratos, K.-D., Angelidou, A., Delivanis, D.-A., Sismanopoulos, N., Zhang, B., ... Kalogeromitros, D. (2012). Mast cells and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1822(1), 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.12.014>
- Tort, L., in MacKenzie, S. (2003). Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. *Immunologia*, 22(3), 277–286.
- Turvey, S. E., in Broide, D. H. (2010). Innate immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S24–S32. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.016>
- Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R., in Moran, G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: A review. *Veterinárni Medicina*, 56(10), 486–503. <https://doi.org/10.17221/3294-VETMED>
- Vallejo, A. N., Miller, N. W., Harvey, N. E., Cuchens, M. A., Warr, G. W., in Clem, L. W. (1992). Cellular Pathway(S) of Antigen Processing and Presentation in Fish APC: Endosomal Involvement and Cell-Free Antigen Presentation. *Developmental Immunology*, 3(1), 51–65. <https://doi.org/10.1155/1992/82525>
- van der Vaart, M., Spaink, H. P., in Meijer, A. H. (2012). Pathogen Recognition and Activation of the Innate Immune Response in Zebrafish. *Advances in Hematology*, 2012(1), 159807. <https://doi.org/10.1155/2012/159807>
- Vasta, G. R., Ahmed, H., in Odom, E. W. (2004). Structural and functional diversity of lectin repertoires in invertebrates, protochordates and ectothermic vertebrates. *Current Opinion in Structural Biology*, 14(5), 617–630. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2004.09.008>
- Veríssimo, A., Castro, L. F. C., Muñoz-Mérida, A., Almeida, T., Gaigher, A., Neves, F., ... Ohta, Y. (2023). An Ancestral Major Histocompatibility Complex Organization in Cartilaginous Fish: Reconstructing MHC Origin and Evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 40(12), msad262. <https://doi.org/10.1093/molbev/msad262>

- Voss, E. W., Fryer, J. L., in Banowetz, G. M. (1978). Isolation, purification, and partial characterization of a lectin from chinook salmon ova. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 186(1), 25–34. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(78\)90459-9](https://doi.org/10.1016/0003-9861(78)90459-9)
- Vyas, J. M., Van der Veen, A. G., in Ploegh, H. L. (2008). The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nature Reviews Immunology*, 8(8), 607–618. <https://doi.org/10.1038/nri2368>
- Wan, F., Hu, C., Ma, J., Gao, K., Xiang, L., in Shao, J. (2017). Characterization of $\gamma\delta$ T Cells from Zebrafish Provides Insights into Their Important Role in Adaptive Humoral Immunity. *Frontiers in Immunology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00675>
- Wan, Y. Y., in Flavell, R. A. (2009). How Diverse—CD4 Effector T Cells and their Functions. *Journal of Molecular Cell Biology*, 1(1), 20–36. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjp001>
- Weber, A. N. R. (2022). Fish TLR5 develops a taste for viral RNA. *The EMBO Reports*, 23(8), EMBR202255443. <https://doi.org/10.15252/embr.202255443>
- Whyte, S. K. (2007). The innate immune response of finfish – A review of current knowledge. *Fish & Shellfish Immunology*, 23(6), 1127–1151. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.06.005>
- Willett, C. E., Kawasaki, H., Amemiya, C. T., Lin, S., in Steiner, L. A. (2001). Ikaros expression as a marker for lymphoid progenitors during zebrafish development. *Developmental Dynamics*, 222(4), 694–698. <https://doi.org/10.1002/dvdy.1223>
- Wilson, M., Bengtén, E., Miller, N. W., Clem, L. W., Du Pasquier, L., in Warr, G. W. (1997). A novel chimeric Ig heavy chain from a teleost fish shares similarities to IgD. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(9), 4593–4597. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.9.4593>
- Wittamer, V., Bertrand, J. Y., Gutschow, P. W., in Traver, D. (2011). Characterization of the mononuclear phagocyte system in zebrafish. *Blood*, 117(26), 7126–7135. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-11-321448>
- Wu, Z., in Kaiser, P. (2011). Antigen presenting cells in a non-mammalian model system, the chicken. *Immunobiology*, 216(11), 1177–1183. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2011.05.012>
- Yamaguchi, T., Takizawa, F., Furihata, M., Soto-Lampe, V., Dijkstra, J. M., in Fischer, U. (2019). Teleost cytotoxic T cells. *Fish & Shellfish Immunology*, 95, 422–439. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.041>
- Yousif, A., Albright, L., in Evelyn, T. (1994). In vitro evidence for the antibacterial role of lysozyme in salmonid eggs. *Diseases of Aquatic Organisms*, 19, 15–19. <https://doi.org/10.3354/dao019015>
- Zapata, A., Diez, B., Cejalvo, T., Gutiérrez-de Frías, C., in Cortés, A. (2006). Ontogeny of the immune system of fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), 126–136. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.005>
- Zhang, X. (2013). Regulatory functions of innate-like B cells. *Cellular & Molecular Immunology*, 10(2), 113–121. <https://doi.org/10.1038/cmi.2012.63>
- Zhang, Y.-A., Salinas, I., Li, J., Parra, D., Bjork, S., Xu, Z., ... Sunyer, J. O. (2010). IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity. *Nature Immunology*, 11(9), 827–835. <https://doi.org/10.1038/ni.1913>
- Zhao, X., Findly, R. C., in Dickerson, H. W. (2008). Cutaneous antibody-secreting cells and B cells in a teleost fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(5), 500–508. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.08.009>
- Zhu, J., Yamane, H., in Paul, W. E. (2010). Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annual Review of Immunology*, 28(1), 445–489. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-030409-101212>
- Zhu, L., Lin, A., Shao, T., Nie, L., Dong, W., Xiang, L., in Shao, J. (2014). B Cells in Teleost Fish Act as Pivotal Initiating APCs in Priming Adaptive Immunity: An Evolutionary Perspective on the Origin of the B-1 Cell Subset and B7 Molecules. *The Journal of Immunology*, 192(6), 2699–2714. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301312>
- Zoccola, E., Delamare-Deboutteville, J., in Barnes, A. C. (2015). Identification of Barramundi (*Lates calcarifer*) DC-SCRIPT, a Specific Molecular Marker for Dendritic Cells in Fish. *PLOS ONE*, 10(7), e0132687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132687>