

Neurohormonalne podstawy agresji u ryb

BOGDAN FELIKS KANIA, ELŻBIETA ZAWADZKA, BOGDAN DĘBSKI

Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Kania B. F., Zawadzka E., Dębski B.

Neurohormonal basis of aggression in fish

Summary

Physiological studies of neuroendocrine regulation confirm that aggressive behavior patterns are nearly universal in the animal kingdom. Different species of fish (e.g. Zebra Fish and Siamese Fighting Fish) are used as models for studies of animal behavior, including aggression. Despite an increased risk of injury or death, aggression frequently offers considerable benefits. It is mainly related with competition for limited resources, for example, competition for food or a mate, the establishment of territory and dominance hierarchies (a higher social status). Aggression is a kind of aversive drive to limit the freedom of other animals of the same or other species or to injure or kill them. Territorial behavior is a significant problem in farm and companion animals, not only causing economic losses but also threatening animal health and welfare. The following systems are involved in the regulation of aggressive behavior: the hypothalamo-pituitary-adrenocortical (HPA), sympathetico-medullary-adrenal (SAM), hypothalamo-pituitary-interrenal, serotonin, somatostatin, dopamine, histamine and nitric oxide pathways, as well as brain structures responsible for motivation. The aim of this article is to review the present state of knowledge concerning the neuro-endocrine modulation of aggressive behavior in animals.

Keywords: animal aggression, neuroendocrine regulation, gene expression

Agresja u zwierząt jest zwykle wynikiem rywalizacji osobników w celu zaspokojenia różnych potrzeb, takich jak zdobycie pożywienia, terytorium czy partnera (26). Badanie zachowań agresywnych zwierząt ogranicza się do kilku wybranych modeli na zwierzętach laboratoryjnych. Najczęstszymi gatunkami do analizy takich zachowań są myszy i muszki *Drosophila*. Niewiele jest badań dotyczących zachowań agresywnych u ryb (14), gdzie często spotykanym zjawiskiem jest wewnątrzgatunkowa agresja terytorialna (15).

Celem pracy jest zwrócenie uwagi, jak bardzo złożone są podstawy agresji u zwierząt. Zachowania te regulowane są zarówno przez układ nerwowy, jak i przez układ hormonalny. Przybliżenie tych mechanizmów od podstaw genetycznych pozwala lepiej zrozumieć, jak wiele czynników może wpływać na agresję. Są gatunki zwierząt, u których bardzo łatwo jest zaobserwować zachowania agresywne, a zatem i wpływ poszczególnych substancji na te zachowania. Są też takie, których behavior wymaga dokładnych badań. Do tej drugiej grupy należy większość gatunków ryb. Okazuje się, że agresja u ryb jest powszechnym zjawiskiem, podobnie jak u ssaków, dlatego warto poznać mechanizmy modulujące takie zachowania.

U ssaków istnieje wiele genów odgrywających istotną rolę w zachowaniach agresywnych. Jedne z bardziej szczegółowych badań genetycznych nad agresją

zostały przeprowadzone na rybach z gatunku danio pęgowany (zebra danio, *Danio rerio*). Ocenie poddano tych samych 40 genów spośród genów pełniących ważne role w agresji u ssaków i analizowano ich ekspresję w mózgu ryb. Geny te odpowiadają za 8 szlaków neurologicznych powiązanych ze sobą: oś podwzgórzowo-przysadkowa (hypothalamo-neurohypophysial system – HNS), oś podwzgórzowo-przysadkowo-międzynerkowa (hypothalamo-pituitary-interrenal – HPI), homologiczna do osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej u ssaków (hypothalamo-pituitary-adrenal – HPA), oś podwzgórzowo-przysadkowo-gonadowa (hypothalamo-pituitary-gonadal – HPG) oraz przekazywanie przy udziale serotoniny (5-HT), dopaminy (DA), histaminy, a także somatostatyny i azotowego tlenku (NO) (14).

W zachowaniu osobników dominujących i podporządkowanych w grupie zwierząt istnieją podstawowe różnice, ponieważ odmienna jest ich reakcja nerwowa i hormonalna na odbierane bodźce (4). U ryb – podobnie jak u ssaków – bardziej agresywne są zwykle samce i osobniki dominujące w grupie. Świadczą o tym różnice w typie zachowań (pogoń, atak, ucieczka) oraz intensywność tych zachowań (14, 23). Ryby z gatunku danio pęgowany ustalają hierarchię zarówno wśród osobników męskich, jak i żeńskich. W przypadku ryb bardziej agresywnych stwierdzono najwięk-

szą ekspresję wybranych 40 genów w podwzgorzu i kresomózgowiu (14). U ssaków główną rolę w agresji odgrywa podwzgorze oraz struktury kresomózgowia, zwłaszcza ciało migdałowate oraz hipokamp (11, 13), które są homologiczne z przyśrodkowym i bocznym kresomózgowiem ryb (20).

Największe różnice w ekspresji genów pomiędzy samcami dominującymi i podległymi ryb danio dotyczyły genu *avpl* (arginine vasopressin-like), którego produktem jest peptyd wazotocyna (AVT) (14), będąca homologiem wazopresyny (AVP) ssaków. Oba te związki pełnią istotną rolę w agresji u kręgowców (3, 25). Osobniki bardziej agresywne mają zwiększoną ekspresję genu kodującego wazotocynę, jednak u ryb różnych gatunków o odmiennych zachowaniach socjalnych podanie wazotocyny powoduje inne reakcje: nasilenie agresji u gatunków kolonialnych oraz zmniejszenie agresji u gatunków terytorialnych (3, 14). Podobne zjawisko obserwuje się u niektórych gatunków ssaków i ptaków (25). U dominujących (terytorialnych) samców ryb danio wazotocyna wstrzykiwana *i.p.* zmniejszała agresję (14). W badaniach na Pięknym Gregorym (*Stegastes leucostictus*), rybie z rodziny garbikowatych o silnie wyrażonych zachowaniach terytorialnych, postawiono hipotezę, że podanie wazotocyny również zmniejszy chęć walki o terytorium. Jednak wyniki uzyskane u tego gatunku nie potwierdziły tej hipotezy – wazotocyna nasiliła agresję u samców (25). Sugeruje się, że wazotocyna w dużych stężeniach w organizmie może mieć również powinowactwo do receptorów dla izotocyny (IT) (AVT i IT mają bardzo podobny skład aminokwasowy). Budowa i rozmieszczenie receptorów dla tych nanopeptydów też nie są ostatecznie poznane. Trudne jest także jednoznaczne określenie wpływu wazotocyny i jej antagonistów (Manning compound) na zachowanie ryb o specyficznych strategiach rozrodczych, np. zmieniających płeć (25). Zatem potwierdzenie hipotezy o zróżnicowanym wpływie wazotocyny na zwierzęta o odmiennych zachowaniach socjalnych wymaga dalszych dociekań.

U bardziej agresywnych osobników danio obserwowano także zwiększoną ekspresję genu *oxtl* (*oxytocin-like*), który koduje peptyd IT, będący homologiem oksytocyny ssaków (OX). Izotocyna powoduje chęć grupowania się (14), podobnie jak oksytocyna u ssaków (9). Wyniki badań nad ekspresją genów wydają się sprzeczne z powyższym faktem, jednak obie substancje mogą wpływać na agresję jednych osobników wobec intruzów ingerujących w więzi socjalne w da-



Ryc. 1. Test lusterkowy u samca bojownika syjamskiego (*Betta splendens*). Widoczna jest reakcja na odbicie w lustrze – samiec rozkłada płetwy



Ryc. 2. Test lusterkowy u samca bojownika syjamskiego (*Betta splendens*). Samiec atakuje płetwami swoje odbicie traktując je jak przeciwnika

nej grupie. Takie zjawisko można obserwować np. u zwierząt monogamicznych (16).

Równie istotna jest rola 5-hydroksytryptaminy (serotoniny, 5-HT) w agresji, zarówno u ryb, jak i innych kręgowców. Serotonina hamuje ekspresję zachowań agresywnych (6, 14, 18). U osobników dominujących danio dowiedziono nasiloną ekspresję genów kodujących enzym niezbędny do syntezy serotoniny (*tph*) oraz jej receptora (*htr1a*) (14). Przypuszcza się, że 5-HT powoduje hamowanie agresji właśnie przez receptor klasy 5-HT_{1A}. Taką hipotezę potwierdza osłabienie agresji u samców bojownika syjamskiego (*Betta splendens*) po podawaniu agonisty tego receptora 8-OH-DPAT (8-hydroksy-2-(di-n-propyloamino)-tetraliny),

jak też po stosowaniu samej 5-HT (6). Podobnie jak u innych kręgowców, podanie fluoksetyny (lek z grupy wybiórczych inhibitorów wchłaniania zwrotnego 5-HT (SSRIs – selective serotonin reuptake inhibitors)) powoduje np. u samców bojownika syjamskiego zmniejszenie wychwytu zwrotnego 5-HT i obniżenie agresji. Podanie inhibitora powoduje zwiększenie stężenia 5-HT w synapsach, przez co wydłuża się jej antyagresywne działanie. Natomiast stosowanie antagonisty receptora 5-HT_{1A} – WAY100,635 – zwiększa agresję u zwierząt (14, 15, 18). Bojownik syjamski jest jednym z najlepszych modeli do badania agresji u ryb ze względu na dobrze poznane, silnie stereotypowe zachowania agresywne. Kolejnym aspektem jest łatwość wywołania agresji u bojownika – powszechnie stosowany jest test lusterkowy, w którym samiec reaguje na swoje odbicie w lustrze chęcią walki z „intruzem” (6, 15, 18) (ryc. 1, 2). Przyjmuje się, że ryby nie rozpoznają swojego obrazu w lustrze, np. u gębacza trójbarwnego (*Astatotilapia burtoni*) nie zaobserwowano znacznej różnicy w zachowaniu samców wobec swojego odbicia w lustrze i wobec drugiego samca umieszczonego za cienką przesłoną (7). Dokładna rola wszystkich receptorów szlaków serotonergicznycnych nie została jeszcze poznana. Istnieją dane wskazujące na fakt, że włókna serotonergiczne i neurony uwalniające AVP (lub AVT – u ryb) w mózgu są zlokalizowane w swoim sąsiedztwie. W ten sposób 5-HT mogłaby także wpływać na obniżenie stopnia agresji przez zahamowanie uwalniania AVP (lub AVT) z neuronów. Wykazano istnienie takich powiązań w mózgu chomików syryjskich (*Mesocricetus auratus*) (12), natomiast u ryb są to tylko hipotezy (24). Szczególnie ważne jest poznanie działania leków modulujących przekazywanie serotonergiczne u ryby i innych organizmów wodnych. Leki te masowo stosowane przez ludzi, m.in. w zaburzeniach osobowości i łaknienia, trafiają do wód w stężeniach, które mogą wpływać na życie i rozród zwierząt wodnych (6, 15, 18).

Opisuje się także rolę szlaków dopaminergicznycnych i histaminergicznycnych w agresji u ryb. Okazuje się bowiem, że DA u ryb stymuluje zachowania agresywne podobnie jak u ssaków (2). U bardziej agresywnych samców danio dowiedziono nasiloną ekspresję genów kodujących hydroksylazę tyrozyny (*th*) – enzymu uczestniczącego w syntezie DA – oraz transporter dopaminy DAT (*slc6a3*), odpowiadający za jej wychwyty zwrotny (14). Podobne wyniki uzyskano dla histaminy – zwiększonej ekspresji ulegały geny dekarboksylazy L-histaminy (*hdc*) – enzymu uczestniczącego w syntezie histaminy – oraz jej receptora H₂ (*hrh2*). Rola histaminy w agresji została poznana jedynie u ssaków, u kręgowców niższych od ssaków jeszcze nie jest dokładnie poznana (14). Interesujące jest, że u ssaków histamina powoduje nasilenie agresji poprzez receptor H₁, prawdopodobnie hamując przekazywanie 5-HT-ergiczne (19, 21, 30), natomiast w mózgu agre-

sywnych osobników danio stwierdzono zwiększenie stopnia gęstości receptorów H₂. To może sugerować większe znaczenie tych receptorów w agresji u ryb (14).

Zachowania agresywne u zwierząt są stymulowane także przez hormony płciowe. Powszechnie znanym faktem jest, że kastracja zmniejsza agresję u samców (19). Na przykład u samców tilapii mozambijskiej (*Oreochromis mossambicus*) zwiększa się stężenie androgenów wraz z koniecznością walki o teren z innymi samcami. Ryby poddawano dwóm bodźcom stymulującym: światłu i konfrontacji z innym samcem. Z czasem samo światło powodowało wystąpienie zachowań agresywnych, skrócenie czasu do wystąpienia tych zachowań, a także zwiększenie stężenia androgenów (1). Ryby tego gatunku silnie bronią swoich terytoriów rozrodczych, stąd każdy czynnik, który może zapowiadać nadejście intruza wydaje się wart zapamiętania w celu skuteczniejszej ochrony terytorium (1). U samców ryb dominujących – podobnie jak u ssaków – stwierdzano w mózgu większą ekspresję genów receptorów dla androgenów i estrogenów, zarówno u danio, jak i u gębacza trójbarwnego. W przypadku estrogenów główną rolę w nasilaniu agresji u ssaków odgrywa typ α receptora, natomiast u ryb typ β (14, 29).

U ryb w reakcji na stres dochodzi do pobudzenia osi HPI, co prowadzi do uwalniania glikokortykosteroidów (podobnie jak u ssaków w następstwie pobudzenia osi HPA). U podporządkowanych osobników danio stężenia glikokortykosteroidów w surowicy były długotrwale zwiększone w porównaniu z osobnikami dominującymi (14). W doświadczeniu na pstrągach tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*) ryby poddawano 15-minutowym interakcjom w parach, stwierdzając zwiększone stężenie kortyzolu w surowicy, zarówno u ryby zwycięskiej, jak i u pokonanej, w porównaniu z rybami kontrolnymi, pozostającymi w samotności (4). Pstrągi, u których stosowano egzogenny kortyzol, poddawano konfrontacji z rybami bez leku (w parach). Zaobserwowano, że osobnikami podporządkowanymi w tych pojedynkach częściej stawały się ryby z suplementacją kortyzolem. Stosowanie kortyzolu powodowało zmniejszenie aktywności motorycznej oraz agresji (5, 8, 22). Glikokortykosteroidy osłabiają agresję głównie przez nasilenie przekazywania serotonergicznego w mózgu (28).

U podporządkowanych osobników danio stwierdzano też zwiększoną ekspresję genów kodujących CRF (czynnik uwalniający kortykotropinę) i NPY (neuropeptyd Y) w kresomózgowiu (14). Neuropeptydy te odgrywają pewną rolę w agresji zarówno u ryb (4), jak i u ssaków (10, 27). CRF aktywuje oś HPI, stymuluje aktywność motoryczną oraz działa uspokajająco (4, 5). Wydaje się, że CRF wpływa ośrodkowo zarówno na aktywność ruchową, jak i na agresję, niezależnie od kortyzolu wydzielanego przez nadnercza u ssaków i gruczoły międzynercza u ryb. Przypuszcza się, że może to wynikać z roli CRF jako neuromodulatora

ośrodkowego układu monoamin: 5-HT, DA i norepinefryny (NE), przez co wpływa na zachowania zwłaszcza związane z konfliktami o charakterze społecznym (4, 17).

Oczywiście, istnieją jeszcze różnice pomiędzy płaciami w regulacji hormonalnej oraz ekspresji genów. Niektóre geny ulegają aktywacji tylko u samic, inne tylko u samców. Są także różnice w ekspresji zależące od czasu trwania stresu (14). Okazuje się, że ryby bardziej agresywne osiągają większe rozmiary, a krzyżowanie dominujących samic z dominującymi samcami daje korzystniejsze wyniki w rozrodzie (14, 23). Zatem zachowania agresywne wydają się przynosić wiele korzyści, mimo ryzyka urazów, a czasem nawet śmierci.

Okazuje się, że u różnych gatunków kręgowców agresja jest następstwem bardzo podobnych mechanizmów neurohormonalnych. Poznanie genów, neuroprzekazników i hormonów wpływających na zachowania agresywne zwierząt daje możliwość modulacji tych zachowań. Agresja jest powszechnym zjawiskiem wśród zwierząt, zwłaszcza agresja wewnątrzgatunkowa. Jednak wciąż wiele mechanizmów wymaga dalszych badań, wiele zachowań wymaga dalszych obserwacji, aby móc dokładnie określić ich rolę w agresji.

Piśmiennictwo

1. Antunes R. A., Oliveira R. F.: Hormonal anticipation of territorial challenges in cichlid fish. PNAS 2009, 106, 15985-15989.
2. Bondar N. P., Boyarskikh U. A., Kovalenko I. L., Filipenko M. L., Kudryatseva N. N.: Molecular implications of repeated aggression: Th, Dat1, Snca and Bdnf gene expression in the VTA of victorious male mice. Public Library of Science ONE 2009, 4, e4190.
3. Caldwell H. K., Lee H. J., Macheth A. H., Young W. S.: Vasopressin: behavioural roles of an „original” neuropeptide. Prog. Neurobiol. 2008, 84, 1-24.
4. Carpenter R. E., Korzan W. J., Bockholt C., Watt M. J., Forster G. L., Renner K. J., Summers C. H.: Corticotropin releasing factor influences aggression and monoamines: Modulation of attacks and retreats. Neurosci. 2009, 158, 412-425.
5. Carpenter R. E., Watt M. J., Forster G. L., Overli O., Bockholt C., Renner K. J., Summers C. H.: Corticotropin releasing factor induces anxiogenic locomotion in trout and alters serotonergic and dopaminergic activity. Hormones Behav. 2007, 52, 600-611.
6. Clotfelter E. D., O'Hare E. P., McNitt M. M., Carpenter R. E., Summers C. H.: Serotonin decreases aggression via 5-HT1A receptors in the fighting fish *Betta splendens*. Pharmacol. Biochem. Behav. 2007, 87, 222-231.
7. Desjardins J. K., Fernald R. D.: What do fish make of mirror images? Biol. Lett. 2010, 6, 744-747.
8. DiBattista J. D., Anisman H., Whitehead M., Gilmour K. M.: The effects of cortisol administration on social status and brain monoaminergic activity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J. Exp. Biol. 2005, 208, 2707-2718.
9. Donaldson Z. R., Young L. J.: Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. Science 2008, 322, 900-904.
10. Elkabir D. R., Wyatt M. E., Vellucci S. V., Herbert J.: The effects of separate or combined infusions of corticotropin-releasing factor and vasopressin either intraventricularly or into the amygdala on aggressive and investigative behaviour in the rat. Regul. Peptides 1990, 28, 199-214.
11. Feldker D. E. M., de Kloet E. R., Kruk M. R., Datson N. A.: Large-scale gene expression profiling of discrete brain regions: potential, limitations, and application in genetics of aggressive behavior. Behav. Genetics 2003, 33, 537-548.
12. Ferris C. F., Melloni R. H., Koppel G., Perry K. W., Fuller R. W., Delville Y.: Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. J. Neurosci. 1997, 17, 4331-4340.
13. Ferris C. F., Stolberg T., Kulkarni P., Murugavel M., Blanchard R., Blanchard D. C., Febo M., Brevard M., Simon N. G.: Imaging the neural circuitry and chemical control of aggressive motivation. BMC Neurosci. 2008, 9, 111.
14. Filby A. L., Paull G. C., Hickmore T. F. A., Tyler C. R.: Unravelling the neurophysiological basis of aggression in a fish model. BMC Genomics 2010, 11, 498.
15. Kania B. F., Gralak M. A., Górska M., Wielgosz M.: Four-week fluoxetine (SSRI) exposure diminishes aggressive behaviour of male Siamese fighting fish (*Betta splendens*). J. Brain Behav. Sci. 20011 (w druku).
16. Leng G., Meddle S. L., Douglas A. J.: Oxytocin and the maternal brain. Curr. Opin. Pharmacol. 2008, 8, 731-734.
17. Lowry C. A., Moore F. L.: Regulation of behavioral responses by corticotrophin-releasing factor. Gen. Comp. Endocrinol. 2006, 146, 19-27.
18. Lynn S. E., Egar J. M., Walker B. G., Sperry T. S., Ramenofsky M.: Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. Adv. Physiol. Educ. 2007, 31, 358-363.
19. Nelson R. J., Chiavegatto S.: Molecular basis of aggression. Trends in Neurosci. 2001, 24, 713-719.
20. Northcutt R. G.: Evolution of the telencephalon in nonmammals. Ann. Rev. Neurosci. 1981, 4, 301-350.
21. Onodera K., Yamatodani A., Watanabe T.: Effect of alphafluoromethylhistidine on brain histamine and noradrenaline in muricidal rats. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1993, 15, 423-427.
22. Overli Ø., Kotzian S., Winberg S.: Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout. Hormones Behav. 2002a, 42, 53-61.
23. Paul G. C., Filby A. L., Giddins H. G., Coe T. S., Hamilton P. B., Tyler C. T.: Dominance hierarchies in zebrafish (*Danio rerio*) and their relationship with reproductive success. Zebrafish 2010, 7, 109-117.
24. Perrault H. A. N., Semsar K., Godwin J.: Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. Physiol. Behav. 2003, 79, 719-724.
25. Santangelo N., Bass A. H.: New insights into neuropeptide modulation of aggression: field studies of arginine vasotocin in a territorial tropical damselfish. Proc. Royal Soc. B 2006, 273, 3085-3092.
26. Sapolsky R. M.: The influence of social hierarchy on primate health. Science 2005, 308, 648-652.
27. Tazi A., Dantzer R., Le Moal M., Rivier J., Vale W., Koob G. F.: Corticotropin releasing factor antagonist blocks stress-induced fighting in rats. Regul. Peptides 1987, 18, 37-42.
28. Vollmayr B., Keck S., Henn F. A., Schloss P.: Acute stress decreases serotonin transporter mRNA in the raphe pontis but not in other raphe nuclei of the rat. Neurosci. Lett. 2000, 290, 109-112.
29. White S. A., Nguyen T., Fernald R. D.: Social regulation of gonadotropin releasing hormone. J. Exp. Biol. 2002, 205, 2567-2581.
30. Yanai K., Son L. Z., Endou M., Sakurai E., Nakagawasa O., Tadano T., Kisara K., Inoue I., Watanabe T., Watanabe T.: Behavioural characterization and amounts of brain monoamines and their metabolites in mice lacking histamine H1 receptors. Neurosci. 1998, 87, 479-487.

Adres autora: prof. dr hab. Bogdan Feliks Kania, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: bogdan_kania@sggw.pl