

KRYSTYNA SKWARŁO-SOŃTA, MAGDALENA MARKOWSKA

Zakład Fizjologii Zwierząt
Instytut Zoologii
Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
E-mail: kss25@biol.uw.edu.pl
markosia@biol.uw.edu.pl

POCHWAŁA BURS Y FABRYCJUSZA, CZYLI CO WSPÓŁCZESNA IMMUNOLOGIA ZAWDZIĘCZA PTAKOM?

WSTĘP

Burzliwy rozwój immunologii, jaki dokonał się od drugiej połowy XX w., zawdzięczamy kilku przełomowym odkryciom biologicznym, w tym m.in. poznaniu budowy i funkcji DNA oraz mechanizmów powstawania przeciwciał w procesie rearanżacji genów, rozwojowi technik biologii molekularnej, umożliwiającym chociażby tworzenie szczepów myszy z mutacjami w genach kluczowych dla rozwoju odporności, a także możliwości sekwencjonowania wysokopręstowego. Jednak mało kto zdaje sobie sprawę, jak doniosłą rolę w badaniach odporności odegrały eksperymenty przeprowadzane z udziałem ptaków, z kurą domową jako najczęstszym obiektem badań. Tytułowa bohaterka poniższego opracowania, czyli występujący wyłącznie u ptaków nieduży woreczek, zlokalizowany po grzbietowej stronie kloaki i połączony z nią krótkim przewodem, została po raz pierwszy opisana pod koniec XVI w. przez wybitnego włoskiego lekarza-chirurga Girolamo Fabrizio, lepiej znanego jako Hieronymus Fabricius z Aquapendente (1537–1619). Jego ogromne zasługi dla rozwoju anatomii, zwłaszcza dla poznania struktury układu nerwowego, pozostają w cieniu późniejszej roli, odegranej przez ten narząd o nieznaną wówczas funkcji, który od nazwiska odkrywcy nosi nazwę bursy Fabrycjusza (BF). Prawdę mówiąc, wielki anatom nie pozostawił jej „bez przydziału”, bowiem lokalizacja i cechy anatomiczne tajemniczego

woreczka skłoniły Fabriciusa do przypisania mu u samic kury roli miejsca deponowania nasienia po kopulacji. Nie wiemy jaką funkcję miałyby, zdaniem odkrywcy, spełniać bursa u samców, ale i tak przez następne 350 lat bursa Fabriciusa stanowiła zagadkę, której rozwiązanie przyniosła dopiero właśnie ta ważna połowa XX w. (DAVISON 2003).

W niniejszym artykule postaramy się przedstawić badania, które naprowadziły naukowców na odkrycie możliwości stosowania szczepionek czy poznania roli limfocytów B. Postaramy się też wykazać, jak ważnym wydarzeniem było poznanie genomu kury domowej, a dokładniej jej dzikiego przodka kura bankiwa (*Gallus gallus*), które pozwoliło znaleźć podobieństwa i odmienności układu odpornościowego ptaków w stosunku do pozostałych grup kręgowców.

DLACZEGO WARTO BADAĆ PROCESY ODPORNOŚCIOWE PTAKÓW?

Na to pytanie nasuwają się dwie odpowiedzi. Pierwsza wynika z charakterystycznej budowy układu odpornościowego ptaków i ich rozwoju embrionalnego. Rozdzielenie anatomiczne miejsc powstawania i dojrzewania limfocytów T (grasica) i B (bursa Fabrycjusza) doprowadziło do poznania wspólnej dla kręgowców dychotomii funkcjonalnej odporności i dało impuls do bardzo zaawansowanego badania mechanizmów odporności humoralnej i komórkowej. Ponadto, rozwój ptaków w jajach, miejscu oddzielnym od or-

ganizmu matki, a jednocześnie dość łatwo dostępnym, umożliwił badania reakcji na przeszczepioną tkankę pochodzącą od dawcy tego samego lub innego gatunku. Eksperymenty na embrionach ptasich są bowiem nieporównywalnie łatwiejsze od analogicznych badań na ich ssaczych odpowiednikach, nie nastrożają też wielu problemów natury bioetycznej. Jak się wydaje, te dwa powody skłoniły naukowców z przełomu XIX i XX w. do zaspokajania ciekawości naukowej i do podjęcia m.in. badań nad odpornością ptaków. Druga zaś odpowiedź to względy ekonomiczne. Według danych z OECD-FAO Agricultural Outlook (OECD/FAO 2016), w 2016 r. na świecie konsumowano ilość mięsa drobiowego (w kg *per capita*), porównywalną do konsumpcji wieprzowiny, wciąż jeszcze najczęściej jedzonego mięsa na świecie. Wymagało to zwiększonej troski o dobrostan drobiu w hodowli i jednoczesnego unikania epidemii chorób szerzących się wśród ptaków, np. choroba Mareka (MD) czy ptasia grypa, a także zapobiegania możliwości zakażenia człowieka chorobami odzwierzęcymi (np. wywołanymi bakteriami *Salmonella* czy *Campylobacter*). Hodowla drobiu na masową skalę rodzi konieczność obowiązkowych szczepień, z drugiej strony powoduje ewolucję wirulencji niektórych patogenów, co z kolei wymusza tworzenie szczepionek nowych generacji. Ochrona przed zakażeniami idzie w parze z ekonomicznymi aspektami hodowli drobiu, skutkiem czego co najmniej dwa postępy wiedzy o działaniu szczepień dokonały się dzięki badaniom na kurach domowych.

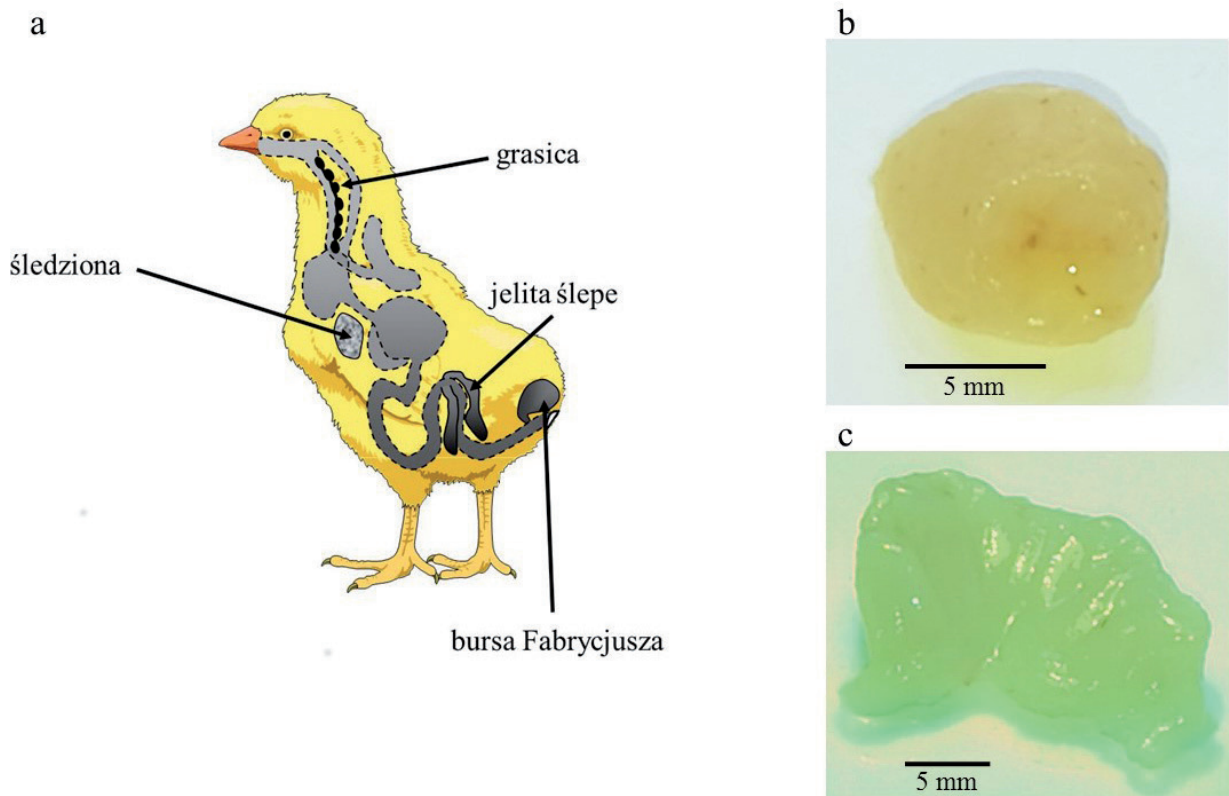
Ojcem-założycielem szczepień jest brytyjski lekarz Edward Jenner, który w XVIII w. udowodnił, że zarażenie ludzi łagodną formą ospy, tzw. krowianki (*Variola vaccina*), powoduje uodpornienie na ospę prawdziwą. Jednak to dopiero odkrycia dokonane ponad 100 lat później, w których uczestniczyły kury domowe, doprowadziły do wprowadzenia terminu wakcyna (szczepionka). W 1878 r. podczas badań nad wyniszczającą stada kur cholera ptasia, Ludwik Pasteur hodował bakterię *Pasteurella multocida*, która była uważana za przyczynę choroby. Badania przerwał z powodu wakacji letnich, a kolbę z hodowlą bakterii pozostawił w laboratorium. Po zakończeniu urlopu inokulował kury pozostawionymi bakteriami, co wywołało u nich objawy cholery, ale w postaci łagodnej i ptaki przeżyły. Wyhodowawszy nową porcję bakterii inokulował nimi kolejne kury, jednak traf chciał, że część inokulowanych ptaków pochodziła z poprzedniego eksperymentu. Okazało się, że zarażenie bakterią przeżyły tylko te ptaki, które były inokulowane powtórnie. Pasteur wywniosko-

wał, że właściwie powtórzył eksperyment Jennera: bakterie pozostawione w hodowli przez wakacje zostały osłabione i podane w tej postaci uodporniły ptaki przed kolejnym kontaktem ze świeżymi bakteriami. To osłabienie nazywamy atenuacją i jest istotnym elementem przy tworzeniu szczepionek (DAVISON 2003).

Również na kurach zastosowano pierwszą masową szczepionkę przeciwko chorobie Mareka, wirusowej chorobie neoplastycznej, która w latach 50. i 60. XX w. dziesiątkowała stada drobiu, powodując nawet 30% śmiertelność. W 1967 r. zidentyfikowano czynnik wywołujący tę chorobę, wirus herpes, a szczepionkę opartą na niepatogennym wirusie herpes indyka wprowadzono z sukcesem na rynek w 1970 r. Jednak w latach 80. MD zaczęła powracać do stad, a izolaty wirusa herpes charakteryzowały się wyższą wirulencją, co spowodowane było uchybieniami w protokole prowadzenia szczepień. Podanie nowej szczepionki opartej na innym, niepatogennym szczepie wirusa herpes uspokoiło sytuację na kolejne 10 lat, kiedy ponownie zaczęły się pojawiać wirusy MD o wirulencji wyższej niż te z lat 80. Pokazało to, jak istotnie dochodzi do ewolucji patogenów i zwróciło uwagę na potrzebę tworzenia szczepionek nowej generacji. Obecnie stosuje się już szczepionki rekombinowane, które zmniejszają ryzyko pogłębiania wirulencji (DAVISON 2003).

CO Z TĄ BURSA?

W polskim słownictwie naukowym często nazywa się ją „kaletką” albo „torbą” Fabrycjusza, co wydaje się być zbędnym utrudnieniem zrozumienia funkcji tego narządu, zwłaszcza, że jest to zastępowanie jednego mało znanego słowa („bursa”) innym („kaletka”), także zupełnie niepopularnym. Słownik Języka Polskiego (PWN, 1978, t. 1, str. 859) objaśnia „kaletkę” jako zdrobnienie od „kalety”, czyli woreczka na pieniądze, inaczej: sakwy, a w kontekście anatomicznym wymienia „kaletkę jajnikową” lub „maziową”; natomiast „bursa” oznacza jedynie „internat”. Władysław Kopaliński w swoim „Słowniku wyrazów obcych i zwrotów obcojęzycznych z almanachem” (Wyd. Rzeczpospolita 2007, t. IV, str. 86), podaje znaczenia słowa „bursa” o łacińskim pochodzeniu jako: internat, giełda i sakiewka lub worek. Jedynie Encyklopedia Biologiczna (Agencja Publicystyczno-Wydawnicza Opres, Kraków 1998, t. II, str. 79) wprowadza pojęcie „bursa Fabrycjusza”, z synonimami „torba” i „kaletka”. Naszym zdaniem utrzymanie nazwy „bursa Fabrycjusza” w powszechnym użyciu bardzo uprości naucza-



Ryc. 1. Układ odpornościowy ptaka.

a. Lokalizacja narządów limfoidalnych w organizmie ptaka (Przedruk za zgodą z *Immunologia porównawcza*. B. Płytycz red., Wyd. UJ, 1999), b. Bursa Fabrycjusza 3-tygodniowego kurczęcia rasy Hy-line – widok z zewnątrz; c. Ta sama bursa Fabrycjusza rozcięta – widoczne fałdy bursalne (b. i c. – fot. Marta Polańska i Magdalena Markowska).

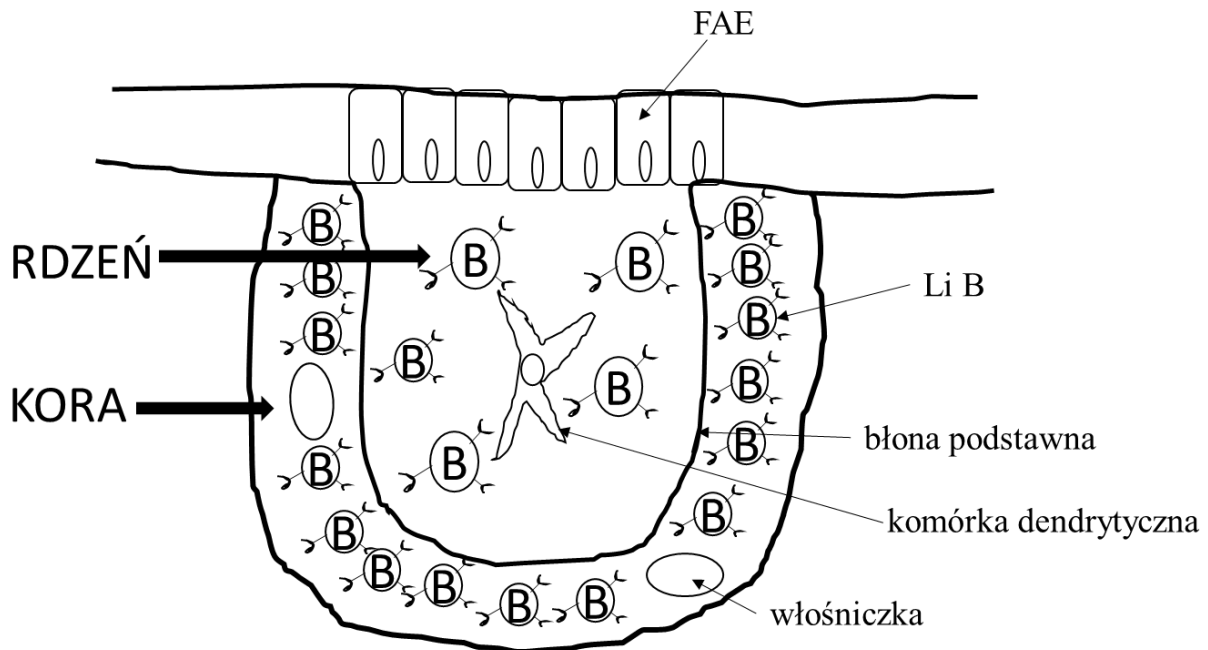
nie podstaw immunologii, pozwoli bowiem łatwo wprowadzić i zapamiętać objaśnienia podstawowych pojęć odporności nabytej: grasiczo- (*łac. Thymus*), a więc T-zależnej i burso-, czyli B-zależnej, nazywanej tak również u ssaków w dowód uznania dla roli, spełnionej przez ten narząd w historii immunologii (DAVISON 2003). Nie bez znaczenia pozostaje również fakt powszechnego występowania w piśmiennictwie angielskojęzycznym terminu „bursa of Fabricius” lub „bursa Fabricii”.

EMBRIOGENEZA I MORFOLOGIA BURSĄ FABRYCJUSZA

Bursa Fabrycjusza wraz z grasicą stanowią u ptaków wyraźnie wyodrębnione centralne narządy limfoidalne (Ryc. 1), w których nabywają kompetencje immunologiczną limfocyty, komórki kluczowe w odporności swoistej. W trwającym 3 tygodnie rozwoju embrionalnym kurczęcia (będącego, obok przepiórki japońskiej, najczęściej badanym modelem ptakiem), część nabłonkowa grasicy pojawia się jako pierwszy narząd limfoidalny

przed 9. dniem inkubacji, a pełny rozwój kończy się ok. 12. dnia embriogenezy.

Nabłonkowy zawiązek BF pojawia się w 6. dniu inkubacji w mezenchymie ogonowej jako zaokrąglony wyrostek. Jego zrąb ok. 9. dnia zaczynają zasiedlać prekursorowe retikularne komórki hematopoetyczne, których błony komórkowe zawierają główny kompleks zgodności tkankowej klasy II (ang. major histocompatibility complex typu II, MHC II⁺). Obecność tego kompleksu oznacza, że osiadłe w zawiązku BF komórki mają zdolność prezentacji obcych antygenów limfocytom T pomocniczym (Th), wpływając tym samym na późniejszą produkcję swoistych przeciwciał. Od ok. 12. dnia komórki te wędrują do nabłonka bursalnego tworząc pęcherzyki, w których ok. 14/15. dnia pojawiają się komórki produkujące immunoglobuliny M (IgM⁺). W ten sposób komórki MHC II⁺ przygotowują właściwe mikrośrodowisko dla proliferacji i różnicowania limfocytów, tworzą także nabłonek pęcherzykowy (ang. follicle-associated epithelium, FAE). Pojedyncza BF zawiera średnio ok. 10.000 pęcherzyków, skupionych w pionowych fałdach, otaczających światło BF (EKINO i SONODA 2014).



Ryc. 2. Schemat pęcherzyka bursalnego.

FAE – nabłonek pęcherzykowy, Li B – limfocyt B. Opis w tekście (wg EKINO i SONODA 2014, zmieniona).

W pęcherzykach daje się wyróżnić rdzeń i korę (Ryc. 2). Rozwijający się w nabłonku rdzeń pęcherzyka jest w okresie embriogenezy oddzielony od krążenia ogólnego błoną podstawną, otoczoną siecią naczyń włosowatych. Rdzeń jest pokryty FAE, którego szczególną właściwością jest zdolność wychwytywania i transport do rdzenia BF antygenów występujących w jelicie. Kora rozwija się dopiero po wykluciu i jest miejscem zasiedlanym przez limfocyty T i komórki plazmatyczne, przypuszczalnie docierające tam za pośrednictwem przylegających do niej naczyń limfatycznych (RATCLIFFE 2006). BF jest głównym miejscem rozwoju limfocytów B, bowiem chirurgiczna bursektomia (Bx) embrionów powoduje agammaglobulinemię i drastyczną redukcję liczby limfocytów B na obwodzie.

Będąc narządem należącym do tkanki limfoidalnej związanej z jelitem (ang. gut-associated lymphoid tissue, GALT), BF jest wyposażona w mechanizm pompujący, pozwalający zbierać materiał pochodzenia jelitowego. Rytmiczne skurcze i ruchy perystaltyczne cienkiej warstwy mięśni gładkich ściany BF, przepychające zawartość kloaki do światła BF, są zsynchronizowane z ruchami oddechowymi. Embrionalne oddychanie płucne zaczyna się ok. 19. dnia inkubacji, dlatego FEA mogą już wtedy wciągać antygeny (pochodzenia matczyne), a w embrionalnej BF wykrywa się także lokalne antygeny bakteryjne. Układy enzyma-

tyczne obecne w FAE rozkładają bakterie i wirusy, chroniąc BF przed infekcjami. W pęcherzykach są też komórki dendrytyczne (ang. dendritic cell, DC), które wychwytyują i degradują lokalne antygeny (EKINO i SONODA 2014).

WKŁAD BRUCE'A GLICKA W POZNANIE ROLI BURSY FABRYCJUSZA

Wspomniane już lata 60. ubiegłego wieku to „złoty wiek” nowoczesnej immunologii. Bruce Glick, młody badacz z Poultry Science Department w Ohio State University (USA), był pierwszym współczesnym uczonym, który z ogromnym pożytkiem dla nauki wykorzystał wcześniej już zauważone podobieństwo strukturalne BF, tej pozornie zbędnej struktury około-kloakalnej ptaków, do grasicy, leżącej u nich w postaci dwóch sznurów po obu stronach grzbietowej części kręgosłupa szyjnego (Ryc. 1). Co więcej, zwrócił uwagę na związek wielkości tego narządu (a więc przypuszczalnej aktywności funkcjonalnej) ze zdrowiem ptaków, bowiem rasy kur odznaczające się większą bursą były bardziej odporne na choroby infekcyjne (GLICK 1956). Sugerowało to wyraźnie jakąś rolę BF w odporności, której podział na komponentę komórkową i humoralną dopiero się kształtował. Młodym adeptom immunologii zapewne trudno sobie wyobrazić sytuację, w której mechanizmy odrzucania przeszczepów i zdolność do produkcji przeciwciał nie mają

jeszcze wyraźnie zdefiniowanych komórek efektorowych, nie wiadomo też, jakim narządom należy przypisać rolę w nabywaniu przez limfocyty kompetencji immunologicznej (RIBATTI i współaut. 2006).

Pierwsza publikacja Glicka (GLICK 1955), opisująca funkcję odpornościową bursy Fabrycjusza, dotychczas była cytowana zaledwie 15 razy. Następna (CHANG i współaut. 1955), przypisująca temu narządowi rolę w produkcji przeciwciał, znalazła zainteresowanie już 53 razy. Potem było już tylko lepiej: kolejna praca (GLICK 1956) była cytowana 124 razy, a następna, 2-stronicowy artykuł traktujący o braku syntezy przeciwciał u chirurgicznie bursektomizowanych kurcząt w odpowiedzi na immunizację antygenem *Salmonella typhimurium* (GLICK i współaut. 1956), cytowano dotychczas aż 651 razy! Historia głosi, że młodzi badacze chcieli swoją pracę opublikować w prestiżowym *Science*, ale została odrzucona ze względu na brak wyjaśnienia mechanizmu zaobserwowanego zjawiska (DAVISON 2003). Ostatecznie artykuł ukazał się w znacznie skromniejszym czasopiśmie *Poultry Science*, w którym zresztą Glick publikował większość swoich prac, a wyjaśnianiem procesów zachodzących w BF nadal zajmuje się wiele ośrodków naukowych. Jeśli dotychczas mieliśmy wątpliwości, że to było odkrycie fundamentalne dla rozwoju nauki o odporności, to chyba przestajemy je mieć wobec bezwzględności przytoczonych liczb. Długoletni współpracownik Glicka, Imre Oláh z Semmelweis University w Budapeszcie, cytuje komentarze oceniające wagę badań zainicjowanych przez Glicka: „...było to wybitne odkrycie w dziedzinie medycyny, z pewnością zasługujące na nagrodę Nobla, która, niestety, nie została przyznana” (OLÁH i NAGY 2013).

Kolejnym wkładem Bruce'a Glicka w poznanie szczególnej roli BF było opisanie, wraz z Oláhem (OLÁH i GLICK 1978), zlokalizowanych w pęcherzykach komórek dendrycznych o znacznej aktywności sekrecyjnej, nazwanych przez odkrywców BSDC (ang. bursal secretory dendritic cells). Do tej grupy komórek należą także interdigitating dendritic cells (IDC), wykryte przez tych samych badaczy w BF i w obwodowych narządach limfoidalnych ptaków (OLÁH i NAGY 2013). Było to wypełnienie ważnej luki w wiedzy immunologicznej, bowiem w tym czasie nie znano jeszcze u ptaków odpowiedników komórek dendrycznych, opisanych kilka lat wcześniej u myszy (STEINMAN i COHN 1973).

Wiele jeszcze prac publikowanych przez Bruce'a Glicka przewija się przez bazy danych, w większości dotyczą „rozpracowywania” funkcji BF coraz bardziej nowoczesnymi

metodami. Są często cytowane w piśmiennictwie, ale żadna z nich nie osiągnęła już popularności, porównywalnej z pionierskimi odkryciami lat 60. Ostatnia publikacja, sygnowana nazwiskiem Bruce'a Glicka, pojawiła się w listopadzie 1995 (OLÁH i GLICK 1995).

Wykazanie przez Glicka roli BF w produkcji przeciwciał, a zwłaszcza późniejsze opracowanie różnych metod przeprowadzania Bx: chirurgicznej, chemicznej lub hormonalnej, na różnych etapach embriogenezy i rozwoju postnatalnego (GLICK 1957), dostarczyło cennego narzędzia badawczego, niedostępnego w eksperymentach na ssakach, i to nie tylko ze względu na brak u nich wyraźnie wyodrębnionego pierwotnego (centralnego) narządu odporności humoralnej. Zwłaszcza cenne okazały się efekty Bx embrionalnej, całkowicie zapobiegającej pojawieniu się limfocytów B, uzupełnione obserwacjami zmian w narządach limfoidalnych kurcząt po Bx i tymektomii (usunięciu grasicy, Tx), bowiem wykazały możliwość istnienia dwóch prawie całkowicie oddzielnych struktur/systemów limfopoetycznych. Funkcjonalne zróżnicowanie odporności na komórkową i humoralną u kurczęcia zostało po raz pierwszy zasugerowane przez SZENBERGA i WARNERA (1962).

DALSZE ETAPY POZNAWANIA DWOISTOŚCI STRUKTURALNEJ I FUNKCJONALNEJ UKŁADU ODPORNOSCIOWEGO

Znaczny wkład w zdefiniowanie odporności nabytej (adaptacyjnej) wniósł także Max Cooper (RIBATTI 2014) wykrywając, że neonatalna Tx lub Bx, połączone z intensywnym naświetlaniem kurcząt skutkują różnymi niedoborami immunologicznymi. Ptaki Tx miały zmniejszoną liczbę limfocytów krążących i agregatów limfocytarnych w białej miazdze śledziony, a także upośledzone możliwości odrzucania przeszczepów skórnych, reakcję nadwrażliwości opóźnionej oraz GvH (ang. graft *versus* host, czyli przeszczep przeciw gospodarzowi). U tych ptaków nie były natomiast zmienione wskaźniki związane z wytwarzaniem przeciwciał, czyli liczba komórek plazmatycznych i ośrodków namnażania (ang. germinal centres, GC) występujących w śledzionie. Dziś wiemy, że GC zasiedlają limfocyty B, dojrzewające i przekształcające się w aktywnie produkujące przeciwciała komórki plazmatyczne, ale poznanie tych mechanizmów zawdzięczamy właśnie badaniom zapoczątkowanym przez Bruce'a Glicka. Z kolei naświetlane ptaki Bx wykazywały brak rozwoju GC w śledzionie, komórek plazmatycznych i krążących Ig oraz nie odpowia-

dały na immunizację syntezą nawet minimalnej ilości przeciwciał. Oznaczało to, że BF stwarza wyjątkowe środowisko do namnażania się i różnicowania komórek immunokompetentnych, zdolnych do przeprowadzenia odpowiedzi humoralnej, o których obecnie dobrze wiemy, że są to limfocyty B. Ptaki z połączonymi zabiegami Tx i Bx miały poważne defekty zarówno odpowiedzi komórkowej, jak i humoralnej (COOPER i współaut. 1965, 1966).

Wykazanie roli środowiska bursalnego w rozwoju limfocytów z receptorami immunoglobulinowymi i zdolnością do syntezy swoistych przeciwciał dało podstawy do poszukiwania jej funkcjonalnego analogu u ssaków, bowiem niedobory immunologiczne związane z brakiem Ig znano już wówczas u ludzi. Potencjalną lokalizację takiej struktury upatrywano w GALT, dostarczającej komórek B reszcie organizmu i w tym kierunku podejmowano liczne próby eksperymentalne (RIBATTI 2014). Ostatecznie w 1974 r. grupa Coopera (OWEN i współaut. 1974) wykazała, że mysie wątroby płodowe w hodowli generują limfocyty B, a kolejne badania dołączyły do tego szpik kości długich. W dalszych doświadczeniach ustalono linie rozwojowe limfocytów B i uznano, że ich powstawanie u ssaków jest procesem złożonym, przesuwającym się w rozwoju osobniczym pomiędzy różnymi środowiskami hematopoetycznymi, po czym limfopoeza B toczy się przez całe życie w szpiku kostnym. U dorosłych ssaków dojrzałe limfocyty B powstają w szpiku kostnym z hematopoetycznych komórek macierzystych w procesie niezależnym od antygenów. Taki model odrębnego rozwoju linii limfocytarnych okazał się bardzo pomocny w rozumieniu defektów różnicowania limfocytów u pacjentów i mechanizmów powstawania różnych chorób o podłożu immunologicznym (RIBATTI 2014). W szczególności, podobne są wskaźniki odpornościowe kurcząt Bx i pacjentów z agammaglobulinemią Burтона sprzężoną z chromosomem X, kurczęta Tx to odpowiedniki pacjentów z zespołem Di George'a, zaś nowo wyklute kurczęta poddane Bx i Tx są porównywalne z pacjentami SCID (ang. severe combined immunodeficiency disease).

BURSA FABRYCJUSZA, CENTRALNY NARZĄD LIMFOIDALNY PTAKÓW

Środowisko bursalne stwarza warunki niezbędne do rozwoju i dojrzewania limfocytów B. Migracja prekursorów linii B do mezenchymy bursalnej nie wymaga uprzedniej ekspresji Ig powierzchniowej, bowiem izolowano z niej limfocyty B z niekom-

pletną rearanżacją V(D)J, ale regulujący ją mechanizm jest ciągle słabo poznany (Więcej informacji dotyczących kodowania Ig ptaków znajduje się w podrozdziale *Unikatowość układu odpornościowego ptaków*). Sugeruje się, że środowisko bursalne może wysyłać rodzaj chemoatraktantów (cytokiny lub równoważne sygnały przyciągające), „zwabiających” migrujące limfocyty. Alternatywnie, mezenchyma bursalna może stanowić środowisko „zatrzymujące”, ale tylko prekursorzy linii B, skutkiem czego nie lokalizują się w nim komórki nie-B (RATCLIFFE 2006).

BF rozwija się intensywnie w ciągu kilku początkowych tygodni życia ptaka (GLICK 1956, HE i współaut. 2015), wykazując ogromne zróżnicowanie gatunkowe, a także w obrębie ras kur. Prawie jednocześnie z osiągnięciem dojrzałości płciowej ptaka rozpoczyna się stabilizacja, a potem postępująca z wiekiem regresja, polegająca na zmniejszaniu się ciężaru gruczołu, atrofii fałdów bursalnych, przy jednoczesnym stopniowym zaniku nabłonka pęcherzyków, rozroście tkanki włóknistej i pojawieniu się dużych cyst śluzowych. Ciągle słabo są poznane czynniki wzrostowe uczestniczące w kontroli rozwoju i późniejszego zaniku BF. Hormonalne sprzężenie zwrotne między BF a układem rozrodczym polega nie tylko na tym, że androgeny (zwłaszcza propionian testosteronu) hamują rozwój BF, a podawane podczas rozwoju embrionalnego lub krótko po jego zakończeniu doprowadzają do wyklucia osobników pozbawionych BF (GLICK 1994), ale także w BF powstaje czynnik(-i) o charakterze hormonu (lub cytokiny, jak chcą niektórzy autorzy), hamujący syntezę hormonów steroidowych (patrz następny rozdział).

BURSA FABRYCJUSZA JAKO GRUCZOŁ DOKREWNY

Istniejące w układzie odpornościowym dwa odrębne szlaki rozwojowe limfocytów obejmują uniwersalną u kręgowców drogę grasiczozależną oraz tę, którą u ptaków „obsługuje” BF, a u ssaków szpik kostny. Ponieważ ptaki i ssaki wyewoluowały ponad 200 mln lat temu od wspólnego przodka gadziego, odziedziczając wspólny układ odpornościowy, nie ma wątpliwości, że BF stanowi bezcenny model do poznawania podstawowych mechanizmów regulacyjnych i immunologicznych, działających w obu gromadach (LIU i współaut. 2012). BF okazała się bowiem miejscem powstawania licznych peptydów o wielu funkcjach immunoregulacyjnych, stanowiących cenne narzędzie badawcze, niedostępne w odniesieniu do centralnego narządu odporności humoralnej ssaków.

Tabela 1. Peptydy bursalne o poznanej aktywności immunoregulacyjnej

Peptyd bursalny, oznaczenie	Budowa cząsteczki	Opisane funkcje	Literatura
Tripeptyd Bursyna	Lys-His-Gly-NH ₂ , czyli KHG-NH ₂	Selektywna stymulacja i różnicowanie ptasich limfocytów B, przełączenie klasy IgM do IgG.	AUDHYA i współaut. 1986; BABA i KITA 1977
Peptyd anty-steroidogenny BASP	29-32 kDa	Hamowanie aktywności biosyntetycznej komórek warstwy ziarnistej jajnika i kory nadnerczy, kontrola proliferacji obydwu głównych populacji limfocytów ptaków, szczurów i ludzkich. Homologia z histonem H1.	BYRD i współaut. 1993; CALDWELL i współaut. 1998; GARCIA-ESPINOSA i współaut. 2002
Septpeptyd BP7, BSP-II	TPSGLVY	Wpływ na syntezę przeciwciał, proliferację splenocytów, żywotność komórek nowotworowych.	FENG i współaut. 2010
BP-I, II i III	BP-I: ALPVVVII BP-II: DRATHGGE BP-III: GANEVEEER	Stymulacja tworzenia kolonii pre-B z jednoczesnym ograniczaniem różnicowania w kierunku makrofagów. Wspomaganie <i>in vivo</i> syntezy przeciwciał i produkcji cytokin zarówno u kurcząt jak i u myszy.	LIU i współaut. 2013
BPP-I	LGPGP	Hamowanie niektórych linii nowotworowych za pośrednictwem ekspresji czynnika p53. Indukcja odpowiedzi humoralnej i fenotypu LiT myszy.	FENG i współaut. 2012
BPP-II	MTLTG	Wpływ na rozwój bursalny LiB i syntezę przeciwciał u kurcząt.	FENG i współaut. 2013
BP8	AGHTKKAP	Ukierunkowanie LiB i synteza przeciwciał. Wpływ na ekspresję 1570 genów, zaangażowanych w regulację wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, interakcje cytokina-receptor, pobieranie i metabolizm retinolu.	LIU i współaut. 2014b, 2015
BP11	DVAGKLPDNR	U kurcząt tworzenie kolonii pre-B, różnicowanie LiB, stymulowanie produkcji przeciwciał i odpowiedzi Th1 i Th2. U myszy stymulowanie odpowiedzi na immunizację AIV.	LIU i współaut. 2012
Bursopentyna BP5	Cys-Lys-Asp-Val-Tyr czyli CKDVY	Stymulacja odpowiedzi humoralnej myszy na AIV, pobudzanie proliferacji śledzionowych LiB i LiT. Związek tiolowy o działaniu anty-oksydacyjnym, hamowanie aktywności makrofagów i komórek dendrytycznych,	LI i współaut, 2011, 2012; YIN i współaut. 2014; QIN i współaut. 2015

Pierwsze poznane peptydy bursalne zaangażowane w rozwój i różnicowanie limfocytów B, to tripeptyd bursyna i bursalny peptyd anty-steroidogenny (BASP). Bursyna (Lys-His-Gly-NH₂), selektywnie stymulująca u ptaków różnicowanie limfocytów B (ale nie limfocytów T) z ich prekursorów *in vitro* (AUDHYA i współaut. 1986, LASSILA i współaut. 1989), kieruje także przełączeniem klasy IgM do IgG (BABA i KITA 1977).

W piśmiennictwie pojawiają się ciągle nowe doniesienia o zidentyfikowaniu kolejnego peptydu bursalnego, różniącego się od poprzednich składem aminokwasowym i efektami wywoływanymi w układzie odpornościowym zarówno ptaków jak i ssaków, a także poza nimi, o szerszym znaczeniu regu-

lacyjnym. Niektóre z nich są zestawione w Tabeli 1, z jednym wszakże zastrzeżeniem: większość najnowszych publikacji pochodzi z jednego ośrodka, Nanjing Agricultural University, People's Republic of China, a ich autorzy opierają swoje wnioski na wynikach uzyskiwanych w analogicznych układach doświadczalnych, stosując sprawdzone w tym jednym ośrodku metody i modele badawcze. Nie kwestionując rzetelności tych wyników, chciałoby się jednak uzyskać weryfikację ich ważkości w zróżnicowanym paradygmacie badawczym. Dlatego w tym opracowaniu omówimy szerzej jedynie dwa z tych peptydów, o wyjątkowym, jak się wydaje, charakterze i szerokim zakresie oddziaływań. Naszym zdaniem cenne byłyby również próby

wyjaśnienia mechanizmów receptorowych, umożliwiających działanie w różnych typach komórek docelowych peptydów bursalnych o zmiennej budowie cząsteczki, a takich doniesień nie znajduje się w piśmiennictwie.

BURSALNY PEPTYD ANTYSTEROIDOGENNY

Observacje zbieżności w czasie początku regresji BF z osiągnięciem przez ptaki dojrzałości płciowej, skłoniły do poszukiwania czynnika hormonalnego pochodzenia bursalnego, który u młodych ptaków mógłby hamować oś podwzgórzowo-przysadkowo-gonadową. Wyizolowano ekstrakt wodny bursy niedojrzałych płciowo kurcząt hamujący w teście *in vitro* stymulowaną gonadotropiną LH sekrecję progesteronu z przedowulacyjnych pęcherzyków jajnikowych kury (BYRD i współaut. 1993). Peptyd ten funkcjonuje obecnie w piśmiennictwie jako BASP (bursalny peptyd anty-steroidogenny), a jego rola i możliwe mechanizmy działania są badane dość często. BASP hamuje również stymulowaną ACTH syntezę kortykosteroidów w hodowlach komórek kory nadnerczy nie tylko kurcząt, ale także ssaków (świnia, pies), oraz w preparatach kory nadnerczy psów z eksperymentalnie wywołanym zespołem Cushinga (BYRD i współaut. 1994, 1995). Częściowo oczyszczony preparat BASP zmniejsza także proliferację limfocytów bursalnych stymulowanych 12,13-dwumaślanem forbolu (CALDWELL i współaut. 1999), a także wykazuje podobną aktywność w stosunku do limfocytów szczerów i leukocytów obwodowych krwi (PBL) człowieka stymulowanych fitohemaglutyniną (CALDWELL i współaut. 1998), a więc kontroluje proliferację obydwu głównych populacji limfocytów. Ujawnia to konserwowaną ewolucyjnie funkcję regulacyjną BASP jako cząsteczki sygnałowej w pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego między BF a narządami steroidogennymi, a także w regulacji aktywności limfocytów. Stosując bardziej zaawansowane metody analityczne, w tym sekwencjonowanie i spektroskopię masową, wykazano znaczną homologię struktury BASP i histonu H1 o podobnych właściwościach anty-proliferacyjnych w stosunku do stymulowanych mitogenem limfocytów B (GARCIA-ESPINOSA i współaut. 2002).

BURSOPENTYNA, AKTYWNY PEPTYD TIOŁOWY

W 2011 r. zespół naukowców ze wspomnianego Uniwersytetu Nanjing w CRP (Li i współaut. 2011) wyizolował i scharakteryzował pentapeptyd o masie molowej 626,27 Da, który stymulował antygenowo-swoistą odpowiedź myszy BALB/c na inaktywowany Avian Influenza Virus (AIV). Peptyd ten nazwano bursopentyną (BP5), a niebawem wykazano (Li i współaut. 2012), że zawiera

grupę tiolową (Cys-Lys-Agr-Val-Tyr), pozwalającą zaliczyć ten związek, razem z glutationem (GSH) i N-acetylocysteiną (NAC), do grupy endogennych tioli aktywnie chroniących komórki przed stresem oksydacyjnym. Dlatego dalsze badania dotyczyły właśnie roli ochronnej BP5, na modelu stymulowanych LPS makrofagów otrzewnowych myszy (Li i współaut. 2012) i komórek dendrytycznych (QIN i współaut. 2015). BP5 hamowała produkcję tlenku azotu (NO), wolnych rodników tlenowych (ROS), peroksydację lipidów i utlenianie białek, działając na poziomie ekspresji genów i aktywności enzymów, kształtujących status redoks organizmu. Jednocześnie zmniejszała ekspresję i aktywność czynnika jądrowego NF- κ B oraz cofała zmiany morfologiczne i osłabiała ekspresję markerów fenotypowych DC pobudzanych LPS, hamując także ich indukowaną migrację. Swoje działanie regulacyjne w homeostazie redoks BP5 wydaje się pełnić za pośrednictwem mechanizmów kontrolujących metabolizm energetyczny i aktywność dehydrogenazy 6-fosfoglukozy (LIU i współaut. 2014a), a w transdukcję sygnału BP5 podczas stymulacji proliferacji limfocytów B zaangażowane były kinaza białkowa C (PKC), MAP kinazy (kinazy aktywowane mitogenami, ang. mitogen-activated protein kinases) i NF- κ B (Li i współaut. 2011).

BP5 wydaje się zatem być cząsteczką o pewnym potencjale immunofarmakologicznym, z przypuszczalną możliwością stosowania prewencyjnego/terapeutycznego w chronicznych stanach zapalnych i autoimmunizacji.

UNIKATOWOŚĆ UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO PTAKÓW

Pomimo zamieszkiwania podobnych siedlisk i nisz biologicznych oraz przeciwstawiania się podobnemu spektrum napotykanym patogenów, układy odpornościowe ptaków i ssaków różnią się. Chociaż budowa układu odpornościowego ptaków wydaje się prostsza, to zarówno u ptaków, jak i ssaków osiągnęte są te same odpowiedzi, ale czasami na różne sposoby. Oprócz BF, układ odpornościowy kur ma kilka unikatowych cech: (i) w jamie otrzewnej nie ma leukocytów osiadłych; (ii) funkcję neutrofilii pełnią heterofile; (iii) brakuje węzłów chłonnych, a antygeny są prezentowane w miejscu infekcji, prawdopodobnie w agregatach limfatycznych; (iv) nie występują funkcjonalne eozynofile, brak również wielu składników odpowiedzi Th2-zależnej; (v) występują tylko 3 klasy immunoglobulin: IgA, IgM i IgY, te ostatnie będące funkcjonalnym odpowiednikiem IgG ssaków (KAISER 2012).

Cząsteczki Ig, zarówno u ssaków jak i ptaków, składają się z odpowiednio połączonych i ułożonych symetrycznie identycznych par łańcuchów lekkich (L) i ciężkich (H). Łańcuchy ciężkie zawierają część stałą (Fc), związaną z klasą Ig i odpowiedzialną za funkcje wykonawcze przeciwciał, należących do nadrodziny Ig. Natomiast o różnorodności i swoistości przeciwciał decyduje budowa N-końcowych (Fab, zmiennych, V) fragmentów obydwu łańcuchów, i właśnie mechanizmy generowania tej różnorodności są całkowicie odmienne u ptaków i ssaków (RATCLIFFE 2006), a wynikają ze specyficznej organizacji loci Ig w genomie ptaków. U ssaków różnorodność przeciwciał powstaje w wyniku rearanżacji genów kodujących segmenty V i J (VJ) łańcucha lekkiego lub V, D i J (VDJ) łańcucha ciężkiego. Ze względu na występującą u ssaków dużą liczbę genów kodujących te segmenty oraz nieprecyzyjność ich łączenia podczas rekombinacji, zmienność przeciwciał ssaków jest praktycznie nieograniczona. Natomiast w locus łańcucha ciężkiego kur znajdują się pojedyncze elementy VH i JH, podlegające rearanżacji z całą rodziną wysoce spokrewnionych elementów DH; podobnie rzecz się ma w locus łańcucha lekkiego, gdzie pojedynczy element VL przegrupowuje się z pojedynczym elementem JL. Ponadto, gryzonie i naczelné mają dwa łańcuchy lekkie κ i λ , natomiast u kurcząt znaleziono tylko pojedynczy locus łańcucha lekkiego, odpowiadający locus łańcucha λ człowieka.

Loci genów kodujących łańcuchy L i H ptasich Ig poprzedzają odpowiednie rodziny pseudogenów ψ VL i ψ VH. Nazywa się je tak ze względu na brak w nich funkcjonalnej sekwencji sygnału rekombinacyjnego, niezbędnego do podjęcia rearanżacji, ale które mogą dostarczać sekwencji DNA do funkcjonalnej rearanżacji genów VJL i VDJH. Ten proces nazywa się konwersją genów somatycznych, kumulującą się w pojedynczych limfocytach B, dostarczając bardzo skutecznego mechanizmu generującego różnorodność przeciwciał (RATCLIFFE 2006).

Cechą charakterystyczną wytwarzania przeciwciał ptaków jest fakt całkowitej zależności od mikrośrodowiska bursalnego, bowiem efektywna rearanżacja genów Ig dokonuje się wyłącznie w komórkach, które przeszły w BF nieodwracalne ukierunkowanie w linię limfocytów B.

Ponadto, region genomowy kodujący główny kompleks zgodności tkankowej, polimorficzny u ssaków i zawierający ponad 300 genów, u ptaków jest minimalny i zawiera tylko dwa geny MHC klasy I i dwa geny MHC klasy II (KAISER 2012).

Z jednej strony, cechy anatomiczne układu odpornościowego kury ułatwiły poznanie podstawowych procesów odpornościowych, ale z drugiej, brak zsekwencjonowanego genomu utrudniał badanie mechanizmów molekularnych i komórkowych tych zjawisk, które u ssaków pod koniec XX w. były już dobrze poznane. Badacze odporności ptaków mieli dostęp do nielicznych przeciwciał skierowanych przeciwko markerom powierzchniowym, znajdującym się na komórkach odpornościowych. Komercyjnie niedostępne były cytokiny ptaków, a zastąpienie ich cytokinami ssaków było niemożliwe, gdyż homologia z cytokinami ptaków nie sięga 30%. Do przyspieszenia zsekwencjonowania genomu kury przyczyniła się na pewno szerząca się na początku XXI w. ptasia grypa i związane z tym ryzyko zmutowania jej wirusa tak, że stałby się zaraźliwy również pomiędzy ludźmi. Aby uniknąć masowych zakażeń w stadach drobiu, naukowcy stanęli przed wyzwaniem jak najszybszego poznania mechanizmów molekularnych funkcjonujących w odporności ptaków (KAISER 2012). W 2004 r. Międzynarodowe Konsorcjum Sekwencjonowania Genomu Kury (ang. International Chicken Genome Sequencing Consortium, ICGSC) upowszechniło wyniki swoich badań. Kariotyp *Gallus gallus* składa się z 39 chromosomów, z czego 10 to chromosomy autosomalne (1-10), 28 to tak zwane mikrochromosomy (11-38) i para chromosomów płci: W i Z. Wstępna sekwencja *Gallus gallus* 2.1 (GCA_000002315.1) zawierała 1,09 Gb, z czego 95% stanowiła sekwencja chromosomów autosomalnych 1-28 i mikrochromosomu 32. Sekwencja chromosomów płci była poznana tylko częściowo (ICGSC 2004). Obecnie, dzięki metodzie wysokoprzepustowego sekwencjonowania, dostępna jest już wersja sekwencji *Gallus gallus* 5.0 (GCA_000002315.3), pokrywająca znacznie większą część genomu. Zsekwencjonowane zostały wszystkie chromosomy autosomalne, 19 z 28 mikrochromosomów i oba chromosomy płci. Ta nowa era otworzyła drzwi przed genomiką oraz innymi działami „omicznymi” w badaniach ptaków, dała też bodziec do sekwencjonowania genomu innych gatunków. Do listopada 2014 r. poznane zostały częściowo lub całkowicie sekwencje 56 gatunków przedstawicieli gromady Aves, w tym np. amadyny zebrowatej (*Taeniopygia guttata*), modelowego ptaka do badań neurobiologicznych. Dzięki rozwojowi National Avian Research Facility (<http://www.narf.ac.uk/>), mamy dostęp do informacji o narzędziach molekularnych, w tym do istniejących przeciwciał skierowanych przeciwko epitopom różnych białek, linii kurcząt transgenicznych oraz informacji o obecnie

sekwencjonowanych genomach różnych gatunków ptaków (SCHMIDT i współaut. 2015, WARREN i współaut. 2017).

CO WIEMY O UKŁADZIE ODPORNOŚCIOWYM PTAKÓW W EPOCE „PO GENOMOWEJ”

Dziś wiemy, że układ odpornościowy ptaków, także na poziomie syntetyzowanych mediatorów (cytokin, chemokin), ich receptorów, receptorów patogenów czy receptorów z rodziny immunoglobulin, posiada pewne cechy unikatowe. Repertuar genów kodujących białka uczestniczące w procesach odpornościowych kury domowej jest zasadniczo uboższy niż u ssaków, z pewnym wyjątkiem, jakim są receptory CHIR (ang. chicken immunoglobulin-like receptors). Niektóre geny „odnajdują się” wraz z pojawianiem się sekwencji genomów kolejnych gatunków ptaków, co sugeruje, że w tej gromadzie kręgowców mogło dochodzić do dywergencji w ewolucji układu odpornościowego. Konsekwentny zaś brak niektórych genów, przy braku różnic w odporności na patogeny pomiędzy ptakami a ssakami sugeruje, że dochodzi do kompensacji procesów. Poniżej przedstawimy kilka przykładów, ilustrujących różnice w układzie odpornościowym ssaków (człowieka, myszy) i kury domowej poznane po zsekwencjonowaniu jej genomu.

CHEMOKINY I ICH RECEPTORY

Chemokiny to małe cząsteczki sygnałowe, kontrolujące migrację komórek odpornościowych zarówno do miejsc uszkodzonych czy zainfekowanych (objętych stanem zapalnym), jak i zasiedlających zdrowe tkanki, w których utrzymują homeostazę. Strukturalnie dzielimy je na dwie duże rodziny: CC i CXC, w obrębie których u ssaków znajduje się kilkanaście do kilkudziesięciu cytokin odpowiednio nazywanych CCL i CXCL, i dwie mniejsze: XC i CX3C. Funkcjonalnie zaś można wyróżnić chemokiny zapalne i homeostatyczne. Geny kodujące chemokiny zapalne i ich receptory pogrupowane są w wielogenowe rodziny, umiejscowione w genomie w różnych loci. Chemokiny z grupy CXCL stanowią jedną rodzinę, natomiast grupa CCL dzieli się na dwie rodziny: MCP (ang. monocyte chemoattractant protein) i MIP (ang. macrophage inflammatory protein). U kury domowej występuje niewiele mniejsza liczba cytokin homeostatycznych niż u człowieka. Nie znaleziono sekwencji dla eotaksyn (CXCL 9-CXCL11) ani dla ich receptorów (CXCR3), ale znaleziono ich funkcjonalne homologi. Brak tych chemokin wiązać się może z brakiem eozynofili

u kur. Natomiast rodzina chemokin zapalnych, reprezentowana przez 5 cząsteczek u myszy i 10 u człowieka, ma u kury domowej tylko trzech przedstawicieli: CXCLi1, CXCLi2 (pełnią funkcję CXCL8 człowieka) i CXCLi3, który nie ma bezpośredniego ortologa u ssaków. U ssaków chemokiny zapalne łączą się z dwoma receptorami: CXCR1 i CXCR2, kodowanymi w jednym locus, zaś analogiczne miejsce w genomie kury koduje tylko jeden receptor CXCR1.

W rodzinie chemokin MCP zarówno u człowieka, jak i kury domowej występuje 6 cząsteczek, które nie są jednak ortologami. W rodzinie chemokin MIP u kury występuje tylko jeden ortolog chemokin ssaków - CCL5, odpowiadający CCL16. U myszy i człowieka chemokiny MCP i MIP łączą się z 4 receptorami (CCR1, CCR2, CCR3, CCR5), a u kury domowej z dwoma (CCRa i CCRb) (KAISER 2012). Rodzi się zatem pytanie: czy repertuar cytokin występujący u ptaków jest minimalnym wystarczającym?

CZYNNIK MARTWICY NOWOTWORU

Czynniki martwicy nowotworu (TNFSF) oraz ich receptory (TNFRSF), tworzą dwie duże nadrodziny cytokin, uczestniczących w wielu procesach odpornościowych, takich jak: proliferacja, apoptoza, aktywacja limfocytów T czy dojrzewanie limfocytów B. Spośród genów 17 cytokin należących do tej rodziny u człowieka, aż 8 nie występuje u kury domowej. Szczególne znaczenie ma brak genu kodującego TNF α oraz limfotoksyny α i β . TNF α jest jedną z głównych cytokin prozapalnych, pojawiającą się podczas rozwoju reakcji zapalnej u ssaków, można by rzec jest jej markerem, zaś limfotoksyny są niezbędne do rozwoju wtórnych narządów limfoidalnych. Być może brakiem limfotoksyn można wytłumaczyć niewystępowanie węzłów chłonnych u kury domowej. Pozostałe „brakujące” geny to miejsca kodujące: cytokiny TWEAK – indukującą apoptozę i APRIL – indukującą proliferację, cząsteczki kostymulujące limfocyty T: 4-1 BBL i LI-GHT, a także receptor CD27L, biorący udział w różnicowaniu limfocytów T i B oraz tworzenie komórek pamięci. Brak wymienionych genów można by tłumaczyć nie do końca zsekwencjonowanym genomem kury domowej, ale możliwość ich realnej nieobecności jest wzmocniana brakiem genów kodujących receptory dla większości z nich. Jest bardzo prawdopodobne, że brak u kury wydawało by się ważnych cytokin, może wskazywać na znaczną redundancję repertuaru cytokin u ssaków i, tak jak w wypadku chemokin – minimalny, ale wystarczający ich repertuar u ptaków (KAISER 2012, MAGOR i współaut. 2013).

RODZINA INTERLEUKINY-1

U człowieka w skład tej rodziny wchodzi 11 cytokin, z których aż 9 kodowanych jest na chromosomie 2. Cytokiny te pełnią funkcje pro- lub przeciwzapalne i stanowią ważny element odporności swoistej ssaków. U ptaków znaleziono tylko 4 z nich: IL-1 β , IL-36RN, IL-1RN i IL-18, o których wiadomo, że IL-1 β jest kodowana na chromosomie 22, a IL-18 na 24, zaś loci dla pozostałych genów cytokin są nieznanne. Zatem wielogenowe miejsce na chromosomie 2, kodujące dziewięć cytokin człowieka, nie występuje zupełnie u kury domowej, co sugeruje, że ta rodzina cytokin wyewoluowała odrębnie u ptaków i ssaków od ich wspólnego przodka (KAISER 2012).

RECEPTORY Toll-like

Wrodzona odporność stanowi pierwszą linię obrony przed patogenami. Rozpoznanie molekularnych wzorców patogenów aktywuje kaskadę sygnalizacyjną, która uruchamia ekspresję genów odpowiedzi odpornościowej. Receptory Toll-like (TLR), umiejscowione w błonie komórkowej lub wewnątrz endosomu, wykrywają patogeny rozpoznając ich wzorce molekularne. Wiązanie agonistów do TLR aktywuje szlaki przekazywania sygnału, prowadzące do syntezy peptydów antybakteryjnych, cytokin, interferonów, a w konsekwencji do unieszkodliwienia lub pozbycia się patogenu. Ptaki posiadają geny dla dziesięciu TLR. Są to po dwa geny kodujące TLR1 i TLR2, oraz po jednym kodującym TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR15 i TLR21. W porównaniu do ryb i człowieka brakuje genów kodujących TLR8 i TLR9. Charakterystycznych dla kury domowej TLR15 i TLR21 nie znaleziono u człowieka, jednak wykazano, że TLR21 kompensuje brak TLR9, wykrywającego niemetylowane sekwencje CpG (fragmenty DNA bakterii). Niewystępujący u kur TLR8 odgrywa istotną rolę w wykrywaniu RNA bakteryjnego, w tym RNA z *Borrelia burgdorferi*, czynnika wywołującego boreliozę. Związanie liganda z TLR8 indukuje produkcję IFN- β . TLR8 jest regulowany przez fagocytozę *Mycobacterium*, między innymi przy podaniu atenuowanych szczepów szczepionki BCG, *Mycobacterium bovis* i *M. tuberculosis*. Nie do końca są poznane powody zniknięcia genu kodującego TLR8; wśród przyczyn wymienia się redundancję z TLR7 lub obniżenie ryzyka wystąpienia chorób autoimmunologicznych, a także „nadużywanie” tego receptora przez patogeny zarażające komórki. Konsekwencją lub przyczyną braku TLR8 jest zwiększona wrażliwość na wirusy RNA (wirusa Zachodniego Nilu, wirusa rzekomego pomoru drobiu, wirusa grypy) oraz na wewnątrzkomórkowe zakażenia bakteryjne, w

tym *M. avium*, które jest znaczącym patogenem ptaków, zwłaszcza hodowanych w małych stadach (KAISER 2012, MAGOR i współpracownicy 2013).

RODZINA RECEPTORÓW PODOBNYCH DO IMMUNOGLOBULIN

Jako jedyny przykład genów kodujących białka związane z odpornością, których jest więcej u kury domowej niż u ssaków, można podać rodzinę CHIR. Receptory te są odpowiednikami receptorów KIR (ang. killer-cell immunoglobulin-like receptors), które występują na komórkach NK (ang. natural killer) i umożliwiają m.in. utrzymanie populacji limfocytów CD8⁺ o wysokiej ekspresji cząsteczek MHC klasy I, prezentujących peptydy wirusowe. Mechanizm, poprzez który komórki NK rozpoznają poziom ekspresji MHC klasy I na komórkach prezentujących antygen, jest dość wyszukany. Pokróćce, liczne receptory na powierzchni komórek NK rozpoznają MHC klasy I, co zapewnia zachowanie równowagi pomiędzy sygnałami aktywującymi i hamującymi komórki NK. Brak wykrycia MHC klasy I na komórce gospodarza prowadzi do braku sygnału hamującego komórki NK, co powoduje, że komórka NK zabija komórki z niską ekspresją MHC klasy I. Receptory KIR człowieka tworzą część kompleksu receptorów leukocytów (LRC), kodowanych na chromosomie 19, które obejmują również rodzinę receptorów Ig-podobnych (LILR). U kury domowej geny kodujące LCR zlokalizowane są na 31 mikrochromosomie i jest ich ponad 100! W porównaniu do człowieka, u którego występuje około 20 genów kodujących te receptory, jest to bardzo duża ekspansja, trudna do wytłumaczenia (KAISER 2012). Jedną z możliwych przyczyn takiej ekspansji i zróżnicowania wśród CHIR jest to, że powstały one pod wpływem dużej presji patogenów. Rozbudowany repertuar CHIR może być mechanizmem kompensującym uboższy repertuar MHC u ptaków niż u ssaków, a przez to zabezpieczający przed właściwą odpowiedzią na patogen.

PODSUMOWANIE

Badanie ewolucji odporności wskazuje na fakt, że wiele procesów nieswoistych jest wspólnych wśród kręgowców i bezkręgowców, zaś u stałocieplnych kręgowców zwiększa się gama elementów odpowiedzi komórkowej. Badania układu odpornościowego ptaków wniosły wiele informacji o komórkowej reakcji odpornościowej, które mają zastosowanie w nowoczesnej immunologii. Unikutowy narząd jakim jest bursa Fabrycjusza, nie tylko pozwolił na prześledzenie powstawania odpowiedzi humoralnej i roli limfocytów B, ale dzięki wy-

dzielanym peptydom jest także źródłem wiedzy o powiązaniach między układem odpornościowym i hormonalnym. Poznanie w 2004 r. genomu kury bankiwa, dzikiego przodka kury domowej, przeniosło immunologię ptaków z XIX do XXI w. Dzięki temu wiemy, że prostszy, jak się wydaje, w swojej budowie i funkcji układ odpornościowy ptaków może spełniać taką samą rolę jak układ odpornościowy ssaków. Analiza sekwencji genomu *Gallus gallus* – 5.0 (GCA_000002315.3) udostępniona w 2017 r. wykazała, że spośród 571 genów, których brakowało w sekwencji opublikowanej w 2014 r. (*Gallus gallus* – 4.0; GCA_000002315.2) jeszcze 232 geny pozostają nieznacone, 129 genów nie ma w genomie kury, ale znaleziono je w genomach innych ptaków, 240 genów zostało odnalezionych, a sekwencja 111 została uściślona. Niektórych genów kodujących kluczowe białka odpornościowe ssaków nadal nie wykryto w sekwencji genomów ptaków, co może wskazywać na sporą redundancję w układzie odpornościowym ssaków, warto badania zwłaszcza w kontekście „kosztocłonności” procesów odpornościowych.

Streszczenie

Wiele odkryć, fundamentalnych dla rozwoju biologii XX w., dokonało się dzięki badaniom prowadzonym na ptakach. Wśród nich należy wymienić opracowanie przez Ludwika Pasteura podstaw i praktycznego stosowania szczepionek oraz wskazanie przez Bruce'a Glicka roli bursy Fabrycjusza, istotnej dla zrozumienia podstawowych mechanizmów odpornościowych. Zwłaszcza poznanie funkcjonalnej dychotomii układu odpornościowego ptaków, u których bursa Fabrycjusza stanowi centralne miejsce dojrzewania limfocytów odpowiedzialnych za produkcję przeciwciał, skłoniło uczonych do poszukiwania u ssaków odpowiednika bursy Fabrycjusza. Dzięki tym odkryciom nowoczesna immunologia mogła zacząć swój dynamiczny rozwój, posługując się najnowszymi metodami biologii molekularnej. A bursa Fabrycjusza nadal przyciąga zainteresowanie wielu badaczy, wykrywających liczne peptydy pochodzenia bursalnego wywierające efekty regulacyjne nie tylko w układzie odpornościowym ptaków, lecz także o szerszym działaniu biologicznym, w odniesieniu do procesów odpornościowych ssaków, nowotworzenia czy działania antyoksydacyjnego. Cechy anatomiczne układu odpornościowego kury domowej, takie jak brak węzłów chłonnych, eozynofili czy limfocytów rezydujących mogą wskazywać na prostotę jego budowy. Dodatkowo zsekwencjonowanie genomu kury domowej pokazało, że u ptaków wiele procesów odpornościowych może się odbywać przy bardziej oszczędnym repertuarze cytokin, chemokin, receptorów i cząsteczek kostymulujących niż ten, który występuje u ssaków. Jednak to uproszczenie jest tylko pozorne, ponieważ układ odpornościowy ptaków spełnia właściwie wszystkie funkcje jakie spełnia układ odpornościowy ssaków.

LITERATURA

- AUDHYA T., KROON D., HEAVEN G., VIAMONTES G., GOLDSTEIN G., 1986. *Tripeptide structure of bursin, a selective B-cell-differentiating hormone of the Bursa of Fabricius*. Science 231, 997-999.
- BABA T., KITA M., 1977. *Effect of extracts of the bursa of Fabricius on IgG antibody production in hormonally bursectomized chickens*. Immunology 32, 271-274.
- BYRD J. A., DEAN C. E., HAYES T. K., WRIGHT M. S., HARGIS B. M., 1993. *Detection and partial characterization of anti-steroidogenic peptide from the humoral immune system of the chicken*. Life Sci. 52, 1195-1207.
- BYRD J. A., DEAN C. E., HARGIS B. M., 1994. *The effect of the humoral immune system-derived bursal anti-steroidogenic peptide (BASP) on corticosteroid biosynthesis in avian, porcine and canine adrenal-cortical cells*. Comp. Biochem. Physiol. 108, 221-227.
- BYRD J. A., DEAN C. E., FOSSUM T. W., HARGIS B. M., 1995. *Effect of bursal anti-steroidogenic peptide (BASP) on cortisol biosynthesis in ACTH-stimulated canine adrenocortical cells in vitro*. Vet. Immunol. Immunopathol. 47, 35-42.
- CALDWELL D. J., CALDWELL D. Y., MCELROY A. P., MANNING J. G., HARGIS B. M., 1998. *BASP-induced suppression of mitogenesis in chicken, rat and human PBL*. Develop. Comp. Immunol. 22, 613-629.
- CALDWELL D. J., DEAN C. E., MCELROY A. P., CALDWELL D. Y., HARGIS B. M., 1999. *Bursal anti-steroidogenic peptide (BASP): modulation of mitogen-stimulated bursal-lymphocyte DNA synthesis*. Comp. Biochem. Physiol. A, 123, 385-391.
- CHANG T. S., GLICK B., WINTER A. R., 1955. *The significance of the bursa of Fabricius of chickens in antibody production*. Poult. Sci. 34, 1187.
- COOPER M. D., PETERSON R. D. A., GOOD R., 1965. *Delineation of the thymic and bursal lymphoid system in the chicken*. Nature 205, 143-146.
- COOPER M. D., PETERSON R. D. A., SOUTH M. A., GOOD R. A., 1966. *The functions of the thymus system and bursa system in the chicken*. J. Exp. Med. 123, 75-102.
- DAVISON T. F., 2003. *The immunologists' debt to the chicken*. Brit. Poult. Sci. 44, 6-21.
- EKINO S., SONODA K., 2014. *New insight into the origin of IgG-bearing cells in the bursa of Fabricius*. Int. Rev. Cell. Mol. Biol. 312, 101-137.
- FENG X., SU X., WANG F., WEI J., WANG F., CAO R., CHOU B., MAO X., ZHENG Q., CHEN P., 2010. *Isolation and potential immunological characterization of TPSGLVY, a novel bursal septapeptide isolated from the bursa of Fabricius*. Peptides 31, 1562-1568.
- FENG X. L., LIU Q. T., CAO R. B., ZHOU B., WANG F. Q., DENG W., QIU Y. F., ZHANG Y., ISHAG H., MA Z. Y., ZHENG Q. S., CHEN P. Y., 2012. *A bursal pentapeptide (BPP-I), a novel bursa-derived peptide, exhibits antiproliferation of tumor cell and immunomodulator activity*. Amino Acids 42, 2215-2222.
- FENG X., CAO R., ZHOU B., LIU Q., LIU K., LIU X., ZHANG Y., GU J., MIAO D., CHEN P., 2013. *The potential mechanism of bursa-derived BPP-II on the antibody production and avian pre-B cell*. Vaccine 31, 1535-1539.
- GARCIA-ESPINOSA G., MOORE R. W., BERGHMAN L. R., HARGIS B. M., 2002. *Relationship of bursal anti-steroidogenic peptide (BASP) and histone H1*. Life Sci. 71, 3071-3079.
- GLICK B., 1955. *Growth and function of the bursa of Fabricius*. Poult. Sci. 34, 1196.

- GLICK B., 1956. *Normal growth of the bursa of Fabricius in chickens*. *Poult. Sci.* 35, 843-851.
- GLICK B., 1957. *Experimental modification of the growth of the bursa of Fabricius*. *Poult. Sci.* 36, 18-23.
- GLICK B., 1994. *The bursa of Fabricius – the evolution of a discovery*. *Poult. Sci.* 73, 979-983.
- GLICK B., CHANG T. S., JAAP R. G., 1956. *The bursa of Fabricius and antibody production*. *Poult. Sci.* 35, 224-225.
- HE M., LIANG X., WANG K., PU H., HU Y., YE G., LI X., LIU L., 2015. *Age-related development and histological observation of bursa of Fabricius in yellow quails*. *Can. J. Anim. Sci.* 95, 487-491.
- ICGSC, 2004. *Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution*. *Nature* 432, 695-716.
- KAISER P., 2012. *The long view: a bright past, a brighter future? Forty years of chicken immunology pre and post-genome*. *Avian Pathol.* 41, 511-518.
- LASSILA O., LAMBRIS J. D., GISLER R. H., 1989. *A role for Lys-His-Gly-NH₂ in avian and murine B cell development*. *Cell Immunol.* 122, 319-328.
- LI D.-Y., GENG Z. R., ZHU H. F., WANG C., MIAO D. N., CHEN P. Y., 2011. *Immunomodulatory activities of a new pentapeptide (Bursopentin) from the chicken bursa of Fabricius*. *Amino Acids* 40, 505-515.
- LI D. Y., XUE M. Y., GENG Z. R., CHEN P. Y., 2012. *The suppressive effects of bursopentine (BP5) on oxidative stress and NF- κ B activation in lipopolysaccharide-activated murine peritoneal macrophages*. *Cell Physiol. Biochem.* 29, 9-20.
- LIU X.-D., FENG X.-L., ZHOU B., CAO R.-B., LI X.-F., MA Z.-Y., CHEN P.-Y., 2012. *Isolation, modulatory functions on murine B cell development and antigen-specific immune responses of BP11, a novel peptide from the chicken bursa of Fabricius*. *Peptides* 35, 107-113.
- LIU X.-D., ZHOU B., CAO R.-B., FENG X.-L., LI X.-F., CHEN P.-Y., 2013. *Comparison of immunomodulatory functions of three peptides from the chicken bursa of Fabricius*. *Regul. Peptides* 186, 75-61.
- LIU X.-D., ZHOU B., CAO R.-B., FENG X.-L., MA Z.-Y., CHEN P.-Y., 2014a. *BP5 regulated B cell development promoting anti-oxidant defence*. *Amino Acids* 46, 209-222.
- LIU X.-D., ZHOU B., FENG X.-L., CAO R.-B., CHEN P.-Y., 2014b. *BP8, a novel peptide from avian immune system, modulates B cell development*. *Amino Acids* 46, 2705-2713.
- LIU X.-D., ZHANG F.-B., SHAN H., CHEN P.-Y., 2015. *The potential mechanism of bursal-derived BP8 on B cell developments*. *Biotechnol. Lett.* 37, 1013-1020.
- MAGOR K. E., MIRANZO NAVARRO D., BARBER M. R. W., PETKAU K., FLEMING-CANEPA X., BLYTH G. A. D., BLAINE A. H., 2013. *Defense genes missing from the flight division*. *Dev. Comp. Immunol.* 41, 377-388.
- OECD/FAO, 2016. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025*. OECD Publishing, Paris; http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en
- OLAH I., GLICK B., 1978. *The number and size of the follicular epithelium (FE) and follicles in the bursa of Fabricius*. *Poult. Sci.* 57, 1445-1450.
- OLAH I., GLICK B., 1995. *Dendritic cells in the bursal follicles and germinal centers of the chickens cecal tonsil express vimentin but not desmin*. *Anatom. Rec.* 243, 384-389.
- OLAH I., NAGY N., 2013. *Retrospection to discovery of bursal function and recognition of avian dendritic cells: past and present*. *Develop. Comp. Immunol.* 41, 310-315.
- OWEN J. J. T., COOPER M. D., RAFF M. C., 1974. *In vitro generation of B lymphocytes in mouse foetal liver – a mammalian ‘bursa equivalent’*. *Nature* 249, 361-363.
- QIN T., YIN Y., YU Q., YANG Q., 2015. *Bursopentin (BP5) protects dendritic cells from lipopolysaccharide-induced oxidative stress for immunosuppression*. *PLoS One*; doi: 10.1371/journal.pone.0117477.
- RATCLIFFE M. J. H., 2006. *Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development*. *Dev. Comp. Immunol.* 30, 101-118.
- RIBATTI D., 2014. *Max D. Cooper and the delineation of two lymphoid lineages in the adaptive immune system*. *Immunol. Lett.* 162, 233-236.
- RIBATTI D., CRIVELLATO E., VACCA A., 2006. *The contribution of Bruce Glick to the definition of the role played by the bursa of Fabricius in the development of the B cell lineage*. *Clin. Exp. Immunol.*; doi:10.1111/j.1365.2249.2006.03131.x
- SCHMID M., SMITH J., BURT D. W., AKEN B. L., ANTIN P. B., ARCHIBALD A. L., ASHWELL C., BLACKSHEAR P. J., BOSCHIERO C., BROWN C.T. i współaut., 2015. *Third report on chicken genomes and chromosomes 2015*. *Cytogenet. Genome. Res.* 145, 78-179.
- STEINMAN R. M., COHN Z. A., 1973. *Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution*. *J. Exp. Med.* 137, 1142-1162.
- SZENBERG A., WARNER N., 1962. *Dissociation of immunological responsiveness in fowls with hormonally development of lymphoid tissues*. *Nature* 194, 146-147.
- WARREN W. C., HILLIER L. W., TOMLINSON C., MINX P., KREMITZKI M., GRAVES T., MARKOVIC C., BOUK N., PRUITT K. D., THIBAUD-NISSEN F. i współaut., 2017. *A new chicken genome assembly provides insight into avian genome structure*. *G3 Genes Genomes Genetics* 7, 107-119.
- YIN Y., QIN T., YU Q., YANG Q., 2014. *Bursopentin (BP5) from chicken bursa of Fabricius attenuates the immune function of dendritic cells*. *Amino Acids* 46, 1763-1774.

KOSMOS Vol. 66, 4, 595–608, 2017

KRYSTYNA SKWARŁO-SOŃTA, MAGDALENA MARKOWSKA

*Department of Animal Physiology, Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa,
E-mail: kss25@biol.uw.edu.pl, markosia@biol.uw.edu.pl*

TRIBUTE TO BURSA OF FABICIUS – WHAT IS THE MODERN IMMUNOLOGY’ DEBT TO THE BIRDS?

Summary

Attribution by Bruce Glick in the fifties/sixties of twenty century an essential role of the bursa of Fabricius in the differentiation of a particular lymphocyte population in the chicken was a milestone in the modern immunology development. Incoming studies on both avian and mammalian experimental models were able to prove a functional dissociation of the humoral and cell-mediated immune response and to demonstrate that the bursa of Fabricius plays an important role in antibody production. Subsequently, the research was oriented towards the identification of the mammalian “bursa-equivalent” where the antibody-producing lymphocytes, named B-cells in the honor to the bursa of Fabricius, should be generated. Finally, this role in mammals has been proven for the embryonic liver and for the bone marrow lymphopoiesis in the postnatal life. Apart from that, bursa of Fabricius is an endocrine organ producing several peptides exhibiting immunoregulatory activity, not only towards the avian immune functions but also influencing mammalian immunity, both *in vivo* and *in vitro*. The most important among them seem to be: bur-sin (tripeptide discovered as the first bursal peptide), BASP (bursal anti-steroidogenic peptide, exerting and inhibitory effect on the steroid hormone synthesis in the ovarian follicles and adrenal cortex) and bursopentin (BP5, a peptide with an antioxidative properties). The anatomical features of the domestic chicken immune system, such as lack of lymph nodes, eosinophils or resident lymphocytes, may indicate the simplicity of its organization. In addition, the sequencing of the domestic chicken genome has shown that many immune processes in birds may occur with a more scant repertoire of cytokines, chemokines, receptors and costimulatory molecules than those found in mammals. However, this simplification is only apparent because the avian immune system fulfills all the functions as those of the mammalian one.

Key words: birds, bursa of Fabricius, avian immune system, chicken genome, bursal peptides