Centralny zegar biologiczny ptaków

MAGDALENA PRUSIK

Katedra Histologii i Embriologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 13, 10-713 Olsztyn

Otrzymano 12.04.2017

Zaakceptowano 23.05.2017

Prusik M.

Avian central clocking system

Summary

In birds many life processes runs in diurnal (e.g. locomotor activity, feeding, melatonin secretion) and seasonal rhythms (e.g. reproduction, song, feathering, migration) depending on the environmental light and the activity of their central clock system (CCS). The structure and mechanisms of the activity of the avian CCS are the most complex among vertebrates. CCS consists of three oscillators (in the retina, SCN and pineal gland) possessing their own sensory input system (photopigments) and effective output system (products for direct biological effects). So far, 14 forms of photopigments (Opn1, Opn2, Opn3, TMT, Opn4x, Opn4m, Opn5, RGR, RRH, VA-opsins, pinopsin, Cry1, Cry2 i Cry4) and 12 clock genes making up oscillators (Bmal1, Bmal2, Clock, NPas2 called also Mop4 and Rora – positive genes and Cry1, Cry2, Cry4, Per2, Per3, E4bp4 and Rev-erba – negative genes) have been described in the CCS in birds. Photopigments are placed in all layers of the retina; in the brain – mainly in regions of nuclei: septalis lateralis, premammillaris, habenularis and paraventricularis; in the pineal gland – in all kinds of pinealocytes. Most photopigments belonging to the opsin family are linked with the nucleotide phototransduction path, typical for vertebrates, but, in avian CCS, also the phosphoinositol phototransduction path, characteristic for invertebrates, exists and concerns Opn4x and Opn5. Oscillators are placed in nuclei of cells of all layers of the retina, in mSCN and vSCN (with great species variability) and in pinealocytes. It is supposed that all nonvisual photopigments have a direct role in the synchronization of the oscillator activity with the environmental light, but molecular the mechanisms of the interaction between photopigments and the oscillator remain unknown. The impact of each of the three oscillators of the CCS in the generation of biological rhythms in birds show great species differentiation. The differences concern both the domination of one of the oscillators over the others and the assignation of biological processes which the individual oscillator synchronizes rhythmically with the environmental light.

Keywords: photopigments, oscillator, retina, SCN, pineal gland

W świecie roślin i zwierząt bardzo ważną rolę w funkcjonowaniu organizmu odgrywają rytmy biologiczne. Rytmy biologiczne są to cykliczne zjawiska naprzemiennego, okresowego nasilania się i hamowania procesów życiowych, np. występujących u zwierząt cyklów snu i czuwania, termoregulacji, pobierania pokarmu, ciśnienia krwi, oddychania, wylinki, pierzenia, nieśności (6, 14, 25-27, 29, 55, 56, 87). Częstotliwość cyklu różnych procesów biologicznych może się wahać od sekund przez minuty, dni, aż do miesięcy. Rytmy biologiczne mogą być endogenne – generowane przez wewnętrzny zegar biologiczny organizmu oraz egzogenne – generowane przez cyklicznie zmieniające się warunki środowiskowe (np. światło i ciemność, pory roku, wahania temperatury i wilgotności). U ptaków obiektem najczęstszych badań są obecnie rytmy dobowe (np. rytm aktywności lokomotorycznej, pobierania pokarmu, snu i czuwania, sekrecji melatoniny) oraz

roczne – sezonowe (np. reprodukcji, migracji, hibernacji, pierzenia, śpiewu), generowane przez wewnętrzny zegar biologiczny, którego aktywność jest synchronizowana z zewnętrznymi warunkami oświetlenia (14, 21, 55, 56, 66). Cykliczne procesy życiowe synchronizowane ze światłem otoczenia nazywane są także procesami lub odpowiedziami chronobiologicznymi. Wewnętrzny zegar biologiczny składa się z trzech podstawowych elementów: sensorycznego systemu wejścia (tworzonego przez fotoreceptory), systemu genów zegarowych (oscylator) oraz efektorowego systemu wyjścia (reprezentowanego przez produkty genów odpowiedzialne za bezpośrednie efekty biologiczne) (55, 56). Oscylator jest „sercem” zegara biologicznego, generuje pojawienie się cyklicznie powtarzających się okresów na przemian podwyższonego i obniżonego poziomu różnych związków chemicznych, których rytm wydzielania jest „dopasowany” do określonej

długości dnia świetlnego i zachowany w stałych warunkach oświetlenia *in vitro* lub podczas nocy polarnej i dnia polarnego – *in vivo* (21, 75).

U zwierząt wyróżnia się dwa rodzaje wewnętrznych zegarów biologicznych tworzących model hierarchiczny: centralny zegar biologiczny – CCS oraz peryferyjne zegary biologiczne – PCSs (dokładne tłumaczenie skrótów używanych w publikacji umieszczono na osobnej liście). Skład i struktura CCS różni się znacząco u ssaków i ptaków (8, 24, 57, 98). CCS u ssaków zawiera sensoryczny system wejścia w siatkówce, jeden oscylator w SCN podwzgórza oraz efektorowe systemy wyjścia w różnych narządach, np. w szyszynce, tarczycy i gonadach (57). U ptaków CCS jest bardziej złożony niż u ssaków – siatkówka, SCN oraz szyszynka stanowią trzy samodzielne wewnętrzne zegary biologiczne zawierające w sobie wszystkie systemy (fotoreceptory, oscylator i efektorowy system wyjścia) – przedstawione schematycznie na ryc. 1. Ptaki posiadają więc trzy oscylatory w CCS, które *in vitro* działają niezależnie od siebie, generując własny rytm uwalniania różnych związków chemicznych. W warunkach *in vivo* wypadkowa działań wszystkich oscylatorów skutkuje wspólnym rytmem biologicznym wielu procesów życiowych organizmu (14, 21, 33, 56, 66, 90). Mechanizm współdziałania trzech oscylatorów CCS ptaków na poziomie molekularnym nie jest jeszcze, niestety, poznany.

PCSs występują w obwodowych narządach, np. w wątrobie, płucach, mięśniach szkieletowych, mięśniu sercowym, nerkach, śledzionie, gruczołach dokrewnych i gonadach (8, 19, 24, 46, 95, 98). Obwodowe oscylatory odpowiadają m.in. za rytmy krótkie (w cyklach sekundowych lub minutowych), charakterystycznych np. dla pracy serca, tętna, oddychania. PCSs nie są bezpośrednio zależne od światła i prawdopodobnie są nadrzędnie sterowane przez CCS. Badania wykazały, że u ssaków stopień zależności PCSs od CCS jest cechą gatunkową (24, 95). Zależności tej

Ryc. 1. Schemat rozmieszczenia elementów CCS ptaków. Opis w tekście

nie badano dotychczas u ptaków, lecz wykazano, że pinealektomia lub enukleacja przeprowadzona u kury obniżała amplitudę rytmu ekspresji genów zegarowych PCSs, choć nie znosiła go całkowicie (46).

Sensoryczny system wejścia – fotoreceptory

W świecie zwierzęcym istnieje bardzo szeroka gama fotoreceptorów uczestniczących m.in. w wizualizacji wzrokowej, lecz dla funkcjonowania zegara biologicznego największe znaczenie mają barwniki niewzrokowe, zwane też barwnikami chronobiologicznymi. Dotychczas w CCS ptaków (głównie kury, a także przepiórki, gołębia i wróbla) zlokalizowano Cry1, Cry2, Cry4, Opn3, TMT (homolog Opn3 u ryb), Opn4, Opn5, RRH, RGR oraz VA-opsyny (5, 23, 31, 37, 49, 54, 63, 64, 66, 72, 85). Schemat rozmieszczenia poszczególnych fotopigmentów w CCS ptaka przedstawia tabela 1. Ekspresja genów Cry, Opn4, RRH i RGR jest rytmiczna, zależna od funkcjonowania oscylatora i od światła. Przykładowo, poziom mRNA mOpn4 jest wyższy w nocy i niższy w dzień, zaś mRNA RRH i RGR – wyższy w dzień, a niższy w nocy, co wskazuje na ich udział w synchronizacji rytmów biologicznych ze światłem otoczenia (5, 16, 22, 38). Wszystkie wyżej wymienione fotoreceptory są wrażliwe na światło niebieskie, które odpowiada kolorowi nieba podczas czystego poranka i jest najlepszym sygnałem dla organizmu o przejściu nocy w dzień pozwalającym zsynchronizować biologię organizmu z zewnętrznymi warunkami oświetlenia (52, 81). Opn5, RGR i RRH są wrażliwe dodatkowo na światło UV (23, 94). Dokładna rola fizjologiczna poszczególnych fotopigmentów oraz mechanizmy molekularne ich interakcji z oscylatorem nie są wyjaśnione. Obiektem intensywnych badań jest obecnie Opn4. Fotopigment ten

Tab. 1. Rozmieszczenie fotopigmentów w CCS ptaków. Opis w tekście

Fotopigmenty		Siatkówka	Mózg	Szyszynka	Rodzina
Wzrokowe	Opn1	+		+	opsyny
	Opn2	+	+	+	
Niewzrokowe	Opn3	+	+		
	TMT	+	+		
	Opn4	+	+	+	
	Opn5	+	+	+	
	VA-opsyny		+		
	RGR	+		+	
	RRH	+		+	
	pinopsyna			+	
	Cry1	+	+	+	flawoproteiny
	Cry2	+	+	+	
	Cry4		+	+	

jest odpowiedzialny (prawdopodobnie razem z innymi opsynami) za synchronizację aktywności oscylatora ze światłem otoczenia, nagłą supresję sekrecji melatoniny pod wpływem światła oraz odruchy żreniczne (22, 91). U ptaków występują dwa rodzaje Opn4 kodowane przez dwa różne geny: Opn4x (analogiczna do opisanej po raz pierwszy u żaby *Xenopus*), zwana też Opn4a lub Opn4-1, występująca w dwóch izoformach oraz Opn4m (typowa dla ssaków), zwana też Opn4b lub Opn4-2, występująca w trzech izoformach (7, 20, 22, 55, 85, 92). Opn4m należy do rodziny opsyn charakterystycznych dla kręgowców, zaś Opn4x jest związana bardziej z r-opsynami występującymi u bezkręgowców, posiadającymi odmienny szlak fototransdukcji. W świetle zwierzęcy występują dwie przeciwstawne względem siebie ścieżki fototransdukcji: pierwsza – związana z cyklicznymi nukleotydami – typowa dla barwników wzrokowych u kręgowców, druga – fosfoinozytolowa – u bezkręgowców (ryc. 2). Obydwie występują w narządach tworzących CCS u ptaka (20, 22, 40). Sugeruje się, że z pierwszą ścieżką są powiązane, obok barwników wzrokowych, Opn4m i pinopsyna (opisana poniżej) oraz prawdopodobnie Opn3 i TMT. Opsyny łączą się z białkiem G_t , które aktywuje PDE hydrolizującą cGMP do 5'GMP. Spadek poziomu cGMP prowadzi do zamknięcia błonowych kanałów kationowych bramkowanych cGMP i w efekcie do hiperpolaryzacji błony komórki fotoreceptorowej. Druga ścieżka fototransdukcji jest prawdopodobnie typowa dla Opn4x i Opn5 u ptaków. Opsyny łączą się z białkiem G_q (analogiem G_{11}) aktywującym PLC hydrolizującą w błonie komórkowej PIP_2 do IP_3 i DAG. Wzrost poziomu tych wtórnych przekaźników powoduje otwarcie błonowych kanałów wapniowych TRP, przepływ Ca^{2+} i depolaryzację błony komórkowej (1, 20, 22, 40, 49, 53, 62, 65, 79, 86). Nie wiadomo jeszcze, z jakimi białkami G łączą się VA-opsyny, RGR oraz RRH.

W sensorycznym systemie wejścia CCS istnieje druga grupa fotoreceptorów, która nie oddziałuje bezpośrednio na oscylator ani nie uczestniczy w synchronizacji faz rytmu biologicznego ze światłem otoczenia, lecz prawdopodobnie pośredniczy np. w hamującym wpływie nagłego bodźca świetlnego na sekrecję melatoniny w nocy (75). Taki wpływ u ptaków mają Opn1, Opn2 oraz pinopsyna – szyszynkowy ekwiwalent Opn2. Ekspresja ich genów nie wykazuje cech rytmicznych w warunkach ciągłej ciemności, nie jest więc kontrolowana przez oscylator. W przypadku pinopsyny w szyszynce kury rytmiczne dobowe wahania poziomu jej mRNA były obserwowane tylko w trakcie występowania następujących po sobie faz jasnej i ciemnej. W odróżnieniu od mRNA, zawartość białka pinopsyny była stała i nie podlegała wpływowi światła i oscylatora (83). Pinopsyna hamuje bezpośrednio wydzielanie

Ryc. 2. Ścieżki fototransdukcji: A – nukleotydowa; B – fosfoinozytolowa. Opis w tekście

melatoniny poprzez oddziaływanie na podjednostki α białka G_i hamujące aktywność cykazy adenylanowej i zależnych od niej enzymów szlaku biosyntezy melatoniny (47, 48, 61, 67, 68, 70, 71). Badania wykazały, że niektóre z wymienionych barwników kolokalizują ze sobą w tych samych komórkach i wspólnie pośredniczą w hamowaniu sekrecji melatoniny w odpowiedzi na nagły bodziec świetlny, np. w komórkach czopkowych i pręcikowych siatkówki Opn2 z Opn4, a w pinealocytach pinopsyna z Opn4 (22).

Wszystkie wyżej wymienione fotopigmenty (z wyjątkiem Cry) pochodzą z rodziny opsyn – białek błonowych zawierających chromofor w postaci retinaldehydu, który pod wpływem światła przechodzi z formy 11-cis do trans-retinalu (Opn1-5 oraz VA-opsyny) lub z formy trans- do 11-cis-retinalu (RRH i RGR) (22, 23, 94). Białka Cry1, Cry2 i Cry4 są homologami należącymi do rodziny flawoprotein, bardzo popularnymi także w świecie roślinnym, zawierającymi w miejsce chromoforów pterynę i flawinę. U ssaków Cry nie jest powszechnie uważany za fotopigment, natomiast u ptaków jest on wrażliwy na światło i pełni ważną rolę w nawigacji podczas migracji. Uważa się, że Cry jest podstawą funkcjonowania zależnego od światła zmysłu magnetycznego ptaków używanego do wyczuwania pola magnetycznego Ziemi. Zmiany konformacji białka Cry są modyfikowane nie tylko przez światło, ale i pole magnetyczne. Cry jest także prawdopodobnie odpowiedzialny za utrzymywanie okresów bezsenności w trakcie nocnych przelotów ptaków migrujących, gdyż wykazywano wtedy szczególnie wysoką ekspresję jego genów (14, 37, 39, 62, 63).

Światło jest głównym, lecz nie jedynym zewnętrznym czynnikiem środowiskowym oddziałującym poprzez sensoryczny system wejścia na aktywność oscylatorów w CCS. Istnieją inne, pozaświatłowe impulsy, np. temperatura, wilgotność otoczenia, pole elektromagnetyczne (21). Mechanizmy oddziaływania

tych czynników na aktywność zegara biologicznego pozostają nieznane.

System genów zegarowych – oscylator

Geny zegarowe znajdują się w jądrach poszczególnych komórek narządów tworzących endogenne oscylatory zegara biologicznego. Komórki te reagują na bodźce ze środowiska zewnętrznego (za pośrednictwem sensorycznego systemu wejścia) indukcją zmian w ekspresji genów zegarowych. Aktywność oscylatora opiera się na rytmicznej, autoregulacyjnej i wzajemnie sprzężonej transkrypcji i translacji tzw. pozytywnych i negatywnych genów zegarowych, zawierających cykliczny E-box w rejonie promotora (46, 50). Molekularny mechanizm pracy oscylatora został opracowany na podstawie badań nad modelami cyjanobakterii, grzybów *Neurospora*, muszki owocówki i myszy, wykazując, że struktura funkcjonowania oscylatora jest uniwersalna w całym świecie zwierzęcym (16, 30, 42, 50, 100). Dotychczas w CCS ptaków zidentyfikowano geny zegarowe: *Bmal1*, *Bmal2*, *Clock*, *NPas2* zwany też *Mop4* i *Rora* – stanowiące pozytywny element systemu kodujący białkowe aktywatory transkrypcyjne; oraz *Cry1*, *Cry2*, *Per2*, *Per3*, *E4bp4* i *Rev-erba* – tworzące negatywny element systemu kodujący represory transkrypcji (2, 21, 28, 69, 87, 93, 96-98). U ssaków dodatkowo występuje *Per1*, a u kury i wróbla domowego zidentyfikowano nowy *Cry4*, który jest homologiem *Cry4* u ryb (35, 43, 50, 98). U ssaków geny pozytywne (*Bmal1-2* i *Clock*) wykazują się zwiększonym poziomem ekspresji w okresie późnego dnia i wczesnej nocy, geny negatywne (*Per2-3*) późną nocą i wczesnym dniem, zaś ekspresja *Cry1-2* wzrasta około południa (14). Geny zegarowe u ptaków posiadają natomiast własną, zróżnicowaną w zależności od gatunku, narządu i wrażliwości na światło, charakterystykę rytmicznej ekspresji. Przykładowo, w oku i szyszynce przepiórki ekspresja mRNA *Clock* wykazuje wyraźny rytm dobowy indukowany przez światło, zaś w szyszynce kury poziom ekspresji jest stały lub wykazuje bardzo słaby rytm oraz jest niewrażliwy na światło (18, 51, 69, 93, 98). Gen *Per2* jest regulowany przez światło w szyszynce przepiórki, zaś *Per3* nie jest wrażliwy na światło (43, 98). W szyszynce kury poziomy mRNA zarówno *Cry1*, jak i *Cry2* wykazują rytm okołodobowy i oba są indukowane przez światło w przeciwieństwie do myszy, u której tylko ekspresja genu *Cry1* jest rytmiczna, lecz niewrażliwa na światło (93). Rytm ekspresji genów zegarowych u ptaków różni się również w zależności od sezonu i długości dnia świetlnego (89, 96). Badania wykazały także występowanie różnic w ekspresji genów zegarowych w odpowiedzi na różne długości fal świetlnych. Zielone światło monochromatyczne wzmacnia ekspresję genów pozytywnych, zwiększając wydzielanie melatoniny, zaś czerwone

Ryc. 3. Schemat funkcjonowania genów zegarowych. Opis w tekście

– genów negatywnych, hamując tym samym sekrecję melatoniny (43, 44, 58). Dane literaturowe zawierają także opis wpływu koloru światła na rozwój ptaków, ich odporność i behawioryzm (13, 58, 59).

Uwzględniając wymienione powyżej różnice w ekspresji genów zegarowych, molekularny mechanizm działania oscylatora u ptaków wydaje się bardziej złożony niż u innych kręgowców i bezkręgowców. Schemat funkcjonowania genów zegarowych przedstawia ryc. 3. W świetle aktualnej wiedzy, w dużym uproszczeniu wygląda on następująco: geny pozytywne kodują białka *Bmal*, *Clock*, *NPas2* i *Rora*. Pierwsze trzy białka tworzą ze sobą na terenie cytoplazmy dimery *Bmal1:Clock* oraz *Bmal1:NPas2*, które wracają do jądra i przyłączają się w nocy do E-box genów negatywnych *Per*, *Cry* oraz *Rev-erba*, indukując ich transkrypcję oraz cytoplazmatyczną translację białek *Per*, *Cry* i *Rev-erba*. Nagromadzone białka *Per* i *Cry* ulegają fosforylacji i łączą się w kompleksy *Per:Cry*, które wracają do jądra w ciągu dnia i hamują transkrypcję własnych genów oraz wszystkich genów pozytywnych poprzez inaktywację dimerów *Bmal1:Clock* i *Bmal1:NPas2*. Białko *E4bp4* jest prawdopodobnie represorem transkrypcji genu *Per2*. Białko *Rev-erba* silnie hamuje transkrypcję genu *Bmal1*. Zahamowanie transkrypcji genu *Rev-erba* otwiera drogę do rozpoczęcia nowego cyklu, dla którego impulsem jest białko *Rora* będące aktywatorem transkrypcji genu *Bmal1* (14, 15, 21, 30, 51, 87).

Efektorowy system wyjścia

Produkty białkowe genów oscylatora, oprócz udziału we wzajemnie sprzężonej transkrypcji genów zegarowych, stanowią także sygnał informacyjny dla organizmu synchronizujący rytm biologiczny ze zmianami środowiskowymi. Białka te oddziałują na własne lub inne komórki, regulując dodatkowo ekspresję tzw.

genów kontrolowanych przez zegar – CCGs, zwanych też inaczej genami zależnymi od zegara – CGDG. CCGs zawierają cykliczny E-box w obrębie promotora i są stymulowane przez kompleksy białkowe Bmal1:Clock, Bmal1:Npas2 oraz białka Per. Geny te są bardzo zróżnicowane, w zależności od tkanki i jej funkcji metabolicznej, np. w szyszynce ptaków są to geny kodujące enzymy szlaku biosyntezy melatoniny, których rytmiczna ekspresja skutkuje dobowym rytmem sekrecji melatoniny z jej najwyższym poziomem w nocy i najniższym w dzień (14, 73).

Efekty biologiczne będące wynikiem ekspresji genów CCGs są złożone i można je zaliczyć do kilku kategorii: behawioralne (np. rytm pobierania pokarmu, aktywności lokomotorycznej, śpiewu, migracja i orientacja przestrzenna), nerwowe (np. rytmiczna aktywność neuronów – elektrogramy), fizjologiczne (np. termoregulacja, metabolizm węglowodanów, cykl snu i czuwania, odporność immunologiczna) i hormonalne (np. sekrecja melatoniny, LH, tyroksyny) (6, 14, 25-27, 29, 55, 56, 87).

Siatkówka

W siatkówce ptaka bodziec świetlny oddziałuje bezpośrednio nie tylko na komórki pręcikowe i czopkowe warstwy zewnętrznej, ale na wszystkie pozostałe warstwy, gdyż w każdej z nich zlokalizowano obecność fotopigmentów mających kluczowe znaczenie dla pracy oscylatora siatkówki. Badania wykazały, że światłoczułość komórek niższych warstw siatkówki jest mniejsza niż komórek pręcikowych i czopkowych. Komórki niższych warstw wymagają dłuższej ekspozycji na światło (co najmniej w minutach, a nie w sekundach) oraz większej intensywności światła (nie reagują na pojedyncze fotony), dzięki czemu ich reakcja na światło jest stabilna i bardziej wydłużona w czasie (22). Rozmieszczenie fotopigmentów w poszczególnych warstwach siatkówki ptaków przedstawiono w tabeli 2. Komórki fotoreceptorowe warstwy zewnętrznej zawierają, oprócz klasycznych barwników wzrokowych (Opn1 i Opn2), także Opn4 oraz Cry1 i Cry2. Ekspresję mRNA Opn4 oraz obecność jej białka wykazano także w komórkach warstwy wewnętrznej i zwojowej. Opn5 i RGR zlokalizowano zarówno w warstwie wewnętrznej, jak i zwojowej, a RRH głównie w warstwie zwojowej (3-5, 7, 16, 17, 62, 84, 85, 94). Dodatkowo RGR opisano także w nabłonku barwnikowym i komórkach glejowych Müllera siatkówki

(23). Białka Opn3 i TMT zlokalizowano w warstwie wewnętrznej, mniejsze ilości TMT także w warstwie zwojowej (49). Dzięki obecności barwników chronobiologicznych we wszystkich warstwach siatkówki, odruchy żreniczne oraz zdolność synchronizacji własnych rytmów biologicznych ze światłem otoczenia są zachowane nawet u ptaków ślepych, pozbawionych czopków i pręcików (22, 91). Do niedawna uważano, że za rytmiczne efekty biologiczne siatkówki odpowiada głównie Opn4. Ostatnie badania dowiodły, że efekty te występują także w siatkówce pozbawionej czopków, pręcików i Opn4, lecz wykazującej silną ekspresję genu Opn5. Niektórzy badacze zasugerowali więc główny lub pomocniczy udział Opn5 (obok Opn4) w synchronizacji rytmu biologicznego siatkówki ze światłem u ptaków (22). W przypadku genu Cry szczególnie wysoka ekspresja w siatkówce miała miejsce podczas nocnych przelotów ptaków migrujących, co przemawia za kluczowym znaczeniem tego barwnika w nawigacji ptaków (37, 39).

Obecność oscylatora zlokalizowano w neuronach wszystkich warstw siatkówki ptaka. Dotychczas w siatkówce ptaków wykazano ekspresję genów Cry1-2, Per2-3, Clock, Bmal1, Npas2, Rora i Rev-erba (15, 19, 34, 87, 98). Rytm ekspresji genów zegarowych jest bardzo zróżnicowany. Przykładowo, Bmal1 i Npas2 cechują się rytmiczną ekspresją – wyższą w ciągu dnia, a niższą w nocy oraz w ciągłej ciemności (15, 19). Rytm ekspresji mRNA Clock cechuje się niską amplitudą z wyższym poziomem w nocy, lecz nie jest zachowany w ciągłej ciemności (15). Rytm ekspresji mRNA Cry1 i Per2 (z wyższym poziomem wczesnym dniem i niższym w nocy) występuje także w ciągłej ciemności, lecz ze zredukowaną amplitudą. Ekspozycja na światło powoduje wzrost ekspresji Cry1 i Per2, dowodząc, iż są to geny wrażliwe na światło w siatkówce ptaków (15, 34, 98).

Oscylator siatkówki, oddziałując poprzez swoje produkty białkowe na różne geny CCGs, tworzące efektorowy system wyjścia, wywołuje kilka rodzajów efektów biologicznych w obrębie siatkówki. Dotychczas opisano rytmiczną aktywność neuronalną siatkówki, tzw. elektroretinogram (ERG), dobową modulację wrażliwości wzrokowej na światło, rytmiczną ekspresję rodopsyny i cFos, rytm aktywności kanału bramkowanego cGMP (15). Najczęściej badanymi efektami biologicznymi oscylatora siatkówki są rytmy ekspresji mRNA i aktywności AANAT (jednego z kluczowych

enzymów szlaku biosyntezy melatoniny), poziomu cAMP oraz sekrecji melatoniny siatkówkowej – z wyższym poziomem wszystkich związków w nocy i niższym w dzień. Rytmy te opisano w komórkach pręcikowych i czopko-

Tab. 2. Rozmieszczenie fotopigmentów w siatkówce ptaków. Opis w tekście

Struktury siatkówki	Fotopigmenty									
	Opn1	Opn2	Opn3	TMT	Opn4	Opn5	RGR	RRH	Cry1	Cry2
W. zewnętrzna (kk pręcikowe i czopkowe)	+	+			+				+	+
W. wewnętrzna (głównie kk horyzontalne)			+	+	+	+	+			
W. zwojowa				+	+	+	+	+		
Komórki glejowe Müllera							+			
Nabłonek pigmentowany							+			

wych oraz horyzontalnych i zwojowych siatkówki u kury (9, 15, 22, 41, 102). Badania nad siatkówką kury wykazały, że promotor genu AANAT zawiera cykliczny E-box, do którego przyłączają się kompleksy białek Bmal1:Clock i Bmal1:Npas2, wzmacniając jego transkrypcję w nocy, zaś w dzień jego ekspresja jest hamowana przez białka Per i Cry1 (18). Podobna kontrola E-box jest także powiązana z cyklicznym poziomem cAMP, co prowadzi do rytmicznej sekrecji melatoniny.

Jądro nadskrzyżowaniowe SCN

W przeciwieństwie do ssaków, które posiadają jedno parzyste jądro SCN w podwzgórzu, u ptaków występują dwie pary jąder: mSCN oraz vSCN (11, 12, 57, 99). Jądro mSCN znajduje się blisko kąta zachyłka przedwzrostowego III komory mózgu. Jądro vSCN leży bocznie i tylnie w stosunku do mSCN i jest uważane za anatomiczny homolog SCN u ssaków, jest bowiem połączone szlakiem RHT z siatkówką. Jest większą i dłuższą strukturą niż mSCN. Udowodniono, że vSCN jest podstawowym odbiorcą bodźców świetlnych z siatkówki, co wykazano dotychczas u turkawki, wróbla, gołębia, kaczki i kury (11, 12). Jądro mSCN otrzymuje bardzo niewielką ilość włókien nerwowych bezpośrednio z siatkówki. Sugeruje się, że mSCN może odbierać bodźce z siatkówki inną drogą niż poprzez RHT – np. za pośrednictwem astrocytów lub niezidentyfikowanych jeszcze połączeń nerwowych tworzących „most” między vSCN a mSCN (11, 99). SCN ptaka odbiera informacje świetlne ze środowiska trzema głównymi drogami. Pierwsza z nich, to opisana wyżej droga pośrednia z siatkówki poprzez szlak RHT, druga, także pośrednia z siatkówki – poprzez szlak GHT. Obydwie drogi odbioru bodźców świetlnych dotyczą głównie vSCN. Trzecia droga, bezpośrednia, jest powiązana z mSCN, który odbiera bodźce świetlne poprzez fotoreceptory zlokalizowane w sąsiednich obszarach mózgu – głównie w rejonach jąder przegrodowym bocznym, przedsuteczkowym, uzdeczek i przykomorowym (11, 29, 45). Dotychczas opisano tam obecność Opn2, Opn4, Opn5 oraz VA-opsyny i prawdopodobnie Cry, wykazując różnice gatunkowe w rozmieszczeniu poszczególnych opsyn, np. u kury Opn4 występuje w jądrze uzdeczek i w jądrze przegrodowym bocznym, zaś u indyka w jądrze przedsuteczkowym (14, 29, 45, 65). Dwie izoformy VA-opsyn (VAL-opsyny i VAS-opsyny) zlokalizowano u kury, natomiast nie znaleziono żadnej z nich u badanych gatunków ptaków śpiewających (55). W mózdku i we wzgórzu kury wykazano także obecność Opn3 i TMT (49).

Zarówno mSCN, jak i vSCN posiadają oscylatory, lecz występują spore różnice gatunkowe pod względem rozmieszczenia genów zegarowych. U przepiórki zidentyfikowano Per2-3, Cry1-2, Bmal1, Clock, E4bp4 wyłącznie w mSCN (96, 98, 99). U wróbla domowego wykazano rytmiczną ekspresję Per2 z najwyższym po-

ziomem w środku dnia zarówno w mSCN, jak i vSCN (10), zaś u kury i ryżowca siwego wykazano obecność Per2 tylko w mSCN (98, 99). U ptaków migrujących nocą wykazano wysoką ekspresję Cry w neuronach tylnobocznych regionów obu półkul przodomózgowia, które są funkcjonalnie powiązane z neuronami Cry-pozytywnymi siatkówki (37). W mózgu kury i wróbla domowego sklonowano także Cry4 (35). W podwzgórzu kury wykazano także ekspresję Rora i Rev-erba (87).

„Świetlna” informacja z oscylatora w SCN jest przesyłana dalej do innych komórek nerwowych regulujących zależną od światła sezonową i okołodobową czynność wielu narządów, np. gonad – kontrolując ich wzrost i dojrzewanie; przysadki, tarczycy i szyszynki – modyfikując rytmiczne wydzielanie ich hormonów. SCN reguluje także aktywność PCSs oddziałujących na wiele obwodowych tkanek, np. wątroby, mięśni, serca, płuc (14). SCN powszechnie jest uważany za główny oscylator zawiadujący sezonową reprodukcją u ptaków (14, 29, 45, 55, 56).

Szyszynka

U ptaków, w przeciwieństwie do ssaków, szyszynka jest światłoczuła, zlokalizowana między międzymózgowiem a mózdzkiem, tuż pod półprzezroczystą w tym miejscu czaszką (57, 74, 76-78). Światło oddziałuje bezpośrednio na pinealocyty – komórki fotoreceptorowe szyszynki zawierające opisane dotychczas (głównie u kury, a także u przepiórki): Opn1, Opn2, pinopsynę, Opn4x i Opn4m, Opn5 oraz Cry1, Cry2 i Cry4 (14, 16, 17, 43, 54, 66, 94). Hybrydyzacja *in situ* wykazała także obecność RGR w komórkach niebędącymi pinealocytami w pęcherzykach tworzących miąższ narządu, zaś RRH w komórkach śródmiaższowych poza pęcherzykami (4, 5). W tych samych komórkach występuje także Cry4 (54). W szyszynce kury najwyższy poziom ekspresji mRNA Opn4 występuje w nocy, najniższy w dzień, zaś RGR i RRH odwrotnie – wyższy w dzień i niższy w nocy (16).

Mimo iż szyszynka ptaków posiada zdolność bezpośredniego odbioru bodźców świetlnych, stopień wrażliwości szyszynki ptaków na światło różni się gatunkowo, a nawet osobniczo. Jest on mocno powiązany z budową morfologiczną szyszynki, która w tej gromadzie cechuje się największym zróżnicowaniem spośród wszystkich kręgowców. Z jednej strony, u ptaków występują szyszynki z silniej zaznaczoną komponentą fotoreceptorową (typu woreczkowego oraz kanalikowo-pęcherzykowego) – nastawione głównie na bezpośredni odbiór światła, np. u przepiórki, indyka, kaczki, gęsi, papugowatych, gołębia, wróbla, młodych kurcząt. Z drugiej strony, występują także szyszynki o budowie litej lub pęcherzykowo-litej (np. u dorosłej kury domowej), u których prawdopodobnie większe znaczenie odgrywa światło odbierane pośrednio drogą nerwową od siatkówki (74, 76-78). W drodze pośredniej oddziaływania bodźców świetlnych uczestniczą

docierające do szyszynki, pochodzące z SCN, postsynaptyczne włókna nerwowe sympatyczne, uwalniające ze swych zakończeń NA (74, 75). NA jest uwalniana podczas dnia i łączy się z błonowym receptorem α_2 -adrenergicznym związanym z białkiem G, hamującym aktywność cykazy adenylanowej (75). Prowadzi to do spadku poziomu cAMP i obniżenia aktywności AA-NAT oraz sekrecji melatoniny. Adrenergiczna regulacja szyszynki u ssaków różni się od ptaków, gdyż u ssaków NA jest uwalniana nocą i oddziałując na β - i α_1 -adrenoreceptory, zwiększa syntezę i wydzielanie melatoniny (57). Mimo oddziaływania NA na różne receptory w szyszynce ptaków i ssaków, cykliczny rytm melatoniny w obu przypadkach jest taki sam. NA jest nośnikiem informacji świetlnej z siatkówki, lecz, w przeciwieństwie do światła odbieranego bezpośrednio przez szyszynkę, nie wpływa na funkcjonowanie oscylatora szyszynkowego (75, 101).

Oscylator szyszynki występuje w jądrach komórkowych wszystkich rodzajów pinealocytów ptaków. Dotychczas w szyszynce ptaków (głównie kury, przepiórki i wróbla domowego) zidentyfikowano Per2, Per3, Bmal1, Bmal2, Clock, Cry1, Cry2, Cry4 i E4bp4 (10, 21, 43, 54, 69, 93, 96, 98). Geny Per2, E4bp4 i Bmal1 w szyszynce kury cechują się wyraźnym dobowym rytmem ekspresji, z czego Per2 oraz E4bp4 są wrażliwe na światło (18, 19, 36, 69, 98). Natomiast ekspresja Clock i Per3 nie jest zależna od światła (100). Opisano dwie drogi generowania rytmu okołodobowego w oscylatorze szyszynkowym. Pierwsza z nich, klasyczna, opisana wyżej – obejmuje oddziaływanie dimerów białkowych Clock:Bmal1 lub NPas2:Bmal2 na E-box promotora genu Per i Cry. Drugą drogą jest oddziaływanie indukowanego przez cAMP CRE na promotor genu Per2 (87).

Geny zegarowe szyszynki ptaków oddziałują na CCGs reprezentowane przede wszystkim przez geny kodujące enzymy szlaku biosyntezy melatoniny (14, 73). Regulacja wydzielania melatoniny odbywa się na poziomie mRNA kluczowych enzymów szlaku jej biosyntezy poprzez ich rytmiczną ekspresję, jak i na poziomie białek enzymatycznych poprzez ich rytmiczną aktywność (9). Turkowska i wsp. (89) sugerują, że Bmal1 może być bezpośrednim ogniwem między zegarem a szlakiem biosyntezy melatoniny. Podobnie jak w siatkówce, E-box w pierwszym intronie genu AANAT pośredniczy w regulacji transkrypcji przez akcję dimeru Bmal1:Clock, który inicjuje transkrypcję genu AANAT. Białka Per i Cry formują kompleks, który wraca do jądra i blokuje E-box zależny od Bmal1:Clock, hamując tym ekspresję genów negatywnych oraz genu AANAT (43).

Co ciekawe, w szyszynce ptaka, ale nie w siatkówce i SCN, do genów CCGs wydają się należeć także geny powiązane z produkcją cytokin, funkcjami immunologicznymi i limfopoiezą, gdyż wykazano ich wysoką i rytmiczną ekspresję u kury i przepiórki japońskiej (14).

Udział poszczególnych oscylatorów CCS w generowaniu rytmu biologicznego ptaków

Wkład i znaczenie każdego oscylatora CCS w generowaniu rytmu w przebiegu wielu procesów biologicznych ptaków różni się znacząco między gatunkami, a nawet osobniczo. Efekty pinealektomii, enukleacji, jak i lezji SCN u ptaków są różne, nawet w odniesieniu do tych samych procesów życiowych. Wyniki badań sugerują, że najbardziej dominującym w utrzymywaniu rytmów biologicznych u większości ptaków wydaje się oscylator szyszynkowy (55). Pinealektomia powodowała zniesienie rytmu aktywności lokomotorycznej u wszystkich badanych gatunków ptaków śpiewających (87). Rytm ten jednak nie był zniesiony u gołębia (27), kury (60) i przepiórki japońskiej (80), co dowodzi równorzędnego lub dominującego znaczenia innego oscylatora w CCS u tych ptaków. Co ciekawe, brak szyszynki znosił rytm tylko niektórych procesów behawioralnych, np. u szpaka zwyczajnego (6, 32) zanikał rytm aktywności lokomotorycznej, ale był zachowany rytm pobierania pokarmu. Szyszynka wydaje się mieć największe znaczenie w utrzymywaniu rytmu bezsenności podczas nocnej wędrówki u ptaków migrujących (87). U przepiórki japońskiej dominującym oscylatorem w CCS jest prawdopodobnie siatkówka, gdyż enukleacja powodowała zaburzenie rytmu termoregulacji i aktywności lokomotorycznej (90). Enukleacja znosiła rytm aktywności ruchowej także u gołębiowatych (27), natomiast nie znosiła u wróblowatych (88). Usunięcie vCSN nie likwidowało rytmu aktywności lokomotorycznej u gołębia (26), zaś usunięcie mSCN zaburzało rytmiczną aktywność ruchową u wróbla (25, 82) i przepiórki (80). SCN jest uważany za kluczowy oscylator zawiadujący dojrzewaniem płciowym oraz reprodukcją u ptaków, bowiem ani pinealektomia, ani enukleacja nie wpływała na sezonową rozrodczość u wróblowatych i przepiórki, zaś lezja regionów podwzgórza znosiła ten proces u przepiórki (29, 45).

Struktura i mechanizm działania CCS u ptaków są najbardziej złożone w porównaniu do pozostałych kręgowców i wykazują największe zróżnicowanie międzygatunkowe. Zależy to w dużej mierze od trybu życia ptaków (ptaki lądowe i wodne, migrujące i niemigrujące, dzienne i nocne itd.). Potwierdza to rosnąca ostatnio ilość badań morfologicznych szyszynki, wykazująca, że wśród ptaków występuje także największa różnorodność gatunkowa, a nawet osobnicza budowy histologicznej i ultrastruktury tego narządu, który posiada cechy budowy charakterystyczne zarówno dla ryb, jak i ssaków (74, 76-78). W celu osiągnięcia pełnego obrazu mechanizmów leżących u podłoża działania CCS u ptaków, kompleksowe badania nad nimi powinny być przeprowadzane na każdym, a nie na jednym wzorcowym gatunku, jakim do niedawna była kura domowa, uznawana niesłusznie za uniwersalny model do badań nad poszczególnymi elementami wewnętrznego zegara biologicznego u ptaków.

Wykaz skrótów użytych w publikacji

5'GMP – 5'guanosine monophosphate – 5'guanozynomonofosforan
 AANAT – aralkylamine N-acetyltransferase – N-acetylotransferaza aryloalkyloaminowa
 Bmal – brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein*
 cAMP – cyclic adenosine monophosphate – cykliczny adenozyonomonofosforan
 CCGs – clock controlled genes – geny kontrolowane przez zegar
 CCS – central clocking system – centralny zegar biologiczny
 CGDG – clock genes-dependent genes – geny zależne od zegara
 cGMP – cyclic guanosine monophosphate – cykliczny guanozynomonofosforan
 Clock – circadian locomotor output cycles kaput*
 CRE – cyclic nucleotide response element*
 Cry – cryptochrome – kryptochrom
 DAG – diacylglycerol – diacyloglicerol
 E4bp4 – E4-binding protein 4*
 ERG – electroretinogram – elektroretinogram
 GHT – geniculo-hypothalamic tract – szlak kolankowato-podwzgórzowy
 RGR – retinal G-protein-coupled receptor opsin*, RGR-opsin – RGR-opsyna
 RRH – the retinal pigmented epithelium-derived rhodopsin homologue*, peropsin – peropsyna
 IP₃ – inositol triphosphate – trójfosforowy inozytol
 Mop4 – molybdenum-pterin binding protein*
 mSCN – medial SCN – jądro nadskrzyżowaniowe pośredkowe
 NA – norepinephrine – noradrenalina
 NPas2 – neuronal PAS-domain protein*
 Opn1 – opsin 1, jodopsin – opsyna 1, jodopsyna
 Opn2 – opsin 2, rhodopsin – opsyna 2, rodopsyna
 Opn3 – opsin 3, panopsin, encephalopsin – opsyna 3, panopsyna, encephalopsyna
 Opn4 – opsin 4, melanopsin – melanopsyna
 Opn5 – opsin 5, neuropsin – opsyna 5, neuropsyna
 PCSs – peripheral clocking systems – obwodowe zegary biologiczne
 Per – period – okres
 PDE – phosphodiesterase – fosfodiesteraza
 PIP₂ – phosphatidylinositol biphosphate – fosfatydyloinozytol dwufosforowy
 PLC – phospholipase C – fosfolipaza C
 Rev-erba – reverse transcript of erythroblastosis gene alpha*
 LH – luteinizing hormone – hormon luteinizujący
 RHT – retino-hypothalamus tract – szlak siatkówkowo-podwzgórzowy
 Rora – the retinoid-related orphan receptor alpha*
 SCN – suprachiasmatic nucleus – jądro nadskrzyżowaniowe
 TMT – the teleost multiple tissue opsin*
 TRP – transient receptor potential*
 VA-opsyna – vertebrate ancient opsin*
 VAL-opsyna – vertebrate ancient long opsin*
 VAS-opsyna – vertebrate ancient short opsin*
 vSCN – visual SCN – jądro nadskrzyżowaniowe wzrokowe

* nie ma odpowiedniego terminu w języku polskim

Piśmiennictwo

- Arendt D.: Evolution of eyes and photoreceptor cell types. *Int. J. Dev. Biol.* 2003, 47, 563-571.
- Bailey M. J., Beremand P. D., Hammer R., Bell-Pedersen D., Thomas T. L., Cassone V. M.: Transcriptional profiling of the chick pineal gland, a photoreceptive circadian oscillator and pacemaker. *Mol. Endocrinol.* 2003, 17, 2084-2095.
- Bailey M. J., Beremand P. D., Hammer R., Reidel E., Thomas T. L., Cassone V. M.: Transcriptional profiling of circadian patterns of mRNA expression in the chick retina. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 52247-52254.
- Bailey M. J., Cassone V. M.: Melanopsin expression in the chick retina and pineal gland. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2005, 134, 345-348.
- Bailey M. J., Cassone V. M.: Opsin photoisomerases in the chicken retina and pineal gland: characterization, localization and circadian regulation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004, 45, 769-775.
- Beldhuis J. A., Dittami J. P., Gwinner E.: Melatonin and the circadian rhythms of feeding and perch-hopping in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *J. Comp. Physiol. A* 1988, 164, 7-14.
- Bellingham J., Chaurasia S. S., Melyan Z., Liu C., Cameron M. A., Tarttelin E. E., Iuvone P. M., Hankins M. W., Tosini G., Lucas R. J.: Evolution of melanopsin photoreceptors: Discovery and characterization of a new melanopsin in nonmammalian vertebrates. *PLoS Biol.* 2006, 4, e254.
- Bell-Pedersen D., Cassone V. M., Earnest D. J., Golden S. S., Hardin P. E., Thomas T. L., Zoran M. J.: Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. *Nat. Rev. Genet.* 2005, 6, 544-556.
- Bernard M., Iuvone P. M., Cassone V. M., Roseboom P. H., Coon S. L., Klein D. C.: Avian melatonin synthesis: photic and circadian regulation of serotonin N-acetyltransferase mRNA in the chicken pineal gland and retina. *J. Neurochem.* 1997, 68, 213-224.
- Brandstätter R., Abraham U., Albrecht U.: Initial demonstration of rhythmic Per gene expression in the hypothalamus of a nonmammalian vertebrate, the house sparrow. *Neuroreport* 2001, 12, 1167-1170.
- Cantwell E. L., Cassone V. M.: Chicken suprachiasmatic nuclei: I. Efferent and afferent connections. *J. Comp. Neurol.* 2006, 496, 97-120.
- Cantwell E. L., Cassone V. M.: Chicken suprachiasmatic nuclei: II. Autoradiographic and immunohistochemical analysis. *J. Comp. Neurol.* 2006, 499, 442-457.
- Cao J., Liu W., Wang Z., Xie D., Jia L., Chen Y.: Green and blue monochromatic lights promote growth and development of broilers via stimulating testosterone secretion and myofiber growth. *J. Appl. Poult. Res.* 2008, 17, 211-218.
- Cassone V. M.: Avian circadian organization: a chorus of clocks. *Front. Neuroendocrinol.* 2014, 35, 76-88.
- Chaurasia S. S., Pozdeyev N., Haque R., Visser A., Ivanova T. N., Iuvone P. M.: Circadian clockwork machinery in neural retina: evidence for the presence of functional clock components in photoreceptor-enriched chick retinal cell cultures. *Mol. Vis.* 2006, 12, 215-223.
- Chaurasia S. S., Provencio I., Jiang G., Hayes W. P., Natesan A., Zatz M., Rollag M. D., Iuvone P. M.: Differential circadian regulation of melanopsin mRNA expression in the avian retina and pineal gland. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004, 45, 46-48.
- Chaurasia S. S., Rollag M. D., Jiang G., Hayes W. P., Haque R., Natesan A., Zatz M., Tosini G., Liu C., Korf H. W., Iuvone P. M., Provencio I.: Molecular cloning, localization and circadian expression of chicken melanopsin (Opn4): differential regulation of expression in pineal and retinal cell types. *J. Neurochem.* 2005, 92, 158-170.
- Chong N. W., Bernard M., Klein D. C.: Characterization of the chicken serotonin N-acetyltransferase gene activation via clock gene heterodimer/E box interaction. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 32991-32998.
- Chong N. W., Chaurasia S. S., Haque R., Klein D. C., Iuvone P. M.: Temporal-spatial characterization of chicken clock genes: circadian expression in retina, pineal gland, and peripheral tissues. *J. Neurochem.* 2003, 85, 851-860.
- Contin M. A., Verra D. M., Salvador G., Illicheta M., Giusto N. M., Guido M. E.: Light activation of the phosphoinositide cycle in intrinsically photosensitive chicken retinal ganglion cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010, 51, 5491-5495.
- Cserny V., Faluhelyi N., Nagy A. D.: Features of the circadian clock in the avian pineal gland. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005, 1040, 281-287.
- Díaz N. M., Morera L. P., Guido M. E.: Melanopsin and the non-visual photochemistry in the inner retina of vertebrates. *Photochem. Photobiol.* 2016, 92, 29-44.
- Díaz N. M., Morera L. P., Tempesti T., Guido M. E.: The visual cycle in the inner retina of chicken and the involvement of retinal G-protein-coupled receptor (RGR). *Mol. Neurobiol.* 2016, Epub ahead of print.
- Dibner C., Schibler U., Albrecht U.: The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu. Rev. Physiol.* 2010, 72, 517-549.
- Ebihara S., Kawamura H.: The role of the pineal organ and the suprachiasmatic nucleus in the control of the circadian rhythms in the Java sparrow, *Padda oryzivora*. *J. Comp. Physiol.* 1981, 141, 207-214.
- Ebihara S., Oshima I., Yamada H., Goto M., Sato K.: Circadian organization in the pigeon, [w:] Hiroshige T., Honma K. (red.): Comparative aspects of circadian clocks. Sapporo: Hokkaido University Press 1987, s. 88-94.
- Ebihara S., Uchiyama K., Oshima I.: Circadian organization in the pigeon, *Columba livia*: The role of the pineal organ and the eye. *J. Comp. Physiol.* 1984, 154, 59-69.
- Fukada Y., Okano T.: Circadian clock system in the pineal gland. *Mol. Neurobiol.* 2002, 25, 19-30.
- García-Fernández J. M., Cernuda-Cernuda R., Davies W. I., Rodgers J., Turton M., Peirson S. N., Follett B. K., Halford S., Hughes S., Hankins M. W., Foster R. G.: The hypothalamic photoreceptors regulating seasonal reproduction in birds: a prime role for VA opsin. *Front. Neuroendocrinol.* 2015, 37, 13-28.

30. Glossop N. R., Hardin P. E.: Central and peripheral circadian oscillator mechanisms in flies and mammals. *J. Cell Sci.* 2002, 115, 3369-3377.
31. Guido M. E., Garbarino-Pico E., Contin M. A., Valdez D. J., Nieto P. S., Verra D. M., Acosta-Rodriguez V. A., Zavalia de N., Rosenstein R. E.: Inner retinal circadian clocks and nonvisual photoreceptors: Novel players in the circadian system. *Prog. Neurobiol.* 2010, 92, 484-504.
32. Gwinner E.: Effects of pinealectomy on circadian locomotor activity rhythms in European starlings (*Sturnus vulgaris*). *J. Comp. Physiol.* 1978, 126, 123-129.
33. Gwinner E., Hau M., Heigl S.: Melatonin: Generation and modulation of avian circadian rhythms. *Brain Res. Bull.* 1997, 44, 439-444.
34. Haque R., Chaurasia S. S., Wessel J. H., Iuvone P. M.: Dual regulation of cryptochrome 1 mRNA expression in chicken retina by light and circadian oscillators. *Neuroreport.* 2002, 13, 2247-2251.
35. Helfer G., Fidler A. E., Vallone D., Foulkes N. S., Brandstaetter R.: Molecular analysis of clock gene expression in the avian brain. *Chronobiol. Int.* 2006, 23, 113-127.
36. Herichová I., Monosiková J., Zeman M.: Ontogeny of melatonin, Per2 and E4bp4 light responsiveness in the chicken embryonic pineal gland. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2008, 149, 44-50.
37. Heyers D., Manns M., Luksch H., Güntürkün O., Mouritsen H.: A visual pathway links brain structures active during magnetic compass orientation in migratory birds. *PLoS One* 2007, 2, e937.
38. Holthues H., Engel L., Spessert R., Vollrath L.: Circadian gene expression patterns of melanopsin and pinopsin in the chick pineal gland. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005, 326, 160-165.
39. Hore P. J., Mouritsen H.: The radical-pair mechanism of magnetoreception. *Annu. Rev. Biophys.* 2016, 45, 299-344.
40. Isoldi M. C., Rollag M. D., de Lauro Castrucci A. M., Provencio I.: Rhodomic phototransduction initiated by the vertebrate photopigment melanopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 1217-1221.
41. Ivanova T. N., Iuvone P. M.: Melatonin synthesis in retina: circadian regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase activity in cultured photoreceptor cells of embryonic chicken retina. *Brain Res.* 2003, 973, 56-63.
42. Iwasaki H., Kondo T.: The current state and problems of circadian clock studies in cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.* 2000, 41, 1013-1020.
43. Jiang N., Wang Z., Cao J., Dong Y., Chen Y.: Role of monochromatic light on daily variation of clock gene expression in the pineal gland of chick. *J. Photochem. Photobiol. B* 2016, 164, 57-64.
44. Jin E., Jia L., Li J., Yang G., Wang Z., Cao J., Chen Y.: Effect of monochromatic light on melatonin secretion and arylalkylamine N-acetyltransferase mRNA expression in the retina and pineal gland of broilers. *Anat. Rec. (Hoboken)* 2011, 294, 1233-1241.
45. Kang S. W., Kuenzel W. J.: Deep-brain photoreceptors (DBPs) involved in the photoperiodic gonadal response in an avian species, *Gallus gallus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2015, 211, 106-113.
46. Karaganis S. P., Bartell P. A., Shende V. R., Moore A. F., Cassone V. M.: Modulation of metabolic and clock gene mRNA rhythms by pineal and retinal circadian oscillators. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2009, 161, 179-192.
47. Kasahara T., Okano T., Haga T., Fukada Y.: Opsin-G11-mediated signaling pathway for photic entrainment of the chicken pineal circadian clock. *J. Neurosci.* 2002, 22, 7321-7325.
48. Kasahara T., Okano T., Yoshikawa T., Yamazaki K., Fukada Y.: Rod-type transducin alpha-subunit mediates a phototransduction pathway in the chicken pineal gland. *J. Neurochem.* 2000, 75, 217-224.
49. Kato M., Sugiyama T., Sakai K., Yamashita T., Fujita H., Sato K., Tomonari S., Shichida Y., Ohuchi H.: Two Opsin 3-Related Proteins in the Chicken Retina and Brain: A TMT-Type Opsin 3 Is a Blue-Light Sensor in Retinal Horizontal Cells, Hypothalamus, and Cerebellum. *PLoS One* 2016, 11, e0163925.
50. King D. P., Takahashi J. S.: Molecular genetics of circadian rhythms in mammals. *Annu. Rev. Neurosci.* 2000, 23, 713-742.
51. Kommedal S., Bódis G., Matkovič A., Csérnus V., Nagy A. D.: Expression pattern of clock under acute phase-delay of the light/dark cycle in the chicken pineal model. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2011, 172, 170-172.
52. Koyanagi M., Kubokawa K., Tsukamoto H., Shichida Y., Terakita A.: Cephalochordate melanopsin: Evolutionary linkage between invertebrate visual cells and vertebrate photosensitive retinal ganglion cells. *Curr. Biol.* 2005, 15, 1065-1069.
53. Koyanagi M., Takada E., Nagata T., Tsukamoto H., Terakita A.: Homologs of vertebrate Opn3 potentially serve as a light sensor in nonphotoreceptive tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013, 110, 4998-5003.
54. Kubo Y., Akiyama M., Fukada Y., Okano T.: Molecular cloning, mRNA expression, and immunocytochemical localization of a putative blue-light photoreceptor CRY4 in the chicken pineal gland. *J. Neurochem.* 2006, 97, 1155-1165.
55. Kumar V.: Avian photoreceptors and their role in the regulation of daily and seasonal physiology. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2015, 220, 13-22.
56. Kumar V., Wingfield J. C., Dawson A., Ramenofsky M., Rani S., Bartell P.: Biological clocks and regulation of seasonal reproduction and migration in birds. *Physiol. Biochem. Zool.* 2010, 83, 827-835.
57. Lewczuk B.: Siatkówka, jądro skrzyżowania oraz szyszynka jako elementy zegara biologicznego ssaków. *Med. Weter.* 2007, 63, 506-511.
58. Li J., Cao J., Wang Z., Dong Y., Chen Y.: Melatonin plays a critical role in inducing B lymphocyte proliferation of the bursa of Fabricius in broilers via monochromatic lights. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2015, 142, 29-34.
59. Liu W., Wang Z., Chen Y.: Effects of monochromatic light on developmental changes in satellite cell population of pectoral muscle in broilers during early posthatch period. *Anat. Rec.* 2010, 293, 1315-1324.
60. MacBride S. E.: Pineal Biochemical Rhythms of the Chicken (*Gallus domesticus*): Light Cycles and Locomotor Activity Correlates, [w:] Ph. D. Thesis University of Pittsburgh. Pittsburgh, PA 1973.
61. Matsushita A., Yoshikawa T., Okano T., Kasahara T., Fukada Y.: Colocalization of pinopsin with two types of G-protein alpha-subunits in the chicken pineal gland. *Cell Tissue Res.* 2000, 299, 245-251.
62. Morera L. P., Díaz N. M., Guido M. E.: Horizontal cells expressing melanopsin x are novel photoreceptors in the avian inner retina. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2016, 113, 13215-13220.
63. Mouritsen H., Janssen-Bienhold U., Liedvogel M., Feenders G., Stalleicken J., Dirks P., Weiler R.: Cryptochromes and neuronal-activity markers colocalize in the retina of migratory birds during magnetic orientation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 101, 14294-14299.
64. Möller A., Sagasser S., Wiltshko W., Schierwater B.: Retinal cryptochrome in a migratory passerine bird: a possible transducer of the avian magnetic compass. *Naturwissenschaften* 2004, 91, 585-588.
65. Nakane Y., Ikegami K., Ono H., Yamamoto N., Yoshida S., Hirunagi K., Ebihara S., Kubo Y., Yoshimura T.: A mammalian neural tissue opsin (Opsin 5) is a deep brain photoreceptor in birds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 15264-15268.
66. Natesan A., Geetha L., Zatz M.: Rhythm and soul in the avian pineal. *Cell Tissue Res.* 2002, 309, 35-45.
67. Okano T., Kojima D., Fukada Y., Shichida Y., Yoshizawa T.: Primary structures of chicken cone visual pigments: Vertebrate rhodopsins have evolved out of cone visual pigments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, 89, 5932-5936.
68. Okano T., Takanaka Y., Nakamura A., Hirunagi K., Adachi A., Ebihara S., Fukada Y.: Immunocytochemical identification of pinopsin in the pineal glands of chicken and pigeon. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1997, 50, 190-196.
69. Okano T., Yamamoto K., Okano K., Hirota T., Kasahara T., Sasaki M., Takanaka Y., Fukada Y.: Chicken pineal clock genes: implication of BMAL2 as a bidirectional regulator in circadian clock oscillation. *Genes Cells* 2001, 6, 825-836.
70. Okano T., Yamazaki K., Kasahara T., Fukada Y.: Molecular cloning of heterotrimeric G-protein α -subunits in chicken pineal gland. *J. Mol. Evol.* 1997, 44, 91-97.
71. Okano T., Yoshizawa T., Fukada Y.: Pinopsin is a chicken pineal photoreceptive molecule. *Nature* 1994, 372, 94-97.
72. Peirson S. N., Halford S., Foster R. G.: The evolution of irradiance detection: Melanopsin and the non-visual opsins. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2009, 364, 2849-2865.
73. Piesiewicz A., Kędzierska U., Turkowska E., Adamska I., Majewski P. M.: Seasonal postembryonic maturation of the diurnal rhythm of serotonin in the chicken pineal gland. *Chronobiol. Int.* 2015, 32, 59-70.
74. Prusik M., Lewczuk B.: Budowa szyszynki ptaków. *Med. Weter.* 2008, 64, 764-769.
75. Prusik M., Lewczuk B.: Regulacja sekrecji melatoniny w szyszynce ptaków. *Med. Weter.* 2008, 64, 639-645.
76. Prusik M., Lewczuk B., Nowicki M., Przybylska-Gornowicz B.: Histology and ultrastructure of the pineal gland of the domestic goose. *Histol. Histopathol.* 2006, 21, 1075-1090.
77. Przybylska-Gornowicz B., Lewczuk B., Prusik M., Kalicki M., Ziółkowska N.: Morphological studies of the pineal gland in the common gull (*Larus canus*) reveal uncommon features of pinealocytes. *Anat. Rec. (Hoboken)* 2012, 295, 673-685.
78. Przybylska-Gornowicz B., Lewczuk B., Prusik M., Nowicki M.: Post-hatching development of the turkey pineal organ: histological and immunohistochemical studies. *Neuroendocrinol. Lett.* 2005, 26, 383-392.

79. Qiu X., Kumbalasiri T., Carlson S. M., Wong K. Y., Krishna V., Provencio I., Berson D. M.: Induction of photosensitivity by heterologous expression of melanopsin. *Nature* 2005, 433, 745-749.
80. Simpson S. M., Follett B. K.: Pineal and hypothalamic pacemakers: their role in regulating circadian rhythmicity in Japanese quail. *J. Comp. Physiol.* 1981, 141, 381-389.
81. Stevens R. G., Zhu Y.: Electric light, particularly at night, disrupts human circadian rhythmicity: is that a problem? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2015, 370, 1667.
82. Takahashi J. S., Menaker M.: Role of suprachiasmatic nuclei in the circadian system of the house sparrow, *Passer domesticus*. *J. Neurosci.* 1982, 2, 815-828.
83. Takanaka Y., Okano T., Iigo M., Fukada Y.: Light-dependent expression of pinopsin gene in chicken pineal gland. *J. Neurochem.* 1998, 70, 908-913.
84. Tomonari S., Takagi A., Akamatsu S., Noji S., Ohuchi H.: A non-canonical photopigment, melanopsin, is expressed in the differentiating ganglion, horizontal, and bipolar cells of the chicken retina. *Dev. Dyn.* 2005, 234, 783-790.
85. Tomonari S., Takagi A., Noji S., Ohuchi H.: Expression pattern of the melanopsin-like (cOpn4m) and VA opsin-like genes in the developing chicken retina and neural tissues. *Gene Expr. Patterns* 2007, 7, 746-753.
86. Torii M., Kojima D., Nishimura A., Itoh H., Fukada Y.: Light-dependent activation of G proteins by two isoforms of chicken melanopsins. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2015, 14, 1991-1997.
87. Trivedi A. K., Malik S., Rani S., Kumar V.: Pinealectomy abolishes circadian behavior and interferes with circadian clock gene oscillations in brain and liver but not retina in a migratory songbird. *Physiol. Behav.* 2016, 156, 156-163.
88. Turek F. W., McMillan J. P., Menaker M.: Melatonin: effects on the circadian locomotor rhythm of sparrows. *Science* 1976, 194, 1441-1443.
89. Turkowska E., Majewski P. M., Rai S., Skwarło-Sońta K.: Pineal oscillator functioning in the chicken – effect of photoperiod and melatonin. *Chronobiol. Int.* 2014, 31, 134-143.
90. Underwood H., Steele C. T., Zivkovic B.: Circadian organization and the role of the pineal in birds. *Microsc. Res. Tech.* 2001, 53, 48-62.
91. Valdez D. J., Nieto P. S., Garbarino-Pico E., Avalle L. B., Díaz-Fajreldines H., Schurrer C., Cheng K. M., Guido M. E.: A nonmammalian vertebrate model of blindness reveals functional photoreceptors in the inner retina. *FASEB J.* 2009, 23, 1186-1195.
92. Verra D. M., Contin M. A., Hicks D., Guido M. E.: Early onset and differential temporospatial expression of melanopsin isoforms in the developing chicken retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011, 52, 5111-5120.
93. Yamamoto K., Okano T., Fukada Y.: Chicken pineal Cry genes: light-dependent up-regulation of cCry1 and cCry2 transcripts. *Neurosci. Lett.* 2001, 13, 13-16.
94. Yamashita T., Ohuchi H., Tomonari S., Ikeda K., Sakai K., Shichida Y.: Opn5 is a UV-sensitive bistable pigment that couples with Gi subtype of G protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 22084-22089.
95. Yamazaki S., Numano R., Abe M., Hida A., Takahashi R., Ueda M., Block G. D., Sakaki Y., Menaker M., Tei H.: Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 2000, 288, 682-685.
96. Yasuo S., Watanabe M., Okabayashi N., Ebihara S., Yoshimura T.: Circadian clock genes and photoperiodism: Comprehensive analysis of clock gene expression in the mediobasal hypothalamus, the suprachiasmatic nucleus, and the pineal gland of Japanese Quail under various light schedules. *Endocrinology* 2003, 144, 3742-3748.
97. Yin L., Wu N., Lazar M. A.: Nuclear receptor rev-erb α : a heme receptor that coordinates circadian rhythm and metabolism. *Nucl. Recept. Signal.* 2010, 8, e001.
98. Yoshimura T., Suzuki Y., Makino E., Suzuki T., Kuroiwa A., Matsuda Y., Namikawa T., Ebihara S.: Molecular analysis of avian circadian clock genes. *Mol. Brain Res.* 2000, 78, 207-215.
99. Yoshimura T., Yasuo S., Suzuki Y., Makino E., Yokota Y., Ebihara S.: Identification of the suprachiasmatic nucleus in birds. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001, 280, 1185-1189.
100. Young M. W.: Life's 24-hour clock: molecular control of circadian rhythms in animal cells. *Trends Biochem. Sci.* 2000, 25, 601-606.
101. Zatz M., Mullen D. A.: Norepinephrine, acting via adenylate cyclase, inhibits melatonin output but does not phase-shift the pacemaker in cultured chick pineal cells. *Brain Res.* 1988, 450, 137-143.
102. Zawilska J. B., Lorenc A., Berezinska M., Vivien-Roels B., Pévet P., Skene D. J.: Diurnal and circadian rhythms in melatonin synthesis in the turkey pineal gland and retina. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2006, 145, 162-168.

Adres autora: dr Magdalena Prusik, ul. Oczapowskiego 13, 10-713 Olsztyn;
e-mail: mprusik@gmail.com