

Narządy limfoidalne ryb

Wojewódzkie Laboratorium Weterynaryjne, ul. Olbrychta 1, 65-356 Zielona Góra,
*Katedra Mikrobiologii Wydziału Biologii i Nauk o Morzu Uniwersytetu Szczecińskiego,
ul. Felczaka 3a, 71-417 Szczecin

Badania mechanizmów odporności swoistej u ryb kostnoszkieletowych (2, 8, 40) wykazały występowanie u nich dwóch populacji komórek odpowiedzialnych za ten rodzaj odporności, to jest limfocytów T i B. Komórki te, tworzące system swoistej odporności komórkowej i humoralnej wraz z elementami warunkującymi nieswoistą odporność komórkową (komórki MN i PMN), występują i rozwijają się w narządach limfoidalnych (10, 20). Tkankę limfoidalną u ryb stanowią grasica, nerki i śledziona, które w rozwoju ontogenetycznym pojawiły się w analogicznej kolejności oraz tzw. zbiory limfoidalne (GALT — gut associated lymphoid tissue) występujące w ścianie jelit (6, 14, 44, 46).

Grasica

Gruczoł ten jest parzystym i zwartym, dobrze ukrwionym narządem endokrylnym, umiejscowionym na grzbietowo-bocznej ścianie gardła (43). Mięsz jego tworzy tkankę limfoidalną, w której wyróżnia się trzy warstwy komórkowe: wewnętrzną (rdzeniową), zewnętrzną (korową) i nabłonkową (epitelialną). Między gruczołem a muskulaturą głowy ryb znajduje się tzw. tkanka podgrasica o właściwościach tkanki łącznej (5, 13). Istnienie wyraźnej granicy między warstwą korową i rdzeniową tego narządu pozostaje jednak kwestią sporną (5, 17, 31, 43, 46). Główne skupisko tymocytów znajduje się w warstwie zewnętrznej (korowej), widoczne w preparatach histologicznych jako nieco ciemniej zabarwione. Warstwę wewnętrzną (rdzeniową) tworzą duże limfocyty (10—11 um) i limfoblasty (12—15 um) (5). Komórki limfoidalne występują również w warstwie epitelialnej (5, 31, 36, 43). W budowie ultrastrukturalnej tego narządu wykazano poza tym obecność włókienek kurczliwych, podobnych do odpowiednich komórek u ssaków (5, 43) oraz komórek tucznych (mast cell) (5). Stwierdzono również (cyt. 5) siateczkowe komórki epiteliale wytwarzające czynniki indukujące różnicowanie tymocytów. Brak natomiast u ryb w grasicy ciałek Hassala (5, 43).

Ścisły związek tkanki limfoidalnej grasicy z nabłonkiem gardzielowym zrodził wątpliwości (cyt. 46) co do występowania u ryb bariery „grasica-krew”, istotnej w okresie powstawania tolerancji immunologicznej i reakcjach immunologicznych. Inne badania (1, 5, 36, 43) wykazały, że tkanka limfoidalna grasicy, zarówno u zarodków, jak i u ryb starszych, jest ściśle izolowana — podobnie jak u ludzi — barierą złożoną z pięciu warstw.

Przyjmuje się, że grasica u ryb, podobnie jak u ssaków, jest centralnym narządem limfatycznym (10, 12). W rozwoju ontogenetycznym pojawia się jako pierwsza, choć u różnych gatunków ryb, stwierdza się ją w różnym okresie. U pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri*) ujawniono ją na 5 dni przed wykluciem się z ikry (przy temperaturze 14°C) (17), zaś u karpia (*Cyprinus carpio*) w drugim dniu po wykluciu (w temperaturze 22°C) (cyt. 46). Proces zanikania tego narządu następuje po kilkunastu miesiącach życia np: u sumika (*Ictalurus*

punctatus) w wieku około 15—17 miesięcy (13). Wykazano także, że w grasicy 1 tygodniowego karpia są obecne małe limfocyty, zaś u 2-tygodniowego (38) pojawiają się na limfocytach immunoglobuliny powierzchniowe (mIg). U łososia (*Salmo salar*), receptory te pojawiają się znacznie później, bo dopiero w 45 dniu życia (9). Stwierdzono również, że u 14-miesięcznego sumika wśród komórek limfoidalnych aż 95% stanowią limfocyty T, które reagują z przeciwciałami monoklonalnymi (mAb 13C10) dla komórek T-pomocniczych krwi obwodowej (13). Wśród komórek grasicy występują także, identyfikowane za pomocą przeciwciał monoklonalnych, limfocyty B (9) i trombocyty stanowiące wśród komórek T 3% i komórek B około 1% (13).

Nerki

Tkanka limfoidalna w tym narządzie występuje zarówno w części głowowej (*pronephros*) (19) jak i tułowiowej (*mesonephros*) (19, 41, 44) z tym, że jej funkcje limfopoetyczne w większym stopniu dotyczą nerki głowowej, która pozbawiona jest — w odróżnieniu od nerki tułowiowej — funkcji wydalniczej.

Nerka głowowa (*pronephros*) występuje jako pokład tkanki rozciągniętej pod kręgosłupem, otoczonej torebką łącznotkankową (19) i przymocowanej do ściany jamy ciała między innymi przez *mesothelium* (46). *Pronephros* jest analogiem szpiku kostnego kręgowców wyższych (10, 41) i funkcjonuje jako pierwotna tkanka hemopoetyczna oraz jako narząd limfoidalny (22). Znajdują się tu wszystkie linie hemopoetyczne (22) wraz z komórkami hemopoetycznymi pnia, (41, 44), a także te z właściwościami limfo- i plazmocytopenozy (41, 44). Komórki pnia (*stem*) obecne są w nerce głowowej ryb przed pojawieniem się limfocytów w grasicy, już w okresie życia zarodkowego ryb (9, 17). *Pronephros* przypisuje się także rolę węzłów chłonnych (6, 26). Mięsz tego narządu tworzą między innymi komórki siateczkowe, spośród których część wykazuje zdolności fagocytarne oraz komórki chromochłonne i tzw. komórki międzynerkowe, odpowiadające kolejno komórkom rdzenia i kory nadnerczy (46). Komórki limfoidalne, tworzące tzw. miazgę białą *pronephros*, są zazwyczaj zgrupowane wzdłuż naczyń krwionośnych w postaci grona (41) lub w postaci grubych „powrozów” komórkowych, umiejscowionych między zatokami krwionośnymi (19). Podobnie jak w śledzionie, w nerce głowowej wykryto również komórki wychwytyjące antygeny i produkujące przeciwciała (39, 46, cyt. 27). W tej części nerki, podobnie jak w grasicy, stwierdzono pozytywną odpowiedź na przeszczep allograftu. Reakcja ta występuje jednak nie wcześniej niż w 14—16 dniu rozwoju ontogenetycznego ryb (35, cyt. 28).

Śledziona

Narząd ten otoczony jest bardzo cienką powłoką tkanki łącznej i prawie w całości tworzy go miazga czerwonawo (17, 19, 29, 46). Wyróżnia się w niej siateczkowe komórki gąbczaste, tkankę hemopoetyczną i wiele zatok

krwionośnych, a u karpia, w postaci rozproszonej, także tkankę trzustki. Miazga biała śledziony jest słabo rozwinięta (19, 21, 46) i zbudowana jest przede wszystkim z komórek limfoidalnych (19, 31, 45, cyt. 46). Skupiska tych komórek są lepiej widoczne po immunizacji, kiedy otaczają zatoki krwionośne, choć czasami występują wspólnie z komórkami centrów melano-makrofagowych (MMC — melano-macrophage centres) zawierającymi barwnik (19, 31, 45).

Funkcje tkanki limfoidalnej śledziony pozostają ciągle kontrowersyjne. Według Grace i Manning (17) oraz Ellisa (9) śledziona jako źródło limfocytów u dojrzałych immunologicznie ryb jest drugorzędym narządem limfoidalnym, zwłaszcza od momentu, kiedy na powierzchni limfocytów w grasicy i nerkach pojawiają się immunoglobuliny powierzchniowe, które biorą udział w reakcji mieszanych limfocytów (MLR — mixed lymphocyte reaction). Badania nad tkanką limfoidalną śledziony (3, 4, 12, 14) wykazały, że wśród limfocytów tego narządu występują zarówno komórki typu T, jak i B. Obecność komórek produkujących przeciwciała wykazano (cyt. 45) w śledzionie pstrąga tęczowego, płoci (*Rutilus rutilus*), karpia i innych gatunków ryb (8). Stwierdzono, że zarówno w śledzionie, jak i w nerce u gładzicy (*Pleuronectes platessa*) (11, cyt. 30), karpia (29, 30), pstrąga tęczowego, płoci i innych gatunków ryb, są komórki pyroninofilne (cyt. 46), cechujące się możliwością wychwytywania antygenów i kompleksów immunologicznych. Komórki te najprawdopodobniej u ryb (30) funkcjonują jako centra rozrodcze, a nadto uważa się, że w pierwotnej odpowiedzi immunologicznej są źródłem przeciwciał. Secombes i wsp. (30) wykazali u karpia, że obszary będące pozostałością po komórkach pyroninofilnych są aktywnymi komórkami dendrytycznymi, które w późniejszym czasie rozwijają się w centra melano-makrofagowe (MMC). Z badań tego zespołu (30) wynika również, że w czasie wtórnej odpowiedzi immunologicznej śledziona wykazuje większy stopień zaangażowania niż *pronephros*. Natomiast badania Tatner i Manning (35) nie wykazały w śledzionie pstrąga tęczowego pozytywnej odpowiedzi immunologicznej na przeszczep allograftu, co potwierdzałoby brak dojrzałej morfologicznie populacji komórek limfoidalnych w tym narządzie. Inni autorzy (12) sugerują, że występujące w nerce i śledzionie limfocyty T i B mogą być — podobnie jak u płazów — pochodzenia grasiczego.

Zbiory limfoidalne jelit (GALT)

Komórki tworzące te zbiory umiejscowione są w nabłonku oraz w blaszce właściwej jelit (6, 14, 24, 25, 37, 42, 44). Ich główne skupiska występują w środkowym odcinku jelit (23, 24, 25). Rombout i van den Berg (23) sugerują podobieństwo tego odcinka jelit z grudkami Peyera, głównie za sprawą znacznie mniejszej liczby w tej części niż w początkowym odcinku jelita komórek, które uważane są za analogi komórek tucznych. Badania innych autorów (16, 18, 25) wykazały w śluzówce jelit obecność limfocytów B i dojrzałych komórek plazmatycznych oraz bardzo licznej populacji limfocytów T. Komórki plazmatyczne występują tutaj jako formy młode i dojrzałe, różniące się powierzchniowymi receptorami. Wykazano nadto (18, 25) występowanie w GALT centrów melano-makrofagowych, które mają zdolność długotrwałego przechowywania antygeny, prawdopodobnie m.in. w postaci kompleksów immunologicznych. Obecność limfocytów T i B, komórek plazmatycznych

oraz makrofagów i melanomakrofagów w śluzówce jelit ryb potwierdza, podobnie jak u ssaków, występowanie u tych zwierząt lokalno-śluzówkowego systemu immunologicznego (7, 15, 24, 25, 42), chociaż wiele wcześniejszych badań (cyt. 46) wskazuje na filogenetyczny związek GALT z bursą Fabrycjusza.

Podsumowanie

Zasadnicza część prowadzonych dotychczas badań z zakresu immunologii ryb poświęcona była morfologii i czynności komórek układu odpornościowego (cyt. 32, 33, 34). Mimo takiego stanu stosunkowo mało uwagi poświęcono budowie i funkcjom czynnościowym pierwszo- i drugorzędowych narządów limfoidalnych. Te badania powinny być obecnie prowadzone w równym stopniu, jak prace nad innymi zagadnieniami z zakresu immunologii ryb. Najbardziej wnikliwych badań wymagają, jak się wydaje, *pronephros* i śledziona, które poza tym, że są źródłem komórek limfoidalnych, spełniają inne podstawowe i niezbędne dla organizmu ryb funkcje biologiczne, których poznanie może spowodować nowe i inne spojrzenie na układ immunologiczny ryb, a nawet innych zwierząt zmienneocieplnych.

Piśmiennictwo

1. Bigaj J., Płytycz B.: Immunologia Pol. 12, 79, 1987.
2. Blazer V. S., Bennet R. O., Wolke R. E.: Dev. Comp. Immunol. 8, 81, 1984.
3. Chiller J. M., Hodgins H. O., Hambers V. C., Weiser R. S.: J. Immun. 102, 1193, 1969.
4. Chłimończyk S.: Dev. Comp. Immunol. 6, 271, 1982.
5. Chłimończyk S.: Dev. Comp. Immunol. 7, 59, 1983.
6. Corbel M. J.: J. Fish Biol. 7, 539, 1975.
7. Davina J. H. M., Parmentier H. K., Timmermans L. P. M.: Dev. Comp. Immunol. 2, 157, 1982.
8. Egberts E., Secombes Ch. J., Wellink J. E., van Groningen J. J., van Muiswinkel W. B.: Dev. Comp. Immunol. 7, 749, 1983.
9. Ellis A. E.: Developmental Immunobiology, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam 1977.
10. Ellis A. E.: J. Fish Biol. 11, 453, 1977.
11. Ellis A. E.: J. Fish Dis. 3, 413, 1980.
12. Ellis A. E., Parkhouse R. M. E.: Eur. J. Immunol. 5, 726, 1975.
13. Ellsaesser C. F., Bly J. E., Clem L. W.: Dev. Comp. Immunol. 12, 787, 1988.
14. Etlinger H. M., Hodgins H. O., Chiller J. M.: J. Immun. 16, 1547, 1976.
15. Fletcher T. C., White A.: Aquaculture 1, 417, 1973.
16. Georgopoulou U., Vernier J. M.: Dev. Comp. Immunol. 10, 529, 1986.
17. Grance M. F., Manning M. J.: Dev. Comp. Immunol. 4, 255, 1980.
18. Lamers C. H. J.: J. exp. Zool. 238, 71, 1986.
19. Lamers C. H. J., Haas M. J. H.: Cell Tissue Res. 242, 491, 1985.
20. Manning M. J., Tatner M. F.: Fish Immunology, Academic Press London 1985.
21. Pitchappan R. M.: Dev. Comp. Immunol. 4, 395, 1980.
22. Płytycz B., Flory C. M., Galvan J., Bayne Ch. J.: Dev. Comp. Immunol. 13, 217, 1989.
23. Rombout J. H. W. M., van den Berg A. A.: J. Fish Biol. 35, 13, 1989.
24. Rombout J. H. W. M., van den Berg A. A., van den Berg C. T. G. A., Witte P., Egberts E.: J. Fish Biol. 35, 179, 1989.
25. Rombout J. H. W. M., Bot H. E., Taverne-Thiele J. J.: J. Fish Biol. 35, 167, 1989.
26. Ross G. D., Jensen J. A.: J. Immunol. 110, 911, 1973.
27. Ruben L. N., Warr G. W., Decker J. M., Marchalonis J. J.: Cell Immunol. 31, 266, 1977.
28. Secombes C. J., van Groningen J. J. M., van Muiswinkel W. B., Egberts E.: Dev. Comp. Immunol. 7, 455, 1983.
29. Secombes C. J., Manning M. J.: J. Fish Dis. 3, 399, 1981.
30. Secombes C. J., Manning M. J., Ellis A. E.: J. exp. Zool. 229, 277, 1982.
31. Saillendri K., Muthukkaruppan V. R.: J. Morph. 147, 109, 1975.
32. Stosik M., Deptuła W.: Post. Mikrobiol. 39, 21, 1991.
33. Stosik M., Deptuła W.: Post. Mikrobiol. 39, 259, 1991.
34. Stosik M., Deptuła W.: Trombocyty ryb. Medycyna Wet. 1992, (oddane do druku).
35. Tatner M. F., Manning M. J.: Dev. Comp. Immunol. 7, 69, 1983.
36. Tatner M. F., Manning M. J.: J. Fish Biol. 21, 27, 1982.
37. Temkin R. J., McMillan D. B.: J. Morph. 190, 9, 1986.
38. van Loon J. J. A., van Oosterom R., van Muiswinkel W. B.: Development of the Immune System in Carp (*Cyprinus carpio* L.). Aspects of Dev. Comp. Immunol., t. I (opr. Solomon) Pergamon Press, Oxford, 1981, s. 469-470.
39. Warr G., Marchalonis J. J.: Dev. Comp. Immunol. 1, 15, 1977.
40. Yocum D., Cuchens M., Clem L. W.: J. Immun. 114, 925, 1975.
41. Zapata A.: Dev. Comp. Immunol. 3, 55, 1979.
42. Zapata A.: Morph. Normal Path. Sec. A. 3, 23, 1979.
43. Zapata A.: Dev. Comp. Immunol. 5, 427, 1981.
44. Zapata A.: Dev. Comp. Immunol. 5, 685, 1981.
45. Zapata A.: Dev. Comp. Immunol. 6, 87, 1982.
46. Zapata A.: Bull. Inst. Pasteur 81, 165, 1983.