

Immunoglobuliny drobiu wodnego

Zakład Anatomii Patologicznej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

W piśmiennictwie jest wiele informacji na temat struktury i funkcji układu immunologicznego u kur. Natomiast mało poznane są procesy odpornościowe zachodzące u drobiu wodnego.

U ptaków, podobnie jak u ssaków, odpowiedzialny za reakcje obronne organizmu układ limfatyczny składa się z elementów centralnych i obwodowych. Do centralnego układu limfatycznego należy torba Fabrycjusza i grasica. Funkcję i strukturę torby Fabrycjusza, narządu występującego tylko u ptaków, po raz pierwszy opisał w 1956 r. Glick i wsp. (4). Znajduje się ona w dogrzbietowej ścianie *proctodeum* (trzeci odcinek steku) jako zachyłek o pofałdowanych ścianach (14) i spełnia podobną rolę jak szpik kostny u ssaków, w niej namnażają się i dojrzewają limfocyty B. Natomiast grasica, składająca się u kaczek z 6-8 płatów (1), jest miejscem dojrzewania prekursorów limfocytów T.

W skład obwodowego układu limfatycznego wchodzi: śledziona, grudki chłonne zlokalizowane w błonach śluzowych przewodu pokarmowego, układu oddechowego i moczopłciowego oraz występujące jedynie u drobiu wodnego węzły chłonne, zlokalizowane na szyi na wysokości krtani i kręgów lędźwiowych (1, 20).

Ptaki są najstarszym ewolucyjnie gatunkiem kręgowców, u których zidentyfikowano obecność wydzielniczej klasy immunoglobulin. Łańcuchy ciężkie tej immunoglobuliny wykazują podobieństwo do ciężkich łańcuchów α w cząsteczce IgA ssaków (5, 24).

Pierwsze badania koncentrowały się na powstawaniu i rodzajach przeciwciał biorących udział w procesach odpornościowych u drobiu wodnego (9, 15). W toku badań stwierdzono występowanie u kaczek trzech klas immunoglobulin: IgM i dwóch antygenowo pokrewnych form IgG (23). Dotychczas nie stwierdzono obecności innych klas immunoglobulin takich jak np. IgE.

Przeciwciała IgM

Ta klasa immunoglobulin nie została szczegółowo scharakteryzowana. Sugerowane jest podobieństwo IgM kaczek do IgM innych kręgowców. Cząsteczka IgM kaczki jest polimerem o masie cząsteczkowej od 800 do 900 kDa. Masa cząsteczkowa łańcuchów ciężkich wynosi 86 kDa, zaś łańcuchów lekkich

23-25 kDa (19). Masa cząsteczkowa kompletnej cząsteczki IgM wskazuje, że jest ona raczej tetramerem $(m_2L_2)_4$ niż pentamerem, jak to ma miejsce u innych gatunków zwierząt. Kaczki, podobnie jak inne ptaki, po wprowadzeniu antygeny wytwarzają w pierwszej kolejności przeciwciała typu IgM. Wykrywane są one już po 72 h, a w ciągu 4-8 dni osiągają najwyższy poziom. Następnie koncentracja ich szybko maleje i zastępowane są przez przeciwciała klas IgG (2).

W czasie klucia u kacząt koncentracja IgM w surowicy jest bardzo niska, w kolejnych dniach życia stopniowo wzrasta, a po 40 dniach osiąga poziom jak u ptaków dorosłych około 2,0 mg/ml (19).

W żółci kaczek stwierdzono obecność sekrecyjnej immunoglobuliny, której struktura i budowa chemiczna oraz antygenowa wykazuje analogie z IgM surowicy (7, 8, 19). Masę cząsteczkową tej żółciowej immunoglobuliny określono na 890 kDa, łańcuchów ciężkich 76 kDa, natomiast łańcuchów lekkich 22-25 kDa. Jej ruchliwość elektroforetyczna jest zbliżona do IgM surowicy. Stwierdzono, że ta immunoglobulina posiada dodatkowo determinanty antygenowe, które są nieobecne w cząstkach IgM. Indukują one bowiem w surowicach immunizowanych królików przeciwciała różniące się od przeciwciał powstających po immunizacji IgM surowicy (12, 19). Dodatkowe determinanty nie są wykrywane w immunoglobulinie żółci młodych kacząt. Pojawiają się one około 25 dnia życia, następnie poziom ich znacznie wzrasta by w 55-60 dniu życia osiągnąć koncentrację około 10 mg/ml (19). O odrębności Ig żółci i IgM surowicy może świadczyć również fakt, że po zakażeniu kaczek wirusem grypy A najpierw wzrastała koncentracja immunoglobuliny żółciowej, a dopiero potem stężenie IgM w surowicy (11). Jednak dotychczas nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi, czy Ig żółci i IgM surowicy u kaczek stanowią niezależne izotypy lub subclassy przeciwciał (12, 18). Antygenowe i biochemiczne pokrewieństwa pomiędzy kaczym IgM i Ig żółci nie wykluczają faktu, że Ig żółci powstaje oddzielnie jako wydzielnicza klasa Ig.

Przeciwciała typu IgG

Kaczki posiadają dwie cząsteczkowe formy IgG w surowicy. Forma większa, o współczynniku sedymentacji 7.8S posiada masę cząsteczkową 187-

-200 kDa. Łańcuchy ciężkie tej cząsteczki mają masę cząsteczkową od 62 do 67 kDa, natomiast łańcuchy lekkie 22-25 kDa (19, 25). Zawartość węglowodanów wynosi 5,0%, a okres półtrwania około 6 dni (6). Jest uważana za homologiczną dla IgG (IgY) kurcząt. Metodami serologicznymi można potwierdzić częściowe pokrewieństwo tych gammaglobulin (7, 8, 25). Mniejsza cząsteczka IgG o współczynniku sedymentacji 5.7S posiada masę cząsteczkową 118 kDa. Łańcuchy ciężkie mają masę cząsteczkową od 35 do 42 kDa, a łańcuchy lekkie od 22 do 25 kDa (19, 25). Ogólna zawartość węglowodanów wynosi 0,6%, a okres półtrwania 60 do 80 godzin (25).

Skład aminokwasowy cząsteczek 7.8S i 5.7S IgG jest zbliżony. Ciężkie łańcuchy tych gammaglobulin różnią się od analogicznych łańcuchów w przeciwciałach ssaków. Mają one mniejszą zawartość lizyny oraz większą zawartość glicyny i alaniny (25). Zakończenie ciężkiego łańcucha 5.7S IgG stanowi fenyloalanina. Natomiast końcowego aminokwasu w ciężkim łańcuchu cząsteczki 7.8S nie zdołano określić (25). W cząsteczkach 5.7S i 7.8S IgG kaczki przeważają lekkie łańcuchy kappa (κ) z sekwencją seryna – glutamina – cysteina w końcowym odcinku. Taka sekwencja aminokwasów występuje również w lekkich łańcuchach gammaglobulin kur i indyków (12).

Wykazano wyraźne pokrewieństwo pomiędzy cząsteczkami 5.7S i 7.8S IgG kaczek. Poliklonalna heterologiczna surowica anty 5.7S reaguje z cząsteczką 7.8S IgG. Natomiast przeciwciała anty 7.8S w reakcji z cząsteczką 5.7S ujawniają obecność dodatkowych antygenów występujących w cząsteczce 7.8S. Jest to prawdopodobnie fragment Fe tej cząsteczki (6, 19, 25). Reakcje serologiczne i masy cząsteczkowe kompletnych cząstek wskazują, że 5.7S IgG jest strukturalnie i antygenowo zbliżona do fragmentu F(ab)₂ w cząsteczce 7.8S (12).

Pomimo istnienia bardzo wyraźnego pokrewieństwa antygenowego wykazano, że są to oddzielne immunoglobuliny. Cząsteczka 7.8S IgG wiąże dopełniacz oraz bierze udział w reakcji biernej anafilaksji skóry, natomiast 5.7S IgG nie posiada tych zdolności (6). Przeciwciała matczyne przekazywane poprzez żółtka jaj stanowią głównie cząsteczki 7.8S IgG (17). O odrębności tych cząsteczek mogą świadczyć również wyniki badań przeprowadzonych przez Greya (6). Oczyszczone 7.8S IgG kaczki znakował on radioaktywnym jodem i ponownie podawał kaczkom monitorując gammaglobuliny w surowicach, nie stwierdzał radioaktywności w populacji cząsteczek 5.7S. Ponadto stwierdzono, że różne rasy kaczek wykazują różnice w zawartości cząsteczek 7.8S i 5.7S w surowicach. U kaczek piżmowych cząsteczki 7.8S IgG stanowią 70 do 80% gammaglobulin, natomiast u kaczek rasy Pekin i Mullard obie cząsteczki występują w mniej więcej równych ilościach. Stwier-

dzono jednakże, że w wyniku kilkakrotnej immunizacji albuminą surowicy bydłowej (BSA) wzrasta do około 85% poziom cząsteczek 5.7S w surowicy kaczek, niezależnie od rasy (6, 12).

Odpowiedź humoralna powstająca po wprowadzeniu antygeny jest następująca: najpierw powstają krótko utrzymujące się przeciwciała IgM, szybko zastępowane przez cząsteczki 7.8S IgG, a następnie pojawiają się 5.7S IgG. Gammaglobuliny kaczek reagują w odczynie hamowania hemaglutynacji (HI) z adenowirusem EDS-76 (3). Wykazują reakcję z innymi antygenami w odczynie pośredniej aglutynacji oraz teście neutralizacji (23, 24). Kaczki produkują też przeciwciała precypitujące (21). Produkcję precypityn stwierdzono od 7 dnia po podaniu albuminy i gammaglobuliny bydłowej (22). Również podanie kompleksu DPN-Brucella indukowało powstawanie przeciwciał wykrywanych w teście precypitacji (16). Higgins (10) stwierdził, że precypityny powstające po podaniu kaczkom DPN-IgG ludzkiej są elektroforetycznie jednorodne. Masa cząsteczkowa ich ciężkich łańcuchów wynosiła 42 kDa i antygenowo odpowiadały cząsteczkom 5.7S. Dalsze badania wykonane przez Litmana i wsp. (16) wykazały, że była to mieszana populacja nieprecypitujących i precypitujących cząstek 5.7S.

Immunologia infekcyjna drobiu wodnego jest mało poznana. Stosunkowo najlepiej poznane są zjawiska odpornościowe zachodzące pod wpływem zakażenia wirusem choroby Derzsyego. Wiadomo, że po zakażeniu domięśniowym u 3-dniowych gąsiąt rozwija się odpowiedź humoralna i komórkowa. Od 5 dnia p.i. wykrywane są przeciwciała neutralizujące, w większości typu IgM (13), zastępowane w ciągu 12 dni przez IgG. Wykazano również, że nioski przekazują na potomstwo przeciwciała żółtkowe typu IgG. Wykrywane są one przez około 2 tygodnie w surowicach gąsiąt, pod koniec 3 tygodnia życia miano ich gwałtownie spada.

Przedstawione informacje dotyczące mechanizmów i struktury elementów odporności humoralnej u drobiu wodnego nie są dokładnie poznane i wymagają dalszych badań.

Piśmiennictwo

1. Akajewski A.: Anatomia zwierząt domowych. T. 2, PWRiL, Warszawa 1979.
2. Benedict A. A., Brown R. J., Hersh R. T.: J. Immunol. 90, 399, 1963.
3. Calnek B. W.: Avian Dis. 22, 798, 1978.
4. Glick B., Chang T. S., Jaap R. G.: Poultry Sci. 35, 224, 1956.
5. Goudswaard J., Vaerman J. P., Heremans J. F.: Inter. Arch. Allerg. 53, 409, 1977.
6. Grey H. M.: J. Immunol. 1967, 98, 820, 1967.
7. Hadge D., Ambrosius H.: Develop. Comp. Immunol. 12, 121, 1988.
8. Hadge D., Ambrosius H.: Develop. Comp. Immunol. 12, 319, 1988.
9. Heymann W., Lund H. Z., Hackel D. B.: J. Lab. Clin. Med. 39, 218, 1952.
10. Higgins D. A.: Comp. Biochem. Physiol. 1989, 93B, 135, 1989.
11. Higgins D. S., Shortrige K. F., Ng P. L. K.: Immunol. 62, 499, 1988.
12. Higgins D. A., Warr G. W.: Avian Pathol. 22, 211, 1993.
13. Kisary J.: Avian Pathol. 6, 327, 1977.
14. Kubasiewicz M.: Zarys anatomii zwierząt domowych PWN, Warszawa, 1986.

15. Lange K., Wenk E. J., Wachstein M., Noble J.: *Am. J. Med. Sci.* 236, 767, 1958.
16. Litman G. W., Chartrand S. L., Fistad C. L., Good R. A.: *Immunochemistry* 10, 323, 1973.
17. Liu S. S., Higgins D. A.: *Comp. Biochem. Physiol.* 97B, 637, 1990.
18. Mansikka A.: *J. Immunol.* 149, 855, 1992.
19. Ng P. L. K., Higgins D. A.: *Immunol.* 58, 323, 1986.
20. Sembart K.: *Histologia porównawcza*, T. 2, PWN, Warszawa, 1981.
21. Toth T. E., Norcross N. L.: *Avian Dis.* 25, 17, 1981.
22. Toth T. E., Norcross N. L.: *Avian Dis.* 25, 338, 1981.
23. Unanue E., Dixon F. J.: *J. Exp. Med.* 119, 965, 1965.
24. Vaerman J. P., Picard J., Heremans J. F.: *Adv. Exp. Med. Biol.* 64, 185, 1975.
25. Zimmerman B., Shalatin N., Grey H. M.: *Biochemistry* 10, 482, 1971.

Adres autora: prof. dr hab. Elżbieta Samorek-Salamonowicz, ul. Par-
tyzantów 57, 24-100 Puławy

ANTONI SCHOLLENBERGER, ROMAN LECHOWSKI*,
JADWIGA STERNICKA, ANDRZEJ DEGÓRSKI

artykuł przeglądowy

Niedoczynność tarczycy u psów – diagnostyka endokrynologiczna i leczenie*

Zakład Patofizjologii Katedry Patologii i *Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Diagnostyka

Postawienie rozpoznania hipotyreozy u psów jest możliwe dopiero po przeprowadzeniu badań endokrynologicznych. Wykonanie oznaczeń przez odpowiednio wyposażone laboratorium ułatwia fakt, że można do tego celu użyć zestawów służących do określania stężenia hormonów tarczycy u ludzi. Zestawy te pozwalają na określenie bądź całkowitego stężenia czteroiodotyroniny (T4, tyroksyny) bądź całkowitego stężenia trójiodotyroniny (T3) w surowicy. Konieczne jest jednak dostosowanie krzywych standardowych do odczytywania niskich, występujących często u psów, stężeń T4 poniżej 10 nmol/l (7,8 ng/ml) (12, 17, 18).

Wykazanie u psów niskich stężeń hormonów tarczycy ma jednak niewielką wartość diagnostyczną, o ile jednocześnie nie występują typowe objawy zaawansowanej hipotyreozy. Zakres wartości prawidłowych stężeń T4 i T3 we krwi waha się bowiem w dość szerokich granicach, a przyczyną ich zmniejszenia mogą być stany nie mające związku z niedoczynnością tarczycy. W badaniach Belshawa i Rijnberka (1) zakres prawidłowych wartości T4 wahał się od 19,6 do 46,3 nmol/l (15,2-36 ng/ml), a T3 od 0,7 do 2,4 nmol/l (0,48-1,54 ng/ml). W badaniach Sparkesa i wsp. (19) stężenia T4 wynosiły średnio 32,3 nmol/l (25,1 ng/ml) z wahaniami od 22 do 69 nmol/l (17,1-53,6 ng/ml), a T3: 1,04 nmol/l z odchyleniami od 0,7 do 1,9 nmol/l (odpowiednio:

0,68 i 0,48-1,24 ng/ml). Z kolei Nelson i wsp. (13) u zdrowych psów wykazali średnie stężenie T4 $27 \pm 7,7$ nmol/l (21 ± 6 ng/ml), z wahaniami od 12,9 do 42,5 nmol/l (10-33 ng/ml), a dla T3: $1,08 \pm 0,46$ nmol/l ($0,7 \pm 0,3$ ng/ml), z zakresem wahań od 0,15 do 1,85 nmol/l (0,1-1,2 ng/ml). W podręczniku McDonalda i Pinedy (11) podano, że u psów prawidłowe stężenie T4 wynosi $19,4 \pm 4,9$ nmol/l ($15,1 \pm 3,8$ ng/ml) i waha się w granicach od 9 do 28 nmol/l (7-21,8 ng/ml), a dla T3: $1,47 \pm 0,33$ nmol/l (odpowiednio: $0,96 \pm 0,21$ i $0,63-1,30$ ng/ml).

We własnych badaniach (17) stężenie T4 u zdrowych psów wahało się od 6,8 do 135,2 nmol/l (5,3-105,0 ng/ml), a u psów z hipotyreozą od 2,6 do 79,7 nmol/l (2,0-61,9 ng/ml).

Przyjmuje się, że niskie stężenie hormonów tarczycy nie mające związku z niedoczynnością gruczołu częściej dotyczy stężenia T3 niż T4 (12). Nelson i Ihle (12) w 100 próbkach pochodzących od 20 psów z hipotyreozą potwierdzoną próbą czynnościową tylko w jednej stwierdzili stężenie T4 w granicach normy, podczas gdy stężenie T3 w zakresie wartości prawidłowych występowało w 50 próbkach. Z tego powodu jak i dlatego, że trójiodotyronina jest hormonem powstającym nie tylko w tarczycy, ale również na obwodzie uważa się, że oznaczanie stężenia T3 ma małą wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu hipotyreozy. Z tych względów w badaniach endokrynologicznych u psów poprzestaje się na oznaczaniu stężenia czteroiodotyroniny. Z drugiej jednak strony zachowanie się bezwzględnie poziomu T4 również nie pozwala na postawienie roz-

* Praca wykonana w ramach grantu KBN Nr 5 5848 91 02.