

Rozwój limfocytów B i T w centralnych narządach limfatycznych ptaków

KLAUDIA CHRZĄSTEK, ALINA WIELICZKO

Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP,
Pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Chrząstek K., Wieliczko A.

Development of B and T lymphocytes in primary lymphoid organs in birds

Summary

The avian primary lymphoid organs, the bursa of Fabricius and the thymus, are crucial to the normal development of B and T lymphocytes in birds. Birds use gene conversion to produce different classes of immunoglobulins and this process occurs in the bursa of the Fabricius. The microenvironment of the bursa selectively expands those B-cell precursors that have undergone productive V(D)J recombination. On the other hand, the thymus constitutes the microenvironment for T lymphocyte differentiation and the acquisition of self-tolerance. Production of T cells in the thymus is controlled by a combination of positive and negative selection. The differentiation of T cells proceeds along two pathways characterized by the expression of $\alpha\beta$ or $\gamma\delta$ TCRs. Immunologically mature lymphocytes enter the circulation and colonize the peripheral lymphoid organs.

Keywords: lymphocyte T, lymphocyte B, bursa Fabricius, TCR

Embriogeneza u ptaków ogranicza się do kilkunastu-kilkudziesięciu dni, dlatego też w tym stosunkowo krótkim czasie rozwijający się zarodek musi uzyskać fizjologiczną sprawność wszystkich układów i narządów, w tym także układu odpornościowego. Od pierwszego dnia życia wiele mechanizmów obronnych jest sprawnych funkcjonalnie, jednakże do ich pełnej efektywności potrzebnych jest kilka tygodni. W ontogenetycznym rozwoju możemy wyróżnić dwie fazy. Pierwsza zaczyna się w życiu embrionalnym i trwa jeszcze krótki okres po wykluciu. W tym czasie wykształcają się stopniowo centralne narządy limfatyczne, a komórki namnażają się i różnicują bez stymulacji antygenowej (w tej fazie następuje realizacja programu genetycznego). W drugiej fazie dochodzi do wykształcenia narządów obwodowych i zasiedlenia ich przez komórki immunokompetentne m.in. pod wpływem stymulacji antygenowej.

Wyróżnia się centralne (główne) i obwodowe (wtórne) narządy limfoidalne. Centralne narządy limfatyczne stwarzają mikrośrodowisko, w którym dzięki kontaktowi komórek limfoidalnych i nielimfoidalnych zachodzą procesy związane z nabywaniem kompetencji immunologicznej. Podczas pobytu w narządach centralnych niedojrzałe limfocyty namnażają się, podlegają selekcji, a po uzyskaniu właściwych receptorów komórkowych wydostają się do krążenia obwodowego i wtórnych narządów limfoidalnych. Centralne na-

rzędy limfatyczne ptaków to bursa Fabrycjusza i grasicca, a do obwodowych możemy zaliczyć: śledzionę, gruczoł Hardera, szpik kostny, tkanki limfatyczne jelit, głowy, spojówki i oskrzeli (10, 40, 41).

Hematopoetyczne komórki macierzyste przedostają się do bursy Fabrycjusza i do grasiccy rozwijają się, by w konsekwencji stać się immunologicznie kompetentnymi limfocytami B i T. Komórki immunologicznie dojrzałe drogą krwi kolonizują obwodowe narządy limfatyczne, jak: śledziona, BALT (bronchus-associated lymphoid tissue), GALT (gut-associated lymphoid tissue), CALT (conjunctiva-associated lymphoid tissue), HALT (head-associated lymphoid tissue) (1, 10, 26, 40, 41).

Limfocyty B w bursie Fabrycjusza

Bursa Fabrycjusza jest unikalnym narządem ptaków, stanowi uwypuklenie tylnej części kloaki (proctodeum), anatomicznie jest połączona z układem pokarmowym. Jest to narząd o kluczowej roli w rozwoju limfocytów B i decyduje o przyszłej odpowiedzi humoralnej ptaków, stąd też bardzo istotna jest jego prawidłowa budowa i funkcja. U ssaków rozwój limfocytów B następuje w szpiku kostnym. Szpik kostny reprezentuje miejsce, gdzie limfopoieza komórek B jest wolna od egzogennych antygenów, w związku z tym rozwój prekursorów jest związany z ekspozycją na własne antygeny i tolerancją wobec nich. W latach 50.

XIX w. wykazano, że bursa Fabrycjusza stanowi miejsce, gdzie następuje rozwój odpowiedzi humoralnej u ptaków, a limfocyty B zostały określone jako komórki odpowiedzialne za produkcję przeciwciał (11, 33, 38).

Bursa Fabrycjusza jest zbudowana z tkanki limfaticznej (tzw. grudek chłonnych), natomiast od światła jelita oddzielona jest nabłonkiem. Około 15. dnia rozwoju embrionalnego nabłonek bursy Fabrycjusza zaczyna się różnicować na dwa typy: FAE (follicle associated epithelium) i IFE (intrafollicular epithelium). Do 19. dnia rozwoju embrionalnego FAE nie wykazuje aktywności endocytarnej, dopiero po tym czasie bierze udział w transporcie antygenów i endocytozie. Nabłonek IFE wykazuje głównie aktywność mucynogenną i nie posiada zdolności fagocytozy (4). Blisko 98% limfocytów znajdujących się w bursie to limfocyty B; proliferują one zarówno w strefie korowej, jak i rdzennej bursy Fabrycjusza. Istnieje jednak pewna fenotypowa różnica pomiędzy nimi: te, które pochodzą z rdzenia, posiadają na swojej powierzchni IgM, natomiast MHC II pojawia się tylko na tych limfocytach, które proliferują w korze. Dodatkowo, w obrębie bursy Fabrycjusza można również znaleźć niewielki odsetek limfocytów T, głównie w obrębie strefy korowej narządu. Podczas silnej involucji bursy Fabrycjusza, która może mieć miejsce np. podczas zakażenia wirusem choroby Gumboro (IBDV), limfocyty T kumulujące się w grudkach mogą czasowo zastąpić limfocyty B (8, 9, 36).

Kolonizacja bursy Fabrycjusza przez prekursorów limfocytów B (pre bursal stem cells) przebiega falowo podczas embriogenezy, począwszy od dnia ósmego, stale przez okres około tygodnia (14). Podczas dojrzewania w bursie następuje rearanżacja genów dla immunoglobulin. Repertuar przeciwciał jest generowany podczas późnego etapu rozwoju embrionalnego i krótkiego okresu po wykluciu (12, 25). Od momentu kolonizacji bursy przez komórki macierzyste (IL-7R, CD10, CD34, D-Jh), rozwijające się limfocyty B szybko proliferują i przechodzą różnicowanie genów immunoglobulinowych za pomocą somatycznej konwersji genowej. W procesie tym sekwencje z rodziny pseudogenów zastępują w wyjątkowy sposób homologiczne sekwencje kodujące części zmienne (V-variable) dla łańcuchów lekkich (V light) i ciężkich (V heavy) immunoglobulin. Można zatem stwierdzić, że V region decyduje o specyficzności receptora limfocytów B. Prolimfocyty B (IL-7R, CD10, CD45, Ig alpha) przekształcają się w pre-B (IL-7R, Ig alpha, Ig beta, V pre beta, CD10, CD19, CD45) i przechodzą pierwszą selekcję pozytywną. Rearanżacja genów V-D-J przyczynia się do powstania pre-receptora BCR (B-cells receptor). Do tego momentu mówimy o niedojrzałym limfocycie B (30). Trwająca konwersja genów przyczynia się dalej do powstania sIg (surface Ig, membrane Ig) komórek B. IgM complex pojawia się pod względem funkcjonalnym i strukturalnym jako odpowiednik występującego u ssaków, z homologią do CD79a

(Ig alpha) i CD79b (Ig beta). We wczesnym etapie rozwoju embrionalnego w bursie ekspresja skróconego Ig jest wystarczająca, jednakże od momentu wyklucia, kiedy to do bursy zaczynają napływać antygeny ze środowiska zewnętrznego, niekompletne receptory są niewystarczające i takie limfocyty zostają wyeliminowane (38, 39). W dalszym etapie niedojrzałe limfocyty B przechodzą kolejną selekcję pozytywną („chroniącą” przed apoptozą komórki B z produktywnie zrearanżowanymi genami Ig), wówczas pojawia się na ich powierzchni kompletny receptor BCR (około 10. dnia rozwoju embrionalnego) i od tego momentu stają się dojrzałymi limfocytami o immunofenotypie: Ig alpha, Ig beta, IgM, CD19, CD45. Opuszczają bursę i zasiedlają obwodowe narządy limfaticzne (7, 19). W bursie u młodych ptaków znajduje się duża liczba komórek B, jednakże tylko około 5% z nich produkowanych każdego dnia migruje na obwód (31).

W związku z tym, że rearanżacja genów immunoglobulinowych ma miejsce w obrębie bursy Fabrycjusza i zachodzi podczas późnego rozwoju embrionalnego oraz krótko po wylęgu, wszelkie czynniki, które przyczynią się do jej uszkodzenia, będą miały bezpośredni wpływ na odpowiedź humoralną. W sytuacji, gdy dojdzie do jej zniszczenia, atrofii we wczesnym okresie embriogenezy bądź też nieco później, ale przed 18. dniem rozwoju embrionalnego, kiedy to limfocyty B zaczynają migrować z bursy do tkanek limfaticznych obwodowych, wtedy wyklute z jaj pisklęta będą posiadały niespecyficzne przeciwciała IgM (27-29, 40). Natomiast u starszych ptaków, co wykazano w badaniach McCormack i wsp. (28), chirurgiczne usunięcie bursy Fabrycjusza po około 4. tygodniu życia nie wywiera wpływu na zdolność produkcji szerokiej gamy przeciwciał, ponieważ do tego czasu wystarczająca liczba limfocytów B zasiedla obwodowe narządy limfaticzne. Dodatkowo, jak wynika z badań wyżej wymienionych autorów, pomiędzy 18. dniem rozwoju embrionalnego a 2.-4. tygodniem życia ptaków limfocyty B różnicują się na drodze bursozależnej, a zatem niezwykle ważna jest jej prawidłowa morfologia. Z kolei, w okresie osiągnięcia przez ptaki dojrzałości płciowej, kiedy to następuje regresja bursy Fabrycjusza prawdopodobnie post-bursalne komórki pochodzące ze szpiku kostnego stanowią źródło limfocytów B (28).

Generowanie repertuaru przeciwciał, które ma miejsce w okresie embriogenezy oraz u młodych ptaków niesie ze sobą ogromne ryzyko, bowiem każdy patogen, który przyczyni się do zniszczenia komórek bursalnych, będzie wywierał bezpośredni wpływ na humoralną odpowiedź immunologiczną. Infekcja piskląt np. wirusem choroby Gumboro (IBDV) może nie wywołać objawów klinicznych, jednakże wirus, niszcząc utkanie bursy, a tym samym znajdujące się tam limfocyty B, czyni kurczęta niezdolnymi do odpowiedzi immunologicznej (realizowanej poprzez produkcję specyficznych przeciwciał) na inne antygeny. Wirus IBD posiada powinowactwo do limfocytów B IgM+,

replikując się intensywnie, niszczy grudki limfatyczne zarówno w korze, jak i rdzeniu bursy Fabrycjusza (13, 15, 16, 18, 37), dochodzi zatem do silnej immunosupresji. Natomiast jeżeli zakażenie dotyczy ptaków starszych, w wieku około 3.-6. tygodnia życia, kiedy to bursa osiąga maksimum rozwoju, objawy kliniczne choroby są już widoczne. Powyższa różnica związana z wiekiem ptaków nie jest do końca jasna, najprawdopodobniej w dużej mierze zależy od „dojrzałości” komórek układu odpornościowego. U ptaków starszych niż 2 tygodnie po zakażeniu IBDV dochodzi do kumulacji limfocytów T w bursie Fabrycjusza, które pełnią znaczącą rolę w przezwyciężaniu infekcji (17, 34, 35, 44). W badaniach przeprowadzonych przez Rautenschlein (35) wykazano, że aplikacja *in ovo* szczepu pośredniego IBDV nie prowadzi do kumulacji limfocytów T w bursie. Natomiast wyniki badań Sharma (42) przeprowadzone na starszych ptakach (3-tygodniowych kurczętach) zakażonych eksperymentalnie wirulentnym szczepem wirusa choroby Gumboro wskazują, że infiltracja bursy Fabrycjusza przez komórki T rozpoczyna się już w 1. dniu po iniekcji i utrzymuje przez około 12 tygodni. Autor wykazał, że najwyższy poziom intrabursalnych limfocytów T widoczny był w 7. dniu po iniekcji (65%), podczas gdy limfocyty B IgM+ w tym samym czasie stanowiły zaledwie 7%. Różnica w ilości pomiędzy limfocytami T i B w bursie Fabrycjusza wróciła do normy (czyli limfocyty B IgM+ stanowiły większość komórek bursy) dopiero około 12. tygodnia od eksperymentalnego zakażenia (42).

Limfocyty T w grasicy

Grasica ptaków jest narządem o budowie płatowatej, maksymalne rozmiary osiąga około 4. miesiąca życia, po czym dochodzi do jej atrofii wraz z osiągnięciem dojrzałości płciowej (40). W trakcie dojrzewania tymocytów, poprzez selekcję dochodzi do eliminacji około 95% dojrzewających w grasicy prekursorów limfocytów T. Etapy dojrzewania limfocytów można uprościć do dwóch faz, a mianowicie pierwszej, w trakcie której komórki nie posiadają receptorów rozpoznających antygen TCR oraz późniejszej, w której następuje pełna jego ekspresja (selekcja pozytywna i negatywna limfocytów).

W środowisku grasicy dochodzi do różnicowania i proliferacji limfocytów T, począwszy od rearanżacji genów receptora TCR w hematopoetycznych prekursorach. Coltey i wsp. (6) wykazali, że grasica ptaków jest kolonizowana przez prekursory limfocytów T w 6., 12. i 18. dniu rozwoju embrionalnego. Protymocyty określa się jako potrójnie ujemne, są bowiem pozbawione cząstek CD3, CD4, CD8 (23, 24). Im więcej komórek proliferujących w środowisku grasicy, tym większa różnorodność receptorów TCR, które mogą występować w dwóch typach, a mianowicie jako TCR gamma/delta lub alpha/beta (2, 3). Geny kodujące łańcuchy delta i beta pochodzą z rearanżacji VDJC

(5'V gen-diversity-joining-constant'3) elementów, podczas gdy alpha i gamma z VJC. Rearanżacja genów dla łańcuchów alpha, gamma oraz delta, beta odbywa się niezależnie i w różnym czasie. Najpierw dochodzi do rearanżacji w obrębie *locus* dla łańcucha beta i delta. Po rearanżacji genów dla receptora TCR komórki zaczynają wytwarzać CD4 i CD8. W kolejnym stadium podwójnie dodatnie (CD4+CD8+ TCR alpha/beta oraz TCR gamma/delta) (6) ulegają pozytywnej (selekcja limfocytów rozpoznających własne MHC i eliminacja tych, które nie rozpoznają) i negatywnej selekcji (usunięcie limfocytów bardzo intensywnie reagujących z własnymi MHC) w celu przygotowania ich do migracji do narządów obwodowych. Subpopulacje limfocytów T różnią się występowaniem na powierzchni koreceptorów CD4 i CD8 (5). U kurcząt występują dwie formy CD8, homodimeryczne CD8 $\alpha\alpha$ oraz heterodimery CD8 $\alpha\beta$. Podjednostka CD8 α łączy się z domeną $\alpha 3$ głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy I. W rozwoju embrionalnym oraz u młodych kurcząt przeważają TCR γ/δ CD8 $\alpha\alpha$, podczas gdy u dorosłych, np. w obrębie nabłonka jelit, najczęściej CD8 TCR $\alpha\beta$. Natomiast CD4 występuje jako pojedyncza molekula z czterema zewnątrzkomórkowymi domenami oraz jedną cytoplazmatyczną, łączy się z domeną beta głównego układu zgodności tkankowej MHC II (20, 21, 32, 45).

Migracja zróżnicowanych limfocytów T na obwód nie podlega już takim czasowym zależnościom, jak kolonizacja grasicy i trwa do kilku tygodni po wylęgu. Limfocyty TCR gamma/delta i alpha/beta opuszczają grasicę niezależnymi drogami, komórki gamma/delta zawsze poprzedzają komórki alpha/beta o 1-2 dni. Limfocyty gamma/delta TCR+T mogą stanowić najliczniejszą grupę krążących limfocytów u kurcząt (21, 22, 43).

Podsumowując, rozwój i różnicowanie limfocytów w pierwotnych narządach limfatycznych przebiega wieloetapowo, zgodnie z realizacją programu genetycznego. Niedojrzałe hematopoetyczne komórki – prekursory limfocytów B i T dostają się do głównych narządów limfatycznych w celu proliferacji, różnicowania, a w konsekwencji po to, aby stać się immunologicznie kompetentnymi. Po opuszczeniu bursy Fabrycjusza i grasicy, już jako immunologicznie dojrzałe, zasiedlają obwodowe narządy limfatyczne.

Piśmiennictwo

1. Bar-Shira E., Friedman A.: Ontogeny of gut associated immune competence in the chick. Israel J. Vet. Med. 2005, 60, 42-50.
2. Bentley G. A., Boulot G., Mariuzza R. A.: The structure of the antigen-binding site of immunoglobulins and T-cell receptors. Res. Immunol. 1995, 146, 277-290.
3. Bentley G. A., Mariuzza R. A.: The structure of the T cell antigen receptor. Annu. Rev. Immunol. 1996, 14, 563-590.
4. Bockman D. E., Cooper M. D.: Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix, and Peyer's patches. An electron microscopic study. Am. J. Anat. 1973, 136, 455-477.
5. Bridle B. W., Julian R., Shewen P. A., Vaillancourt J. P., Kaushik A. K.: T lymphocyte populations diverge in commercially raised chickens. Can. J. Vet. Res. 2006, 70, 183-190.

6. Coltey M., Jotereau F. V., Le Douarin N. M.: Evidence for a cyclic renewal of lymphocyte precursor cells in the embryonic chick thymus. *Cell Differ.* 1987, 22, 71-82.
7. Cooper M. D., Cain W. A., Van Alten P. J., Good R. A.: Development and function of the immunoglobulin producing system. I. Effect of bursectomy at different stages of development on germinal centers, plasma cells, immunoglobulins and antibody production. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1969, 35, 242-252.
8. Cooper M. D., Peterson R. D., Good R. A.: Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 1965, 205, 143-146.
9. Eidson C. S.: Specific suppression of the bursa-dependent immune system of chickens with infectious bursal disease virus. *Am. J. Vet. Res.* 1977, 38, 581-583.
10. Glick B., Olah I.: Bursal secretory dendritic-like cell: a microenvironment tissue. *Poult. Sci.* 1993, 72, 1262-1266.
11. Glick G., Chang T. S., Jaap R. G.: The bursa of Fabricius and antibody production. *Poult. Sci.* 1956, 35, 224-234.
12. Grindstaff J. L., Hasselquist D., Nilsson J. K., Sandell M., Smith H. G., Stjernman M.: Transgenerational priming of immunity: maternal exposure to a bacterial antigen enhances offspring humoral immunity. *Proc. Biol. Sci.* 2006, 273, 2551-2557.
13. Hirai K., Funakoshi T., Nakai T., Shimakura S.: Sequential changes in the number of surface immunoglobulin-bearing B lymphocytes in infectious bursal disease virus-infected chickens. *Avian Dis.* 1981, 25, 484-496.
14. Houssaint E., Belo M., Le Douarin N. M.: Investigations on cell lineage and tissue interactions in the developing bursa of Fabricius through interspecific chimeras. *Dev. Biol.* 1976, 53, 250-264.
15. Ivanyi J., Morris R.: Immunodeficiency in the chicken. Part IV: An immunological study of infectious bursal disease. *Clin. Exp. Immunol.* 1976, 23, 154-165.
16. Kaufer I., Weiss E.: Significance of bursa of Fabricius as target organ in infectious bursal disease of chickens. *Infect. Immunit.* 1980, 27, 364-367.
17. Kim I.: Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J. Virol.* 2000, 74, 8884-8892.
18. Kim I. J., Gagic M., Sharma J. M.: Recovery of antibody producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 1999, 43, 401-413.
19. Kincade P. W., Cooper M. D.: Development and distribution of immunoglobulin-containing cells in the chicken. An immunofluorescent analysis using purified antibodies to mu, gamma and light chains. *J. Immunol.* 1971, 106, 371-382.
20. Koskela K., Arstila T. P., Lassila O.: Costimulatory function of CD28 in avian gammadelta T cells is evolutionarily conserved. *Scand J. Immunol.* 1998, 48, 635-641.
21. Koskela K., Kohonen P., Salminen H., Uchida T., Buerstedde J. M., Lassila O.: Identification of a novel cytokine-like transcript differentially expressed in avian gammadelta T cells. *Immunogenetics* 2004, 55, 845-854.
22. Kubota T., Wang J., Göbel T. W., Hockett R. D., Cooper M. D., Chen C. H.: Characterization of an avian (*Gallus gallus domesticus*) TCR alpha delta gene locus. *J. Immunol.* 1999, 163, 3858-3866.
23. Lampisuo M., Katevuo K., Lassila O.: Antigenic phenotype of early intra-embryonic lymphoid progenitors in the chicken. *Scand. J. Immunol.* 1998, 48, 52-58.
24. Lampisuo M., Liippo J., Vainio O., McNagny K. M., Kulmala J., Lassila O.: Characterization of prethymic progenitors within the chicken embryo. *Int. Immunol.* 1999, 11, 63-69.
25. Lundqvist M. L., Middleton D. L., Radford C., Warr G. W., Magor K. E.: Immunoglobulins of the nongalliform birds: antibody expression and repertoire in the duck. *Dev. Comp. Immunol.* 2006, 30, 93-100.
26. Masteller E.: B cell development in the chicken. *Poult. Sci.* 1994, 72, 1289-1293.
27. McCormack W. T., Thompson C. B.: Chicken IgL variable region gene conversions display pseudogene donor preference and 5' to 3' polarity. *Genes Dev.* 1990, 4, 548-558.
28. McCormack W. T., Thompson C. B.: Somatic diversification of the chicken immunoglobulin light-chain gene. *Adv. Immunol.* 1990, 48, 41-67.
29. McCormack W. T., Tjoelker L. W., Thompson C. B.: Avian B-cell development: generation of an immunoglobulin repertoire by gene conversion. *Annu. Rev. Immunol.* 1991, 9, 219-241.
30. Michael J. H., Ratcliffe M. J.: Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development. *Develop. Comp. Immunol.* 2006, 30, 101-118.
31. Paramithiotis E., Jacobsen K. A., Ratcliffe M. J.: Loss of surface immunoglobulin expression precedes B cell death by apoptosis in the bursa of Fabricius. *J. Exp. Med.* 1995, 181, 105-113.
32. Pieper J., Methner U., Berndt A.: Heterogeneity of avian gammadelta T cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008, 124, 241-252.
33. Pike K., Ratcliffe M.: Cell surface immunoglobulin receptors in B cell development. *Semin. Immunol.* 2002, 14, 351-358.
34. Rautenschlein S.: Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate, and virulent strains of classic infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 2003, 47, 66-78.
35. Rautenschlein S.: Differences in the immunopathogenesis of infectious bursal disease virus (IBDV) following in ovo and post-hatch vaccination of chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, 106, 139-150.
36. Rautenschlein S.: Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. *Arch. Virol.* 2002, 147, 285-304.
37. Rodenberger J. K., Sharma J. M., Balzer S., Nordgren R., Naqi S.: Flow cytometric analysis of B-cell and T-cell subpopulations in specific pathogen-free chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 1994, 38, 16-21.
38. Sayegh C. E., Demaries S. L., Iacampo S., Ratcliffe M. J.: Development of B cells expressing surface immunoglobulin molecules that lack V(D)J-encoded determinants in the avian embryo bursa of fabricius. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999, 96, 10806-10811.
39. Sayegh C. E., Demaries S. L., Pike K. A., Friedman J. E., Ratcliffe M. J.: The chicken B-cell receptor complex and its role in avian B-cell development. *Immunol Rev.* 2000, 175, 187-200.
40. Seto F.: Early development of avian immune system. *Poult. Sci.* 1981, 60, 1981-1995.
41. Sharma J.: The structure and function of avian immune system. *Acta Vet. Hungar.* 1997, 45, 229-238.
42. Sharma J. M.: Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Develop. Comp. Immunol.* 2000, 24, 223-235.
43. Su C., Jakobsen I., Gu X., Nei M.: Diversity and evolution of T-cell receptor variable region genes in mammals and birds. *Immunogenetics* 1999, 50, 301-308.
44. Tanimura N., Sharma J. M.: Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Dis.* 1997, 41, 638-645.
45. Vainio O., Imhof B. A.: The immunology and developmental biology of the chicken. *Immunol. Today.* 1995, 16, 365-370.

Adres autora: lek. wet. Klaudia Chrzastek, Pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław; e-mail: klaudia.chrzastek@up.wroc.pl