

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Anežka Pojezdná

Změna exprese imunitních genů při vzniku zánětu u ptáků
Changes in expression of immune-related genes after induction of inflammation in birds

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Michal Vinkler, PhD.

Praha, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 23. 8. 2013

Podpis

Abstrakt

Zánět je jedním z nejdůležitějších imunologických mechanismů chránících živočichy před chorobami. Ačkoliv jsou mechanismy zánětu dobře popsány u savců, o regulaci zánětu u ptáků je toho známo relativně velmi málo. Ve své bakalářské práci jsem proto shrnula informace o změnách genové exprese ve tkáních po vzniku zánětlivé imunitní odpovědi u ptáků. Snažila jsem se uspořádat hlavní rysy této imunitní reakce u ptáků a upozornit na odlišnosti oproti situaci u jiných skupin obratlovců, především u savců. Soustředila jsem se především na molekuly vázané na povrchu jednotlivých typů imunitních buněk, dále i na signalizaci prostřednictvím rozpustných faktorů, cytokinů. Ačkoliv jsou si v obecných rysech imunologické mechanismy zánětu u ptáků a savců podobné, ve své práci jsem ukázala, že především velká část signálních molekul funguje u těchto dvou skupin obratlovců rozdílně (např. prozánětlivá signalizace přes členy TNF SF) a že určité potenciálně významné odlišnosti lze najít i mezi jednotlivými druhy ptáků (např. rozdílné rozpoznávání virových RNA kachnou domácí a kurem domácím).

Klíčová slova: adhezivní molekuly, cytokiny, genová exprese, imunita, leukocyty, ptáci, receptory, zánět

Abstract

Inflammation is one of the most important immunological mechanisms that protect animals from diseases. In my thesis I summarized information on changes in gene expression in tissues in the course of the inflammatory immune response in birds. I tried to describe the main features of the immune response in birds and highlight the differences to other vertebrates, especially mammals. I focused mainly on the surface molecules of various types of immune cells, as well as on signalling by soluble factors called cytokines. Although in general features are the inflammatory reactions in birds and mammals similar, in my thesis I have shown that a large portion of mediators and signalling molecules work very differently in these two vertebrate groups (e. g. the TNF SF-mediated pro-inflammatory signalling) and that substantial variation may be found even between different species of birds.

Key words: adhesion molecules, birds, cytokines, gene expression, immunity, inflammation, leukocyte, receptors,

Obsah

I.	Úvod.....	6
II.	Průběh zánětu, komponenty (buňky)	7
III.	Exprimované molekuly	12
	III.1 Adhezivní molekuly.....	12
	III.2 PRRs – pattern recognition receptors	12
	III.2.1 Toll-like receptory – TLRs	13
	III.2.2 NOD-like receptory – NLRs a RIG-I-like receptory – RLRs.....	15
	III.3 Cytokiny	16
	III.3.1 Prozánětlivé cytokiny	16
	III.3.2 Th1 cytokiny	18
	III.3.3 Th2 cytokiny	19
	III.3.4 Regulační cytokiny	20
IV.	Závěr	21
V.	Poděkování.....	23
VI.	Seznam zkratk	24
VII.	Literatura.....	25

I. Úvod

Živočichové se běžně setkávají s velkým množstvím patogenů, které jsou rozpoznávané a eliminované imunitním systémem. V obraně proti patogenním mikroorganismům hraje klíčovou roli soubor mechanismů vrozené imunity, který nazýváme zánět. Zánět je komplex biochemických a imunitních reakcí vrozených a v pozdější fázi aktivující i antigeně specifické (adaptivní) mechanismy imunitního systému. Tyto mechanismy se rychle aktivují při infekci či zranění tkáně, lokalizují poškození (patogeny, fyzikálními nebo chemickými vlivy), vedou k eliminaci patogenů a ke zhojení tkáně (Nathan 2002). Vnější projevy zánětlivých mechanismů, interakce buněk a proteinů, byly popsány již v roce 25 římským lékařem Celsem jako 4 klasické příznaky zánětu: tumor (otok), calor (zvýšená teplota), dolor (bolestivost) a rubor (zčervenání) (Tracy 2006).

Informace, které o zánětu máme, pocházejí v drtivé většině ze studií na myši a člověku. Přestože ptáci mají zásadní hospodářský význam, jejich efektorové mechanismy zánětu a mechanismy jeho regulace nejsou příliš probádané. Zánět u ptáků se přitom od savčího zánětu liší a je i odlišně regulovaný (Cruse and Lewis 2009). Znalost funkce ptačího imunitního systému, můžeme napomoci ve vývoji nových diagnostických a terapeutických metod, pomocí nichž bychom v budoucnu mohli snadněji zabránit přenosu chorob z ptáků na lidi i mezi jednotlivými chovy i globální panice z jejich šíření. Pochopení funkce zánětu u ptáků by nám mohlo dále pomoci při zvyšování produkce drůbeže, která je nezanedbatelnou součástí našeho jídelníčku. Jen v České republice je ročně vyprodukováno přibližně 250 tisíc tun drůbežího masa a více než 2 miliardy vajec (Pavlů, Roubalová 2011).

Znalost ptačího zánětu (a to nejen kuru domácího) a jeho srovnání se savcím může být důležitá pro pochopení evoluce imunitního systému a mechanismů obrany hostitele před patogeny. Ptáci a savci mají spoustu společných charakteristik (například endotermie), přestože vznikli nezávisle na sobě. Progresivní vědní obory jako evoluční imunologie, evoluční parazitologie a evoluční biomedicína se začínají rozvíjet a pokud budou vědci úspěšní, poznatky ze srovnávací imunologie by mohly přispět k nalezení nových léčebných postupů.

II. Průběh zánětu, komponenty (buňky)

Zánět je obranná imunitní reakce ve tkáních na narušenou homeostázu způsobenou parazity, zraněním, znečištěním nebo funkčním selháním tkáně. (Martin and Hine 2004). Zahrnuje mnoho reakcí specifické i nespecifické imunity. V podstatě jsou to navzájem se regulující reakce zahrnující vazodilataci, průchod plazmy, proteinů, leukocytů skrz stěnu cévy do porušené tkáně, eliminace nebo izolace parazitů a hojení tkáně. (Medzhitov 2008, Cruse and Lewis 2009). Z evolučního pohledu je zánět konzervativní fenomén, důležitá první obranná linie obrany u obratlovců i bezobratlých. Některé děje, které jsou běžně považovány za zánětlivé mechanismy udržující integritu mnohobuněčných živočichů, jako jsou fagocytóza a chemotaxe, používají i jednobuněčné organismy (Rowley 1996). Zánětlivá odpověď je efektivní hlavně proti mikroorganismům a virům (Wynn 2004). Větší částice nebo mnohobuněční parazité se totiž nedají snadno fagocytovat a nezbyvá než izolovat je (enkapsulovat) od vlastních tkání a zabránit sekundární bakteriální infekci. Tato cesta však může být pro hostitele nepříjemná, mohou se v tkáních tvořit jizvy a vést k omezení funkce nebo dokonce k selhání orgánů (Wynn 2004, Allen and Wynn 2011).

Zánětlivé reakce jsou regulovány pomocí cytokinů – mnoha různých proteinů produkovaných leukocyty i jinými buňkami. Cytokiny mohou mít funkci regulační, chemotaktickou, cytotoxickou nebo fungovat jako růstové faktory a mohou fungovat apokrinně, parakrinně i endokrinně (Cruse and Lewis 2009).

Zánětlivá odpověď je vyvolána rozpoznáním infekce nebo poškozené tkáně. Pokud je tkáň napadena patogeny, imunitní buňky rozpoznávají evolučně konzervované struktury patogenů, tzv. struktury asociované s mikroby (MAMPs – microbial-associated molecular patterns) (Matzinger 2007). MAMPs jsou struktury, které mají společné patogenicí i komenzální mikroorganismy. MAMPs jsou různé molekuly bakterií, které sdílejí molekulární motivy (celé molekuly, častěji ale jejich části), které jsou organismem rozpoznány jako cizorodé. Mezi MAMPs molekuly bakteriální buněčné stěny (např. lipopolysacharidy, LPS), bakteriální proteinové a lipidové struktury a další (Janeway and Medzhitov 2002, Bianchi 2007). Pro patogeny specifické struktury jsou označovány PAMPs (pathogen-associated molecular patterns), do nich se řadí například virová dvouvláknová RNA a další virové i bakteriálně specifické struktury (Janeway and Medzhitov 2002). V mechanicky nebo chemicky poraněné či znečištěné tkáni jsou také rozpoznávány struktury typické pro nekrózu nebo vnitrobuněčné struktury, které se ve zdravé tkáni v mezibuněčném prostoru nevyskytují, například DNA, RNA a další. Tyto struktury jsou nazývány DAMPs (damage-associated

molecular patterns) (Cruse and Lewis 2009). Rozpoznávání PAPMs a DAMPs je pro patogeny a zranění specifické, zabraňuje tedy nepotřebné aktivaci imunitní odpovědi běžnými antigeny z prostředí (Medzhitov and Janeway 1997).

Tyto struktury váží receptory vrozené imunity na leukocytech a dalších buňkách, zvané pattern recognition receptory (pattern recognition receptors – PRRs). Funkčně se PRRs dají rozdělit na tři skupiny: cytoplazmatické proteiny (NOD-like receptors – NLRs, RIG-I-like receptors – RLRs), receptory exprimované na membránách (například Toll-like receptory, TLRs) a sekretované receptory, které mohou být buď na buněčném povrchu nebo uvnitř buněk (Medzhitov and Janeway 1997, Kawai and Akira 2009). Navázání antigenů na různé PRRs ve tkáních spustí signalizaci vedoucí k produkci různých signálních proteinů cytokinů. Cytokiny atrahují efektorové leukocyty, jako jsou neutrofilů (u ptáků heterofilů) a monocytů, ale i další komponenty imunitního systému k místu poranění a stimulují je (Ashley et al. 2012). Mimo jiné jsou tyto receptory exprimovány fagocyty, konkrétně makrofágy, dendritickými buňkami (DCs), mastocyty, neutrofilů a NK buňkami. Jejich hlavním úkolem je zbavit tkáň infekce. A pokud se jim to zcela nepodaří, aktivovat také mechanismy adaptivní imunity (Janeway and Medzhitov 2002).

Leukocyty, v počáteční fázi hlavně fagocyty, musí při migraci do místa zánětu nejprve překonat stěnu cévy – endotel. Leukocyty opouštějí kapiláry mezi buňkami endotelu (paracelulární migrace) (Marchesi 1961, Burns et al. 1997). První kontakt leukocytu se stěnou cévy v místě zánětu mu umožní zpomalit jeho pohyb a zachytit se na stěně cévy. Toto takzvané koulání (rolling) po stěně endotelu obvykle zprostředkují proteiny ze skupiny selektinů. Selektiny na buňkách endotelu (E a P selektiny) váží sacharidové zbytky na povrchu krvinek, nejčastěji oligosacharidy s-Le^x (sialyl-Lewis^x). Tyto vazby jsou reversibilní (Phillips et al. 1990, Foxall et al. 1992). Takto zpomalené buňky se pak mohou vázat na endotel aktivovaný prozánětlivými proteiny pomocí dalších G proteinových receptorů. Signalizace těchto receptorů spouští syntézu adhezivních membránových proteinů integrinů (Muller 2002). Povrchové adhezivní proteiny leukocytů integriny se váží na glykoproteiny skupin ICAM (intercellular adhesion molecule) a VCAM (vascular cell adhesion molecule) na endotelu. Tyto vazby jsou pevné a dovolí leukocytům ještě více zpomalit pohyb krevním řečištěm a zastavit se v místě zánětu (Miller et al. 1995). Molekuly ICAM a VCAM jsou obvykle na povrchu i u neaktivovaných buněk, přítomnost prozánětlivých cytokinů však jejich expresi dramaticky zvýší (Cotran et al. 1986, Carlos and Harlan 1994).

Poté, co se bílé krvinky zachytí na stěně cévy, se mohou ještě pohybovat, aby si našly optimální místo pro proniknutí z cévního řečiště. Obvykle se však nepohybují na větší

vzdálenost než je průměr jedné buňky endotelu (Gopalan et al. 2000) a tento pohyb je pomalejší než kutálení po stěnách cév (Kitayama et al. 2000). Například neutrofilní granulocyty upřednostňují pro průnik místa, kde se sbíhají okraje tří buněk (Burns et al. 1997). Buňky se přichytávají a migrují skrz endotel efektivněji, pokud musí odolávat proudu krve v kapiláře, proud krve ale není podmínkou vycestování leukocytů (Kitayama et al. 2000, Cinamon et al. 2001).

Při migraci musí krvinky překonat mezibuněčné spoje mezi buňkami endotelu. O vycestování krvinky přes stěnu endotelu rozhodují hlavně signály přepisované endotelem. Poté, co leukocyty projdou skrz endoteliální buňky, musí překonat ještě basální laminu, vrstvu proteinů, glykoproteinů a proteoglykanů, která je na bazální straně endotelových buněk (Dangerfield et al. 2002). Dále krvinky musí cestou do místa zánětu projít skrz mezibuněčnou hmotu (extracelular matrix, ECM). I tento pohyb podporují proteiny z rodiny integrinů (Werr et al. 1998).

Granulocyty (basofily a neutrofilny, zvané u ptáků heterofily) v místě zánětu vypouštějí cytotoxické chemické látky z granulí, které mají v cytoplazmě, včetně proteináz a vysoce reaktivních sloučenin kyslíku a dusíku. Tyto látky nejen ničí cizí látky, ale také vyvolávají poškození vlastních tkání (Nathan 2002). Během těchto reakcí zároveň stále produkují cytokiny, které zánětlivou odpověď regulují. U mnoha druhů savců a ptáků jsou granulocyty v normálním stavu přítomné v krvi pouze v malém množství, ale v odpověď na zánětlivou signalizaci se začnou tvořit v kostní dřeni ve velkém množství a jejich počet v krvi, ale i ve slezině, plicích a játrech se zvyšuje (Min et al. 2002).

Žírné buňky (mastocyty) se nacházejí hlavně ve sliznicích a pojivové tkáni, seskupeny u epiteliálních povrchů a kolem nervů a cév (Metcalf 1997). V zanícené tkáni žírné buňky fagocytují a tráví patogeny. Pocházejí z kostní dřeni a cirkulují v krvi jako CD34+ progenitorové buňky, k diferenciaci ve zralé žírné buňky dochází až po vstupu do tkání (Kirshenbaum 1991, Rodewald 1996). Žírné buňky v tkáních jsou velmi heterogenní, variabilní ve velikosti, obsahu granulí, produkci cytokinů i expresi receptorů. Heterogenita žírných buněk zajišťuje citlivost na místní signály (Metcalf 1997). Žírné buňky jsou také schopny pohybu, reakce na chemotaktické podněty a vycestování z tkání lymfatickými cévami nebo krví (Juremalm et al. 2002).

Dalším druhem fagocytů, běžně se vyskytujících ve tkáni, jsou makrofágy - tkáňová forma monocytů. Některé intracelulární patogenní organismy jsou schopné přežít i ve fagosomu makrofágů. Pokud jsou ale makrofágy stimulované pomocnými T-lymfocyty, mění se na aktivované makrofágy. Aktivované makrofágy eliminují fagocytované patogeny tím, že

produkují ve fagosomu kyslíkové radikály a NO (Nathan and Shiloh 2000). Makrofágy jsou důležité v buněčné obraně, zároveň ale potencují zánětlivou odpověď. Makrofágy se například diferencují v přítomnosti prozánětlivých látek jako jsou například prozánětlivé cytokiny a LPS a další (Goerdts and Orfanos 1999).

Většina fagocytů (vyjma neutrofilů / heterofilů a patrně i ptačích trombocytů, které také mají fagocytickou aktivitu) (Cruse and Lewis 2009) zároveň funguje také jako antigen prezentující buňky (antigen presenting cells - APC), které spojují nescifickou a specifickou imunitní odpověď. Po aktivaci PRRs začnou na svých povrchových MHC-II glykoproteinech vystavovat naštěpené fragmenty pohlcených proteinových molekul (Takeuchi and Akira 2010). Posléze přestanou fagocytovat látky z okolí, přesunou se do lymfatických uzlin a stanou se tak funkčními APC. Začnou ve velkém množství exprimovat MHC molekuly, kostimulační i adhezivní molekuly, kterými váží a aktivují T-lymfocyty (Wen et al. 2008). Kur domácí postrádá lymfatické uzliny, hlavním sekundárním imunitním orgánem je slezina, která obsahuje velké množství naivních i aktivovaných lymfocytů (Göbel et al. 2003).

Pomocné T lymfocyty (Th cells), jejichž diferenciace v cytokinovém prostředí určuje další směřování zánětlivé odpovědi, jsou zodpovědné za aktivaci a organizování adaptivní imunitní odpovědi. T lymfocyty mají specifický povrchový T buněčný receptor (T cell receptor, TCR), který dokáže (na základě selekce v thymu) rozeznat cizorodé antigeny na MHC-II proteinech APC. Naivní Th0 lymfocyty (které nikdy nebyly vystaveny antigenu) se po stimulaci APC a po migraci do místa zánětu podle aktuálního cytokinového prostředí diferencují na různé efektorové a regulační buňky: Th1 a Th17 prozánětlivé, Th2 protizánětlivé, Treg regulační, Th9 účastníci se reakcí protinádorové imunity a Th22, které se podílí na epidermální imunitě (Abbas et al. 1996, McGeachy and Cua 2008, Goswami and Kaplan 2011).

Po prvním setkání s antigeny prezentovanými APCs se naivní Th0 lymfocyty diferencují v přítomnosti IL-12 na interferon gama ($IFN\gamma$) produkující Th1 buňky nebo v přítomnosti IL-4 na Th2 buňky, které dále produkují IL-4. Tato diferenciace je kontrolována různými environmentálními faktory, hlavně signály přímo z APCs (Glimcher and Murphy 2000). Th1 buňky zvyšují buněčnou imunitní odpověď proti virům a dalším intracelulárním parazitům (Sacks and Noben-Trauth 2002). Th1 buňky dále aktivují makrofágy, NK a Tc buňky a produkují prozánětlivé cytokiny (Ashley et al. 2012). Naopak Th2 buňky jsou důležité pro humorální imunitu, proliferaci B-lymfocytů a obranu proti mnohobuněčným parazitům a aktivaci eosinofilů. Produkují protizánětlivé cytokiny, které stimulují diferenciaci Th2 lymfocytů a podporují alternativní aktivaci makrofágů. Th odpovědi jsou antagonistické

a zajišťují rovnováhu mezi pro- a protizánětlivými mechanismy (Reviews et al. 1989, Degen et al. 2005, Graham 2012).

Th17 buňky, charakteristické produkcí IL-17, regulují zánětlivou reakci a podílejí se na odstraňování mimobuněčných mikroparazitů, jejichž eliminace vyžaduje masivnější zánětlivou reakci než která je zprostředkovaná Th1 buněčnou odpovědí, zvýšenou stimulací efektorových buněk, hlavně neutrofilů nebo heterofilů (Korn et al. 2009, Fanning et al. 2009).

Po eliminaci patogenů je důležité, aby se omezily škodlivé důsledky imunitních reakcí a ničení vlastních tkání. Během akutního zánětu makrofágy, které jsou obvykle přítomné v tkáních, produkují zánětlivé prostaglandiny a leukotrieny, ale rychle přepnou na lipoxiny, které blokuje další nábor neutrofilů a místo toho upřednostňují monocyty důležité pro hojení ran (Serhan and Savill 2005). Monocyty, které se v tkáních mění na makrofágy, fagocytují poškozené buňky i odumřelé efektorové imunitní buňky a umožňují zahájení regenerace a remodelace tkáně (Epstein 1999).

III. Exprimované molekuly

V předchozí kapitole jsem popisovala zánět na buněčné úrovni. Buněčná aktivita je závislá na změnách genové exprese. V dalším textu chci popsat změny základních skupin molekul, které se uplatňují v detekci parazita, signalizaci i eliminaci patogenů. A proto v dalším textu budu popisovat změny v expresi vybraných skupin imunitních proteinů zmíněných v předchozí kapitole, které se uplatňují na detekci parazitů, signalizaci, regulaci i terminaci zánětlivé odpovědi.

III.1 Adhezivní molekuly

Adhezivní molekuly zajišťují zachycení leukocytů z krevního řečiště v místě zánětu a jejich pohyb přes stěnu vlásenice do zanícené tkáně (Cruse and Lewis 2009). První kontakt efektorového leukocytu a stěny cév je zprostředkován proteiny selektiny. Selektiny jsou rodina tří proteinů (L-, E-, a P-selektiny), které zajišťují zachycování leukocytů z krevního oběhu na stěnu vlásenic. To je první krok v kaskádě molekulárních interakcí vedoucích k extravazaci leukocytů, která umožňuje migraci efektorových leukocytů do zanícené tkáně (Vestweber and Blanks 1999). Kuru domácí má stejný počet selektinů, jako savci. (Kaiser 2007). L-selektin, nejmenší ze selektinů se nachází na většině leukocytů. Největší je P-selektin, exprimovaný na aktivovaných krevních destičkách a buňkách endotelu. E-selektin je exprimovaný na endotelových buňkách během chemicky nebo cytokiny vyvolaného zánětu. V průběhu savčí protizánětlivé odpovědi se přemísťují P-selektiny zevnitř buňky na povrch. Prozánětlivé cytokiny (například TNF) dále stimulují expresi E-selektinu a o pár hodin později také P-selektinu (Foxall et al. 1992).

Další adhezivní molekuly leukocytů integriny se váží na glykoproteiny skupiny ICAM (intercellular adhesion molecule) a VCAM (vascular cell adhesion molecule) na endotelu. Po aktivaci leukocytů se počet integrinů na povrchu buněk zdvojnásobí (Labrador et al. 2003). Molekuly ICAM a VCAM jsou obvykle na povrchu buněk, přítomnost prozánětlivých cytokinů jejich expresi dramaticky zvýší (Cotran et al. 1986, Carlos and Harlan 1994). U kuru domácího bylo detekováno méně typů integrinů než je běžné u savců, zastávají ale stejné funkce (Kaiser 2007).

III.2 PRRs – pattern recognition receptors

Rozpoznávání patogenů je závislé na receptorech nespecifické imunity, zvaných PRRs (Pålsson-McDermott and O'Neill 2007). Do skupiny PRRs se řadí několik typů molekul:

Toll-like receptory (TLRs), Nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing receptory (také známé jako NOD-like receptors, NLRs) a Retinoic acid-inducible gene-like receptory (zvané jako RIG-I-like receptors RLRs) (Pålsson-McDermott and O'Neill 2007). Na modelu kuru domácího byly studovány podrobně hlavně TLRs (Kaiser 2007), informace o struktuře dalších PRRs (hlavně NLRs and RLRs) kura domácího jsou hlavně predikce ze známé sekvence genomu (ICGSC 2004). Expres PRRs je buněčně i tkáňově specifická – produkce mnohých ptačích i savčích PRRs se mění po specifické stimulaci (Abasht et al. 2008, Ramasamy et al. 2010, Villanueva et al. 2011)

III.2.1 Toll-like receptory – TLRs

TLRs jsou transmembránové PRRs (Pålsson-McDermott and O'Neill 2007). Bylo popsáno 10 TLRs kuru domácího: TLR1LA, TLR1LB, TLR2A, TLR2B, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR15 and TLR 21 (Temperley et al. 2008). Není známý žádný další TLR15 ortolog, zdá se tedy, že je pro ptáky specifický (Higgs et al. 2006). Kromě TLR15 jsou přirozené ligandy známé nebo predikované na základě jejich homologie se savčími a váží virově, bakteriálně specifické ligandy i ligandy specifické pro houby, jako jsou lipopolysacharidy, flagellin, lipoproteiny nebo nukleové kyseliny (Kannaki et al. 2010).

Do TLR2 skupiny se obvykle řadí TLR1LA, TLR1LB, TLR2A, TLR2B molekuly. Ptačí TLR1 není pravým homologem k savčím, vyvinul se nezávisle, je tedy označován TLR1L (TLR1 like – podobný TLR1) (Temperley et al. 2008). Savčí TLR2 tvoří dimery s TLR1, a tento komplex spolu s dalšími faktory váže bakteriální tryacyl lipoproteiny. Geny pro TLR1L a TLR2 byly duplikovány v časně ptačí evoluci a v genomu v kura i v zebřičky se nachází geny pro TLR1La a TLR1Lb, TLR2a a TLR2b. Důležitost této duplikace vyžaduje další zkoumání, je ale možné, že mohou kompenzovat nepřítomnost homologů TLR6 a TLR1, které se vyskytují u savců (Brownlie and Allan 2011). Expres obou typů TLR2 vede k tvorbě molekulárního komplexu na membráně a k aktivaci prozánětlivého transkripčního faktoru NF- κ B v odpověď na navázání bakteriálních peptidoglykanů (PGN) a bakteriálních lipopolysacharidů (BLP) i protozoálních parazitů (Higuchi et al. 2008) (Uematsu and Akira 2008). Ptačí TLR2, obou typů, samostatně ukazují nižší schopnost aktivovat NF- κ B, na rozdíl od lidského TLR2 (Fukui et al. 2001). TLR1L a TLR2 obou typů je u ptáků exprimováno ve velké škále tkání (leukocyty, ledviny, játra, plíce, vejcovody, střeva a slezina), TLR2b o více než TLR2a (Fukui et al. 2001, Yilmaz et al. 2005, Iqbal et al. 2005a). Dále jsou exprimovány v izolovaných heterofilech, makrofázích, B a T lymfocytech i v makrofázích v buněčné

kultuře (Kogut et al. 2005b). Infikovaní jedinci kuru domácího bakterií *Salmonella enteritidis* mají zvýšenou expresi obou TLR2 (Abasht et al. 2008).

Virová dsRNA váže TLR3, který je na exprimován na membránách intracelulárních organelách (Schwarz et al. 2007, Karpala et al. 2008a). Po nákaze virem H5N1 ptačí chřipky u kuřete, jsou TLR3 i antivirový interferon β (IFN β) jsou signifikantně více produkované v mozku, slezině a v plicích. Expres mRNA TLR3 je nižší ve slezině než v mozku a v plicích (Karpala et al. 2008b).

TLR4 je exprimován na povrchu buněk a detekuje (spolu s komplexem dalších molekul, jako CD14 a MD2) bakteriální lipopolysacharid a další bakteriální a potencionálně i virové látky (Kogut et al. 2005a). Expres TLR4 se signifikantně zvyšuje po aplikaci LPS, ve srovnání s kontrolními zvířaty, kterým bylo aplikováno PBS. Předpokládá se, že epitelové buňky exprimující TLR 4 reagují na LPS z krevního oběhu a také na LPS přítomné na povrchu epitelu. Citlivost buněk na LPS se po zvýšené expresi TLR4 zvyšuje (Ozoe et al. 2009). Zvýšená expres TLR4 po infekci *Salmonellou enteritidis*, která může být TLR4 agonista, byla také zaznamenána v slepičím caecu (Higgs et al. 2006).

TLR5 se vyskytuje na vnější membráně buněk, u kuřat, stejně jako u savců a ryb váže TLR5 flagelin z bakteriálních bičků a aktivuje expresi RNA cytokinů (Iqbal et al. 2005b). Expres TLR5 mRNA v odpověď na infekci *Salmonellou enteritidis* je snižena ve slezině i v caecu (Abasht et al. 2008, 2009). Snižena expres TLR5 mRNA v caecu po infekci *Salmonellou enteritidis* může chránit buňky před přehnanou stimulací bakteriálním flagelinem (van Aubel et al. 2007).

TLR7 je lokalizován intracelulárně v endosomech a váže virovou ssRNA (Philbin et al. 2005). Expres kachního TLR7 je vysoká v lymfoidních tkáních, ve slezině a Fabriciově burze, a také v plicích. Nízká expres byla nalezena ve dvanáctníku, ledvinách a játrech, minimální expres v srdci a v mozku. V přítomnosti prozánětlivých cytokinů byla expres TLR7 výrazně zvýšená (MacDonald et al. 2008). Heterofily kuru domácího z některých komerčních linií odpovídají na stimulaci antagonisty TLR7 zvýšením produkce IFN- γ , zatímco jiné nikoliv (Kogut et al. 2006). Tyto údaje naznačují, že v některých komerčních liniích kuřat mohou TLR7 existovat jako funkční a nefunkční alely (pseudogeny), nebo mediátory navazující signální dráhy mohou být nefunkční v určité buňce nebo v drůbeží linii. Pokud se TLR 7 podílí na detekci chřipky u ptáků, pak rozdíly v tkáňové distribuci nebo funkci receptoru kachen a kuru mohou být důležité (MacDonald et al. 2008).

TLR15 orthology byly identifikovány ve čtyřech dostupných ptačích genomech (kur, kachna, krocan a zebřička), genový fragment TLR15 byl nalezen také v genomu ještěra

anolise rudokrkeho (Boyd et al. 2012). TLR15 váže proteiny specifické pro houby (de Zoete et al. 2011). TLR15 mRNA je produkován ve tkáních, nejvyšší hodnoty byly nalezeny v lymfoidních tkáních, v thymu a ve slezině, nižší signál byl detekován ve Fabriciově burze a ve střevech, nejvyšší hodnoty exprese z buněčných populací byly nalezeny v makrofázích. TLR15 exprese ve tkáních může odrážet relativní množství makrofágů, které obsahují (Boyd et al. 2012). Exprese byla prokázána v lymfoidních i nelymfoidních tkáních a je redukována v embryích a v mladých ptácích těsně po vylíhnutí (Brownlie et al. 2009; Higgs et al. 2006; Meade et al. 2009). Naopak zvýšená produkce TLR15 se objevuje po aplikaci CpG-ODNs a teplem zabitých bakterií rodu *Salmonella* i při infekci živých bakterií *Salmonella typhimurium* (Higgs et al. 2006, Nerren et al. 2010).

TLR21 u Kura domácího funguje jako analog k savčímu TLR9 - váže oligonukleotidy a zahajuje signalizaci vedoucí k Th1 imunitní odpovědi (He et al. 2012), zvyšuje produkci NO a prozánětlivých cytokinů (He et al. 2007, Brownlie et al. 2009, Nerren et al. 2010). Infekce způsobená bakterií *Campylobacter* zvyšuje TLR21 produkci, ale zároveň snižuje expresi genů pro antimikrobiální peptidy (Meade et al. 2009).

III.2.2 NOD-like receptors – NLRs a RIG-I-like receptors – RLRs

NLRs i RLRs jsou receptory nespecifické imunity vyskytující se v cytoplazmě buněk (Takeuchi and Akira 2010), které byly velmi málo studovány na ptačích modelech, přestože rozpoznávají struktury patogenů rozmnožujících se v cytosolu, včetně virových nukleových kyselin (Tattoli et al. 2007). RIG-I je RLR který rozeznává patogenní RNA transkripty, proto hraje důležitou roli v ochraně proti virům indukci protivirových cytokinů. RIG-I byl nalezen u kachen a pěnkv, ale chybí v buňkách kuru. Exprese RIG-I je výrazně zvýšená v plicích a střevech kachen nakažených pračí chřipkou (H5N1) (Barber et al. 2010), nedostatek tohoto proteinu by mohl vysvětlovat relativně nízkou rezistenci kuru domácího k onemocnění ptačí chřipkou ve srovnání s kachnami.

Nejzkoumanější NLRs jsou NOD1 a NOD2 receptory. Jsou aktivovány patogenními organismy, které se rozmnožují uvnitř buněk, jako například *Listeria* (Kanneganti et al. 2007). Savčí NOD1 je zodpovědný za rozpoznávání bakteriálních peptidoglykenů, produkce NOD1 je zvýšená při imunitní odpovědi na bakterii *Helicobacter pylori*, způsobující vředy v žaludku a dvanáctníku (Pálsson-McDermott and O'Neill 2007).

III.3 Cytokiny

Cytokiny jsou skupina rozpustných proteinových nebo peptidických mediátorů produkovaných buňkami aby regulovaly chování ostatních buněk. Hrají klíčovou roli v regulaci imunitních, včetně zánětlivých procesů. Ptačí a savčí cytokiny jsou si funkčně podobné, i když bývají strukturně rozdílné (Giansanti et al. 2006). V pracích zkoumající expresi cytokinů bývají živočišné i imunitní buňky stimulovány i patogeny nebo jejich částmi (např. lipopolysacharid, LPS) nebo mitogeny způsobujícími zánět, jako například lektiny phytohemagglutininem (PHA) nebo concanavalinem A (ConA) (Vinkler et al. 2010, Singh et al. 2012). Podle Giansantiho et al. (2006) se dají ptačí cytokiny pro přehlednost rozdělit do několika skupin: prozánětlivé cytokiny (IL-1 rodina, IL-6, IL-17 rodina), Th1 interleukiny (IL-2, -12, -15, -16, a IFN- γ), Th2 interleukiny (IL-3, -4, -5, -13), regulační cytokiny (TGF- β , IL-10). Tyto skupiny nejsou striktní ani rigidní, cytokiny mají často pleiotropní funkce (Giansanti et al. 2006).

III.3.1 Prozánětlivé cytokiny

Exprese genů z rodiny IL-1 v imunitní odpovědi kuru vede k prozánětlivé odpovědi a je produkován fagocyty a dalšími efektorovými buňkami na odpověď na virovou i bakteriální infekce (Laurent et al. 2001). Po indukci zánětu dochází k růstu exprese hlavně prvních 6 hodin, dosáhne nejvyšších hodnot mezi 6 and 12 hodinami po vyvolání zánětu a poté klesá (Hamal et al. 2010). V zánětlivé reakci vyvolané virovými i bakteriálními antigeny byla signifikantně zvýšená úroveň exprese v bursálních buňkách a splenocytech (Gibson et al. 2012). Zejména při virové infekci je výrazné zvýšení exprese IL-1 v makrofázích u ptáků trpících PEMS (Poultry enteritis and mortality syndrome) ve srovnání s negativní kontrolou (Heggen et al. 2000). Naopak po invazi *Salmonella* v buněčné kůře makrofágů se exprese těchto genů obecně snižuje (Kaiser et al. 2000). V rámci zprostředkování zánětlivých reakcí, IL-1 má srovnatelnou funkci se savčím. In vivo exprese IL-1 stoupá při zánětu vyvolaném lipopolysacharidem (LPS) (Klasing and Peng 1987).

Další cytokin z IL-1 rodiny je IL-18, který hraje důležitou roli v inicializaci zánětu. Savčí IL-18 indukuje buněčnou, Th1 asociovanou imunitní odpověď, v kombinaci s IL-12 (Biet et al. 2002). IL-18 kuru je silný aktivátor Th1 leukocytů, indukuje sekreci cytokinů, další proliferaci T lymfocytů a také zvyšují prezentaci na MHC II. třídy (Göbel et al. 2003). Transkripce IL-18 ve střevě kuru domácího se výrazně zvyšuje po primární infekci (Dalloul and Lillehoj 2006, Hong et al. 2006a). Výrazně zvýšená transkripce IL-18 byla objevena

v heterofilech zvířat odolných vůči nákaze bakterií *Salmonella enteritis* (Swaggerty et al. 2004).

U savců je multifunkční cytokin interleukin-6 (IL-6) produkován B a T lymfocyty, monocyty/makrofágy a endoteliálními buňkami (Van Snick 1990). IL-6 produkovány makrofágy významně v úvodní, nespecifické části zánětu, zároveň vyvolává proliferaci hematopoetických prekurzorů (Heinrich et al. 1990). Dále IL-6 stimuluje růst B lymfocytů a produkci imunoglobulinů (Kishimoto and Hirano 1988) a účastní se aktivace T lymfocytů a ve vývoji Th2 imunitní odpovědi (Rincon et al. 1997) a inhibici odpovědi typu Th1 (Diehl et al. 2000). Také je IL-6 schopný indukovat diferenciaci dendritických buněk na makrofágy (Chomarat et al. 2000). U ptáků byla prokázána prozánětlivá role IL-6 (Lynagh et al. 2000). Po invazi bakterií do tkáně (např. *Salmonella dublin*) produkce IL-6 indukuje silnou zánětlivou odpověď a dále aktivuje specifické i nespecifické mechanismy imunity (Kaiser et al. 2000). Zvýšená exprese IL-6 může zvyšovat množství heterofilů, kteří mohou efektně eliminovat mikroorganismy (Swaggerty et al. 2004). Stejně jako exprese IL-1, produkce IL-6 roste v prvních 6 hodinách, dosáhne nejvyšších hodnot mezi 6 and 12 hodinami po vyvolání zánětu a poté jeho exprese klesá (Hamal et al. 2010). Zvýšení exprese je také patrné v makrofázích izolovaných ze zvířat s trpícím virovým onemocněním PEMS (Heggen et al. 2000).

Interleukiny z rodiny IL-17 stimulují další tvorbu prozánětlivých cytokinů a dalších chemoatraktantů, jako jsou IL-6 a IL-8 a granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), které se podílejí na pohybu efektorových buněk (neutrofilů, T lymfocytů a dendritických buněk) do místa zánětu. Jsou produkovány pomocnými Th17 lymfocyty a také mitogenem aktivovanými fibroblasty (Fossiez et al. 1996, Nogales et al. 2008). Většina IL-17 má prozánětlivou funkci a indukují produkci prozánětlivých a regulačních cytokinů (Kawaguchi et al. 2004). Ptačí homology IL-17 jsou strukturálně i funkčně podobné se savčími (Min and Lillehoj 2002). Během zánětu vyvolaném kokcií *Eimeria* se jejich exprese výrazně zvyšuje v leukocytech ze zanícených tkání i v imunitních tkáních (Hong et al. 2006a, 2006b, 2008). Exprese stoupá také při infekci způsobené bakterií *Salmonella enterica* f. *enteritidis* (Crhanova et al. 2011) stejně jako u savců (Schulz et al. 2008).

U savců existují různé typy proteinů TNF (tumour necrosis factor), nejznámější jsou TNF α a TNF β (cachetin). TNF α je produkován LPS stimulovanými makrofágy, monocyty neutrofilů NK buňky a T lymfocyty, jeho exprese také byla detekovaná i ve tkáních. TNF β se přepisuje v mitogen aktivovaných makrofázích (Goetz et al. 2004). V ptačích makrofágách byla detekovaná cytotoxická aktivita podobná savčím TNF po infekci virem markovy

choroby, kokcidiemi i lipopolysacharidem (Zhang et al. 1995). Makrofágy kuru domácího s aktivitou podobnou TNF byly identifikovány díky jejich cytotoxické funkci, produkci NO a stimulaci MHC II třídy antigenů. Bylo také pozorováno, že obsah TNF α stoupá v buněčné kultuře kuřecích makrofágů po aktivaci LPS (Rautenschlein et al. 1999).

III.3.2 Th1 cytokiny

Ptačí (slepičí) IL-2 má stejně funkční vlastnosti jako savčí a to jako růstový faktor T-lymfocytů (Stepaniak et al. 1999) a dále preferenčně stimuluje buňky se zvýšenou cytotoxicitou (Choi and Lillehoj 2000). Během zánětu v ptačím střevě způsobeném vnitrobuněčným parazitem kokcidií *Eimeria* stoupá exprese IL-2 v leukocytech přítomných v epitelu dvanáctníku a i v lymfocytech ve slezině. Zvýšená exprese vede k lokální proliferaci efektorových a cytotoxických T-lymfocytů (Choi and Lillehoj 2000). Naopak infekce tkáňových kultur z ledvin a makrofágů kuru bakterií *Sallmonela* má velmi malý efekt na produkci IL-2, výjimkou je *S. enteritis*, při jejíž infekci se IL-2 snižuje (Kaiser et al. 2000).

IL-12, je produkován monocyty (D'Andrea 1992), makrofágy (Kato et al. 1996) a dendritickými buňkami (Sousa et al. 1997) a reguluje T lymfocyty a NK buňky (Cho et al. 1996). Dále je důležitý pro diferenciaci Th buněk na IFN- γ a TNF- α produkující Th1 lymfocyty a aktivaci proliferace T lymfocytů a NK buněk (Schopf et al. 1999) a zároveň inhibuje Th2 imunitní odpověď. Produkce IL-12 je u savců obecně omezená na APC (Trinchieri 2003). V LPS a Con A stimulovaných splenocytech kuru domácího byla navíc zjištěná zvýšená exprese IL-12 (Degen et al. 2004). Během infekce způsobené kokcidií *Eimeria tenella* nebyla patrná výrazná změna exprese IL-12 (Haritova and Stanilova 2012).

IL-15 je produkován fagocyty a dalšími buňkami v odpověď na virovou nebo parazitární infekci a při aktivaci LPS a dalšími zánět vyvolávajícími látkami. Ptačí IL-15 je analogní se savčím IL-2 stimuluje proliferaci T lymfocytů a NK buněk (Choi and Lillehoj 2000, Lillehoj et al. 2001). Po infekci kokcidií *Eimeria* se exprese v tkáňových lymfocytech střev zvyšuje více než 50x ve srovnání s negativní kontrolou. Dále se zvyšuje exprese také v T lymfocytech (Hong et al. 2006a, 2006b). IL-15 mRNA exprese bývá vyšší než IL-2 během časné nespecifické zánětlivé odpovědi na kokcidiózu ve střevech kura domácího, což naznačuje, že by IL-15 mohl být nahrazen IL-2 poté, co se aktivuje specifická imunitní odpověď (Hong et al. 2006b).

Interferon γ (IFN- γ) reguluje různé typy imunitních buněk a zasahuje do reakcí specifické i nespecifické imunity. Aktivuje prezentaci antigenů tím, že zvyšuje expresi MHC molekul I i II třídy a dalších receptorů. Dále také aktivuje makrofágy a zvyšuje jejich

mikrobicidní aktivitu u savců i ptáků (Weining et al. 1996). Během zánětlivé reakce vyvolané infekcí kokcidiemi rodu *Eimeria* exprese IFN- γ stoupá ve dvou vlnách v prvních dnech infekce (Rothwell et al. 2004, Hong et al. 2006b). Bezprostředně po vyvolání zánětu v plicích mechanicky celulózovými mikročásticemi exprese IFN- γ roste a zůstane zvýšená i po 12 hodinách (Hamal et al. 2010). Během zánětu způsobeného akutní virovou infekcí (NDV) se exprese IFN- γ zvyšuje do 24 hodin od infekce v imunitních tkáních střeva a ve slezině stejně jako u savců, ale bez současného posílení produkce Th2 cytokinů. Zvýšená expres IFN- γ ve slezině je spojená se snížením exprese IL-13 (Degen et al. 2005). Pokud je pták znovu nakažen stejným patogenem, hodnoty mRNA IFN- γ ve slezině jsou nižší (Beal et al. 2004).

Interferony (IFNs) I typu je velká rodina strukturně podobných cytokinů včetně IFN- α a IFN- β a fungují jako klíčové mediátory, aktivující obranyschopnost proti virům. IFN- γ je jediným interferonem II. Typu (Fensterl and Sen 2009). Rozpoznání virových nukleových kyselin buněčnými PRRs vede k produkci IFN I. typu (Fensterl and Sen 2009). Ty vyvolávají expresi genů, nazývaných IFN stimulované geny (ISGs) (Liu et al. 2011), jejichž transkripty zachovávají antivirový stav na IFN stimulovaných buňkách, dále mají antivirové účinky, některé také inhibují replikaci virů (Haller et al. 2010). IFN I. typu kuru domácího byl poprvé objeven jako protein, který je přepisován po aplikaci faktorů podporujících replikaci viru ptačí chřipky (Ank et al. 2006), dále je přepisován ve virově stimulovaných slepičích vejcích i v buňkách embryí. Také byl detekován ve slepičích splenocytech aktivovaných ConA (Heller et al. 1997).

IL-16 u savců funguje jako prozánětlivý multifunkční cytokin (Cruikshank 2000). Zvýšená exprese IL-16 byla zaznamenána u mnoha nemocí savců (Lee et al. 1998, Seegert et al. 2001). V kuru domácím je transkripce IL-16 omezená na lymfoidní tkáň a IL-16 má chemotaktickou aktivitu. Exprese IL-16 během primární infekce se příliš nemění, ale po sekundární infekci exprese mRNA výrazně stoupá (Hong et al. 2006a). Dále je IL-16 více exprimován ve Fabriciově burze ve srovnání s jinými lymfatickými tkáněmi, což naznačuje možnou účast IL-16 ve vývoji B lymfocytů (Min and Lillehoj 2002). Chemoatraktivní funkci IL-16 C-konec molekuly (Nicoll et al. 1999, Min and Lillehoj 2002).

III.3.3 Th2 cytokiny

T2 lymfocyty (klasicky definované jako řídicí buňky pro humorální imunitu) produkují specifické spektrum cytokinů mimo jiné interleukin-4 (IL-4), IL-5, a IL-13, které zajišťují imunitní reakce proti extracelulárním parazitům antigenům a podporují produkci protilátek (Asnagli and Murphy 2001). U savců je Th2 skupina cytokinů reprezentovaná

hlavně 5 členy IL-4 rodiny (Boulay 1992) IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, a GM-CSF (granulocytemacrophage colony-stimulating factor). Ve srovnání s Th2 odpovědí savců ptákům chybí některé důležité komponenty. Například kur domácí má jen velmi málo klasických (podle morfologie definovaných) eozinofilů a tyto neodpovídají na zánětlivé signály stejně jako ty savčí, také mají méně mastocytů a basofilů než savci (Maxwell 1984).

IL-3 a IL-4 mRNA se exprimuje v lymfoidních tkáních. V mitogeny aktivovaných buňkách lymfoidních tkání a v makrofázích je produkce mírně snižena ve srovnání s kontrolou (Avery et al. 2004). Při zánětu v plicích vyvolaném celulóзовými mikročásticemi exprese IL-4 roste a zůstane zvýšená i po 12 hodinách (Hamal et al. 2010). Kuřecí IL-5 je pravděpodobně pseudogen, protože jeho gen nemá rozpoznatelný promotor ani regulační sekvenci v 3' UTR. Exprese IL-13 mRNA byla detekována v lymfoidních tkáních kromě sleziny ale v menším množství než IL-3 a IL-4. GM-CSF mRNA byla zaznamenána ve Fabriciově burze, cecálních tonsilách a v kostní dřeni, ale ne ve slezině ani thymu. Exprese v přibližně stejném množství byla také zaznamenána v aktivovaných splenocytech a buněk Fabriciovy burzy (Avery et al. 2004). Při infekci hlísticí *Ascaridia galli*, známou vyvoláním Th2 imunitní odpovědi u savců (se zvýšenou produkcí IL-4 or IL-13). Nakažení jedinci měli po 14 dnech od infekce zvýšenou IL-4 a IL-13 mRNA expresi v ileální imunitní tkáni, méně výrazně ve slezině. V obou tkáních byla zároveň snižena exprese IFN- γ (Degen et al. 2005).

III.3.4 Regulační cytokiny

TGF- β je rodina cytokinů s pleiotropní funkcí nejen v imunitě. V genomu kuru byly nalezeny tři typy TGF- β 3 typů (Halper et al. 2004). Během zánětu mají komplexní funkce, jsou důležité pro diferenciaci T-lymfocytů, produkci protilátek, toleranci a potlačování imunitní reakce. TGF- β jsou spolu s IL-10 diferenciací faktory pro regulační T lymfocyty (Tregs) (Dardalhon et al. 2008) ale v přítomnosti IL-6 jsou důležité pro produkci IL-17 a diferenciaci Th17 lymfocytů (Volpe et al. 2008) Podle Ghoreschiho a spol (2010) se ale aktivace Th17 obejde bez účasti TGR- β , důležité je společné působení IL-6 a IL-23 a IL-1 β (Ghoreschi et al. 2010). Dále se podílí na vzniku IL-9 produkujících Th lymfocytů (Th9) (Dardalhon et al. 2008). V zaníceném střevě kura, infikovaného kokcií *Eimeria* stoupá exprese TGF- β ve tkáňových lymfocytech a také v buňkách sleziny (Jakowlew et al. 1997). Také při infekci salmonelou exprese TGF- β stoupá, u rezistentních linií kuru naopak klesá, čímž umožňuje rychle nastartovat akutní zánětlivou odpověď a efektivně eliminovat patogena (Swaggerty et al. 2004).

Savčí IL-10 produkuje řada efektorových buněk imunitního systému, včetně T a B lymfocytů, makrofágů, dendritických buněk, NK buněk neutronů, eozinofilů i mastocytů (Saraiva and O'Garra 2010). Na většinu imunitních buněk funguje IL-10 imunosupresivně, ale má opačný efekt na B-lymfocyty, podporuje jejich proliferaci a zabraňuje apoptóze. (Sabat et al., 2010). Konkrétně inhibuje syntézu prozánětlivých cytokinů, (včetně IL-1, TNF a IL-12) už na úrovni transkripce i postranskripčně, produkci NO a expresi MHC II třídy (Aste-Amezaga et al. 1998). Potlačuje tedy Th1 imunitní odpověď a tím zároveň podporuje Th2 imunitní odpověď (Groux et al. 1998). Některé biologické aktivity ptačího IL-10 jsou podobné savčím. IL-10 inhibuje expresi prozánětlivého IFN- γ v aktivovaných splenocytech. V ptácích citlivých k infekci kokcií *Eimeria* stoupla signifikantně exprese mRNA v zaníceném střevě, caecu, játrech a ve slezině. Rezistentní jedinci expresi zvýšenou nemají. Zdá se, že IL-10 má důležitou roli při změně Th odpovědi během infekce. (Rothwell et al. 2004). Klesající exprese IL-10 byla zjištěná po aplikaci sulfachlorpyrazinu (Haritova and Stanilova 2012).

IV. Závěr

V této práci jsem se snažila shrnout informace o průběhu zánětlivé reakce a o změnách exprese ptačích imunitních genů důležitých v jejím průběhu. Zánět je komplex imunitních reakcí využívající nescifické i specifické mechanismy imunitního systému. Zahrnuje reakce, které rozpoznávají poškození tkání patogeny, fyzikálně nebo chemicky. Dále vede k eliminaci patogenů a zhojení tkáně. Zánětlivá reakce probíhá ze začátku velmi uniformě, nescificky, pokud se však nepodaří patogeny rychle odstranit, začnou se aktivovat specifické mechanismy imunitního systému. Efektory zánětu jsou hlavně imunitní buňky, především leukocyty. Jejich aktivita je závislá na změnách genové exprese signálních i efektorových molekul.

Studium ptačího zánětu je důležité, ptáci jsou významným zdrojem potravin pro člověka, zároveň mohou být rezervoáry pro populace nakažlivých patogenů, proto je dobré znát podrobně jejich imunitní mechanismy. Jejich zánětlivé mechanismy často fungují jinak než savčí na buněčné i proteinové úrovni, avšak se stejným výsledkem, potlačením infekce a zahojením tkáně. Znalost funkce proteinů podílejících se na zánětlivé reakci může mít dále praktické využití při vývoji vakcín a jiných alternativ k širokému používání antibiotik (tyto proteiny mohou být použity jako pomocné látky) nebo při šlechtění linií drůbeže se zvýšenou rezistencí vůči nemocem.

V. Poděkování

Ráda bych poděkovala hlavně mému školiteli RNDr. Michalu Vinklerovi, PhD za čas, trpělivost a cenné rady. Dále děkuji své rodině a přátelům, kteří mě vždy velmi podporovali.

VI. Seznam zkratek

APC	Antigen prezentující buňka - antigen presenting cell
DAMPs	Damage associated molecular patterns
DC	dendritic cell – dendritická buňka
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ICAM	intercellular adhesion molecule
IL	Interleukin
IEL	Intraepithelial lymphocytes ()
MAMPs	Microbe associated molecular patterns
NLRs	Nod- like receptor, Nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing receptors
PAMPs	Pathogen associated molecular patterns
PRRs	pattern recognition receptors
TLRs	Toll-like receptor
VCAM	Vascular cell adhesion molekule
RLR	Retinoic acid-inducible gene-like receptors
RNA	Ribonukleová kyselina
mRNA	messenger RNA
IL	Interleukin
IFN	Interferon
TGF	tumor growing factor
TNF	tumor necrosis factor

VII. Literatura

- Abasht, B., M. G. Kaiser, and S. J. Lamont. 2008. Toll-like receptor gene expression in cecum and spleen of advanced intercross line chicks infected with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Veterinary immunology and immunopathology* 123:314–23.
- Abasht, B., M. G. Kaiser, J. van der Poel, and S. J. Lamont. 2009. Genetic lines differ in Toll-like receptor gene expression in spleens of chicks inoculated with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Poultry science* 88:744–9.
- Abbas, A. K., K. M. Murphy, and A. Sher. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 383:787–93.
- Allen, J. E., and T. a Wynn. 2011. Evolution of Th2 immunity: a rapid repair response to tissue destructive pathogens. *PLoS pathogens* 7:e1002003.
- Ank, N., H. West, C. Bartholdy, K. Eriksson, A. R. Thomsen, and S. R. Paludan. 2006. Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections in vivo. *Journal of virology* 80:4501–9.
- Ashley, N. T., Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2012. Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43:385–406.
- Asnagli, H., and K. M. Murphy. 2001. Stability and commitment in T helper cell development. *Current opinion in immunology* 13:242–7.
- Aste-Amezaga, M., X. Ma, a Sartori, and G. Trinchieri. 1998. Molecular mechanisms of the induction of IL-12 and its inhibition by IL-10. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 160:5936–44.
- Van Aubel, R. a M. H., a M. Kestra, D. J. E. B. Krooshoop, W. van Eden, and J. P. M. van Putten. 2007. Ligand-induced differential cross-regulation of Toll-like receptors 2, 4 and 5 in intestinal epithelial cells. *Molecular immunology* 44:3702–14.
- Avery, S., L. Rothwell, W. D. J. Degen, V. E. J. C. Schijns, J. Young, J. I. M. Kaufman, and P. Kaiser. 2004. Characterization of the First Nonmammalian T2 Cytokine Gene Cluster : The Cluster Contains Functional Single-Copy Another Cytokinelike Transcript , KK34 610:600–610.
- Barber, M. R. W., J. R. Aldridge, R. G. Webster, and K. E. Magor. 2010. Association of RIG-I with innate immunity of ducks to influenza. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:5913–8.
- Beal, R. K., C. Powers, P. Wigley, P. A. Barrow, and A. L. Smith. 2004. Temporal dynamics of the cellular, humoral and cytokine responses in chickens during primary and secondary infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A* 33:25–33.

- Bianchi, M. E. 2007. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Journal of leukocyte biology* 81:1–5.
- Biet, F., C. Locht, and L. Kremer. 2002. Immunoregulatory functions of interleukin 18 and its role in defense against bacterial pathogens. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 80:147–62.
- Boulay, J. 1992. The interleukin-4 family of lymphokines. *Current Opinion in Immunology* 4:294–298.
- Boyd, A. C., M. Y. Peroval, J. a Hammond, M. D. Prickett, J. R. Young, and A. L. Smith. 2012. TLR15 is unique to avian and reptilian lineages and recognizes a yeast-derived agonist. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 189:4930–8.
- Brownlie, R., and B. Allan. 2011. Avian toll-like receptors. *Cell and tissue research* 343:121–30.
- Brownlie, R., J. Zhu, B. Allan, G. K. Mutwiri, L. a Babiuk, A. Potter, and P. Griebel. 2009. Chicken TLR21 acts as a functional homologue to mammalian TLR9 in the recognition of CpG oligodeoxynucleotides. *Molecular immunology* 46:3163–70.
- Burns, A. R., D. C. Walker, E. S. Brown, L. T. Thurmon, R. A. Bowden, C. R. Keese, S. I. Simon, M. L. Entman, and C. W. Smith. 1997. Neutrophil transendothelial migration is independent of tight junctions and occurs preferentially at tricellular corners. *Journal of immunology* 159:2893–2903.
- Cinamon, G., V. Shinder, and R. Alon. 2001. Shear forces promote lymphocyte migration across vascular endothelium bearing apical chemokines. *Nature immunology* 2:515–22.
- Crhanova, M., H. Hradecka, M. Faldynova, M. Matulova, H. Havlickova, F. Sisak, and I. Rychlik. 2011. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar enteritidis infection. *Infection and immunity* 79:2755–63.
- Cruikshank, W. 2000. Interleukin-16. *Journal of Leukocyte ...* 67:757–66.
- Cruse, J. M., and R. E. Lewis. 2009. *Illustrated Dictionary of Immunology, Third Edition.* Page 816. . CRC Press.
- D’Andrea, a. 1992. Production of natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12) by peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Experimental Medicine* 176:1387–1398.
- Dalloul, R. a, and H. S. Lillehoj. 2006. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. *Expert review of vaccines* 5:143–63.
- Dangerfield, J., K. Y. Larbi, M.-T. Huang, a. Dewar, and S. Nourshargh. 2002. PECAM-1 (CD31) Homophilic Interaction Up-Regulates α 6 β 1 on Transmigrated Neutrophils In Vivo and Plays a Functional Role in the Ability of α 6 β 1 Integrins to Mediate Leukocyte Migration through the Perivascular Basement Membrane. *Journal of Experimental Medicine* 196:1201–1212.

- Dardalhon, V., A. Awasthi, H. Kwon, G. Galileos, W. Gao, R. A. Sobel, M. Mitsdoerffer, T. B. Strom, W. Elyaman, I.-C. Ho, S. Khoury, M. Oukka, and V. K. Kuchroo. 2008. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3⁺ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9⁺ IL-10⁺ Foxp3(-) effector T cells. *Nature immunology* 9:1347–55.
- Degen, W. G. J., N. Van Daal, L. Rothwell, P. Kaiser, and V. E. J. C. Schijns. 2005. Th1/Th2 polarization by viral and helminth infection in birds. *Veterinary microbiology* 105:163–7.
- Degen, W. G. J., N. van Daal, H. I. van Zuilekom, J. Burnside, and V. E. J. C. Schijns. 2004. Identification and molecular cloning of functional chicken IL-12. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 172:4371–80.
- Diehl, S., J. Anguita, A. Hoffmeyer, T. Zapton, J. N. Ihle, E. Fikrig, and M. Rincón. 2000. Inhibition of Th1 Differentiation by IL-6 Is Mediated by SOCS1. *Immunity* 13:805–815.
- Epstein, F. H. 1999. Cutaneous Wound Healing. *N Engl J Med* 341:738–746.
- Fanning, S. L., M. Y. Appel, S. a Berger, R. Korngold, and T. M. Friedman. 2009. The immunological impact of genetic drift in the B10.BR congenic inbred mouse strain. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 183:4261–72.
- Fensterl, V., and G. C. Sen. 2009. Interferons and viral infections. *BioFactors* (Oxford, England) 35:14–20.
- Fossiez, F., O. Djossou, P. Chomarat, L. Flores-Romo, S. Ait-Yahia, C. Maat, J. J. Pin, P. Garrone, E. Garcia, S. Saeland, D. Blanchard, C. Gaillard, B. Das Mahapatra, E. Rouvier, P. Golstein, J. Banchereau, and S. Lebecque. 1996. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *The Journal of experimental medicine* 183:2593–603.
- Foxall, C., S. R. Watson, D. Dowbenko, C. Fennie, L. a Lasky, M. Kiso, a Hasegawa, D. Asa, and B. K. Brandley. 1992. The three members of the selectin receptor family recognize a common carbohydrate epitope, the sialyl Lewis(x) oligosaccharide. *The Journal of cell biology* 117:895–902.
- Fukui, a, N. Inoue, M. Matsumoto, M. Nomura, K. Yamada, Y. Matsuda, K. Toyoshima, and T. Seya. 2001. Molecular cloning and functional characterization of chicken toll-like receptors. A single chicken toll covers multiple molecular patterns. *The Journal of biological chemistry* 276:47143–9.
- Ghoreschi, K., A. Laurence, X.-P. Yang, C. M. Tato, M. J. McGeachy, J. E. Konkel, H. L. Ramos, L. Wei, T. S. Davidson, N. Bouladoux, J. R. Grainger, Q. Chen, Y. Kanno, W. T. Watford, H.-W. Sun, G. Eberl, E. M. Shevach, Y. Belkaid, D. J. Cua, W. Chen, and J. J. O’Shea. 2010. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature* 467:967–71.
- Giansanti, F., M. F. Giardi, and D. Botti. 2006. Avian cytokines--an overview. *Current pharmaceutical design* 12:3083–99.

- Gibson, M. S., M. Fife, S. Bird, N. Salmon, and P. Kaiser. 2012. Identification, cloning, and functional characterization of the IL-1 receptor antagonist in the chicken reveal important differences between the chicken and mammals. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 189:539–50.
- Glimcher, L., and K. Murphy. 2000. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes & development* 14:1693–1711.
- Göbel, T. W., K. Schneider, B. Schaerer, I. Mejri, F. Puehler, S. Weigend, P. Staeheli, and B. Kaspers. 2003. IL-18 stimulates the proliferation and IFN-gamma release of CD4+ T cells in the chicken: conservation of a Th1-like system in a nonmammalian species. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 171:1809–15.
- Goerdts, S., and C. E. Orfanos. 1999. Other functions, other genes: alternative activation of antigen-presenting cells. *Immunity* 10:137–42.
- Goetz, F. W., J. V Planas, and S. MacKenzie. 2004. Tumor necrosis factors. *Developmental and comparative immunology* 28:487–97.
- Gopalan, P. K., a R. Burns, S. I. Simon, S. Sparks, L. V McIntire, and C. W. Smith. 2000. Preferential sites for stationary adhesion of neutrophils to cytokine-stimulated HUVEC under flow conditions. *Journal of leukocyte biology* 68:47–57.
- Goswami, R., and M. H. Kaplan. 2011. A brief history of IL-9. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 186:3283–8.
- Graham, A. L. 2012. When T - Helper Cells Don ' t Help : Immunopathology During Concomitant Infection Review by : Andrea L Graham *The Quarterly Review of Biology* , Vol . 77 , No . 4 (December 2002), pp . 409-434 Published by : The University of Chicago Press Stable URL : h 77:409–434.
- Groux, H., M. Bigler, J. E. de Vries, and M. G. Roncarolo. 1998. Inhibitory and stimulatory effects of IL-10 on human CD8+ T cells. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 160:3188–93.
- Haller, O., S. Gao, A. von der Malsburg, O. Daumke, and G. Kochs. 2010. Dynamin-like MxA GTPase: structural insights into oligomerization and implications for antiviral activity. *The Journal of biological chemistry* 285:28419–24.
- Halper, J., D. W. Burt, and M. N. Romanov. 2004. On Reassessment of the Chicken TGFB4 Gene as TGFB1. *Growth Factors* 22:121–122.
- Hamal, K. R., R. F. Wideman, N. B. Anthony, and G. F. Erf. 2010. Differential gene expression of proinflammatory chemokines and cytokines in lungs of ascites-resistant and -susceptible broiler chickens following intravenous cellulose microparticle injection. *Veterinary immunology and immunopathology* 133:250–5.
- Haritova, A. M., and S. A. Stanilova. 2012. Enhanced expression of IL-10 in contrast to IL-12B mRNA in poultry with experimental coccidiosis. *Experimental parasitology* 132:378–82.

- He, H., K. J. Genovese, D. J. Nisbet, and M. H. Kogut. 2007. Synergy of CpG oligodeoxynucleotide and double-stranded RNA (poly I:C) on nitric oxide induction in chicken peripheral blood monocytes. *Molecular immunology* 44:3234–42.
- He, H., K. J. Genovese, C. L. Swaggerty, K. M. MacKinnon, and M. H. Kogut. 2012. Co-stimulation with TLR3 and TLR21 ligands synergistically up-regulates Th1-cytokine IFN- γ and regulatory cytokine IL-10 expression in chicken monocytes. *Developmental and comparative immunology* 36:756–60.
- Heggen, C. L., M. a Qureshi, F. W. Edens, and H. J. Barnes. 2000. Alterations in Macrophage-Produced Cytokines and Nitrite Associated with Poult Enteritis and Mortality Syndrome. *Avian Diseases* 44:59.
- Heinrich, P. ;, J. ; Castell, and T. Andus. 1990. INTERLEUKIN-6 AND THE ACUTE PHASE RESPONSE. *Biochemical journal* 265:621–636.
- Heller, E. D., a M. Levy, R. Vaiman, and B. Schwartsburd. 1997. Chicken-embryo fibroblasts produce two types of interferon upon stimulation with Newcastle disease virus. *Veterinary immunology and immunopathology* 57:289–303.
- Higgs, R., P. Cormican, and S. Cahalane. 2006. Induction of a novel chicken Toll-like receptor following *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection. *Infection and Immunity* 74:1692–1698.
- Higuchi, M., A. Matsuo, M. Shingai, K. Shida, A. Ishii, K. Funami, Y. Suzuki, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. 2008. Combinational recognition of bacterial lipoproteins and peptidoglycan by chicken Toll-like receptor 2 subfamily. *Developmental and comparative immunology* 32:147–55.
- Hong, Y. H., H. S. Lillehoj, S. H. Lee, R. a Dalloul, and E. P. Lillehoj. 2006a. Analysis of chicken cytokine and chemokine gene expression following *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. *Veterinary immunology and immunopathology* 114:209–23.
- Hong, Y. H., H. S. Lillehoj, E. P. Lillehoj, and S. H. Lee. 2006b. Changes in immune-related gene expression and intestinal lymphocyte subpopulations following *Eimeria maxima* infection of chickens. *Veterinary immunology and immunopathology* 114:259–72.
- Hong, Y. H., H. S. Lillehoj, D. W. Park, S. H. Lee, J. Y. Han, J. H. Shin, M. S. Park, and J.-K. Kim. 2008. Cloning and functional characterization of chicken interleukin-17D. *Veterinary immunology and immunopathology* 126:1–8.
- Cho, D., W. J. Lee, P. J. Halloran, G. Trinchieri, and Y. B. Kim. 1996. Enhancement of porcine natural killer cell activity by recombinant human and murine IL-12. *Cellular immunology* 172:29–34.
- Choi, K. D., and H. S. Lillehoj. 2000. Role of chicken IL-2 on gammadelta T-cells and *Eimeria acervulina*-induced changes in intestinal IL-2 mRNA expression and gammadelta T-cells. *Veterinary immunology and immunopathology* 73:309–21.

- Chomarat, P., J. Banchereau, J. Davoust, and a K. Palucka. 2000. IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages. *Nature immunology* 1:510–4.
- ICGSC, (International Chicken Genome Sequencing Consortium); 2004. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432:695–716.
- Iqbal, M., V. J. Philbin, and A. L. Smith. 2005a. Expression patterns of chicken Toll-like receptor mRNA in tissues, immune cell subsets and cell lines. *Veterinary immunology and immunopathology* 104:117–27.
- Iqbal, M., V. J. Philbin, G. S. K. Withanage, P. Wigley, R. K. Beal, M. J. Goodchild, P. Barrow, I. McConnell, D. J. Maskell, J. Young, N. Bumstead, Y. Boyd, and A. L. Smith. 2005b. Identification and functional characterization of chicken toll-like receptor 5 reveals a fundamental role in the biology of infection with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Infection and immunity* 73:2344–50.
- Jakowlew, S. B., A. Mathias, and H. S. Lillehoj. 1997. Transforming growth factor- β isoforms in the developing chicken intestine and spleen: increase in transforming growth factor- β 4 with coccidia infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 55:321–339.
- Janeway, C. a, and R. Medzhitov. 2002. Innate immune recognition. *Annual review of immunology* 20:197–216.
- Juremalm, M., N. Olsson, and G. Nilsson. 2002. Selective CCL5/RANTES-induced mast cell migration through interactions with chemokine receptors CCR1 and CCR4. *Biochemical and biophysical research communications* 297:480–5.
- Kaiser, P. 2007. The avian immune genome--a glass half-full or half-empty? *Cytogenetic and genome research* 117:221–30.
- Kaiser, P., L. Rothwell, E. E. Galyov, P. A. Barrow, J. Burnside, and P. Wigley. 2000. Differential cytokine expression in avian cells in response to invasion by *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella gallinarum*. *Microbiology (Reading, England)* 146 Pt 12:3217–26.
- Kannaki, T. R., M. R. Reddy, M. Shanmugam, P. C. Verma, and R. P. Sharma. 2010. Chicken toll-like receptors and their role in immunity. *World's Poultry Science Journal* 66:727–738.
- Kanneganti, T.-D., M. Lamkanfi, and G. Núñez. 2007. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity* 27:549–59.
- Karpala, A. J., J. W. Lowenthal, and A. G. Bean. 2008a. Activation of the TLR3 pathway regulates IFN β production in chickens. *Developmental and comparative immunology* 32:435–44.

- Karpala, A. J., J. W. Lowenthal, and A. G. Bean. 2008b. Activation of the TLR3 pathway regulates IFN β production in chickens. *Developmental and comparative immunology* 32:435–44.
- Kato, T., R. Hakamada, H. Yamane, and H. Nariuchi. 1996. Induction of IL-12 p40 messenger RNA expression and IL-12 production of macrophages via CD40-CD40 ligand interaction. *Journal of immunology* 156:3932–3938.
- Kawaguchi, M., M. Adachi, N. Oda, F. Kokubu, and S.-K. Huang. 2004. IL-17 cytokine family. *The Journal of allergy and clinical immunology* 114:1265–73; quiz 1274.
- Kawai, T., and S. Akira. 2009. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *International immunology* 21:317–37.
- Kishimoto, T., and T. Hirano. 1988. Molecular Regulation Of B Lymphocyte Response. *Annual Review of Immunology* 6:485–512.
- Kitayama, J., a Hidemura, H. Saito, and H. Nagawa. 2000. Shear stress affects migration behavior of polymorphonuclear cells arrested on endothelium. *Cellular immunology* 203:39–46.
- Klasing, K. C., and R. K. Peng. 1987. Influence of cell sources, stimulating agents, and incubation conditions on release of interleukin-1 from chicken macrophages. *Developmental & Comparative Immunology* 11:385–394.
- Kogut, M. H., C. Swaggerty, H. He, I. Pevzner, and P. Kaiser. 2006. Toll-like receptor agonists stimulate differential functional activation and cytokine and chemokine gene expression in heterophils isolated from chickens with differential innate responses. *Microbes and infection / Institut Pasteur* 8:1866–74.
- Kogut, M., H. He, and P. Kaiser. 2005a. Lipopolysaccharide Binding Protein/CD14/TLR4-Dependent Recognition of Salmonella LPS Induces the Functional Activation of Chicken Heterophils and Up-Regulation of Pro-Inflammatory Cytokine and Chemokine Gene Expression in These Cells. *Animal Biotechnology* 16:165–181.
- Kogut, M., M. Iqbal, H. He, V. Philbin, P. Kaiser, and a Smith. 2005b. Expression and function of Toll-like receptors in chicken heterophils. *Developmental & Comparative Immunology* 29:791–807.
- Korn, T., E. Bettelli, M. Oukka, and V. K. Kuchroo. 2009. IL-17 and Th17 Cells. *Annual review of immunology* 27:485–517.
- Labrador, V., P. Riha, S. Muller, D. Dumas, X. Wang, and J. F. Stoltz. 2003. The strength of integrin binding between neutrophils and endothelial cells. *European biophysics journal : EBJ* 32:684–8.
- Laurent, F., R. Mancassola, S. Lacroix, R. Menezes, and M. Naciri. 2001. Analysis of chicken mucosal immune response to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* infection by quantitative reverse transcription-PCR. *Infection and immunity* 69:2527–34.

- Lee, S., H. Kaneko, I. Sekigawa, Y. Tokano, Y. Takasaki, and H. Hashimoto. 1998. Circulating interleukin-16 in systemic lupus erythematosus. *British journal of rheumatology* 37:1334–1337.
- Lillehoj, H. S., W. Min, K. D. Choi, U. S. Babu, J. Burnside, T. Miyamoto, B. M. Rosenthal, and E. P. Lillehoj. 2001. Molecular, cellular, and functional characterization of chicken cytokines homologous to mammalian IL-15 and IL-2. *Veterinary immunology and immunopathology* 82:229–44.
- Liu, S.-Y., D. J. Sanchez, and G. Cheng. 2011. New developments in the induction and antiviral effectors of type I interferon. *Current opinion in immunology* 23:57–64.
- Lynagh, G. R., M. Bailey, and P. Kaiser. 2000. Interleukin-6 is produced during both murine and avian *Eimeria* infections. *Veterinary immunology and immunopathology* 76:89–102.
- MacDonald, M. R. W., J. Xia, A. L. Smith, and K. E. Magor. 2008. The duck toll like receptor 7: genomic organization, expression and function. *Molecular immunology* 45:2055–61.
- Marchesi, V. 1961. The site of leucocyte emigration during inflammation. *Experimental Physiology* 46:115–&.
- Martin, E., and R. Hine. 2004. *A Dictionary of Biology (Oxford Dictionary of Biology)*. Page 730. Fourth Edi. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Matzinger, P. 2007. Friendly and dangerous signals: is the tissue in control? *Nature immunology* 8:11–3.
- Maxwell, M. 1984. Histochemical identification of tissue eosinophils in the inflammatory response of the fowl (*Gallus Domesticus*). *Research in veterinary science* 37:7–11.
- McGeachy, M. J., and D. J. Cua. 2008. Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity* 28:445–53.
- Meade, K. G., R. Higgs, A. T. Lloyd, S. Giles, and C. O'Farrelly. 2009. Differential antimicrobial peptide gene expression patterns during early chicken embryological development. *Developmental and comparative immunology* 33:516–24.
- Medzhitov, R. 2008. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454:428–35.
- Medzhitov, R., and C. a Janeway. 1997. Innate Immunity: The Virtues of a Nonclonal System of Recognition. *Cell* 91:295–298.
- Min, W., and H. S. Lillehoj. 2002. Isolation and characterization of chicken interleukin-17 cDNA. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 22:1123–8.
- Muller, W. a. 2002. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 82:521–33.

- Nathan, C. 2002. Points of control in inflammation. *Nature* 420:846–52.
- Nerren, J. R., H. He, K. Genovese, and M. H. Kogut. 2010. Expression of the avian-specific toll-like receptor 15 in chicken heterophils is mediated by gram-negative and gram-positive bacteria, but not TLR agonists. *Veterinary immunology and immunopathology* 136:151–6.
- Nicoll, J., W. W. Cruikshank, W. Brazer, Y. Liu, D. M. Center, and H. Kornfeld. 1999. Identification of domains in IL-16 critical for biological activity. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950) 163:1827–32.
- Nogales, K. E., L. C. Zaba, E. Guttman-Yassky, J. Fuentes-Duculan, M. Suárez-Fariñas, I. Cardinale, a Khatcherian, J. Gonzalez, K. C. Pierson, T. R. White, C. Pensabene, I. Coats, I. Novitskaya, M. a Lowes, and J. G. Krueger. 2008. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *The British journal of dermatology* 159:1092–102.
- Ozoe, A., N. Isobe, and Y. Yoshimura. 2009. Expression of Toll-like receptors (TLRs) and TLR4 response to lipopolysaccharide in hen oviduct. *Veterinary immunology and immunopathology* 127:259–68.
- Pålsson-McDermott, E. M., and L. A. J. O’Neill. 2007. Building an immune system from nine domains. *Biochemical Society transactions* 35:1437–44.
- Philbin, V. J., M. Iqbal, Y. Boyd, M. J. Goodchild, R. K. Beal, N. Bumstead, J. Young, and A. L. Smith. 2005. Identification and characterization of a functional, alternatively spliced Toll-like receptor 7 (TLR7) and genomic disruption of TLR8 in chickens. *Immunology* 114:507–21.
- Phillips, M., E. Nudelman, F. Gaeta, M. Perez, A. Singhal, S. Hakomori, and J. Paulson. 1990. ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, sialyl-Lex. *Science* 250:1130–1132.
- Ramasamy, K. T., M. R. Reddy, D. N. Raveendranathan, S. Murugesan, R. N. Chatterjee, R. Ullengala, and S. Haunshi. 2010. Differential expression of Toll-like receptor mRNA in White Leghorn and indigenous chicken of India. *Veterinary research communications* 34:633–9.
- Rautenschlein, S., a Subramanian, and J. M. Sharma. 1999. Bioactivities of a tumour necrosis-like factor released by chicken macrophages. *Developmental and comparative immunology* 23:629–40.
- Reviews, A., T. R. Mosmann, and R. L. Coffman. 1989. TH1 AND TH2 CELLS : Different Patterns of Lymphokine Secretion Lead to Different Functional Properties.
- Rincon, M., J. Anguita, T. Nakamura, E. Fikrig, and R. Flavell. 1997. Interleukin (IL)-6 Directs the Differentiation of IL-4-producing CD4+ T Cells. *Journal of Experimental Medicine* 185:461–470.

- Rothwell, L., J. R. Young, R. Zoorob, C. a Whittaker, P. Hesketh, A. Archer, A. L. Smith, and P. Kaiser. 2004. Cloning and characterization of chicken IL-10 and its role in the immune response to *Eimeria maxima*. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 173:2675–82.
- Rowley. 1996. The evolution of inflammatory mediators. *Mediators of inflammation*:3–13.
- Saraiva, M., and A. O’Garra. 2010. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nature reviews. Immunology* 10:170–81.
- Seegert, D., P. Rosenstiel, H. Pfahler, P. Pfefferkorn, S. Nikolaus, and S. Schreiber. 2001. Increased expression of IL-16 in inflammatory bowel disease. *Gut* 48:326–32.
- Serhan, C. N., and J. Savill. 2005. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature immunology* 6:1191–7.
- Schopf, L. R., J. L. Bliss, L. M. Lavigne, C. L. Chung, S. F. Wolf, and J. P. Sypek. 1999. Interleukin-12 is capable of generating an antigen-specific Th1-type response in the presence of an ongoing infection-driven Th2-type response. *Infection and immunity* 67:2166–71.
- Schulz, S. M., G. Köhler, N. Schütze, R. K. Straubinger, A. A. Chackerian, E. Witte, K. Wolk, R. Sabat, Y. Iwakura, C. Holscher, U. Müller, R. A. Kastelein, G. Alber, G. Ko, N. Schu, J. Knauer, and U. Mu. 2008. Is Associated with IL-23-Dependent IL-22 , but Not IL-17 1. *Journal of immunology* 181:7891–7901.
- Schwarz, H., K. Schneider, A. Ohnemus, M. Lavric, S. Kothlow, S. Bauer, B. Kaspers, and P. Staeheli. 2007. Chicken toll-like receptor 3 recognizes its cognate ligand when ectopically expressed in human cells. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 27:97–101.
- Singh, K. K., M. Kumar, P. Kumar, M. K. Gupta, D. K. Jha, S. Kumari, B. K. Roy, and S. Kumar. 2012. “Free” copper: a new endogenous chemical mediator of inflammation in birds. *Biological trace element research* 145:338–48.
- Van Snick, J. 1990. Interleukin-6: An Overview. *Annual Review of Immunology* 8:253–278.
- Sousa, C. R. e, S. Hieny, T. Scharton-Kersten, D. Jankovic, H. Charest, R. N. Germain, and A. Sher. 1997. In Vivo Microbial Stimulation Induces Rapid CD40 Ligand-independent Production of Interleukin 12 by Dendritic Cells and their Redistribution to T Cell Areas. *Journal of Experimental Medicine* 186:1819–1829.
- Stepaniak, J. a, J. E. Shuster, W. Hu, and R. S. Sundick. 1999. Production and in vitro characterization of recombinant chicken interleukin-2. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 19:515–26.

- Swaggerty, C. L., M. H. Kogut, P. J. Ferro, L. Rothwell, I. Y. Pevzner, and P. Kaiser. 2004. Differential cytokine mRNA expression in heterophils isolated from Salmonella-resistant and -susceptible chickens. *Immunology* 113:139–48.
- Takeuchi, O., and S. Akira. 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 140:805–20.
- Tattoli, I., L. H. Travassos, L. a Carneiro, J. G. Magalhaes, and S. E. Girardin. 2007. The Nodosome: Nod1 and Nod2 control bacterial infections and inflammation. *Seminars in immunopathology* 29:289–301.
- Temperley, N. D., S. Berlin, I. R. Paton, D. K. Griffin, and D. W. Burt. 2008. Evolution of the chicken Toll-like receptor gene family: a story of gene gain and gene loss. *BMC genomics* 9:62.
- Tracy, R. P. 2006. The Five Cardinal Signs of Inflammation : Calor, Dolor, Rubor, Tumor... and Penuria (Apologies to Aulus Cornelius Celsus, De medicina, c. AD 25). *The journal of gerontology: MEDICAL SCIENCES* 61A:1051–1052.
- Trinchieri, G. 2003. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature reviews. Immunology* 3:133–46.
- Vestweber, D., and J. E. Blanks. 1999. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiological reviews* 79:181–213.
- Villanueva, a. I., R. R. Kulkarni, and S. Sharif. 2011. Synthetic double-stranded RNA oligonucleotides are immunostimulatory for chicken spleen cells. *Developmental & Comparative Immunology* 35:28–34.
- Vinkler, M., H. Bainová, and T. Albrecht. 2010. Functional analysis of the skin-swelling response to phytohaemagglutinin. *Functional Ecology* 24:1081–1086.
- Volpe, E., N. Servant, R. Zollinger, S. I. Bogiatzi, P. Hupé, E. Barillot, and V. Soumelis. 2008. A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses. *Nature immunology* 9:650–7.
- Weining, K. C., U. Schultz, U. Münster, B. Kaspers, and P. Staeheli. 1996. Biological properties of recombinant chicken interferon-gamma. *European journal of immunology* 26:2440–7.
- Wen, H., M. a Schaller, Y. Dou, C. M. Hogaboam, and S. L. Kunkel. 2008. Dendritic cells at the interface of innate and acquired immunity: the role for epigenetic changes. *Journal of leukocyte biology* 83:439–46.
- Werr, J., X. Xie, P. Hedqvist, E. Ruoslahti, and L. Lindbom. 1998. beta1 integrins are critically involved in neutrophil locomotion in extravascular tissue In vivo. *The Journal of experimental medicine* 187:2091–6.

- Wynn, T. A. 2004. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nature reviews. Immunology* 4:583–94.
- Yilmaz, A., S. Shen, D. L. Adelson, S. Xavier, and J. J. Zhu. 2005. Identification and sequence analysis of chicken Toll-like receptors. *Immunogenetics* 56:743–53.
- Zhang, S., J. Lillehoj, and M. Ruff. 1995. Chicken Tumor Necrosis-Like factor 1. In-vitro production by macrophages stimulated with *Eimeria tennela* or bacterial lipopolysaccharideecros. *Poultry science* 74:1304–1310.
- De Zoete, M. R., L. I. Bouwman, A. M. Kestra, and J. P. M. van Putten. 2011. Cleavage and activation of a Toll-like receptor by microbial proteases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:4968–73.