

# Wirusy onkogenne u drobiu.

## Część III. Wirus choroby Mareka

Karolina Piekarska, Wojciech Kozdruń, Jowita Samanta Niczyporuk

z Zakładu Chorób Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Wśród onkogennych wirusów DNA, które indukują nowotworzenie komórek układu odpornościowego ptaków, najważniejszy jest wirus choroby Mareka (MDV). Ten wysoce zaraźliwy alfa-herpeswirus należący do rodzaju *Mardivirus* wywołuje u drobiu chłoniaki T-komórkowe o gwałtownym przebiegu (1). Indukcja guzów z limfocytów T u genetycznie podatnych ptaków następuje po silnej wczesnej infekcji cytolitycznej i okresie utajonej infekcji w limfocytach. Nie jest jasne, czy opóźnienie jest warunkiem wstępnym transformacji onkogenicnej docelowych komórek T. Mechanizmy molekularne, które napędzają latentnie zakażone komórki do transformacji, a następnie do agresywnej neoplazji, nie są w pełni poznane (2).

Genom MDV zawiera ponad 100 potencjalnych otwartych ramek odczytu (ORF), które obejmują zarówno unikalne dla MDV, jak i te, które są homologiczne do innych herpeswirusów. Porównania sekwencji całego genomu między zjadliwymi i atenuowanymi szczepami, wraz z analizą ekspresji genów wirusowych w liniach komórkowych pochodzących z guzów transformowanych MDV, wykazały, że geny w regionie powtórzeń genomu najprawdopodobniej będą związane z onkogennością. Obejmują one główne geny związane z onkogenezą, takie jak fragment MDV EcoRI-Q (MEQ), kodowana przez wirusa podjednostka telomerazy RNA (vTR) oraz szereg

### Poultry oncogenic viruses. Part III. Marek's disease virus

Piekarska K., Kozdruń W., Niczyporuk J.S., Department of Poultry Disease, National Veterinary Institute in Puławy

Chickens are the most important natural host for Marek's disease virus (MDV), cell-associated but readily transmitted alphaherpesvirus with lymphotropic properties of gammaherpesviruses. Marek's disease is a highly contagious viral disease of poultry characterized by T-cell lymphomas and peripheral nerve enlargement. Marek's disease is one of the most ubiquitous avian infections and is identified in chicken farms worldwide. Every flock, except for those maintained under strict pathogen-free conditions, is presumed to be infected. Marek's disease readily transmitted among chickens. The virus matures into a fully infective, enveloped form in the epithelial cells of the feather follicle, from which it is released into the environment. It may survive for months in poultry house litter or dust. Dust or dander from infected chickens is particularly effective in transmission. Once the virus is introduced into a chicken flock, regardless of the vaccination status, infection spreads quickly from bird to bird. Infected chickens continue to be carriers for long periods and act as sources of MD virus. Shedding of infectious virus can be reduced, but not prevented, by prior vaccination. MDV not vertically transmitted. Although clinical cases are not always apparent, a subclinical signs as decrease in growth rate and in egg production, may be economically important. Currently available vaccines are considered as protective.

**Keywords:** poultry, Marek's diseases, lymphomas, nerve enlargement.

mikroRNA. Niektóre niedawne badania wykazały krytyczną rolę tych determinant wirusowych w onkogenności (3, 4, 5).

Choroba Mareka (MD) jest limfoproliferacyjną chorobą kurcząt, rzadziej indyków, przepiórek i gęsi. Pierwotnie opisana w 1907 r. jako zapalenie wielonerwowe atakujące nerwy obwodowe, dopiero w 1926 r. rozpoznano chorobę nowotworową związaną z guzami w kilku narządach trzewnych. Chociaż MD występuje we wszystkich krajach produkujących drób na świecie, jej ekonomiczny wpływ na światowy przemysł drobiarski szacuje się na 1–2 mld USD rocznie (6). MD nie jest przenoszona pionowo przez zakażone jaja. Jednak pisklęta zarażają się wirusem niemal natychmiast po wykluciu się z silnie skażonych kurników. Do zakażenia piskląt dochodzi poprzez wdychanie zakażonego, złuszczonego nabłonka brodawek piór zakażonych ptaków. Pył ten może pozostawać zakaźny przez długi czas, ze względu na wysoką stabilność wirusa.

### Działanie immunosupresyjne

Immunosupresja związana z MDV jest często podzielona na wczesną fazę immunosupresji podczas infekcji cytolitycznej i późną fazę immunosupresji, kiedy wirus jest reaktywowany i rozwijają się nowotwory. Jedną z kluczowych cech wczesnej immunosupresji jest zniszczenie limfocytów T i B w wyniku początkowej replikacji wirusa w narządach limfatycznych oraz pojawienie się makrofagów supresorowych, które hamują replikację limfocytów w ciągu pierwszych dwóch tygodni infekcji, co może powodować stopniowy zanik grasicy oraz bursy Fabrycjusza (stan może to być trwały lub przejściowy, w zależności od patotypu MDV). Ponadto we wczesnej fazie IS dochodzi do obniżenia poziomu antygenów MHC klasy I i II, upośledzenia cytotoksycznych limfocytów T, obniżenia ekspresji CD8 w obwodowych limfocytach T, indukcji apoptozy w limfocytach T CD4+, długotrwałej limfopenii limfocytów B oraz produkcji wysokiego poziomu tlenu azotu (NO; 7, 8, 9).

Model patogenezy choroby Mareka, pierwotnie nakreślony przez Calneka i Schata, stanowi podstawę zrozumienia, w jaki sposób MDV powoduje wyczerpanie zarówno komórek B, jak i T. Ptaki zakażają się wirusem bezkomórkowym obecnym w brodawkach piór. Wirus jest przenoszony do narządów limfatycznych, prawdopodobnie przez makrofagi, i replikuje się najpierw w limfocytach B, powodując postępującą infekcję, w trakcie której namnażany jest związany z komórkami wirus choroby Mareka, a zakażone komórki są skazane na śmierć. Ta faza jest często określana jako faza cytolityczna (10, 11).

W wyniku produkcji antygenów wirusowych i późniejszej odpowiedzi immunologicznej komórki T ulegają aktywacji, pobudzając antygeny MHC klasy II i inne markery aktywacji. W przeciwieństwie do spoczynkowych limfocytów T aktywowane limfocyty T są podatne na infekcję MDV i ulegają zakażeniu. Zwykle MDV wywołuje utajoną infekcję w aktywowanych komórkach T (12).

Rolę w tym procesie najprawdopodobniej odgrywają cytokiny (7) i mikroRNA (13). W zależności od patotypu MDV i oporności genetycznej gospodarza utajenie może być trwałe, po którym tymczasowo następuje wtórny cykl cytolityczny i ponowna immunosupresja i/lub rozwój guza lub nieobecne, z ciągłą replikacją wirusa i często wczesną śmiertelnością.

Regulacja w górę receptorów IL-8 jest prawdopodobnie istotnym etapem przenoszenia związanego z komórkami MDV z limfocytów B do aktywowanych limfocytów T, umożliwiając wirusowej IL-8, wytwarzanej podczas infekcji litycznej, przyciąganie aktywowanych limfocytów T. Zwiększona infekcja cytolityczna, a tym samym zwiększone uszkodzenie narządów limfatycznych związane z niektórymi patotypami choroby, może być spowodowana bardziej efektywnym transferem MDV z limfocytów B do T z powodu zwiększonego poziomu produkcji vIL-8 (14). Wykazano, że szczepy vvMDV wytwarzały wyższe poziomy vIL-8 niż szczepy mniej zjadliwe, ale jest to prawdopodobnie konsekwencją zwiększonej replikacji wirusa, a nie wewnętrznej zdolności do zwiększania produkcji vIL-8 (15, 16).

Jak dotąd nie ustalono, które produkty genów MDV są odpowiedzialne za immunosupresję. Jest prawdopodobne, że gen SORF2 odgrywa pewną rolę (na podstawie dwóch badań wykorzystujących przeciwstawne strategie eksperymentalne). Mutanty delecyjne pozbawione kilku ORFs, w tym SORF2, powodowały zmniejszenie infekcji cytolitycznej bez zapobiegania powstawaniu zmian nowotworowych (17). Regulacja w górę ekspresji SORF2 poprzez wstawienie długiego końcowego powtórzania REV (LTR) skutkowało zwiększoną infekcją cytolityczną przy braku rozwoju nowotworu (18).

Oprócz niszczenia tkanek limfoidalnych MDV indukuje również supresję immunologiczną poprzez aktywację makrofagów, które były zdolne do hamowania mitogennej stymulacji limfocytów T uzyskanych z niezakażonych kurcząt (8). To hamowanie było prawdopodobnie konsekwencją indukowanej przez MDV produkcji NO przez makrofagi i miało raczej działanie ochronne niż immunosupresyjne poprzez zmniejszenie puli aktywowanych limfocytów T (7).

### Brodawki piór jako miejsce replikacji MDV

MDV był pierwszym i najszerzej przebadanym wirusem pod kątem obecności w piórach (19, 20, 21, 22). Wirus replikuje się w nabłonku brodawek piór, skąd rozprzestrzenia się poziomo w kurnikach z kurzem, nabłonkiem i piórami. Zakaźność wirusa bezkomórkowego w kurzu może być zablokowana przez komercyjne filtry powietrza i poprzez zachowanie ścisłej higieny w kurnikach (23). Rozprzestrzenianie się horyzontalne jest bardzo skuteczne, ponieważ jest możliwe poprzez zakażone komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego w skórze, które zwykle odrywają się wraz z wylinką lub podczas odnawiania skóry, a także poprzez kurz i łupież, dzięki czemu wirus jest wszechobecny (23, 24).

Po raz pierwszy kinetykę wydalania MDV przez amplifikację molekularną opisano w 1989 r. (25), gdzie użyto piór jako materiału wspomagającego w diagnostyce molekularnej stad towarowych (19). Następnie wyodrębniono całe wirusy z ekstraktów z końcówek piór za pomocą elektroforezy w polu pulsacyjnym i wykorzystano je do opracowania eksperymentalnego modelu zakażenia MDV przez powierzchnię śluzówki dróg oddechowych piskląt SPF oraz spojówkę oka (26).

Szczepionka przeciwko MDV była jedyną żywą szczepionką dla drobiu, której skuteczność badano, wykorzystując pióra. Obecność MDV wykazano w piórach eksperymentalnie zakażonych i szczepionych komercyjnie niosek w Australii (27, 28, 29).

### Funkcjonalne znaczenie epitopów konformacyjnych MDV. Białko immunodominujące

Biologicznie aktywne glikoproteiny błonowe są uznawane wśród herpeswirusów za białka immunogenne, które są ważne dla antygenowości wirusa, przyczepiania się do komórki, fuzji wirusa z błoną komórkową i innych specyficznych aktywności. Epitopy antygenowe immunodominujących antygenów MDV scharakteryzowano metodą immunoblottingu przy użyciu surowic kurcząt pochodzących od ptaków dotkniętych zakażeniem MDV oraz z obecnym nowotworem, i obejmują glikoproteiny A (gA) i B (gB; 30, 31, 32, 33).

Glikoproteina B jest homologiczna i konserwatywna w wielu herpeswirusach (31). Analizy genomowe oraz właściwości molekularne i antygenowe wskazują, że gB MDV jest homologiem gB HSV-1 (wirus opryszczki zwyczajnej; 34). MDV gB był opisany jako kompleks trzech glikoprotein: gp100, gp60 i gp49. Ponadto, przez immunoblotting ekstraktów komórkowych zakażonych MDV w warunkach minimalnej denaturacji (tj. bez ogrzewania lub redukcji 2-merkaptoetanolem przed rozdzielaniem SDS-PAGE) ujawniono, że MDV gB składa się z dwóch oligomerów o dużej masie cząsteczkowej  $\geq 300$  i 230 kDa (34). Bardziej zaawansowane badania ujawniły aktywność biologiczną MDV gB w konfiguracjach termostabilnych i termolabilnych w indukowaniu produkcji przeciwciał neutralizujących wirusy. Aktywność neutralizującą wirusy wykazano przy użyciu monospecyficznych przeciwciał przeciwko ogrzanemu i nieogrzewanemu oligomerycznemu gB MDV i HVT (35, 36). Termostabilne składniki gB MDV prezentowały epitopy neutralizujące ograniczone do szczepu i serotypu, ponieważ specyficzny wskaźnik neutralizacji reaktywności był najwyższy w przypadku komórek fibroblastów zarodka kurzego (CEF) zakażonych izolatem MDV serotypu 1. Ponadto przeciwciała monoswoiste neutralizowały MDV 3 serotypów w sposób swoisty dla serotypu, jako że najwyższe aktywności 3 przeciwciał monoswoistych, anti-200 kDa, anti-130 kDa i anti-60 kDa serotypu 1 ozdrowieńców reagowały z komórkami zakażonymi MDV serotypem 1 o wyższej aktywności właściwej niż z hodowlami komórkowymi

zakażonymi MDV serotypów 2 i 3. Monospecyficzne przeciwciała przeciwko termolabilnym oligomerom 230 kDa HVT (serotyp 3) i MDV-B (serotyp 1) neutralizowały komórki zakażone MDV serotypami w sposób ograniczony do serotypu, co wskazuje, że te oligomery prezentowały nieciągnięte epitopy neutralizujące (35, 36).

Wykazano, że gB MDV istnieje jako termolabilne oligomery, które w swojej natywnej postaci przypominają obecność gB HSV1, jako natywnej jednostki konformacyjnej na zakażonej błonie komórkowej. Opisano, że błonowy HSV gB składa się z nietrwałych termicznie wielu form oligomerycznych w zakresie 200–300 kDa (37) lub jako dimery (200 kDa) monomerów 110 kDa (38). Funkcje tych oligomerów w zakaźności wirusa obejmowały fuzję wirionu z błoną komórkową oraz tworzenie otoczki wirionu i kolców (38, 39, 40). W przeciwieństwie do ogromnej liczby badań nad właściwościami biologicznymi nieciągniętych epitopów konformacyjnych ludzkich herpeswirusów, badanie ciągniętych i nieciągniętych epitopów antygenowych ważnych dla infekcji wirusowej i ochrony weterynaryjnych herpeswirusów jest wciąż ograniczone.

### Onkogenność wirusa choroby Mareka

Odkrycie genu MDV meq w 1992 r. pozwoliło ustalić główny gen odpowiedzialny za onkogenność, obecnym w szczepach wirulentnych (41). Białko meq ma trans-aktywacyjną N-końcową zasadową domenę z zamkiem leucynowym i C-końcową domenę trans-represyjną bogatą w prolinę (42, 43, 44, 45). W aktywności genu meq pośredniczy jego dimeryzacja z samym sobą, jak również z białkami podobnymi do c-Jun, takimi jak JunB, c-Jun i c-Fos. C-końiec genu meq wiąże się również z komórkowymi czynnikami transkrypcyjnymi biorącymi udział w podziale komórkowym i regulacji cyklu komórkowego, takimi jak SNF, ATF, CREB i HB-EGF (44). Białko meq oddziałuje również z białkami bez domeny zamka leucynowego, takimi jak komórkowe supresory nowotworów p53, gen siatkowczaka, kinaza cyklinozależna 2 i białko szoku cieplnego Hsp70 (46, 47, 48).

Pomimo raczej niskiego tempa ewolucji wirusów z dwuniciowym DNA (dsDNA; 49, 50, 51, 52), stwierdzono, że gen meq ewoluuje znacznie szybciej niż większość genów w wirusach dsDNA (53, 54), równoległe ze stopniową ewolucją wirulencji MDV (54, 55). Oprócz informacji epidemiologicznych sekwencja genu meq ujawniła ewolucję zależną geograficznie (53).

Stwierdzono również, że białko meq może fizycznie i potencjalnie funkcjonalnie oddziaływać z białkiem apoptyny wirusa zakaźnej anemii kurcząt (CAV), transaktywując transkrypcję CAV (56). CAV jest ważnym ekonomicznie immunosupresorem, który wywołuje liczne upadki, anemię, limfopenię i atrofię narządów limfatycznych. Molekularne podstawy interakcji MDV-CAV są nadal niejasne i nieznanne. Prawdopodobnie białko MDV

meq oddziałuje i hamuje białko apoptyny CAV, promując transformację komórkową i tworzenie guzów nowotworowych.

### Objawy kliniczne zakażenia

Objawy kliniczne związane z MD różnią się i można je ogólnie podzielić na różne postacie kliniczne w oparciu o różne cechy. W prawie wszystkich przypadkach obejmują one nacieki limfoidalne do tkanek prowadzących do powstawania guzów, klasycznej postaci choroby występują głównie zmiany nerwowe, a śmiertelność rzadko przekracza 10–15% w ciągu kilku tygodni lub wielu miesięcy. Objawy mogą się różnić w zależności od osobnika, jak również w zależności od zaatakowania różnych nerwów. Najczęstszym objawem jest częściowy lub całkowity paraliż nóg i skrzydeł oraz kręczy szyi, jeśli choroba atakuje nerwy szyjne. Podobnie zajęcie nerwu błędnego może spowodować paraliż i rozszerzenie wola. Takie ptaki mogą również wykazywać objawy duszności i niewydolności oddechowej. Dochodzi do wyraźnego zróżnicowania stada. W większości przypadków zakażenia MDV w obrazie sekcyjnym widoczne jest powiększenie nerwów obwodowych, pogrubienie ściany żołądka gruczołowego, zmiany o charakterze nowotworowym w narządach mięsnych.

W ostrej postaci choroby, w której zwykle dochodzi do powstawania chłoniaków w narządach trzewnych, zapadalność wynosi często 10–30%, a w dużych ogniskach może wzrosnąć do 70%. Oprócz ogólnych objawów, takich jak depresja, utrata masy ciała, jadłowstręt i biegunka, objawy kliniczne są mniej wyraźne. Śmiertelność może gwałtownie wzrosnąć w ciągu kilku tygodni, a następnie ustać lub może utrzymywać się na stałym poziomie, czy też spadać przez kilka miesięcy.

Ostra choroba, obserwowana w przypadku niektórych bardzo zjadliwych szczepów wirusa MD (vvMDV), objawia się ciężką atrofią narządów limfatycznych (57). Ta postać choroby, czasami określana jako „zespół wczesnej śmiertelności”, skutkuje bardzo wysoką śmiertelnością, zwykle w wieku 10–14 dni. Przejściowy paraliż jest raczej rzadką manifestacją zakażenia MDV, która pojawia się w wieku 5–18 tygodni. U chorych ptaków pojawia się ataksja, niedowład lub paraliż nóg, skrzydeł i szyi. Choroba jest powszechnie obserwowana 8–12 dni po zakażeniu, zwykle trwa tylko ok. 24–48 godzin i towarzyszy jej obrzęk mózgu. Zajęte narządy wykazują nacieki limfatyczne, których stopień naciekania koreluje z objawami choroby.

### Odpowiedź immunologiczna

Podobnie jak w przypadku większości innych patogenów, zakażenia MDV prowadzą do aktywacji mechanizmów wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Jednak MDV ma również silne działanie immunosupresyjne na gospodarza. Dlatego nie można przecenić równowagi między odpowiedziami immunologicznymi a immunosupresją; zaburzenie równowagi w kierunku immunosupresji często

prowadzi do choroby. Odpowiedzi immunologiczne rozwijające się podczas wczesnej fazy cytolitycznej są kluczowe dla wyniku infekcji, ponieważ jakiegokolwiek upóźnienie odpowiedzi immunologicznej podczas tej fazy może opóźnić ustanowienie latencji, przedłużając cytolityczne niszczenie komórek odpornościowych przez apoptozę wywołaną wirusem. Odpowiedzi immunologiczne podczas fazy utajenia są również ważne dla zapobiegania wystąpieniu chłoniaków.

Uważa się, że odporność wywołana szczepionką jest przede wszystkim odpowiedzią przeciwnowotworową, ponieważ szczepionki MDV nie zapobiegają zakażeniu wirusem. Jednak szczepionki zmniejszają infekcję cytolityczną, zapobiegając w ten sposób rozległym uszkodzeniom układu odpornościowego, poprzez ciągłe niszczenie komórek odpornościowych. Wrodzone odpowiedzi immunologiczne poprzez receptory Toll-podobne i komórki NK wykazano u ptaków zakażonych MDV (58, 59, 60, 61). W tym kontekście należy wziąć pod uwagę regulację w dół MHC typu I przez produkt genu MDV UL49.5 i jego potencjalny wpływ na wirulencję w sposób specyficzny dla haplotypu, szczególnie w wyzwalaniu odpowiedzi komórek NK (62). Wrodzone odpowiedzi immunologiczne przeciwko MDV obejmują również zmiany w ekspresji cytokin, które skutkują zwiększeniem liczby cytokin prozapalnych napędzających odpowiedź typu Th1, z wyższymi poziomami obserwowanymi w genetycznie opornych liniach podczas wczesnej infekcji (63). Odpowiedź typu Th1 indukuje zwiększoną transkrypcję indukowalnej syntazy tlenu azotu II (iNOS), jak również zwiększoną aktywność komórek NK i makrofagów (64). Wykazano również, że interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) pozytywnie wpływa na odporność uzyskaną po szczepieniu przeciwko MD (65). Zwiększona ekspresja IFN- $\gamma$  i IL-10 po szczepieniu nasiliła naciek limfocytów T do płuc (66).

Uważa się, że znaczenie humoralnej odpowiedzi immunologicznej w odporności na MD jest stosunkowo niewielkie ze względu na charakter wirusa silnie związany z komórkami. Jednak obecność przeciwciał matczynych może opóźnić replikację wirusa i zakłócać odporność wywołaną przez szczepionkę. Przeciwciała neutralizujące wirusy mogą być indukowane przez szczepienie/infekcję MD i uważa się, że są one głównie skierowane przeciwko antygenom, takim jak glikoproteina B. Odpowiedzi komórkowe za pośrednictwem specyficznych CTL zostały zidentyfikowane jako krytyczne składniki odporności na MD. Kluczową rolę limfocytów T CD8+ w kontrolowaniu zakażenia MDV potwierdzono przy użyciu kurcząt z niedoborem CD8 (67). Rola ograniczonych do MHC, specyficznych dla antygeny CTL w odpowiedziach immunologicznych przeciwko MD, została wykazana przy użyciu linii komórek limfoblastoidalnych zdefiniowanych przez MHC transformowanych REV, które stabilnie wyrażają poszczególne geny MDV, takie jak fosfoproteina (pp)38, glikoproteina (g) B, gC, gH, gE, gI, MEQ, białko zakażonej komórki (ICP)4 i ICP27 (64).

## Immunoprofilaktyka

Wyjątkowe cechy epidemiologiczne MD, w tym wysoce zaraźliwy charakter i szerokie rozpowszechnienie oraz długotrwała zakaźność środowiska kur-nika, sprawiają, że jej wyeliminowanie jest prawie niemożliwe. W związku z tym kontrola zasadniczo opiera się na szczepieniach zapobiegawczych, chociaż jako dodatkowe środki można zastosować poprawę bezpieczeństwa biologicznego i odporności genetycznej. Opracowanie szczepionek MD było znaczącym przełomem zarówno w medycynie ptaków, jak i podstawowych badaniach nad rakiem, ponieważ był to pierwszy przykład choroby nowotworowej kontrolowanej przez powszechne stosowanie immunoprofilaktyki (68, 69, 70).

W chorobie Mareka często sugeruje się, że odporność wywołana szczepionką jest głównie odpowiedzią przeciwnowotworową, chociaż szczepionki mają również wyraźny wpływ na redukcję wczesnej infekcji cytolitycznej. Wykazano regresję guzów MD jako dowód odporności przeciwnowotworowej (71), chociaż mechanizmy w dużej mierze pozostają niejasne. Określona przez MHC klasa I odporność kurcząt B21 na rozwój zmian guzowatych MD została dobrze udokumentowana w kilku badaniach. Niedawne badania strukturalne wykazujące niezwykle silnie dodatnio naładowaną powierzchnię i niezwykle wąski rowek ograniczający liczbę peptydów, które mogą wiązać cząsteczkę MHC klasy I podatnego haplotypu B4 (72), silnie sugerują rolę odpowiedzi CTL ograniczonej do MHC w leczeniu przeciwnowotworowym. Na komórkach transformowanych MDV zidentyfikowano grupę antygenów, ogólnie określanych jako antygeny związane z chorobą Mareka (MATSA), z których większość była markerami aktywacji limfocytów T (73). Jednym z MATSA, rozpoznawanym przez przeciwciała monoklonalne AV37, jest kurzy homolog CD30, członka rodziny receptora czynnika martwicy nowotworów II (TNFR II; 74, 75). Zwiększona ekspresja CD30 na komórkach nowotworowych transformowanych MDV jest prawdopodobnie spowodowana hipometylacją (76), a wykrycie specyficznych odpowiedzi immunologicznych anty-CD30 u zakażonych kurcząt opornych na MD sugeruje, że odporność na CD30 może być mechanizmem odpowiedzi przeciwnowotworowych przeciwko chłoniakom MD (77).

Żywe atenuowane szczepionki, zwykle podawane jako szczepionka komórkowa jednodniowym pisklętom w wylęgarni, zapewnia ochronę przed naturalnym zakażeniem ze strony środowiska kur-nika. Wraz z wprowadzeniem metod immunizacji *in ovo* coraz więcej ptaków jest szczepionych tą drogą (78). Szczepionki MD, pochodzące ze wszystkich trzech serotypów MDV, są bardzo skuteczne, często osiągają blisko 100% ochronę w warunkach komercyjnych. Najszerzej stosowana szczepionka serotypu 1 pochodzi ze szczepu CVI988/Rispens i jest skuteczna przeciwko większości patotypów vvMDV i vv+MDV (79). Antygenowo spokrewnione szczepu serotypu 2, takie jak SB-1 i 301B/1, są

również szeroko stosowane w wielu krajach. Serotyp 3 FC-126 szczepu HVT jest dostępny w postaci bezkomórkowej i związanej z komórką. Chociaż wiele z tych szczepionek jest skutecznych pojedynczo, koncepcja synergizmu ochronnego (80) doprowadziła do powszechnego stosowania szczepionek poliwalentnych z dwoma lub większą liczbą szczepów podawanych jednocześnie. Rekombinowane szczepionki oparte na wektorach HVT i pokswirusach są coraz częściej stosowane w celu zapewnienia podwójnej ochrony przed MD i innymi ptasimi chorobami wirusowymi (78, 81). Chociaż szczepionki przeciw MD są ogólnie skuteczne w kontrolowaniu strat, mogą wystąpić niepowodzenia z powodu niewłaściwego użycia szczepionki, ekspozycja na wirusy przed rozwinięciem się odporności, interferencja przeciwciał matczynych oraz pojawienie się zjadliwych wirusów, które mogą przełamać odporność (79, 82).

## Rekombinacja molekularna z udziałem MDV

Zakażenia wirusowe kurcząt z udziałem MDV mogą umożliwiać wymianę genetyczną między wirusami koinfekcyjnymi. Przypadki związane z MDV i dodatkowym wirusem DNA obejmują trzy badania na kurach. Pierwsze badanie opisuje rekombinację molekularną wirusa ospy drobiu (FPV; 83) i MDV (84). Chociaż tempo rekombinacji DNA ma być nawet niższe niż zakażenia, które obejmują rekombinację w wirusach RNA, Brunovskis i Velicer (84) dostarczyli dowodów na to, że kilka genów FPV ma homologi w genomie MDV.

Drugie badanie, które ujawniło konkretne znaczenie przypadków rekombinacji molekularnej *in vivo* między wirusami DNA, zostało pokazane w przypadku rekombinacji, które wystąpiły między żywymi szczepionkami przeciwko zakaźnemu zapaleniu krtani i tchawicy (ILTV), krążącymi jednocześnie w Australii (australijskimi szczepionkami A20 i SA2 ILTV) oraz w Europie (europejską szczepionką Serva ILTV; 85). Za pomocą analizy Simplota zidentyfikowano dwa punkty krzyżowania odpowiadające regionom rekombinacji w dopasowaniu genomu. W wyniku rekombinacji molekularnej dwa zjadliwe rekombinowane wirusy były związane z epidemiami powodującymi śmiertelność do 17,6%.

W trzecim badaniu wykorzystano sekwencjonowanie nowej generacji, które ułatwiło wykazanie przypadków rekombinacji molekularnej dość często u ludzi i zwierzęcych alfa-herpeswirusów (86). Wykazano przypadki rekombinacji między zjadliwymi oraz szczepionkowymi szczepami MDV i powiązano je z wpływem na ewolucję wirusa poprzez zmianę presji selekcyjnych i rozprzestrzenianie się zjadliwych szczepów. MDV bierze udział w interakcjach molekularnych między wirusami DNA i RNA. Integracja sekwencji retrowirusa z genomem wirusa opryszczki została udokumentowana *in vitro* przez współinfekcję kultur CEF MDV i retrowirusami, wirusem retikuloendoteliozy (REV) i wirusem białaczki ptaków (ALV; 87, 88, 89, 90, 91), i opisana

przez Kawaguchi i Mikami (92), Bronovskis i Kung (93) oraz Kung (94).

Przez wspólną hodowlę MDV i REV w tej samej szalce do hodowli tkankowej Jones i in. (91) stworzyli pierwszego rekombinowanego wirusa, RM1, który scharakteryzowano zarówno molekularnie, jak i biologicznie jako mający zmienioną replikację *in vitro* i właściwości biologiczne *in vivo* (95). RM1 został nazwany przy użyciu inicjałów jego dwóch wirusów progenitorowych, REV i MDV. Jednak wspólna hodowla MDV z jednym z retrowirusów nie jest jedynym mechanizmem, dzięki któremu retrowirusy rekombinują z MDV. Sakaguchi i in. (96) oraz Niikura i in. (32) opisali integrację retrowirusowych LTR z MDV nie w wyniku wspólnej hodowli obu wirusów, ale w wyniku utrzymywania hodowli w komórkach gospodarza, które zawierały ptasie endogenne wirusy. Proces rekombinacji retrowirusa z MDV zachodzi, ponieważ retrowirusy integrują się z dowolnym dwuniciowym (ds) DNA w celu replikacji. LTR były przeważnie integrowane w klastry skupione na połączeniach między unikalnymi (długimi lub krótkimi) a końcowymi lub wewnętrznymi powtórzonymi fragmentami MDV (TRL i TRS oraz IRL i IRS; 93). Wykazanie stosunkowo wydajnego powstawania *in vitro* rekombinowanych wirusów nasuwa pytanie, czy retrowirusy również integrują się z wirusami DNA *in vivo*. Gdyby taki proces miał miejsce, mogłyby wystąpić poważne konsekwencje; rekombinowany MDV może mieć zmienione właściwości biologiczne, a względnie znane cechy związane z infekcją tymi wirusami mogą ulec zmianie, powodując nieznanne i nieprzewidywalne wzorce choroby. Przypuszczalne cechy, w przypadku których zmiany mogą mieć znaczenie biologiczne, takie jak patogenność, rozprzestrzenianie się wirusa, antygenowość i immunogenność, mogą ulec kompletnym zmianom. Zmiany w tych dwóch ostatnich mogą prowadzić do zmian w zdolności określonych szczepionek do ochrony przed zakażeniem.

Przeprowadzono badania z wykorzystaniem ptaków hodowlanych, które nabyły naturalnie mieszane infekcje, kurczęta zakażone eksperymentalnie prototypowymi szczepami MDV i ALV-J oraz kurczęta komercyjne zakażone eksperymentalnie wirusem uzyskanym z przypadków podwójnej infekcji MDV i ALV-J w tym samym stadzie handlowym (1). Okazuje się, że przypadki integracyjne zachodziły z różną szybkością w zależności od zastosowanego systemu eksperymentalnego. W stadach handlowych zdarzenia rekombinacji molekularnej wystąpiły w ok. 2,5% z 2926 próbek DNA (6). Adaptacja wirusa do warunków laboratoryjnych wydawała się zwiększać szybkość integracji LTR retrowirusa z MDV. Po raz pierwszy koinfekcja MDV każdym z trzech ptasich retrowirusów, REV, ALV i ALV-J, spowodowała integrację LTR retrowirusa z MDV *in vivo*, jak również *in vitro* (6), prowadząc do powstania wielu typów chimericznych quasi-gatunków u podwójnie zakażonych ptaków. Ponieważ DNA zostało wyekstrahowane z wielu komórek, nie można było stwierdzić, czy reprezentuje to

prawdziwy quasi-gatunek w pojedynczej komórce, czy też unikalne integracje, które miały miejsce w różnych komórkach.

Zhang i in. (57) wykazali spontaniczną rekombinację MDV i retrowirusów w chińskich stadach komercyjnych. Ekstrapolacja systemów *in vitro* i *in vivo* nie jest prosta, ponieważ istnieją zmienne zakłócające, takie jak wpływ odpowiedzi immunologicznych gospodarza i różnych typów komórek docelowych.

## Piśmiennictwo

- Osterrieder N., Kamil J.P., Schumacher D., Tischer B.K., Trapp S.: Marek's disease virus: from miasma to model. *Nat. Rev. Microbiol.* 2006, 4, 283–294.
- Nair V., Kung H.J.: Marek's disease virus oncogenicity: molecular mechanisms. W: F. Davison, V. Nair (Eds.): *Marek's Disease, An Evolving Problem*, Elsevier Academic Press, Oxford. 2004, 32–48.
- Lupiani B., Lee L.F., Cui X., Gimeno L., Anderson A., Morgan R.W., Silva R.F., Witter R.L., Kung H.J., Reddy S.M.: Marek's disease virus-encoded Meq gene is involved in transformation of lymphocytes but is dispensable for replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004, 101, 11815–11820.
- Kaufner B.B., Arndt S., Trapp S., Osterrieder N., Jarosinski K.W.: Herpesvirus telomerase RNA (vTR) with a mutated template sequence abrogates herpesvirus-induced lymphomagenesis. *PLoS Pathog.* 2011, 7, e1002333.
- Zhao Y., Xu H., Yao Y., Smith L.P., Kgosana L., Green J., Petherbridge L., Baigent S.J., Nair V.: Critical role of the virus-encoded microRNA-155 ortholog in the induction of Marek's disease lymphomas. *PLoS Pathog.* 2011, 7, e1001305.
- Morrow C., Fehler F.: Marek's disease: a worldwide problem. I. Davison, V. Nair (Eds.), *Marek's Disease, An Evolving Problem*, Elsevier Academic Press, Oxford. 2004, 49–61.
- Schat K.A., Markowski-Grimsrud C.J.: Immune responses to Marek's disease virus infection. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2001, 255, 91–120.
- Lee L.F., Sharma J.M., Nazerian K., Witter R.L.: Suppression of mitogen-induced proliferation of normal spleen cells by macrophages from chickens inoculated with Marek's disease virus. *J. Immunol.* 1978, 120, 1554–1559.
- Yu C., Liu Q., Qin A., Hu X., Xu W., Qian K., Shao H., Jin W.: Expression kinetics of chicken B2-microglobulin and Class I MHC in vivo and in vivo during Marek's disease viral infections. *Vet. Res. Commun.* 2013, 37, 277–283.
- Calnek B.W.: Marek's disease - a model for herpesvirus oncology. *Crit. Rev. Microbiol.* 1986, 12, 293–320.
- Schat K.A.: Marek's disease: A model for protection against herpesvirus-induced tumours. *Cancer Surv.* 1987, 6, 1–37.
- Morgan R.W., Xie Q., Cantello J.L., Miles A.M., Bernberg E.L., Kent J., Anderson A.: Marek's disease virus latency. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2001, 255, 223–243.
- Morgan R.W., Burnside J.: Roles of avian herpesvirus microRNAs in infection, latency, and oncogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 2011, 1809, 654–659.
- Parcells M.S., Lin S.F., Dienglewicz R.L., Majerciak V., Robinson D.R., Chen H.C., Wu Z., DUBYAK G.R., Brunovskis P., Hunt H.D., Lee L.F., Kung, H.J.: Marek's disease virus (MDV) encodes an interleukin-8 homolog (vIL-8): characterization of the vIL-8 protein and a vIL-8 deletion mutant MDV. *J. Virol.* 2001, 75, 5159–5173.
- Jarosinski K.W., O'Connell P.H., Schat K.A.: Impact of deletions within the Bam HI-L fragment of attenuated Marek's disease virus on vIL-8 expression and the newly identified transcript of open reading frame LORF4. *Virus Genes.* 2003, 26, 255–269.
- Yunis R., Jarosinski K.W., Schat K.A.: Association between rate of viral genome replication and virulence of Marek's disease herpesvirus strains. *Virology.* 2004, 328, 142–150.
- Parcells M.S., Anderson A.S., Morgan R.W.: Retention of oncogenicity by a Marek's disease virus mutant lacking six unique short region genes. *J. Virol.* 1995, 69, 7888–7898.
- Witter R.L., Li D., Jones D., Lee, L.F., Kung H.J.: Retroviral insertional mutagenesis of a herpesvirus: a Marek's disease virus mutant attenuated for oncogenicity but not for immunosuppression or in vivo replication. *Avian Dis.* 1997, 41, 407–421.
- Davidson I.: Diverse uses of feathers with emphasis on diagnosis of avian viral infections and vaccine virus monitoring. *Braz. J. Vet. Sci.* 2009, 11, 139–148

20. Davidson I., Natour A.-A., Raibstein I., Kin, E., Dahan, Y., Krispin H., Elkin N.: Monitoring the uptake of live avian vaccines by their detection in feathers. *Vaccines* 2018, **36**, 637–643.
21. Davidson I., Shimshon Y., Natour A.-A.: Vaccine uptake evaluation using feathers—In real practice. *Isr. J. Vet. Med.* 2018, **73**, 7–13.
22. Couteaudier M., Denesvre C.: Marek's disease virus and skin interactions. *Vet. Res.* 2014, **45**, 35–48.
23. Calnek B.W., Adldinger H.K., Kahn D.E.: Feather follicle epithelium: A source of enveloped and infectious cell-free herpesvirus from Marek's disease. *Avian Dis.* 1970, **14**, 219–233.
24. Jarosinski K.W., Arndt S., Kaufner B.B., Osterrieder N.: Fluorescently Tagged pUL47 of Marek's disease virus reveals differential tissue expression of the tegument protein In Vivo. *J. Virol.* 2016, **86**, 2428–2436.
25. Malkinson M., Davidson I., Strenger C., Weisman Y., Maray T., Levy H., Becker Y.: Kinetics of the appearance of Marek's disease virus (MDV) DNA and antigens in the feathers of chickens infected with virulent MDV field isolates as measured by AGP, ELISA and dot-blot hybridization. *Avian Pathol.* 1989, **18**, 735–744.
26. Davidson I., Borenshtain R.: Novel applications of feather tip extracts from MDV-infected chickens; diagnosis of commercial broilers, whole genome separation by PFGE and synchronic mucosal infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2003, **38**, 199–203.
27. Ralapanawe S., Walkden-Brown S.W., Islam A.F., Renz K.G.: Effects of Rispons CVI988 vaccination followed by challenge with Marek's disease viruses of differing virulence on the replication kinetics and shedding of the vaccine and challenge viruses. *Vet. Microbiol.* 2016, **183**, 21–29.
28. Ralapanawe S., Walkden S.W.-B., Renz K.G., Fakrul A.F.M.-I.: Protection provided by Rispons CVI988 against Marek's disease virus isolates of different pathotypes and early prediction of vaccine take and MD outcome. *Avian Pathol.* 2016, **45**, 26–37.
29. Ralapanawe S., Renz K.G., Burgess S.K., Walkden S.W.-B.: Field studies of the detection, persistence and spread of the Rispons CVI988 vaccine virus and the extent of co-infection with Marek's disease virus. *Aust. Vet. J.* 2016, **94**, 329–337.
30. Davidson I., Malkinson M., Becker Y.: Marek's Disease virus, serotype 1, antigens A and B and unglycosylated precursors detected by Western blot analysis in infected cells. *Virus Genes* 1988, **2**, 5–18.
31. Chen, X., Velicer L.F.: Expression of Marek's disease virus homolog of HSV1 glycoprotein B in *E. coli* and its identification as B antigen. *J. Virol.* 1992, **66**, 4390–4398.
32. Niikura M., Matsuura Y., Endoh D., Onuma M., Mikami T.: Expression of the Marek's disease virus (MDV) homolog of glycoprotein B of herpes simplex virus by a recombinant baculovirus and its identification as the B antigen (gp100, gp60, gp49) of MDV. *J. Virol.* 1992, **66**, 2631–2638.
33. Yanagida N., Ogawa R., Li Y., Lee L.F., Nazerian K.: Recombinant fowlpox viruses expressing the glycoprotein B homolog and the pp38 gene of Marek's disease virus. *J. Virol.* 1992, **66**, 1402–1408.
34. Davidson I., Tanaka A., Nonoyama M.: Common antigenic epitopes are present on heat-labile oligomers of MDV glycoprotein B and on HSV glycoprotein B. *Virus Res.* 1995, **35**, 233–245.
35. Malkinson M., Davidson I., Becker Y.: Antigen B of the vaccine strains of Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys presents heat-labile group and serotype-specific epitopes. *Arch. Virol.* 1992, **127**, 169–184.
36. Davidson I., Becker Y., Malkinson M.: Monospecific antibodies to Marek's disease virus antigen B dimer (200 kDa) and monomer (130 and 60 kDa) glycoproteins neutralize virus infectivity and detect the antigen B proteins in infected cell membranes. *Arch. Virol.* 1991, **121**, 125–139.
37. Claesson-Welsh L., Spear P.G.: Oligomerization of herpes simplex virus glycoprotein B. *J. Virol.* 1986, **60**, 803–806.
38. Highlander S.L., Goins W.F., Person S., Holland T.C., Levine M., Glorioso J.C.: Oligomer formation of the gB glycoprotein of herpes simplex virus type 1. *J. Virol.* 1991, **65**, 4275–4283.
39. Fuller A.D., Spear P.D.: Specificities of monoclonal and polyclonal antibodies that inhibit absorption of herpes simplex to cells and lack of inhibition by potent neutralizing antibodies. *J. Virol.* 1985, **55**, 475–482.
40. Spear P.G., Wittels M., Fuller A.O., WuDunon D., Johnson R.: Herpes simplex virus: Pathway of entry into cells. W: *Cell Biology of Virus Entry, Replication and Pathogenesis*; Liss, E., Ed.; Plenum: New York, NY, USA, 1989, 163–175.
41. Stannard L.M., Fuller A.O., Spear P.G.: Herpes simplex virus glycoprotein associated with different morphological entities projecting from the virus envelope. *J. Gen. Virol.* 1987, **68**, 715–725.
42. Jones D., Lee L., Liu J.L., Kung H.J., Tillotson J.K.: Marek disease virus encodes a basic-leucine zipper gene resembling the fos/jun oncogenes that is highly expressed in lymphoblastoid tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, **89**, 4042–4046.
43. Qian Z., Brunovskis P., Rauscher F., Lee L., Kung H.J.: Transactivation activity of Meq, a Marek's disease herpesvirus bZIP protein persistently expressed in latently infected transformed T cells. *J. Virol.* 1995, **69**, 4037–4044.
44. Ross N.L.: T-cell transformation by Marek's disease virus. *Trends Microbiol.* 1999, **7**, 22–29.
45. Liu J.L., Lin S.F., Xia L., Brunovskis P., Li D., Davidson I., Lee L.F., Kung H.J.: MEQ and V-IL8: Cellular genes in disguise? *Acta Virol.* 2000, **43**, 94–101.
46. Brown A.C., Baigent S.J., Smith L.P., Chattoo J.P., Petherbridge L.J., Hawes P., Allday M.J., Nair V.: Interaction of MEQ protein and C-terminal-binding protein is critical for induction of lymphomas by Marek's disease virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006, **103**, 1687–1692.
47. Deng X., Li X., Shen Y., Qiu Y., Shi Z., Shao D., Jin Y., Tricoli A., Ding C., Li L.: The Meq oncoprotein of Marek's disease virus interacts with p53 and inhibits its transcriptional and apoptotic activities. *Viral J.* 2010, **7**, 348.
48. Lee L.F., Liu J.-L., Cui X.-P., Kung H.-J.: Marek's disease virus latent protein MEQ: Delineation of an epitope in the BR1 domain involved in nuclear localization. *Virus Genes* 2003, **27**, 211–218.
49. Dully S., Shackelton L. A., Holmes E.C.: Rates of evolutionary change in viruses: Patterns and determinants. *Nat. Rev. Genet.* 2008, **9**, 267–276.
50. Firth C., Kitchen A., Shapiro B., Suchard M.A., Holmes E.C., Rambaut A.: Using Time-Structured Data to Estimate Evolutionary Rates of Double-Stranded DNA Viruses. *Mol. Biol. Evol.* 2010, **27**, 2038–2051.
51. Holmes E. C.: What Does Virus Evolution Tell Us about Virus Origins? *J. Virol.* 2011, **85**, 5247–5251.
52. Padhi A., Parcells M.S.: Positive Selection Drives Rapid Evolution of the meq Oncogene of Marek's Disease Virus. *PLoS ONE* 2016, **11**, e0162180
53. Trimpert J., Gronke N., Jenckel M., He S., Kunec D., Szpara M.L., Spatz S.J., Osterrieder N., McMahon D.P.: A phylogenomic analysis of Marek's disease virus reveals independent paths to virulence in Euroasia and North America. *Evol. Appl.* 2017, **10**, 1091–1101.
54. Schat K.A., Baranowski E.: Animal vaccination and the evolution of viral pathogens. *Rev. Sci. Tech. l'OIIE.* 2007, **26**, 327–338.
55. Shamblin C.E., Greene N., Arumugaswami V., Dienglewicz R.L., Parcells M.S.: Comparative analysis of Marek's disease virus (MDV) glycoprotein-, lytic antigen pp38- and transformation antigen Meq-encoding genes: Association of meq mutations with MDVs of high virulence. *Vet. Microbiol.* 2004, **102**, 147–167.
56. Brown A.C., Reddy V.R., Lee J., Nair V.: Marek's disease virus oncoprotein Meq physically interacts with the chicken infectious anemia virus-encoded apoptotic protein apoptin. *Oncotarget* 2018, **9**, 28910–28920.
57. Gimeno L.M., Witter R.L., Cortes A.L., Reed W.M.: Replication ability of three highly protective Marek's disease vaccines: implications in lymphoid organ atrophy and protection. *Avian Pathol.* 2011, **40**, 573–579.
58. Abdul-Careem M.F., Haq K., Shanmuganathan S., Read L.R., Schat K.A., Heidari M., Sharif S.: Induction of innate host responses in the lungs of chickens following infection with a very virulent strain of Marek's disease virus. *Virology* 2009, **393**, 250–257.
59. Parvizi P., Mallick A.I., Haq K., Haghghi H.R., Orouji S., Thantrige-Don N., St Paul M., Brisbin J.T., Read L.R., Behboudi S., Sharif S.: A toll-like receptor 3 ligand enhances protective effects of vaccination against Marek's disease virus and hinders tumor development in chickens. *Viral Immunol.* 2012, **25**, 394–401.
60. Sharma J.M.: Natural killer cell activity in chickens exposed to Marek's disease virus: inhibition of activity in susceptible chickens and enhancement of activity in resistant and vaccinated chickens. *Avian Dis.* 1981, **25**, 882–893.
61. Garcia-Camacho L., Schat K.A., Brooks R.J., Bounous D.I.: Early cell-mediated immune responses to Marek's disease virus in two chicken lines with defined major histocompatibility complex antigens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003, **95**, 145–153.
62. Jarosinski K.W., Hunt H.D., Osterrieder N.: Down-regulation of MHC class I by the Marek's disease virus (MDV) UL49.5 gene product mildly affects virulence in a haplotype-specific fashion. *Virology.* 2010, **405**, 457–463.
63. Jarosinski K.W., Njaa B.L., O'Connell P.H., Schat K.A.: Pro-inflammatory responses in chicken spleen and brain tissues after infection with very virulent plus Marek's disease virus. *Viral Immunol.* 2005, **18**, 148–161.
64. Schat K.A., Xing Z.: Specific and nonspecific immune responses to Marek's disease virus. *Dev. Comp. Immunol.* 2000, **24**, 201–221.
65. Haq K., Elawadli I., Parvizi P., Mallick A.I., Behboudi S., Sharif S.: Interferon-gamma influences immunity elicited by vaccines against very virulent Marek's disease virus. *Antiviral. Res.* 2011, **90**, 218–226.
66. K. Haq, Abdul-Careem M. F., Shanmuganathan S., Thantrige-Don N., Read L.R., Sharif S.: Vaccine-induced host responses against very virulent Marek's disease virus infection in the lungs of chickens. *Vaccine.* 2010, **28**, 5565–5572.

67. Morimura T., Ohashi K., Sugimoto C., Onuma M.: Pathogenesis of Marek's disease (MD) and possible mechanisms of immunity induced by MD vaccine. *J. Vet. Med. Sci.* 1998, **60**, 1–8.
68. Calnek B.W.: Gordon memorial lecture. Chicken neoplasia – a model for cancer research. *Br. Poultry Sci.*, 1992, **33**, 3–16.
69. Biggs P.M., Nair V.: The long view: 40 years of Marek's disease research and avian pathology. *Avian Pathol.* 2012, **41**, 3–9.
70. Witter R.L.: Review: vaccines and vaccination against Marek's disease B.W. Calnek, J.L. Spencer (Eds.), Proceedings International Symposium Marek's Diseases, American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, PA. 1985, 482–500.
71. Burgess S.C., Nair V.K.: Anti-tumor immune responses after infection with the Marek's disease and avian leukosis oncogenic viruses of poultry. W: T. Matthew (Ed.): *Modern Concepts of Immunology in Veterinary Medicine–Poultry Immunology*, Thajema Publishers, New Jersey. 2002.
72. Zhang J., Chen Y., Qi J., Gao F., Liu Y., Liu J., Zhou X., Kaufman J., Xia C., Gao G.F.: Narrow groove and restricted anchors of MHC class I molecule BF2\*0401 plus peptide transporter restriction can explain disease susceptibility of B4 chickens *J. Immunol.* 2012, **189**, 4478–4487
73. Matsuda H., Ikuta K., Miyamoto H., Kato S.: Demonstration of a Marek's disease tumor-associated surface antigen (MATSA) on six cell lines derived from Marek's disease lymphomas. *Biken J.* 1976, **19**, 119–123.
74. Burgess S.C., Davison T.F.: Identification of the neoplastically transformed cells in Marek's disease herpesvirus-induced lymphomas: recognition by the monoclonal antibody AV37. *J. Virol.* 2002, **76**, 7276–7292.
75. Burgess S.C., Young J.R., Baaten B.J., Hunt L., Ross L.N., Parcels M.S., Kumar P.M., Tregaskes C.A., Lee L.F., Davison T.F. Marek's disease is a natural model for lymphomas overexpressing Hodgkin's disease antigen (CD30). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004, **101**, 13879–13884.
76. Zhang W., Qu L., Xu G., Lian L., Zheng J., Yang N. Hypomethylation upregulates the expression of CD30 in lymphoma induced by Marek's disease virus. *Poultry Sci.* 2012, **91**, 1610–1618.
77. Kumar S., Kunec D., Buza J. J., Chiang H.L., Zhou H., Subramaniam S., Pendarvis K., Cheng H. H., Burgess S. C.: Nuclear Factor kappa B is central to Marek's disease herpesvirus induced neoplastic transformation of CD30 expressing lymphocytes in-vivo *BMC. Syst. Biol.* 2012, **6**, 123.
78. Bublot M., Sharma J.: Vaccination against Marek's disease. W: F. Davison, V. Nair (Eds.): *W Elsevier Academic Press*, Amsterdam. 2004, 168–185.
79. Witter R.L.: Marek's disease vaccines – past, present and future (Chicken vs virus – a battle of the centuries) W: K.A. Schat, R.W. Morgan, M.S. Parcels, J.L. Spencer (Eds.). W: *Current Progress on Marek's Disease Research*, American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, PA. 2001, 1–9.
80. Witter R.L., Lee Polyvalent L.F.: Marek's disease vaccines: safety, efficacy and protective synergism in chickens with maternal antibodies *Avian Pathol.* 1984, **13**, 75–92.
81. Bublot M., Pritchard N., Le Gros F.X., Goutebroze S.: Use of a vectored vaccine against infectious bursal disease of chickens in the face of high-titred maternally derived antibody. *J. Comp. Pathol.* 2007, **137** (Suppl 1), 81–84.
82. Nair V.: Evolution of Marek's disease – A paradigm for incessant race between the pathogen and the host. *Vet. J.* 2005, **170**, 175–183.
83. Gautier R., Jiang A., Rousseau V., Dornburg R., Jaffredo T.: Avian reticuloendotheliosis virus strain A and spleen necrosis virus do not infect human cells. *J Virol.* 2000, **74**, 518–522.
84. Diallo I.S., MacKenzie M.A., Spradbrow P.B., Robinson W.F.: Field isolates of fowlpox virus contaminated with reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathol.* 1998, **27**, 60–66.
85. Lupiani B., Lee L.F., Kreager K.S., Witter R.L., Reddy S.M.: Insertion of reticuloendotheliosis virus long terminal repeat into the genome of CVI988 strain of Marek's disease virus results in enhanced growth and protection. *Avian Dis.* 2013, **57**, 427–431.
86. Mays J.K., Silva R.F., Kim T., Fadly A.M.: Insertion of reticuloendotheliosis virus long terminal repeat into a bacterial artificial chromosome clone of a very virulent Marek's disease virus alters its pathogenicity. *Avian Pathol.* 2012, **41**, 259–265.
87. Bagust T.J.: Reticuloendotheliosis virus. W: *Virus Infections of Birds*. J.B. McFerran and M. S. McNulty, ed., Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 1993, 437–454.
88. Sun A., Petherbridge L., Zhao Y., Li Y., Nair V.K., Cui Z.: A BAC clone of MDV strain GX0101 with REV-LTR integration retained its pathogenicity. *Chin Sci Bull.* 2010, **54**, 2641–2647.
89. El-Sebelgy M.M., Ahmed B.M., Ata N.S., Hussein H.A.: Molecular detection and characterization of reticuloendotheliosis virus in broiler breeder chickens with visceral tumors in Egypt. *Int J Vet Sci Med.* 2014, **2**, 21–26.
90. D. Weinstock, Schat K.A., Calnek B.W.: Cytotoxic T lymphocytes in reticuloendotheliosis virus-infected chickens *Eur. J. Immunol.* 1989, **19**, 267–272.
91. Ignjatovic J., Fahey K.J., Bagust T.J.: An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of reticuloendotheliosis virus infection in chickens. *Avian Pathol.* 1987, **16**, 609–621.
92. Witter R.L., Purchase H.G., Burgoyne G.H.: Peripheral nerve lesions similar to those of Marek's disease in chickens inoculated with reticuloendotheliosis virus. *J Nat Canc Inst.* 1970, **45**, 567–577.
93. Smith E.J., Solomon J.J., Witter R.L.: Complement-fixation test for reticuloendotheliosis viruses: limits of sensitivity in infected avian cells. *Avian Dis.* 1977, **21**, 612–22.
94. Biggs P. M.: Lymphoproliferative disease of turkeys. W: *Diseases of Poultry*. 10th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald, and Y. M. Saif, ed. Iowa State University Press, Ames, IA. 1997, 485–489.
95. Zimmer A., Perk K., Ianconescu M., Yegana Y., Gazit A., Yaniv A.: Lymphoproliferative disease of turkeys: pathogenesis, viraemia and serum protein analysis following infection. *Avian Pathol.* 1983, **12**, 101–116.
96. Allison A. B, Keel M. K., Philips J.E., Cartoceti A. N., Munk B. A., Nemet N. M., Welsh T. I., Thomas J. M., Crum J., M., Lichtenwalner A. B., Fadly M., Zavala G., Holmes E. C., Brown J. D.: Avian oncogenesis induced by lymphoproliferative disease virus: a neglected or emerging retroviral pathogen? *Virology.* 2014, **0**, 2–12. DOI: 10.1016/j.virol.2013.11.037.

Lek. wet. mgr inż. Karolina Piekarska,  
e-mail: karolina\_piekarska85@wp.pl