

# Migdałek gardłowy jako część układu tkanki limfatycznej nosa i gardła – anatomia, fizjologia oraz zmiany towarzyszące chorobom alergicznym u dzieci

## The Adenoid as a part of Nose-Associated Lymphoid Tissue (NALT) – anatomy, physiology and role in immunological responses in children with allergic diseases

ANNA ZAKRZEWSKA <sup>1/</sup>, PAWEŁ GÓRSKI <sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> Klinika Otolaryngologii Audiologii i Foniatrii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Sporna 36/50, 91-738 Łódź

<sup>2/</sup> Klinika Pneumonologii i Alergologii IMW Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź

Migdałek gardłowy jest częścią tkanki limfatycznej związanej z błoną śluzową nosa (NALT), która podobnie jak tkanka limfatyczna związana z oskrzelami (BALT), zaangażowana jest bardziej w procesy komórkowe niż jak tkanka limfatyczna związana z jelitami (GALT) w wydzielanie immunoglobulin. Struktura ta jest skupiskiem grudek chłonnych, które reagują na stymulację antygenem tworząc ośrodki rozmnażania. Strefa międzygrudkowa zawiera głównie komórki T, w około 80% Th i 20% Ts. Postępująca z wiekiem inwolucja migdałka wiąże się ze zmianą fenotypu limfocytów; wzrasta liczba komórek B pamięci w grudkach, a maleje liczba limfocytów Th. Największe różnice w subpopulacjach limfocytów stwierdzono u dzieci powyżej 10. roku życia.

Tolerancja obwodowa polega na czynnym zahamowaniu odpowiedzi immunologicznej i jest zależna od czynników działających na dojrzałe limfocyty. Jednym z procesów jest apoptoza zależna od Fas, a jej nieprawidłowości mogą prowadzić do chorób alergicznych i autoimmunizacyjnych. W migdałkach obserwowano dużą aktywność antygeny Fas i jego liganda (FasL). Stwierdzano większą aktywność Fas w przestrzeni międzygrudkowej, a FasL w grudkach migdałka.

W migdałkach dzieci chorujących na choroby alergiczne obserwowano wzrost stosunku CD4 do CD8 limfocytów, obecność eozynofili w przestrzeniach międzygrudkowych i nabłonku. Stwierdzano wzrost liczby komórek B IgE+, natomiast nie obserwowano różnic liczby komórek produkujących IL4.

Sygnal pobudzenia działający poprzez komórki dendrytyczne powoduje proliferację limfocytów B, natomiast przekazywany poprzez aktywowane limfocyty T – może powodować mediowaną receptorowo apoptozę.

*Alergia Astma Immunologia, 2004, 9(2), 61-69*

**Słowa kluczowe:** migdałek gardłowy, NALT, apoptoza, alergia, dzieci

### Tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi (MALT)

Układ immunologiczny obejmuje narządy i naczynia limfatyczne oraz krążące limfocyty. Wśród narządów lim-

The adenoid pharyngeal tonsil is a part of Nose Associated Lymphoid Tissue (NALT) which, like Bronchi Associated Lymphoid Tissue (BATL), is more involved in the cellular processes than is the GALT in the excretion of immunoglobulins. The adenoid structure comprises follicles which respond to antigen stimulation by formation of germinal centres. The interfollicular area comprises mainly T cells, of which 80% are Th and 20% are Ts lymphocytes. The age-dependent adenoid involution is associated with changes in lymphocyte phenotypes (growing number of memory B cells in the follicles combination with falling number of the lymphocytes. The highest differences in the lymphocyte subpopulations were detected in children older than 10 years.

The peripheral tolerance depends on factors that influence the mature lymphocytes and induce active inhibition of the immunological response. The most important process is the apoptotic cell death dependent on Fas antigen. Within the tonsils, a high activity of the Fas antigen was detected in the interfollicular areas, while the FasL activity is most evident in the adenoid follicles.

Increased numbers of CD4 cells in relation to CD8 cells and the presence of eosinophils was found in the interfollicular area of adenoids in children with allergic diseases. The number of B IgE+ cells was higher, while no differences were observed in the number of the IL4 cells.

The activation signal provided through dendritic cells induces proliferation of B cells, but when provided through activated T cells, the signal may cause receptor-mediated apoptosis.

*Alergia Astma Immunologia, 2004, 9(3), 61-69*

**Key words:** adenoid, NALT, apoptosis, allergic disease, children

ficznych wyróżniamy: centralne – odgrywające zasadniczą rolę w czynnościowym dojrzewaniu limfocytów oraz obwodowe – te, do których limfocyty T i B docierają po opuszczeniu narządów centralnych i w których lokują się

odpowiednio w obszarach grasiczozależnych i grasiczoniiezależnych [1,2].

Przedmiotem badań ostatnich lat jest układ immunologiczny związany z błonami śluzowymi, które są ekspozowane na wiele obcych czynników obecnych w otaczającym świecie. Dotąd jego budowa i rola były nieznane. Obecnie wiadomo, że utworzony jest on z upostaciowanej tkanki limfatycznej oraz limfocytów rozsianych w błonach śluzowych. Nazwano go MALT (*Mucosal Associated Lymphoid Tissue*).

O ile dwie jego części BALT (związana z oskrzelami) i GALT (z jelitami) są powszechnie uznane, to NALT (tkanka limfatyczna związana z błoną śluzową nosa) najlepiej zbadana została u gryzoni. Jej odpowiednikiem u ludzi jest tzw. pierścień Waldeyera obejmujący migdałki: gardłowy, trąbkowe, podniebienne, językowe oraz nieupostaciowane grudki chłonne położone w błonie śluzowej gardła [3,4]. Limfocyty T i B tego układu niosą informacje immunologiczne, przedostając się przez naczynia limfatyczne i krwionośne pomiędzy poszczególnymi częściami MALT, co w efekcie daje upowszechnienie informacji immunologicznej, zapewniające natychmiastową odpowiedź na antygeny, a także rozwinięcie pamięci immunologicznej [5].

Pomimo iż tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi tworzy wspólny mechanizm, funkcje GALT i NALT są różne. GALT jest podstawowym miejscem indukcji syntezy immunoglobulin wydzielniczych, natomiast tkanka związana z drogami oddechowymi zaangażowana jest bardziej w odpowiedź typu komórkowego. Przedstawione różnice wykryto w badaniach przeprowadzonych na szczurach, ale opisane mechanizmy odnoszą się także do funkcjonowania MALT u ludzi [6].

Na podstawie modelu badawczego Kuper i współpracownicy ustalili, że NALT u szczurów ma dominującą rolę w stosunku do BALT w drogach oddechowych (podejmuje swoje działanie od momentu narodzin, dominują w nim limfocyty T i znacznie wcześniej niż w BALT różnicują się pola T i B limfocytarne). W przeciwieństwie do GALT, NALT jest narządem wykazującym dominację T-limfocytarną (GALT, natomiast B – limfocytarną). NALT jest miejscem, w którym rozdzielone są odpowiedzi typu śluzówkowo-wydzielniczego od systemowych (nie obserwuje się tego w GALT) [3,6].

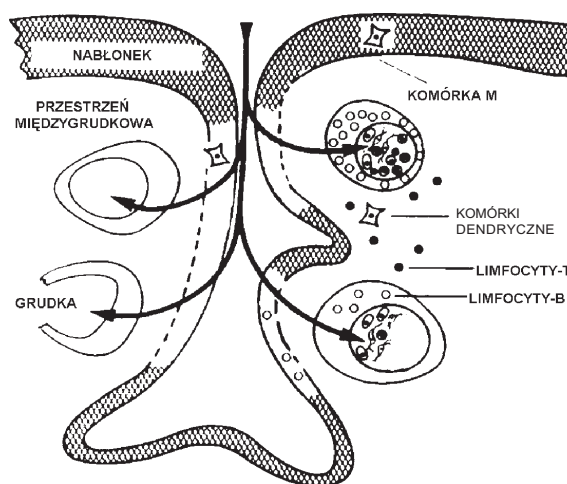
Rodzaj interakcji pomiędzy antygenem a błoną śluzową nosa i MALT zależy od: rodzaju antygeny, dawki, częstości ekspozycji oraz przylegania do nabłonka. Rozpuszczalne antygeny łatwo penetrują przez nabłonek błony śluzowej nosa i reagują z wewnątrz nabłonkowymi lub położonymi już pod nabłonkiem leukocytami i komórkami dendrytycznymi. Antygeny nierozpuszczalne z powierzchni błony śluzowej nosa usuwane są przez mechanizm śluzowo-rzęskowy, natomiast te, które poprzez adhezję przywarły do nabłonka są wychwytywane przez wyspecjalizowane komórki tzw. komórki M (*mem-*

*brane*). W ocenie ultrastrukturalnej posiadają one liczne pęcherzyki cytoplazmatyczne i zagłębienia błonowe, co wiąże się z wchłanianiem antygenów i ich transportem w niezmienionej postaci do makrofagów lub innych komórek prezentujących antygen [7]. Tą drogą dostają się do organizmu poprzez drogi oddechowe czynniki zakaźne oraz zanieczyszczenia powietrza (wśród nich większość alergenów). Migdałki należące do obwodowych narządów limfatycznych są w rzeczywistości skupiskiem grudek limfatycznych położonych w miejscu krzyżowania się dróg oddechowych i przewodu pokarmowego. W patologii gardła największą rolę odgrywają migdałek gardłowy i migdałki podniebienne [8].

### Budowa i czynność migdałka gardłowego

Migdałek gardłowy ma kształt czworoboku o zaokrąglonych kątach. Położony jest w obrębie jamy nosowo-gardłowej w miejscu przejścia sklepienia gardła w jego ścianę tylną. W tym miejscu błona śluzowa ulega sfaldowaniu, a pod nabłonkiem pojawiają się grudki limfatyczne. Migdałek gardłowy nie posiada krypt, typowych dla migdałków podniebiennych, ale podłużne fałdy poprzedzielane poprzecznymi bruzdami. Pokryty jest nabłonkiem wielorzędowym migawkowym, pod którym znajduje się dość cienka warstwa tkanki limfatycznej, a od podłoża oddzielony jest cienką torebką zbudowaną z licznych włókien sprężystych [9]. Ośrodki rozmnażania w grudkach migdałka gardłowego występują znacznie rzadziej niż w migdałkach podniebiennych.

Rzeczywista tkanka migdałka jest zgrupowaniem dużej ilości jednostek nabłonkowo-chłonnych obejmujących tkankę siateczkową, grudki chłonne i nabłonek pokrywający.



Ryc. 1. Schemat jednostki limfatyczno-nabłonkowej migdałka wg Brandtzaega P [12] w modyfikacji Fokkens WJ [64], przedstawiający pseudokryptę migdałka gardłowego i lokalizację w stosunku do niej podstawowych komórek

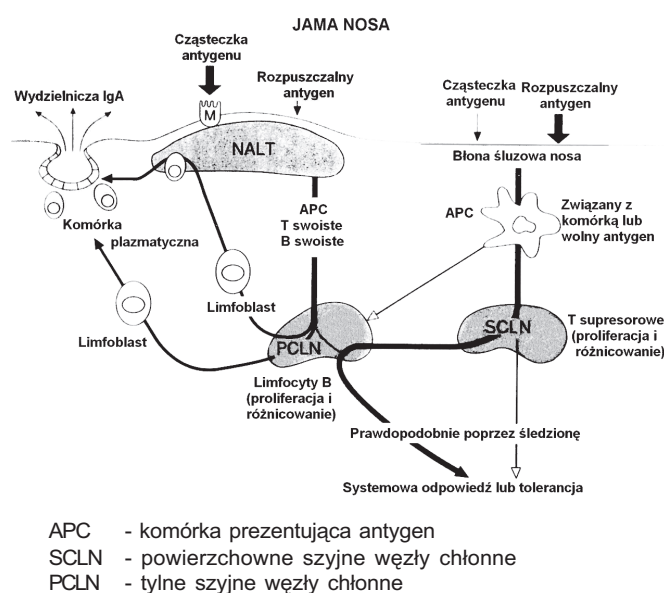
Bezpośrednio po urodzeniu narządy limfoepitelialne są nieczynne. Grudki limfatyczne mają ciemne centra rozmnażania zbudowane z równych drobnych limfocytów (grudki pierwszorzędowe). W miarę napływania antygenów z powietrzem grudki uaktywniają się, stają się owalne, a części zewnętrzne, płaszczowe, zwracają się w kierunku nabłonka (grudki drugorzędowe). Ośrodki rozmnażania pojawiają się w kilka dni po stymulacji antygenem.

W centrum grudki pojawia się przejaśnienie nazywane też ośrodkiem rozmnażania; ma ono kształt owalny lub kulisty. Na obwodzie natomiast pojawia się strefa ciemna zawierająca limfocyty spoczynkowe. Tworzą one tzw. płaszcz, który półksiężycowatym uwypukleniem skierowany jest w stronę nabłonka krypty. Nasilająca się proliferacja powoduje powstanie centroblastów w części jasnej i centrocytów w części ciemnej [10].

Nabłonek pokrywający wpukła się w głąb tworząc krypty, które mogą się nawet rozgałęziać. Nabłonek krypt jest zwykle nacieczony przez limfocyty pochodzące z bezpośrednio sąsiadujących grudek chłonnych [11].

Strefa międzygrudkowa zawiera jednojądrzaste komórki fagocytyczne, limfocyty T i komórki dendrytyczne. O ile grudki zawierają głównie limfocyty B oraz niewielką ilość makrofagów, komórek dendrytycznych i limfocytów T, to w przestrzeniach międzygrudkowych dominują położone w pobliżu naczyń postkapilarnych, grasiczozależne limfocyty T (wśród nich 20-30% stanowią Ts, natomiast około 70-80% Th) [10,12,13].

Badanie histologiczne i radiograficzne pozwoliły na udowodnienie, że w migdałkach odbywa się wędrówka limfocytów z centrów rozmnażania do strefy płaszczowej



Ryc. 2. Połączenia NALT z pozostałymi częściami tkanki limfatycznej związanej z błonami śluzowymi – MALT oraz całym układem limfatycznym, wg Kuper CF [11]

oraz nabłonka i z powrotem do mięszu. A także, że w ciągu doby mogą limfocyty z migdałków docierać do węzłów chłonnych szyi, krezki, śledziony czy grasicy [14]. Do migdałka docierają natomiast limfocyty powstałe w odległych narządach limfatycznych [15]. Pozwala to na stwierdzenie, że migdałki tak jak węzły chłonne uczestniczą w recyrkulacji limfocytów [16].

Obecnie ustalono, że czynnikiem związanym z zagnieżdżeniem się limfocytów T aktywowanych w drugorzędowych narządach limfatycznych jest chemokina CXC i jej receptor SDF –1 alfa [17]. Natomiast dla komórek B pamięci – chemokina CXCR4 [18].

### Indukowanie odpowiedzi immunologicznej

Migdałki posiadają liczną populację profesjonalnych komórek prezentujących antygen (APC). Są to: makrofagi, limfocyty B i komórki dendrytyczne [19]. Komórki prezentujące antygeny, a wśród nich zarówno komórki M związane z nabłonkiem, jak i mobilne komórki dendrytyczne, przedstawiał Brantzag w opisie roli jednostki nabłonkowo-limfatycznej migdałka [20].

Na rolę komórek mogących pełnić funkcję przenośników antygenów z nabłonka do limfocytów pamięci tzw. komórek M (analogicznie do komórek stwierdzanych w przewodzie pokarmowym) zwraca uwagę Claeys i współpracownicy, którzy oceniając ich ultrastrukturę udowadniają, że jest ona zbliżona do podobnych komórek w nabłonku jelit [20].

Natomiast Choe, Li i Zhang w swoich badaniach stwierdzają, że limfocyty B w grudkach podlegają interakcji komórek dendrytycznych (FDC) i limfocytów T. Sygnał pobudzenia przekazywany poprzez komórki dendrytyczne powoduje burzliwą proliferację limfocytów B w grudkach, natomiast przekazywany poprzez aktywowane limfocyty T powoduje mediowaną receptorowo apoptozę limfocytów B [21]. Słabo immunogenne, niedojrzałe komórki dendrytyczne obecne w nabłonku dojrzewają po kontakcie z lipopolisacharydami bakteryjnymi i zapalnymi cytokinami (IL-1 i TNF- $\alpha$ ). Wędrują one do przestrzeni międzygrudkowych tworząc populacje tzw. komórek splatających, które charakteryzują się obecnością dużej ilości cząstek MHC oraz ekspresją cząstek kostymulujących. Dziewicze limfocyty T z krwi (dostające się do migdałka drogą żyłek z wysokim nabłonkiem) w przestrzeni międzygrudkowej kontaktują się z wieloma komórkami APC dla specyficznych antygenów. Rozpoznanie antygeny powoduje pobudzenie limfocytów i proliferację, co wiąże się z reakcją na dwa sygnały: pierwszy – swoisty, związany z prezentacją antygeny związanego z cząsteczką MHC i receptorem TCR limfocytu T, a drugi z cząsteczką CD40 komórki prezentującej z ligandem CD40 na powierzchni limfocytu [22]. Część tak powstałych limfocytów jako komórki pamięci opuszcza migdałek, ale większość układu się w zewnętrznej części przestrzeni

międzygrudkowej, gdzie ma możliwość kontaktu z limfocytami B dziewczymi, które przywędrowały ze szpiku (pełnią one rolę komórek prezentujących antygen) i w ten sposób pierwotnie uczulone limfocyty T stają się komórkami pamięci. Interakcja antygenowo-swoistych limfocytów B z uprzednio uczulonymi limfocytami T zachodzi w obecności cytokin (IL-2, IL-4, IL-5). Powoduje to pobudzenie, proliferację i różnicowanie limfocytów B z wytworzeniem immunoglobulin. Proliferujące limfocyty B albo wędrują do grudek chłonnych zmieniając je w ośrodki rozmnażania albo pozostają w przestrzeni międzygrudkowej, tworząc krótko żyjące komórki plazmatyczne [23]. Kluczowym elementem odpowiedzialnym za proliferację limfocytów B oraz wytwarzanie przez nie immunoglobulin jest interakcja limfocytów B i T, która indukuje uwolnienie cytokin i wiązanie CD40 z CD40 ligand. Ten proces jest podstawą zmiany klas wytwarzanych immunoglobulin z IgM na swoiste IgG i IgA. Centrocyty różnią się na limfocyty B pamięci lub prekursorów komórek plazmatycznych. Limfocyty B pamięci wędrują do nabłonka migdałka, gdzie pełnią rolę komórek prezentujących antygen. Natomiast prekursorów komórek plazmatycznych opuszczają ośrodki rozmnażania i dojrzewają w przestrzeniach międzygrudkowych lub w błonie śluzowej dróg oddechowych.

### Zmiany w migdałku gardłowym zależne od wieku

Badania Mattila i Tarkkanen wykazały, że w migdałku gardłowym jest znacznie więcej komórek T CD4 i CD8 pamięci niż we krwi obwodowej oraz że z wiekiem wzrasta ilość T komórek pamięci oraz aktywowanych [24]. Pozwala to na stwierdzenie, że dojrzewanie systemu immunologicznego małych dzieci jest związane ze zmianą fenotypu limfocytów T rezydujących w narządach limfatycznych.

Jednocześnie involucja migdałka gardłowego postępująca z wiekiem polega na zmniejszeniu centrów rozrodczych grudek i relatywnej akumulacji dojrzałych B limfocytów w tkance migdałka [25]. Inwolucję migdałków związaną z wiekiem potwierdza także Yamanaka i współpracownicy, stwierdzając zwiększenie ilości komórek B pamięci w grudkach na korzyść relatywnego zmniejszenia ilości T limfocytów CD4 w grudkach i podnabłonkowo [26]. Podobny wniosek wysnuwa też Ohguro i współpracownicy badając wpływ VLA 5 (*very late antigen 5*) i fibronektyny na limfocyty migdałka, która to wyraźnie zmienia się z wiekiem pacjentów (aktywacja komórek) [27].

Lagging i współpracownicy stwierdzili wyższy w migdałku niż we krwi obwodowej poziom CD4 limfocytów pamięci, a także wzrost poziomu tych komórek zarówno w migdałku, jak i we krwi obwodowej z wiekiem [28].

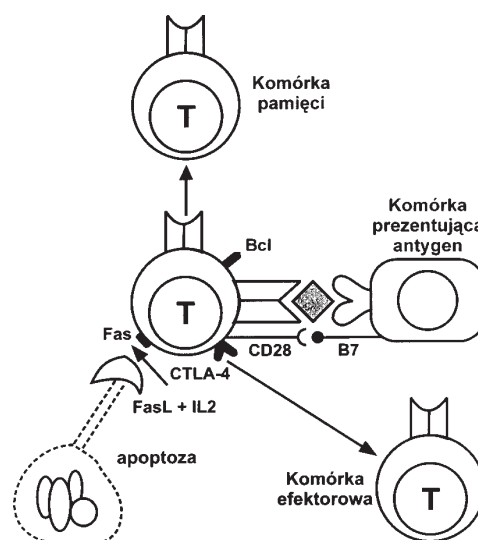
Natomiast Musiatowicz i Hemlin nie potwierdzają (poza wzrostem komórek CD25+) różnic w populacjach

limfocytów [29,30]. Autorzy podkreślają jednak objęcie badaniami dzieci tylko do 10. roku życia (oraz badania porównawcze tylko w dwóch grupach do 5 lat i od 5 do 10 lat), co może być istotne dla braku znamienych statystycznie różnic między grupami. Ocenę prowadzono w oparciu o cytofluorymetrię przepływową. Dalsze badania tych autorów obejmujące także starsze dzieci, a dotyczące oceny zmian w migdałku gardłowym współistniejących z wysiękowym zapaleniem ucha środkowego, pozwalają na stwierdzenie istotnych różnic w subpopulacjach limfocytów T oraz komórek NK u dzieci powyżej 10. roku życia [31].

### Czynniki warunkujące apoptozę limfocytów migdałka

Mechanizmami chroniącymi przed powstaniem zaburzeń immunologicznych są: tolerancja centralna (eliminacja autoreaktywnych limfocytów), tolerancja obwodowa polegająca na czynnym zatrzymaniu odpowiedzi immunologicznej (apoptoza zależna od Fas, hamowanie zależne od sterydów inhibitorów proteaz czy cytokin) oraz fakt braku reakcji na antygen, co może wiązać się z izolowaniem antygenów od komórek immunologicznie kompetentnych lub nieprawidłowościami mechanizmu pobudzenia (szczególnie w zakresie drugiego sygnału pobudzenia).

Pobudzenie komórki wiąże się z działaniem podwójnej stymulacji. Sygnał pierwszy to antygen, który warunkuje swoistość reakcji. Sygnał drugi powoduje proliferację klonalną oraz różnicowanie w komórki efektorowe i pamięci. Najbardziej znanymi kostymulatorami są cząsteczki CD80



Ryc. 3. Schemat aktywacji limfocytu T obrazujący poszczególne receptory i cząsteczki pojawiające się na powierzchni komórki [5]

oraz CD86 indukowane na komórkach APC należące do rodziny B7. Rozpoznanie i związanie receptora CD28 z molekułami z rodziny B7 powoduje aktywację komórki, produkcję IL-2 i białek antyapoptotycznych (rodzina bcl). Ilość tak pobudzonych komórek wzrasta: jednocześnie na ich powierzchni pojawiają się białka pobudzenia są to: receptor dla IL-2 (CD25), antygen CTLA4 (CD152) odpowiedzialny za aktywne hamowanie odpowiedzi komórek T, a jednocześnie (w oparciu o większą swoistość) blokowanie sygnału pobudzenia poprzez receptor CD28. Pojawia się także receptor Fas warunkujący zniszczenie komórki na drodze apoptozy. Uruchomienie tego mechanizmu wymaga połączenia receptora ze swoistym ligandem w obecności IL-2. Bez obecności tej cytokiny nie może dojść do apoptozy.

Uważa się, że zaburzenia apoptozy mogą powodować choroby alergiczne i autoimmunizacyjne [5].

Problemy oceny homeostazy komórkowej w tkance migdałków stały się badaniem, które próbowano wykorzystać w ocenie przewlekłości procesu zapalnego jako wskazania do operacji usunięcia migdałków podniebiennych.

Ustalono, że o ile dla przewlekłego procesu zapalnego charakterystyczna jest nasilona apoptoza w obrębie tkanki limfatycznej, to przerost migdałków bez cech przewlekłego zapalenia (jako wynik reakcji na czynniki środowiskowe) przebiega bez wzmożonej apoptozy limfocytów [32].

W innych badaniach ocena migdałków podniebiennych dzieci zakwalifikowanych do operacji nie wykazała różnic nasilenia apoptozy, stwierdzono natomiast różnice proliferacji, które traktowano jako miernik stabilizacji procesu zapalnego [33].

Komórkami zaangażowanymi w fazę indukcyjną oraz efektorową reakcji alergicznej są limfocyty. Na rolę procesu apoptozy tych komórek zwraca uwagę w swoich badaniach Bratton [34].

Czynniki uruchamiające proces apoptozy są wielorakie; należą do nich zarówno bodźce fizyczne (szok termiczny, promieniowanie jonizujące), chemiczne (cytostatyki, wolne rodniki), biologiczne (glikokortykosteroidy, TNF $\alpha$ , przeciwciała przeciwko Fas, niedobór czynników wzrostowych) [36]. O tym, czy komórka ulegnie przypadkowej śmierci, czy uruchomi program apoptozy decyduje rodzaj czynnika indukującego, długość ekspozycji komórek i dawka czynnika stymulującego śmierć, a także typ komórki stymulowanej do śmierci.

Spółród czynników biologicznych istotną rolę, zależną od stopnia dojrzałości komórki, odgrywa pobudzenie receptora TCR/CD3. Stymulacja dojrzałych limfocytów T prowadzi do syntezy IL-2b oraz proliferacji komórek, natomiast w przypadku niedojrzałych limfocytów jest powodem śmierci w wyniku apoptozy [37]. Ten sam początkowy sygnał może prowadzić w zależności od stopnia zróżnicowania komórki, na którą działa do śmierci lub zupełnie różnego efektu, którym są podziały komórkowe.

Niedojrzałe limfocyty T indukowane są do apoptozy poprzez glikokortykosteroidy już w fizjologicznych stężeniach, natomiast obwodowe limfocyty T są całkowicie odporne na ich działanie [38].

Aktywowane limfocyty eliminowane są drogą apoptozy poprzez antygen Fas, który jest glikoproteiną błonową należącą do nadrodziny TNF-R (czynnika martwicy nowotworów). Ekspresję CD95 wykazują aktywowane limfocyty T i B oraz monocyty, tylko w niewielkiej ilości obserwowuje się ją w spoczynkowych limfocytach krwi obwodowej [39,40]. Fas jest antygenem występującym w błonach mysich komórek natomiast APO-1, stanowi ludzki odpowiednik tego antygeny.

Ligand dla antygeny Fas (FasL) jest cząsteczką powierzchniową należącą do rodziny TNF- $\alpha$ . Połączenie Fas Fas-L może być przyczyną zahamowania limfoproliferacji [41,42].

Uważa się, że u ludzi indukcja apoptozy może odbywać się także przez wzmożenie ekspresji genu bax, odpowiedzialnego za inicjację apoptozy oraz przez hamowanie genu bcl-2 blokującego aktywną śmierć komórki. Możliwe jest, że białko p53 wpływa na apoptozę w sposób niezależny od transkrypcji genów [43,44].

Badania dotyczące oceny czynników regulujących aktywację oraz wpływających na apoptozę limfocytów w migdałkach są przedmiotem rozważań wielu autorów [45-48].

CD28 oraz CTLA-4 wiążąc ten sam ligand – CD80, są relatywnymi regulatorami T komórkowej aktywacji. Boulougouris stwierdził, że zależnie od stanu pobudzenia limfocytu T (wyrażającego się wzrostem stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia) warunkującego ekspresję powierzchniową CTLA-4 odbywa się hamowanie lub stymulacja poprzez CD28, które obecne jest zawsze, nawet na spoczynkowych komórkach [45].

CTLA-4 jest bardziej swoiste dla ligandu CD80/85 niż CD28. CD 28 znajduje się na powierzchni spoczynkowych limfocytów T, natomiast CTLA-4 ma ekspresję wewnątrzkomórkową, a szczyt ekspresji osiąga po 48 godzinach od aktywacji [45].

Wysoką ekspresję CTLA-4 w limfocytach B indukowaną aktywowanymi limfocytami T wykazała Kuiper, co sugeruje, że receptory kostymulujące i ich specyficzne ligandy odgrywają rolę nie tylko w stymulacji limfocytów T, ale także wpływają regulująco na odpowiedź B komórkową [46,47].

Stwierdzono, że CTLA-4 ogranicza progresję T komórek w stadium aktywacji, wpływa hamująco na proliferację T komórek prawdopodobnie poprzez hamowanie produkcji IL-2. Ta regulacja aktywacji T komórek wiąże się z brakiem indukcji śmierci komórek w procesie apoptozy [48].

Dwie molekuły, CTLA 4 oraz CD 85/LIR-1/ILT2, odgrywają kluczową rolę w procesach T komórkowej

homeostazy, od których zależą odpowiedzi mediowane komórkowo [49].

W strefie międzygrudkowej około 2-10% wszystkich limfocytów T jest CTLA+, natomiast w grudce chłonnej około 70-90% spośród obecnych tam limfocytów T jest CTLA+. Także w nabłonku migdałków spotykane są limfocyty T mające receptor CTLA4.

System Fas – Fas-ligand znany jest jako najważniejsza droga indukcji apoptozy w komórkach i tkankach. O ile ekspresję Fas potwierdzono we wszystkich normalnych ludzkich tkankach, to ekspresja Fas-ligand była długo wiązana tylko z tkanką limfatyczną [50,51].

Lee w swoich badaniach stwierdził jednak, że Fas-ligand jest nie tylko związany z regulacją homeostazy immunologicznej, ale także z regulacją przeżycia wielu różnych komórek [52]. W układzie limfatycznym ekspresję Fas-ligand stwierdzano w rdzeniu grasicy oraz w centrach rozmnażania obwodowych narządów limfatycznych. W migdałkach więcej komórek Fas-ligand pozytywnych stwierdza się w centrach rozmnażania (w strefie jasnej), niż w strefie międzygrudkowej [53]. Krammer podkreśla, że ekspresja FasL nie jest ograniczona tylko do aktywowanych T i NK komórek [54].

System Fas – Fas-ligand odgrywa istotną rolę zarówno w regulacji homeostazy T komórek, jak i klonalnej selekcji B limfocytów w centrach rozmnażania. FasL jest wykrywany w aktywowanych T komórkach, jak i w koicydencji z CD23 w foliularnych komórkach dendrytycznych w strefie jasnej grudek. Ekspresja FasL nie koresponduje natomiast z CD4+ T komórkami obecnymi w centrach rozmnażania grudek [55]. Wiążący się z błonami rozpuszczalny Fas-L indukuje bardzo silnie mediowany przez Fas sygnał, zarówno z powodu dużej ilości zgromadzonych receptorów Fas, jak i funkcji transdukcji sygnału [56].

Czynniki regulujące apoptozę należą do rodzin Fas i bcl. O ile Fas indukuje apoptozę w aktywowanych limfocytach T gdy są one powtórnie stymulowane antygenem rodzina bcl, a szczególnie bcl-2 i bcl-x, chroni komórki T przed apoptozą. W badaniach doświadczalnych Parijs ustalono, że droga Fas – Fas-ligand służy głównie eliminacji macierzystych autoreaktywnych limfocytów, zaś białka rodziny bcl powodują przeżycie limfocytów poddanych działaniu GF i innych czynników stymulujących [57,58].

Bcl-2 wpływa także hamująco na CD19+38+ B limfocyty migdałków.

W badaniach dotyczących grasicy Yokoyama stwierdził, że nie tylko bcl-2, ale także pozostałe proteiny odgrywają rolę w regulacji T komórkowej i wpływają na dojrzewanie B komórek w centrach rozrodczych [59].

Ekspresja bcl-2 w strefie płaszczowej grudek i w B komórkach pamięci jest zmienna, podczas gdy komórki dendrytyczne grudek mają stałą ekspresję bcl-2. Komórki

te pełnią rolę w modulacji apoptozy B limfocytów w grudkach [59]. Natomiast tylko pojedyncze komórki w centrach rozmnażania wykazują ekspresję bcl-2.

Poziom ekspresji bcl-2 jest dość mały, zarówno w limfocytach T typu CD8, jak i CD4, natomiast ekspresja bcl-x jest 10x większa w CD8 niż w CD4 [60].

Bcl-x może funkcjonować jako regulator śmierci komórki niezależny od bcl-2. Znajduje się on w cytoplazmie w połączeniu z mitochondriami (tak jak bcl-2) w komórkach plazmatycznych, aktywowanych limfocytach T w strefie międzygrudkowej, a małej ilości w limfocytach z centrów rozmnażania.

Wyjaśnienia możliwości powstania tolerancji immunologicznej poszukuje się w badaniach dotyczących indukcji apoptozy w komórkach prezentujących antygen.

Badania Zhang i współpracowników potwierdzają indukcję tolerancji T komórkowej poprzez komórki prezentujące antygen o wzmożonej ekspresji Fas-ligand [60].

Tsunoda natomiast na podstawie modelu badawczego in vitro określa wpływ komórek dendrytycznych foliularnych na regulację apoptozy w centrach rozmnażania migdałków [61].

### **Zmiany w migdałku gardłowym u dzieci chorujących na choroby alergiczne**

Podłoże chorób alergicznych związane jest z zachwianiem równowagi pomiędzy podtypami limfocytów T wspomagających w kierunku limfocytów o profilu Th2 [62,63]. W efekcie powstaje nadmierna synteza cytokin IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 oraz GM-CSF [63]. Kontrola cytokin IL-4 oraz IL-13 powoduje wzrost produkcji IgE, które wiążąc się na powierzchni komórek tucznych i bazofilów pod wpływem alergenu dają uwolnienie mediatorów i cytokin uruchamiających reakcję alergiczną.

Różnice w ocenie migdałka gardłowego, szczególnie w zakresie komórek prezentujących antygeny, pomiędzy dziećmi z chorobą alergiczną a grupą kontrolną dzieci zdrowych podkreśla w swoich badaniach Fokkens i współpracownicy, zwracając także uwagę na obecność eozynofili w przestrzeniach międzygrudkowych [64].

Badania wielu autorów dotyczące różnic występowania w migdałku gardłowym limfocytów profilu cytokinowego Th1 lub Th2 w zależności od stwierdzonej choroby alergicznej, są niejednoznaczne [65-69]. Jednak większość autorów nie obserwuje istotnych różnic w tym zakresie, porównując grupy dzieci chorujących na alergiczny nieżyt nosa z grupą dzieci cierpiących na nawracające zapalenia uszu lub też dziećmi, u których stwierdzano tylko upośledzenie drożności nosa spowodowane przerostem migdałka gardłowego.

Podobnie informacje dotyczące różnic proporcji limfocytów T pomocniczych do cytotoksycznych (CD4/CD8) w zależności od wieku, występowania infekcji dróg

oddechowych są zmienne. Zwraca natomiast uwagę zwiększenie liczby limfocytów T pomocniczych u dzieci chorujących na choroby alergiczne [70,71].

Istotne są spostrzeżenia Papatziamos i współpracowników dotyczące wyższych wartości limfocytów B IgE+ oraz produkujących INF- $\gamma$  w migdałkach gardłowych dzieci z chorobą alergiczną. W badaniach tych nie obserwowano natomiast różnic w porównaniu z grupą zdrowych dzieci w produkcji IL-4 [72].

Dalsze badania tej grupy autorów sugerują, że atopia jest związana ze wzrostem ilości komórek IgE+ oraz Fc epsilon RI+ w migdałku gardłowym bez względu na towarzyszące lub brak występowania wysiękowego zapalenia uszu (jako choroby współistniejącej) [73]. Dominująca większość komórek IgE+ oraz limfocytów T, obserwowana przez tych autorów, zlokalizowana była w przestrzeni międzygrudkowej migdałka.

### Podsumowanie

Migdałek gardłowy jest strukturą limfonabłonkową zawierającą wszystkie rodzaje komórek niezbędnych do komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Antygeny poprzez nabłonkowe komórki M transportowane są w niezmięnionej postaci, następnie przetwarzane przez makrofagi i przez nie lub inne komórki APC prezentowane limfocytom. Dostające się z krwi do migdałka niedojrzałe limfocyty w przestrzeniach międzygrudkowych kontaktują się z wieloma APC dla specyficznych antygenów. Działanie podwójnego sygnału (antygenowo-swoistego i kostymulacyjnego) warunkuje aktywację, proliferację i różnicowanie limfocytów. Część limfocytów T po kontakcie z antygenem opuszcza migdałek, a większość pozostaje w przestrzeni międzygrudkowej, gdzie kontaktują się z dziewiczymi limfocytami B (ze szpiku) pełniącymi

rolę komórek prezentujących. Antygenowo-swoiste limfocyty B reagują z uczulonymi limfocytami T w obecności cytokin. Pobudzeniu ulegają limfocyty B, które proliferują, różnicują się i wytwarzają immunoglobuliny. Proliferujące limfocyty wędrują do grudek, które stają się ośrodkami rozmnażania lub pozostają w przestrzeni międzygrudkowej. W grudkowych ośrodkach rozmnażania dochodzi do intensywnej proliferacji limfocytów B, dojrzewania receptora limfocytów B (BCR) i zmian klas wytwarzanych immunoglobulin. Według hipotezy Martineza najważniejszą przyczyną astmy są zmiany w lokalnym mikrośrodkowisku tkankowym odpowiedzialne za przekształcenie się niedojrzałych limfocytów w komórki Th2 [74].

Wiele badań wskazuje na zasadniczą rolę trzech struktur w drogach oddechowych pozostających we wzajemnych współzależnościach i stanowiących zarazem główną barierę odpornościową w stosunku do wziewanych alergenów. W przedstawionym przez Holgate'a zintegrowanym modelu astmy strukturami tymi są komórki nabłonka, komórki dendrytyczne oraz skupiska limfocytów [75].

Jednak ostatecznym ogniwem mechanizmów zależnych od nabłonka lub komórek dendrytycznych pozostaje zawsze limfocyt, gdyż to on jest źródłem cytokin niezbędnych do rozwoju, zarówno ataku astmatycznego, jak też objawów nieżyty nosa, a co ważniejsze przetrwałej choroby.

Migdałki są naturalnymi skupiskami limfocytów, a ich budowa decyduje o fakcie, że stanowią istotne miejsce oddziaływań komórek dendrytycznych, nabłonków i limfocytów [76].

Jednocześnie mechanizmy tolerancji związane z obwodowymi narządami limfatycznymi pod wpływem różnych czynników mogą wpływać na rozwój zarówno chorób alergicznych, jak i autoimmunizacyjnych [77].

### Piśmiennictwo

1. Staines N i wsp. Wprowadzenie do immunologii. Wydawnictwo medyczne, Urban i Partner. Wrocław 1996.
2. Brodsky L. Modern assessment of tonsils and adenoids. *Pediatr Clin North Am* 1989; 36: 1551-1569.
3. Bienenstock J. Mucosal immunological protection mechanism in the airways. *Eur J Respirat Dis* 1986; 69 (Suppl. 147): 60-63.
4. Simina T. A review of the mucosal immune system: development, structure and function of the upper and lower respiratory tract. *Eur Respir Rev* 1996; 6, 36, 136-141.
5. Kowalski ML. Immunologia kliniczna. Oficyna Wydawnicza Mediton, Łódź 2000.
6. Kuper CF, Koornstra PJ, Hameleers DM. The role of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Immunol Today* 1992; 13: 219-224.
7. Fujimura Y. Evidence of M Wells as portal site of entry of antigens in the nasopharyngeal lymphoid tissue of humans. *Virchows Arch* 2000; 436: 560-566.
8. Jakóbsiak. Immunologia. Wydawnictwo naukowe PWN. Warszawa 1996.
9. Mackiewicz S. Immunologia. PZWL Warszawa 1991.
10. Winther B, Innes DJ. The human adenoid. A morphologic study. *Arch Otolaryngol Fead Neck Surg* 1994; 20: 144-149.
11. Kuper CF, Hameleers DM, Buijntjes JP i wsp. Intraepithelial infiltration by leukocytes in NALT. *Cell Tissue Res* 1990; 259: 371-377.
12. Brandtzaeg P. Immunopathological alterations in tonsillar disease. *Acta Otolaryngol (Suppl.)* 1988; 454: 64-69.
13. Modrzyński M, Zawisza E, Samolińska-Zawisza U. Układ chłonny gardła – ogólna charakterystyka. *Nowa Medycyna* 1999; 85: 19-25.
14. Wysocka L. Rola migdałków gardłowych odpowiedzi immunologicznej ucha środkowego. w: *Postępy w otolaryngologii. Triangulum*. Wrocław 2002.
15. Duijvestijn A, Hamman A. Mechanisms and regulation of lymphocyte migration. *Immunol Today* 1989; 10: 23-28.
16. Hyde RM. Immunologia. Wydawnictwo Medyczne Urban i Partner. Wrocław 1997.

17. Bleul CC, Schultze JL, Springer TA. B lymphocyte chemotaxis regulated in association with microanatomic localisation, differentiation state and B cell receptor engagement. *J Exp Med* 1998; 187: 753-762.
18. Median F, Segunda C, Campos C i wsp. The heterogeneity shown by human plasma cells from tonsil, blood, and bone marrow reveals graded stages of increasing maturity, but local profiles of adhesion molecule expression. *Blood* 2002; 99: 2154-2161.
19. Van Kempen MJP, Rijkers GT, Van Cauwenberge PB. The immune response in adenoids and tonsils. *Allergy Immunol* 2000; 122: 8-19.
20. Pośpiech L, Jaworska M. Rola układu immunologicznego w patogenie przewlekłego wysiękowego zapalenia ucha środkowego. w: *Postępy w otolaryngologii Triangulum*, Wrocław 2002.
21. Hollmann C, Gerdes J. Follicular dendritic cells and T cells: Nurses and executioners in the terminal and central reaction. *J Pathol* 1999; 189: 147-149.
22. Claeys S, Cuvelier C, Quatacker J, van Cauwenberge P. Ultrastructural investigation of M-cells and lymphoepithelial contacts in naso-pharyngeal associated lymphoid tissue (NALT) *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1996; 523: 40-42.
23. Choe J, Li L, Zhang X. Distinct role of follicular dendritic cells and T cells in the proliferation, differentiation and apoptosis of a centroblast cell line L 3055. *J Immunol* 2000; 164: 56-63.
24. Mattila PS, Tarkkanen J. Differentiation of T lymphocytes in the human adenoid as measured by the expression of CD45 isoforms. *Scand J Immunol* 1998; 48: 59-64.
25. Mattila PS, Tarkkanen J. Age-associated changes in the cellular composition of the human adenoid, *Scand J Immunol* 1997; 45: 423-427.
26. Yamanaka N, Matsuyama H, Harabuchi Y, Kataura A. Distribution of lymphoid cells in tonsillar compartments in relation to infection and age. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1992; 112: 128-137.
27. Ohguro S, Tsubota H, Harabuchi Y. Interaction and immunological effect of very late antigen-4,5, and fibronectin in tonsillar lymphocytes and their relation to age. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1996; 116: 104-111.
28. Lagging E, Papatziarnos G, Hallden G i wsp. T-cell subset in adenoids and peripheral blood related to age, otitis media with effusion and allergy. *APMIS* 1998; 106: 354-360.
29. Musiatowicz M, Wysocka J, Kasprzycka E i wsp. Subpopulacje limfocytów migdałka gardłowego w zależności od wieku. *Nowa Pediatria* 1999; 17: 223-225.
30. Hemlin C i wsp. Flow cytometric quantification of lymphocyte subpopulations and immunoglobulin – containing cells in adenoid tissue in relation to secretory otitis media and age. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1995; 115: 443-448.
31. Musiatowicz M, Wysocka J, Kasprzycka E, Hassman E. Lymphocyte subpopulations in hypertrophied adenoid in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001; 59: 7-13.
32. Lopez-Gonzalez MA i wsp. Lack of lymphoid cell apoptosis in the pathogenesis of tonsillar hypertrophy as compared to recurrent tonsillitis. *Eur J Pediatr* 1999; 158: 469-473.
33. Zabel-Olejnik J. Apoptoza i proliferacja limfocytów migdałków podniebiennych w ich przewlekłym zapaleniu. *Otolaryng Pol* 2002; 5: 643-644.
34. Bratton D i wsp. Granulocyte Macrophage Colony – Stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1995; 95: 211-218.
35. Bright J, Khar A. Apoptosis: programmed cell death in health and disease. *Bioessays* 1994; 14: 67-81.
36. Abtado JP. Apoptosis: function and regulation of cell death. *Areas Immunol* 1996; 147: 443-456.
37. Iwata M, Hanaoka S, Sato K. Functional role of glucocorticosteroids of T lymphocytes apoptosis. *Eur J Immunol* 1991; 21: 643-648.
38. Tompson Craig CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-1462.
39. Miyawaki T, Vehara T, Nibu R i wsp. Differential expression of apoptosis related Fas antigen on lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. *J Immunol* 1992; 149: 3753-3758.
40. Cheng J, Zhout T, Live DC i wsp. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994; 263: 1759-1762.
41. VanParijs L, Biuckians A, Abbas AK. Functional roles of Fas and bcl-2 regulated apoptosis of T lymphocytes. *J Immunol* 1998; 160: 2065-2071.
42. Barbeć H. Własności genu p53. *Post Biochem* 1994; 40: 6-10.
43. Hitendent T, Harrington EA, O'Connor R i wsp. Induction of apoptosis by the bcl-2 homologue bak. *Nature* 1995; 374: 733-736.
44. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88: 335.
45. Boulougouris G, Mcleod JD, Patel YI i wsp. Positive and negative regulation of human T cell activation mediated by the CTLA-4/CD28 ligand CD80. *J Immunol* 1998; 161: 3919-3924.
46. Kuiper HM, Brouwer M, Linsley PS, vanLier RAW. Activation T cells can induce high levels of CTLA-4 expression on B cells. *J Immunol* 1995; 155: 1776-1783.
47. Morton PA, Fu XT, Stewart JA i wsp. Differential effects of CTLA-4 substitutions on the binding of human CD80 (B7-1) and CD86 (B7-2). *J Immunol* 1996; 156: 1047-1054.
48. Krummel MF, Allison JP. CTLA-4 engagement inhibits IL-2 accumulation and cell cycle progression upon activation of resting T cells. *J Exp Med* 1996; 183: 2533-2540.
49. Grossi CE, Ciccone E, Tacchetti C i wsp. Anatomy of the immune system facts and problems. *Ital J Anat Embryol* 2000; 105: 97-124.
50. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88: 355-365.
51. Leithausen F, Dhein J, Mechttersheimer G, Koretz K i wsp. Constitutive and induced expression of APO-1, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor superfamily, in normal and neoplastic cells. *Lab Invest* 1993; 69: 415-429.
52. Lee SH, Shin MS, Park WS i wsp. Immunohistochemical analysis of Fas ligand expression in normal human tissues. *APMIS* 1999; 107: 1013-1019.
53. Kondo E, Yoshino T, Nishiuchi R i wsp. Expression of Fas ligand mRNA in germinal centers of the human tonsil. *J Pathol* 1997; 183: 75-79.
54. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system *Nature* 2000; 407: 789-797.
55. Verbeke CS, Wenthe U, Zentgraf HW. Fas ligand expression in the germinal centre. *J Pathol* 1999; 189: 155-160.
56. Xiao S, Jodo S, Sung SSJ i wsp. Novel signaling mechanism for soluble CD95 ligand synergy with anti-CD95 monoclonal antibodies for apoptosis and NF-kappa B nuclear transduction. *J Bio Chem* 2002; 277: 5097-50913.
57. Pellegrini M, Strasser A. A portrait of the bcl-2 protein family: life, death and the whole picture. *J Clin Immunol* 1999; 19: 365-377.
58. Strasser A, Harris AW, Huang DC i wsp. Bcl-2 and Fas/APO-1 regulate distinct pathways to lymphocyte apoptosis *EMBO J* 1995; 14: 6136-6147.
59. Yokoyama T, Tanahashi M, Kobayashi Y i wsp. The expression of Bcl-2 family proteins in human lymphocytes. *Immunol Lett* 2002; 81: 107-113.



60. Zang H, Su X, Liu W i wsp. Induction of specific T cell tolerance by Fas ligand expressing antigen presenting cells. *J Immunol* 1999; 162: 1423-1430.
61. Tsunoda R, Heinen E, Sugai N. Follicular dendritic cells in vitro modulate the expression of Fas and bcl-2 on germinal center B cells. *Cell Tissue Res* 2000; 299: 395-402.
62. Hansen G, Berry G, DE Kruyff RH. Specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J Clin Invest* 1999; 103: 174-183.
63. Tonnel AB, Capron M. Recent data on the pathophysiology of respiratory allergies. *Bull Acad Natl Med* 1997; 181: 1563-1574.
64. Fokkens WJ, Vinke JG, deJong SS i wsp. Differences in cellular infiltrates in the adenoid of allergic children compared with age- and gender -matched controls. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 187-195.
65. Yamanaka N, Matsuyama H, Harabuchi Y, Kataura A. Distribution of lymphoid cells in tonsillar compartments in relation to infection and age. *Acta Otolaryngolm (Stockh)* 1992; 112: 128-137.
66. Fokkens WJ, Godthelp T, Holm AF i wsp. Cellular aspects of nasal immunology. *Rhinol Suppl* 1992; 14: 32-36.
67. Kapsenberg i wsp. The paradigm of type 1 and 2 antigen – presenting cells: implications for atopic allergy. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 33-36.
68. Romagnani S. Biology of the human Th1 and Th2 cells. *J Clin Immunol* 1995; 15: 121-129.
69. Berenstein JM, Xiang S, Ballow M, O'Neil K. Th1/Th2 cytokine profiles in the nasopharyngeal lymphoid tissues of children with recurrent otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998; 107: 22-27.
70. Ghallo O, de Carli M, Gallina E i wsp. T lymphocytes from tonsil and peripheral blood show different cytolytic and helper activities. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1991; 111: 974-980.
71. Agren K, Andersson U, Litton M i wsp. The production of immunoregulatory cytokines is localized to the extralymphatic area of human tonsils. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 477-485.
72. Papatziomos G, Hemlin C, Astrom K i wsp. The adenoid: a site for induction of allergic reactions. *J Otorhinolaryngol Ped* 1999; 39: 678-681.
73. Papatziomos G, van der Ploeg I, Hemlin C i wsp. Increased occurrence of IgE+ and Fcε RI+ cells in adenoids from atopic children. *Allergy* 1999; 54: 916-923.
74. Martinez FD. Role of respiratory infection in onset of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 32-58.
75. Holgate ST i wsp. Epithelial – mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 2: 193-204.
76. Grossi C, Ciccone E, Tacchetti C i wsp. Anatomy of the immune system facts and problems. *Ital J Anat Embryol* 2000; 105: 97-124.
77. Walker LSK, Abbas AK. The enemy within: Keeping self-reactive T cells at bay in the periphery. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 11-19.