

612.017.2:616.24-022.32

ÚLOHA PLIC V PROTIINFEKČNÍ IMUNITĚ

Zuzana KROČOVÁ

Ústav radiobiologie a molekulární patologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

Souhrn

Plíce jsou orgánem, který je neustále vystaven expozici ve vzduchu všudypřítomných inertních částic a mikroorganismů. Tvoří přirozenou cestu vstupu mikroorganismů do těla, a proto je důležité porozumět mechanismům přirozené i vyvolané imunitní odpovědi po aerogenní infekci. Na neadaptivní imunitní odpovědi se podílejí základní obranné mechanismy. Fyzikální obrana plic, která zahrnuje odstraňování inhalovaného materiálu mukociliárním transportem, fyziologickou obranu, na které se podílejí rozpustné proteiny, imunoglobulin A, složka komplementu C3 a působení bakteriostatických a bakteriocidních proteinů. Buněčné mechanismy zahrnují aktivitu plicních makrofágů, neutrofilů, eozinofilů, bazofilů, žírných buněk, dendritických buněk a epitelálních buněk. Tyto buňky mají schopnost jednak přímo eliminovat některé mikroorganismy a jednak vyvolávají adaptivní odpověď, na které se podílejí zejména aktivované makrofágy a T-lymfocyty a B-lymfocyty. Tato odpověď je antigenně specifická a jejím úkolem je především eliminace zakapsulovaných a intracelulárních mikroorganismů a navození rezistence k reinfekci.

Klíčová slova: Infekce; Plíce; Imunita.

The Role of the Lungs in Anti-infectious Immunity

Summary

The lungs are organs that are constantly under the attack of ubiquitous inert particles and micro-organisms. The lungs represent the natural site of entry for micro-organisms into the body and understanding the innate and adaptive immune response mechanisms after aerogenic infection is of great importance. The non-adaptive immune response is created by several basic defence mechanisms. Physical lung defence includes the removal of inhaled material by mucociliary clearance, physiological defence (mediated by soluble proteins, immunoglobulin A or complement factor C3) and bacteriostatic or bactericidal protein activity. The cell mechanisms include the activity of macrophages, neutrophils, eosinophils, mast cells, dendritic cells and epithelial cells. All these cells are able to directly eliminate some of the micro-organisms and can induce an adaptive immune response in which mainly activated macrophages and T- and B-cells participate. Such a response is antigen-specific and its aim is to eliminate encapsulated and intracellular micro-organisms and to establish a resistance to re-infection.

Key words: Infection; Lungs; Immunity.

Fyzikální obrana plic

Fyzikální obrana plic má dvě role: inhalovaný materiál odstranit kašlem a pokud tento proces není efektivní, pak částice zachycené ve slizničném hlenu odvést mukociliárním transportem. Kašel může být způsoben širokým spektrem stimulů. Obecně jsou rozděleny na čtyři kategorie: mechanické, chemické, záněty a onemocnění (9). V epitelu dýchacích cest jsou čidla nervových vláken, která by měla zprostředkovávat kašel. Klíčovou roli v normální funkci vzdušných cest hraje tenká vrstva hlenu na sliznicích dýchacích cest, který je tvořen dvěma vrstvami – periciliární tekutinou a gelovou fází na povrchu cilií (14). Buňky krve produkují v

epitelu a žlázových pohárcích lysozym a laktoferin, jež oba mají antibakteriální vlastnosti. Dalšími důležitými látkami obsaženými v hlenu jsou vylučovaný IgA, antileukoproteázy, různé peroxidázy a proteiny bohaté na prolin. Hlenový gel působí jako bariéra pro bakterie, které mohou přilnout k povrchu dýchacích cest a zde se množit. Na povrchu dýchacích cest jsou také muciny, což jsou polyanionické látky obsahující receptory vážící se k adhezínům mnoha bakterií. Odstraňování hlenu společně se zachyceným materiálem je způsobeno mukociliárním transportem. Ten závisí na množství přítomného hlenu, jeho viskoelasticitě, jeho přilnavosti k epitelu a hlavně na ciliární aktivitě. Většina prozánětlivých mediátorů ovlivňuje ciliární aktivitu.

Prostaglandiny E₁ a E₂, leukotrieny C₄ a D₄ a bradykinin aktivitu zvyšují, zatímco destičky aktivující faktor blokuje ciliární pohyb (12).

Úloha rozpustných proteinů v obraně plic

Přítomnost proteinů jako sekreční složky v plicní obraně byla prokázána již před mnoha lety. V současnosti bylo identifikováno asi 50 rozpustných proteinů, které jsou tvořeny v plicích. Některé, jako albumin, jsou stále přítomné, sekrece jiných je součástí obranné odpovědi. Pocházejí buď z plazmy (albumin, transferrin, haptoglobin, alantitrypsin, sérový IgA) nebo jsou sekretovány přímo v plicní tkáni (sekretovaný IgA, α_1 antichymotrypsin, cytokiny atd.) (17).

Z imunoglobulinů přítomných v plicním hlenu mají velký význam zejména IgA a IgG. V plazmě je většina IgA monomerního a 90 % z něj je podtyp IgA1. V plicích je však většina IgA dimerického (jako sekretovaná molekula) a pouze 70 % tvoří podtyp IgA1, zbytek pak je ve formě IgA2. Imunoglobuliny jsou relativně velké molekuly a jejich únik z plazmy je omezen, takže většina imunoglobulinů detekovaných v plicích byla produkována lokálně. Existuje však speciální transportní systém, kterým je usnadněn průchod dimerického IgA do plicního lumen. Na povrchu bronchiálních epitelálních buněk je exprimován Fc α receptor. Jeho N-terminální transmembránová sekvence se rychle váže na dimerický IgA. Takto vzniklý komplex je pak pohlcen endocytózou, setříděn v endosomálním oddělení a začleněn do transcytotických váčků. Tyto váčky jsou translokovány k plicnímu povrchu, procházejí membránou a N-konec, na který je imunoglobulin vázán, je odštěpen a tím je IgA uvolněn. Hladina protilátek IgA v plicích se zvýší v přítomnosti antigenu, zatímco v následné systémové odpovědi se hladina IgA nezvyšuje (10). Imunoglobulin G (podtřídy 1–4) je detekován v plicním sekretu jak u zdravých jedinců, tak v sekretu nemocných plic (2). Ve zdravých plicích se IgG detekuje hlavně v dolních cestách dýchacích, zatímco v horních cestách má dominantní postavení IgA. Velmi důležitou úlohu má IgG v sekundární obraně plic. Úloha dalších imunoglobulinů v plicích je víceméně neznámá.

V plicním sekretu je identifikováno mnoho proteinů z komplementového systému. Faktory C4 a C1q z klasické cesty aktivace komplementu jsou detekovány příležitostně, zatímco faktor B z alternativní cesty a složky C3 a C6 z klasické cesty jsou přítomny stále. Většina složek komplementu může být syntetizována alveolárními makrofágy. Předpokládá se však, že většina faktorů komplementu při-

tomných v sekretu přichází difúzí z plazmy během sekundární zánětlivé odpovědi. Časná aktivace malého množství C3 a C5 v sekretu může mít klíčovou roli ve vývoji zánětlivého procesu. Makrofágy a bakterie mají schopnost štěpit C3 a C5 na jejich aktivní komponenty, C3a, C3b a C5a. C3a a C5a mají chemotaktické schopnosti pro neutrofile, monocyty a eozinofily. C3b je nespecifický stimulátor tvorby protilátek, produkce lymfokinů a pro ADCC (na protilátkách závislá buněčná cytotoxicita), C5a má navíc opsonizační aktivitu. Během vývoje zánětlivé reakce se spustí aktivace komplementové kaskády. Komplex C5,6,7 může zvyšovat chemotaxi a spolu s „pozdními“ faktory C8 a C9 vazbou k buňkám lyzovat bakterie (8).

Během posledního desetiletí se dostalo do popředí studium cytokinů vzhledem k jejich multifunkčním vlastnostem. Ovlivňují mitózu, chemotaxi, uspořádání cytoskeletonu, imunomodulaci, extracelulární produkci atd. Cytokiny ovlivňují chování buněk vazbou ke specifickým, vysoce afinitním povrchovým receptorům cílových buněk. Jednotlivé cytokiny mohou inhibovat, stejně jako stimulovat buněčné funkce, například mitózu, a tím hrají klíčovou roli v homeostáze, v růstu buněk a genetickém přeskupení. Cytokiny, kterým bylo věnováno nejvíce pozornosti ve vztahu k plicním onemocněním, jsou PDGF (od destiček odvozený růstový faktor), IL-1 (interleukin), TGF- β (transformační růstový faktor), TNF- α (tumor nekrotický faktor) a nejnověji IL-6.

Plice rovněž produkují několik proteinů, které ovlivňují životnost bakterií a jejich proliferaci neimunitními mechanismy. Patří mezi ně i železo vázající proteiny laktoferrin a transferrin. Ty mohou redukovat dostupnost elementárního železa, které je kofaktorem pro bakteriální replikaci. Navíc laktoferrin může mít baktericidní účinky vazbou k endotoxinu (1) za současné přítomnosti lysozymu. Lysozym je muramidáza, která degraduje glykosidickou vazbu bakteriálních membránových peptidoglykanů.

Buňky imunitního systému v obraně plic

Lymfocyty se v plicích vyskytují v několika odděleních. Lymfocyty v bronchiálním epitelu se nazývají intraepiteliální lymfocyty (IELs). Buňky s fenotypem CD3+ tvoří 18 % všech buněk. V populaci buněk hlenu je asi 12 % lymfocytů, složených z asi 2 % CD19+ a 8 % CD3+ (6 % CD4+ a 2 % CD8+). Velkou převahu mají lymfocyty charakterizované znakem CD45RO („paměťový“ znak). B-lymfocyty a plazmatické buňky, z nichž mnoho produkuje a uvolňuje IgA, jsou koncentrovány kolem bronchiálních žlázek (18). V oblasti BALTu (bron-

choalveolární lymfoidní tkáň) byly detekovány buňky podobné M-buňkám, ale elektronovým mikroskopem byly zjištěny rozdíly mezi M-buňkami v Peyerových placích a v BALTu. Až do poloviny 80. let 20. století se nepředpokládal význam lymfocytů v oblasti intersticia. Holt a kol. v roce 1986 (3) zjistili překvapivě velký počet lymfocytů v lidských plicích, a ty nebyly ani z krve, ani z bronchoalveolárního prostoru. Celkový počet intersticiálních lymfocytů v lidských plicích je zhruba 1×10^{10} , což je množství srovnatelné s cirkulujícími krevními lymfocyty. Zajímavé je, že oproti krevním lymfocytům je v intersticiu zvýšené procento CD16+ buněk (NK-buňky). Většina plicních lymfocytů exprimuje α/β TCR a více než 90 % je pozitivních pro CD45RO znak. V bronchoalveolárním prostoru je přibližně 5×10^8 lymfocytů, což odpovídá asi 5 % všech cirkulujících lymfocytů a je to přibližně 10 % buněk bronchoalveolární laváže. Z toho je většina CD4+ lymfocytů, poměr CD4+/CD8+ je 1,7 (13). Je zde převaha paměťových T-buněk, a to 86 %. B-buňky tvoří jen 5–10 % bronchoalveolárních lymfocytů. Asi 20 % lymfocytů z bronchoalveolárních laváží exprimuje aktivační znak VLA-1 (very late antigen 1), který není vůbec exprimován cirkulujícími lymfocyty.

Plice jsou, stejně jako kůže, orgánem, který je stále vystaven expozici cizorodých částic, jako jsou toxiny, organické a anorganické částice a mikroorganismy, všudypřítomných ve vnějším prostředí. Plicní makrofágy jsou první obrannou bariérou. Jsou vytvářeny v kostní dřeni a diferencují se z cirkulujících monocytů po migraci do tkáně. Děje se tak v důsledku zvýšených koncentrací chemotaktických faktorů a dalších mediátorů. Maturované makrofágy lze rozdělit do pěti typů rozpoznávaných podle jejich anatomie a místa působení: pleurální, intersticiální, alveolární a intravaskulární makrofágy a dendritické buňky (DC) přítomné uvnitř epitelu a v malém počtu v intersticiu. Mimo dendritických buněk se ale tyto typy liší poměrně málo, a dokonce existují některé studie dokazující, že intersticiální makrofágy migrují do alveolárního prostoru a stávají se alveolárními. Naopak alveolární makrofágy mohou cestovat zpět do plicního parenchymu a dále migrovat přes tkáň nebo lymfatické vlasečnice do lymfatických uzlin. Dendritické buňky vytvářejí síť prstencovitých buněk v bronchiálním epitelu, kde reprezentují pravděpodobně plicní ekvivalent Langerhansových buněk v kůži (16).

Plicní makrofágy lze charakterizovat na základě exprese několika důležitých diferenciačních znaků. Za prvé je to CD14, což je diferenciační znak, který může být použit na rozlišování monocytů od maturovaných makrofágů a dendritických buněk. Je receptorem pro LPS a vyskytuje se na monocytech,

ale neexprimuje se u vyzrálých makrofágů. Dendritické buňky a většina intersticiálních i alveolárních makrofágů exprimují molekuly MHC třídy II, a to HLA-DR u lidí a Ia u myši. Dalšími diferenciačními znaky jsou RFD1 (pro indukční buňky), RFD7 (pro fagocyty), RFD1/D7 (pro supresivní buňky). Pomocí těchto znaků lze odlišit alveolární makrofágy (či makrofágy vzdušných cest) od makrofágů intersticiálních.

Neutrofile mají klíčovou úlohu v obraně plic. Malý počet neutrofilů můžeme najít v dýchacích cestách zdravých jedinců, ale k jejich invazi dochází až po vstupu antigenu. Neutrofile jsou myelopoitické buňky granulocytární linie, jsou často nazývány polymorfonukleárními leukocyty. Neutrofile nejsou schopny dělení. Zvyšování koncentrace neutrofilů v oblasti infikovaných a poškozených plic je komplexní proces zahrnující specifické signály z tkáně, na které krevní neutrofile odpovídají adhezí k endoteliálním buňkám (pomocí integrinů Mac-1, což je v CD nomenklatuře CD18/CD11b, nebo LFA-1 (leukocytární funkční antigen), v CD značen jako CD18/CD11a) a migrací přes endotel do plicní tkáně. Migrace neutrofilů do místa infekce je způsobena uvolněním chemotaktických faktorů, např. LTB4 (leukotrien), TNF α a IL-8. Také neutrofile exprimují LPS vázající receptor CD14.

Eozinofily jsou nedělící se granulované buňky, obsahující až 20 granulí na buňku. Granule jsou sférické a obsahují krystalické jádro tvořené MBP a matrix obsahující zásadité proteiny: ECP (eozinofilový kationický protein), EPO (eozinofilová peroxidáza) a EDN (eozinofily řízený neurotoxin). Eozinofily se nacházejí převážně v tkáni, na 1 eozinofilní buňku v krvi připadá 100 eozinofilů v tkáni. Na jejich růstu a diferenciaci se podílejí cytokiny, které jsou produkovány Th2 typem T-lymfocytů: IL-3, IL-5 a GM-CSF (granulomonocyto kolonie stimulující faktor) (15). Tyto T-buňky s Th2 profilem produkce cytokinů jsou přítomny u alergických a některých parazitických onemocněních.

Sledovat vývoj žírných buněk (MC), dokud nejsou v tkáni, je velmi obtížné. Z kmenové buňky se v kostní dřeni vyvíjí prekurzor žírné buňky, který dozrává až v tkáni, takže zřejmě existuje jako prekurzor i v cirkulující krvi. Zralé žírné buňky obsahují charakteristické granule a exprimují vysokoafinitní receptor, Fc ϵ RI, který váže IgE. Existují dva fenotypy žírných buněk: MCT fenotyp obsahující pouze tryptázu a MCTC fenotyp obsahující tryptázu a chymázu (5). Žírné buňky uvolňují histamin, PGD2 a další potencionální mediátory zánětlivé odpovědi. Expresí a produkcí histaminu, PGD2, LTC4 (leukotrien), kininu a chymázy aktivují bronchokonstrikci, sekreci hlenu, vazodilataci a nervovou stimulaci. PAF, IL-6 a IL-5 uvolněné žírnými

buňkami způsobují migraci a aktivaci leukocytů, LTC4 a IL-5 společně s TNF- α jejich adhezi. Interleukin-4 produkovaný žírnými buňkami stimuluje produkci IgE.

Také epiteliální buňky se aktivně podílejí na zánětlivé reakci. Tyto buňky produkují jak cytokiny, tak mediátory, které mohou řídit chemotaktickou aktivitu pro neutrofile, monocyty, eozinofily a bazofily. Epiteliální buňky neregulují pouze zánětlivé buňky, ale typ II epiteliálních buněk má také schopnost opravovat poškozenou tkáň, a to díky své schopnosti proliferace a migrace do poškozených míst.

Imunitní obrana plic

První linie obrany v dolních dýchacích cestách je zabezpečena alternativní cestou aktivace komplementu. Tekutina z bronchoalveolární laváže obsahuje aktivní složky komplementu, které na povrchu mikroorganismů vytvářejí komplex C3b-Bb. Vzhledem k tomu, že v tekutině z bronchoalveolární laváže nejsou regulační proteiny komplementu, stabilizaci C3b-Bb konvertázové aktivity vykonává vazba properdinu. Tato konvertáza iniciuje konverzi volné C3 molekuly na C3b, která se váže na povrch mikroba. Vytvořený membránově vázaný komplex váže složku C5, následně se štěpí a uvolňují se složky komplementu C3a a C5a, což jsou prozánětlivé peptidy. Alveolární makrofágy jako jsou jediné fagocytující buňky normálně přítomny v alveolárním prostoru. Ačkoli jsou plíce pod neustálým vlivem vnějšího prostředí, podléhají infekci jen zřídka. Příčinou toho je účinnost, s jakou dokáží makrofágy vzdušných cest spolu s dalšími faktory, jako je produkce hlenu a mukociliární aktivita, eliminovat mikroorganismy. Na rozdíl od monocytů a neutrofilů neprokazují alveolární makrofágy myeloperoxidázovou mikrobicidní aktivitu, ale jsou schopny respiračního vzplanutí, při kterém dochází k produkci reaktivních kyslíkových metabolitů. Dále pak produkují proteázy a kyselé hydrolázy. Úspěšnost nespecifické fagocytózy a mikrobicidní kapacity je závislá na dávce a typu mikroorganismu. Na myším modelu bylo ukázáno, že s dávkou nižší než 10^5 mikroorganismů jsou schopny si poradit samotné makrofágy, zatímco vyšší dávka vyžaduje spoluúčast polymorfonukleárních leukocytů nebo indukci vyžádané imunitní odpovědi (11). Zatímco organismy jako *Staphylococcus aureus* jsou alveolárními makrofágy zabíjeny, celá řada gramnegativních organismů je k této eliminaci rezistentní. Navíc intracelulární patogeny, jako např. *Mycobacterium*, *Listeria* a *Legionella*, jsou sice efektivně fagocytovány, ale jsou rezistentní k intarcelulárnímu zabíjení a jejich odstranění vyžaduje imunitní aktivaci.

Proces zánětlivé odpovědi je klíčovým mechanismem pro efektivní odstranění většiny mikrobů. Mnoho experimentů ukázalo důležitost přítomnosti polymorfonukleárních neutrofilů (PMN) při časném odstraňování mikroorganismů. Zatímco alveolární makrofágy mohou odstranit menší množství bakterií, pro efektivní odstranění velkých počtů plicních extracelulárních bakterií je nezbytná přítomnost PMN. Migrace leukocytů do místa infekce probíhá ve 4 stupních. Počáteční krok zahrnuje slabou vazbu PMN k endotelu integrací karbohydrátových ligand na vnější membráně PMN k selektivním na povrchu endoteliálních buněk. TNF- α rychle indukuje expresi P-selektinu a do několika hodin E-selektinu. Druhý krok je závislý na interakci mezi ICAM-1 (intracelulární adhezí molekula) na endoteliálních buňkách a LFA-1 na PMN. TNF- α je induktorem exprese ICAM-1. Třetí krok zahrnuje migraci leukocytů mezi endoteliálními buňkami. Na extravazaci leukocytů se podílí LFA-1 a PECAM (CD31) (adhezí molekula destiček a endoteliálních buněk). Ve čtvrtém kroku dochází k migraci leukocytů přes tkáň pod vlivem chemotaktického gradientu, který vytvářejí chemotaktické látky IL-8, ENA-78 (epiteliální a neutrofilní aktivací peptid), MCP-1 (monocytochemotaktický protein) a MIP-1 (makrofágový zánětlivý protein).

Specifická plicní imunitní odpověď je nezbytná pro eliminaci virulentních zakapsulovaných bakterií, virů a intracelulárních bakterií. V časně fázi imunitní odpovědi je vždy nezbytná aktivace T-buněk, která nastává v lymfoidních orgánech. Aktivace T-buněk vyžaduje spoluúčast antigen prezentujících buněk, které rozpoznávají a prezentují antigen na molekulách MHC a kostimulují lymfocyty. Předpokládá se, že hlavními antigen prezentujícími buňkami v plicích jsou dendritické buňky. Ty byly detekovány jak v intersticiu, tak ve sloupcovitém epitelu bronchů a jsou ideálně rozmístěny pro interakci s antigeny, které jsou zachyceny na bronchiální a alveolární plicní bariéře. Antigen je těmito buňkami transportován do lokálních a hilárních komplexů lymfatických uzlin. Klíčovou úlohu v obraně proti intracelulárním bakteriím, např. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *L. pneumophila* a *C. neoformans*, které jsou extrémně heterogenní, hrají T-buňky (7). T-buňky tvoří dvě hlavní populace: CD4 $\alpha\beta$ T-buňky, které rozpoznávají antigen prezentovaný buňkami na molekulách MHC třídy II, a CD8 $\alpha\beta$ T-buňky, rozpoznávající antigen vázaný na MHC třídy I. Zbylá populace γ/δ T-buněk je převážně CD4 i CD8 negativní a o jejich úloze v imunitní odpovědi se stále diskutuje. CD4+ buňky můžeme dále rozdělit do dvou podskupin podle cytokinů, které produkují: Th1 buňky produkují IFN- γ a IL-2, Th2 buňky produkují IL-4 a IL-5 a obě skupiny pak IL-3 a

GM-CSF. Th1 buňky způsobují oddálený typ hypersenzitivní reakce, aktivaci makrofágů pro mikrobicidní funkci a indukují produkci IgG2a. Th2 cytokiny podporují tvorbu IgG1, IgA a IgE. Ze studií na *M. tuberculosis* a *C. neoformans* je zřejmé, že pro jejich eliminaci jsou důležité jak Th1, tak Th2 cytokiny (6).

Klíčovou roli při zvyšování mikrobicidní aktivity proti většině intracelulárních patogenů hraje IFN- γ . Ten je produkován CD4, CD8 a γ/δ T-lymfocyty a NK-buňkami. Th2 lymfokiny mají důležitou úlohu u některých granulomatózních onemocnění. Interleukin-4 indukuje tuberkulostatickou aktivitu u myších mononukleárních fagocytů a je schopen redukovat mykobakteriální růst (4). V současné době je nejvíce studována role B-buněk. Donedávna jim byla přisuzována úloha pouze při tvorbě specifických protilátek. Během několika posledních let se však intenzivně studuje i role B-buněk v časně fázi po infekci (19). Jejich přesná funkce zde však není dosud známa.

Závěr

Patogeneze infekcí dýchacích cest je závislá na mnoha faktorech. Baktérie jsou neustále deponovány v celém dýchacím traktu. To, že bronchiální strom je udržován víceméně sterilní je důsledkem zejména mukociliárního způsobu likvidace mikroorganismů. První interakcí atakujících bakterií s hlenem je vzájemná nespecifická či specifická vazba. Některé bakteriální produkty mohou oslabit obranný mechanismus a mohou způsobit poškození epitelu, ovlivnit mukociliární transport a ničit baktericidní látky obsažené v hlenu. Multiplikace a rozšíření bakterií v plicích stimuluje organismus hostitele k obranným krokům zánětlivé odpovědi. Schopnost hostitele bránit se proti plicním patogenům, které ohrožují jeho integritu, závisí na množství deponovaných bakterií, jejich typu a virulenci, koordinaci funkcí mnoha různých populací buněk, expresi povrchových diferenciačních znaků, produkci cytokinů a účinnosti mikrobicidních mechanismů. Obecně lze říci, že obranný systém plic je poměrně účinný, vzhledem k tomu, jaké množství bakterií plicé neustále atakuje, ale přesné mechanismy imunitní reakce nejsou v současné úplně známy a jsou předmětem intenzivního studia.

Literatura

- ELLISON, RT. III. – GIEHL, TJ. Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J. Clin. Invest.*, 1991, vol. 88, p. 1080–1091.
- HILL, SL. – MITCHELL, JL. – BURNETT, D., et al. IgG subclasses in sputum from patients with chronic bronchial sepsis. *Thorax*, 1990, vol. 45, p. 780–781.
- HOLT, PG. – ROBINSON, BWS. – REID, M., et al. Extraction of immune and inflammatory cells from human lung parenchyma: evaluation of an enzymatic digestion procedure. *Clin. Exp. Immunol.*, 1986, vol. 66, p. 188–200.
- CHENSUE, SW. – TEREBUH, PD. – WARMINGTON, KS. Role of IL-4 and IFN- γ in *Schistosoma mansoni* egg-induced hypersensitivity granuloma formation. Orchestration, relative contribution, and relationship to macrophage function. *J. Immunol.*, 1992, vol. 148, p. 900–906.
- IRANI, AA. – BRADFORD, TR. – KEPLEY, CL., et al. Detection of MCT and MCTC types of human mast cells by immunohistochemistry using new monoclonal anti-tryptase and anti-chymase antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, 1989, vol. 37, p. 1509–1515.
- KAUFMANN, SHE. – FLEACH, I. Function and antigen recognition pattern of L3T4+ T cells clones from mycobacterium tuberculosis – immune mice. *Infect. Immun.*, 1986, vol. 54, p. 291–296.
- KUAFMANN, SHE. Immunity to intracellular bacteria. *Annu. Rev. Immunol.*, 1992, vol. 11, p. 129–163.
- LAPA, E. – SILVA, JR. – JONES, JAH., et al. The immunological component of the cellular inflammatory infiltrate in bronchiectasis. *Thorax*, 1989, vol. 44, p. 668–673.
- LEITH, DE. – BUTLER, JP. – SNEDDON, SL. Cough. In *Handbook of Physiology*. Bethesda: American Physiological Society, 1986, p. 315–336.
- OGRA, PL. – KARZOU, DT. – RIGHTHOUD, F., et al. Immunoglobulin responses in serum and secretions after immunisation with live and inactivated polio vaccine and natural infection. *N. Engl. J. Med.*, 1968, vol. 279, p. 893–900.
- ONOFRIU, HNM. – TOEWS, GB. – LIPSCOMB, MF., et al. Granulocyte/alveolar macrophage interaction in pulmonary clearance of *Staphylococcus aureus*. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1983, vol. 127, p. 335–342.
- PAVIA, D. Lung mucociliary clearance. In *Aerosol and the Lung*. Boston, Butterworths, 1984, p. 127–155.
- REYNOLDS, HY. Immunologic system in the respiratory tract. *Physiol. Rev.*, 1991, vol. 71, p. 1117–1133.
- Richardson, PS. – SOMERVILLE, M. – SHEEHAN, JK. Airways mucus: What is it and how does it alter in disease. *Eur. Resp. Rev.*, 1992, vol. 2, p. 263–266.
- SANDERSON, CJ. Interleukin-5, eosinophils and disease. *Blood*, 1992, vol. 79, p. 3101.
- SCHON-HEGARD, MA. – OLIVER, J. – McMENAMIN, PG., et al. Studies on the density, distribution and surface phenotype of intra epithelial class (Ia) antigen leaving dendritic cells in the conducting airways. *J. Exp. Med.*, 1991, vol. 173, p. 1345.
- STOCKLEY, RA. – MISTRY, AR. – BRADWELL, AR., et al. A study of plasma proteins in the sol phase of spu-

- tum from patients with chronic bronchitis. *Thorax*, 1979, vol. 34, p. 777–782.
18. Van HAARST, JMW. – De WIT, HJ. – DREXHAGE, HA., et al. Distribution and immunophenotyping of mononuclear phagocytes and dendritic cells in the human lung. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 1994, vol. 10, p. 487–492.
19. VORDERMEIER, HM. – VENKATAPRASAD, N. – HARRIS, DP., et al. Increase of tuberculous infection in the organs of B cell-deficient mice. *Clin. Exp. Immunol.*, 1996, vol. 106, no. 2, p. 312–316.

Korespondence: RNDr. Zuzana Kročová

Ústav radiobiologie a molekulární patologie

Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně

561 66 Těchonín

Do redakce došlo 22. 2. 2002
