

Odpowiedź immunologiczna na zakażenie wirusem RS

The immune response to respiratory syncytial virus infection

ALEKSANDRA SZCZAWIŃSKA-POPŁONYK

Klinika Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej
III Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Wirus RS jest najczęstszym patogenem wywołującym zapalenia oskrzeli i zapalenia płuc u niemowląt i dzieci do 2 roku życia. Patogeneza zakażenia RSV i choroby układu oddechowego jest wynikiem interakcji szeregu czynników zależnych od patogenu, takich jak indukcja specyficznych elementów odpowiedzi immunologicznej przez białka wirusowe z osobniczymi cechami gospodarza determinującymi przebieg choroby. Należą do nich: wiek dziecka – predyspozycja do ciężkiego przebiegu zakażenia RSV w okresie noworodkowym i wczesnoniemowlęcym, wcześniactwo związane z anatomiczną i czynnościową odmiernością układu oddechowego oraz niedojrzałością odpowiedzi immunologicznej, a także uwarunkowania genetyczne zjawisk immunologicznych odporności wrodzonej i adaptacyjnej (czynnościowy polimorfizm szeregu prozapalnych i immunoregulujących cytokin i chemokin, polimorfizm inicjujących odpowiedź immunologiczną antygenów HLA).

Słowa kluczowe: *wirus RS, zakażenie, odpowiedź immunologiczna, polimorfizm, dzieci*

Summary

Respiratory syncytial virus is the primary cause of bronchiolitis and pneumonia in infants and children by 2 years of age. Pathogenesis of the RSV-induced bronchopulmonary disease is related to wide spectrum of interactions between the pathogen itself, such as activation of specific components of the immune response by viral proteins with host – depending factors affecting the course of the disease. These comprise: child's age – young infants and neonates are particularly predisposed to the severe course of RSV infection, prematurity associated with distinctive anatomical and functional properties of the respiratory tract and immaturity of the immune response, as well as genetic factors governing the innate and adaptive immunity (functional polymorphism of proinflammatory and immunoregulatory cytokines and chemokines, polymorphism of HLA antigens inducing the immune response).

Key words: *respiratory syncytial virus, infection, immune response, polymorphism, children*

© Alergia Astma Immunologia 2008, 13(4): 208-216

www.alergia-astma-immunologia.eu

Nadesłano: 14.11.2008

Zakwalifikowano do druku: 28.11.2008

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Aleksandra Szczawińska-Popłonyk
Klinika Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej
III Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań
tel. (61) 848 01 11, (61) 849 13 17, fax (61) 848 01 11

Struktura wirusa RS

Swoją nazwę wirus RS zawdzięcza zmianom cytopatologicznym i zdolności do tworzenia syncytiów w hodowli tkankowej. RSV zaliczany jest do rodzaju *Pneumovirus*, z rodziny *Paramyxoviridae*. Należące do tej rodziny obok *Pneumovirus* inne rodzaje wirusów (*Paramyxovirus* – obejmujący m.in. wirusy paragrypy typu 1, 2 i 3 oraz wirusa świnki, a także *Morbillivirus* – zawierający wirusa odry) różnicowane są w oparciu o liczbę genów i rodzaj powierzchniowych glikoprotein [1].

RSV jest pleomorficznym, cytoplazmatycznym wirusem zawierającym jednoniciowy RNA, który w połączeniu z białkami wirusa tworzy rdzeń nukleokapsydu, otoczonego przez zewnętrzną warstwę lipidową. Każdy z dziesięciu genów wirusa RS koduje pojedyncze białko wirusowe. Charakterystyczna ich sekwencja odróżnia

RSV od innych wirusów z rodziny *Paramyxoviridae*. Osiem spośród dziesięciu białek wirusa RS, obecnych w zainfekowanych komórkach i w wirionach jest białkami strukturalnymi. Białka powierzchniowe wirusa: białko F (*fusion protein*) – glikoproteina zawierająca wiązania dwusiarczkowe oraz białko G (*attachment protein*) – glikoproteina nie zawierająca, w odróżnieniu od wirusa grypy, neuraminidazy i hemaglutyniny, są głównymi determinantami antygenowymi wirusa i indukują powstawanie przeciwciał. Białka SH (*small hydrophobic protein*), M (*matrix protein*) i M2 (*transcription antiterminator protein, second matrix protein*) związane są z otoczką wirusa. W nukleokapsydzie obecne są białka: N (*nucleoprotein*), P (*phosphoprotein*) i L (*large phosphoprotein*). NS1 i NS2 nie są białkami strukturalnymi, znajdują się one w zakażonych komórkach, a nie są obecne w wirionach [1, 2].

RSV wykazuje minimalne zróżnicowanie antygenowe; dotyczy ono białek G, F, N oraz P i stało się podstawą do wyróżnienia dwóch głównych typów wirusa RS – A i B. Największą zmiennością cechuje się białko G, które pomiędzy tymi dwoma typami wykazuje zaledwie 53% homologii w zakresie aminokwasowej. Również w obrębie poszczególnych typów A i B różnice strukturalne w sekwencji białka G wynosić mogą odpowiednio 20% i 9% [1].

Replikację wirusa rozpoczyna przyleganie do komórki gospodarza za pośrednictwem białka G. Otoczka wirusa ulega fuzji z błoną cytoplazmatyczną komórki poprzez białko F. W następstwie penetracji nukleokapsyd uwalniany jest do cytoplazmy, gdzie zachodzi replikacja. Wirusowy kwas rybonukleinowy stanowi matrycę dla mRNA, ten służy do translacji białek wirusowych, a komplementarny RNA umożliwia transkrypcję wirionu RNA. Antygeny wirusa RS można wykryć w hodowli komórkowej po ok. 9 godzinach, zaś po 11-13 godzinach stwierdza się obecność zakaźnych cząstek wirusa [1, 3, 4].

Rola antygenów wirusa RS

Trzy spośród wymienionych białek wirusa pełnią istotną rolę w indukowaniu odpowiedzi immunologicznej. Glikoproteina powierzchniowa (G) pobudza przede wszystkim limfocyty CD4 typu Th2 i odpowiedzialna jest za napływ eozynofili, nie wpływa natomiast na limfocyty cytotoksyczne CD8; słabo indukuje też odpowiedź komórek NK. W obrębie białka G zidentyfikowany został region odgrywający kluczową rolę w indukcji odpowiedzi typu Th2 został zidentyfikowany; delecje w obrębie tego regionu na modelach zwierzęcych w odpowiedzi na zakażenie RSV prowadzą do skutecznej reakcji immunologicznej eliminującej wirusa bez towarzyszącej eozynofilii płucnej [5, 6]. Oznacza to, że odpowiedź immunologiczna indukowana przez białko G odgrywa istotną rolę protekcyjną, ale przyczynia się też w znaczący sposób do efektu immunopatologicznego w zakażeniu RSV. Ekspresja białka fuzyjnego (F) prowadzi do aktywacji limfocytów cytotoksycznych oraz odpowiedzi typu Th1, czego skutkiem jest nasiloną reakcją zapalną z napływem komórek jednojądrzastych, cechująca chorobę RS-wirusową [7]. Podobny mechanizm, związany z indukowaniem odpowiedzi ograniczonej do limfocytów cytotoksycznych, z pominięciem limfocytów CD4 i bez zdolności pobudzania produkcji swoistych przeciwciał jest wynikiem ekspresji białka M2 (transcription antiterminator, matrix protein 2). Obserwowana w efekcie szybka eliminacja wirusa związana jest z nasileniem choroby [1].

Zaangażowanie komórek układu immunologicznego

W odpowiedzi na zakażenie wirusem RS obserwowany jest udział różnych komórek, spośród których niektóre

odgrywają rolę obronną, ale mogą też przyczyniać się do rozwoju zjawisk immunopatologicznych i nadmiernej reakcji zapalnej. Procesy immunologiczne charakteryzujące tak wczesną, jak i późną fazę choroby są efektem wielokierunkowych interakcji pomiędzy komórkami, z udziałem cytokin i chemokin indukowanych przez wirusa.

Wirus RS posiada zdolność skierowania odpowiedzi immunologicznej w stronę przewagi Th2 poprzez wpływ na komórki dendrytyczne. Zwiększenie ich liczby w płucach w wyniku zakażenia RSV może prowadzić do zwiększonego napływu limfocytów i nasilenia reakcji immunologicznej [8]. Równocześnie wykazano zmniejszenie zdolności wytwarzania przez komórki dendrytyczne IFN γ , a wzrost produkcji IL-10 i IL-11 oraz prostaglandyny E2 [9].

Efektom promowania reakcji immunologicznej z zaangażowaniem limfocytów Th2 poprzez ekspresję wirusowego białka G jest eozynofilia. Wykazano, że nadmiernie reaktywne limfocyty T CD4 typu Th2 są populacją oligoklonalną, w większości wykazującą ekspresję V β 14 [10, 11]. Rozwój patologicznej reakcji immunologicznej z uszkodzeniem mięszu płucnego z udziałem tej subpopulacji limfocytów T związany może być więc z prawdopodobnym efektem superantygeny białka G wirusa RS. U niemowląt z zapaleniem oskrzelików ujawniono udział jeszcze jednej populacji limfocytów Th2 – T1/ST2 w indukowaniu eozynofilii z udziałem RSV [12].

Następstwa zakażenia wirusem RS są także wynikiem charakterystycznego podłoża immunologicznego mięszu płucnego u w okresie noworodkowym i niemowlęcym, z dominacją odpowiedzi Th2-zależnej [13]. Badania molekularne ujawniły hipermetylację cytozyn regionu promotorowego genu IFN γ , zaburzającą efektywność transkrypcji w limfocytach T CD4 [14], a także zależną od IL-4 apoptozę limfocytów Th1 [15]. Ponadto w okresie noworodkowym stwierdzono zmniejszenie transkrypcji genu IL-12 w komórkach dendrytycznych typu monocytarnego [16]. Zjawiska te w znacznym stopniu przyczyniać się mogą do ciężkiego przebiegu choroby u noworodków i niemowląt zakażonych RSV.

Immunopatologia zakażenia RSV i rozwój choroby nie jest ograniczony wyłącznie do roli limfocytów Th2 i eozynofilii płucnej. W eliminacji wirusa niezbędna jest aktywność limfocytów T cytotoksycznych CD8, które są istotnym źródłem IFN γ w odpowiedzi na zakażenie RSV. Wykazano istnienie odwrotnej korelacji pomiędzy ciężkością przebiegu klinicznego zapalenia oskrzelików a stopniem wytwarzania IFN γ [17, 18]. Jednakże masywny napływ do płuc limfocytów cytotoksycznych przyczyniać się może do znacznego nasilenia objawów choroby w postaci zapalenia oskrzelików o ciężkim przebiegu, a także zespołu ostrej niewydolności oddechowej

[19]. Poza deficytem cytokin typu Th1, szczególnie IFN γ , wskazuje się także na zaburzenie równowagi mediatorów pochodnych Th1 i Th2 u dzieci zakażonych RSV [20].

W regulacji odpowiedzi immunologicznej na zakażenie RSV biorą udział także inne mniej liczne populacje komórkowe. Komórki NK są ważnym źródłem IFN γ , a aktywowane IL-12 hamują rekrutację eozynofili i zapobiegają wystąpieniu zależnych od eozynofili płucnej nasilonych objawów choroby [21]. Limfocyty T posiadające receptor typu gamma/delta mogą odgrywać istotną rolę w patologii zakażenia RSV, wytwarzając znaczne ilości IL-4 [22]. Komórki prezentujące antygeny o charakterze lipidowym w kontekście cząsteczek CD1d, wśród których przeważają limfocyty NKT, mają udział w eliminacji wirusa. Na modelu zwierzęcym wykazano, że niedobór CD1d prowadzi do osłabionej rekrutacji limfocytów cytotoksycznych T CD8 i zmniejszonego wytwarzania IFN γ w odpowiedzi na zakażenie RSV [23].

Swoiste przeciwciała anti-RSV

Obecne w surowicy noworodków przeciwciała neutralizujące anti-RSV klasy IgG są pochodzenia matczynego i zostały otrzymane w wyniku transferu przezłożyskowego. Ich czas półtrwania oceniany jest na 26 dni [24], a najwyższe stężenie w surowicy dziecka i związany z nim efekt protekcyjny przed zakażeniem ma istotne znaczenie do 2 miesiąca życia [25]. Obserwowana jest odwrotna korelacja pomiędzy stężeniem matczyńskich przeciwciał i ciężkością przebiegu zakażenia RSV, co między innymi uzasadnione jest późniejszym wiekiem zakażenia pierwotnego wirusem RS u tych dzieci [26]. W okresie pomiędzy 6 i 8 miesiącem życia przeciwciała matczne zanikają – stwierdza się je w tym okresie życia u ok. 2% niemowląt [27] i rozpoczyna się własna produkcja specyficznych przeciwciał zarówno surowiczych, jak i wydzielniczych powstających w tkance limfatycznej związanej z błonami śluzowymi.

Pierwotne zakażenie wirusem RS indukuje w ciągu 5-10 dni wytwarzanie immunoglobulin klasy IgM; odpowiedź ta zależy w znacznym stopniu od wieku pacjenta i jest osłabiona u niemowląt poniżej 6 miesiąca życia. Specyficzne przeciwciała klasy IgG, mieszczące się głównie w podklasach IgG1 i IgG3 osiągają największe stężenia w okresie 20-30 dni od zakażenia i obniżają się w ciągu około 12 miesięcy. W czasie reinfekcji obserwuje się efekt wzmożenia odpowiedzi immunologicznej i wytwarzanie IgG w wysokich stężeniach w ciągu 5-7 dni [1]. W I półroczu życia, cechującym się dysgamma globulinemią, odpowiedź ta jest nieefektywna. Podobnie wytwarzanie specyficznych immunoglobulin anti-RSV klasy IgA w pierwszych miesiącach życia jest upośledzo-

ne. Odpowiedź immunologiczna o znaczeniu ochronnym indukowana pierwotnym zakażeniem RSV jest upośledzona i krótkotrwała, predysponując do reinfekcji [28, 29, 30].

Badania Ponnuraj i wsp. wskazują także na możliwą rolę przeciwciał w promowaniu rozwoju infekcji RSV poprzez nasilanie replikacji wirusa [31]. Ponadto immunopatologia choroby RS-wirusowej związana być może z tworzeniem kompleksów immunologicznych z udziałem przeciwciał i aktywacją kaskady dopełniacza, które to zjawisko szczególnie rolę odgrywać może w obrębie miąższu płucnego [32].

Wrodzona odpowiedź immunologiczna

Wczesne białka wirusowe wchodzić mogą w interakcje z wieloma elementami odporności wrodzonej, sterując tym samym w istotny sposób zjawiskami nabytej odpowiedzi immunologicznej na zakażenie RSV. Białka powierzchniowe wirusa RS wiążą glikosaminoglikany – siarczan chondroityny i heparyny; mogą także reagować z L-selektyną i aneksyną II [33]. Wykazano strukturalną homologię białka G wirusa RS i chemokiny typu CX3C – fraktalkiny, co umożliwia wiązanie białka G z receptorem CX3CR1 i pobudzanie chemotaksji komórek odpowiadających na specyficzne ligandy CX3CL [34, 35]. Z kolei białko F wirusa wiąże receptor z grupy Toll-podobnych typu 4 (TLR4) [36, 37], zwiększając jego ekspresję na powierzchni komórek, co wykazano w odniesieniu do monocytów krwi obwodowej niemowląt chorych na zapalenie oskrzelików RSV [38]. Interakcja z TLR4 prowadzi do aktywacji czynnika jądrowego NF κ B poprzez białko adaptorowe MyD88; czynnik ten stymuluje transkrypcję genów zaangażowanych bezpośrednio w komórkową odpowiedź przeciwwirusową poprzez kinazę I κ B [2, 39, 40, 41, 42, 43]. Ponadto, poprzez generowanie wolnych rodników tlenowych zwiększona jest aktywność szlaku jądrowych czynników transkrypcyjnych JAK/STAT. Zarówno NF κ B, jak i STAT1 i STAT3 są mediatorami wrodzonej odpowiedzi immunologicznej – wytwarzania i sekrecji chemokin pobudzających rekrutację i aktywację komórek nacieku zapalnego oraz produkcję cytokin i interferonu alfa/beta [44, 45].

Wykazano także, że w obrębie komórek nabłonkowych układu oddechowego w odpowiedzi na wirusa RS udział bierze TLR3 [46, 47]. Jest to zgodne z hipotezą, że TLR4 jest głównym receptorem zewnątrzkomórkowym (rozpoznającym białko F wirusa RS), podczas gdy TLR3 – białko wewnątrzkomórkowe, rozpoznaje produkty replikacji wirusa. W zakażeniu RSV receptor TLR3 odgrywa także istotną rolę w indukowaniu wytwarzania chemokin i cytokin [48]. Spośród receptorów rozpoznających wzorce, również pod wpływem aktywacji cząsteczki CD14 na

komórkach prezentujących antygen, następuje wydzielanie IL-12, wpływającej pobudzająco na wytwarzanie IFN γ przez komórki NK [36, 37].

Białka niestrukturalne wirusa RS – NS1 i NS2 mają zdolność hamowania dojrzewania komórek dendrytycznych [49], modyfikowania wytwarzania interferonu [50] oraz indukowania oporności na interferon poprzez hamowanie czynnika regulatorowego IRF3 [51]. W następstwie dochodzi do zaburzenia szlaku prowadzącego do wytwarzania IL-18, która jest stymulatorem cytotoxyczności komórek NK i limfocytów T CD8(+) poprzez aktywność perforyny [52].

Phipps i wsp. wskazali na rolę eozynofiliów w promowaniu przeciwwirusowej odpowiedzi immunologicznej. Wykazali oni, że eozynofile wykazujące ekspresję receptorów Toll-podobnych rozpoznających wirusowe kwasy nukleinowe, ulegają aktywacji i degranulacji po stymulacji przez jednoniciowy RNA, wykorzystując szlak TLR7 – MyD88. Eozynofilia płucna na modelu zwierzęcym korelowała z ekspresją czynnika regulującego interferon IRF-7, wytwarzaniem IFN β i syntazy tlenu azotu, przyczyniając się do eliminacji wirusa [53].

Wirusowy RNA selektywnie stymuluje sekrecję chemokin typu CC, takich jak MIP-1 β , MIP-1 α , CCL5 (RANTES – *regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted*), typu C – rodzina limfotaktyn [54, 55], a także typu CXC, do których należą MIP-2 oraz IL-8, będąca czynnikiem promującym neutrofilie oraz ekspresję proteaz serynowych – granzymów w limfocytach cytotoxycznych i komórkach NK [56]. CCL5 z kolei wytwarzane jest także w odpowiedzi na takie czynniki stymulujące, jak IFN γ , IL-1 α , IL-1 β oraz TNF przez szereg komórek – fibroblasty, komórki nabłonkowe i mięśni gładkich, a w późniejszych etapach zakażenia przez komórki nacieku zapalnego, w tym limfocyty T γ/δ . CCL5 powoduje rekrutację monocytów, komórek T pamięci, eozynofiliów oraz aktywację limfocytów T [57, 58]. W zakażeniu RSV wzrost stężenia CCL5 koreluje z ciężkością przebiegu klinicznego choroby [59], a jego poziom w wydzielinie z nosogardła uznany być może za czynnik prognostyczny nawracających epizodów świszczącego oddechu w następstwie przebytego zapalenia oskrzelików RSV [60]. Badania przeprowadzone u dzieci chorych na zapalenie oskrzelików RSV wykazały u nich zwiększoną produkcję różnych chemokin CXC (w tym CXCL8, CXCL5, CXCL3 i CXCL2) w obrębie górnych dróg oddechowych oraz wytwarzanie w dużych stężeniach zarówno chemokin typu CXC (CXCL10, CXCL8) oraz typu CC (CCL2, CCL3) w dolnych drogach oddechowych. Interesujące jest, że CXCL10 jest jedną z niewielu chemokin zdolnych do wiązania receptorów różnych klas – zarówno CXCR3, jak i CCR3 [61].

Tabela 1. Czynniki patogenetyczne rozwoju astmy oskrzelowej w następstwie zakażenia RSV

Odpowiedź immunologiczna na wirusa RS promująca fenotyp astmatyczny
<ul style="list-style-type: none"> • Produkcja RSV-specyficznych IgE • Ekspresja FcϵRI na komórkach dendrytycznych i rekrutacja do płuc limfocytów T wytwarzających IL-13 • Przewaga odpowiedzi Th2-zależnej na zakażenie RSV indukowana przez wirusowe białko G • Zaburzenie równowagi limfocytów Th2/Th1 pamięci • Rekrutacja eozynofiliów • Ukierunkowanie odpowiedzi na aeroalergeny w stronę typu Th2
Profil cytokinowy
<ul style="list-style-type: none"> • Zwiększona liczba limfocytów T wytwarzających IL-4 i IL-5 w odpowiedzi na zakażenie RSV • Zmniejszone wytwarzanie IFNγ i indukcja oporności na interferon przez białka NS1 i NS2 wirusa RS • Zaburzenie stosunku IL-4:IFNγ • Zmniejszone wytwarzanie regulacyjnej IL-10 korelujące ze stopniem ciężkości zakażenia RSV • Zwiększone wytwarzanie chemokin w drogach oddechowych, zwłaszcza RANTES, MIP-1α, MIP-1β, IL-8 • Zwiększone uwalnianie histaminy i prostaglandyn • Rola czynników genetycznych : polimorfizm regionów promotorowych genów prozapalnych interleukin i chemokin
Dysfunkcja mechanizmów neuro-immunologicznych mediowana przez RSV
<ul style="list-style-type: none"> • Nieprawidłowa gęstość i reaktywność włókien nerwowych aferentnych • Zwiększona ekspresja czynników neurotropowych : substancji P i receptora neurokinin NK1 oraz NGF i receptorów NGF • Wysięk zapalny, rekrutacja i aktywacja leukocytów, degranulacja komórek tucznych i uwalnianie leukotrienów i cytokin prozapalnych
Anatomiczne i czynnościowe zaburzenia w układzie oddechowym
<ul style="list-style-type: none"> • Remodelling dróg oddechowych – włóknienie podnabłonkowe, okołoskrzelowe i okołonaczyniowe nacieki zapalne, hipersekrecja śluzu
Czynniki środowiskowe
<ul style="list-style-type: none"> • Reinfekcja RSV • Narażenie na alergeny inhalacyjne • Ekspozycja na dym tytoniowy

Zagadnienia immunogenetyki

Zróznicowana ciężkość przebiegu zakażenia RSV, przy równocześnie niewielkiej roli zmienności szczepów wirusa, przemawia za kluczowym znaczeniem czynników zależnych od gospodarza w determinowaniu obrazu klinicznego choroby. Młody wiek chorujących dzieci – noworodki i niemowlęta do 6 miesiąca życia, wcześniactwo, niedojrzałość immunologiczna szczególnie w odniesieniu do odporności adaptacyjnej oraz odmienności anatomiczne i czynnościowe układu oddechowego, a także osobnicze warunki socjoekonomiczne – narażenie na infekcje, przeludnienie, ekspozycja na alergeny i dym tytoniowy

oraz zanieczyszczenie środowiska są elementami modulującymi przebieg zakażenia RSV [62]. Przedmiotem licznych doniesień są także asocjacje genetyczne z predyspozycją do rozwoju zapalenia oskrzelików w wyniku infekcji RS-wirusowej, ciężkością przebiegu choroby oraz z jej następstwami w postaci nawracających epizodów świszczącego oddechu i ryzykiem rozwoju astmy oskrzelowej.

Hoebee i wsp. [63] wykazali związek pomiędzy ciężkim przebiegiem klinicznym zapalenia oskrzelików RSV u niemowląt a polimorfizmem pojedynczych nukleotydów (SNP) genów IL-4 (C590T) i receptora alfa IL-4 (I50V, Q551R), stanowiącym wariant prowadzący do zwiększonej transkrypcji („*gain of function*”), dostarczając dalszych danych na poparcie roli cytokin typu Th2 w patogenezie choroby. Autorzy ci wykazali także istotną asocjację pomiędzy rozwojem zapalenia oskrzelików u hospitalizowanych niemowląt w wieku poniżej 6 miesięcy a obecnością allelu -592C genu IL-10 oraz interakcję pomiędzy polimorfizmami genu IL-10 (C592A) i IL-4Ralfa (Q551R) [64]. Rola IL-10 w zakażeniu RSV, kluczowej cytokiny o charakterze regulatorowym, była przedmiotem kolejnych badań – Wilson i wsp. [65] znaleźli powiązanie dwóch innych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów z koniecznością prowadzenia wentylacji mechanicznej w przebiegu zapalenia oskrzelików RSV. Genotyp IL-10, jak również TNFalfa, IL-6 i IFNgamma w badaniu Alpera i wsp. związany był z ryzykiem występowania powikłania zakażenia RSV w postaci zapalenia ucha środkowego [66]. Predyspozycję genetyczną do rozwoju zapalenia o ciężkim przebiegu stwierdzono także w przypadku SNP genów elementów odporności wrodzonej – syntazy tlenu azotu NOS-2, IFNalfa i JUN (komponent regulacyjny czynnika transkrypcyjnego AP-1, którego aktywność prowadzi między innymi do zwiększonego wytwarzania TNFalfa) [67].

Elementami odpowiedzi ostrej fazy są kolektyny, spośród których ekspresja białek A (SP-A) i D (SP-D) surfaktantu zachodzi selektywnie w miąższu płucnym. Wiązanie kolektyn prowadzić może do aglutynacji i neutralizacji patogenów, opsonizacji i fagocytozy oraz modulowania odpowiedzi zapalnej i regulacji funkcji komórek dendrytycznych i limfocytów T [68]. Istotną korelację obserwowano pomiędzy specyficznymi genotypami w zakresie locus SP-A (powiązanie allelu 1A z występowaniem lizyny w pozycji 223) [69] oraz SP-D (homozygotyczny genotyp Met/Met w pozycji 11) [70] a predyspozycją do ciężkiego przebiegu zakażenia RSV u niemowląt. Rolę immunomodulującą i przeciwzapalną w zakażeniu RSV odgrywa także białko wydzielnicze komórek Clara; w przypadku defektu jego wytwarzania w postaci CCSP (-/-) stwierdzono na modelu zwierzęcym zwiększoną produkcję cytokin prozapalnych: IL-6,

IL-1beta, TNFalfa i chemokin: MIP-1alfa, MIP-1beta i MCP-1 [71, 72].

Dwa polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (Asp299Gly oraz Thr399Ile) związane są z zaburzeniem przekazywania sygnału przez rozpoznający produkty drobnoustrojów receptor TLR-4 [73]. Wspomniane SNP wykazują silny związek z występowaniem objawów choroby RS-wirusowej, ponadto ich heterozygotyczność powiązana jest z objawami klinicznymi zakażenia RSV u niemowląt przedwcześnie urodzonych [74]. Wyniki badań innych autorów zarówno potwierdzają [36,37], jak i przeczą [75] roli polimorficznych form zarówno TLR-4, jak i cząstki CD14 w modulowaniu przebiegu i ciężkości zakażenia RSV u niemowląt. W przypadku innych receptorów Toll-podobnych: TLR-9, TLR-10 oraz TLR-3 odmienności haplotypowe mają niewielkie znaczenie w odpowiedzi wrodzonej na zakażenie RSV [76].

Przedmiotem badań immunogenetycznych jest także rola chemokin w patofizjologii zakażenia RSV. W badaniach prowadzonych na zwierzętach wykazano, że homozygotyczna delecja w obrębie receptora dla chemokin CC (CCR1) prowadziła do znaczącego osłabienia odpowiedzi zapalnej na zakażenie RSV w postaci wytwarzania MIP-1alfa [77], zmniejszenia ekspresji genu związanego z wydzielaniem śluzu gob5 [78] oraz osłabienia patologicznej odpowiedzi w płucach na prowokację alergenem mediowaną przez IL-13 [79]. Także polimorfizmy w obrębie receptora CX3CR1 (warianty V249I oraz T280M), wpływające na siłę wiązania jego naturalnego liganda – fraktalkiny i modulujące interakcję receptora z glikoproteiną G wirusa RS, powiązane ze zwiększonym ryzykiem ciężkiego przebiegu zapalenia oskrzelików RSV [80]. Podobnie w przypadku chemokiny CCL5 (RANTES), istotnego mediatora w zakażeniu wirusem RS, dominująca w populacji odmiana polimorficzna (złożony genotyp – 28C/C – 403G/AIn1.1T/T) była predysponującą do ciężkiego przebiegu choroby RS-wirusowej [81].

Z uwagi na późne następstwa zapalenia oskrzelików RSV w postaci nawracających epizodów świszczącego oddechu, przedmiotem badań były IL-12 i IL-18, mediatory odgrywające kluczową rolę w modulowaniu równowagi Th1/Th2 w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie [82]. Wykazano, że polimorfizm 133C/G genu IL-18 związany jest z ciężkim przebiegiem zakażenia RSV i nasileniem procesu zapalnego w drogach oddechowych, nie prowadzącego do eliminacji wirusa [83]. Znaczenie w inicjowaniu zapalenia oraz aktywowaniu i stymulowaniu migracji neutrofilów ma IL-8. Interesujące jest, że badania polimorfizmu regionu promotorowego genu IL-8 (wariant -781C/T) wskazujące na asocjację z astmą oskrzelową nie wykazały równoczesnej genetycznej predyspozycji do ciężkiego przebiegu zakażenia RSV [84, 85]. Z kolei wariant polimorfizmu -251A/T

w regionie promotorowym genu tej chemokiny nie tylko identyfikowany był istotnie częściej w grupie niemowląt chorujących na zapalenie oskrzelików RSV, ale także wykazywał silną asocjację z nawracającymi epizodami świszczącego oddechu u tych dzieci [86, 87]. Również polimorfizm genetyczny IL-13, cytokiny odgrywającej rolę w mediowaniu indukowanej wirusowym białkiem G rekrutacji eozynofików do płuc, związany był z ciężkim przebiegiem infekcji RSV [88, 89]. W badaniu Ermersa i wsp. [90] podkreślono odmienne kliniczne, patofizjologiczne, immunologiczne i genetyczne czynniki determinujące występowanie wczesnych i późnych epizodów świszczącego oddechu po przebyciu zapalenia oskrzelików RSV. Objawy obturacji dolnych dróg oddechowych obserwowane u dzieci w wieku powyżej 6 lat stanowią fenotyp astmatyczny, będący genetycznie związany z czynnościowym polimorfizmem genu IL-13.

Podsumowanie

Patogeneza zakażenia wirusem RS jest następstwem dwukierunkowego charakteru zjawisk immunologicznych – z jednej strony odpowiedź immunologiczna odgrywa rolę ochronną, z drugiej zaś strony przyczynia się do nasilenia objawów choroby. Skuteczną obronę przed zakażeniem RSV zapewniają sprawne elementy odpowiedzi wrodzonej oraz subtelna równowaga pomiędzy adaptacyjną odpowiedzią komórkową i humoralną. Przeciwciała zarówno wydzielnicze, jak i obecne w surowicy odgrywają przede wszystkim rolę ochronną przed zakażeniem układu oddechowego, podczas gdy mechanizmy

komórkowe mają znaczenie w kontrolowaniu przebiegu i ustąpieniu infekcji, natomiast reakcje cytotoksyczne przyczyniają się głównie do eliminacji wirusa.

W wieku niemowlęcym istnieje szczególna predyspozycja do ciężkiego przebiegu choroby RS-wirusowej, aczkolwiek jest ona także zmienna osobniczo niezależnie od wieku dziecka. Ciężki przebieg zakażenia wirusem RS w najmłodszej grupie wiekowej zdeterminowany jest w głównej mierze niedojrzałością komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej – ograniczeniem wytwarzania przeciwciał do immunoglobulin klasy IgM – izotypu cechującego się niskim powinowactwem do antygeny, małym stężeniem przeciwciał IgM i IgA w surowicy, przezłożyskowym pochodzeniem surowicznych IgG, zredukowaną liczbą komórek T pamięci i słabą odpowiedzią adaptacyjną w zakresie sekrecji cytokin. Immunopatologia choroby mediowana zaburzeniem równowagi w obrębie subpopulacji limfocytów i przewagą odpowiedzi typu Th2 jest wynikiem specyficznego środowiska cytokin: zmniejszonego wytwarzania IFN γ i dominacją IL-4, IL-10 i IL-13. Dodatkowym determinantem osobniczej zmienności przebiegu zakażenia wirusem RS jest wybitny polimorfizm genów głównego układu zgodności tkankowej, warunkujący rozpoznanie peptydów i skuteczność odpowiedzi limfocytów T.

Poznanie i głębsze zrozumienie aspektów immunogenetycznych przyczynia się do wyjaśnienia patogenezy zakażenia RSV i mechanizmów choroby w układzie oddechowym, a stąd prowadzić może do opracowania nowych celów dla diagnostyki, prewencji i terapii.

Piśmiennictwo

1. Ogra P. Respiratory syncytial virus: The virus, the disease and the immune response. *Pediatr Resp Rev* 2004; 5: 119-126.
2. Haynes LM, Moore DD, Kurt-Jones EA i wsp. Involvement of toll-like receptor 4 in innate immunity to respiratory syncytial virus. *J Virol* 2001; 75: 10730-10737.
3. Openshaw PJ, Tregoning JS. Immune responses and disease enhancement during respiratory syncytial virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 541-555.
4. Openshaw PJ. Antiviral immune response and lung inflammation after respiratory syncytial virus infection. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 121-125.
5. Elliott MB, Pryharski KS, Yu Q i wsp. Characterization of recombinant respiratory syncytial viruses with the region responsible for type 2 Th-cell responses and pulmonary eosinophilia deleted from the attachment protein. *J Virol* 2004; 78: 8446-8454.
6. Maher CF, Hessel T, Blair E. Recombinant respiratory syncytial virus lacking secreted glycoprotein G is attenuated, non-pathogenic but induces protective immunity. *Microbes Infect* 2004; 6: 1049-1055.
7. Singh SR, Dennis VA, Carter CL i wsp. Respiratory syncytial virus recombinant F protein (residues 255-278) induces a helper T cell type 1 immune response in mice. *Viral Immunol* 2007; 20: 261-275.
8. Beyer M, Bartz H, Horner K i wsp. Sustained increases in numbers of pulmonary dendritic cells after respiratory syncytial virus infection. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 127-133.
9. Bartz H, Buning-Pfalle F, Turkel O i wsp. Respiratory syncytial virus induces prostaglandin E₂, IL-10, and IL-11 generation in antigen presenting cells. *Clin Exp Immunol* 2002; 129: 438-445.
10. Varga SM, Wang X, Welsh RM i wsp. Immunopathology in RSV infection is mediated by a discrete oligoclonal subset of antigen-specific CD4 T cells. *Immunity* 2001; 15: 637-646.
11. Johnson TR, Graham BS. Contribution of respiratory syncytial virus G antigenicity to vaccine-enhanced illness and the implications for severe disease during primary RSV infection. *Pediatr Infect Dis* 2004; 23: 46-57.
12. Walzl G, Matthews S, Kendall S i wsp. Inhibition of T1/ST2 during respiratory syncytial virus infection prevents Th2-, but not Th1- driven immunopathology. *J Exp Med* 2001; 193: 785-792.
13. Kristjansson S, Bjarnarson SP, Wennergren G i wsp. Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses during the first 3 months of life promote a local Th2 response. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 805-811.

14. White GP, Watt PM, Holt BJ i wsp. Differential patterns of methylation of the IFN-gamma promoter at CpG and non-CpG sites underlie differences in IFN-gamma gene expression between human neonatal and adult CD45RO(-) T cells. *J Immunol* 2002; 168: 2820-2827.
15. Roe MF, Bloxham DM, White DK. Lymphocyte apoptosis in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Clin Exp Immunol* 2004; 137: 139-145.
16. Goriely S, Vincart B, Stordeur P i wsp. Deficient IL-12(p35) gene expression by dendritic cells derived from neonatal monocytes. *J Immunol* 2001; 166: 2141-2146.
17. Welliver TP, Garofalo RP, Hosakote Y. Severe human respiratory tract illness caused by respiratory syncytial virus and influenza virus is characterized by the absence of pulmonary cytotoxic lymphocyte response. *J Infect Dis* 2007; 195: 1126-1136.
18. Olson MR, Varga SM. CD8 T cells inhibit respiratory syncytial virus vaccine-enhanced disease. *J Immunol* 2007; 179: 5415-5424.
19. Hammer J, Numa A, Newth C. Acute respiratory distress syndrome caused by respiratory syncytial virus. *Pediatr Pulmonol* 1997; 23: 176-183.
20. Melendi GA, Laham FR, Monsalvo C. Cytokine profiles in the respiratory tract during primary infection with human metapneumovirus, respiratory syncytial virus and influenza virus in infants. *Pediatrics* 2007; 120: 410-415.
21. Hussell T, Openshaw PJ. IL-12 activated NK cells reduce lung eosinophilia to the attachment protein of respiratory syncytial virus but do not enhance the severity of illness in CD8 T cell-immunodeficient conditions. *J Immunol* 2000; 165: 7109-7115.
22. Aoyagi M, Shimoyo N, Sekine K i wsp. Respiratory syncytial virus suppresses IFN-gamma production of gammadelta T cells. *Clin Exp Immunol* 2003; 131: 312-317.
23. Johnson TR, Hong S, Van Kaer L i wsp. NKT cells contribute to expansion of CD8(+) T cells and amplification of antiviral immune responses to respiratory syncytial virus. *J Virol* 2002; 76: 4294-4303.
24. Brandenburg AH, Groen J, van Stensel-Moll HA i wsp. Respiratory syncytial virus specific serum antibodies in infants under six months of age: limited serological response upon infection. *J Med Virol* 1997; 52: 97-104.
25. Munoz FM, Glezen PW. Why no effect of maternal respiratory syncytial virus- neutralizing antibody? *Pediatrics* 2003; 111: 218-220.
26. Kawasaki Y, Hosoya M, Katayose M i wsp. Role of serum neutralizing antibody in reinfection of respiratory syncytial virus. *Pediatr Int* 2004; 46: 126-129.
27. Hacimustafaoglu M, Celebi S, Aynaci E i wsp. The progression of maternal RSV antibodies in the offspring. *Arch Dis Child* 2004; 89: 52-53.
28. Piedra PA, Jewell AM, Cron SG i wsp. Correlates of immunity to respiratory syncytial virus (RSV)- associated hospitalization: establishment a minimum protective threshold level of serum neutralizing antibodies. *Vaccine* 2003; 21: 3479-3482.
29. Shinoff JJ, O'Brien KL, Thumar B i wsp. Young infants can develop protective levels of neutralizing antibody after infection with respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 2008; 198: 1007-1015.
30. Singleton R, Etchard N, Hou S i wsp. Inability to evoke a long-lasting protective immune response to respiratory syncytial virus infection in mice correlates with ineffective nasal responses. *J Virol* 2003; 77: 11303-11311.
31. Ponnuraj E, Hayward AR, Raj A i wsp. Increased replication of respiratory syncytial virus in pulmonary infiltrates is associated with enhanced histopathological disease in bonnet monkeys pre-immunized with a formalin-inactivated vaccine. *J Gen Virol* 2001; 82: 2663-2673.
32. Polack FP, Teng MN, Collins PL i wsp. A role of immune complexes in enhanced respiratory syncytial virus disease. *J Exp Med* 2002; 196: 859-865.
33. Malhotra R, Ward M, Bright H i wsp. Isolation and characterization of potential respiratory syncytial virus receptor on epithelial cells. *Microbes Infect* 2003; 5: 123-133.
34. Amanatidou V, Sourvinos G, Apostolakis S i wsp. T280M variation of the CX3C receptor gene is associated with increased risk for severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 410-414.
35. Lindell DM, Lane T, Lukacs NW. CXCL10/CXCR3-mediated responses promote immunity to respiratory syncytial virus infection by augmenting dendritic cell and CD8(+) T cell efficacy. *Eur J Immunol* 2008; 38: 2168-2179.
36. Haynes LM, Moore DD, Kurt-Jones EA i wsp. Involvement of toll-like receptor 4 in innate immunity to respiratory syncytial virus. *J Virol* 2001; 75: 10730-10737.
37. Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L i wsp. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat Immunol* 2000; 1: 398-401.
38. Gagro A, Tomnac M, Krsulovic-Hresic V i wsp. Increased toll-like receptor 4 expression in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Clin Exp Immunol* 2004; 135: 267-272.
39. Bhoj VG, Sun Q, Bhoj EJ i wsp. MAVS and MyD88 are essential for innate immunity but not cytotoxic T lymphocyte response against respiratory syncytial virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 14046-14051.
40. Haeberle HA, Takizawa R, Casola A i wsp. Respiratory syncytial virus-induced activation of nuclear factor kappa B in the lungs involves alveolar macrophages and toll-like receptor 4-dependent pathways. *J Infect Dis* 2002; 186: 1199-1206.
41. Haeberle HA, Casola A, Gatalica Z i wsp. IkappaB kinase is a critical regulator of chemokine expression and lung inflammation in respiratory syncytial virus infection. *J Virol* 2004; 78: 2232-2241.
42. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev* 2001; 1: 135-145.
43. Singh BP, Chauhan RS, Singhal LK. Toll-like receptors and their role in innate immunity. *Current Science* 2003; 85: 1156-1164.
44. Durbin JE, Johnson TR, Durbin RK i wsp. The role of IFN in innate respiratory syncytial virus pathogenesis. *J Immunol* 2002; 168: 2944-2952.
45. Johnson TR, Mertz SE, Gitiban N i wsp. Role for innate IFNs in determining respiratory syncytial virus immunopathology. *J Immunol* 2005; 174: 7234-7241.
46. Wang JP, Kurt-Jones EA, Finberg RW. Innate immunity to respiratory viruses. *Cell Microbiol* 2007; 9: 1641-1646.
47. Shingai M, Azume M, Ebihara T i wsp. Soluble G protein of respiratory syncytial virus inhibits toll-like receptor 3 / 4-mediated IFN-beta induction. *Int Immunol* 2008; 20: 1169-1180.
48. Rudd BD, Smit JJ, Flavell RA i wsp. Deletion of TLR3 alters the pulmonary innate environment and mucus production during respiratory syncytial virus infection. *J Immunol* 2006; 176: 1937-1942.

49. Munir S, Le Nouven C, Luongo C i wsp. Nonstructural proteins 1 and 2 of respiratory syncytial virus suppress maturation of human dendritic cells. *J Virol* 2008; 82: 8780-8796.
50. Moore EC, Barber J, Tripp RA. Respiratory syncytial virus attachment and nonstructural proteins modify the type 1 interferon response associated with suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins and IFN- stimulated gene-15 (ISG 15). *J Virol* 2008; 5: 116.
51. Spann KM, Tran KC, Collins PL. Effects of nonstructural proteins NS1 and NS2 of human respiratory syncytial virus on interferon regulatory factor 3, NF-kappaB and proinflammatory cytokines. *J Virol* 2005; 79: 5353-5362.
52. Kotelkin A, Belyakov IM, Yang L i wsp. The NS2 protein of human respiratory syncytial virus suppresses the cytotoxic T cell response as a consequence of suppressing the type 1 interferon response. *J Virol* 2006; 80: 5958-5967.
53. Phipps S, Lam CHE, Mahalingam S i wsp. Eosinophils contribute to innate antiviral immunity and promote clearance of respiratory syncytial virus. *Blood* 2007; 110: 1578-1586.
54. Haeberle HA, Kuziel WA, Dietrich HJ i wsp. Inducible expression of inflammatory chemokines in respiratory syncytial virus infected mice: role of MIP-1 alpha in lung pathology. *J Virol* 2001; 75: 878-890.
55. Olszewska-Pazdrak B, Casola A, Saito T i wsp. Cell-specific expression RANTES, MCP-1 and MIP-1alpha by lower airway epithelial cells and eosinophils infected with respiratory syncytial virus. *J Virol* 1998; 72: 4756-4764.
56. Bem RA, Bos AP, Bots M i wsp. Activation of granzyme pathway in children with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Res* 2008; 63: 650-655.
57. Culley FJ, Pennycook AM, Tregoning JS i wsp. Role of CCL5 (RANTES) in viral lung disease. *J Virol* 2006; 80: 8151-8157.
58. John AE, Berlin AA, Lukacs NW. Respiratory syncytial virus-induced CCL5/RANTES contributes to exacerbation of allergic airway inflammation. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1677-1685.
59. Tekkanat KK, Maassab H, Miller A i wsp. RANTES (CCL5) production during primary respiratory syncytial virus infection exacerbates airway disease. *Eur J Immunol* 2002; 32: 3276-3284.
60. Chung HL, Kim SG. RANTES may be predictive of later recurrent wheezing after respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *Ann Allergy Clin Immunol* 2002; 88: 463-467.
61. Marodi L. Neonatal innate immunity to infectious agents. *Infect Immun* 2006; 74: 1999-2006.
62. Simoes EA, Carbonell-Estrany X. Impact of severe disease caused by respiratory syncytial virus in children living in developed countries. *Pediatr Infect Dis* 2003; 22: 13-18.
63. Hoebee B, Rietveld E, Bont L i wsp. Association of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis with interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha polymorphism. *J Infect Dis* 2003; 187: 2-11.
64. Hoebee B, Bont L, Rietveld E i wsp. Influence of promoter variants of interleukin-10, interleukin-9 and tumor necrosis factor alpha genes on respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis* 2004; 189: 239-247.
65. Wilson J, Rowlands K, Rockett K i wsp. Genetic variation at the IL-10 gene locus is associated with severity of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis* 2005; 191: 1705-1709.
66. Alper CM, Winther B, Hendley O i wsp. Cytokine polymorphism predict the frequency of otitis media as a complication of rhinovirus and RSV infection in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008; epub ahead of print.
67. Janssen R, Bont L, Siezen CL i wsp. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis is predominantly associated with innate immune genes. *J Infect Dis* 2007; 196: 826-834.
68. Haagsman HP, Hogenkamp A, van Eijk M i wsp. Surfactant collectins and innate immunity. *Neonatology* 2008; 93: 288-294.
69. Lofgren J, Ramet M, Renko M. Association between surfactant protein A locus and severe respiratory syncytial virus infection in infants. *J Infect Dis* 2002; 185: 283-289.
70. Lahti M, Lofgren J, Marttila R i wsp. Surfactant protein D gene polymorphism associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Res* 2002; 51: 696-699.
71. Harrod KS, Mouday AD, Shipp BR i wsp. Clara cell secretory protein decreases lung inflammation after acute virus infection. *Am J Physiol* 1998; 275: 924-930.
72. Wang SZ, Rosenberger CL, Bao YX i wsp. Clara cell secretory protein modulates lung inflammatory and immune responses to respiratory syncytial virus infection. *J Immunol* 2003; 171: 1051-1060.
73. Tal K, Mandelberg A, Dalal I i wsp. Association between common toll-like receptor 4 mutations and severe respiratory syncytial virus disease. *J Infect Dis* 2004; 189: 2057-2063.
74. Awomoyi AA, Rallabhandi P, Pallin TI i wsp. Association of TLR 4 polymorphisms with symptomatic respiratory syncytial virus infection in high-risk infants and young children. *J Immunol* 2007; 179: 171-177.
75. Paulus SC, Hirschfeld AF, Vichor RE i wsp. Common human toll-like receptor 4 polymorphisms- role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance. *Clin Immunol* 2007; 123: 252-257.
76. Mailaparambil B, Krueger M, Heinze J i wsp. Polymorphisms of toll-like receptors in the genetics of severe RSV associated disease. *Dis Markers* 2008; 25: 59-65.
77. Bonville CA, Lau VK, DeLeon JM i wsp. Functional antagonism of chemokine receptor CCR1 reduces mortality in acute pneumovirus infection in vivo. *J Virol* 2004; 78: 7984-7989.
78. Miller AL, Gerard C, Schaller M i wsp. Deletion of CCR1 attenuates pathophysiologic responses during respiratory syncytial virus infection. *J Immunol* 2006; 176: 2562-2567.
79. John AE, Gerard C, Schaller M i wsp. Respiratory syncytial virus-induced exaggeration of allergic airway disease is dependent upon CCR1-associated immune responses. *Eur J Immunol* 2005; 35: 108-116.
80. Amanatidou V, Sourvinos G, Apostolakis S i wsp. T280M variation of the CX3C receptor gene is associated with increased risk for severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis* 2006; 25: 410-414.
81. Amanatidou V, Sourvinos G, Apostolakis S i wsp. RANTES promoter gene polymorphisms and susceptibility to severe respiratory syncytial virus-induced bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis* 2008; 27: 38-42.
82. Wang SZ, Bao YX, Rosenberger CL i wsp. IL-12p40 and IL-18 modulate inflammatory and immune responses to respiratory syncytial virus infection. *J Immunol* 2004; 173: 4040-4049.
83. Puthothu B, Krueger M, Forster J i wsp. Interleukin (IL)-18 polymorphism 133C/G is associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis* 2007; 26: 1094-1098.

84. Puthothu B, Krueger M, Heinze J i wsp. Impact of IL-8 and IL-8 receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infection. *Clin Mol Allergy* 2006; 4: 2.
85. Heinzmann A, Ahlert I, Kurz T i wsp. Association study suggests opposite effects of polymorphisms within IL-8 on bronchial asthma and respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 671-676.
86. Tian M, Zhiao DY, Wen GY i wsp. Association between interleukin-8 gene -251 locus polymorphism and respiratory syncytial virus bronchiolitis and post-bronchiolitis wheezing in infants. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2007; 45: 856-859.
87. Goetghebuer T, Isles K, Moore C i wsp. Genetic predisposition to wheeze following respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 801-803.
88. Castilow EM, Meyerholz DK, Varga SM. IL-13 is required for eosinophil entry into the lung during respiratory syncytial virus vaccine- enhancement disease. *J Immunol* 2008; 180: 2376-2384.
89. Puthothu B, Krueger M, Forster J i wsp. Association between severe respiratory syncytial virus infection and IL-13 / IL-4 haplotypes. *J Infect Dis* 2006; 193: 438-441.
90. Ermers MJ, Hoebee B, Hodemaekers HM i wsp. IL-13 genetic polymorphism identifies children with late wheezing after respiratory syncytial virus infection. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1086-1091.