

Ospa prawdziwa: co dalej?

MAREK NIEMIAŁTOWSKI

Pracownia Immunologii Katedry Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Niemiałtowski M.

Smallpox: what next?

Summary

The World Health Organization (WHO) announced on May 8, 1980 that the smallpox virus (VARV) had been eradicated from the environment. This was possible after the spectacular success of the Intensified Smallpox Eradication Program initiated in 1967 by WHO. In this mini review the history of smallpox variolation and vaccination is summarized. The status quo in this matter is discussed as well as the hypothetical situation connected with the possibility of the reintroduction of VARV to nature. Some attention is given to Dr. Edward Jenner (1749-1823), the father of immunology and one of the world's greatest scientific visionaries who was well ahead of his time.

Keywords: orthopoxviruses, variola virus, cowpox virus

Wirus ospy ludzkiej (VARV*) należy do rodziny Poxviridae, ważnej z punktu widzenia historii nauki i praktyki rodziny dużych (220-450 nm × 140-260 nm) dsDNA-wirusów (130-375 kb; G+C 35-40%), która dzieli się na dwie podrodziny: Entomopoxvirinae (pokswirusy owadów z 3 rodzajami: Entomopoxvirus: A, B, C) i Chordopoxvirinae (pokswirusy kręgowców) – do tej ostatniej zaliczamy osiem rodzajów wirusów: Orthopoxvirus, Avipoxvirus, Capripoxvirus, Leporipoxvirus, Molluscipoxvirus, Parapoxvirus, Suipoxvirus, Yatapoxvirus (6).

Do rodzaju Orthopoxvirus należy wspomniany już VARV wywołujący ospę ludzką (prawdziwą; smallpox), która wykluła się w Azji, gdzie aż do końca lat 70. XX w., od co najmniej 3000 lat, dziesiątkowała ludność Chin i Indii. W kontekście produkcji szczepionek ważny jest brak rezerwuaru wirusa wśród zwierząt oraz jego stabilność antygenowa. Inni przedstawiciele ortopokswirusów to: wirus ospy bydła (cowpox virus, CPXV), wirus krowianki (VACV, vaccinia virus), wirus ospy małp (monkeypox virus, MPXV) wywołujący u małp smallpox-like disease – wirus ten był rozważany jako wirus „rodzicielski” dla VARV, podobnie, jak później SIV (simian immunodeficiency virus) dla HIV (human immunodeficiency virus), wirus ektromelii (ECTV, wirus ektromelii (ospy myszy zwanej „smallpox of mice” ze względu na podobieństwo objawów klinicznych ospy u myszy do objawów ospy prawdziwej u człowieka)), wirus ospy świń (swinepox virus, SWPV; warto wspomnieć, że świniom mogą

wykazywać objawy choroby również po zakażeniu VACV), wirus ospy wielbłądów (camel pox virus, CMLV) i inne ortopokswirusy (3, 6).

W tym kontekście warto przypomnieć Edwarda Jennera (1749-1823), który 14 maja 1796 r. po raz pierwszy użył z sukcesem szczepionki przeciwko ospie ludzkiej – w skład szczepionki wchodził wirus ospy krowiej („the vaccine” od łacińskiego słowa „vacca” – krowa) uzyskany ze zmian ospowych (3, 7). A więc szczepionka anti-VARV oparta jest na CPXV zaadaptowanym ewolucyjnie do innego gatunku niż człowiek – wirus ten skutecznie zapewnił ochronę przeciwko VARV u tych osób (głównie dzieci), które zostały nim zaszczepione (3-5).

W 1967 r. Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization, WHO) uruchomiła międzynarodowy program zwalczania ospy ludzkiej (Intensified Smallpox Eradication Program) poprzez zastosowanie udoskonalonych szczepionek przeciwko ospie prawdziwej i masowych szczepień, w tym przede wszystkim w krajach azjatyckich, afrykańskich i południowoamerykańskich, w których występowały endemiczne ogniska ospy prawdziwej (3, 4, 8). W utworzonej the Global Commission for the Certification of Smallpox Eradication uczestniczyli znakomici wirusolodzy i epidemiolodzy z wielu krajów świata, w tym Frank Fenner oraz Donald A. Henderson, wielce zasłużeni w zwalczaniu ospy prawdziwej (4, 6).

Istnieją kontrowersje co do pochodzenia i naturalnych rezerwuarów wirusów ospy używanych do szczepień, w tym CPXV i VACV, które znacznie różnią się od siebie wieloma cechami, w tym mapą genetyczną. Według Fennera i wsp. (3), VACV mógł powstać wsku-

* Najczęściej używane skróty: CPXV, wirus ospy krowiej; ECTV – wirus ospy myszy (ektromelii); MPXV, wirus ospy małp; OUN, ośrodkowy układ nerwowy; VACV, wirus krowianki; VARV, wirus ospy ludzkiej (prawdziwej).

tek: (i) zaadaptowania się VARV do krów, w którym podlegał kolejnym pasażom, (ii) wielokrotnych pasażów VARV w skórze zakażonych ludzi pod koniec XVIII w. i we wczesnych latach XIX w., co mogło doprowadzić do zmian genotypu i, w następstwie, fenotypu VARV w kierunku typowym dla VACV, (iii) wytworzenia się hybryd CPXV i VARV we wczesnych latach XIX w., kiedy to CPXV był powszechnie używany do wakcynacji. Być może, VACV jest wyizolowaną ze zwierząt dzikich lub domowych wirusową „skamieniałością” ewolucyjną, a jego aktywność biologiczna jest możliwa do utrzymania tylko w warunkach laboratoryjnych bądź też powstał jako wytwór mutacji CPXV wskutek jego wielokrotnych pasażów w skórze ludzi oraz bydła, owiec lub innych gatunków zwierząt – warto przypomnieć, że CPXV ma największy genom ze wszystkich ortopokswirusów i mutacje zachodzą w nim z dużą częstotliwością.

Do wytwarzania atenuowanej szczepionki przeciw ospowej używano głównie cieląt, w których namnażano VACV, a mniej innych gatunków zwierząt np. owiec. Wirusy szczepionkowe (przede wszystkim szczep VACV – Lister oraz VACV – New York City Board of Health) namnażano też we wrażliwych hodowlach komórek *in vitro* lub na błonie kosmówkowo-omoczniowej (CAM, chorion allantois membrane) zależonych jaj kurzych. Po ocenie ryzyka związanego z używaniem do szczepień różnych szczepów VACV wielu producentów zaczęło stosować jako wirus szczepionkowy tylko szczep Listera, który powodował mniej ciężkich powikłań u zaszczepionych osób. W przypadku używania atenuowanej szczepionki przeciwko VARV występowały dwa rodzaje bardzo niebezpiecznych komplikacji: (i) uszkodzenia OUN wskutek indukcji stanów zapalnych w mózgu (neurovaccinia) oraz (ii) powstawania zmian skórnych (dermal vaccinia) u zaszczepionych osób (3, 5). Niebezpieczeństwo to było szczególnie istotne u tych pacjentów, u których występowała dysfunkcja mechanizmów odpornościowych, jak również u osób pobierających leki immunosupresyjne.

I choć szczepionka przeciwko ospie ludzkiej w skali masowej znakomicie spełniła swoją rolę ochronną, była też jednak przyczyną dużej liczby przypadków śmiertelnych spowodowanych występowaniem licznych zapaleń mózgu oraz zapaleń rdzenia kręgowego wywoływanych przez atenuowane (lub tylko częściowo atenuowane!) wirusy szczepionkowe szczególnie u zaszczepionych dzieci i osób starszych (3-5). Podobne objawy u osób zakażonych wywoływał VARV – wirus ten występujący na obszarze Azji nazywano „variola major virus” (VARV major; powodował od 20-40% przypadków śmiertelnych), a we wschodniej Afryce i Ameryce Południowej – „variola minor virus” (VARV minor lub alastrim; powodował około 1% śmiertelnych przypadków). Tak więc zarówno VARV „dziki”, jak i wirusy szczepionkowe mogły powodować dużą liczbę zgonów, co czyniło cały pro-

gram szczepień bardzo ryzykownym (z tego powodu możliwość użycia VACV czy też innych wirusów, jako wektorów różnych genów innych czynników zakaźnych niesie ze sobą ryzyko ciężkich zachorowań mogących zakończyć się śmiercią pacjentów, do których wprowadzono wektory szczepionkowe, stosując – w wielu przypadkach ogranicza to lub całkowicie uniemożliwia ich stosowanie do celów profilaktycznych). Mimo różnych zagrożeń i porażek Intensified Smallpox Eradication Program (1967-1977) zakończył się wielkim sukcesem (ostatni, naturalny śmiertelny przypadek ospy ludzkiej zarejestrowano w 1977 r. w Somalii, jakkolwiek rzeczywiście ostatnim był zgon w Anglii (Birmingham) w 1978 r. członek personelu laboratoryjnego pracującego z VARV) i 8 maja 1980 r. WHO mogła ogłosić, że świat jest wolny od VARV, a zatem ospa ludzka została skutecznie zwalczona (4, 8).

Nie powinniśmy być jednak tym uspokojeni, gdyż szczepy VARV w dalszym ciągu istnieją, a obecna sytuacja może być ciszą przed burzą. W wyniku porozumienia społeczności międzynarodowej w latach 1994 i 1999, szczepy VARV będące w posiadaniu różnych krajów zostały, przynajmniej oficjalnie, zniszczone z wyjątkiem zachowania ich w laboratoriach referencyjnych dwóch krajów współpracujących ściśle z WHO, to jest w: (i) Rosji w Institute of Virus Preparations w Moskwie i State Research Center of Virology and Biotechnology (VECTOR) w Koltsovo w regionie nowosybirskim oraz (ii) USA w U.S. Center for Disease Control and Prevention w Atlancie, GA (4); szczepionkowy referencyjny szczep VACV (szczep Listera Elstree) jest przechowywany w WHO Collaborating Centre for Smallpox Vaccine w Bilthoven, Holandia. Wielu ekspertów uważa, że szczepy VARV mogą znajdować się również w innych krajach, nie mówiąc już o laboratoriach wojskowych, w których prowadzi się badania nad bronią biologiczną i jej produkcję. Pomimo trwającej od co najmniej dekady gorącej dyskusji nad całkowitym zniszczeniem istniejących szczepów VARV, do tej pory nie podjęto takiej decyzji, a wręcz przeciwnie WHO rozważa ostatnio możliwość prowadzenia badań z użyciem VARV po uzyskaniu wcześniejszej zgody tej organizacji. Należy podkreślić fakt, że bardzo duża część ludzkości nie jest od 25 lat szczepiona przeciwko ospie prawdziwej, dlatego też w przypadku ponownego wprowadzenia VARV do środowiska mogłaby nastąpić katastrofa na wielką skalę, szczególnie wśród młodej części populacji, a olbrzymia mobilność komunikacyjna milionów ludzi i łatwo przewidywalna panika tylko zwiększyłyby stopień śmiertelnego zagrożenia. I chociaż badania Demkowicza i wsp. (1) wykazały, że aktywne VACV-swoiste CD8⁺ i CD4⁺ CTL (cytotoksyczne limfocyty T) można stwierdzić nawet po 50 latach u osób, które w wieku dziecięcym zostały zaszczepione VACV, to jednak warto pamiętać, że status immunologiczny osób zaszczepionych przeciwko ospie ludzkiej nie jest

klarowny i w chwili obecnej trudno odpowiedzialnie stwierdzić, na ile skuteczne okazałyby się szczepienia wykonane przed 1980 r. Rozwój współczesnych szczepionek anty-VARV jest związany z badaniami modelowymi nad szczepionkami DNA, które mogą chronić małpy (głównie *cynomolgus* i *rhesus*) przed śmiertelnymi dawkami wirusa ospy małp (MPXV, monkeypox virus). Prowadzone prace zmierzają do uzyskania bezpiecznych szczepionek, które zastąpią stare, co prawda w skali masowej bardzo efektywne, ale dające groźne efekty uboczne. Dlatego też szczepy VACV są zastępowane bezpieczniejszymi szczepami, jak: (i) zmodyfikowany, żywy szczep VACV Ankara (MVA, modified vaccinia Ankara; pasażowany 574 razy w fibroblastach zarodków kury) lub (ii) szczep DryVax używany do szczepienia ludzi w USA – u pewnej liczby osób zaszczepionych DryVax stwierdzono jednak wystąpienie efektu ubocznego w postaci stanów zapalnych serca. Oba te szczepy są produkowane przez firmy: (i) Acambis, Cambridge, MA, USA oraz (ii) Danish-German Biotech Bavarian-Nordic). W U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases w Fort Detrick, MD prowadzone są intensywne prace nad szczepionką zawierającą geny dla tych białek VACV, które odgrywają główną rolę w indukcji odporności anty-VARV. US Food and Drug Administration (FDA) dopuszcza możliwość wykonywania szczepień anty-VARV tylko u ściśle określonych grup zawodowych podwyższonego ryzyka ze względu na możliwość wystąpienia powikłań poszczepiennych (zapalenie mózgu, ciężkie postępujące zakażenie VACV (krowianka zgorzelinowa, vaccinia gangrenosa), wyprysk poszczepienny (egzema vaccinatium), uogólnione zakażenie skóry (krowianka uogólniona) i inne) (2-5).

Spółeczność międzynarodowa nie jest całkowicie bezbronna w obliczu ciągle istniejącego zagrożenia ospą prawdziwą – WHO dysponuje w Genewie nadzwyczajną rezerwą szczepionki anty-VARV w liczbie

co najmniej 600 000 dawek. Wykonywane są również intensywne badania nad różnymi chemioterapeutykami (np. cidofoviem – inhibitorem wirusowej polimerazy DNA). Tak więc prowadzenie badań nad nowymi generacjami szczepionek w powiązaniu z coraz lepszym rozumieniem mechanizmów patogenezы zakażeń ortopokswirusami powinno stanowić jeden z priorytetów naukowych jednoczącym społeczność międzynarodową.

Podsumowując, trudno jest jednoznacznie odpowiedzieć na pytanie, czy wygrana dotychczas walka z VARV zakończy się końcowym sukcesem ludzkości, gdyż niewątpliwe wielkie osiągnięcie związane z nazwiskiem E. Jennera i wielu następców może zostać w dobie obecnej bardzo łatwo zniweczone przez nieodpowiedzialne działania tej samej ludzkości.

Piśmiennictwo

1. Demkowicz W. E. Jr., Littau R. A., Wang J., Ennis F. A.: Human cytotoxic T-cell memory: long-lived responses to vaccinia virus. *J. Virol.* 70, 2627-2631.
2. Enserink M.: Smallpox vaccines: looking beyond the next generation. *Science* 2004, 304, 809.
3. Fenner F., Wittek R., Dumbell K. R.: The Orthopoxviruses. Academic Press, Inc. San Diego, New York, Berkeley, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto 1989.
4. Henderson D. A., Inglesby T. V., Bartlett J. G., Ascher M. S., Eitzen E., Jahrling P. B., Hauer J., Layton M., McDade J., Osterholm M. T., O'Toole T., Parker G., Perl T., Russel P. K., Tonat K.: Smallpox as a biological weapon. *JAMA* 1999, 22, 2127-2137.
5. Johnson R. T.: Viral infections of the nervous system. Lippincott-Raven Publ., Philadelphia-New York. 2nd edition 1998.
6. Mahy B. W. J.: A dictionary of virology. Academic Press. San Diego, London, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto 2001.
7. Niemiłowski M. G., Toka F. N., Malicka E., Gieryńska M., Spohr de Faundez I., Schollenberger A.: Controlling Orthopoxvirus infections – 200 years after Jenner's revolutionary immunization. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 1996, 44, 373-378.
8. World Health Organization: The global eradication of smallpox: final report of the Global Commission for the Certification of Smallpox eradication. Geneva, Switzerland: World Health Organization 1980.

Adres autora: prof. dr hab. Marek Niemiłowski, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: niemiłow@alpha.sggw.waw.pl