

Вакцины против полиомиелита: настоящее и будущее

К. Chumakov¹, А. А. Ишмухаметов^{2,3}

DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-4-18

¹Office of Vaccines Research and Review, Center for Biologics Evaluation and Research, FDA, USA

²ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова» РАН, Москва

³ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова МЗ России

Резюме

В статье представлена история разработки и применения вакцин против полиомиелита, которая представляет собой пример эволюции вакцин под воздействием меняющейся эпидемиологической обстановки и социально-экономических факторов. Создание двух вакцин против полиомиелита – инактивированной вакцины Солка (ИПВ) и живой оральной вакцины Сейбина (ОПВ), каждая со своими преимуществами и недостатками, – числится в списке наиболее значимых достижений профилактической медицины прошлого века. За последние 50 лет они применялись в различных условиях, по разным схемам и в различных комбинациях. Это позволило добиться полной ликвидации полиомиелита почти во всех странах мира. Продолжение инициативы по ликвидации, возглавляемой ВОЗ, может в скором времени привести к полному прекращению циркуляции диких штаммов вируса. В таком случае полиовирус – как и вирус натуральной оспы – останется лишь в лабораториях. Однако остановить вакцинацию после прекращения циркуляции патогена, как было в случае с уничтожением вируса оспы, не представляется возможным. Вакцины против полиомиелита не потеряют своей актуальности в ближайшем будущем ввиду наличия выраженных различий в свойствах и эпидемиологических характеристиках этих двух вирусов. В статье приведены доводы в пользу необходимости поддержания высокого коллективного иммунитета против полиовирусов и разработки нового поколения вакцин. Кроме того, рассмотрены желаемые характеристики и новые технологии производства вакцин, которые могут найти применение в условиях полной ликвидации вируса.

Ключевые слова: вакцина, полиовирус, коллективный иммунитет

Для цитирования: Chumakov K., Ishmukhametov A. A. Вакцины против полиомиелита: настоящее и будущее. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2018; 17 (3): 4-18. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-4-18

Polio Vaccines: Present and Future

K. Chumakov¹, A. A. Ishmukhametov^{2,3}

DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-4-18

¹Office of Vaccines Research and Review, Center for Biologics Evaluation and Research, FDA, USA

²Federal State Budget Institution of Science «Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products» of Russian Academy of Sciences, Moscow

³Sechenov First Moscow State Medical University, of the Ministry of Health of the Russian Federation.

Abstract

The history of polio vaccines and their use illustrates the concept of evolution of vaccines driven by changing epidemiological and socioeconomic conditions. The development of two vaccines against poliomyelitis – inactivated Salk vaccine (IPV) and live oral Sabin vaccine (OPV) – is among the most consequential achievements of prophylactic medicine of the past century. Each with their own strengths and weaknesses, they were used over the past 50 years in different settings and different regimens and combinations. This resulted in virtual elimination of the disease in almost the entire world with the exception of a few countries.

Continuation of the eradication campaign coordinated by WHO may soon result in complete cessation of wild poliovirus transmission, and poliovirus may join smallpox virus in the club of extinct pathogens. However, unlike smallpox vaccination that was stopped after the interruption of virus circulation, vaccination against poliomyelitis will have to continue into the foreseeable future, due to significant differences in the nature and epidemiology of the viruses.

This review provides the reasons for the need to maintain high population immunity against polioviruses, makes the case for developing a new generation of polio vaccines, and discusses their desirable properties as well as new vaccine technologies that could be used to create polio vaccines for the post-eradication environment.

Key words: vaccines, poliovirus, population immunity

For citation: Chumakov K, Ishmukhametov AA. Polio Vaccines: Present and Future. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2018; 17 (3): 4-18. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-4-18 (in Russian)

Введение

Вакцины занимают особое место среди медицинских продуктов, поскольку самые ранние из них были изобретены очень давно и их эффективность наиболее очевидна. Некоторые вакцины до сих пор производятся методами, разработанными несколько веков назад. Стимулом для постоянного поиска и внедрения новых методов и инновационных подходов служат для разработчиков и производителей возрастающие требования к безопасности, эффективности вакцин и качеству их производства.

Вакцины против полиомиелита числятся в списке наиболее часто используемых и эффективных вакцин и во многом служат эталоном для других препаратов для иммунизации. Почти 60 лет назад вакцины против этого опасного заболевания позволили практически стереть его с лица земли и внести существенные изменения в эпидемиологию полиомиелита. Кроме того, в контексте превалирования потенциальной пользы над риском осложнений произошли важные изменения в программах вакцинации против полиомиелита. Курс на полное избавление от заболевания в ближайшем будущем диктует необходимость замены ныне используемых вакцин на более совершенные, со свойствами, более подходящими для применения в условиях ликвидации вируса. Этот факт является наглядным примером эволюции вакцин, движимой изменениями эпидемиологической обстановки и социально-экономических факторов, а также объясняет необходимость непрерывного совершенствования методов их производства.

История полиомиелита и важнейшие этапы создания вакцин

Полиомиелит представляет собой заболевание нервной системы, проявляющееся лихорадкой, а затем периферическим параличом, который нередко остается на всю жизнь. В самых тяжелых случаях (при бульбарной форме) может произойти паралич дыхательной мускулатуры, что становится причиной смерти пациента [1]. Заболевание было впервые описано в XVIII веке британским врачом М. Ундервудом [2], но человечество столкнулось с полиомиелитом многими столетиями ранее. Об этом свидетельствуют обнаруженные в Египте изображения древних людей с характерными проявлениями заболевания. Однако большую часть истории человечества полиомиелит был спорадическим заболеванием, изредка поражающим детей и лиц молодого возраста, за что получил название «детский паралич» [3–6]. К началу XX века характер болезни изменился, и ее вспышки постепенно приобрели характер эпидемий, наблюдавшихся во всем мире [7–9]. Причиной такого рода трансформации стали социально-экономические изменения. В прошлом большинство детей имели первый контакт с вирусом в раннем возрасте, когда они находились под защитой антител матери. Заболеваемость

была невысокой – болезнь развивалась у одного из нескольких сотен зараженных. Благодаря такому раннему контакту с вирусом подавляющее большинство не заболевших инфицированных детей имели иммунитет на всю жизнь. Таким образом, диккие штаммы полиовируса сами обеспечивали вакцинацию людей и тем самым ограничивали свое распространение. Улучшение санитарно-гигиенических условий привело к смещению времени первого контакта ребенка с вирусом на более поздний возрастной период, когда у молодого организма уже не было антител матери. В результате частота возникновения паралича возросла. Снижение коллективного иммунитета создало условия для стремительного распространения вируса, увеличения размера эпидемических вспышек и повышения тяжести заболевания.

В 1909 г. австрийские исследователи К. Ландштейнер и Э. Поппер [10] впервые сообщили об успешной изоляции полиовируса. В это же время С. Флекснер и П. А. Льюис показали, что обезьяны также подвержены заражению вирусом [11] и способны вырабатывать к нему иммунитет путем как пассивной (введение антител, полученных от животных с уже выработанным иммунитетом), так и активной иммунизации [12]. Дальнейшие исследования позволили узнать о существовании трех отличных друг от друга серотипов полиовируса [13–15], принадлежащих к роду энтеровирусов человека [16] семейства пикорнавирусов. Это некрупный РНК-содержащий вирус. Цепь РНК состоит из примерно 7440 нуклеотидов, заключенных в икосаэдрический белковый капсид. Последний состоит из 60 копий каждого из 4 капсидных белков. Вирус прикрепляется к рецептору белка, именуемому CD155 и экспрессируемому на поверхности клеток, проникает внутрь посредством эндоцитоза и освобождает геномную РНК в цитоплазму для последующего синтеза всех вирусных белков. Все белки полиовируса происходят от единого белка-предшественника, представляющего собой цепь примерно из 2200 аминокислот. В ходе аутокаталитического процесса белок-предшественник расщепляется на множество белков с различными функциями, необходимыми для синтеза вирусных частиц, изменения метаболизма клетки и преодоления клеточных защитных механизмов. Полиовирус характеризуется активной репликацией. Каждая клетка производит тысячи вирусных частиц, после чего погибает и подвергается лизису. Однако в редких случаях инфекция может принять хроническое течение. Механизм перехода в хроническую форму изучен недостаточно, как и его роль в патогенезе. Эта тема будет затронута ниже.

В XX веке нарастающая опасность вспышек полиомиелита привлекла внимание общественности и исследователей, начавших поиски способов борьбы с болезнью. Способствовал повышению осведомленности о проблеме и тот факт, что президент США Ф. Рузвельт заболел

полиомиелитом в возрасте 39 лет и до конца жизни был частично парализован. Вместе со своим другом Б. О'Коннором он содействовал учреждению Национального фонда по борьбе с детским параличом (National Foundation for Infantile Paralysis), который впоследствии стал известен как «Марш гривенников» (March of Dimes). Эта благотворительная организация занималась сбором денежных средств в пользу больных полиомиелитом и спонсированием исследований по профилактике заболевания.

В разработке вакцины против полиомиелита приняло участие множество ведущих исследователей. Доказательство того, что сыворотка, полученная от реконвалесцентов, может обеспечить защиту от полиомиелита [17] и что обезьяны могут быть вакцинированы инактивированным вирусом [18], стало толчком для начала работы над вакциной для человека [19]. Ранние исследования были неудачными, и у ряда вакцинированных лиц развился паралич [20].

В 1949 г. Д. Эндерс, Т. Уэллер и Ф. Роббинс сделали прорыв в работе над вакциной. Они получили клеточные культуры *in vitro*, которые могли поддерживать рост полиовируса в лабораторных условиях [21]. За это открытие, позволившее начать изучение полиовируса в лаборатории и разработку вакцин, в 1954 г. они были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине.

Последующие важные исследования проводились У. Хэммоном и другими учеными, они изучали возможность использования для защиты от болезни сыворотки, полученной от людей с иммунитетом от полиомиелита. В ходе крупного клинического исследования было обнаружено, что гамма-глобулин в сыворотках обеспечивал стопроцентную защиту от паралича [22]. Это послужило неоспоримым доказательством достаточности гуморального иммунитета для защиты от полиомиелита и возможности создания вакцины, введение которой спровоцировало бы такого рода иммунный ответ.

Работа над вакцинами велась в двух направлениях. Группа исследователей во главе с Д. Солком (J. Salk) разработала способ инактивации формалином выращенного на клеточных культурах полиовируса. В тщательно контролируемых условиях вирус утрачивал инфекционность, но при этом сохранял свои иммуногенные свойства. Вакцинация производилась посредством внутримышечной инъекции. Результаты клинических исследований были опубликованы в апреле 1955 г. Сразу после этого началась массовая вакцинация, в ходе которой подтвердились выводы исследователей о высокой профилактической эффективности вакцины.

Другие группы ученых преследовали цель создать живые аттенуированные вакцины. Они пытались выделить штаммы полиовируса, которые имели бы возможность репликации в вакцинированном организме, не поражая при этом центральную нервную систему. Д. Ф. Эндерс, Т. Х. Уэллер

и Ф. С. Робинс выявили, что пассажи вируса в культуре ткани приводит к снижению нейровирулентности [23]. Х. Копровский занимался разработкой живой вакцины на основе адаптированных к мышам штаммов [24, 25]. Наиболее подходящие штаммы были разработаны А. Сейбином [26–29]. Живая вакцина вводилась перорально. Капля вакцины помещалась непосредственно в ротовую полость ребенка или на маленький кубик рафинированного сахара. Вначале распространению живой вакцины (ОПВ), содержащей эти штаммы, мешали инактивированная вакцина Д. Солка (ИПВ) и сомнения в отношении безопасности применения живого вируса. Однако крупномасштабные клинические исследования в СССР и ряде других стран Восточной Европы позволили убедиться в безопасном профиле, высокой эффективности и легкости введения ОПВ. Кроме того, на производство вакцины не требовалось крупных денежных средств [30, 31]. Подробное сравнение свойств ОПВ и ИПВ будет проведено далее. Здесь же стоит упомянуть, что свойства ОПВ, в конечном счете, стали основанием для того, чтобы в последующие 50 лет вакцина считалась № 1 во всем мире. Несмотря на доступность ИПВ, популярность ОПВ росла, в частности, из-за инцидента в фармацевтической компании Cutter Laboratories [32–35]. Спустя две недели с момента лицензирования ИПВ было обнаружено, что некоторые партии вакцины, произведенной Cutter Laboratories, содержали живой вирус, избежавший инактивации. Результатом этого недосмотра стали несколько случаев паралитической формы заболевания и даже летальных исходов. Этот инцидент заставил изменить нормы, регулирующие производство и использование вакцин. Из-за него также было принято решение о создании системы выплаты компенсаций пострадавшим от побочных эффектов препаратов для вакцинации. Но самое главное — эта трагедия устранила все барьеры перед ОПВ, не только ставшей инструментом борьбы с заболеванием, но и давшей надежду на полную ликвидацию вируса.

Сравнительная характеристика ОПВ и ИПВ

ИПВ была лицензирована 12 апреля 1955 г., ровно через десять лет после смерти самого известного больного полиомиелитом — американского президента Ф. Рузвельта. В США и европейских странах использование данной вакцины привело к заметному снижению заболеваемости острым паралитическим полиомиелитом. Однако введение ИПВ не приводит к формированию стерильного иммунитета. Иными словами, несмотря на полную защиту от паралитической формы заболевания, вакцинированные лица могут быть инфицированы полиовирусом и заразить им других. Таким образом, ИПВ нельзя считать эффективной с точки зрения эпидемиологии: вакцина не способна надлежащим образом остановить распространение вируса и нарушить пути его передачи. В отличие

от ИПВ, ОПВ обеспечивает защиту тканей желудочно-кишечного тракта от инфекции и препятствует тем самым вирусной репликации и выделению полиовируса с калом. ОПВ обладает еще одним положительным свойством: после проведения вакцинации формируется коллективный иммунитет. Вирус, введенный привитому ребенку, передается контактным способом братьям, сестрам, друзьям и т.д., что приводит к их иммунизации. Это является, пожалуй, самым большим преимуществом живой вакцины над инактивированной наряду с более низкой стоимостью производства и простотой применения. В результате после ее лицензирования в начале 1960-х годов все страны в календарях вакцинопрофилактики быстро заменили ИПВ на ОПВ (за исключением трех скандинавских стран, добившихся полной ликвидации вируса и не видевших смысла в проведении иммунизации населения). Как уже было сказано, производство ОПВ обходится дешевле, а ее применение не требует особых усилий. ИПВ вводится в организм путем внутримышечной инъекции, для выполнения которой требуется квалифицированный медицинский персонал. ОПВ же закапывается в рот ребенка, что безболезненно и не требует специализированных медработников. Это является существенным преимуществом, особенно в бедных странах. Переходу от ИПВ к ОПВ также способствовал тот факт, что А. Сейбин предоставлял бесплатную лицензию на применение разработанных им ослабленных штаммов вируса любой фирме, которая принимала бы во внимание его советы по производственному процессу. В 1972 г. он передал штаммы полиовируса Всемирной организации здравоохранения и предоставил ей контроль над их применением.

Несмотря на ряд очевидных преимуществ ОПВ, ее глобальное применение не обошлось без неприятных последствий. Первую проблему обнаружили быстро, вскоре после появления сообщений о редких случаях острого паралитического полиомиелита у детей, вакцинированных ОПВ [36–38]. Исследователи долгое время подозревали о наличии взаимосвязи между случаями паралитического полиомиелита и ОПВ, но не могли доказать ее существование. Лишь с введением в практику молекулярно-генетического исследования и секвенирования [39] удалось найти неопровержимое доказательство того, что вакциноассоциированный паралитический полиомиелит (ВАПП) вызывается мутировавшим вакцинным вирусом, который заново приобретает нейровирулентные свойства (т.е. происходит реверсия вирулентности). Заболеваемость ВАПП варьируется в разных странах. Согласно результатам одного из наиболее репрезентативных исследований, проведенных в США, при первичной вакцинации острый паралитический полиомиелит развивался у одного из 600 тыс. иммунизированных лиц [40]. Таким образом, в США регистрировалось 5–10 случаев заболевания ВАПП в год, что вначале не привлекало

особого внимания, поскольку смертность от полиомиелита, вызванного диким штаммом вируса, была значительно выше. Однако спустя некоторое время ВАПП стал ведущей формой полиомиелита в стране, что поставило в 1990-х гг. перед работниками здравоохранения вопрос об этических аспектах дальнейшего использования ОПВ. Тогда же стало доступным новое поколение ИПВ, и некоторые страны начали использовать схему вакцинации, при которой сначала вводилась ИПВ, а затем ОПВ. Впоследствии системы здравоохранения некоторых стран полностью отказались от применения ОПВ в пользу инактивированной вакцины.

Позднее было сделано еще одно неприятное открытие: мутировавший вакцинный полиовирус может не только приводить к развитию параличей у вакцинированных детей и лиц из их непосредственного окружения, но и распространяться в популяции, вызывая вспышки острого паралитического полиомиелита. Открытие циркулирующих вакцинно-родственных полиовирусов (цВРПВ) было сделано на острове Гаити в 2000 г. [41]. О более ранних вспышках заболевания, вызванных цВРПВ, стало известно ретроспективно путем сравнения нуклеотидных последовательностей изолятов вируса [42]. С 2000 г. были выявлены десятки вспышек острого паралитического полиомиелита, вызванного цВРПВ всех трех серотипов [43, 44]. Однако чаще всего возникновение таких вспышек было обусловлено цВРПВ типа 2. В 2006 г. в Нигерии была зарегистрирована крупнейшая вспышка полиомиелита, вызванная несколькими штаммами цВРПВ из разных источников [45]. Причиной ее возникновения стала приостановка вакцинации на несколько месяцев. Из-за этого появилось много неиммунизированных детей, что сыграло ведущую роль в возникновении и распространении цВРПВ. Похожие события происходили в 1960-х гг. в Советском Союзе, только в гораздо меньших масштабах [46].

Сомнения касательно дальнейшего использования ОПВ еще больше возросли с обнаружением иных типов вакцинно-ассоциированного вируса полиомиелита, выделенных от лиц, хронически инфицированных полиовирусом [37, 47–49]. Пациенты с некоторыми типами первичных иммунодефицитов, характеризующихся нарушением продукции антител (агаммаглобулинемией), после проведения иммунизации могут стать хроническими носителями вакцинного штамма полиовируса и постоянно выделять вирус в окружающую среду в течение длительного времени (часто в течение многих лет). Длительное выделение полиовируса наблюдалось также и у здоровых лиц [50]. Данные вакцинно-родственные полиовирусы, ассоциированные с иммунодефицитом (иВРПВ), способны восстанавливать утраченную вирулентность: в некоторых случаях у носителей иВРПВ было отмечено развитие острого паралитического полиомиелита [51]. Очевидно, что проблема не исчерпывается угрозой паралича

для носителей. иВРПВ способны контаминировать окружающую среду вирулентными штаммами и заново вызывать циркуляцию вируса в регионах, где она уже была остановлена [52]. Наконец, из проб окружающей среды (сточных вод, водоемов и т. п.) был выделен еще один тип вакцинно-ассоциированных полиовирусов – неопределенный ВРПВ (нВРПВ) [53–56]. Происхождение данного типа вируса неизвестно. Однако поскольку человек является его единственным природным резервуаром, существует предположение, что нВРПВ либо выделяется неизвестными лицами с иммунодефицитом, либо является результатом скрытой циркуляции цВРПВ, которая протекает незамеченной из-за отсутствия паралитической формы заболевания. Открытие трех типов ВРПВ окончательно разрушило устоявшиеся убеждения в том, что вирусы Сейбина неспособны к полной реверсии вирулентности, и заставило ученых осознать серьезную опасность, представляемую данным феноменом. В настоящее время общепризнанным является тот факт, что вирулентность ВРПВ может быть сопоставимой с вирулентностью диких штаммов вируса. Неизбежность их появления в зонах, где для вакцинации используют ОПВ, стала серьезным основанием для перехода от ОПВ к ИПВ в странах, избавившихся от циркуляции диких штаммов полиовируса.

Переход к ИПВ стал возможен благодаря разработке Национальным институтом общественного здравоохранения и окружающей среды Нидерландов (Dutch National Institute for Public Health and the Environment, RIVM) ИПВ с повышенной специфической активностью — пИПВ [57]. В отличие от классической вакцины Д. Солка, получаемой путем инактивации формальдегидом вируса, содержащегося в инфицированных клеточных культурах, пИПВ производилась по более совершенной технологии. Во-первых, для культивирования клеток вместо обычной монослойной культуры использовались биореакторы, в которых клетки выращивались в подвешенном состоянии на специальных микрогранулах. Данный метод обеспечивал гораздо более высокую плотность клеток и, соответственно, большее количество вирусных частиц. Во-вторых, очистка вируса происходила с использованием сочетания гель-фильтрационной и ионообменной хроматографии, что позволило в значительной степени очистить культуру от большинства клеточных элементов. В результате каждая доза ИПВ содержала большее количество антигена, что обуславливало ее более высокую активность. Данная технология, разработанная RIVM, была в скором времени перенята рядом крупных производителей вакцин. Она до сих пор используется для производства ИПВ во всем мире. Этот технологический прорыв, явившийся результатом успешного взаимодействия государственного и частного секторов системы здравоохранения, был подробно описан в обзоре [58].

Процесс постепенной замены ОПВ на пИПВ продолжается до сих пор. С улучшением экономической ситуации в той или иной стране начинают использовать и более дорогостоящие способы профилактики (в частности, ИПВ вместо ОПВ). Замена ОПВ на ИПВ способствовало внедрению комбинированных вакцин, в которых помимо ИПВ присутствуют и другие антигены. Так, ИПВ стала вводиться в комбинации с вакцинами против дифтерии, столбняка, гепатита В, гемофильной инфекции типа b и бесклеточной коклюшной вакциной. Это позволило не перегружать календари профилактических прививок дополнительными инъекциями. Дальнейшее изложение эволюции вакцин против полиомиелита невозможно без описания одного из самых важных проектов в области общественного здравоохранения за последние 25 лет – глобальной кампании по ликвидации полиомиелита.

Ликвидация полиомиелита

Внедрение в 1955 г. ИПВ и переход (в начале 1960-х гг.) большинства стран к использованию ОПВ привели к значительному снижению заболеваемости полиомиелитом, в результате чего к началу следующего десятилетия полиомиелит перестал представлять собой серьезную проблему для развитых стран. Однако в бедных странах он по-прежнему активно распространялся, в основном из-за недостаточного охвата населения вакцинацией. Автором идеи ликвидации полиомиелита был А. Сейбин. Эта идея была основана на отсутствии резервуара полиовируса в животном мире [59, 60]. Стратегия А. Сейбина предусматривала использование ОПВ в ходе массовых кампаний, проводимых в течение короткого промежутка времени, часто в течение одного дня, когда одновременно проводилась вакцинация всех детей в целевой возрастной группе (обычно от 0 до 4–5 лет) вне зависимости от того, были ли они привиты ранее. Эти кампании, которые позднее были названы национальными днями иммунизации (НДИ), были направлены на прекращение циркуляции дикого полиовируса.

Первая кампания по ликвидации полиомиелита, целью которой являлась полная элиминация данного заболевания в Северной и Южной Америке, была инициирована в 1985 г. Панамериканской организацией здравоохранения [61, 62]. Инициатива получила основательное финансирование со стороны международной благотворительной организации Rotary International (которая всегда являлась одним из ключевых участников всемирной кампании по ликвидации полиомиелита), Агентства США по международному развитию (USAID), ЮНИСЕФ, Межамериканского банка развития, а также других спонсоров. Эффективность глобальной инициативы по ликвидации полиомиелита, помимо НДИ, зиждилась на крупномасштабном эпидемиологическом

наблюдении за случаями острого вялого паралича (ОВП) [63]. ОВП является основным клиническим проявлением полиомиелита, однако он также может возникать при других инфекционных и неинфекционных патологиях. Частота возникновения ОВП почти одинакова во всех странах (1–2 случая на 100 тыс. населения в год), что позволяет оценивать качество местных систем надзора. Показатель заболеваемости ниже указанного уровня говорит о необходимости улучшения системы регистрации заболеваемости. Каждый пациент с ОВП подвергается тщательному наблюдению и вирусологическому обследованию на предмет подтверждения или исключения диагноза полиомиелита. Далее осуществляется дифференциальная диагностика между дикими и вакцинными штаммами полиовируса и его серотипами, для чего используются иммунологические тесты и метод секвенирования, что также дает возможность определения филогенетического родства изолятов. Такого рода подход к изучению эпидемиологии с помощью молекулярного тестирования помогает отслеживать передачу вируса и идентифицировать источник каждого случая ОВП [64].

Проведенная на двух американских континентах кампания имела успех: в 1991 г. – всего через 6 лет после запуска данной программы – полиомиелит был полностью ликвидирован. Эти результаты послужили причиной решения Всемирной ассамблеи здравоохранения (руководящего органа ВОЗ) о запуске Глобальной инициативы по ликвидации полиомиелита, которую планировалось завершить к 2000 г. Стратегия программы была аналогична той, которую использовали в Америке [65]. Весь мир был поделен на шесть регионов, которые координировали проведение кампаний по иммунизации, отслеживали результаты и сообщали о них в штаб-квартиру ВОЗ. С прекращением циркуляции диких штаммов полиовируса в регионе проводится тщательное наблюдение за эпидемиологической обстановкой, а спустя определенное время регион проходит сертификацию и считается свободным от полиомиелита. После того как все регионы пройдут сертификацию, вирус полиомиелита будет считаться ликвидированным (при условии отсутствия случаев развития острого паралитического полиомиелита и выделения штаммов дикого полиовируса от пациентов или из окружающей среды во всем мире в течение двух лет). За 12 лет, которые ВОЗ отвела на глобальную ликвидацию полиовируса, отмечалось выраженное снижение заболеваемости полиомиелитом. С 1988 по 2000 г. число стран, эндемичных по данному заболеванию, снизилось с 125 до 20. В 1999 г. была полностью остановлена циркуляция дикого полиовируса типа 2. Считается, что в 2012 г. был ликвидирован полиовирус типа 3. Кроме того, значительно снизилось число отдельных генетических линий вируса. Все это говорит о том, что программа ликвидации двигалась в правильном направлении, однако в конце XX века она

замедлила темп ввиду ряда причин, которые будут разобраны ниже. В итоге, спустя 25 лет с начала программы три государства (Пакистан, Афганистан и Нигерия) все еще не могут остановить циркуляцию вируса. Усилия по ликвидации вируса в одном регионе сводятся на нет появлением вспышек в других регионах. В мае 2014 г. ВОЗ сочла распространение полиовируса чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение.

Согласно принятой в 2013 г. новой стратегии ликвидации полиовируса, к 2015 г. ожидалось полное прерывание циркуляции диких штаммов, а в 2018 г. – окончательная сертификация [66]. Такие оптимистические прогнозы основаны на успехе последней кампании. Однако следует всегда сохранять бдительность, так как многие подобные предсказания уже оказывались ошибочными.

Причинами несостоявшейся ликвидации полиомиелита в первоначально прогнозируемые сроки стали ранее неизвестные аспекты биологии данного вируса, а также ряд социальных, экономических и религиозных факторов. Кроме того, во многих регионах мира выполнение программы тормозится из-за небезопасной обстановки. Вакцинация детей, в особенности проводимая в рамках НДИ, в значительной степени затруднена или становится практически невозможной в районах, где ведутся активные военные действия. Кроме того, в некоторых странах существует предубеждение против вакцинации и оказывается активное сопротивление мероприятиям по ее проведению, сломить которое стоит колоссальных усилий со стороны системы здравоохранения. На этом проблемы не заканчиваются. Длительность кампании подрывает уверенность местных работников общественного здравоохранения в успех. Все эти проблемы выходят за пределы компетенции медицины и науки, и их чрезвычайно трудно преодолеть. В этом обзоре рассматриваются только новые научные положения, которые стали результатом событий последних 15-ти лет и имеют прямое отношение к будущей программе по ликвидации полиомиелита, в том числе к созданию новых вакцин.

Одним из важных факторов, замедлявших прогресс ликвидации полиомиелита, была неожиданно низкая эффективность ОПВ в некоторых регионах. Например, в некоторых штатах Северной Индии показатель сероконверсии после введения дозы вакцины составлял менее 10%. Это требовало дополнительной вакцинации для достижения уровня иммунизации населения в 85–90%, необходимого для остановки распространения вируса [67–70]. При таком низком уровне иммуногенности для иммунизации большинства детей было необходимо ввести каждому более 15 доз вакцин, на что требовалось около 2-х лет. В некоторых штатах Индии с наиболее устойчивой циркуляцией дикого

полиовируса каждый ребенок в возрасте до пяти лет вакцинировался 10 раз в год, в результате чего общее количество введенных доз вакцин достигало 50 (!). Также по причине чрезвычайно высокого уровня рождаемости, многие дети оставались неиммунизированными, несмотря на огромные усилия по вакцинации. Единственным решением данной проблемы представлялось лишь повышение иммуногенности ОПВ. Одной из причин низкой эффективности был феномен интерференции между тремя серотипами вирусов вакцины, наблюдавшийся после введения трехвалентной ОПВ. Чтобы в максимальной степени нивелировать это явление, после вакцинации трехвалентной ОПВ дополнительно вводились моновалентные вакцины против серотипов 1 и 3 [71, 72]. Обоснованием этому служил тот факт, что полиовирус типа 2 является наиболее устойчивым из трех штаммов А. Сейбина и конкурирует с двумя другими. Кроме того, дикий полиовирус типа 2 был ликвидирован в 1999 г., и поэтому приоритет отдавался остановке передачи типов 1 и 3, а не поддержанию высокого иммунитета против полиовируса типа 2. Использование моновалентных вакцин ОПВ1 и ОПВ3, а затем двухвалентной вакцины ОПВ1 + 3 принесло плоды, и в 2012 г. в Индии циркуляция дикого полиовируса была успешно остановлена [73–70].

Другим неожиданным открытием в области биологии полиовирусов стало обнаружение в 2000 г. упоминавшихся ранее циркулирующих вакцинородственных полиовирусов (ВРПВ). Считается, что ВРПВ имеют такую же вирулентность, что и дикие вирусы, и с точки зрения эпидемиологической ситуации в мире должны считаться идентичными диким штаммам [75, 76, 52]. Поэтому программа ликвидации полиовирусов должна быть ориентирована не только на дикие штаммы, но и на ВРПВ. Глобальная ликвидация требует выполнения еще одного парадоксального условия. Поскольку единственным способом избежать появления ВРПВ является отказ от ОПВ, ликвидация будет возможна лишь тогда, когда прекратится использование вакцины, с помощью которой была осуществлена ликвидация. Изначально план борьбы с этой проблемой заключался в одномоментном прекращении использования ОПВ после глобальной сертификации [77]. Однако безопасность данного подхода проверить невозможно, и сама стратегия несет в себе множество опасностей. Серьезные сомнения в благоразумности данного подхода только усилились после открытия так называемых орфанных полиовирусов, выделенных в регионах, которые, как считалось, были свободными от циркуляции вируса полиомиелита в течение нескольких лет. Как показал метод «молекулярных часов», данные вирусы имели генетическую связь со старыми местными штаммами [78]. Причиной тому могло служить либо недостаточно тщательное наблюдение, либо наличие скрытой циркуляции полиовируса, неимеющего явных клинических проявлений,

либо сочетание обоих факторов. Однако какой бы ни была причина, игнорировать орфанные полиовирусы при разработке стратегии отмены ОПВ нельзя, поскольку полностью удостовериться в том, что полиомиелит больше не присутствует в том или ином регионе очень сложно. Таким образом, на сегодняшний день необходимым условием для отказа от ОПВ в рамках стратегии ликвидации является доступность и повсеместное внедрение ИПВ [66]. Так как штаммы дикого полиовируса 2 типа были ликвидированы в 1999 г., единственным источником паралитического полиомиелита 2 типа считается ВРПВ. Соответственно, замена трехвалентной ОПВ на двухвалентную ОПВ 1 + 3 в календарях профилактических прививок может устранить проблему орфанных вирусов. Это же послужит и моделью окончательной отмены всех прививок ОПВ. Однако переход от трехвалентной ОПВ к двухвалентной ОПВ должен происходить только в условиях поддержания высокого коллективного иммунитета путем переключения на ИПВ, поскольку существует подозрение, что повышение заболеваемости полиомиелитом, вызванным цВРПВ типа 2, было опосредовано широким использованием двухвалентной ОПВ для остановки передачи вируса в эндемичных странах и снижением коллективного иммунитета к данному серотипу [79, 80].

На сегодняшний день не существует единого мнения относительно того, каким образом должна осуществляться замена ОПВ на ИПВ: (1) на временной основе, а именно – до тех пор, пока не будет уверенности, что циркуляция всех диких вирусов и ВРПВ прекращена и все источники полиовирусов (включая ОПВ) надежно изолированы или уничтожены; или же (2) использование ИПВ должно быть непрерывным [81–83]. Аргументы в пользу первого решения сводятся к экономии ресурсов здравоохранения, что являлось основным доводом в пользу запуска кампании по ликвидации. С другой стороны, полное отсутствие защиты населения от вируса полиомиелита создаст беспрецедентную эпидемиологическую ситуацию, при которой все население, родившееся после прекращения использования ОПВ, будет восприимчиво к болезни. В таком случае человечество будет находиться под угрозой новой пандемии непредсказуемого размера при случайном или преднамеренном высвобождении полиовируса. Такое развитие событий может стать опасным еще и потому, что у неиммунизированных взрослых людей полиомиелит имеет более тяжелое течение, чем у младенцев и детей. Через какое-то количество времени все население станет восприимчиво к этой высоко контагиозной смертельной, калечащей болезни, и полиовирус может стать идеальным биологическим оружием в руках террористов. Локализация распространения полиовируса и даже полное уничтожение всех его запасов может снизить вероятность такого сценария, но не исключить ее полностью. Во-первых, удостовериться в полной локализации распространения

и уничтожения очень трудно, если вообще возможно. Во-вторых, что более важно, современные технологии позволяют синтезировать живые полиовирусы из химических веществ в течение короткого времени и без больших затрат [84]. Поэтому многие специалисты в данной области все с большей степенью уверенности полагают, что иммунизация против полиомиелита должна проводиться непрерывно.

Возможно, в контексте нынешней борьбы с полиомиелитом будет целесообразно провести некоторые параллели с ликвидацией оспы. Оспа представляет бóльшую угрозу для жизни, являясь более заразной болезнью, однако на пути к ее ликвидации было меньше преград. Основным отличием является то, что выявить оспу у пациента гораздо проще. Диагностика сводится к короткому осмотру и не требует проведения сложных лабораторных исследований, например секвенирования, как это требуется в случае с полиовирусом. Второе отличие заключается в том, что оспа развивается почти у всех зараженных вирусом лиц: у большинства восприимчивых людей, инфицированных вирусом натуральной оспы, появлялась характерная симптоматика. В случае с полиовирусом какие-либо симптомы появляются только у одного из нескольких сотен инфицированных детей, что не позволяет быстро выявить вспышки данного заболевания. Наглядным примером является случай первой вспышки цВРПВ на Гаити и в Доминиканской республике, которая оставалась незамеченной в течение полутора лет [41]. Данные различия наряду с частыми и нередко тяжелыми побочными эффектами вакцин против оспы стали весомым доводом в пользу прекращения вакцинации. Однако, спустя десятилетия, угроза биотерроризма обусловила разработку нового поколения вакцин с улучшенным профилем безопасности, запасы которых в настоящее время готовы к использованию в чрезвычайной ситуации. Теоретически, подобный подход может быть применен и в случае с полиомиелитом, однако сложности своевременной диагностики практически сводят на нет эффективность такой экстренной профилактики. В отсутствие достаточного уровня коллективного иммунитета в мире, это, скорее всего, приведет к новой пандемии полиомиелита.

Вышеуказанные особенности заставляют задаться вопросами: что является конечной целью любой кампании по ликвидации, и каково же точное определение этого термина? Поэтапная борьба с любым инфекционным заболеванием может включать в себя три фазы [85, 86]. Первая – это контроль, то есть применение превентивных мер (например, вакцинация), которые приводят к уменьшению бремени болезни до социально приемлемого уровня, поддерживающегося непрерывной профилактикой. Следующая фаза – это элиминация, которая по сути аналогична первой. Однако она подразумевает достижение

нулевой заболеваемости, что осуществляется с помощью непрерывной вакцинации для поддержания высокого коллективного иммунитета и предотвращения распространения патогена. И, наконец, последняя фаза – ликвидация (эрадикация). Она также предполагает полное отсутствие заболеваемости, но не требует профилактических мер (в т. ч. вакцинации). Принимая во внимание факты, описанные выше, можно сделать заключение, что полное прекращение вакцинации в ближайшем будущем неосуществимо. Следовательно, в строгом смысле этого слова данная кампания является элиминацией, и сохранение в названии термина «ликвидация» обусловлена историческими причинами.

Новое поколение полиовакцин

Как было сказано ранее, дальнейшее использование ОПВ стало недопустимым из соображений безопасности и этики. Тем не менее, на пути ее замены на ИПВ стоит ряд серьезных препятствий, наиболее важные из которых – высокая стоимость вакцины и необходимость привлечения квалифицированного медицинского персонала для проведения внутримышечных инъекций. Еще одна проблема заключается в низкой способности ИПВ оказывать влияние на местный иммунитет слизистых оболочек, что препятствует разрыву цепи передачи вируса [87]. Наконец, использующаяся на сегодняшний день ИПВ изготовлена из высоко вирулентных штаммов, поэтому ее производство создает высокий риск с точки зрения биологической безопасности. Попытки обойти вышеуказанные проблемы предпринимаются при разработке нового поколения вакцин, которые будут использоваться после элиминации. Новые препараты должны соответствовать следующим принципам: низкая стоимость, повышенная способность вызывать иммунный ответ со стороны слизистых оболочек и соответствие требованиям биобезопасности [88]. Для создания новых живых вакцин необходимо использовать вирусы с повышенной генетической стабильностью, чтобы исключить вероятность реверсии вирулентности. Ниже описываются текущие наработки в области исследования новых ОПВ и ИПВ.

После открытия в 1980-е и 1990-е гг. молекулярных механизмов аттенуации и реверсии вирулентности полиовирусов были сделаны несколько попыток создания ослабленных штаммов, обладающих повышенной генетической стабильностью. Большинство из этих попыток имели целью ограничить возникновение и накопление точечных мутаций, приводящих к реверсии вирулентности. Большинство штаммов ВРПВ являются рекомбинантами штаммов Сейбина и других неполиомиелитных энтеровирусов, и существует мнение, что рекомбинации могут также играть роль в реверсии вирулентности. Оценка генетической стабильности проводится *in vitro* (на культурах клеток) и *in vivo* (на животных), но в конечном итоге о безопасности

вакцины судить можно только по результатам ее применения у людей. Ряду исследователей удалось добиться повышения стабильности в экспериментах *in vitro*, однако найти этому факту доказательство в ходе клинических исследований будет непросто. Учитывая относительно низкую частоту осложнений вакцинации (приблизительно 1 на 600 тыс. первых доз), достижение статистической мощности, необходимой для получения окончательных выводов о превосходстве нового штамма, потребует проведения клинического исследования колоссального масштаба. Еще одной проблемой, усложняющей разработку более стабильного ослабленного штамма, является отсутствие надежных биомаркеров безопасности полиовируса *in vitro* и на модели животных. По этой причине в данном направлении большого количества исследований не проводилось, пока не была создана группа финансируемых Фондом Билла и Мелинды Гейтс лабораторий, перед которыми была поставлена задача разработать штамм ОПВ 2 типа, характеризующийся большей генетической стабильностью. На сегодняшний день данное исследование еще не завершено, поэтому мы можем только описать общие принципы, используемые в этой работе.

Одними из детерминант вирулентности и аттенуации являются мутации в структуре типа шпильки (обозначаемой как F-домен шпильки VI) 5'-нетранслируемой области. Этот домен является частью участка внутренней посадки рибосомы (IRES), и он, как полагают, участвует во взаимодействиях факторов инициации трансляции с рибосомами и молекулой вирусной РНК [89, 90]. В литературе есть данные о том, что некоторые из этих факторов являются тканеспецифичными, и поэтому мутации данной области могут изменить тропизм к тканям и ограничить размножение вируса в нейронах. Было обнаружено, что рекомбинанты, в которых данная область генетического материала полиовируса была заменена гомологичным элементом человеческого риновируса, имели очень слабо выраженные вирулентные свойства [91, 92]. В настоящее время особенности данных химерных рино- и полиовирусов изучаются с целью их использования в качестве онколитических агентов, воздействующих на глиомы [93]. Теоретически, такие химерные вирусы можно использовать как основу для вакцин с повышенной стабильностью.

Суть другого подхода, основывающегося на использовании той же самой детерминанты аттенуации, заключается в следующем: стабилизация шпильки приводит к повышению вирулентности, в то время как дестабилизация ведет к аттенуации. Например, аттенуация полиовируса 3 типа была достигнута путем замены стабильной пары G:C на нестабильную G:U, что привело к дестабилизации всей шпильки. При реверсии вирулентности данная пара G:U заменяется изначальной парой G:C. Пара A:U занимает промежуточное положение

между G:C и G:U по стабильности, поэтому при перестройке шпильки РНК путем замены пар G:C и G:U на пары A:U общая стабильность структуры и вирулентность данного вируса остаются практически неизменной. Однако генетическая стабильность при этом будет выше, поскольку для преобразования пары A:U в более стабильную пару G:C требуются две мутации, а промежуточные в этом процессе пары (G:U и A:C) имеют более низкую структурную стабильность и, следовательно, отрицательно сказываются на репликативной способности вируса. У ряда генно-инженерных конструкций, созданных на основе этого принципа, наблюдалась повышенная генетическая стабильность. В настоящее время их предполагается использовать для создания вакцин на основе вирусов с повышенной генетической стабильностью [94–96].

Другим способом ослабления функции IRES является делеция нуклеотидов или вставка дополнительных нуклеотидов, что приводит к нарушению конформации всей структуры. Однако такие манипуляции не повышают стабильность, так как вирус может легко восстановить репликативную способность путем вырезания вставленных фрагментов или заполнения удаленных фрагментов участками иной РНК такого же размера из других источников. W. Wimmer и его коллеги предложили способ преодолеть проблему нестабильности, основанный на особенностях цис-элемента репликации (*cis-acting replicative element, cre*) в вирусной РНК. Обычно этот элемент расположен в центре молекулы РНК и крайне важен для инициации репликации РНК. Перемещение элемента *cre* из его нормального положения в область IRES 5'-нетранслируемой области привело к существенной аттенуации [97]. Поскольку элемент *cre* играет важную роль в репликации РНК, вирус не может его вырезать. В итоге полученные таким образом ослабленные генно-инженерные конструкции являются генетически стабильными.

Вирусные РНК-репликазы известны своим свойством допускать множество ошибок в ходе репликации, что приводит к возникновению большого количества мутаций. Эта особенность является одной из причин генетической нестабильности вирусных РНК-геномов. Высокая частота мутаций, с одной стороны, создает очевидные проблемы, но, с другой стороны, дает вирусам ряд преимуществ, позволяющих им быстро адаптироваться к росту в условиях новой и/или меняющейся окружающей среды. Таким образом, точность вирусных репликаз подстроена под нужды вирусов. Она не является ни высокой, ни низкой. Это было доказано при открытии мутаций в гене, кодирующем полимеразу, которые приводят к увеличению точности репликаз [98] и снижению способности инфицировать животных [99, 100]. Этот феномен можно использовать для создания высокоточных мутантных полимераз с целью уменьшения частоты реверсии

вирулентности и обеспечения дополнительного механизма аттенуации.

Всем организмам, включая полиовирусы, присуще предпочтение кодонов, то есть более высокая частота использования лишь одного из синонимичных кодонов в кодирующих областях генома. Этот феномен нашел широкое применение в сфере биотехнологии, когда чужеродный белок экспрессируется в гетерологичной системе. Чтобы максимально увеличить выработку белка, ген, кодирующий целевой белок, подвергается перекодировке, при которой кодоны меняются на те, что наиболее часто используются в системе экспрессии. Этот процесс называется оптимизацией кодонов. В ходе экспериментов с полиовирусом было обнаружено, что обратный процесс – деоптимизация кодонов (т.е. модификация вирусных геномов таким образом, чтобы в генетическом материале оказались редкие для полиовирусного генома кодоны) – снижает репликативную способность вируса и выход обладающих инфекционными свойствами вирионов [101]. В результате «ослабленному» таким способом вирусу оказывается нелегко прибегнуть к реверсии вирулентности и восстановлению репликативной способности, потому что изменение явилось результатом множества мутаций в разных частях генома.

Не исключено, что механизм, с помощью которого деоптимизация кодонов снижает репликативную способность, является более сложным, чем просто использование редких кодонов. Помимо феномена предпочтения кодонов, у большинства организмов также обнаруживается предпочтение к использованию определенных пар кодонов [102]. Это означает, что существует предпочтение при отборе кодона для кодирования соседних аминокислот: некоторые пары кодонов используются чаще, чем другие. Если этот порядок изменить путем замены различных кодонов синонимичными им кодонами в последовательности, результат будет аналогичным результату при деоптимизации кодонов, даже несмотря на то, что общее количество используемых кодонов останется неизменным [103]. Причина, объясняющая феномен предпочтения пар кодонов, еще не установлена. Еще больше усложняет ситуацию тот факт, что в геноме вируса полиомиелита частота следования нуклеотида G за нуклеотидом C (наличие динуклеотида CpG) и частота следования нуклеотида A за нуклеотидом U (UpA) ниже, чем можно было бы ожидать в случайной последовательности. При перекодировке РНК полиовируса в последовательность с большим числом динуклеотидов CpG и UpA размер стерильных пятен, образуемых им на культуре клеток, уменьшается пропорционально количеству вносимых изменений [104]. У вирусов, полученных с использованием подобного рода способов «перестановки элементов генома» (genome scrambling), значительно уменьшается выход вирионов с инфекционными свойствами, в то время как

общее количество производимых вирусных частиц меняется в меньшей степени. Биологические механизмы, лежащие в основе этих явлений, пока остаются неизученными. Кроме того, неясно, являются ли все эти феномены следствием одной или нескольких несвязанных друг с другом причин. Тем не менее, «перестановка элементов генома» может иметь важные точки приложения в разработке ослабленных и инактивированных вакцин [105].

Пока мы уделили внимание только новым рациональным способам аттенуации вируса с сохранением генетической стабильности и с ограничением реверсии вирулентности путем предотвращения точечных мутаций. Иным подходом к разработке более генетически устойчивого полиовируса является попытка ограничить его способность рекомбинации с другими вирусами. Полиовирусу и энтеровирусам в целом свойственна рекомбинация, частота которой крайне высока [106–109]. Это свойство является очень ценным, потому что позволяет им быстро развиваться и нивелировать эффект точечных мутаций путем замены поврежденных частей их генома функционирующими элементами генетического материала, полученного от других вирусов. Вероятно, рекомбинация помогает вакцинным вирусам заменять поврежденные при аттенуации части генома и, как следствие, в ограниченной степени восстанавливать репликативную способность. Таким образом, снижение частоты рекомбинации следует рассматривать как подходящее свойство для совершенствования вакцинного штамма.

Работа в этом направлении затруднена ограниченностью наших знаний о механизмах рекомбинации. Считается, что гомологичная рекомбинация является важным свойством полиовируса, следовательно, рекодирование определенных частей генома вакцинного полиовируса для сведения к минимуму гомологичности с генетическим материалом других вирусов может снизить частоту рекомбинации. Кроме того, оказаться полезным для ограничения способности вирусов обмениваться частями генома может обнаружение мутаций в кодирующих полимеразу генах, приводящих к снижению базовой частоты рекомбинации [110]. Однако на сегодняшний день целесообразность применения этих подходов остается неизвестной. До сих пор неясным, что именно является фактором, ограничивающим частоту возникновения рекомбинантных вирусов: сам факт рекомбинации или отбор, основанный на репликативной способности. Работа в этом направлении продолжается и обещает пролить свет на этот интересный аспект биологии полиовируса.

Список недостатков современной ИПВ включает в себя ее относительно высокую стоимость, необходимость внутримышечных инъекций и менее выраженное влияние на местный иммунитет слизистых оболочек. После элиминации этот список пополнится проблемами биобезопасности, поскольку

вакцина изготавливается из высоковирулентных штаммов, выращиваемых в больших количествах. Несмотря на все усилия, направленные на полную остановку распространения вируса, небольшая вероятность случайного или преднамеренного высвобождения живого вируса в окружающую среду с катастрофическими последствиями будет присутствовать всегда. Именно это послужило причиной поиска для производства ИПВ ослабленных штаммов с лучшим профилем биологической безопасности. Эта работа ведется в нескольких направлениях. Одним из очевидных решений было бы разработать инактивированную вакцину на основе ослабленных штаммов Сейбина. Сейчас эта вакцина известна как ИПВ, полученная из штамма Сейбина (Sabin IPV, sIPV). Дополнительным преимуществом этого подхода может стать поддержание «резервуара» вируса для возобновления производства ОПВ, если в будущем возникнет такая необходимость. Эта работа началась в начале 1990-х годов [111], и ее результаты показали, что иммуногенность sIPV типа 1 не уступала иммуногенности обычной ИПВ (cIPV), полученной из дикого штамма Mahoney. Однако иммуногенность ИПВ, изготовленной из двух других серотипов вирусов Сейбина, особенно типа 2, была ниже иммуногенности ИПВ из диких штаммов [112–114]. Дальнейшее исследование показало, что количество антигена sIPV типа 1, необходимого для получения иммунного ответа, было значительно ниже количества антигена cIPV из штамма Mahoney. Обратное было верно для вирусов типа 2 [115]. В результате оптимальный состав трёхвалентной sIPV отличался от такового cIPV. sIPV была лицензирована в Японии [116] и прошла третью фазу клинических испытаний в Китае. В Японии препарат производится Kaketsuken и Viken в виде комбинированных вакцин против дифтерии, столбняка и коклюша (DTP) для подкожного введения. Так как в Китае и Японии полиомиелит отсутствует, ожидаемый результат клинических исследований sIPV оценивается по сероконверсии. Исследования показали, что при использовании определенной технологии производства эффективность sIPV была сравнима с таковой cIPV. Институт трансляционной вакцинологии в Нидерландах (ранее часть RIVM и NVI) при поддержке Всемирной организации здравоохранения разработал производственный процесс sIPV [117] и выдал лицензии на производство вакцины ряду компаний в развивающихся странах. Таким образом, sIPV стала первой вакциной из нового поколения ИПВ. Производство sIPV, как полагают, несет более низкие риски в сфере биобезопасности.

Пока остается ряд важных нерешенных вопросов, касающихся sIPV. Некоторые из них связаны со стандартизацией нового класса ИПВ, с выбором соответствующих методов проверки эффективности и подбором референтных реагентов. Другие аспекты, требующие дальнейшего изучения,

представляют собой измерение угроз биобезопасности, сопряженных с производством вакцины, и выбор методов оценки безопасности, входящих в сам производственный процесс. Логично предположить, что для изготовления инактивированной вакцины безопаснее использовать ослабленный вирус, чем дикие штаммы. Однако этот риск плохо поддается количественной оценке, поскольку при возобновлении циркуляции вирусы Сейбина легко могут восстановить вирулентность (см. раздел о ВРПВ). Кроме того, в соответствии с принятым Глобальным планом действий ВОЗ [118], после прекращения циркуляции диких вирусов и использования ОПВ, штаммы Сейбина должны содержаться в таких же строгих условиях, как и дикие штаммы. Таким образом, предприятия, изготавливающие sIPV, должны быть доведены до уровня безопасности BSL3/полио, что создает препятствия ее разработке и внедрению. Иными словами, sIPV является шагом в правильном направлении, но решить все проблемы эта вакцина не в состоянии, и в будущем, возможно, предстоит разработать более совершенный препарат.

Ряд исследовательских групп также занимается разработкой иных, еще более безопасных штаммов, которые могут быть использованы для производства ИПВ. Основным требованием, предъявляемым к таким штаммам, является полная непатогенность и устойчивость ослабленного фенотипа как *in vitro*, так и *in vivo*, чтобы избежать реверсии вирулентности и возобновления циркуляции, даже при проникновении вируса в окружающую среду. Подходы, используемые для получения таких стабильных ослабленных вирусов, аналогичны тем, которые обсуждались выше, когда речь шла о разработке новой ОПВ2. Они включают в себя замену подверженных реверсии элементов IRES полиовирусов Сейбина гомологичными участками вирусов, не обладающих тропизмом к нервной ткани, таких как риновирусов человека [91–93], стабилизацию ослабляющих доменов в IRES путем модификации F-домена шпилек с помощью пар A:U [95], перемещение элемента *cre* на 5'-нетранслируемую область [97], вызывание высокоточных мутаций в гене, кодирующем полимеразу [99] и перестановку кодирующих элементов генома с целью изменить предпочтение кодонов, предпочтение к использованию пар кодонов [97] или количество динуклеотидов CpG и UpA [103]. Предварительные исследования клинической эффективности каждого из этих подходов *in vitro* показали, что полученный вирус, вероятно, имеет более высокую генетическую стабильность. Однако еще предстоит установить, могут ли они быть использованы для производства антигена полиовируса в количестве достаточном для получения ИПВ. Кроме того, неизвестно будут ли они более стабильны *in vivo* (и, следовательно, более приемлемы с точки зрения биобезопасности), что достоверно проверить крайне затруднительно ввиду отсутствия доклинической

(животной) модели, подходящей для исследования передачи и генетической стабильности полиовируса *in vivo*.

Идеальным решением проблемы биобезопасности можно будет считать производственный процесс, в котором не используется вирус с разными свойствами. Антигены для многих других вакцин могут быть успешно получены в различных системах экспрессии (бакуловирус, дрожжи и т.д.). В случае же с полиомиелитом трудность использования этого подхода для создания вакцины заключается в том, что большинство ее защитных эпитопов (если не все) образуются путем вторичных или даже третичных взаимодействий между отрезками аминокислот из различных полипептидных цепей. Их активность крайне чувствительна к конформационным изменениям, и, следовательно, только нативные вирусные частицы могут вызывать иммунитет. В настоящий момент не существует эффективного алгоритма сборки полиовируса *in vitro*, который мог бы быть использован для получения необходимого для производства вакцины количества полиовирусных частиц. Процесс сборки капсида полиовируса является довольно сложным и окончательно не изучен. Тем не менее, известно, что он включает в себя аутопротеолитическое расщепление одного из белков-предшественников, которое происходит только после того, как РНК инкапсулируется внутри этих частиц и «фиксирует» правильную конформацию всей структуры. Образующиеся в ходе репликации или экспрессии белков полиовируса «пустые» частицы, не содержащие РНК полиовируса, характеризуются неустойчивостью. Эта проблема теоретически может быть решена путем стабилизации с помощью методов белковой инженерии [119]. Если такой метод окажется успешным, он откроет путь к производству пустых капсидов, обладающих иммуногенными свойствами. Эти капсиды можно будет использовать в качестве вакцин, для производства которых не потребуется наличие живого вируса полиомиелита.

Другим научно-исследовательским подходом к созданию новых инактивированных вакцин против полиомиелита является попытка снизить стоимость и/или повысить их иммуногенность (что позволит уменьшить дозу антигена, необходимого для выработки иммунитета). Снижение затрат может быть достигнуто благодаря увеличению выхода вирусных частиц путем введения новых производственных процессов и клеточных субстратов. По опубликованным данным, использование суспензионных культур клеток PerC6 в бессывороточной среде позволяет клеткам расти в условиях значительно большей плотности и обеспечить более высокий выход вируса [120]. Еще одним способом снизить стоимость производства вакцины является использование альтернативных путей введения, что приведет к увеличению иммуногенности и позволит снизить вводимую дозу.

Распространенным способом увеличения иммуногенности и снижения дозы вакцины является добавление адъювантов. На сегодняшний день целый ряд исследовательских групп активно изучает возможность использования различных стандартных и новых адъювантов в комбинации с вакцинами против полиовируса. Среди обычных адъювантов повышает иммуногенность гидроксид алюминия [121, 122]. Сейчас изучаются и новые адъюванты, такие как эмульсии типа «масло в воде» [123] и агонисты толл-подобных рецепторов и других элементов неспецифичной иммунной защиты. Кроме того, есть данные о том, что некоторые адъюванты при внутримышечном введении увеличивают иммунный ответ со стороны слизистой оболочки [124].

Кожа является первой линией обороны против многих патогенов и, следовательно, содержит множество клеток иммунной системы, в том числе дендритных клеток и макрофагов, которые препятствуют вторжению патогенных микроорганизмов. Этот факт лежит в основе предположения о том, что внутрикожное введение антигенов более эффективно по сравнению с внутримышечным. В ходе клинических испытаний внутрикожного введения дробной дозы ИПВ было показано, что это действительно так, однако минимальная доза, необходимая для создания иммунитета, оказалась выше предполагаемой 1/5 внутримышечной дозы [125–128]. Эффективность первичной иммунизации одной внутрикожной дозой ИПВ была доказана наличием вторичного иммунного ответа на бустерную дозу вакцины [129]. Таким образом, внутрикожное введение является приемлемым вариантом вакцинации, которую можно осуществлять при помощи устройств для безыгольного введения. Альтернативным вариантом внутрикожного введения является использование «микроигольных пластырей» [130–133]. Эти небольшие устройства имеют множество растворимых пластиковых микроигл, покрытых антигеном, для внутрикожной доставки ИПВ. Они могут быть безболезненно нанесены на кожу, как пластырь. Применимость на практике и эффективность этого подхода в настоящее время изучаются.

Все эти новые подходы касаются разработки инактивированной моновакцины против полиомиелита, которая может сыграть важную роль в завершающей фазе ликвидации полиомиелита и помочь осуществить переход от ОПВ к ИПВ. Тем не менее, в долгосрочной перспективе ИПВ будет использоваться в комбинации с другими антигенами в виде четырехвалентной (дифтерия-столбняк-бесклеточная коклюшная-ИПВ), пятивалентной (дифтерия-столбняк-бесклеточная коклюшная-ИПВ-ХИБ) или (дифтерия-столбняк-бесклеточная коклюшная-ИПВ-гепатит В), или шестивалентной вакцины, сочетающей все эти антигены. Использование комбинированных вакцин позволяет одновременно обеспечить максимальную

выгоду для системы здравоохранения и снизить стоимость и количество инъекций, необходимых для успешной вакцинации. Такие вакцины уже используются в развитых странах, а остальные страны могут наладить производство доступных версий комбинированных вакцин при помощи описанных выше подходов.

Попытки создать новые способы борьбы с побочными действиями полиовирусных вакцин тесно связаны с разработкой новых препаратов для вакцинации. Как обсуждалось выше, использование ОПВ может приводить к развитию хронической инфекции у пациентов с иммунодефицитом. В настоящее время радикальных методов лечения, позволяющих полностью избавиться от инфекции и остановить выделение вирулентных иВРПВ, не существует. Однако сейчас ведется разработка противовирусных препаратов, которые позволят не только избавить пациентов с иммунодефицитом от вируса, но и будут способны послужить мерой быстрого реагирования и помочь защитить население в чрезвычайной ситуации, в частности при возникновении вспышки после ликвидации или для лечения лиц, случайно контактировавших с полиовирусом [134]. Для этих же целей можно использовать пассивную иммунотерапию, как отдельно, так и в сочетании с препаратом или препаратами против полиомиелита. Ее эффективность была доказана еще до начала вакцинации [22], но она не нашла применения из-за трудности получения иммуноглобулина для внутривенного введения. Производство

моноклональных антител позволило создать человеческие антитела с высокой эффективностью против вируса полиомиелита [135, 136]. Возможность их применения изучается наряду с возможностью применения противовирусных препаратов.

Заключение

История создания вакцин против полиомиелита интересна как история двух высокоэффективных вакцин, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки. Первая из пары вакцин, ИПВ, ярко продемонстрировала и достижимость профилактики полиомиелита, и опасность множества побочных эффектов вакцинации, что в свою очередь привело к появлению современной нормативно-правовой базы для разработки и использования вакцин. Это также устранило все преграды перед ОПВ, которая в течение многих лет являлась вакциной выбора и способствовала значительному прогрессу в борьбе с полиомиелитом. В дальнейшем этот успех привел к постепенному возврату к ИПВ и необходимости полной замены ОПВ более безопасной инактивированной вакциной. Однако ИПВ будущего, по всей вероятности, будет отличаться от нынешней ИПВ. Таким образом, постоянно меняющаяся эпидемиологическая обстановка и социально-экономические факторы вынуждают нас непрерывно совершенствовать существующие вакцины и внедрять инновационные продукты, отвечающие новым запросам.

Литература/References

1. Baker AB. Bulbar poliomyelitis: its mechanism and treatment. *Am J Med* 1949; 6: 614–619.
2. Underwood M. A treatise on diseases of children with general directions for the management of infants from the birth. Mathews, London. 1789.
3. Badham J. Paralysis in childhood; four remarkable cases of suddenly induced paralysis in the extremities, occurring in children, without any apparent cerebral or cerebro-spinal lesion. *London Medical Gazette*. 1835.
4. Heine J. Beobachtungen über Lähmungszustände der unteren Extremitäten und deren Behandlung. 1840.
5. Cornil V. Paralyse infantile; cancer les seins; autopsie; altérations de la moelle épinière, des nerfs et des muscles; généralisation du cancer. *C R Soc Biol. Paris*. 1863; 5:187.
6. Jacobi M. Pathogeny of infantile paralysis. *Am. J. Obstet.* 1875; 7: 1.
7. Putnam JJ, Taylor EW. Is acute poliomyelitis unusually prevalent this season. *Bost. Med. Surg. J.* 1893; 129: 509–519.
8. Flexner S, Clark PF. A note on the mode of infection in epidemic poliomyelitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1912; 10: 1.
9. Frost WH. Epidemiologic studies of acute anterior poliomyelitis. *Hyg. Lab. Bull.* 1913; 90.
10. Landsteiner K., Popper E. Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen. *Zeitschrift für Immunitätsforschung* 1909; 2: 377–390.
11. Flexner S, Lewis PA. The transmission of poliomyelitis to monkeys. *J. Am. Med. Assoc.* 1909; 53:1639.
12. Flexner S, Lewis PA. Experimental poliomyelitis in monkeys; active immunization and passive serum protection. *J. Am. Med. Assoc.* 1910; 54:1780.
13. Burnet FM., Macnamara J. Immunological differences between strains of poliomyelitic virus. *Br. J. Exp. Pathol.* 1931; 12: 57–61.
14. Bodian D, Morgan IM. et al. Differentiation of types of poliomyelitis viruses. III. The grouping of fourteen strains into three basic immunologic types. *Am. J. Hyg.* 1949; 49: 234–245.
15. Kessel JF, Pait CF. Differentiation of three groups of poliomyelitis virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1949; 70: 315–316.
16. Pallansch MA, Oberste MS et al. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. *Fields virology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. 2013; 1: 490–530.
17. Kramer SD, Aycock WL et al. Convalescent serum therapy in preparalytic poliomyelitis. *N. Engl. J. Med.* 1932; 206: 432.
18. Brodie M. Active immunization in monkeys against poliomyelitis with germicidally inactivated. *J. Am. Med. Assoc.* 1934; 105: 9.
19. Brodie M, Park WH. Active immunization against poliomyelitis. *J. Am. Med. Assoc.* 1935; 105: 9.
20. Leake JP. Poliomyelitis following vaccination against the disease. *J. Am. Med. Assoc.* 1935; 105: 2152
21. Enders JF, Weller TH et al. Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissue. *Science*. 1949; 109: 85–87.
22. Hammon WM, Coriell LI et al. Evaluation of Red Cross gamma globulin as a prophylactic agent for poliomyelitis. *J. Am. Med. Assoc.* 1952; 150: 139.
23. Enders JF, Weller TH et al. Alterations in pathogenicity for monkeys of Brunhilde strain of poliovirus following cultivation in human tissues. *Fed. Proc.* 1952; 11: 467.
24. Koprowski H, Jervis GA et al. Immune responses in human volunteers upon oral administration of a rodent-adapted strain of poliomyelitis virus. *Am. J. Hyg.* 1952; 55: 108–126.
25. Koprowski H. Vaccination with modified active viruses. Poliomyelitis. In: *Papers and discussion presented at the fourth international poliomyelitis conference*. J. B. Lippincott, Philadelphia, PA. 1958.
26. Sabin AB. Current status of research on vaccination against poliomyelitis. *J. Mich. State. Med. Soc.* 1954a; 53 (9): 985.
27. Sabin AB. On the trail of avirulent viruses for immunization against poliomyelitis. *Bibl. Paediatr.* 1954; 58: 429–436.
28. Sabin AB. Behavior of chimpanzee avirulent poliomyelitis viruses in experimentally infected human volunteers. *Am. J. Med. Sci.* 1955; 230 (1): 1–8.
29. Sabin AB. Characteristics and genetic potentialities of experimentally produced and naturally occurring variants of poliomyelitis virus. *Ann. NY Acad. Sci.* 1955; 61 (4): 924–938.
30. Chumakov MP. The effect of mass peroral immunization by live vaccines from Sabin strains on the epidemiological process of poliomyelitis. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 1960; 4: 287–288.
31. Sabin AB. Poliomyelitis incidence in the Soviet Union in 1960. *JAMA.* 1961; 176: 231–232.

32. Nathanson N, Langmuir AD. The cutter incident. Poliomyelitis following formaldehydeinactivated poliovirus vaccination in the United States in the spring of 1955. I. Background. *Am. J. Hyg.* 1963; 78: 16–28.
33. Nathanson N, Langmuir AD. The Cutter incident. Poliomyelitis following formaldehydeinactivated poliovirus vaccination in the United States in the spring of 1955. II. Relationship of poliomyelitis to Cutter vaccine. *Am. J. Hyg.* 1963; 78: 29–60.
34. Nathanson N, Langmuir AD. The Cutter incident. Poliomyelitis following formaldehyde inactivated poliovirus vaccination in the United States in the spring of 1955. III. Comparison of the clinical character of vaccinated and contact cases occurring after use of high rate lots of Cutter vaccine. *Am. J. Hyg.* 1963; 78: 61–81.
35. Offit PA. *The Cutter incident: how America's first polio vaccine led to the growing vaccine crisis.* Yale University Press, New Haven. 2005.
36. Chang T-W, Weinstein L et al. Paralytic poliomyelitis in a child with hypogammaglobulinemia: probable implication of type 1 vaccine strain. *Pediatrics.* 1966; 37: 630–636.
37. Feigin RD, Guggenheim MA et al. Vaccine-related paralytic poliomyelitis in an immunodeficient child. *J. Pediatr.* 1971; 79 (4): 642–647.
38. Wright PF, Hatch MH et al. Vaccine-associated poliomyelitis in a child with sex-linked agammaglobulinemia. *J. Pediatr.* 1977; 91: 408–412.
39. Nottay B. K., Kew O. M. et al. Molecular variation of type 1 vaccine-related and wild polioviruses during replication in humans. *Virology.* 1981; 108: 405–423.
40. Alexander LN, Seward JF et al. Vaccine policy changes and epidemiology of poliomyelitis in the United States. *JAMA.* 2004; 292 (14): 1696–1701.
41. Kew O, Morris-Glasgow V et al. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus. *Science.* 2002; 296: 356–359.
42. Centers for Disease Control and Prevention. Circulation of a type 2 vaccine-derived poliovirus – Egypt, 1982–1993. *MMWR.* 2001; 50: 41–42.
43. Kew OM, Wright PF et al. Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge. *Bull. World Health Organ.* 2004; 82: 16–23.
44. Centers for Disease Control and Prevention. Update on vaccine-derived polioviruses–worldwide, April 2011–June 2012. *MMWR.* 2012; 61: 741–746.
45. Burns CC, Shaw J et al. Multiple independent emergences of type 2 vaccine-derived polioviruses during a large outbreak in northern Nigeria. *J. Virol.* 2013; 87 (9): 4907–4922.
46. Korotkova EA, Park R et al. Retrospective analysis of a local cessation of vaccination against poliomyelitis: a possible scenario for the future. *J. Virol.* 2003; 77: 12460–12465.
47. Lopez C, Biggar WD et al. Nonparalytic poliovirus infections in patients with severe combined immunodeficiency disease. *J. Pediatr.* 1974; 84 (4): 497–502.
48. Davis LE, Bodian D et al. Chronic progressive poliomyelitis secondary to vaccination of an immunodeficient child. *N. Engl. J. Med.* 1977; 297 (5): 241–245.
49. Minor P. Characteristics of poliovirus strains from longterm excretors with primary immunodeficiencies. *Dev. Biol.* 2001; 105: 75–80.
50. Martin J, Odoom K et al. Long-term excretion of vaccinated-derived poliovirus by a healthy child. *J. Virol.* 2004; 78: 13839–13847.
51. Hidalgo S, Garcia Erro M et al. Paralytic poliomyelitis caused by a vaccine-derived poliovirus in an antibody-deficient Argentinean child. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2003; 22 (6): 570–572.
52. Minor P. Vaccine-derived poliovirus (VDPV): impact on poliomyelitis eradication. *Vaccine* 2009; 27 (20): 2649–2652.
53. Blomqvist S, Savolainen C et al. Characterization of a highly evolved vaccine-derived poliovirus type 3 isolated from sewage in Estonia. *J. Virol.* 2004; 78 (9): 4876–4883.
54. Cernáková B, Sobotová Z et al. Isolation of vaccine-derived polioviruses in the Slovak Republic. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005; 24: 438–439.
55. Centers for Disease Control and Prevention. Update on vaccine-derived polioviruses–worldwide, January 2008–June 2009. *MMWR.* 2009; 58 (36): 1002–1006.
56. Roivainen M, Blomqvist S et al. Highly divergent neurovirulent vaccine-derived polioviruses of all three serotypes are recurrently detected in Finnish sewage. *Euro surveill.* 2010; 15 (19): pii/19566.
57. van Wezel AL, van Steenis G et al. Inactivated poliovirus vaccine: current production methods and new developments. *Rev. Infect. Dis.* 1984; 6 (Suppl 2): S335–S340.
58. Blume SS. Lock in, the state and vaccine development: lessons from the history of the poliovaccines. *Res. Policy* 2005; 34: 159–173.
59. Sabin AB. Oral poliovirus vaccine. History of its development and prospects for eradication of poliomyelitis. *JAMA.* 1965; 194 (8): 872–876.
60. Hampton L. Albert Sabin and the coalition to eliminate polio from the Americas. *Am. J. Public Health* 2009; 99 (1): 34–44.
61. de Quadros CA, Andrus JK et al. Polio eradication from the Western Hemisphere. *Annu Rev. Public Health* 1992; 13: 239–252.
62. de Quadros CA, Hersh BS et al. Eradication of wild poliovirus from the Americas: acute flaccid paralysis surveillance, 1988–1995. *J. Infect. Dis.* 1997; 175 (Suppl 1): S37–S42.
63. Andrus JK, de Quadros C et al. Screening of cases of acute flaccid paralysis for poliomyelitis eradication: ways to improve specificity. *Bull. World Health Organ.* 1992; 70: 591–596.
64. Kew OM, Nottay BK et al. Molecular epidemiology of wild poliovirus transmission. Plenum, New York, NY, 1990; 21: 199–221.
65. Chumakov K, Kew OM. The poliovirus eradication initiative. The picornaviruses. ASMscience, Washington, DC. 2010: 449–459.
66. WHO. Polio Eradication & Endgame Strategic Plan. 2013; 2013–2018.
67. Patriarca PA, Wright PF et al. Factors affecting the immunogenicity of oral poliovirus vaccine in developing countries: review. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13: 926–939.
68. Grassly NC, Fraser C et al. New strategies for the elimination of polio from India. *Science.* 2006; 314: 1150–1153.
69. Grassly NC, Wenger J et al. Protective efficacy of a monovalent oral type 1 poliovirus vaccine: a case-control. *Lancet.* 2007; 369 (9570): 1356–1362.
70. O'Reilly KM, Durry E et al. The effect of mass immunization campaigns and new oral poliovirus vaccines on the incidence of poliomyelitis in Pakistan and Afghanistan, 2001–11: a retrospective analysis. 2012; 380 (9840):491–498.
71. Nasr El-Sayed N, El-Gamal Y et al. Randomized controlled clinical trial of monovalent type1 oral poliovirus vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 1655–1665.
72. John TJ, Jain H et al. Monovalent type 1 oral poliovirus vaccine among infants in India: report of two randomized double-blind controlled clinical trials. *Vaccine.* 2011; 29 (34): 5793–5801.
73. John TJ, Vashishtha VM. Path to polio eradication in India: a major milestone. *Indian Pediatr.* 2012; 49 (2): 95–98.
74. Kaura G, Biswas T. India reaches milestone of no cases of wild poliovirus for 12 months. *BMJ.* 2012; 344: e1328.
75. Agol VI. Vaccine-derived polioviruses. *Biologicals.* 2006; 34 (2):103–108.
76. Dowdle W, Kew O. Vaccine-derived polioviruses: is it time to stop using the word rare? *J. Infect. Dis.* 2006; 194: 539–541.
77. Dowdle WR, de Gourville E et al. Polio eradication: the OPV paradox. *Rev. Med. Virol.* 2003; 13: 277–291.
78. Jorba J, Campagnoli R et al. Calibration of multiple poliovirus molecular clocks covering an extended evolutionary range. *J. Virol.* 2008; 82 (9): 4429–4440.
79. Arita I, Francis DP. Safe landing for global polio eradication: a perspective. *Vaccine*; 2011: 29.
80. Arya SC, Agarwal N. Bivalent live poliovirus vaccine: a blessing or a curse. *Hum Vaccine.* 2011; 7 (7): 800.
81. Agol VI, Chumakov K et al. Don't drop current vaccine until we have new ones. *Nature.* 2005; 435 (7044).
82. Chumakov K, Ehrenfeld E et al. Vaccination against polio should not be stopped. *Nat. Rev.* 2007: 100.
83. Ehrenfeld E, Glass R. I. et al. Immunisation against poliomyelitis: moving forward. *Lancet* 2008; 371 (9621): 1385–1387.
84. Cello J, Paul AV et al. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science.* 2002; 297: 1016–1018.
85. Dowdle WR, Birmingham ME. The biologic principles of poliovirus eradication. *J. Infect. Dis.* 1997; 175 (Suppl 1): S286–S292.
86. Dowdle WR. The principles of disease elimination and eradication. *Bull. World Health Organ.* 1998; 76 (Suppl 2): 22–25.
87. Anis E, Kopel E et al. Insidious reintroduction of wild poliovirus into Israel, 2013. *Euro Surveill.* 2013; 18 (38):1–5.
88. Ehrenfeld E, Modlin J et al. Future of polio vaccines. *Expert. Rev. Vaccines.* 2009; 8 (7): 899–905.
89. Guest S, Piliipenko E et al. Molecular mechanisms of attenuation of the Sabin strain of poliovirus type 3. *J. Virol.* 2004; 78 (20): 11097–11107.
90. Kauder SE, Racaniello VR. Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J. Clin. Investig.* 2004; 113 (12): 1743–1753.
91. Gromeier M, Alexander L et al. Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 2370–2375.
92. Chumakov K, Dragunsky E et al. Inactivated vaccines based on alternatives to wild-type seed virus. *Dev. Biol. (Basel)* 2001; 105: 171–177.
93. Dobrikova EY, Goetz C et al. Attenuation of neurovirulence, biodistribution, and shedding of a poliovirus: rhinovirus chimera after intrathalamic inoculation in Macaca fascicularis. *J. Virol.* 2012; 86 (5): 2750–2759.
94. Macadam AJ, Ferguson G et al. Live-attenuated strains of improved genetic stability. *Dev Biol.* 2001; 105: 179–187.
95. Macadam AJ, Ferguson G et al. Rational design of genetically stable, live-attenuated poliovirus vaccines of all three serotypes: relevance to poliomyelitis eradication. *J. Virol.* 2006; 80 (17): 8653–8663.
96. Rowe A, Burlison J et al. Functional formation of domain V of the poliovirus noncoding region: significance of unpaired bases. *Virology.* 2001; 289 (1): 45–53.
97. Toyoda H, Yin J et al. Oncolytic treatment and cure of neuroblastoma by a novel attenuated poliovirus in a novel poliovirus-susceptible animal model. *Cancer Res.* 2007; 67 (6): 2857–2864.
98. Pfeiffer JK, Kirkegaard K. A single mutation in poliovirus RNA-dependent RNA polymerase confers resistance to mutagenic nucleotide analogs via increased fidelity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (12): 7289–7294.
99. Vignuzzi M, Stone JK et al. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature.* 2006; 439 (7074): 344–348.
100. Vignuzzi M, Wendt E et al. Engineering attenuated virus vaccines by controlling replication fidelity. *Nat. Med.* 2008; 14 (2): 154–161.
101. Burns CC, Shaw J et al. Modulation of poliovirus replicative fitness in HeLa cells by deoptimization of synonymous codon usage in the capsid region. *J. Virol.* 2006; 80 (7): 3259–3272.
102. Gutman GA, Hatfield GW. Nonrandom utilization of codon pairs in Escherichia coli. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 86 (10): 3699–3703.
103. Coleman JR, Papamichail D et al. Virus attenuation by genome-scale changes in codon pair bias. *Science.* 2008; 320 (5884): 1784–1787.

104. Burns CC, Campagnoli R et al. Genetic inactivation of poliovirus infectivity by increasing the frequencies of CpG and UpA dinucleotides within and across synonymous capsid region codons. *J. Virol.* 2009; 83 (19): 9957–9969.
105. Mueller S, Coleman JR et al. Live attenuated influenza virus vaccines by computer-aided rational design. *Nat. Biotechnol.* 2010; 28 (7): 723–726.
106. Cooper PD. Genetics of picornaviruses. *Comprehensive virology*. Plenum, New York, NY. 1977; 9: 133–207.
107. Furione M, Guillot S et al. Polioviruses with natural recombinant genomes isolated from vaccine-associated poliomyelitis. *Virology.* 1993; 196: 199–208.
108. Agol VI. Recombination and other genomic rearrangements in picornaviruses. *Semin. Virol.* 1997; 8: 77–84.
109. Combelas N, Holmblat B et al. Recombination between poliovirus and coxsackie A viruses of species C: a model of viral genetic plasticity and emergence. *Viruses.* 2011; 3 (8):1460–1484.
110. Runckel C, Westesson O et al. Identification and manipulation of the molecular determinants influencing poliovirus recombination. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (2): e1003164.
111. Doi Y, Abe S et al. Progress with inactivated poliovirus vaccines derived from the Sabin strains. *Dev. Biol.* 2001; 105: 163–169.
112. Dragunsky EM, Ivanov AP et al. Evaluation of immunogenicity and protective properties of inactivated poliovirus vaccines: a new surrogate method for predicting vaccine efficacy. *J. Infect. Dis.* 2004; 190 (8): 1404–1412.
113. Dragunsky EM, Ivanov AP et al. Further development of a new transgenic mouse test for the evaluation of the immunogenicity and protective properties of inactivated poliovirus vaccine. *J. Infect. Dis.* 2006; 194 (6): 804–807.
114. Tano Y, Shimizu H et al. Antigenic characterization of a formalin-inactivated poliovirus vaccine derived from liveattenuated Sabin strains. *Vaccine.* 2007; 25 (41): 7041–7046.
115. Westdijk J, Brugmans D et al. Characterization and standardization of Sabin based inactivated polio vaccine: proposal for a new antigen unit for inactivated polio vaccines. *Vaccine* 2011; 29 (18): 3390–3397.
116. Shimizu H. Poliovirus vaccine. *Uirusu.* 2012; 62 (1): 57–65.
117. Verdijk P, Rots NY et al. Clinical development of a novel inactivated poliomyelitis vaccine based on attenuated Sabin poliovirus strains. *Expert. Rev. Vaccines.* 2011; 10 (5): 635–644.
118. World Health Organization. Global action plan for laboratory containment of wild polioviruses, 3rd edn. WHO. Geneva. 2004.
119. Porta C, Kotecha A et al. Rational engineering of recombinant picornavirus capsids to produce safe, protective vaccine antigen. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (3): e1003255.
120. Sanders BP, Edo-Matas D et al. PER.C6. (R) cells as a serumfree suspension cell platform for the production of high titer poliovirus: a potential low cost of goods option for world supply of inactivated. *Vaccine.* 2013; 31 (5): 850–856.
121. Verdijk P, Rots NY et al. Safety and immunogenicity of inactivated poliovirus vaccine based on Sabin strains with and without aluminum hydroxide: a phase I trial in healthy adults. *Vaccine.* 2013; 31 (47): 5531–5536.
122. Westdijk J, Koedam P et al. Antigen sparing with adjuvanted inactivated polio vaccine based on Sabin strains. *Vaccine.* 2013; 31 (9): 1298–1304.
123. Baldwin SL, Fox CB et al. Increased potency of an inactivated trivalent polio vaccine with oil-in-water emulsions. *Vaccine* 2011; 29 (4): 644–649.
124. Ivanov AP, Dragunsky EM et al. 1,25-dihydroxyvitamin d3 enhances systemic and mucosal immune responses to inactivated poliovirus vaccine in mice. *J. Infect. Dis.* 2006; 193 (4): 598–600.
125. Resik S, Tejeda A et al. Randomized controlled clinical trial of fractional doses of inactivated poliovirus vaccine administered intradermally by needle-free device in Cuba. *J Infect Dis* 2010; 201 (9): 1344–1352.
126. Cadorna-Carlos J, Vidor E et al. Randomized controlled study of fractional doses of inactivated poliovirus vaccine administered intradermally with a needle in the Philippines. *Int. J. Infect. Dis.* 2012; 16 (2): e110–e116.
127. Nelson KS, Janssen JM et al. Intradermal fractional dose inactivated polio vaccine: a review of the literature. *Vaccine.* 2012; 30 (2): 121–125.
128. Soonawala D, Verdijk P et al. Intradermal fractional booster dose of inactivated poliomyelitis vaccine with a jet injector in healthy adults. *Vaccine.* 2013; 31 (36): 3688–3694.
129. Resik S, Tejeda A et al. Priming after a fractional dose of inactivated poliovirus vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368 (5): 416–424.
130. Hiraishi Y, Nandakumar S et al. Bacillus Calmette-Guerin vaccination using a microneedle patch. *Vaccine.* 2011; 29 (14): 2626–2636.
131. del Pilar Martin M, Weldon W. C. et al. Local response to microneedle-based influenza immunization in the skin. *MBio.* 2012; 3 (2): e00012–12.
132. Kim YC, Song JM et al. Increased immunogenicity of avian influenza DNA vaccine delivered to the skin using a microneedle patch. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2012; 81 (2): 239–247.
133. Edens C, Collins ML et al. Measles vaccination using a microneedle patch. *Vaccine.* 2013; 31 (34): 3403–3409.
134. Collett MS, Neyts J et al. A case for developing antiviral drugs against polio. *Antiviral Res.* 2008; 79 (3): 179–87.
135. Chen Z, Chumakov K et al. Chimpanzee-human monoclonal antibodies for treatment of chronic poliovirus excretors and emergency postexposure prophylaxis. *J. Virol.* 2011; 85 (9): 4354–4362.
136. Chen Z, Fischer ER et al. Cross-neutralizing human antipoliovirus antibodies bind the recognition site for cellular receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110 (50): 20242–20247.

Об авторах

- Чумаков Константин Михайлович – доктор наук, сотрудник Центра по оценке и исследованию биологических продуктов, FDA, Silver Spring USA. chumakov@cber.fda.gov
- Ишмухаметов Айдар Айратович – чл.-корр. РАН, д. м. н., профессор Москва, генеральный директор ФГУП «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (2013 г.), заведующий кафедрой организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института фармаци и трансляционной медицины Сеченовского университета. ID L-4482-2018. ishmukhametov@chumakovs.ru

About the Authors

- Konstantin M. Chumakov – PDh, Center for Biologics Evaluation and Research US Food and Drug Administration Silver Spring USA. chumakov@cber.fda.gov
- Aidar A. Ishmukhametov – corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), professor, Director of the Bacterial and Viral Agents Enterprise of the M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis. Moscow, Russian Federation. ID L-4482-2018. ishmukhametov@chumakovs.ru