

Agnieszka Częścik*¹, Agnieszka Trzcińska¹, Joanna Siennicka¹

¹Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny
ul. Chocimska, 24 00-791 Warszawa

Wpłynęło w marcu 2011 r.

1. Wiadomości ogólne i klasyfikacja wirusa odry. 2. Przebieg kliniczny odry. 3. Budowa wirusa odry i funkcje białek. 4. Białka receptorowe i mechanizm zakażenia. 5. Odpowiedź immunologiczna w przebiegu naturalnego zakażenia wirusem odry. 5.1. Odpowiedź wrodzona. 5.2. Odpowiedź humoralna. 5.3. Odpowiedź komórkowa. 5.4. Immunosupresja związana z zakażeniem MeV. 5.5. Pamięć immunologiczna. 6. Problemy związane ze szczepieniem przeciwko odrze. 6.1. Szczepionka przeciwko odrze. 6.2. Odpowiedź indukowana w wyniku szczepienia. 7. Podsumowanie

Measles Virus - immune response to natural infection and vaccination

Abstract: Despite the development of an effective vaccine, measles, a highly contagious disease, is still an important cause of morbidity and mortality, especially in developing countries. This paper presents the characteristics of the immune response in the course of natural measles virus infection and the response induced by vaccination. The elements of innate, humoral and cellular response, as well as immunosuppression due to infection with MeV and mechanisms for the acquisition of immune memory are described. Particular attention is paid to the determinants of postvaccination response rates. We focus also on the problem of passive transfer of antibodies during pregnancy and the consequences of inadequate immunization of infants born to mothers vaccinated against measles

1. General information and classification of measles virus. 2. The clinical course of measles. 3. Structure and function of measles virus proteins. 4. Receptor proteins and the mechanism of infection. 5. The immune response in the course of natural infection with measles. 5.1. Innate Response. 5.2. Humoral response. 5.3. Cellular response. 5.4. Immunosuppression due to infection MeV. 5.5. Immunological memory. 6. Problems associated with vaccination against measles. 6.1. Measles vaccine. 6.2. Postvaccination response. 7. Summary

Słowa kluczowe: Wirus odry, odporność, odpowiedź poszczepienna

Key words: Measles virus, immunity, postvaccination response

1. Wiadomości ogólne i klasyfikacja wirusa odry

Odra jest wysoce zaraźliwą chorobą wysypkową wieku dziecięcego. Pomimo opracowania skutecznej szczepionki nadal jest jedną z głównych przyczyn zachorowań i zgonów u dzieci w krajach rozwijających się. W 1954 r. Anders i Peebles dokonali pomyślnej izolacji wirusa będącego przyczyną tych zachorowań [14]. Wirus pochodził z materiału pobranego od 11-letniego chłopca z USA, Davida Edmonstona, od nazwiska którego pochodzi nazwa prototypowego szczepu wirusa odry.

Wirus odry (MeV) należy do rodziny *Paramyxoviridae*, podrodziny *Paramyxovirinae*, rodzaju *Morbillivirus*. W odróżnieniu od innych paramyksowirusów MeV nie posiada neuraminidazy [42]. Filogenetycznie MeV jest najbliższym spokrewnionym z wirusem księgosuszu bydła (*Rinderpest Virus* – RPV), z którego prawdopodobnie wyewoluował w wyniku bliskich kontaktów człowieka z udomowionym bydłem [24].

Wirus odry (MeV) jest antygenowo stabilny i wszystkie jego szczepy należą do jednego serotypu. Różnicowanie odbywa się na podstawie cech genetycznych.

Do tej pory wyróżniono 8 grup (A-H) obejmujących 23 genotypy [78]. Analiza sekwencyjna końca COOH genu nukleoproteiny, stanowi podstawę do zakwalifikowania izolatu klinicznego do jednego z nich. Niektóre z genotypów (B1, E, F, G1, D1) określa się jako nieaktywne, co oznacza, że szczepy reprezentatywne dla nich nie były izolowane od co najmniej 15 lat. Wszystkie szczepy szczepionkowe MeV należą do genotypu A. W Europie krążą szczepy należące do genotypów D4, D5 i D6 [78]. Nie stwierdzono istnienia biologicznych różnic pomiędzy wirusami różnych genotypów – ani w klinicznym przebiegu choroby, ani rodzaju powikłań. Różnicowania genetyczne MeV ma znaczenie dla śledzenia jego transmisji i stanowi ważne narzędzie epidemiologii molekularnej [78].

2. Przebieg kliniczny odry

Do zakażenia wirusem odry dochodzi na drodze kropelkowej. Okres inkubacji, od momentu zakażenia do wystąpienia typowych objawów trwa zwykle 9–14 dni.

* Autor korespondencyjny: Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny; 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24; tel. (22) 542 12 30; e-mail: aczescik@pzh.gov.pl

Pierwotnie wirus zakaża komórki układu oddechowego, po czym 5–7 dnia od zakażenia dochodzi do wirerii. W okresie inkubacji mogą wystąpić objawy prodromalne takie jak kaszel, katar, gorączka. W wyniku wirerii dochodzi do rozprzestrzenienia się wirusa w organizmie i wystąpienia wysypki. W początkowej fazie choroby wysypka ma charakter gruboplamisty. Wykwity skórne są różowe, zlewające się, zlokalizowane na twarzy i czole, które z czasem obejmują całą powierzchnię ciała. Po kilku dniach wysypka zmienia kolor na ceglasty i łuszczy się. [20, 24]. Objawem patognomicznym odry jest pojawienie się na błonie śluzowej policzków na wysokości dolnych zębów trzonowych białawych przebarwień tzw. plamek Koplika. Zakaźność chorego pojawia się na około dwa dni przed wystąpieniem objawów i utrzymuje do czwartego dnia po wystąpieniu wysypki. Powikłania w przebiegu odry występują rzadko i dotyczą w szczególności osób z niedoborami odporności. Do najczęstszych powikłań należą zapalenia płuc będące wynikiem nadkażeń bakteryjnych oraz zapalenie mózgu (1 na 1 000 przypadków zachorowań), a także zapalenie mięśnia sercowego i ucha środkowego. Najcięższym a jednocześnie najrzadszym (1 na 1 000 000 przypadków zachorowań) powikłaniem jest podostre stwardniające zapalenie mózgu (SSPE), które może wystąpić nawet po 15 latach od momentu zakażenia [27, 59, 60].

3. Budowa wirusa odry i funkcje białek

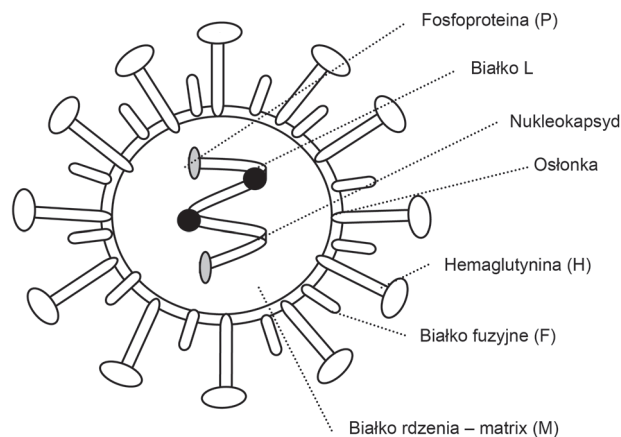
Genom wirusa odry zbudowany jest z jednoniciowego, niesegmentowanego RNA o ujemnej polarności. Genom o długości od 15 do 19 kbp zawiera 6 ułożonych liniowo genów [42]. Organizację genomu MeV przedstawiono na rys. 1. Wielkość pleomorficznej czę-



Rys. 1. Organizacja genomu wirusa odry

teczki wirusa odry określono na 100–300 nm. Wirion zbudowany jest z nukleokapsydu, na który składa się kwas nukleinowy wirusa z owiniętym spiralnie wokół niego białkiem – nukloproteiną (N). Z nukleokapsydem związane są dwa inne białka – fosfoproteina (P) i duże białko (L). Nukleokapsyd otoczony jest leżącym bezpośrednio pod osłonką białkiem rdzenia – matrix (M). W osłonce umiejscowione są dwie glikoproteiny powierzchniowe: hemaglutynina (H) i białko fuzyjne (F). Schemat budowy cząsteczki wirusa odry przedstawiono na rys. 2.

W wyniku fuzji osłonki wirusa z błoną komórkową, nukleokapsyd wraz z polimerazą RNA jest uwalniany do cytoplazmy, gdzie ma miejsce cykl replikacyjny wirusa. Pierwszym etapem replikacji jest synteza mRNA na

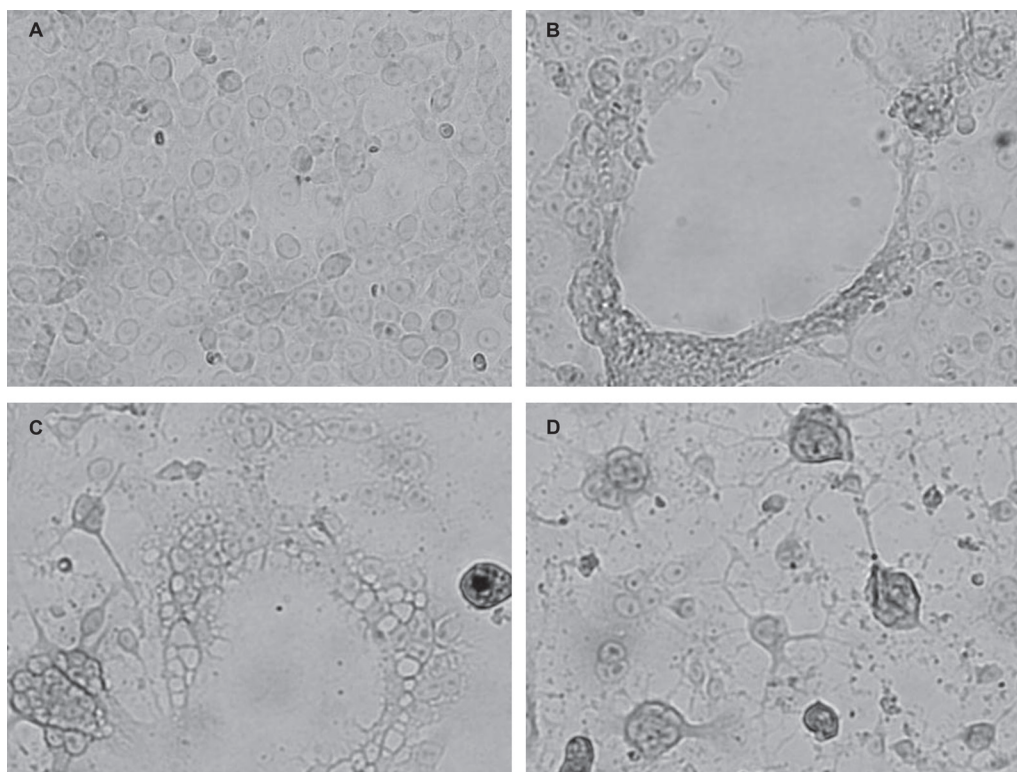


Rys. 2. Budowa cząsteczki wirusa odry

matrycy genomowego RNA. Jako pierwsze jest transkrybowane białko N, które razem z białkami L i P tworzy kompleks replikacyjny. Pomimo tego, że białko P, będące kofaktorem polimerazy, jest wydajnie syntetyzowane w zakażonej komórce, to jedynie niewielka jego ilość wchodzi w skład budowy wirionu. Gen białka P zawiera informacje kodujące co najmniej dwa inne białka – C i V. Jakkolwiek ani białko C ani V nie są niezbędne do replikacji wirusa, to stwierdzono, że oba, poprzez interakcje z białkami komórkowymi mają wpływ na regulację transkrypcji i replikacji. Składniki osłonki wirionu, hemaglutynina (H) i białko fuzyjne (F), są syntetyzowane na rybosomach, transportowane poprzez retikulum endoplazmatyczne, glikozylowane w aparacie Golgiego i stają się integralnymi białkami błony plazmatycznej. Białko M jest syntetyzowane na rybosomach cytoplazmatycznych i transportowane do błony komórkowej [30]. W dalszym etapie replikacji, w wyniku akumulacji nowosyntetyzowanych białek wirusowych następuje replikacja genomowego RNA. Najpierw zachodzi synteza komplementarnego RNA o dodatniej polarności, który następnie stanowi matrycę dla genomowego RNA o ujemnej polarności. Białko rdzenia (M) poprzez interakcję z glikoproteinami powierzchniowymi ma wpływ na proces zlewania się zakażonych komórek, oraz uwalniania dojrzałych wirionów. Białko fuzyjne (F) odpowiada za fuzję wirusa z błoną komórki gospodarza, penetrację i hemolizę. Pośrednicząc w zlewaniu się zakażonych komórek i tworzeniu syncytiów, odgrywa istotną rolę w rozprzestrzenianiu się zakażenia. Główną funkcją hemaglutyniny (H) jest udział w procesie adsorpcji w wyniku interakcji z receptorami komórkowymi [42].

4. Białka receptorowe i mechanizm zakażenia

Zidentyfikowano co najmniej dwa białka komórkowe będące receptorami dla wirusa odry: CD46 i CD150. CD46 wykazuje ekspresję na wszystkich komórkach jądrzastych człowieka, szczególnie licznie występując



Rys. 3. Efekt cytopatyczny wirusa odry (MeV), szczep Edmonston. A) komórki VeroSlam niezakażone, B) komórki VeroSlam po 24 h od zakażenia MeV, C) komórki VeroSlam po 354 h od zakażenia MeV, D) komórki VeroSlam po 48 h od zakażenia MeV (zdjęcia autorów)

w części wierzchołkowej komórek nabłonkowych. Trzy z pięciu domen tego białka wykazują zdolność wiązania komponenty C3b lub C4b układu dopełniacza, natomiast dwie, najbardziej zewnętrznie położone, wykazują powinowactwo do hemaglutyniny wirusa odry. Białko CD150/SLAM (*Signaling Lymphocyte Activation Molecule*) jest obecne na powierzchni komórek immunologicznie czynnych. Hemaglutynina wirusa odry oddziałuje z jedną z dwóch wysoce glikozylowanych domen molekuly SLAM. Badania nad różnymi receptorami wykazały, że podczas gdy większość szczepów szczepionkowych MeV efektywnie wykorzystuje CD46 jako białko receptorowe, to szczepy dzikie z reguły nie czynią tego [16, 99]. Późniejsze badania dowiodły, że większość hemaglutynin może wiązać zarówno CD46 jak i CD150, jakkolwiek powinowactwo H w stosunku do CD150 jest wyższe [46].

Związanie hemaglutyniny (H) z receptorem komórkowym indukuje zmiany w budowie konformacyjnej zarówno białka H jak i białka fuzyjnego F. Hydrofobowy peptyd fuzyjny znajdujący się wewnątrz F ulega ekspozycji i włączany jest do błony komórkowej. Wynikiem tego procesu jest zmniejszenie dystansu między osłonką wirusa i błoną komórkową, co umożliwia ich fuzję [100]. Zakażenie MeV skutkuje również fuzją błon sąsiadujących komórek, w wyniku czego powstają wielojądrzaste komórki olbrzymie, syncytia, dające charakterystyczny dla wirusa odry obraz efektu cytopatycznego (rys. 3).

5. Odpowiedź immunologiczna w przebiegu naturalnego zakażenia wirusem odry

Odra u osób immunokompetentnych w większości przypadków kończy się eliminacją wirusa z organizmu. Eliminacja (*clearance*) jest możliwa dzięki efektywnemu działaniu wielu elementów odpowiedzi immunologicznej. Całkowita eliminacja patogenu jest jednak procesem długotrwałym, trwającym kilka tygodni. Świadczy o tym chociażby fakt, że o ile zakaźne cząstki wirusa udaje się wyizolować jedynie w okresie trwania wysypki, to wirusowe RNA jest wykrywane nawet po kilku tygodniach od jej ustąpienia [89]. Za skuteczność reakcji odpornościowej odpowiedzialne są zarówno jej elementy swoście rozpoznające patogen, jak i te związane z odpowiedzią nieswoistą. Znanym fenomenem zakażenia MeV jest związana z nim immunosupresja.

5.1. Odpowiedź wrodzona

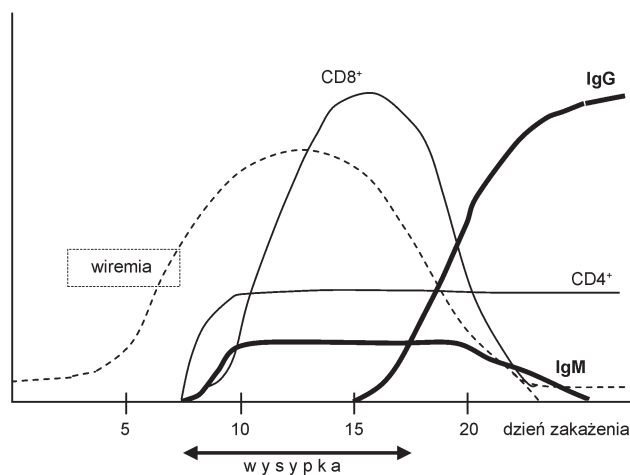
Pierwszymi elementami reakcji odpornościowej aktywowanymi w efekcie zakażenia MeV są te, związane z odpowiedzią nieswoistą. Jak we wszystkich infekcjach rozprzestrzeniających się drogą kropelkową, działanie różnego rodzaju barier zapewne ma znaczenie, jakkolwiek w przypadku MeV pierwszoplanową rolę przypisuje się takim czynnikom jak interferony (IFN), układ

dopełniacza, komórki NK oraz reakcje związane z pobudzeniem receptorów Toll-like.

Zakażenie wirusem odry, podobnie jak inne zakażenia wirusowe, skutkuje produkcją interferonów. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że dzikie szczepy MeV słabiej stymulują syntezę IFN niż szczepy szczepionkowe [57]. *In vivo* obserwowano znaczny wzrost poziomu IFN w surowicy między 8 a 11 dniem po podaniu szczepionki [71], przy czym nie obserwowano takiego wzrostu w przebiegu naturalnego zakażenia [82]. Kolejnym ważnym elementem wczesnej odpowiedzi immunologicznej są komórki NK. Opisano jednak, że w przypadku zakażenia wirusem odry ich udział w reakcjach obronnych może być mniejszy niż ma to miejsce w innych zakażeniach wirusowych [23]. Należy jednak zauważyć, że badania *in vivo* dotyczące udziału IFN i komórek NK były przeprowadzane na próbkach pozyskanych od osób chorych na odrę w okresie trwania wysypki. W związku z tym nie można wykluczyć dużego znaczenia tych elementów reakcji odpornościowej we wcześniejszych fazach zakażenia [24]. Ważną rolę w reakcji przeciwzakaźnej pełni układ dopełniacza. Stwierdzono, że podczas zakażenia MeV dochodzi do jego aktywacji drogą alternatywną, to jest niezależną od przeciwciał [84], a w procesie tym bierze udział białko fuzyjne F wirusa [10]. Z kolei reakcja związana ze stymulacją receptora/rów Toll-like (TLR) może prowadzić do jednego z ciekawszych zjawisk związanych z zakażeniem MeV, a mianowicie immunosupresją [28]. Spośród cytokin indukowanych w wyniku pobudzenia TLRs, IL-12 jest kluczową cytokiną związaną z przesunięciem odpowiedzi w kierunku fenotypu Th1, natomiast IL-10 pełni funkcje supresyjne i jest jedną z głównych cytokin odpowiedzi typu Th2. Stwierdzono, że w trakcie odry przeważa odpowiedź typu Th2, wyrażona poprzez wydłużoną obecność zwiększonego poziomu IL-10 w surowicach osób chorych na odrę, trwającego nawet przez kilkanaście tygodni po ustąpieniu wysypki [51]. Nie jest wykluczone, że do zwiększonej produkcji IL-10 dochodzi na skutek pobudzenia TLR4 [26].

5.2. Odpowiedź humoralna

Wirusowo swoiste przeciwciała obecne są na wykrywalnym poziomie w momencie pojawienia się wysypki. Wraz z rozwojem choroby ich poziom znacznie wzrasta. Po 72 godzinach od pojawienia się wysypki u 77% chorych wykrywa się anty-MeV IgM. Natomiast w 11 dniu choroby 100% pacjentów wykazuje ich obecność. Podwyższony poziom przeciwciał klasy IgM utrzymuje się przez około 3 tygodnie [24]. Anty-MeV IgG wykrywane są w stosunku do przeciwciał klasy IgM nieco później (rys. 4). Szczyt ich produkcji przypada na 3–4 tydzień trwania choroby i po przebyciu naturalnego zakażenia obecne są w surowicach ozdrowieńców do końca życia.



Rys. 4. Dynamika odpowiedzi immunologicznej na zakażenie wirusem odry

Wiadomo, że przechorowanie odry i nabyta w jej trakcie odporność daje trwałą ochronę. Świadczą o tym obserwacje poczynione w trakcie epidemii mającej miejsce na Wyspach Owczych w 1846 r. Na odrę zachorowało wtedy blisko 100% izolowanej od reszty świata społeczności, wśród której nie notowano epidemii od 65 lat. Nie zachorowały jedynie osoby w wieku powyżej 65 lat, odporne na odrę w wyniku jej przechorowania w trakcie poprzedniej epidemii [59].

Wszystkie białka wirusowe wykazują właściwości antygenowe, jednak większość anty-MeV IgG skierowana jest przeciwko nukleoproteinie (N). Silne właściwości immunogenne wykazują również białka powierzchniowe wirusa: hemaglutynina (H) i białko fuzyjne (F), natomiast niewielkie – białko rdzenia (M). Stwierdzono przy tym, że odpowiedź ze strony IgG i IgA jest wyższa dla białka fuzyjnego niż dla hemaglutyniny [13]. Właściwości neutralizujące zakaźność cząstek wirusa posiadają przeciwciała dla H i w mniejszym stopniu dla F [45], a poziom przeciwciał (IgM, IgG i IgA) swoistych dla H i F koreluje z poziomem dla nukleoproteiny [13].

Pomiaru poziomu przeciwciał neutralizujących można dokonywać przy użyciu takich testów jak np. łysinkowy test neutralizacji (PRN, *plaque reduction neutralizing assay*), odczyn zahamowania hemaglutynacji (OZHA) bądź testy ELISA. Te ostatnie, pod warunkiem zastosowania jako frakcji antygenowej białek warunkujących syntezę przeciwciał neutralizujących, lub odpowiednie wystandaryzowanie testu w stosunku do standardu międzynarodowego [94]. Zgodnie z danymi WHO, za chroniący przed zakażeniem poziom swoistych przeciwciał neutralizujących przyjmuje się 200 mIU/ml [94]. W najczęściej, używanych w rutynowej diagnostyce testach ELISA, frakcję antygenową stanowią białka otrzymane z supernatantu bądź lizatu uzyskanego w wyniku namnażania wirusa w hodowli komórkowej. W tak skonstruowanych testach pomiarowi podlegają przeciwciała swoiste dla wszyst-

kich, strukturalnych i niestrukturalnych białek wirusa. Dlatego też w celu ustalenia poziomu ochronnego przeciwciał należy dokonać standaryzacji testu [31].

Jakość odpowiedzi humoralnej związana jest z awidnością przeciwciał oraz podklasami IgG. W ostrej fazie zakażenia wirusem odry dochodzi głównie do produkcji przeciwciał podklas IgG1 i IgG3. W późniejszym okresie obserwuje się stopniowy zanik IgG3, które stają się praktycznie niewykrywalne w fazie ozdrowieńczej, przy jednoczesnym wzroście IgG4 [13]. Zdolności neutralizujące przeciwciał związane są głównie ze swoistymi dla hemaglutyniny wirusa przeciwciałami IgG1 i IgG3 [57]. Wysoka awidność jest związana z lepszą ochroną. Stwierdzono, że przeciwciała anty-MeV osiągają wysokie powinowactwo w procesie dojrzewania zachodzącym w okresie 3–6 miesięcy od zakażenia [13]. Poza możliwością neutralizowania zakaźności cząstek wirusa, równie istotną cechą przeciwciał jest ich awidność.

5.3. Odpowiedź komórkowa

Podczas gdy obecność wirusowo swoistych przeciwciał redukuje ryzyko zakażenia, to sprawne działanie odpowiedzi komórkowej jest niezbędne dla efektywnej eliminacji wirusa z zakażonego organizmu. O roli odpowiedzi komórkowej w przebiegu odry świadczą obserwacje dotyczące dzieci z agammaglobulinemią, które skutecznie eliminowały zakażenie i ustanawiały odporność. Natomiast u dzieci z anomaliami w zakresie funkcjonowania limfocytów T przebieg odry był cięższy i znacznie częściej związany z powikłaniami [6, 56]. Pojawienie się swoistej odpowiedzi odpornościowej zbiega się w czasie z wystąpieniem charakterystycznych dla odry objawów klinicznych: wysypki, gorączki, zapalenia spojówek [25] (rys. 4). W obrębie komórek nabłonkowych w zmianach skórnych stwierdzane są nacieki limfocytów T, zarówno CD4⁺ jak i CD8⁺ [70].

Izolacja zakaźnych cząstek wirusa z komórek krwi obwodowej (PBMC) praktycznie jest możliwa jedynie w okresie trwania wysypki. Po upływie kilku dni wiremia jest eliminowana, ale wirusowe RNA pozostaje obecne na wykrywalnym poziomie (w PBMC, komórkach układu oddechowego, moczu) nawet kilka tygodni po wyzdrowieniu [76]. Pierwszoplanową rolę w procesie eliminacji wirusa przypisuje się limfocytom T. Stwierdzono, że zmniejszenie CD8⁺ u makaków skutkuje wydłużeniem okresu wirerii i obecnością wirusa na wyższym poziomie [70]. Po eliminacji zakaźnego wirusa liczba aktywowanych komórek CD8⁺ oraz poziom IFN γ gwałtownie się obniżają. Znacznie wolniej znikają wirusowo swoiste CD4⁺ [25, 34, 63]. We wczesnej fazie reakcji odpornościowej obserwuje się przewagę cytokin charakterystycznych dla profilu Th1 (IFN γ , IL-2). W późniejszym okresie następuje przesunięcie odpowiedzi w kierunku Th2, co wyraża się wzmożoną

syntezą takich cytokin jak, IL-4, IL10, IL-13. Dominację profilu Th2 obserwuje się przez kilka tygodni po eliminacji wirusa i ustąpieniu wysypki [23, 25, 51]. Przy braku sprawnie działającej odpowiedzi komórkowej nie obserwuje się wysypki a zakażenie wirusem odry może prowadzić do śmiertelnych postaci zapalenia płuc lub mózgu [24].

5.4. Immunosupresja związana z zakażeniem MeV

Odra była pierwszą chorobą, w trakcie której zaobserwowano zwiększoną wrażliwość na inne zakażenia. Na związek odry z immunosupresją zwrócono uwagę w kontekście wykonywania prób tuberkulinowych. W czasie trwania epidemii odry zaobserwowano, że reakcje związane z testem skórnym są zahamowane i występują dopiero po kilku tygodniach od ustąpienia wysypki i całkowitym wyzdrowieniu [25]. Stwierdzono również, że przyczyną zgonów dzieci chorych na odrę było głównie zapalenie płuc na tle zakażeń powodowanych przez takie patogeny jak adenowirusy, herpeswirusy i bakterie z rodzaju *Klebsiella* i *Pseudomonas*. U dzieci tych, częściej niż u innych, obserwowano limfopenię i ograniczenie warstwy korowej węzłów chłonnych i śledziony [5]. Obecnie uważa się, że główną przyczyną zwiększonej wrażliwości na nadkażenia jest związana z MeV immunosupresja, której przejawami są limfopenia, zahamowanie proliferacji limfocytów obwodowych oraz wspomniane już przesunięcie profilu cytokin w kierunku Th2 [25, 79].

Limfopenia obserwowana w czasie trwania wysypki może być związana z interakcją między wirusem a jego receptorem – cząsteczką CD150/SLAM i aktywowaną w ten sposób apoptozą [64, 92]. Natomiast przyczyn obniżonej proliferacji limfocytów upatruje się w niedostatecznej produkcji IL-2. Dodanie rekombinowanej IL-2 do hodowli limfocytów pobranych od pacjentów chorych na odrę wywołuje spontaniczną proliferację i poprawia odpowiedź na działanie mitogenów [22]. Zahamowanie proliferacji limfocytów T związane jest również z bezpośrednim wpływem białek powierzchniowych wirusa (H i F) na zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G₀/G₁ [25, 80]. Duży wkład w poznanie zjawiska immunosupresji związanej z zakażeniem wirusem odry może wnieść opracowany model zwierzęcy – myszy SLAM *knock-in*, u których jedną z domen cząsteczki SLAM zastąpiono odpowiednią domeną cząsteczki ludzkiej. U zwierząt tych, krzyżowanych z myszami *knock-out* w zakresie genu dla receptora interferonu i zakażanych MeV, obserwowano obecność zjawisk analogicznych do tych występujących u ludzi: limfopenię, zahamowanie proliferacji limfocytów T i produkcji przeciwciał, zwiększoną syntezę IL-4 i IL-10 oraz supresję kontaktowej nadwrażliwości [36].

5.5. Pamięć immunologiczna

Komórki pamięci generowane w wyniku zakażenia posiadają potencjał do wytworzenia silnej reakcji w przypadku ponownego zetknięcia się z patogenem. Populacja limfocytów T pamięci jest heterogenna a różnice dotyczą zarówno fenotypu, funkcji oraz dystrybucji w tkankach. Ponadto komórki te mogą podlegać różnorodnym zmianom w trakcie fazy spoczynkowej [90, 29]. W przebiegu odry, podobnie jak w innych ostrych zakażeniach wirusowych, generowane limfocyty T posiadają silne właściwości efektorowe, dzięki którym następuje eliminacja wirusa. Wytwarzane są również komórki pamięci mające zapewnić długotrwałą ochronę. Odmiennie wygląda to w przypadku zakażeń chronicznych, gdzie limfocyty T tracą swoje efektorowe właściwości przed wytworzeniem komórek pamięci [29]. Opracowanie nowych technik takich jak metoda ograniczonych rozcieńczeń (*Limiting dilution analysis*), ELISPOT (*Enzyme-linked immunospot assay*), technika wewnątrzkomórkowego barwienia cytokin (*Intracellular cytokine staining*) czy metoda tetramerów (*Peptide – MHC class I tetramer staining*) pozwoliło na pełniejsze poznanie procesów związanych z generowaniem pamięci immunologicznej [93, 87]. N a n a n i wsp. [56] opisali metodę ilościowego oznaczania swoistych dla wirusa odry limfocytów T pamięci. W układzie autologicznych komórek: APC (unieśmiertelnione limfocyty B i komórki dendrytyczne zakażone MeV) i PBMC oznaczano populacje limfocytów CD4 i CD8 reagujące syntezą INF γ . Stwierdzono, że liczebności komórek pamięci dla MeV po naturalnym zakażeniu były porównywalne z tymi obserwowanymi dla wirusów wywołujących zakażenia chroniczne i latentne (EBV, CMV, HIV), co potwierdza istnienie długotrwałej pozakaźnej pamięci immunologicznej [56]. Stosując równie czułe metody, O v s y a n n i k o v a i wsp. [65] oceniali zdolność osób w wieku 15–25 lat, seronegatywnych i seropozytywnych w wyniku szczepienia przeciwko odrze, do odpowiedzi na MeV poprzez określenie proliferacji wirusowo-swoistych limfocytów T. Chociaż stwierdzono, że odsetek komórek CD4 jak i CD8 był znacząco niższy u osób seronegatywnych to potwierdzono obecność wirusowo-swoistej odpowiedzi komórkowej będącej wynikiem szczepienia u osób seronegatywnych [65]. Z drugiej strony stwierdzono, że liczba MeV-swoistych poszczepiennych CD4 ulega z czasem obniżeniu, przy niezmiennym poziomie przeciwciał i komórek CD8 [58]. Zaobserwowano również, że osoby po naturalnym zakażeniu wykazują wyższy odsetek MeV-swoistych CD4 w porównaniu z osobami szczepionymi [58]. Biorąc pod uwagę, że komórki CD4 pełnią kluczową rolę w procesie syntezy przeciwciał jak również generowania i podtrzymywania funkcji cytotoksycznych limfo-

cytów CD8 to pozostaje zagadką jak przeciwciała i CD8 są utrzymywane po obniżeniu się liczby limfocytów pamięci CD4 [29].

6. Problemy związane ze szczepieniem przeciwko odrze

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) odra jest jedną z głównych przyczyn zgonów wśród dzieci na świecie. W wyniku wprowadzenia szczepień osiągnięto znaczący spadek liczby przypadków śmiertelnych – o 77% na przestrzeni lat 1999–2008 [95]. Odnotowano również ograniczenie liczby zachorowań. I tak na przykład w Polsce, wprowadzenie szczepień ochronnych skutkowało spadkiem zachorowań o 99,95% w okresie od 1974 do 2002 roku. Sukcesy osiągnięte w wyniku wprowadzenia szczepień leżały u podstaw wdrożenia przez WHO planu strategicznego, który zakładał eliminację zachorowań na odrę w państwach Regionu Europejskiego do roku 2010.

Pomimo spektakularnej poprawy sytuacji epidemiologicznej, epidemie odry w Europie nadal mają miejsce. W latach 2006–2007 odnotowano ponad 12 tysięcy zachorowań, z czego większość (85%) zgłoszeń pochodziła z pięciu państw: Rumunii, Niemiec, Wielkiej Brytanii, Szwajcarii i Włoch [54]. Znacząca większość tych przypadków powodowana była przez rodzime szczepy wirusa odry, natomiast źródłem ponad 60% pozostałych zakażeń były szczepy zawleczone z innych krajów europejskich [4].

Chociaż większość przypadków odry dotyczy osób nieszczepionych, to zachorowania odnotowywane są również wśród osób z udokumentowaną historią szczepień. W 2006 r. w Polsce na 120 zarejestrowanych przypadków, 44 dotyczyło osób szczepionych – 26 jedną dawką i 18 dwiema dawkami [9]. Analizując różnorodne przyczyny nieskuteczności szczepienia nie można jednoznacznie wykluczyć wpływu zmienności wirusa, pomimo, że wirus odry uważany jest za antygenowo stabilny patogen. W latach 2005–2006 w Europie odnotowano krążenie szczepów wirusa należących do 9 różnych genotypów z czego wynika, że różnorodność szczepów izolowanych w Europie jest wysoka.

6.1. Szczepionka przeciwko odrze

Opracowanie żywej atenuowanej szczepionki przeciwko odrze nastąpiło wkrótce po izolacji wirusa. W 1963 r. żywa, atenuowana szczepionka zawierająca szczep Edmonston B uzyskany przez E n d e r s a i wsp. [15] na drodze wielokrotnego pasażowania wirusa odry w różnych hodowlach komórkowych, została zarejestrowana w USA. Podanie tej szczepionki bardzo często jednak wiązało się z wystąpieniem niepożądanych odczynów poszczepiennych – NOPS (wysypka i go-

rażka przekraczająca 39,5°C). Odsetek NOPS malał przy jednoczesnym podaniu małych dawek swoistej immunoglobuliny [37, 38]. W tym samym roku zarejestrowano w USA zabłądzoną szczepionkę przeciwko odrze, którą opracowano na drodze inaktywacji wirusa odrze formaliną [7]. Szczepionka inaktywowana miała jednak liczne wady. U 15% osób przy zetknięciu z dzikim szczepem dochodziło do zakażenia prowadzącego do rozwoju odrze o atypowym przebiegu, który charakteryzował się wyższą i dłużej trwającą gorączką, nietypowymi zmianami skórnymi, zapaleniem płuc o ciężkim przebiegu w porównaniu z odrą u osób nieszczepionych [55]. Uzyskiwana w wyniku szczepienia odporność była krótkotrwała, poziom przeciwciał spadał gwałtownie, a osoby szczepione ponownie stawały się wrażliwe na zakażenie [17, 74]. Wśród wielu hipotez dotyczących wyjaśnienia patogenezy atypowej odrze wymienia się między innymi brak produkcji przeciwciał dla białka fuzyjnego (F), co prowadziło do niekontrolowanego rozprzestrzeniania się wirusa z komórki do komórki pomimo produkcji przeciwciał dla hemaglutyniny (H) [48]. Badania na rebusach wykazały, że szczepionka inaktywowana nie indukowała odpowiedzi ze strony cytotoksycznych komórek T, a syntetyzowane przeciwciała o niskiej awidności nie mogły neutralizować zakażenia dzikim szczepem wirusa odrze [72]. W 1967 r. zaprzestano stosowania tej szczepionki w USA, a potem w Europie [33].

W połowie lat 60-tych w USA, Japonii, Jugosławii, ZSRR i Chinach opracowano nowe szczepy szczepionkowe. Otrzymano je poprzez dalszą atenuację szczepu Edmonston (AIK-C), szczepu Edmonston A (Schwarz) i szczepu Edmonston B (Moraten i Edmonston-Zagreb) lub niezależnych izolatów wirusa odrze: Tanabe (CAM-70), Leningrad (Leningrad-16) i Shanghai (Shanghai-191) [81, 88, 94].

Większość obecnie używanych na świecie szczepionek przeciwko odrze wywodzi się ze szczepu Edmonston, w tym zarejestrowana w 1965 r. szczepionka ze szczepem Schwarz i zarejestrowana w 1968 r. szczepionka ze szczepem Moraten [33, 77]. Stosowane obecnie żywe, atenuowane szczepionki przeciwko odrze należą do szczepionek bezpiecznych. Wirus szczepionkowy nie jest wydalany do środowiska, a NOPS o ile występują, mają łagodny charakter [33]. Oprócz szczepionki monowalentnej w chwili obecnej powszechniej stosuje się szczepionki skojarzone, szczególnie w krajach rozwiniętych, gdzie na stałe zostały one umieszczone w kalendarzu szczepień. Szczepionki skojarzone zawierają oprócz atenuowanego szczepu wirusa odrze, atenuowane szczepy wirusa różyczki i świnki lub wirusa różyczki i ospy wietrznej.

Stosowane schematy szczepień różnią się w poszczególnych krajach. W Polsce po raz pierwszy szczepienia przeciwko odrze wprowadzono w 1974 roku [31, 61]. Zgodnie z obowiązującym kalendarzem szczepień szcze-

pienkę podaje się dzieciom w 13–14 miesiącu życia. Od 1991 r. wprowadzono 2 dawkę szczepionki podawaną dzieciom w wieku 7 lat. W 2005 r. zastąpiono monowalentną szczepionkę przeciwko odrze szczepionką skojarzoną (odra-świnka-różyczka) i przesunięto podanie 2 dawki z 7 na 10 rok życia. Obecnie w ramach Programu Szczepień Ochronnych w Polsce stosowane są wyłącznie szczepionki skojarzone.

Otrzymanie skutecznej i bezpiecznej szczepionki przeciwko odrze nie zakończyło prac nad szczepionkami tzw. „nowej generacji”. Celem tych prac jest wyeliminowanie problemów związanych z obecnie stosowaną szczepionką, takich jak: 1) niska skuteczność u dzieci poniżej 12 miesiąca życia, spowodowana niedojrzałością systemu immunologicznego i interakcją z przeciwciałami matczynymi [18, 91]; 2) obecność tzw. „okienka immunologicznego” czyli wrażliwości na zakażenie wirusem w okresie pomiędzy utratą przeciwciał matczyńskich a nabyciem odporności w wyniku szczepienia [50]; 3) niemożność podania szczepionki osobom z obniżoną odpornością ze względu na wysokie ryzyko powikłań; 4) niski poziom swoistych przeciwciał klasy IgA indukowanych w wyniku podania szczepionki, który nie zabezpiecza przed namnażaniem się dzikiego szczepu wirusa w błonach śluzowych górnych dróg oddechowych; 5) konieczność zachowania łańcucha chłodniczego zarówno przed, jak i po rozpuszczeniu szczepionki (szczepionka atenuowana, szczególnie po rozpuszczeniu traci swoje właściwości immunogenne w podwyższonej temperaturze) [50].

Do tej pory opracowano wiele nowych eksperymentalnych szczepionek różnego typu: szczepionki DNA, tzw. „szczepionki genowe” [35, 67, 68]; szczepionki rekombinowane i pojednostkowe, zawierające np. peptydy z białek H i F [12] lub białko H [96]; szczepionki wektorowe, np. wirus krowianki z ekspresją białek H, F i/lub N wirusa odrze [12]. Opracowanie nowej szczepionki, która nie wymagałaby zachowania tzw. łańcucha chłodniczego, a jej podanie nie wymagałoby igły i strzykawki, oraz która mogłaby być z powodzeniem stosowana u dzieci poniżej 6 miesiąca życia mogłoby usprawnić i wzmocnić kontrolę nad odrą w wielu częściach świata.

6.2. Odpowiedź indukowana w wyniku szczepienia

Odpowiedź immunologiczna po podaniu szczepionki zabitej była inna niż po podaniu szczepionki atenuowanej, ponieważ w procesie inaktywacji ulegała zniszczeniu immunogenność białka fuzyjnego F (patrz 6.1).

Szczepionka atenuowana indukuje zarówno odpowiedź ze strony przeciwciał neutralizujących, jak i odpowiedź komórkową, jakościowo podobną do tej indukowanej w wyniku naturalnego zakażenia, chociaż poziomy wytworzonych przeciwciał są niższe [39, 65],

a odporność jest mniej trwała niż ta uzyskana w wyniku naturalnego zakażenia [52, 53, 73]. Przeciwciała klasy IgM pojawiają się w surowicy osób szczepionych w 2 tygodniu po szczepieniu i utrzymują się do 4 tygodnia, osiągając szczyt w 3 tygodniu. Przeciwciała klasy IgG pojawiają się również w 2 tygodniu, osiągając szczyt w 3–4 tygodniu po szczepieniu, ale poziom ich wraz z upływem czasu ulega obniżeniu [33]. Utrata przeciwciał jest szybsza w przypadku immunizacji później opracowanymi szczepionkami niż w przypadku pierwszych atenuowanych szczepionek przeciwko odrze czy po naturalnym zakażeniu [40]. Również odpowiedź komórkowa indukowana po szczepieniu jest słabiej wyrażona niż ta po naturalnym zakażeniu wirusem odrzy. W pierwszym etapie aktywowane są komórki CD8, ważne dla procesu eliminacji wirusa z organizmu, a następnie komórki CD4, które zanikają z czasem [58]. Istnieje wiele czynników determinujących poszczepienną odpowiedź odpornościową:

- **Wiek osoby szczepionej** – prawdopodobieństwo uzyskania serokonwersji oraz poziom indukowanych przeciwciał są determinowane przez poziom istniejących przeciwciał matczynych i dojrzałość układu odpornościowego dziecka w chwili szczepienia [19, 75]. Wyniki badań przeprowadzonych przez Janaszek i Ślusarczyka [32] sugerują, że poziom przeciwciał przekazywanych przez matkę jest uzależniony od tego w jaki sposób matka uzyskała przeciwciała, tzn. czy w wyniku naturalnego zakażenia wirusem odrzy (matki urodzone przed rokiem 1969) czy w wyniku szczepienia (urodzone po 1975 roku). Poziom przeciwciał u osób szczepionych jest niższy niż u osób, które uzyskały przeciwciała w wyniku naturalnego zakażenia [41]. Niższy poziom przeciwciał przeciwko odrze u kobiet szczepionych ma znaczący wpływ na zanik odporności u nieszczepionych niemowląt [44, 83]. Wynika z tego jeden z problemów związanych ze szczepieniem przeciwko odrze, a mianowicie wysoki odsetek zachorowań wśród niemowląt poniżej pierwszego roku życia. Sytuacja taka miała miejsce w Polsce podczas epidemii w latach 1997–1998, kiedy to zapadalność na odrę wśród dzieci poniżej 1 roku życia była 4,5 razy wyższa niż w populacji ogólnej [32]. Zachorowania wśród małych dzieci są dość niebezpieczne i zwiększają ryzyko rozwoju podostrego stwardniającego zapalenia mózgu w późniejszym okresie życia [1, 49]. Rekomendowany wiek szczepienia różni się regionalnie i jest wynikiem wypracowanej równowagi pomiędzy optymalnym wiekiem dla uzyskania serokonwersji a prawdopodobieństwem zakażenia wirusem odrzy przed okresem szczepienia [8].
- **Droga podania szczepionki** – pozaparenteralne podanie szczepionki (np. donosowo w postaci aerozolu) mogłoby pozwolić na lokalną replikację wirusa szczepionkowego w nabłonku układu oddechowego bez

interakcji z matczynymi przeciwciałami, tym samym stwarzając możliwość obniżenia wieku immunizacji. Stwierdzono, że podanie szczepionki w postaci aerozolu jest skuteczne w podwyższaniu istniejącej odpowiedzi immunologicznej (przeciwciała), stymuluje powstanie przeciwciał wydzielniczych IgA, ale jednocześnie pierwotna odpowiedź immunologiczna na szczepionkę podaną w takiej postaci jest niższa niż po podaniu podskórnym [43, 97, 98].

- **Współistniejące choroby**, np. ostre zachorowania, immunosupresja, choroby wieku dziecięcego, zakażenie HIV, ciężkie upośledzenie odpowiedzi komórkowej. Szczepionka atenuowana nie jest zalecana u osób z niską liczbą komórek CD4 z powodu możliwości rozwinięcia progresywnego zakażenia [3, 21, 85, 86].
- **Cechy osobnicze** – genetyczne uwarunkowania mające wpływ na odpowiedź immunologiczną w zakresie rozpoznawania antygenów przez limfocyty, sygnalizacji międzykomórkowej, produkcji cytokin, procesu przełączania między izotypami przeciwciał [58]. W stosunku do zakażenia wirusem odrzy stwierdzono związek polimorfizmu genów dla HLA, cytokin, receptorów cytokinowych i receptorów komórkowych dla MeV z poziomem wirusowo-swoistych przeciwciał i poziomem limfoproliferacji [11, 65].
- **Dawka** – wielkość i ilość dawek. Skuteczność pojedynczej dawki szczepionki przeciwko odrze u dzieci jest szacowana na 80–95% [19]. Podanie drugiej dawki powoduje znaczny wzrost poziomu przeciwciał IgG (*booster*) przy jednoczesnym braku lub nieznacznej odpowiedzi ze strony przeciwciał IgM [66, 69]. Dwukrotne szczepienie ma na celu zmniejszenie odsetka dzieci nie zaszczepionych oraz osób, u których nie stwierdzono serokonwersji po pierwszym szczepieniu. Badania wykazały, że zapobieganie transmisji endemicznej odrzy nie jest możliwe w krajach, w których w programie szczepień przewidziano tylko jedną dawkę szczepionki, nawet jeżeli wyszczepialność populacji osiągnęłaby 100%. Niski odsetek osób, które pozostają wrażliwe na zakażenie wirusem odrzy (w wyniku niepowodzenia 1 szczepienia) z czasem ulegałby kumulacji [47]. Każda dawka obecnie stosowanych szczepionek zawiera nie mniej niż 1000 dawek zakaźnych (10^3 TCID₅₀) silnie osłabionego wirusa odrzy. Stosowana w przeszłości szczepionka o wysokim mianie ($>10^{4.7}$ TCID₅₀), zawierająca atenuowany szczep Edmonston-Zagreb, charakteryzowała się wysokim odsetkiem uodpornianych niemowląt w wieku 4–6 miesięcy i uzyskała rekomendację WHO do stosowania u dzieci w 6 miesiącu życia lub nieco starszych w tych krajach, gdzie duża liczba zgonów dzieci przed 9 miesiącem życia była związana z odrą. W krótkim okresie zaobserwowano jednak związek pomiędzy immunizacją szczepionką o wysokim mianie a zwiększoną umieralnością wśród szczepionych dzieci na skutek

powszechnie występujących infekcji (malaria, biegunka, zakażenia górnych dróg oddechowych). Zjawisko to tłumaczono immunosupresją powodowaną przez szczepionkę o wysokim mianie [1]. Z tego powodu szczepionka tego typu została zdyskwalifikowana i utraciła rekomendacje WHO.

7. Podsumowanie

Mimo opracowania skutecznej szczepionki przeciwko odrze oraz wdrożenia przez WHO planu eliminacji odry, epidemie nadal zdarzają się w wielu krajach. Niepowodzenie planu zakładającego eliminację do 2010 r. zachorowań na odrę w regionie europejskim ma wiele przyczyn, m.in. związanych z charakterem odpowiedzi immunologicznej na to zakażenie. W październiku 2010 r., organizacja FAO ogłosiła eradykację wirusa księgosusza (*Rinderpest-Virus*) [62]. Jest to wiadomość bardzo znacząca dla powodzenia planu eliminacji wirusa odry, ponieważ wirus księgosusza, podobnie jak wirus odry, należy do rodzaju *Morbillivirus*. Mając na uwadze bliskie pokrewieństwo obu tych wirusów, informacja ta sugeruje, że eliminacja wirusa odry jest również możliwa.

Praca finansowana w ramach projektu MNiSW NN 404 107938

Piśmiennictwo

- Aaby P., Anderson M., Knudsen K.: Excess mortality after early exposure to measles. *Int. J. Epidemiol.* **22**, 156–162 (1993)
- Aaby P., Jensen H., Simondon F., Whittle H.: High-titer measles vaccination before 9 months of age and increased female mortality: do we have an explanation? *Semin. Pediatr. Infect. Dis.* **14**, 220–232 (2003)
- Angel J.B., Walpita P., Lerch R.A., Sidhu M.S., Masurekar M., DeLellis R.A., Noble J.T., Snyderman D.R., Udem S.A.: Vaccine-associated measles pneumonitis in an adult with AIDS. *Ann. Intern. Med.* **129**, 104–106 (1998)
- European Centre for Disease Prevention and Control.: Annual epidemiological report on communicable diseases 2009, ECDC, Stockholm, 2009.
- Beckford A.P., Kaschula R.O., Stephen C.: Factors associated with fatal cases of measles. A retrospective autopsy study. *S. Afr. Med. J.* **68**, 858–863 (1985)
- Burnet F.M.: Measles as an index of immunological function. *Lancet*, **292**, 610–613 (1968)
- Carter C.H., Conway T.J., Cornfeld D., Iezzoni D.G., Kempe C.H., Moscovici C., Rauh L.W., Vignec A.J., Warren J.: Serologic response of children to inactivated measles vaccine. *JAMA*, **179**, 848–853 (1962)
- Cutts F.T., Grabowsky M., Markowitz L.E.: The effect of dose and strain of live attenuated measles vaccines on serological responses in young infants. *Biologicals*, **23**, 95–106 (1995)
- Czarkowski P., Cielebąk E., Dacka P., Kondej B.: Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2006 roku. Wydawnictwo NIZP-PZH, Warszawa, 2007.
- Devaux P., Christiansen D., Plumet S., Gerlier D.: Cell surface activation of the alternative complement pathway by the fusion protein of measles virus. *J. Gen. Virol.* **85**, 1665–1667 (2004)
- Dhiman N., Ovsyannikova I.G., Cunningham J.M., Vierkant R.A., Kennedy R.B., Pankratz V.S., Poland G.A., Jacobson R.M.: Associations between measles vaccine immunity and single-nucleotide polymorphisms in cytokine and cytokine receptor genes. *J. Infect. Dis.* **195**, 21–29 (2007)
- El Kasmi K.C., Muller C.P.: New strategies for closing the gap of measles susceptibility in infants: towards vaccines compatible with current vaccination schedules. *Vaccine*, **19**, 2238–2244 (2001)
- El Mubarak H.S., Ibrahim S.A., Vos H.W., Mukhtar M.M., Mustafa O.A., Wild T.F., Osterhaus A.D., de Swart R.L.: Measles virus protein-specific IgM, IgA, and IgG subclass responses during the acute and convalescent phase of infection. *J. Med. Virol.* **72**, 290–298 (2004)
- Enders J.F., Peebles T.C.: Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **86**, 277–286 (1954)
- Enders J.F.: Measles virus: historical review, isolation and behavior in various systems. *Am. J. Dis. Child.* **103**, 282–287 (1962)
- Erlenhöfer C., Duprex W.P., Rima B.K., ter Meulen V., Schneider-Schaulies J.: Analysis of receptor (CD46, CD150) usage by measles virus. *J. Gen. Virol.* **83**, 1431–1436 (2002)
- Fulginiti V., Kempe C.H.: Measles exposure among vaccine recipients. *Am. J. Dis. Child.* **106**, 62–73 (1963)
- Gans H.A., Arvin A.M., Galinus J., Logan L., DeHovitz R., Maldonado Y.: Deficiency of the humoral immune response to measles vaccine in infants immunized at age 6 months. *JAMA*, **12**, 527–532 (1998)
- Gans H.A., Yasukawa L.L., Alderson A., Rinki M., DeHovitz R., Beeler J., Audet S., Maldonado Y., Arvin A.M.: Humoral and cell-mediated immune responses to an early 2-dose measles vaccination regimen in the United States. *J. Infect. Dis.* **190**, 83–90 (2004)
- Gershon A.A.: Measles Virus (w) Principles and practice of infectious diseases., red. G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005, s. 2031.
- Goon P., Cohen B., Jin L., Watkins R., Tudor-Williams G.: MMR vaccine in HIV-infected children – potential hazards? *Vaccine*, **19**, 3816–3819 (2001)
- Griffin D.E., Moench T.R., Johnson R.T., Lindo de Soriano I., Vaisberg A.: Peripheral blood mononuclear cells during natural measles virus infection: cell surface phenotypes and evidence for activation. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **40**, 305–312 (1986)
- Griffin D.E., Ward B.J., Jauregui E., Johnson R.T., Vaisberg A.: Natural killer cell activity during measles. *Clin. Exp. Immunol.* **81**, 218–224 (1990)
- Griffin D.E.: Measles Virus (w) Fields Virology, red. D.M. Knip, P.M. Howley, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2007, s. 1552.
- Griffin D.E.: Measles virus-induced suppression of immune responses. *Immunol. Rev.* **236**, 176–189 (2010)
- Gringhuis S.I., den Dunnen J., Litjens M., van Het Hof B., van Kooyk Y., Geijtenbeek T.B.: C-type lectin DC-SIGN modulates Toll-like receptor signaling via Raf-1 kinase-dependent acetylation of transcription factor NF-kappaB. *Immunity*, **26**, 605–616 (2007)
- Gut W., Naruszewicz-Lesiuk D.: Analysis of the correlation between measles and subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) before and after introduction of vaccination in Poland. *Przegl. Epidemiol.* **46**, 295–301 (1992)
- Hahm B.: Hostile communication of measles virus with host innate immunity and dendritic cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **330**, 271–287 (2009)
- Halwani R., Doroudchi M., Yassine-Diab B., Janbazian L., Shi Y., Said E.A., Haddad E.K., Sékaly R.P.: Generation and

- maintenance of human memory cells during viral infection. Springer Semin. *Immunopathol.* **28**, 197–208 (2006)
30. Horikami S.M., Moyer S.A.: Structure, transcription, and replication of measles virus (w) Measles virus, red. V. ter Meulen, M.A. Billeter, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest, 1995, s. 35.
 31. Janaszek W., Gut W., Gay N.J.: The epidemiology of measles in Poland: prevalence of measles virus antibodies in the population. *Epidemiol. Infect.* **125**, 385–392 (2000)
 32. Janaszek W., Ślusarczyk J.: Immunity against measles in populations of women and infants in Poland. *Vaccine*, **21**, 2948–2953 (2003)
 33. Janaszek-Seydlitz W.: Szczepionka przeciwko odrze (w) Wакcyнология, red. W. Magdzik, D. Naruszewicz-Lesiuk, A. Zieliński, α-medica press, Bielsko-Biała, 2007, s. 412
 34. Jaye A., Herberts C.A., Jallow S., Atabani S., Klein M.R., Hoogerhout P., Kidd M., van Els C.A., Whittle H.C.: Vigorous but short-term gamma interferon T-cell responses against a dominant HLA-A*02-restricted measles virus epitope in patients with measles. *J. Virol.* **77**, 5014–5016 (2003)
 35. Kaslow D.C.: A potential disruptive technology in vaccine development: gene-based vaccines and their application to infectious diseases. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **98**, 593–601 (2004)
 36. Koga R., Ohno S., Ikegame S., Yanagi Y.: Measles virus-induced immunosuppression in SLAM knock-in mice. *J. Virol.* **84**, 5360–5367 (2010)
 37. Krugman S., Giles J.P., Jacobs A.M., Friedman H.: Studies with live attenuated measles-virus vaccine. Comparative clinical, antigenic, and prophylactic effects after inoculation with and without gamma-globulin. *Am. J. Dis. Child.* **103**, 353–363 (1962)
 38. Krugman S., Giles J.P., Jacobs A.M., Friedman H.: Studies with a further attenuated live measles-virus vaccine. *Pediatrics*, **31**, 919–928 (1963)
 39. Krugman S.: Present status of measles and rubella immunization in the United States: a medical progress report. *J. Pediatr.* **78**, 1–16 (1971)
 40. Krugman S.: Present status of measles and rubella immunization in the United States: a medical progress report. *J. Pediatr.* **90**, 1–12 (1977)
 41. Krugman S.: Further-attenuated measles vaccine: characteristics and use. *Rev. Infect. Dis.* **5**, 477–481 (1983)
 42. Lamb R.A., Griffin D.E.: Paramyxoviridae: the viruses and their replication (w) Fields Virology, red. D.M. Knip, P.M. Howley, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2007, s. 1552.
 43. Low N., Kraemer S., Schneider M., Restrepo A.M.: Immunogenicity and safety of aerosolized measles vaccine: systematic review and meta-analysis. *Vaccine*, **26**, 383–398 (2008)
 44. Maldonado Y.A., Lawrance E.C., de Hovitz R., Hartzell A., Albrecht P.: Early loss passive measles antibody in infants of mothers with vaccine-induced immunity. *Pediatrics*, **96**, 447–450 (1995)
 45. Malvoisin E., Wild F.: Contribution of measles virus fusion protein in protective immunity: anti-F monoclonal antibodies neutralize virus infectivity and protect mice against challenge. *J. Virol.* **64**, 5160–5162 (1990)
 46. Massé N., Barrett T., Muller C.P., Wild T.F., Buckland R.: Identification of a second major site for CD46 binding in the hemagglutinin protein from a laboratory strain of measles virus (MV): potential consequences for wild-type MV infection. *J. Virol.* **76**, 13034–13038 (2002)
 47. Meissner H.C., Strebel P.M., Orenstein W.A.: Measles vaccines and the potential for worldwide eradication of measles. *Pediatrics*, **114**, 1065–1069 (2004)
 48. Merz D.C., Scheid A., Choppin P.W.: Importance of antibodies to the fusion glycoprotein of paramyxoviruses in the prevention of spread of infection. *J. Exp. Med.* **151**, 275–288 (1980)
 49. Miller C., Farrington C.P., Harbert K.: The epidemiology of subacute sclerosing panencephalitis in England and Wales 1970–1989. *Int. J. Epidemiol.* **21**, 998–1006 (1992)
 50. Mitragotri S.: Immunization without needles. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 905–916 (2005)
 51. Moss W.J., Ryon J.J., Monze M., Griffin D., E.: Differential regulation of interleukin (IL)-4, IL-5, and IL-10 during measles in Zambian children. *J. Infect. Dis.* **186**, 879–887 (2002)
 52. Mossong J., Nokes D.J., Edmunds W.J., Cox M.J., Ratnam S., Muller C.P.: Modeling the impact of subclinical measles transmission in vaccinated populations with waning immunity. *Am. J. Epidemiol.* **150**, 1238–1249 (1999)
 53. Mossong J., O'Callaghan C.J., Ratnam S.: Modelling antibody response to measles vaccine and subsequent waning of immunity in a low exposure population. *Vaccine*, **19**, 523–529 (2000)
 54. Muscat M., Bang H., Wohlfahrt J., Glismann S., Mølbak K.: Measles in Europe: an epidemiological assessment. *Lancet*, **373**, 383–389 (2009)
 55. Nader P.R., Horwitz M.S., Rousseau J.: Atypical exanthem following exposure to natural measles: eleven cases in children previously inoculated with killed vaccine. *J. Pediatr.* **72**, 22–28 (1968)
 56. Nanan R., Rauch A., Kämpgen E., Niewiesk S., Kreth H.W.: A novel sensitive approach for frequency analysis of measles virus-specific memory T-lymphocytes in healthy adults with a childhood history of natural measles. *J. Gen. Virol.* **81**, 1313–1319 (2000)
 57. Naniche D., Yeh A., Eto D., Manchester M., Friedman R.M., Oldstone M.B.: Evasion of host defenses by measles virus: wild-type measles virus infection interferes with induction of Alpha/Beta interferon production. *J. Virol.* **74**, 7478–7484 (2000)
 58. Naniche D., Garenne M., Rae C., Manchester M., Buchta R., Brodine S.K., Oldstone M.B.: Decrease in measles virus-specific CD4 T cell memory in vaccinated subjects. *J. Infect. Dis.* **190**, 1387–1395 (2004)
 59. Naniche D.: Human Immunology of Measles Virus Infection. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **330**, 151–171 (2009)
 60. Naruszewicz-Lesiuk D., Iwińska-Buksowicz B., Wiczorkiewicz M., Kulczycki J., Gut W.: Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in Poland in 1996–1999. Phase VII of epidemiologic studies. *Neurol. Neurochir. Pol.* **5**, 877–885 (2000)
 61. Naruszewicz-Lesiuk D.: Odra (w) Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich w XX wieku, red. J. Kostrzewski, W. Magdzik, D. Naruszewicz-Lesiuk, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2001, s. 281.
 62. Normie D.: Rinderpest, deadly for cattle, joins smallpox as vanquished disease. *Science*, **330**, 435 (2010)
 63. Ohga S., Miyazaki C., Okada K., Akazawa K., Ueda K.: The inflammatory cytokines in measles: correlation between serum interferon-gamma levels and lymphocyte subpopulations. *Eur. J. Pediatr.* **151**, 492–496 (1992)
 64. Okada H., Kobune F., Sato T.A., Kohama T., Takeuchi Y., Abe T., Takayama N., Tsuchiya T., Tashiro M.: Extensive lymphopenia due to apoptosis of uninfected lymphocytes in acute measles patients. *Arch. Virol.* **145**, 905–920 (2000)
 65. Ovsyannikova I.G., Dhiman N., Jacobson R.M., Vierkant R.A., Poland G.A.: Frequency of measles virus-specific CD4+ and CD8+ T cells in subjects seronegative or highly seropositive for measles vaccine. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **10**, 411–416 (2003)
 66. Ozanne G., d'Halewyn M.A.: Secondary immune response in a vaccinated population during a large measles epidemic. *J. Clin. Microbiol.* **30**, 1778–1782 (1992)

67. Pan C.H., Nair N., Adams R.J., Zink M.C., Lee E.Y., Polack F.P., Singh M., O'Hagan D.T., Griffin D.E.: Dose-dependent protection against or exacerbation of disease by a polylactide glycolide microparticle-adsorbed, alphavirus-based measles virus DNA vaccine in rhesus macaques. *Clin. Vaccine Immunol.* **15**, 697–706 (2008)
68. Pasetti M.F., Resendiz-Albor A., Ramirez K., Stout R., Papania M., Adams R.J., Polack F.P., Ward B.J., Burt D., Chabot S., Ulmer J., Barry E.M., Levine M.M.: Heterologous prime-boost strategy to immunize very young infants against measles: pre-clinical studies in rhesus macaques. *Clin. Pharmacol. Ther.* **82**, 672–685 (2007)
69. Pebody R.G., Gay N.J., Hesketh L.M., Vyse A., Morgan-Capner P., Brown D.W., Litton P., Miller E.: Immunogenicity of second dose measles-mumps-rubella (MMR) vaccine and implications for serosurveillance. *Vaccine*, **20**, 1134–1140 (2002)
70. Permar S.R., Klumpp S.A., Mansfield K.G., Kim W.K., Gorgone D.A., Lifton M.A., Williams K.C., Schmitz J.E., Reimann K.A., Axthelm M.K., Polack F.P., Griffin D.E., Letvin N.L.: Role of CD8(+) lymphocytes in control and clearance of measles virus infection of rhesus monkeys. *J. Virol.* **77**, 4396–4400 (2003)
71. Petralli J.K., Merigan T.C., Wilbur J.R.: Circulating interferon after measles vaccination. *N. Engl. J. Med.* **273**, 198–201 (1965)
72. Polack F.P., Hoffman S.J., Crujeiras G., Griffin D.E.: A role for nonprotective complement-fixing antibodies with low avidity for measles virus in atypical measles. *Nat. Med.* **9**, 1209–1213 (2003)
73. Pütz M.M., Bouche F.B., de Swart R.L., Muller C.P.: Experimental vaccines against measles in a world of changing epidemiology. *Int. J. Parasitol.* **33**, 525–545 (2003)
74. Rauh L.W., Schmidt R.: Measles immunization with killed virus vaccine. serum antibody titers and experience with exposure to measles epidemic. *Am. J. Dis. Child.* **109**, 232–237 (1965)
75. Redd S.C., King G.E., Heath J.L., Forghani B., Bellini W.J., Markowitz L.E.: Comparison of vaccination with measles-mumps-rubella vaccine at 9, 12, and 15 months of age. *J. Infect. Dis.* **189**, 116–122 (2004)
76. Riddell M.A., Moss W.J., Hauer D., Monze M., Griffin D.E.: Slow clearance of measles virus RNA after acute infection. *J. Clin. Virol.* **39**, 312–317 (2007)
77. Rota J.S., Wang Z.D., Rota P.A., Bellini W.J.: Comparison of sequences of the H, F, and N coding genes of measles virus vaccine strains. *Virus Res.* **31**, 317–330 (1994)
78. Rota P.A., Featherstone D.A., Bellini W.J.: Molecular epidemiology of measles virus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **330**, 129–150 (2009)
79. Schneider-Schaulies S., Schneider-Schaulies J.: Measles virus-induced immunosuppression. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **330**, 243–69 (2009)
80. Schnorr J.J., Seufert M., Schlender J., Borst J., Johnston I.C., ter Meulen V., Schneider-Schaulies S.: Cell cycle arrest rather than apoptosis is associated with measles virus contact-mediated immunosuppression *in vitro*. *J. Gen. Virol.* **78**, 3217–3226 (1997)
81. Schwarz A.J.: Immunization against measles: development and evaluation of a highly attenuated live measles vaccine. *Ann. Paediatr.* **202**, 241–252 (1964)
82. Shiozawa S., Yoshikawa N., Iijima K., Negishi K.: A sensitive radioimmunoassay for circulating alpha-interferon in the plasma of healthy children and patients with measles virus infection. *Clin. Exp. Immunol.* **73**, 366–369 (1988)
83. de Serres G., Joly J.R., Fauvel M., Meyer F., Mâsse B., Boulianne N.: Passive immunity against measles during the first 8 months of life of infants born to vaccinated mothers or to mothers who sustained measles. *Vaccine*, **5**, 620–623 (1997)
84. Sissons J.G., Oldstone M.B., Schreiber R.D.: Antibody-independent activation of the alternative complement pathway by measles virus-infected cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 559–562 (1980)
85. de Swart R.L., Kuiken T., Fernandez-de Castro J., Papania M.J., Bennett J.V., Valdespino J.L., Minor P., Witham C.L., Yüksel S., Vos H., van Amerongen G., Osterhaus A.D.: Aerosol measles vaccination in macaques: preclinical studies of immune responses and safety. *Vaccine*, **24**, 6424–6436 (2006)
86. de Swart R.L., LiCalsi C., Quirk A.V., van Amerongen G., Nodelman V., Alcock R., Yüksel S., Ward G.H., Hardy J.G., Vos H., Witham C.L., Grainger C.I., Kuiken T., Greenspan B.J., Gard T.G., Osterhaus A.D.: Measles vaccination of macaques by dry powder inhalation. *Vaccine*, **25**, 1183–1190 (2007)
87. Turlej E.: Współczesne metody detekcji cytokin – real time PCR, ELISPOT oraz technika wewnątrzkomórkowego barwienia cytokin. *Post. Hig. Med. Dośw.* **63**, 213–224 (2009)
88. Ueda S.: Development of measles vaccines in Japan. *Vaccine*, **27**, 3230–3231 (2009)
89. van Binnendijk R.S., van den Hof S., van den Kerkhof H., Kohl R.H., Woonink F., Berbers G.A., Conyn-van Spaendonck M.A., Kimman T.G.: Evaluation of serological and virological tests in the diagnosis of clinical and subclinical measles virus infections during an outbreak of measles in The Netherlands. *J. Infect. Dis.* **188**, 898–903 (2003)
90. Verhoeven D., Teijaro J.R., Farber D.L.: Heterogeneous memory T cells in antiviral immunity and immunopathology. *Viral Immunol.* **21**, 99–113 (2008)
91. de Vries R.D., Stittelaar K.J., Osterhaus A.D., de Swart R.L.: Measles vaccination: new strategies and formulations. *Expert. Rev. Vaccines*, **7**, 1215–1223 (2008)
92. Vuorinen T., Peri P., Vainionpää R.: Measles virus induces apoptosis in uninfected bystander T cells and leads to granulocyte B and caspase activation in peripheral blood mononuclear cell cultures. *Eur. J. Clin. Invest.* **33**, 434–442 (2003)
93. Walker J.M., Slifka M.K.: Longevity of T-cell memory following acute viral infection. *Adv. Exp. Med. Biol.* **684**, 96–107 (2010)
94. World Health Organization: Module 7: Measles (w) Global Programme for Vaccines and Immunization. Expanded Programme on Immunization. The Immunological Basis for Immunization Series, WHO, Geneva 1993.
95. World Health Organization: Global reductions in measles mortality 2000–2008 and the risk of measles resurgence. *Weekly Epidemiol. Record*, **84**, 505–516 (2009)
96. Webster D.E., Cooney M.L., Huang Z., Drew D.R., Ramshaw I.A., Dry I.B., Strugnell R.A., Martin J.L., Wesselingh S.L.: Successful boosting of a DNA measles immunization with an oral plant-derived measles virus vaccine. *J. Virol.* **76**, 7910–7912 (2002)
97. Wong-Chew R.M., Islas-Romero R., García-García M. de L., Beeler J.A., Audet S., Santos-Preciado J.I., Gans H., Lew-Yasukawa L., Maldonado Y.A., Arvin A.M., Valdespino-Gómez J.L.: Induction of cellular and humoral immunity after aerosol or subcutaneous administration of Edmonston-Zagreb measles vaccine as a primary dose to 12-month-old children. *J. Infect. Dis.* **189**, 254–257 (2004)
98. Wong-Chew R.M., Islas-Romero R., García-García M. de L., Beeler J.A., Audet S., Santos-Preciado J.I., Gans H., Lew-Yasukawa L., Maldonado Y.A., Arvin A.M., Valdespino-Gómez J.L.: Immunogenicity of aerosol measles vaccine given as the primary measles immunization to nine-month-old Mexican children. *Vaccine*, **24**, 683–690 (2006)
99. Yanagi Y., Ono N., Tatsuo H., Hashimoto K., Minagawa H.: Measles virus receptor SLAM (CD150). *Virology*, **299**, 155–161 (2002)
100. Yanagi Y., Takeda M., Ohno S., Seki F.: Measles virus receptors and tropism. *Jpn. J. Infect. Dis.* **95**, 1–5 (2006)