

Łukasz Kuryk^{1*}, Magdalena Wiczorek¹, Bogumiła Litwińska¹

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

Wpłynęło w styczniu 2013 r.

1. Wstęp. 2. Rys historyczny. 3. Budowa. 3.1. Genom. 3.2. Kapsyd. 4. Namnażanie wirusa polio. 4.1. Wniknięcie do komórki. 4.2. Synteza białek wirusowych. 4.3. Replikacja RNA. 5. Przebieg zakażenia wirusem polio. 6. Neurowirulencja. 7. Tropizm tkankowy wirusa polio. 8. Szczepionki przeciwko wirusowi polio. 9. Program eradykacji *poliomyelitis*. 10. Podsumowanie

Polio – a mysterious virus

Abstract: Poliovirus is a very small virus; single stranded RNA of positive polarity constitutes its genetic material. It belongs to the *Picornaviridae* family and may cause the development of poliomyelitis (viral inflammation of the anterior horn of the spinal cord). At the beginning of the twentieth century, the epidemics of polio were very frequent and this fact caused an increased interest in this virus. At present, there are two types of polio virus vaccines: OPV (oral polio vaccine), which contains three serotypes of live attenuated virus and inactivated vaccine IPV (inactivated polio vaccine) containing inactive virus particles. In 1988, the World Health Organization (WHO) introduced the program of global eradication of wild-type polio virus around the world (Global Polio Eradication Initiative). The outbreaks of wild-type polio still occur in Asia and Africa. Possibility of reversion of vaccine strains of polio virus to wild type carries the fear of re-transmission of the pathogen. It is the most intensively studied enterovirus, but still remains a puzzle.

1. Introduction. 2. Historical background. 3. Structure. 3.1. Genome. 3.2. Capsid. 4. Cellular life cycle of poliovirus. 4.1. Cell entry. 4.2. Synthesis of viral proteins. 4.3. RNA Replication. 5. Poliovirus pathogenesis. 6. Neurovirulence. 7. Poliovirus tissue tropism. 8. Vaccines against poliovirus. 9. The polio eradication initiative. 10. Summary

Słowa kluczowe: eradykacja, neurowirulencja, szczepionki przeciwko polio, wirus polio

Key words: eradication, neurovirulence, vaccines against poliovirus, poliovirus

1. Wstęp

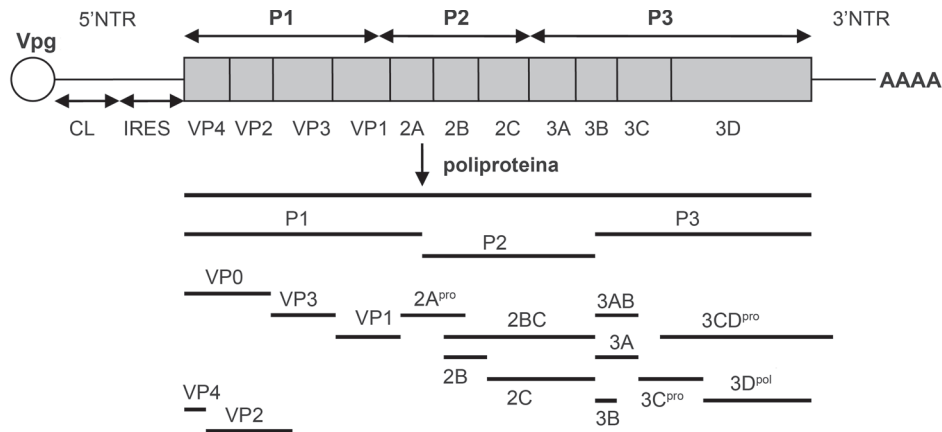
Wirus polio należy do rodziny *Picornaviridae*, jest bardzo małym wirusem, którego materiałem genetycznym jest pojedyncza nić RNA. Jest czynnikiem etiologicznym *poliomyelitis*, synonimy tej choroby to: nagminne porażenie dziecięce, wirusowe zapalenia rogów przednich rdzenia kręgowego, choroba Heinego-Medina. *Poliomyelitis* znane było już w czasach starożytnych, świadczy o tym staroegipski nagrobek, datowany na 1400 lat p.n.e., przedstawiający mężczyznę ze stopą zniekształconą w sposób typowy dla postaci porażonej. Dopiero w początkach XX wieku, kiedy miały miejsce bardzo liczne epidemie *poliomyelitis*, wyraźnie wzrosło zainteresowanie tym wirusem. Efektem badań naukowych było wynalezienie szczepionki przeciw wirusowi polio. Dzięki tej szczepionce *poliomyelitis* można było objąć ogólnosiątkowym programem eradykacji prowadzonym przez WHO.

Mimo, iż minęło już ponad 100 lat od ustalenia, że wirus jest czynnikiem etiologicznym *poliomyelitis* w dalszym ciągu pozostaje wiele pytań bez odpowiedzi na temat patogenności wirusa polio. Zdobyta wiedza i tysiące przeprowadzonych badań nie są w stanie w pełni wyjaśnić mechanizmów rozwoju choroby.

2. Rys historyczny

Pierwszy opis kliniczny *poliomyelitis* przedstawił Anglik – Underwood w 1793 roku, a szczegółowy obraz choroby Niemiec – Heine w 1840 roku. W tamtych czasach była to sporadycznie występująca choroba, miały miejsce tylko niewielkie ogniska epidemiczne [58]. Natomiast początek wieku XX przyniósł epidemię *poliomyelitis*, która miała swój początek w USA i Europie. Wybuch epidemii był wielkim zaskoczeniem dla środowisk medycznych, które traktowały tę chorobę jako rzadkość [71]. W 1908 roku, austriaccy uczeni Karl Landsteiner i Erwin Popper pobrali materiał od chorego na *poliomyelitis*, i po przesączeniu przez filtr wstrzyknęli dootrzewnowo małpie, u której rozwinęły się charakterystyczne objawy choroby. W ten sposób udowodnili, że *poliomyelitis* jest chorobą wirusową. Badania nad tym wirusem prowadzone przez kolejne 40 lat przyczyniły się do poznania patogenności, immunogenności i antygenowości szczepów, co zaowocowało opracowaniem dwóch efektywnych szczepionek. Konsekwencją wprowadzenia wspomnianych szczepionek w latach 60 było zaprzestanie badań nad patogennością [41, 72]. Badania skupiły się na biologii molekularnej, strukturze oraz nastąpił rozkwit badań nad genetyką wirusa

* Autor korespondencyjny: Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Chocimska 24, 00-791 Warszawa; lkuryk@pzh.gov.pl



Rys. 1. Struktura genomu wirusa polio oraz potranslacyjna obróbka proteolityczna białek

polio. Identyfikacja receptora komórkowego CD155, który umożliwia wirusowi polio wniknięcie do komórki, przyczyniła się do wyprowadzenia transgenicznych myszy wrażliwych na zakażenie wirusem polio i spowodowała wznowienie badań nad patogennością wirusa. Badania dotyczące etiopatogenezy *poliomyelitis* są intensywnie prowadzone na całym świecie w związku z tym, że światowy program eradykacji *poliomyelitis* jest bardzo zaawansowany i zmierza ku zakończeniu [58, 71].

3. Budowa

3.1. Genom

Genom wirusa polio stanowi pojedyncza nić RNA o dodatniej polarności, składająca się z około 7440 nukleotydów. Małe wirusowe białko, VPg jest kowalencyjnie związane z końcem 5' nici RNA. Koniec ten – 5' NTR zbudowany jest z 742 nukleotydów [17, 38, 70], pierwsze 88 nukleotydy tworzą drugorzędową strukturę liścia koniczyny (clover leaf), która uczestniczy w inicjacji kompleksu replikacyjnego podczas syntezy dodatkowej

nici RNA [3, 75]. Najważniejszą strukturą końca 5' jest jednak struktura IRES (internal ribosomal entry site), tzw. wewnętrzne miejsce replikacji. Inicjacja translacji z udziałem IRES ma inny przebieg niż inicjacja zachodząca przez kap-zależny system. IRES poprzedza otwartą ramkę odczytu (open reading frame, ORF) [34, 56], kodującą poliproteinę budowaną przez 2209 aminokwasów [17, 38, 70]. Poliproteina podlega obróbce proteolitycznej przez proteiny 2A^{pro} i 3C^{pro}/3CD^{pro} [43]. Region genomu ulegający procesowi translacji (ORF) koduje białka strukturalne (P1) oraz niestrukturalne (P2 i P3) (Rys. 1). Końcowy odcinek genomu wirusa polio to region 3' NTR, zawiera on 70 nukleotydów i jest zakończony sekwencją poli(A), która bierze czynny udział w replikacji RNA [58].

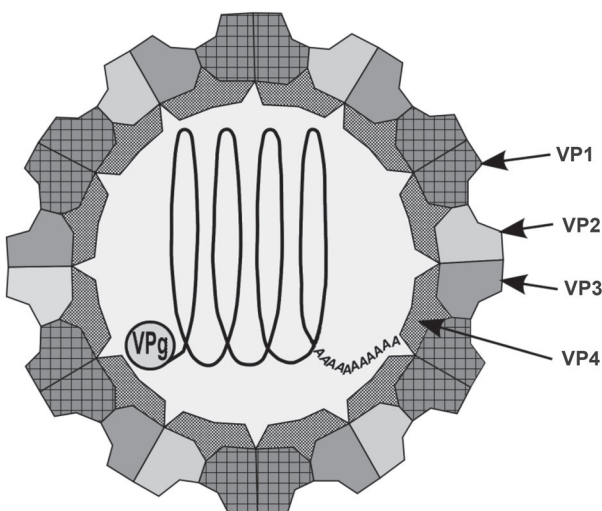
3.2. Kapsyd

Genom wirusa polio zamknięty jest w ikosaedralnym kapsydie składającym się z 60 protomerów tworzonym przez białka strukturalne (VP1, VP2, VP3 i VP4) kodowane w regionie P1. Monomery VP1, VP2 i VP3 występują na powierzchni ikosaedralnego kapsydu, podczas gdy VP4 po jego wewnętrznej stronie (Rys. 2). W kapsydie wirusa polio występuje wąskie wklęsnięcie powierzchni każdej trójkątnej ściany określane mianem kanionu, utworzone przez stykające się ze sobą monomery. Struktura kanionu jest miejscem wiązania receptora komórkowego CD155. Taki typ wiązania pozwala wirusowi unikać działania układu odpornościowego, ponieważ cząsteczki immunoglobuliny są zbyt duże i nie mogą penetrować do wnętrza kanionu [58, 81].

4. Namnażanie wirusa polio

4.1. Wniknięcie do komórki

Wirus polio swoiście przyłącza się do powierzchni wrażliwej komórki gospodarza za pośrednictwem receptora CD155 [40, 54, 80]. CD155 jest transbł-



Rys. 2. Schemat budowy cząsteczki wirusa polio (objaśnienia w tekście)

nową glikoproteiną składającą się z trzech zewnątrzkomórkowych domen: D1-D3 [59]. CD155 pośredniczy w adhezji komórki do zewnątrzkomórkowego matriksu. Wewnątrzkomórkowa C-terminalna domena ma powinowactwo do Tctex-1, podjednostki kompleksu motorycznego dyneiny [64]. Część wirusa, a dokładnie kanion obecny w strukturze kapsydu, łączy się z częścią N-końcową domeny glikoproteiny, co prowadzi do usunięcia reszty lipidowej z kieszonki tworzonej przez VP1. Następstwem tego procesu jest destabilizacja cząstki wirusowej, rozluźnienie jej struktury. Następuje otwarcie kanału przez który białko VP4 wychodzi z kapsydu, ostatecznie zostaje uwolniony kwas nukleinowy [31]. Następnie materiał genetyczny wirusa wnika do wnętrza komórki (cytoplazmy) gdzie ulega translacji i replikacji [5, 14, 28, 48].

Istnieje kilka teorii tłumaczących mechanizm transportu RNA do wnętrza komórki. Jedną z nich zakłada, iż po związaniu się cząstki wirusa z receptorem CD155, dochodzi do formowania cząsteczki 135S zwanej cząstką A [16, 19], która nabywa właściwości hydrofobowe, charakteryzuje się ona brakiem białka VP4. Dochodzi do wzajemnych oddziaływań receptor – cząstka A, co prowadzi do powstania porów na powierzchni błony komórkowej, przez które jest wstrzykiwany RNA wirusa do cytoplazmy [23, 58]. Inna teoria zakłada wnikanie materiału genetycznego wirusa polio za pomocą endocytozy; potwierdzają to doświadczenia w których wirusa polio znajdowano w endosomach, jednakże potencjalny mechanizm tego transportu nie został wyjaśniony [44, 63].

4.2. Synteza białek wirusowych

Następstwem zakażenia komórki wirusem polio jest wniknięcie jego materiału genetycznego do cytoplazmy, który funkcjonuje jako mRNA i podlega translacji, w wyniku której powstaje poliproteina. Następnie poliproteina ulega proteolitycznemu cięciu, którego produkty funkcjonują jako prekursor białek kapsydu i białek replikacyjnych [89]. Proces ten przeprowadzają trzy proteazy: $2A^{pro}$ i $3C^{pro}/3CD^{pro}$ [47]. Obróbka poliproteiny przebiega w trzech etapach. Na początku proteaza $2A^{pro}$ przeprowadza cięcie na własnym końcu aminowym, w wyniku którego uwalniany jest prekursor kapsydu P1. W drugim etapie w wyniku cięcia *cis* przeprowadzonego przez proteazę $3CD^{pro}$ dochodzi do rozszczepienia P3 od kompleksu białka [47]. Na tym etapie powstają również białka strukturalne VP0, VP1 i VP3 oraz niestrukturalne 2A, 2BC, 3AB, 2B, 2C, 3A, 3B (VPg), $3C^{pro}$, $3D^{pol}$ w wyniku cięcia *trans* białek prekursorowych przez $3CD^{pro}$. Ostatnie cięcie proteolityczne ma miejsce w czasie dojrzewania cząstek wirusowych, już po zapakowaniu kwasu nukleinowego do kapsydu, w wyniku autokatalitycznego cięcia VP0 powstaje VP4 i VP2 [4] (Rys. 1).

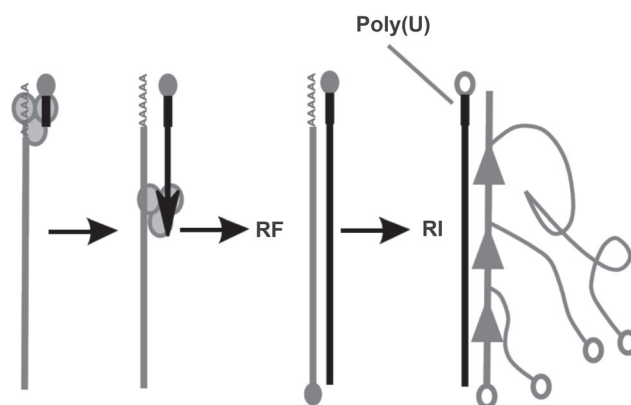
Ważne jest to, że wirusowe proteazy $2A^{pro}$ i $3C^{pro}$ hamują funkcje komórki gospodarza. $2A^{pro}$ trawi p220, komponentę kompleksu eIF-4E, w wyniku czego dochodzi do inaktywacji kap-zależnej translacji komórkowej [42, 82]. Z kolei $3C^{pro}$ unieczynnia czynnik transkrypcyjny TFIIC i tnie białko wiążące sekwencję TATA (TBP, TATA-binding protein) [90], co prowadzi do całkowitego zahamowania syntezy białek komórkowych.

4.3. Replikacja RNA

Uproszczony schemat procesu replikacji wirusowego RNA przedstawia się następująco (Rys. 3):

Wirusowe, jednoniciowe (+) RNA → synteza jednoniciowego (-) RNA → RF (replikacyjna forma dwuniciowego RNA) → synteza jednoniciowego (+) RNA → RI (forma pośrednia RNA) → jednoniciowy (+) RNA. [89]

Liczne badania mutacji i badania genetyczne wykazują, iż białka niestrukturalne wirusa polio są zaangażowane w proces replikacji RNA [67]. Najważniejszą funkcję w tym procesie pełni jednak RNA zależna polimeraza RNA $3D^{pol}$. Enzym ten katalizuje syntezę nici (-) oraz (+) kwasu rybonukleinowego. Polimeraza RNA posiada dwie aktywności katalityczne [20]. Po pierwsze katalizuje syntezę nici na podstawie komplementarnej matrycy oraz dokonuje addycji reszt urydyny do VPg (VPg-pU-pU). Urydylowane VPg (3B) służy jako białkowy starter w replikacji wirusowego RNA. Od dawna postulowano, iż urydylacja VPg ma miejsce tylko na ogonku poly(A) nici o dodatniej polarności, jednakże brakowało jednoznacznych dowodów potwierdzających tą hipotezę. Dużym przełomem w zrozumieniu tego procesu było odkrycie wewnętrznej struktury RNA o strukturze szpilki do włosów, zwanej inaczej elementem cre (cis-replicating element) [51, 52]. Sekwencja cre u wirusa polio zlokalizowana jest w kodującym regionie 2C [25]. Wzór urydylacji VPg jest warunkowany konserwatywną sekwencją GXXXAAACXXXXXA [68, 69, 74, 93] zawartą w pętli struktury szpilki do włosów i jest regulowany przez proteinazę $3CD^{pro}$ [68, 69].



Rys. 3. Schemat replikacji materiału genetycznego wirusa polio (objaśnienia w tekście)

Paradoksalnie, urydylacja i synteza nici (-) wymagają nieuszkodzonej struktury liścia kończyny na 5' końcu [50]. Struktura ta oddziałuje z 3' poli(A) końcem w momencie zakończenia procesu translacji i rozpoczęcia syntezy nici (-). W wyniku czego powstaje kołowa cząsteczka genomu. Mechanizm ten pozwala na replikację tylko cząsteczek o pełnej długości [30].

W komórkach zakażonych wirusem polio jest około 50 razy więcej (+) RNA aniżeli nici o ujemnej polarności [58]. Replikacja przebiega w cytoplazmie (struktura rozety membrano-podobnej pochodzącej z retikulum endocytoplazmatycznego) i jest indukowana za pomocą wirusowych białek 2C i 2BC [6, 12, 85]. Hydrofobowa domena 3AB kotwaczy białko w strukturze błonowej a dzięki powinowactwu 3AB do 3D^{pol} i 3CD^{pro}, tworzy się kompleks replikacyjny. Sam proces replikacji przeprowadza RNA zależna polimeraza RNA 3D^{pol} [31].

Składanie i dojrzewanie cząstek wirusa polio jest słabo poznane. W genomie wirusa polio nie zidentyfikowano sygnału odpowiedzialnego za pakowanie RNA do kapsydu.

Cykl komórkowy wirusa jest bardzo szybki i wydajny, powoduje śmierć komórek gospodarza w ciągu 7–8 godzin od momentu zakażenia. Cykl replikacyjny jest cyklem litycznym, jednakże znane są przypadki zakażenia przewlekłego bez wywoływania lizy komórek gospodarza [13].

Badania *in vivo* wykazały, że zakażenie wirusem polio może prowadzić do apoptozy. Przypuszczalnym celem programowej śmierci komórek jest limitowanie namnażania i rozprzestrzeniania się wirusa. Proces ten jest stymulowany przez samego wirusa, bowiem aktywatorem apoptozy są wirusowe proteiny 2A^{pro} i 3C^{pro} [2]. Z drugiej strony wirus polio może również być inhibitorem apoptozy, co potwierdziły badania z udziałem 2B/2BC, 2C^{ATPaza} i 3A, które znoszą apoptozę. Świadczy to, iż funkcje proapoptotyczne i antyapoptotyczne wirusa polio koegzystują ze sobą podczas zakażenia, co wydaje się bardzo ważnym elementem w procesie patogenezy [2, 58].

5. Przebieg zakażenia wirusem polio

Wrota zakażenia stanowi jama ustna. Po wnikięciu poliowirusy namnażają się w tkance limfatycznej gardła i układu pokarmowego [8, 78]. Okres inkubacji na ogół trwa od 7 do 14 dni, ale obserwowano przypadki w których wynosił od 2 do 35 dni. Precyzyjne miejsce i typ komórek wykorzystywanych przez wirusa do replikacji nie jest do końca poznany i określony. Wirus polio był izolowany z tkanek limfatycznych układu pokarmowego, takich jak migdałki, kępkki Peyera znajdujące się w błonie śluzowej i podśluzowej jelita cienkiego oraz z jelita krętego i krezkowych węzłów chłonnych [8, 10, 53, 77, 78].

U większości osób zakażonych wirusem polio pojawia się przemijająca wiremia. Wirus rozprzestrzenia się do tkanek siateczkowo-śródbłonkowych nie wywołując objawów klinicznych. U 4–8% zakażonych osób dochodzi do pojawienia się symptomów chorobowych określanych jako „minor illness”, wlicza się do nich gorączkę, ból głowy i gardła (tzw. postać poronna) [8, 53, 78]. Wirus namnaża się w jelicie człowieka i jest wydalany z kałem, niosąc ryzyko transmisji patogenu.

6. Neurowirulencja

W bardzo rzadkich przypadkach, u około 1–2% zakażonych osób, dochodzi do rozwoju *poliomyelitis*. Wówczas wirus polio atakuje układ nerwowy, replikując się w neuronach w obrębie rdzenia kręgowego, pnia mózgu lub kory mózgowej [71]. Rozwój objawów w obrębie OUN (ośrodkowy układ nerwowy) może być potraktowany jako „wypadek” podczas zakażenia, gdyż nie przynosi żadnych zysków dla wirusa oraz komórki nerwowe nie są wymagane do replikacji wirusa polio. Molekularny mechanizm tego procesu do dnia dzisiejszego nie został wyjaśniony. Nie udało się poznać i zrozumieć przebiegu oraz rozwoju *poliomyelitis* w OUN. Wiedza dotycząca patogenności wirusa polio opiera się na badaniach przeprowadzonych na modelach mysich oraz na naczelnych (od 1941 r. – do dzisiaj) i w dalszym ciągu nie wyjaśnia rozwoju i przebiegu patogenezy u ludzi [9, 15, 18, 29, 32, 33, 35, 36, 40, 41, 77, 79, 87].

Poliomyelitis powoduje selektywną destrukcję neuronów ruchowych, prowadząc do paraliżu, a w niektórych przypadkach do zatrzymania oddychania i śmierci [92].

Dominują dwie teorie tłumaczące mechanizm transportu wirusa polio do OUN. Pierwsza z nich zakłada, że cząsteczki zakaźne wirusa przekraczają barierę krew-mózg, niezależnie od receptorów swoistych dla wirusa polio [2, 58, 92]. Druga hipoteza poparta badaniami na myszach CD155 tg [27, 66, 73] mówi, że wirus jest transportowany z mięśni do rdzenia kręgowego i mózgu na zasadzie wstecznego transportu aksonalnego. Według tej teorii receptory dla wirusa polio zlokalizowane są u ludzi na powierzchni synaps. Wirus polio łączy się z receptorem, którego cytoplazmatyczna domena oddziałuje z białkami motorycznymi – dyneinami. Następnie patogen wnika do wnętrza aksonu na zasadzie endocytozy i cząsteczki wirusa są transportowane wzdłuż mikrotubul przez akson do ciała komórki nerwowej, gdzie dochodzi do odpłaszczenia i replikacji. W obu teoriach warunkiem przedostania się wirusa do układu nerwowego jest obecność wirusa we krwi (wiremia). Wykazano możliwość replikacji wirusa polio w komórkach krwi (monocytach) co może mieć znaczenie w procesie krążenia wirusa w organizmie oraz jego transportu do OUN [22, 71].

Istotne dowody na przedostawanie się wirusa do OUN uzyskano na podstawie licznych badań i obserwacji przeprowadzonych u ludzi i u małp. Wykazano, iż inokulacja wirusa polio do nerwu kulszowego u małp prowadzi do rozprzestrzeniania się wirusa wzdłuż włókien nerwowych w nerwach obwodowych i rdzeniu kręgowym. Co więcej, w wyniku inokulacji domięśniowej dochodzi u małp do porażenia w pierwszej kolejności tej kończyny, do której wstrzyknięto patogen, po czym wirus przedostaje się do rdzenia kręgowego [58]. U dzieci, które zostały zaszczepione w 1943 roku niecałkowicie inaktywowaną szczepionką przeciwko wirusowi polio (wypadek Cuttera), obserwowano również porażenie zaszczepionych kończyn [59]. Dowody na neuronalne rozprzestrzenianie się wirusa pochodzą także z eksperymentów na transgenicznym myszom CD 155 [27]. Potwierdzono, iż po zakażeniu wirusem w pierwszej kolejności dochodzi zawsze do porażenia kończyny, do której drogą iniekcji wprowadzano wirusa.

Co ciekawe wykazano, że uszkodzone mięśnie są czynnikiem predysponującym do wystąpienia *poliomyelitis*, co zostało zaobserwowane między innymi w Rumuni [84]. Doświadczalnie zjawisko to odtworzono na transgenicznym myszom, wywołując *poliomyelitis* (provocation *poliomyelitis*). Ustalono, że uszkodzone mięśnie szkieletowe stymulują aksonalny transport wirusa do rdzenia kręgowego [84]. Mechanizmu tego procesu nie udało się do końca wyjaśnić, ale pewnych wskazówek dotyczących możliwości przemieszczania się wirusa polio w układzie nerwowym dostarczyło odkrycie mówiące, iż cytoplazmatyczna domena CD155 łączy się z Tctex-1 [57]. Odkrycie to sugeruje hipotezę aksonalnego transportu wirusa polio. Zgodnie z jej założeniem w miejscu połączenia mięśni i neuronu ruchowego cząsteczka wirusa polio (160S) łączy się z domeną CD155, po czym wnika do wnętrza neuronu na zasadzie endocytozy. Pęcherzyki transportujące wirusa polio są związane z Tctex-1 poprzez domenę CD155, która pozostaje na zewnątrz pęcherzyka. Po dostarczeniu cząsteczki wirusa do wnętrza komórki nerwowej następuje uwolnienie wirusowego RNA i rozpoczęcie procesu replikacji [58].

7. Tropizm tkankowy wirusa polio

Wirus polio zakaża tylko określone komórki oraz tkanki i jedynie w momencie wirerii znajduje się w wielu różnych organach [7, 78]. Przez wiele lat uważano, że tropizm wirusa związany jest z obecnością swoistego receptora komórkowego. Po odkryciu, że CD155 jest receptorem dla wirusa polio okazało się, że ulega on ekspresji w wielu tkankach, także tych, które nie ulegają zakażeniu. Wysłunięto wnioski, że obecność receptora CD155 na powierzchni komórki, czyni ją wrażliwą na

zakażenie wirusem polio, a tropizm tkankowy wiąże się z późniejszym etapem zakażenia [21, 39, 54]. Sugerowano, że tropizm tkankowy wirusa polio jest uzależniony od różnic w procesie translacji zależnym od IRES w różnych typach komórek, ale hipoteza ta nie została potwierdzona [11, 26, 64, 65, 91].

Tropizm tkankowy wielu wirusów regulowany jest poprzez wczesną odpowiedź immunologiczną związaną z syntezą interferonu alfa/beta (IFN α/β) [24, 76]. Podobne obserwacje poczyniono dla wirusa polio. Zakażenie wirusem polio myszy transgenicznym z ludzkim receptorem CD155, ale nie posiadającym receptora dla IFN α/β umożliwiło replikację wirusa nie tylko w OUN, ale także w wątrobie, śledzionie oraz trzustce. CD155 ulega ekspresji we wszystkich wymienionych organach, ale wirus polio ulega replikacji tylko w mózgu i rdzeniu kręgowym myszy, które posiadają receptor dla IFN α/β . Zakażenie wirusem polio myszy transgenicznym CD155 prowadzi do silnej ekspresji genów stymulowanych obecnością IFN (ISG – IFN-stimulated genes) w tkankach, które nie są zazwyczaj miejscem replikacji wirusa polio. W przeciwieństwie do niewielkiej ekspresji ISG w mózgu i rdzeniu kręgowym, w czasie zakażenia. Może to sugerować, że IFN α/β warunkuje tropizm tkankowy wirusa polio u transgenicznym myszy CD155 i warunkuje ochronę wrażliwych organów takich jak śledziona czy wątroba [71].

Identyfikacja IFN α/β jako czynnika warunkującego tropizm tkankowy wirusa polio spowodowała pojawienie się spekulacji na temat mechanizmów patogenez. Po namnożeniu wirusa w tkance limfatycznej układu pokarmowego, następuje etap wirerii kiedy wirus wraz z krwią roznoszony jest po całym organizmie i trafia do różnych organów. Przypuszcza się, że wymagana jest replikacja wirusa w pewnych tkankach by wirus mógł dostać się do ośrodkowego układu nerwowego. W przypadku 99% zakażeń wczesna odpowiedź związana z syntezą IFN α/β hamuje replikację wirusa i tym samym przeciwdziała przedostaniu się wirusa do układu nerwowego. W 1–2% przypadków, w których po zakażeniu występują porażenia, odpowiedź związana z syntezą IFN α/β , jest defektywna, co prowadzi do wzmożonej replikacji wirusa oraz do inwazji układu nerwowego [71].

Doświadczenie na transgenicznym myszom CD155, wskazujące na IFN α/β jako czynnik limitujący zakażenie wirusem polio, jest mocno zaskakujące biorąc pod uwagę, że w czasie zakażenia w komórce dochodzi do zahamowania: kap-zależnej translacji, DNA-zależnej syntezy RNA, sekrecji białek komórkowych, transportu jądrowego oraz supresji odpowiedzi związanej z NF- κ B [60]. Biorąc pod uwagę jak wirus polio wpływa na metabolizm komórki trudno sobie wyobrazić, że IFN α/β jest w stanie zahamować rozwój zakażenia, tym bardziej, że działanie interferonu oparte jest na działaniu szlaków komórkowych hamowanych przez wirusa polio. Co

więcej, replikacja wirusa w hodowlach komórkowych nie jest hamowana przez IFN α/β , ale trudno odnosić doświadczenia prowadzone *in vitro* w hodowlach komórkowych do tak złożonego układu jakim jest organizm człowieka [71].

8. Szczepionki przeciwko polio

Najskuteczniejszym sposobem zapobiegania zakażeniom wirusem polio są szczepienia ochronne. W chwili obecnej dostępne są dwa rodzaje szczepionek: szczepionka OPV (oral polio vaccine) w skład której wchodzi żywe, atenuowane trzy serotypy wirusa oraz szczepionka inaktywowana IPV (inactivated polio vaccine) zawierająca nieaktywne cząsteczki wirusa typu 1, 2 i 3 [71].

Szczepionka IPV została opracowana przez Joansa Salka w połowie lat pięćdziesiątych w Stanach Zjednoczonych. Trzy serotypy wirusa polio zostały poddane działaniu formaliny, co skutecznie zniósło zjadliwość bez wpływania na ich właściwości antygenowe. Pierwsza licencja na wspomnianą szczepionkę została wydana w USA w 1955 roku, redukując liczbę zakażeń o ok. 99%. Skuteczność szczepionki została przetestowana w Skandynawii oraz Holandii. Pojawiły się jednakże obawy związane ze stosowaniem szczepionki IPV. Nasunęły się pytania, czy zabita szczepionka będzie skuteczna w rejonach mniej rozwiniętych o większej ekspozycji na dziki wirus polio. Wówczas zrodziły się pomysły na opracowanie żywej, atenuowanej szczepionki, która stymulowałaby miejscową syntezę przeciwciał IgA w układzie pokarmowym i tym samym wywoływałaby wyższą odporność u zaszczepionych osób. Szczepionka OPV została opracowana przez Alberta Sabiną i wprowadzona do użycia we wczesnych latach 60. Skuteczność szczepionki sprawdziła się i przyczyniła do zahamowania epidemii *poliomyelitis* i transmisji dzikiego wirusa polio [55].

Należy także nie zapominać, że pierwszy na świecie atenuowany szczep wirusa polio uzyskał nasz rodak – Hilary Koprowski. Jego prace nad atenuacją wirusa polio wiązały się z zakażaniem szczura bawelnianego. Po raz pierwszy szczepionka Koprowskiego została podana w 1950 roku, a pierwsze masowe szczepienia miały miejsce w 1958 r. w Kongo. W 1959 r. dzięki inicjatywie ówczesnego dyrektora Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie profesora Feliksa Przemyckiego rozpoczęto masowe szczepienia szczepionką Koprowskiego, co spowodowało zahamowanie epidemii, która trwała w Polsce od 1951 roku.

Prowadzenie pasażu szczepu wirusowego w komórkach podobnych, ale nie identycznych do komórek w których wirus się namnaża w sposób naturalny, prowadzą do selekcji wirusowych subpopulacji, które zachowują możliwość zakażenia komórek gospodarza

przy znacznie obniżonej wirulencji. Proces ten nazywamy atenuacją i jest to mechanizm prowadzący do otrzymania szczepionek zawierających żywe szczepy wirusowe. Atenuowane szczepy szczepionkowe polio typu 1 i 3 zostały wyizolowane z wcześniej zakażonych komórek nerwowych małp. Prekursorowe szczepy wirusa polio typu 1 (Mahoney) i 3 (Leon) zostały dobrze opisane i poznane, co pozwoliło na określenie genetycznych różnic pomiędzy formami szczepionkowymi a ich szczepami rodzicielskimi. Prekursor szczepu szczepionkowego typu 2 nie jest znany. Rodzicielski szczep szczepu szczepionkowego typu 2 uległ atenuacji w wyniku domózgowej iniekcji wykonanej u małp. Wykazano, iż sekwencja genomu szczepionkowego polio typu 2 różni się od wszystkich znanych dotychczas sekwencji wirulentnych wirusów tego typu (np. szczepu Lansing). Mutacje prowadzące do atenuacji typu 2 nie zostały szczegółowo zidentyfikowane z powodu braku szczepu rodzicielskiego [58].

Porównując sekwencję genomów szczepów szczepionkowych typu 1 i typu 3 z sekwencjami odpowiednich prekursorów wykazano nieoczekiwane i zaskakujące różnice. Szczep szczepionkowy typu 1 posiada 57 różnic w sekwencji nukleotydów i 21 zmian w sekwencji aminokwasów w porównaniu do wyjściowego szczepu Mahoney [62], z kolei różnice pomiędzy szczepem szczepionkowym typu 3, a szczepem Leon ograniczają się do 10 zmian w sekwencji nukleotydowej i trzech zmian w sekwencji aminokwasów [83]. Znaczące różnice w ilości mutacji prowadzących do atenuacji typu 1 w porównaniu do typu 3 mają wyraźny wpływ na bezpieczeństwo szczepionki. Z tego powodu rewersja szczepu szczepionkowego typu 1 do wariantu o zwiększonej neurowirulencji jest bardzo rzadka, natomiast większość przypadków paraliżu po podaniu szczepionki (VAPP – vaccine associated paralytic *poliomyelitis*) była spowodowana szczepem typu 3 [89].

Na podstawie przeprowadzonych badań, których celem było porównanie zmian w sekwencjach nukleotydów szczepów szczepionkowych typu 1 i 3 powodujących osłabienie neurowirulencji wykazano istotne różnice w dwóch *loci*. Zmiana w pierwszym *loci* dotyczy regionu poliproteiny kodującej kapsyd (domena P1). Domena P1 szczepu szczepionkowego typu 1 zawiera 22 mutacje w sekwencji nukleotydów prowadzące do 12 zmian w sekwencji aminokwasów. Z kolei domena P1 szczepu szczepionkowego typu 3 posiada tylko 2 różnice w sekwencji nukleotydów co przekłada się na 2 zmiany w sekwencji aminokwasów. Mutacje w regionie P1 u obu typów skutkują pojawieniem się cechy termowrażliwości (fenotyp ts) [49]. Ponadto szczep szczepionkowy typu 1 posiada dodatkowo 2 różnice w sekwencji aminokwasów polimerazy RNA (3D^{pol}) [68, 69, 86].

Zmiana w drugim *loci* genomu szczepów szczepionkowych wirusa polio dotyczy domeny V regionu 5' IRES.

W tym przypadku pojedyncze mutacje punktowe prowadzą do osłabienia zjadliwości poszczególnych serotypów (różne mutacje dla każdego szczepu) [1, 46]. Pojedyncze zmiany w sekwencji nukleotydów doprowadziły do obniżenia wydajności namnażania się dzikiego polio w komórkach nerwowych i wytworzenia atenuowanego fenotypu w organizmie transgenicznych myszy CD 155 [45] i małp [88].

Badania innych naukowców z kolei podważają rolę mutacji w domenie V regionu 5' IRES w atenuacji szczepu typu 3. Sugerują, iż ta mutacja punktowa (nukleotyd 471) [37] w żaden sposób nie prowadzi do osłabienia zjadliwości wirusa polio typu 3. Dlaczego więc szczepionka przeciwko temu serotypowi jest bezpieczna? Po pierwsze typ 3 jest najmniej wirulentnym wirusem, powoduje *poliomyelitis* u jednej osoby na 1000 zakażonych. Po drugie mutacja w IRES jak i w regionie kodującym kapsyd może przyczynić się jedynie do ograniczenia rozprzestrzeniania się szczepu PV3 z układu pokarmowego do systemu nerwowego, jednakże w chwili obecnej nie wyjaśniono tego mechanizmu. Niektórzy naukowcy są bardziej sceptyczni w kwestii atenuacji typu 3, dla nich brak rozwoju choroby u osób zaszczepionych nie jest dowodem na brak zakażenia komórek nerwowych [58, 89].

W chwili obecnej nie milkną obawy związane ze stosowaniem żywej szczepionki. Jak wiadomo szczepionka OPV, podawana doustnie imituje naturalne zakażenie, co niesie ryzyko rewersji formy szczepionkowej do dzikiej. Sporadycznie również zdarzają się przypadki VAPP (Vaccine Associated Paralysis Polio), która jest jednostką chorobową wywoływaną atenuowanym szczepem polio. Jest to zespół objawów podobnych do *poliomyelitis*, które występują przeciętnie z częstotliwością 1 na 750 000 dawek szczepionki OPV [61, 71].

9. Program eradykacji *poliomyelitis*

W maju 1988 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wprowadziła program światowej eradykacji dzikiego wirusa polio (Global Polio Eradication Initiative). Założoną datą osiągnięcia celu było rok 2000. Program ten jest nadal kontynuowany i obecnie mówi się o eradykacji *poliomyelitis* a nie eradykacji wirusa polio. W wyniku działań prowadzonych w ramach tego programu zredukowano zachorowalność na *poliomyelitis* z ponad 350 000 przypadków w 1988 roku do 784 znanych przypadków w 2003 roku, a w 2011 r. odnotowano 228 zachorowań. W dalszym ciągu walczy się z ogniskami zachorowań wywołanych dzikim polio w Azji i w Afryce, a więc na ostateczny sukces należy poczekać. WHO jest obecnie ostrożne w prognozowaniu ostatecznej daty eliminacji *poliomyelitis*. Od 1999 roku typ 2 dzikiego wirusa polio nie został wyizolowany

na całym świecie, co może świadczyć o eradykacji tego serotypu [58].

Niepokojącym zjawiskiem jest możliwość rewersji szczepów szczepionkowych wirusa polio do typu dzikiego, co niesie obawy ponownej transmisji tego patogenu i z tego powodu w wielu krajach nie podaje się już szczepionki zawierającej żywe, atenuowane szczepy wirusa lecz szczepionki inaktywowane. Planowane jest w przyszłości całkowite zastąpienie żywej szczepionki preparatem inaktywowanym.

10. Podsumowanie

W pierwszej połowie XX wieku, kiedy miały miejsce bardzo częste epidemie *poliomyelitis*, nastąpił wzrost zainteresowania wirusem polio. Efektem badań naukowych było wynalezienie skutecznej szczepionki przeciw wirusowi polio i dzięki temu eradykację *poliomyelitis* można było objąć ogólnosiwiatowym programem, który jest realizowany pod egidą WHO od lat 80-tych XX wieku. Mimo intensywnych prac wykonywanych w ramach tego programu, w dalszym ciągu odnotowuje się jeszcze w Azji i w Afryce ogniska zachorowań wywołanych dzikim wirusem i na pełen sukces wyeliminowania tego wirusa należy poczekać.

Pomimo tego, że minęło już ponad 100 lat od ustalenia, że wirus jest czynnikiem etiologicznym *poliomyelitis*, w dalszym ciągu pozostaje wiele pytań bez odpowiedzi na temat patogenezы wirusa polio. Wiedza zdobyta poprzez tysiące przeprowadzonych badań nie jest w stanie w pełni wyjaśnić mechanizmów rozwoju choroby i chociaż wirus polio jest najintensywniej badany enterowirusem nadal pozostaje on „wirusem-zagadką”.

Piśmiennictwo

1. Agol V.I., Drozdov S.G., Ivannikova T.A., Kolesnikova M.S., Korolev M.B., Tolskaya E.A.: Restricted growth of attenuated poliovirus strains in cultured cells of a human neuroblastoma. *J. Virol.* **63**, 4034–4038 (1989)
2. Agol V.I., Picornavirus genome: an overview (w) *Molecular Biology of Picornaviruses*, red. B.L. Semler, E. Wimmer, ASM Press, Washington, 2002, 127–148
3. Andino R., Rieckhof G.E., Baltimore D.: A functional ribonucleoprotein complex forms around the 5' end of poliovirus RNA. *Cell*, **63**, 369–380 (1990)
4. Basavappa R., Syed R., Flore O., Icenogle J.P., Filman D.J., Hogle J.M.: Role and mechanism of the maturation cleavage of VP0 in poliovirus assembly: structure of the empty capsid assembly intermediate at 2.9 Å resolution. *Protein Sci.* **3**, 1651–1669 (1994)
5. Bernhardt G., Harber J., Zibert A., deCrombrugge M., Wimmer E.: The poliovirus receptor: identification of domains and amino acid residues critical for virus binding. *Virology*, **203**, 344–356 (1994)

6. Bienz K., Egger D., Troxler M., Pasamontes L.: Structural organization of poliovirus RNA replication is mediated by viral proteins of the P2 genomic region. *J. Virol.* **64**, 1156–1163 (1990)
7. Bodian D.: Emerging concept of poliomyelitis infection. *Science*, **12**, 105–108 (1955)
8. Bodian D., Horstmann D.M., Polioviruses (w) Viral and Rickettsial Infections of Man, red. F.L. Jr. Horsfall, I. Tamm, J.B. Lippincott, Philadelphia, 1956, 430–473
9. Bodian D.: Pathogenesis of poliovirus in normal and passively immunized primates after virus feeding. *Fed. Proc.* **11**, 462–472 (1952)
10. Bodian D.: The enhancement of susceptibility of monkeys to polioviruses of high and of low virulence. *Am. J. Hyg.* **64**, 92–103 (1956)
11. Borman A.M., Le Mercier P., Girard M., Kean K.M.: Comparison of picornaviral IRES-driven internal initiation of translation in cultured cells of different origins. *Nucleic Acids Res.* **25**, 925–932 (1997)
12. Cho M.W., Teterina N., Egger D., Bienz K., Ehrenfeld E.: Membrane rearrangement and vesicle induction by recombinant poliovirus 2C and 2BC in human cells. *Virology*, **202**, 129–145 (1994)
13. Colbere-Garapin F., Christodoulou C., Crainic R., Pelletier I.: Persistent poliovirus infection of human neuroblastoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 7590–7594 (1989)
14. Colston E., Racaniello V.R.: Soluble receptor-resistant poliovirus mutants identify surface and internal capsid residues that control interaction with the cell receptor. *EMBO J.* **13**, 5855–5862 (1994)
15. Couderc T., Christodoulou C., Kopecka H., Marsden S., Taffs L.F., Crainic R., Horaud F.: Molecular pathogenesis of neural lesions induced by poliovirus type 1. *J. Gen. Virol.* **70**, 2907–2918 (1989)
16. De Sena J., Mandel B.: Studies on the in vitro uncoating of poliovirus. II. Characteristics of the membrane-modified particle. *Virology*, **78**, 554–566 (1977)
17. Dorner A.J., Dorner L.F., Larsen G.R., Wimmer E., Anderson C.W.: Identification of the initiation site of poliovirus polyprotein synthesis. *J. Virol.* **42**, 1017–1028 (1982)
18. Fairbrother R.W., Hurst E.W.: The pathogenesis of experimental poliomyelitis. *J. Pathol. Bacteriol.* **33**, 17–45 (1930)
19. Fenwick M.L., Cooper P.D.: Early interactions between poliovirus and ERK cells: some observations on the nature and significance of the rejected particles. *Virology*, **18**, 212–223 (1962)
20. Flanagan J.B., Baltimore, D.: Poliovirus-specific primer-dependent RNA polymerase able to copy poly(A). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 3677–3680 (1977)
21. Freistadt M.F., Kaplan G., Racaniello V.R.: Heterogeneous expression of poliovirus receptor-related proteins in human cells and tissues. *Mol. Cell. Biol.* **10**, 5700–5706 (1990)
22. Freistadt M.S., Fleit H.B., Wimmer E.: Poliovirus receptor on human blood cells: a possible extraneural site of poliovirus replication. *Virology*, **195**, 798–803 (1993)
23. Fricks C.E., Hogle J.M.: Cell-induced conformational change in poliovirus: externalization of the amino terminus of VP1 is responsible for liposome binding. *J. Virol.* **64**, 1934–1945 (1990)
24. Garcia-Sastre A., Durbin R.K., Zheng H., Palese P., Gertner R., Levy D.E., Durbin J.E.: The role of interferon in influenza virus tissue tropism. *J. Virol.* **72**, 8550–8558 (1998)
25. Goodfellow I., Chaudhry Y., Richardson A., Meredith J., Almond J.W., Barclay W., Evans D.J.: Identification of a cis-acting replication element within the poliovirus coding region. *J. Virol.* **74**, 4590–4600 (2000)
26. Gromeier M., Alexander L., Wimmer E.: Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 2370–2375 (1996)
27. Gromeier M., Wimmer E.: Mechanism of injury-provoked poliomyelitis. *J. Virol.* **72**, 5056–5060 (1998)
28. Harber J., Bernhardt G., Lu H.H., Sgro J.Y., Wimmer E.: Canyon rim residues, including antigenic determinants, modulate serotypespecific binding of polioviruses to mutants of the poliovirus receptor. *Virology*, **214**, 559–570 (1995)
29. Hashimoto I., Hagiwara A., Komatsu T.: Ultrastructural studies on the pathogenesis of poliomyelitis in monkeys infected with poliovirus. *Acta Neuropathol.* **64**, 53–60 (1984)
30. Herold J., Andino R.: Poliovirus RNA replication requires genome circularization through a protein-protein bridge. *Mol. Cell.* **7**, 581–591 (2001)
31. Hogle J.M.: Poliovirus cell entry: common structural themes in viral cell entry pathways. *Annu. Rev. Microbiol.* **56**, 677–702 (2002)
32. Horie H., Koike S., Kurata T., Sato-Yoshida Y., Ise I., Ota Y., Abe S., Hioki K., Kato H., Taya C.: Transgenic mice carrying the human poliovirus receptor: new animal models for study of poliovirus neurovirulence. *J. Virol.* **68**, 681–688 (1994)
33. Howe H.A., Bodian, D.: Poliomyelitis in the chimpanzee: a clinical pathological study. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **69**, 149–169 (1941)
34. Jang S.K., Davies M.V., Kaufman R.J., Wimmer E.: Initiation of protein synthesis by internal entry of ribosomes into the 5' nontranslated region of encephalomyocarditis virus RNA in vivo. *J. Virol.* **63**, 1651–1660 (1989)
35. Jubelt B., Gallez-Hawkins G., Narayan O., Johnson R.T.: Pathogenesis of human poliovirus infection in mice. I. Clinical and pathological studies. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **39**, 138–148 (1980)
36. Jungeblut C.W., Sanders M.: Studies of a murine strain of poliomyelitis virus in cotton rats and white mice. *J. Exp. Med.* **72**, 407–435 (1940)
37. Kauder S.E., Racaniello V.R.: Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J. Clin. Invest.* **113**, 1743–1753 (2004)
38. Kitamura N., Semler B.L., Rothberg P.G., Larsen G.R., Adler C.J., Dorner A.J., Emini E.A., Hanecak R., Lee J.J., van der Werf S., Anderson C.W., Wimmer E.: Primary structure, gene organization and polypeptide expression of poliovirus RNA. *Nature*, **291**, 547–553 (1981)
39. Koike S., Horie H., Dise I., Okitsu H., Yoshida M., Iizuka N., Takeuchi K., Takegami T., Nomoto A.: The poliovirus receptor protein is produced both as membrane-bound and secreted forms. *EMBO J.* **9**, 3217–3224 (1990)
40. Koike S., Ise I., Nomoto A.: Functional domains of the poliovirus receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 4104–4108 (1991)
41. Koike S., Taya C., Kurata T., Abe S., Ise I., Yonekawa H., Nomoto A.: Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 951–955 (1991)
42. Krausslich H.G., Nicklin M.J., Toyoda H., Etchison D., Wimmer E.: Poliovirus proteinase 2A induces cleavage of eucaryotic initiation factor 4F polypeptide p220. *J. Virol.* **61**, 2711–2718 (1987)
43. Krausslich, H.-G., Wimmer E.: Viral proteinases. *Annu. Rev. Biochem.* **57**, 701–754 (1998)
44. Kronenberger P., Schober D., Prchla E., Blaas D., Fuchs R.: Use of free-flow electrophoresis for the analysis of cellular uptake of picornaviruses. *Electrophoresis*, **18**, 2531–2536 (1997)
45. La Monica N., Almond J.W., Racaniello V.R.: A mouse model for poliovirus neurovirulence identifies mutations that attenuate the virus of humans. *J. Virol.* **61**, 2917–2920 (1987)

46. La Monica N., Racaniello V.R.: Differences in replication of attenuated and neurovirulent poliovirus in human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *J. Virol.* **63**, 2357–2360 (1989)
47. Lawson M.A., Semler B.L.: Alternate poliovirus nonstructural protein processing cascades generated by primary sites of 3C proteinase cleavage. *Virology*, **19**, 309–320 (1992)
48. Liao S., Racaniello V.: Allele-specific adaptation of poliovirus VP1 B-C loop variants to mutant cell receptors. *J. Virol.* **71**, 9770–9777 (1997)
49. Lwoff A.: Factors influencing the evolution of viral disease at the cellular level and in the organism. *Bact. Rev.* **23**, 109–124 (1959)
50. Lyons T., Murray K.E., Roberts A.W., Barton D.J.: Poliovirus 5'-terminal cloverleaf RNA is required in *cis* for VPg uridylylation and the initiation of negative-strand RNA synthesis. *J. Virol.* **75**, 10696–10708 (2001)
51. McKnight K.L., Lemon S.M.: Capsid coding sequence is required for efficient replication of human rhinovirus 14 RNA. *J. Virol.* **70**, 1941–1952 (1996)
52. McKnight K.L., Lemon S.M.: The rhinovirus type 14 genome contains an internally located RNA structure that is required for viral replication. *RNA*, **4**, 1569–1584 (1988)
53. Melnick, J.L., Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses (w) *Virology*, red. B.N. Fields, Raven Press, New York, 1996, 655–712
54. Mendelsohn C., Wimmer E., Racaniello V.R.: Cellular receptor for poliovirus: molecular cloning, nucleotide sequence and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily. *Cell*, **56**, 855–865 (1989)
55. Minor P.D., Poliomyelitis (w) *Encyclopedia of Virology*, red. B. Mahy, M. Van Regenmortel, Elsevier Ltd., Oxford, **4**, 2008, 242–249
56. Molla A., Jang S.K., Paul A.V., Reuer Q., Wimmer E.: Cardioviral internal ribosomal entry site is functional in a genetically engineered dicistronic poliovirus. *Nature*, **356**, 255–257 (1992)
57. Mueller S., Cao X., Welker R., Wimmer E.: Interaction of the poliovirus receptor CD155 with the dynein light chain Tctex-1 and its implication for poliovirus pathogenesis. *J. Biol. Chem.* **277**, 7897–7904 (2002)
58. Mueller S., Wimmer E., Cello J.: Poliovirus and poliomyelitis: A tale of guts, brains, and an accidental event. *Virology*, **111**, 175–193 (2005)
59. Nathanson N., Langmuir A.D.: The Cutter incidence. III. Comparison of the clinical character of vaccinated and contact cases occurring after use of high rate lots of Cutter vaccine. *Am. J. Hyg.* **78**, 61–81 (1963)
60. Neznanov N., Chumakov K.M., Neznanova L., Almasan A., Banerjee A.K., Gudkov A.V.: Proteolytic cleavage of the p65-RelA subunit of NF-kappaB during poliovirus infection. *J. Biol. Chem.* **280**, 24153–24158 (2005)
61. Nkwane B., Wassilak S., Orenstein W., Bart K., Schonberger L., Hinman A., Kew O.: Vaccine-associated paralytic poliomyelitis United States: 1973 through 1984. *JAMA*, **257**, 1335–1340 (1987)
62. Nomoto A., Omata T., Toyoda H., Kuge S., Horie H., Kataoka Y., Genba Y., Nakano Y., Imura N.: Complete nucleotide sequence of the attenuated poliovirus Sabin 1 strain genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 5793–5797 (1982)
63. Ohka S., Matsuda N., Tohyama K., Oda T., Morikawa M., Kuge S., Nomoto A.: Receptor (CD155)-dependent endocytosis of poliovirus and retrograde axonal transport of the endosome. *J. Virol.* **78**, 7186–7198 (2004)
64. Ohka S., Nomoto A.: The molecular basis of poliovirus neurovirulence. *Dev. Biol. (Basel)*, **105**, 51–58 (2001)
65. Ohka S., Ohno H., Tohyama K., Nomoto A.: Basolateral sorting of human poliovirus receptor alpha involves an interaction with the mu1B subunit of the clathrin adaptor complex in polarized epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **287**, 941–948 (2001)
66. Ohka S., Yang W.X., Terada E., Iwasaki K., Nomoto A.: Retrograde transport of intact poliovirus through the axon via the fast transport system. *Virology*, **250**, 67–75 (1998)
67. Paul A.: Possible unifying mechanism of picornavirus genome replication (w) *Molecular Biology of Picornaviruses*, red. B.L. Semler, E. Wimmer, ASN Press, Washington, 2002, 227–246
68. Paul A.V., Mugavero J., Yin J., Hobson S., Schultz S., Van Boom J.H., Wimmer E.: Studies on the attenuation phenotype of polio vaccines: poliovirus RNA polymerase derived from Sabin type 1 sequence is temperature sensitive in the uridylylation of VPg. *Virology*, **272**, 72–84 (2000)
69. Paul A.V., Rieder E., Kim D.W., van Boom J.H., Wimmer E.: Identification of an RNA hairpin in poliovirus RNA that serves as the primary template in the in vitro uridylylation of VPg. *J. Virol.* **74**, 10359–10370 (2000)
70. Racaniello V.R., Baltimore D.: Molecular cloning of poliovirus cDNA and determination of the complete nucleotide sequence of the viral genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 4887–4891 (1981)
71. Racaniello V.R.: One hundred years of poliovirus pathogenesis. *Virology*, **344**, 9–16 (2006)
72. Ren R., Costantini F.C., Gorgacz E.J., Lee J.J., Racaniello V.R.: Transgenic mice expressing a human poliovirus receptor: a new model for poliomyelitis. *Cell*, **63**, 353–362 (1990)
73. Ren R., Racaniello V.R.: Poliovirus spreads from muscle to the central nervous system by neural pathways. *J. Infect. Dis.* **166**, 747–752 (1992)
74. Rieder E., Paul A.V., Kim D.W., van Boom J.H., Wimmer E.: Genetic and biochemical studies of poliovirus *cis*-acting replication element cre in relation to VPg uridylylation. *J. Virol.* **74**, 10371–10380 (2000)
75. Rivera V.M., Welsh J.D., Maizel J.V.: Comparative sequence analysis of the 5' noncoding region of the enteroviruses and rhinoviruses. *Virology*, **165**, 42–50 (1988)
76. Ryman K.D., Klimstra W.B., Nguyen K.B., Biron C.A., Johnston R.E.: Alpha/beta interferon protects adult mice from fatal Sindbis virus infection and is an important determinant of cell and tissue tropism. *J. Virol.* **74**, 3366–3378 (2000)
77. Sabin A., Ward R.: Nature of non-paralytic and transitory paralytic poliomyelitis in rhesus monkeys inoculated with human virus. *J. Exp. Med.* **73**, 757–770 (1941)
78. Sabin A.B.: Pathogenesis of poliomyelitis. Reappraisal in the light of new data. *Science*, **123**, 1151–1157 (1956)
79. Samuel B.U., Ponnuraj E., Rajasingh J., John T.J.: Experimental poliomyelitis in bonnet monkeys: clinical features, virology and pathology. *Dev. Biol. Stand.* **78**, 71–78 (1993)
80. Selinka H.C., Zibert A., Wimmer E.: Poliovirus can enter and infect mammalian cells by way of an intercellular adhesion molecule 1 pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 3598–3602 (1991)
81. Semler B.L., and Ertel K. J., *Picornaviruses: molecular biology* (w) *Encyclopedia of Virology*, red. B. Mahy, M. Van Regenmortel, Elsevier Ltd., Oxford, **4**, 2008, 129–140
82. Sonenberg N.: Regulation of translation by poliovirus. *Adv. Virus Res.* **33**, 175–204 (1987)
83. Stanway G., Hughes P.J., Mountford R.C., Reeves P., Minor P.D., Schild G.C., Almond J.W.: Comparison of the complete nucleotide sequence of the genomes of the neurovirulent poliovirus P3/Leon/37 and its attenuated Sabin vaccine derivative P3/Leon/12. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 1539–1543 (1984)

84. Strebel P.M., Ion-Nedelcu, N., Baughman A.L., Sutter R.W., Cochi, S.L.: Intramuscular injections within 30 days of immunization with oral poliovirus vaccine—a risk factor for vaccine-associated paralytic poliomyelitis (see comments). *N. Engl. J. Med.* **332**, 500–506 (1995)
85. Teterina N.L., Gorbalenya A.E., Egger D., Bienz K., Ehrenfeld E.: Poliovirus 2C protein determinants of membrane binding and rearrangements in mammalian cells. *J. Virol.* **71**, 8962–8972 (1997)
86. Toyoda H., Yang C.F., Takeda N., Nomoto A., Wimmer E.: Analysis of RNA synthesis of type 1 poliovirus by using an in vitro molecular genetic approach. *J. Virol.* **61**, 2816–2822 (1987)
87. Wenner H.A., Kamitsuka A., Lenahan M., Archetti I.: The pathogenesis of poliomyelitis, site of multiplication of poliovirus in cynomolgus monkeys after alimentary infection. *Arch. Ges. Virusforschung*, **9**, 537–558 (1959)
88. Westrop G.D., Wareham K.A., Evans D.M.A., Dunn G., Minor P.D.: Genetic basis of attenuation of Sabin type 3 oral poliovirus vaccine. *J. Virol.* **63**, 1338–1344 (1989)
89. Wimmer E., Hellen C.U., Cao X.: Genetics of poliovirus. *Annu. Rev. Genet.* **27**, 353–436 (1993)
90. Yalamanchili P., Harris K., Wimmer E., Dasgupta A.: Inhibition of basal transcription by poliovirus: a virus- encoded protease (3Cpro) inhibits formation of TBP-TATA box complex *in vitro*. *J. Virol.* **70**, 2922–2929 (1996)
91. Yanagiya A., Ohka S., Hashida N., Okamura M., Taya C., Kamoshita, N., Iwasaki K., Sasaki Y., Yonekawa H., Nomoto A.: Tissue-specific replicating capacity of a chimeric poliovirus that carries the internal ribosome entry site of hepatitis C virus in a new mouse model transgenic for the human poliovirus receptor. *J. Virol.* **77**, 10479–10487 (2003)
92. Yang W.X., Terasaki T., Shiroki K., Ohka S., Aoki J., Tanabe S., Nomur, T., Terada E., Sugiyama Y., Nomoto A.: Efficient delivery of circulating poliovirus to the central nervous system independently of poliovirus receptor. *Virology*, **229**, 421–428 (1997)
93. Yin J., Paul A.V., Wimmer E., Rieder E.: Functional dissection of a poliovirus *cis*-acting replication element [PV-cre(2C)]: analysis of single- and dual-cre viral genomes and proteins that bind specifically to PV-cre RNA. *J. Virol.* **77**, 5152–5166 (2003)