جهش‌های موجود در ژنوم ویروس واکسن خوراکی پولیو جدا شده در طی سالهای ۸۱-۱۳۸۰ از بیماران فلج شل حاد مبتلا به فلج باقیمانده در ایران

پونه رحیمی[۱] ، حمیده طباطبایی[۲] ، محبوبه ساریجلو[۲] ، محمود محمودی[۳] ، طلعت مختاری آزا د[۴] ،کتایون صمیمی‌راد[۵] ،رخشنده ناطق[۴*]

۱ . دانشجوی PhD ویروس‌شناسی، دانشکده بهداشت دانشگاه تهران
۲ . PhD ویروس‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران
۳ . PhD آمار حیاتی و جمعیت‌شناسی، استاد دانشکده بهداشت دانشگاه تهران
٤ . PhD ویروس‌شناسی، استاد دانشکده بهداشت دانشگاه تهران
٥ . PhD ویروس‌شناسی،استادیار، دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران

* نشانی برای مکاتبه : تهران ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، بخش ویروس شناسی ، تلفن: ۸۸۹۵۰۵۹۵
rakhshn@sphtums.com
دریافت مقاله : شهریور هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ:دی هشتاد و پنج

چکیده

سابقه و هدف : *مصرف واکسن خوراکی پولیو موجب کاهش چشمگیر موارد پولیومیلیت در سرتا سر جهان گردیده است ولی مانند هر ویروس RNAدار ژنوم آن در طی همانند سازی در بدن فرد گیرنده یا موارد تماس آنها دستخوش تغییرات شده و به ندرت منجر به برگشت بیماریزایی ویروس می گردد. فلج مربوط به واکسن(VAPP: Vaccine – associated paralytic poliomyelitis) در گذشته به تغییراتی در نوکلئوتید های مهم ناحیه غیر کد کننده ۵ و در سالهای اخیربه نوکلئوتیدهایی در نواحی ژنهای ساختمانی مانند VP1 نسبت داده میشود. بنابر این پولیو ویروسهای جدا شده از موارد فلج شل حاد از نظر وجود جهش در این ناحیه مورد بررسی قرار میگیرند. در ایران از سال ۱۳۷۳ برنامه های ریشه کنی پولیو میلیت در حال اجراست و در راستای آن تمامی موارد فلج شل حاد تحت نظارت و پیگیری بالینی و آزمایشگاهی قرار میگیرند.*

روش کار: *در سال‌های ۸۱-۱۳۸۰، ۵ مورد از بیماران فلج شل حاد مبتلا به فلج باقیمانده شناسایی و از مدفوع آنان در آزمایشات میکرونوترالیزاسیون و افتراق درون‌تایپی (الایزا، جفت شدن پروب وRT-PCR) به ترتیب ۳ (شماره‌های ۱، ۳ و ۴) و ۲ (شماره‌های ۲ و ۵) پولیوویروس مشابه واکسن تایپ ۱ و ۲ جدا گردید و از نظر تغییرات در ناحیه VP1 توالی یابی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.*

یافته‌ها: *تجزیه و تحلیل توالیها نشان داد که ۳ پولیوویروس تایپ ۱ جدا شده از بیماران (شماره‌های ۱، ۳ و ۴) بترتیب ۴،۲ و ۱ جانشینی نوکلئوتیدی در ناحیه VP1 در مقایسه با ویروس سابین تایپ ۱ مرجع داشتند و در نمونه‌های ۲ و ۵ در مقایسه با ویروس سابین تایپ ۲ مرجع به ترتیب ۱ و ۲ جانشینی نوکلئوتیدی در ناحیه VP1 مشاهده گردید.*

نتیجه‌گیری: *با پیشرفت بسوی ریشه‌کن شدن پولیوویروسهای وحشی در جهان، بررسی جهش های رخ داده در استرین های سابین در شناخت پاتوژنز مولکولی این ویروسها از اهمیت فراوان بر خوردار میباشد.*

واژگان کلیدی: *OPV:oral polio vaccine,VAPP:vaccine–associated paralytic poliomyelitis,VDPV:vaccine -derived polio viruses*

مقدمه

پولیوویروسها اعضای جنس آنتروویروس از خانواده پیکورناویریده می‌باشند. ویروسهایی کوچک با ابعاد ۳۰-۲۷ نانومتر، بدون پوشش و باکپسیدی بیست وجهی که یک ژنوم RNA تک رشته مثبت رادر برگرفته است. ژنوم ۷۵۰۰ نوکلئوتید طول داشته و در قسمت ۵ دارای پروتئینی بنام VPG(Viral protein genome linked) و در قسمت `۳ دارای یک دنباله پلی آدنیله می‌باشد. ژنوم قالب باز خواندن منفرد (ORF) بوده که به تنهایی عفونت‌زا است و توانایی برقراری چرخه کامل تکثیر ویروسی را دارد (۱ و ۲).

پولیوویروسها دارای ۳ تایپ آنتی ژنتیک (سروتایپ ۱، ۲ و ۳) می‌باشند که هر سه سروتیپ قابلیت تکثیر و تخریب سلولهای عصبی را دارا می‌باشند(۳). عفونت با این ویروسها طیف وسیعی از بیماریها از عفونت بدون علامت تا فلج بولبار و مرگ را در بر می‌گیرد اما شناخته شده‌ترین شکل عفونت با این ویروسها که بشریت را به مبارزه و تلاش در جهت ریشه‌کن کردن آنها واداشته است فلج شل حادی است که درموارد عفونت با پولیوویروسها پولیومیلیت نامیده می‌شود. عفونت با این ویروسها در کودکان کم سن و سال اغلب بدون علامت بوده و یا با علائمی مشابه سرماخوردگی همراه است و میزان بروز فلج در آنان بسیار پایین‌تر از بالغین غیر ایمنی است که برای اولین بار با ویروسهای وحشی پولیو تماس داشته‌اند(۳). با پیشرفت بهداشت، سن اولین برخورد با پولیوویروسهای وحشی در جوامع مختلف افزایش یافت و این امر موجب بروز موارد بیشتری از فلج شل حاد و فلج باقیمانده گردید و دانشمندان را بر آن داشت تا در جهت کنترل این بیماری واکسنهایی را تولید نمایند. نتیجه تلاش پژوهشگران در این زمینه تولید ۲ نوع واکسن مختلف بود که امروزه نیز مورد استفاه قرار می‌گیرند. واکسن ویروس کشته شده سالک (IPV) و واکسن ویروسی زنده ضعیف شده سابین که به شکل خوراکی مصرف می‌شود (oral polio vaccine: opv). واکسن خوراکی پولیو حاصل تکثیر پی در پی پولیوویروسهای وحشی در کشتهای سلولی کلیه میمون می‌باشند(۴) و برای اطمنان از بی خطر بودن آنها، در میمونها مورد آزمایش قرار می‌گیرند. صرفه اقتصادی و سهولت تولید واکسن OPV سبب گردید که ا زآن در سطح وسیع‌تری درجهان جهت ایمن‌سازی روتین و همگانی استفاده گردد. هر چند برای واکسن OPV مزیتهای فراوانی را میتوان برشمرد اما بدلیل وجود ویروس زنده ضعیف شده با قابلیت تکثیر در کانال گوارش، بندرت جهش‌های برگشتی در نوکلئوتیدهای مهم تضعیف کننده ویروس واکسن رخ می‌دهند(۵ و ۶). حاصل این جهش های برگشتی ظهور پولیوویروسهای برگرفته ا ز واکسن می‌باشد که براساس طبقه‌بندی صورت گرفته توسط سازمان بهداشت جهانی با توجه به میزان تغییرات نوکلئوتیدی در ناحیه VP۱ (ناحیه کد کننده پروتئین ساختمانی VP۱) خود به دو گروه بخش می‌شوند: گروه نخست با تغییراتی کمتر از ۱٪ در ناحیه VP۱ در مقایسه با پولیوویروسهای واکسن که با نام ویروسهای مشابه واکسن یا OPV-like polioviruses نامیده می‌شود و گروه دوم ویروسهایی با ۱۴٪-۱ تغییر در توالی نوکلئوتیدی ناحیه VP۱ که بنام ویروسهای مشتق از واکسن یا VDPVs:Vaccine-derived polioviruses نامیده شده‌اند(۷). پولیوویروسهای هر دو گروه یاد شده قادرند در موارد نارد منجر به پولیومیلیت فلجی مربوط به واکسن یا VAPP Vaccine-associated paralytic poliomyelitis گردند. در سالهای اخیر با پیشرفتهای چشمگیری که در جهت ریشه‌کنی جهانی پولیوویروسهای وحشی بدست آمده است شناسایی موارد فلج شل حاد ناشی از ویروسهای بر گرفته از واکسن مورد توجه فراوان قرار گرفته است. در کشور ما از سال ۱۳۷۳ برنامه‌های ریشه‌کنی پولیومیلیت شامل افزایش سطح ایمنی جمعیت از طریق واکسیناسیون همگانی علاوه بر واکسیناسیون روتین با تعیین روزهای ملی ایمن‌سازی (NIDs) و همچنین اجرای برنامه‌های مراقبت و نظارت دقیق در شناسایی تمامی موارد فلج شل حاد هماهنگ با برنامه‌های ریشه‌کنی تدوین شده از سوی سازمان بهداشت جهانی (WHO) آغاز گردیده و در حال اجراست. حاصل این تلاشها دستیابی به ریشه‌کنی پولیوویروسهای وحشی بومی کشور در سال ۱۳۷۶ و پوشش ایمنی ۱۰۰٪ در سال ۱۳۸۱ بوده است(۸). در پی اجرای برنامه‌های مراقبت و نظارت در طی سالهای ۸۱-۱۳۸۰ از میان نمونه‌های مدفوع مربوط به موارد فلج شل حاد که به آزمایشگاه کشوری تشخیص فلج اطفال دانشکده بهداشت دانشگاه تهران بخش ویروس‌شناسی ارسال شده بودند ۵ بیمار با فلج باقیمانده شناسایی شدند که از مدفوع آنان در آزمایشات اولیه (میکرونوترالیزاسیون و تستهای تشخیص افتراقی درون تایپی) پولیوویروسهای مشابه واکسن جدا گردید و ویروسهای جدا شده در ناحیه VP1مورد توالی یابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این مقاله گزارشی است از نتایج آزمایشات انجام گرفته و آنالیز ژنومی پولیووروسهای به دست آمده از بیماران.

روش کار

در این مطالعه ۵ بیمار مبتلا به فلج شل حاد که پس از شصت روز با پایدرای حالت فلج، بعنوان فلج باقیمانده شناسایی شدند مورد بررسی قرار گرفتند. همه بیماران افرادی با سیستم ایمنی سالم بودند و سابقه دریافت واکسن خوراکی پولیو را داشتند. از این تعداد ۴ بیمار در سال ۱۳۸۰ و یک بیمار در سال ۱۳۸۱ شناسایی و نمونه‌گیری شده‌اند، ۲ نفر زن و ۳ نفر مرد بوده‌اند ومحدوده تغییرات سنی آنا ن ا ز۳ ماه تا ۴۸ ماه بوده است. از تمام ۵ بیمار، پولیوویروس مشابه واکسن جدا گردید که تعداد ۳ ویروس پولیو ویروس تایپ ۱ و ۲ ویروس، پولیو ویروس تایپ ۲ شناسایی شدند.

براساس دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی از موارد فلج شل حاد ۲ نمونه مدفوع با فاصله ۴۸ ساعت ازیکدیگر و در طی ۱۴ روز پس از شروع علائم بالینی جمع‌آوری گردید. این نمونه‌ها در اسرع وقت در شرایط سرد به آزمایشگاه کشوری تشخیص فلج اطفال در دانشکده بهداشت دانشگاه تهران ،بخش ویروس‌شناسی ارسال و در ۲۰- درجه نگهداری شد تا مراحل بعدی آماده‌سازی و تلقیح به کشتهای سلولی بر روی آنها انجام گیرد.

نمونه‌های مدفوع مطابق با دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی با کلروفورم مواجهه داده شدند و سپس به ۳ رده مختلف سلولی شامل RD: human embryo rhabdomyosarcoma,; L20B :mouse Lcells expressing the human poliovirus receptor, Hep2-Cin Cinnati: epidermoid Carcinoma human larynx). تلقیح شدند.

مثبت بودن نمونه‌ها پس از دو پاساژ و در طی ۲ هفته ارزیابی شد و با روش میکرونوترالیزاسیون نوع ویروسها با استفاده از آنتی سرای افتراق دهنده پولیوویروسها از آنتروویروسها تعیین گردید. سپس آزمایشات افتراق درون‌تایپی نیز جهت تعیین وحشی یا واکسن بودن پولیوویروسهای جدا شده و همچنین شناسایی سروتایپ آنها انجام گرفت. این آزمایشات شامل ۳ آزمایش الایزا:

با استفاده از آنتی سرای جذب متقاطع شده اختصاصی درون تایپی تولید شده در خرگوش, پولیویوحشی را ا ز استرین سابین افتراق می‌دهد و آزمایش جفت شدن پروب که بطور اختصاصی به ایزوله‌های واکسن متصل می‌شود و آزمایش زنجیره‌ای پلیمراز رونوشت معکوس که افتراق سروتایپ پولیوویروسهای جدا شده را امکان‌پذیر می‌سازد. پولیوویروسهای بدست آمده در ۷۰- درجه در تیوبهای میکروسانتریفوژ که حاوی ۲-۱/۵ ملی لیتر از سوسپانسیون کشت سلولیL20B بودند نگهداری شدند. ناحیه VP۱ ژنوم این ویروسها (۹۰۰~ نوکلئوتید) توالی‌یابی گردید.ویروسهای مرجع که برای مقایسه توالی استفاده گردید با شماره پذیرش: AY۵۸۲۶۸۸ برای تایپ ۱ استرین سابین وAY۰۸۲۶۷۹ برای تایپ ۲ استرین سابین مورد استفاده قرار گرفتند. توالی‌های نوکلئوتیدی ۵ ویروس جدا شده با استفاده از برنامه کلاستال دابلیو (Clastal W) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

با روش میکرونوترالیزاسیون ۵ ویروس جدا شده (شماره ۱ تا ۵) بعنوان پولیوویروس تایپ ۱ (شماره‌های ۱، ۳ و ۴) و تایپ ۲(شماره‌های ۲ و ۵) شناسایی شدند. در آزمایشات افتراق درون‌تایپی (الایزا،جفت شدن پروب و واکنش پلیمراز زنجیره‌ای رونوشت معکوس) همگی استرینهای سابین تشخیص داده شدند که اطلاعات آنهاد ر جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: مشخصات ۵ بیمار با فلج شل حاد که به فلج باقیمانده مبتلا شده بودند در سالهای ۸۱-۱۳۸۰ و نتایج آزمایشات افتراق درون تایپی ویروسهای جدا شده از نمونه مدفوع آنان

شماره بیمار	سن (ماه)	جنس	تاریخ آخرین واکسن	تاریخ شروع بیماری	آزمایش الایزا	آزمایش RT-PCR
۱	۴۸	زن	نامشخص	۷۹/۱۰/۱۸	PV1-*SL	PV1-S
۲	۴۰	مرد	نامشخص	۸۰/۱/۱۳	PV2-SL	PV2-S
۳	۴۰	مرد	۸۰/۳/۲۷	۸۰/۳/۳۰	PV1-SL	PV1-S
۴	۲۴	مرد	۸۰/۴/۱۴	۸۰/۴/۳۰	PV1-SL	PV1-S
۵	۳	زن	نامشخص	۸۱/۲/۲۵	PV2-SL	PV2-S

*Sabin-like poliovirus

پولیوویروس شماره ۱، ۹۹/۵٪، شماره ۳، ۹۹/۸٪ و شماره ۹۹/۹/۵٪ با استرین تایپ ۱ رفرانس سابین (AY۰۸۲۶۸۸) و شماره۲، ۹۹/۹٪ و شماره ۵، ۹۹/۸٪ با استرین رفرانس سابین تایپ ۲ (AY۰۸۲۶۷۹) در ناحیه VP۱ ژنوم تشابه توالی داشتند. در ویروس شماره ۱ چهار جانشینی نوکلئوتیدی (A۳۲۵۵G و C۲۹۲۷T و C۲۷۰۹T و A۲۶۶۱T) و در شماره ۳,, ۲ جانشین نوکلئوتیدی (A۳۰۵۴G و A۲۷۹۷G) و در شماره ۴، تنها یک جانشین نوکلئوتیدی (A۲۷۴۹T) در ناحیه VP۱ در مقایسه با پولیوویروس تایپ ۱ سابین مرجع شناسایی گردید. بهمین ترتیب، در ویروس شماره ۲، ۱ جانشینی نوکلئوتیدی (A۲۹۰۸G) و درویروس شماره ۵ نیز، ۲ جانشینی نوکلئوتیدی (C۳۲۳۱T، T۲۹۰۹A) در ناحیه VP۱ در مقایسه با پولیووروس سابین تاپ ۲ مرجع مشاهده گردید. جدول ۲ نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل توالی های این ویروسها را خلاصه کرده است.

جدول ۲: موقعیت و جانشینی نوکلئوتیدی در ناحیه یVP1 در هر یک از ویژوسی‌های جدا شده در مقایسه با استرین سابین مرجع متناسب با تایپهای ۱ و ۲

شماره ویروس / موقعیت نوکلئوتید	۰۸۲۶۸۸ *AY	۱	۳	۴	۰۸۲۶۷۹ **AY	۲	۵
۲۶۶۱	A	T					
۲۷۰۹	C	T					
۲۹۲۷	C	T					
۳۲۵۵	A	G					
۲۷۹۷	A		G				
۳۰۵۴	A		G				
۲۷۴۹	A			T			
۲۹۰۸	A					A	G
۲۹۰۹	T					T	T
۳۲۳۱	C					C	C

* شماره پذیرش ویروس مرجع استرین سابین تایپ ۱.

** شماره پذیرش ویروس مرجع استرین سابین تایپ ۲.

تجزیه و تحلیل مقایسه توالیهای اسید آمینه‌ای پروتئین VP۱ هر یک از ویروسهای جدا شده با ویروسهای سابین مرجع تایپ های ۱و ۲ نیز تغییرات اسید آمینه ای را د ر هر یک از ویروسهای جدا شده نشان داد. در ویروس شماره ۱، یک جانشینی اسید آمینه‌ای در موقعیت ۱۴۹ پروتئین VP۱ هیستیدین به تیروزین: H→Y و در ویروس شماره ۳، جانشینی اسید آمینه‌ای ترئونین به آلانین T→A در موقعیت ۱۰۶ پروتئین VP۱ و در ویروس شماره ۴، جانشین اسید آمینه ایزولوسین به لوسین I→Lدر موقعیت ۹۰ پروتئین VP۱ در مقایسه باویروس سابین مرجع تایپ ۱ شناسایی گردید. به همین ترتیب در هر دو ویروس شماره‌های ۲ و ۵، در موقعیت ۱۴۳ پروتئین VP۱ اسید آمینه ایزولوسین در ویروس شماره ۲ با اسید آمینه والین (I→V) و در ویروس شماره ۵ با ترئونین (I→T) جانشین شده است..جدول شماره ۳، جانشینی‌های اسید آمینه‌ای ۵ پولیوویروس جدا شده را نشان می‌دهد.

جدول ۳: موقعیت و نوع جانشینی اسید آمینه در پروتئین VP1 در هر یک از پولیوویروسهای جدا شده در مقایسه با استرین سابین مرجع متناسب با تایپهای ۱ و ۲

اسید آمینه

موقعیت اسید آمینه در پروتئین VP1	AY۰۸۲۶۸۸	۱	۳	۴	AY۰۸۲۶۷۹	۲	۵
۱۴۹	هیستیدین	تیروزین					
۱۰۶	ترئونین		آلانین				
۹۰	I			لوسین			
۱۴۳					ایزولوسین	والین	ترئونین

بحث

بیشتر ویروسهای دارای RNA، ژنومهایی با قدرت جهش زایی هستند و در میان آنها پولیوویروسها سریع‌ترین میزان تغییرات در ژنوم را شامل می‌شوند(۹). هر چند این خصوصیت منجر به تولید واکسن خوراکی از ویروسهای زنده ضعیف شده سابین گردید اما همین ویژگی در موارد اندکی منجر به وقوع جهش‌های متعدد و ظهور پولیوویروسهای برگرفته از واکسن(VDPVs) می‌شود. این ویروسها به نوبه خود در شرایط خاصی می‌توانند بحالت بیماری‌زا برگشت نمایند(۱۰). پولیومیلیت ناشی از این ویروسهای برگرفته از واکسن تحت عنوان پولیومیلیت فلجی مربوط به واکسن نامیده می‌شود(VAPP). در اغلب موارد پولیومیلیت مربوط به واکسن عفونت با ویروسهای مشابه OPV(با کمتر از ۱٪ تفاوت در ناحیه VP1 در مقایسه با استرین سابین) تایپ ۳ و بعد تایپ ۲ می‌باشد(۷). سابین ۱ بندرت در افراد با سیستم ایمین سالم با پولیومیلیت فلجی مربوط به واکسن مطرح می‌شود. وقوع ۵۴ جهش نقطه‌ای در سرتاسر ژنوم موجب افتراق سابین ۱ ا ز ویروس وحشی والد ماهونی گردیده است(۷ و ۱۱). از شناخته‌شدن جهش‌های حیاتی و مهم در نوکلئوتیدهای ناحیه غیر کد کننده `۵ در هر یک از سروتایپهای پولیوویروس سالها می‌گذرد (نوکلئوتید ۴۸۰ در پولیو ۱، نوکلئوتید ۴۸۱ در پولیو ۲ و نوکلئوتید ۴۷۲ در پولیو۳) (۱). اما اطلاعات اخیر بر اهمیت شاخصهای دیگری علاوه بر این نوکلئوتیدها در تضعیف پولیوویروسها دلالت دارند(۱) و همین اطلاعات پژوهشگران را بر آن داشت تا جهت شناسایی جهش‌هایی در سایر بخشهای ژنوم پولیوویروسها تحقیقات وسیع‌تری انجام دهند. یکی از این نواحی مورد بررسی ناحیه VP۱ است که چندین مکان آنتی ژنیک اختصاصی سروتایپ را رمزدهی می‌کند(۷). بر این اساس از سال ۲۰۰۱ آزمایشگاه‌های پیشرفته وابسته به سازمان بهداشت جهانی ناحیه VP۱ ژنوم پولیوویروسهای برگرفته از واکسن جدا شده از موارد فلج شل حاد را توالی‌یابی می‌کنند. در کشور ما آخرین مورد پولیوویروس وحشی بومی در سال ۱۳۷۶ و آخرین پولیوویروس وحشی وارداتی در سال ۱۳۷۹ جدا گردید (۸). در طی سالهای ۸۱-۱۳۸۰ از بین نمونه‌های مدفوع موارد فلج شل حاد که به آزمایشگاه کشوری تشخیص فلج اطفال در دانشکده بهداشت دانشگاه تهران بخش ویروس‌شناسی ارسال شدند، ۵ بیمار به فلج باقیمانده مبتلا شده بودند و در تستهای اولیه نظیرمیکرونوترالیزاسیون و آزمایشات افتراق درون تایپی از آنان پولیوویورسهای مشابه واکسن جدا گردیده بود. جهت بررسی بیشتر ناحیه VP1ا آنان توالی یابی گردید. در تجزیه و تحلیل ژنومی در ویروس شماره ۱ در مقایسه با ویروس سابین تایپ ۱ مرجع، ۴ جانشینی نوکلئوتیدی در ناحیه VP۱ مشاهده گردید (A۳۲۵۵G، C۲۹۲۷T، C۲۷۰۹T و A۲۶۶۱T) که حاصل تنها یکی از این تغییرات نوکلئوتیدی جانشینی اسید آمینه هیستیدین به تیروزین (H→Y) در موقعیت ۱۴۹ پروتئین VP۱ بوده است هر چند، این جانشینی اسید آمینه ای تاکنون توسط محققین دیگر شناسایی نشده است و از موقعیت آن در شکل فضایی پروتئین VP۱ و نقش احتمالی این اسید آمینه در فرآیندهایی که در چرخه تکثیر ویروس بر عهده دارد اطلاعات دقیق در دست نیست اما این حقیقت که بیمار مربوطه از فلج باقیمانده بعنوان پیامد بالینی جهش‌های رخ داده در ژنوم پولیوویروس واکسن رنج می‌برده است گواهی است بر نقش احتمالی این تغییر اسید آمینه‌ای در بیماری زایی پولیوویروس جدا شده. هر چند که امکان وجود جهش‌هایی در نواحی دیگر ژنوم این ویروس را نیز نمی‌توان نادیده گرفت. در ویروس شماره ۳، در مقایسه با ویروس سابین مرجع تایپ ۱، ۲ جانشینی نوکلئوتیدی (A۳۰۵۴G و A۲۷۹۷G) مشاهده گردید که تنها یکی از آنها منجر به تغییر اسید آمینه ۱۰۶ در پروتئین VP1 گردیده بود (.ترئونین به آ لانین) و در ویروس شماره ۴ تنها یک جانشینی نوکلئوتیدی (A۲۷۴۹T) و یک تغییر اسید آمینه در موقعیت ۹۰ پروتئین VP۱ (ایزولوسین به لوسین) مشاهده گردید. این دو تغییر اسید آمینه‌ای ($T \xrightarrow{106} A$ و $I \xrightarrow{90} L$) بعنوان جهش‌های شناخته شده برگشتی به حالت وحشی تایپ ۱ ماهونی بشمار می‌روند (۱۲). براساس مطالعات سایر پژوهشگران این اسید آمینه‌ها در کف حلقه BC از پروتئین VP۱ قرار گرفته‌اند و تغییرات در آنها سبب تغییرات مهمی در پایداری در مقابل حرارت، واکنش‌های ویروس_گیرنده و ورود ویروس به سلول می‌گردد(۱۶-۱۳).

در پولیو ویروسها ی شماره ۲ و ۵ در مقایسه با ویروس سابین مرجع تایپ ۲، به ترتیب ۱ (A۲۹۰۸G) و ۲ (C۳۲۳۱T و T۲۹۰۹A) جانشینی نوکلئوتیدی در ناحیه VP۱ رخ داده بود که منجر به تغییر در اسید آمینه ۱۴۳ در پروتئین VP۱ گردیده بود. این تغییر اسید آمینه‌ای به ترتیب ویروس شماره ۲: ایزولوسین به والین و در ویروس شماره ۵: ایزولوسین به ترلونین می‌باشد. اسید آمینه ۱۴۳ بعنوان یک ناحیه حفاظت شده در پروتئین VP۱ مطرح می‌باشد و تغییر در آن موجب تغییر ساختار سطح ویروس و افزایش بر همکنش ویروس با سلولهای عصبی در مقایسه با سلول های اپیتلیال میگردد(۱۷و۱۸). از سویی برخی پژوهشگران این اسید آمینه را (ایزولوسین در پروتئین VP۱ استرین سابین تایپ ۲) در پایداری ویروس مورد بررسی قرار داده‌اند. در مطالعات دیگری که بر روی واریانتهای تایپ ۲ سابین با تغییرا ت مشابه انجام گرفته است تلقیح این واریانتها به موش و میمون موجب بروز فلج در آنها گردیده است(۱).

نتیجه گیری

هم زمان با پیشرفت‌های چشمگیری که در جهت ریشه‌کن کردن پولیومیلیت در سطح جهانی انجام می‌گیرد بررسی و نظارت دقیق و پی گیری موارد پولیومیلیت ناشی از ویروسهای واکسن از اهمیت روزافزونی برخوردار می‌گردد باید خاطر نشان کرد که پولیومیلیت فلجی مربوط به واکسن هر چند نادر اما پیامد بالینی و مستقیم ناپایداری‌های ژنومی استرینهای سابین است. تحقیقاتی از این دست که موجب شناسایی جهش‌های منجر به بیماری زایی واکسن می‌گردند می‌توانند در تجزیه و تحلیل پاتوژنز مولکولی پولیوویروسها و در پی آن اتخاذ بهترین سیاست در چگونگی توقف ایمن‌سازی در برابر این ویروسها مفید واقع شوند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله سپاس و قدردانی فراوان خود را از آقای دکتر اولن کیو (Olen-Kew)و آقای دکتر دیوید کیلپاتریک (David Kilpatrick) و همکارانشان در مرکز کنترل و پیشگیری از بیماریها (CDC) برای همکاری صمیمانه‌شان در انجام توالی یابی ویروسهای جدا شده به عمل می‌آوریم. هم چنین مراتب تشکر خود را از جناب آقای دکتر طاها موسوی و همکارانشان در مرکز کنترل بیماریها در وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی که ما را در تکمیل اطلاعات مورد نیاز درمورد بیماران یاری رساندند، اعلام می‌داریم. این پروژه توسط دانشکده بهداشت دانشگاه تهران گروه پاتوبیولوژی، بخش ویروس‌شناسی مورد حمایت قرار داشته است.

REFERENCES

1. Pallansch MA, Rogs RP. Enteroviruses: Polioviruses, coxscackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. Field's virology, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilins 2001, 723-775.

2. Racaniello VR. Picornaviridae: The viruses and their replication. Field's virology, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2001, 685-722.

3. Racaniello VR, Ren R. Poliovirus biology and pathogenesis. Curr Top Microbiol Immunol 1996; 206: 305-325.

4. Li CP, Schaeffer M. Isolation of a non-neurotropic variant of type l poliomyelitis virus. Pronc Soc Exp Biol Med 1995; 87:148-153.

5. F.Fredrich. molecular evolution of oral poliovirus Vaccine strains during multiplication in humans and possible implications for global eradication of poliovirus. Acta Virologica 2000;44:109-117.

6. Kew O.M, B.K Nottay, M.H. hatch. Multiple Changes can occur in the oral polio vaccine upon replication in humans). Gen Virol 1981; 56:337-347.

7. Kew O.M, Roland W.Sutter, Esther M. de Gourville, Walker. R. Dowdle and Mark a. Pallansch. Vaccine – derived polioviruses and endgame strategy for global polio eradication. Annu Rev Microbiol 2005, 59: 587-635.

8. MMWR; Dec 14,2001.

9. Gavrilin GV, Cherkasova EA, Lipskaya GY, Kew OM, Agol VI, Evolution of circulating wild poliovirus and of vaccine derived poliovirus in an immunodeficient patient: a unifying model – J Virol 2000; 47: 7381-7390.

10. Fine PEM, Carneiro IAM, Transmissibility and persistence of oral polio vaccine viruses: implications for the global poliomyelitis eradication initiative. Am J Epidemiol 1999; 150: 1001-1021.

11. Esteves K. Safety of oral poliomyelitis vaccine results of WHO enquiry. Bull WHO 1998; 66: 739-746.

12. Christodoulou C, T. Horaud. Mapping of mutations associated with neurovirolence in monkeys infected with Sabin 1 poliovirus revertants selected at high temperature. I virol 1990; 64, 4922-4929.

13. Belnap D.M., B.M. Mc Dermott, Jr. D.J Filman, N.Cheng, B.L.Trus, H.J Zuccola et al., Three dimensional structure of poliovirus receptor bound to poliovirus. Proc Natl Acad Sci 2000; 97: 73-78.

14. Bouchard M.J, D.H. Lam, V.R Racaniello Determinants of attenuation and temperature sensitivity in the type 1 poliovirus Sabin vaccine. J virol 1995, 69: 4972-4978.

15. Martin J, Minor Philip D, characterization of CHAT and COX type 1 live attenuated poliovirus vaccine strains. UI Virol 2002; 76:5339-5349.

16. Wien M.W, S. curry, D.J. Filman, J.M. Hogle- Structural Studies of poliovirus mutants that overcome receptor defect. Nat Struct Biol 1997;4:666-674.

17. M. Equestre, D. Genovese, F.Cavalieri. Identification of a consistent pattern of mutations in neurovirulent variants derived from the Sabin Vaccine Strain of Poliovirus type 2.. J Virol 1991; 65:2707-2710.

18. Stuart R. Pollard,Glyris Dunn, Nicholas Cammeck. Nucleotide sequence of a neurovirulent variant of the type 2 oral poliovirus vaccine. J Virol 1987; 63: 4949-4951.