

## Streszczenie w języku polskim

Toksoplazmoza jest chorobą pasożytniczą wywołowaną przez pierwotniaka *Toxoplasma gondii*. Ten oportunistyczny, wewnątrzkomórkowy pasożyt jest rozpowszechniony na całym świecie i szacuje się, że około 30% populacji ludzkiej jest nosicielem pierwotniaka. Parazytoza jest niebezpieczna dla osób z niedoborami odporności, w przypadku których może prowadzić do stałego uszczerbku na zdrowiu lub nawet śmierci. Pasożyt może namnażać się we wszystkich jądrzastych komórkach żywiciela, choć posiada wysoki tropizm do ośrodkowego układu nerwowego. Pierwotniak posiada złożony cykl życiowy, a jego ostatecznymi żywicielami są kotowate, u których zachodzi rozmnażanie płciowe *T. gondii*. Ludzie zarażają się pasożytem najczęściej spożywając oocysty, wydalone przez kota, obecne w glebie lub wodzie oraz cysty tkankowe znajdujące się w mięsie zarażonych zwierząt. Możliwa jest także transmisja przez łożysko, co może prowadzić do poronień lub poważnych wad rozwojowych płodu. Toksoplazmoza może powodować również istotne straty finansowe w przypadku hodowli zwierząt.

Nie istnieje żadna dostępna szczepionka przeciw toksoplazmozie do zastosowania u ludzi, a jedyna weterynaryjna szczepionka posiada znaczne ograniczenia w stosowaniu. Z tego powodu prowadzone są intensywne badania w celu opracowania skutecznej szczepionki mogącej chronić przed ostrą i przewlekłą toksoplazmozą.

Diagnostyka toksoplazmozy opiera się najczęściej na badaniach serologicznych, polegających na wykrywaniu przede wszystkim swoistych przeciwciał IgG i IgM, rozpoznających natywne białka pasożyta. Metoda oparta na natywnych antygenach pasożyta ma natomiast pewne ograniczenia, dlatego dużym zainteresowaniem cieszą się rekombinowane białka pasożyta, jako alternatywa dla obecnie stosowanego preparatu antygenowego.

Powyższe problemy były motywacją do prowadzenia badań, ujętych w niniejszej rozprawie doktorskiej, których celem była ocena właściwości immunogennych jak i immunoprotekcyjnych rekombinowanych antygenów *T. gondii* oraz określenie ich przydatności w serodiagnostyce toksoplazmozy.

Przetestowano łącznie 18 nowo opracowanych rekombinowanych chimerycznych białek i jeden pojedynczy antygen *T. gondii* w celu wykrycia swoistych przeciwciał IgG w surowicach zarażonych ludzi i zwierząt. Wykazano wysoki potencjał diagnostyczny większości opracowanych białek, osiągając 100% czułości i swoistości w pośrednim teście ELISA. Efektywność badanych antygenów w wykrywaniu przeciwciał klasy IgG była zbliżona lub taka sama jak antygenów natywnych pasożyta, używanych obecnie w diagnostyce.

Sprawdzono także właściwości immunogenne i immunoprotekcyjne rekombinowanych chimerycznych białek *T. gondii* złożonych z 3 lub 4 różnych antygenów pasożyta: SAG2-GRA1-ROP1 (SGR) oraz SAG1-MIC1-MAG1-GRA2 (SMMG). Do tego celu użyto mysiego modelu eksperymentalnej toksoplazmozy. Wykazano, że białka te podane z bezpiecznym adiuwantem, odpowiednikiem adiuwantu dozwolonego do użytku u ludzi, są wysoce immunogenne i indukują długo utrzymującą się odpowiedź poszczepienną typu mieszanego Th1/Th2, prowadzą do istotnego zahamowania rozwoju pasożyta po zarażeniu immunizowanych zwierząt.

Obiecujące wyniki uzyskane dla rekombinowanych antygenów SGR i SMMG były przesłanką do opracowania szczepionek DNA opartych na plazmidach kodujących te białka. Ponownie zwierzęta immunizowano rekombinowanymi plazmidami, samymi lub w kompleksie z opracowanymi nośnikami liposomalnymi, by następnie ocenić efektywność szczepienia. Testowane szczepionki DNA nie wykazały tak wysokiej skuteczności jak białka rekombinowane i ostatecznie uzyskano znacznie słabszy poziom ochrony przed zarażeniem *T. gondii*.

Z 18 nowo opracowanych rekombinowanych chimerycznych antygenów, użytych do testów diagnostycznych, wybrano pięć do określenia ich właściwości immunogennych i immunoprotekcyjnych na mysim modelu *in vivo*. Wykazano wysoką efektywność szczepienia badanymi antygenami, uzyskując odpowiedź typu mieszanego Th1/Th2 oraz istotne zahamowanie inwazji pasożytniczej u szczepionych myszy. Zaobserwowano również przewagę chimerycznych antygenów triwalentnych nad diwalentnym.

Badania efektywności szczepień rekombinowanymi antygenami rozszerzono dodatkowo o panel testów *in vitro*, m.in. aktywacji mechanizmów odpowiedzi

wrodzonej, w celu pełniejszego określania immunogenności danego antygeny, co może w przyszłości umożliwić skuteczną preselekcję antygenów szczepionkowych.

Na podstawie uzyskanych wyników wytypowano antygeny o wysokiej przydatności diagnostycznej oraz dużym potencjale immunogennym, co może stanowić podstawę dalszych badań, mających na celu zwiększenie ich efektywności, co w przyszłości może przyczynić się do ulepszenia stosowanych metod wykrywania inwazji *T. gondii* oraz opracowania skutecznej immunoprofilaktyki toksoplazmozy.