

Pomimo programów masowych szczepień wirus zapalenia wątroby typu B (HBV) pozostaje **główną przyczyną chorób wątroby**, głównie w krajach rozwijających się. Ludność w tych krajach jest również narażona na wiele innych chorób wywoływanych przez wirusy, bakterie i pasożyty, zbiorczo nazywanych Zaniedbanymi Chorobami Tropikalnymi (ang. Neglected Tropical Diseases, NTDs), które mogą mieć znaczący wpływ na szczepienie przeciw HBV. Dlatego też szczególnie pożądane są skuteczne terapie przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (ang. Chronic Hepatitis B, CHB), zarazem stosunkowo takie i powszechnie dostępne, również dla pacjentów ze współistniejącymi chorobami.

Obecnie badane terapie, w tym **szczepionki terapeutyczne przeciw CHB** polegają na przywróceniu komórkowej odpowiedzi immunologicznej przeciwko HBV, wspartej przez odpowiedź humoralną, czyli wytwarzaniem swoistych przeciwciał. Głównym składnikiem testowanych szczepionek terapeutycznych jest antygen rdzeniowy HBV (HBcAg), wywołujący głównie reakcję typu Th1 - rozwijającą się w odpowiedź komórkową, który można uzupełnić podjednostkami antygeny powierzchniowego HBV (HBsAg), będących induktorami głównie odpowiedzi typu Th2 - humoralnej.

Wytwarzane w roślinach antygeny HBV złożone w cząstki wirusopodobne (ang. Virus-Like Particles, VLPs) również okazują się skutecznymi szczepionkami. Nasze ostatnie wyniki wykazały, że HBcAg lub S-HBsAg (mały HBsAg) wytworzone w roślinach, a następnie oczyszczone lub biokapsułkowane w liofilizowanej tkance - wywołują ogólnoustrojową odpowiedź immunologiczną ze znacząco podwyższonym mianem swoistych przeciwciał. Profil tzw. podklas przeciwciał klasy IgG wskazywał głównie odpowiedź typu Th1 lub Th2, odpowiednio dla HBcAg lub S-HBsAg. **Obiecujące wyniki** uzyskane osobno dla S-HBsAg i HBcAg **uzasadniają dalsze kompleksowe badania nad szczepionką dwu-antygenową**

W proponowanym projekcie planujemy **kompleksowe badanie immunogenności HBcAg i S-HBsAg pochodzenia roślinnego, ko-aplikowanych wg schematu iniekcyjnego pierwotnego szczepienia (primingu) i niskodawkowego doustnego szczepienia przypominającego (boostingu)**. Chcemy ocenić wzajemny wpływ **równocześnie indukowanych typów odpowiedzi Th1 i Th2 na ogólną odpowiedź immunologiczną** u myszy jako zwierząt modelowych. Chcemy również zbadać, **czy i jak infekcja modelowym pasożytem (*Fasciola hepatica*) wpływa na skuteczność szczepionki dwu-antygenowej**, ponieważ ko-infekcja HBV i pasożytami jest częstym scenariuszem w krajach rozwijających się. Naszym celem jest rozpoznanie strategii immunizacji do terapii CHB, możliwej do szerokiego stosowania, także dla osób ze współistniejącymi chorobami.

Zakładamy, że **ko-immunizacja iniekcyjno-doustna za pomocą dwu-antygenowej szczepionki HBcAg/S-HBsAg pochodzenia roślinnego jest realnym alternatywnym sposobem indukowania odpowiedzi immunologicznej typu Th1 i następnie komórkowej, uzupełnionej odpowiedzią typu Th2, a następnie humoralną, wymaganych do potencjalnej terapii CHB**. Innowacyjna strategia polega na zastosowaniu antygenów bio-kapsułkowanych w tkance roślinnej, które mają być podawane doustnie jako szczepionka przypominająca, zamiast powtarzania zastrzyków. Wg naszej **hipotezy badawczej**, dzięki iniekcyjnemu szczepieniu pierwotnemu, antygeny podawane doustnie w niskiej dawce przypominającej mogą oddziaływać w krezkowych węzłach chłonnych (ang. Mesenteric Lymph Nodes, MLNs) – wchodzących w skład układu immunologicznego z jelita, z już uwrażliwionymi limfocytami. W związku z tym dominuje odpowiedź ogólnoustrojowa, natomiast odpowiedź śluzówkowa (w tym tolerancja doustna) jest zmniejszona. Następnie jednoczesna ekspozycja na HBcAg i S-HBsAg wywoła odpowiedź typu mieszanego - Th1/Th2 czyli komórkowo-humoralną. Przypuszczamy również, że dzięki takiej immunizacji odpowiedź Th1/Th2 będzie się rozwijać, nawet przy dominującej polaryzacji Th2 układu odpornościowego powstałej w wyniku infekcji pasożytniczej. Planujemy również przetestować **ulepszone preparaty HBcAg i S-HBsAg**, pod kątem bardziej skutecznej produkcji antygenów i ich postaci, tj. o zwiększonej przepuszczalności względem komórek, co w założeniu zwiększy ich immunogenność. Wpływ wszystkich tych czynników na odpowiedź immunologiczną Th1/Th2 będzie określony za pomocą kompleksowych analiz: **komórkowej odpowiedzi immunologicznej** (białych krwinek, subpopulacji limfocytów oraz produkcji cytokin - immunomodulatorów) oraz **odpowiedzi humoralnej** (przeciwciał swoistych dla HBc i SHBs w surowicy i wydzielniczych przeciwciał IgA), zarówno **na poziomie lokalnej** - w MLNs, jak i **ogólnoustrojowej** - we krwi i śledzionie, **odpowiedzi immunologicznej**.

Sądzymy, że planowane badania podstawowe dostarczą nowych danych na temat interakcji między różnymi rodzajami antygenów i wywoływanej odpowiednio odpowiedzi typu Th1 - komórkowej i Th2 - humoralnej. Analiza MLNs umożliwi określenie wzajemnego wpływu iniekcyjnej i doustnej drogi dostarczenia antygenów na skuteczność immunizacji. Dane te mogą być kluczowe dla wyjaśnienia mechanizmów immunizacji doustnej, szczególnie przy użyciu szczepionek pochodzenia roślinnego. Wreszcie, wpływ współistniejącej infekcji pasożytniczej zostanie zbadany w odniesieniu do szczepień terapeutycznych. Podsumowując, zdobyta wiedza na temat odpowiedzi immunologicznej wywołanej przez nową szczepionkę dwu-antygenową będzie ważna dla immunologii, szczepionki, biopharmingu, terapii CHB i zdrowia publicznego.