

Toxoplasma gondii – pasożyt znany i nieznan¹

Toxoplasma gondii – known and unknown parasite

Henryka Długońska

Zakład Immunoparazytologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; E-mail: hdlugo@biol.uni.lodz.pl

ABSTRACT. The protozoan *Toxoplasma gondii*, described by Nicolle and Manceaux in 1908, is a ubiquitous and cosmopolitan parasite that infects a wide range of mammal and bird species. Although the parasite possesses a meiotic life-cycle phase it represents very unusual population structure comprising three archetypal clonal lines: I, II and III, which together account for over 95% of strains isolated in Europe and North America. The isolates from South America are more genetically diverse. Molecular phylogeny studies and phenotype analyses showed recently 11 successful parasite lineages (haplogroups) of different global distribution. Individual *T. gondii* strains vary strongly in their virulence which is very well defined in mice: there are extremely virulent strains (of RH type) with LD₁₀₀=1 and low virulent strains (LD₅₀≥1000), without any intermediate virulence strains. The article presents some recent data on the population structure and virulence of the parasite, mapping of virulence loci and new identified rhoptry antigens (ROP18 and ROP16) as major virulence components.

Key words: *Toxoplasma gondii*, population structure, virulence

Wstęp

W 1908 roku Nicolle i Manceaux opisali pierwotniaka *Toxoplasma gondii*, wykrywając infekcję tym pasożytem u gundii, północnoafrykańskiego gryzonia. Toksoplazma jest bezwzględnie wewnątrzkomórkowym patogenem, który zasiedla organizmy zwierząt stałocieplnych oraz ludzi z wyjątkowo wysoką częstością, osiągającą w niektórych lokalnych populacjach prawie 100%. Mimo intensywnych badań i obfitej puli wyników uzyskanych w ciągu 100 lat, ten powszechny i kosmopolityczny pasożyt, nie przestaje intrygować parazytologów. Artykuł porusza problem niezwyklej struktury populacyjnej *T. gondii* i zróżnicowanej wirulencji licznych szczepów, związanej m.in. z nowo zidentyfikowanymi czynnikami zjadliwości, białkami wydzielanymi przez roptrie: ROP18 i ROP16.

Struktura populacyjna *T. gondii*

Z braku śladów kopalnych, badania nad filogenezą pierwotniaków typu Apicomplexa opierają się na metodach molekularnych, w tym głównie na analizie pokrewieństwa podjednostki mniejszej rRNA. Wyniki tej analizy wskazują, że pierwotniaki typu Apicomplexa wyewoluowały ok. miliarda lat temu. Przodek grupy kokcydiów wytwarzających cysty, obejmującej rodzaje: *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, *Hammondia* i *Besnoitia*, wyłonił się ok. 250 mln lat temu, natomiast sam gatunek *T. gondii* wyodrębnił się przed 10 mln lat [1]. *Toxoplasma gondii* jest organizmem haploidalnym. Genom tego pasożyta stanowi 14 chromosomów (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VIIa, VIIb, VIII, IX, X, XI, XII), o zróżnicowanej fizycznej pojemności informacji mierzonej liczbą par zasad – od 1,8 Mb (chromosom Ia) do >7 Mb (chromosom X), łącznie ok. 65 Mb. Mapa genomu

¹Praca prezentowana w formie referatu na 47. Dniu Klinicznym Parazytologii Lekarskiej w Łodzi 4 kwietnia 2008 r. Została dofinansowana z projektu badawczego MNiSW N N302 3196 33

jest cennym źródłem informacji i może stanowić podstawę kompleksowych badań nad infekcyjnością i transmisją pasożyta oraz jego opornością na leki [2].

Mimo rozprzestrzenienia na całej kuli ziemskiej i zdolności do zarażania niemal wszystkich gatunków ptaków i ssaków, zróżnicowanie genetyczne *T. gondii* jest wyjątkowo małe [3]. Chociaż toksoplazma rozmnaża się w sposób płciowy, to struktura populacji tego pasożyta jest zdecydowanie klonalna. Trzy linie klonalne (nazwane I, II i III) obejmują łącznie ponad 95% szczepów izolowanych w Europie i Ameryce Północnej. Małe zróżnicowanie genetyczne wskazuje, że większość szczepów powstała wskutek jednej lub kilku rekombinacji między bardzo podobnymi szczepami rodzicielskimi [4]. Z badań molekularnych wynika, że klonalna struktura gatunku *T. gondii* została zainicjowana przed około 10 000 lat. W świecie mikroorganizmów klonalność nie jest wprawdzie zjawiskiem rzadkim, ale szczególność przypadku toksoplazmy polega na tym, że pojedyncze loci trzech dominujących linii cechuje brak polimorfizmu, zawierają one jeden z dwóch alleli. Co więcej, allele te wykazują ok. 98% identyczności na poziomie nukleotydowym [1]. Prosty dymorfizm alleli stwierdzono w przypadku wielu genów, m.in. głównego antygeny powierzchniowego postaci tachyzoitu, SAG1 (Surface AntiGen 1) [5] i antygeny wydzielniczego GRA4 (dense GRANule Antigen 4) [6]. Szczegółowa analiza genetyczna wykazała, że zmienność w obrębie pojedynczej linii klonalnej linii jest bardzo mała, z wyjątkiem wysoce polimorficznych markerów mikrosatelitarnych [7]. W odróżnieniu od szczepów europejskich i północnoamerykańskich, szczepy izolowane z Ameryki Południowej cechuje duża różnorodność [8].

Na podstawie analizy sekwencji mikrosatelitarnych szczepów *T. gondii* wyizolowanych od kurczaków żyjących na różnych kontynentach (poza fermami) wyodrębniono 4 główne populacje *T. gondii*: SA1 i SA2 – endemiczne w Ameryce Południowej, WW – kosmopolityczną i RW – wspólną dla wszystkich kontynentów z wyjątkiem Ameryki Południowej [9]. Z kolei ostatnie badania nad strukturą populacyjną *T. gondii*, oparte na sekwencji intronów w genomie oraz rozpowszechnieniu i dziedziczeniu monomorficznego chromosomu Ia, doprowadziły do wyodrębnienia 11 haplogrup, spośród których trzy (1, 2, 3 lub inaczej I, II i III) występują niemal wyłącznie w Europie i Ameryce Północnej, pięć (4, 5, 8, 9 i 10) występuje głównie w Ameryce Połu-

dniowej, a jedna (6) jest rozprzestrzeniona na całym świecie. Sądzi się, że te 11 haplogrup jest skutkiem wymieszania materiału genetycznego 4 wyjściowych populacji, odpowiadających obecnym haplogromom: 2, 4, 6 i 9. Przez porównanie genów chromosomu Ia i Ib w liniach klonalnych 1, 2 i 3 stwierdzono ponadto, że wszystkie trzy linie mają, w odróżnieniu od innych, monomorficzny chromosom Ia. Sukces biologiczny niewielu linii klonalnych *T. gondii* jest najprawdopodobniej związany z przenoszeniem pasożyta na drodze oralnej. Efektywne przenoszenie tego rodzaju wykazano u wszystkich haplogrup, z bardzo nielicznymi wyjątkami w haplogrupach 4, 6a i 7. Co również ciekawe, ostra zjadliwość jest nie tylko cechą haplogrupy 1, ale również szczepów południowoamerykańskich z haplogrup 4, 5, 6b, 8 i 9, a więc jest to cecha ewolucyjnie stara [2].

Utrzymywanie się struktury klonalnej *T. gondii* w naturze jest prawdopodobnie skutkiem dwóch szczególnych cech cyklu życiowego tego pasożyta. Po pierwsze, pojedynczy organizm jest w stanie przejść pełny rozwój płciowy, podczas którego samozapłodnienie zachodzące w enterocytach kota prowadzi do powstania infekcyjnych oocyst. Prawdopodobieństwo równoczesnego zarażenia kota różnymi szczepami jest małe, co ogranicza częstość rekombinacji genetycznych. Po drugie, cysty tkankowe generowane u żywicieli pośrednich są infekcyjne, co umożliwia nieograniczoną transmisję pasożyta w obrębie łańcucha pokarmowego i tym samym eliminuje konieczność rozmnażania drogą płciową [10]. Jak zauważa Sibley [1], toksoplazma jest modelowym przykładem szybkich i znaczących zmian w złożonym cyklu rozwojowym, zainicjowanych udomowieniem zwierząt. Podczas rekombinacji genów w cyklu płciowym powstała kiedyś taka ich kompozycja, która zdeterminowała infekcyjność cyst tkankowych po ich transmisji drogą pokarmową.

Zjadliwość

Mimo wyjątkowo dużego podobieństwa genetycznego (ok. 98%), szczepy *T. gondii* linii I, II i III różnią się fenotypowo, m.in. pod względem zjadliwości. Wirulencja szczepów *T. gondii* jest określana z reguły jako LD50 dla myszy laboratoryjnych. To, co jest zaskakujące, to fakt, że wszystkie wyizolowane i testowane u myszy szczepy należą tylko dwóch ekstremalnych grup: a) szczepy wysoce zjadliwe, określane jako szczepy typu RH (od bardzo

dobrze scharakteryzowanego szczepu RH wyizolowanego przez Sabina w 1939 r.), których dawka LD100=1 pasożyt oraz b) szczepy słabo zjadliwe, dla których LD50≥1000. Brak szczepów o pośredniej zjadliwości [3]. Do charakterystyki szczepów linii I, II i III zamieszczonej w Tabeli 1 należy dodać, że o ile zjadliwość szczepów linii I nie zależy od genotypu żywiciela, to dawki LD50 szczepów linii II i III są zmienne i zależne zarówno od podatności żywiciela, jak i drogi zarażenia [11].

Sibley i wsp. [12] szczegółowo przeanalizowali problem zjadliwości, weryfikując doświadczalnie różne hipotezy robocze. Pierwsza z nich zakładała, że krańcowo wysoka zjadliwość szczepów linii I jest spowodowana ich krótszym czasem duplikacji (Td, Time of duplication). Autorzy przedstawili krzywe wzrostu *in vitro* szczepów: RH (linii I), PTG (linii II) i CTG (linii III). Szczep RH namnażał się nieco szybciej niż pozostałe, zarówno w mysich makrofagach, jak i ludzkich fibroblastach. Podobne obserwacje poczynili Boothroyd i Grimm [13] – tachyzoity szczepów linii I dzieliły się w fibroblastach ludzkiego napletka *in vitro* o 1/3 intensywniej niż tachyzoity szczepów linii II i III. Takiej zależności nie zaobserwowano w przypadku dwóch wariantów danego szczepu. Nischik i wsp. [14] stwierdzili, że wariant atenuowany szczepu BK (linii I), o obniżonej zjadliwości wskutek długotrwałego pasażowania *in vitro*, namnaża się w hodowli tkankowej szybciej niż wariant zjadliwy tego szczepu, namnażany przez pasaż u myszy. Tak więc wydaje się, że zaobserwowane różnice w tempie replikacji *in vitro* nie tłumaczą ogromnych różnic w zjadliwości. Być może większe znaczenie niż tempo replikacji ma czas utrzymywania się infekcyjności u pozakomórkowych tachyzoitów, dłuższy u szczepów linii I niż linii II i III, co pozwala tym pierwszym bardziej skutecznie się rozprzestrzeniać [15]. Ponadto stwierdzono, że czas duplikacji toksoplazmy jest zależny od stadium rozwojowego i rundy replikacyj-

nej. Tachyzoity uwolnione z komórek zarażonych sporozoitami *T. gondii* linii III dzieliły się intensywnie przez 20 rund (Td=6 h), a potem tempo wzrostu malało (Td=15 h). Zwolnienie tempa wzrostu *in vitro* korelowało z pojawieniem się markera antygenowego bradyzoitów (BAG1, Bradyzoite Antigen 1) i obniżeniem zjadliwości [16]. Sibley i wsp. [12] sprawdzali doświadczalnie jeszcze inną hipotezę roboczą: szczepy linii I mają większy potencjał wzrostu *in vivo* prowadzący do większego plonu potomnych pierwotniaków, większego rozsiania w organizmie i wskutek tego większego „obciążenia” pasożytami tkanek żywiciela. Również ta hipoteza nie została przez autorów pozytywnie zweryfikowana. Natomiast Saeij i wsp. [15, 17], stosując bardzo efektywną technikę bioluminescencji pasożytów znakowanych lucyferazą zaobserwowali, że tempo wzrostu i rozsianie pasożytów podczas infekcji *in vivo* są wprost proporcjonalne do zjadliwości szczepu, a odwrotnie proporcjonalne do ekspresji genów typowych dla bradyzoitów, np. genu BAG1. Być może, że różnice szczepowe w zjadliwości wynikają ze zróżnicowanej zdolności do migracji, która sprzyja rozprzestrzenianiu się pasożyta w organizmie. Szczepy linii I odznaczały się większą zdolnością przenikania *ex vivo* przez mysie jeli to oraz bezpośredniego wnikania do lamina propria i śródbłonna naczyń [18]. Wreszcie Sibley i wsp. [12] założyli, że wysoka wirulencja niektórych szczepów *T. gondii* (typu RH) jest, być może, skutkiem niedostatecznej indukcji ochronnej odpowiedzi immunologicznej. Doświadczalne potwierdzenie tejże hipotezy przyniosło niejednoznaczne wyniki. Letalnym infekcjom zarówno wysoce zjadliwym szczepem RH (linii I), jak i słabo zjadliwym szczepem PTG (linii II) towarzyszył niezmiernie wysoki poziom cytokin prozapalnych TH1 (IL-18, IL-12, IFN-γ, TNF-α) oraz uszkodzenie wątroby i degeneracja tkanki limfatycznej [19], natomiast małe (subletalne) dawki szczepu PTG powo-

Tabela 1. Szczepy *Toxoplasma gondii* – zróżnicowanie klonalne i zjadliwość

Table 1. *Toxoplasma gondii* strains – clonal diversity and virulence

Szczepy	Linia klonalna	Charakterystyka
Wysoce zjadliwe	I	LD100 dla myszy = 1 żywy organizm (minimalna dawka infekcyjna = minimalna dawka śmiertelna), powodują infekcje głównie u ludzi
Słabo zjadliwe	II	LD50 dla myszy z reguły ≥ 1000 powodują infekcje przewlekłe zarówno u ludzi, jak i u zwierząt
	III	w większości powodują infekcje u zwierząt

dowały słabszą stymulację syntezy cytokin, z umiarkowanym uszkodzeniem tkanek. Rozstrzygające wydaje się więc obciążenie żywiciela pasożytami, zależne od dawki infekcyjnej, a nie od przynależności do określonej linii klonalnej (typu). W świetle wyników badań innych autorów, ten wniosek nie jest jednak oczywisty. Robben i wsp. [20] wykazali, że komórki wysięku otrzewnowego produkują duże ilości łańcucha p40 IL-12 (IL-12p40) po zarażeniu szczepami linii II, ale nie I i III. Podobnie Schade i Fischer [21] stwierdzili w makrofagach zapalnych intensywniejsze wytwarzanie IL-12 pod wpływem szczepu DX (linii II) niż szczepu BK (linii I). Ci ostatni autorzy zasugerowali także, że nadprodukcja ochronnej w odporności anty-*T. gondii* cytokiny IL-12, jest prawdopodobnie przyczyną patogenności toksoplazmy.

Długotrwały pasaż może zmieniać zjadliwość szczepu toksoplazmy [14], ale nie ulega wątpliwości, że w pierwszym rzędzie jest to cecha genotypowa pasożyta [3]. Należy dodatkowo nadmienić, że tylko w pewnym ograniczonym stopniu można przenieść wnioski z badań na myszach laboratoryjnych na żywicieli innych gatunków, tym bardziej, że ekspresja zjadliwości jest cechą osobniczą, zależną od genotypu indywidualnego żywiciela. Na przykład u chorych na AIDS stwierdzono, że gen HLA-DQ1 jest markerem odporności, a DQ3 – markerem podatności na toksoplazmowe zapalenie mózgu [22]. U myszy laboratoryjnych wrażliwość na toksoplazmowe zapalenie mózgu jest determinowana przez allele locusa D/L; myszy z allelem L^d (np. szczep BALB/c) są relatywnie odporne, a z allelem L^b (np. C57BL/6) – stosunkowo podatne [23].

Ostatnie kilka lat okazały się bardzo owocne w poszukiwaniu czynników zjadliwości u *T. gondii*. Poszukiwania takie można prowadzić z użyciem szczepów typu knockout pasożyta. Przy zastosowaniu takiej metody stwierdzono na przykład że znieszczenie genu kodującego antygen GRA2 u wysoce zjadliwego szczepu RH powoduje jego częściową atenuację i zwiększa przeżywalność myszy eksperymentalnie zarażonych tym defektywnym pasożytem [24]. Drugie podejście metodyczne w poszukiwaniu czynników zjadliwości polega na wykorzystaniu techniki koinfekcji kota domowego (jako żywiciela ostatecznego) dwoma szczepami należącymi do różnych linii klonalnych, np. II i III [25] czy I i II [26], a następnie analizie genetycznej otrzymanych krzyżówek pasożyta (z użyciem określonych markerów genetycznych) i testowaniu zjadliwości otrzymanych rekombinantów, co ostatecznie po-

zwala na zlokalizowanie genów wirulencji w genomie pasożyta. Badania te wskazują, że wirulencja jest cechą wielogenową, a loci zjadliwości znaleziono na chromosomie VIIa i VIII [12, 15]. Taylor i wsp. [27] wykazali, że ostra zjadliwość szczepów linii I jest głównie determinowana przez pojedynczy gen kodujący białko ROP18, kinazę serynowo-treoninową. Roptrie, unikatowe organelle wydzielnicze występujące jedynie u pierwotniaków typu Apicomplexa, są źródłem wielu interesujących i ważnych biologicznie białek [28]. Allele ROP18 cechuje znaczny polimorfizm i zróżnicowana ekspresja. Stwierdzono, że sekwencje nukleotydów allelu linii I i III *T. gondii* różniły się aż w 14%, podczas gdy w przypadku innych genów ta różnica wynosiła ok. 1%, a ponadto allel linii III wykazywał bardzo słabą ekspresję. Po transformacji toksoplazmy linii III allelem ROP18 linii I, jej zjadliwość wzrosła aż o ok. 4 log!, a więc ROP18 jest zasadniczym komponentem zjadliwości [27]. Saeij i wsp. [29], wykorzystując potomstwo (pokolenie F1) uzyskane poprzez krzyżowanie szczepów linii II i III, zidentyfikowali 5 loci wirulencji, wśród nich dwa z nich kodowały białka roptrii: ROP18 i ROP16. W odróżnieniu od innych białek rodziny ROP2, białka ROP18 i ROP16 są aktywne katalitycznie, chociaż ich substraty nie zostały dotychczas zidentyfikowane. Wiadomo jedynie, że ROP18 fosforyluje białko tachyzoitów pasożyta o Mr 70 kDa, i w mniejszym stopniu, białko o Mr 68 kDa. Podczas inwazji, ROP18 ulega translokacji z roptrii do błony tworzącej się wakuoli pasożytniczej. Wykazano, że nadekspresja tego białka u transgenicznych pasożytów nie wpływa na ich aktywność penetracyjną, ale znacząco nasila replikację toksoplazmy w wakuoli pasożytniczej poprzez skrócenie czasu duplikacji. Z kolei mutacja w cząsteczce ROP18 powoduje utratę aktywności enzymatycznej i równocześnie obniżenie intensywności namnażania *T. gondii*, w stosunku do pasożytów modyfikowanych genetycznie (z jedną dodatkową kopią genu ROP18) [30]. Druga z opisanych kinaz *T. gondii*, białko ROP16, ulega translokacji do jądra komórki żywiciela, gdzie interferuje za szlakiem przekazywania sygnałów mediowanym przez STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) zakłócając wytwarzanie IL-12, a co za tym idzie, prawidłowy rozwój ochronnej odporności przeciwtoksoplazmowej [31].

Reasumując, oba aktywne katalitycznie białka roptrii: ROP18 i ROP16 wydają się odgrywać pierwszorzędną rolę w zjadliwości pasożyta *T. gondii*. Na listach farmaceutyków znaleźć można inhi-

bitory kinaz, które stosowane są m.in. w terapii chorób autoimmunizacyjnych i być może są wśród nich takie, które będzie można wykorzystać jako leki przeciw *T. gondii*. Oba białka, podobnie jak inne białka rodziny ROP2, wydają się także bardzo obiecującymi kandydatami na antygeny szczepionkowe. Gdyby badania potwierdziły ich szczególną przydatność w tym względzie, otworzyłyby się możliwości masowej immunoprofilaktyki toksoplazmozy zarówno u ludzi, jak i zwierząt.

Literatura

- [1] Sibley D. 2003. Recent origins among ancient parasites. *Veterinary Parasitology* 115: 185–198.
- [2] Khan A., Taylor S., Su C., Mackey A.J., Boyle J., Cole R., Glover D., Tang K., Paulsen I.T., Berriman M., Boothroyd J.C., Pfefferkorn E.R., Dubey J.P., Ajioka J.W., Roos D.S., Wootton J.C., Sibley L.D. 2005. Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. *Nucleic Acid Research* 33: 2980–2992.
- [3] Howe D.K., Sibley L.D. 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *Journal of Infectious Disease* 172: 1561–1566.
- [4] Grigg M.E., Bonnefoy S., Hehl A.B., Suzuki Y., Boothroyd J.C. 2001. Success and virulence in *Toxoplasma gondii* as a result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science* 294: 161–165.
- [5] Bulow R., Boothroyd J.C. 1991. Protection of mice from fatal *Toxoplasma gondii* infection by immunization with p30 antigen in liposomes. *Journal of Immunology* 147: 3496–3500.
- [6] Meisel R., Stachelhaus S., Mévélec M., Reichmann G., Dubremetz J.F., Fischer H.G. 1996. Identification of two alleles in the *GRA4* locus of *Toxoplasma gondii* determining a differential epitope which allows discrimination of type I versus types II and III strains. *Molecular and Biochemical Parasitology* 81: 259–263.
- [7] Ajzenberg D., Banuls A.L., Tibayrenc M., Dardé M.L. 2002. Microsatellite analysis of *Toxoplasma gondii* shows considerable polymorphism structured into two main clonal groups. *International Journal for Parasitology* 32: 27–38.
- [8] Ferreira A.M., Vitor R.W., Gazinelli R.T. 2006. Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Infection, Genetics and Evolution* 6: 22–31.
- [9] Lehmann T., Marcet P.L., Graham D.H., Dahl E.R., Dubey J.P. 2006. Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 11423–11428.
- [10] Su C., Evans D., Cole R.H., Kissinger J.C., Ajioka J.W., Sibley L.D. 2003. Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. *Science* 299: 414–416.
- [11] Howe D.K., Summers B.C., Sibley L.D. 1996. Acute virulence in mice is associated with markers on chromosome VIII in *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity* 64: 5193–5198.
- [12] Sibley L.D., Mordue D.G., Su C., Robben P.M., Howe D.K. 2002. Genetic approaches to studying virulence and pathogenesis in *Toxoplasma gondii*. *The Philosophical Transactions of the Royal Society London B* 357: 81–88.
- [13] Boothroyd J.C., Grigg M.E. 2002. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? *Current Opinion in Microbiology* 5: 438–442.
- [14] Nischik N., Schade B., Dytynska K., Długońska H., Reichmann G., Fischer H.G. 2001. Attenuation of mouse-virulent *Toxoplasma gondii* parasites is associated with a decrease in interleukin-12-inducing tachyzoite activity and reduced expression of actin, catalase and excretory proteins. *Microbes and Infection* 3: 689–699.
- [15] Saeij J.P.J., Boyle J.P., Boothroyd J.C. 2005. Differences among the three major strains of *Toxoplasma gondii* and their specific interactions with the infected host. *Trends in Parasitology* 21: 476–481.
- [16] Jerome M.E., Radke J.R., Bohne W., Roos D.S., White M.W. 1998. *Toxoplasma gondii* bradyzoites form spontaneously during sporozoite-initiated development. *Infection and Immunity* 66: 4838–4844.
- [17] Saeij J.P.J., Boyle J.P., Grigg M.E., Arrizabalaga G., Boothroyd J.C. 2005. Bioluminescence imaging of *Toxoplasma gondii* infection in living mice reveals dramatic differences between strains. *Infection and Immunity* 73: 695–702.
- [18] Barragan A., Sibley L.D. 2003. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. *Trends in Microbiology* 11: 426–430.
- [19] Mordue D.G., Monroy F., La Regina M., Dinarello C.A., Sibley L.D. 2001. Acute toxoplasmosis leads to lethal overproduction of Th1 cytokines. *Journal of Immunology* 167: 4574–4584.
- [20] Robben P.M., Mordue D.G., Truscott S.M., Takeda K., Akira S., Sibley L.D. 2004. Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype. *Journal of Immunology* 172: 3686–3694.
- [21] Schade B., Fischer H.G. 2001. *Toxoplasma gondii* induction of interleukin-12 is associated with acute virulence in mice and depends on the host genotype. *Veterinary Parasitology* 100: 63–74.
- [22] Suzuki Y. 1999. Genes, cells and cytokines in resistance against development of toxoplasmic encephalitis. *Immunobiology* 201: 255–271.
- [23] McLeod R., Johnson J., Estes R., Mack D. 1996. Im-

- munogenetics in pathogenesis of and protection against toxoplasmosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 219: 95–112.
- [24] Mercier C., Howe D.K., Mordue D., Lingnau M., Sibley L.D. 1998. Targeted disruption of GRA2 locus in *Toxoplasma gondii* decreases acute virulence in mice. *Infection and Immunity* 66: 4176–4182.
- [25] Sibley L.D., LeBlanc A.J., Pfefferkorn E.R., Boothroyd J.C. 1992. Generation of a restriction fragment length polymorphism linkage map for *Toxoplasma gondii*. *Genetics* 132: 1003–1015.
- [26] Sue C., Howe D.K., Dubey J.P., Aijoka J.W., Sibley J.D. 2002. Identification of quantitative trait loci controlling acute virulence in *Toxoplasma gondii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 10753–10758.
- [27] Taylor S., Barragan A., Su C., Fux B., Fentress S.J., Tang K., Beatty W.L., El Hajj H., Jerome M., Behnke M.S., White M., Wootton J.C., Sibley L.D. 2006. A secreted serine-threonine kinase determines virulence in the eukaryotic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Science* 314: 1776–1780.
- [28] Bradley P.J., Sibley D.L. 2007. Rhoptries: an arsenal of secreted virulence factors. *Current Opinion in Microbiology* 10: 582–587.
- [29] Saeij J.P.J., Boyle J.P., S. Coller S., Taylor S., Sibley L.D., Brooke-Powell E.T., Aijoka J.W., Boothroyd J.C. 2006. Polymorphic secreted kinases are key virulence factors in toxoplasmosis. *Science* 314: 1780–1783.
- [30] El Hajj H., Lebrun M., Arold S. T., Vial H., Labesse G., Dubremetz J.F. 2007. ROP18 is a rhoptry kinase controlling the intracellular proliferation of *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathogens* 3: e14.
- [31] Saeij J.P., Coller S., Boyle J.P., Jerome M.E., White M.W., Boothroyd J.C. 2007. *Toxoplasma* co-opts host gene expression by injection of polymorphic kinase homologue, *Nature* 445: 324–327.

Wpłynęło 23 kwietnia 2008

Zaakceptowano 20 maja 2008