

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE KRONİK KİSTOGENİK VE REAKTİVE TOKSOPLAZMOZ
MODELİNDE TOLTRAZURİL TEDAVİSİNİN TOKSOPLAZMİK ENSEFALİT
OLUŞUMUNDA KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tuba BAYRAM
Biyolog

**VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZLİ YÜKSEK LİSANS)**

DANIŞMAN
Prof. Dr. Oğuz KUL

2020 – KIRIKKALE



Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06/02/2020

Prof. Dr. Oğuz Kul
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nihat Toplu
Adnan Menderes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Üye

Doç. Dr. Mehmet Eray Alçıgır
Kırıkkale Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Üye

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	III
İçindekiler	IV
Önsöz	V
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Şekiller	VIII
Çizelgeler	IX
ÖZET	1
SUMMARY	3
1.GİRİŞ	5
1.1.Tarihçe ve Taksonomi	5
1.2.Etiyoloji	6
1.3.Tarihçe	6
1.4. <i>Toxoplasma gondii</i> Yaşam Çemberi ve Parazit-Hücre İlişkisi	7
1.5.Bulaşma	9
1.6.Klinik Bulgular	10
1.6.1.Ölümcül, Subklinik Enfeksiyon ve Abortlar	10
1.6.2.Ensefalitik Toksoplazma	11
1.7.Kronik Ensefalitik Toksoplazmoz'da Yangısal ve Nöropatolojik Değişiklikler	13
1.8. <i>Toxoplasma gondii</i> Doku Kistinin Morfolojik, Antijenik ve Moleküler Özellikleri	14
1.9.Deneysel Ensefalitik Toksoplazmoz Modelleri	14
1.9.1.Kronik Ensefalitik Toksoplazmozda Murin Model Kullanımı	15
2.GEREÇ VE YÖNTEM	18
2.1.Etik Beyanı	18
2.2.Deney Hayvanları	18
2.3.Etken	18
2.4.Deney Düzeni	19
2.4.1.Histopatolojik İnceleme	21
2.4.2.İmmunperoksitaz İnceleme	22
2.4.3.İstatistiksel İncelemeler	22
3.BULGULAR	23
3.1.Klinik Bulgular	23
3.2.Histopatolojik Bulgular	23
3.3.İmmunperoksidaz Bulgular	25
4.TARTIŞMA VE SONUÇ	45
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	56

ÖNSÖZ

Yüksek lisansa ilk başladığım günden bu yana bilgi birikimi ve yardımını benden hiç esirgemeyen, her vazgeçişimde beni yeniden yüreklendiren, hiç bıkmadan motive eden, desteğini hep hissettiren, koruyup kollayan, sonsuz emek veren saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Oğuz Kul'a,

Tez çalışmamı gerçekleştirdiğim Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na, deney dönemimde beni yalnız bırakmayan, destekleri ile yanımda olan arkadaşlarım Osman Safa Terzi ve Güngör Çağdaş Dinçel'e,

Bildiğim yolda ilerlerken beni yalnız bırakmayan, manevi ve maddi desteklerini esirgemeyen canım annem İnci Uzunalioğlu ve babam Muammer Uzunalioğlu'na,

Bu zorlu süreçte yanımda olup uykusuz kalan, rahatça çalışmamı sağlamak için tüm sorumlulukları üzerine alan canım eşim Eser Bayram'a,

Onlar için zor olsa da çalışmam için evde sessiz oyunlar oynayarak annelerinin tez yazmasına yardımcı olan kızım Zeynep Azra Bayram ve oğlum Can Arda Bayram'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma ve Simge : Açıklama

AEC : Aminoethyl carbasole

CO₂ : Karbondioksit

DOPA : L-3, 4 dihidroksifenilalanin

Dk : Doku kisti

GFAP : Glial fibriler asidik protein

Glzs : Gliozis

IFN : Interferon

Mngts : Meningitis

MSS : Merkezi Sinir Sistemi

Nkrz : Nekroz

PAS : Periodik asit schiff

Rkt : reaktivasyon

T. gondii : *Toxoplasma gondii*

TH : Tirozin hidroksilaz

TH1 : T Helper hücreleri

TNF : Tumor Necrosis Factor

α : Alpha

γ : Gamma

μ l : Mikrolitre

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. *Toxoplasma gondii* yaşam çemberi

Şekil 2.1. Kronik kistojenik toksoplazmoz oluşturulan fare beyninden hazırlanan homojenat içerisinde *T. gondii* doku kisti

Şekil 2.2. Beyin dokusu çıkarıldıktan sonra, çalışmada kullanılacak bölümlerin trimlenme düzenini gösteren plan

Şekil 3.1. Kruskal-Wallis yöntemiyle gruplara göre ortalama kist çapı istatistiği

Şekil 3.2. Gruplara göre dalak/vücut ağırlığı ortalaması

Şekil 3.3. Doku Kisti Kontrol Grubu, mezenteriyal subserozal damarlarda genişleme, İnokulasyon sonrası 15. Gün

Şekil 3.4. Hiperemik meningeal damar çevresinde lokalize doku kisti, HE

Şekil 3.5. Nöronlarda dejeneratif değişiklikler ve büzüşme, Doku Kisti Kontrol Grubu, HE boyama

Şekil 3.6. İnmmunopozitif *T.gondii* doku kisti, Doku Kisti Kontrol Grubu, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.7. Fokal meningitis alanı, Doku kisti reaktivasyon grubu, HE boyama

Şekil 3.8. Doku kisti reaktivasyon grubunda şekillenen doku kisti ve hemen yakınında damar çevresi yangısal reaksiyon, HE boyama

Şekil 3.9. Doku kisti reaktivasyon grubunda fokal gliozis alanı, HE boyama

Şekil 3.10. Doku kisti reaktivasyon grubunda, fokal reaktivasyon alanı ve *T.gondii* immunoperoksidaz boyanma, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.11. Doku kisti reaktivasyon grubunda doku kisti reaktivasyon alanı

Şekil 3.12. Doku Kisti Raktivasyon Grubu, çeperini kaybeden doku kisti, HE boyama

Şekil 3.13. Doku kisti reaktivasyon grubu reaktivasyon alanı ve gliozis, HE boyama

Şekil 3.14. Doku kisti reaktivasyon grubu reaktive olan doku kisti ve çevre enflamautar hücrelerde *T.gondii* immunopozitiflikleri, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.15. Doku kisti reaktivasyon grubu ruptüre olan doku kisti, gliozis alanı ve nöron nekrozları, HE boyama

Şekil 3.16. İmmunsupresyon+Tedavi grubu reaktivasyon alanı, HE boyama

Şekil 3.17. İmmunsupresyon+Tedavi grubu perivasküler hücre infiltrasyonu ve hemen yakınında gliozis alanları, HE boyama

Şekil 3.18. İmmüsupresyon+Tedavi grubu serebellumda şekillenen doku kistleri, HE boyama

Şekil 3.19. İmmüsupresyon+Tedavi grubu Nöron sitoplazmalarında *T.gondii* antijeni pozitif reaksiyon, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.20. Reaktivasyon + Tedavi grubu gliozis alanı, HE boyama

Şekil 3.21. Reaktivasyon + Tedavi grubu doku kistleri ve hemne etrafında yaygın glial nedbe, HE boyama

Şekil 3.22.İmmüsupresyon + Tedavi grubu nöroglia ve nöron sitoplazmalarında *T.gondii* immunopozitif reaksiyon, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.23. İmmüsupresyon + Tedavi grubu Purkinje hücreleri *T.gondii* immunreaksiyonu, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.24.İmmüsupresyon + Tedavi grubu doku kisti immunopozitif reaksiyon, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen

Şekil 3.25.İmmüsupresyon + Tedavi grubu, doku kisti ve çevresi nöroglial hücrelerde *T.gondii* immunopozitif boyanma, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers, Hematoksilen

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Çalışma Takvimi, Fare sayısı

Çizelge 3.1. Doku kisti kontrol grubu beyinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

Çizelge 3.2. Doku kisti reaktivasyon grubu beyinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

Çizelge 3.3. Reaktivasyon + tedavi grubu beyinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

Çizelge 3.4. Doku kisti kontrol grubuna göre kist çapı ve sayısı

Çizelge 3.5. Doku kisti reaktivasyon grubuna göre kist çapı ve sayısı

Çizelge 3.6. Reaktivasyon + Tedavi grubuna göre kist çapı ve sayısı

Çizelge 3.7. Doku kisti kontrol grubu dalak ve vücut ağırlıkları

Çizelge 3.8. Doku kisti reaktivasyon grubu dalak ve vücut ağırlıkları

Çizelge 3.9. Doku kisti reaktivasyon + tedavi grubu dalak ve vücut ağırlıkları

ÖZET

Toksoplazmoz, insan ve hayvanlarda şekillenen, bir protozoon olan *Toxoplasma gondii*'nin oluşturduğu, ölümcül enfeksiyonlara neden olan yaygın bir paraziter enfeksiyondur. Yapılan çalışmalar sonucunda oldukça yaygın olduğu bilinen bu paraziter enfeksiyon, konağın dokularına yerleştikten sonra kendini korumaya alarak doku kisti formunu oluşturur. Herhangi bir nedenden immun sistemin baskılanması sonucunda (AIDS, kortizon tedavisi alan veya organ transplantasyonu yapılan hastalarda) zayıflayan hücresel bağışıklıkla birlikte, beyindeki bu kistlerin rupturu sonucu toksoplazmozis reaktifte olabilmekte, oldukça şiddetli nörolojik bulguların eşlik ettiği toksoplazmik ensefalit gelişebilmektedir. Immünyetmezlikli bu bireylerde, toksoplazmoz tedavisi için klinikte en yaygın kullanım alanı bulan Sulfonamid + trimetoprim tedavisi ya da Primetamin + Sulfadiazin karışımı da akut dönem tedavisinin ardından daha düşük dozda uzun süreli (belki de hayat boyu) uygulamalarda gözlenen alerjik reaksiyonlar ve hematoksisite gibi yan etkileri nedeniyle kesilmek zorunda kalmaktadır. Yan etkisi en az düzeyde ve reaktifte toksoplazmozun önlenmesinde etkili bir ilacın bulunmasına yönelik yoğun çabalar hala devam etmektedir.

Bu çalışmada kullanılan 67 adet swis albino farede 3 grup oluşturuldu. *T. gondii* doku kisti içeren inokulum farelere (n=67) oral gavaj yoluyla uygulandı. Doku kistinin varlığından emin olmak için 15. ve 30. günlerde n=2 fareye ötenazi uygulandı. Doku kistinin şekillendiği görüldükten sonra n=21 immunsupresyon ve n=21 immunsupresyon+tedavi grubu oluşturuldu. Buna göre Grup 1. Doku kisti kontrol grup, Grup 2.İmmunsupresyon grup, Grup 3.İmmunsupresyon+tedavi grubu oluşturulduktan sonra 45, 47 ve 52. günlerde ötenazi uygulandı. Ölen farelerin vücut ve dalak ağırlıklarına, alınan beyin örneklerinde kist durumuna ve yangısal reaksiyonlara hematoksilen-eozin ve immunperoksidaz boyamalar ışığında bakıldı. Oluşan doku kisti sayısı, çapı, yangısal reaksiyonlar skorlanarak değerlendirildi. Buna göre uygulanan tedavinin etkinliği çalışmanın sonucunda tespit edilmiş oldu.

Çalışmada klinik belirti olarak, oral yolla verilen parazitin verilmesini izleyen 24 saat farelerde fiziksel aktivitesinde azalma, tüylerde karışıklık gibi belirtiler gözlemlendi. Histopatolojik incelemede, parazitin verilmesini takiben 15'inci günde parazitin beyne ulaştığını tespit amacıyla ötenazi yapılan farelerde (n=2) histopatolojik ve immunperoksidaz testlerde parazitin oluşturduğu herhangi bir hasara rastlanmazken 30'uncu günde hafif şiddette perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları, kapillar endotel hipertrofisi, nöronlarda büzüşme, gliosis ve genç doku kistine rastlandı. Ayrıca, dejenere nöron sitoplazmaları, damar duvarı ve çevresi astrosit, glia hücreleri ile doku kistlerinde *T.gondii* immunpozitifliklerine rastlandı.

Deney sonunda incelenen tüm beyin dokuları çalışma gruplarına göre değerlendirildiğinde, doku kistlerine tüm gruplarda rastlanırken sayı ve büyüklüklerinin farklı olduğu tespit edildi. İnokülasyon sonrası 45, 47, 52'nci günlerde ötenazi yapılan farelerden Grup 1 (n=21)'de etrafında yangısal reaksiyon bulunmayan doku kistlerine rastlanmazken, nekroz ve doku kisti reaktivasyonu da gözlemlenmedi. Grup 2 (n=21) fare beyinlerinde, kapillar hiperemi, nöronlarda dejenerasyon ve nekroz, hafif astroglial reaksiyonlar ve merkezde ruptüre doku kisti yer aldığı değerlendirilen yaygın gliosis gözlemlendi. Grup 3 (n=21) fare beyinlerinde ise başlıca hiperemi, vasküler endotel hipertrofisi, değişen derecelerde gliosis, nöron dejenerasyonu gözlemlendi. Ayrıca belirgin şekilde dejenere doku kisti gözlemlendi.

İmmunperoksidaz test sonuçlarına göre, Grup 1'de doku kistlerinin belirgin bir şekilde boyandığı görüldü. Damar duvarı, bazı nöron sitoplazmalarında hafif immunpozitifliklere rastlandı. Grup 2 ve Grup 3'de fare beyinlerinde, gliosis doku kisti reaktivasyon alanları ve çevresinde yer alan mikrogliya, astrosit ve nöron sitoplazmaları ile damar duvarları şiddetli derecede immunpozitiflik gösterdi.

Sonuç olarak; *T.gondii* ME49 suşu ile beyinde doku kisti oluşturulmuş, immün yeterli farelere uygulanan deksametazon ile immünsupresyon ve doku kisti rupturu gerçekleştirilmiş ve doku kisti rupturunun uyarıldığı anda uygulanan toltrazuril tedavisinin beyinde parazit yükünü ve lezyonları azalttığı görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Doku kisti, Fare, İmmunperoksidaz, Reaktivasyon, Tedavi, Toltrazuril, *Toxoplasma gondii*

SUMMARY

Toxoplasmosis is a common parasitic infection that occurs in humans and animals, caused by *Toxoplasma gondii*, a protozoon, that causes fatal infections. This parasitic infection, which is known to be quite common as a result of the studies performed, forms a tissue cyst form by protecting itself after settling in the tissues of the host. As a result of the suppression of the immune system for any reason (in patients receiving AIDS, cortisone therapy or organ transplantation), toxoplasmosis may be reactive due to the rupture of these cysts in the brain, and toxoplasmic encephalitis accompanied by severe neurological findings may develop. In these immunocompromised individuals, Sulfonamide + trimethoprim treatment or Primetamin + Sulfadiazin mixture, which are found to be the most common use in the clinic for the treatment of toxoplasmosis, are also discontinued due to side effects such as allergic reactions and hemotoxicity observed in lower doses after acute treatment. Extensive efforts to find a drug with minimal side effects and effective in the prevention of reactive toxoplasmosis are still ongoing. Three groups were formed in 67 swiss albino mice used in this study. Inoculum containing *T. gondii* tissue cyst was administered to the mice (n = 67) by oral gavage. To ensure the presence of tissue cyst, n = 2 mice were euthanized on the 15th and 30th days. After seeing that the tissue cyst was shaped, n = 21 immunosuppression and n = 21 immunosuppression + treatment groups were created. Accordingly, Group 1 Tissue cyst control group, Group 2 Immunosuppression group, Group 3 Immunosuppression + treatment group were formed, and euthanasia was performed on 45, 47 and 52 days. Body and spleen weights of dead mice, cyst status in the brain samples and inflammatory reactions were examined in the light of hematoxylin-eosin and immunoperoxidase staining. The number of tissue cysts formed, their diameter, and inflammatory reactions were evaluated by scoring. Accordingly, the effectiveness of the treatment was determined as a result of the study.

As a clinical symptom in the study, symptoms such as decreased physical activity and tangling in the mice were observed within 24 hours following the administration of the orally induced parasite. In histopathological examination, no

damage caused by the parasite was found in histopathological and immunoperoxidase tests in euthanized mice (n = 2) in order to determine that the parasite reached the brain on the 15th day after the parasite was administered. On the 30th day, mild perivascular mononuclear cell infiltrations, capillary endothelial hypertrophy, shrinkage of neurons, gliosis and young tissue cyst were encountered. In addition, *T.gondii* immunopositivities were detected in degenerated neuron cytoplasm, vascular wall and surrounding astrocyte, glia cells and tissue cysts.

When all brain tissues examined at the end of the experiment were evaluated according to the study groups, it was found that the number and size of the cysts were different in all groups. Tissue cysts without an inflammatory reaction were not observed in Group 1 (n = 21) of mice that were euthanized on the 45th, 47th, 52nd days after inoculation, and necrosis and tissue cyst reactivation were not observed. In group 2 (n = 21) mouse brains, capillary hyperemia, degeneration and necrosis in neurons, mild astroglial reactions, and widespread gliosis, which were evaluated in the center, were observed. In group 3 (n = 21) mouse brains, mainly hyperemia, vascular endothelial hypertrophy, varying degrees of gliosis, neuron degeneration were observed. In addition, significantly degenerate tissue cyst was observed.

According to the immunoperoxidase test results, it was observed that tissue cysts were stained significantly in Group 1. Mild immunopositivities were found in the vascular wall and some neuron cytoplasm. In Group 2 and 3, mouse brains showed strong immunopositivity with gliosis tissue cyst reactivation areas and microglia, astrocyte and neuron cytoplasm located around it and vascular walls.

As a result; Tissue cyst was created in the brain with *T.gondii* ME49 strain, immunosuppression and tissue cyst rupture were performed with dexamethasone applied to immunocompetent mice, and toltrazuril treatment applied at the time of stimulation of tissue cyst rupture reduced the parasite load and lesions in the brain.

Keywords: Immunoperoxidase, Mouse, Reactivation, Tissue cyst, Toltrazuril, Toxoplasma gondii, Treatment,

1. GİRİŞ

1.1. Tarihçe ve Taksonomi

Toxoplasma gondii, kedilerin tek ve son konak olduğu, tüm sıcak kanlı hayvanlar ve insanları da içine alan geniş bir yelpazede ölümcül enfeksiyöz hastalığa neden olan protozoer bir etkidir (Dubey 2010). Parazitin keşfinden bu yana gerçekleştirilen araştırmalar ile insan ve hayvanlarda ekonomik ve sosyal kayıplara neden olduğu gerçeği, detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur. Aradan geçen yüzyılı aşkın süreye rağmen, *T. gondii* enfeksiyonunda parazit konak ilişkisi, patogenezi ve etkili tedavi seçeneklerine yönelik bilinmeyenler halen devam etmektedir (Weiss ve Dubey, 2009).

Ookist içeren kedi dışkıyla kontamine olan gıdaların tüketilmesi ya da doku kisti içeren etlerin yenmesi sonucu insanlarda enfeksiyon şekillenirken, hastalık gebelik sırasında transplasental yolla anneden yavruya da aktarılabilmektedir (Tenter, 2000). Erken enfeksiyon periyodunda, yüksek ateş ve servikal lenfadenopati ile ortaya çıkan belirtiler, etkenin patojenitesine bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle ılımlı bir enfeksiyon halinde ortadan kaybolur ve subklinik seyrederek. Ancak, bağışıklık sistemi baskılanmış kanser hastaları, organ nakli olmuş ve AIDS'li bireylerde ensefalitik toksoplazmoz riski her zaman bulunmaktadır. Toksoplazmozun önlenmesi ve ilaçla tedavisine yönelik hem invitro hem de invivo birçok araştırma gerçekleştirilmiştir. İlaçla tedavi çalışmalarında temel hedef; konak için mümkün olan en az komplikasyon ile hücre içi parazit gelişmesini ve meydana getireceği patolojik değişiklikleri önleyecek stratejilerin geliştirilmesidir. (Dubey 2004, Dubey ve ark. 2008, Dubey ve ark. 2009).

1.2. Etiyoloji

Moleküler bilgiler ışığında, *Toxoplasma gondii*'nin coğrafik kökeni ve patojenitesi ile ilgili değerlendirmeler yapılabilmektedir. Buna göre *Toxoplasma gondii* suşları; yüksek patojeniteli ve akut enfeksiyonlardan izole edilen Tip I, düşük patojeniteli ve kronik enfeksiyonlardan izole edilen Tip II ve patojenitesi orta derecede (Tip I ve II arasında) olan Tip III olmak üzere üç farklı genotipe sahiptir (Tenter, 2000, Carruthers ve ark. 2007).

Toxoplasma gondii'nin sistematikteki sınıflandırılması ise aşağıdaki şekildedir:

Alt alem: Protozoa

Anaç: *Apicomplexa*

Sınıf: *Sporozoa*

Alt sınıf: *Coccidia*

Takım: *Eucoccidiida*

Alt takım: *Eimeriina*

Aile: *Toxoplasmatidae*

Cins: *Toxoplasma*

Tür: *gondii*

1.3. Tarihçe

Toxoplasma gondii, ilk kez 1908 yılında Afrika'da *Ctenodactylus gundii* adında bir kemirici türünde Nicole ve Manceaux tarafından bulunmuştur. İnsanlarda ilk olgu 1938 yılında Wolf ve Cowen tarafından konjenital geçiş ile bildirilmiştir (Dubey, 2009). 1942 yılında Sabin ve Feldman *Toxoplasma gondii*'ye özgü boyama testini geliştirmiş ve parazitin tanısı için kullanmışlardır. Parazitin hayvandan ilk izolasyonu 1937 yılında Sabin ve Olitsky tarafından, insandan ise Wolf ve

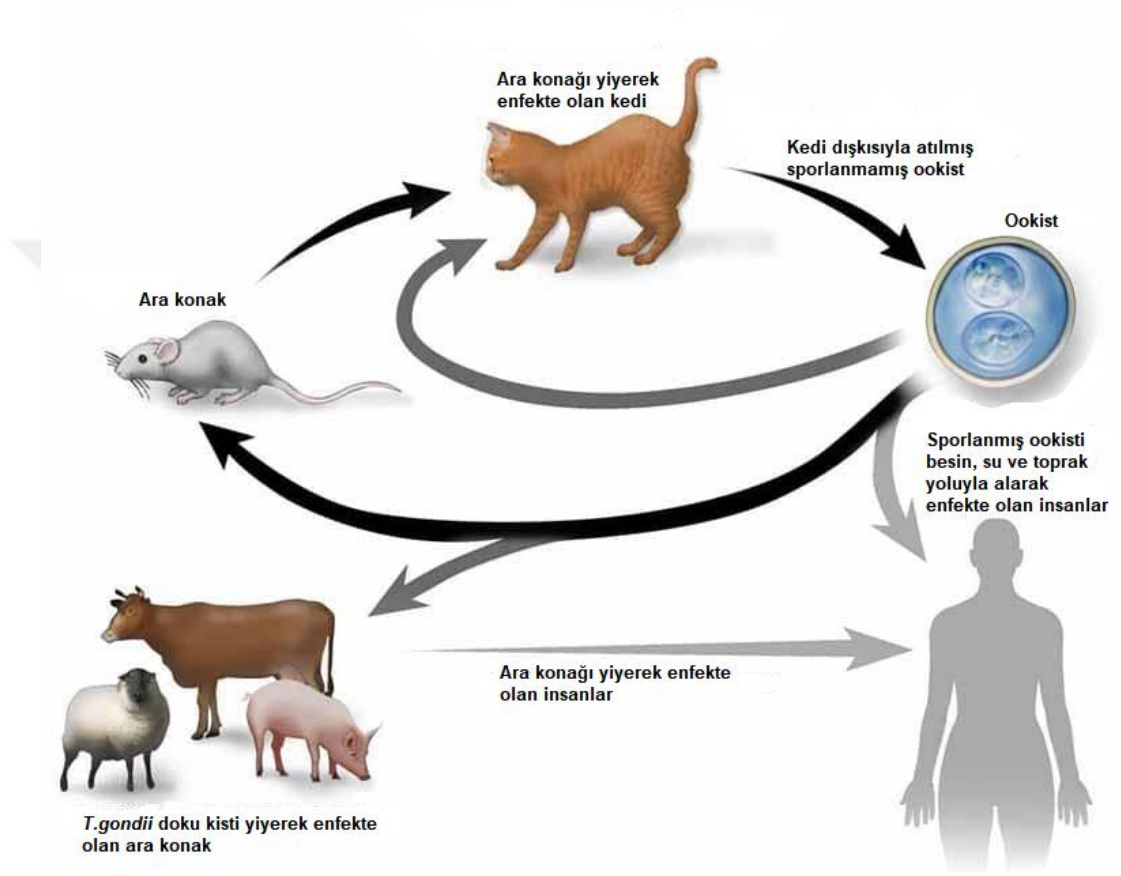
arkadaşları tarafından 1939 yılında yapılmıştır. Pinkerton ve Weinman 1940 da parazitin öldürücü olabileceğini göstermişlerdir (Dubey 2010).

Türkiyede; Akçay ve arkadaşları tarafından ilk kez 1950 yılında bir köpekte, 1953 yılında ise Unat ve arkadaşları tarafından insanda parazitin varlığı gösterilmiştir (Akçay ve ark. 1950, Pekmezci ve ark. 2016). Türkiye’de, 3 ve 8 aylık iki ayrı kedide ölümcül toksoplazmoz akciğer, karaciğer ve beyinde nekrozlar ile tanımlanmış (Hazıroğlu ve ark.1988), ardından gebe bir kedi ve doğumdan hemen sonra ölen yavrusunda sistemik toksoplazmoz bildirilmiştir (Atmaca ve ark., 2013). Ülkemizde, hayvanlarda yapılmış çok sayıda serolojik çalışma sonucu bulunmaktadır, bunların büyük bir çoğunluğu ise Sabin-Feldman testi ile gerçekleştirilmiştir. Seroprevalans verileri, başlıca koyun ve keçilerin yüksek oranlarda etkenle karşılaştığını ortaya koymaktadır. Türkiye’de toksoplazmozun koyunlarda, klinik sinirsel belirtiler ve abortlara neden olduğuna dair ilk kayıtlar ise 2012 yılında 16 gebe koyunda abort ve iki kuzuda sinirsel belirtilerin raporuna aittir (Atmaca ve ark., 2012).

1.4. *Toxoplasma gondii* Yaşam Çemberi ve Parazit-Hücre ilişkisi

Toxoplasma gondii; son konağı kedigiller, ara konağı insan dahil memeli tüm hayvanlar olan, dünyada yaygın enfeksiyon nedeni apikompleksan bir protozondur. Parazitin yaşam çemberi hakkında uzun süre kesin bir şey söylenememiş, yapılan çalışmalar sonucunda kedinin dışkısında ookist bulunmasıyla yaşam çemberi 1970 yılında tam olarak tanımlanmıştır (Dubey ve ark. 1970, Sheffield ve Melton, 1970). Parazitin takizoit, bradizoit (doku kisti) ve ookist olmak üzere 3 enfektif formu vardır. Takizoit, hızlı çoğalan, 2µm x 6µm büyüklüğünde, hilal ay şeklindedir. Konak hücreye penetre olduktan sonra etrafı parazitofor vakuolle çevrilir ve böylelikle humoral ve hücrel bağışıklık sisteminden saklanır. Bradizoit, parazitin yavaş bölünen, kist oluşturan ve konakta ömür boyu kalabilen formudur. İç organlarda (akciğer, karaciğer, böbrek) gelişebilen doku kistleri, genellikle kas, göz ve merkezi sinir sistemi (MSS) dokularında daha yaygın görülür ve bir doku kisti yaşına bağlı

olarak yüzlerce bradizoit içerebilir. Ookistler sadece kedi bağırsağında şekillenir ve diğer formlarına göre daha patojen kabul edilir. Enfekte kedi bağırsağından çevreye, 2-6 hafta içerisinde on milyonlarca ookist direkt atıldığı için çevrenin kontaminasyon riski oldukça yüksektir (Tenter ve ark. 2000; Dubey 2004; Dubey ve Jones, 2008; Dubey 2009; Dubey 2010).



Şekil 1.1. *Toxoplasma gondii* yaşam çemberi (<https://www.vet.cornell.edu/departments-centers-and-institutes/cornell-feline-health-center/health-information/feline-health-topics/toxoplasmosis-cats>)

Parazit ara konakta akut enfeksiyonda takizoit, kronik enfeksiyonda ise bradizoit/doku kisti safhasında bulunur. Takizoit formu endodiyogeni ile bölünür, hücre sitoplazmasına girer ve etrafında parazitofor vakuol oluşturur. Konak hücreyi parçalar ve kan yoluyla organ ve dokulara yayılırlar (Tenter 2000, Dubey 2010). Dokularda konak immün yanıtıyla karşılaştıklarında yavaş bölünen bradizoit formuna geçerek kist oluşturur, çevresini glikoprotein içeren kist duvarıyla kaplar ve

persiste olarak yaşamını devam ettirir (Zhang ve ark. 2001). Takizoitin bradizoite dönüşümü 21 ile 28 gün arasında sürer (Weiss ve ark. 2000).

Toxoplasma gondii, kedigiller tarafından alındıktan sonra ince bağırsak epitel hücrelerine girerek aseksüel ve seksüel döngüsünü başlatır. Kedinin paraziti almasıyla bağırsakta seksüel üreme ile mikrogametosit (erkek gamet) ve makrogametosit (dişi gamet) oluşur ve birleşmeleriyle ookistler meydana gelir. Kedi dışkısı ile atılan bu ookistler dışkı taze iken sporlanmamış formda bulunur. Daha sonra bu ookistler, ortamın oksijen miktarı ve ısısına bağlı olarak 5 ile 7 günde sporlanır ve enfektif hale geçerler. Sporlanmış bir ookist içerisinde; 2 sporokist, sporokistler içerisinde de 4'er sporozoit bulunur (Tenter 2000; Dubey 2004; Dubey 2008; Sibley ve ark. 2009; Weiss ve ark. 2009).

Kedigillerin doku kistini almasıyla ince bağırsak ve midede proteolitik enzimler tarafından kist duvarı sindirilir. Açığa çıkan bradizoitler ince bağırsak epitel hücrelerine penetre olur ve bir kısmı bağırsağın Lamina propriyasında takizoit olarak çoğalır. Takizoitler konağın immun yanıtıyla karşılaşana kadar çoğalır ve bir süre sonra immun yanıtla karşılaştığında bradizoit formuna dönüşerek doku kistini oluşturur ve hiçbir klinik semptom göstermeden yaşamını konakta devam ettirir. Konak immun sistemi baskılandığında doku kistleri ruptüre olarak bradizoitler açığa çıkar ve takizoitlere dönüşür. Böylece enfeksiyon yeniden şekillenir (Dubey 2004; Dubey 2010). Kedigiller ookistle de enfekte olabilir, bu durumda ookist alınmasını takiben en erken 18 gün sonra kedi dışkısında ookist bulunur (Dubey 2010).

1.5. Bulaşma

Sporlanarak enfektif forma geçen ookistlerle kontamine gıdaların iyi yıkanmaması, kist içeren iyi pişmemiş, çiğ etlerin yenmesi, kontamine suların içilmesi, transplasental yolla hasta anneden yavruya veya organ-kan nakli ile bulaşabilir (Hill ve Dubey 2002; Dubey 2008).

Gebe kadınların, gebelik süresinde ya da daha öncesinde kazanılan enfeksiyonun plasentadan takizoitlerin geçmesiyle yavrunun da enfekte olduğu yapılan

çalışmalarda gösterilmiştir (Tenter 2000). Ayrıca bazı araştırmalar, yavruya sütün de parazit geçişi olduğunu göstermektedir (Powell ve ark. 2001; Costa ve ark. 2010).

1.6. Klinik Bulgular

1.6.1. Ölümcül, Subklinik Enfeksiyon ve Abortlar

Toksoplazmoz için spesifik klinik bir bulgu söz konusu değildir. Birçok bireyde ılımlı bir enfeksiyon gelişir ve parazit persiste olarak herhangi bir belirti göstermeden konağın yaşamı boyunca bulunur. Klinik belirtiler, bazı durumlarda konağın bağışıklık sistemine ve yaşına bağlı olarak şekillenebilir. Genç ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ölüm kaçınılmazdır. Erişkinlerde ise parazit genellikle konak hücresel bağışıklık sistemi ve baskın Th1 yanıt sonrasında doku kistleri oluşturur. Parazitin takizoit formu konağa hakimken konakta grip benzeri (iştahsızlık, sakinlik, ateş, ishal) semptomlar görülebilmektedir. Enfeksiyon ilerledikçe parazitin santral sinir sistemini de etkilemesiyle kendi etrafında dönme, refleks kaybı, zayıflık, tüy dökülmesi gibi klinik belirtiler görülür. Parazitin oluşturduğu akciğer lezyonlarının sonucu olarak da ağız ve burunda köpüklü iğerik, abdominal solunum görülebilir (Miro ve ark. 2006; Öcal 2009, Weiss ve Dubey 2009, Can 2010).

Koyun ve keçi de, embriyonik ölüm ve absorpsiyon, fetal ölüm ve mumyalaşma, abort, ölü doğum ve neonatal ölümler görülür. Domuzlarda yaygın görülen toksoplazmozis formu, genç domuzlarda erişkine göre daha yüksek mortalite ile seyreder. Köpeklerde toxoplazmozis, köpek gençlik hastalığı ile birlikte görülmekte ve klinik bulgusu respiratorik bozukluklar, ishal ve ataksidir. (Dubey 2004; şimşek ve ark. 2006; Dubey 2010).

Ülkemizde ekonomik öneme sahip koyun ve keçi popülasyonunda oldukça yaygın olan *T. gondii* enfeksiyonları, gebeliğin ilk 3 ayında alındığında abort ve plasenta retensiyonuna neden olur. Eğer gebeliğin ilk 3 ayndan sonraki dönemde

enfeksiyon alınır, klinik olarak belirti göstermeyen ancak konjenital geçiş nedeniyle toksoplazmozisli yavrular doğabilmektedir. Bu yavruların bağışıklık sistemi gelişmediğinden, parazit etkileyecek ve hidrasefalus, mikrosefaliye neden olacaktır (Tenter 2000, elebi ve cal 2004, Dubey 2010).

İnsanlarda toksoplazmoz, genellikle immunyeterli bireylerde klinik belirti göstermez. Ancak yeni doğan, fötus ya da bağışıklık sistemi herhangi bir nedenle baskılanmışsa, enfeksiyon şiddetli seyreder. Parazitin alınmasıyla bağışaktaki enzimler yoluyla kişinin enfekte olmasını takiben, parazit lenf ve kan ile doku ve organlara taşınır (Carruthers ve ark. 2007, Dubey 2010). Klinik belirtiler genellikle yüzeysel lenf nodlarının belirginleşmesi, yüksek ateş ve deri döküntüsüdür (Dubey 2010).

Oküler toksoplazmoz hem konjenital hem de reaktif toksoplazmozda gelişir. Klinik belirti olarak; yanma, ağrı, görme kaybı görülür, klinik tablo ilerlediğinde ise katarakt ve göz tansiyonu ortaya çıkar (Çelebi ve ark. 2004, Dubey 2010).

1.6.2. Ensefalitik Toksoplazmoz

Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde (organ nakli, AIDS, Hodgkin lenfoma'lı hastalar ve ilaç bağımlıları) toksoplazmoz açısında oldukça yüksek risk grubundadır. Daha önceden kazanılmış enfeksiyon varsa beyindeki kist ruptüre olarak yeniden enfeksiyon şekillenebilir. Bu tip hastalarda, bağışıklık sisteminin baskılanmış olması toksoplazmik ensefalit ya da oküler toksoplazmoz oluşmasına neden olur (McHugh ve ark. 1997, Guex ve ark. 2000, Carruthers ve Suzuki, 2007),

Enfeksiyonda bulguların şiddeti; enfektif parazit sayısı, genotip, konağın bağışıklığına bağlı olarak değişmektedir. Çoğunlukla klinik belirti göstermese de akut toksoplazmoz multifokal nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterizedir ve bulgular takizoitlerin hücre içi çoğalması ve hücreyi yıkımlayarak oluşturduğu pıhtılaşma nekrozuna bağlı olarak gerçekleşir. Sinir sisteminde, immün sistemi baskılanmış kişilerde beyindeki kistin dejenerasyonu ile parçalanmasına bağlı olarak ensefalite neden olur. Endotel hücrelerinde şişme, nekroz ve etkilenen damar

duvarında vaskülitis görülür. Enfeksiyonun süresine bağlı olarak mikroglial nodüller ve damar lezyonları kaçınılmaz olabilir (Milli ve Hazıroğlu 2000, Hegab ve Al-Mutawa 2003, Wilson ve Hunter 2004). Doku kisti gelişimi enfekte konağın çeşitli dokularında olabilir, ancak kistler yaygın olarak beyin, kalp, iskelet kası ve göz dokusuna yerleşirler. Astrosit ve nöronlara yerleşen doku kistleri hücrel immun sistemden kaçarlar ve parazitin bu formuna karşı minimal yangısal reaksiyon şekillenir. İlerleyen dönemlerde dejenere olan kist ruptüre olduğunda ise mevcut hafıza hücreleri, makrofajlar tarafından algılanan antijenik uyarıya hızlı bir şekilde yanıt verirler ve şiddetli hücrel reaksiyon şekillenir (Weiss ve Kim 2000, Wilson ve Hunter 2003)

Toxoplasma gondii kan-beyin bariyerini geçişi ve hücre içi invazyonu sırasında şiddetli nöron dejenerasyonu, yangısal reaksiyon ve doku hasarına yol açar (Fagard ve ark., 1999). Nöron sitoplazmasına girdiğinde ise, konak hücre ve parazitin kendisi tarafından oluşturulan iki ayrı membran ile izole olur, metabolik aktivite ve bölünme hızını da azaltır (Melzer ve ark. 2010, Blanchard ve ark. 2015). Beyinde, *T.gondii* doku kisti ile enfekte konak hücresi arasında, sürekli bir mesaj alışverişi ve transport yolağının bulunduğu yakın zamanda kanıtlanmıştır. Örneğin, *T.gondii*'nin düşük patojeniteli suşları ile enfekte nöronlarda; Bcl-2 aracılı anti-apoptotik süreç aktive edilir ve hücrenin yaşam süresi uzatılarak parazit lehine bir mekanizma işletilmiş olur. Diğer bir örnek, *T.gondii* enfekte hücrelerde, enfekte olmayanlara oranla daha yüksek oranda otofaji görülmesidir. Parazit, besin maddeleri azaldığında, konak hücre organellerinin lizozomlara taşınarak sindirilmesini ve üretilen enerjinin parazitofor vakuol aracılığıyla kendisine doğru transportunu modüle edebilmektedir. Yine, merkezi sinir sisteminde konak Th1 immun yanıtı (başlıca TNF- α , IFN- γ), bir şekilde *T.gondii* doku kistleri tarafından algılanmakta ve immün yeterli bireylerde bağışıklık güçlü devam ettiği sürece protozoon kist formunda korunaklı kalabilmektedir (Deckert-Schulter ve ark. 1998, Haroon ve ark. 2012). *Toxoplasma gondii*, bağışıklığı güçlü bireylerde, enfeksiyon şiddetini, oldukça ılımlı-anlaşmacı düzeyde korumakta (subklinik) ve bunu halen tam olarak bilinmeyen kompleks bir konak-parazit ilişkisi içerisinde kendi lehine yönlendirebilmektedir. Tip II suşla oluşturulan enfeksiyonlarda; sürekli yeni kist oluşturmaya eğilim bulunduğu düşünülür. Bu, kist rupturu, takizoitlerin açığa çıkması ve tekrar bradizoitlerin

gelişmesiyle olur. Yapılan bazı çalışmalar, beyinde yeni doku kisti oluşumunun daha önceki kistlerden sızıntı sonucu meydana geldiğini göstermektedir. Yeni doku kistlerinin oluşmasına neden olan faktörler ise halen tam olarak bilinmemektedir (Dubey 2010).

T. gondii beyinde astrositleri, nöronları ve diğer glial hücreleri etkiler (Fagard ve ark. 1999) ve ensefalitik toksoplazmozlu farelerde, beyindeki ilk nöropatolojik bulgu; glial fibrillary acidic protein (GFAP) işaretleyicisiyle immunohistokimyasal olarak gösterilebilen, astroglial aktivasyondur (Hunter ve ark. 1992). Buna karşın, takizoitlerin bradizoitlere dönüştüğü stage-conversion aşamasında az sayıda astrosit ve mikroglia protozoon içermektedir (Haroon ve ark. 2012).

1.7. Kronik Ensefalitik Toksoplazmoz'da Yangısal ve Nöropatolojik Değişiklikler

Toxoplasma gondii doku kistlerinin yerleşimi beyinde özellikle bazı bölgelerde yoğunlaşmaktadır. Fare ve ratlarda, doku kistlerinin, amigdala, hipokampus, bulbus olfaktoryus ve prefrontal kortekste beynin diğer bölgelerine oranla daha yüksek oranda şekillendiği gösterilmiştir (Vyas ve ark. 2007, Koçak ve ark. 2012). İlginç şekilde; yangısal reaksiyonlar da doku kistlerinin yoğun olarak yerleştiği alanlarda 'diensefalon, korteks ve hipokampus'ta daha şiddetli görülmektedir (Hermes ve ark. 2008). Kronik enfekte farelerde hipokampus yakınında bulunan kan damarları çevresinde oluşan yangısal reaksiyon oldukça yaygın ve şiddetlidir. Bu yangısal infiltrasyon ve doku hasarı, posterior serebral arterin bifurkasyon noktasında ve hipokampus'un hemen yakınlarında (kısa süreli hafıza ve spatial oryantasyondan sorumlu) kan damarlarına yakın olarak tanımlanmıştır (Hermes ve ark. 2008). Melzer ve arkadaşları (2010) kistojenik suş ile enfekte ettikleri farelerde; uzun dönemde, beyindeki doku kisti büyüklüklerinin azaldığı, sayılarının neredeyse aynı kaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmada vurgulanan en önemli bulgu ise enfeksiyonun başlangıç döneminde enfekte olduğu gösterilen nöroglia hücrelerinin, ilerleyen dönemlerde parazit içermemeleridir. Diğer bir çalışmada; 60'ıncı günde, 30'uncu

güne kıyasla korteks ve hipokampusta kist sayısı azalırken, amigdala, olfaktor bulbus ve serebellumda bir değişikliğe rastlanmamıştır (Haroon ve ark. 2012).

Yapılan in-vitro çalışmalarda fare beyinde takizoitlerin nöron, glia ve astrositleri enfekte ederek, bu hücreler içinde kist formunu oluşturduğu söylenmektedir. Ayrıca insan beyni nöron ve glia hücrelerinde parazitin kist formu gösterilmiştir. Elektron mikroskopik çalışmalarda; parazit kistlerinin nöron uzantısı veya akson, dentritte de yerleşebildiği gösterilmiştir (Carruthers ve ark. 2007).

1.8. *Toxoplasma gondii* Doku Kistinin Morfolojik, Antijenik ve Moleküler Özellikleri

Doku kisti, kist yaşına bağlı olarak içerisinde farklı sayıda bradizoit bulundurur ve etrafını çevreleyen kist duvarı farklılaşır. Genç doku kistleri en az 5µm dir ve içerisinde iki tane bradizoit bulundurur. Doku kistleri ortalama 50-70µm büyüklüğünde ve içerisinde yüzlerce bradizoit bulundurabilir. Kist duvarı ise elastin, gümüş boyalarla boyanabilir ve 0.5µm den daha incedir, periodik asit Schiff (PAS) pozitif boyanır, kist duvarı glikoprotein yapıdadır (Weiss ve Kim 2000, Zhang ve ark. 2001, Dubey 2010).

Bradizoit çekirdeği posterior uçta bulunur, proteolitik enzimlere takizoite göre daha dirençlidir (Weiss ve Kim 2000). Bradizoit çekirdeği kedi bağırsağındaki seksüel bölünmesi hariç haploittir ve 14 kromozom, 7793 gen, 80 milyon nükleotidi olduğu kanıtlanmıştır (Ajioka 1998, Darde 2004, Dubey 2010).

1.9. Deneysel Ensefalitik Toksoplazmoz Modelleri

Deney hayvanlarında oluşturulan toksoplazmoz modeli ve hayvanın direnci parazitin suşuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Laboratuvar hayvanları hastalığın çalışılması için elverişli olsa da sırasıyla sıçan, kobay, tavşan ve fareler *T. gondii* enfeksiyonlarına karşı direnç gösterirler (Dubey ve Frankel 1998, Hermes ve ark. 2008, Kul 2009).

Howe ve Sibley, *T. gondii* yi 3 farklı genetik tipte sınıflandırdı. Tip I suş, fareler için öldürücü olarak nitelendirilirken, Tip II farelerde öldürücü olmayan ancak insanlar için enfeksiyona neden olan suştur. Tip III ise çok sık rastlanmayan fenotipik olarak değişiklik gösteren suştur (Akarsu 2008, Dubey 2010). Lehman ve arkadaşları yaptığı geniş çaplı genetik araştırmalar sonucunda *T.gondii*'nin bir çok suşu olduğunu belirlemiştir (Dubey 2010).

1.9.1. Kronik Ensefalitik Toksoplazmozda Murin Model Kullanımı

İnsanlardaki ensefalitik toksoplazmozda konak-parazit ilişkisinin anlaşılabilmesi için gerçekleştirilen in vitro çalışmalar; *T. gondii* ile konak hücreleri ve konak immun yanıtı arasındaki ilişkiyi açıklayamadığı için yetersiz kalmış ve deney hayvanı modellerinin bu ilişkiyi daha iyi açıklayabileceği düşünülmüştür. Bu bakımdan, av – avcı parazit döngüsünde, son konağı kedi olan *T. gondii* için fareler oldukça önemli konaklardır (Dubey 1998). Farelerin genetik yapısı ensefalitik toksoplazmoz seyrinde önemli rol üstlenir ve C57BL/6 ve CBA/Ca gibi MHC haplotip laboratuvar fareleri kronik ensefalitik toksoplazmoz için iyi bir model oluşturur (Schulter ve ark. 1991). Konağın genetik yapısı ve bağışıklık yanıtının yanı sıra, *T. gondii* suşları da toksoplazmozun konağa etki düzeyinde önem taşır. RH suşu gibi *T.gondii*'nin tip 1 suşları, doku kisti oluşturmaksızın akut öldürücü toksoplazmoza neden olurken, insanlarda en çok görülen ME 49, PRU gibi tip2 suşları, beyinde kist oluşturmaya meyilli enfeksiyon tablosu ortaya çıkarmaktadır (Blanchard ve ark. 2015).

İmmun-baskılayıcı durumlarda ortaya çıkan bradizoit reaktivasyon mekanizması halen tam anlamıyla açıklığa kavuşturulabilmiş değildir. Toksoplazmik ensefalit patogenezi aydınlatmak adına yapılan deney hayvanları çalışmaları genelde; sitokinler ile T hücre popülasyonları, glial hücre popülasyonları ve *T. gondii* arasındaki ilişkileri açıklamaya yönelik olmuştur.

Latent kronik toksoplazmozda kazanılmış bağışıklık önemli role sahiptir (Sher ve ark. 1995). İmmun-baskılanmış bireylerde CD4+ T hücre popülasyonunun 100-200

hücre/mm³' ün altına düşmesiyle birlikte reaktivasyon şekillendiği gösterilmiştir (Pereira-Chioccola ve ark. 2009). Gazzinelli ve arkadaşları (1992) yaptıkları çalışmalarda sadece CD4+ hücrelerin değil CD8+ hücrelerin de kronik dönemde reaktivasyonun önlenmesinde görev aldığını göstermişlerdir.

Doku kistlerinin kontrolündeki diğer bir önemli faktör ise sitokinlerdir. Özellikle IFN- γ ekspresyonu ve beyinde IFN- γ varlığının devamını sağlayan IL-12 doku kistlerinin rupturunu engeller (Suzuki ve Joh 1994). IFN- γ çoğunlukla T hücrelerinden salgılanır. Ancak; beyinde CD11+ mikroglia ve makrofajlar tarafından da eksprese edildiği bilinmektedir (Wang ve ark. 2007). Bu nedenle, makrofaj ve/veya mikrogliaların beyinde T hücreleriyle koordineli biçimde IFN- γ üretimi ensefalit tablosunun önlenmesinde önemli göreve sahiptir, bu mekanizmalardaki aksama durumlarında öldürücü ensefalit tablosu ortaya çıkmaktadır. Suzuki ve arkadaşları (1996) özellikle altıncı ve yirminci haftalar arasında yaptıkları kronik toksoplazmoz modelinde IL-4 eksikliğinde kist reaktivasyonu gerçekleştiğini göstermişlerdir. Yapılan çalışmalarda; TNF- α knockout farelerde akut enfeksiyonda ölüm gözlenmezken, enfeksiyonun kronik döneminde ise öldürücü toksoplazmik ensefalit tablosu şekillenmiştir (Yap ve ark. 1998).

İnsanlarda en sık karşılaşılan toksoplazmik ensefalit tablosu; kronik asemptomatik seyreden *T. gondii* enfeksiyonu sırasında karşılaşılan bir immun-baskılayıcı etkiyle oluşmaktadır. T hücre sayısını azalığı nedeniyle insanlarda görülen ensefalit tablosuna en yakın fare modeli, Th1 immun-yanıt eksikliği olan farelere sülfadiyazin uygulamasıyla birlikte oluşturulan ensefalit modelidir (Dunay ve ark 2004). Bununla birlikte; *T. gondii*' nin direkt olarak kortizon asetatla birlikte intraserebral uygulandığı ensefalit modelleri de oluşturulmuştur (Hofflin ve ark. 1987). Ayrıca, insan tedavisinde kortikosteroid ilaçların kullanımıyla birlikte görülen ensefalit tablosunu taklit etmek için, deney hayvanlarında deksametazon uygulamasıyla birlikte ensefalit oluşturma da diğer modelleme biçimini oluşturmuştur (Nicoll ve ark. 1997).

Bu çalışmanın amacı, farelerde *Toxoplasma gondii* ME49 suşu ile oluşturulan kronik kistojenik toksoplazmoz modelinde, doku kisti reaktivasyonunun

indüklenmesi ve aynı anda uygulanan kemoterapinin meydana gelecek ensefalitisin önlenmesi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Etik Beyanı

Deney hayvanlarının bakımı ve tüm deneysel prosedürler Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deney Hayvanları Ünitesi'nde yapıldı. Çalışma süresince uygulanan tüm bu prosedürler ve deneysel aşamalar için, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alındı (22.10.2010, 10/159 numaralı Etik Kurul Raporu).

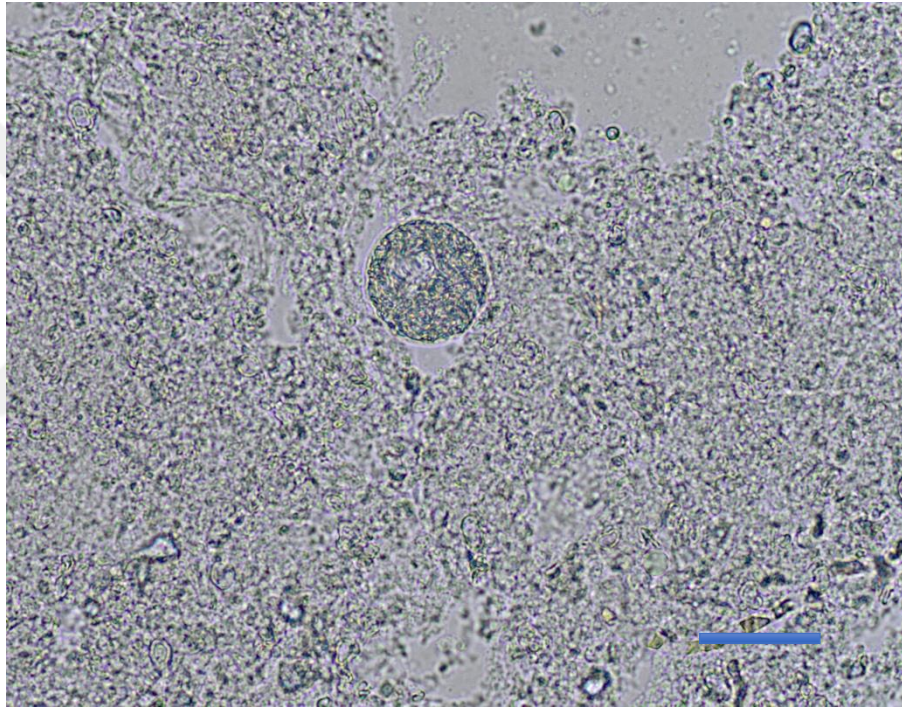
2.2. Deney Hayvanları

Çalışmada 67 adet Swiss-albino dişi fare kullanıldı. Fareler, Tip II long, polikarbon kafesler (Allentown Inc, USA) içerisinde ve her bir kafeste en fazla 5'er fare bulunacak şekilde bakıldı. Bu kafeslerin yerleştirildiği deney hayvanı ünitesi ise, 3m³/dk ventilasyon gücüne sahip, 0.1 µm por genişlikli HEPA filtre ile havalandırıldı ve çevre güvenliği sağlandı. Deney süresince farelere, ticari rodent yemi (Ankara Yem, Kırıkkale) ad libitum olarak verildi ve şehir şebeke suyu kullanıldı.

2.3. Etken

Çalışmada kullanılan *Toxoplasma gondii* ME49 suşu olarak, 2009 yılında Dr. Alvaro Freyre, Toxoplasma Research Lab, Uruguay'dan yasal izinlerle getirilen ve o zamandan buyana Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında düzenli olarak pasajlanan ve dondurulan etken kullanıldı. Kısaca, etken, sıvı azot tankından çıkarıldıktan sonra, 37 °C su banyosunda çözdürüldü ve 2x10⁵ Vero hücresi içerisinde %4 CO₂'li etüvde 3 gün süreyle kültüre edildi. Yeterli takizoit sayısına ulaşıldıktan sonra, tripsinize edilen hücreler 30G iğneden 25 kez

geçirilerek ruptüre edildi ve takizoitler açığa çıkarıldı, 2000 devir 5 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen pellet içerisindeki takizoitler sayıldı. Swiss albino farelere 10^4 sayıda intraperitoneal injekte edildi. *Toxoplasma gondii* ME49 takizoitleri verilerek kronik toksoplazmoz oluşturulan 4 adet 20g Swiss albino fareye, 6-8 hafta sonra ötenazi uygulandı ve beyinleri steril şekilde ayrılarak homojenize edildi. Beyin 10ml'lik enjektörün iğnesinden 5-6 kez geçirilerek homojenize edildikten sonra 25 μ l içerisindeki doku kisti sayısı mikroskop altında sayıldı. Çalışmada kullanılacak her bir fareye 25 adet doku kisti gelecek şekilde sulandırıldı ve her seferinde vortekslendikten sonra ayrı ayrı tüplere alındı.



Şekil 2.1. Kronik kistojenik toksoplazmoz oluşturulan fare beyninden hazırlanan homojenat içerisinde *Toxoplasma gondii* doku kisti, Bar=50 μ m

2.4. Deney Düzeni

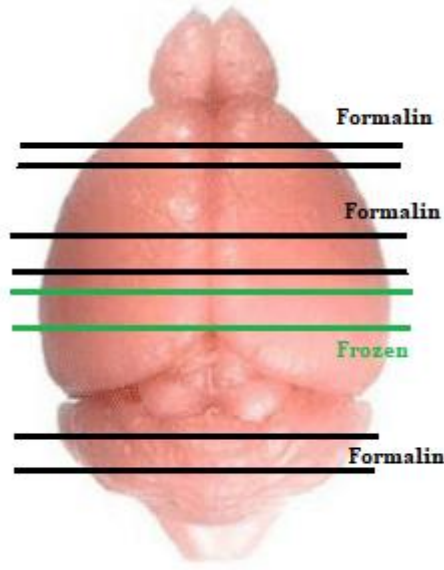
Her birinde 25 *T.gondii* doku kisti içeren inokulum eşit miktarda penisillin/streptomisin ile karıştırılarak, farelere (n=67) oral gavaj yoluyla uygulandı. Enfekte edilen bu fareler aşağıdaki şekilde 3 ayrı gruba ayrıldı (Tablo 1); Grup 1:

doku kisti kontrol grubu (n=25), Grup 2: doku kisti reaktivasyon grubu (n=21), Grup 3: reaktivasyon+tedavi grubu (n=21). ME49 doku kisti ile enfekte edilen fareler gruplara ayrıldıktan sonra 15'inci (n=2) ve 30'uncu (n=2) günlerde, doku kisti kontrol grubundan 4 fareye ötenazi yapıldı. 44 ncü günde ise Grup 2 ve farelere immunsupresyon amacıyla metilprednizolon asetat (200mg/kg, Depo-Medrol, Eczacıbaşı İlaç Sanaayi), Grup 3 farelere ise metilprednizolon asetat (200mg/kg, Depo-Medrol, Eczacıbaşı İlaç Sanaayi) ve aynı gün 5mg/kg toltrazuril (Bayer AG, Germany) uygulandı. İlaç uygulamasını takiben 1, 3 ve 7'nci günlerde; her bir grupta yedişer fareye ötenazi yapıldı. İmmunsupresyonun başarılı şekilde oluştuğunun kontrolü amacıyla her bir farenin canlı ağırlığı ve dalak ağırlığı tartılarak not edildi. Beyin ve diğer organlardan alınan örnekler patolojik rutin takip işlemlerinden geçirilmek üzere %4 tamponlu paraformaldehit içerisine alındı. İmmunsupresyon uygulanan farelerde, ötenazi sonrasında bireysel olarak vücut ağırlıkları ile dalak ağırlığı ölçüldü ve dalak ağırlığı/vücut ağırlığı oranı kaydedildi.

Çizelge 2.1. Çalışma Takvimi, Fare sayısı

Deney Grupları	Etken	Fare Sayısı	İnokulum <i>T. gondii</i>	Ötenazi (Gün)
Grup 1	<i>T. gondii</i> ME49	25	25 Doku kisti	15, 30, 45, 47, 52
Grup 2	<i>T. gondii</i> ME49	21	25 Doku kisti, 5mg/fare Prednizolon	45, 47, 52
Grup 3	<i>T. gondii</i> ME49	21	25 Doku kisti, 5mg/fare Prednizolon Toltrazuril	45, 47, 52

Farelerden alınan beyin örneği frozen işlemi ile ön bir incelemeye tabi tutuldu. Bu işlem için alınan beyin örneği dondurularak lam üzerine kesit alındı. Daha sonra hızlı boyama tekniği ile hematoksilin-eozin boyaması yapılarak beyinde doku kisti, reaktivasyon alanı olup olmadığı kontrol edildi.



Şekil 2.2.Beyin dokusu çıkarıldıktan sonra, çalışmada kullanılacak bölümlerin trimlenme düzenini gösteren plan

2.4.1. Histopatolojik İnceleme

Farelere paraformaldehit perfüzyon yöntemi uygulanmadan önce ksilazin ve ketamin karışımı kas içi uygulanarak derin anestezi sağlandı. Sonrasında, fareler 25x20cm ebatlarında köpük platforma sabitlendikten sonra göğüs kafesinin açılmasıyla sol kalp ventrikülüne insülin enjektörü ile girilerek %4 lük paraformaldehit kontrollü bir şekilde verilirken, sağ ventrikülden aynı hızla kan drene edildi ve sağ ventrikülden paraformaldehit gelene kadar bu işleme devam edildi. Kalp durduktan sonra organlar uygun bir şekilde çıkarılarak %4 tamponlu paraformaldehite konuldu. Tespit olan dokular akan su altında 24 saat yıkandıktan sonra rutin takip işlemi için alkol (%50, 60,70,90 ve absöü alkol) ve ksilolden geçtikten sonra parafine gömme işlemi gerçekleştirildi. Her bir bloktan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilien-eozin ve immunohistokimyasal boyama prosedürlerine göre boyanarak incelendi.

2.4.2. İmmunperoksidaz İncelemeler

İncelenmek üzere kesiti alınan dokularda parazit varlığını saptamak amacıyla streptavidin-biotin immünperoksidaz kiti (Thermo, CA, ABD) ile kit prosedürüne uygun olarak boyama yapıldı. Ksilolde deparafinize olan kesitler dereceli alkol serilerinde 5'er dakika tutulduktan sonra distile suya alınarak kesitlerin rehidre olması sağlandı. Sonrasında %3 lük hidrojen peroksit solüsyonunda 15 dakika tutulan dokuların endojen peroksidaz aktivitesi giderildi. Proteinaz K'da oda ısısında (22 °C) 10 dakika bekletildikten sonra protein bloke edici serumda 7 dakika bekletilen dokular, 1/500 oranında sulandırılan *T. gondii* doku kisti antijenine özgü poliklonal fare anti-*T.gondii* antikoru ile 1 saat oda ısısında inkübasyona bırakıldı. 15 dakika biotinle işaretli sekonder antiserum ve yine 15 dakika streptavidin peroksidaz enzimine maruz bırakılan dokular renk işlemi için üzerlerine aminoethyl carbasole (AEC) kromojeni damlatıldıktan sonra karşıt boyama için Mayer'in hematoksileni ile 1-2 dakika boyandı. Bu işlemden sonra boyanan dokular su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı.

Üç gruba ayrılan farelerin boyanan beyincik, orta beyin ve ön beyin bölümleri mikroskop altında incelenerek meningitis, gliozis, perivasküler hücre infiltrasyonu ve reaktivasyon kriterleri yönünden 0-4 arası değerlerde skorlama yapıldı; 0 = Lezyon Yok, 1= Hafif, 2= Orta şiddette, 3= Yoğun, 4= Çok yoğun. Her farenin beyindeki doku kisti sayısı belirlendi ve doku kistlerinin kısa ve uzun çaplarından ölçümler yapıldı (Olympus BX51 trinoküler mikroskop, DP 25 dijital kamera).

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Çalışmada parazitin oral yolla verilmesini izleyen 24 saat, farelerde genel fiziksel aktivitelerinde azalma, tüylerde karışıklık gibi belirtiler izlenmekle birlikte deney süresince ölüm gözlenmedi. Bununla birlikte, inokülasyon sonrası 44'üncü gün immunsupresyon uygulandıktan sonra Grup 2'de iki farede, aşırı aktivite, kendi etrafında dairesel hareketler ve inkoordinasyon ile karakterize sinirsel belirtiler gözlemlendi. İmmunsupresyonun doğru şekilde gerçekleştirildiğinin kontrolü amacıyla farelere ötenazi yapıldıktan sonra kaydedilen dalak ağırlığı/vücut ağırlığı verileri Çizelge 3.7, Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9'da verilmiştir.

3.2. Histopatolojik Bulgular

Çalışmada *Toxoplasma gondii* doku kistlerinin başarılı şekilde oluşturulduğunun kontrol edilmesi ve oral yolla doku kisti verilmesini takiben parazitin beyine ulaştığı sürenin tespiti amacıyla 15'inci günde ötenazi yapılan fare beyinlerinde (n=2) hem histopatolojik, hem de *T.gondii* spesifik immunoperoksidaz testlerde herhangi bir bulguya rastlanmadı. Bununla birlikte, inokülasyon sonrası 30'uncu günde ötenazi yapılan fare beyinlerinde (n=2) hafif derecede perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları, kapillar endotel hipertrofisi, nöronlarda büzüşme ve hafif gliosis görülürken, az sayıda genç doku kistleri dikkati çekti. Dejenere nöron sitoplazmaları, damar duvarı ve çevresi astrosit, glia hücreleri ile doku kistlerinde *T.gondii* immunopozitiflikleri saptandı.

Deney sonu incelenen tüm beyin dokuları ve çalışma grupları değerlendirildiğinde ise doku kistlerine tüm gruplarda rastlanırken sayı ve büyüklüklerine ait bilgiler Çizelge 3.4, Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'da verilmiştir. Başlıca histopatolojik bulgular; kapillar hiperemi, endotel hipertrofisi, nöron dejenerasyon ve nekrozları, satellitozis, meningitis, perivasküler hücre infiltrasyonu ve gliosis ile karakterizydi. Her bir grupta yer alan

farelere ait lezyon şiddeti ve dağılımını gösteren nörohistopatolojik skorlama Çizelge 3.1, Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çalışmada doku kisti kontrol olarak oluşturulan Grup 1 fare beyinlerinde (n=21); farklı büyüklüklerde ve etraflarında herhangi bir yangısal reaksiyon bulunmayan doku kistlerine rastlanırken, lokalizasyon olarak genellikle orta beyin, parietal ve temporal korteks, hipokampus ve daha nadiren de serebellum, pons ve medulla oblongata bölgelerinde lokalize oldukları gözlemlendi. İnokülasyon sonrası, 45, 47 ve 52'nci günlerde ötenazi yapılan farelerde, nöropatolojik değişiklikler ve doku kisti dağılımı açısından belirgin bir farklılık dikkati çekmedi. Bununla birlikte; bu grupta 3 farede doku kisti tespit edilemedi. Yalnız dört olguda, ileri derecede gliozis ve mikrogliyal aktivite gözlenirken, perivasküler hücre infiltrasyonu hafif ve orta derecede, meningitis ise genellikle hafif dereceli olarak gözlemlendi. Bu grup fare beyinlerinde, nekroz ya da doku kisti reaktivasyon bulgusuna rastlanmadı.

Grup 2'de, inokülasyon sonrası 44'üncü günde immunsupresyon yapılarak, beyinde doku kisti reaktivasyonunun amaçlandığı fare beyinlerinde; başlıca nöropatolojik değişiklikler kapillar hiperemi, nöronlarda dejenerasyon ve nekroz, 2-5 hücreden oluşan astroglial reaksiyonlar ile merkezinde ruptüre doku kisti yer aldığı değerlendirilen yaygın gliozis gözlemlendi. Bu grupta, 11 fare beyininde belirgin şekilde doku kisti reaktivasyonuna bağlı şiddetli glial nedbe ve çevre dokularda mikrogliyal aktivite ile damar çevrelerinde mononükleer hücrelere rastlandı. Yalnız bir olguda, kortikal alanda geniş koagülasyon nekrozu şekillendi. Bütün bu reaktivasyon bulguları ile birlikte 2 olgu haricinde, Grup 1'de tanımlanan lokalizasyonlara uyumlu olarak doku kistleri belirgin şekilde mevcuttu.

Grup 3 farelerde; nörohistopatolojik değişiklikler belirgin şekilde Grup 1 farelerde tanımlananlara göre daha şiddetli, ancak Grup 2'deki farelerdekine göre ise daha hafif düzeyde şekillendi. Başlıca bulgular, hiperemi, vasküler endotel hipertrofisi, değişen derecelerde gliozis, nöron dejenerasyonları ile karakterizydi. Bununla birlikte, belirgin şekilde dejenere doku kisti ve etrafında fokal sınırlı bir glial nedbe şekillenmiş reaksiyonlara sıklıkla rastlandı. Beş olguda, gliozis orta ve ileri derecede görülürken, değişen derecelerde meningitis ve perivasküler hücre grupları tespit edildi.

Servikal ve torakal omurilik dokusunda ise; 3 olguda *T.gondii* doku kistleri şekillenmişti, 2 olguda ise gri madde ventral boynuz nöronlarında büzüşme ve nekroz ile hafif derecede gliosis gözlenmesine rağmen, doku kisti varlığına rastlanmadı. Grup 2’de, 5 olguda omurilik gri maddesinde doku kistlerine rastlanırken, yangısal değişiklikler beyinde tanımlanan doku kisti reaktivasyon reaksiyonları (n=5) ile karakterizeydi. Grup 3’te, 5 olguda etrafında yangısal reaksiyon bulunmayan doku kistleri, 3 olguda belirgin nöron nekrozları gözlenirken, bir olguda gliosis dikkati çekti.

3.3. İmmunoperoksidaz Bulgular

Toxoplasma gondii antijeni doku kisti spesifik immunopozitif boyanmalar, Grup 1 doku kisti kontrol grubu fare beyinlerinde, beyinde doku kistlerinin seçici olarak boyandığı ve çevre dokulardan ayırım yapılabilecek şekilde ortaya çıktıkları bir görünüme sahipti. Bu grup fare beyinlerinde, damar duvarı, bazı nöron sitoplazmaları, meningeal yangı hücreleri ve nöroglia hücrelerinde hafif de olsa immunopozitifliklere rastlandı. Grup 2 ve Grup 3 fare beyinlerinde ise; histopatolojik olarak tanımlanan gliosis ve doku kisti reaktivasyon alanları, çevresinde yeralan astrosit, mikroglia ve nöron sitoplazmaları ile damar duvarları şiddetli derecede *T. gondii* yönünden immunopozitiflik gösterdi. Grup 3 fare beyinlerinde nöroglia ve nöron sitoplazma immunreaksiyonları Grup 2’ye oranla çok daha hafif seviyede şekillendi. Grup 3’te, çevresinde yangısal reaksiyon bulunmayan doku kistlerinin hemen çevresindeki nöroglial hücre ve nöron sitoplazmalarında granüler tarzda *T.gondii* immunopozitiflikleri dikkati çekti.

Çizelge 3.1. Doku kisti kontrol grubu beyinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA																					
Grup 1																					
OLGU NO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Meningitis	1	0	0	2	0	0	1	0	3	1	0	0	1	1	1	4	3	1	1	2	1
Perivasküler Hücre İnfil.	2	1	0	3	1	0	1	0	2	1	0	0	0	1	2	3	2	1	1	0	2
Gliozis	0	1	0	2	1	3	0	0	3	0	0	0	2	2	1	3	4	1	2	0	0
Omurilik	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0
Doku Kisti Sayısı	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Doku Kisti Varlığı	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet

Çizelge 3.2.Doku kisti reaktivasyon grubu beyinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA																					
Grup 2																					
OLGU NO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Meningitis	4	3	1	2	3	4	2	1	1	2	2	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Perivasküler Hücre İnfil.	1	1	2	2	2	2	1	1	0	2	1	1	1	0	0	0	1	1	2	0	0
Gliozis	3	1	1	3	0	4	1	3	4	4	3	2	2	1	0	1	2	2	1	1	4
Omurilik Lezyon	3	0	0	3	3	0	2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Doku Kisti Varlığı	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır

Çizelge 3.3.Reaktivasyon+Tedavi grubu beyinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA																					
Grup 3																					
OLGU NO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Perivasküler Hücre İnfil.	2	1	1	2	1	1	1	1	3	3	1	2	0	1	0	3	3	1	1	0	0
Glozis	1	2	3	0	2	3	3	1	2	4	2	2	1	2	3	3	2	2	0	1	2
Omurilik Lezyon	1	0	1	3	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2
Doku Kisti Varlığı	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet

Çizelge 3.4. Doku kisti kontrol grubuna göre kist çapı ve sayısı

Grup 1. Doku Kisti Kontrol Grubu													
Dk Sayısı	2	7	10	2	1	3	1	3	14	2	2	2	3
Ort. Kist Çapı	0,5878	0,5303	0,5393	0,6652	0,5664	0,4484	0,4141	0,9023	0,7193	0,7217	0,6629	0,8777	0,6979

Çizelge 3.5. Doku kisti reaktivasyon grubuna göre kist çapı ve sayısı

Grup 2. Doku Kisti Reaktivasyon Grubu																	
Dk Sayısı	11	3	13	8	6	2	11	4	5	6	17	2	11	3	1	2	1
Ort. Kist Çapı	0,6269	0,6600	0,6337	0,6993	0,8055	0,7513	0,6637	0,5222	0,6658	0,7254	0,6672	0,6526	0,6948	0,5346	0,9377	0,7016	0,3288

Çizelge 3.6. Reaktivasyon + Tedavi grubuna göre kist çapı ve sayısı

Grup 3. Reaktivasyon+Tedavi Grubu																									
Kist Sayısı	5	4	6	13	8	10	6	8	65	21	12	26	7	2	2	4	14	4	1	1	1	2	1	1	1
Ort. Kist Çapı	0,7235	0,2164	0,6033	0,6646	0,6474	0,7402	0,6448	0,6900	0,5918	0,6462	0,6138	0,5877	0,6823	0,7004	0,6860	1,0965	0,6056	0,6433	0,8038	0,5263	0,3195	0,4296	0,4628	0,5816	0,4249

Çizelge 3.7. Doku kisti kontrol grubu dalak ve vücut ağırlıkları

Grup 1. Doku Kisti Kontrol Grubu																	
Dalak Ağırlığı	0,011	0,049	0,061	0,049	0,026	0,018	0,028	0,027	0,089	0,071	0,080	0,157	0,184	0,180	0,101	0,087	0,065
Vücut Ağırlığı	9,520	17,982	20,275	15,728	14,699	14,605	16,422	18,379	26,500	22,554	29,224	28,575	26,200	35,230	24,783	27,000	29,790

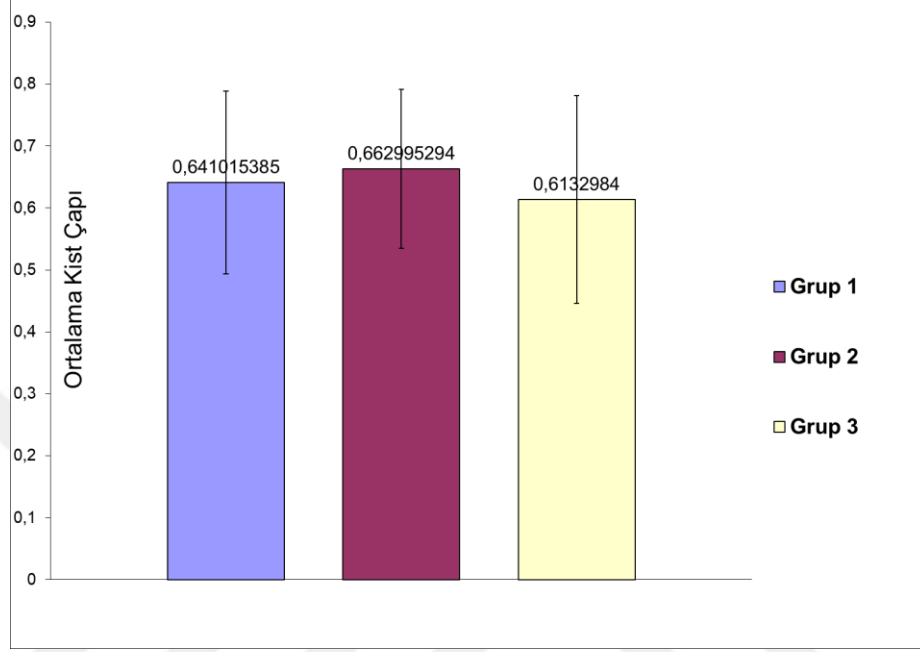
Çizelge 3.8. Doku kisti reaktivasyon grubu dalak ve vücut ağırlıkları

Grup 2. Doku Kisti Reaktivasyon Grubu																					
Dalak Ağırlığı	0,074	0,032	0,035	0,029	0,022	0,040	0,050	0,045	0,052	0,032	0,039	0,032	0,032	0,029	0,025	0,010	0,008	0,050	0,045	0,072	0,038
Vücut Ağırlığı	34,450	24,600	21,445	21,660	13,736	30,700	26,200	30,200	24,500	20,870	23,900	23,110	23,400	25,001	23,622	14,103	14,268	21,106	20,110	22,850	23,237

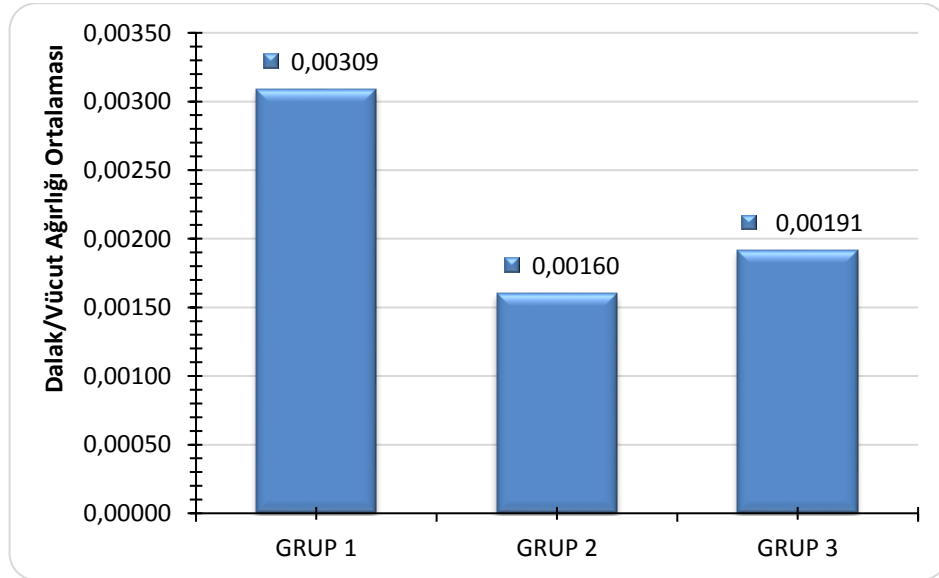
Çizelge 3.9. Doku kisti reaktivasyon + tedavi grubu dalak ve vücut ağırlıkları

Grup 3. Doku Kisti Reaktivasyon Grubu																					
Dalak Ağırlığı	0,129	0,045	0,061	0,035	0,034	0,060	0,050	0,018	0,012	0,030	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,009	0,016	0,030	0,106	0,096
Vücut Ağırlığı	19,217	27,610	25,058	27,100	23,600	25,600	27,500	12,928	9,789	10,585	21,770	24,250	21,010	15,360	15,970	14,880	17,740	17,237	21,890	25,250	26,185

Kist sayılarının Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e göre karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Sonuç olarak gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi.



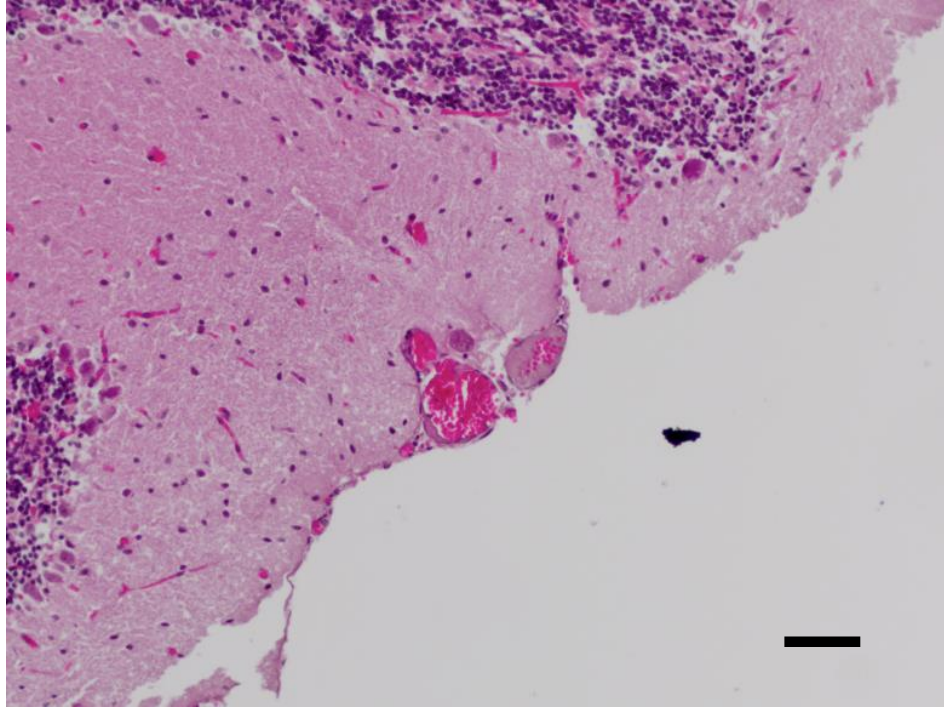
Şekil 3.1. Kruskal-Wallis yöntemiyle gruplara göre ortalama kist çapı istatistiği



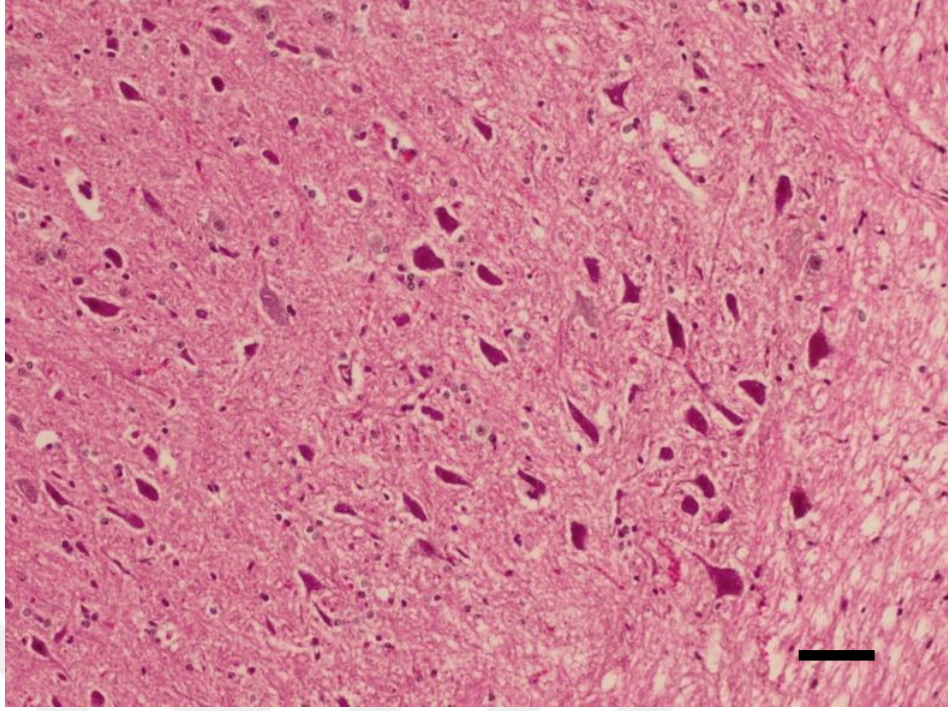
Şekil 3.2. Gruplara göre dalak/vücut ağırlığı ortalaması



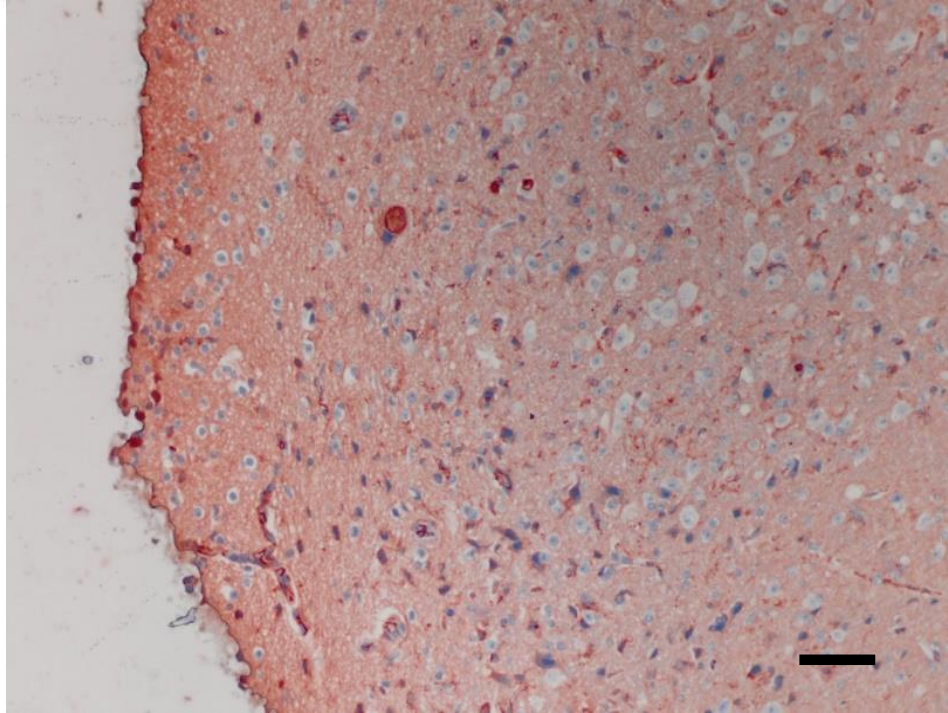
Şekil 3.3. Doku Kisti Kontrol Grubu, mezenteriyal subserozal damarlarda genişleme, İnokulasyon sonrası 15. gün



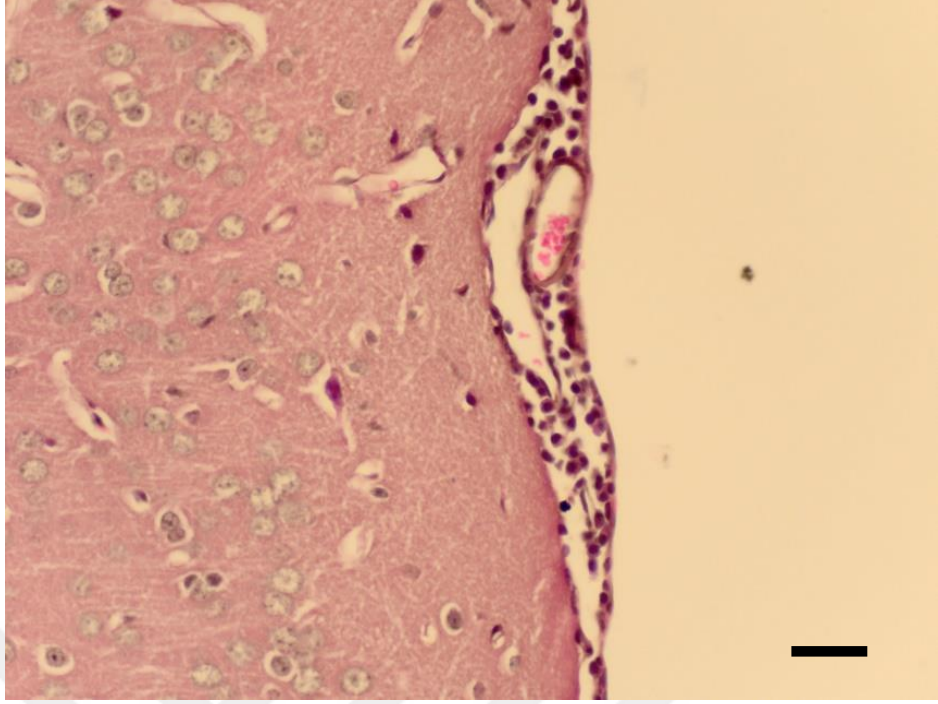
Şekil 3.4. Hiperemik meningeal damar çevresinde lokalize doku kisti, HE, Bar= 120 µm



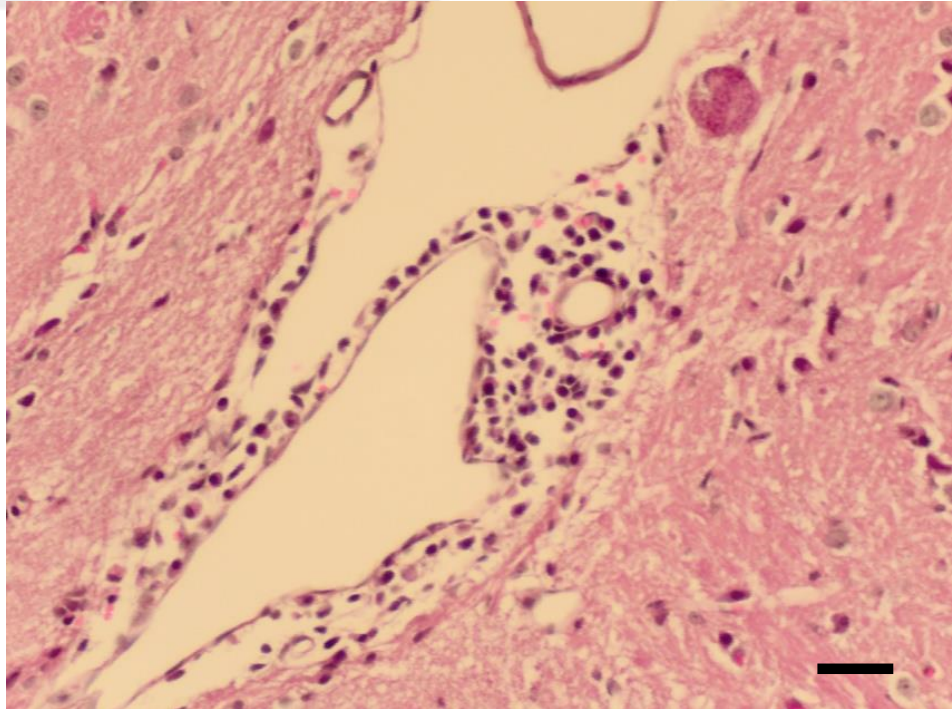
Şekil 3.5. Nöronlarda dejeneratif değişiklikler ve büzüşme, Doku Kisti Kontrol Grubu, HE boyama, Bar= 120 µm



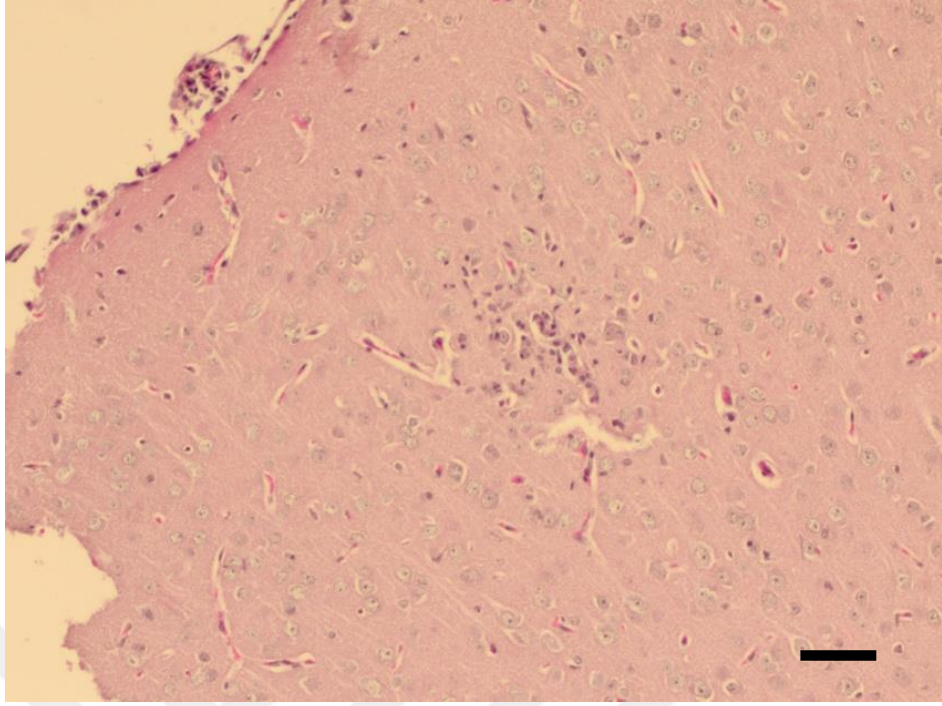
Şekil 3.6. İmmunopozitif *T.gondii* doku kisti, Doku Kisti Kontrol Grubu, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 180 µm



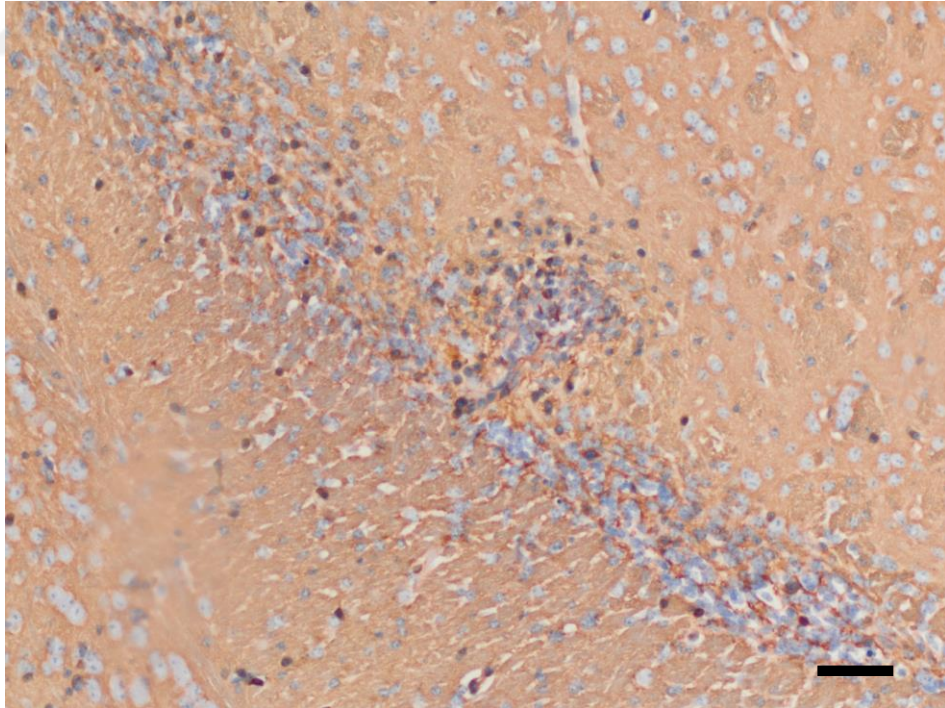
Şekil 3.7. Fokal meningitis alanı, Doku kisti reaktivasyon grubu, HE boyama
Bar= 80 μ m



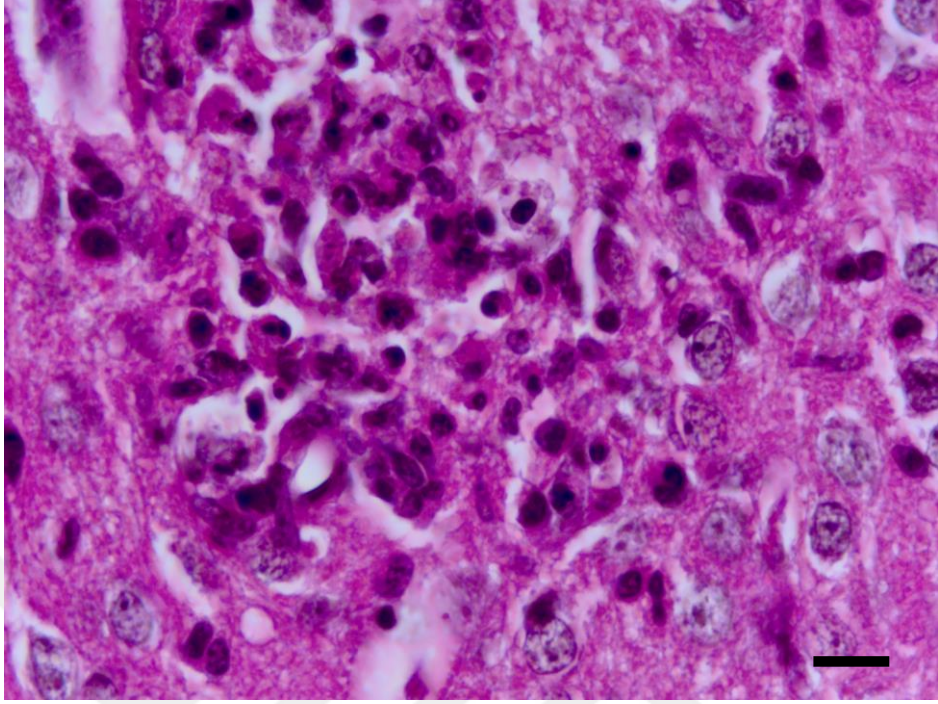
Şekil 3.8. Doku kisti reaktivasyon grubunda şekillenen doku kisti ve hemen yakınında damar çevresi yangısal reaksiyon, HE boyama, Bar= 80 μ m



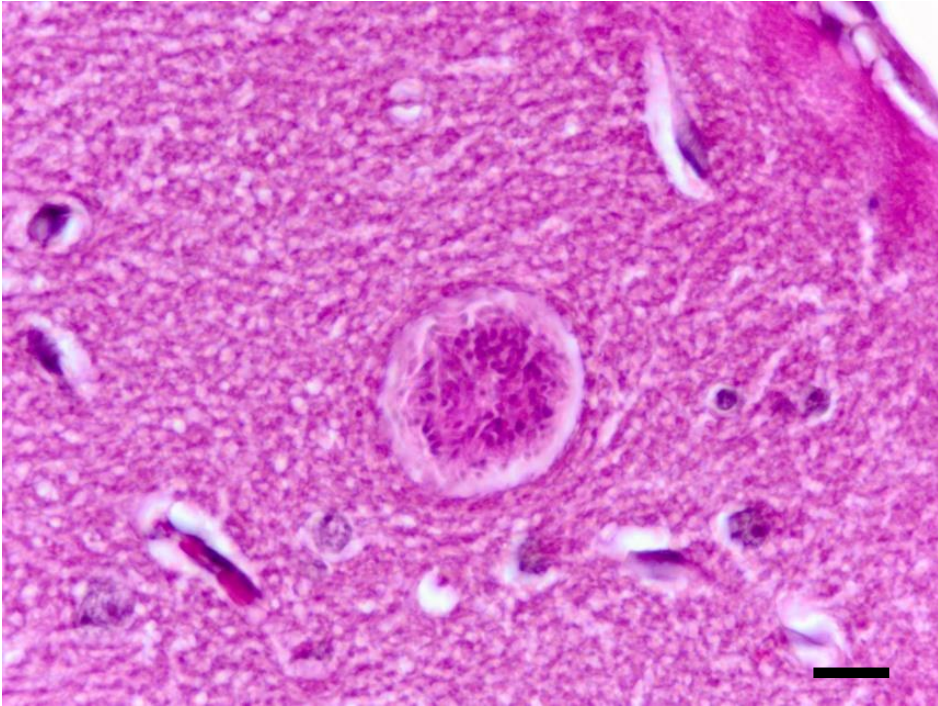
Şekil 3.9. Doku kisti reaktivasyon grubunda fokal gliozis alanı, HE boyama, Bar= 240 µm



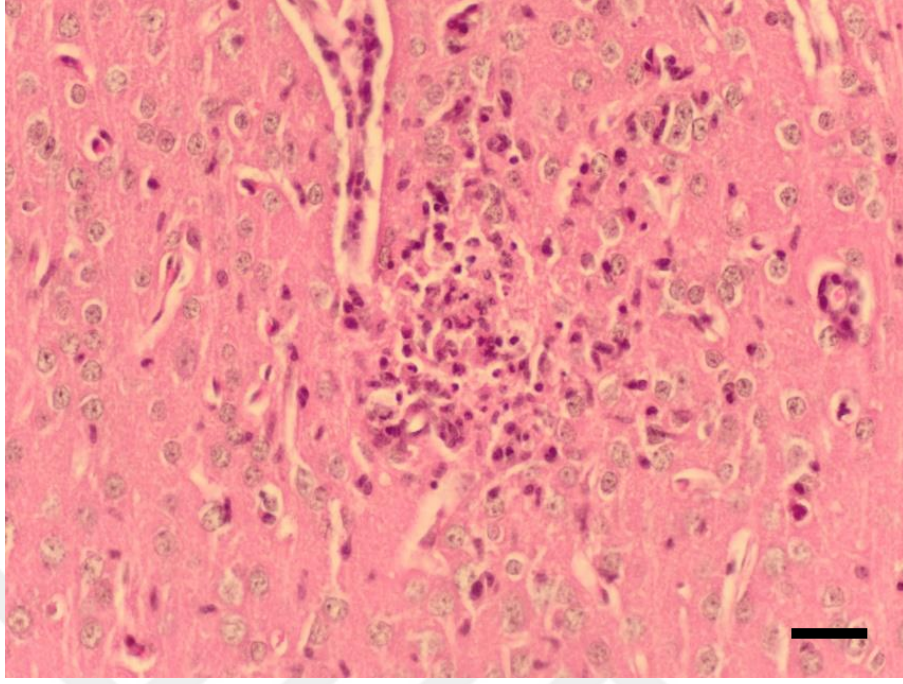
Şekil 3.10. Doku kisti reaktivasyon grubunda, fokal reaktivasyon alanı ve *T.gondii* immunoperoksidaz boyanma, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 180 µm



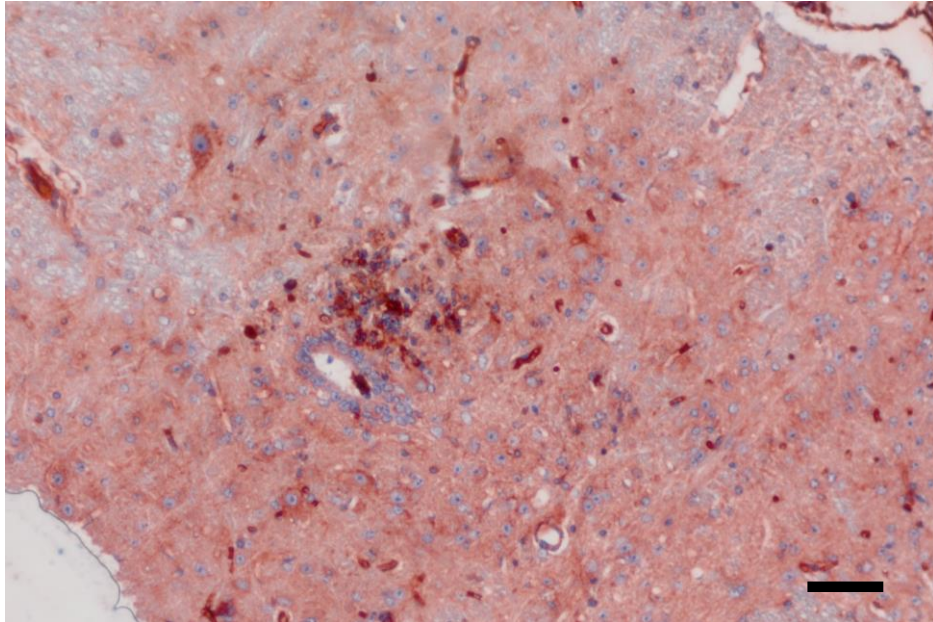
Şekil 3.11. Doku kisti reaktivasyon grubunda doku kisti reaktivasyon alanı, Bar=40 μ m



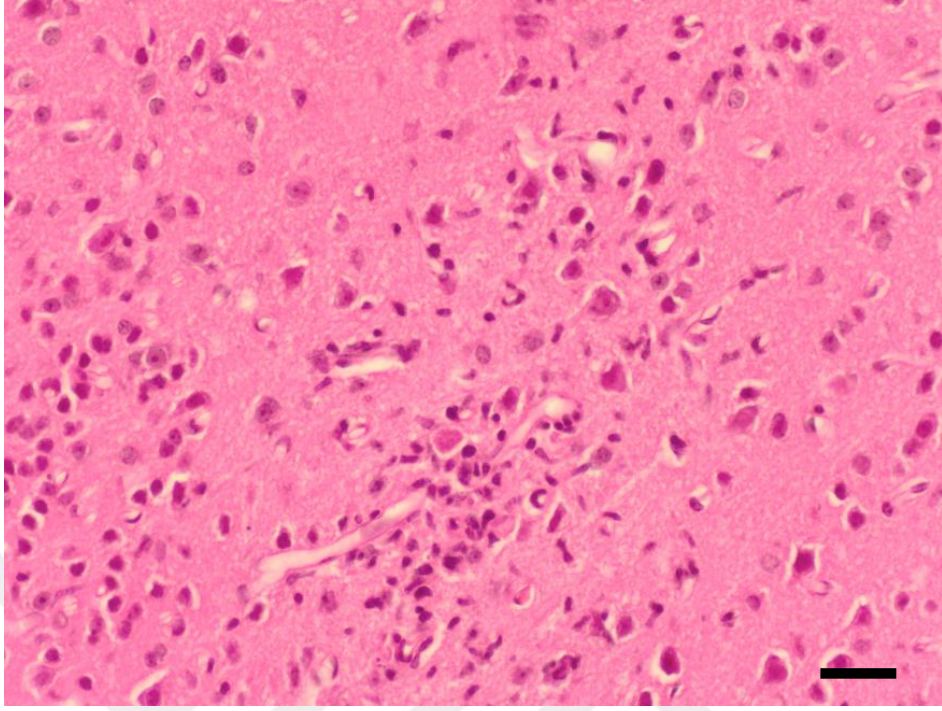
Şekil 3.12. Doku Kisti Raktivasyon Grubu, çerperini kaybeden doku kisti, HE boyama,
Bar= 40 μ m



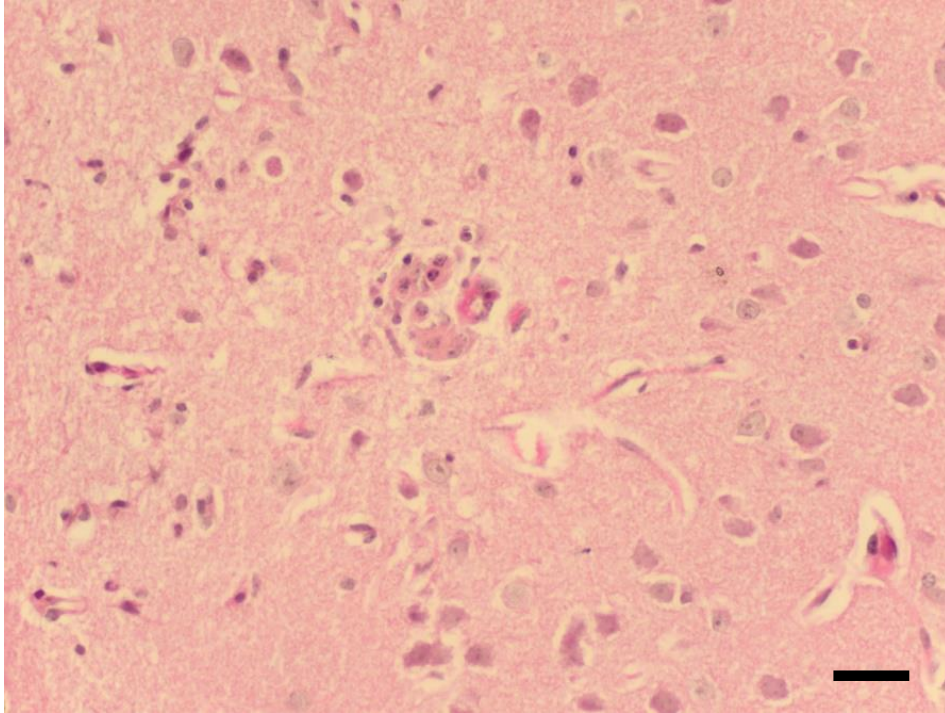
Şekil 3.13. Doku kisti reaktivasyon grubu reaktivasyon alanı ve gliosis, HE boyama,
Bar= 100 μ m



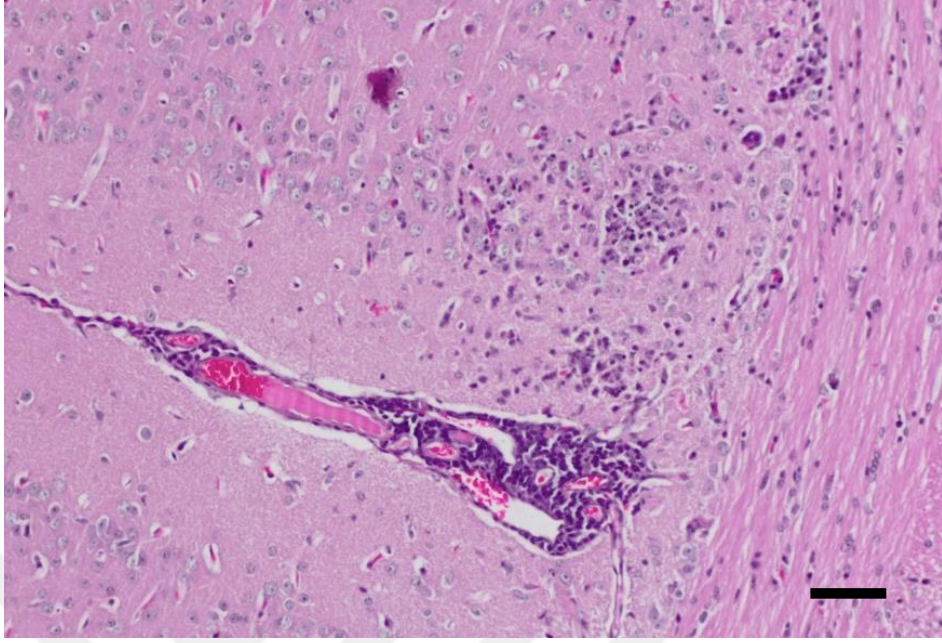
Şekil 3.14. Doku kisti reaktivasyon grubu reaktif olan doku kisti ve çevre enflamatar hücrelerde T.gondii immunopozitiflikleri, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 120 μ m



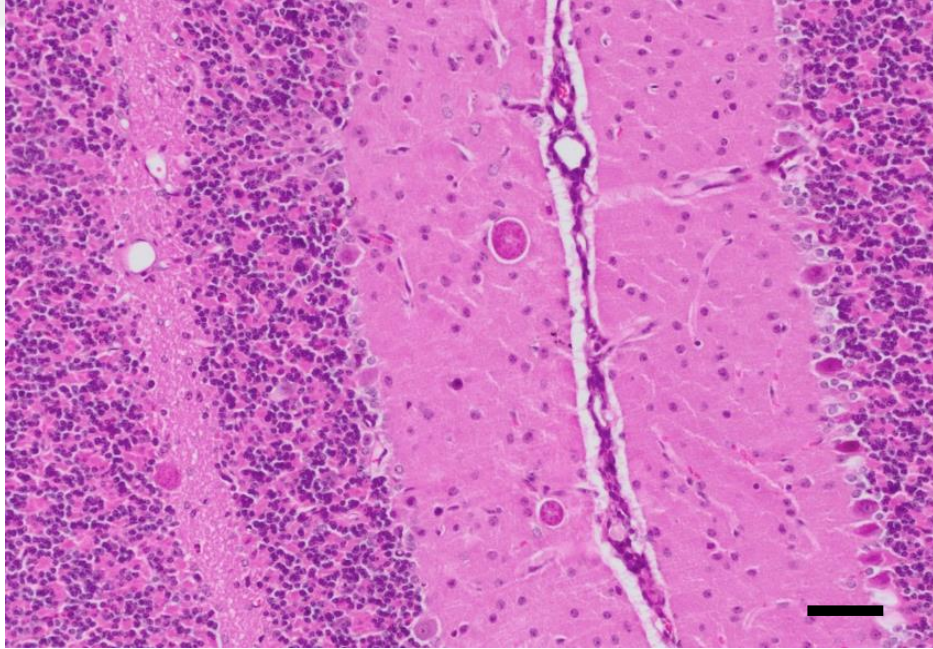
Şekil 3.15. Doku kisti reaktivasyon grubu ruptüre olan doku kisti, gliozis alanı ve nöron nekrozları, HE boyama, Bar= 100 μ m



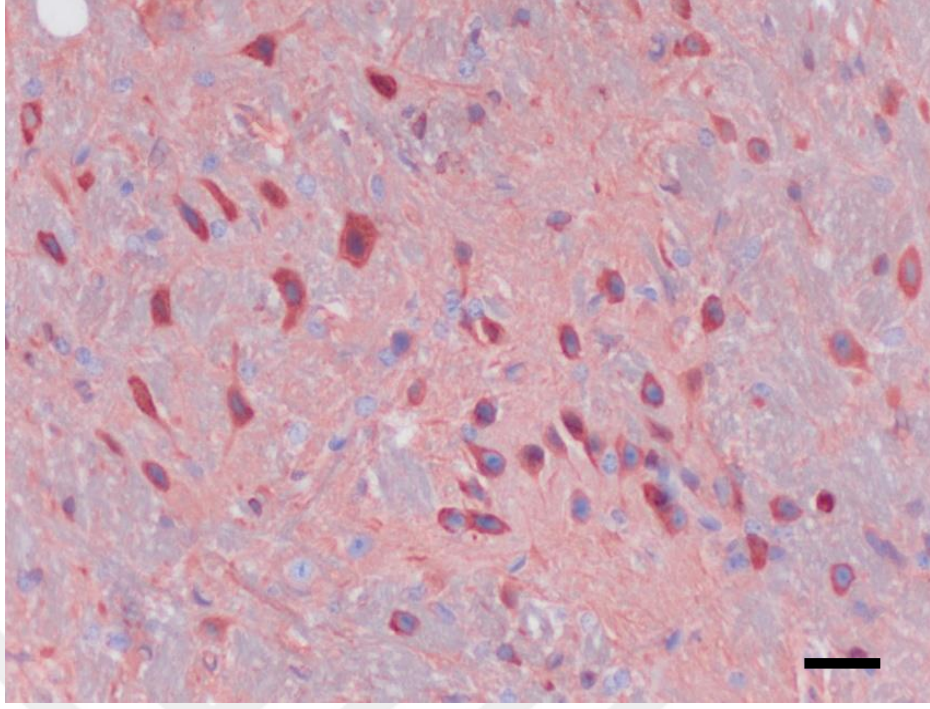
Şekil 3.16. İmmüsupresyon+Tedavi grubu reaktivasyon alanı, HE boyama, Bar= 100 μ m



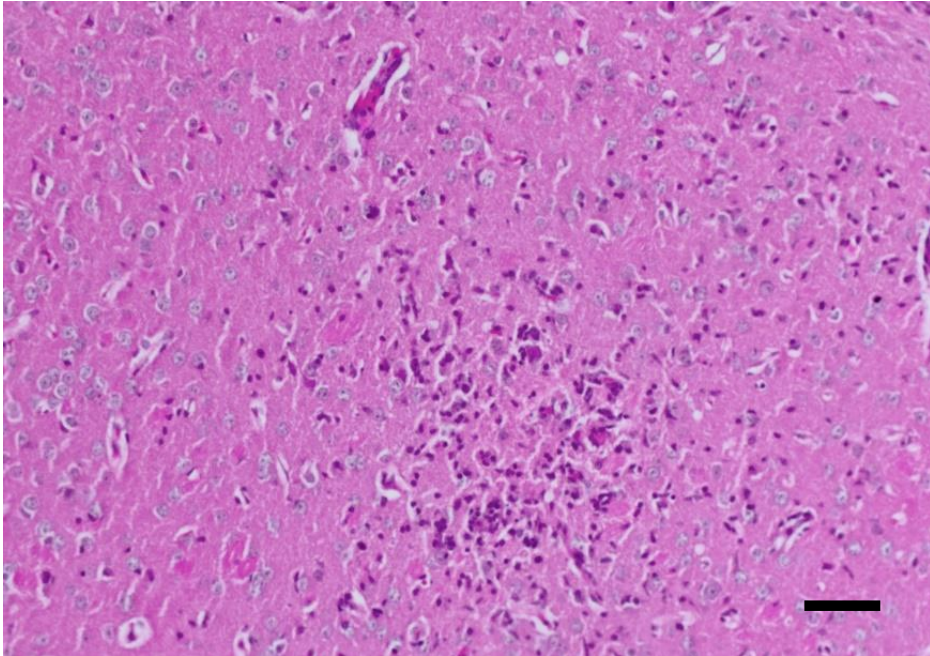
Şekil 3.17. İmmünesupresyon+Tedavi grubu perivasküler hücre infiltrasyonu ve hemen yakınında gliozis alanları, HE boyama, Bar= 180 µm



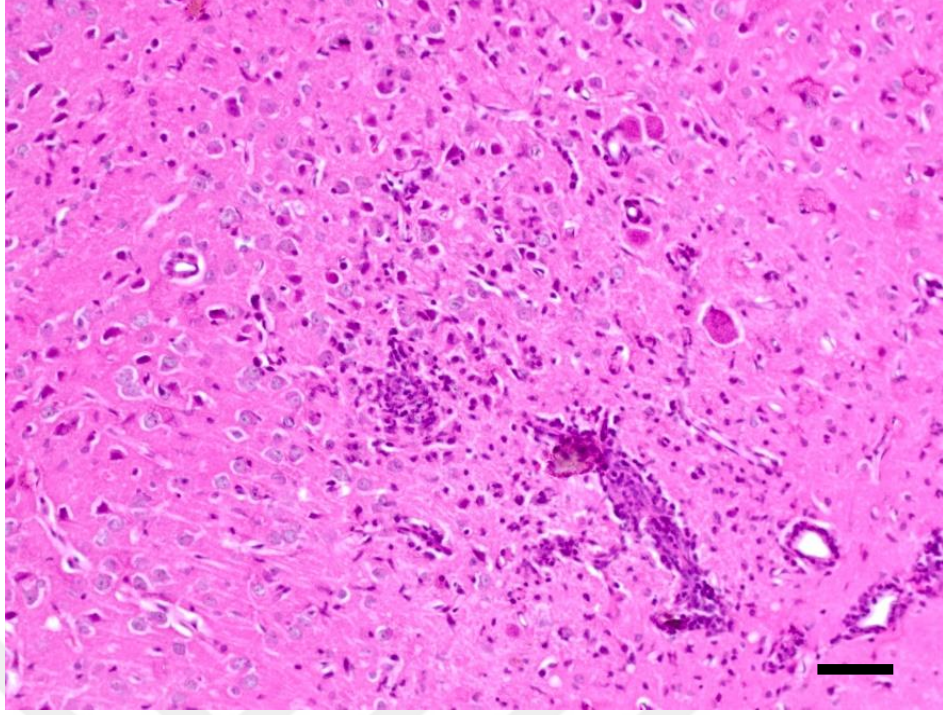
Şekil 3.18. İmmünesupresyon+Tedavi grubu serebellumda şekillenen doku kistleri, HE boyama, Bar= 180 µm



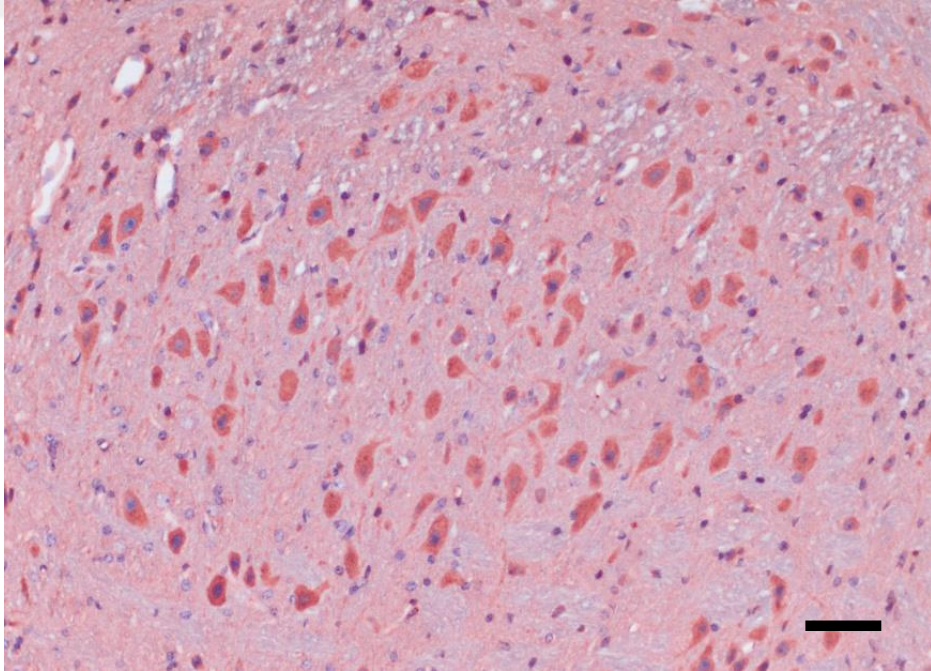
Şekil 3.19. İmmüsupresyon+Tedavi grubu Nöron sitoplazmalarında T.gondii antijeni pozitif reaksiyon, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 100 µm



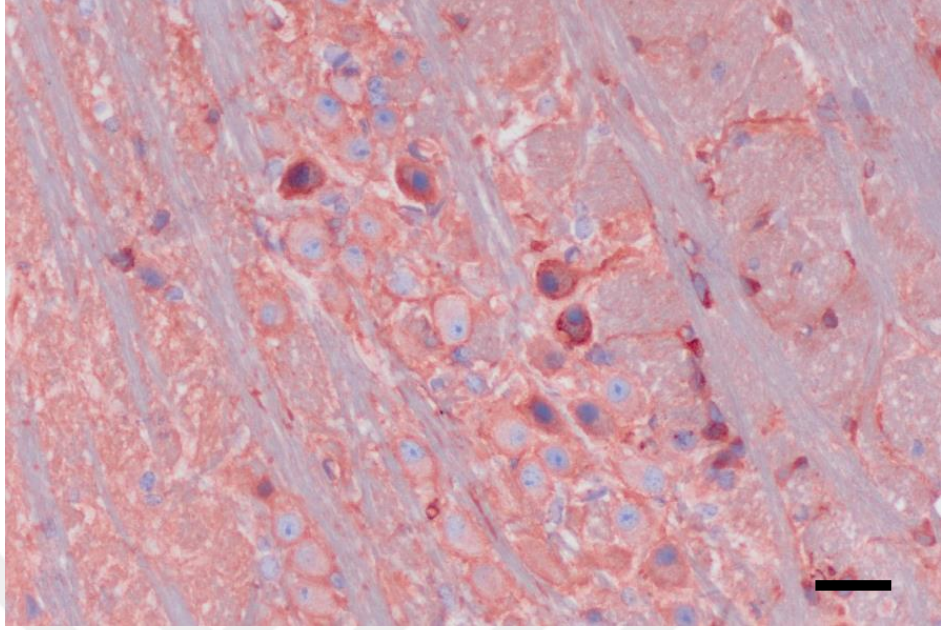
Şekil 3.20. Reaktivasyon + Tedavi grubu gliozis alanı, HE boyama, Bar= 180 µm



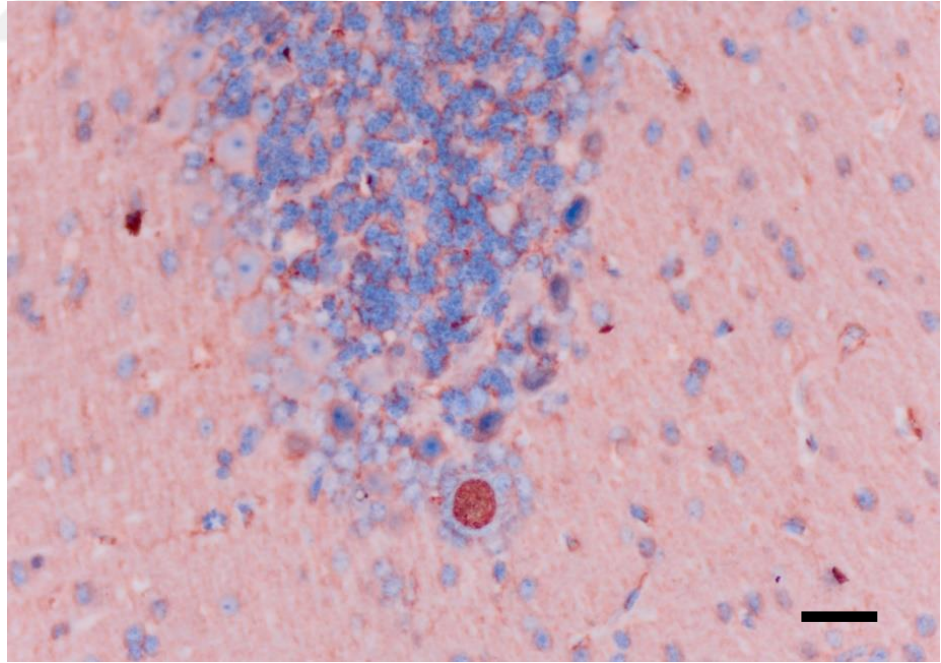
Şekil 3.21. Reaktivasyon + Tedavi grubu doku ksitleri ve hemne etrafında yaygın glial nedbe, HE boyama, Bar= 120 µm



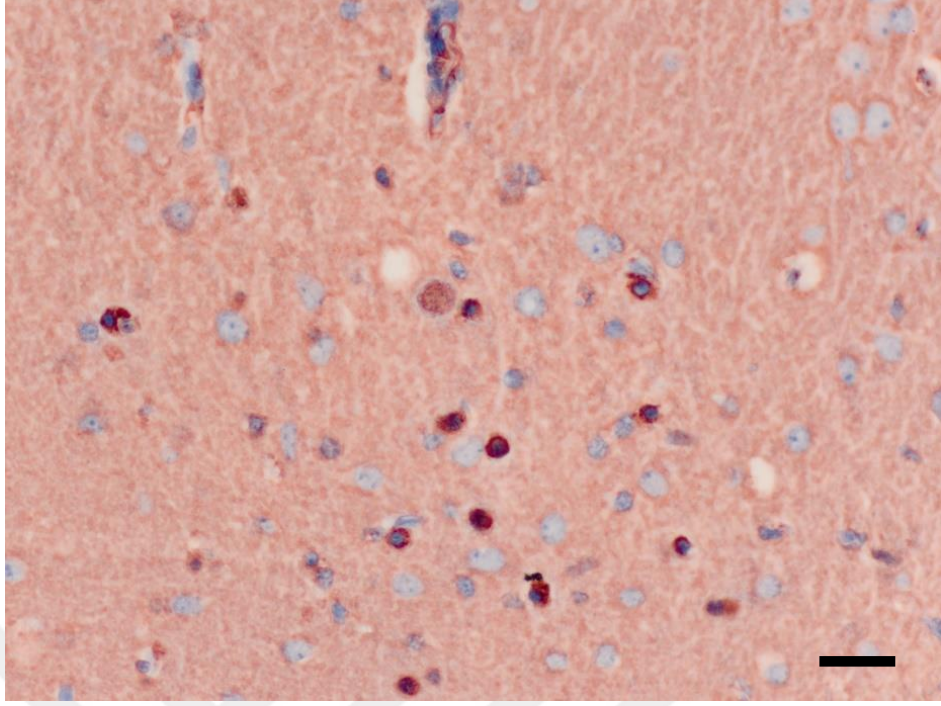
Şekil 3.22. İmmünespresyon + Tedavi grubu nöroglia ve nöron sitoplazmalarında *T.gondii* immunopozitif reaksiyon, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 100 µm



Şekil 3.23. İmmüsupresyon + Tedavi grubu Purkinje hücreleri *T.gondii* immunreaksiyonu, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 100 µm



Şekil 3.24. İmmüsupresyon + Tedavi grubu doku kisti immunopozitif reaksiyon, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 100 µm



Şekil 3.25.İmmünsüpresyon + Tedavi grubu, doku kisti ve çevresi nöroglial hücrelerde *T.gondii* immunopozitif boyanma, indirekt immunoperoksidaz test, ABC, Mayers Hematoksilen, Bar= 100 µm

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Toksoplazmozis, insanlarda çoğunlukla geçici bir lenfadenopati ile ortaya çıkan ve gebelik döneminde abort, fütusta konjenital anomaliler haricinde herhangi bir klinik belirti göstermeden seyreden paraziter bir hastalıktır (Dubey 2007). Hastalığın erişkin bireyler için ölümcül olmayan bu ılımlı karakteri, bireyin bağışıklık sistemini baskılayan organ nakli, kanser, AIDS vb. durumlarda ortaya çıkan ve yüksek oranda ölümcül ensefalitik toksoplazmoz ile aniden değişiklik göstermektedir (Dubey 2010, Alday ve ark. 2017). Burada en önemli faktörlerden birisi, konağın MSS'de latent formda bekleyen *T.gondii* doku kistlerinin -muhtemelen- hayat boyu kalıcı olmaları, bir diğeri ise MSS içerisindeki hücrel immun yanıt ile doku kistleri arasındaki mesaj iletidir (Sümer ve Kul 2018). Kısaca; beyinde yerleşim gösteren doku kistleri, MSS içerisindeki hücrel immun yanıt, başlıca Th1, baskın olduğu sürece latent formda kalabilirler ve bu durum hemen hemen hiçbir nöropatolojik değişikliğe yol açmadan konağın hayatı boyunca devam edebilmektedir (Hutchison ve ark. 1980, Hunter ve ark. 1994, Dubey 2007, Kul ve ark. 2013). İnsanlarda doku kisti reaktivasyonu, yaygın parankim nekrozu ile seyreden ensefalitis formuna ait bilgiler, hastanın klinik belirtileri, röntgen ve manyetik rezonans görüntüleme tekniklerine ait olup, ensefalitik toksoplazmoza ait nöropatolojik değerlendirme, patogenezi çalışması sayısı oldukça azdır. Bu nedenle, literatürde mevcut doku kisti reaktivasyonu ve sonrasında şekillenen *T.gondii* ensefalitisine ait bilgiler deney hayvanlarında oluşturulan modeller ile elde edilmiştir (Kovacs 1992, Djakovic ve ark. 2001, Dunay ve ark. 2004). Bu tür ensefalitis modellerinde, SCID ve/veya C57BL6 CD4^{-/-} hücrel düzeyde immünetersiz transgenik fareler kullanılmakta, bu farelerde oluşturulan düşük virülens *T.gondii* enfeksiyonları bile ölümcül enfeksiyonla sonuçlanmaktadır. Dolayısıyla, insanlardaki ensefalitise benzeyen en uygun model olarak; enfeksiyon süresince sülfadiazin verilerek, fareler ölümcül etkiden korunmakta, doku kistlerinin beyinde şekillendiği periyotta ise sülfadiazin kesilerek, doku kisti rupturu ve reaktivasyona bağlı ensefalitis oluşturulmaktadır (Schöler ve ark. 2001, Dunay ve ark. 2004). Sunulan çalışmada; immüneterli 2 aylık BALB-c farelerde *T.gondii* kistojenik ME49 suşu ile beyinlerinde doku kisti oluşturulmuş, sonrasında ise dekzametazon yüksek dozda uygulanarak

immunsupresyon gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçları, Grup 2 ve Grup 3 farelerde, sistemik immunsupresyon sonrasında beyindeki doku kistlerinde başarılı bir şekilde reaktivasyon şekillendiğini göstermektedir. Dolayısıyla, immunyeterli farelerde, dekzametazon uygulaması ile reaktivasyon modellemesi oluşturulmuş, oldukça yüksek maliyetli immünetmezlikli (SCID, transgenik vb) fare modeli için alternatif sayılabilecek bir reaktive ensefalitik toksoplazmoz modeli ortaya konulmuştur. Çalışmada, dekzametazon uygulamasının, sistemik immunitiyi baskılama seviyesi, ötenazi anında dalak ağırlıkları, vücut ağırlığına orantılanarak da doğrulanmıştır. Yine de, bu çalışmada Grup 2 ve 3'te immunsupresyon ile reaktivasyon sağlanmasına rağmen, hiç etkilenmemiş ve sağlam görünümde *T.gondii* doku kistleri beyinde kalmaya devam etmekteydi. Dolayısıyla, dekzametazon dozu ve tekrarlayan uygulamaları ile reaktivasyon üzerinde daha etkili bir sonuç elde edilmesi mümkün görünmektedir (Djakovic ve ark.2001, Djakovic ve ark. 2002,). Burada önemli olan, immunsupresif etki oluştuğunda açığa çıkacak parazit yükünün, farenin ölümüne yol açmayacak derecede ayarlanabilmesidir (Djakovic ve ark. 2001, Schöler ve ark. 2001, Dunay ve ark. 2004). Pratikte bu mümkün olamayacağı için, böyle bir çalışmada sinirsel belirtiler ve hayatta kalma oranı da değerlendirme kriterleri arasında yer alabilir (Hutchison ve ark. 1980). Bu çalışmada, immunsupresyon yapıldıktan sonra tedavi uygulanmayan Grup 2'de iki farede sinirsel belirtilerin şekillenmiş olması, Grup1 ve Grup 3'te ise sinirsel belirtiyeye rastlanmamış olması, toltrazuril uygulamasının beyinde oluşan yıkımın şiddetini azaltıcı etkisi olarak yorumlanabilir.

Toksoplazmoz tedavisinde çok sayıda antibiyotik ve kimyasal maddenin in-vitro ve in-vivo koşullarda etkili olduğuna dair çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bunlar arasında, sulfometaksazol- trimetoprim uygulaması klinikte uygulama alanı bulan ve en iyi bilinen klasik tedavi yöntemidir (Alday ve Dogget 2017). Aynı zamanda azitromisin ve atovaquone kan beyin bariyerini geçerek hücre içi yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmekte ve tedavi için tercih edilen seçenekler arasındadır (Schöler ve ark. 2001). Triazinon grubu bir ilaç olan toltrazuril, *T.gondii* takizoit ve ookistlerine karşı oldukça etkili, aynı zamanda kan beyin bariyerini geçebilen etkili bir ilaçtır (Djakovic ve ark. 2002). Önceki çalışmalarda; deneysel olarak *T.gondii* ile enfekte edilen fareleri, enfeksiyonun ölümcül etkisinden koruduğu, gebe farelerde ise

etkenin transplasental geçişini önleyebildiği gösterilmiştir. Sunulan çalışmanın bir diğer önemli önerisi; beyinde şekillenen doku kistlerinin reaktive oldukları anda uygulanan ilaç tedavisinin, oluşacak doku hasarı ve ensefalitisi önleyeceği/derecesini azaltacağı bir stratejik tedavinin etkinliğinin planlanmasıdır. Özellikle Grup 2 ve Grup 3 farelerde şekillenen doku kisti reaktivasyonu ve nöropatolojik bulguların derecesi arasındaki farkın, toltrazuril uygulamasının reaktivasyon anında açığa çıkan takizoitlerin proliferasyonunun önlenmesi ve/veya öldürülmesi ile ilişkilendirilebilir. Açıkçası, toltrazuril kan beyin bariyerini geçerek, beyin parankiminde yüksek konsantrasyonlara çıkabilmektedir ve etkili kan plazma seviyesi 24 gün kadar uzun devam eder. Bu çalışmada, beyin dokusunda toltrazuril ya da metabolitlerinin kan plazma veya beyin konsantrasyonları değerlendirilmemiş olmakla birlikte, doku kistlerinin sızıntı ya da ruptur sonrası takizoitler doku aralıklarına çıktıklarında, toltrazuril ile karşılaştıklarından sınırlı bir yıkım olduğu söylenebilir (Schöler ve ark. 2001). Grup 2 farelerden 11'inde reaktivasyona ilişkin yaygın gliozis ve mikrogliyal odaklar görülmesine rağmen, Grup 3'te yalnız 5 olguda gliozis şekillenmesi bu öneriyi destekler niteliktedir. Diğer taraftan, Grup 3 fare beyinlerinde, doku kistinin yıkımlandığı alan ve çevre nöroglia ile sınırlı immunoperoksidaz pozitif reaksiyonların, hafif derecede bir gliozise neden olması, yine ilacın açığa çıkan etkenlerinin ölümüne yol açmış olabileceği yönünde değerlendirilebilir (Djakovic ve ark. 2001). Ancak yine de dekzametazon antienflamatuar etkili bir ilaçtır ve Grup 2'de görülen yangısal değişiklikler, bu etki ile baskılanmış olabilir ve normalde hem Grup 2 hem de Grup 3'te tanımlanan beyin hasarından daha şiddetli bir lezyon meydana gelebilirdi. Antienflamatuar etkisi olmayan başka bir reaktivasyon çalışması ile eşzamanlı bir tedavi planlaması yapılarak bu sorunun cevabının verilmesi mümkün görünmektedir. Ancak, her şekilde toksoplazmik ensefalit ilaçla tedavisinin, antienflamatuar ilaç kombinasyonunun beyin lezyonlarının şiddetini azlatılması üzerine olumlu etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Fareler deneysel toksoplazmoz modelleri oluşturulmasında sıklıkla tercih edilen deney hayvanları arasındadır. BALB-c fare ırkı, *T.gondii* enfeksiyonlarına karşı kısmen dirençli olmaları nedeniyle düşük patojeniteli kistojenik suşlarla, beyinde doku kisti oluşturulması için kullanılmaktadır. Buna rağmen, ratlarda daha

yüksek oranda görülmekle birlikte, bireysel dirençlilik gösterebilmekte, bağışıklık seviyelerinde de farklılıklar oluşabilmektedir. Bu çalışmada, deney grupları oluşturulurken fareler rastgele ayrılmış ve aynı yaş ve cinsiyette fareler kullanılmıştır. Grup 1’de 3 olgu, Grup 2’de ise 2 olguda beyinde hiç doku kisti görülemediği, enfeksiyon oluşumuna karşı gösterilen bireysel direnç farklılıkları ile açıklanabilir (Dubey 2007, Dubey 2010). Sunulan araştırmada, enfeksiyon oluşturulması için *T. gondii* doku kisti tercih edilmiş ve doku kisti içeren fare beyin dokusu homojenize edildikten sonra 25 adet doku kisti içerecek şekilde sulandırılarak inokulum hazırlanmıştır. Bir ihtimalle, doku kistleri homojenat içerisinde eşit dağılmamış olabilir ya da doku kisti büyüklükleri ve içerdikleri bradizoit sayıları farklılık göstermiş olabilir.

Sunulan araştırma sonuçları, klinik, histopatolojik ve yalnız *T.gondii* immunopozitifliklerinin değerlendirildiği bir ön çalışma olarak kabul edilebilir. Bu çalışma ile birlikte; Türkiye’de ilk kez deney hayvanlarında toksoplazmozun beyinde reaktivasyon modeli denenmiş ve eş zamanlı ilaçla tedavinin etkinliği, kısmen de olsa gösterilmiştir. *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun beyinde meydana getirdiği hasarla ilişkili olarak, çok sayıda proinflatuar ve inflammatuar sitokin, ligand ve reseptör bağlantılarının, kemokinlerin ve hücre ölümü mekanizmalarının karşılıklı etkileşim içerisinde oldukları bilinmektedir (Mosmann ve ark. 1986, Montaya ve ark. 2004). Toksoplazmik ensefalitis patogeneze ilişkin halen bilinmeyen birçok konunun da varlığı açıktır. Bu nedenle, bu araştırmanın sonraki aşamalarında, patogeneze yönelik immunohistokimyasal belirteçlerin de sorgulanması ile daha detaylı ve yorumlanabilir sonuçlara ulaşılması mümkündür. Daha önceden gerçekleştirilen kistojenik toksoplazmoz çalışmasında, immunofenotiplendirme ile işaretlenen enfekte MSS hücrelerinden salınan Th1 sitokinler araştırılmış ve 60 gün ve sonrasında Th1 sitokinlerin seviyesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu tür sitokin belirteçlerinin kullanılması, doku kisti rupturu sonrasında ölen takizoitlerin nasıl ortadan kaldırıldığı ve antijenik uyarıların hangi seviyede devam ettiğinin gösterilmesi açısından faydalı olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmayla birlikte;

Toxoplasma gondii ME49 suşu ile başarılı bir şekilde beyinde doku kisti oluşturulmuş, immunyeterli farelerde parenteral dekzametazon uygulanarak immunsupresyon ve doku kisti rupturu gerçekleştirilmiş ve doku kisti rupturunun uyarıldığı anda beyinde anti-toxoplasma etkisi olan toltrazuril uygulamasının beyindeki parazit yükünü ve lezyonları azaltarak etkili olduğu ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, özellikle doku kisti rupturunun çok daha etkili şekilde uyarılabildiği mekanizmaların keşfiyle birlikte uygulanabilmesi halinde, ensefalitik toksoplazmoz tedavisi için umut verici görünmektedir.



KAYNAKLAR

- AJIOKA JW (1998) *Toxoplasma gondii*: ESTs and gene discovery, 7: 1025-1031.
- AKARSU AG (2008) Tokoplazmoz tanısı, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 2008,61(3).
- AKÇAY Ş, PAMUKCU M, BARAN S (1950) Bir köpekte ilk toksoplazmose observasyonu, *Türk Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 47-48.
- ALDAY P, DOGGET JS (2017) Drugs in development for toxoplasmosis: advances, challenges, and current status (11)273-293.
- ATMACA HT, ÖCAL N, BABÜR C, KUL O (2012) Reactivated and clinical *Toxoplasma gondii* infection in young lambs: Clinical, serological and pathological evidences 105:1-3, 335-340.
- ATMACA HT, DİNCEL GC, MACUN HC, TERZİ OS, UZUNALIOĞLU T, KALENDER H, KUL O (2013) A rare case of feline congenital *Toxoplasma gondii* infection: fatal outcome of systemic toxoplasmosis for the mother and its kitten 2013 126-9.
- BLANCHARD N, DUNAY IR, SCHUTLER D (2015) Persistence of *Toxoplasma gondii* in the central nervous system: a fine-tuned balance between the parasite, the brain and the immune system, *Parasite Immunol*, 37, 150–158.
- CAN MF (2010), Küçük Ruminantlarda Tokoplazmoz'un Hayvan Sağlığı Ekonomisi Yönünden Değerlendirilmesi, *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 5 (3): 167–174.
- CARRUTHERS VB, SUZUKI Y (2007) Effects of *Toxoplasma gondii* infection on the brain, *Schizophr Bull*, 33, 745–751.
- ÇELEBİ S ve ÖCAL M, (2004) Tokoplazmozis. *Güncel Pediatri*, 2, 152-156.
- DARDE ML (2004), Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*, 40(1):57-63.
- DECKERT-SCHLUTER M, BLUETHMANN H, RANG A, HOF H, SCHLUTER D (1998) Crucial role of TNF receptor type 1, in murine toxoplasmosis, *J. Immunol.* 160:3427.

- DJAKOVIC OD, MILENKOVIC J (2001) Murine Model of Drug-induced Reactivation of *Toxoplasma gondii*, *Acta Protozool.* (2001) 40: 99 – 106.
- DJAKOVIM OD, MILENKOVIM V, BOBIM ANB, GRUJIM J (2002) Efficacy of atovaquone combined with clindamycin against murine infection with a cystogenic (Me49) strain of *Toxoplasma gondii* *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50, 981–987.
- DUBEY JP, MILLER NL, FRENKEL K (1970) Characterization of the New Fecal Form of *Toxoplasma gondii* Published by: Allen Press on behalf of The American Society of Parasitologists 3- 447-456.
- DUBEY JP, BEATTIE CP (1988) *Toxoplasmosis of animals and man*, CRC Press, Florida, p: 1-220.
- DUBEY JP, FRANKEL JK (1998) *Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology.* 77(1):1-32.
- DUBEY JP (2004) *Toxoplasmosis-a waterborne zoonosis*, *Veterinary Parasitology*, 126:57-72.
- DUBEY JP (2007) *The life cycle of Toxoplasma gondii*, *Toxoplasma Molecular and Cellular Biology*, ED: AJIOKA W J , SODATI D Horizon Bioscience, Great Britain P:3-17.
- DUBEY JP, JONES JL (2008) *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol*, 38,1257-1278.
- DUBEY JP (2009) History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii* 39(8):877-82.
- DUBEY JP (2010) *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, 2nd ed, CRC Press Taylor & Francis Group, Beltsville, Maryland, USA, p: 1-29.
- DUNAY IR, HEİMESAAT MM, BUSHRAB FN, et al. Atovaquone maintenance therapy prevents reactivation of toxoplasmic encephalitis in a murine model of reactivated toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4848–4854.

- FAGARD R, TAN HV, CREUZET C, PELLOUX H (1999) Differential Development of *Toxoplasma gondii* in Neural Cells 12:504-507.
- GAZZINELLI R, XU Y, HINY S, CHEEVER A, SHER A, (1992) Simultaneous depletion of CD4_ and CD8_ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*, *J Immunol*, 149,175–180.
- GUEX AC, RADZIWILL AJ, BUCHER HC (2000) Discontinuation of Secondary Prophylaxis for Toxoplasmic Encephalitis in Human Immunodeficiency Virus Infection After Immune Restoration with Highly Active Antiretroviral Therapy, 30;3/602-603.
- HAROON F, HANDEL U, ANGENSTEIN F, GOLDSCHMIDT J, KREUTZMANN P, LISON H, FISCHER KD, SCHEICH H, WETZEL W, SCHLÜTER D, BUDINGER E (2012) *Toxoplasma gondii* actively inhibits neuronal function in chronically infected mice, *PLoS One*, 7, e35516.
- HAZIROĞLU R, ALTINSAAT MS, ATASEVER A VE ARK (1988) Kedilerde fatal toksoplazmozis. *AÜ Vet Fak Derg*, 35, 330- 340.
- HEGAB SM, AL-MUTAWA SA (2003) Immunopathogenesis of toxoplasmosis *Clin Exp Med*, 3(2): 84-105.
- HERMES G, AJOKA JW, KELLY KA, MUI E, ROBERTS F, KASZA K, MAYR T, KIRISITS MJ, WOLLMANN R, FERGUSON DJ, ROBERTS CW, HWANG JH, TRENDLER T, KENNAN RP, SUZUKI Y, REARDON C, HICKEY WF, CHEN L, MCLEOD R (2008) Neurological and behavioral abnormalities, ventricular dilatation, altered cellular functions, inflammation, and neuronal injury in brains of mice due to common, persistent, parasitic infection, *J Neuroinflammation*, 5, 48.
- HILL D, DUBEY JP (2002) *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention *Clin Microbiol Infect*. 8(10):634-40.
- HOFFLIN JM, CONLEY FK, REMINGTON JS (1987) Murine model of intracerebral toxoplasmosis *J. Infect. Dis.* 155: 550-557.
- HUTCHISON WM, AITKEN PP, WELLS BWP (1980) Chronic *Toxoplasma* Infections and motor performance in the mouse *Ann Trop Med Parasitol*. 1980;74:505–510.
- HUNTER CA, ROBERTS CW, MURRAY M, ALEXANDER J (1992) Detection of cytokine mRNA in the brains of mice with toxoplasmic encephalitis, *Parasite Immunol*, 14, 405–413.

HUNTER CA, REMINGTON JS (1994) Immunopathogenesis Of Toxoplasmic Encephalitis
The Journal of Infectious Diseases 170:5 1057-1067.

KOCAK OM, ATMACA HT, TERZİ OS, BUYUKKAYAER S, OZDEMIR H, UZUNALIOGLU T, DİNCEL GC, BAL E, KUL O (2012) Experimental Chronic Toxoplasmosis Model in Mice: Brain Lesions and Related Behavioral Changes, *Archives of Neuropsychiatry*, 49, 139-144.

KOVACS JA (1992) Efficacy of Atovaquone in Treatment of Toxoplasmosis in Patients with AIDS *The Lancet* 12:340,8820.

KUL O, (2009) Bir Asırlık Bilgi Işığında Toxoplazmoz Sempozyumu. Nisan, 09-10 Kırıkkale, Türkiye.

KUL O, YILDIZ K, OCAL N, FREYRE A, DENİZ A, KARAHAN S, ATMACA HT, GOKPINAR S, DİNÇEL GC, UZUNALIOĞLU T, TERZİ OS (2013) In-vivo efficacy of toltrazuril on experimentally induced *Toxoplasma gondii* tissue cysts in lambs: a novel strategy for prevention of human exposure to meat-borne toxoplasmosis 94(2):269-76.

MELZER TC, CRANSTON HJ, WEISS LM, HALONEN SK (2010) Host cell preference of *Toxoplasma gondii* cysts in murine brain: a confocal study, *J Neuroparasitology*, 1, 1-6.

MCHUGH TD, BATHGATE T, MANGAN J, JOHNSON JD, HOLLIMAN RE, BUTCHER PD (1997) Recognition of tissue cyst-specific antigens in reactivating toxoplasmosis, 46-7-587.

MIRO JM, LOPEZ JC, PODZAMCZER D, PENA JM, ALBERDI JC, MARTINEZ E, DOMINGO P, COSIN J, CLARAMONTE X, ARRIBAS JR, SANTIN M, RIBERA E (2006) Discontinuation of Primary and Secondary *Toxoplasma gondii* Prophylaxis Is Safe in HIV-Infected Patients after Immunological Restoration with Highly Active Antiretroviral Therapy: Results of an Open, Randomized, Multicenter Clinical Trial, 43-1,78-79.

MİLLİ ÜH, HAZIROĞLU R.(2000) *Veteriner Patoloji*, p.137.

MOSMANN TR, CHERWINSKI H, BOND MW, GIEDLLIN MA, COFFMAN RL (1986) Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol*, 136, 2348 -2357.

MONTAYA JG, LIESENFELD O (2004) Toxoplasmosis. *Lancet*, 363, 1965- 1976.

- NICOLL S, WRIGHT S, MALAY W, BURNS S, BUXTON D (1997) A mouse model of recrudescence of *Toxoplasma gondii* infection. J. Med. Microbiol. 46: 263-266 (21) (PDF) Murine model of drug-induced reactivation of *Toxoplasma gondii*.
- ÖCAL N, (2009) Hayvanlarda klinik toxoplazmozis, tedavi ve aşı çalışmaları. Bir Asırlık Bilgi Işığında Toxoplazmoz Sempozyumu. Nisan, 09-10 Kırıkkale, Türkiye.
- PEKMEZCİ D, PEKMEZCİ GZ (2016) Toksoplazmozis Kedilerde Davranışsal Değişikliklere Neden Olabilir mi? *Etilik Vet Mikrobiyol Derg*, 27 (2): 149-154.
- PEREIRA-CHIOCCOLA VL., VİDAL JE., SU C. (2009). *Toxoplasma gondii* infection and cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients. *Future Microbiol.* 4, 1363–1379
- POWELL CC, BREWER M, LAPPIN MR (2001) Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats, *Veterinary Parasitology* 3- 29-33.
- SCHLUTER D, LÖHLER J, DECKERT M, HOF H, SCHWENDEMANN G (1991) *Toxoplasma* encephalitis of immunocompetent and nude mice: immunohistochemical characterisation of *Toxoplasma* antigen, infiltrates and major histocompatibility complex gene products, 3:185-198.
- SCHOLER N, KRAUSE K, KAYSER O, MULLER RH, BORNER K, HAHN H, LIEDENFELD O (2001) Atovaquone Nanosuspensions Show Excellent Therapeutic Effect in a New Murine Model of Reactivated Toxoplasmosis *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45.6.1771–1779.
- SHER A, DENKERS EY, GAZZINELLI RT (1995) Induction and regulation of host cell-mediated immunity by *Toxoplasma gondii*, *Ciba Found Symp*, 195, 95–104.
- SHEFFIELD HG, MELTON MI (1970) *Toxoplasma gondii*: the oocyst, sporozoite and infection of cultured cells, 167, 892-893.
- SIBLEY LD, KHAN A, AJIOKA JW, ROSENTHAL BM (2009) Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364(1530):2749-61.
- SIMSEK S, ÜTÜK AE, BABÜR C, KÖROĞLU E (2006) Kocaeli Yöresi Köpeklerinde *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30 (3): 171-174.

- SUMER T, KUL O (2018) Deneysel Kronik Toksoplazmoz Modelinde Erken Dönem Bağışıklık Yanıtının Değerlendirilmesi *Animal Health Prod and Hygiene* 7(2) : 585 – 591.
- SUZUKI Y, JOH K (1994) Effect of the strain of *Toxoplasma gondii* on the development of toxoplasmic encephalitis in mice treated with antibody to interferon-gamma, *Parasitol Res*, 80, 125–130.
- TENTER AM (2000) *Toxoplasma gondii*: from animals to humans, *International Journal for Parasitology*, 30, 1217-1258.
- UNAT EK, (1983) *Toxoplasma gondii*'nin ve Toksoplazmozis'in tarihçesi: Toksoplazmozis, T Parazit Derg. 3, 1-8.
- VYAS A, KIM SK, GIACOMINI N, BOOTHROYD JC, SAPOLSKY RM (2007) Behavioral changes induced by *Toxoplasma* infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors, *Proc. Natl. Acad. Sci*, 104, 6442-6447.
- WANG X, SUZUKI Y (2007) Microglia produce IFN-gamma independently from T cells during acute toxoplasmosis in the brain. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 27:599–605.
- WEISS LM, KIM K (2000) The development and biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*, 5:391-405.
- WEISS LM, DUBEY JP (2009) Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol*, 39,895-901.
- WILSON EH, HUNTER C (2004) The role of astrocytes in the immunopathogenesis of toxoplasmic encephalitis, *Int J Parasitol*, 34, 543–548.
- YAP GS, SCHARTON-KERSTEN T, CHAREST H, SHER A (1998) Decreased resistance of TNF receptor p55- and p75-deficient mice to chronic toxoplasmosis despite normal activation of inducible nitric oxide synthase in vivo, *J Immunol*, 160,1340–1345.
- ZHANG Y, HALONEN SK, MA YF, WITTNER M, WEISS LM (2001) Initial Characterization of CST1, a *Toxoplasma gondii* Cyst Wall Glycoprotein 10-1128.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuba BAYRAM

Doğum Tarihi : 30 Kasım 1985

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu :

Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü / KIRIKKALE (2008)

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji ABD / KIRIKKALE (2020)

Çalıştığı Kurumlar : Novagentek Laboratuar Ürünleri ve Teknolojileri San.Tic.Ltd.Şti.,
Düzen Laboratuarları Genetik Birimi Moleküler Genetik Laboratuvarı

Yayımları :

1. Hasan Tarik Atmaca, Gungor Cagdas Dincel, Hasan Ceyhun Macun, Osman Safa Terzi, Tuba Uzunalioglu, Hakan Kalender, Oguz Kul, A rare case of feline congenital Toxoplasma gondii infection: fatal outcome of systemic toxoplasmosis for the mother and its kitten. Berl Munch Tierarzt Wochenschr. 2013 May-Jun;126(5-6):216-9. PubMed PMID: 23758036.

2. Kul O, Yildiz K, Ocal N, Freyre A, Deniz A, Karahan S, Atmaca HT, Gokpinar S, Dincel GC, Uzunalioglu T, Terzi OS. In-vivo efficacy of toltrazuril on experimentally induced Toxoplasma gondii tissue cysts in lambs: a novel strategy for prevention of human exposure to meat-borne toxoplasmosis. Res Vet Sci. 2013 Apr;94(2):269-76. doi: 10.1016/j.rvsc.2012.08.001. Epub 2012 Sep 3. PubMed PMID: 22954788.

3. Koçak OM, Atmaca HT, Terzi. S, Özdemir H, Uzunalioglu T, Dinçel GÇ, Bal E, Kul O Deneysel kronik toksoplazmoz modeli: Beyin lezyonlarının davranış

değişiklikleri ile ilişkilendirilmesi, Nöropsikiyatri Arşivi, 2012, doi.10.4274/npa.y6094

4. Tolga Reşat Aydos, Mehmet Murad Başar, Oğuz Kul, Hasan Tarik Atmaca, Tuba Uzunalioğlu, Üçler Kısa, Oğuzhan Ekin Efe Effects of ozone therapy and taurine on ischemia-reperfusion-induced testicular injury in a rat testicular torsion model, Turk J Med Sci 2014; 44(5): 749-755.

