

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE *Toxoplasma gondii* ME49 SUŞU İLE DENEYSEL  
ENFEKSİYONDA PATOLOJİK BULGULAR, KİST  
LOKALİZASYONU VE KİST BÜYÜKLÜKLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Seyhan BÜYÜKKAYAER  
Veteriner Hekim**

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Oğuz KUL**

**2010 – KIRIKKALE**

**FARELERDE *Toxoplasma gondii* ME49 SUŞU İLE DENEYSEL  
ENFEKSİYONDA PATOLOJİK BULGULAR, KİST LOKALİZASYONU VE  
KİST BÜYÜKLÜKLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÖZET**

Toksoplazmoz insan dahil memeli hayvanlar ile kanatlılarda *Toxoplasma gondii* tarafından oluşturulan, atık, ölü doğum ve ölümcül enfeksiyonlarla karakterize sistemik protozoer bir enfeksiyondur. *Toxoplasma gondii* doku kistleri, parazitin konak savunmasından kolaylıkla saklanabildikleri ve yavaş çoğalan dinlenme aşaması olarak bilinirler. Toksoplazmozun doku kistleri üzerine yapılan deneysel *invivo* çalışmalarda, etkenin ookistleri oral ya da intraperitoneal yolla verilerek enfeksiyon şekillendirilebilmektedir. Özellikle, bir molekül ya da ilacın doku kistine etkinliğinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda, deney hayvanlarının beyinlerinde kist varlığı, yerleşimi, büyüklüğü ve sayısının önceden bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Benzer şekilde değişik inokülasyon yollarında, beyin hangi bölgesinde daha çok doku kisti oluştuğu ya da herhangi bir patolojik anatomik bölge seçimi olup olmadığı konularının aydınlatılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Bu çalışmada, oral ve intraperitoneal yollarla *T. gondii* ME49 suşu verilerek, inokülasyon sonrası 30 ve 60 ıncı günlerde şekillenen doku kistlerinin; beyinde yerleşimi, büyüklükleri, sayılarının belirlenmesi ve beyinde şekillenen histopatolojik değişikliklerle birlikte değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada 28 adet 2 aylık Swiss albino dişi fare kullanıldı. Her birinde 7 fare yer alacak şekilde 4 ayrı grup oluşturuldu. Grup 1 (n=7) ve Grup 2 (n=7) 'ye oral yolla, Grup 3 (n=7) ve Grup 4 (n=7) 'e ise intraperitoneal yolla  $2 \times 10^2$  *Toxoplasma gondii* ME49 ookisti verildi. Etken inokülasyonundan 30 gün sonra Grup 1 ve Grup 3, 60 gün sonra ise Grup 2 ve Grup 4'deki farelere ötenazi yapılarak beyinleri çıkarıldı. Rutin doku takip yöntemleri ile işlenmek üzere; beyincik, beyin kökü, orta beyinden geçecek şekilde alınan parasagittal kesitler parafine gömülerek, 5 µm kalınlığındaki kesitler alındı ve hematoksilen eozin ile boyandı. *Toxoplasma gondii* doku kisti antijenine karşı hazırlanan poliklonal fare anti-*T.gondii* primer antikoru kullanılarak

immunoperoksidaz teknikle muayene edildi. Histopatolojik incelemede beyin farklı bölgelerinde meydana gelen; meningitis, perivasküler hücre infiltrasyonu ve gliosis şiddeti skorlanarak karşılaştırıldı. Enfeksiyon sonrası meydana gelen yangısal reaksiyonun, intraperitoneal grup fare beyinlerinde, oral inokülasyon yapılanlara oranla nispeten daha şiddetli olduğu ve inokülasyon sonrası geçen zamanla birlikte yangı şiddetinin azaldığı tespit edildi. Doku kistlerinin dağılımı açısından, orta beyin bölümünün beyin kökü ve beyinciğe oranla daha yoğun doku kisti içerdiği izlendi. Doku kistlerinin etrafında çoğu zaman herhangi bir yangısal reaksiyona rastlanmazken bazı bölgelerde yoğun mikroglia ve astrosit kümeleri içeren fokal alanlara rastlandı.

Lezyonlar başlıca sırasıyla; orta beyin, beyin kökü ve beyincikte azalan şiddette tespit edildi. Orta beyinde özellikle ammon boynuzu, perihipokampal bölge ve amigdaloïd komplekste lezyonların yoğun bir şekilde meydana geldiği görüldü. Doku kistlerinin özellikle damarlar etrafında yoğunlaştığı ve orta beyin bölgesinde görülen doku kistlerinin birbiriyle temas edecek kadar yakın dizilerek gruplar oluşturduğu gözlemlendi. Oluşan doku kistlerinin çap ortalaması Grup 1 de 16,29 µm , grup 2 de 17,83 µm, grup 3 te 21,05 µm ve grup 4 te 23,47 µm bulunmuştur. Buna göre intraperitoneal inokülasyon yapılan gruplarda inokülasyon sonrası aynı günlerde oluşan doku kistlerinin, oral inokülasyon yapılan gruplara oranla daha büyük olduğu anlaşıldı.

İmmunoperosidaz test sonuçlarına göre; etkilenen bölgelerde dejeneratif ve nekrotik nöron sitoplazmaları, mikroglia ve bazı astrosit sitoplazmalarında *T. gondii* doku kisti spesifik antijen pozitif reaksiyonlara rastlandı. Özellikle, gliosis alanlarında, noktasal ve granüler tarzda immunreaksiyonlar tespit edildi. Doku kistlerinin, hem bradizoit, hem de daha zayıf olmak üzere kist duvarı anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna karşı immunreaksiyon gösterdi. Doku kistleri içerisindeki bradizoitler, her biri ayrı ayrı seçilebilecek çilek veya üzüm salkımı benzeri bir görüntü gösterirken, immunoreaktivitenin yoğun olduğu doku kistlerinde iç detay seçilemedi.

Sonuç olarak; İntraperitoneal inokülasyon yapılan farelerde, oral inokülasyon yapılan farelere oranla gliosis, meningitis ve perivasküler hücre infiltrasyonunun daha şiddetli şekillendiği ve doku kistlerinin daha büyük olduğu görülmüştür. Beyincik, orta beyin ve beyin kökü gliosis açısından incelendiğinde; lezyonların beyincikte en hafif düzeyde seyrettiği görülmüştür. Yine bu üç anatomik bölge lezyonların şiddeti açısından değerlendirildiğinde en şiddetli lezyonların orta beyinde meydana geldiği dikkati çekmiştir. Ayrıca intraperitoneal inokülasyon yapılan farelerde 30. günde nekropsi yapılan farelerde şekillenen perivasküler hücre infiltrasyonunun 60. günde nekropsi yapılan farelere oranla daha şiddetli seyrettiği anlaşılmıştır. Bu çalışmayla birlikte, *T. gondii* ME 49 suşu ile fare beyinlerinde doku kisti modeli Türkiye’de ilk kez uygulanmıştır. Türkiye’de daha önceden gerçekleştirilen deneysel çalışmaların birçoğu, *T. gondii* Tip I suşları (RH, Ankara) ile akut ve ölümcül sonlanan deney hayvanı modellerine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler: Beyin, doku kisti, fare, immunoperoksidaz teknik, ME49 suşu, *Toxoplasma gondii*.**

**EVALUATION OF PATHOLOGICAL FINDINGS, CYST LOCALIZATION  
AND CYST SIZES IN EXPERIMENTAL INFECTION OF *Toxoplasma gondii*  
ME 49 STRAIN IN MICE**

**SUMMARY**

Toxoplasmosis is an infection that is characterized by stillbirth and lethal infection induced by *Toxoplasma gondii* in birds and mammals including human beings. Tissue cysts of *Toxoplasma gondii* are known as a resting and slowly dividing phase of parasite by the affects of immunocompetent host immunity. In the experimental in vivo studies that are made on *Toxoplasma gondii* tissue cysts, infection can be produced by applying oocysts via oral or intraperitoneal way. Especially, in the experimental studies, in which it is researched that a molecule or a medicine has effects on tissue cyst, it is very important that to know the existence, localization, size and number of cyst in the brains of experimental animals in advance. Accordingly, it is needed to be enlightened about the subjects that more tissue cysts are formed or whether it is any pathologic anatomic location at which part of the brain.

In this study, it is aimed to determine the localization, size and number of the tissue cysts, which take form on the 30th and 60th days after inoculation, and assessment with histopathological changes taking place in brain. Four separate groups, each having 7 mice, have been formed.  $2 \times 10^2$  *Toxoplasma gondii* ME49 oocysts has been given to the Group 1 (n = 7) and Group 2 (n = 7) orally and to the Group 3 (n = 7) and Group 4 (n = 7) via intraperitoneal way. The brains of the mice in the Group 1 and Group 2 were extracted through euthanasia postinoculation 30th day, and the brains of the mice in the Group 3 and Group 4 were extracted through euthanasia after 60 days from the inoculation. Parasagittal sectioned brain samples, which are taken in a way that can pass through the cerebellum, brainstem and midbrain and sections, having a thickness of 5  $\mu\text{m}$ , have been taken and they have been stained with haematoxylin and eosin, routinely. Polyclonal anti-*T. gondii* primary antibody has been used and the mouse, which is prepared against *Toxoplasma gondii* tissue cyst antigen, has been treated with immunoperoxidase technique. Meningitis, perivascular cell infiltration and gliosis, occurred at the different parts of the brain

has been compared and scored at histopathological examination. It has been detected that the inflammatory reaction, which has occurred after the infection, is more severe at the brains of intraperitoneal group mice than the brains of oral group mice and the severity of the inflammation has decreased as time passed after inoculation. From the point of the distribution of tissue cysts, it has been observed that midbrain comprises of more tissue cysts than the ones at brainstem and cerebellum. While there is not any inflammatory reaction around the tissue cysts, it is seen that there are focal areas, which consist of dense microglia and astrocyte accumulation, in some places.

Lesions have been detected mainly in a decreasing severity in the midbrain, brainstem and cerebellum respectively. It has been observed that lesions have been occurred densely at midbrain especially at cornu ammonis, perihippocampal area and amygdaloid complex. It has been observed that the tissue cysts have become dense especially around the venous capillaries and the tissue cysts, which have been seen at midbrain area, have formed groups by having lines close as if they can touch with one another. Approximate diameter of the tissue cysts is 16,29  $\mu\text{m}$  in Group 1, 17,83  $\mu\text{m}$  in Group 2, 21,05  $\mu\text{m}$  in Group 3 and 23,47  $\mu\text{m}$  in Group 4. According to this, it has been understood that the tissue cysts, which have been formed on the same days after inoculation at the groups, at which intraperitoneal inoculation have been applied, are bigger than the groups at which oral inoculation has been applied.

According to the immunoperoxidase test results; *T. gondii* tissue cyst specific antigen positive reactions were detected in degenerative and necrotic neuron cytoplasm in the affected areas and in microglia and some astrocyte cytoplasm. Especially, pointed and granular immune reactions have been seen. Bradyzoites showed a strong *T. gondii* antigen positive immunoreaction but reaction against tissue cyst wall was weak. While bradyzoites inside the tissue cysts have an image similar to strawberry or bunch of grapes that can be recognized separately, close details have not been recognized at the tissue cysts in which the immune reactivity is dense.

As a result; it has been seen that gliosis, meningitis and perivascular cell infiltration were more severe and the tissue cysts are bigger in the mice of

intraperitoneal inoculation, than the ones at the mice at which oral inoculation has been applied. When the cerebellum, midbrain and brainstem are examined; it has been seen that lesions are in the mildest level in the cerebellum. When these three anatomic areas are assessed by means of the severity of the lesions again, it has been seen that the most severe lesions occur at midbrain. Besides, it has been understood in the mice, in which intraperitoneal inoculation is applied, that perivascular cell infiltration in the mice, on which necropsy is applied on the 30th day, is more severe than the mice, on which necropsy is applied on the 60th day. With this study, *T. gondii* ME 49 strain and tissue cyst model in the mouse brain have been established for the first time in Turkey. Most of the experimental studies performed before in Turkey indicate the experimental animal models, which were gave acute and fatal results of *T. gondii* Type I strains (e.g. RH, Ankara).

**Keywords** : Brain, tissue cyst, mouse, immunoperaxidase technique, ME 49 strain, *Toxoplasma gondii*.

# 1.GİRİŞ

## 1.1. Hastalığın Tanımı

Toksoplazmoz, tüm dünya ülkelerinde memeli ve kanatlı türlerini etkileyebilen ve *Toxoplasma gondii* tarafından oluşturulan sistemik protozoer bir enfeksiyondur. Kediler ve diğer *Felidae* türleri *T. gondii*'nin hem ara hem de tek ve son konaklarıdır (Dubey, 2010). Ara konak ise insan dahil olmak üzere birçok memeli hayvanlardır (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Kedilerde parazitin şizogoni ve gametogoni evrelerini geçirdiği intestinal form şekillenirken herhangi bir klinik bulgu dikkati çekmez. Kedilerde, ancak konak direncinin zayıfladığı durumlarda ölümcül sistemik toksoplazmoz şekillenebilmektedir (Hazıroğlu ve ark., 1988; Hazıroğlu, 1993; Dubey, 2010). Konak parazit ilişkisini; konak ve parazite ait genetik faktörler, konağın yaşı, etkenin gelişim aşamasına ait antijenik çeşitlilik ve enfeksiyon dozu gibi kriterler belirler (Epiphanio ve ark., 2003).

## 1.2. Etiyoloji

Parazitin; patojenitesine göre ayrılmış Tip I, II ve III olmak üzere 3 farklı genotipi vardır.

*Toxoplasma gondii* morfolojik, biyolojik ve moleküler özelliklerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılır (Levine, 1961).

Alt alem:	Protozoa
Anaç:	Apicomplexa
Sınıf:	Sporozoa
Alt sınıf:	Coccidia
Takım:	Eucoccidiida
Alt takım:	Eimeriina
Aile:	Toxoplasmatidae
Cins:	Toxoplasma
Tür:	<i>gondii</i>



### 1.3.Tarihçe

*Toxoplasma gondii*, ilk kez 1908 yılında Tunus'ta Nicolle ve Manceaux tarafından bir kemiricide bulunmuştur (Altıntaş,1996). Wolf ve Cowen insanda ilk konjenital toksoplazmozunu bildirmişlerdir (Wolf ve Cowen, 1937). Toksoplazmoz, Türkiye'de ilk kez 1950 yılında Akçay ve arkadaşları tarafından bir köpeğin akciğer kesitlerinde psödokistler halinde saptanmış (Akçay ve ark, 1950) ve insanda 1953 yılında Unat ve arkadaşları tarafından histopatolojik olarak gösterilmiştir (Yaşarol, 1983). 1969 yılında Hutchinson ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, *T. gondii* ile enfekte fare dokusu kediyeye verilmiş ve kedi dışısındaki enfektif ookistler gösterilmiştir (Jones ve ark., 1996). Parazitin Türkiye'de ilk izolasyonu ise bir köpekten Ekmen ve Altıntaş tarafından yapılmıştır (Ekmen ve Altıntaş, 1973). *Toxoplasma gondii* Ankara suşu adı verilen, yüksek patojeniteye sahip bu suşla çok sayıda deneysel enfeksiyon modeli gerçekleştirilmiştir (Kul ve Hazıroğlu 2001, Hökelek ve ark. 2002, Hazıroğlu ve ark. 2003).

### 1.4. Yaşam Çemberi

Parazit için kediler hem son konak hem de ara konaktır. Kediler yine kedi dışısıyla atılan ve doğada sporlanmış ookistleri sindirim yoluyla alarak doğrudan enfekte olabilirler (Soulsby, 1986). Kediler, *Toxoplasma gondii* doku kisti veya hücre içi takizoitleri barındıran kemirici gibi ara konakları yiyerek ya da yavru kediler konjenital olarak enfeksiyonu annelerinden alabilmektedirler. Yani, kediler hem takizoit (psödokist), hem bradizoit (gerçek doku kisti) ve hem de sporozoitlerle (ookist) enfekte olabilmektedir (Milli ve Hazıroğlu, 2000). *Toxoplasma gondii*, son konak olan kedilerde hem seksüel hem de aseksüel olarak bulunur (Dubey, 2010). Doku kistleri, kediler tarafından alındıktan sonra bağırsakta proteolitik enzimlerle kistin duvarı erir ve bradizoitler serbest hale gelir. Bazıları bağırsakların Lamina propria'sına penetre olur ve takizoit olarak çoğalır. Diğer bradizoitler, ince bağırsakların epitel hücrelerine penetre olurlar ve seksüel fazı başlatırlar. Erkek gamet 2 flagellaya sahiptir ve dişi gamete doğru gider. Dişi gamet erkek gametle

fertilize olduktan sonra ookist duvarı gelişir. Ookistler olgunlaştığı zaman bağırsak epitel hücrelerinin yıkımlanmasıyla bağırsak lumenine boşalırlar (Dubey, 2004). Taze dışkıda ookistler sporlanmamış halde bulunur (noninfektif) ve yuvarlak şekilli 10x12µm çapındadırlar. Sporulasyon, dışkılamadan sonra 1-5 gün içinde çevresel koşullara bağlı olarak doğada olur (Dubey, 1986a). Sporlanmış ookistlerde 2 sporosist, her bir sporosist içinde 4'er sporozoit vardır (Dubey, 2010).

Takizoit ve ookist enfeksiyonunda ise parazitin doku invazyonu gerçekleşir. Parazitin tekrar bağırsağa dönüp ookist oluşturması zaman almaktadır. Kedilerde ookist alımı ile gerçekleşen enfeksiyonlarda, vücutta gerçekleşen döngü ara konaktaki ile aynıdır. En önemli ayırım vücut dokularında gelişen formların kedilerde tekrar bağırsağa dönüp ookist oluşturmasıdır. Kediler parazitin doku kisti ve ookist formlarını oral yolla aldıklarında, bağırsak epitel hücrelerinde merogoni, gametogoni, zigot ve ookist oluşumu gerçekleşir (Dubey, 1986a).

Sporlanmış ookistleri gıdalarla alan ara konaklarda mide pasajını takiben açılan ookistler içinden çıkan sporozoitler bağırsak duvarını geçerek kan ve lenf yoluyla çeşitli organ ve dokulara dağılırlar (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Kediler ve insanlar da dahil diğer ara konaklarda ilk ekstraintestinal yerleşim yeri, mezenterik lenf nodülleri ve karaciğer paranzimidir. Parazit lenf nodüllerinde sinüzoidal makrofajlar, karaciğerde hepatosit ve Kupffer hücreleri, akciğerlerde alveoler makrofajlar ile bronşiyol epitel hücreleri, kalp ve iskelet kasında myositler, plasentada trofoblastik hücreler, pankreasta duktal ve asiner hücreler, beyinde nöron ve mikroglia hücrelerine yerleşerek çoğalır ve birçok takizoit içeren psödokist oluşturur (Jubb ve ark, 2007).

Kronik dönemde psödokistlerden ayrılan takizoitler, daha yavaş çoğalan formu olan bradzoitlere dönüşerek, başta sinir sistemi olmak üzere kas ve diğer doku hücrelerine yerleşir ve gerçek doku kistlerini oluşturur (Dubey, 1986a).

Bradizoitler, ara konaklarda kist halinde yaşamlarına devam ederler ve takizoitlerden daha yavaş ürerler. Kistler hiçbir klinik semptom göstermeden canlının immun sistemi baskılanıncaya kadar kalabilir ve immun yetmezlikle birlikte ruptüre olarak akut forma dönüşebilirler (Montoya ve Liesenfeld, 2004).

### 1.5.Bulaşma

*Toxoplasma gondii*, şizogoni ve seksüel gelişimini kedi bağırsaklarında geçiren koksidian bir parazittir (Dubey, 2010). Kedi dışkılarıyla atılan ookistlerin ağız yoluyla alınması tüm ara konak ve son konaklar için enfeksiyon kaynağıdır (Jones ve ark., 1996). Kedigillerde 7-21 günlük intestinal gelişim sonunda kedi dışkılarıyla birkaç milyon ookist atılabilir. Sporulasyondan sonra 1-21 gün içinde enfektif sporozoit içeren ookistler oluşur ve sporlanmış ookistleri sindirim yoluyla alan memelilerde enfektif takizoit evresi ortaya çıkar (Montoya ve Liesenfeld, 2004).

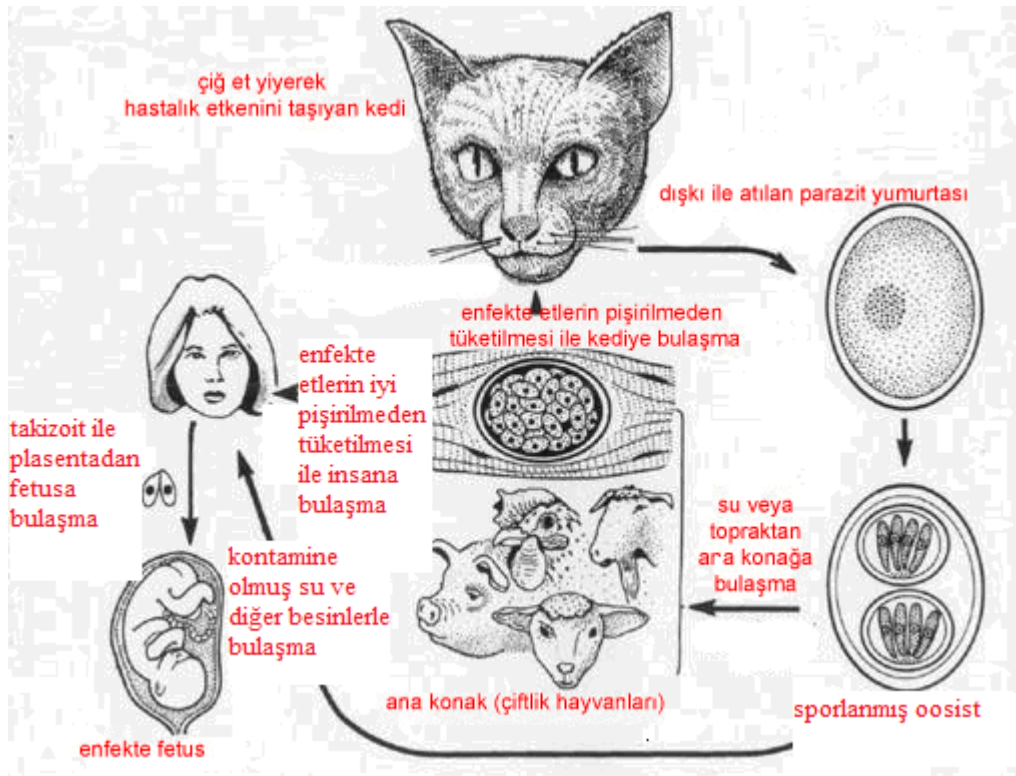
Hastalık arakonak ve kedilerin kistli etleri veya enfekte kemiricileri yemesiyle de bulaşabilir. İnsanlarda pişmemiş veya az pişmiş kistli dokuların tüketilmesi önemli bir bulaşma yoludur (Dubey, 2010).

Ara konaklarda *T. gondii*'nin hızlı çoğalan formu olan takizoitler ile yavaş çoğalan formu olan bradizoitler gelişir (Dubey, 1986a). Bradizoitler morfolojik olarak takizoitlere benzerler. Her bir doku kisti 100 ile 1000 arasında bradizoit içerir ve konakta beyin, kalp, akciğer ve iskelet kası hücrelerini seçerler (Montoya ve Liesenfeld, 2004).

Bradizoit çekirdekleri arka uca yakın, takizoit çekirdekleri ise daha merkezdedir. Bradizoitler, takizoitlerden daha incedir ve proteolitik enzimlerin etkilerine daha dayanıklıdır (Dubey, 2004). Takizoitler 2-4 µm genişliğinde ve 4-8 µm uzunluğunda yarım daire veya oval şekillidir. Hücre sitoplazmasına girer, penetre olur ve endodyogeni ile çoğalırlar. Konak hücrelerini parçalayarak kan yoluyla göz, plasenta, kalp ve iskelet kası gibi dokulara yayılırlar. Bulunduğu hücre öldükten

sonra hızla çevredeki hücrelere invaze olurlar. Takizoit formu, dokularda hasara ve güçlü bir yangıya sebep olur. Hastalığın klinik belirtileri ise sonradan ortaya çıkar (Montoya ve Liesenfeld, 2004). Takizoitlerle bulaşma, kan ve doku transplantasyonu yoluyla veya çiğ süt tüketimi sonucu şekillenir. Takizoitler mide pasajına dirençsizdir, ancak enfeksiyon ağız boşluğundaki lezyonlar aracılığıyla gerçekleşebilir. Yapılan deneysel çalışmalarda keçi sütünde *T. gondii* takizoitlerine rastlandığı ve toksoplazmozun keçi sütüyle insanlara bulaşabileceği rapor edilmiştir (Dubey, 1986b). Takizoit içeren çiğ etlere dokunulduktan sonra gözlerin ovuşturulmasına bağlı olarak da etkenler konjunktivadan vücuda girebilmektedir (Nalbantoğlu ve ark., www.tvhb.org.tr/bilimsel/14.doc).

Enfekte gebelerde, parazit plasenta yoluyla fötusa geçer. Transplasental enfeksiyonlara koyun ve keçilerde yaygın şekilde, domuz ve insanlarda ise sporadik olarak rastlanır. İneklerde toksoplazmoza bağlı abortlar çok ender olarak görülür (Milli ve Hazıroğlu, 2000).



**Şekil 1.1.** *Toxoplasma gondii*'nin yaşam çemberi, Dubey, (1986a)'dan uyarlanmıştır.

## 1.6. Klinik Semptomlar

### 1.6.1. Hayvanlarda Toksoplazmoz

Kedilerin bağırsak enfeksiyonuyla ilgili önemli bir klinik semptom görülmezken, sistemik toksoplazmoz iştahsızlık, ateş ve hazımsızlıkla karakterizedir (Jones ve ark., 1996, Dubey, 2010). Yalnız, kimi kedi yavrularında meydana gelen ağır enfeksiyonlarda bağırsak epitel hücrelerinin dökülmesine bağlı olarak gelişen villus atrofi ve emilim bozukluğuna bağlı olarak ishale rastlanabilmektedir (Milli ve Hazıroğlu, 2000). *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu ilk kutanöz toksoplazmoz, 2005 yılında bir kedide ilk vaka olarak rapor edilmiş ve takizoitlerin morfolojisi ultrastruktural olarak ortaya konulurken PCR ve paraziter DNA sekans analize de desteklenmiştir (Anfray ve ark, 2005). Daha önce Dubey 2003 yılında bir köpekteki dermal lezyonda histopatolojik olarak saptadığı *T. gondii* benzeri protozoonları immunohistokimyasal olarak incelediğinde; hem *T. gondii* ile hem de *Neospora caninum* antiserumu ile pozitif reaksiyon verdiğini göstermiş, fakat ultrastruktural olarak *T. gondii*'nin özelliklerini içermediğinden tam identifiye edilemeyip *T. gondii* benzeri protozoon olarak isimlendirmiştir (Dubey ve ark, 2003).

Köpek gençlik hastalığı, Feline Leukemia virus, Feline Immundeficiency virus, Feline Coronavirus enfeksiyonları gibi immun sistemi baskılayan hastalıklarda, latent haldeki toksoplazmoz etkinleşebilir (Milli ve Hazıroğlu, 2000).

Gebelik sırasında toksoplazmoza yakalanan seronegatif dişi koyunlarda, abort meydana gelebilir (Dubey, 1987). Gebeliğin 110 ncu gününden sonra bulaşma meydana gelirse klinik olarak normal ancak *T. gondii* doku kistlerini içeren yavrular meydana gelebilmektedir (Buxton 1990, Baszler ve ark, 2000). Sonuç olarak koyunlarda gebelik sırasındaki enfeksiyon embriyo ölümü, mumyalaşma, abort, ölü doğum ve neonatal ölümlere yol açabilir. Enfekte fötüslerin çoğu kuzulama dönemine yakın olarak atılır. Koyunlarda üst üste iki kez abort görülmesi düşük bir olasılıktır; ancak koyunlara enterotoksemi aşısı uygulamasının ankiste haldeki *T. gondii* doku kistlerin etkinleşmesine yol açabileceği bildirilmiştir (Milli ve

Hazıroğlu, 2000). Bu nedenle koyunlarda *T. gondii* ookistleriyle çevresel kontaminasyonun, vertikal bulaşmaya göre daha az önem taşıdığı gösterilmiştir (Buxton ve ark, 2005).

*Toxoplasma gondii* büyük ruminantlarda önemli düzeyde abort ve klinik hastalığa sebep olmaz ve gebe ineklerde deneysel oluşturulan hastalık modelleri haricinde, dokularda etken bulunmasına karşın hastalığa yol açmaz (Dubey, 1986b, Milli ve Hazıroğlu, 2000). Domuzda pnömoni, ensefalitis ve abortla karakterize bulgular görülebilmektedir (Jones ve ark., 1996). Tüm evcil hayvanlarda interstisyel pnömoni, multifokal hepatik nekroz, lenfadenitis, myokarditis ve nonsupuratif meningoensefalitis görülebilir (Jubb ve ark, 2007).

### **1.6.2 İnsanlarda Toksoplazmoz**

Ateş, gece terlemesi, karaciğer ve dalak büyümesi, kas ve baş ağrısı görülebilir (Schwartzman, 2001). Meydana gelen lenfadenopati ilk enfeksiyondan sonra farklı zamanlarda tekrar edebilmektedir (Paul, 1999). Hodgkin lenfoma'lı hastalar, kollagen vasküler bozukluğu olanlar, organ transplantasyonu yapılanlar, ilaç bağımlıları ve AIDS'li hastalar toksoplazmoz açısından risk grubunda yer alır ve prognoz oldukça kötüdür (Dubey, 2010).

Konjenital toksoplazmoz, hamilelik esnasında enfeksiyonun alınması dışında, latent haldeki enfeksiyonun immun sistemi baskılamasıyla tekrar akut hale gelmesi sonucu etkenin fötusa vertikal yolla bulaşmasından da ileri gelebilir. Gebeliğin ilk 3 aylık döneminde düşük, ikinci üç aylık döneminde erken veya ölü doğum ve anomaliye son üç aylık dönemde ise sağlıklı doğum ancak erken bebek ölümlerine neden olabilir (Kravetz, 2005).

### **1.7. *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonları ve Davranış Değişiklikleri Arası İlişkiler**

Enfeksiyonlarla psikiyatrik hastalıklar arasında bir ilişki olduğu uzun yıllardan bu yana bilinmektedir. *Toxoplasma gondii* enfeksiyonları tüm dünya ülkelerinde yaygın

seropozitiflik oranına sahiptir ve özellikle koyun, keçi tüketiminin yaygın olduğu Fransa, İngiltere, Avusturya, Türkiye gibi ülkelerde insan nüfusunun hemen yarısının *T. gondii* seropozitif olduğu tahmin edilmektedir (Dubey, 2010).

Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda, şizofren bireylerde *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun daha fazla gözlendiği rapor edilmiştir (Brown 2008, Tanyüksel ve ark., 2010). Ancak yine de şizofreni ile *T. gondii* enfeksiyonu arasında ilişkiye vurgu yapılırken, düşük sosyoekonomik ve sosyokültürel düzey, özbakımda azalma şizofrenik bireylerin enfeksiyona yatkınlığının artırması yönündeki etkilerinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Toksoplazmozun şizofreni için, tek başına hastalık geliştirici bir etken olmaktan çok, konağa ait faktörlerle (immün sistem, psikiyatrik yatkınlık gibi) etkileşerek önemli bir risk oluşturduğu da öne sürülmektedir (Koçak, 2009).

İnsanlarda görülen depresyon, alzheimer, şizofreni gibi nörolojik hastalıklarda hipokampal bölgede anormal değişiklikler görülmektedir. Bu nedenle yapılan deneysel çalışmalarda kronik enfekte farelerde hipokampus sınırında perivasküler hücresel infiltrasyon dikkate değerdir (Hermes ve ark., 2008).

Davranış değişiklikleri ile ilgili olarak, *T. gondii*'nin rodentlerde, özellikle kediye karşı duyarsızlığa neden olduğu öne sürülmüştür. Rodentlerde *T. gondii*'nin öğrenmeye olumsuz etkisini gösteren çalışma sonuçları da bulunmaktadır (Hermes ve ark., 2008). *Toxoplasma gondii* ile enfekte kemiriciler, kedi idrarından korkmazlar. Kemiricilerin bu kokuyu feromon olarak algılayıp seksüel olarak ilgilerinin arttığına dair çalışmalar mevcuttur (Vyas ve ark. 2007).

Yapılan moleküler çalışmalarda memelilerde bulunan tirozin hidroksilaz salınımını kodlayan genin, *T. gondii* genomunda da bulunduğu tespit edilmiştir. Tirozin hidroksilaz enzimi, fenilalanini katabolize eder ve dopamin salınımını sağlar. Dopamin ise keyif, çekicilik duygularıyla ilişkilidir. Buradan *T. gondii*'nin beyindeki kimyasal dengeyi değiştirerek davranış değişikliğine yol açtığı anlaşılmaktadır (Sapolsky 2009).

### **1.8. *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonunda Histopatolojik Bulgular**

*Toxoplasma gondii*'ye bağlı olarak aborte olan ftusların yaklaşık % 95'inde beyinde lezyonlar oluşur. Bu lezyonlar kalsifiye olan küçük nekroz odakları ile glial ve mononükleer hücre infiltrasyonlarından meydana gelir. *Toxoplasma gondii* doku kistleri en çok gri maddede görülür. Kistler lezyonun çevresindeki hücre infiltrasyonunun az olduğu bölgelerde dikkati çeker (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Arasına orta şiddette nonsupuratif meningoensefalitis de görülebilir (Dubey, 2010). Omurilik lezyonları büyük oranda beyinde görülenlere benzerdir (Jubb ve ark, 2007).

Plasentadaki villuslarda multifokal lezyonlar görülür. Epitel ve villus stromasında nekroz odakları, kalsifikasyon ve hafiften orta şiddete değişen mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlanır. Ender olarak trofoblastik hücrelerde dejenere *T. gondii* doku kisti ve takizoitleri görülebilir (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Koyunlarda plasentadaki fokal nekroz odakları, anneden fötusa yeterli oksijen gelmesini engeller. Gebeliğin geç döneminde meydana gelen ftal anoksinin fokal lökoensefalomalasiye neden olduğu düşünölmektedir (Buxton, 1990).

Ftusta ayrıca multifokal nekrotik suppuratif hepatitis, pnömoni, nonsuppuratif myozitis, myokarditis ve nefritis şekillenir. Kaslardaki kistler mekik şekindedir (Milli ve Hazıroğlu, 2000).

Domuzlarda deneysel olarak gerçekleştirilen transplasental bulaşmada korioallantoisin bazı bölümlerinin tamamen nekrotik olduğu, kalpte multifokal nekrotik myokarditis şekillendiği göze çarpmıştır (Dubey ve ark., 1990).

### **1.9. *Toxoplasma gondii* doku kistinin morfolojik, antijenik ve moleküler özellikleri**

Doku kistlerinin oluşumu ve bradizoitlerin gelişimi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Dzierszinski ve Knoll, 2007). Kistin sahip olduğu antijenik ve metabolik özellikleri; konak hücre tipi, parazit suşu ve kist yaşına bağlıdır. Olgun doku kistleri,



50-100 µm çapındadır ve içinde yüzlerce bradizoit bulunur. Yeni şekillenen genç doku kistleri ise sadece iki bradizoit içerebilir. Daha yaşlı doku kistleri hem sağlam hem de dejenere olmuş bradizoitleri içerir ve çoğunda iç detay ve organel yapıları seçilemeyebilir (Dubey, 2007).

Doku kistlerinin gelişimi esnasında bradizoitler kutuplaşır ve hücreler organize olur. Kist duvarı osmofilik matriks içeren zarsı kabarcıklar ile membran invaginasyonundan oluşur. Bu yapının kalınlığı 200-850 nm arasındadır. Kist duvarı kitin, glikoprotein ve muhtemelen glikolipid içermektedir. Bazı bradizoitler kist oluşumu esnasında erkenden özel proteinler salgırlar ve bu tanıtıcı proteinlerin birkaçı kist matriksini oluşturur (Dzierszinski ve Knoll, 2007). Bradizoitlerin çekirdekleri kaudal uca yakın yerleşimdedir. Bradizoitlerde takizoitler gibi endodiyogeni ile ancak daha yavaş çoğalırlar (Dubey, 2004).

Doku kistlerinin, hayvanlarda enfeksiyonun sekizinci günü gibi erken bir dönemde oluşarak konağın yaşamı boyunca canlı kalabileceği, her organda yerleşebildikleri, ancak genellikle beyin, iskelet ve kalp kasını tercih ettikleri bildirilmektedir (Orhan ve Yaşarol, 1983).

Doku kistlerinin monoklonal antikolarla tanımlanabilen antijenlerini kodladığı düşünülen BAG1, MAG1, BSR4 (P36), LDH2 ve SAG4A genleri klonlanmış ve karakterize edilmiştir. Takizoit ve bradizoitlerden elde edilen cDNA sekans sonuçları çok sayıda gelişim aşamasına özgü genler bulunduğunu göstermiştir (Reichard ve Gross,2007). Bradizoitlere spesifik genlere ait daha geniş ve kapsamlı bir liste <http://www.cbil.upenn.edu/apidots/> ve <http://cmgm.stanford.edu/micro/boothroyd/toxo1.html> adreslerinde yayınlanmıştır. Bradizoitlere özgü çok sayıda proteini kodlayan genlerin tanımlanmasına rağmen bu genlerin fonksiyonu hakkında yorum yapılamamaktadır. Bradizoit kaynaklı 65 cDNA klonu analiz edildiğinde, bunların chaperone homologu nitrojen fiksasyon protein, DNA hasar proteini, KE2 protein, fosfatidilinositol sentaz, glukoz 6 fosfat isomeraz ve enolazlara ait olduğu görülmüştür. Bradizoit ve takizoit arasındaki gen ekspresyonundaki farklılıklar, yine parazitin aşamalarına spesifik farklı sentez

özellikleri ile açıklanmaktadır. Çok sayıda bradizoit spesifik gen tanımlanmasına rağmen bradizoit farklılaşmasında görev alan gen ve proteinlerin tam olarak açıklandığı bir model bulunmamaktadır. Bununla birlikte bugüne kadar yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre;

1; Takizoit ve bradizoitler yapısal olarak homolog proteinlerinin farklı genlerle ifade ederler ve kodlarlar

2; Parazitin gelişim aşamasına özgü spesifik metabolik genleri vardır ve bu farklı aşamaların farklı metabolik özelliklere sahip olmasını sağlar

3; Stresle ilişkili farklılaşma yolları ve stres proteinleri parazit aşamalarının birbirine dönüşümünü organize eder

4; Parazitin kendisi tarafından regüle edilen bir yapısal çoğalma programı bulunur (Reichard ve Gross, 2007).

Doku kistleri konağın immun sistemi bozuluncaya kadar semptom göstermeyebilir (Montoya ve Liesenfeld, 2004). İmmun sistemi baskılanan konaklarda kistler açılır ve bradizoitler yayılır (Djakovic ve Milenkovic, 2001).

## **1.10. Deney Hayvanlarında Kronik Toksoplazmoz Modelleri**

### **1.10.1. Önemli Faktörler**

Teorik olarak tüm memelilerin *T. gondii* tarafından enfekte olabileceği düşünülmektedir. Ancak laboratuvar hayvanları toksoplazmoza karşı kısmen dirençlidir. *Toxoplasma gondii* enfeksiyonlarına karşı direnç sırasıyla sıçan, kobay, tavşan ve farelerde görülür (Hermes ve ark., 2008).

Deney hayvanlarında oluşturulacak bir enfeksiyonun derecesi, aynı zamanda kullanılan hayvanının ırkı ile de ilgilidir. Son zamanlarda aynı tür, ancak farklı ırklardaki farelerin duyarlılıklarından sorumlu kromozom ve genler gösterilmiştir (Reichard ve Gross, 2007). Ayrıca, *T. gondii*'nin farklı suşlarının, farklı virülenslere sahip olması da oluşturulacak enfeksiyonun derecesi bakımından önemlidir. Etkenlerin in-vitro pasaj sayıları da virülenste etkili olmaktadır. İlk kez sahadan izole edilen bir suşun patojenitesi pasajla birlikte artar (Kul, 2009).

#### **1.10.1.1. Deney Hayvanı**

Son zamanlarda farelerde konjenital toksoplazmoz ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Vertikal bulaşma, parazitin suşuna ve farenin türüne bağlıdır. Yapılan çalışmalar sadece 6 adet *T. gondii* suşunda transplasental bulaşma olduğunu göstermiştir. Balb-C ve Balb-K farelerinde transplasental bulaşma görülmez. Annede çok sayıda doku kisti olmasına rağmen yavruya bulaşma görülmemiştir. Bu Balb farelerinin genetik yapısına bağlıdır (Reichard ve Gross, 2007).

#### **1.10.1.2. *Toxoplasma gondii* suşu**

*Toxoplasma gondii*'nin genetik olarak birbirine benzeyen ama belirgin fenotipik farklılıkları bulunan 3 ayrı klonal suşu vardır. Tip I, sık görülmeyen ve farelerde en virüent olan suş, Tip II insanlarda en sık enfeksiyona yol açan ama daha az virüent ve kistojenik suş, Tip III ise sık görülmeyen ve fenotipik olarak değişken olan suştur (Akarsu, 2008). Tip I suşları farelerde ölümcül olduğundan dolayı yalnızca akut enfeksiyon modellerinde kullanılır. Yapılan doku kisti çalışmalarında farelerde enfeksiyon oluşturmak için, ME49 suşu veya RRA gibi Tip II suşları tercih edilir. Son zamanlarda geliştirilen biyoluminesans tabanlı görüntüleme sistemi ile yaşayan farelerde farklı *T. gondii* suşlarının etkileri incelenebilmektedir. Ayrıca bu sistem bradizoitlerin biyolojileri hakkında da bilgi vermektedir (Dzierszinski ve Knoll 2007).

### 1.10.1.3. Etkenin Veriliş Yolu

Toksoplazmoz modeli oluşturulması amacıyla genellikle iki yol izlenir: İlki, hücre kültürü ya da farelerde üretilen takizoitlerin intraperitoneal, derialtı, ya da damar içi verilmesi, diğeri ise, kronik olarak enfekte edilmiş fare beyinlerinden elde edilen doku kistlerinin oral yolla verilmesidir. Ookist ise, enfeksiyon oluşturmak için nadiren kullanılır. Doku kistlerinin oral verildiği modellerde, doğal bulaşma yolu taklit edildiğinden daha yüksek oranda başarı elde edilebilmektedir. Bununla birlikte, takizoitler asit pH'ya dayanıksız olduklarından oral yolla enfeksiyon oluşturulamaz (Kul, 2009).

### 1.10.2. Beyinde Doku Kisti Modeli

Kronik enfeksiyon modeli, *T. gondii*'nin kist formuna karşı ilaç etkinliğinin değerlendirilmesinde uygun seçenektir. Kist formu, parazitin yaşam çemberi içinde en önemli yaşam evresi olarak değerlendirilir. Bu durum, özellikle toksoplazmik ensefalit görülme ihtimali olan immun yeterli bireylerde toksoplazmoz patogenezinin açıklanabilmesi için önemlidir (Dubey, 2007). Kronik enfeksiyon oluşturmak için parazitin Tip II suşu oral ya da intraperitoneal olarak uygulanır. Oral ya da intraperitoneal inokülasyondan 3-4 hafta sonra bradizoitler beyinde maksimum seviyeye ulaşır (Hermes ve ark., 2008). Takiben progresif kronik toksoplazmik ensefalit gelişir. Tip II suşla oluşturulan enfeksiyonlarda; örneğin ME49 suşuyla oluşturulan enfeksiyonlarda sürekli yeni kist oluşturmaya eğilim bulunduğu düşünülür. Bu, kist rupturu, takizoitlerin açığa çıkması ve tekrar bradizoitlerin gelişmesiyle olur (Dzierszinski ve Knoll 2007). Sonuçta enfekte edilen fare ırkına, *T. gondii* suşuna ve uygulanan miktara bağlı olarak haftalar veya aylar sonra değişik oranlarda ağır klinik tablo görülebilir. İlaç etkinliğinin değerlendirilmesi için tedavi uygulanan ve uygulanmayan fareler inokülasyon sonrası aynı günlerde ötenazi yapılarak ışık mikroskopunda kist sayısı yönünden değerlendirilir (Hermes ve ark., 2008) Ayrıca fare beyinleri yangısal lezyonların skorlanmasıyla histopatolojik olarak muayene edilebilir (Dzierszinski ve Knoll 2007).

Yapılan bazı çalışmalar, beyinde yeni doku kisti oluşumunun daha önceki kistlerin parçalanması sonucu meydana geldiğini göstermektedir. Doku kistlerinin parçalanması akut toksoplazmoza neden olur. Yeni doku kistlerinin oluşmasına neden olan faktörler ise tam olarak bilinmemektedir. Kistler, olgunlaşmamış bradizoitlerin bölünmesi ile hızla çoğalırlar (Dubey, 2007).

### **1.11.Çalışmanın Amacı**

Toksoplazmoz tedavi çalışmalarında oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda, hayvanların beyinde oluşan kistlerin varlığı, büyüklüğü, sayısı ve yerleşiminin önceden bilinmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada, farelerde oral ve intraperitoneal yollarla oluşturulan toksoplazmoz doku kisti modelinde; beyin hangi bölgelerinde daha çok doku kisti oluşacağı, inokülasyon sonrası 30 ve 60 ıncı günlerde incelenen doku kisti büyüklükleri ve kist sayısı arasında fark olup olmadığı ve kronik ensefalitik toksoplazmozda meydana gelen meningitis, gliozis, perivasküler hücre infiltrasyonları gibi değişikliklerin incelenmesi ve doku kistleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1.Deney Hayvanları ve Deney Düzeni**

Çalışmada kullanılan 28 adet 2 aylık dişi Swiss albino fareler, Gülhane Askeri Tıp Akademisi deney hayvanları ünitesinden satın alındı. 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, 3m<sup>3</sup>/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. Tüm hayvan deneyleri Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

kurallarına uyularak yapıldı ve aynı kurulun 17.06.2009 tarih ve 09/34 sayılı izni ile gerçekleştirildi.

*Toxoplasma gondii* ME49 suşu ookistleri, Dr. Alvaro Freyre McCall, Laboratorio De Toxoplasmosis Departamento De Parasitologia Veterinaria Facultad De Veterinaria Universidad De La Republica Alberto Lasplaces 1550, Montevideo, Uruguay' dan, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün yurtdışından enfektif materyal transferi sertifikası (import licence) ile temin edildi. Ookist süspansiyonu kullanılıncaya kadar, %2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde +4 °C'de muhafaza edildi. Deney gruplarına inokülasyon yapılmadan önce, fenol red indikatörü içeren %3.3 NaOH ile solusyon sarı ya da renksiz hale gelinceye kadar nötralize edildi. Sonrasında, her ml ookist süspansiyonuna 0.1 mg streptomycin ve 1,000 IU penicillin eklendi.

Çalışmada her birinde 7 fare yer alacak şekilde 4 ayrı grup oluşturuldu. Grup 1 (n=7) ve Grup 2 (n=7) 'ye oral yolla, Grup 3 (n=7) ve Grup 4 (n=7) 'e ise intraperitoneal yolla  $2 \times 10^2$  *Toxoplasma gondii* ME49 ookisti verildi. Etken inokülasyonundan 30 gün sonra Grup 1 ve Grup 3, 60 gün sonra ise Grup 2 ve Grup 4'deki farelere ötenazi yapılarak beyinleri çıkarıldı. Rutin doku takip yöntemleri ile işlenmek üzere; beyincik, beyin kökü, orta beyinden geçecek şekilde parasagittal kesitler alındı (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Kist varlığı ve lezyon değerlendirilmesi amacıyla doku takibi uygulanmak üzere parasagittal kesit yapılan fare beyinlerinin görünümü.

## 2.2 Histopatolojik İncelemeler

Nekropsi sonunda elde edilen beyin dokuları %10'luk tamponlu formalinde 48-72 saat süreyle tespit edildikten sonra akan çeşme suyu altında 6-8 saat yıkandı. Rutin doku takip işlemlerinde, dereceli alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 99.5°) ve ksilol serilerinde işlem gördükten sonra parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 4-5µm kalınlığında 3'er adet kesit lamlara alındı. Hematoksilen ve eozin (HE) ile boyanan kesitler, histopatolojik yönden incelendi ve lezyon şiddetine göre skorlandı. Histopatolojik skorlamada, perivasküler hücre infiltrasyonu; 1-2 sıra +1, 3-5 sıra +2, 5-10 sıra +3, 10 sıra üzeri +4, Gliozis; 3-4 hücre +1, 5-10 hücre +2, 10 hücre üzeri +3, Meningitis; +1 Hafif, +2 Orta , +3 Şiddetli olmak üzere Hermes ve ark. (2008)'e göre yapıldı.

## 2.3 İmmunperoksidaz İncelemeler

### 2.3.1. Doku Kisti Spesifik Hiperimmün Serum Eldesi

İn vitro percoll gradient yöntem ile izole edilen *T. gondii* doku kistleri, homojenize edildikten sonra Tween 80 ile muamele edildi (Omata ve ark, 1999). 12 haftalık 2 adet fareye her seferinde 0,2 ml inokulum sırt bölgesine deri altı yolla birer hafta arayla 5 kez enjekte edildi. Sonrasında farelere etil eter ile derin inhalasyon anestezisi sağlanarak V. Jugularis'den kanları toplandı ve serumları çıkarıldıktan sonra doku kisti spesifik poliklonal *Toxoplasma gondii* antikoru olarak kullanılmak üzere -20 °C de saklandı.

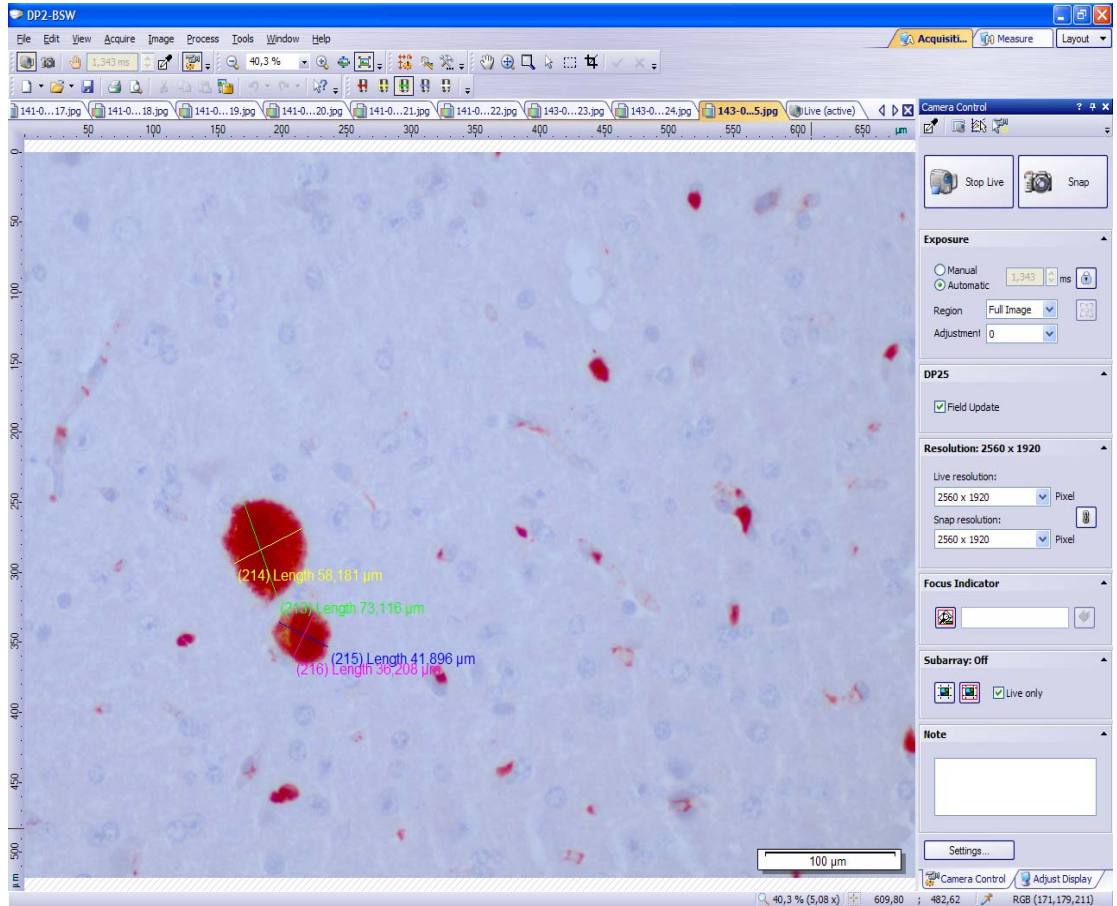
### 2.3.2. *Toxoplasma gondii* Doku Kistine Yönelik İmmunperoksidaz Test Prosedürü

Dokularda *Toxoplasma gondii* antijeninin saptanması amacıyla ticari indirekt immunperoksidaz streptavidin/biotin immunperoksidaz kiti (Novacastra, HRP, Katolog no: RE7 110-K, USA) kullanıldı ve tüm uygulamalar kit protokolüne göre gerçekleştirildi. Buna göre; kesitler üç ksilol serisinde 5'er dakika deparafinize edildi ve absolü alkol, %95 ve %70'lik alkol ve distile suda 5'er dakika tutularak rehidre edildi. Dokular metanolde hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 15 dakika tutularak endojenez peroksidaz aktivitesi giderildi. %0,1'lik proteinase K ile 37 C°de enzimatik digesyon uygulandı ve protein bloke edici serumda 7 dakika bekletildi. Sonrasında 1/500 dilüsyonda doku kisti antijeni spesifik poliklonal fare anti-*Toxoplasma gondii* antikoru ile oda ısısında 50 dk süre ile inkube edildi. Biotinle işaretli sekonder antiserumla 15 dakika, streptavidin-peroksidaz enzimi ile 15 dakika tutulduktan sonra renk reaksiyonu için aminoethyl carbasole (AEC) kromojeni ile 15 dakika, karşıt boyama için de Mayer'in hematoksileni ile 1-2 dakika süreyle boyamaları yapıldıktan sonra su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı.

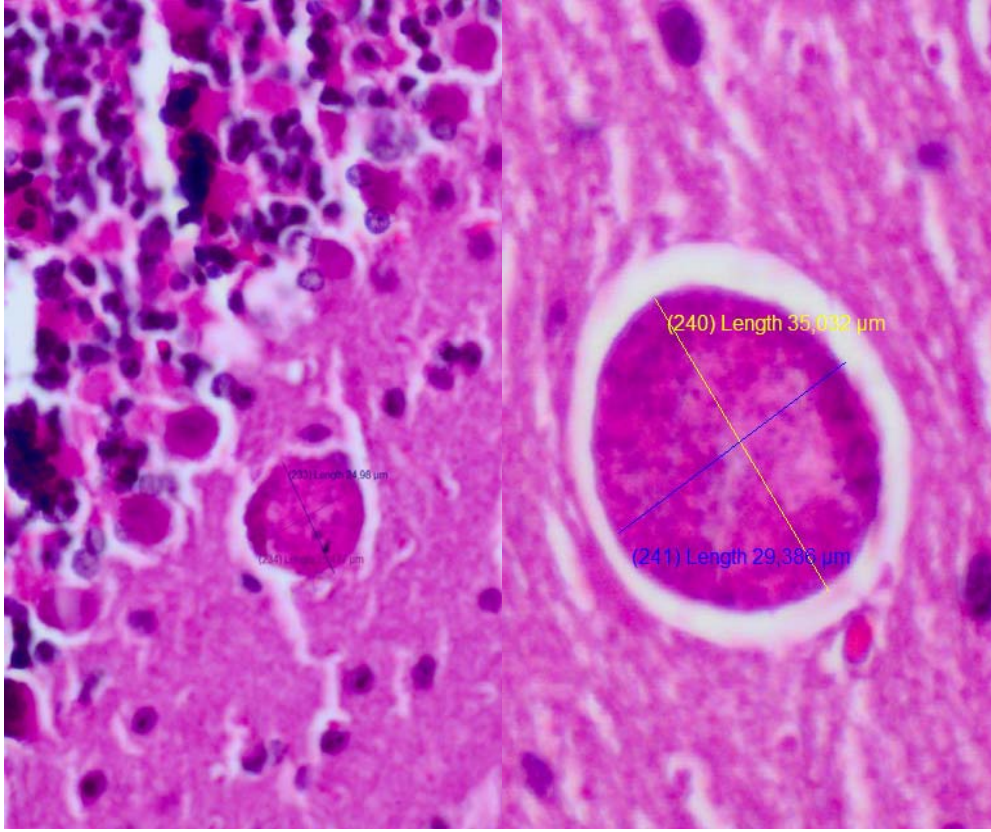


## 2.4. Doku Kisti Analizleri

Çalışmada elde edilen immunohistokimyasal bulgular DP25 kamera ataçmanlı Olympus BX51 mikroskop altında görüntülendi. Çekilen mikrofotograf lar kaydedildi. DP2 BSW analiz programı kullanılarak, beyincik, beyin kökü ve orta beyinde oluşan doku kistlerinin uzun ve kısa eksenleri ayrı ayrı kantitatif olarak ölçülerek sayıları kaydedildi.



Şekil 2.2. Doku kisti çapı ölçümünde kullanılan Olympus DP2 BSW yazılımı



Şekil 2.3. Doku kistlerinin uzun ve kısa eksenini boyunca ölçümü

## 2.5. İstatistik İncelemeler

Kist sayılarının oral ve intraperitoneal gruplara göre karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Kist sayısının Grup 1 ve Grup 2 ile Grup 3 ve Grup 4'te karşılaştırılması Mann-Whitney testi ile yapılmıştır. Kist çapına göre gruplar arasında fark olup olmadığı t-testi ile incelendi. Kist çapına etkisi araştırılan grupların önemliliği varyans analizi, etkisi önemli bulunan grubun tespiti için Duncan testi uygulandı. Buna göre  $p < 0.05$  olan sonuçlar istatistik olarak anlamlı kabul edilmiş, bu değerden büyük olanlar anlamsız olarak değerlendirilmiştir.

### 3. BULGULAR

Çalışmada kullanılan farelerde inokülasyon sonrası hafif derecede tüylerde kabarıklık, hareketlerde durgunluk ve özellikle intraperitoneal inokülasyon uygulanan farelerde ilk 24 saat içerisinde bir köşede hareketsiz kalma gibi belirtiler dikkati çekti.

#### 3.1. Histopatolojik Bulgular

Çalışmada oluşturulan tüm gruplardaki (Grup 1-4) fare beyinlerinde birbirine benzer nöropatolojik değişiklikler şekillendi. Lezyonlar başlıca pons, medulla oblongata, kaudal ve rostral serebral pedünlük, ammon boynuzu, talamus ile parietal ve temporal loblarda yerleşim gösterdi. Beyincik lezyonları, daha hafif şiddette olmak üzere yalnızca 8 olguda (Olgu No: 3, 5, 7, 9, 22, 23, 25, 28) dikkat çekecek düzeydeydi. Başlıca histopatolojik bulgular, perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, kapillar endotel hipertrofisi, multifokal kanamalar, gliozis, nöron dejenerasyonu ve nekrozu, non-prulent meningitis ile karakterizydi. Posterior serebral arter etrafında tüm olgularda değişen yoğunlukta mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Her bir grupta yer alan farelere ait lezyon şiddeti ve dağılımını gösteren nörohistopatolojik skorlama Çizelge 3.11’ de verilmiştir. Bunun yanı sıra, orta beyinde peri ve epitalamik bölgeler, ammon boynuzu ve amigdaloid kompleks bölgelerinde perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları ve gliozisin belirgin derecede daha şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil 3.13 ve 3.15). Bazı olgularda doku kistlerinin bulbus olfaktoryus etrafına lokalize olduğu görüldü.

İntraperitoneal grup fare beyinlerinde, meningeal damarlar çevresindeki ve posterior serebral arter etrafında şekillenen yangısal reaksiyon oral inokülasyon yapılan farelere oranla daha şiddetliydi.

Doku kistlerinin dağılımı açısından; orta beyin bölgelerinin, beyin kökü ve beyincige oranla daha yoğun doku kisti içerdiği ve 2-5 doku kistinin birbiriyle temas edecek kadar yakın dizilerek gruplar oluşturduğu gözlemlendi. İnokülasyon sonrası 30. günde tespit edilen doku kistlerinin en küçüğü 6,274863 µm, en büyüğü ise 33,93582 µm, 60. günde ise, en küçüğü 11,15525 µm, en büyüğü 31,38859 µm çapında olduğu tespit edildi.

Oral inokülasyon yapılan Grup 1’de histopatolojik inceleme sonunda 143 adet doku kisti oluşurken Grup 2’de bu sayı 171’e çıkmıştır. İntraperitoneal inokülasyon yapılan Grup 3’de 103 adet doku kisti oluşmuş, Grup 4’de ise 73 adet doku kisti görülmüştür. Doku kistlerinin çap ortalaması ise grup 1 de 16,29582 µm , grup 2 de 17,83988 µm, grup 3 te 21,05747 µm, grup 4 te 23,47316 µm bulunmuştur.

Doku kistlerinin etrafında herhangi bir yangısal reaksiyona rastlanmazken, bazı bölgelerde doku kistlerinden bağımsız ancak oldukça yakınında, yoğun mikrogliya ve astrosit kümelerine rastlandı (Şekil 3.9). Beyin dokularına gliozisin şiddetli olduğu olgularda, doku kistlerinin daha az sayıda şekillendiği ortaya konuldu (Olgu No: 3, 4, 11, 16, 17, 20, 22, 25). İnokülasyon yolundan bağımsız olarak, bazı doku kistlerinin damar adventisyalılarına ve perivasküler hücre katlarının (Virchow Robin boşluğu) hemen sınırına çok yakın yerleşimde olduğu dikkati çekti (Şekil 3.2 ve 3.11). Beyincikte doku kistleri, genellikle moleküler katta yerleşim gösterirken, Purkinje hücre katı ve granüler katta nadiren de olsa rastlandı (Şekil 3.18).

**Çizelge 3.1.** Kist çapına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist çapına etkisi araştırılan grupların önemliliği varyans analizi, etkisi önemli bulunan grubun tespiti için Duncan testi uygulanmıştır).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minumum	Maksimum
P		0.004		
Grup 1 (IP30)	7	20.86±1.30 <sup>ab</sup>	16.46	25.47
Grup 2 (IP60)	7	23.59±1.10 <sup>a</sup>	18.40	27.05
Grup 3 (Oral 30)	7	15.67±1.85 <sup>c</sup>	10.09	24.55
Grup 4 (Oral 60)	7	18.35±1.29 <sup>bc</sup>	13.15	22.32
Genel	28	19.62±0.87	10.09	27.05

<sup>a,b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.05).

**Çizelge 3.2.** Kist sayısına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist sayılarının gruplara göre karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır).

		$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Median	Minumum	Maksimum
P			0.233		
Grup 1 (IP30)	7	14.14±1.61	15	7.00	19.00
Grup 2 (IP60)	7	9.14±3.37	4	0.00	24.00
Grup 3 (Oral 30)	7	20.43±6.51	15	1.00	52.00
Grup 4 (Oral 60)	7	23.14±7.47	20	4.00	64.00
Genel	28	16.71±2.71	15	0.00	64.00

**Çizelge 3. 3.** Kist çapına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist çapına, oral 30 ve oral 60'ın etkileri arasında fark olup olmadığı t-testi ile incelenmiştir).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minumum	Maksimum
P		0.262		
Grup3 (Oral 30)	7	15.67±1.85	10.09	24.55
Grup 4 (Oral 60)	7	18.35±1.29	13.15	22.32
Genel	14	17.01±1.14	10.09	24.55

**Çizelge 3. 4.** Kist sayısına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist sayısının oral 30 ve oral 60'a göre karşılaştırılması Mann-Whitney testi ile yapılmıştır).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Median	Minumum	Maksimum
P			0.7983		
Grup3 (Oral 30)	7	20.43±6.51	15	1.00	52.00
Grup 4 (Oral 60)	7	23.14±7.47	20	4.00	64.00
Genel	14	21.79±4.77	18.5	1.00	64.00

**Çizelge 3. 5.** Kist çapına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist çapına, IP30 ve IP 60'ın etkileri arasında fark olup olmadığı t-testi ile incelenmiştir).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minumum	Maksimum
P		0.138		
Grup 1 (IP30)	7	20.86±1.30	16.46	25.47
Grup 2 (IP60)	7	23.59±1.10	18.40	27.05
Genel	14	22.23±0.90	16.46	27.05

**Çizelge 3. 6.** Kist sayısına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist sayısının IP 30 ve IP 60'a göre karşılaştırılması Mann-Whitney testi ile yapılmıştır).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Median	Minumum	Maksimum
P			0.2502		
Grup 1 (IP30)	7	14.14±1.61	15	7.00	19.00
Grup 2 (IP60)	7	9.14±3.37	4	0.00	24.00
Genel	14	11.64±1.92	13	0.00	24.00

**Çizelge 3. 7.** Kist çapına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist çapına, IP30 ve Oral 30'ın etkileri arasında fark olup olmadığı Duncan testi ile incelenmiştir).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minumum	Maksimum
P		0.044		
Grup 1 (IP30)	7	20.86±1.30 <sup>a</sup>	16.46	25.47
Grup 3 (Oral 30)	7	15.67±1.85 <sup>b</sup>	10.09	24.55
Genel	14	18.27±1.30	10.09	25.47

<sup>a,b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.05).

**Çizelge 3.8.** Kist sayısına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist sayısının IP 30 ve Oral 30'a göre karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Median	Minumum	Maksimum
P			0.6547		
Grup 1 (IP30)	7	14.14±1.61	15	7.00	19.00
Grup 3 (Oral 30)	7	20.43±6.51	15	1.00	52.00
Genel	14	17.29±3.34	15	1.00	52.00

**Çizelge 3. 9.** Kist çapına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist çapına, IP60 ve Oral 60'ın etkileri arasında fark olup olmadığı Duncan testi ile incelenmiştir).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Minumum	Maksimum
P		0.01		
Grup 2 (IP60)	7	23.59±1.10 <sup>a</sup>	18.40	27.05
Grup 4 (Oral 60)	7	18.35±1.29 <sup>b</sup>	13.15	22.32
Genel	14	20.97±1.09	13.15	27.05

<sup>a,b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.05).

**Çizelge 3. 10.** Kist sayısına ait tanıtıcı istatistik değerleri (Kist sayısının IP 60 ve Oral 60'a göre karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır).

	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Median	Minumum	Maksimum
P			0.0639		
Grup 2 (IP60)	7	9.14±3.37	4	0.00	24.00
Grup 4 (Oral 60)	7	23.14±7.47	20	4.00	64.00
Genel	14	16.14±4.39	15	0.00	64.00

Grup 1 ile Grup 2 arasında ve Grup 3, Grup 4 arasında; inokülasyondan 60 gün sonra oluşan doku kistleri, 30 gün sonra oluşana oranla daha büyüktür, ancak gruplarda doku kistlerinin çapları açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Buna rağmen Grup 3 (IP 30) ve Grup 1 (Oral 30) da oluşan doku kistlerinin çapları arasında istatistik olarak fark bulunduğu (p<0.05), doku kistlerinin intraperitoneal grupta belirgin derecede daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Yine bu

sonuçla uyumlu olarak; Grup 2 (IP 60)'te oluşan doku kisti çapının, Grup 4 (Oral 60)'de oluşan doku kisti çapına oranla daha büyük olduğu ( $p<0.05$ ) gösterildi. Bu noktada intraperitoneal inokülasyon yapılan gruplarda oluşan doku kistleri oral inokülasyon yapılan gruplara oranla oluşan daha büyük çapa sahip olduğu sonucu çıkmaktadır. Doku kisti sayısı Grup 2(IP 60)'de Grup 4 (Oral 60)'e göre; Grup 1 (Oral 30)' de Grup 3 (IP 30)'e göre daha fazla sayıda oluşmuştur. Yani oral inokülasyon yapılan gruplarda intraperitoneal inokülasyon yapılan gruplara oranla daha fazla sayıda doku kisti şekillendiği görülmüş ancak gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir.

**Çizelge 3.11.** Beynin değişik bölgelerinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

Olgu No	Grup	BEYİNCİK			BEYİN KÖKÜ			ORTA BEYİN		
		Meningitis	Gliozis	PVHİ	Meningitis	Gliozis	PVHİ	Meningitis	Gliozis	PVHİ
1	Grup 1 (Oral30)	+1	+1	–	–	+1	+1	+2	+2	+2
2	Grup 1 (Oral 30)	+1	–	+2	+2	+1	+3	+3	+3	+3
3	Grup 1 (Oral 30)	+2	+1	+1	+2	–	+2	+2	+3	+3
4	Grup 1 (Oral 30)	+1	–	+2	–	+1	+2	+2	+3	+3
5	Grup 1 (Oral 30)	+3	–	+1	+1	–	–	+1	+1	+2
6	Grup 1 (Oral 30)	+2	–	+1	–	+1	–	+1	+2	+1
7	Grup 1 (Oral 30)	+3	–	+1	–	+2	+1	+3	+1	+3
8	Grup 2 (Oral 60)	+1	–	+1	+1	+1	+3	+1	+1	+2
9	Grup 2 (Oral 60)	+1	+1	+2	+1	+1	+1	+2	+2	+2
10	Grup 2 (Oral 60)	–	–	+1	+3	+1	+4	+3	+2	+4
11	Grup 2 (Oral 60)	+1	–	+1	–	+1	+2	+3	+3	+2
12	Grup 2 (Oral 60)	+2	–	–	+1	+2	+2	+1	+1	+1
13	Grup 2 (Oral 60)	+1	–	+2	+2	+1	+1	+1	+1	+1
14	Grup 2 (Oral 60)	–	–	+2	+1	–	+1	+2	+2	+1

PVHİ: Perivasküler hücre infiltrasyonu



**Çizelge 3. 11. (Devam)** Beynin değişik bölgelerinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi

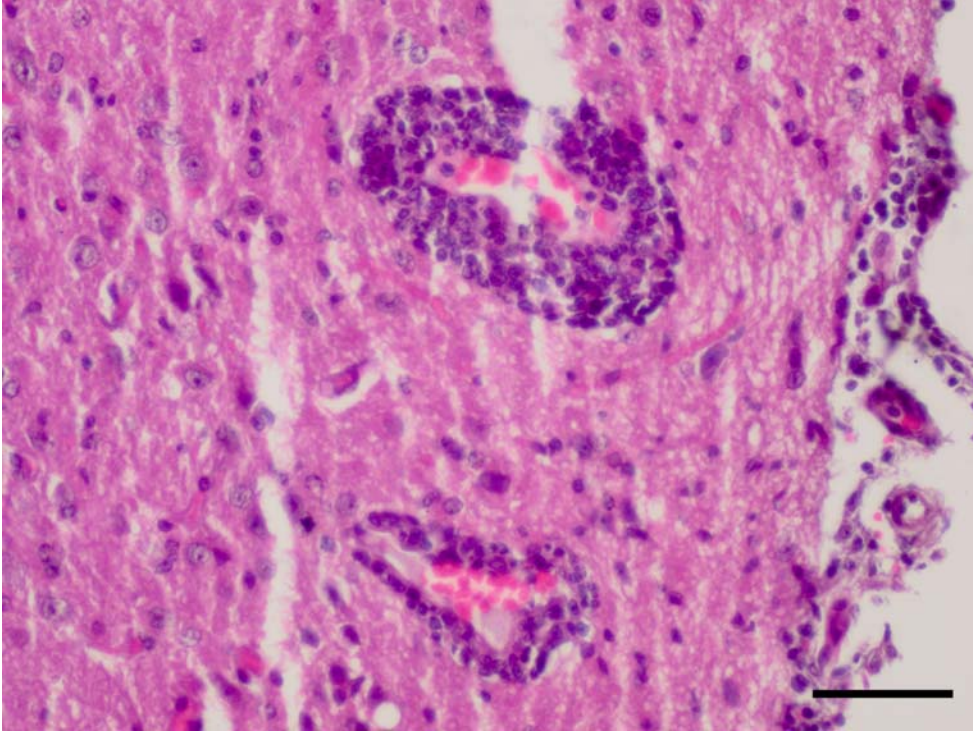
Olgu No	Deney Grup	BEYİNCİK			BEYİN KÖKÜ			ORTA BEYİN		
		Meningitis	Gliozis	PVHİ	Meningitis	Gliozis	PVHİ	Meningitis	Gliozis	PVHİ
15	Grup 3 (IP30)	+1	-	-	-	+1	+3	+2	+3	+3
16	Grup 3 (IP30)	+2	-	+1	+1	+2	+3	+3	+2	+3
17	Grup 3 (IP30)	+1	-	+1	+1	+2	+2	+2	+2	+1
18	Grup 3 (IP30)	+1	-	+2	-	+2	+1	+2	+1	+1
19	Grup 3 (IP30)	+1	+1	+1	+2	-	+1	+2	+2	+3
20	Grup 3 (IP30)	+1	+1	-	-	-	+1	+3	+3	+2
21	Grup 3 (IP30)	+1	-	-	-	-	+1	+2	+1	+3
22	Grup 4 (IP60)	+2	-	+3	+1	+1	+3	+3	+2	+3
23	Grup 4 (IP60)	+1	-	+3	+1	-	+2	+3	+2	+3
24	Grup 4 (IP60)	-	-	-	+1	+1	+1	+3	+2	+2
25	Grup 4 (IP60)	+3	-	+1	+1	+2	+2	+2	+3	+3
26	Grup 4 (IP60)	+2	-	+1	-	+2	+1	+3	+2	+3
27	Grup 4 (IP60)	-	-	+1	-	+1	-	+2	+3	+3
28	Grup 4 (IP60)	+3	-	+2	+1	+1	+2	+3	+1	+2

**Çizelge 3. 12.** Değişik beyin bölgelerindeki doku kisti sayısı ve ortalama çapları

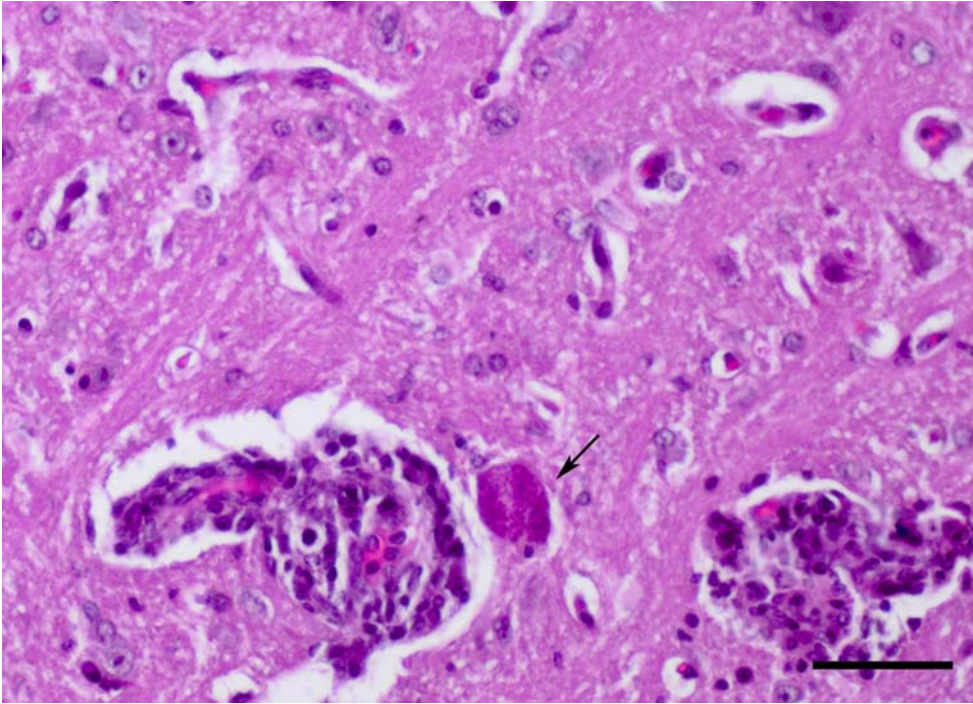
Olgu No	Deney Grubu	BEYİNCİK		BEYİN KÖKÜ		ORTA BEYİN	
		Ortalama Kist Çapı $\mu\text{m}$	Kist Sayısı	Ortalama Kist Çapı $\mu\text{m}$	Kist Sayısı	Ortalama Kist Çapı $\mu\text{m}$	Kist Sayısı
1	Grup 1 (Oral30)	–	–	14,7245	3	24,24074	10
2	Grup 1 (Oral 30)	20,53537	2	28,14258	5	24,97707	16
3	Grup 1 (Oral 30)	–	–	–	–	10,09105	1
4	Grup 1 (Oral 30)	–	–	–	–	12,58822	7
5	Grup 1 (Oral 30)	6,274863	1	14,16936	1	14,13084	13
6	Grup 1 (Oral 30)	16,73402	8	14,69592	4	14,11336	40
7	Grup 1 (Oral 30)	12,93054	6	18,14416	3	14,24056	23
8	Grup 2 (Oral 60)	–	–	13,21252	5	15,15524	15
9	Grup 2 (Oral 60)	11,15525	5	–	–	15,15245	12
10	Grup 2 (Oral 60)	22,58133	1	14,34939	5	20,42774	15
11	Grup 2 (Oral 60)	–	–	–	–	19,91261	4
12	Grup 2 (Oral 60)	–	–	–	7	20,79082	20
13	Grup 2 (Oral 60)	–	–	–	–	22,32318	8
14	Grup 2 (Oral 60)	16,43682	5	20,29065	4	20,13039	55

**Çizelge 3. 12. (Devam)** Değişik beyin bölgelerindeki doku kisti sayısı ve ortalama çapları

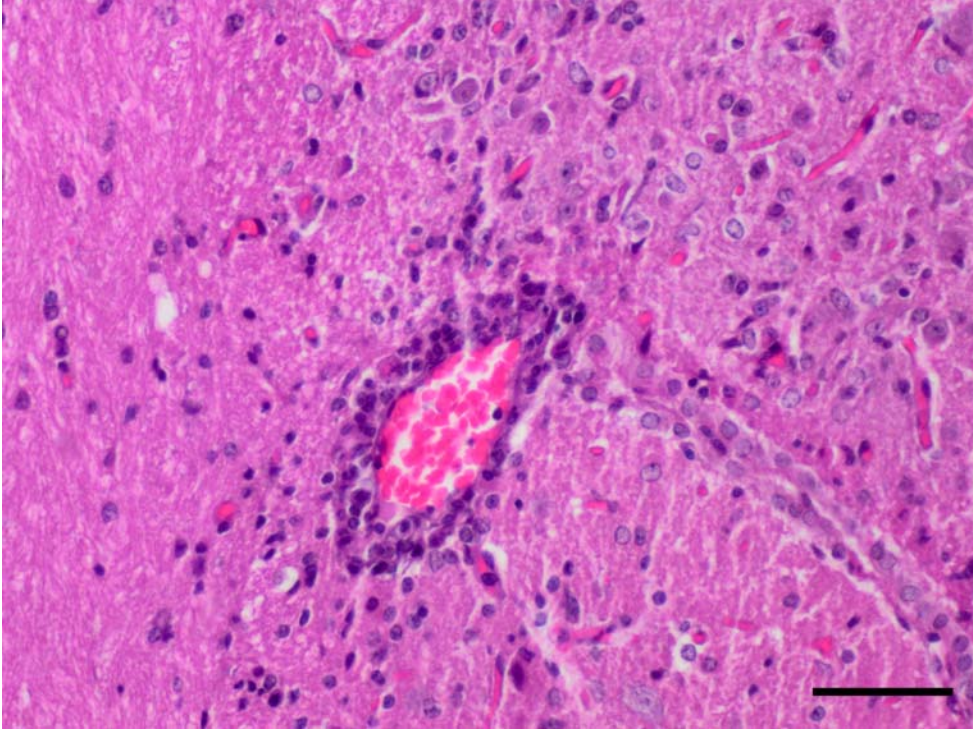
Olgu No	Deney Grubu	BEYİNCİK		BEYİN KÖKÜ		ORTA BEYİN	
		Ortalama Kist Çapı $\mu\text{m}$	Kist Sayısı	Ortalama Kist Çapı $\mu\text{m}$	Kist Sayısı	Ortalama Kist Çapı $\mu\text{m}$	Kist Sayısı
15	Grup 3 (IP30)	20,0006	2	19,38278	6	16,5155	11
16	Grup 3 (IP30)	27,53964	1	21,0569	4	19,60967	7
17	Grup 3 (IP30)	–	–	17,46181	6	16,79851	6
18	Grup 3 (IP30)	–	–	17,18584	7	15,73987	8
19	Grup 3 (IP30)	24,86863	2	26,19491	4	18,48678	9
20	Grup 3 (IP30)	–	–	22,70617	2	28,22511	5
21	Grup 3 (IP30)	11,01663	1	33,93582	4	22,30931	14
22	Grup 4 (IP60)	–	–	29,40672	1	24,3046	3
23	Grup 4 (IP60)	31,38859	3	–	–	22,71823	2
24	Grup 4 (IP60)	–	–	27,16137	2	22,37689	1
25	Grup 4 (IP60)	20,41716	2	23,94785	1	23,95468	1
26	Grup 4 (IP60)	20,15212	2	15,78581	1	21,01755	13
27	Grup 4 (IP60)	–	–	24,73174	14	23,35344	1
28	Grup 4 (IP60)	21,18826	1	22,29850	1	24,84017	24



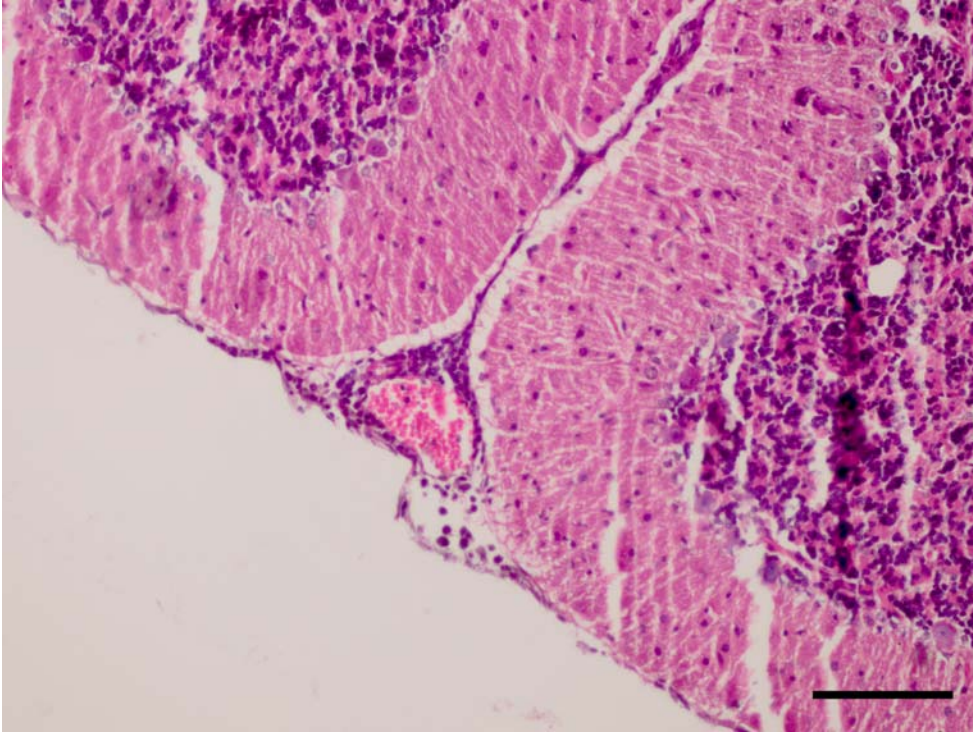
**Şekil 3.1.** Virchow Robin boşluklarında mononükleer hücre infiltrasyonu, olgu no; 15, HE. Bar = 50 µm.



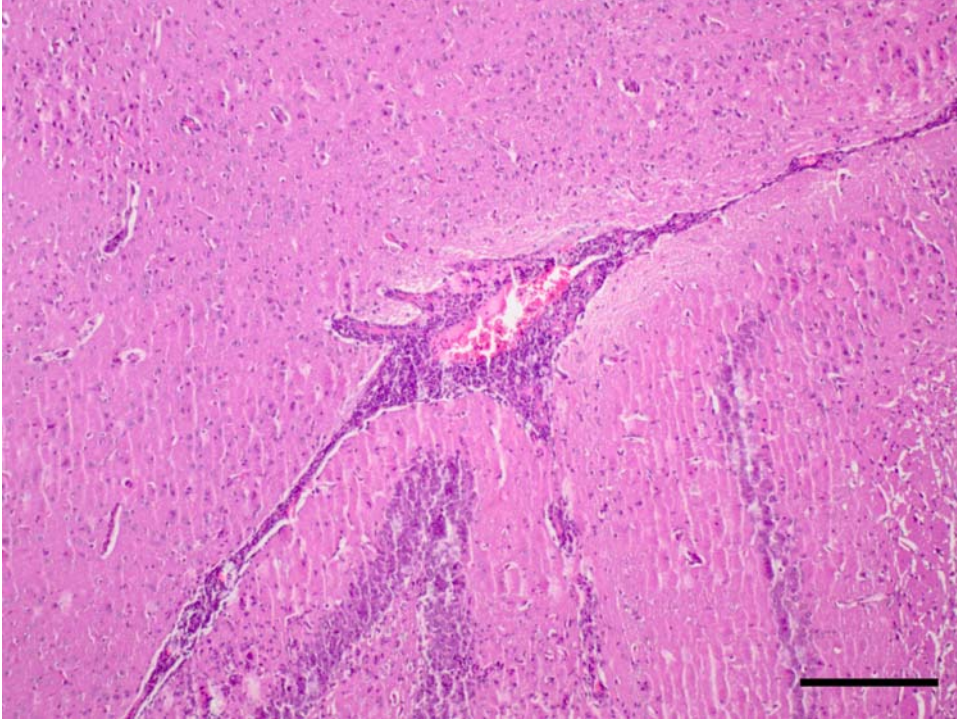
**Şekil 3.2.** Etrafında yangısal hücre infiltrasyonu bulunan bir damarın hemen yakınında meydana gelen *Toxoplasma gondii* doku kisti (ok), olgu no; 15, HE. Bar = 50 µm.



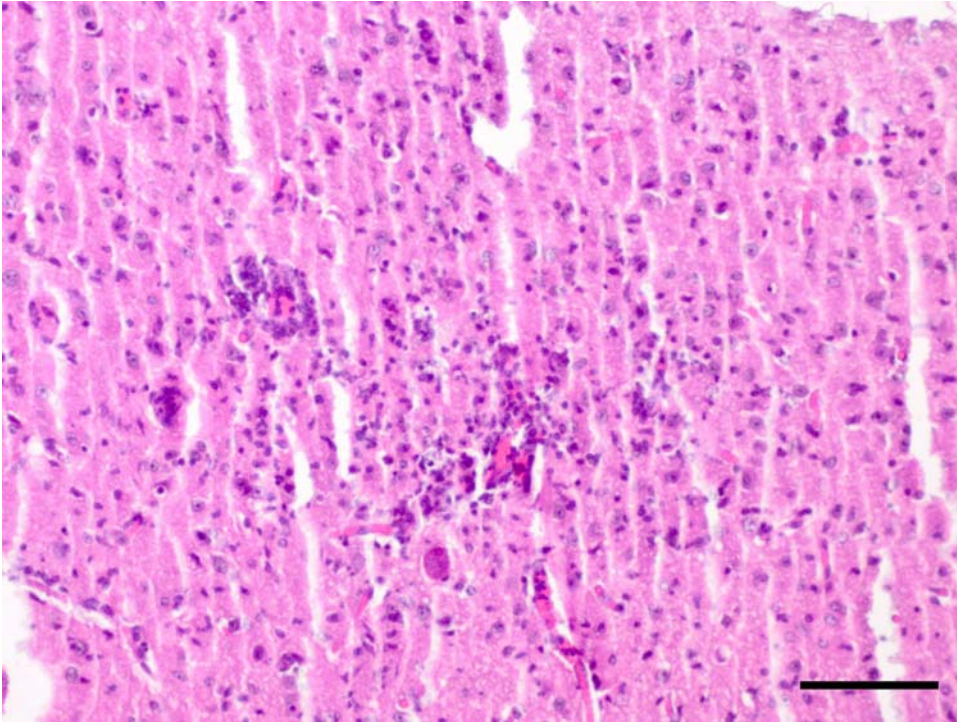
**Şekil 3.3.** Perivasküler hücre infiltrasyonu ile damarın hemen yakınında kümelenen astrosit ve mikrogliya grupları, olgu no; 17, HE. Bar = 50  $\mu$ m.



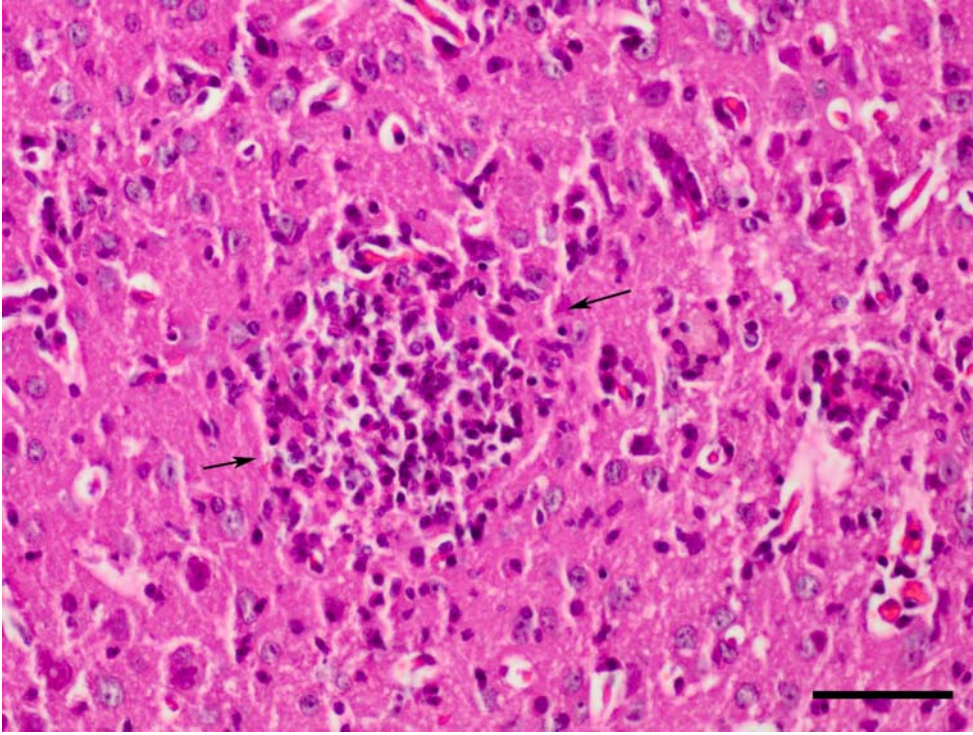
**Şekil 3.4.** Non-prulent perivasküler hücre infiltrasyonu ve meningitis olgu no; 19, HE. Bar = 100  $\mu$ m.



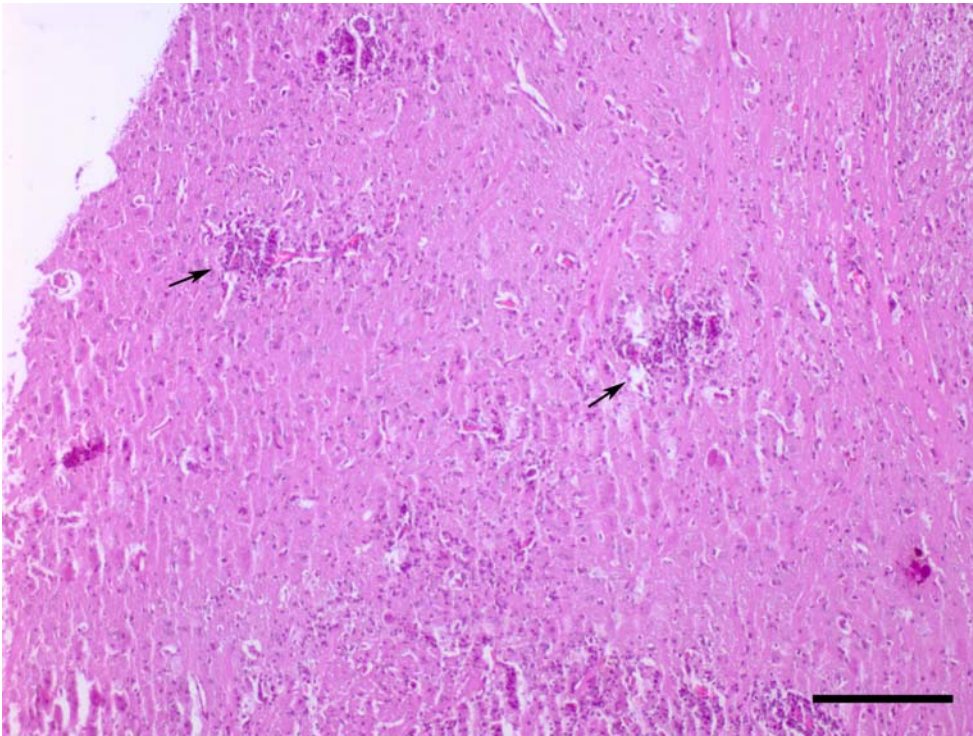
**Şekil 3.5.** Şiddetli perivasküler hücre infiltrasyonu, olgu no; 15, HE.  
Bar = 200 µm.



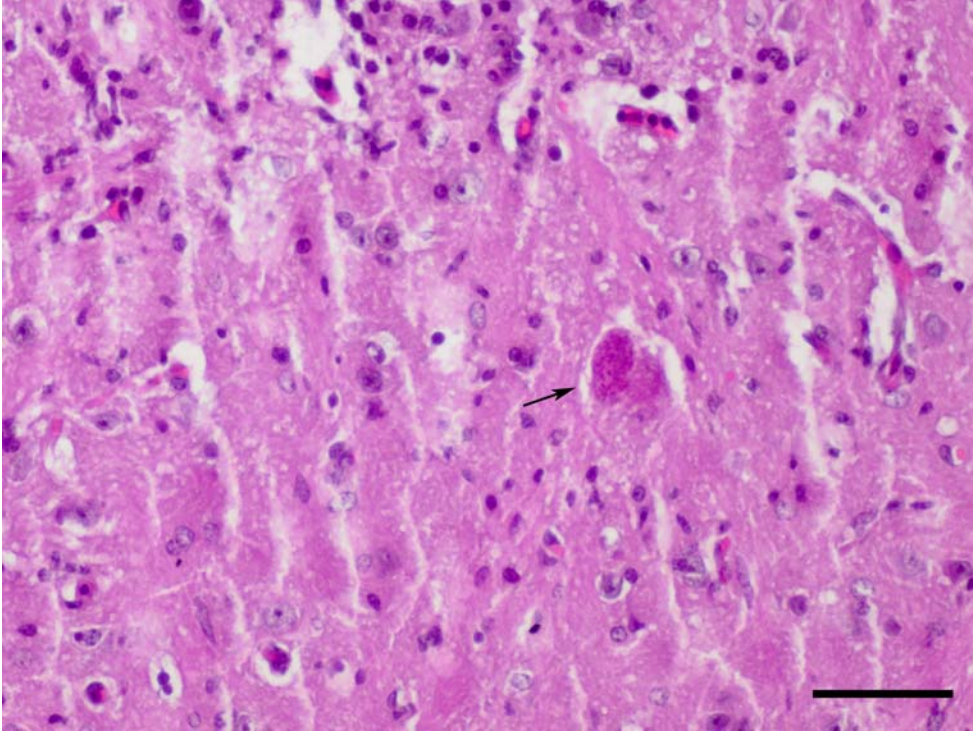
**Şekil 3.6.** Perivasküler hücre infiltrasyonu, gliosis ile lezyonu yakınında ancak yapısal olarak sağlam görünümde *Toxoplasma gondii* doku kisti, olgu no; 15, HE. Bar = 100 µm.



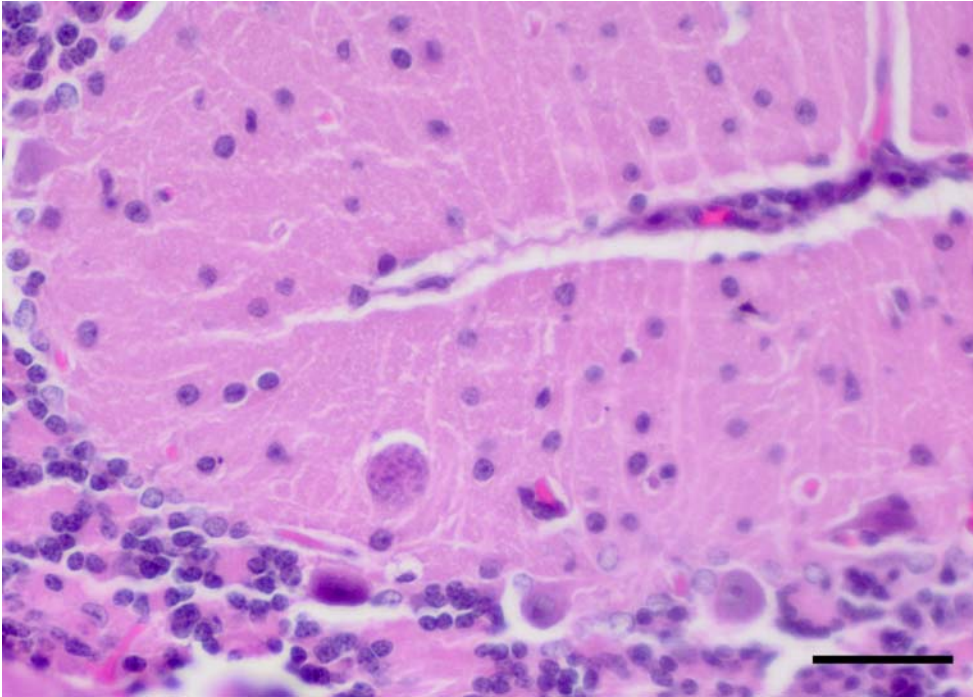
**Şekil 3.7.** Fokal gliozis (oklar) olgu no; 22, HE. Bar = 50  $\mu$ m.



**Şekil 3.8.** Birbirine yakın yerleşimli şiddetli gliozis alanları (oklar), olgu no; 15, HE. Bar = 200  $\mu$ m.

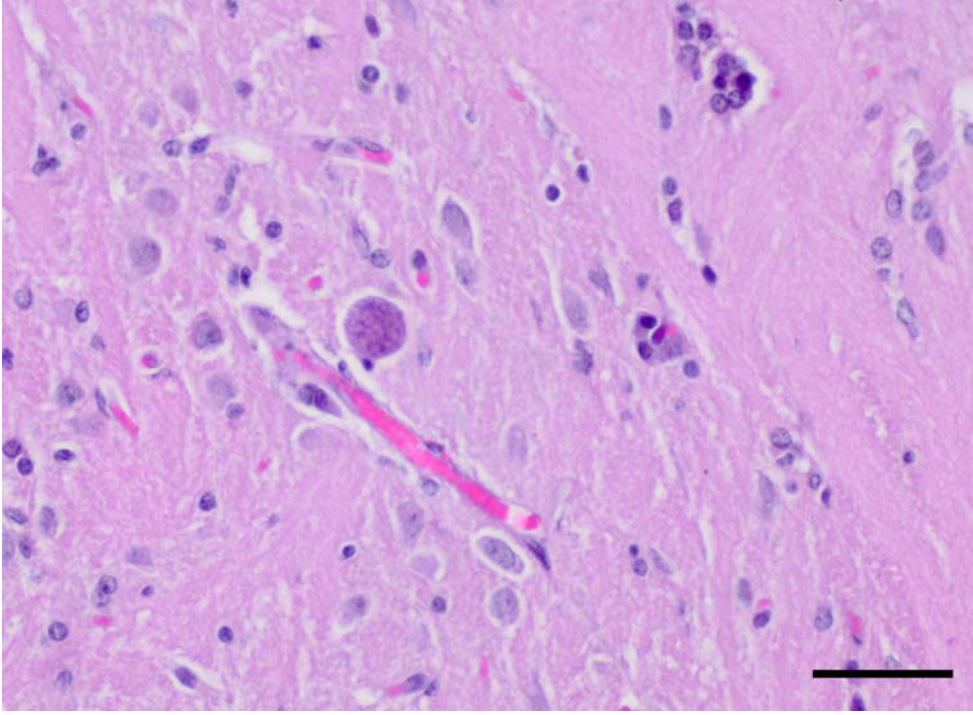


**Şekil 3.9.** Yangısal reaksiyon bulunmayan bir alanda *Toxoplasma gondii* doku kisti (ok), olgu no; 15, HE. Bar = 50 µm.

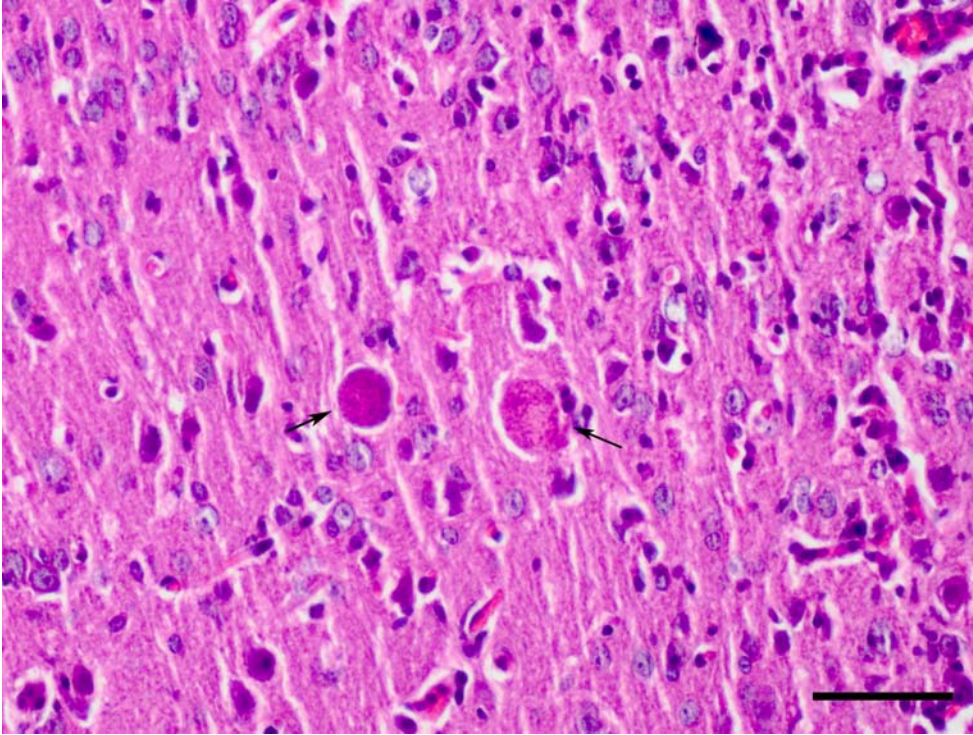


**Şekil 3.10.** Beyincikte *Toxoplasma gondii* doku kistin görünümü, olgu no; 21, HE. Bar = 50 µm.

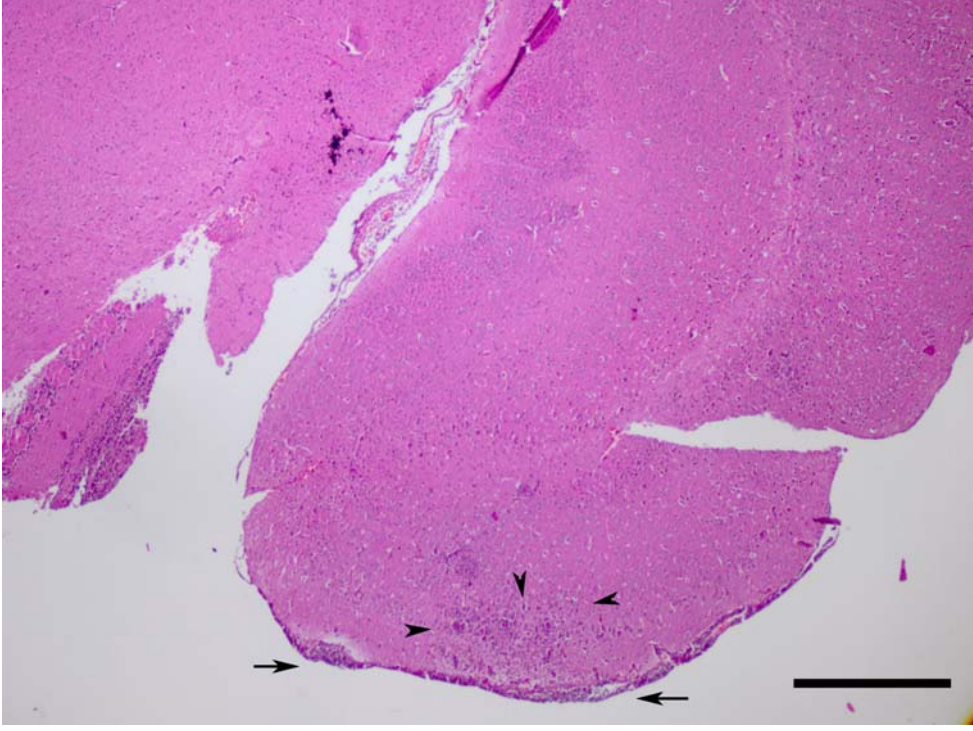




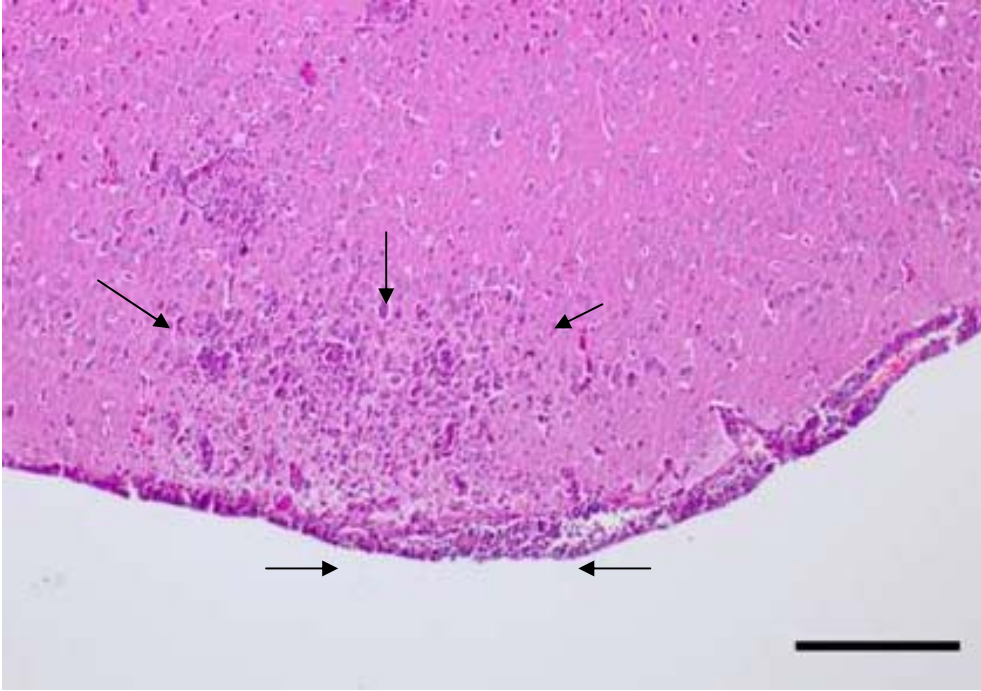
**Şekil 3.11.** Yangısal reaksiyon göstermeyen ve bir damarın hemen yakınında şekillenen doku kisti, olgu no; 21, HE. Bar = 50 µm.



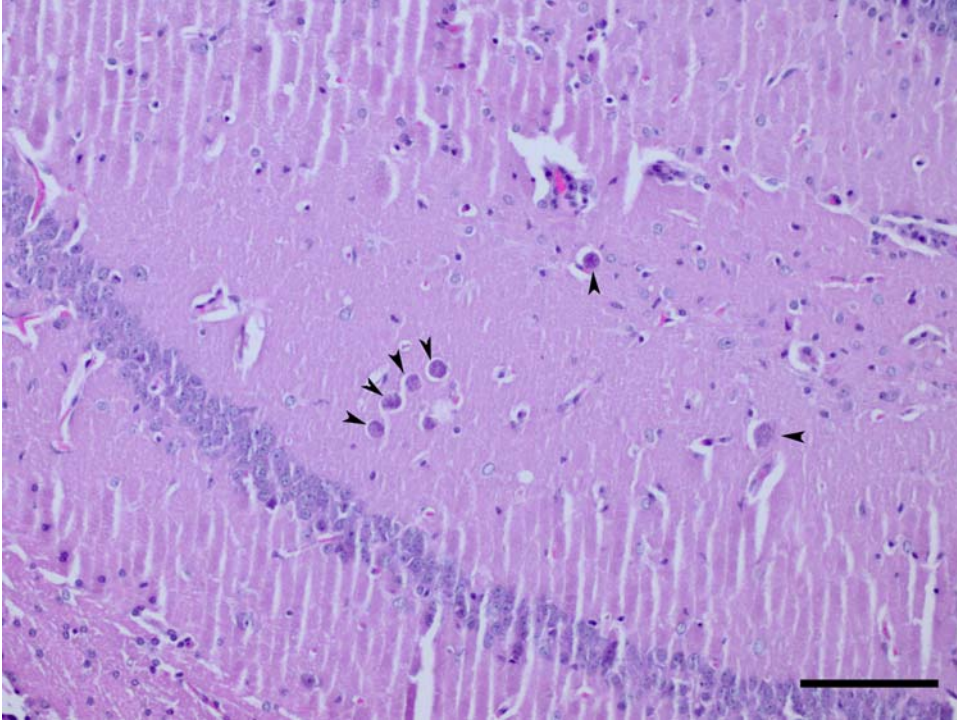
**Şekil 3.12.** Birbirine yakın şekillenen *Toxoplasma gondii* doku kistleri (oklar), olgu no; 24, HE. Bar = 50 µm.



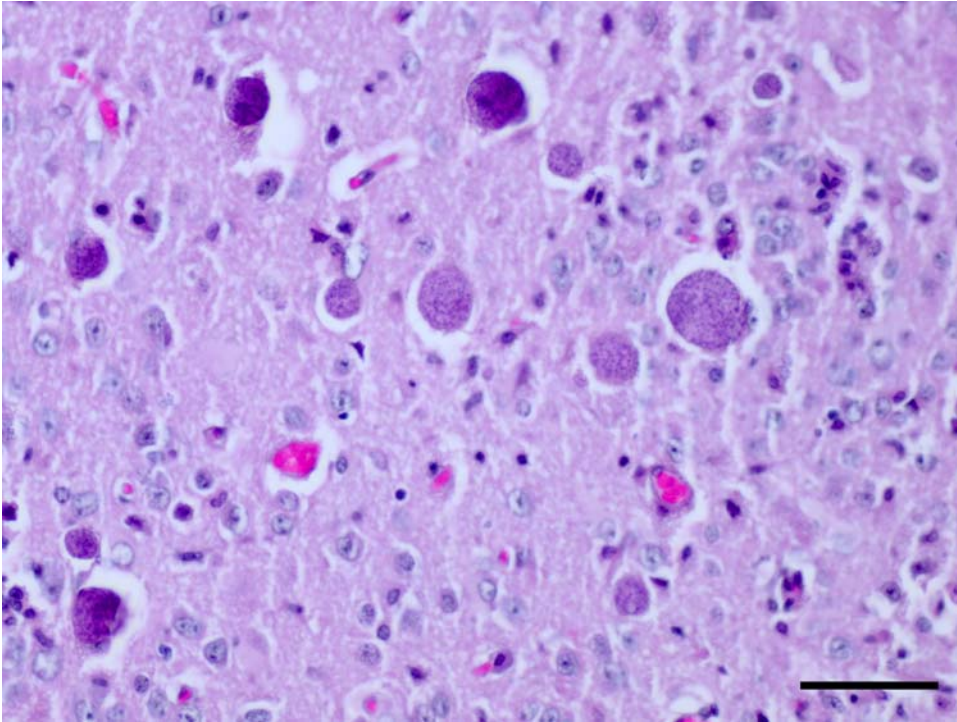
**Şekil 3.13.** Amigdaloid kompleks ve yakınında şiddetli gliozis (ok başları) ve meningitis (oklar), Temporal lob, olgu no; 24, HE. Bar = 200  $\mu$ m.



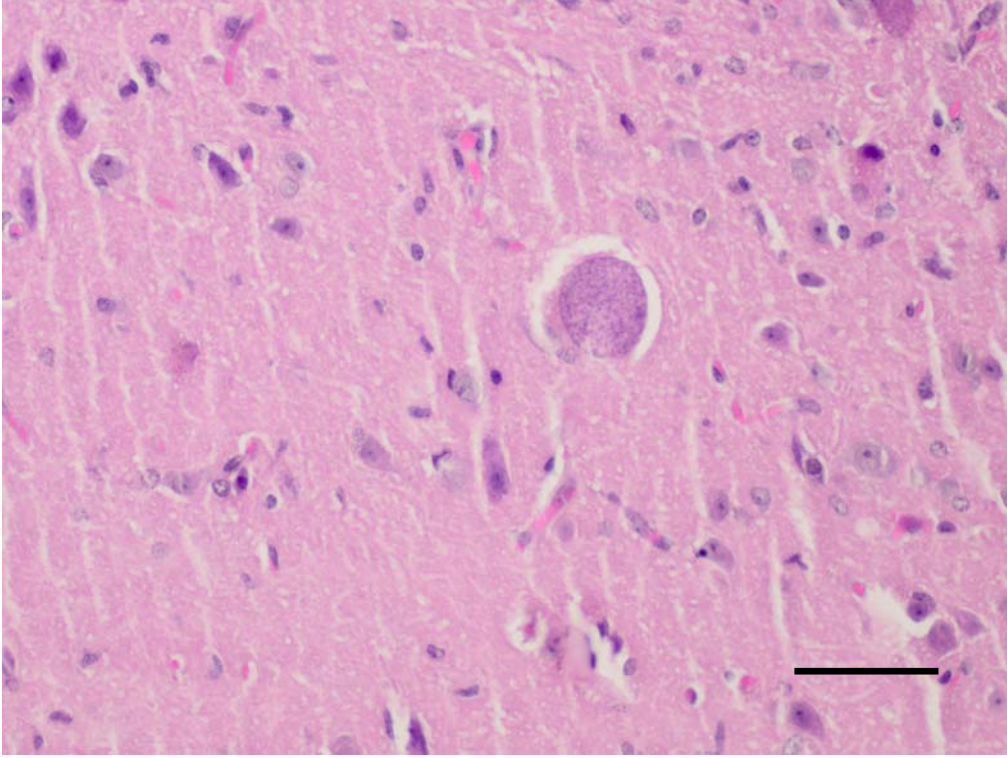
**Şekil 3.14.** Amigdaloid kompleks ve yakınında şiddetli gliozis ve meningitis (oklar) (Şekil 3.13'ün yakın görünümü), Temporal lob, olgu no; 24, HE. Bar = 100  $\mu$ m.



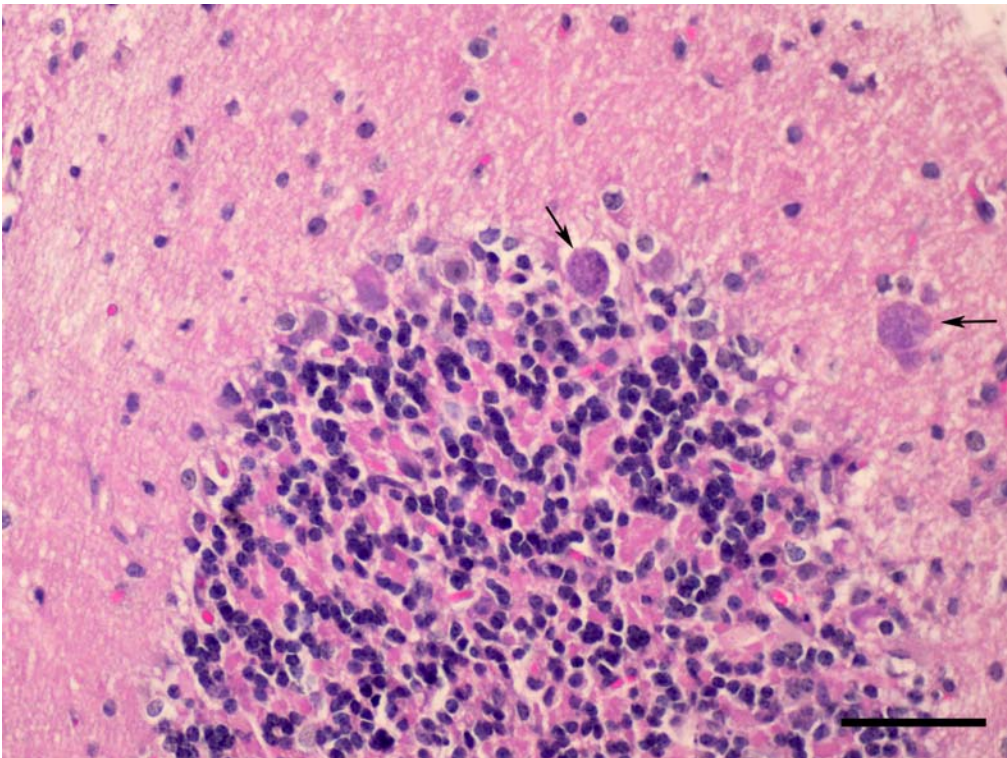
**Şekil 3.15.** Ammon boynuzunda birbirine yakın çok sayıda meydana gelmiş, etrafında yangısal reaksiyon bulunmayan doku kistleri (oklar), olgu no; 22, HE. Bar =100 µm.



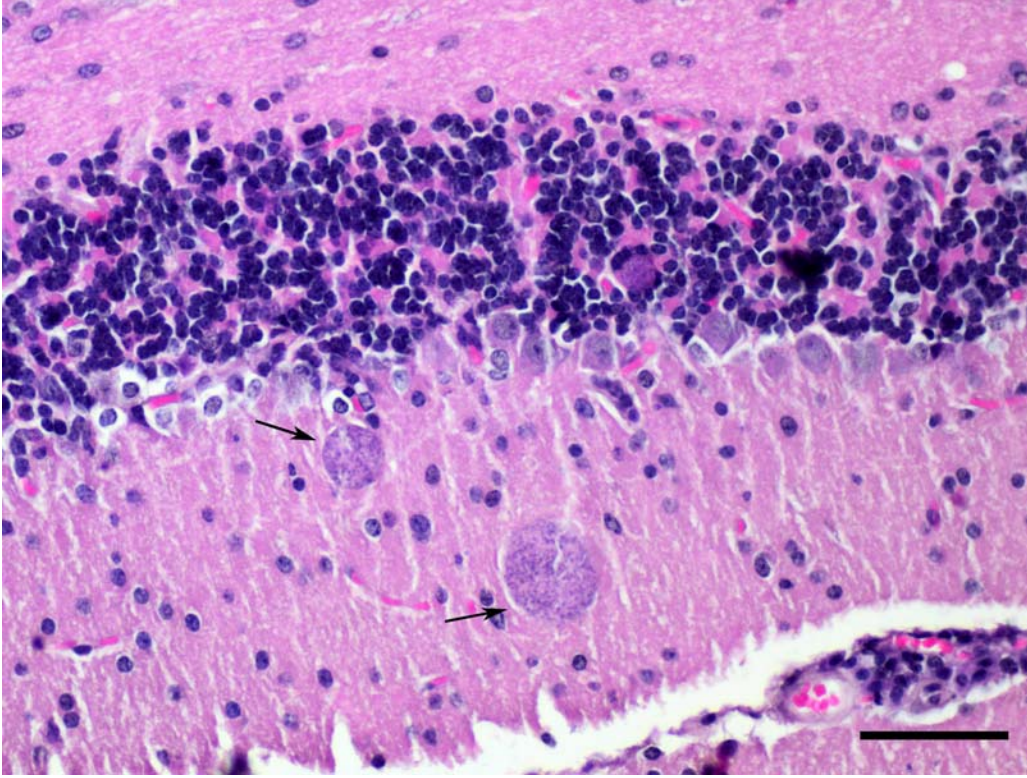
**Şekil 3.16.** Aynı alanda farklı büyüklüklerde yangı bulunmayan doku kistleri, olgu no; 22, HE. Bar = 50 µm.



**Şekil 3.17.** *Toxoplasma gondii* doku kistinini görünümü, olgu no; 1, HE.  
Bar = 50 µm.



**Şekil 3.18.** Beyincik, Purkinje hücre katı ile moleküler katta doku kistleri (oklar),  
olgu no; 22, HE. Bar = 50 µm.

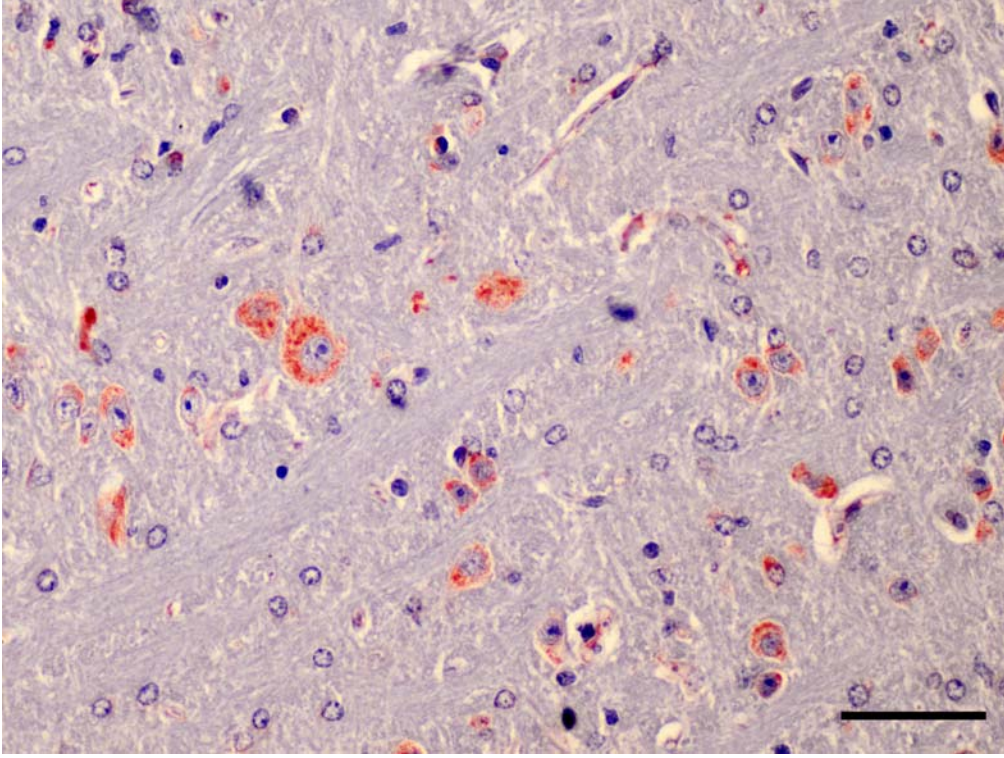


Şekil 3.19. Doku kistleri (oklar), beyincik, olgu no; 22, HE. Bar = 50 µm.

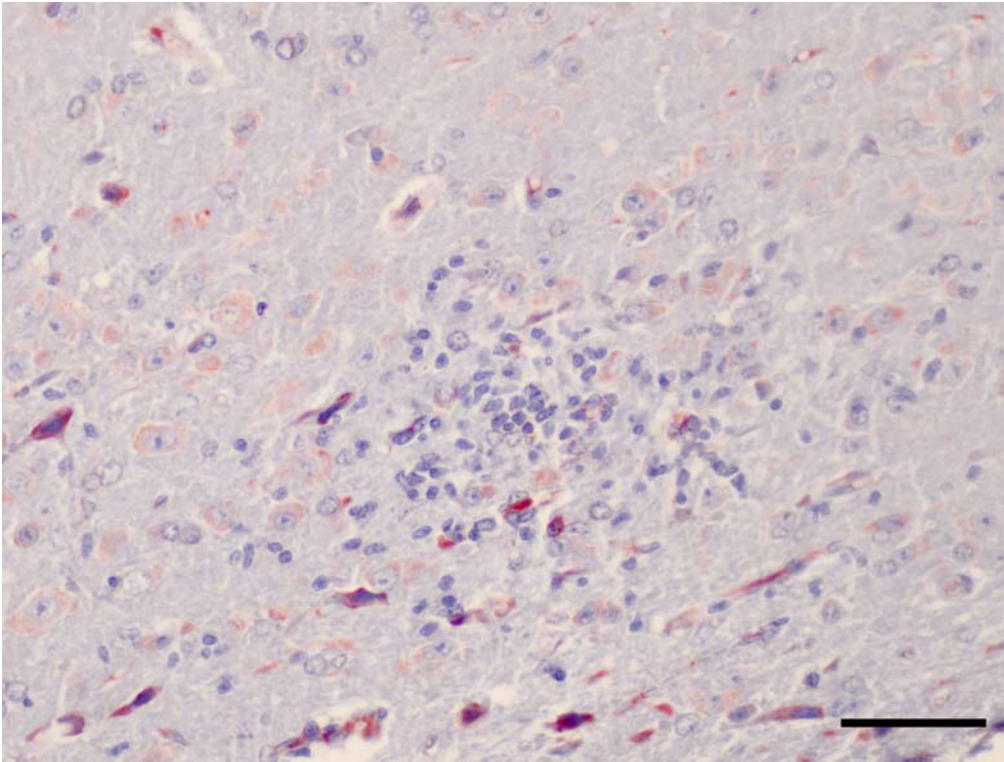
### 3.2. İmmunoperoksidaz Bulgular

İmmunoperosidaz test sonuçlarına göre; etkilenen bölgelerde dejeneratif ve nekrotik nöron sitoplazmaları, mikrogliya ve bazı astrosit sitoplazmalarında *T. gondii* doku kisti spesifik antijen pozitif reaksiyonlara rastlandı. Özellikle, gliosis alanlarında, noktasal ve granüler tarzda immunreaksiyonlar tespit edildi.

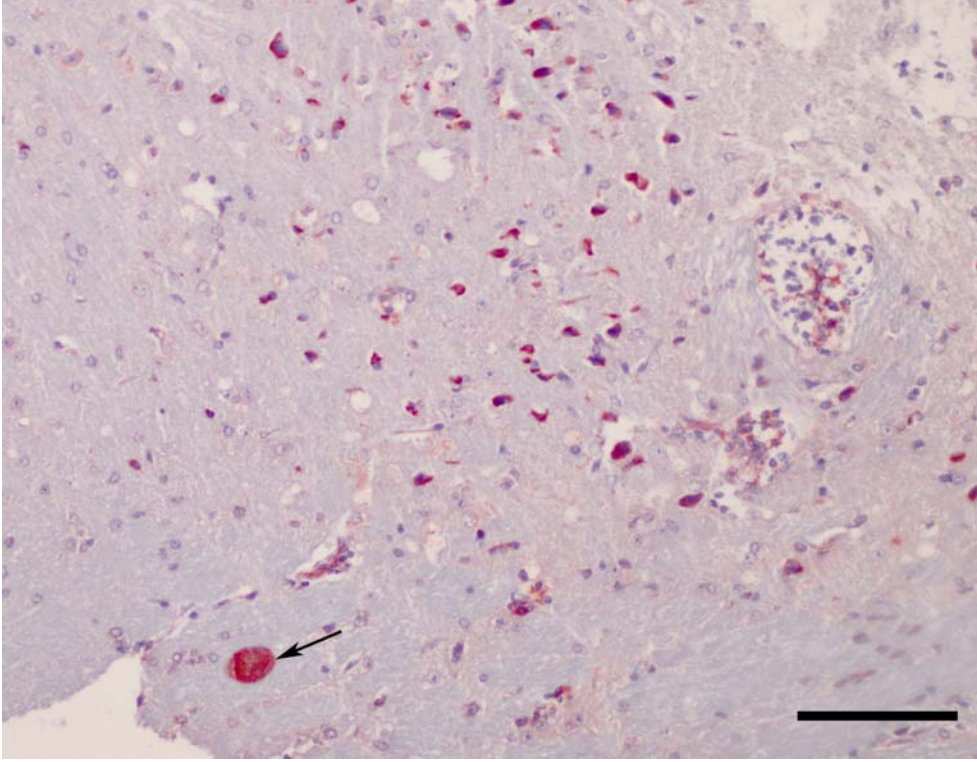
Doku kistlerinin, hem bradizoit, hem de daha zayıf olmak üzere kist duvarı anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna karşı immunreaksiyon gösterdi. Doku kistleri içerisindeki bradizoitler, her biri ayrı ayrı seçilebilecek çilek veya üzüm salkımı benzeri bir görüntü gösterirken, immunreaktivitenin yoğun olduğu doku kistlerinde iç detay seçilemedi.



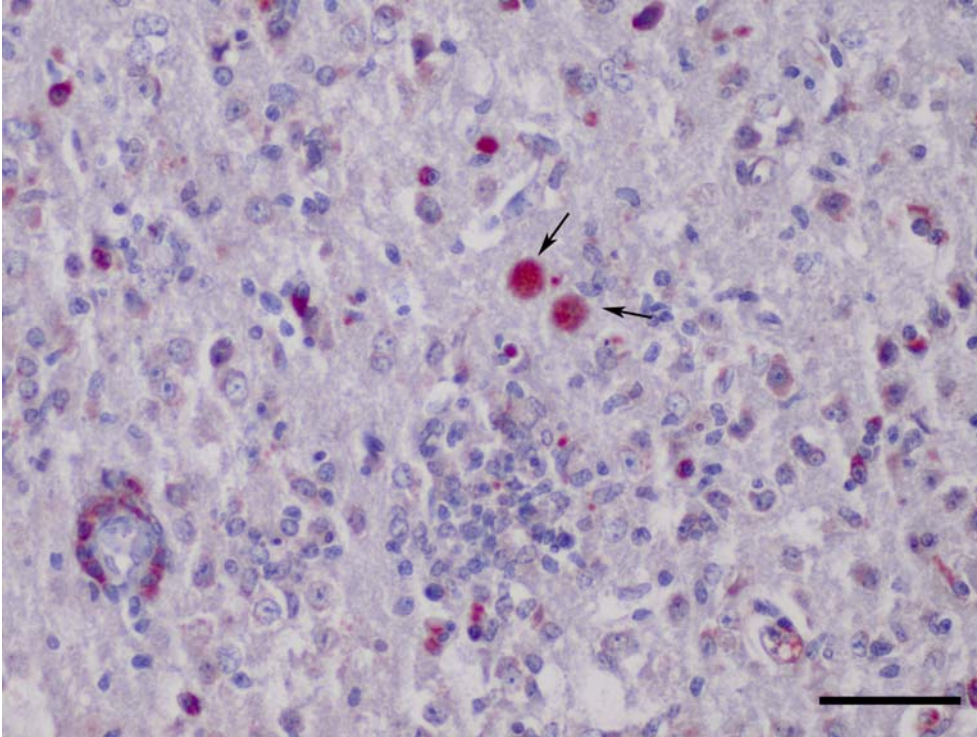
**Şekil 3.20.** Nöron sitoplazmalarında immunopozitif boyanmalar, olgu no; 16, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna, ABC metodu, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 50 µm.



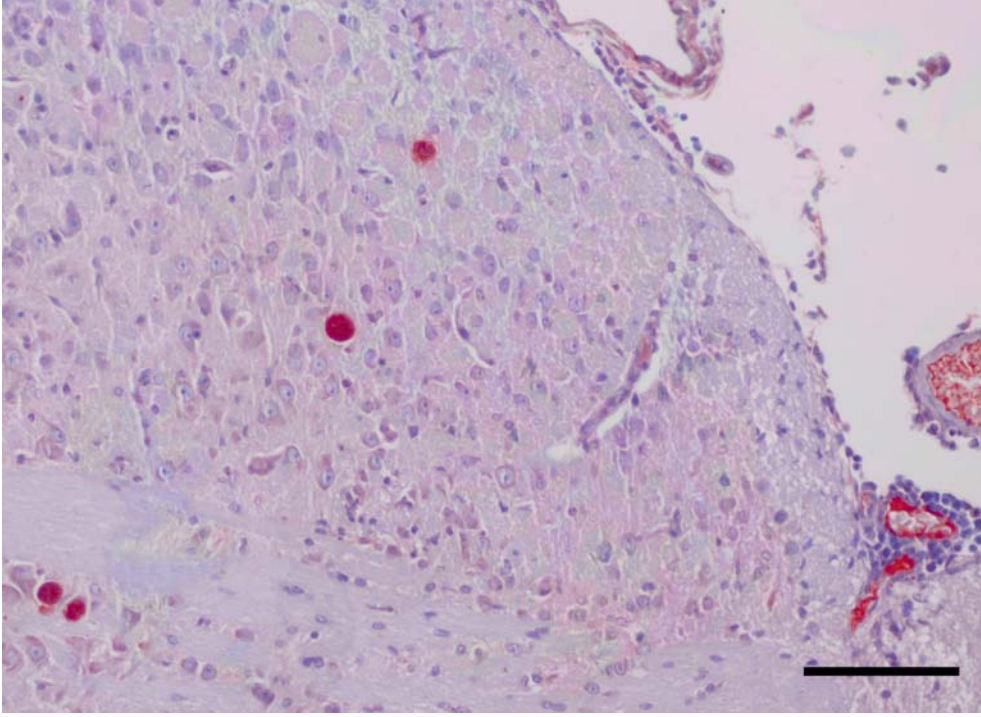
**Şekil 3.21.** Gliosis alanı ve etrafında nekrotik nöronlarda immunopozitif reaksiyonlar, olgu no; 16, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna, ABC metodu, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 50 µm.



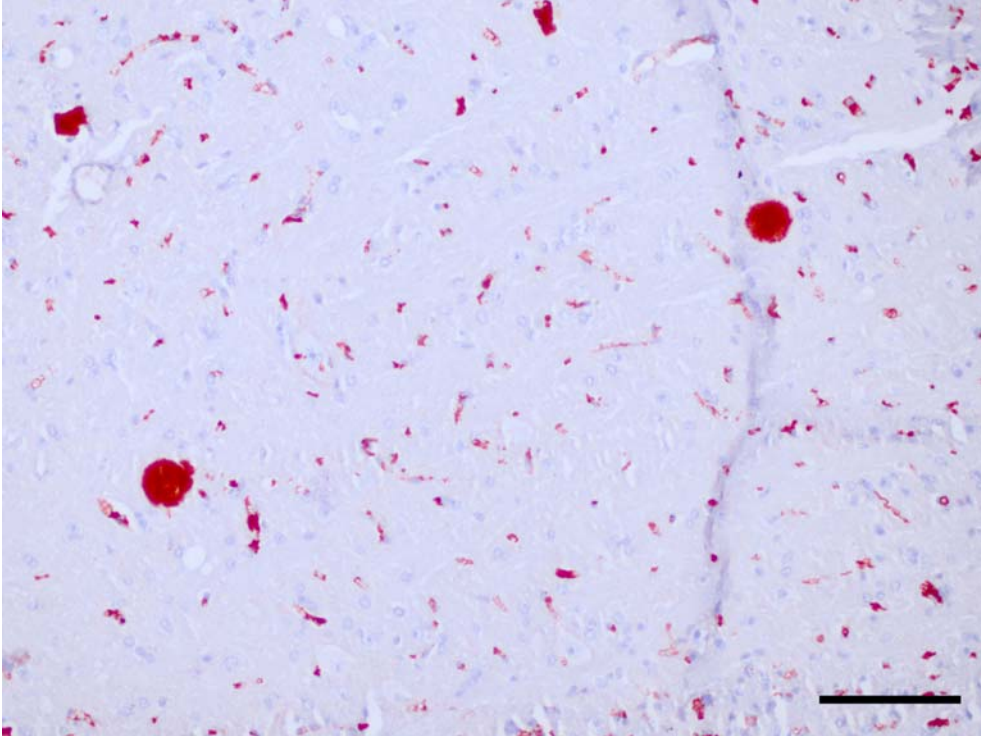
**Şekil 3.22.** Doku kisti (ok) ve nöron sitoplazmalarında immunopozitif boyanmalar, olgu no; 16, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoru, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 100 µm.



**Şekil 3.23.** İmmunopozitif boyanan *T.gondii* doku kistleri (oklar), olgu no; 17, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoru, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 50 µm.

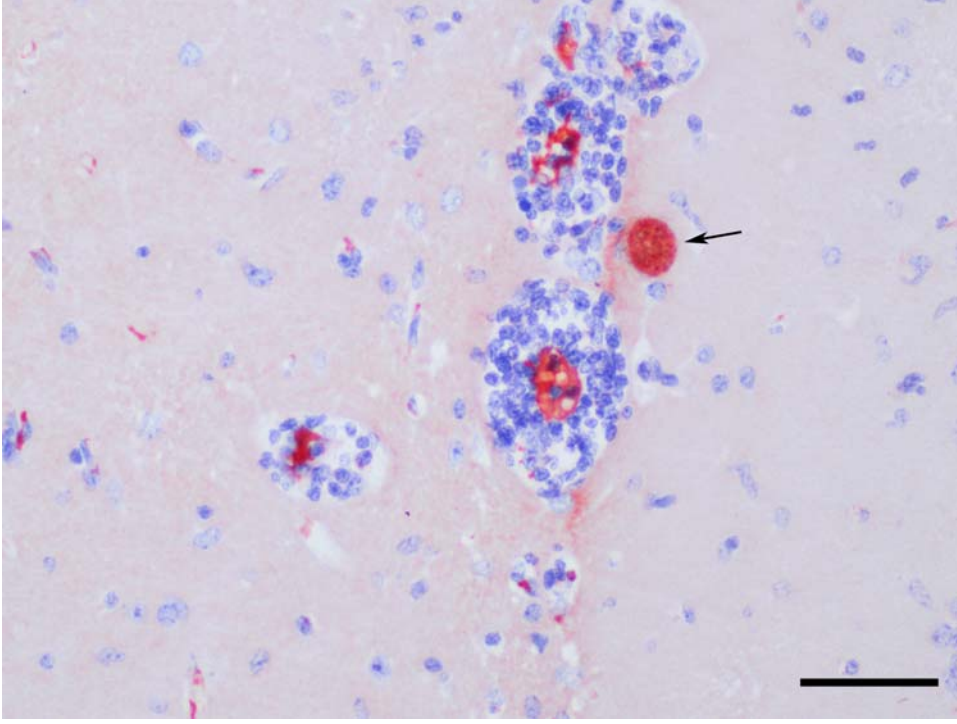


**Şekil 3.24.** Doku kistlerinde yoğun immunreaksiyon, olgu no; 18, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 50 µm.

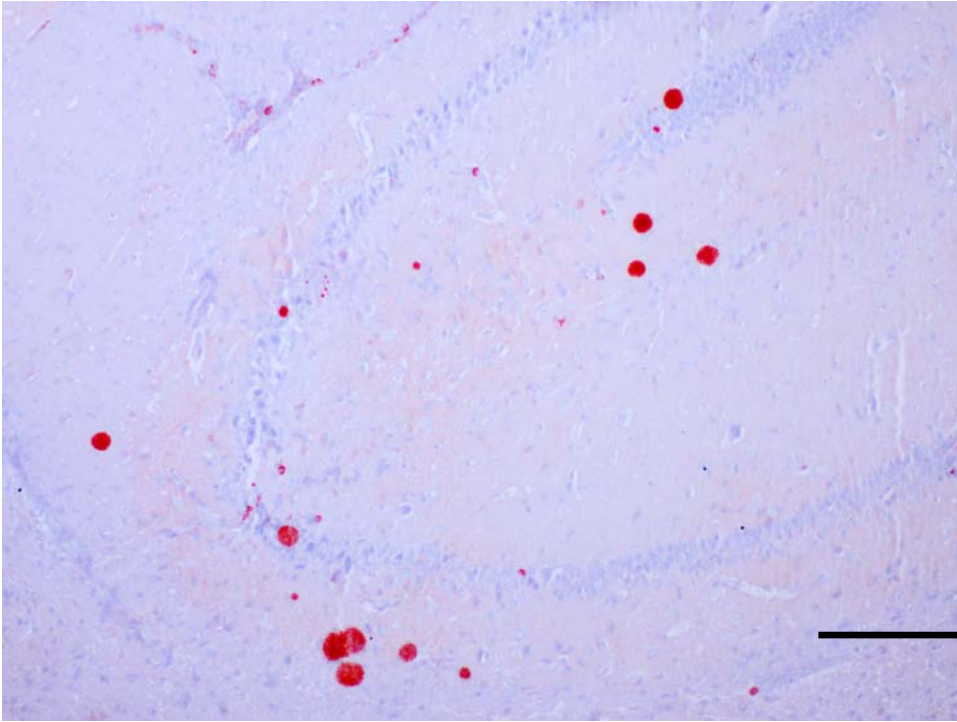


**Şekil 3.25.** İki adet doku kisti ve kapillar duvarlarında immunopozitif boyanmalar, olgu no; 22, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 100 µm.

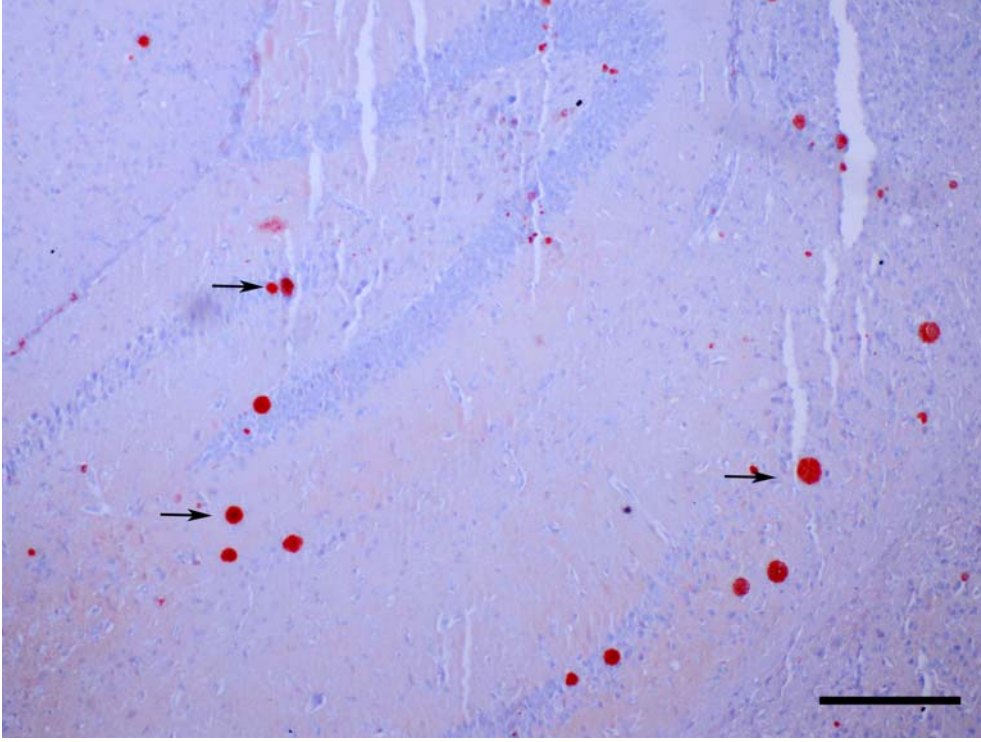




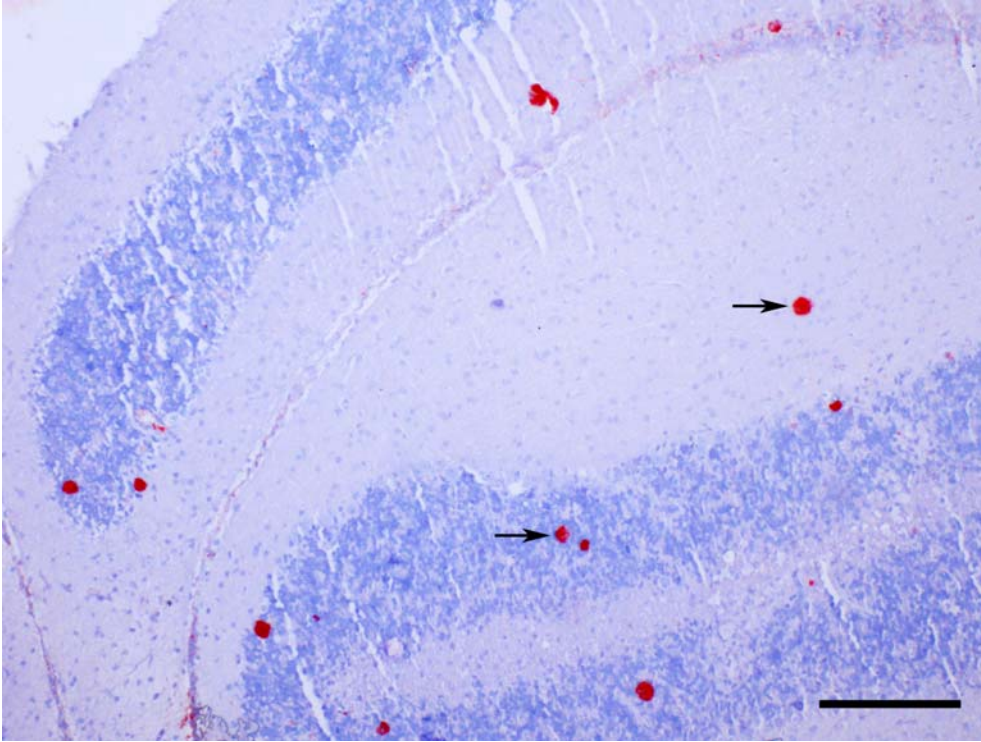
**Şekil 3.26.** Yoğun mononükleer hücreler ile çevrili damarın hemen yakınında yeralan sağlam görümlü bir doku kisti (ok) olgu no; 22, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 50 µm.



**Şekil 3.27.** Ammon boynuzunda immunopozitif boyanan çok sayıda doku kistlerinin görünümü olgu no; 22, Poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoruna, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 100 µm.



**Şekil 3.28.** İmmunopozitif boyanan çok sayıda doku kistleri (oklar), Ammon boynuzu, olgu no; 22, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoru, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 100 µm.



**Şekil 3.29.** İmmunopozitif boyanan *Toxoplasma gondii* doku kistleri (oklar), olgu no; 22, poliklonal anti-*Toxoplasma gondii* antikoru, ABC metod, Mayers hematoksilen karşıt boyama. Bar = 100 µm.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Toksoplazmoz, klinik olarak akut ve sistemik belirtilerle ön plana çıkan protozer bir enfeksiyondur. Doğal ve deneysel enfeksiyonlarda şekillenen klinik bulgular, parazit-konak ilişkisi ile yakından ilişkilidir ve ilk enfeksiyon anında konağın immunitesi ile etkenin genotipi hastalıkta prognozu belirler (Weiss ve Kim, 2007). Bazı bireyler akut toksoplazmoz sonucu ölmesine ya da gebelerde abort ve transplasental enfeksiyonla sonuçlanabilmesine karşılık, yeterli bağışıklık düzeyine sahip bireylerde, kronik ve subklinik formda seyreder (Dubey, 2010). Toksoplazmozda hücrel bağışıklık ön plandadır ve konağın IFN- $\gamma$  düzeyi en önemli faktör olarak ön plana çıkmaktadır (Suzuki ve ark. 1988, Dzierszinski ve Knoll 2007). *Toxoplasma gondii*'nin gelişim aşamaları arasındaki dönüşümlerinin (takizoitlerin, bradizoit'e; bradizoitlerin, takizoite farklılaşması) doğrudan stres faktörleri, IFN- $\gamma$  ve NO gibi etkilerle olduğu in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Suzuki ve ark. 1988). Enfeksiyondan yaklaşık üç hafta sonra *T. gondii* takizoitleri, viseral dokudan ayrılarak sinir ve kas dokuya yerleşir. Takizoitler immunitenin nöral organlarda visseral sistemden daha az etkili olması sebebiyle omurilik ve beyinde uzun süre canlı kalabilirler (Weiss ve Kim, 2007). Yapılan çalışmalar, merkezi sinir sisteminde doku kistlerinin en erken inokülasyon sonrası 8. günde şekillenebildiğini ve fare beyinlerinde erişkin doku kistlerinin 4-6 hafta içerisinde oluştuğunu göstermektedir. Bununla birlikte, enfeksiyonda oluşan doku kisti sayısının büyük oranda ilk şekillenenle aynı kaldığı ve yeni doku kistleri şekillenmediği görüşü yaygın kabul görmeye birlikte, zayıf kist duvarından sızan bradizoitlerin konak makrofajlarına yakalanmadan yeni ve genç doku kistleri oluşturabileceği yönünde görüşler de mevcuttur (Dzierszinski ve Knoll, 2007). *Toxoplasma gondii* ME49 suşu laboratuvar şartlarında devamlılığı sürdürülen kistojenik bir suştur. Tip I suşları; örneğin RH ve Ankara suşu akut ve ölümcül enfeksiyon meydana getirirken bu suş ile daha ılımlı ve subklinik enfeksiyon meydana gelmektedir. ME49 suşu kullanılarak yapılan deneysel çalışmalarda bu suşun sürekli yeni kist oluşturmaya eğilimi olduğu görülmüştür.

Sunulan tez çalışmasında, aynı dozda inokülasyon yapılan farelerin enfeksiyon sonrası 30 ve 60 ncı günlerde sahip oldukları doku kisti sayısı ve kist çapı ortalamaları tespit edilerek, yukarıda tanımlanan hipotezlerin sorgulanması amaçlanmıştır. Buna göre; 30 ncü günde incelenen beyinlerde doku kisti çap ortalaması 18,91926  $\mu\text{m}$  iken, 60 ncü günde 21,03207  $\mu\text{m}$  bulunmuştur. Aradaki fark istatistik olarak anlamlı değildir. Ancak intraperitoneal

inokülasyon yapılan gruplarda oluşan doku kisti çap ortalaması 22,2308 µm iken oral inokülasyon yapılan gruplarda 16,98798 µm dir. Aradaki fark istatistik olarak anlamlıdır ( $p<0.05$ ). Bu da intraperitoneal inokülasyon yapılan gruplarda oluşan doku kistlerinin daha büyük olduğunu göstermektedir. İntraperitoneal yolla verilen ookistlerin enfektif aşamalara dönüşerek, oral yola oranla daha hızlı bir şekilde kan damarlarına ve takiben beyne ulaşması ve doku kistlerine dönüşmesi muhtemel açıklama olarak görünmektedir. Bu nedenle inokülasyon sonrası aynı dönemde incelenen doku kistlerinin yaşları arasında fark olduğu ve intraperitoneal grupta daha büyük kistlerin gözlemlendiği düşünülmüştür. Bu da, deneysel doku kisti modeli olarak intraperitoneal inokülasyonun başarı ile uygulanabileceği ve özellikle bioassay deneylerinde oral yola oranla avantaja sahip olabileceğini göstermektedir. İnokülasyon sonrası 60 ncı günde, halen düşük çaplı doku kistlerinin görülmesi, dejenere doku kistlerinden yeni genç doku kistlerinin şekillenebileceği yönünde yorumlanmıştır.

*Toxoplasma gondii* Tip I suşu deneysel çalışmalarda virülensi yüksek olduğundan farelerde erken ölüm meydana getirmektedir (Dzierszinski ve Knoll, 2007). Bu nedenle de deney hayvanlarında yapılan çalışmalar için sıklıkla tercih edilen bir suş değildir. *Toxoplasma gondii* Tip II suşu ise Güney Amerika ülkeleri haricinde insanlarda doğal enfeksiyonlarda en yaygın identifiye ve izole edilen suştur (Hermes ve ark., 2008). Yapılan doku kisti çalışmalarında farelerde enfeksiyon oluşturmak için genellikle laboratuvar şartlarında sürekliliği sağlanan ME49 veya RRA gibi Tip II suşları tercih edilir. Bu *Toxoplasma gondii* suşları konakta daha ılımlı bir enfeksiyon oluşturmaktadır. (Dzierszinski ve Knoll, 2007). Sunulan çalışmada, *T. gondii* kistojenik ME49 suşu farelerde oral ve intraperitoneal yolla verilerek, fare beyinlerinde doku kistlerinin şekillendiği kronik toksoplazmoz modeli oluşturulmuştur. Bu çalışmayla birlikte, *T. gondii* ME 49 suşu ile fare beyinlerinde doku kisti modeli Türkiye’de ilk kez uygulanmıştır. Türkiye’de daha önceden gerçekleştirilen deneysel çalışmaların birçoğu, *T. gondii* Tip I suşları (RH, Ankara) ile akut ve ölümcül sonlanan deney hayvanı modellerine işaret etmektedir (Kul ve Hazıroğlu 2001; Hökelek ve ark., 2002; Hazıroğlu ve ark., 2003).

Deney hayvanlarında toksoplazmoz modeli oluşturulması amacıyla genelde etkenin takizoit ve doku kisti tercih edilirken, ookistler nadiren kullanılır. Ookistler, yalnızca kedilerden şizogoni ve gametogoni sonrası elde edilebilmesi, yine yalnız sporozit içeren ookistlerin enfektif özellikte olması ve laboratuvar koşullarında kısa sürede yıkımlanarak infektivitelerini kaybetmeleri nedeniyle tercih edilmezler (Hermes ve ark., 2008). Bununla

birlikte, Dubey (2010), *T. gondii* ookistlerinin oral yolla verildiğinde doğal bulaşma modelinin taklit edilmesi nedeniyle avantaj sağladığını ve kedi dışkısından izole edilen ookistlerin saflaştırıldıktan sonra eşit miktarda H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklendiğinde, +4 °C’de 12 ay muhafaza edilebileceklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca, bir diğer avantaj, diğer apikompleksan protozoonların aksine *T. gondii* ookistleri intraperitoneal inokülasyonda da açılabilme ve enfektif sporozoitlerin serozal yüzeylere invazyonu ile enfeksiyon şekillenebilmektedir (Hermes ve ark., 2008). Bu çalışmada ookist kullanılmış ve *Toxoplasma gondii* ookistlerinin intraperitoneal enfektif özellik kazanabilmesinden yararlanılmıştır. *Toxoplasma gondii* ookistleri eşit oranda H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde 1 yıl +4 C° de saklanabilmekte ve deney öncesi 1N NaOH ile nötralize edildikten sonra (Dr. Alvaro Freyre McCall ile kişisel görüşme) inokülasyon yapılabilmektedir. Ookistlerin oral yolla uygulanması ile de doğal enfeksiyon yolu taklit edilerek, her iki inokülasyon yolu ile oluşturulan deneysel enfeksiyon modelleri karşılaştırılmıştır. Oral inokülasyon yapılan grupta yeralan farelerin (n=14) parasagittal kesitinde toplam 314 doku kisti oluşurken intraperitoneal inokülasyon yapılan gruptaki farelerde (n=14) 176 adet doku kisti olduğu görülmüştür.

Klinik belirtiler oral grupta hafif, intraperitoneal grupta ise daha belirgindir. İntraperitoneal grupta inokülasyonu izleyen 24 saat içinde depresyon görülmüştür. Bu durum periton içi uygulama ile verilen ookist beraberinde bulunan hem kimyasal (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH) hem de ookistleri izole edildiği kedi dışkısına ait organik materyallerden kaynaklanmış olabilir. Oral inokülasyon yapılan grupta klinik bulguların bulunmaması bu görüşü destekler niteliktedir. Bununla birlikte her iki gruba da 0,1 mg streptomisin, 1000 IU penisilin oral yolla verilmiştir. Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının tüm şartlarının aynı olmasına rağmen bazılarında enfeksiyonun daha şiddetli bazılarında ise hafif seyretmesi, enfeksiyon anında konağın bağışıklık düzeyiyle açıklanabilmektedir.

Lezyonlar başlıca; orta beyin, beyin kökü ve beyincikte oluşmuştur. Bu üç anatomik bölge düşünüldüğünde en az doku kisti beyincikte, en fazla ise orta beyinde oluşmuştur. Özellikle amnon boynuzu, perihipokampal bölge ve amigdaloid komplekste lezyonların yoğun bir şekilde meydana geldiği görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda kronik enfekte farelerde özellikle hipokampus bölgesindeki damarlar etrafında inflamasyon bulunduğu ve bu inflamasyonun damarlardaki kan akımını engellemediği ayrıca beyin parenşimindeki soliter kistlerin yangı ve kalsifikasyondan uzak, perivasküler ve parenşim içindeki yangıya yakın ve ayrı olduğu da bildirilmiştir (Hermes ve ark, 2008). Farelerde

kronik kistogenik enfeksiyonlarda patogenezin anlaşılabilmesi için ileride yapılacak fonksiyonel-morfolojik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Doku kistlerinin özellikle damarlar etrafında yoğunlaştığı dikkati çekmiştir (Şekil 3.2, 3.6, 3.11, 3.24, 3.26). Grup 1 ve Grup 2 de oluşan lezyonlar Grup 3 ve Grup 4 de oluşan lezyonlara göre daha hafif şekillendi. Grup 3 ve Grup 4 te meydana gelen doku kistleri büyüklük olarak Grup 1 ve Grup 2 deki doku kistlerine göre daha büyüktü. Bu noktada intraperitoneal inokülasyon yapılan farelerde enfeksiyonun daha şiddetli seyrettiği anlaşılmaktadır. Grup 1 ve Grup 3 de oluşan lezyonlar Grup 2 ve Grup 4 te oluşanlara göre nispeten daha hafif olmasına rağmen yinede çok belirgin bir farklılık olmadığı anlaşılmıştır. Lezyon şiddetinin fazla olduğu bazı olgularda oluşan doku kisti sayısının az (Olgu No: 3, 4, 11, 13, 20, 22, 23, 24, 25); lezyon şiddetinin az görüldüğü bazı olgularda ise oluşan doku kistlerinin fazla olduğu (Olgu No: 6, 14, 21) gözlenmiştir.

İmmunoperoksidaz incelemede *Toxoplasma gondii* antijeninin saptanması amacıyla ticari indirekt immunoperoksidaz streptavidin/biotin immunoperoksidaz kiti kullanılmış ve uygulamalar kit protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Bu protokole göre fare anti-*Toxoplasma gondii* antikoru kullanılmıştır. İmmunoperoksidaz test prosedüründe kullanılan fare *Toxoplasma gondii* primer antikoru, dokuda bulunan *Toxoplasma gondii* antijeni ile birleşmektedir. Anti *Toxoplasma gondii* antikoru ise biotinle işaretli anti-fare sekonder antikoru ile bağlanmaktadır. Daha sonra kullanılan AEC işaretli avidin ile de görünür hale gelmektedir. Bu noktada, kullanılan kesitlerde damarlar ve çevresinde pozitif boyanan bölgeler fare dokusundan kaynaklanan antikolar ve plazma hücresi olarak değerlendirildi. Bu durumda, sekonder bağlantı yapan anti-fare IgG antikoları dokudaki fare antikoları içeren plazma hücrelerini antijen olarak algılandığından bağlanmakta ve preparatlarda görülen doku kisti haricindeki kapillar ve damar çevresi boyanmalar bu şekilde açıklanmaktadır.

Sonuç olarak; İntraperitoneal inokülasyon yapılan farelerde, oral inokülasyon yapılan farelere oranla gliozis, meningitis ve perivasküler hücre infiltrasyonunun daha şiddetli şekillendiği ve doku kistlerinin daha büyük olduğu görülmüştür. Beyincik, orta beyin ve beyin kökü gliozis açısından incelendiğinde; lezyonların beyincikte en hafif düzeyde seyrettiği görülmüştür. Yine bu üç anatomik bölge lezyonların şiddeti açısından değerlendirildiğinde en şiddetli lezyonların orta beyinde meydana geldiği dikkati çekmiştir. Ayrıca intraperitoneal inokülasyon yapılan farelerde 30. günde nekropsi yapılan farelerde şekillenen perivasküler hücre infiltrasyonunun 60. günde nekropsi yapılan farelere oranla daha şiddetli seyrettiği anlaşılmıştır.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
İçindekiler	III
Önsöz	V
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Şekiller	VII
Çizelgeler	IX
<b>ÖZET</b>	1
<b>SUMMARY</b>	4
<b>1. GİRİŞ</b>	7
1.1. Hastalığın Tanımı	7
1.2. Etiyoloji	7
1.3. Tarihçe	8
1.4. Yaşam Çemberi	8
1.5. Bulaşma	10
1.6. Klinik Semptomlar	12
1.6.1. Hayvanlarda Toksoplazmoz	12
1.6.2. İnsanlarda Toksoplazmoz	13
1.7. <i>Toxoplasma gondii</i> Enfeksiyonları ve Davranış Değişiklikleri Arası İlişkiler	13
1.8. <i>Toxoplasma gondii</i> Enfeksiyonlarında Histopatolojik Bulgular	15
1.9. <i>Toxoplasma gondii</i> doku kistinin morfolojik, antijenik ve moleküler özellikleri	15
1.10. Deney Hayvanlarında Kronik Toksoplazmoz Modelleri	17
1.10.1. Önemli Faktörler	17
1.10.1.1. Deney Hayvanı	18
1.10.1.2. <i>Toxoplasma gondii</i> suşu	18
1.10.1.3. Etkenin Veriliş Yolu	19
1.10.2. Beyinde Doku Kisti Modeli	19
1.11. Çalışmanın Amacı	20
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	20
2.1. Deney Hayvanları ve Deney Düzeni	20

2.2	Histopatolojik İncelemeler	22
2.3	İmmunoperoksidaz İncelemeler	23
2.3.1.	Doku Kisti Spesifik Hiperimmün Serum Eldesi	23
2.3.2.	<i>Toxoplasma gondii</i> Doku Kistine Yönelik İmmunoperoksidaz Test Prosedürü	23
2.4.	Doku Kisti Analizleri	24
2.5.	İstatistik İncelemeler	25
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	26
3.1.	Histopatolojik Bulgular	26
3.2.	İmmunoperoksidaz Bulgular	44
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	50
	<b>KAYNAKLAR</b>	54
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	58



## ÖNSÖZ

Dünyada insan nüfusunun hemen yarısının *Toxoplasma gondii* ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Parazitin, bir çok bulaşma yolu bulunması ve konak immunitesi ile karşılıklı denge içerisinde, çoğu zaman ılımlı bir enfeksiyon oluşturması nedeniyle de hayat boyu kalıcı olabilmektedir. Kist formu parazitin yaşam çemberi içinde en önemli evresi olarak değerlendirilir. Bu durum, özellikle toksoplazmik ensefalit görülme ihtimali olan immun yeterli bireylerde toksoplazmoz patogenezinin açıklanabilmesi için önemlidir. Toksoplazmoz tedavi çalışmalarında oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda, hayvanların beyinde oluşan kistlerin varlığı, büyüklüğü, sayısı ve yerleşiminin önceden bilinmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada, oral ve intraperitoneal olarak enfekte edilen farelerde, beyin hangi bölgelerinde daha çok doku kisti oluşacağı, inokulasyon sonrası 30 ve 60 ıncı günlerde incelenen doku kisti büyüklükleri arasında fark olup olmadığı ve meydana gelen meningitis, gliozis, perivasküler hücre infiltrasyonları gibi lezyonların incelenmesi ve doku kistleri ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında bana destek olan, beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Doç. Dr. Oğuz KUL'a, yardımlarını benden esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma görevlisi Dr. H.Tarık ATMACA'ya, deney hayvanlarının bakımı ve rutin takip konusunda bana yardımcı olan Doktora öğrencisi Veteriner Hekim Güngör Çağdaş DİNÇEL'e, sabır ve teşviklerinden dolayı eşim Veteriner Hekim Oğuz BÜYÜKKAYAER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AEC	Aminoethyl carbasole
HE	Hematoxylin-Eosin
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfirik asit
NaOH	Sodyum hidroksit
IFN- $\gamma$	İnterferon gamma
IP	İntraperitoneal
PH	Power of Hidrogen (Birçözeltinin derecesini tarifeden Ölçü birimi) asitlik veya bazlık
PVHİ	Perivasküler Hücre İnfiltrasyonu
$\mu$ m	Mikrometre
%	Yüzde isareti
°C	Santigrad derece

	<b>Şekiller</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1	<i>Toxoplasma gondii</i> 'nin yaşam çemberi	11
Şekil 2.1	Kist varlığı ve lezyon değerlendirme amacıyla doku takibi uygulanmak üzere parasagittal kesit yapılan fare beyinlerinin görünümü.	22
Şekil 2.2	Doku kisti çapı ölçümünde kullanılan Olympus DP2 BSW yazılımı arayüzü	24
Şekil 2.3	Doku kistlerinin uzun ve kısa eksen boyunca ölçümü	25
Şekil 3.1	Virchow Robin boşluklarında mononükleer hücre infiltrasyonu	35
Şekil 3.2	Etrafında yangısal hücre infiltrasyonu bulunan bir damarın hemen yakınında meydana gelen <i>Toxoplasma gondii</i> doku kisti	35
Şekil 3.3	Perivasküler hücre infiltrasyonu ile damarın hemen yakınında kümelenen astrosit ve mikroglia grupları	36
Şekil 3.4	Non-prulent perivasküler hücre infiltrasyonu ve menenjit	36
Şekil 3.5	Şiddetli perivasküler hücre infiltrasyonu,	37
Şekil 3.6	Perivasküler hücre infiltrasyonu, gliosis ile lezyonu yakınında ancak yapısal olarak sağlam görünümde <i>Toxoplasma gondii</i> doku kisti	37
Şekil 3.7	Fokal gliosis	38
Şekil 3.8	Birbirine yakın yerleşimli şiddetli gliosis alanları	38
Şekil 3.9	Yangısal reaksiyon bulunmayan bir alanda <i>Toxoplasma gondii</i> doku kisti	39
Şekil 3.10	Beyincikte <i>Toxoplasma gondii</i> doku kistin görünümü	39
Şekil 3.11	Yangısal reaksiyon göstermeyen ve bir damarın hemen yakınında şekillenen doku kisti,	40
Şekil 3.12	Birbirine yakın şekillenen <i>Toxoplasma gondii</i> doku kistleri	40

Şekil 3.13	Amigdaloid kompleks ve yakınında şiddetli gliozis ve meningitis, Temporal lob	41
Şekil 3.14	Amigdaloid kompleks ve yakınında şiddetli gliozis ve meningitis, Temporal lob	41
Şekil 3.15	Ammon boynuzunda birbirine yakın çok sayıda meydana gelmiş, etrafında yangısal reaksiyon bulunmayan doku kistleri	42
Şekil 3.16	Aynı alanda farklı büyüklüklerde reaksiyonel olmayan doku kistleri	42
Şekil 3.17	Toxoplasma gondii doku kistinın görünümü	43
Şekil 3.18	Beyincik, Purkinje hücre katı ile moleküler katta doku kistleri	43
Şekil 3.19	Doku kistleri	44
Şekil 3.20	Nöron sitoplazmalarında immunopozitif boyanmalar	45
Şekil 3.21	Gliozis alanı ve etrafında nekrotik nöronlarda immunopozitif reaksiyonlar	45
Şekil 3.22	Doku kisti (ok) ve nöron sitoplazmalarında immunopozitif boyanmalar	46
Şekil 3.23	İmmunopozitif boyanan T.gondii doku kistleri	46
Şekil 3.24	Doku kistlerinde yoğun immunreaksiyon	47
Şekil 3.25	İki adet doku kisti ve kapillar duvarlarında immunopozitif boyanmalar	47
Şekil 3.26	Yoğun mononükleer hücreler ile çevrili damarın hemen yakınında yeralan bir reaksiyonel olmayan bir doku kisti	48
Şekil 3.27	Ammon boynuzunda immunopozitif boyanan çok sayıda doku kistlerinin görünümü	48
Şekil 3.28	İmmunopozitif boyanan çok sayıda doku kistleri	49
Şekil 3.29	İmmunopozitif boyanan Toxoplasma gondii doku kistleri	49

**Çizelgeler****Sayfa**

Çizelge 3.1.	Kist Çapına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (Gruplara Göre Karşılaştırma)	27
Çizelge 3.2.	Kist Sayısına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (Gruplara Göre Karşılaştırma)	28
Çizelge 3.3.	Kist Çapına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (Oral 30-60)	28
Çizelge 3.4.	Kist Sayısına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (Oral 30-60)	28
Çizelge 3.5.	Kist Çapına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (IP 30-60)	28
Çizelge 3.6.	Kist Sayısına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (IP 30-60)	28
Çizelge 3.7.	Kist Çapına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (IP 30- Oral 30)	29
Çizelge 3.8.	Kist Sayısına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (IP 30-Oral 30)	29
Çizelge 3.9.	Kist Çapına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (IP 60-Oral 60)	29
Çizelge 3.10.	Kist Sayısına Ait Tanıtıcı İstatistik Değerleri (IP60-Oral 60)	29
Çizelge 3.11.	Beynin değişik bölgelerinde histopatolojik değişikliklerin şiddeti ve yerleşimi	31
Çizelge 3.12.	Değişik beyin bölgelerindeki doku kisti sayısı ve ortalama çapları	33

## KAYNAKLAR

- AKARSU AG (2008) Toxoplazmoz 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.
- ALTINTAŞ K (1996) Türkiye’de hayvanlarda *Toxoplasma gondii* enfeksiyonları. *T.Parasitol. Derg.* , 20:479–487.
- ANFRAY P, BONNETTI C, FABBRINI F, MAGNINO S, MANCIANTI F. and ABRAMO F (2005) Feline cutaneous Toxoplasmosis: A case report. *Veterinary Dermatology* , 16, 131–136.
- BASZLER TV, DUBEY JP, LÖHR CV, FOREYT WJ (2000) Toxoplasmic encephalitis in a free-ranging rocky Mountain bighorn sheep from Washington. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(4), pp. 752–754.
- BROWN SA (2008) The risk for schizophrenia from childhood and adult infections. *American Journal of Psychiatry* 165:7–10, January 2008.
- BUXTON D (1990) Ovine Toxoplasmosis: A Review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, August; 83(8): 509–511.
- BUXTON D, RODGER SM, MARLEY SM, WRIGHT SE (2006) Toxoplasmosis: The possibility of vertical transmission. *Small Ruminant Research*, 62:43-46.
- DUBEY JP (1986a) A Review of Toxoplasmosis in cattle. *Veterinary Parasitology*, 22:177-202.
- DUBEY JP (1986b) Toxoplasmosis. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 189:166.
- DUBEY JP (1987a) Toxoplasmosis In Goats. *Veterinary Parasitology*, 26:47-50.
- DUBEY JP (1987b) Serodiagnosis of postnatally and prenatally induced Toxoplasmosis in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, Vol 48(8):1239-1243.
- 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 (2010) *Toxoplasmosis of Animals and Man*, Second Edition, CRC Pres, New York.
- DUBEY JP, SCHLAFER DH, URBAN JF, JR and LINDSAY DS (1990) Lesions in fetal pigs with transplacentally-induced Toxoplasmosis. *Veterinary Pathology* 27:411-18.

- DUBEY JP, MATTIX ME and TP LIPSCOMB (1996) Lesions of neonatally induced Toxoplasmosis in cats. *Veterinary Pathology*, 33:290-295.
- DUBEY JP, PIMENTA AL, ABOUND LCS, RAVASANI RR, MENSE M, (2003) Dermatitis in a dog associated with an unidentified *Toxoplasma gondii*-like parasite. *Veterinary Parasitology*, 116,51-59.
- DJAKOVIC D0, MILENKOVIC V (2001) Murine model of drug-induced reactivation of *Toxoplasma gondii*. *Acta Protozool.* 40: 99 – 106.
- DZIERSZINSKI F, KNOLL J LAURA (2007) Biology of bradyzoites , *Toxoplasma* Molecular and Cellular Biology Ed. AJIOKA W J , SODATI D, Horizon Bioscience, Great Britain. P: 303-321.
- EKMEN H, ALTINTAŞ K (1973) Bir köpekten *Toxoplasma* izolmanı. *Türk Hij. Tec. Biol. Derg.*, 33:17.
- EPIPHANIO S, SINHORINI IL, CATAO-DIAS JL (2003) Pathology of Toxoplasmosis in captive new world primates. *Journal of Comparative.Pathology*,Vol.129; 196-204.
- HAZIROĞLU R, ALTINSAAT S, ATASEVER A, AKIN G (1988) Kedilerde fatal Toksoplazmozis. *Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 35:(2-3):330-340.
- HAZIROGLU R (1993) An Ultrastructural study of *Toxoplasma gondii* developmental stages in the lungs of the Cat. *Isr. J. Vet. Med.*, 48:65-68.
- HAZIROĞLU R, ALTINTAŞ K, ATASEVER A, GÜLBAHAR MY, KUL O, TUNCA R (2003) Pathological and immunohistochemical studies in rabbits experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 27, 285-293.
- HERMES G, AJIOKA WJ, KELLY AK, MUI E, ROBERTS F, KASZA K, MAYR T, KIRISITS MJ, WOLLMANN R, FERGUSON JPD, ROBERTS CW, HWANG JH, TRENDLER T, KENNAN R, 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. *Journal of Neuroinflammation* 5-48 [Electronic Journal]<http://www.jneuroinflammation.com/content/5/1/48>
- HÖKELEK M, KUL O, ALTINTAŞ K, HAZIROĞLU R (2002) Deneysel toxoplazmosiste patolojik bulgular. *T. Parazitol. Derg.*, 26: 17-19.
- JONES TC, HUNT RD, KING NW (1996) Toxoplasmosis. In: *Veterinary Pathology* 6.th. Copyright by Williams and Wilkins. USA, pp: 521-555.
- JUBB KVF, KENEDDY PC, PALMER N (2007) *Pathology of Domestic Animals* 5th Edition Vol. 2, California: Academic Press pp: 308-310.
- KOÇAK A.M. (2009) Erişim:[<http://toksoplazma.org/index.php/2009-sempozyum-bildirileri/11-toxoplazma-gondiinin-psikiyatrik-etkileri-kognitif-suereclerle-mi-likili>], ErişimTarihi: 14.07.2010.

- KUL O, HAZIROĞLU R (2001) Kobaylarda deneysel *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunda patolojik bulgular. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.*, 12: 23-38.
- KUL O (2009) Erişim:[<http://toksoplazma.org/index.php/2009-sempozyum-bildirileri/18-deney-hayvanlarda-toksoplazmoz-modelleri>], ErişimTarihi: 14.07.2010.
- KRAVETZ JD, FEDERMAN DG (2005) Toxoplasmosis in pregnancy. *Am J Med*, 118(3):212-6.
- LEVINE ND (1961) Toxoplasma In: Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man. Burgess Publishing Company, pp 325-337.
- MİLLİ ÜH, HAZIROĞLU R ( 2000) Veteriner Patoloji, Medipress, Malatya.
- MONTOYA JG, LIESENFELD O (2004) Severe acute disseminated toxoplasmosis. *The lancet*, vol 363:1965-1976.
- NALBANTOĞLU S, KAR S, KARAER Z., Erişim:[[www.tvhb.org.tr/bilimsel/14.doc](http://www.tvhb.org.tr/bilimsel/14.doc)], Erişim Tarihi: 12.05.2008.
- OMATA Y, KAWANO T, OHSAVA T, SUGAYA S, SATAKE M, ISAMIDA T, KOYAMA T, TAKA A, MIYAZAWA K, TAKAGI M, SAITO A, TOYODA Y (1999) Infectivity of feline enteroepithelial stages of *Toxoplasma gondii* isolated by percoll-density gradient centrifugation. *Vet.Parasitol*, 12;82(3)211-5.
- ORHAN V, YAŞAROL S (1983) *Toxoplasma gondii*'nin morfolojisi, fizyolojisi ve evrimi. "Toxoplasmosis" Ed. S. Yasarol. *T. Parazitol. Dern. Yay.*, 3, 9-23.
- OWEN MR, CLARKSON MJ, TRESS AJ (1998) Acute Phase Toxoplasma Abortions in Sheep. *Veterinary Record*, 142:480-482.
- PAUL M (1999) Immunoglobulin G avidity in diagnosis of Toxoplasmic lymphadenopathy and ocular Toxoplasmosis clinical and diagnostic laboratory Immunology, p: 514-518.
- REICHARD U, GROSS U ( 2007) *Toxoplasma gondii* The Model apicomplexan perspectives and methots, ED: M.WEISS and KAMI KIM Toxoplasma Animal Models and Therapeutics, p: 153-177.
- SAPOLSKY R (2009) A Conversation with Robert Sapolsky: [[http://www.edge.org/3rd\\_culture/sapolsky09/sapolsky09\\_index.html](http://www.edge.org/3rd_culture/sapolsky09/sapolsky09_index.html)] Erişim tarihi: (03.08.2010).
- SCHWARTZMAN JD (2001) Toxoplasmosis. Gillespie SH, Pearson RD. eds. *Principles and Practice of Clinical Parasitology*, p. 113-138.
- SOULSBY EJM (1986) Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Seventh edition. Bailliere Tindall, London, p.800-807.



- SUZUKI Y, ORELLANA MA, SCHREIBER RD, REMINGTON JS (1988) Interferon-gamma: The major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science*, 240, 516-518.
- TANYÜKSEL M, UZUN Ö, ARAZ E, KORU Ö, BABÜR C (2010) Possible role of toxoplasmosis in patients with first-episode schizophrenia. *Turk J Med Sci* 2010; 40 (3): 399-404.
- 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;104(15):6442-7.
- YAŞAROL Ş (1983) Toxoplasmosis. *Türkiye Parasitol Dern Yayın No: 3*, İzmir, p. 128.
- WEBSTER JP (2007) The effect of *Toxoplasma gondii* on animal behavior: playing cat and mouse. *Schizophr Bull.*;33(3):752-6.
- WEISS LM and KIM K ( 2007) Bradyzoite development *Toxoplasma gondii* The model apicomplexan perspectives and methods, ED: M.WEISS and KIM K Academic Press, Amsterdam p: 341-361.
- WOLF A, COWEN D (1937) Granuloma tous encephalomyelitis due to an encephalozoön (encephalozoic encephalomyelitis) A new protozoan disease of man, *Bull. Neurol. Inst. N. Y.*, 6,306.