

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ASTRAGALUS/ATOVAKUON KOMBİNASYONUNUN
AKUT TOKSOPLAZMOZLU FARE MODELİ TEDAVİSİNE
VE IL-2, IL-12, INF GAMMA DÜZEYLERİNE
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

NEŞE SÖNMEZ

**DANIŞMAN
PROF. DR. ÖZDEN BÜYÜKBABA BORAL**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
PROGRAMI**

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programında Neşe Sönmez tarafından hazırlanan Astragalus/Atovakuon Kombinasyonunun Akut Toksoplazmozlu Fare Modeli Tedavisine ve IL-2, IL-12 INF Gamma Düzeylerine Etkinliğinin Araştırılması başlıklı Yülsek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

15 / 07 / 2013

Tez Sınav Jürisi

- | Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) | İmzası |
|--|---|
| 1.Prof.Dr Ali Ağaçfidan | İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. |
| 2.Prof.Dr Şengül Derbentli | İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. |
| 3.Prof Dr Dilek İnanç Yaylalı | İ.Ü.Diş Hek.Fak.Temel Bilimler Bölümü |
| 4.Prof Dr Zayre Erturan | İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. |
| 5.Prof Dr Özden Büyükbaba Boral (Danışman) | İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. |

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Bio. Neşe SÖNMEZ



İTHAF

“Aileme ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Doç. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN'a, yüksek lisans eğitimime katkıda bulunan bütün hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'nda görev yapan Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ'ye ve laboratuvar çalışanlarına tek tek teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın istatistik analizlerinde yardımcı olan İstanbul Üniversitesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı'nda görev yapan M.Sc.Kamber KAŞALI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her zaman destek ve yanımda olan, çok sevdiğim değerli aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21144

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET.....	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	10
2.3. Morfoloji	10
2.3.1. Trofozoitler	10
2.3.2. Bradizoitler ve Doku Kistleri.....	13
2.3.3. Ookistler ve Sporozoitler.....	14
2.4. Yaşam Döngüsü.....	15
2.5. Bulaşma Yolları.....	17
2.6. Virülans	18
2.7. Klinik Belirtileri	20
2.7.1. ISS Hastalarda Kazanılmış Toksoplazmoz	20
2.7.2. ISB Hastalarda Kazanılmış ve Reaktif Toksoplazmoz.....	21
2.7.3. Oküler Toksoplazmoz	22
2.7.4. Hamilelikte ve Konjenital Toksoplazmoz	22
2.8. Tanı	23
2.9. Tedavi	25
2.10. İmmünoloji	28
2.11. İmmünolojik Tedavi	30

2.12. Aşı.....	31
2.13. Atovakuon	31
2.13.1. Kimyasal Yapı	31
2.13.2. Farmokokinetik ve Antiparaziter Etki Mekanizması	32
2.13.3. Yan Etkileri.....	33
2.14. Astragalus membranaceus.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	56
ETİK KURUL KARARI	67
ÖZGEÇMİŞ	68

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin önemli tarihi gelişmeleri	3
Tablo 2-2 Toksoplazmoda Tedavi Protokolleri	25
Tablo 4-1: Deney Grupları Fare Periton Sıvıları Trofozoit Sayılarının Değerleri.....	38
Tablo 4-2: Deney Grupları IL-12 Değerleri (pg/ml)	40
Tablo 4-3: Deney Grupları INF- γ Değerleri (pg/ml)	41
Tablo 4-4: Deney Grupları IL-2 Değerleri (pg/ml)	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>Toxoplasma gondii</i> trofozoiti	11
Şekil 2-2 <i>T.gondii</i> 'nin anterior ucunun büyütülmüş görüntüsü	12
Şekil 2-3 <i>T.gondii</i> 'nin Yaşam Döngüsü	16
Şekil 4-1: Deney Grupları Ortalama Trofozoit Değerleri	39
Şekil 4-2: Deney Grupları Ortalama IL-12 Değerleri	40
Şekil 4-3 : Deney Grupları Ortalama INF- γ Değerleri.....	41
Şekil 4-4: Deney Grupları Ortalama IL-2 Değerleri	42

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

µm: mikron/mikrometre

AmE: *Astragalus membranaceus* kök ekstresi

IL: İnterlökin

INF: İnterferon

NK: Natural Killer/Doğal Öldürücü

Ato: Atovakuon Tedavi Grubu

Astra: AmE Tedavi Grubu

Ato+Astra: Atovakuon ve AmE Kombinasyon Tedavi Grubu

TE:Toksoplazmik Ensefalit

HSP:Isı Şok Proteini

LAP:Lenfadenopati

ISS: İmmün Sistemi Sağlam

ISB:İmmün Sistemi Baskılanmış

MSS:Merkezi Sinir Sistemi

DYE: Boya

PZR:Polimeraz Zincir Reaksiyonu

%GI: Grow Inhibition Percentage/ Büyüme İnhibisyon Yüzdesi

SAM: *Astragalus membranaceus* Saponini

GM-CSF: Granülosit makrofaj-koloni stimüle edici faktör

ÖZET

Sönmez, N. Astragalus/Atovakuon Kombinasyonunun Akut Toksoplazmozlu Fare Modeli Tedavisine ve IL-2, IL-12, INF Gamma Düzeylerine Etkinliğinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2013.

Toksoplazmoz, immün sistemi baskılanmış hastalarda ve AIDS'lilerde ciddi klinik tablolara neden olmaktadır. Atovakuon yan etkileri az olan bir antiprotzoaldır. *Astragalus membranaceus* kök ekstresinin (AmE) immüniteyi stimüle etme etkisi ve fagositer hücrelerin aktivitesini arttırdığı, enfeksiyonlarda immünmodülatör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada; deneysel olarak *Toxoplasma gondii* ile enfekte edilen farelerde, atovakuon ve AmE tek tek ve kombinasyon olarak kullanılarak tedaviye ve IL-2, IL-12, INF gamma sitokin seviyelerine etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla her biri sekiz BALB/c fareden oluşan dört deney grubu oluşturulmuş ve tüm fareler 2×10^4 /ml *T.gondii* RH suşu trofozoiti ile intraperitoneal yolla enfekte edilmiştir. 24 saat sonra, kontrol (K) grubu dışında, Atovakuon (Ato) grubuna atovakuon, Astragalus (Astra) grubuna AmE ve Ato+Astra tedavi grubuna ise atovakuon ve AmE birlikte oral gavaj yolu ile verilmiştir. Sekizinci günde tüm farelerden alınan periton sıvıları Thoma lamında sayılarak trofozoit sayıları belirlenmiş ve serum örneklerinin IL-2, IL-12, INF gamma düzeyleri ELISA ile araştırılmıştır. Ato+Astra tedavi grubundaki trofozoit sayısı; K, Ato ve Astra gruplarındaki trofozoit sayılarından anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Ato ve Astra gruplarındaki trofozoit sayısı da K grubuna göre anlamlı derecede düşüş göstermiştir ($p < 0,05$). Astra grubu IL-2 düzeyi, diğer üç gruba göre; Astra ve K gruplarının IL-12 düzeyleri, Ato+Astra grubuna göre; ve Ato ile Ato+Astra gruplarının INF gamma düzeyleri ise K grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Sonuç olarak, ulaşılabilen literatür ışığında, akut toksoplazmozun tedavisinde atovakuon+AmE kombinasyonu etkinliğinin incelendiği ilk araştırma olan çalışmamızın bulguları, bu iki madde arasında sinerjizm olduğu fikrini vermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, *Astragalus membranaceus*, atovakuon, sinerjizm, tedavi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21144

ABSTRACT

Sönmez, N. Investigation of Combined Effectiveness of Astragalus/Atovaquone in Mice Models of Acute Toxoplasmosis and IL-2, IL-12, INF Gamma Levels. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. MSc thesis. İstanbul. 2013.

Toxoplasmosis is cause of serious clinical situations on immunspressed patients. Atovaquone is an antiprotozoal with a little side effect. *Astragalus membranaceus* root extract (AmE) has been showed as phagocytic activity enhancer, immunomodulator and immunstimulant agent. The aims of this study were to investigate the effectiveness of AmE alone and in combination with atovaquone and determine the levels of IL-2, IL-12 and INF gamma in experimentally infected mice with *Toxoplasma gondii*. Four experimental groups each consisting of eight BALB/c mice were infected intraperitoneally with 2×10^4 /ml of *T.gondii* RH strain trophozoite. After 24 hours, atovaquone was given Atovaquon (Ato) group, AmE was given Astragalus (Astra) group, atovaquone plus AmE to Ato+Astra therapy group by oral gavage. On the 8th day, number of trophozoites in peritoneal fluid and the level of IL-2, IL-12, INF gamma in serum were determined by Thoma slide and ELISA, respectively. The number of trphozoites in combination group was significantly lower than the other 3 groups ($p < 0,05$). There was a significant increase IL-2 levels in Astra group compared with other three groups ($p < 0,05$). There was a certain increase IL-12 levels in Astra and C groups compared to the Ato+Astra group ($p < 0,05$). A significant increase was found in INF gamma levels in Ato and Ato+Astra groups compared with C group ($p < 0,05$). In the light of the literature, this is the first research was to determine the effect atovaquone+AmE combination therapy in acute toxoplasmosis treatment. The present first study suggested that there might be synergy between atovaquone and AmE in the treatment of acute toxoplasmosis.

Key Words: *Toxoplasma gondii*, *Astragalus membranaceus*, atovaquone, synergy, therapy

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 21144

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Toksoplazmoz, dünyada yaygın olarak bulunan *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu bir enfeksiyondur. *T.gondii*, insan, çeşitli memeli hayvanlar ve kuşlarda nükleusu olan her hücreye yerleşerek enfeksiyona neden olur (1).

Alaska'dan Avustralya'ya dünya üzerinde çok geniş bir yayılıma sahiptir ve insanların üçte birini etkilediği düşünülmektedir (2). Welch'e (3) göre dünyada yetişkin nüfusunun %40'ı enfektedir. Ülkemizde bu konuda aralarında İstanbul'un da bulunduğu farklı şehirlerde yapılan çalışmalarda seropozitiflik oranları %28,2 ile %57,6 arasında değişkenlik göstermektedir (4-9).

Toksoplazmoza karşı savunmada hücresel ve humoral immün yanıt rol oynamaktadır. Savunmada konak direncinin interferon gama (INF- γ) ve interlekin (IL)-12 düzeyi ile ilişkili olduğu laboratuvar hayvanlarında yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (10,11). Ayrıca yapılan çalışmalarda toksoplazmoza karşı, INF- γ 'nin en etkili sitokin olduğu ve INF- γ salgılanmasıyla da, IL-12, IL-2, IL-7 gibi sitokinlerinde indirekt olarak salgılandığı ve toksoplazmoza karşı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (12).

İnsana bulaşma; *T.gondii* doku kistleri içeren etlerin çiğ ve/veya az pişmiş olarak yenilmesi, kedi dışkıyla atılan ookistler ile kontamine su ya da gıdaların sindirim yoluyla alınmasıyla olur. Ayrıca hamilelik döneminde anneden fetusa konjenital olarak, kan transfüzyonu, organ transplantasyonu gibi çeşitli yollarla da bulaşma olabilmektedir. *T.gondii* insanda ilk olarak retiküloendoteliyal sistem hücreleri içinde çoğalır, kas, göz ve beyin gibi birçok dokuda ise doku kistleri geliştirebilmektedir(1). Hamilelik esnasında plasentadan bulaşma; ölü doğum ve düşüğe; enfeksiyonlu doğan bebeklerde ise hidrosefali, mikrosefali, koriyoretinit, akli gerilik, epilepsi gibi ciddi klinik tablolara neden olmaktadır (13). AIDS'li ve immünyetmezlikli hastalarda da görülen *T.gondii*, toksoplazmik ensefalit (TE)'e neden olarak ölümle sonuçlanabilmektedir. İmmün yetmezlikli hastalarda reaktivasyona karşı, hayat boyu devam edilen ilaç tedavileri ve yan etkileri nedeniyle hastanın yaşamını zorlaştırmaktadır (14-16).

Atovakuon günümüzde "anti-protozoal" etkisi için kullanılan naftokinon yapısında antiparaziter bir ajandır. Oldukça az yan etkiye sahiptir ve oluşan yan etkileri de tedavi sürecinde kendiliğinden kaybolmaktadır. Kemik iliği baskılanması veya

gastrointestinal floranın bozulması gibi ciddi yan etkileri yoktur. Atovakuon deney hayvanları üzerinde *T.gondii* trofozoitleri ile doku kistlerine karşı etkili bulunmuş (17,18) ve pirimetamin, sülfadiazin, klindamisin gibi ilaçlarla kombine edildiğinde daha etkin olduğu belirlenmiştir(19,20).

Çalışmamızda atovakuon ile kombinasyon olarak kullandığımız *Astragalus membranaceus* kök ekstresi (AmE) geleneksel Çin tıbbında yüzyıllardır immün sistemi kuvvetlendirmek için kullanılan bir bitkidir.Günümüzde yapılan birçok araştırma bu durumu desteklemektedir(21).

Bu çalışmada, deneysel olarak *T.gondii* ile enfekte edilen farelerde, atovakuonun ve immünmodülatör etkisi olan AmE'nin tek başına ve atovakuon ile kombinasyon şeklinde uygulanmasıyla, trofozoit canlılığına ve IL-2, IL-12, INF- γ sitokin düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

1908 yılında bulunuşundan bu yana dünyada yaygın olarak görülen *T. gondii*, hem insan hem de hayvan sağlığı bakımından önemini yitirmeyen bir protozoonur. Charles Nicolle ve Louis Manceaux tarafından bulunan bu protozoon 1909 yılında yine aynı araştırmacılar tarafından, trofozoitlerinin yay görünümünden esinlenerek yay (toxon), şeklinde (plasma) anlamına gelen “toxoplasma”yı cins, ilk bulunduğu kemirgenin tür adı olan *Gundii*’yi ise tür adı olarak birleştirmişler ve *Toxoplasma gondii* olarak isimlendirmişlerdir(22).

Türkiye’de ilk kez 1950’de Akçay ve arkadaşları tarafından bir köpekte belirlenmiştir. 1953 yılında Unat ve arkadaşları tarafından insanda histopatolojik olarak gösterilmiştir. Parazitin Türkiye’de ilk izolasyonu ise bir köpekten 1973 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yapılmıştır (23,24). *T.gondii* ile ilgili evrensel tarihi gelişmeler tabloda sunulmuştur (Tablo 2-1).

Tablo 2-1: *Toxoplasma gondii*’nin önemli tarihi gelişmeleri (25)

Bulunanlar	Referanslar
Etiyolojik Faktörler	
Tunus’ta <i>Ctenodactylus gundii</i> adında bir rodente protozoonun bulunması	Nicolle ve Manceux (1908)
Protozoonun Brezilya’da bir tavşanda bulunması	Splendore (1908)
<i>Toxoplasma gondii</i> ’nin taxon=yay, plasma=şekil isminden esinlenerek isimlendirilmesi	Nicolle ve Manceux (1909)
Hayvandan ilk canlı <i>T.gondii</i> izolasyonu	Sabin ve Olitsky (1937)
İnsandan ilk <i>T. gondii</i> izolasyonu	Wolf ve arkadaşları (1939)

Bulunanlar	Referanslar
İnsan ve hayvan <i>T.gondii</i> türlerinin ayırt edilmesi	Sabin (1941)
Hidrocefaliyi içeren, toksoplazmoz patogenezi	Frendel ve Friendlander (1951) Frenkel (1953,1956)
Parazit Morfolojisi ve Hayat Döngüsü	
Trofozoit (Takizoit,beslenme,çoğalma formu)	
Tachyzoite (Takizoit) (Tachy:hızlı, zoite: yaşam, hayat) teriminin oluşması	Frenkel (1973)
Endodiyogoninin bulunması	Goldman ve ark. (1958)
Ultrastrüktüel yapıların bulunması	Gustafson, Agar ve Cramer (1954) Sheffield ve Melton (1968)
Doku kisti, Bradizoit	
Kistlerin bulunması	Levaditi, Schoen ve Sanchis Bayarri (1928)
Sitolojik olarak kistlerin tanımlanması	Frenkel ve Friendlander (1951), Frenkel (1956)
Ultrasütrüktür yapısının tanımlanması	Wanko ve ark. (1962), Ferguson ve Hutchison(1987)
Bradyzoite (Bradizoit) terimi kullanıldı (Bradys=yavaş, zoon=hayvan)	Frenkel (1973)
Doku kisti terimi kullanıldı	Dubey ve Beattie (1988)
Bradizoitlerin dirençli olduğu sindirim enzimi bulundu	Jacobs ve ark. (1960)
Doku kistleri ve bradizoitlerin gelişimleri tanımlandı	Dubey ve Frenkel (1976)
Bradizoit ve doku kistlerinin biyolojik özellikleri ile ilgili bilgiler tamamlandı	Dubey ve arkadaşları (1998)

Bulunanlar	Referanslar
Kedigillerde Enteroepitelial Aşaması	
Koksidiyan fazı tanımlandı	Frenkel, Dubey ve Miller (1970), Hutchison ve ark. (1970), Dubey ve Frenkel (1972), Sheffield ve Melton (1970)
Ookist morfolojisi tanımlandı	Dubey ve ark. (1970)
Beş aseksüel <i>T.gondii</i> tipi (A-E) tanımlandı	Dubey ve Frenkel (1972)
Koksidiyan aşamasının ultrastrüktür yapısı tanımlandı	Sheffield (1970), Piekarski, Pelster ve Witte (1971), Ferguson ve ark. (1974,1975, 1979 a,b), Christie, Pappas ve Dubey (1978), Speer, Clark ve Dubey(1998), Speer ve Dubey (2005)
Bulaşma Yolları	
Konjenital	
İnsanda bulaşma gösterildi	Wolf ve ark. (1939)
Ev faresinde tekrar eden bulaşma gösterildi	Beverly (1959)
Geniş vahşi hayvanlardan, beyaz kuyruklu geyiklerde konjenital bulaşma olduğu gösterildi	Dubey ve ark. (2008)
Karnivorizm (arakonaklarda et yenmesi ile)	
Karnivor bulaşma olduğu önerildi	Weinman ve Chandler (1954)
İnsanda et yoluyla bulaşma gösterildi	Desmond ve ark. (1965)
Fekal-Oral Bulaşma	
<i>T.gondii</i> 'nin dirençli dışkı formları ile bulaşması gösterildi	Hutchison (1965)
Koksidiyan fazı tanımlandı	Hutchison ve ark (1970,1971),Frenkel ve ark. (1970), Dubey ve ark. (1970 a,b),Sheffield ve Melton (1970),Overdulse (1970)

Bulunanlar	Referanslar
Kedigiller tarafından atılan ookistler, son konak ve ara konakları tanımlandı	Frenkel ve ark.(1970) Miller ve ark.(1972) Jewel ve ark.(1972)
Ookistlerin inhalasyonu ve yenilmesiyle, ilk toksoplazmoz salgını tanımlandı	Teutsch ve ark.(1979)
Genetikleri ve farklı genetikli <i>T.gondii</i> suşları	
Rekombinant ve genetik çaprazlama ürünlerinin üretilmesi	Pfefferkom ve Pfefferkom (1980)
<i>T.gondii</i> suşlarının ayırt edilmesinde izoenzim farklılıklarının kullanılması	Darde ve ark.(1987), Tıbayrene ve ark.(1991)
RFLP yöntemi ile <i>T.gondii</i> suşları 3 tipe (I,II,III) ayrıldı	Sibley ve ark.(1992), Howe ve Sibley (1995)
Ulusal, kıtalar, kıtalar arası ve pandemik <i>T.gondii</i> suşları gruplandırıldı	Leishmann ve ark.(2006)
<i>T.gondii</i> genom dizini açıklandı	Khan ve ark. (2005)
İmmünite ve Korunma	
<i>T.gondii</i> nötralize eden antikorlar bulundu	Sabin ve Ruchman (1942)
Ekstrasellüler olarak <i>T.gondii</i> 'yi öldüren antikorlar bulundu	Sabin ve Feldman (1948)
İmmün lenfoid hücreleri tarafından düzenlenen immünolojik koruma mekanizması bulundu	Frenkel (1967)
İmmünolojik korumada başlıca sitokinin interferon γ olduğu bulundu	Suzuki ve ark (1988)
Korunmada CD4+ ve CD8+ hücrelerinin rolü tanımlandı	Gazinelli ve ark.(1991)
İnsanlarda Toksoplazmoz	
Konjenital	
İlk kanıtlanmış konjenital toksoplazmoz vakası	Wolf ve ark (1939)

Bulunanlar	Referanslar
Tipik dörtlü klinik belirtileri tanımlandı (Hidrosefali, Korioretinit , Mikrosefali, İntraserebral kalsifikasyon) Edinilmiş Olanlar Çocukta ilk olay Yetişkinlerde fatal toksoplazmozun bulunması Lenfadenopatinin en sık rastlanan semptomlar arasında olduğu belirlendi AIDS hastalarının toksoplazmoza karşı hassasiyetleri belirlendi Kronik Enfeksiyon Otopsi kesitlerinde kistler bulundu, kronik asemptomatik enfeksiyon gösterildi Diğer Hayvanlarda Toksoplazmoz Evcil hayvanlarda, köpeklerde toksoplazmoz bulundu Köpeklerde immunsuprese Canine Distemper Virusun klinik toksoplazmozunu etkilediği sonucu bulundu Koyunlarda yaygın toksoplazmoz düşüklerinin olduğu belirlendi Hayvanlardaki toksoplazmoz kritik olarak gözden geçirildi Toksoplazmozun deniz memelilerinde, su samurlarında ortak enfeksiyon nedeni olduğu belirlendi Tanı Novel Sabin-Fieldman boya testi bulundu	Sabin (1942) Sabin (1941) Pinkerton ve Weinman (1940) Siim (1956), Beverly ve Beattie (1958) Luft ve ark.(1983) Plaut (1946), Kean ve Crocott (1947) Mello (1910) Campbell, Martin ve Gordon (1955) Hartley ve Marshall (1957) Dubey ve Beattie (1988) Cole ve ark.(2000) Sabin ve Fieldman (1948)

Bulunanlar	Referanslar
<i>Toxoplasma</i> deri testi muayene yöntemi olarak kullanıldı	Frenkel (1948)
Kordon kanından IgM antikorlarını tespit eden testler geliştirildi	Remington ve ark.(1968) Desmonts ve ark.(1981)
Basit direk aglutinasyon testi geliştirildi (DAT,MAT)	Desmonts ve Remington (1980), Dubey ve Desmonts(1987)
Standart parazit suşundan izole edilen ilk serolojik test değerlendirilmesi yapıldı	Dubey ve ark.(1995a), Dubey (1997)
B1 geni kullanılarak PCR testi <i>T.gondii</i> DNA'sını belirlemek için geliştirildi	Burg ve ark. (1989)
Tedavi	
Sülfonamidler <i>T.gondii</i> 'ye karşı etkili bulundu	Sabin ve Warren (1942)
Pirimetamin , sülfonamidlerle trofozoitlerin bölünmesine karşı sinerjist bulundu	Eyles ve Coleman(1953)
Folik asit ve mayanın, sülfadiazin ile primetaminin aktivitesini iyileştirdiği bulundu	Frenkel ve Hitching (1957)
Spiramisin anti-toksoplazmik olduğu bulundu	Garin ve Eyles (1958)
Klindamisin anti-toksoplazmik olduğu bulundu	Mc Master ve ark. (1973), Araujo ve Remington (1974)
Korunma ve Kontrol	
Profilaktik tedavi ve konjenital toksoplazmozu düşürmek için Avusturya ve Fransa'da hamile kadınlar tarandı	Thalhammer (1973, 1978), Desmonts ve Couvreur (1947 a, b)
Açıkta bulunan ookistlere karşı insanların hijyen ölçüleri belirlendi	Frenkel ve Dubey (1972)
Etteki <i>T.gondii</i> 'yi öldüren ısı aralıkları (pişirme, dondurma ve ışık düzenekleri aracılığıyla) belirlendi	Dubey ve ark. (1986, 1990), Katula ve ark. (1991)

Bulunanlar	Referanslar
Çiftlik hayvanlarında <i>T.gondii</i> enfeksiyonunu düşürmek için hayvan ürünlerinde gelişmeler yapıldı	Dubey ve ark. (1995 b), Weigel ve ark.(1995)
İnsanlardaki düşen <i>T.gondii</i> seroprevalans değerleri, domuzlardaki düşük <i>T.gondii</i> prevalansı ile karşılaştırıldı	Dubey ve ark. (2005), Jones ve ark. (2007)
Aşılama	
Koyun ticaretinde düşükle oluşan kayıpları azaltmak için aşı geliştirildi	Wilkins ve O'Cannell (1983), Buxton ve Imes (1995)
Ara konaklar için Ts-4 aşısı	Woldeland ve Frenkel (1983)
Kedilerin attığı ookistlere karşı koruma için T-263 aşısı	Frenkel ve ark (1991)

1941 yılında Sabin, Cincinnati, OH'da, 22 Ekim 1937'de beyzbol sopası ile vurulan asemptomatik 6 yaşındaki çocukta ilk RH suşunu tanımlamıştır.Çocukta bir gün sonra konvulsiyon, iki gün sonrada baş ağrısı gelişmiştir. Açık klinik belirti olmaksızın yedinci günde hastaneye kabul edilen çocukta; lenfadenopati ve büyümüş dalak dışında anormal bir bulgu bulunmamıştır. Daha sonra nörolojik belirtiler gelişmiş ve hastalığının 30. gününde ölüm gerçekleşmiştir. Beyin ve spinal kordu, histopatolojik ve biyolojik araştırmalar için alınmıştır. Polio virüs enfeksiyonu şüphesi nedeniyle serebral korteksin homojenatı farelere enjekte edilmiş ve inokule edilen farelerden *T.gondii* izole edilmiştir. Çocuktan ilk olarak izole edilen bu izolat; *T.gondii* RH suşu olarak tanımlanmıştır. Beynin mikroskopik incelenmesinde kalsifikasyonsuz, yaygın olmayan küçük lezyonlar görülmüştür. Bu çocuktan izole edilen RH suşu 1938'den beri dünyada bir çok laboratuvarıda fare pasajı yapılmaktadır(25). Süregelen bu pasajlardan sonra fareler için patojenitesi değerlendirilmiş ve kedilerde ookist üretme kapasitelerini kaybettikleri belirlenmiştir (26).

2.2. Sınıflandırma

Alem: Protozoa

Şube : Apicomplexa

Sınıf: Conaidasida

Alt Sınıf: Coccidiasina

Takım: Eucoccidiasina

Alt Takım: Eimeriorina

Aile: Sarcocytidae

Cins: Toxoplasma

Tür: gondii (*Toxoplasma gondii*) (27,28).

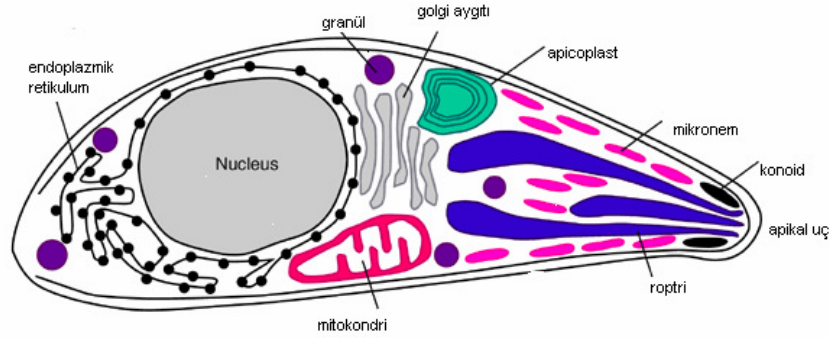
2.3. Morfoloji

İnsanlarda ve diğer tüm ara konaklarda, trofozoitler (takizoit, endozoit) ve doku kistleri (bradizoitler) bulunurken son konak olan kedigillerde bu formlara ek olarak bir de ookist formları bulunmaktadır (29).

2.3.1. Trofozoitler

Nicolle ve Manceaux'nun 1909'da *Gundii*'de buldukları *T.gondii*'nin yarım ay şeklindeki formudur. Bu aşamaya ayrıca takizoit, proliferatif form, beslenme formu, endozoit isimleri de verilmektedir (25). 2-4 µm genişliğinde, 4-8 µm uzunluğundadırlar (30). Enfeksiyonun akut formu olan trofozoitler, son konakların (kedigillerin) intestinal olmayan epitel hücrelerinde ve ara konakların (memeli hayvanlar ve insanların) çekirdeksiz her hücresinde hızla çoğalırlar (22,31). Trofozoitlerin ön uçları (konoidal) sivri, arka uçları ise oval yapıdadır. Yaşamak ve çoğalmak için hücre içine yerleşen trofozoitlerin tek nükleusları, genellikle arka uca doğru ya da hücrenin merkezine doğru yerleşim gösterirler (14). Trofozoit sitoplazması içerisinde bulunan endoplazmik retikulum, genelde sarmal veya karşılıklı düz kanallar şeklinde ve nükleus zarı ile temas halinde bulunur. Sitoplazma içinde, nükleus üzerinde yumak şeklinde belirgin bir golgi

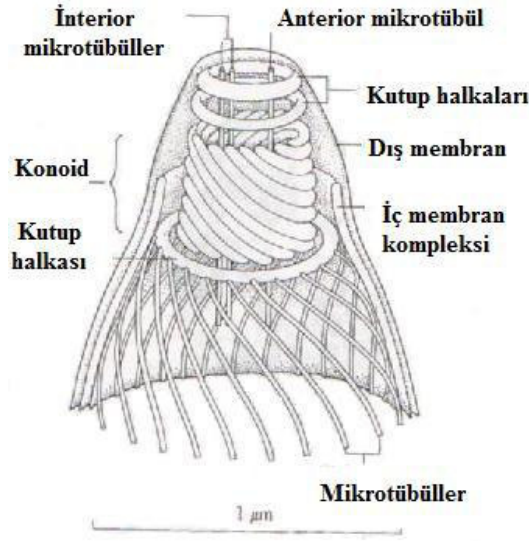
aygıtı ve sitoplazmanın her tarafında bulunabilen parmak şeklinde bölmeli süngere benzeyen mitokondriler ile vakuoller; roptirler arasında küçük vesikül şeklinde mikronemler bulunmaktadır. Mikronemlerin, parazitin konak hücrelerine girmesi esnasında sekresyon görevini üstlendikleri ve içeriklerini parazitofor vakuole boşalttıkları düşünülmektedir (14,32). Mikronemlere, taxonem adı da verilmekle birlikte genellikle parazitin ön ucunda bulunmaktadır (2) (Şekil 2-1).



Şekil 2-1: *Toxoplasma gondii* trofozoiti (33)

Trofozoiti dıştan çevreleyen ve pelikül olarak adlandırılan hücre zarı, üç katlı membrandan oluşmaktadır. Dışta bulunan membran sürekli olup hücre hareketiyle değişmemekte; iki kat membrandan oluşan içteki zar ise değişerek (ozmofilik olarak kalınlaşarak) parazitin anterior ve posteriorunda kutup halkası (polar halka) adı verilen oluşumları meydana getirmektedir. Polar halka, 6-8 fibriler elementten oluşan, ileri atılmak için basıklaşmış, silindirik şekilli konilerle (konoidlerle) çevrilidir. Ayrıca hücre yüzey zarları mikrotübüllere açılan mikroporlara da sahiptirler(2,14,34).

Pelikül altında 22 tane mikrotübül bulunur. Hücre içine doğru helozonik kıvrımlar oluşturan ve hücre beslenmesinde rol alan mikrotübüller, ön uçtaki kutup halkası üzerine dizilmiş şekilde, tüm vücut boyunca uzanmaktadırlar. Mikrotübüllerin hücre hareketiyle ilgili oldukları bildirilmekle birlikte hücre iskeletini oluşturmada da görevli olduğu düşünülmektedir(2,14,33) (Şekil 2.2).



Şekil 2-2 *T.gondii*'nin anterior ucunun büyütülmüş görüntüsü (33)

Trofozoitlerin ön, sivri ucunda kesik koni biçimindeki yapıya konoid adı verilir. Konoidin parazitin beslenmesinde ve konak hücre sine girişte, sekresyon salgılanmasında görevli olduğu düşünülmektedir. İnce uzun kesecikler (sopalar) şeklinde, her trofozoit içinde 4-10 tane (2,34) olan, konoidin içinde sonlanan organellere “rhoptri” denir (2,14,34). Rhoptrilerin bezimsi ve labirentimsi bir yapıları vardır, genellikle ön ucun dar kısmında 2,5 µm büyüklüğündedirler. Rhoptriler, konak hücreye bağlanma görevinde salgılama fonksiyonuna sahiptirler, içeriklerini konoidin içinden dışarıya doğru salgırlarlar(2).

Trofozoitler, konak hücreye, hücre membranına aktif bağlanarak girerler. Konak hücreye girdikten sonra trofozoitler ovalleşmeye ve hem parazitten hemde konak hücreden kaynak alan parazitofor vakuolle çevrenmeye başlarlar. Sayısız intravakuol tübülü, parazitofor vakuol membranıyla parazitin zarı arasında bağlantı kurar(2,14).

T. gondii trofozoitleri akış ile (kayma, süzülme), dalgalanma ve dönerek hareket etmektedirler (2). Kuruluğa, donmaya, çözünmeye ve gastrik salgılara duyarlı olup, gastrik salgı içinde birkaç dakikada, triptik sindirim sıvılarında 3 saat kadar canlı kalabilmektedirler. Laboratuvar ortamında fare peritonunda, embriyonlu tavuk yumurtasında, memeli hücre kültüründe yaşamını sürdürebilmekte ve çoğalabilmektedirler (14). Hücre içi yerleşim gösteren *T.gondii* trofozoitleri tekrarlayan endodiyogeni (yunanca; endo=iç, dyo=iki, genesis=doğum) ile aseksüel olarak çoğalırlar. Endodiyogeni ile iki yavru hücre oluşumu tamamlanmadan, 4-6 saatlik aralarla tekrarlayan nükleer bölünmeler rozet görünümüne yol açmaktadır. Özelleşmiş

üreme formu ise ana parazitin içinde iki progeni (yavru hücre) oluşması ve ana parazitin tamamen ortadan kaybolmasıyla olur(2,14,35).

Trofozoitler konak hücre parazitle dolana kadar endodiyogeni ile çoğalmaya devam eder (14), sitoplazma trofozoitlerle dolduğunda konak hücre parçalanır ve trofozoitler serbest kalarak diğer hücrelere invaze olur ya da fagositte edilirler (29).

Trofozoit formu güçlü inflamatuvar cevaba neden olur, doku yıkılır ve bu da hastalık klinik belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur (30). Yeterli çoğalmadan sonra immün cevabın baskısıyla *T.gondii* trofozoitleri, bradizoitlere ve doku kistlerine dönüşürler (2,14,30).

Kistler kronik enfeksiyon formlarıdır ve kist duvarları içindeki bradizoitler Periodik Asit-Schiff boyamada güçlü pozitiflik verirler. Akut faz boyunca, kist gibi görünen takizoit grupları görülebilir fakat Periodik Asit-Schiff boyada güçlü pozitiflik vermezler ve bu yapılar “pseudokist” olarak adlandırılırlar (22,31).

2.3.2. Bradizoitler ve Doku Kistleri

Konağın immün sisteminin devreye girmesi ile trofozoitler immün yanıtta kaçmak ve metabolik ihtiyaçlarını en aza indirmek için kist ve içinde yavaş yavaş çoğalan formlara, bradizoitlere(kistozoit) dönüşmektedirler. Kist oluşumunda immünite gelişiminin tek faktör olmadığı, yeni doğanlarda 7-8. günlerde kist saptanmasından, antikor ve komplemandan yoksun doku kültürlerinde parazitin kist oluşturmamasından anlaşılmaktadır (36). Bradizoitler, konağın hayatı boyunca canlılıklarını sürdürebilirler. Trofozoitlere morfolojik olarak benzeyen ve ilk haftadan sonra görülmeye başlanabilen bradizoitler, farklı olarak daha yavaş çoğalırlar. Paraglikojen vakuollerince zengindirler ve faza özgün molekülleri eksprese ederek fonksiyonel olarak farklılık gösterirler. Tüm dokulara yerleşebilen kistlerin beyin, iskelet ve kalp kasında daha sık görüldüğü, beyindekilerin daha yuvarlak, kas liflerindeki ise daha uzun olduğu bildirilmektedir. Bradizoitler kistten serbest kalınca trofozoit şekillere dönerek özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde enfeksiyonun tekrar aktive olmasına neden olurlar(2,14).

Trofozoitler gibi konak hücre vakuolünde yerleşen doku kistlerinin bazen birkaç bazen de binlerce bradizoit içererek 200 µm çapa ulaşabildiği görülmüştür. Değişken olan kist boyutları, nöral dokularda 60 µm'ye ulaşabilmektedir.

Araştırmalarda kist duvarının peptik ve triptik etki sonucu bozulması ile serbestleşen bradizoitlerin pepsin-hidroklorik asit içinde 2 saat, trpsin içinde yaklaşık 6 saat canlı kalabildiğini, sindirim periyodunun mide ve duodenum bölümünü hasarsız geçtiği gösterilmiştir. Kistler; donma, çözünme, kuraklık gibi şartlarda, 66°C 'nin üstünde ve -12°C'nin altındaki ısılarda ölürken, 4°C'de ise 2 ay canlı kalabilmektedirler (14,36).

2.3.3. Ookistler ve Sporozoitler

Son konak olan kedigillerin barsağındaki enteroepitelyal döngünün sonunda oluşan *T.gondii* formuna “ookist” denir. Oval 10-12 µm boyutlarındadırlar ve iki tabakalı çeperleri bulunur. Ookistlerin enfektif hale gelmeleri için kedi dışkılarıyla dışarı atıldıktan sonra uygun koşullarda olgunlaşmaları gerekmektedir. Bu olgunlaşmaya “sporulasyon” denir ve vücudun dışında gerçekleşir. Ortamın ısısı ve oksijenine göre sporulasyon süresi değişmekle birlikte; uygun şartlar altında sporulasyonun 1-21 gün sürdüğü, bu sürenin 24 °C'de 3, 15°C'de 5-8 , 11°C'de 14-21 gün olarak değiştiği bildirilmektedir. 4°C'nin altında ve 37°C'nin üstünde ise sporulasyon gerçekleşmemektedir (30,36).

Sporulasyon sonucunda, ookistler içinde her birinde 4 sporozoit (8 x 2 µm) bulunan 2 sporokist (8,5 x 6µm) oluşur (28,29). Olgunlaşan ookistlerin, içerisinde toplam 8 sporozoit ile nemli topraklarda ve uygun ısılarda, 1 yıl ve daha fazla canlı kalabildikleri, kaynar suda ve amonyum sülfat içinde öldükleri, ancak klorlanmaya, laboratuvar dezenfektanlarına, asit ve alkali temizlik maddelerine karşı dirençli oldukları bildirilmiştir (28).

2.4. Yaşam Döngüsü

Son konak olan kedigiller dışkılarıyla ookistleri çevreye yayarlar ve uygun çevre koşullarında gerçekleşen sporulasyondan sonra ookistler enfektif hale geçerler. Ara konakların ve son konak olan kedigillerin bu ookistleri, kontamine yiyecek veya sularla ağız yolundan almasıyla yaşam döngüsü başlar (Şekil 4-1).

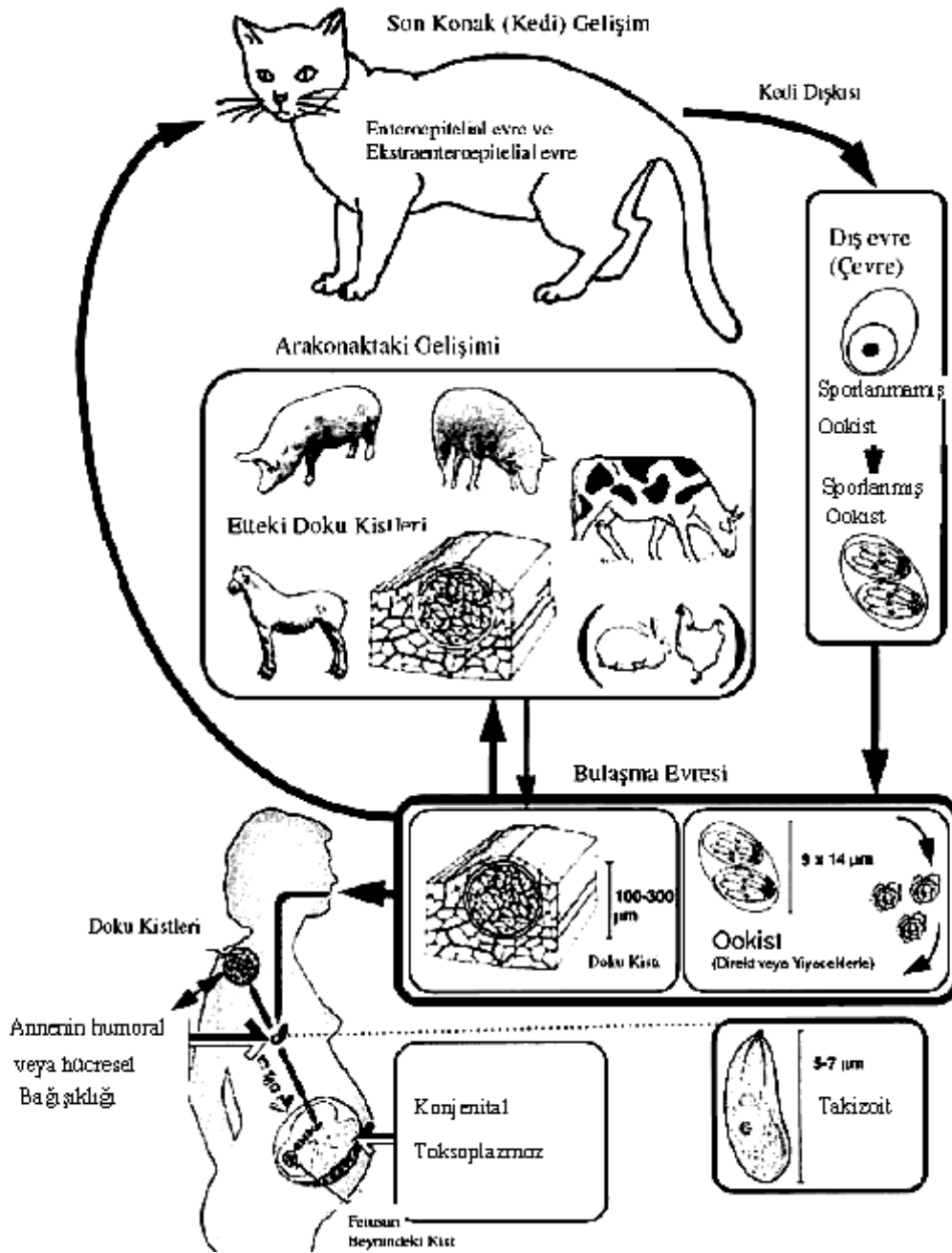
Mide salgısını kolaylıkla geçen ookistlerin, ince barsaklardaki sindirim enzimlerinin etkisiyle kalın duvarları erir, sporokistlerin parçalanmasıyla serbest kalan sporozoitler, bağırsak mukozası epitel hücreleri içine girerek şizogoni veya endodiyogoni ile eşeysiz olarak çoğalır ve trofozoitler ile bradizoitleri oluştururlar. *T.gondii*'nin eşeysiz çoğalma şekli kedigillerle sınırlı olmayıp, bütün ara konaklarda, görülmektedir. Bu evre birkaç kez tekrarlandıktan sonra, kedigillerde bağırsak epitel hücreleri içine giren trofozoitler eşeyli üremeyi başlatırlar (37). Parazitin bradizoit şekilleri yine ince bağırsak epitel hücreleri içinde gametosit şekline dönüşür ve gametositlerden makro ve mikro gametler meydana gelir. Mikrogametler ince uzun iğ şeklinde olup iki kamçısı bulunur (38,39). Epitel hücrelerini terk eden mikrogametlerden bir tanesi kamçılarıyla hareket ederek, yine epitel hücresi içinde bulunan makrogameti bulur ve döller. Döllenme sonucu oluşan kalın çeperli zigot bir süre daha epitel hücresi içinde kaldıktan sonra bağırsak lümenine geçer ve bağırsak lümeninde görülen bu şekle ookist adı verilir (40).

Trofozoitler kanla konak vücuduna girdiklerinde nükleuslu konak hücrelerine de girebilirler veya mukoza epitel hücrelerine girdiklerinde; trofozoit endodiyogoni ile çoğalır ve konak hücre içinde yalancı kistler oluşturabilirler. Bu kistler parçalanır ve serbest kalan trofozoitler tekrar hücrelere girerek çoğalmaya devam eder (41).

Kediler tarafından ookist atımının, enfeksiyonun 5-8. günlerinde tepe noktasına ulaştığı ve yaklaşık 7-20 gün sürdüğü, bir günde atılan ookist sayısının 10 milyona ulaşabildiği bildirilmiştir (36). Kedilerde de konjenital enfeksiyon meydana gelebilmektedir. Konjenital olarak enfekte olan kedi yavruları da ookist atabilirler ve çevre kontaminasyonuna sebep olabilirler. Enfekte kedilerin oranları, o bölgedeki kuş ve kemirgen popülasyonunun enfekte olma oranı ile paralellik göstermektedir. Kediler onları avlayarak enfekte olabilmektedirler. Deniz memelilerinin *T.gondii* ile enfekte

olması, deniz suyunun kontamine olabildiği ve ookistlerin deniz suyunda da canlı kalabildiğini düşündürmektedir (42).

Ara konaklar olan insan ve memeli hayvanlar, kuşlar, trofozoitlerle ve hayvanların etlerindeki doku kistleriyle *T.gondii*'nin enfektif formlarını çevreye yayarlar, bunların diğer ara konaklara ve son konak olan kedigillere bulaşmasıyla yaşam döngüleri devam eder (Şekil 4-1).



Şekil 2-3 *T.gondii*'nin Yaşam Döngüsü (43)

2.5. Bulaşma Yolları

T.gondii'nin hayat döngüsü hakkındaki bilgiler, kedigillerin ince bağırsaklarındaki seksüel fazın bulunmasıyla tamamlanmıştır. Gametogoni ve şizogoni sonucunda oluşan *T.gondii* ookistleri, fekal-oral bulaşmada önemli yere sahiptir(14,25). Çevrede bulunan ookistli dışkılarla, insanlarda birçok salgın gerçekleşmiştir(25).

Konjenital toksoplazmozun insanda, bir çocukta ilk olarak tanımlanmasından sonra koyun, keçi, ve kemiriciler gibi birçok hayvanda da gerçekleşebildiği gösterilmiştir. Konjenital enfeksiyonun bazı fare türlerinin enfeksiyonlu döllerinde en az 10 kuşak tekrar edebildiği gösterilmiştir (25). Diğer yandan konjenital bulaşmaları, dünyada insan ve hayvanlarda yaygın görülen *T.gondii* enfeksiyonunu açıklamak için yeterli olmamış, Weinman ve Chandler (25), özellikle domuz, koyun, geyik etlerinin çiğ veya az pişmiş olarak yenmesiyle sindirim yoluyla da bulaşabileceklerini belirtmişlerdir. Desmonts ve arkadaşları (25) epidemiyolojik olarak, çiğ et yeme alışkanlıkları olan belli bölgelerde yaşayan insanlarda ise daha yaygın olarak gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir (14).

Trofozoitlerin dış ortam koşullarından ısıya karşı çok duyarlı olduğu bilinmekle birlikte uygun şartlarda fare periton sıvısında, buzdolabında 10 gün canlı kalabilmektedirler (37). Remington ve arkadaşlarına (36) göre trofozoitlerin enfekte insanın kan, idrar, gözyaşı, burun akıntısı, tükürük, seminal sıvı ve süt gibi salgılarında bulunabildiği ve hastalığın bulaşmasında bu etkenlerinde rol oynayabilecekleri; göz yaşında 4 gün, idrarda 7 gün, sütte 6 gün ve tükürükte 5 gün canlı kalabildikleri bildirilmiştir. Mukoza yoluyla vücuda girebilen 10 trofozoitin hastalık oluşması için yeterli olduğu yayınlanmıştır (14,37).

Ancak enfeksiyonun bulaşmasında kanda ve sütte bulunan trofozoitlerin daha etkili rol oynadıkları ve bu nedenle kan transfüzyonlarında çok dikkatli olunması ve pastörize süt içilmesi önerilmektedir (37).Trofozoit içeren kaynatılmamış veya pastörize edilmemiş süt ile alınan trofozoitlerin mide salgısında canlı kalabilmeleri mümkün olmadığından özellikle enfekte keçi sütü ile bulaşan trofozoitlerin ağız mukoza hücrelerine girerek enfeksiyona neden olabilecekleri bildirilmektedir (41). Bulaşma ayrıca organ transplantasyonu sırasında da gerçekleşebilmektedir (30,44).

Tavuk ile güvercin eti ve organlarından *T.gondii* izole edilmiş olması (14), çiftlik ürünleri ve tavuk yumurtasından da bulaşma riskini oluşturmaktadır (44). Benzer şekilde enfekte olma riski bulunan bütün hayvanlarla yapılan, kürklerinin işlenmesi, kesim gibi işlemler sırasında da dikkatli olunması gerekmektedir (14).

Ayrıca laboratuvar kazaları esnasında enjeksiyon iğnesinin batmasıyla da bulaşma gerçekleşebilmektedir (41,44,).

2.6. Virülans

T.gondii, hücreleri parçalayarak hastalığa neden olmaktadır. Nekrozlar bu parçalanmış hücrelerin çoğalmasıyla oluşur. *T.gondii*, konak immün yanıtına etki ederek hastalık tablosunun gelişimini kolaylaştırabilmektedir. Konaktaki trofozoit aktivitesini kontrolde görevli olan IL-12'ye bağlı immün sistem cevabını baskırlar. Bu durum da *T.gondii* yayılmasına yardımcı olur (30, 45).

İn-vivo şartlarda virulans konağın savunması ve parazitin antijenik özelliğine bağlı olarak değişiklik gösterir. Howe ve Sibley'e (46) göre parazitin 3 tipi vardır, bunlar; Tip 1, Tip 2 ve Tip 3'tür. Fareye inokule edilen 10 taneden az Tip 1 *T.gondii* trofozoiti, enfeksiyona neden olmaktadır. Bölünmeleri 5 saatte bir olmakta ve enfeksiyon bazen 1-2 hafta içerisinde farenin ölmesiyle sonuçlanabilmektedir. Tip 2 ve Tip 3'ün ise fareler için avirulan olduğu ve bölünmelerinin yavaş, hücre zararının ise en az seviyede olduğu bildirilmiştir. İnsandaki *T. gondii* tiplerinin virülans durumları ise farelerden farklıdır.

İnsan için Tip 1 nadir izole edilir, dissemine enfeksiyonlara neden olur . Tip 2 en çok izole edilen tiptir, toksoplazmoz olgularının %80'inden ve konjenital enfeksiyonlardan sorumludur. Fetus için çok patojendir. İmmün sistemi baskılanmış (AIDS'li , organ transplantlı ve lenfomalı) hastalarda, serebral toksoplazmoz olgularının %75'i Tip 2, %15'i ise Tip 1 ile gelişirken, geri kalan olgularda Tip 3 rol oynar (46,47,48).

Virülans faktörleri genel olarak konak hücreye giriş, hastalık yapma, konak hücre savunmasına karşı direnç olarak kendini göstermektedir.*T.gondii*'nin virulansına etki eden faktörler aşağıda sıralanmıştır.

a. Konak hücre içerisinde çoğalıp patlatma özelliği (29),

b. Toksofilin: Parazitin kodladığı aktin bağlayan bir proteindir ve hücreye girişte görevlidir (49).

c. Miyozin A: Parazitin hareketinde ve konak hücreye girişinde görevlidir (50).

d. Rhoptiri proteini: Konak hücre sitoplazmasına girişte, parazitin şekil uyumundan sorumludur (51).

e. Isı şok proteinleri (HSP): Ökaryot ve prokaryotlarda bulunan önemli protein, hücrelerde değişik fizyolojik ve nonfizyolojik uyarılara karşı cevap olarak üretilirler. Virülans, değişen çevre şartlarına adaptasyon sağlama, konak savunmasına karşı dirençte rol oynarlar. *T. gondii*'nin ısı şok proteinlerine örnek olarak HSP 70, HSP 65 ve HSP 90 verilebilir. HSP 70 paraziti konağın immünolojik savunmasına karşı korur, HSP 65 enfekte makrofajın apoptosisini önler ve HSP 90 konak hücreye giriş ve bölünmede görevlidir (52,53).

f. Süperoksit katalaz, katalaz, glutation peroksidaz ve peroksidoksinler: Bu enzimler antioksidanlardır ve hücreyi aktif oksijenlerden korurlar. Katalaz etkin bir H_2O_2 deoksifiye eden enzimdir. Katalaz endojen olarak üretilen reaktif oksijenleri ve konak tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı, paraziti korumada rol oynar (54).

g. Pirimidin biyosentezi: Pirimidin sentezleyen suşlar virülandırlar. Mutant *T. gondii*'de (urasil oksotrof) pirimidin sentezi için gerekli "karbomil fosfat sentetaz II" enzimi çıkarıldığında mutant suşların farede öldürücü olmadığı ve immün sistemi sağlam hayvanlarda avirulan ırklar ile aynı derecede immünite göstermektedir. Buna karşılık bu enzime sahip virulan suşların tek bir uygulaması farede ölüme neden olabilmektedir. Ayrıca fareye fetal dozda *T. gondii* verildikten haftalar sonra, yüksek virulan *T. gondii* verildiğinde farenin enfeksiyondan korunduğu görülmüş bu durum aşı yapımı için umut verici olarak değerlendirilmiştir (55).

2.7. Klinik Belirtileri

Toksoplazmozda klinik bulgular genel olarak 4 başlık altında toplanabilir. Bunlar;

- 1) İmmun sistemi sağlam (ISS) hastalarda kazanılmış toksoplazmoz
- 2) İmmun sistemi baskılanmış (ISB) hastalarda kazanılmış ve reaktif toksoplazmoz
- 3) Oküler toksoplazmoz
- 4) Hamilelikte ve konjenital toksoplazmoz

2.7.1. ISS Hastalarda Kazanılmış Toksoplazmoz

Klinik belirti vermeden seyreden akut enfeksiyonlar, olguların %90'ını oluşturur. Toksoplazmoz olgularının ancak %10-20'sinde oluşan ağrısız servikal lenfadenopati (LAP) nedeniyle belirtileri ortaya çıkar. Bazı olgularda diğer lenf bezlerinde de büyüme gözlemlenebilir. Ayrıca bu gruptaki hastalarda ateş, halsizlik, gece terlemeleri, kas ağrıları, boğaz ağrısı, makülopapüler döküntüler, hepatosplenomegali (HSM), retroperitoneal veya mezenterik LAP varlığında karın ağrısı görülebilmektedir.

ISS hastalarda çoğunlukla kendiliğinden iyileşen toksoplazmoz semptomlarının birkaç ayda kaybolduğu, nadiren 12 ay kadar sürdüğü belirtilmiştir. Bazı olgularda lenf yumrularının büyümeye devam ettikleri, daha sonra bir yıl içinde küçülerek normal büyüklüğüne geriledikleri ancak iyileşmeyen ve kronik seyreden LAP olgularının da bulunduğu, çok nadiren potansiyel ölüm tehlikesi olan miyokardit, pnömoni, hepatit veya TE tablolarının gelişebileceği bildirilmiştir(14,30).

Akut toksoplazmozda görülen klinik belirtilerin hiçbirisi tanı koydurucu nitelikte olmadığından, ayırıcı tanı önemlidir. Toksoplazmozda görülen lenfadenopatinin, tüm LAP'ye neden olan hastalıkların %3-7'sinden sorumlu olduğu bulunmuş ve toksoplazmozun en çok Hodgkin hastalığı ile lenfomalarla karıştığı bu nedenle de tanıda serolojinin ve biyopsi örneklerinin histolojik olarak incelenmesinin önemli olduğu vurgulanmıştır (44).

T.gondii ve şizofreni arasındaki ilişkiye dair yapılan çalışmalarda, yetişkinlerdeki akut toksoplazmoz olgularında hayal ve halüsinasyon gibi psikiyatrik semptomların varlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (56).

2.7.2. ISB Hastalarda Kazanılmış ve Reaktif Toksoplazmoz

ISS'ların neredeyse tümünde selim seyreden toksoplazmoz, ISB'larda ölümcül özelliklerde olmaktadır. İmmün sistemi baskılanma sebepleri AIDS ve AIDS dışında olan, organ nakli hastaları, malign hastalıklar (en sık Hodgkin hastalığı ve diğer lenfomalar) toksoplazmozla birlikte sık olarak görülmektedir. Bu hastaların %76'sında merkezi sinir sistemini tutan (MSS), %38'inde miyokardial, %23'ünde pulmoner toksoplazmoz görüldüğü; tedavi edilmeyen olguların %99'unun da ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (14).

AIDS'li olgularda toksoplazmoz gelişiminin genellikle beyin, akciğer ve göz tutulumuna zemin hazırladığı; multiorgan tutulumunun ise akut solunum yetmezliği başta olmak üzere septik şok benzeri hemodinamik değişiklikler ile seyreden bir kliniğe sahip olduğu görülmüştür. AIDS'lilerde toksoplazmozun en yaygın görülen şekli toksoplazmik ensefalitir(TE) ve AIDS hastalarında saptanan tüm fokal MSS lezyonları arasında birinci sıradadır.

TE'lerde zeka durumunda değişme, kas güçsüzlüğü, felç, kranial sinir tutulumu, duyu hasarları, hareket bozuklukları ve nöropsikiyatrik bozukluklar, rastlanan semptomlar arasındadır. Hastalık %60-90 oranında subakut başlar daha sonra ise %15-25 oranında felç ve beyin kanaması gibi ağır tablolar görülmektedir. En sık hemiparezi veya konuşma bozukluğu bazende her ikisi birlikte görülmektedir. Pulmoner tutulumun da AIDS hastalarında daha sık görüldüğü bildirilmiştir (14,15,30).

Bazı TE'lerde paranoid psikoz, demans, ankisiyete ve ajitasyon gibi nöropsikiyatrik bulguların temel belirtiler olduğu, TE'nin AIDS olmayan immün sistemi baskılanmış hastalarda da benzer klinik tabloya sahip olduğu bildirilmiştir (14).

2.7.3. Oküler Toksoplazmoz

Toksoplazmoz, retinit nedenleri arasında önemli bir yere sahiptir. İSS hastalarda toksoplazmik koriyoretinit, subklinik seyrederek az veya tam görme kaybına, glokoma neden olabilmektedir(14). Konjenital, akut ve reaktif olarak gelişebilen toksoplazmik koriyoretininin tipik belirtilerinden birisi de farkedilebilen beyaz fokal lezyonlardır(30). Akut koriyoretinitte, görme netliğinde azalma, ağrı, fotofobi gelişebilmekte, inflamasyonun geçmesi ile görme özelliğinin düzeldiği fakat görme keskinliğinin tam olarak iyileşmediği bildirilmektedir (14).

Geçmişte ABD’de görülen bütün oküler toksoplazmoz olgularının konjenital bulaşma sonucunda olduğu düşünülmekteydi. Gözün histolojik inceleme için alınan bölümünde *T.gondii*’yi ilk defa 1952’de Wilder tanımlamıştır. Brezilya’nın güneyinde bir grup oftalmolojist ise ilk olarak oküler toksoplazmozunu kardeşlerde teşhis etmişler, 1995’te Kanada’da gerçekleşen su kaynaklı toksoplazmoz salgını akut toksoplazmozlu 95 hastanın 20’sinde oküler toksoplazmoz ile sonuçlanmıştır (25).

2.7.4. Hamilelikte ve Konjenital Toksoplazmoz

Hamilelikte ve konjenital toksoplazmozun belirtileri çok fazla ve değişkendir.Bu nedenle hamilelik esnasında toksoplazmoz tanısı konulduğunda, anne ve fetusun ayrı ayrı incelenip sonuçlara göre tedavi programlandırılmalıdır. Bebeğe görülen belirtiler, hamilelik esnasında toksoplazmozun bulaşma zamanına göre değişmektedir. Hamileliğin ilk üç ayındaki bulaşma sonucunda fetus ciddi şekilde etkilenir ve spontan abortus, ölü doğum görülebilir ve hamileliğin sonlandırılması gerekir. İkinci ve üçüncü trimestirda bulaşma olduğu takdirde ise bebeğin toksoplazmozlu doğması yüksek olasılıklıdır. Ayrıca doğumdan sonra hastalanma olasılığı da bulunmaktadır. Toksoplazmozlu fetus veya bebeklerde hastalığın şiddetine göre hidrocefali, mikrosefali, beyinde kalsifikasyon, genel ikter ve hepatomegali gibi ciddi klinik tablolar görülebilmektedir.

Bebekte akut ve fulminant toksoplazmozda, koriyoretinit, hidrocefali, mikrosefali, beyinde kalsifikasyon ve konvülsyonlar daha belirgin şekilde ortaya çıkarken kalp yetmezliği, anemi, hepatomegali, peteşiyal hemorajiler, bulantı ve kusma gibi belirtiler de ortaya çıkabilmektedir. Bu belirtilerin sonunda hastanın kaybedilme olasılığı yüksektir (14,25,30).

2.8. Tanı

Bir hastaya toksoplazmoz tanısı koyulabilmesi için öncelikle bulunan belirtilerin toksoplazmoz şüphesi taşıması gerekir. Toksoplazmozda görülen belirtiler çok çeşitli ve hastalık için karakteristik olmadıklarından, klinik olarak birçok hastalıkla karıştırılmaması için hastanın immün sisteminin normal, yetersiz veya baskılanmış olup olmadığı dikkate alındıktan sonra hastada LAP, ateş, göz rahatsızlığı, serebral rahatsızlık, kadınlarda konjenital toksoplazmoz için ipuçları verebilecek abortus, anormal veya ölü bebek doğumları olup olmadığı araştırıldıktan sonra tanı için en uygun yöntemlerin seçilmesi veya istenmesi gerekmektedir (14,48).

Hastalığın kesin tanısında etkenin görülmesi çok önemlidir. Kan ve diğer vücut sıvılarından yapılan yayma preparatların Giemsa ile boyanmasında ve biyopsi materyallerinin histopatolojik incelenmesinde *T.gondii* trofozoit, bradizoit veya doku kistlerinin görülmemesi durumunda; kan ve diğer vücut sıvıları ile şüpheli dokulardan alınan materyalden hazırlanan süspansiyonla, deney farelerinin periton boşluğuna veya doğrudan beyine çok az miktarda inoküle edilerek 3-7 gün beklenmesi ve buradan alınan örneklerin incelenmesi önerilir. Hastadan alınan şüpheli materyal aynı zamanda doku kültürlerine de ekilebilmekte ve parazitlerin burada daha kısa sürede ürediği, kolay tanımlanabildikleri belirtilmektedir (2). Histopatolojik inceleme için boyanmış olan doku kesitlerinde trofozoitlerin görülmesi zordur, bu nedenle histolojik kesitler yapıldığında, tespit işlemi yapılmadan önce floresan antikor tekniği veya ELISA yöntemi uygulanarak parazitlerin tespit edilmesi kolaylaştırılmalıdır. Bu yöntemler dışında özellikle TE olgularında floresan işaretli monoklonal antikorların kullanılması, hatta hemen hazırlanan preparatların elektron mikroskopunda incelenmesi tanı başarıyı arttırmaktadır (14,48).

Toksoplazmozun tanısı *T.gondii*'nin muayene maddesinde görülmesi ve izole edilmesi (direkt) veya kendisine karşı oluşan antikorların saptanmasıyla (indirekt) olmaktadır. İmmün sistemi sağlam olan hastalarda toksoplazmoz tanısı genelde indirekt tanı yöntemleri ile konurken, immün yetmezlikli hastalarda ise daha çok direkt tanı yöntemleri tercih edilmektedir (44,48).

A) Direkt tanı yöntemleri:

1. *T. gondii* izolasyonu
2. Etkenin genomunun saptanması (PZR)
3. Histolojik yöntemler

B) İndirekt tanı yöntemleri:**1. Antikor gösterilmesi:**

- a) Sabin-Feldman Boya Testi (Dye-test)
- b) İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)
- c) İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT)
- d) Kompleman Fiksasyon Testi (KFT)
- e) Lateks Aglutinasyon Testi
- f) Direkt Aglutinasyon Testi
- g) Presipitasyon
- h) IgM Immunsorbent Aglutinasyon Analizi (IgM-ISAGA)
- ı) Enzim Bağlanmış İmmunosorbent Analizi (ELISA)
- i) ELISA IgG Avidite
- j) Enzim Bağlanmış İmmunofiltrasyon Analizi (ELIFA)
- k) Vitek İmmuno Diagnostik Analiz Sistemi (VIDAS)
- l) Western Blot

2. Toxoplasmin deri testi**3. Antijene özgül lenfosit transformasyonu ve lenfosit tiplendirmesi (44,48,57,58,59)**

2.9. Tedavi

Toksoplazmozun tedavisinde kullanılabilen çok sayıda ilaç bulunmakla birlikte önemli olan hastanın klinik durumuna bağlı olarak ne kadar tedavi gerekli olduğunun ve hangi ilaçların en etkili olacağının belirlenmesidir. Enfeksiyonların çoğunlukla asemptomatik geçirilmesi, semptomatik olgularda kendiliğinden düzelmelerin gözlenmesi, tedavi kararının verilmesini zorlaştıran durumlardır. Önemle ele alınması gereken klinik durumlar, sonuçlarının çok ciddi olması nedeniyle, hamilelik sürecinde geçirilen akut toksoplazmoz, immün sistemi baskılanan hastalarda gelişen TE veya diğer ciddi komplikasyonlarla karşılaşan hastalar ve organ nakli alıcılarıdır (14,17).

Hastalarda doku kistleri oluştuğunda, kist içindeki bradizoitleri ortadan kaldırmaya yönelik tam etkili bir tedavi bulunmamakta, doku kistlerinin aktivasyonu serbest kalan trofozoitlere karşı tedaviler önerilmektedir. Toksoplazmozda tedavi denildiğinde ya akut enfeksiyon tedavisi ya da profilaksi akla gelmelidir. Profilaksi, organ nakli alıcılarında kısa süreli, AIDS ve çeşitli sebeplerle immün sistemi baskılanmış hastalarda ise ömür boyu sürecek şekilde planlanmalıdır (17).

Tablo 2-2 Toksoplazmoda Tedavi Protokolleri (14,17,30).

HASTA GRUBU	İLAÇ	DOZ	SÜRE
Akutsemptomatik edinsel enfeksiyon	Tedavi önerilmez	-	-
Akutsemptomatik edinsel enfeksiyon (Hayati organlarda hasar oluşursa veya semptomlar ciddi ise)	Pirimetamin +	200 mg/gün yükleme dozundan sonra 50-75 mg/gün	Semptomlar yatıştıktan sonra 1-2 hf.
	Sülfadiazine+	1-1,5 gr/gün PO	Semptomlar yatıştıktan sonra 1-2 hf.
	Folinik asit	5-20 mg hafta üç kez	Pirimetamin tedavisi süresince ve bittikten sonra 1 hf.
Alternatif tedavi protokolü	TMP-SMX	TMP:ilk üç hf.16mg/kg/gün, takiben 5 mg/kg/gün SMX: ilk üç hf. 80 mg/kg/gün, takiben 25 mg/kg/gün	21-52 gün

Hamilelerde akut toksoplazmoz *	Spiramisin	1gr x 3/gün, aç karnına	Doğum sonrasına kadar* veya fetal enfeksiyon kanıtlanana kadar
Tanısı konulmuş fetal enfeksiyon (Gestasyonun 12 veya 18.Haftaları sonrası)*	Pirimetamin+	Yükleme dozu: 100 mg/gün iki dozda 2 gün süreyle, takiben 50 mg/gün	Doğuma kadar
	Sülfadiazin+	Yükleme dozu: 75 mg/kg/gün iki dozda 2 gün süreyle (maks. 4 gr/gün) takiben 100 mg/kg/gün iki dozda (maks. 4 gr/gün)	Doğuma kadar
	Folinik asit	Günde 5-20 mg	Pririmetamin tedavisi süresince ve bittikten sonra 1hf.
Infantta konjenital toksoplazmoz*	Pirimetamin+	Yükleme dozu: 2mg/kg/gün 2 gün süreyle, takiben 1 mg/kg/gün 2-6 hf. Ve sonra bu doz gün aşırı verilir	1 yıl
	Sülfadiazin+	100 mg/kg/gün iki dozda	1 yıl
	Folinik asit	10 mg haftada üç kere	Pirimetamin tedavisi süresince ve bittikten sonra 1 hf
	Kortikosteroid	1mg/kg/gün iki dozda (prednisone)	Bulgular yatışana kadar
Erişkinde toksoplazmik koriyoretinit	Pirimetamin+	200 mg/gün yükleme dozundan sonra 50-75 mg/gün	Semptomlar yatıştıktan sonra 1-2 hf.
	Sülfadiazin+	1-1,5 gr/gün PO	Semptomlar yatıştıktan sonra 1-2 hf.
	Folinik asit	5-20 mg haftada üç kez	Pirimetamin tedavisi süresince ve bittikten sonra 1 hf.
	Kortikosteroid	1mg/kg/gün iki dozda (prednisone)	Semptomlar ve bulgular yatışana kadar
Immun yetmezliği olanlarda TE'nin akut tedavisi	Pirimetamin+	200 mg/gün yükleme dozundan sonra 50-75 mg/gün	Semptomlar ve bulgular yatıştıktan sonra 4-6 hf.
	Folinik asit+	10-20 mg/gün PO, IV veya IM (50 mg/gün'e çıkılabilir	Pirimetamin tedavisi süresince ve bittikten sonra 1 hf.
Standart tedavi protokolü	Sülfadiazin veya Klindamisin (sulfa alerjizi varsa)	1-1,5 gr x 4/gün PO 450-600 mg x 4/gün PO ve IV(mak:1200 mg/gün)	** **
Alternatif tedavi protokolü	Trimetoprim	PO veya IV 5 mg/kg/gün (TMP-SMX). Trimetoprim'de 15-20 mg/kg/gün seviyesine çıkılmıştır.	**
	Pirimetamin(P)+ Folinik asit(Leucoverin)	Standart tedavi protekolündeki gibi	**

	Artı aşağıdaki seçeneklerden biri		
	Sulfoksin	500mg/gün PO(Fansidar içerik:P+S)	**
	Klaritromisin,	1 gr x 2/gün PO	**
	Atovakuon***	750 mg x +/gün PO	**
	Azitromisin	900-1500 mg/gün PO	**
	Dapsone	100 mg/gün PO(Maloprim içerik:P+D)	**
İmmün yetmezliği olanlarda primer/sekonder toksoplazmoz profilaksisi	Pirimetamin +	5 mg	Haftada 2 kez
	Sülfadiazin+	75 mg	Haftada 2 kez
	Folinik asit	10 mg	Her gün
	Dapson+	50 mg/gün veya 200 mg/gün	Her gün veya haftada 1 kez
	Pirimetamin+	50-75 mg PO	Haftada 1 kez
	Folinik asit	5 mg	Her pirimetamin alındığında
	Pirimetamin+	5 mg	Haftada 2 kez
	Klindamisin	2.4 gr	
	TMP-SMX	1 normal veya tablet 1 tablet TMP:150 mg/m ² ,SMX:750 mg/m ² /2 dozda	Her gün Haftada 3 kez/haftada ardaşık 3 gün
	Dapson	50 mg/günde 2 kez 100 mg/gün PO 2 mg/kg PO(maks.100mg)	Her gün Her gün
	Pirimetamin	25 gr	Gün aşırı
	Spiramisin	3 gr	Her gün
	Atovakuon***	750 mg	Her gün

* Merkezler arası protokoller değişiktir.

** Uygulama süresi TE'li hastalarda pirimetamin için uygulanan kadardır.

*** Atovakuon emilimini arttırmak ve etkinliğini arttırmak için %23 yağ içeren kahvaltı sonrası alınır.

2.10. İmmünoloji

T.gondii enfeksiyonu hem humoral hem de hücrel immün yanıt oluşumuna yol açar. İmmün sistem, hastalığın akut döneminde, trofozoitlerin periferik kandan çekilmesine, hastalık belirtilerinin sınırlanmasına ve parazit yükünün azalmasına neden olmaktadır. ISS kişilerde gelişen immünite, ömür boyu devam eder ve reenfeksiyon durumunda klinik belirti oluşmasını engeller.

T.gondii'ye karşı oluşan antikorların, konakta hücre dışında bulunan parazitlere etkili olduğu ve eriterek öldürdüğü bilinir. Ancak anti-toksoplazma antikorları bir hayvana verildiğinde bu antikorların koruyucu etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (11).

İmmün sistem ve *T.gondii* arasındaki etkileşim sonucunda, parazitin tamamen yok edilmesi mümkün olmazken, parazit sayısında azalma, kalanların ise morfolojik yapılarında değişimler görülür. İmmün sistem yetmezliği durumlarında reaktivasyon sırasında doku kistlerinin parçalandığı ve konakta en fazla TE görüldüğü bildirilmiştir (12).

T.gondii herhangi bir formunda vücuda girdiği zaman makrofajları aktive eder. Aktive olmuş makrofajlar içlerine aktif veya pasif fagositozla aldıkları parazitleri, asidik vakuollerinde salgıladıkları "peptidin major histokompatibilite kompleks molekülü Tip II'ye bağlanarak öldürür ve bu protein makrofaj yüzeyinde görülür. Ortamda bulunan parazit antijeni, CD4+ T lenfositlerini aktive eder ve yardımcı T lenfositlerine (Th1) dönüştürür. IL-2 ve INF- γ salgılanmasıyla da daha fazla makrofaj ve öldürücü CD8+ T lenfositleri aktive olur. Böylece immün sistem parazitleri kontrol altına alır ve hastalık asemptomatik seyreder. Enfeksiyona karşı konak immünitesinin, INF- γ ve IL-2 düzeyleri ile ilişkili olduğu laboratuvar hayvanlarında yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (10).

İmmün yetmezliği olan toksoplazmoz hastalarında özellikle AIDS'lilerde CD4+ T lenfositlerinde azalma ve Th1 lenfositlerinin Th2 hücrelerine dönüşmesiyle parazitlerde kontrol altına alınamayan bir çoğalma ve virülans artışına neden olur ve hastada ölüm meydana gelmektedir (60).

Sitokinlerin toksoplazmoz üzerine etkilerine bakıldığında, INF- γ 'nin en etkili sitokin olduğu görülmüştür. Tümör nekroz faktörü (TNF), INF- γ tarafından in vitro olarak aktive edildiğinde farelerde toksoplazmoza karşı korunma elde edilmiştir (60,61).

Makrofajlar tarafından INF- γ salınmasıyla IL-2, IL-7 ve IL-12'nin indirekt olarak toksoplazmoza karşı koruyucu etkisi olduğu, INF- γ ile IL-1'in *T.gondii*'ye karşı öldürücü etkisinin olduğu çeşitli deneysel modeller üzerinde gösterilmiştir.

INF- γ 'nin bunlardan başka üç anti-paraziter etkisinin olduğu, bu etkiler; toksik oksijen radikallerinin ve nitrik oksit salgılanmasına neden olması, 2-triptofan düzeyinin azaltılmasıdır. Nitrik oksit (NO)'in de, toksoplazma korunmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (12).

Buna karşılık NO'nin koruyucu rolünün sistemik olmadığı, daha ziyade dokuya özgün olduğu, fare modellerinde reaktif azot ara ürünlerinin, toksoplazmoz kontrolünde etkin olabileceği yayınlanmıştır (14).

Hastalığın erken dönemlerinde IL-1, IL-12 ve TNF- α 'nın IL-15 ile birlikte NK hücrelerinin, INF- γ üretmek için makrofajları uyardıkları belirtilmiştir (14). IL-12'nin ise T hücresiz farede toksoplazmoz sırasında NK hücrelerinden INF- γ salınmasını arttırarak TE gelişmesini engellediği gösterilmiştir (62).

Hücre veya kist içinde bulunan parazitlerin, antikorların ve hücresel immüitenin etkilerden korunabildiği fakat enfekte konağın hücre membranlarında lenfokinlerin aktive ettiği lenfosit veya doğal NK hücreleriyle parçalanma olabilmektedir. Bu sırada immün cevaptan kaçabilen ve serbest kalan parazitlere karşı antikorların etkisinin sınırlı olduğu, beyin ve gözde çoğalarak hastalık oluşturma riskinin olduğu savunulmaktadır. Böylece kist yırtılmaları reaktivasyonlara neden olmaktadır Ayrıca göz veya beyin gibi antikorların az etkili olduğu bölgelerde bulunan doku kistleri yırtıldığında, doku hasarı oluşabilmekte ve olay sırasındaki alerjik reaksiyon doku hasarını daha da arttırabilmektedir (14, 63).

Konjenital toksoplazmozlu bebeklerde, toxo antijenlerine karşı lenfosit yanıtı oluşmadığında çok ağır klinik belirtiler meydana gelmektedir. Toksoplazmozlu annelerin doğan bebeklerinde, toxo antijenine karşı immünolojik cevabın en az bir yaşında oluşabildiği ve lenfosit cevabının anneninkinden daha az olduğu bildirilmiştir (64).

Kronik enfeksiyon sırasında spontan paraziteminin, dolaşım ile antikor düzeyi düşük bölgelerdeki duyarlı hücreleri etkileyebildiği ve yeni doğanda maternal antikora bağlı toleransın, parazitin çoğalmasını ve retina gibi organlarda kist oluşumunu engelleyemediği, bu durumda, ilerleyen yaşlarda oluşan kistlerin klinik bulgu veren koriyoretinite yol açtığı, kas içindeki kistlerin ise klinik belirti oluşturmadıkları bildirilmiştir .

IgG, IgM, IgA ve IgE gibi humoral antikorlar, toksoplazmoza karşı etkili olan immünoglobülinler, ekstrasellüler alanlarda kompleman ile birleştiklerinde trofozoitleri eriterek öldürmektedirler. Farelerdeki humoral immünitinin virülansı zayıf suşlara karşı sınırlı koruma sağlarken, virülan suşlarda ise etkisiz bulunmuştur (14). MSS'nde astrositlerin ve mikrogliyal hücrelerin *T.gondii*'ye karşı immün yanıtının araştırıldığı bir çalışmada, insanda ve farede TE olgularında parazitin yoğun olduğu alanlarda yaygın astrosite rastlandığı, astrositlerin içerisinde yaşayıp, çoğalabilen parazitlerin ise aktive olmuş mikrogliya hücreleri tarafından öldürüldüğü bildirilmiştir (65).

2.11. İmmünolojik Tedavi

Toksoplazmoz olgularında hayati tehlike söz konusu olduğunda immünolojik tedavi uygulanması önerilmektedir. INF- γ 'nın *T.gondii*'ye karşı korunmada çok önemli rol oynadığı bilinmektedir ve enfekte fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, anti-toksoplazma ilaçlarının yanında ek olarak INF- γ verildiğinde, ilacın etkisini arttırdığı görülmüştür(66).

INF- γ , roxitromisin, pirimetamin, azitromisin ve klindamisin gibi ilaçlarla kombine edildiğinde sinerjistik etkinin olduğu, ayrıca IL-2 ile atovakuon veya IL-12 ile klindamisin kombine edilerek enfekte farelere verildiğinde iyi sonuçların alındığı yayınlanmıştır (67-69).

Enfekte farelere INF- γ 'ye karşı elde edilmiş olan monoklonal antikorlar verildiğinde TE tablosunun çok kötüleştiği, aktif TE'li farelere INF- γ verilmesinin ise inflamatuvar cevabı ve trofozoit sayısını belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir (60).

2.12. Aşı

Aşılama çalışmalarında koyun, domuz, kedi ve kemirgenlerde çeşitli başarılar elde edilmiş olsa da, insana yönelik başarılı bir aşı çalışması yoktur(14). Bir çalışmada domuz çiftlikleri civarında yaşayan kediler mutant T-263 suşundan hazırlanan canlı bradizoit aşı ile oral olarak aşılandıktan sonra çiftlikteki domuzlarda ve civardaki kemirgenlerde toksoplazmoz prevalansındaki değişim araştırılmış ve üç yıl süren çalışmanın sonunda fare ve domuzlarda toksoplazmoz prevalansının %0'a indiği gözlemlenmiştir(17).

Deneysel aşı çalışmalarında çok çeşitli alternatifler üzerinde durulmaktadır. Lipozomun adjuvan olarak kullanıldığı p30 antijeni, in vitro çalışmalarda 40°C'de üremesi duran, ısıya duyarlı, ts-4 suşu *T.gondii*'nin salgı ürünlerinden izole edilen 23 k-DA'luk p24 antijeni, *T.gondii* membranına bağlı 54 k-Da proteini ile hazırlanan aşılardan fare, sıçan gibi hayvan modellerinde kısmi başarılar elde ettikleri yayınlanmıştır (70).

2.13. Atovakuon

Atovakuon, günümüzde geniş anti-protozoal etkisi için kullanılan naftokinon yapısındaki antiparaziter ajanlardan biridir. *Pneumocystis carini* pnömonisi tedavisinde tek başına oldukça etkiliyken, proguanil ile kombine edilerek sıtma tedavisinde, azitromisin ile kombine edilerek de babezyoz tedavisinde kullanılmakta, diğer protozoon enfeksiyonları üzerine etkisi ise araştırılma aşamasındadır. Naftokinon yapılarının antimikrobiyal etkileri yaklaşık 60 yıldan beri bilinmesine karşın, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından atovakuonun klinik çalışmalarda kullanılabilirliğinin onayı 20 sene öncesine dayanmaktadır (17,71).

2.13.1. Kimyasal Yapı

Atovakuon, ubiquinon analogudur ve kimyasal olarak hydroxy-1,4-napthaquinone /trans-2-(4-(4-chlorophenyl)cyclohexyl)-3-hydroxy-1,4-naphtholenedione yapısındadır.

Yüksek lipofilik ve düşük akküz özelliklere sahiptir. Moleküler ağırlığı 366,84 ve kimyasal formülü $C_{22}H_{19}ClO_3$ şeklindedir. Atovakuonun suda kolaylıkla çözünebilen yoğun sarı kristal bir yapıdadır (17,72,73).

2.13.2. Farmokokinetik ve Antiparaziter Etki Mekanizması

In vitro olarak atovakuonun %50 inhibitör konsantrasyonu (IC₅₀) 0,1-3 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Yüksek lipofilik özelliği nedeniyle biyoyararlanımı diyet ile değişiklik gösterebilmektedir. Farklı diyet yöntemleriyle bu oran %15-47 arasında değişir. Ancak hiçbir zaman %50'nin üzerine çıkmadığı görülmüştür. Plazmadaki konsantrasyonları ise doz artışı ile doğru orantılıdır (72, 74).

Atovakuon protozoonlar üzerinde etkisini ubikinona (Koenzim Q) benzer bir şekilde göstermektedir. *Plasmodium* türleri, *P.carinii* üzerine etkisini sitokrom bc₁ kompleksi (Kompleks III) etkileyerek gösterdiği düşünülmektedir. Ubikinon üzerinden birçok metabolik enzim mitokondriyal elektron transport zincirine bağlanır. Atovakuonun, elektron transport zincirini inhibe etmesiyle diğer enzimlerde inhibe olur, böylece atovakuon, dolaylı olarak parazitin nükleik asit ve ATP sentezini inhibe ederek etkisi göstermiş olur (17).

Oral kullanım imkanının olması, güvenli bir ilaç profilinin olması (71), sadece dışkıyla atılması, hepatik metabolizasyonunun ve üriner sistem yoluyla atılımının olmaması, yüksek protein bağlanma özelliği, uzun yarılanma ömrü (50-70 saat) ve sabit düşük plazma konsantrasyonu olması önemli avantajlarıdır (75).

Atovakuon, Amerikan hükümeti tarafından *P.carini* pnömonisi tedavisinde kullanılmak üzere ruhsatlandırılmış olsa da, 1991 yılında yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, trofozoit ve kist şekillerine etkili olduğu gösterilmiştir (67). Fare modelinde toksoplazmoza karşı etkili bulunsa da, atovakuon, pirimetamin + sülfadiazin, klindamisin veya klaritromisin kombinasyonlarının uygulanmasıyla daha iyi sonuçlar elde edebildiği bildirilmiştir (17). TE olan AIDS hastalarda kullanıldığında çok çeşitli sonuçlar alınmış (76) ve İSB hastalardaki toksoplazmoz tedavisinde, atovakuon kullanılırken, emilim ve etkinliğini arttırmak için %23 yağ içeren bir kalvaltı sonrasında alınması önerilmiştir (44).

Atovakuonun tablet şeklinde kullanıldığı klinik çalışmalarda, yeterli sayıda hasta olmamasına rağmen %66-75 oranında etkili sonuçlar alındığı, TE'i olan AIDS'li hastalarda yine tablet şeklinde kullanıldığında, standart toksoplazmoz tedavisini tolere edemeyen hastaların %37'sinde iyi sonuç alındığı görülmüştür. Ancak sadece atovakuon ile tedavi uygulanan akut toksoplazmoz olgularında ve uzun zaman tedavi

gerektiren olgularda, %50 oranında hastalığın tekrar ettiği, atovakuon ile pirimetamin kombinasyonunun tedavide daha yararlı olabileceği bildirilmiştir (76). Buna karşın 2001 yılında Scholer ve arkadaşları; nanosüspansiyon şeklinde hazırlanan atovakuonun intravenöz uygulamasında reaktif toksoplazmozda oldukça etkili olduğunu gözlemlemişlerdir (77).

2.13.3. Yan Etkileri

Atovakuon oldukça az yan etkiye sahip bir antiparaziter ajandır. AIDS hastalarında, PCP tedavisinde atovakuonun uzun süreli kullanımı nedeniyle yan etkileri hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olabilmek mümkün olmuştur. Bu çalışmalar esnasında atovakuonun TMP-SMX, parenteral pentamidinden veya dapsondan daha az yan etkiye sahip olduğu görülmüştür (78,79,80).

Atovakuonun en sık gözlenen yan etkileri arasında makülopapüler döküntüler, bulantı, ishal, eklem ağrısı bulunur. Yan etkilerinin hemen hepsi tedavi süresi içinde kendiliğinden ortadan kalkmaktadır. Zaman zaman karaciğer enzimlerinin yükselmesine neden olabilmekle birlikte, kemik iliği baskılanması veya gastrointestinal floranın bozulması gibi ciddi yan etkilere rastlanılmamaktadır (17).

2.14. *Astragalus membranaceus*

Astragalus membranaceus (Fisch), Leguminosa (Fabaceae) familyasındandır. Yaygın olarak Çin'in kuzeyinde, Moğolistan ve Sibirya bölgelerinde yetişmektedir. Yüzyıllardır geleneksel Çin tıbbında kullanılan *Astragalus membranaceus*'un kurumuş kökleri, Çince'de Huangqi olarak, Latince'de ise Radix Astragali olarak adlandırılmaktadır (81).

Modern analitik yöntemlerle incelendiğinde yüzden fazla bileşen içerdiği belirlenen *Astragalus membranaceus* kök ekstresi (AmE) , çeşitli polisakkaritler (Astragalan), saponin, astragalosid, flavanoidler, isoflavonlar, 2'4'-hydroxy-5,6-dimetoksiflavon, asparagin, astraisoflavanin, betain, B-sitosterol, glukuronik asit, eser miktarda folik asit, sükroz, serbest amino asitler ve fenolik asitler içermektedir. (81-85).

Genellikle diğerk bitkilerle kombine edilen AmE; solunum yolu enfeksiyonları, soğuk algınlığı, diyare, anoreksiyada immünmodülasyon etkisi için kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda; antioksidatif, vazodilatif etkisi, vasküler sistem hastalıklarında, böbrek hasarlarının iyileşmesinde; dolaşım sistemi ile hücresele immünite üzerindeki olumlu etkileri ve antiviral etkisiyle, viral kaynaklı kardiyak sistem hastalıklarında iyileşmelere neden olduğı bildirilmiştir. Hepatit B gibi viral hastalıklar ve kanser tedavisi üzerine etkileriyle ilgili çalışmalar da bulunmaktadır(81,85). Diabetes mellitus üzerinde AmE etkileriyle ilgili araştırmalar yapılmakta ve yan etkilerinin olmaması önemli bir avantaj olarak görölmektedir(82).

Genellikle akut enfeksiyonlarda kullanılması önerilen AmE, son yıllarda anti-neoplastik ilaçların sitotoksik yan etkilerini iyileştirme amaçlı da kullanılmaktadır (85). Ayrıca AmE'nin kemoterapi sonrası mide bulantısı, kemik iliğinin baskılanmasına karşı etkili olduğı, kemik iliğı ve lenf dokularında kök hücrelerin artışını desteklediğı ve onların aktif olarak immün sistem hücrelerine dönüşmesini sağladığı bildirilmiştir (86).

Yapılan farklı bir çalışmada AmE polisakkaritlerinin, monositlerin aktivitesini ve IL-2'nin immün sistemle desteklenen, antitumor aktivitesini güçlendirdiğı, kanser ve AIDS hastalarında da tedaviye yardımcı olabileceğı bildirilmiştir (87).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Bilim Dalı'ndan temin edilmiş *T.gondii* RH suşu kullanılmıştır. *T.gondii* RH suşu çoğaltılmak ve canlılığının kontrolü için BALB/c tipi fare peritonuna inokule edilmiştir. 3 gün sonra eter ile sedatize edilen farenin periton sıvısı alınmış, ışık mikroskopunda varlıkları ve canlılıkları kontrol edilmiştir. *T.gondii* trofozoitlerini içeren periton sıvısı RPMI 1640 besiyerinde, %12 dimetil sülfoksit ve %20 dana serumu içeren saklama besiyerinde -80 °C'de muhafaza edilerek, en az 3 ay canlılığı korunmuştur (88).

Çalışmamızda 20-25 gr BALB/c dişi fareler kullanılmıştır. Fareler İstanbul Üniversitesi, DETAE, Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı, Hayvan Laboratuvarından temin edilmiş ve buradaki laboratuvarlarda, 20-22°C'de, %50-60 nem oranında, 12 saat aydınlık -12 saat karanlık döngüye sahip ortamda, yem ve suları ad-libidum olarak sağlanarak, deney boyunca izlenmiştir. Çalışma için Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (HADYEK)'den 2011/147 karar numarasıyla onay alınmış ve deneyler onay alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir.

Çalışmadaki fareler, her grupta 8'er adet olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır. 1.Grup: Atovakuon (Ato) tedavi grubu; 2.Grup: Atovakuon+Astragalus (Ato+Astra) tedavi grubu; 3. Grup: Astragalus (Astra) tedavi grubu ve 4. Grup: Kontrol (K) grubu olarak adlandırılmıştır.

Çalışma öncesi saklama besiyeri açılarak BALB/c tipi 2 farenin peritonuna inokule edilmiş ve trofozoitler üretilmiştir. 72 saat sonra alınan periton sıvılarında üreyen trofozoitler, Thoma lamında sayılarak 2×10^4 olacak şekilde serum fizyolojik ile dilüe edilmiş, bu süspansiyondan 0,5 ml periton içine enjekte edilerek tüm fareler enfekte edilmiştir (89,90).

Enfeksiyondan 24 saat sonra Ato tedavi grubundaki farelere; %0,25 (wt/vol) sodyum karboksi-metil selüloz ve %0,05 (wt/vol) Tween 20'de süspanse edilen atovakuon (Glaxo Smith Kline, England), 0,2 ml'de 100 mg/kg olacak şekilde oral gavaj yoluyla yedi gün boyunca aynı saatte ve aynı yoldan verilmiştir (91).

Enfeksiyondan 24 saat sonra, Astra tedavi grubundaki farelere, 0,2 ml'de 0,075 mg/gr olacak şekilde ılık suda karıştırılarak süspanse edilen *Astragalus membranaceus*

kök ekstresi (Solgar, Türkiye)/AmE oral gavaj yoluyla verilmiş ve bu uygulamaya 7 gün boyunca aynı saatte devam edilmiştir (91).

Ato+Astra tedavi grubuna da aynı şekilde enfeksiyondan 24 saat sonra 100 mg/kg atovakuon 0,2 ml ve 0.075 mg/gr AmE oral gavaj yolu ile 7 gün boyunca aynı saatte uygulanmıştır(92).

Yedi gün sonra tüm fareler eter ile sedatize edilerek göğüs ve periton boşlukları açılmış, kalp kanları ile periton sıvıları alınmıştır. Kalp kanları, serum ayırma özelliğindeki kan tüplerinde santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Ayrılan serumlar, miktarları not alınarak, ölçülü otomatik pipetle alınıp steril ependorflara konulmuş ve -70°C 'de muhafaza edilmiştir. Serum örneklerinde IL-2, IL-12, INF- γ düzeyleri, ELISA (eBioscience, Avusturya) yöntemi ile belirlenmiştir.

Ticari ELISA kitleri ile serum örneklerinin çalışılması ve sonuçların değerlendirilmesi kit prosedürlerine uygun olarak yapılmıştır. IL-2, IL-12 ve INF- γ oranlarını belirleyen üç ELISA kiti de 620 nm dalga boyu referans alınarak 450 nm dalga boyunda, ELISA okuyucuda okutulmuştur. Her kitin içerisinden çıkan standart örneği bulunmaktadır. Standart dilüsyonlarının absorbans değerleri ile uygulama grubu örneklerimizin absorbans değerleri orantılanarak, fare serumlarındaki IL-2, IL-12 ve INF- γ düzeyleri pikogram cinsinden hesaplanmıştır.

Deney farelerinin periton sıvıları 1 ml steril serum fizyolojik ile yıkanarak alınmış ve steril tüplerde muhafaza edilmiştir. Thoma lamında sayım yapılarak her farenin 1 ml periton sıvısında bulunan trofozoit sayısı hesaplanmıştır (89).

Uygulama gruplarımızın 1 ml fare periton sıvısındaki trofozoit sayılarının ortalamaları alınmış ve etken maddelerimizin (atovakuon ve AmE), üreme inhibisyon aktivitelerinin hesaplamasında Muales-Serrano'nun (93) önerdiği denklem (3.1) kullanılmıştır.

$$\text{Denklem 3-1: \%GI (Üreme İnhibisyon Yüzdesi)} = \left(1 - \frac{\text{Tedavi Grubu Trofozoit Sayısı}}{\text{Kontrol Grubu Trofozoit Sayısı}} \right) \times 100$$

İstatistiksel değerlendirmeler; sürekli değişkenler olan trofozoit sayıları, IL-2, IL-12 ve INF- γ değerlerinin normal dağılımına Shapiro-Wilk testiyle yapılmış, değişkenlerimizin normal dağıldığı görülmüştür ($p<0,05$). One Way (Tek Yönlü) Anova testiyle parametrik olarak değerlendirilen gruplarımızdan en az biri diğerlerinden farklı çıkmıştır ($p<0,05$). Hangi gruplar arasında fark olduğunu belirlemek amacıyla Post Hoc ikili karşılaştırma testleri uygulanmıştır.

Tek yönlü Anova testlerinde yapılan homojenite incelemesinde varyansları homojen çıkmayan ($p<0,05$) parametreler trofozoit sayısı ve IL-2 grupları için Post Hoc testlerinden Tamhane's T2, varyansları homojen çıkan ($p>0,05$) parametreler IL-12 ve INF- γ grupları için Poct Hoc testlerinden Tukey HSD kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

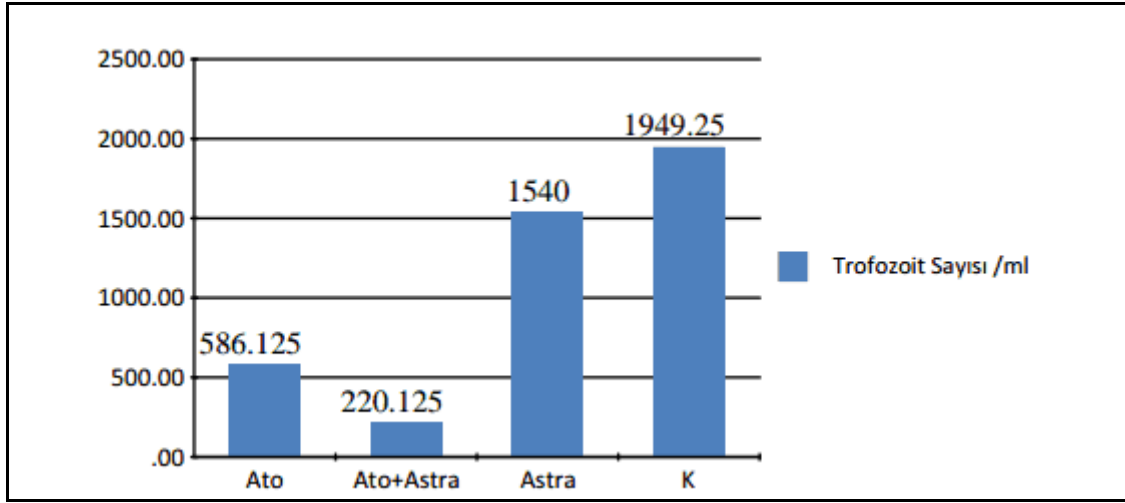
Bu çalışmada, *T.gondii* RH suşu ile enfekte edildikten sonra atovakuon, AmE ve atovakuon+AmE uygulanan üç ayrı tedavi ve kontrol grubu farelerinin periton sıvılarındaki ortalama trofozoit sayıları, serumlarındaki IL-2, IL-12 ve INF- γ düzeyleri karşılaştırılmıştır.

Ato grubundaki ortalama trofozoit sayısı ve Astra grubundaki ortalama trofozoit sayısı, Ato+Astra grubu ortalama trofozoit sayısından anlamlı derecede yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Ato+Astra tedavi grubunun ortalama trofozoit sayısı, diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) olarak saptanmıştır. Ato grubu ortalama trofozoit sayısı Astra grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) iken, Ato ve Astra gruplarının her ikisinin ortalama trofozoit sayıları K grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4-1, Şekil 4-1).

Tablo 4-1: Deney Grupları Fare Periton Sıvıları Trofozoit Sayılarının Değerleri
(Trofozoit/ml)

Karşılaştırılan Grup	Diğer Gruplar	Gruplar Arası Fark	Standart Sapma	P Değerleri
ATO	Ato+Astra	366,000*	$\pm 111,515$	0,003
	Astra	-953,875*		0,000
	K	-1363,125*		0,000
ATO+ASTRA	Ato	-366,000*		0,003
	Astra	-1319,875*		0,000
	K	-1729,125*		0,000
ASTRA	Ato	953,875*		0,000
	Ato+Astra	1319,875*		0,000
	K	-409,250*		0,001
K	Ato	1363,125*		0,000
	Ato+Astra	1729,125*		0,000
	Astra	409,250*		0,001

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) gruplar arası fark değerleri



Şekil 4-1: Deney Grupları Ortalama Trofozoit Değerleri

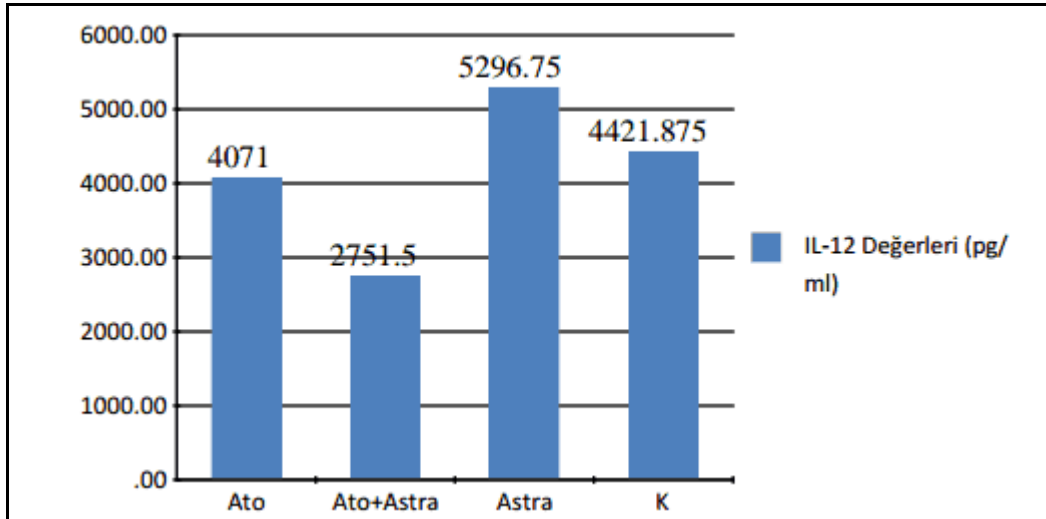
Tedavi gruplarının ortalama trofozoit sayılarıyla üreme inhibisyon aktiviteleri hesaplanmıştır. Üreme inhibisyon aktivite formülü kullanılarak yapılan hesaplamalarda Ato tedavi grubu %69,95; Astra grubu %21,03 ve Ato+Astra kombinasyon tedavi grubu %88,72 oranlarında K grubuna göre *T.gondii*'ye karşı antiprotozoal etki göstermiştir.

K grubunun IL-12 düzeyi, sadece Ato+Astra tedavi grubunun IL-12 düzeyine göre anlamlı ölçüde yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Astra grubunun IL-12 düzeyi, Ato ve Ato+Astra tedavi gruplarının IL-12 düzeylerine göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,05$) belirlenmiştir. Ato grubunu IL-12 düzeyi ise Astra tedavi grubunun IL-12 düzeyine göre anlamlı ölçüde düşük ($p<0,05$) iken Ato+Astra tedavi grubuna göre anlamlı ölçüde düşük ($p<0,05$) iken Ato+Astra tedavi grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

Tablo 4-2: Deney Grupları IL-12 Değerleri (pg/ml)

Karşılaştırılan Grup	Diğer Gruplar	Gruplar Arası Fark	Standart Sapma	P Değerleri
ATO	Ato+Astra	1319,500*	±468,312	0,009
	Astra	-1225,750*		0,014
	K	-350,875		0,460
ATO+ASTRA	Ato	-1319,500*		0,009
	Astra	-2545,250*		0,000
	K	-1670,375*		0,001
ASTRA	Ato	1225,750*		0,014
	Ato+Astra	2545,250*		0,000
	K	874,875		0,072
K	Ato	350,875		0,460
	Ato+Astra	1670,375*		0,001
	Astra	-874,875		0,072

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) gruplar arası fark değerleri

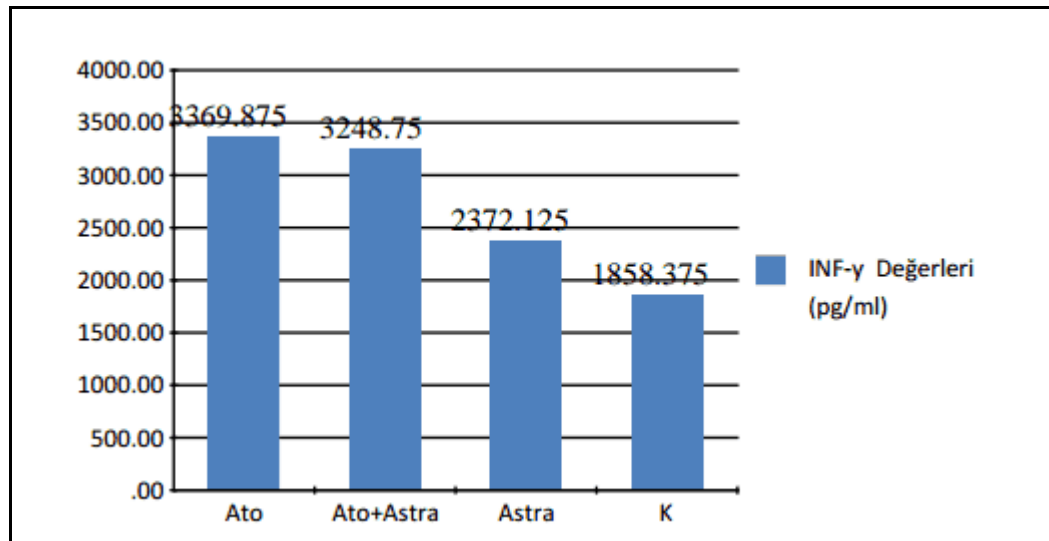
**Şekil 4-2:** Deney Grupları Ortalama IL-12 Değerleri

K grubunun INF- γ düzeyi Ato ve Ato+Astra tedavi gruplarının INF- γ düzeylerine göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) olduğu gözlemlenmiştir. Ato tedavi grubunun INF- γ düzeyi Astra ve Ato+Astra tedavi gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olarak belirlenmiştir. Astra tedavi grubu INF- γ düzeyi ise Ato ve Ato+Astra tedavi gruplarının INF- γ düzeylerine göre anlamlı derecede düşüktür ($p<0,05$). Ato+Astra grubunun INF- γ düzeyi, sadece K grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 4-3, Şekil 4-3)

Tablo 4-3: Deney Grupları INF- γ Değerleri (pg/ml)

Karşılaştırılan Grup	Diğer Gruplar	Gruplar Arası Fark	Standart Sapma	P Değerleri
ATO	Ato+Astra	121,125	$\pm 504,760$	0,812
	Astra	997,750		0,058
	K	1511,500*		0,006
ATO+ASTRA	Ato	-121,125		0,812
	Astra	876,625		0,093
	K	1390,375*		0,010
ASTRA	Ato	-997,750		0,058
	Ato+Astra	-876,625		0,093
	K	513,750		0,317
K	Ato	-1511,500*		0,006
	Ato+Astra	-1390,375*		0,010
	Astra	-513,750		0,317

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) gruplar arası fark değerleri



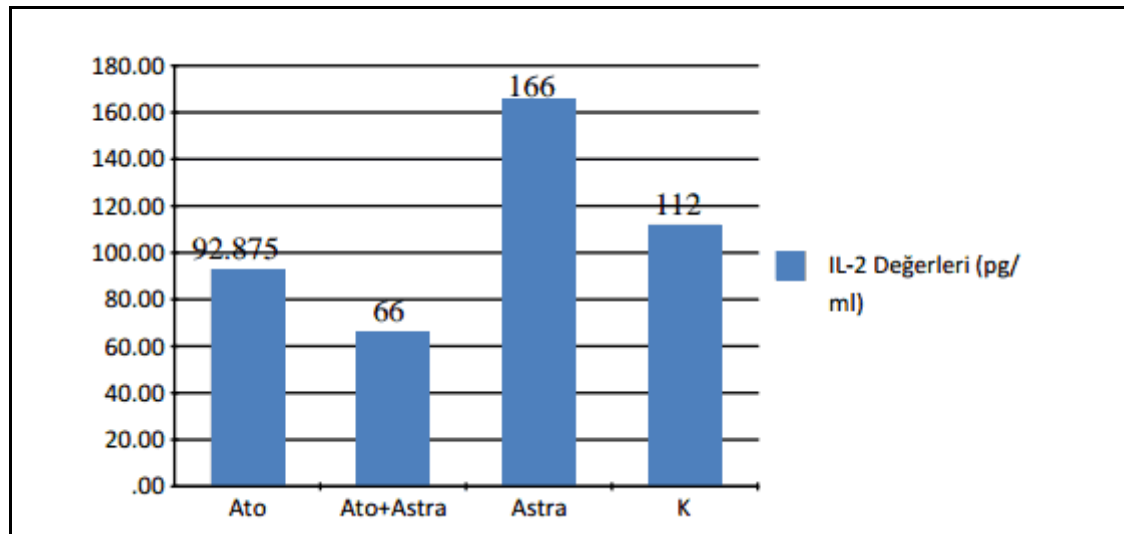
Şekil 4-3 : Deney Grupları Ortalama INF- γ Değerleri

K grubunun IL-2 düzeyi, Astra grubu IL-2 düzeyine göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$), Ato+Astra grubunun IL-2 düzeyine göre ise anlamlı derecede yüksek ($p<0,05$) olarak tespit edilmiştir. Ato grubunun IL-2 düzeyi, Astra grubu IL-2 düzeyine göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) iken Ato+Astra grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p<0,05$) olarak bulunmuştur. Ato+Astra grubu IL-2 düzeyi, diğer 3 deney grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 4-4, Şekil 4-4).

Tablo 4-4: Deney Grupları IL-2 Değerleri (pg/ml)

Karşılaştırılan Grup	Diğer Gruplar	Gruplar Arası Fark	Standart Sapma	P Değerleri
ATO	Ato+Astra	26,875*	±11,846	0,031
	Astra	-73,125*		0,000
	K	-19,125		0,118
ATO+ASTRA	Ato	-26,875*		0,031
	Astra	-100,000*		0,000
	K	-46,000*		0,001
ASTRA	Ato	73,125*		0,000
	Ato+Astra	100,000*		0,000
	K	54,000*		0,000
K	Ato	19,125		0,118
	Ato+Astra	46,000*		0,001
	Astra	-54,000*		0,000

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) gruplar arası fark değerleri



Şekil 4-4: Deney Grupları Ortalama IL-2 Değerleri

5. TARTIŞMA

Dünya nüfusunun %13'ünün *T. gondii* ile enfekte olduğu, 1976 dan sonraki 20 yıllık dönemde toksoplazmoz seroprevalansının 500 milyon üzerinde olduğu bildirilmiştir (14). Sağlıklı bireylerde *T. gondii* enfeksiyonları genellikle asemptomatik seyreder bununla birlikte hastaların %10-20'sinde akut enfeksiyon görülür (30). Dünyada AIDS'li hastalardaki toksoplazmoz seropozitifliğine bakıldığında; Avrupa kıtasında %25,4-97; Asya kıtasında %11,5 - 67,8; Afrika kıtasında %8-85,5 iken Kuzey Amerika'da %15,1-32 oranlarında, Güney Amerika kıtasında ise %50-74 oranları arasında olduğu bildirilmiştir(94).

Atovakuon günümüzde geniş anti-protozoal etkisi için kullanılan naftokinon yapısında bir ilaçtır (17). Oral kullanım imkanının olması, yan etkilerinin az olması ve güvenli bir profilinin olması (71), sadece dışkıyla atılması, hepatik metabolizasyonunun olmaması, yüksek protein bağlanma özelliği olması önemli avantajlarıdır (75). Modifiye edilmiş atovakuon nano süspansiyonu, tween 80, P188 ve SDS (Sodyum Dodezil Sülfat) gibi farklı yüzey maddeleri ile kaplanarak in vivo ve in vitro ortamlarda çalışmalar yapılmış ve oral yararlanımını, intestinal emilimini, kan beyin bariyerinden geçişini artırmasıyla atovakuonun terapötik duyarlılığını artırmış ve toksoplazmoz tedavisinde yeni, güvenli, etkili stratejiler oluşturmaya olanak sağlamıştır (95).

Atovakuonun in vitro hücre kültüründe, *T. gondii* trofozoitlerine karşı yüksek aktivite gösteren, güvenli bir ilaç olduğu bildirilmiştir (71,95).

Biyoyararlanım seviyelerini iyileştirmek için çeşitli çalışmalar yapılmakta, kombinasyonlar denenerek atovakuonun etkinliği arttırılmaya çalışılmaktadır(17). Çalışmamızda da atovakuon ile *Astragalus membranaceus* kök ekstresi(AmE) beraber kullanılarak bir kombinasyon denenmiş ve akut toksoplazmoz tedavisi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Atovakuonun toksoplazmoz ile ilgili klinik çalışmaları genellikle HIV pozitif ve AIDS'li hastalarla yapılmıştır. Bu hastalardaki toksoplazmoz genellikle MSS'de reaktif olmuş toksoplazmoz şeklinde kendini gösterir (71). TE, immün yetmezlikli hastalarda reaktivasyonun en yaygın klinik göstergelerindendir. Tedavi edilmediğinde öldürücü olmaktadır (95). Avrupa'da yapılan bir çalışmada; AIDS ve toksoplazmoz pozitif olan hastaların %47'sinde TE görülmüştür (14).

AIDS'lilerde oküler toksoplazmoz ve TE'lerde; primetamin, sulfadiazin ve klindamisin tedavi ve sekonder profilakside kullanılır. Fakat bazı hastalarda bu ilaçlara direnç görülebilen (71), mevcut kombinasyonlarının tedavide kullanılmasında ise TE'li hastaların %5-15'inde allerjik reaksiyonlara veya hematolojik toksisiteye neden olduğu gözlenmektedir. Bu durumlar yeni tedavi seçeneklerinin bulunması gerekliliğini göstermektedir (95). AIDS'lilerde ve primetamin, sülfadiazin ve klindamisin tedavisinde direçli durumlarda atovakuon etkili, iyi tolere edilebilen ve daha güvenli tedavi yöntemi olarak bildirilmektedir (71,75,95).

AIDS'li hastalarda, klasik toksoplazmoz tedavisine cevap vermeyen hastalarda 750 mg atovakuon, günde 4 kez tablet formunda kullanılmış ve 6 hafta sonunda radyolojik test sonuçlarında ve klinik tabloda iyileşmeler gözlemlenmiştir (74).

HIV'li hastalardaki oküler toksoplazmozun standart tedavisinde primetamin, klindamisin ve sülfonamidler kullanılır. Yan etkileri ve çapraz reaksiyonları olmasına karşın enfeksiyonun yüksek tekrar etme olasılığı nedeniyle bu tedaviye hayat boyu devam edilmesi gerekir. Bu durumda atovakuon, *T. gondii* 'nin kist ve trofozoitlerine karşı, oküler toksoplazmozun tedavisinde de etkili ve iyi tolere edilebilen antiparaziter ilaç olarak kullanılabilir (96).

Ayrıca immunkompetan oküler toksoplazmozlu hastalarda da 750 mg atovakuon günde 4 kez verilmiş ve bu 17 hastanın tedavisinde stabilizasyonlar ve iyileşmeler gözlemlenmiştir (71).

Gebelik sırasında annede görülen *T.gondii* enfeksiyonu fetal enfeksiyon gelişimi için yüksek risk taşımaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de her yıl 500-5000 yenidoğanın konjenital toksoplazmozlu olduğu belirlenmiştir (97). Standart tedavide primetamin-sülfadiazin kombinasyonu kullanılır, fakat bu kombinasyonun yüksek toksik etkili olması uzun süre kullanılmasını kısıtlar (90). Teratojen etkisi nedeniyle gebelik süresi 18 haftadan düşük olan fetal enfeksiyon olasılığı yüksek ya da fetal enfeksiyonlu hamilelerde primetamin-sülfadiazin kullanılamamaktadır. Bu durum yeni tedavi alternatifleri arayışına neden olmaktadır. Hamilelerde akut ve konjenital toksoplazmoz tedavisinde 18. haftaya kadar spiramisin kullanılmaktadır (30,97). Klindamisin-atovakuon kombinasyonunun *T.gondii* trofozoit ve bradizoitlerine etkili olduğunun kanıtlanması, benzer etki mekanizmasına sahip spiramisinin de atovakuon ile kombinasyonunun da iyi etkili olabileceğini düşündürmüştür (98). Ulaşabildiğimiz çalışmalar arasında hamilelere yönelik yapılan direkt bir atovakuon çalışması

bulunmamakla birlikte, toksoplazmoz üzerindeki etkisi bilinmekte ve az yan etkileri ile hamilelikteki toksoplazmoz tedavisinde, atovakuonun alternatif olabileceği düşünülmekte ve bu konudaki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hamsterlarda akut kazanılmış toksoplazmoz koriyoretiniti oluşturulan enfeksiyon modelinde; atovakuon, primer tedavi olan primetamin-sülfadiazin kombinasyonu, ayrıca klindamisin ve spiramisin etkinliği karşılaştırılmış ve kazanılmış akut serebral toksoplazmozda kist sayısına sadece atovakuonun etkili olduğu, kronik serebral toksoplazmoz kist sayısında da önemli ölçüde düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise farelerde oluşturulan kronik toksoplazmoz modelinde, fare beynindeki kist sayısını atovakuonun, spiramisinden daha fazla sayıda azalttığı gösterilmiştir (98). Ayrıca doku kistlerinin reaktivasyona neden olabileceği göz önünde bulundurulduğunda atovakuonun rekurrent hastalık riskini de düşürme potansiyeli olduğu düşünülmüştür (99). Reaktif toksoplazmozlu fare modelinde intravenöz atovakuon uygulamasının yüksek derece etkili olduğu gözlenmiştir (71).

Çalışmamızda da bu bilgilere benzer şekilde *T. gondii* RH suşu ile akut toksoplazmoz modeli oluşturulan fare gruplarında Atovakuon tedavi (Ato) grubu periton sıvısındaki *T. gondii* trofozoit sayısı, Kontrol (K) grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0,05$) (Ato: 586 /ml ; K: 1950/ml).

Atovakuon genellikle diğer ajanlarla kombinasyon şeklinde uygulanmaktadır (71). Fare modelli toksoplazmoz çalışmalarında, atovakuon tek başına da etkili bulunmuşken primetamin, spiramisin, klindamisin ya da klaritromisin ile kombine edilip uygulandığında etkinliğinin arttığı görülmüştür (71,100). Akut toksoplazmozlu fare modelinde, atovakuon ve rifabutin kombinasyonunun, in vivo 10^4 *T.gondii* RH suşu trofozoiti ile enfeksiyondan bir gün sonra başlanılan tedavi düzeninde, sinerjizme sahip olduğu ve yaşam süresini uzattığı belirtilmiştir (101).

Benzer şekilde *T.gondii* RH suşunun 10^2 trofozoiti ile intraperitoneal (i.p) olarak enfekte edilen farelerde, kist formu oluşacak süre kadar, atovakuon ve pyrrolidine dithiocarbamate tedavisi uygulanmış ve kombinasyonun, kist formuna etki ettiği gösterilmiştir (102). *T.gondii* RH suşunun 10^2 ve 10^4 oranında trofozoitleri ile i.p. olarak enfekte edilen farelerde, enfeksiyondan bir gün sonra başlayan, çeşitli dozlardaki atovakuon ve klindamisin kombinasyonlarının sinerjistik etkisi araştırılmış ve 10^2 trofozoitle yapılan enfeksiyonda kombinasyonun bütün dozlarına göre, atovakuon tek

başına en iyi etkiye sahipken, 10^4 trofozoit olan enfeksiyonda klindamisin-atovakuon kombinasyonunun farelerde oluşturulan akut ve kronik toksoplazmoz modelinde sinerjistik etkili olduğu gösterilmiştir (98,100). Tedavi sonrası hayatta kalan farelerde devam eden bir enfeksiyonun belirlenmemesi, bu kombinasyonların paraziti elimine etme potansiyeli olduğunu göstermektedir. Az sayıda *T.gondii* trofozoiti ile enfekte edilen hayvan modellerinde, atovakuon tek başına etkili olurken, çok sayıda trofozoit ile oluşturulan enfeksiyonlarda atovakuon tek başına etki edememekte ve kombinasyonların önemi ortaya çıkmaktadır. Kombinasyon tedavilerinin toksoplazmoz tedavisinde gelecekteki uygulamalar olacağı düşünülmektedir (100). Çalışmamızda da atovakuon, immünmodülatör etkili tıbbi bir bitki olan *Astragalus membranaceus*'un kök ekstraktı (AmE) ile kombine edilerek akut toksoplazmozlu fareler üzerindeki etkinliği araştırılmıştır.

Son yıllarda toksoplazmoza karşı geleneksel tıbbi Çin bitkilerinin tedavi etkileri araştırılmaktadır. Yeni klinik ilaç geliştirme amaçlı birçok bitkiyle deneyler yapılmış ve çoğunun *T. gondii* üretimini baskılayıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (103). *T. gondii* trofozoitleri ile enfekte farelerde AmE'nin koruyucu etkisine bakılan bir çalışmada AmE'nin 10^2 *T. gondii* trofozoiti ile enfekte farelerdeki yaşam süresini uzatmada etkili olduğu görülmüştür. (92). Çalışmamızda da Astragalus tedavi (Astra) grubumuzun periton sıvısındaki trofozoit sayısı (1540/ml), K grubumuzdaki trofozoit sayısına göre (1950/ml) anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p<0,05$).

İnsan ve hayvanlarda akut toksoplazmoz, hücrel ve humoral immün yanıt mekanizmalarıyla kontrol altına alınabilmektedir (45). İnsan hücre kültüründe yapılan AmE uygulamasında, AmE'nin makrofajlar, Th ve B hücreleri üzerinde aktive edici etkisi olduğu, ayrıca C3H/HeJ farelerinden elde edilen dalak B hücrelerinin çoğalmasında AmE polisakkaritlerinin indükleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (87,104).

Farklı bir çalışmada, AmE'nin in vivo ve in vitro olarak fare dalak hücreleri üzerinde mitojen etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca AmE uygulamasının in vivo ortamda tümör geliştirilerek ya da siklofosfomid uygulanarak immün sistemi baskılanmış farelerde immün fonksiyonları iyileştirdiği ve fare splenositlerinde hiçbir sitotoksik etkiye neden olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca AmE'nin çoklu mitojen aktivitesi ise fare splenositlerinde lenfosit blastogenezini kuvvetlendirmesiyle gösterilmiştir(87). Bir başka çalışmada AmE'nin insan lenfositleri üzerinde aktif etkiye

sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra in vivo ortamda AmE uygulamasının, peritoneal makrofaj akışına ve fagositik aktivitelerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (87). AmE bileşenlerinin fagositik aktiviteyi, polisakkaritlerinin ise makrofaj sayısını arttırdığı ve C3 kompleman parçaları yoluyla opsonizasyonu güçlendirdiği bildirilmiştir(81).

İnsan makrofajlarının, *T. gondii* ve *Trypanosoma cruzi*’ ye karşı mikrobisidal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, ikisi de hücre içi protozunu olan türlerin enfeksiyonları sırasında makrofajların *T.gondii* enfeksiyonuna karşı önemli bir mikrobisidal aktivite gösterdiği, ancak *T.cruzi* enfeksiyonuna karşı mikrobisidal etkiye sahip olmadıkları gözlenmiştir (105). Bu çalışmada da görüldüğü gibi patojen olan iki protozoon türü olmalarına rağmen *T.cruzi*’de makrofajların çok önemi yok iken toksoplazmozda makrofajların önemli bir etkisi ve görevi vardır. Bu durumda AmE’nin makrofajlar üzerinde bilinen aktivasyon etkisinin enfeksiyonla savaşta önemli olabileceğini düşündürmektedir. AmE polisakkaritlerinin ve astragalosidlerin *Mycobacterium tuberculosis*’in makrofajlarla fagositozuna ve aktive olmuş makrofajlardan salınan bazı sitokin seviyeleri üzerindeki etkisi araştırılmış, çalışmada makrofajların aktiviteleri ve salgılanan sitokin seviyeleri AmE polisakkaritleri ve astragalositleri uygulamasından sonra belirgin bir şekilde yükselmiştir (106). Bir başka çalışmada ise AmE’nin makrofajlar üzerinde herhangi bir toksit etkisinin bulunmadığı, heparinaz aktivitesinde ve hücre göçünde makrofajlar tarafından salgılanan sitokin seviyelerinde artışa neden olduğu bulunmuştur (107).

Protozoon enfeksiyonlarında, makrofajlar, özellikle oksidatif metabolitleri ve oksidasyon metabolizmasını uyararak primer savunma mekanizmasında rol oynamaktadırlar. Çeşitli hücre dışı uyarılara maruz kalan hücrede, protein kinaz C ve protein tirozin kinaz aktivitesi, fagositik fonksiyonların düzenlenmesini tetiklemektedir (45). Kontrol altına alınamamış sistemik enflamasyon ve protein C yolu bileşenleri, sepsisin patofizyolojisinde önemli iki noktadır. *Astragalus membranaceus* köklerinden elde edilen saponinin (SAM), inflamasyona , karaciğer yetmezliğine ve endotelyum hasarına karşı olan yararlı etkilerine dayanarak, farelerde sekal bağlanma ve delik açma yoluyla (CLP) oluşan polimikrobiyal sepsiste, SAM, CLP’den bir saat önce ve 1 saat sonra olacak şekilde oral yolla uygulanmış ve farelerin yaşam sürelerini belirgin bir şekilde arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca SAM inflamatuvar faktörlerine etki etmenin yanında, karaciğerdeki düzensiz iNOS seviyelerini düşürmüş, polimorfonükleer

lökositlerin süzülme oranını arttırmış ve doku hasarı nedeni olan düşük NO(nitrik oksit) değerini ise arttırmıştır. CLP kaynaklı septik farelerde, karaciğerdeki protein C yolu mRNA sentezlenmesindeki bozulmaları da iyileştirmiştir. Bu bulgular SAM'in bozulmuş protein C yolunu yeniden düzenleyebilme mekanizması ve anti-enflamasyon mekanizmalarıyla sepsisli fareler üzerinde koruyucu etkileri olduğunu gösterir (108). Bir başka çalışmada ise oral uygulanan AmE'nin akut toksoplazmozlu farelerin karaciğerlerinde iNOS uyarıcı etkisiyle önemli bir yapılanmaya neden olduğu gösterilmiştir (92). AIDS'lilerde *P. carinii* pnömonisi tedavisinde uygulanan, atovakuonun da dahil olduğu çeşitli ilaç tedavilerinin etkileri farklı seviyelerde olmuş fakat en çok ölüm nedeninin bakteriyel enfeksiyon olduğu tespit edilmiştir (74). Bu örnekte de görüldüğü üzere immünsupresyonlu hastalarda toksoplazmoz tedavisinde, atovakuon ve AmE'nin etkileri ışığında baktığımızda, toksoplazmoz tedavisinde atovakuon az yan etkileri ile tercih edilirken, AmE ise hem atovakuon sinerjizmi yoluyla toksoplazmoz tedavisine etkili hem de AIDS'li immünyetmezlikli hastalarda büyük bir sorun oluşturan sepsislerde, anti-enflamasyon , bozulmuş protein C yolunu yeniden düzenleme gibi etki mekanizmalarıyla, düşük tokisisiteli olmasıyla daha geniş etkili ve sağlıklı bir tedavi süreci sağlayacağı düşünülmektedir.

AmE yüksek konsantrasyonda β -glukan içermektedir (109). Beta-glukanın antienfektif aktivitesi, deneysel hayvan modelleri üzerinde viral paraziter, fungal ve bakteriyel enfeksiyonlarda gösterilmiştir.Örneğin yapılan çalışmalarda; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium leprae* enfeksiyonlu modellerde, β -glukan uygulamasının, mortaliteyi ve enfekte hayvanlardaki bakteri sayısını azalttığı gösterilmiştir (25,90). *T. gondii* RH suşu ile enfeksiyondan belli bir süre önce β -glukan türevleri uygulanan farelerde makrofajların aktivasyonunun artmasına dayandırılan, uzayan hayatta kalma süreleri ile sonuçlanmıştır. Akut toksoplazmozlu fare modelinde yapılan farklı bir çalışmada ise gavaj yoluyla 7 gün uygulanan β -glukan tedavisi sonucunda peritondaki *T.gondii* trofozoiti sayısında, kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (90).

Beta-glukanın fonksiyonel fagositik hücreler olan granülosit, monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerin fagositoz yeteneğini arttırdığı, güçlü bir hematopoetik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (90). Oral yolla kullanılan β -glukanın, dalaktaki NK hücrelerinin ve peritoneal makrofajların lizozim aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir

(110). Beta-glukanın proinflatuar sitokin üretimini stimüle etmeden, özellikle nötrofil ve makrofajların mikrobisidal etkilerini arttırdığı bildirilmiştir (90).

AmE, zengin aktif içeriğiyle enfeksiyonlar üzerinde olumlu etkilere sahip bir bitkidir. Hücrel ve humoral immüniteyle kontrol altına alınabilen toksoplazmozda, AmE makrofajları, Th ile B hücreleri ve insan lenfositleri üzerinde aktif etkiye sahipken, mitojen ve çoklu mitojen etkileriyle, immün sistemin baskılandığı durumlarda immüniteyi kuvvetlendirmiştir. Bu sırada splenositler üzerinde, makrofajlar üzerinde de olduğu gibi hiçbir toksit etki göstermemekte, ayrıca aktive olmuş makrofajlardan salınan sitokinleri de arttırmaktadır. *T.gondii* ile mücadelede önemli yeri olan makrofajların hareketini, sayısını ve fagositik aktivitesini, C3 kompleman parçalarıyla da opsonizasyonu artırır. İçeriğinde bulunan β -glukan antienfektif aktivite gösterirken, dalaktaki NK hücrelerinin lizozim aktivitesini arttırmış, saponin ile enflamasyonda, karaciğer hasarında ve immün yetmezliklerde önemli olan sepsiste iyileşmelere neden olmuştur. Bu bilgiler ile uyumlu olarak çalışmamızda; akut toksoplazmozlu farelere oral yolla AmE uyguladığımız Astra tedavi grubunun periton sıvısındaki *T.gondii* trofozoit sayısının (1540/ml) K grubundan (1950/ml) anlamlı derecede az olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). AmE akut toksoplazmozlu fareler üzerinde etkili bulunmuş ve bunun immün sistemi aktive etme özelliğiyle sağladığı düşünülmüştür.

AmE polisakkaritlerinin insanda lenfoproliferasyonu güçlendirdiği gösterilmiş ve enjeksiyonunun, myelosuprese farelerde, hematopoeze etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, siklofosomid enjekte edilerek immün sistemi baskılanmış farelere i.p. olarak 500 mg/kg AmE enjekte edilmiş ve AmE'nin kemik iliği stromal hücrelerinin yaşam sürelerini uzattığı, IL-6 üretimi ve kemik iliği stromal hücrelerinin mRNA sentezini etkileyerek, kemik iliği stromal hücreleri ve bcl-2 proteininin de artmasıyla, granülosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) üretimini arttırdığı gösterilmiştir(86). Protozoon enfeksiyonlarında özellikle dendritik hücrelerin doğal direnç ve edinsel immün yanıtı modifiye ederek, antijen sunumu ve immün regulasyon mekanizmalarına müdahale ettikleri bilinmektedir (45). Chen Chao-jun ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada (111), GM-CSF uygulamasında olduğu gibi, AmE polisakkaritleri uygulamasının da, in vitro ortamda periferik kan monositlerinden gelen insan dendritik hücrelerinin olgunlaşmalarına sebep olduğunu gösterilmiştir. AmE'nin GM-CSF etkisi bu çalışmayla gösterilmektedir.

AmE'nin içeriğinde bulunan β -glukanın antibiyotiklerin antimikrobiyal etkinliğini arttırdığı ve antibiyotiklere maruz kaldıktan sonra bakterilerin fagositoza ve hücre içi ölüme çok duyarlı olduğu bildirilmiştir (90). Beta-glukan ile sefazolin kombinasyonunun *S. aureus* yara enfeksiyonunda sinerjik etkili, *E.coli* ile enfekte sıçanlarda β -glukan+sefalotin, beta-glukan+ gentamisin ve *S. aureus* ile enfekte sıçanlarda beta-glukan+siprofloksasin ile sinerjizm olduğunu bildiren çalışmalar dikkat çekicidir. Ayrıca bu etkinin, GM-CSF ve antibiyotiklerin birarada olmasıyla sağlandığı anlaşılmış ve in vivo, in vitro çalışmalarda polimorfonükleer lökositlerin varlığında koloni stimüle edici faktörlerin antibiyotiklerle sinerjistik etkileşim gösterdiği belirlenmiştir. Akut toksoplazmozlu farelerde, oral yolla β -glukan+spiramisin kombinasyon ve tekli uygulamaları sonunda periton sıvılarındaki trofozoit sayılarında kontrol grubuna göre farklı seviyelerde anlamlı derecede düşüşler gözlenmiştir. Toksoplazmoz tedavisinde β -glukan ve spiramisin arasında sinerjizm belirlenmiştir (90).

Çalışmamızda da içeriğinde β -glukan bulunan AmE ve atovakuon kombinasyonun uygulaması sonundaki periton sıvısı trofozit sayımında, Ato+Astra tedavi grubunun trofozit sayısı (220/ml), K grubunun trofozoit sayısına göre (1950/ml) anlamlı derecede düşük çıkmıştır ($P<0,05$). Bu durum yapılan benzer araştırmalardan da yola çıkarak akut toksoplazmozlu fare modelinde astragalus ve atovakuon arasında bir sinerjizm olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızdaki üreme inhibisyon aktivitesi formülünün sonuçları da bu durumu desteklemektedir (Grupların üreme inhibisyon %'leri; Ato:%69,95 ; Astra :%21.03; Ato+Astra :%88,72)

Toksoplazmoza karşı direnç sağlamada NK ve Th1 tip CD4+ T hücrelerinin önemli yeri olup, bunların salgıladığı IL-1, IL-2, IL-12, TNF- α ve INF- γ gibi proinflamatuvar sitokinler koruyucu rol oynarlar (90). Hem akut hemde kronik toksoplazmozun kontrolünde Th1 tipi cevap en önemli rolü oynar. Intraseküller patojenlerden olan *T.gondii* üzerinde, INF- γ yoluyla etkilenen Th1 cevabı, erken koruyucu immünitede anahtar rol oynar (14,30,90). AmE, INF- γ ve IL-2 gibi Th1 sitokinlerinin üretimini arttırarak doğal immünitede parazitin çoğalmasını önler ve TNF- α ve NK hücreleriyle toksoplazmozun kontrolünü sağlarlar (14).

ISS Balb/c farelere oral ve ip. yollarla AmE uygulanmış ve hücrel immün cevabı saptamak için INF- γ ve IL-12 seviyelerinin belirlendiği bir çalışmada; INF- γ ve

IL-12 seviyeleri önemli derecede yüksek olarak bulunmuş, oral ve ip.yoldan yapılan uygulamalar arasında ise fark gözlenmemiştir (112).

Akut toksoplazmozlu fare modelinde, atovakuon ve IL-12 ayrı ayrı ve kombinasyon şeklinde uygulandığında, kombinasyon tedavisinin hayatta kalma sürelerini belirgin bir şekilde uzattığı belirlenmiştir. Ayrıca enfekte farelerin IL-12 ve atovakuon kombinasyonu ile tedavisi sonucunda kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek INF- γ üretimine neden olduğu belirlenmiştir (68). Çalışmamızda da Ato+Astra tedavi grubumuzdaki INF- γ ortalaması (3.249 pg/ml) K grubuna (1.858 pg/ml) göre anlamlı derecede fazla bulunmuştur ($p<0,05$). INF- γ , *T.gondii* 'ye karşı dirençte ana mediator sitokin rolündedir (14,68) ve IL-12'nin uyarmasıyla NK ve T hücreleri tarafından üretilirler. Ayrıca kombinasyon tedavisinde *T. gondii*'nin dokulardaki kolonizasyonuna da etkisi olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar IL-12 'nin, kist reaktivasyonlu ve immün yetmezlikli hastalarda trofozoitlerin çoğalmasının engellenmesi durumunda, insan toksoplazmozunda kullanışlı bir tedavi yardımcısı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (68).

Makrofajların en önemli fonksiyonlarından biri de akut enfeksiyon sırasında parazit ile enfekte olduktan sonra IL-12 fonksiyonlarının gerçekleşmemesidir. IL-12; INF- γ 'yi tetikleyen en önemli sitokindir (45). Bizim etken maddemiz olan AmE, IL-12 üretimini dışarıdan uyarak etki mekanizmasının devamlı işlemesine olanak sağlamaktadır(81). Gruplarımız arasında IL-12 değerlerinin Astra grubumuzda en yüksek değerde olması (Astra IL-12 ort.: 5.297 pg/ml) bu durumu desteklerken en düşük IL-12 seviyesinin Ato+Astra grubumuzda olması (Ato+Astra ort.: 2.751 pg/ml); bu gruptaki trofozoit sayılarının da K grubuna göre anlamlı derecede düşük olmasıyla ($p<0,05$) uyumlu olarak, enfeksiyon şiddetinin azaldığı düşüncesini desteklemektedir.

Bunun yanı sıra sitokinlerin uzamış etkileri yüksek biyolojik potansiyelleri nedeniyle hasara yol açmaktadır (45). Çalışmamızda Ato+Astra tedavi grubunun, diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük çıkan IL-12 değeri ($p<0,05$), immün sistemde inhibisyon/aktivasyon dengesi işleyişinin düzgün çalıştığını doğrularken, Ato+Astra tedavi grubunda, iyileşmeyle ilişkilendirdiğimiz düşük sitokin değerlerinin hasara yol açma olasılıklarının ortadan kaldırılmış olduğunu da göstermiştir. (Ato+Astra IL-12 ort: 2.751 pg/ml , Ato IL-12 ort: 4.071 pg/ml, Astra IL-12 ort: 5.297 pg/ml, K, IL-12 ort:4.422 pg/ml).

T.gondii' nin çeşitli yolları kullanarak proinflamatuvar sitokinleri baskıladığı, IL-12 ve TNF- α üretimini azaltarak parazitik etki oluşturulduğu gösterilmiştir. INF- γ ve TNF- α yanıtı bozulduğunda mikrobik ve paraziter enfeksiyonlara direncin azaldığı gösterilmiştir. Örneğin *T. gondii* ve *Leishmania major* enfeksiyonları sırasında makrofajlarda doğrudan sitokin sinyal reseptörleri indüklenir, INF- γ yanıtı ise baskılanır (45). Bu bilgiler ışığında K grubumuzdaki INF- γ miktarlarının (K; INF- γ : 1.858 pg/ml), Ato+Astra tedavi grubumuza göre anlamlı derecede düşük değerlere sahip olması (Ato+Astra; INF- γ : 3.249 pg/ml) böyle bir mekanizma sonucunda oluştuğunu düşündürmüştür ($p<0,05$).

Atovakuon ve pyrrolidine dithiocarbamate kombinasyonun 10^2 RH suşu ile enfekte edilen farelerde, tedavi periyodu sonrasında enfeksiyonu olmayan (tedavi olmuş) grupla karşılaştırıldığında, latent enfeksiyonu devam eden tedavi gruplarında, parazitin latent formunun immünolojik kontrolünün sağlandığını gösteren önemli miktarda yüksek INF- γ seviyeleri tespit edilmiştir (102). Çalışmamızda ki Ato+Astra grubunda INF- γ oranının yüksek seviyede olması immünolojik kontrol sağlanarak enfeksiyonun iyileşmekte olduğunu düşündürmüş, en düşük trofozoit sayısının da Ato+Astra tedavi grubunda olması da bu durumu desteklemiştir. Ayrıca Ato ve Astra tedavi gruplarındaki INF- γ değerlerinin, K grubuna göre yüksek değerlerde olması ise yine enfeksiyonun immünolojik kontrol altına alındığını düşündürmüş ve bu durum K grubuna göre anlamlı derecede düşük trofozoit sayılarıyla desteklenmiştir ($p<0,05$). (Ato+Astra trof.s: 220, Ato trof. s.:586; Astra trof.s.:1540 ve K trof. s.:1950) (Ato+Astra g. INF-y ort: 3.249 pg/ml, Ato g. INF-y ort.:3.370 pg/ml, Astra. g. INF-y ort: 1.858 pg/ml).

Yapılan farklı laboratuvar çalışmalarında dışarıdan uygulanan INF- γ 'nın, primetamin ve azitromisinin anti-*T. gondii* etkisini arttırdığı gözlenmiştir (68). Çalışmamızda da kombinasyon şeklinde ve tekli uygulama gruplarımızdaki yüksek INF- γ seviyeleri dışarıdan ek bir uygulama gerektirmeden, doğal yoldan sentezlenmesiyle avantajlı bir etkiye sahip olduğunu ve Ato+Astra tedavi grubumuzdaki sinerjizmi desteklediğini düşündürmüştür (Ato+Astra; trof. s.: 220; K. trof. s: 1950).

AmE'den elde edilen glukanın, periferel T lenfositlerin çoğalmasını etkilediği bildirilmektedir (109). T lenfositleri immün sistemde merkezi ayarlayıcı hücrelerdir ve T lenfosit çoğalması immünite işlerliğinin bir göstergesidir, β -glukanın, sitokin salınımlarıyla lenfosit proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, T lenfosit

proliferasyonu için anahtar rolü oynayan sitokinin IL-2 olduğu göstermişlerdir. Astragalus B-glukanının IL-2 bioaktivitesini arttırdığı bulunmuştur (87,109). Periferik kan lenfositlerindeki IL-2 biyoaktivitesinin artması, artan lenfosit çoğalmasını açıklamada bir yere sahip olabilir. Sütten yeni kesilmiş domuzlarda, AmE'den elde edilen B-glukan ve lipopolisakkaritlerin çeşitli parametreler üzerindeki etkilerinin bakıldığı bir çalışmada lipopolisakkarit uygulanan domuzlarda uygulanmayanlara göre daha yüksek T lenfosit proliferasyonu ve IL-2 biyoaktivitesi gözlenmiştir. AmE β -glukanı uygulandığında ise kortikosteroidlerin ve inflamatuvar sitokinlerin seviyelerini düşürürken, IL-2 biyoaktivitesini artırarak lenfosit çoğalmasını etkilediği/indüklediği belirlenmiştir (109). AmE uygulaması yapılan bir çalışmada splenik lenfositlerin çoğalmasının etkilediği gibi immünsuprese farelerde makrofaj aktivitesini, IL-2 ve IL-1 cevabını arttırmıştır (81). Yine benzer bir şekilde AmE'nin in vitro ortamda splenositler üzerindeki etkisine bakılan bir çalışmada IL-2 reseptörlerinin sentezinde belirgin bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (87). Çalışmamızda da IL-2 oranları en yüksek Astra tedavi grubunda gözlenmiştir (Astra g. IL-2 ort: 166 pg/ml, Ato g. IL-2 ort : 93 pg/ml, K g. IL-2 ort :112 pg/ml, Ato+Astra g. IL-2 ort: 66 pg/ml). Bu durum AmE'nin immünmodulator etkisini, Ato+Astra grubumuzdaki en düşük IL-2 seviyesi ise enfeksiyon şiddetinin azalması ile uyumludur.

Parazitin parazitofor vakuol içinde saklanması lizozomlardan kurtulmasına yardımcı olur. Enfeksiyon aynı zamanda regülatör sitokin olan IL-10 ve TNF- α üretimini arttırarak patolojik immün cevap yanıtını azaltır, aynı zamanda Th1 sitokin sentezi ve makrofaj aktivasyonunu inhibe eder (14,90). Aynı zamanda IL-10 , toksoplazmoz tarafından üretimi indüklenen bir sitokindir. Bunlar *T. gondii* tarafından uyarılan IL-10 'un konağın bağışıklık sistemini engellediği ve *T. gondii* proliferasyonunu desteklediğini gösterir. IL-10'un diğer bir etkisi ise INF- γ ile aktive olmuş makrofajlar tarafından üretilen nitrojen oksiti ve parazit öldürücü etkiyi inhibe etmesidir.*T. gondii* varlığı ile indüklenmiş IL-10, INF- γ bağımlı bağışık yanıtın önemli bir kaçış stratejisidir (10). Bu bilgileri destekleyen bir çalışmada da astragalus polisakkaritlerinin; CD4+CD25 T hücrelerinin negatif immünregülasyonunun baskılamasıyla, yanık sonrası *P.aeruginosa* sepsisin zayıflatılması ile ilgili bir çalışmada; yanık + *P. aeruginosa* grubunda IL-10 üretimi belirgin bir şekilde arttığı bildirilirken, AmE polisakkaritleri uygulaması yanık farelerde *P.aeruginosa* enfeksiyonundaki IL-10 üretimini önemli ölçüde düşürmüş, CD4+ T hücrelerindeki

IL-2 ekspresyonu ve proliferatif aktivasyonu onarmıştır (85). *T.gondii*' nin immün cevaptan kaçışına destek olan bir sitokin olan IL-10' un üretimini düşürme etkisi, immün cevabı daha etkili duruma getirirken, IL-2 üretimini indükleyerek T hücre cevabını kuvvetlendirmesi AmE'nin toksoplazmozun immünolojik tedavisindeki yerini vurgulamaktadır. Çalışmamızda Astra tedavi grubundaki trofozoit sayısının (Astra trof. s.:1540/ml) K grubuna göre (K trof. s.: 1950/ml) düşük olması ve en yüksek IL-2 seviyesinin Astra grubumuzda olması (Astra g. IL-2 ort:166 pg/ml; Ato g. IL-2 ort:93 pg/ml; Ato+Astra g. IL-2 ort: 66 pg/ml; K g. IL-2 ort: 112 pg/ml) böyle bir mekanizmanın varlığı ile uyumlu bulunmuştur.

T.gondii' ye karşı koruma yüksek oranda Th1 immün cevabına bağlıdır. Buna rağmen rekombinant IL-2' nin immünoterapide kullanımı yüksek dozlarının toksisitesi nedeniyle sınırlandırılmıştır (21). 2.5×10^3 *T. gondii* RH trofozoiti ile ip enfekte edilen farelerde dışarıdan verilen 2 µg rekombinant INF-γ tek başına ve azitromisin ile kombine bir şekilde uygulanmış ve akut toksoplazmoz üzerinde tek verilen rekombinant INF- γ' nın bir etki göstermediği, in vivo ortamdaki INF- γ' nin *T.gondii*' ye karşı savunmada önemli bir sitokin olduğunu düşündürmüş, azitromisin ile dışarıdan verilen INF-γ uygulamasında ise sinerjizm gözlenmiştir (113). Rekombinant IL-12 ve rINF- γ gibi Th1 sitokinlerinin kullanımlarından ise, AmE kullanımı insanlarda daha güvenli ve kolay olmakla birlikte Th1 sitokinleriyle ile aşılanmış Toxoplasma aşı uygulamalarından daha fazla avantaja sahiptir. Çin bitkileri biyolojik cevabı modifiye ederek güçlü immün stimulan etki göstermektedirler (114). Dışarıdan ekstra bir uygulama veya rekombinant kullanımını gerektirmeden sitokin seviyelerini indüklemesi *T.gondii* ile immünolojik savaşta daha güvenli şartlar sağlamaktadır. Bu durum da kombinasyon olarak *Astragalus membranaceus*'u seçmemizde önemli bir etken olmuştur.

Normal ya da siklofosfomidle immün sistemi baskılanmış farelere AmE uygulanmış, Th hücre aktivitesini artırarak T bağımlı antijenlere karşı antikor cevabını güçlendirdiği belirlenmiştir (114). Benzer bir çalışma sonucunda da AmE in vivo ortamda kuvvetli bir adjuvan etkisi göstermiştir (87) .AmE, toksoplazmaya karşı koruyucu etkisi olan sitolitik CD8+ T hücrelerinin de güçlendirmiştir .

UV ile virulansı azaltılmış *T. gondii* aşısı uygulanan farelerde AmE'nin adjuvan özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada; sonuçlar enfekte edilmiş kontrollerle karşılaştırıldığında, enfekte farelere AmE uygulamasında ya da aşılanmış ve daha sonra

AmE uygulandığı durumlarda uzayan yaşam süreleri, parazit yükünde düşme , iyileşmiş karaciğer histopatolojisi ve artmış Th-1 tipi hücresel immün cevap gözlenmiştir. Çalışmada UV ile zayıflatılmış *T. gondii* aşısında AmE'nin koruyucu immünitede belirgin bir güçlendirmeye aşı adjuvanı olma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir. *Toxoplasma* aşısında kimyasal olarak adjuvan kullanılmasında ise immün sistemi doğal yoldan uyarma etkisine sahip birer etkenin adjuvan olarak kullanılmasının daha avantajlı olduğu savunulmuştur (114). Bir başka çalışmada AmE'den elde edilen saponin bazlı adjuvanın, antikor güçlendirmesi kadar hücresel immüniteyi de etkileme özelliği adjuvan aktivitelerinde küçük dozlarda dahi etkili olabilme açısından önemli bulunmuştur (115). Bu bilgiler toksoplazmoz tedavisinde AmE'nin araştırılması ve geliştirilmesi gereken bir öneme sahip olduğunu desteklemektedir.

Sonuç olarak ulaşabildiğimiz kaynaklar arasında akut toksoplazmozlu fare modelinde atovakuon ve AmE'nin kombine şekilde kullanıldığı bir çalışma bulunmamıştır. Genellikle başka antimikrobiyallerle kombinasyonlar şeklinde kullanılan, tek olarak da etkili olan antiprotozoal bir ilaç olan atovakuon, özellikle HIV, AIDS gibi immünyetmezlikli hastalıklardaki uzun süreli ve ağır tedavilere, az yan etkileri, karaciğerde metabolize olmaması, proteinlere iyi bağlanma özelliği ve son zamanlarda klasik toksoplazmoz tedavisinde gelişen dirençlere karşı iyi bir alternatif oluşturabilecek durumdadır. AmE ise Çin tıbbında yüzyıllardır bilinen ve kullanılan immünmodülatör etkiye sahip bir bitkidir. Geniş aktif içeriğiyle enfeksiyonlarda immün sistemi uyarır, karaciğer harabiyetini, sepsis durumunu iyileştirir. Toksoplazmozda adjuvan etkisi olan *Astragalus membranaceus*, *T. gondii* savunmasında önemli yeri olan makrofajlar üzerinde olumlu etkileri vardır. Önemli sitokinleri de indükleyerek immün savaşta etkisini genişletmekte, bunları yaparken doğal bir ajan olduğu için hiçbir toksik etki göstermemektedir. Antibiyotiklerin, GM-CSF ile bir arada bulunmasının neden olduğu sinerji mekanizmasına benzer şekilde Atovakuon-Astragalus kombinasyon grubumuzda da en düşük trofozoit sayısının olması, iki etken madde arasında sinerjistik etkileşim olduğu fikrini vermiştir.

KAYNAKLAR

- 1.Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and Practise of Infection Diseases*. New York , 1995: 2455-2464.
- 2.Tender AM, Heckerroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*:from animals to humans. Inter J Parasitol 2000; 30:1217-1258.
- 3.Welch PC, Masur H, Jones TC, Remington JS. Serologic diagnosis of acute lymphadenopathic toxoplasmosis. J Infect Dis 1980; 142 (2):256-64.
- 4.Doğan N, Akgün Y. Toxoplasmosis ön tanılı hastalarda antitoksoplasma antikorlarının dağılımı. T Parazitol Derg 1996;20:163-167.
- 5.Özçelik S, Değerli S, Çeliksöz A, Poyraz Ö. Toksoplazmoz ön tanılı hastalarda *Toxoplasma* antikorlarının dağılımı. T Parazitol Derg 1998;22:362-365.
- 6.Aşçı Z, Seyrek A, Kizirgil A, Doymaz MZ, Yılmaz M. Investigation of IgG and IgM class anti-*Toxoplasma* antibodies in toxoplasmosis suspected patients sera. T Parazitol Derg 1997;34:1347.
- 7.Gül K, Dağ MN, Suay A, Mete M, Mete Ö. D.Ü. Tıp Fakültesinin değişik bölümlerine başvuran ve toksoplazma ön tanısı konmuş hastalarda Toksoplazma antikorlarının dağılımı. T Parazitol Derg 1994;18:395-97.
- 8.Kocabeyoğlu Ö, Emekdaş G, Koşan E, Fidan A, Özcan Ş. Değişik yaş gruplarında Toksoplazma IgG antikor prevalansı. T Parazitol Derg 1996;20:9-12.
- 9.Sütçü A,Tuncer İ, Kuru C, Baykan M. Konya ve çevresinde *Toxoplasma* IgM ve IgG prevalansı. T Parazitol Derg 1998;22:5-7.
- 10.Walker W, Roberts CW, Ferguson DJ, Jebbari J, Alexander J. Innate immunity to *Toxoplasma gondii* is influenced by cender and is assaciated with differrances in IL-12 and gamma interferon production. Infect Immun 1997;65:1119-21.
- 11.Guterrez Y. *Diagnostic Pathology of Parasitic Infections*. Oxford Univ. Press 2000;201-234.
- 12.Mehlhorn H. Encyclopedic references of parasitology. Dis Treat Therap 2001;584-598.

- 13.Lopes FMR, Goncalves DD, Mitsuka-Bregano R, Freire Rli Navarro IT. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. BJID 2007; 11(5):496-506.
- 14.Özcel MA. *Tıbbi Parazit Hastalıkları*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yay. No:22, 2007.
- 15.Liesenfield O, Wong SY, Remington JS. *Text book of AIDS Medicine*. Baltimore; William Wilkins Co. 1999; 225-259.
- 16.Georgiev V. Management of toxoplasmosis. Drugs 1992;48:179-88.
- 17.Akısı Ç, Korkmaz M, editör. *Tıbbi Parazitoloji Tedavi Kitabı*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:20, 2005.
- 18.Araujo FG, Huskinson-Mark J, Gutteridge W, Remington JS. In vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 566C80 against the cyst form of *Toxoplasma gondii*. AAC 1992; 36(2):326-30.
- 19.Araujo FG, Lin T, Remington JS. The activity of atovaquone(566C80) in murine toxoplasmosis is markedly augmented when used in the combination with pyrimethamine or sulfadiazine. J Infect Dis 1993;35:293-99.
- 20.Djurkovic-Djukovic O, Nikolic T, Robert-Gangneux F, Bobic B, Nikolic A. Synergistic effect of clindamycin and atovaquone in acute murine toxoplasmosis. AAC. 1999, 43:2240-44.
- 21.Sinclair S. Chinese Herbs: A Clinical Review of *Astragalus*, *Ligusticum* and *Schizandrae*. Alter Med Rev 1998;3(5):338-44.
- 22.Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. *Clinical Parasitology*. Philadelphia:Lea and Febiger;1984.
23. Unat EK, Yücel A, Atış K, Samastı M. *Unat'ın Tıp Parazitolojisi*. İst. Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yay. No:162. 1991;77:755-57.
- 24.Yaşarol Ş, editor. *Toxoplasmosis*. İzmir: Türk Parazitoloji Derg. Yayını No:3 1983:1-8.
- 25.Dubey JP. The History of *Toxoplasma gondii*-The First 100 Years. J Eukaryot Microbiol. 2008; 55(6):467-75.

- 26.Frenkel JK, Dubey JP, Hoff RL. Loss of stages after continuous passage of *Toxoplasma gondii* and *Besnoitia jellisoni*. J Protozool 1976;23:421-424.
- 27.Brands, SJ. Systema Naturae 2000. Amsterdam, 1989-2005. <http://sn2000.taxonomy.nl/Taxonomicon/TaxonTree.aspx?id=1310&tree=0,1>.
- 28.Ho-Yen DO, Joss AWL. *Human Toxoplasmosis*. Oxford;Medical Publishing,1992.
- 29.Remington JS, Mcleod R, Thulliez P, Desmont G. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia; W.B Saunders. 2001;205-346.
- 30.Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. The Lancet, Seminar. 2004;363:1965-76.
- 31.Dubey JP. Tachizoite- induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. J Parasitol 2002;88:713-717.
- 32.Pfefferkorn ER. *Modern Parasite Biology*. New York:Freeman and Co.1996;26-50.
- 33.Kuman HA, Altıntaş N. *Protozoon Hastalıkları*. İzmir: Ege Üniversitesi Basım Evi 1996:112-44.
- 34.Dubey JP. *Parasitic Protozoa*. New York:Academic Press.1993;1-158.
- 35.Frenkel JK. Pathophysiology of toxoplasmosis. Parasitol Today 1988;4:273-278.
- 36.Remington JS, McLeod R, Desmonts G. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. WB. Saunders Company;1992:140-267.
- 37.Siegel SE, Lunda MN, Gelderman AH, Halterman RH, Brown JA, Levine AS. Transmission of toxoplasmosis by leucocyte transmissions. Blood 1971;37:388-94.
- 38.Dubey JP, Frenkel JK. Cyst Induced Toxoplasmosis in Cat. J Protozool 1972;19:155-77.
- 39.Hutchison VM, Dunachle JF, Work F, Slim JC. The life cycle of the coccidian parasite *Toxoplasma gondii* in the domestic cat. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1971;65:350-99

40. Ferguson DJP, Birc-Anderson A, Siim JC, Hutchison WM. Ultrastructure studies on the sporulation oocysts of *Toxoplasma gondii*. Acta Pathol Microb Scand Ser B 1979;87:253-60.
41. Werk R. How does *Toxoplasma gondii* enters the host cells. Rev Infec Dis 1985; 7:449-57.
42. Cole Ra, Lindsay DS, Howe DK. Biological and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains obtained from Southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). J Parasitol 2000;86:526-30.
43. Jacquier P. Antibody Test Helps Pregnant Women and Neonates. [Http://rooche .com/pages/facets/2/toksoplazmoz htm](http://rooche.com/pages/facets/2/toksoplazmoz.htm). 2012.
44. Montoya JG, Kovacs JA, Remington JS. *Principles of Infection Diseases*, Churchill Livingstone 2005;2:3170-3228.
45. Yılmaz Ö, Turgay N. Sitokin İlişkili Hücre İçi Sinyal İletimi ve Paraziter Enfeksiyonlardaki Önemi. Türk Parazitol Derg 2009;33(4):301-306.
46. Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages correlation of parasite genotype with human disease. J Infect Dis 1995;177:1561-66.
47. Darde ML. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. Ant Ist Super Sanita 2004;40(1):57-63.
48. Aral Akarsu G. Toxoplazmoz Tanısı. J Ankara Univ Med Fac J 2008, 61(3):180-190.
49. Delorme V, Cayla X, Faure G, Garcia A, Tordieu I. Actin dynamics in controlled by a Casein Kinase II and Phosphatase 2C interplay on *Toxoplasma gondii* Toxofilin. Mol Biol Cell 2003;14(5):1900-12.
50. Meissner M, Schlüter D, Soldati D. Role of *Toxoplasma gondii* myosin A in powering parasite gliding and host cell invasion. Science 2002;298:837-40.
51. Beckers CJ, Dubremetz JF, Puijalon OM, Joiner KA. The *Toxoplasma gondii* rhoptry protein ROP2 is inserted into the parasitophorous vacuole membrane surrounding the host cell cytoplasm. J Cell Bio 1994;127:947-961.

52.Dobbin CA, Smith NC, Johnson AM. Heat Shock Protein 70 is a Potential Virulence Factor in Murine *Toxoplasma* Infection Via Immunomodulation of Host NF- κ B and Nitric Oxide. J immunol 2002;169:958-65.

53.Nagasawara H, Oka M, Maeda K. Induction of Heat Shock Protein Closely Correlates with Protection Against *Toxoplasma gondii* Infection National Academy of Sciences, 1992;89:3155-58.

54.Kwork LY, Schülter D, Clayton C, Soldati D.The antioxidant systems in *Toxoplasma gondii* and the role of cytolitic catalase in defence against oxidative injury. Mol Microbiol 2004;51(1):47-61.

55.Fox BA, Bzik DJ. De nova pyrimidine biosynthesis is required for virulence of *Toxoplasma gondii*. Nature 2002;415-929.

56.Torrey EE, Yolken RH. *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. Emerg Infect Dis 2003;11:170-76.

57. Töre O. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Ankara:Nobel Tıp Kitapevi 2002;1:676-85.

58.Avcı Yİ. Toksoplazmoz, [http:// gata.edu.tr/dahilibilimler/infeksiyon/Ders-Notları/Toksoplazmoz.htm](http://gata.edu.tr/dahilibilimler/infeksiyon/Ders-Notları/Toksoplazmoz.htm).2012

59.Özcel A, Altıntaş N. *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir, Türk Parazitoloji Derneği Yayın No:15. 1997:400-401.

60.Suzuki Y, Conly PK, Remington JS.Treatment of toxoplasmic encephalites in mice with recombinant gamma interferon. Infect Immun 1990,58:3050-55.

61.Gazinelli RT, Denkers EY, Sher A. Host resistance to *Toxoplasma gondii* model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites. Infect Agent Dis 1993;2:139-49.

62.Suzuki Y, Conly PK, Remington JS. Importance endoeneous INF-gamma for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. J Immunol 1989;143:2045-50.

63.Substance CS, Dawson L, Remington JS. Human lymphokine activated killer cells are cytotoxic againts cells infected with *Toxoplasma gondii*. J Exper Med 1992; 176:1511-19.

64. McLeod R, Mack DG, Boytr K. Phenotypes and functions of lymphocytes in congenital toxoplasmosis. *J Lab Clin Med* 1990; 116:623-35.

65. Peterson P, Gekker G, Hu S, Chao C. Intracellular survival multiplication of *Toxoplasma gondii* astrocytes. *J Inf Dis* 1993;168:1472-78.

66. Araju FG, Remington JS. Synergetic activity of azithromycine and gamma interferon in murine toxoplasmosis. *AAC* 1991;35:1672-73.

67. Araju FG, Hudkinson J, Remington JS. Remarkable in vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 566C80 against tachyzoites and tissue cyst of *Toxoplasma gondii*. *AAC* 1991;35:293-99.

68. Araujo FG, Hunter CA, Remington JS. Treatment with IL-12 in combination with atovaquone or clindamycin significantly increase survival of mice with acute toxoplasmosis. *ACC* 1997;41:188-90.

69. Israelski DM, Remington JS. Activity of interferon gamma in combination with pyrimethamine or clindamycin in treatment of murine toxoplasmosis. *Euro J Clin Microbiol Inf Dis* 1990;9:358-60.

70. Sayles PC, Johnson LL. Innate defences are required for mice to resist the ts-4 vaccine strain of *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun* 1996, 64:3088-92.

71. Baggish AL, Hill DR. Antiparasitic Agent Atovaquone: Minireview. *AAC* 2002;46(5):1163-73.

72. Safety Data Sheet. Atovaquone. Glaxo Smith Kline. SDN No:123597
Material: Atovaquone, Revised Date:2010, Version:20, s:1-8.

73. Dixon R, Pozniak AL, Watt HM, Rolan P, Posner J. Single-dose and steady-state pharmacokinetics of a novel microfluidized suspension of atovaquone in human immunodeficiency virus-seropositive patients. *AAC* 1996;175:1544-47.

74. Spencer CM, Goa KL. Atovaquone, A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in opportunistic infections. *Drugs* 1995;50:176-96.

75. Haile LG, Flaherty JF. Atovaquone : a review . *Ann Pharmacother* 1993;27(12):1488-94.

76.Torres R, Weinberg W, Stanseli J. Atovaquone for salvage treatment and suppression of toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. Clin Inf Dis 1997;24:422-29.

77.Schöler N, Krause K, Kayser O, Muller RH, Borner K, Hahn H, Liesenfeld O. Atovaquone Nanosuspensions Show Excellent Therapeutic Effect in a New Murine Model of Reactivated Toxoplasmosis. AAC 2001;45(6):771-79.

78.Chan C, Montoner J, Lefebvre EA, Morey G, Dohn M, McIvor RA, ScottJ, Marina S, Caldwell P. Atovaquone suspension compared with aerosolized pentamidine for prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia in human immunodeficiency virus-infected subjects intolerant of trimethoprim or sulfonamids. J Infect Dis 1999, 180:369-376.

79.El-Sadr WM, Murphy RL, Vurik TM, Luskin-Hawk R, Cheung TW. Atovaquone compared with dapsone for the prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with HIV Infection who cannot tolerate trimethoprim, sulfonamids or both. N Engl J Med 1998;339:1889-95.

80.Hughes WI, LoFon SW, Scott JD, Masur H. Adverse events associated with trimethoprim-sulfamethoxazole and atovaquone during the treatment of AIDS-related *Pneumocystis carinii* pneumonia. J Infect Dis 1995;171:1295-301.

81.Tan BKH, Vanitha J. Immunomodulatory and Antimicrobial Effect of Some Traditional Chinese Medical Herbs: A Review. Current Med Chem 2004;11:1423-30.

82.Zhang J, Xie X, Li C, Fu P. Systematic review of the renal protective effect of *Astragalus membranaceus* (root) on diabetic nephropathy in animal models. J Ethnopharma 2009;126:189-96.

83.He Z-Q, Findlay JA. Constituents of *Astragalus membranaceus*. J Natural Products 1991;54(3):810-15.

84.Kemper KJ, Small R. Astragalus (*Astragalus membranaceus*). Longwood Herbal Task Force:<http://www.mcp.edu/herbal/default.htm>. 2011

85.Liu Q, Yao Y, Yu Y, Dong N, Sheng Z. Astragalus Polysaccharides Attenuate Postburn Sepsis via Inhibiting Negative Immunoregulation of CD4+CD25 T

Cells <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0019811>
2011;6(6):1-9.

86.Zhu X-L, Zhu B-D. Mechanisms by which *Astragalus membranaceus* Injection Regulates Hematopoiesis in Myelosuppressed Mice. *Phytother Res* 2007;21:663-67.

87.Cho WCS, Leung KN. In vitro and in vivo immunomodulating and immunorestorative effects of *Astragalus membranaceus*. *J Ethnopharmacol* 2007;113:132-41.

88.Zheng H, Chen Y, Lu F, Liu M, Yang X, Fu X, Zhao Y, Huang B, Huang S, Kasper LH. Cryopreservation of *Toxoplasma gondii* in infected murine tissues. *Parasitol Res* 2012.

89. Gürgün V, Halkman K. *Mikrobiyoloji Sayım Yöntemleri*. Ankara , Gıda teknolojisi Derneği Yayın No:7, 1990.

90. Büyükbaba Boral Ö, Sönmez Tamer G, Keçeli Özcan S, Sönmez N, İşsever H, Tekeli F. Spiramisin ve Beta-glukan Kombinasyonu Etkinliğinin Akut Toksoplazmozlu Fare Modelinde Araştırılması ve IL-10, IL-12 ve TNF- α Düzeylerinin Belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2012;46(3):446-55.

91.Romand S, Pudney M, Derouin F. In vitro and In Vivo Activities of The Hydroxynaphthoquinone Atovaquone Alone or Combined with Primethamine, Sulfadiazine, Clarithromycin or Minocycline against *Toxoplasma gondii*. *AAC* 1993;37(11):2371-78.

92.Huang P, Li Y, Rong G. Protective effect of *Astragalus membrane* on mice of acute toxoplasmosis. 2005 [http://www.shvoong.com/business-management/1604637-protective](http://www.shvoong.com/business-management/1604637-protective-effect-astragalus) effect-astragalus 2012.

93.Muelas-Serrana S, Nagal JJ, Martinez-Diaz RA. In vitro Screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. *J Ethnopharma* 2000;71:101-107.

94.Nissapatorn V. Toxoplasmosis in HIV/AIDS Patients- A Living Legacy. [http:// www.intechopen .com/ toksoplazmoz](http://www.intechopen.com/toksoplazmoz). 2013:308-52.

95.Shubar HM, Lachenmaier S, Heimessat MH. SDS-coated atovaquone nansuspensions show improved therapeutic efficacy against experimental acquired and reactivated toxoplasmosis by improving passage of gastrointestinal and blood- brain barriers. J Drug T 2011;19(2):114-24.

96.Schimkat M, Althaus C, Armbrecht C. Treatment of toxoplasmsosis retinochoroiditis with atovaquone in an AIDS patients. Klin Monbl Augenheilkd 1995;206(3):173-7.

97.Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii*: Infection during pregnancy. Clin Prac 2008;47:554-66.

98.Grujic J, Djurkovic-Djakovic O, Nikolic A. Effectiveness of spiramycin in murine models of acute and chronic toxoplasmosis. Int J Antimicrob Agent 2005;25:26-30.

99.Gormley PD, Pavesio CE, Minnasion D, Lightman S. Effect of drug therapy an *Toxoplasma* cysts in an animal model of acute and chronic disease. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998;39(7):1171-75.

100.Djurkovic-Djakovic O. Snergistic Effect of Clindamiycin and Atovaquone in Acute Chemotherapy. AAC 1999;43(9):2240-44.

101.Romand S, Bruna CB, Farnott R, Derouin F. In vitro and vivo effects of rifabutin alone or combined with atovaquone against *Toxoplasma gondii*. AAC 1996,40(9):2015-20.

102.Djakovic- Djurkovic O. Stage conversion of *Toxoplasma gondii* RH parasites in mice by treatment with atovaquone and pyrrolidine dithiocarbamate. Microb Infect 2005;7:49-54.

103.Jing Z. Inhibition effects of five Chinese herbal medicines on *Toxoplasma gondii* proliferation in vitro.Chinese Vet Sci 2011;2 (özet).

104.Shao BM,Xu W, Dai H, Tu P, Li Z, Gao X-M. A study on the immune receptors for pollysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medical herbs.Biochemical Biophysical Res Com 2004;320:1103-111.

105. Israelski DM, Araujo FG, Wachtel JS, Heinrichs L, Remington JS. Differences in microbicidal activities of human macrophages against *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi*. *Infect Immun* 1990;58(3):263-265.

106. Xu HD, You C-G, Zhang R-L, Gao P, Wang Z-R. Effect of *Astragalus* polysaccharides and Astragalosides on the phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* by macrophages. *Int J Med Res* 2007;35:84-90.

107. Qin Q, Niu J, Wang Z, Xu W, Qiao Z, Gu Y. *Astragalus membranaceus* extract activates immun response in macrophages via heparinase. *Molecules* 2012;17:7232-240.

108. Gao X, Xu X, Pan R. Saponin fraction from *Astragalus membranaceus* roots protects mice against polymicrobial sepsis induced by cecal ligation and puncture by inhibiting inflammation and upregulating protein C pathway.

109. Mao XF, Piao XS, Lai CH. Effect of B-glucan obtained from the Chinese herb *Astragalus membranaceus* and lipopolysaccharide challenge on performance, immunological, adrenal and somatotrophic responses of weanling pigs. *J Anim Sci* 2005, 83:2775-2782.

110. Suzuki I, Hashimoto K, Ohno N, Tanaka H, Yadomae T. Immunomodulation by orally administered β -glucan in mice. *Int J Immunopharmacol* 1989;11(7):761-69.

111. Chen C, Li Z, Fu Q, Liu Y, Li X. Effect of astragalus polysaccharides on the phenotype and functions of human dendritic cells in vitro. *J Sout Med Univ* 2009;29(6):1192 (Abstract)

112. Watson JR. Isolation and Characterisation of the potential immunomodulatory principles from *Astragalus membranaceus*. 2006 Master Tezi. http://eprints.usq.edu.au/4786/1/Watson_2006_front.pdf.

113. Araujo FG, Remington JS. Murin Toksoplazmozunda Interferon Gamma ve Azitromisin Sinerjistik Aktivitesi. *AAC* 1991:1672-1673.

114. Yang X, Huang S, Chen J. Evaluation of the adjuvant properties of *Astragalus membranaceus* and *Scutellaria baicalensis* GEORGI in immune protection induced by UV-attenuated *Toxoplasma gondii* in mouse models. *Vaccine* 2010;737-43.

115.Oda H, Matsuda T, Mukakomi S ve ark. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. Biol Chem 2000; 381:67-74.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2011/ 147

24/11/ 2011

Sn: Doç . Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi

Karar No :2011/ 147
Başvuru :16.11.2011

Sorumluluğunu Üstlendiğiniz, (Biyolog) Yüksek Lisans Öğrencisi Neşe SÖNMEZ'e ait "Astragalus/Atovakuon Kombinasyonunun Akut Toksoplazmoz Fare Modeli Tedavisine Ve IL-2, IL-12, INF-Y Düzeylerine Etkinliğinin Araştırılması" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIKIRIK
Üye

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Doç.Dr. Uluk ÇAKATAY
Üye

Yard.Doç.Dr.Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

Mak.Yük.Müh. Dr.Burak OLGUN
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Neşe	Soyadı	SÖNMEZ
Doğ. Yeri	Şumnu	Doğ. Tar.	18.03.1986
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	16001347990
Email	lnesesonmez@gmail.com	Tel	0546 921 09 08

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi	2013
Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2009
Lise	Hüseyin Yıldız Anadolu Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi	61.250	
Bulgarca	Orta	Zayıf	Zayıf		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı		73.75	
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Büyükbaba Boral Ö, Sönmez Tamer G, Keçeli Özcan S, Sönmez N, İşsever H, Tekeli F. Spiramisin ve Beta-glukan Kombinasyonu Etkinliğinin Akut Toksoplazmozlu Fare Modelinde Araştırılması ve IL-10, IL-12 ve TNF- α Düzeylerinin Belirlenmesi. Mikrobiyol Bul 2012;46(3):446-55.

23-27 Mart 2011; 15. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresinde; Sözel Bildiri 2.lık Ödüllü: “Sema Keçeli-Özcan,Ayşe Willke,Gülden Sönmez-Tamer,Özden Büyükbaba-Boral,NeşeSönmez. Kaspofungin ve varikonazolun, piperasilin/tazobaktam veya sefaperazon/sulbaktam ile kombinasyon tedavisi etkinliğinin nötropenik invaziv kandidiyaz fare modelinde araştırılması”

Enmac Eğitim ve Danışmanlık,

9 Ekim 2010 ; ISO 9001 2008- Temel Eğitimi

İç Tetkik Eğitimi

10 Ekim 2010; ISO 14001-Çevre Yönetimi Eğitimi

Stratejik Yönetim Eğitimi

OHSAS- İşçi Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi Sertifikaları

21 Mayıs-1 Haziran; Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, müzik dinlemek.
