

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DİSİPLİNLERARASI SİNİR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI



ALZHEİMER HASTALIĞI PATOFİZYOLOJİSİNDE
***TOXOPLASMA GONDII* ENFEKSİYONUNUN ROLÜNÜN**
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

SERHAT GÖKDAŞ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Kerem YAMAN

BOLU, TEMMUZ - 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Serhat GÖKDAŞ tarafından hazırlanan “Alzheimer Hastalığı Patofizyolojisinde *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonunun Rolünün Araştırılması” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Disiplinlerarası Sınır Bilimleri Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oy birliği kabul edilmiştir.
9/07/2024

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Şerif DEMİR
Düzce Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Erol AYAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Mustafa DİLEK
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Doç. Dr. Ersin BEYAZÇİÇEK
Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 24.07.2024 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %11 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulundan 2019/05 sayısı ile etik izin alınmıştır.

SERHAT GÖKDAŞ

ÖZET

ALZHEİMER HASTALIĞI PATOFİZYOLOJİSİNDE *TOXOPLASMA GONDII* ENFEKSİYONUNUN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

SERHAT GÖKDAŞ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI SİNİR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. AYHAN ÇETİNKAYA)

(İKİNCİ DANIŞMAN: DR. ÖĞR. ÜYESİ KEREM YAMAN)

BOLU, HAZİRAN - 2023

XV + 79

Alzheimer Hastalığı (AH) etiyolojisi ve patogenezi tam olarak anlaşılamamış, tüm dünyada gittikçe artan en yaygın demans türüdür. *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) ise tüm dünyada insan ve hayvanlarda yaygın olarak görülen, beyin dahil tüm organları enfekte edebilen zoonoz bir hastalıktır. Bu çalışma; *T. gondii* ile enfekte dişi ratların yavrularında AH riskini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada 2-4 aylık Wistar Albino cinsi dişi ratlar kullanılmıştır. Hayvanlar yedişerli beş gruba ayrılmıştır. Bu hayvanların bazı grupları Aβ1-42 çözeltisi 4µg/1µL/taf bilateral intrahipokampal ve *T. gondii* RH suşu 1.5×10^6 parazit inokulum hazırlanarak intraperitoneal olarak enfeksiyon oluşturulmuş sonrasında sağlıklı erkek ratlar ile çiftleştirilmiştir. Her anne grubundan rastlantısal olarak 8 er yavru seçilmiştir. Tüm çalışma gruplarına Barnes maze davranış testi uygulanmıştır. Tüm hayvanların beyin dokularındaki Aβ kümelerinin varlığı ile ayırıcı tanısı Congo Red boyama yöntemleri ile incelenmiştir. Tüm sonuçlar SPSS aracılığıyla istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

Annelerin yuvayı bulma süreleri median(IQR) Kontrol 5,35(3,37-6,15)sn., Alzheimer 29,25(16,0-43,4)sn., *T. gondii* 34,80(21,6-57,0)sn., *T. gondii*1+Alzheimer2 19,65(14,2-41,6)sn., Alzheimer1+*T. gondii*2 6,40(3,35-9,8)sn. ölçüldü. Kontrol ile Alzheimer, *T. gondii* ve *T. gondii*1+Alzheimer2 grupları arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı.

Yavruların yuvayı bulma süresi median(IQR) kontrol 5,75(3,55-9,02)sn, Alzheimer 32,70(21,0-40,0)sn., *T. gondii* 60(16,3-60)sn., *T. gondii*1+Alzheimer2 50,10(33-60)sn, Alzheimer1+*T. gondii*2 6,10(3,3-10,07)sn. bulundu. Kontrol ile Alzheimer, *T. gondii* ve *T. gondii*1+Alzheimer2 gruplarının bulma sürelerinde istatistiksel anlamlı fark bulunurken, Alzheimer1+*T. gondii*2 grubuyla fark bulunmadı. Aβ42 uygulanan annelerin yavrularının beyinlerinde %23,8 congo redle Aβ plakları görüldü.

AH modeli sonrası *T. gondii* enfeksiyonu AH' na karşı öğrenme ve hafıza bozukluğunda dirence sebep olabilir.

ANAHTAR KELİMELE: *Toxoplasma gondii*, Alzheimer Hastalığı, Rat, Davranış Testi, Congo Red Boyama

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ROLE OF *TOXOPLASMA GONDII* INFECTION IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF ALZHEIMER'S DISEASE

PHD THESIS

SERHAT GÖKDAŞ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF INTERDISCIPLINARY OF NEUROSCIENCE

(SUPERVISOR: ASSOC.PROF. DR. AYHAN ÇETİNKAYA)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC.PROF. DR. KEREM YAMAN)

BOLU, JULY 2024

XV + 79

Alzheimer's Disease (AD) is the most common type of dementia whose etiology and pathogenesis are not fully understood and is increasing worldwide. *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) is a zoonotic disease that is common in humans and animals all over the world and can infect all organs, including the brain. This work; It was conducted to investigate the risk of AD in the offspring of female rats infected with *T. gondii*.

2-4 months old *Wistar Albino* female rats were used in the study. The animals are divided into five groups of seven. Some groups of these animals were infected intraperitoneally by preparing A β 1-42 solution 4 μ g/1 μ L/site bilaterally intrahippocampally and *T. gondii* RH strain 1.5x10⁶ parasite inoculum, and then mated with healthy male rats. 8 puppies were randomly selected from each mother group. Barnes maze behavior test was applied to all study groups. The differential diagnosis of the presence of A β clusters in the brain tissues of all animals was examined by Congo Red staining methods. All results were evaluated statistically via SPSS.

Median(IQR) time for hatchlings to find the nest: control 5.75(3.55-9.02)sec., Alzheimer's 32.70(21.0-40.0)sec., *T. gondii* 60(16.3-60) sec., *T. gondii*1+Alzheimer2 50.10(33-60)sec, Alzheimer1+*T. gondii*2 6.10(3.3-10.07)sec. found. While there was a statistically significant difference in the detection times of the control and Alzheimer, *T. gondii* and *T. gondii*1+Alzheimer2 groups, no difference was found with the Alzheimer1+*T. gondii*2 group. The mother and offspring Alzheimer1+*T. gondii*2 group were similar to the control group. A β plaques were observed in the brain of offspring with congo red in 5 of 21 (23.8%) of the offspring of mothers treated with A β 42. *T. gondii* infection after AH model may cause resistance of the host body against AH.

KEYWORDS: *Toxoplasma gondii*, Alzheimer's Disease, Rat, Behavioral Test, Congo Red Staining

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
GRAFİK LİSTESİ	xi
FOTOĞRAF LİSTESİ.....	xii
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xiii
TEŞEKKÜR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 <i>Toxoplasma Gondii</i>	4
2.1.1 Tarihçe	4
2.1.2 Sınıflandırma	4
2.1.3 Morfolojisi	4
2.1.4 Yaşam Döngüsü.....	7
2.1.5 Bulaşma Yolları.....	8
2.1.6 <i>Toxoplasma gondii</i> Nöropatogenez	9
2.1.7 <i>Toxoplasma gondii</i> İmmunolojisi.....	10
2.1.8 Tanı.....	11
2.1.9 Korunma	13
2.1.10 Tedavi.....	14
2.2 Alzheimer Hastalığı.....	14
2.2.1 Epidemiyoloji	14
2.2.2 Etiyoloji	15
2.2.3 Patoloji.....	16
2.2.4 Patogenez.....	18
2.2.5 Klinik Özellikleri.....	20
2.2.6 Teşhis Kriterleri.....	21
2.2.7 Teşhis Yaklaşımı	23
2.2.8 Tedavi	24
2.3 <i>Toxoplasma Gondii</i> Ve Alzheimer İlişkisi	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 Deney Hayvanları Temini.....	30
3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması, Deney Akışı ve Modellemeler	31
3.3 Alzheimer Modelinin Oluşturulması	33

3.4 <i>Toxoplasma gondii</i> Takizoitlerinin Temini ve Hayvanların Takizoit İle Enfeksiyonu.....	35
3.5 Davranış Testleri.....	36
3.5.1 Barnes labirenti.....	36
3.6 Doku Takibi.....	37
3.7 Hematoksilen-Eozin Boyaması	39
3.8 Congo Red Boyama.....	40
3.9 İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
4.1 Davranışsal Bulgular	42
4.1.1 Barnes Labirent Test Bulguları.....	42
4.2 Histopatolojik Bulgular	48
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR.....	64
8. EKLER.....	78

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Takizoit Formundaki <i>Toxoplasma Gondii</i> 'nin Kesit Görünümü	5
Şekil 2.2. Kedide <i>Toxoplasma Gondii</i> 'nin Yaşam Döngüsü.....	7
Şekil 2.3. <i>Toxoplasma Gondii</i> Bulaşma Yolları.....	8
Şekil 2.4. <i>T. Gondii</i> 'nin Enfektif Formları.....	9
Şekil 2.5. Bugüne Kadar Alzheimer Hastalığında Rol Oynayan Genlere Genel Bir Bakış.....	16
Şekil 2.6. Alzheimer Hastalığının Patolojisi.....	17
Şekil 2.7. Amiloid Hipotezi Tarafından Önerildiği Gibi Alzheimer Hastalığına Yol Açan Başlıca Patojenik Olaylara Genel Bir Bakış	19
Şekil 2.8. Tipik bir Alzheimer hastalığı vakasında karakteristik hipokampal atrofiyi gösteren MRG görüntüleri en iyi T1'de koronal düzlemde görselleştirilmiştir.....	24
Şekil 2.9. Beyin Hücreleri Üzerinde <i>Toxoplasma Gondii</i> Enfeksiyonunun Olası Etkileri	29
Şekil 3.1. Deney Hayvanları Grupları.....	31
Şekil 3.2. Vajinal Smear Testi	32
Şekil 3.3. Sıçanın Steriotaksi Aletine Yerleştirilmesi.....	34
Şekil 3.4. Bregma Hattı.....	35
Şekil 3.5. Barnes Labirent Testi.....	37
Şekil 3.6. Beyin Dokusu Makrosu, Kasetleme, Etiketleme, Bloklama	38
Şekil 8.1. Etik Onay Belgesi.....	78
Şekil 8.2. Ek Etik Kurul Belgesi.....	79

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>Toxoplasma gondii</i> taksonomik sınıflandırması	4
Tablo 2.2. <i>T. gondii</i> enfeksiyonunu tespit etmek için serolojik yöntemler	13
Tablo 2.3. Uluslararası Çalışma Grubunun (IWG-2) Teşhis Kriterleri.....	22
Tablo 3.1. Doku Takip Protokolü.....	38
Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyaması Protokolü	39
Tablo 3.3. Congo Red Boyaması Protokolü.....	40
Tablo 4.1. Anne Ratların Yuvayı Bulma Verileri	44
Tablo 4.2. Anne Ratların Verilerinin Mann Whitney U Testi.....	44
Tablo 4.3. Yavruların Ratların Yuvayı Bulma Verileri.....	47
Tablo 4.4. Yavru Ratların Mann-Whitney U Testi.....	47
Tablo 4.6. Yavru Ratların Congo Red Verileri	51
Tablo 4.7. Yavru Ratların Congo Red Boyama Ficher Testi	51

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 4.1. Annelerin Yuvayı Bulma Süresi (sn).....	43
Grafik 4.2. Yavruların Yuvayı Bulma Süreleri (sn).....	46



FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 4.1. Anne Modelinin Oluşup Oluşmadığının Congo Red Boyama Işık Mikroskopik Kontrolü (x40)	48
Fotoğraf 4.2. Anne Modelinin Floresan Ataçmalı Işık Mikroskopik Görüntüde Beta Amiloid Plak Parlamaları (x40)	49
Fotoğraf 4.3. Yavruların Congo Red Boyamada Beta Amiloid Plaklarının varlığının Işık Mikroskopik Kontrolü(x40).....	49
Fotoğraf 4.4. Yavruların Congo Red Boyaması ile Florasan Ataçmalı Işık Mikroskopik Görüntüde Beta Amiloid Plak Parlamaları(x40)	50



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AchEI	: Asetilkolin Esteraz İnhibitörü
AH	: Alzheimer Hastalığı
AHM	: Alzheimer Hastalığı Modeli
APP	: Amiloid Prokürsör Protein
Aβ	: Amiloid Beta
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CAA	: Serebral Amiloid Anjiopati
CCR7	: Kemokin Reseptörü
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DT	: Boya Testi
ELİZA	: Enzim Bağlantılı İmmunsorbent Testi
fAD	: Ailesel Alzheimer Hastalığı
FDG	: Fluorodeoxyglucose
GABA	: Gama Aminobutirik Asit
GAD67	: Glutamik Asit Dekarboksilaz
GAS	: Gama ile Aktive Olan Sekans
GBP	: Guanilat Bağlayıcı Protein
GRA	: Yoğun Granül Protein
ICAM	: Hücrelerarası Adezyon Molekülü
IFAT	: İndirekt Hemaglutinasyon Testi
IFN-γ	: İnterferon Gama
Ig	: İmmunglobulin
IHA	: İndirekt hemaglutinasyon Testi
I$\kappa$$\beta$A	: Transkripsiyon engelleyen protein ailesi
IL-12	: İnterleukin 12
ISAGA	: İmmunosorbent Aglutinasyon Testi
IWG2	: Uluslararası Çalışma Grubu
JAK	: Janus Kinaz
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
LPA	: Logofenik Afazi
LPS	: Lipopolissakkarit
MAT	: Modifiye Aglutinasyon Testi

MIC	: Mikronemal Protein
MRG	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NFT	: Nörofibriler Yumak
NMDA	: Glutamaterjik N-metil-D-aspartat
NMDAR	: Glutamaterjik N-metil-D-aspartat Reseptörü
NLRP3	: Protein hasarlı hücrelerin ürünlerini tespit eder
NIA	: Ulusal Yaşlanma Enstitüsü
OR	: Olasılık Oranı
P65/RelA	: NF-kappa β transkripsiyon faktörü
PAS	: Periyodik Asit Schiff
PH	: Parkinson Hastalığı
RON	: Rhoptri Protein Ailesi
ROP	: Rhoptri Protein Ailesi
PCA	: Posterior Serebral Arter
PSEN	: Presenilin
PV	: Parazitofor Vakuol
STAT3	: Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon 3
STAT6	: Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon 6
<i>T. gondii</i>	: <i>Toxoplasma gondii</i>

TEŞEKKÜR

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Disiplinlerarası Sınır Bilimleri Anabilim Dalı'nda eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışman hocam Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA' ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitemde bulunan ve tezimin her aşamasında bana yol gösteren çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. Erol AYAZ' a ve Prof. Dr. Şerif DEMİR' e, ikinci tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Kerem YAMAN' a sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim. Doktora eğitimim süresince bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa DİLEK' Doç. Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU' na, Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK' e teşekkür ediyorum.

Doktora tez savunmama katılan değerli hocam Doç. Dr. Ersin BEYAZÇİÇEK' e çok teşekkür ediyorum.

Laboratuvar çalışmaları sırasında yardımcı olan Enes EĞİLMEZ' e ve Mücahit ÇAKMAK' a teşekkür ediyorum.

Eğitim sürecimde eksiklerim konusunda bana yardımcı olan kıymetli arkadaşlarıma ve deneylerim sürecinde beni misafir eden samimiyetini ve sevgisini esirgemeyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırmaları Merkezi çalışanlarına teşekkür ediyorum.

Doktora süresince her zaman fikirlerine ihtiyaç duyduğum arkadaşım Fizyoterapist Fırat ALDEMİR ve kardeşim Ziraat Yüksek Mühendisi Onur DEMİR' e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Beni bugünlere getiren ve her koşulda desteklerini hissettiren başta canım annem olmak üzere babama, kardeşlerime ve hayat arkadaşım sevgili eşime minnettarım.

1. GİRİŞ

Toxoplasma gondii enfeksiyonu (toksoplazmoz), dünya çapında insanlarda ve sıcakkanlı hayvanlarda görülen en önemli paraziter protozoon enfeksiyonlarından biridir (1). Bu parazit enfeksiyonunun kaynakları arasında parazit doku kistlerinin bulunduğu çiğ veya az pişmiş etlerin tüketilmesi, kontamine sebze ve su tüketiminden kaynaklanan ookistlerin sporlanması ve ayrıca kontamine toprağın kazara yutulması yer almaktadır. *T. gondii* enfeksiyonunun ensefalit, korioretinit ve pnömonit gibi klinik belirtiler ile bağışıklığı baskılanmış konakçılarda görülür. Primer enfeksiyonların çoğu, immün sistemi yeterli olan konakçılarda genellikle iyi huyludur (1).

Primer enfeksiyonu olan hamile kadınlardan fetüslerine dikey geçiş, konjenital toksoplazmoz (CT) ile sonuçlanabilir. Aslında CT ağırlıklı olarak hamilelik sırasında veya hamilelikten kısa bir süre önce annenin *T. gondii* ile enfekte olmasıyla ortaya çıkar (2). Bununla birlikte, yakın zamanda enfekte olmuş kadınlardan (hamilelikten hemen önce), bağışıklık sistemi baskılanmış reaktif kadınlardan ve daha önce enfekte olup yeni serotiplerle enfeksiyonlar geliştiren hamile kadınlardan parazitin bulaştığı rapor edilmiştir (3). CT geniş bir yelpazede klinik semptomlar içermesine rağmen, enfekte yenidoğanların yaklaşık %75' inde enfeksiyon subkliniktir. Konjenital olarak enfekte bebeklerde klinik hastalığın şiddeti, birincil anne enfeksiyonunun kazanıldığı gebelik yaşı ile ters orantılıdır. CT' nin klinik belirtileri, retinokoroidit ve hidrosefali, mikrosefali ve zeka geriliği gibi ciddi gelişimsel bozukluklar da dahil olmak üzere fetusta ciddi hasarlara neden olabilir. Ayrıca spontan düşük, prematürite ve ölü doğum da meydana gelebilir (4,5).

Çalışmalar, annelerdeki direkt *T. gondii* enfeksiyonları ile rahim içi *T. gondii* bulaşmaları arasında güçlü ilişkiler olduğunu göstermiştir. Konjenital enfeksiyonlarda *T. gondii*' nin anneden çocuğa bulaşma (MTCT) riski, annede enfeksiyonun edinildiği trimestere göre değişmektedir. Tedavi edilmeyen kadınlarda MTCT riski birinci, ikinci ve üçüncü trimesterdeki edinimler için sırasıyla yaklaşık %10 ila %15, %30 ve %60'tır (6). Hamilelikleri sırasında rutin olarak taranan ve enfeksiyon tanısı konulduktan sonra uygun şekilde tedavi edilen kadınlar üzerinde yapılan 22 Avrupa kohortunun meta-analizinde, akut anne enfeksiyonu hamileliğin çok erken döneminde tespit edildiğinde MTCT oranı %5' ten az olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, MTCT oranları hamileliğin ilerleyen dönemlerinde edinilen akut anne enfeksiyonlarında çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunlar arasında, gebeliğin 13, 26 ve 37. haftalarındaki anne serokonversiyonlarından sonra sırasıyla anneden çocuğa bulaşma oranları %15, %44 ve %71 rapor edilmiştir (7). Nadir durumlarda, AIDS ve kortikosteroid tedavisi gibi bağışıklık sistemi baskılanmış durumları nedeniyle enfeksiyonları yeniden aktif hale gelen kronik enfeksiyonlu kadınlarda konjenital bulaşma meydana gelmektedir (8,9).

Gebelikteki primer *T.gondii* enfeksiyonları ile konjenital enfeksiyonlar arasında kurulan bağlantılar, primer *T. gondii* enfeksiyonunun anne ve yenidoğan sağlığında önemli bir hedef olarak tanımlanmasını teşvik etmektedir. Bununla birlikte, edinilmiş akut enfeksiyonu olan çoğu hamile kadın, önemli semptom veya bulgular taşımayabilir ve bu nedenle klinik olarak teşhis konulması zorlaşabilir. Hamilelik sırasında serokonversiyonun belgelenmesi primer toksoplazmozun en doğrudan göstergesidir (10).

Demans, bilişsel ve fonksiyonel yeteneklerde ilerleyici bozulma ve hem davranışsal hem de psikolojik semptomlarla karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır (11). Alzheimer Hastalığı (AH), tüm demans vakalarının yaklaşık üçte ikisini içeren demansın en yaygın türüdür (12). İlk olarak AH bir asır önce tanımlanmış olup etiyojisi ve patogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır (13). AH' nin iki türü bulunmaktadır; genetik mutasyonlarla ilişkili erken başlangıçlı ailesel tip, diğeri ise enfeksiyöz kofaktörleri içerebilen çok faktörlü bir süreç olan çok yaygın geç başlangıçlı formdur (14). AH, distrofik nörit, korteks ve hipokampusta geri dönüşümsüz nöron kaybı, granülovakuoler dejenerasyon, amiloid-beta A β 1-42 peptidinin birikmesinin neden olduğu A β plakları, mikrotübülle ilişkili bir protein tarafından oluşturulan nörofibriler yumaklar (NFT'ler), sinaptik fonksiyon bozukluğu, mikroglioz, reaktif astrositoz, Hirano cisimcikleri, nöropil iplikleri (yani kıvrıkcık lifler) ve serebral atrofi ile karakterizedir (15–19). Ayrıca oksijenin beyne taşınması ve kan dolaşımında azalması AH etiyojisinde bir mekanizma olarak rol oynayabilir (20). Ancak NFT ve A β , AH' ye spesifik değildir ve merkezi sinir sisteminin (MSS) normal fizyolojik koşullarında da üretilir (21). Hastalarda kısa süreli hafıza kaybı, sözel hafızada gerileme, duygudurum dalgalanmaları, motivasyon kaybı, günlük aktiviteleri yerine getirmede bozukluk, muhakeme, karar verme ve plan yapma sorunları, performansta genel düşüş, bilişsel yeteneklerde ve edinilen becerilerde azalma (16,18,22–24) gibi semptomlar görülebilir. Ayrıca, bu hastalar sıklıkla depresyon, anksiyete ve psikoz dahil olmak üzere demansın (BPSD) davranışsal ve psikolojik semptomlarını gösterirler (25,26). BPSD, işlevsel ve bilişsel bozukluğun derecesi ile ilişkilidir (25). AH' nin etkilerini durduracak veya tersine çevirecek kesin bir tedavi yoktur; çoğu hasta tanıdan sonraki 2-3 yıl içinde ölür ve AH' li kişilerde en sık görülen ölüm nedeni pnömonidir. AH gelişimi ile ilgili risk faktörleri arasında yaş, A β ve tau proteinlerinin birikimi, presenilin-1 gibi genetik çeşitlilik, Apolipoprotein E (ApoE) genleri, aile öyküsü, kardiyovasküler risk faktörleri ve bulaşıcı hastalıklar (yani viral, fungal, bakteriyel ve parazitik) gibi faktörler rol oynamaktadır (27–30).

Literatürde viral, bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlar ile AH arasındaki ilişkiyi detaylı olarak gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen *T. gondii* ile AH arasındaki ilişkiyi rapor eden çok az çalışma mevcuttur (31,32) . Bu çalışmalar genellikle yetişkin dönemde gerçekleşen *T.gondii* enfeksiyonunun AH patofizyolojisi ile doğrudan ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (33). Erken

gelişim döneminde gerçekleşen olumsuz çevresel faktörlerin, ilerleyen yaşlarda kronik hastalıkların görülme riskini arttırdığı ve bu etkinin nesiller boyunca devam ettiği literatürde gösterilmesine rağmen (34), erken gelişim döneminde *T. gondii* enfeksiyonu ile AH arasındaki ilişki henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Bu araştırma, *T. gondii* ile enfekte dişi ratların yavrularında Alzheimer hastalığı gelişip gelişmediğini deneysel olarak belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Bu amaç doğrultusunda;

- 1) H0: Dişi ratlara yapılan *T. gondii* enfeksiyonu sonucu sağlıklı erkeklerle çiftleşen annelerin, F1 jenerasyon erkek yavrularında yetişkin dönemde AH riski artar.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Toxoplasma Gondii*

2.1.1 Tarihçe

Konakçı vücuduna tutunarak yaşamını devam ettirebilen parazit; *T.gondii*, sıtma etkeni Plasmodium türleri ve küçük yaş grubu ishallerine sebep olan Cryptosporidium gibi diğer protozoonlarında bulunduğu Apikomplexa ailesindendir (35).

Zorunlu hücre içi parazit *T. gondii* 1900 yıllarında Java serçesinde (*Padda Oryivora*) görülmüş fakat *Haemamoeba danilevskyi*' nin bir formu olduğu düşünülmüştür. 1908 yılında *Ctenodactylus gondii*'den izole edilmiştir (36). İlk tanımlanan canlının adı dikkate alınarak ve parazitin yaya (toxon) sahip olması sebebiyle *Toxoplasma gondii* adı verilmiştir (37).

Prag'da hidrosefali tanılı bir bebek üzerinde oküler toksoplasmoz 1923 yılında tanımlanmıştır. Kedi dışkısında tanısı 1965 yılında Hutchison tarafından konulmuştur (38). Kedigillerin son konak oluşu Frenkel ve arkadaşları tarafından 1970 yılında tanımlanmıştır (39).

2.1.2 Sınıflandırma

Toxoplasma gondii'nin yaşam döngüsüne 1960 yıllarından açıklık getirilmiş fakat sınıflandırılması güncel haliyle Levine ve arkadaşları tarafından 1980 yılında yapılmıştır (40). Güncel sınıflandırma Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

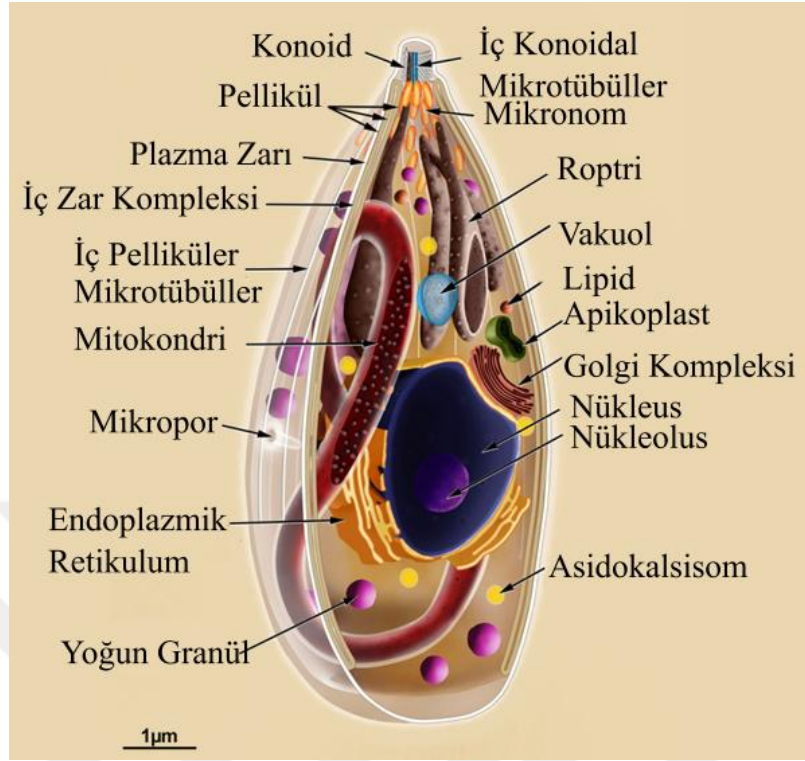
Tablo 2.1. *Toxoplasma gondii* taksonomik sınıflandırması

Alt Alem	Protozoa
Şube	Apicomplexa
Alt Sınıf	Coccidia
Takım	Eucoccidia
Alt Takım	Eimerina
Aile	Sarcozystidae
Cins	<i>Toxoplasma</i>
Tür	<i>Toxoplasma gondii</i>

2.1.3 Morfolojisi

Üç enfektif form (takizoit, bradizoit ve sporozoit), uzunlamasına bir şekil ve konoid, mikronemler ve rhoptriler gibi yapıların ve organelleri bulunan tipik apikal komplekse sahip bir parazittir. Yukarıda bahsi geçen organellerin çoğu

takizoitlerde görülebilmektedir. Bu organeller genel itibariyle Şekil 2.1’ de gösterilmiştir (41).



Şekil 2.1. Takizoit formundaki *Toxoplasma gondii*'nin kesit görünümü (42).

Pelikül olarak bilinen bir zar kompleksi, tüm protozoa gövdesini sınırlar. Dış kısmında plazma zarı ve onun altında iç zar kompleksini meydana getiren yakın iki zardan oluşur. Konoidin bulunduğu ön apikal bölgede ve hücrenin arka kısmında bu iç kompleks yapı bulunmamaktadır (43).

Apikal kompleks, konak hücreyi enfekte etmek amacıyla konoid ve iki takım salgı organelinden (mikronem ve rhoptri) oluşur (44).

Toxoplasma gondii'nin karakteristik enfekte etme evreleri apikal salgı organellerinin varlığı sayesinde. Mikronemler, 250 nm uzunluğunda ve 50 nm genişliğinde çubuk benzeri yapılar olarak görünürler. Membran sisteminin altında kutup halkası etrafında yoğunlaşır ve sadece plazma zarında bulunurlar (45,46). Bunlar protozoan hareketi ve bunun konakçı hücre zarı ile olan ilişkisi için gerekli olan protein içeriğini ilk salgılayan organellerdir (47). Mikronemal proteinler MIC olarak adlandırılırlar (48). Adezinleri ve serin proteazları içerirler (49). Bazı mikronemal proteinler, hareketli bağlantının birleşmesinde rhoptri proteinleriyle

birlikte yer alırlar. Mikronem sayısının sporozoitlerde en yüksek, takizoitlerde orta ve bradizoitlerde en düşük düzeyde olduğu bildirilmiştir (50,51).

Apikal salgı organellerinin ikinci grubu Rhoptriler'dir. Mikronemlerden daha büyüktürler, iyi tanımlanmış iki bölge ile kutup şeklindedirler (Şekil 2.1). En bazalde olanı daha geniştir ve süngerimsi bir görünümü vardır, rhoptri soğanında bulunan protein ailesi (ROP) olarak bilinen konakçı hücre fonksiyonlarının altüst edilmesinde yer alan proteinleri içerir. Ön kısım veya boyun kısmı, konakçı hücre istilasına ile ilişkili proteinleri yoğunlaştırır ve rhoptri içinde bulunan protein ailesi (RON') olarak bilinir. Asidiklerdir. Rhoptri sekresyonu, *T. gondii* istilasına için hareketli kavşağın oluşturulmasında ve parazitofor vakuol (PV) membranının oluşumunda temel bir rol oynar (52).

Salgı organellerinin bir diğeri yoğun granüllerdir. Genellikle küreseldirler ve ortalama çapları 0,2 µm'dir ve protozoa gövdesi boyunca dağılmışlardır. Ayrıca, PV içinde lokalize olduklarında protozoanın yan ve arka kısmında salgılanan çok sayıda protein içerirler (45,53,54).

Protozoanın çekirdeği, hücrenin orta kısmında bulunmaktadır. Bölünme sırasında çekirdek, zarının bütünlüğünü koruyarak at nalı şeklini alır (55).

Toxoplasma gondii, hücre boyunca dağılmış kaba ve pürüzsüz endoplazmik retikulumun profilleri bulunur. Golgi kompleksi, çekirdeğin ön kısmına bitişiktir. Endodiyojeninin erken bir fazında bölünür ve her kompleks oluşan yeni hücrelerden birine dahil olur (56).

Toxoplasma gondii, hücre boyunca dağılmış yaklaşık 10 µm uzunluğa ulaşabilen tek ve dallanmış bir mitokondriye sahiptir (57).

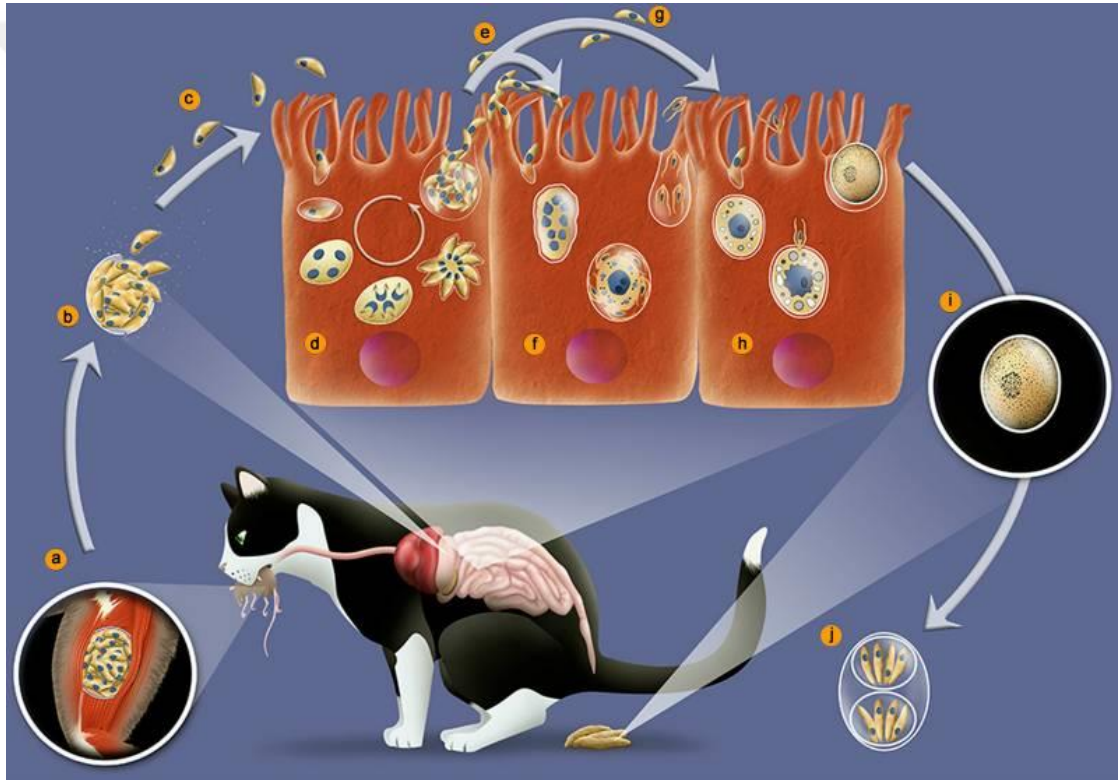
Toxoplasma gondii ayrıca, kalsiyum depolayan ve hücre içi homeostaz ve osmoregülasyonda yer alan asidik organeller olan yaklaşık on asidokalsizom içerir (Şekil 2.1). Bu organellerin çapları 40 ila 150 nm arasındadır ve sitoplazma içinde dağılmışlardır (58).

Toxoplasma gondii'nin diğeri sitoplazmik yapıları, sporozoitlerde ve amilopektin granüllerinde daha bol olduğu görülen lipid cisimciklerini içermektedir. Takizoitlerde nadiren görülen ancak karakteristik olarak bradizoitlerde ve

sporozoitlerde bulunmaktadır. Rezerv polisakkaritler içeren küresel yapılar olarak görünürler (59).

2.1.4 Yaşam Döngüsü

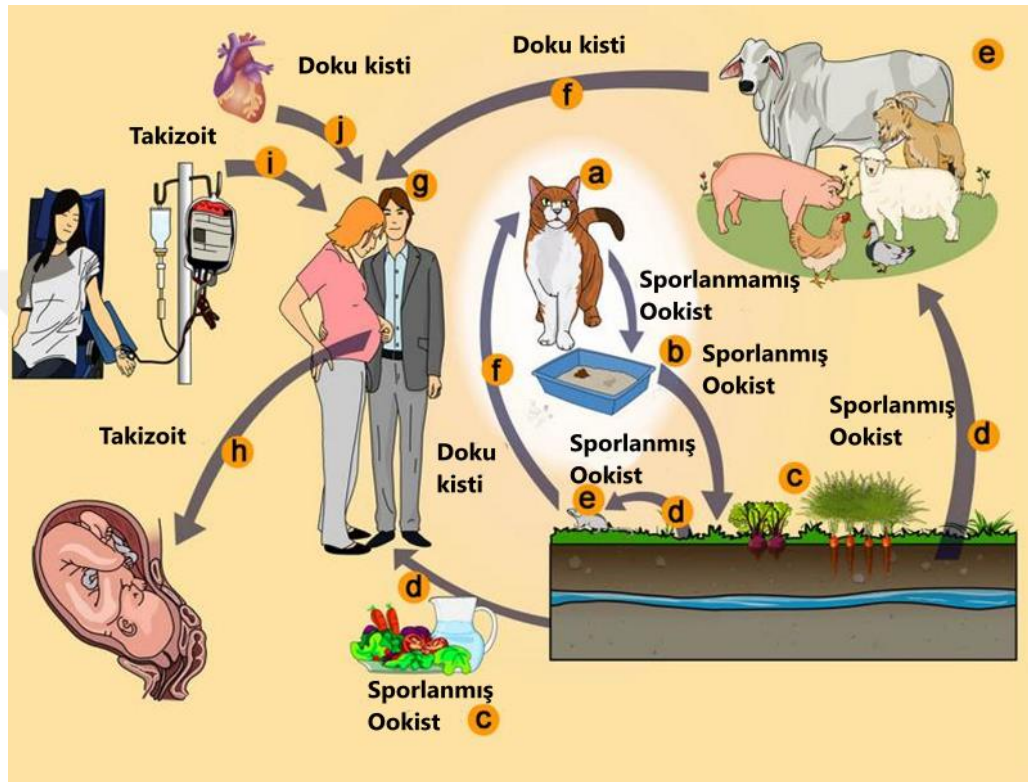
Son konak kedigiller doku kistlerini çiğ veya az pişmiş etleri yiyerek, kedi dışkısı ile etrafa saçılan sporlanmış oositleri alarak enfeksiyona yakalanırlar (Şekil 2.2). Doku kistleri, yutulmasının ardından kistlerin duvarı muhtemelen düşük pH ve bradizoitleri serbest bırakan proteolitik enzimlerin etkisi nedeniyle midede serbest kalırlar. Bu durumlar sonucunda ilk istila edilecek hücreler bağırsak epitel hücreleri olacak ve birkaç çekirdeğin varlığıyla tanımlanabilen eşeysiz üreme aşaması olan şizontlara dönüşecektir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Kedide *Toxoplasma gondii*'nin yaşam döngüsü. (a) Doku kistleri içeren maddenin yutulması. (b)- Kist duvarı mide ve bağırsaklarda sindirilerek bradizoitleri serbest bırakır. (c)- Bradizoitler, bağırsağın epitel hücrelerini istila eder. (d) Enterositlerde bradizoitler şizogoni ile bölünerek merozoitlere yol açar. (e) Merozoitler mikrogamontlara veya makrogametlere (f) farklılaşır. g) Döllenme, kedi dışkısı (h) ile atılan sporlanmamış bir ookist oluşturur. (i) Sporlanma meydana gelir ve her biri dört sporozoit içeren iki sporokist oluşturur (42).

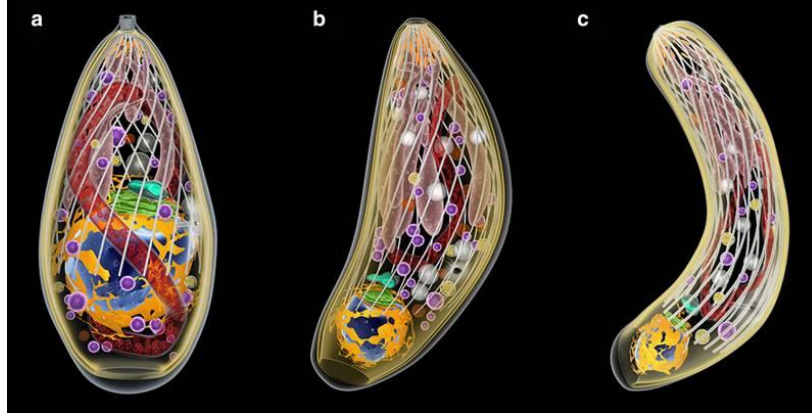
2.1.5 Bulaşma Yolları

Toxoplasma gondii' nin karasal ve suda yaşayan memelileri, ayrıca kanatlı hayvanları enfekte ettiği bilinmektedir. Bu canlılar ara konakçı olarak kabul edilmektedir; çünkü içlerinde sadece aseksüel aşamalar meydana geldiği bildirilmiştir (Şekil 2.3) (42). Cinsel evreler, evcil kediler dahil olmak üzere sadece Felidae ailesinin üyelerinde görüldüğü bildirilmiştir (59–61).



Şekil 2.3. *Toxoplasma gondii* bulaşma yolları. a) Feline kesin konakçı (kedi). b) Kedi dışkısında sporlanmamış ookistler. c) Sporlanmış ookistlerle kontamine olmuş yiyecekler. d) Oocyst'ler ara konaklar tarafından su veya çiğ sebzeler yoluyla alınabilir. e) Ara konaklar (örn. sığır, koyun, kümes hayvanları ve domuz). f) Pişmemiş ette doku kistlerinin yutulması. g) Ara konaklar (insanlar). h) Taşizoitler plasenta yoluyla fetüse bulaşır. i) Kan transfüzyonu ve organ nakli ile bulaşma (42).

Toxoplasma gondii'nin yaşam döngüsünde üç formu olduğu bilinmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. *T. gondii*'nin enfektif formları. (a) Takizoit, (b) bradizoit ve (c) sporozoit (42). [CC0 Public Domain (Halka açık telifsiz)]

Ara konaklar, kedilerin dışkılarıyla atılmış sporlanmış canlı ookistlerle kontamine olmuş su, sebze ve meyvelerin yenilmesi dahil olmak üzere farklı yollardan enfekte olabilir (Şekil 2.4). Canlı doku kistleri içeren pişmemiş veya az pişmiş etlerin yenmesiyle, anneden plasenta yoluyla konjenital bulaşma, kan transfüzyonu, organların kist veya takizoitler içerebileceği organ nakli ile bulaş sağlandığı bildirilmiştir. Oocyst'ler ayrıca enfektivitesini koruyarak istiridye ve midyelerde hayatta kalabilirler (62). Pastörize edilmemiş süt veya süt ürünlerinin yutulması, yaygın olmamakla birlikte potansiyel bir bulaşma kaynağıdır (63).

2.1.6 *Toxoplasma gondii* Nöropatogenez

Toxoplasma gondii ile enfekte olmuş bir bireyin beyin bölgesinde yaşayan parazitin varlığının, bireyin yaşamı boyunca parazitin varlığını sürdüreceği belgelenmiştir. Ayrıca, hem parazitin yeniden ortaya çıkmasını hem de ensefalitin başlangıcını engellemek için bireyin bağışıklık sisteminin sağlam olması gerektiği bildirilmiştir (64). *T. gondii*'nin doku kist formunun beyinde dağılımı farklılık göstermekte olup; genellikle kollikuluslarda yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir (65). Toksoplazmik ensefalit (TE) olarak bilinen *T. gondii* enfeksiyonu, etkilenen hastalarda focal veya yaygın nörolojik semptomların yanı sıra zihinsel semptomlar ve davranış bozukluklarına neden olur. Bu semptomlara en iyi eşlik eden hastalıklardan birisi Alzheimer Hastalığı'dır (66). *T. gondii* ile enfekte farelerde enfekte olmayanlara göre dopamin seviyelerinde önemli ölçüde artış olduğu saptanmıştır. Amigdalada serotonin seviyelerinin azaldığı

gözlenirken, norepinefrin seviyeleri korteks ve amigdalada bir düşüş göstermiştir (67). *T. gondii* enfeksiyonunda, gama-aminobütirik asit (GABA) parazit metabolizması için bir karbon kaynağı görevi görmektedir. Bununla birlikte, GABA, sinir sistemindeki uyarıcı nörotransmisyonun ilerlemesini ve programlanmasını kontrol eden inhibitör madde görevi görmektedir. Çalışmalar *T. gondii*'nin beyindeki GABA sinyalini engellediğini ve nöbetlere yol açtığını göstermiştir (67). Bir çalışma, *T. gondii*'nin glutamik asit dekarboksilaz 67 (GAD67) olarak bilinen GABA enzimini azalttığını ve böylece nöbetlerin başlangıcında rol oynadığını ortaya koymuştur (68). Parazit formlarından takizoitlerin beyindeki glia hücrelerine affinitesi olduğu ve bu sayede şizofreniye sebep olabileceği bildirilmiştir (69). Sonuç olarak *T.gondii*'nin beyni etkilediği ve bununla beraber psikiyatrik hastalıkların etiyolojisinde rol alabileceği gösterilmiştir.

2.1.7 *Toxoplasma gondii* İmmunolojisi

Toxoplasma gondii, insanoğlunun yaklaşık üçte birini enfekte eden zorunlu bir hücre içi protozoan parazittir. Enfeksiyonların çoğu asemptomatik olmasına rağmen, *T. gondii* bağışıklığı baskılanmış bireylerde ve gelişmekte olan fetüste yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olabilir. Enfeksiyon sırasında, *T. gondii* dolaşım sistemi yoluyla vücuda yayılır. Kalp ve beyin dahil olmak üzere birçok organda kronik enfeksiyon oluşturur (70).

Toxoplasma gondii enfeksiyonunda İnterlökin-12 (IL-12)'nin insan nörofilleri ve monositleri tarafından *T.gondii*'ye yanıt olarak üretildiği bilinmektedir (71). IL-12 insanlarda ve farelerde bağışıklığın kilit bir aracısı olan koruyucu tip1 bağışıklığı başlatan İnterferon-gama (IFN- γ) üretimini indükler (72). IFN- γ parazit replikasyonunu inhibe ederek insan fibroblastlarında triptofan sentezini arttırır (73). İnsanlarda ve farelerde paralel bir IFN- γ bağımlı direnç mekanizması, parazitofor vakuol zarına alınan ve vakuolar zar bozulmasına ve parazit temizliğine neden olan guanilat bağlayıcı proteinlerden (GBP'ler) oluşur. İnsan GBP1'i parazitofor vakuolu hedeflemeyen epitalyal hücrelerde *T.gondii* replikasyonunu kısıtlar. GBP'lerin vakuol membran kısıtlamasına katılmadan konak savunmasında doğal olarak bulunabileceği düşünülmektedir (74,75).

Toxoplasma gondii'nin üç baskın klonal suşu (tip I, II, III) konakçı hücreler üzerindeki etkilerinde önemli ölçüde farklılık gösterir. Tip I ve III suşları insan ve

fare hücrelerinde sinyal transdüktörünü ve transkripsiyon 3 ve 6'nın aktivatörünü (STAT3 ve STAT6) aktive ederek IL-12'yi aşağı doğru düzenler (76). Benzer şekilde, fare makrofajlarında tip I suşları tarafından STAT3'ün kurucu aktivasyonu, LPS ile indüklenen IL-12p40 üretimini önler. Rhoptry kinaz ROP16, insan ve fare hücrelerinde STAT3 ve STAT6'yı fosforile ederek ve aktive ederek benzer etkilerden sorumludur (76).

IFN- γ stimülasyonu JAK/STAT sinyalini başlatır, burada STAT1 homodimerleri çekirdeğe yer değiştirir ve transkripsiyonu etkinleştirmek için DNA'daki gama ile aktive olan sekanslara (GAS) bağlanır (77). Özellikle, *T. gondii*, STAT1'in DNA'dan ayrışmasını önleyerek, geri dönüşümünü ve STAT1 aracılı transkripsiyonun diğer döngülerini engelleyerek IFN- γ 'ye yanıt veren genlerin ekspresyonunu inhibe eder (78).

Toxoplasma gondii tarafından düzensiz hale getirilen diğer bir ana sinyal yolağı, konak bağışıklığında yer alan proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açan NF- κ B yoludur. Tip I *T. gondii* ayrıca birincil insan nötrofillerinde LPS kaynaklı IL-1 β üretimini de inhibe eder ve bu etki, NF- κ B sinyalinin inhibisyonu ile ilişkilidir. *T. gondii* ile enfekte nötrofillerde, IL-1 β ve enflamasyon sensörü NLRP3 için transkriptler gibi I κ Ba bozunması ve p65/RelA fosforilasyonu azalır. *T. gondii* ayrıca enfekte nötrofillerde kaspaz-1 bölünmesini ve aktivasyonunu inhibe eder (79).

Toxoplasma gondii'nin konakçı hücre apoptozunu inhibe ettiğine dair ilk gözlemler, fare hücre hatlarında olmuştur. Ancak, son 20 yılda, çok sayıda çalışma bu etkileri insan hücre hatlarında ve birincil hücrelerde ortaya koymuştur. Toplu olarak, bu veriler, hem tip I hem de II *T. gondii*'nin benzer mekanizmalar yoluyla hücre dışı ve hücre içi apoptotik yolları engellediğini göstermektedir. İnsan hücreleri üzerindeki ilk çalışma, *T. gondii* ile enfekte olmuş HL-60 türevi makrofajların, aktinomin D kaynaklı apoptozdan korunduğunu göstermiştir. Mitokondriyal apoptotik yolak üzerindeki bu etki, sitokrom C'nin inhibisyonu ile ilişkilidir (80,81).

2.1.8 Tanı

Toxoplasma gondii'nin tanısında, parazit suşlarının saptanmasında veya ayırt edilmesinde sınırlamalar olmaktadır. Genellikle tanı koymada biyolojik

tahlillere ve serolojik testlere ihtiyaç duyulmaktadır (82). Yüksek duyarlılık ve özgüllükleri sebebiyle *T. gondii* enfeksiyonunun moleküler yöntemlerle saptanması daha güvenilirdir. Ayrıca, PCR yöntemleri kullanılarak çeşitli memelilerden ve kuşlardan bol miktarda *T. gondii* genotipi tanımlanmıştır (83).

2.1.8.1 Mikroskopik Tanı

Dışkı, su, çevre ve doku örneklerinde *T. gondii*'nin saptanması geleneksel olarak mikroskop incelemesine dayanmaktadır. Fakat tek başına ışık mikroskobu ile tanımlama daha az hassastır ve güvenilir değildir. Dışkı, su ve ortamdaki ookistler inceleme için filtrasyon veya santrifüjleme yoluyla büyük hacimli numunelerden zenginleştirilebilir ve doku kistleri boyanarak parazitlerin konak hücrelerden ayırt edilmesine yardımcı olur. Giemsa ve Hematoksilen - Eozin (HE) boyaması yaygın olarak kullanılmakta olup, oldukça basit ve uygun maliyetlidir (84,85). Bradizoitlerde amilopeksiyon granüllerini boyamak için periyodik asit schiff (PAS) kullanılabilir (84). Elektron mikroskobu fare beynindeki doku kistlerini ve enfekte kedilerin ince bağırsağındaki ookistleri tespit için kullanılabilir ancak rutin kullanım için uygulanması zordur ve maliyetlidir (86,87).

2.1.8.2 Serolojik Tahliller

Toxoplasma gondii enfeksiyonu, teşhisi esas olarak serolojik testlere dayanan çoğu kişide genellikle hiçbir klinik semptom göstermez veya spesifik olmayan klinik semptomlar gösterir. Farklı antikor sınıflarını ve antijenleri tespit etmek için testler geliştirilmiştir (Tablo 2.2.). Enfeksiyondan 1 hafta sonra varlığını gösteren IgM antikorları aylarca veya yıl boyunca varlığını sürdürebilir. Dolayısıyla IgM antikorlarının saptanması tek başına akut enfeksiyon oluşumu için yetersizdir. IgA antikorları, IgM'den daha önce üretilen ve birkaç ay devam edebilen akut enfeksiyonun bir belirtici olarak kabul edilir. Daha kısa IgE periyodu mevcut enfeksiyonun daha büyük bir göstergesi olabilir. IgG antikorları enfeksiyonun ortaya çıktığını akla getirir ancak enfeksiyonun zamanlaması hakkında herhangi bir bilgi ortaya koymaz (88).

Tablo 2.2. *T. gondii* enfeksiyonunu tespit etmek için serolojik yöntemler (67).

Serolojik Yöntem	Kullanılan Antijen/Antikor	Tespit Edilen Antikor/Antijen
DT	Canlı Takizoit	IgG, IgM, IgA
MAT	Formalinle sabitlenmiş takizoit	IgG
IFAT	Ölü Takizoit	IgG, IgM
IHA	Çözünür antijenle hassaslaştırılmış tabaklanmış kırmızı kan hücreleri	IgG
ELISA	Takizoit lizat antijeni, Rekombinant antijenler, Spesifik Antikorlar	IgG, IgM, IgA, Antijenler
ISAGA	Anti-İnsan IgM antikorları	IgM
LAT	Çözünür antijen kaplı lateks partikülleri	IgG, IgM
PIA	Antijen kaplı altın nanopartiküller	IgG
WB	Takizoit lizat antijeni, Rekombinant antijenler	IgG, IgM
ICT	Kolloidal altınla işaretlenmiş antijenler veya antikorlar	IgG, ESA
AVIDITY TEST	Takizoit lizat antijeni, Rekombinant antijenler	IgG, IgA, IgE

2.1.9 Korunma

Toxoplasma gondii enfeksiyonundan korunmak için bireysel yeme alışkanlıkları çok önem arz eder. Çiğ veya az pişmiş etler hastalığa yakalanmada büyük risk oluşturmaktadır. Çiğ yumurta yenmekten ve çiğ süt içilmekten kaçınılmalıdır. Gıda maddelerin pişirme derecesi en az 66 °C üstünde olması gerekir. Doku kistlerinin yıkımı -20 °C' de 24 saat bekletmesi suretiyle de gerçekleşmektedir. Kedilerin içtiği sular en az 5 dakika kaynatılmalı ve kumları her gün temizlenmelidir. Kedi dışkılarıyla, tarım alanları ve kasaplık hayvanların yemlerinin, temel bakım ürünlerinin, suluklarının, temel gıda malzemelerinin kirlenmesi önlenmelidir. Sebze ve meyveler yemeye hazırlanmadan önce bol su ile yıkanmalı, kontamine ürünlerle temas eden kişilerin ellerinin bol su ile durulamaları gerekmektedir. Bulaş yolları ve önlemleri hamile kadınlara anlatmak toxoplazmosizten korunmak için etkili bir yöntemdir (67).

2.1.10 Tedavi

Kullanılan tüm kemoterapötik ilaçlar taşıyıcıları hedef alır. Bu ilaçlara direnç doku kitlerinde tespit edilir. Önerilen tedavi yaklaşımı genellikle primetamin, sülfadiazin ve folinik asit kombinasyonunu içerir. Primetamin ile ilişkili kemik iliği toksisitesini azaltmak için folinik asit takviyesi uygulanır. *T. gondii*' ye karşı etkili sülfanamidler arasında sülfadiazin ve trisulfapirimidin, eşit oranlarda sülfadiazin, sülfamerazin ve sülfametazinin bir kombinasyonu bulunur. Hamile kadınlar için uygun olan spiramisin, bebek enfekte olursa hastalık şiddetini azaltmaz, ancak dikey iletimi % 60 oranında en aza indirir. Akut toksoplazmoz enfeksiyonu olan hamile kadınların ve konjenital toksoplazmozlu bebeklerin tedavisi çok önemlidir. Hamile kadınlar fetal enfeksiyonu önlemek veya doğumdan önce bebek için tedaviyi başlatmak için tedavi almalıdır. Profilaktik tedavi, IgM antikorları kaybolana kadar yenidoğanlara uygulanır (67).

2.2 Alzheimer Hastalığı

Dünya Sağlık Örgütü, AH' nin küresel bir halk sağlığı önceliği olarak kabul edilmektedir. 1907'de Alois Alzheimer' ın ilk vakayı bildirmesinden bu yana AH patogenezi ve hastalığın nasıl kavramsallaştırıldığı konusundaki anlayışımızdaki büyük kazanımlara rağmen, hala hastalığı değiştiren tedaviler yoktur.

2.2.1 Epidemiyoloji

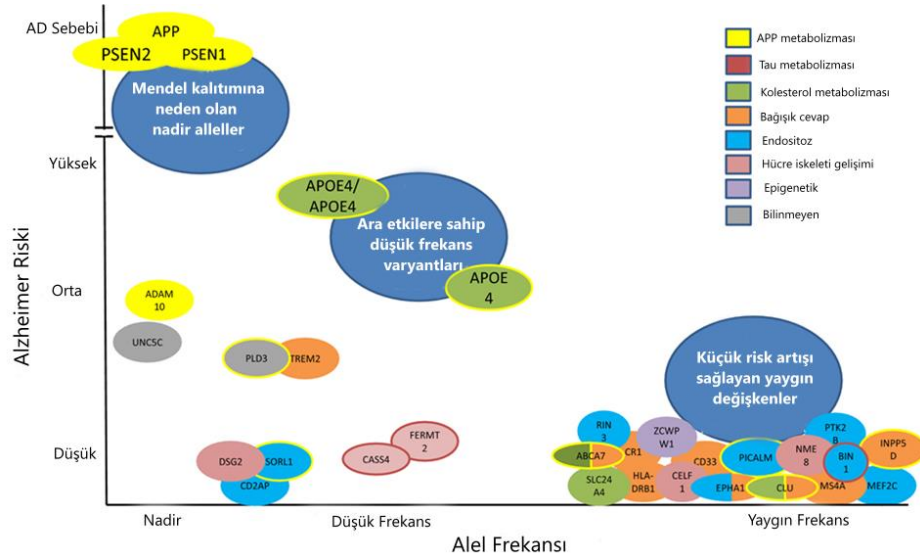
Demans; günlük yaşam aktivitelerini etkilemeye yetecek kadar edinilmiş ilerleyici bilişsel bozukluk olup, sakatlığın ve ölümün önemli bir nedenidir. Şu anda dünya çapında 44 milyon insanın bunama ile yaşadığını tahmin edilmektedir. Yalnızca ABD'de nüfus yaşlandıkça demansın yıllık maliyetinin yaklaşık 600 milyar ABD dolarını aşacağı ve bu miktarın 2050 yılına kadar üç kattan fazla artacağı tahmin edilmektedir. 2015'te demans İngiltere ve Galler'de kaydedilen tüm ölümlerin %11,6'sını oluşturarak genel olarak önde gelen ölüm nedenidir. Son araştırmalar, özellikle erkeklerde demans insidansının batı ülkelerinde azalmakta olabileceğini düşündürmektedir; hangi demans nedenlerinin azaldığı belirsizdir ve bu durum vasküler riskin daha iyi yönetilmesiyle desteklenebilir. Gelecekte bunama yaygınlığında en büyük artışın, artan kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon ve diyabet hastalığı taşıyan düşük ve orta gelirli ülkelerde olması bekleniyor. AH, %50-75'lik bir oranla demansın en büyük tek nedenidir ve esas

olarak ileri yaştaki bir durumdur ve 65 yaşından sonra her 5 yılda bir prevalansı kabaca iki katına çıkar (89–91).

2.2.2 Etiyoloji

Alzheimer Hastalığı' nın büyük çoğunluğu görünüşte sporadik bir temelde ortaya çıkarken, üç gendeki mutasyonlar - amiloid öncü protein (APP), presenilin 1 (PSEN1) ve presenilin 2 (PSEN2) - nadir görülen (<%0,5) ailesel bir AH formuna neden olur. Semptomlar sporadik AH'den daha erken, tipik olarak 30 ila 50 yaşları arasında gelişir (92).

“Tipik” geç başlangıçlı AH' nin, genetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşim tarafından yönlendirilmesi muhtemeldir. Artık AH riskinin ~%70'inin genetik faktörlere atfedilebileceği düşünülmektedir. $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ve $\epsilon 4$ olmak üzere üç varyantı olan APOE geni, sporadik AH için en büyük risktir: $\epsilon 4$ olmayan taşıyıcılarla karşılaştırıldığında, $\epsilon 4$ heterozigotların AH için olasılık oranı (OR) ~%3'tür ve homozigotlarda ~%12'ye yükselir (93). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, enflamatuar, kolesterol metabolizması ve endozomal-vezikül geri dönüşüm yolları ile ilgili olanlar gibi 20'den fazla genetik risk faktörü keşfetmiştir (94). Amiloid birikimine bağlı mikrogial aktivasyonun artık AH' nin gelişiminde çok önemli olduğu anlaşılmaktadır. Bu yaygın risk genleri bireysel olarak riske minimum düzeyde katkıda bulunur. Ancak poligenik bir risk puanında birleştirildiğinde, tahmini vakaları neredeyse iki katına çıkarabilirler (95). Hedeflenen genetik yöntemler ve gelişmiş dizileme teknikleri kullanan araştırmalar, AH için nispeten yüksek risk faktörüne sahip birkaç nadir geni ortaya çıkararak patogenezi hakkında öngörüler sunmuştur (Şekil 2.7).



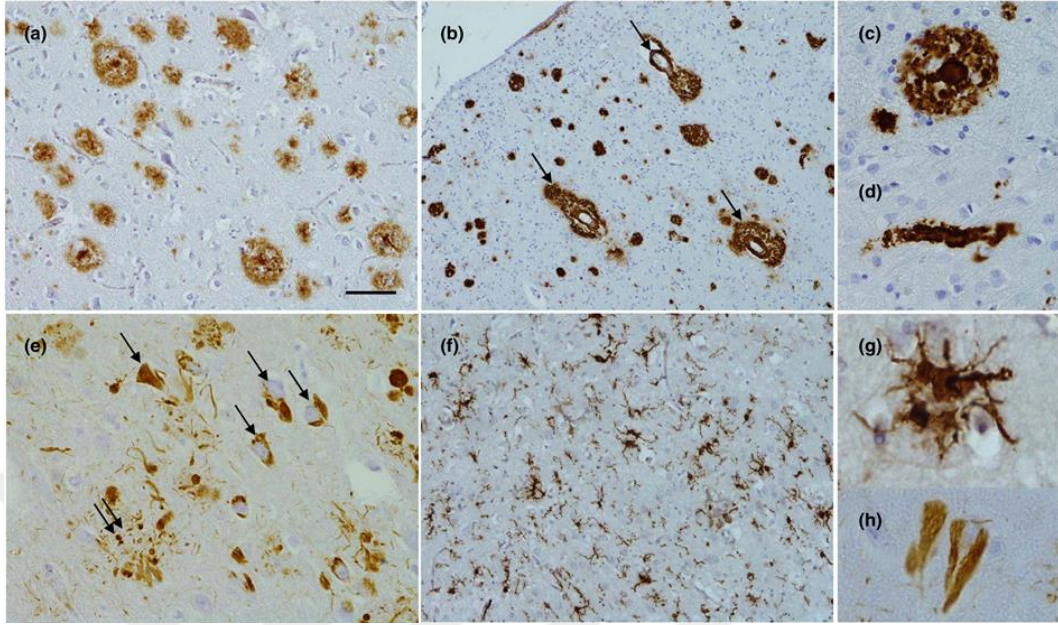
Şekil 2.5. Bugüne kadar Alzheimer hastalığında rol oynayan genlere genel bir bakış. İç renk, anlaşılan işlevine karşılık gelir. İki iç rengin olduğu yerde, gen birden fazla yolda yer almıştır. Sarı daire içine alınmış genlerin de amiloid öncü protein metabolizmasını etkilediği düşünülmektedir; kırmızı daire içine alınmış genlerin tau metabolizmasını etkilediği düşünülmektedir (96).

Epidemiyolojik çalışmalar, eğitim ve fiziksel egzersizin AH' ye karşı koruyabileceğini, oysa orta yaştaki hipertansiyon ve diyabetin riski olumsuz etkilediğini göstermektedir (97). Obezite uzun süredir demans ve AH için bir risk olarak görülüyor, ancak bu son zamanlarda sorgulanıyor (98). Birkaç epidemiyolojik çalışma tanıyı patolojik doğrulama yoluyla doğrulamasına rağmen, vasküler risk faktörlerinin AH' yi nasıl etkileyebileceği henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Vasküler risk faktörlerinin varlığı, eşzamanlı serebrovasküler hasarla AH patolojisinin ilerlemesini doğrudan etkileyerek klinik AH olasılığını artırabilir.

2.2.3 Patoloji

Alzheimer patolojisinin birincil özellikleri amiloid plakları ve nörofibriller iplikleri (NFT'ler) içerir (Şekil 2.6). Ayrıca, nöropil iplikleri, distrofik nöritler, eşlik eden astroglioz ve mikroglanın aktivasyonu belirgindir ve serebral amiloid anjiyopatinin sık sık bir arada yaşaması vardır. (99). Bu patolojik süreçlerin sonuçları, makroskopik atrofiye yol açan sinaptik ve nöronal kayıp ile nörodejenerasyonu içerir. Karma patoloji sıklıkla özellikle yaşlı bireylerde ortaya çıkar ve vasküler hastalığı ve Lewy cisimciklerini içerir (100). Gerçekten de, ailesel Alzheimer hastalığına sahip (fAD) vakalarda bile Lewy cisimciği patolojisi sıklıkla

bir arada bulunur ve mekanizması belirsiz kalır (101). TDP-43 patolojisi, önemli bir yardımcı patoloji olarak giderek daha fazla tanınmaktadır (102).



Şekil 2.6. Alzheimer hastalığının patolojisi. Aβ immünohistokimyası, Aβ'nin kan damarı içinde biriktiği (b, oklar) frontal kortekste (a) ve serebral amiloid anjiyopatideki (CAA) plakları vurgular. Bir Aβ özlü plak, merkezi bir çekirdeği gösteren (c)'de daha yüksek büyütmede gösterilmiştir. Şiddetli CAA'da Aβ kılcal damarlarda birikir (d). Tau immünohistokimyası hem nörofibriler yumakları (e, oklar; h daha yüksek büyütmede) hem de nöritik plakları (e, çift ok) gösterir. Nöroinflamasyon, Alzheimer hastalığında belirgin bir özelliktir ve bu, reaktif mikrogliaların sayısı ile belgindir (daha yüksek büyütmede f; g). Çubuk, a ve f'de 50 μm'yi temsil eder; b'de 100 mikron; c ve e'de 25 μm; d, g ve h'de 15 μm (96).

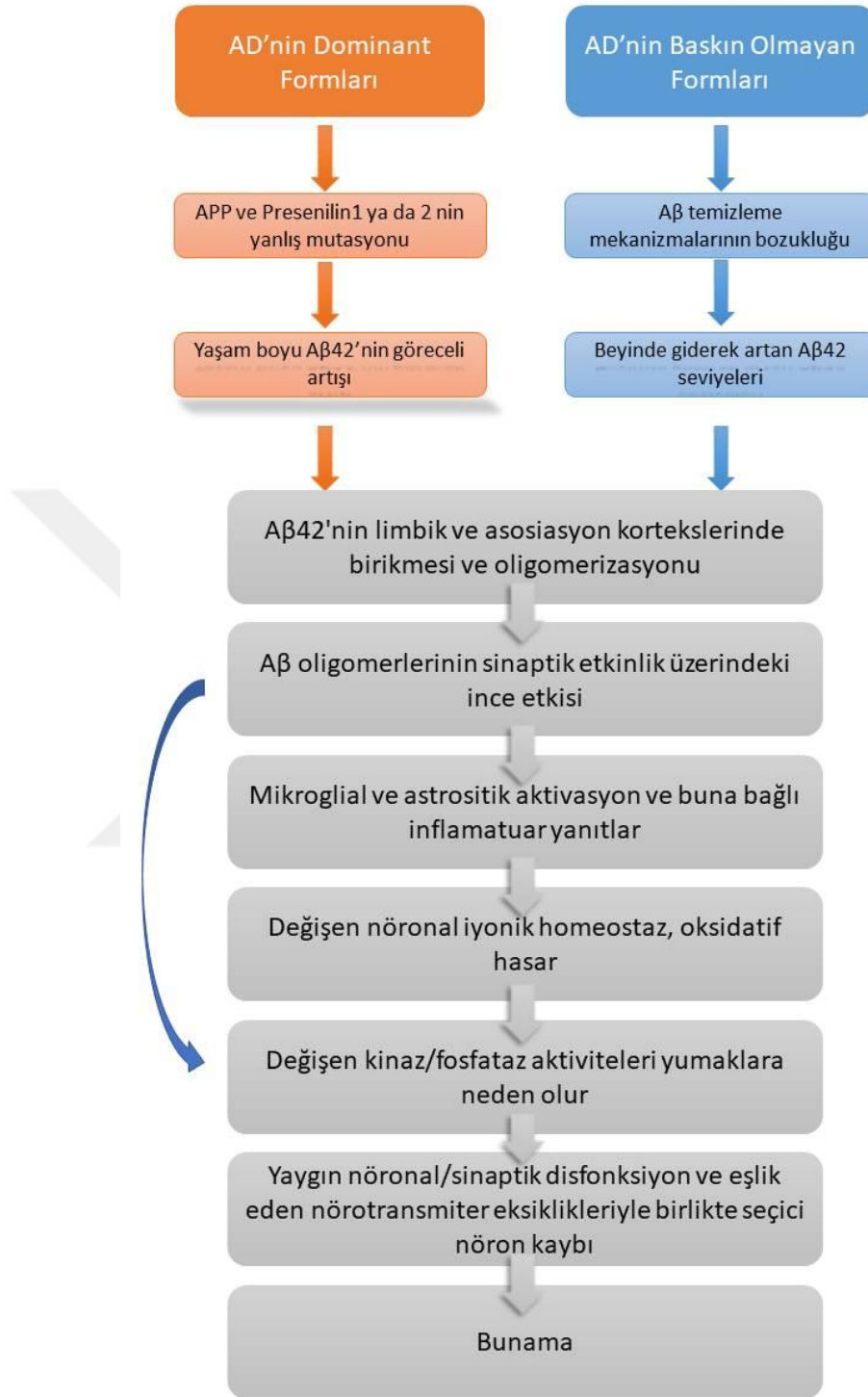
Amiloid plaklar, Amiloid Öncü Protein (APP) metabolizmasının yan ürünleri olan 40 veya 42 amino asit (Aβ40 ve Aβ42) içeren anormal şekilde katlanmış Aβ' dan oluşur ve hücrelerin dışında bulunur. Aβ42, plaklarda Aβ40' tan daha bol miktarda bulunur çünkü fibrilleşir ve daha hızlı bir oranda çözünmez hale gelir. Amiloid birikimi her zaman standart bir ilerleme modelini takip etmez, ancak izokortekste yaygın olarak gelişme eğilimindedir ve son zamanlarda subkortikal yapıları etkilemiştir. NFT' lerin aksine, amiloid plaklar entorinal korteks ve hipokampal oluşumlarda daha az derecede bulunur (99).

Nörofibriler yumaklar, öncelikle hiperfosforile edilmiş tau proteininden oluşan eşleştirilmiş sarmal filamentlerden oluşur. Tau patolojisi, ilişkisel

izokortekse ilerlemeden önce medial temporal lobun (entorinal korteks ve hipokampus dahil) allokorteksinde yaygın olarak başlar. Birincil duyusal, motor ve görsel bölgeler genellikle nispeten sağlam kalır. Nöronların ve sinapsların kaybı tipik olarak yumakların gelişimi ile uyumludur, bu da Alzheimer hastalığının klinik özelliklerinin ve ciddiyetinin tau patolojisiyle daha yakından bağlantılı olduğunu, β -amiloid patolojisinin ise hastalığın semptomatik aşamalarında erken düzleme eğiliminde olduğunu gösterir (99).

2.2.4 Patogenez

Alzheimer Hastalığı patogenezinin yaygın teorisi olan amiloid hipotezi, beyindeki β - ve γ -sekretaz enzimleri tarafından APP' nin ardışık bölünmesiyle üretilen $A\beta$ ' nin patolojik formlarının birikmesinin, $A\beta$ üretim ve $A\beta$ klirensi arasındaki bir dengesizlikten kaynaklanan birincil patolojik süreç olduğunu öne sürer (Şekil 2.9) NFT' lerin oluşumu ve müteakip nöronal disfonksiyon ve nörodejenerasyonun, belki de enflamasyonun aracılık ettiği, aşağı akış süreçleri olduğu düşünülmektedir (103) (Şekil 8). $A\beta$ için merkezi bir rolü destekleyen güçlü kanıtlar genetikten türetilmiştir: tüm fAD mutasyonları, $A\beta$ ' nin oluşumunu veya işlenmesini etkiler ve zararlı β -amiloid varyantlarının aşırı üretimine yol açar. Tersine, APP' deki (A673T) bir mutasyon, β -sekretaz tarafından APP bölünmesinde ömür boyu azalmaya neden olarak AH riskini azaltır. Sporadik hastalık vakalarında ApoE, riskle ilişkili diğer birçok gene benzer şekilde amiloidin temizlenmesine katkıda bulunur (104)



Şekil 2.7. Amiloid hipotezi tarafından önerildiği gibi Alzheimer hastalığına yol açan başlıca patojenik olaylara genel bir bakış. Eğri mavi ok, Aβ oligomerlerinin doğrudan sinaptik ve nöritik hasara neden olabileceğini ve zarar verici enflamatuvar kaskadları aktive etmenin yanı sıra tau hiperfosforilasyonunu indükleyebileceğini gösterir (96).

Yoğun çekirdek plaklarındaki fibriller amiloid başlangıçta AH' nin gelişimi için çok önemli kabul edilirken, şimdi çözünür A β oligomerlerinin en zararlı formlar olabileceğini düşündürmüştür. AH beyinlerinden ekstrakte edilen ve bir laboratuvar ortamında nöronlara maruz kalan oligomerler, uzun vadeli güçlenmeyi engellemiş, sinaptik disfonksiyona yol açmış, dendritik dikenlere zarar vermiş ve nöronal ölümle sonuçlanmıştır (105,106). İnsan oligomerleri ayrıca AH ile ilgili epitoplarda tau' nun hiperfosforilasyonunu tetikler ve kültürlenmiş nöronlarda neuritik distrofiye yol açar. Bu nedenle plaklar, amiloid oligomerlerinin yayıldığı bir “rezervuar” olarak işlev görebilir veya muhtemelen toksik A β türlerini fizyolojik bir doygunluk noktasına ulaşana kadar tutan koruyucu bir mekanizma görevi görebilir (107,108).

2.2.5 Klinik Özellikleri

Alzheimer Hastalığı en yaygın olarak, epizodik bellek merkezli sinsi, ilerleyici sorunları olan yaşlılığa bağlı bir hastalıktır. İleri yaş semptomlarında, hasta amnestik hafif kognitif bozukluk (MCI) kriterlerini karşılayabilir. Daha sonra, çoklu görev ve güven kaybıyla ilgili zorlukların yanı sıra topografik zorluklar sıklıkla ortaya çıkar. Durum ilerledikçe, günlük yaşam aktivitelerini engelleyecek şekilde bilişsel zorluklar daha derin ve yaygın hale gelir; bu aşamada bir hastaya AH demansı teşhisi konulabilir. Artan bağımlılık kaçınılmazdır ve daha sonra hastalıkta davranış değişikliği, hareket bozukluğu, halüsinasyonlar ve nöbetler ortaya çıkabilir. Ölüm, semptomlardan ortalama 8,5 yıl sonra görülmektedir (109).

Özellikle genç başlangıçlı vakalarda bir dizi atipik (hafıza dışı) klinik sendrom da tanınmaktadır. Bunlar logopenik afazi (LPA), posterior kortikal atrofi (PCA) ve AH' nin frontal varyantını içerir. PCA' da, amiloid yaygın olarak dağılırken, tau patolojisi ve atrofisinin yükü en azından başlangıçta parieto-okspital loblara odaklanır ve hastalar tipik olarak hastaneye belirgin görsel-uzaysal ve görsel-algısal problemler ve nispeten korunmuş hafıza ile dispraksi ile başvururlar (110). LPA' da hastalar belirgin kelime bulma duraklamaları, anomi ve çalışma belleğinde bozukluklarla başvururlar (111). Nadir görülen frontal AH, frontotemporal demansın davranışsal varyantına yakından benzeyebilir (112). Ailesel öykülü Alzheimer Hastalığı (fAD), çok daha genç yaşta olmasına rağmen, tipik bir amnestik semptoma sahip olma eğilimindedir. Bazı PSEN1 mutasyonları,

belirgin miyoklonus, nöbetler ve spastik paraparezi gibi ek özelliklerle ilişkilidir (113).

2.2.6 Teşhis Kriterleri

Patolojik değişikliklerin semptomlardan yıllar önce meydana geldiğinin fark edilmesi ile β -amiloid, tau patolojisinin biyobelirteçlerinin ve atrofinin MRG ölçümlerinin ortaya çıkmasıyla, teşhis kriterleri, teşhisin hem daha erken hem de artan moleküler özgüllükle yapılmasına izin verecek şekilde gelişmiştir. Hem Uluslararası Çalışma Grubu'nun (IWG-2) hem de Ulusal Yaşlanma Enstitüsü'nün (NIA) en son teşhis kriterleri artık semptomların yokluğunda AH patolojisinin biyobelirteç kanıtlarının var olduğu bir veya daha fazla prelinik AH fazlarını içermektedir (114–116). Bunlar Tablo 2.3' te belirtilmiştir. AH' nin kesin bir teşhisi hala patolojik doğrulama gerektirse de, NIA-AA kriterleri, biyobelirteç bilgilerini dahil ederek yüksek, orta veya düşük olasılıkla altta yatan Alzheimer patolojisine atfedilecek demans veya hafif bilişsel bozulmaya izin verir. Her iki kriter grubu da atipik, amnestik olmayan semptomları tanıır (115,117,118)

Tablo 2.3. Uluslararası Çalışma Grubunun (IWG-2) Teşhis Kriterleri (96).

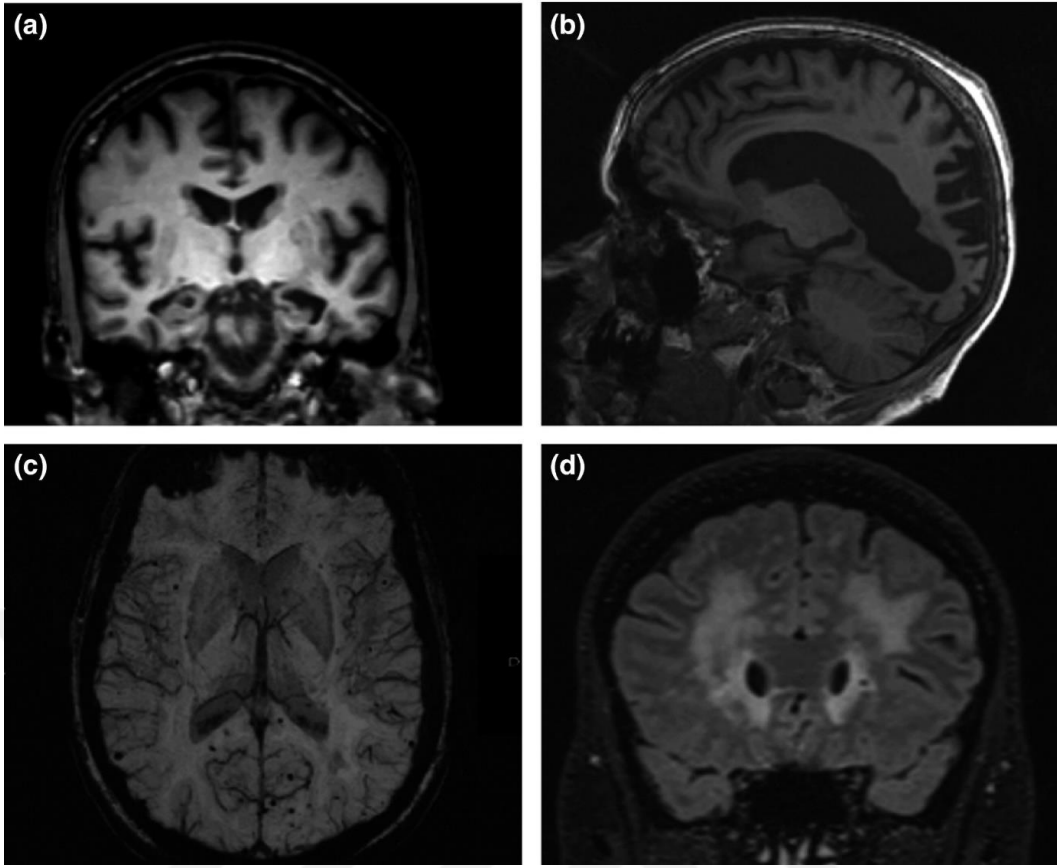
	NIA-AA kriterleri (114) (119) (120)	IWG-2 kriterleri (117)	Dubois ve ark.'nın önerdiği klinik öncesi AH kriterleri (121)
Aseptomatik bireyler			
Yalnızca Aβ patolojisinin kanıtı	Aşama 1 prelinik AH	Aseptomatik AH için risk altında	Aseptomatik AH riski (aseptomatik A+)
Yalnızca tau patolojisinin kanıtı	-	-	Aseptomatik AH riski (aseptomatik T+)
Hem Aβ hem de tau patolojisinin kanıtı	Aşama 2 prelinik AH	Aseptomatik AH için risk altında	Prelinik AH
	Aşama 3 klinik öncesi AH (hafif bilişsel bozukluk kriterlerini karşılamayan ek ince bilişsel değişiklikler olduğunda)		
Semptomatik bireyler			
Demans kriterlerini karşılamayan semptomlar	AH'ye bağlı hafif bilişsel bozukluk	Prodromal AH (tipik veya atipik)	
	Yüksek olasılık (pozitif Aβ ve nöronal yaralanma biyobelirteçleri gerektirir) Orta olasılık (diğer biyobelirteçlerin test edilmediği veya mevcut olmadığı durumlarda pozitif Aβ veya nöronal yaralanma biyobelirteci gerektirir) Olası değil (negatif Aβ ve nöronal yaralanma biyobelirteçleri) Bilgilendirici değil (biyobelirteçler belirsiz veya birbiriyle çelişiyor)	Tutarlı geçmiş artı biyobelirteç kanıtı gerektirir (CSF Aβ ve tau veya amiloid PET)	
Demans kriterlerini karşılayan semptomlar (hem tipik hem de atipik fenotipler)	AH'ye bağlı demans	Tipik veya atipik AH	
	Muhtemel (klinik tabloya dayalı olarak biyobelirteç kanıtı gerekmez) Mümkün (klinik tabloya dayalı olarak biyobelirteç kanıtı gerekmez) AH patofizyolojik sürecinin kanıtı ile olası veya olası (Aβ ve/veya nöronal yaralanma biyobelirteç kanıtı – yüksek olasılık, orta olasılık, olası değil ve bilgilendirici değil)	Tutarlı geçmiş artı biyobelirteç kanıtı gerektirir (CSF Aβ ve tau veya amiloid PET)	

2.2.7 Teşhis Yaklaşımı

Alzheimer Hastalığı tanısının temel dayanağı, klinik değerlendirme ve özellikle hasta ve bir bilgi kaynağı ile yapılan klinik görüşme ve bilişsel ve odaklanmış bir fizik muayene olmaya devam etmektedir. Nöropsikoloji, yaşla ilgili normlara karşı bilişsel eksikliklerin hem modelinin hem de ciddiyetinin ölçülmesine izin vermektedir (122) .

Bilişsel semptomlara neden olabilecek veya daha yaygın olarak katkıda bulunabilecek durumları dışlamak için rutin olarak kan testleri yapılır ve tipik olarak tam kan sayımı, böbrek fonksiyonu, tiroid fonksiyonu, B12 vitamini ve folatı içerir (122). Klinik senaryoya bağlı olarak, spesifik serolojik testlerle (anti-nükleer, anti-nöronal, Lgi1 antikörleri, sifiliz ve HIV serolojisi) bir dizi inflamatuvar, metabolik ve enfektif nedeni dışlamak uygun olabilir.

Yapısal anormallikleri dışlamak ve pozitif tanısal bilgi sağlamak için bilişsel bozukluk nedeniyle araştırılan tüm hastalarda bilgisayarlı tomografi veya ideal olarak MRG kullanılarak yapısal görüntüleme önerilir (123). Fokal simetrik medial temporal atrofinin varlığı AH için prediktif değere sahiptir (124). Posterior Serebral Arter (PCA) AH' de tipik olarak, en azından hastalığın erken döneminde hipokampusun göreceli olarak korunmasıyla birlikte parieto-okspital atrofi vardır. MRG, diğer nörodejeneratif hastalıkların dışlanmasına ve AH' yi taklit edebilen veya çok yaygın olarak AH ile birlikte ortaya çıkabilen serebrovasküler hastalığın (Serebral mikro kanamalar) demire duyarlı sekanslar kullanılarak değerlendirilebilir. AH' de derin mikro kanamaların hipertansiyona bağlı olma olasılığı daha yüksekken, lobar mikro kanamaların serebral amiloid anjiyopatiden kaynaklanma olasılığı daha yüksektir. Şekil 2.8'de temsili MR görüntüleri görülmektedir. 18F-fluorodeoksiglukoz (FDG) Parieto-temporal birleşme alanlarında, posterior singulat ve precuneusta PET hipometabolizması AH tanısını destekler (125).



Şekil 2.8. (a) Tipik bir Alzheimer hastalığı vakasında karakteristik hipokampal atrofiyi gösteren MRG görüntüleri en iyi T1'de koronal düzlemde görselleştirilmiştir; (b) posterior kortikal atrofi vakasında parieto-oksipital atrofi, burada T1'de sagittal düzlemde gösterilmiştir; (c) en iyi SWI'de görselleştirilen mikro kanamalar (bu eksenel görüntüde görülen posterior dağılım, serebral amiloid anjiyopatinin karakteristiğidir); (d) geniş periventriküler ve subkortikal beyaz madde hiperintensiteleri en iyi FLAIR'de görselleştirilir, burada bir koronal görüntüde görülür (96).

2.2.8 Tedavi

Asetil kolinesteraz inhibitörleri (AChEI' ler) (donepezil, galantamin ve rivastigmin), sinapsta parçalanmasını önleyerek asetilkolin mevcudiyetini artırarak semptomatik tedavinin temel dayanağıdır. Bacak krampları ve gastrointestinal rahatsızlık gibi periferik kolinerjik yan etkiler sıklıkla görülür. Ancak özellikle ilaçlar düşük dozda başlatıldığında ve kademeli olarak arttırıldığında genellikle iyi kabul görürler. Bradi-aritmi potansiyeli nedeniyle kardiyak iletim sorunları olan kişilerde AChEI' lerden uzak durmak veya bunları dikkatli bir şekilde kullanmak önerilir. AChEI' lerin hafif ila şiddetli AH' de yararlı etkileri kanıtlanmıştır, çoğu kanıt hafif ila orta evrededir. Davranış bozukluğu ve günlük yaşam aktiviteleri ölçümleri hakkında daha az veri var, ancak bazı faydalı kanıtları var. Bununla

birlikte, tüm alanlarda, klinik çalışmalarda gözlemlenen fayda en iyi ihtimalle orta düzeydedir. Sınıftaki bir ilacın diğerinden daha etkili olduğuna dair kanıt yoktur. Dozlama sıklığı, doz varyasyonu, yükseltme zamanlaması ve uygulamadaki (oral ve transdermal) farklılıklar, hastalara göre uyarlanabilecek seçenekler sunmaktadır. DOMINO-AH çalışması, donepezilin orta ila şiddetli AH' de kesilmesinin, sonraki 12 aylık tedavide huzurevine yerleştirilme riskini artırdığını, ancak sonraki 3 yılda olmadığını göstermiştir. Yazarlar, devam etmenin yararları net olmadığına bile tedavinin geri çekilmesinin potansiyel riskleri olabileceğini öne sürdüler (126) (127).

Memantin, orta ila şiddetli AH için onaylanmış bir tedavi seçeneğidir. Normal işlevlerini korurken l-glutamatın neden olduğu nörotoksisiteyi azaltmayı amaçlayan düşük afiniteye sahip bir N-metil-D-aspartat reseptör antagonistidir. Yaygın yan etkiler kabızlık ve baş ağrısını içerebilir. Çalışmalar, Memantine'in orta ila şiddetli AH' si olan bireyler için bilişsel yeteneklerde ve günlük işleyişte mütevazı ancak önemli bir gelişme sunabileceğini göstermiştir. Ek olarak, hastaların ajitasyon geçirme şansını azaltmaya yardımcı olabileceğine dair bazı göstergeler vardır. Artık bir AChEI ve memantin kullanan kombinasyon tedavisi için bazı kanıtlar bulunmaktadır. Yakın tarihli bir meta-analiz, ikili terapi ile bilişin iyileştiğine dair zayıf kanıtlar bulmuştur, ancak orta veya şiddetli AH' de davranışsal semptomlarda iyileşme olduğuna dair kanıtlar göstermiştir (127) .

2.3 *Toxoplasma Gondii* Ve Alzheimer İlişkisi

Toxoplasma gondii organizmaya ilk olarak takizoit formların alınması sonrasında ilk bağışıklık tepkisi gösterenler de monositler ve dendritik hücreler, aktin hücre iskeletinin yeniden modellenmesi, gama-aminobutirik asit (GABA) reseptörünün down regilasyonu ve kemokin reseptörü CCR7' nin up regülasyonu dahil olmak üzere aktive edici değişikliklere maruz kalır (128–130). Enfeksiyonun kronik fazı sırasında, protozoan yavaş büyüyen bir bradizoite ve kistlere dönüşmektedir. Bu form, bağışıklık tepkisinden kaçınmaya çalışır. Başta merkezi sinir sistemi ile kronik ve gizli enfeksiyona yol açan kaslar olmak üzere çeşitli insan dokularında bulunmaktadır (131). Parazitin KBB' yi geçtiği kesin mekanizma hala bilinmemektedir. Ancak *T. gondii*' nin nasıl MSS' ye girdiğine dair birkaç hipotez

vardır. Truva atı benzeri bir mekanizmada, enfekte olmuş monositler artan hareketlilik sergiler. *T. gondii*' yi KBB üzerinden MSS' ye aktarır (132–134) . Transendotelial göçte, enfekte hücreler endotel hücreleri boyunca parazit yapışmasını ve göçünü kolaylaştıran farklılaşma molekülü 11B (CD11b)/hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM1) integrinleri kümesini eksprese eder (134–136). Son olarak, paraselüler göçte protozoa, aktin-miyozin motorları aracılığıyla MSS' ye erişim kazanıp "kayma hareketliliği" adı verilen bir hareket sergiler. Bu durum parazitlerin konak bağışıklık bariyerlerini atlamasına ve sıkı bağlantıların yanı sıra polarize hücre tek tabakalarına nüfuz etmesine izin verir. *T. gondii* yapışkan mikronem proteini 2' nin (MIC2) artan ekspresyonu ve hücre içi adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) ile aşırı etkileşimin, KBB dahil olmak üzere oldukça seçici biyolojik bariyerlerden geçişe izin verdiği düşünülmektedir (137,138) .

Uzun süreli enfeksiyonun nörolojik fonksiyonları nasıl etkilediği hala tam olarak bilinmemektedir (139,140) . Son araştırmalar, *T. gondii*' ye sürekli maruz kalmanın, AH ve Parkinson Hastalığı (PH) gibi nörodejeneratif bozuklukların yanı sıra şizofreni, migren ve bipolar bozukluk tip I geliştirme riskini artırabileceğini göstermiştir (141–144). Daha da önemlisi, yaşlı hastalarda *T. gondii*' ye karşı antikörlerin varlığı ile bozulmuş bilişsel yetenekler arasında anlamlı bir ilişki tanımlanmıştır. Hayvan modellerine dayalı çalışmalar, kronik toksoplazmozun neofobi gibi davranışsal değişikliklere neden olabileceğini, öğrenmeyi etkileyebileceğini ve hafızayı bozabileceğini göstermiştir (145). Toksoplazmozlu farelerin, enfekte beyin bölgelerinde ve özellikle somatosensori alanlarda sinir lifi yoğunluğunun ve sinaps kaybının azaldığı gösterilmiştir (146). İn vitro çalışmalar, *T. gondii*' nin astrositleri ve nöronları enfekte edip kist oluşturabildiğini, ancak yalnızca ilkinin protozoanın hücre içi formunu ortadan kaldırabildiğini bildirmiştir (147–149). Toksoplazmozun tau hiperfosforilasyonuna ve AH' na neden olabileceği çeşitli simülasyonlarla ortaya koyulmuştur (150).

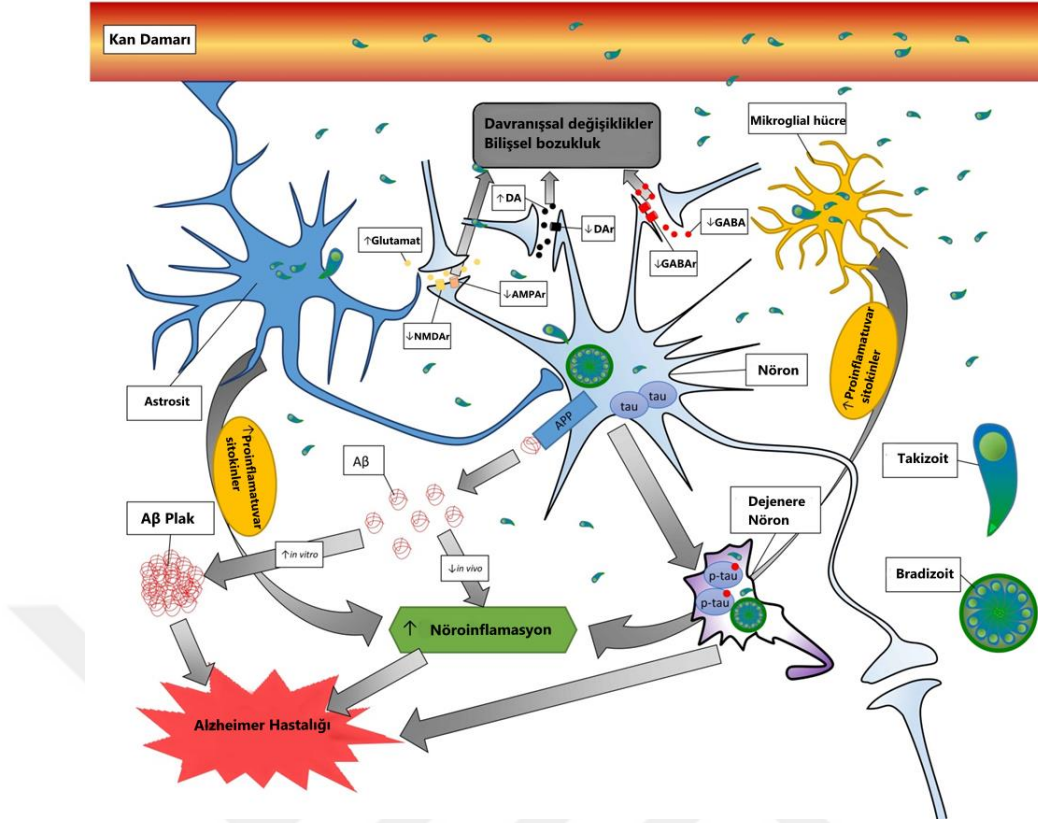
Değişmiş dopamine, glutamin veya GABA nörotransmisyonu toksoplazmozda AH benzeri semptomların ortaya çıkmasından sorumlu mekanizmalardan biri olabilir (151,152) . Spesifik olarak, *T. gondii* enfeksiyonu, uyarıcı sinapslarda nörotransmisyonu aracılık eden ve sinaptik plastisiteye katılan glutamaterjik N -metil- D -aspartat (NMDA) reseptörünü (NMDAR) etkileyebilir (153). Yabani tip farelerde yapılan çalışmalar, toksoplazmozun, korteks ve

hipokampusta artan NMDAR ekspresyonunun yanı sıra hiperfosforile tau ve beyindeki plaklar A β üretimini indükleyebileceğini göstermiştir (151). Kronik toksoplazmozlu farelerde gözlemlenen sinaptik bağlantıların dejenerasyonu ve ardından gelen davranış değişiklikleri, kanalların içselleştirilmesini engelleyen NMDAR otoantikorlarının varlığından kaynaklanabilir (154). Vahşi tip farelerin *T. gondii* ile istila edilmesi sonucunda anksiyete bozukluğu gibi davranışsal değişiklikler sergiledikleri ve ayrıca koku alma bölgesinde koku alma hassasiyetinde değişikliklere yol açan nöronal apoptozdan yoksun oldukları görülmüştür. İlginç bir şekilde, koku alma bozukluğu sadece erkek farelerde önemli ölçüde belirgindi (151).

Merkezi Sinir Sistemi' ndeki ana inhibitör nörotransmitter olan GABA muhtemelen toksoplazmozdaki AH benzeri semptomlarla ilişkili bir sonraki nörotransmitterdir (155). *T. gondii*' nin neden olduğu GABA döngüsünün bozulmasıyla ilişkili olarak hastalığın bazı vakalarında bilişsel bozulmalar ortaya çıkabilir (68). GABA reseptörünün azaltılmış ifadesi dahil olmak üzere GABAerjik sistemdeki değişikliklerin olduğu bilinmektedir. Ayrıca, GABA sinyali, hücre sel göç ve metastazda rol oynayabilmektedir. Parazitle tetiklenen GABAerjik sinyallemenin, enfekte olmuş dendritik hücrelerin migrasyonunu arttırdığı için, bu yolun *T. gondii* tarafından istismar edildiği düşünülmektedir (156). Benzer bir mekanizma, GABA ile sinyal gönderen aktive edilmiş mikrogial hücrelerin beyin dokusunda *T. gondii*' nin yayılmasını kolaylaştırdığı MSS' de gözlenmektedir (157). Çoğalmayan *T. gondii*' ler GABA' yı kendileri üretebilmesine rağmen nörotransmitterin salgılanması, muhtemelen ölü bradizoitler tarafından üretilen aktif olmayan bir süreçtir. Bu, GABAerjik iletimde değişikliğe yol açabilir ve nörodavranışsal değişikliklere neden olabilir (68). Ayrıca, azalmış GABAerjik sinyalleme, bu kanalların GABAerjik internöronlarda nasıl birlikte ifade edildiğine bakıldığında, NMDAR disfonksiyonundan da kaynaklanabilir (150,158).

Dopamin, motor beceriler ve motivasyonu yöneten yollar dahil olmak üzere çok çeşitli nörolojik işlevlerin kontrolünden sorumludur ve bu nedenle işlevsiz bir dopaminerjik sistem, AH' nin bazı nöropsikiyatrik belirtilerini tetikleyebilir (159). AH ile özellikle ventral tegmental alanda (VTA), nükleus akumbens (NAc) ve locus coeruleusta (LC) düzensiz dopaminerjik sistem arasında korelasyonlar mevcuttur. AH' nin murin modelleri sayesinde VTA' daki dopaminerjik nöron bozukluğunun

neden olduğu bellek süreçlerinde ve bilişsel yeteneklerde önemli değışiklikler olduğu kanıtlamıştır (160). *T. gondii* dopamin taşıyıcı (DAT) ve veziküler monoamin taşıyıcı 2'nin (VMAT2) ekspresyonunun azalmasına yol açarak dopaminerjik sistem üzerinde bir etki gösterir. Ek olarak, *T. gondii* genomundaki iki gen, aromatik amino asit hidroksilaz 1 ve 2 (AAH1 ve AAH2), 1-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) üretiminde yer alabilen enzimleri kodlar (161). Bu mekanizmalar, sinapslarda dopamin konsantrasyonunun artışına neden olabilir. Gerçekten de, dopamin reseptörü D1, -D2 ve D4 (sırasıyla DRD1, DRD2 ve DRD4) ve G proteinine Bağlı Reseptör Kinaz 6 (GRK6) genlerinin yetersiz ekspresyonu dopamin reseptör mevcudiyetinin azalmasına neden olmak, toksoplazmozlu farelerde yüksek dopamin seviyelerine yol açmıştır (162). Motor ve yürütücü işlevler anormal dopamin seviyeleri nedeniyle bozulabilir. Bu durum nörodejeneratif hastalığa özgü semptomların gelişmesine yol açabilir. Ayrıca, dopaminerjik nörotransmisyon yollarının hiperaktivitesinin prefrontal korteks fonksiyonlarını etkilediği ve kognitif bozukluğa yol açabileceği gösterilmiştir (163). *T. gondii* enfeksiyonunun kognitif etkileri Şekil 2.11.'de görölmektedir.



*AMPA, AMPA reseptörü; DA, dopamin; DAr, DA reseptörü; GABA, gama-bütirik asit; GABAr, GABA reseptörü; NMDAr, NMDA reseptörü; A, amiloid; tau, tau proteini; p-tau, hiperfosforile tau proteini.

Şekil 2.9. Beyin hücreleri üzerinde *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun olası etkileri (164).

Nöronlar ve astrositler ile mikroglia dahil diğer beyin hücreleri *T. gondii* tarafından enfekte edilebilir. Enfekte glia, nöroinflamatuvar yanıtı aktive eden proinflamatuvar sitokinler üretir. Nöronal enfeksiyon, A β (*in vitro*) ve p-tau'nun (*in vitro* ve *in vivo*) aşırı üretimine sebep olur ve ayrıca nörotransmitter sistemlerinde bozulmaya neden olmakta, nörotransmitter sistemlerinde bozulmasını tetiklemektedir. Ayrıca dopaminerjik, GABAerjik ve glutamaterjik, davranış değişikliklerine, bilişsel düşüşe ve nörodejenerasyona neden olabilmektedir. Duyarlı bireyler için bu süreçlerde Alzheimer hastalığı riski artabilir (150).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

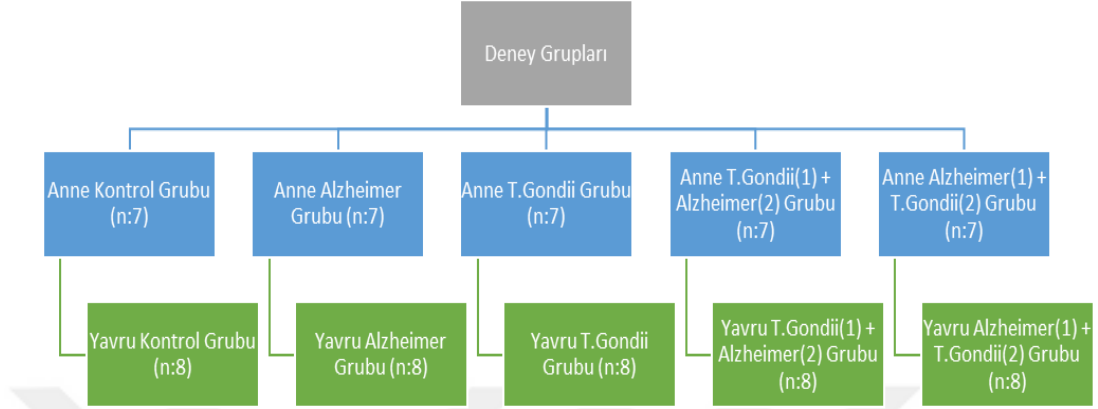
3.1 Deney Hayvanları Temini

Çalışmada kullanılacak deney hayvanları BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezinden (DEHAM) temin edildi. Çalışma başlayıncaya kadar ve çalışma süresince DEHAM’da, Tip IV kafeslerde ad libitum beslenecek olan hayvanlar, 12 saat aydınlık/karanlık ışık döngüsü ve nispi nem oranı % 60-70 olan ortamda tutuldu. Çalışmada kullanılan hayvan sayısı güç analizine göre hesaplanmış olup ($p = 0.05$ ve $ss = 2$) her grupta 7 adet rat olacak şekilde belirlendi. Burada Alzheimer Hastalığı Modeli (AHM) ve *T.gondii* enfeksiyonu yapılacak gruplarda AH modelin ve takizoit kistlerin oluşup, oluşmadığını histopatolojik olarak teyit edebilmek için uygulamanın yapılacağı gruplardan denek sayısına ilaveten ayrıca her deney grubu için ikişer adet daha fazladan hayvan kullanıldı.

Çalışma, wistar albino cinsi 2-4 aylık dişi ratların çiftleştirilmesi sonucu doğan erkek ratlar randomize her gruptan 8 adet olacak şekilde seçilerek oluşturulmuştur. F1 jenerasyon erkek ratlar, 2-4 aylık olduğunda Barnes Labirent testlerinin alınması ve sakrifiye işlemlerinin ardından beyin dokularındaki morfolojilerin Congo Red histolojik boyanmasıyla değerlendirildi. Çalışmamızda ratları seçmemizin sebebi, A β 1-42 intrahipokampal enjeksiyonu ile yapılacak AHM ve sterotaksi sistemlerinin alt yapısının ratlara göre optimize edilmiş olmasıdır. Bunun yanısıra insanlarla aynı ekolojik çevreyi paylaşan kemirgenler kullanılarak yapılan bir çalışmada, *T. gondii* ile doğal enfekte farelerde (*Mus musculus*) ve ratlarda (*Rattus norvegicus*) bu parazitin genetik prevalansı ve karakterizasyonunun araştırılmasında her iki hayvanında pozitif olduğu ve doğal enfekte olmaları açısından birbirlerine çok yakın oldukları tespit edilmiştir (165) (Farelerde %22,3, sıçanlarda %23,9).

Bu araştırma, *T. gondii* ile enfekte dişi ratların yavrularında Alzheimer hastalığı gelişip gelişmediğini deneysel olarak belirlemek amacıyla yapılmıştır.

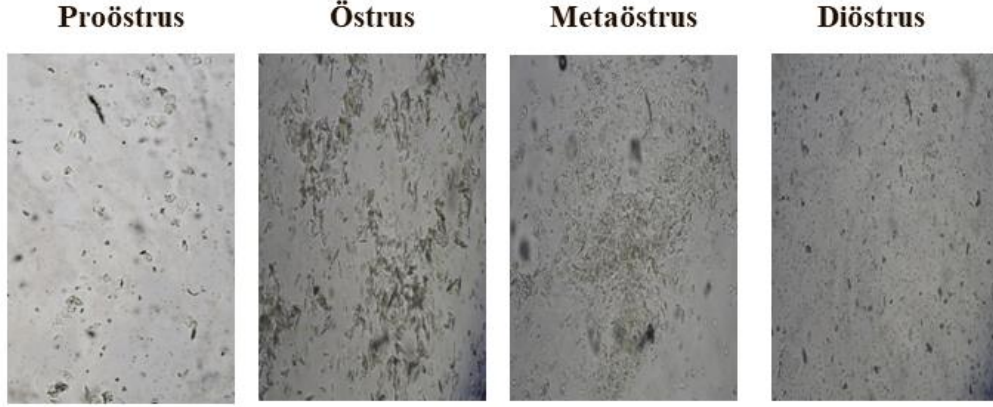
3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması, Deney Akışı ve Modellemeler



Şekil 3.1. Deney Hayvanları Grupları

✓ **Dişilerin Çiftleştirilmesi:** 2-4 aylık 200-250 gr ortalama canlı ağırlığına sahip daha önce hiç doğum yapmamış, vajinal smear testi (VST) ile östrus döngüsünde olan dişi sıçanlar çiftleştirmede kullanıldı. [VST; Pastör pipeti ile intravajinal 1 ml % 0.09'luk serum fizyolojik hayvana verilerek, 3-4 kez pipetasyon işlemi ile vajinal içeriğin lam üzerine aktarılaraq epitel dokunun yoğunluğuna bağlı olarak siklusun belirlenmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2)]. VST 'de hayvanların proöstrus evresinde olmaları büyük önem arz etmektedir (166). Çünkü preimplantasyon döneminde meydana gelecek faktörlerin maruziyeti ölçüleceği için östrus öncesi (proöstrus dönem) dönemde aşağıda "Alzheimer ve *T.gondii* Modellerinin Oluşturulması" başlıklarında açıklandığı üzere modellemeler gerçekleştirildi.

Vajinal Smear Tayini



Şekil 3.2. Vajinal Smear Testi (büyütme, x10). Proöstrus (epitel hücreleri); östrus (keratinize epitel hücreleri); metaöstrus (keratinize epitel hücreleri, epitel hücreleri ve beyaz kan hücreleri); diöstrus (dominant lökositler)

✓ **Anne Kontrol Grubu (G1) (n= 7):** Anne Kontrol Grubu ; Bu gruptaki hayvanlara proöstrus evresinde 5 µL Hamilton mikroyenjektörü aracılığıyla dakikada 0.5 µL hızında olacak şekilde, distile su ile 1 µL/taraf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu yapıldı. Ardından grup hayvanları 15.gün sağlıklı erkekler ile çiftleştirilmesi sağlandı.

✓ **Anne Alzheimer Grubu (G2) (n= 7):** Anne Alzheimer Grubu; Bu gruptaki hayvanlara proöstrus evresinde 5 µL Hamilton mikroyenjektörü aracılığıyla dakikada 0.5 µL hızında olacak şekilde, distile suda 7 gün inkübe edilmiş Aβ1-42 çözeltisi 4µg/1µL/taraf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu yapıldı (167). Ardından modelin oluşması için 15 gün beklenildi ve sağlıklı erkekler ile çiftleşmeleri sağlandı (168). (Açıklama: Burada 15 gün beklenilmesinin sebebi Aβ1-42 çözeltisinin nörodejenerasyon kabiliyetinin ve sinaptik deformasyonlarının süresidir (168).)

✓ **Anne *T. gondii* Grubu (G3) (n= 7):** Anne *Toxoplasma* Grubu; Bu gruptaki hayvanlara 1 ml hacimde 1.5×10^6 *Toxoplasma gondii* takizoitleri intraperitoneal (ip) olarak uygulandı (169). Ardından parazitin beyne ulaşması için 20-25 gün bekleme süresinin sonunda grup hayvanları sağlıklı erkeklerle çiftleştirilmesi gerçekleştirildi (170). (Açıklama 2: Burada 20-25 gün beklenilmesinin sebebi takizoitlerin beyne ulaşması için inkubasyona duyulan ihtiyaç yavruların gebelik ve gelişim döneminde gerçekleşmiş oldu (170).)

✓ **Anne Alzheimer1 + *T. gondii*2 Grubu (G4) (n= 7):** Anne Alzheimer1 + *T. gondii*2 Grubu; Bu gruptaki hayvanlara 5 µL Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla dakikada 0.5 µL hızında olacak şekilde, distile suda inkübe edilmiş Aβ1-42 çözeltisi 4µg/1µL/taf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu yapıldı. Ardından 15 gün beklenildi. 1 ml hacimde 1.5×10^6 *T. gondii* takizoitleri (169) ip olarak uygulandı daha sonra 20-25 gün bekleme süresinin ardından grup hayvanları sağlıklı erkeklerle çiftleştirilmesi gerçekleştirildi. (Açıklama: Burada 15 gün beklenilmesinin sebebi Aβ1-42 çözeltisinin nörodejenerasyon kabiliyetinin ve sinaptik deformasyonlarının süresidir (168).)

✓ **Anne *T. gondii*1 + Alzheimer2 Grubu (G5) (n= 7):** Anne *T. gondii*1 ve Alzheimer2 Grubu; Bu gruptaki hayvanlara 1 ml hacimde 1.5×10^6 *Toxoplasma gondii* takizoitleri (Ribeiro DA ve ark 2004) ip olarak uygulandı daha sonra 20-25 gün bekleme süresinin ardından, 5 µL Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla dakikada 0.5 µL hızında olacak şekilde, distile suda inkübe edilmiş Aβ1-42 çözeltisi 4µg/1µL/taf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu yapıldı. Ardından 15 gün beklenildi ve sağlıklı erkekler ile çiftleşmeleri sağlandı.

✓ Tıp III kafeslerde ergin bir erkek ile çiftleştirilme gerçekleştirildikten sonra gebeliğin son trimesteri içerisindeki doğumu takiben (gebelik süresi 19 ± 2 gün) 45 gün annenin yanında kalan yavrularda cinsiyet ayrımı yapılarak erkekler ayrı kafeslere alınarak deney grupları oluşturuldu.

3.3 Alzheimer Modelinin Oluşturulması

Deney gruplarında AHM, intra hipokampal olarak Aβ1-42 çözeltisini enjekte ederek oluşturuldu. Çalışmamıza AHM gruplarda hippocampüste Aβ immuno-histokimyasal olarak teyit edildikten sonra çalışmaya devam edildi. Aβ tespit edilmediği takdirde Aβ1-42 enjeksiyonu tekrarlandı. Bunun için çalışmada intrahipokampal olarak Aβ1-42 çözeltisi uygulanan gruplardan ikişer hayvan dekapite edilerek otopsi yapıldı. Bu işlem hayvanlar 90/10 mg/kg intramuskuler (im) ketamin/ksilazin anestezisi altında perfüze edilerek hipokampus bölgesi çıkarıldı ve %4 lük paraformaldehit içinde 24 saat fikse edildi. Daha sonra mikrotomla 5 mikronluk kesitler alınarak dokudaki Aβ varlığı hemotoksilen eosin ve congo red boyamalar ile teyit edildi.

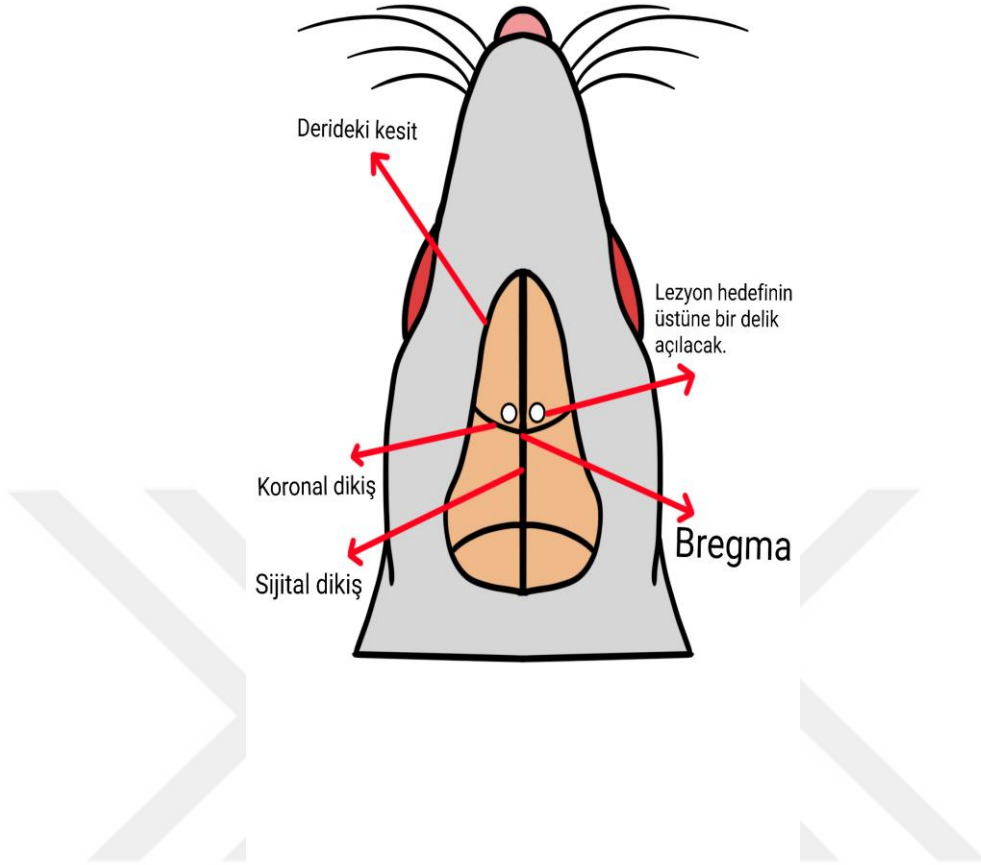
Deney gruplarında AHM yapılacak tüm hayvanlar anestezisi işlemine alındıktan sonra (intramuskuler 90 mg/kg ketamin+10 mg/kg ksilazin) kafaları traş makinası ile traşlandıktan sonra %2 klorheksidin ile dezenfeksiyon işlemi

gerçekleştirildi. Hayvan stereotaksi aletine yerleştirildikten sonra (Şekil 3.3) kafa hattının ortasında bistüri ile insizyon yapıldı. Deri altı dokuları bistüri ile hafifçe kürete edilerek bregma (Şekil 3.4) tespit edildi. Biriken kan ve doku sıvıları pamuk yardımı ve oksijenli su uygulamalarıyla bregmanın görünür hale gelmesi sağlandı.

Hayvanda Bregma'nın 3,6 mm posterior, 2.4 mm sol/sağ laterali ve 2.8 mm ventrali koordinatları tespit edilerek 0.8 mm'lik çaptaki matkap ucu ile kafatası delindikten sonra 5 µL Hamilton mikro enjektörü ile 0.5 µL/dk hızda olacak şekilde, distile suda inkübe edilmiş Aβ1-42 çözeltisi 4µg/1µL/taf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu yapıldı (167). Enjeksiyon tamamlandıktan sonra hayvan steriotaksi aletinden çıkarılıp kesi bölgesi suture ile kapatıldı.



Şekil 3.3. Sıçanın Steriotaksi aletine yerleştirilmesi



Şekil 3.4. Bregma Hattı

3.4 *Toxoplasma gondii* Takizoitlerinin Temini ve Hayvanların Takizoit İle Enfeksiyonu

Toxoplasma gondii RH suşu, Sabin Feldmann Boya Testinde kullanılan 4-6 haftalık Swiss Albino farelerde Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Parazitoloji Referans Laboratuvarından temin edildi. Zoonoz bir parazit olan *T.gondii* takizoidleri ile enfekte olmayı engellemek için laboratuvarımızda yer alan sadece takizoid pasajlamasında kullanılan biyogüvenlik kabininde bu işlem yapıldı. Proje önerisinde kullanılacak *T.gondii* takizoitleri, deneysel enfekte edilen farelerin peritonlarından elde edilen takizoitler oldu. Işık mikroskopu altında Neubauer sayım kamarası ile fareden elde edilen takizoit süspansiyonu içindeki parazit miktarı sayıldı. Gerekli olan ayarlama steril serum fizyolojik veya distile su ile yapıldı.

Yukarda bahsedilen *Toxoplasma gondii* ile enfekte edilecek gruplara 1.5×10^6 parazit içeren inokulum hazırlanarak ip olarak uygulandı (169) .

3.5 Davranış Testleri

Anne grubu hayvanlarına AHM yapıldıktan 15. gün, *Toxoplasma gondii* enjeksiyonundan sonra 25. Gün Yavru grubu hayvanlarına ise yetişkin dönemde (2-4 aylık olduklarında) 150. gün Alzheimer benzeri uzamsal bellek bozuklukları ve öğrenme güçlüğü yaşayıp yaşamadıklarını belirlemek için Barnes Labirent test uygulamaları yaptırıldı.

3.5.1 Barnes labirenti

Barnes Labirent Testi 1,5 metre çapında ve üzerinde birbirinden eşit uzaklıkta yerleştirilmiş 20 adet delikten oluşan tahta bir platformdur. Bu deliklerden biri tanesi kaçış platformu olarak adlandırılan, bir taşıyıcıya sahiptir. Platform tahta bir destek yardımıyla yerden 0,75 metre yükseltilmiştir.(Şekil 3.5) Yuvarlak platformun çevresi üzerinde farklı geometrik şekillerin olduğu beyaz bir örtü ile çevrelenerek, hayvanlara görsel bir ipucu oluşturulması amaçlanmıştır. Tavana yerleştirilen bir kamera ile bütün görüntüler bilgisayar yazılımına aktarılarak deneysel analizler yapılmaktadır (171).

Deney gruplarının tüm hayvanları Barnes Labirent Testinde kullanıldı. Bu hayvanlar öncelikle platformun merkezine yerleştirilerek, 15 dakika boyunca çevrelerini keşfetmeleri sağlandı. Daha sonra hayvanlara 4 gün boyunca öğrenme testi uygulandı. Bunun için hayvanlar platform üzerindeki deliklerden bir tanesinin yanına yerleştirildi. 60 saniye içerisinde kaçış deliği içine girmeleri beklenir. Eğitim süresince, aynı noktadan 4 defa bırakılarak işlem tekrar edildi. Daha sonra hayvan başka bir deliğin yanından, yeniden platforma yerleştirilerek, hayvanın kaçış platformunu bu yeni noktadan bulması sağlandı. Bu işlemde 4 defa üst üste tekrarlandı. Bu şekilde tekrarlanan öğrenme testleri 4 gün boyunca devam ettirildi. Dördüncü günün sonunda, 24 saat beklendikten sonra hayvanın uzun süreli hafızasının test edilmesi için (eğitimlerden 24 saat sonra), hayvan platform üzerinde deliklerden bir tanesinin yanına bırakıldı. Beyaz perde üzerindeki geometrik şekillerden faydalanarak bulunduğu noktaya denk gelen kaçış platformunu 60 saniye içerisinde bulması beklendi (171).



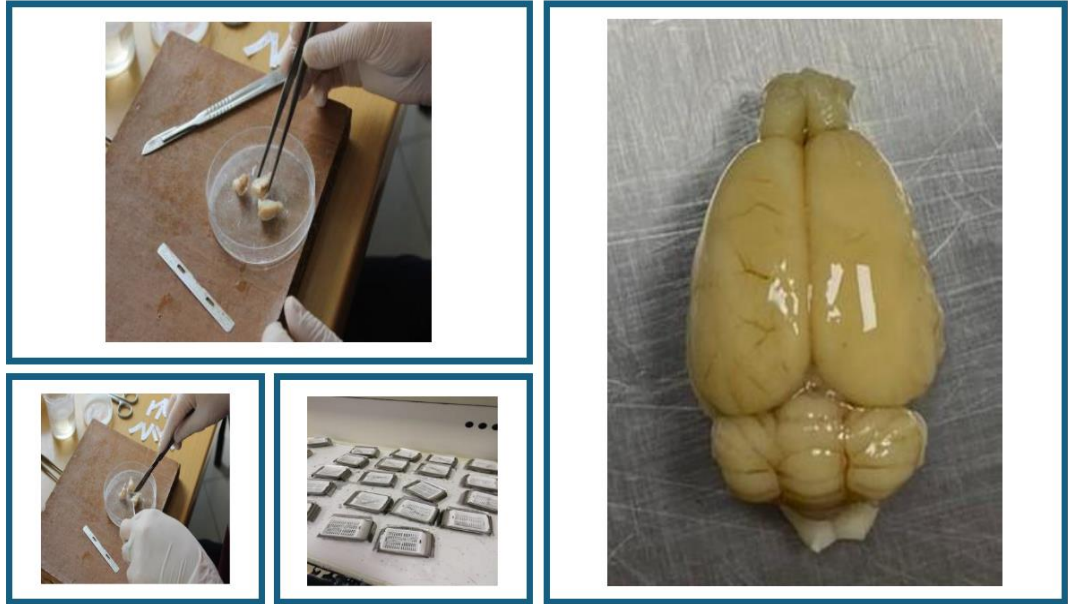
Şekil 3.5. Barnes Labirent Testi

3.6 Doku Takibi

Beyin dokuları A β kümelenmelerinin oluşup oluşmadığını tespit etmek amacıyla yapıldı. Bu doğrultuda dokular formaldehitte bekletildikten sonra dokuların makrosu yapılarak kasetleme ve etiketleme yapıldı (Şekil 3.6).. Etiketleme için kurşun kalem kullanıldı. Ardından doku takip aşamaları doku takip protokolüne göre sırasıyla uygulandı. Doku takip protokolü Tablo 3.1.'deki gibidir.

Tablo 3.1. Doku Takip Protokolü (172)

Doku Takip İşlemi	Kimyasallar ve Derişimleri	Süre
	%70'lik alkol	1 saat
	%80'lik alkol	1 saat
Dehidrasyon	%96'lık alkol	1 saat
	%96'lık alkol	1 saat
	% 100'lük alkol	2 saat
	% 100'lük alkol	2 saat
	Ksilen	45 dakika
Şeffaflandırma	Ksilen	45 dakika
	Ksilen	45 dakika
İnfiltrasyon	Parafın (60°C)	1 saat 30 dakika
	Parafın (60°C)	1 saat 30 dakika



Şekil 3.6. Beyin dokusu makrosu, kasetleme, etiketleme, bloklama

3.7 Hematoksilen-Eozin Boyaması

Aß kümelenmelerinin varlığının histolojik olarak belirlenmesi amacıyla beyin dokusu bloklarından, Leica® RM 2125 RT mikrotom cihazı ile 4-5µ kalınlığında lamlara seri kesitler alındı. Tablo 3.2’de verilen H&E boyama protokolüne göre boyama yapıldı. Işık mikroskopik olarak incelenmek üzere preparatlar hazır hale getirildi.

Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyaması Protokolü (173)

✓ Parafin kesitler 60 64°C’lik etüvde 30 dakika bekletildi.
✓ Ksilol I’de 2 dakika, Ksilol II’de 2 dakika bekletildi.
✓ İki defa %100’lük alkolde 1’er dakika bekletildi.
✓ İki defa %96’lık alkolde 1’er dakika bekletildi.
✓ Akan suda yıkama yapıldı.
✓ Hematoksilen boyasında 4 5 dakika bekletildi.
✓ Akan suda yıkama yapıldı
✓ Asit alkole iki kere daldırıp çıkarıldı.
✓ Akan suda yıkama yapıldı.
✓ Amonyaklı suda 10 saniye bekletildi.
✓ Akan suda yıkama yapıldı.
✓ %80’lik alkolde 1 dakika bekletildi.
✓ Eozin boyasında 1 dakika bekletildi.
✓ İki defa %96’lık alkolde 2’şer dakika bekletildi.
✓ İki defa %100’lük alkolde 2’şer dakika bekletildi.
✓ Ksilolde 10 dakika bekletildi, çıkarılıp entellan damlatılarak lamel ile kapatma yapıldı.

3.8 Congo Red Boyama

Aβ kümelenmelerinin ayırıcı tanısını yapabilmek için özel olarak hazırlanmış beyin dokusu bloklarından, Leica® RM 2125 RT mikrotom cihazı ile 4-5µ kalınlığında lamlara seri kesitler alındı. Tablo 3.3’de verilen Congo Red boyama protokolüne göre boyama yapıldı. Işık mikroskopik olarak ve polarize ataçman ile incelenmek üzere preparatlar hazır hale getirildi.

Tablo 3.3. Congo Red Boyaması Protokolü (174)

İŞLEM VE KİMYASAL	SÜRESİ
Etüv	1 gece
Ksilen I-II	Batır çıkar
%1 sulu Kongo Red	10-30 dk.
Doyurulmuş sulu Li₂Co₃	15 sn.
%80 alkol	Dekolorize
Akar su	15 dk.
Alum Hematoksilen	2-8 dk.
Akar su	10 dk.
% 95 alkol	1 dk.
% 100 alkol	1 dk.
Ksilen	2 dk.
Kapama	

3.9 İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS Statistics Standard Concurrent User V 26 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tüm grup aralarında anlamlılık ilişkisine bakılmak için Kruskal Wallis testi yapıldı. Gruplar arasındaki farkın anlamlılık ilişkisine Man Whitney-U testi ile bakıldı. Mann-Whitney U testi, bağımsız örneklem t testine alternatif olan non-parametrik bir testtir. Bu test, benzer popülasyondan gelen iki bağımsız grup arasında ortalama farkına bakmak, ve gruplar arasında fark ya da eşitliği belirlemek için kullanılır. Histopatolojik değerlendirmeler Ficher Test'i ile değerlendirildi. Ficher test, kategorik verilere sahip preparatlardan ve örneklem sayısının azlığından dolayı iki grup arasındaki farkı vermek için kullanılan bir testtir.



4. BULGULAR

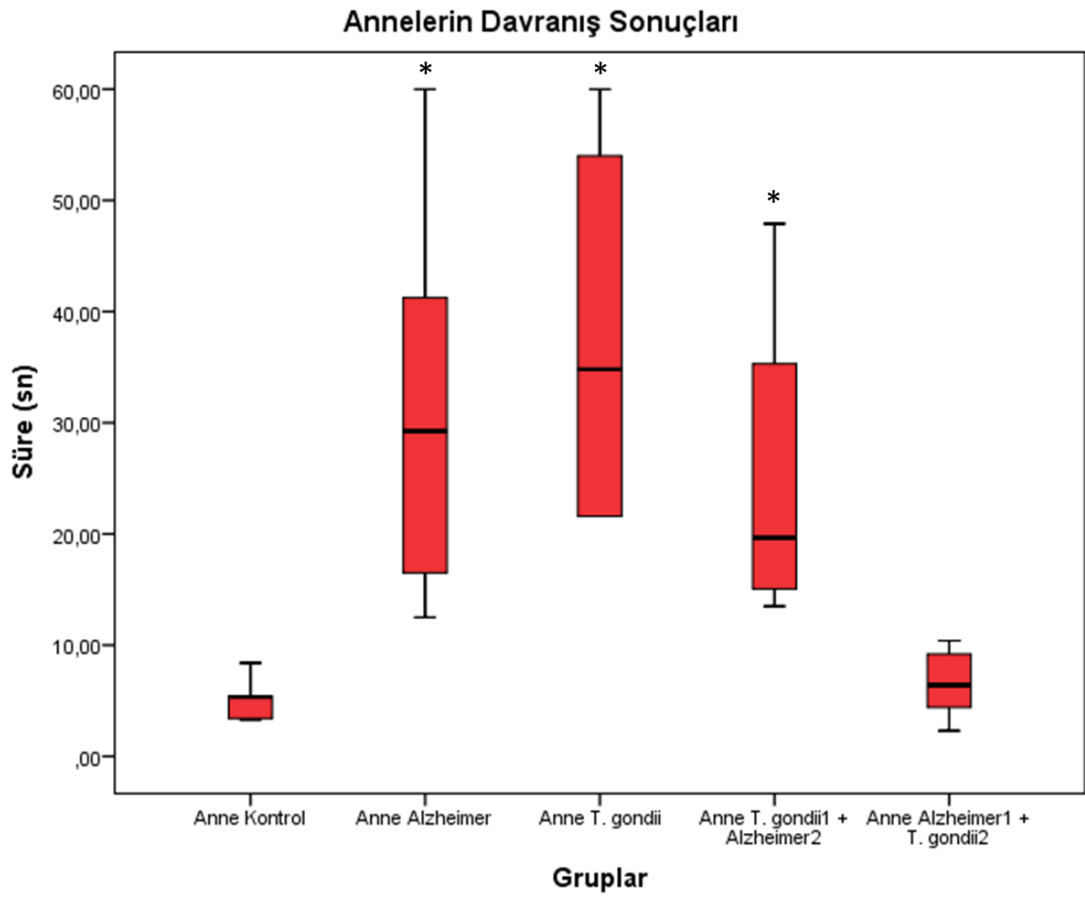
4.1 Davranışsal Bulgular

4.1.1 Barnes Labirent Test Bulguları

Çalışmanın amaçlarına istinaden tüm gruplar uzamsal bellek ve hafıza değerlendirilmesi yapılmak için Barnes Labirent testlerine tabi tutulmuştur. Anne Kontrol, Anne Alzheimer grupları model oluşumu takibi 15. Gün, Anne *T. gondii* grubu model oluşumu takibi 25. gün, Anne *T. gondii1* + Alzheimer2 grubu önce *T. gondii* enfeksiyonu yapıldıktan 25 gün sonra Alzheimer modeli oluşturulmuş ve Alzheimer model oluşumu takibi 15. gün, Anne Alzheimer1 + *T. gondii2* grubu önce Alzheimer model oluşturulduktan 15 gün sonra *T. gondii* enfeksiyonu yapılmış ve *T. gondii* enfeksiyonu takibi 25. gün Barnes Labirent Testi' ne tabi tutuldu. Teste tabi tutulan grup hayvanları ikili karşılaştırma testi olan Man Whitney-U testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. İstatistik verilerine göre; Anne Kontrol grubu ve Anne Alzheimer gruplarının denek sayısı 7'dir (Tablo 4.1). Fakat *T. gondii* enfeksiyonu yapılan; Anne *T. gondii*, Anne *T. gondii1* + Alzheimer2 ve Anne Alzheimer1 + *T. gondii2* gruplarında sırasıyla denek sayıları 3,3 ve 2 ex olduğu için yine sırasıyla denek sayıları 4,4 ve 5 olarak alındı (Tablo 4.1). Ayaz ve ark. 1×10^4 *Toxoplasma gondii* takizoitleri intraperitoneal (ip) olarak uygulanarak oluşturdukları enfeksiyon modelinde mortalitenin olduğunu bildirmişlerdir (188). İstatistik verilerine göre; Anne Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 5,35(3,37-6,15) Anne Alzheimer grubunun yuvayı bulma süresine göre median (IQR) 29,25(16,0-43,4), Anne *T. gondii* grubunun yuvayı bulma süresine göre median (IQR) 34,80(21,6-57,0) ve Anne *T. gondii1* + Alzheimer2 grubunun yuvayı bulma süresine göre median (IQR) 19,65(14,2-41,6) olarak bulundu (Tablo 4.1). Man Whitney-U testine göre Anne Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi ile Anne Alzheimer, Anne *T. gondii* ve Anne *T. gondii1* + Alzheimer2 gruplarının yuvayı bulma süresi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0,05$)(Grafik 4.1)(Tablo 4.2). Anne Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 5,35(3,37-6,15), Anne Alzheimer1 + *T. gondii2* grubunun yuvayı bulma süresine göre median (IQR) 6,40(3,35-9,8) olarak bulundu (Tablo 4.1). Man Whitney-U testine göre Anne Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi ile Anne Alzheimer1 + *T. gondii2* grubunun yuvayı bulma süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi($p > 0,05$)(Grafik 4.1)(Tablo 4.2). Anne *T. gondii1*

+ Alzheimer2 grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 19,65(14,2-41,6) ile Anne *T. gondii* ve Anne Alzheimer gruplarının yuvayı bulma süresinin sırasıyla median (IQR) 34,80(21,6-57,0), median (IQR) 29,25(16,0-43,4) daha kısa süre olmasına rağmen aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi($p>0,05$)(Grafik 4.1)(Tablo4.2).

Kruskal Wallis testine göre gruplar arasındaki ilişkilendirmede anne grupları arasında $p=0,001$, F1 erkek jenerasyon yavrularının gruplar arasındaki fark ise $p=0,000$ olarak bulundu.



Grafik 4.1. Annelerin Yuvayı Bulma Süresi (sn)

Gruplar	N	Mean	Std. Deviation	Min.	Maks.	Median	IQR
Anne Kontrol	7	5,20	1,85	3,3	8,4	5,35	3,37-6,15
Anne Alzheimer	7	30	16,57	12,50	60	29,25	16,0-43,4
Anne <i>T. Gondii</i>	4	37,80	19,33	21,60	60	34,80	21,6-57,0
Anne <i>T. Gondii</i> 1 + Alzheimer2	4	25,17	15,62	13,50	47,9	19,65	14,2-41,6
Anne Alzheimer1 + <i>T. Gondii</i> 2	5	6,54	3,33	2,30	10,4	6,40	3,35-9,8

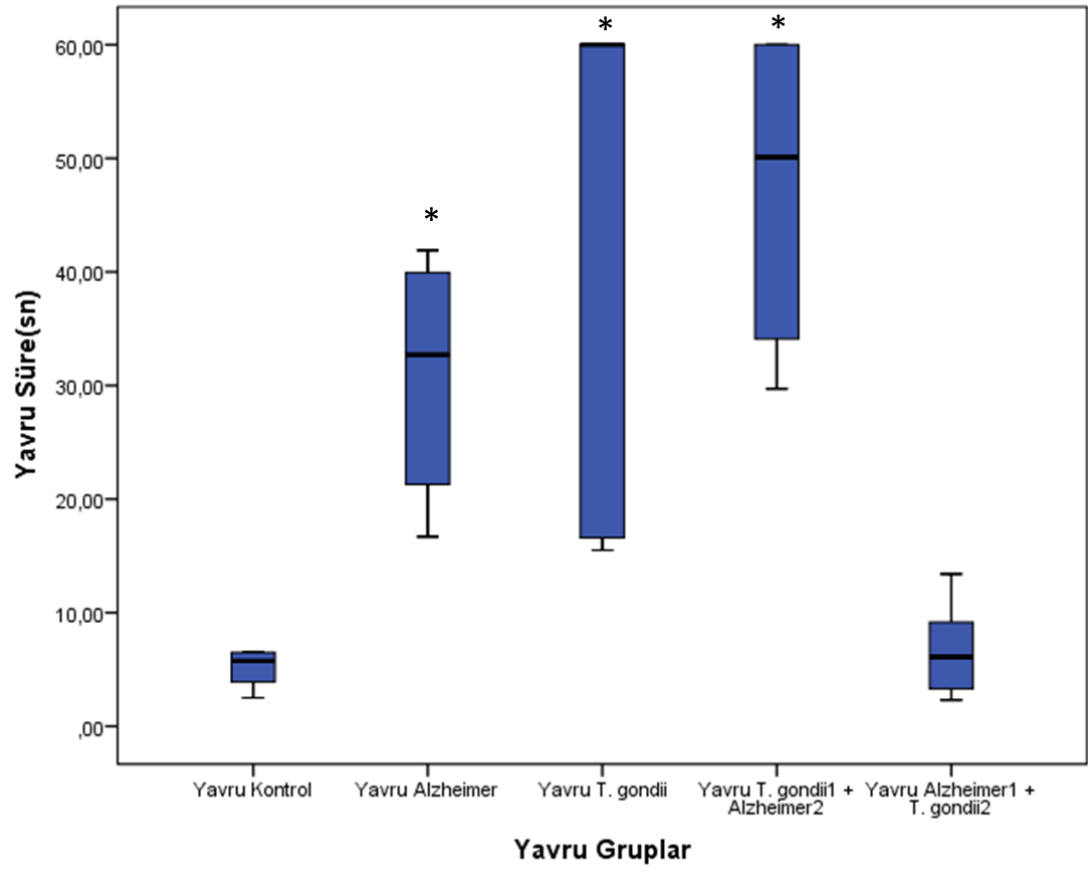
Tablo 4.1. Anne Ratların Yuvayı Bulma Verileri

p	Anne Kontrol	Anne Alzheimer	Anne <i>T. gondii</i>	Anne <i>T.gondii</i> 1 + Alzheimer2	Anne Alzheimer1 + <i>T.gondii</i> 2
Anne Kontrol		0,002*	0,01*	0,01*	0,46
Anne Alzheimer	0,002*		0,44	0,61	0,003*
Anne <i>T. gondii</i>	0,01*	0,44		0,24	0,014*
Anne <i>T.gondii</i> 1 + Alzheimer2	0,01*	0,61	0,24		0,014*
Anne Alzheimer1 + <i>T.gondii</i> 2	0,46	0,003*	0,014*	0,014*	

*Grupların çaprazlama olarak değerlendirilmesinde istatistiksel farkı belirler.

Tablo 4.2. Anne Ratların Verilerinin Mann Whitney U Testi

Sağlıklı erkek ratlar ile çiftleştirilen dişi ratlardan, her grup kendi içinden randomize olacak şekilde 8 erkek yavru seçilip alt gruplar oluşturuldu. *T. gondii* ve Alzheimer modelleri oluşturulan annelerin diğer yavruları direkt olarak sakrifiye edildi ve deney gruplarına alınmadı. F1 jenerasyon erkek yavrular 2-4 aylık olduğu yetişkin dönemde uzamsal bellek ve hafıza değerlendirilmesi yapılmak amacıyla Barnes Labirent testlerine tabi tutuldu. Barnes Labirent testine tabi tutulan yavruların verileri ikili karşılaştırma testi olan Man Whitney-U testi ile değerlendirildi. İstatistik verilerine göre; Yavru Kontrol grubunun denek sayısı 8, Yavru Alzheimer grubunun denek sayısı 7, Yavru *T. gondii* grubunun denek sayısı 6, Yavru *T. gondii1* + Alzheimer2 grubunun denek sayısı 6 ve Yavru Alzheimer1 + *T. gondii2* grubunun denek sayısı 8'di (Tablo 4.3). Veriler ışığında Yavru Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 5,75(3,55-9,02), Yavru Alzheimer grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 32,70(21,0-40,0), Yavru *T. gondii* grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 60(16,3-60), Yavru *T. gondii1* + Alzheimer2 grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 50,10(33-60) ve Yavru Alzheimer1 + *T. gondii2* grubunun yuvayı bulma süresi median (IQR) 6,10(3,3-10,07) olarak bulundu (Tablo 4.3). Yavru *T. gondii* grubunun altı yavrudan dördü (%66.6)' sı test sonlandığında yuvayı bulamadı. Yavru *T. gondii1* + Alzheimer2 grup yavruları ise benzer şekilde altı yavrudan üçü (%50)' si test sonlandığında yuvayı bulamadı. Man Whitney-U testine göre Yavru Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi ile Yavru Alzheimer, Yavru *T. gondii* ve Yavru *T. gondii1* + Alzheimer2 gruplarının yuvayı bulma sürelerine göre istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0,005$)(Grafik 4.2)(Tablo 4.4). İstatistik testine göre Yavru Kontrol grubunun yuvayı bulma süresi ile Yavru Alzheimer1 + *T. gondii2* grubunun yuvayı bulma süreleriyle neredeyse benzer olup istatistiksel olarak aralarındaki fark anlamsızdı ($p > 0,005$)(Grafik 4.2)(Tablo 4.4)



Grafik 4.2. Yavruların Yuvası Bulma Süreleri (sn)

Gruplar	N	Mean	Std. D.	Min.	Maks.	Median	IQR
Yavru Kontrol	8	6,83	5,01	2,50	16,60	5,75	3,55-9,02
Yavru Alzheimer	7	30,54	10,59	16,70	41,90	32,70	21,0-40,0
Yavru <i>T. gondii</i>	6	45,35	22,69	15,50	60	60	16,3-60
Yavru <i>T. gondii</i> 1 + Alzheimer2	6	47,33	14,27	29,70	60	50,10	33-60
Yavru Alzheimer1 + <i>T. gondii</i> 2	8	6,60	3,92	2,30	13,40	6,10	3,3-10,07

Tablo 4.3. Yavruların Ratların Yuvayı Bulma Verileri

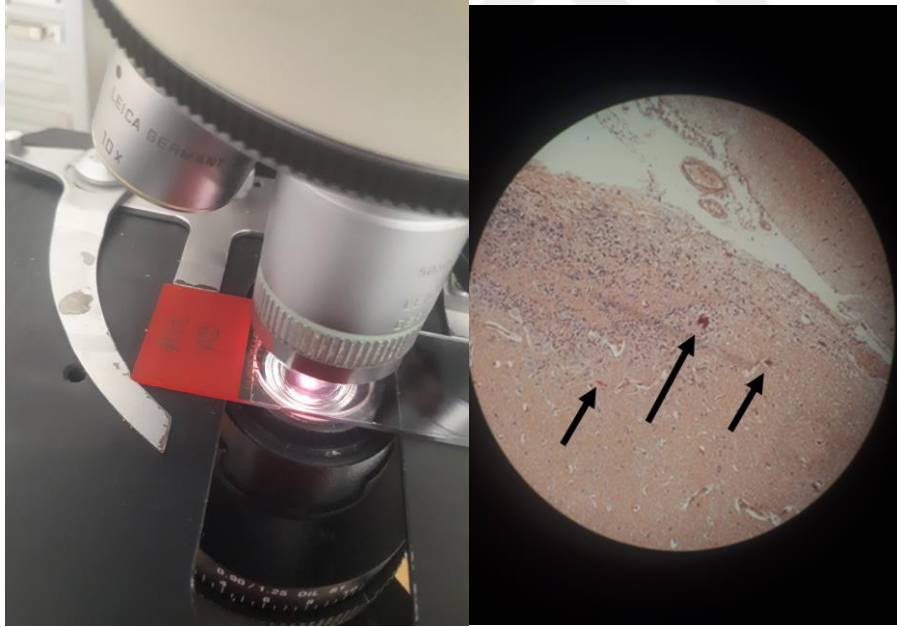
p	Yavru Kontrol	Yavru Alzheimer	Yavru <i>T. gondii</i>	Yavru <i>T.gondii</i> 1 + Alzheimer2	Yavru Alzheimer1 + <i>T.gondii</i> 2
Yavru Kontrol		0,003*	0,007*	0,004*	0,89
Yavru Alzheimer	0,003*		0,31	0,062	0,001*
Yavru <i>T. gondii</i>	0,007*	0,31		1	0,002*
Yavru <i>T.gondii</i> 1 + Alzheimer2	0,004*	0,062	1		0,002*
Yavru Alzheimer1 + <i>T.gondii</i> 2	0,89	0,001*	0,002*	0,002*	

*Grupların çaprazlama olarak değerlendirilmesinde istatistiksel farkı belirler.

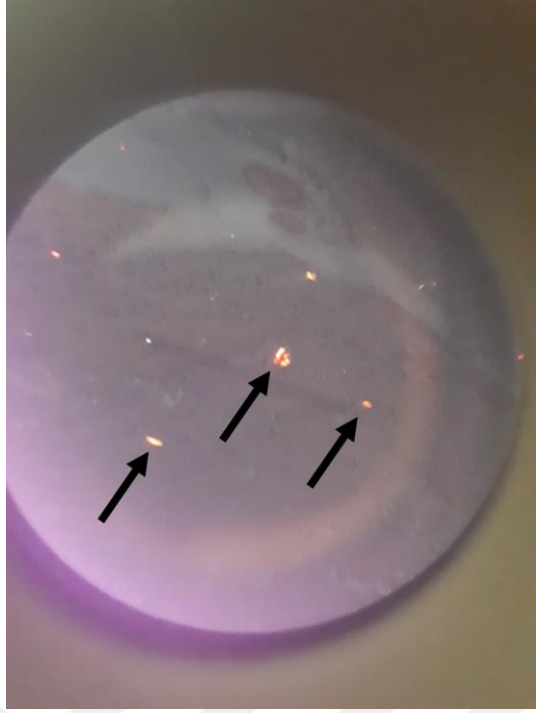
Tablo 4.4. Yavru Ratların Mann-Whitney U Testi

4.2 Histopatolojik Bulgular

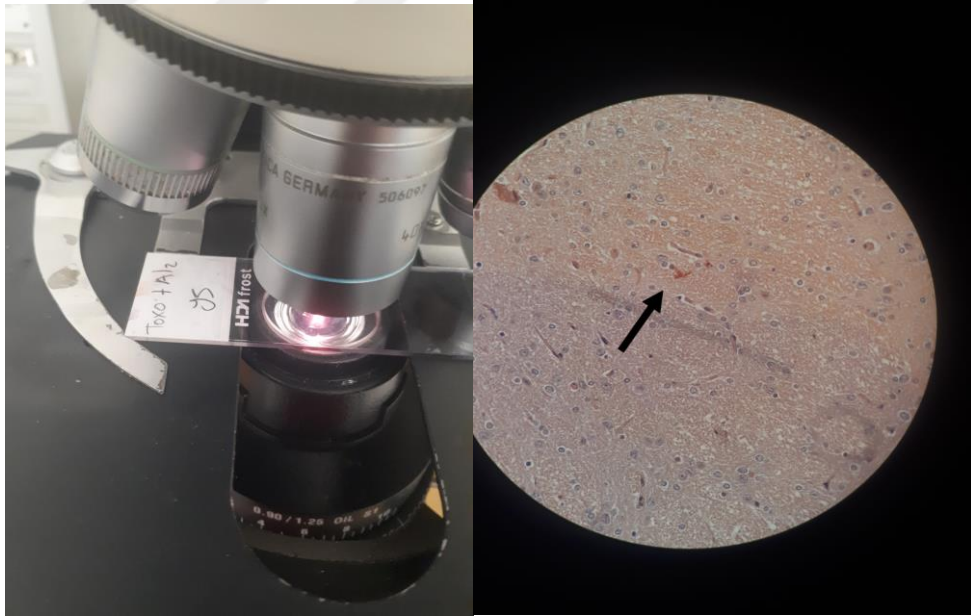
A β kümelenmelerinin ayırıcı tanısını yapabilmek için özel olarak hazırlanmış beyin dokuları Congo Red ile protokol sıralamasına göre (Tablo 3.3) boyandı. Amiloid saptanmasında kullanılan boyama yöntemi, anne gruplarının altındaki yavrular alındıktan sonra anne beyinlerindeki değişiklikleri incelemek için kullanıldı. Yavru beyin dokuları ise 2-4 aylık dönemde davranış testleri alındıktan sonra beyindeki değişiklikleri incelemek için kullanıldı. Alzheimer modeli oluşturulan tüm annelerin yavrularındaki gruplarda A β kümelenmelerinin olduğu görüldü. A β kümelenmeleri Congo Red boyaması ile ayırıcı tanı olarak gösterildi. Floresan ışık mikroskobisi yapılan doku örnekleri 40x objektifler ile değerlendirildi. Anne alzheimer modelinin oluşup oluşmadığı ışık mikroskobide (Fotoğraf 4.1) normal hücrelerin pembe boyanmaları yanısıra amiloid birikmelerinin olduğu yerlerdeki hücreler daha koyu kırmızı renkte boyandı (Fotoğraf 4.1). Ayırıcı tanısını yapabilmek için anne modeli uygulanan hayvanların floresan ataçman ile parlama özelliği olan amiloid kümelenmeleri (Fotoğraf 4.2) gösterildi. Alzheimer model oluşturulmuş annelerin yavrularında 2-4 aylık dönemdeki beyin dokularındaki amiloid kümelenmeleri Congo Red boyama ile gösterildi (Fotoğraf 4.3). Yavru ratların 2-4 aylık dönemde beyinlerindeki beta amiloid kümelenmeleri floresan ataçman ile mikroskobik olarak görüntülendi (Fotoğraf 4.4).



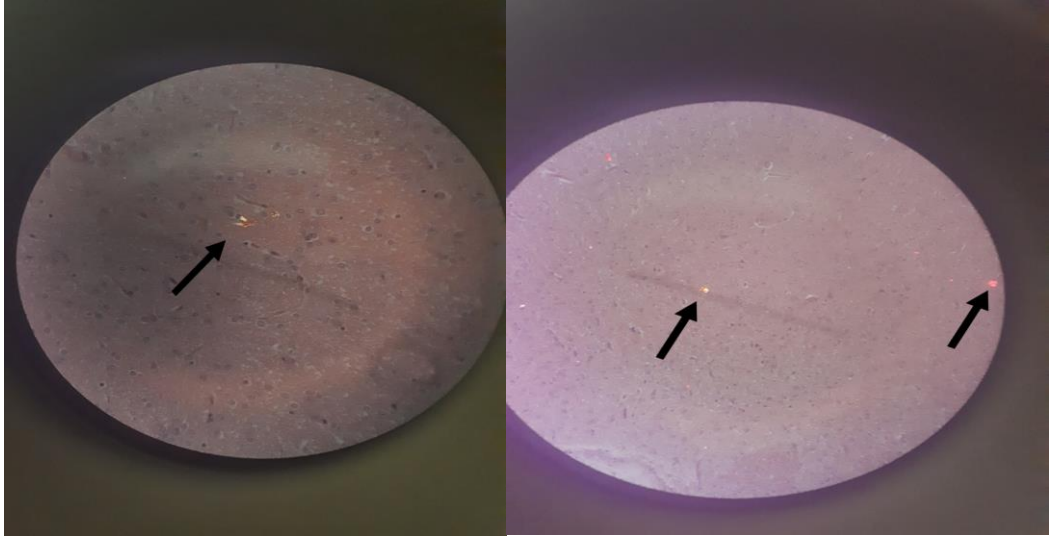
Fotoğraf 4.1. Anne Modelinin Oluşup Oluşmadığının Congo Red Boyama Işık Mikroskobik Kontrolü (x40)



Fotoğraf 4.2. Anne Modelinin Floresan Ataçmalı Işık Mikroskopik Görüntüde Beta Amiloid Plak Parlamaları (x40)



Fotoğraf 4.3. Yavruların Congo Red Boyamada Beta Amiloid Plaklarının varlığının Işık Mikroskopik Kontrolü(x40)



Fotoğraf 4.4. Yavruların Congo Red Boyaması ile Florasan Ataçmalı Işık Mikroskopik Görüntüde Beta Amiloid Plak Parlamaları(x40)

Yavru ratların 2-4 aylık beyinlerinden alınan doku örneklerine göre hazırlanan preparatlarda Yavru Kontrol grubunun örneklem sayısı 8, Yavru Alzheimer grubunun örneklem sayısı 7, Yavru *T. gondii* grubunun örneklem sayısı 6, Yavru *T. gondii1* + Alzheimer2 grubunun örneklem sayısı 6 ve Yavru Alzheimer1 + *T. gondii2* grubunun örneklem sayısı 8 olarak alındı (Tablo 4.6). A β modeli oluşturulmuş annelerin yavrularının yetişkin dönemde (2-4 aylık) beyinlerindeki amiloid kümelenmeleri %23,8 olarak bulundu (Tablo 4.7). Kategorik verilere sahip preparatlarımız, amiloid var veya yok olarak değerlendirildiğinden dolayı istatistiksel olarak Fisher test uygulandı ve p =0,13 olduğundan dolayı istatistiki olarak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi (Tablo 4.7).

<i>Yavru Beyininde</i>	<i>n</i>	<i>Congo Red (+)</i>
Yavru Kontrol	8	0
Yavru Alzheimer	7	1(%14,2)
Yavru <i>T. gondii</i>	6	0
Yavru <i>T. gondii1</i> + Alzheimer2	6	2(%33,3)
Yavru Alzheimer1 + <i>T. gondii2</i>	8	2(%25)

Tablo 4.5. Yavru Ratların Congo Red Verileri

	<i>n</i>	<i>Congo Red (+)</i>
<i>Aβ42 uygulanan</i>	21	5(%23,8)
<i>Uygulanmayan</i>	14	0

Fisher excxt test p= 0.069

Tablo 4.6. Yavru Ratların Congo Red Boyama Fisher Testi

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda Alzheimer hastalığı (AH) araştırması, patogenezinin aydınlatılması ve hastalığın oluşumunu engellemek için yapılacak tedbirlerin veya tedavilerin geliştirmesi aşamasında hayvan modelleri önemli yer tutmakta bu nedenle dişi ratlara AH modeli uygulanmıştır. AH' nda farklı deneysel modeller bulunmaktadır. Transgenetik ailevi AH'ı hayvan modeli, kimyasal olarak indüklenen AH hayvan modeli ve doğal yaşlanan hayvan modeli gibi çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (175). Presenilin-1 gen mutasyonu gibi spesifik mutasyonlara sahip hayvan modellerinin oluşturulması terapötik stratejilerin geliştirilmesinde kullanılmıştır (176). Diğer bir transgenik fare modellerinde SLC25A18' in gen ekspresyonu artışı ve ailevi AH' ında görülen protein artışı çalışılmıştır (177). Transgenik fare modellerinin geliştirilmesi, amiloid-beta' nın mitokondri ile etkileşimi gibi hastalığın farklı yönlerinin açıklanmasında etkili olmuştur (178). Yine de insanlardaki AH ile deneysel hayvan modelleri yapısal farklılıklar nedeni ile öngörücü geçerliliği olmayabilir. Bu nedenle yeni deneysel modellerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğu ileri sürülmektedir (179,180). Uzun ömürlü Degu-Sıçanları gibi doğal hayvan modelleri yaşlanma süreci ve sporadik geç başlangıçlı AH' nın modelinde kullanılmıştır (181). Hong ve ark. 2009 yılında A β 42 oligomerlerini hedef alan spesifik moleküller ile, AH' daki amiloid toksisitesi azaltmıştır (182). Selkoe ve ark. AH ile ilgi 25 yıllık bilinenleri bir meta analizde beyin dokusunda çözünmeyen fibrillerden ziyade A β 42 oligomerleri AH patogenezindeki birincil toksik madde olarak saptandığını bildirmiştir. Yine aynı meta-analizde AH hastalarının beyinlerinden elde edilen A β 42 oligomerleri, sağlıklı sıçanlara enjekte edildiğinde hafızayı bozduğu ve AH' ında gözlenen hafıza eksikliklerine benzerlik gösterildiğini bildirmiştir (183). Bizde çalışmamızda özellikle sıçan ve fare gibi kemirgenlerde uzamsal bellek araştırmalarında yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan Barnes Labirent Testi ile değerlendirdik. Kontrol grubuna göre AH grubunda istatistiksel anlamlı olarak daha geç platformu bulmuştur. Bellek fonksiyonları uygulanan A β 42 enjeksiyonundan etkilenmiştir. Song ve ark. çözünebilir A β 42 oligomerleri oldukça toksik olduğunu ve sinaptik işlevlerde bozulmaya, nöronal hasara, bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya ve hafıza kaybına yol açtığını doğrulamıştır(184).

Congo red boyası, amiloid fibrillerine bağlanma ve ayırt edici bir boyama modeli oluşturmaktadır(185). Zhang ve ark. congo redin A β 1-42 fibrilleriyle etkileşime girerek beta-amiloid nörotoksitesini inhibe ettiğini ve sinir dejenerasyonunu azaltabileceğini iddia etmiştir. Ayrıca, Zhang ve ark. A β 1-42 fibrillerini hedefleyen ligandlara bağlanarak A β 1-42 fibrillerini tespit etme etkili olabileceğini vurgulamıştır(186). Bizim çalışmamızda da AHM olarak intrahipokampal olarak A β 1-42 çözeltisinin enjekte edilmesi ile oluşturulmuştur. Model uygulanan annelerin öğrenme ve bellek fonksiyonlarının bozulması kontrol grubuna göre daha uzun sürede hedefi bulması yanında A β 1-42 proteini uygulanan anne ratların beyin dokusunda Congo Red boyası ile sonrası direkt ve floresan ataçman mikroskopisinde plaklar izlenmesi modelin başarı ile uygulandığını göstermektedir.

Toxoplasma gondii parazitin konakçı ile etkileşiminin çeşitli yönlerini araştırmak için sıçan modellerini sıklıkla kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda da *T. gondii* ile enfektif model olarak wistar cinsi sıçanları tercih edilmiştir. *T. gondii* ile enfeksiyon, sıçanlarda takizoitlerin intraperitoneal enjeksiyonu ile yapılmaktadır. Yüksek dozda *T. gondii* takizoitleri (3×10^6) ile enfekte edilen sıçanların enfeksiyonu konjenital olarak bulaştırdığı, daha düşük dozda (3×10^3) enfekte edilenlerin ise konjenital bulaşma göstermediği gözlemlenmiştir (187). Bu durum, sıçanlarda *T. gondii* enfeksiyonunun sonuçlarını belirlemede ilk enfeksiyon dozunun önemini vurgulamaktadır. Ayaz ve ark. 1×10^4 *T. gondii* takizoitleri intraperitoneal (ip) olarak uygulanarak oluşturdukları enfeksiyon modelinde yavrularda davranış testlerini değerlendirmişlerdir (188). Çalışmamızda dişi wistar cinsi ratlara 1 ml hacimde 1.5×10^6 *T. gondii* takizoitleri intraperitoneal (ip) olarak uygulanarak enfeksiyon oluşturulmuş ve ardından 20-25 gün bekleme süresiyle kan beyin bariyerinin geçerek beyne ulaşması beklenmiştir. Sonrasında sağlıklı erkek ratlar ile çiftleştirilerek model gerçekleştirilmiştir.

Vyas ve ark. ve Mahmoudvand ve ark. kemirgenlerde *T. gondii* davranışsal değişikliklere, anksiyete ve hafıza bozukluklarına sebep olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda *T. gondii* ile enfekte anneler barnes labirent testinde median (IQR) 34,8(21,6-57,0) saniyede yavaş bir şekilde platformu bulurken kontrol grubu çok daha hızlı bir şekilde 5,35(3,37-6,15) saniyede istatistiksel olarak anlamlı bir fark

ile platformu bulmuştur. *T. gondii* enfeksiyonu Barnes labirent testi ile gösterilen öğrenme fonksiyonlarını olumsuz etkilemiştir. Corrêa ve ark. Balb/c farelerinde *T. gondii* enfeksiyonunun 140. gününde iki yönlü sakınma testi kısa süreli hafızada kayıp olduğunu saptamıştır (189). Vyas ve ark. long-evans cinsi ratlarda kedi idrarı ve kedi kokusundan sakınmayı da etkilediği bildirmiştir (190). Kronik olarak enfekte farelerde öğrenme ve kısa dönem hafıza bozuklukları oluşturduğu, uzaysal öğrenme ve hafıza kapasitesine zarar verdiği; bu etkinin akut dönemde de oluşabileceği gösterilmiştir (191). Bu sonuçlar çalışmamız sonuçlarımızı desteklemekte *T. gondii* ile enfekte annelerin platformu daha geç bulması enfeksiyonun öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkilediğini göstermektedir. *T. gondii* konakçı beyinde medial amigdalada epigenetik modülasyona yol açarak sıçanların avcıdan kaçınma davranışı azaltmakta ve kedi kokuları içeren alanların keşfinde sorunlara yol açmaktadır. *T. gondii* enfeksiyonu neofobik davranış değişiklikleri ile ilişkilendirilmiştir (192). İnsanlarda *T. gondii* seropozitifliği ile bilişsel bozukluklar, intihar girişimleri ve insan davranışındaki değişiklikler arasındaki ilişkiler de ortaya konmuştur (193,194). Hem gençlerde hem de yaşlılarda bireylerde hafıza, dil yeterliliği, yürütme işlevi ve işlem hızı gibi işlevleri etkileyerek bilişsel bozukluklara yol açabilmektedir (195). Çalışmamızın sonuçlarına göre deneysel olarak da bilişsel fonksiyonları bozulma gösterilmiştir.

Çalışmamızda *T. gondii* ile enfekte anneler A β 1-42 çözeltisi 4 μ g/1 μ L/taraf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu ile oluşturulan AH modeli sonrası anneler Barnes labirent testine tabi tutulmuştur. Her iki model uygulanması ile bu iki hastalık arasındaki ilişkiyi ve özellikle öncelikli olarak zamanlamasının incelenmesi amaçlanmıştır. *T. gondii* ile enfekte olup sonrasına AH modeli uygulanan grubumuzun sonuçları, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha uzun sürelerde platformu bulmuş ve öğrenme fonksiyonları etkilenmiştir. Ancak istatistiksel anlamlı olmayan farklarla sadece AH modeli uygulanan veya sadece *T. gondii* enfeksiyonu olan gruplardan daha kısa bir zamanda platformu bulduğu görülmüştür. *T. gondii* enfeksiyonunun öğrenme ve hafıza işlevlerindeki bozulmalarla ve Alzheimer hastalığında gözlenenlere benzer şekilde artan inflamatuvar belirteç seviyeleriyle ilişkili olduğunu göstermiştir (196). *T. gondii* enfeksiyonu, Alzheimer hastalığı gibi durumlarda bilişsel bozuklukların alevlenmesiyle bağlantılıdır ve bu da nöroinflamatuvar süreçlerin geliştirilmesinde

bir rol olduğunu düşündürmektedir (197). Aksine bizim sonuçlarımız her iki kliniğin bir arda olmasının modellerin tek tek uygulanmasından daha olumlu olduğunu göstermiştir. Yani kontrole göre uzun ama tek modellere göre yuvayı bulmada kısa süreler izlenmiştir. İki kliniğin bir arada olması hastalıkların olumsuz etkisini hafifletebileceğini ön görmemize sebep olmuştur. Bu sonuçlara göre kullanılan *T. gondii* suşları etki edebilir. Çalışmamızda RH suşu kullanılmış olup bizim sonuçlarımızı bu suş olumlu etkilemiştir. Galeh ve ark. PRU ve VEG suşlarının AH kliniğine olumlu etkilediğinin bildirirken RH suşunun kliniği olumsuz etkilediğini iddia etmiştir. Bizim kullandığımız suş ile ilgi olarak aksi görüş bildirmiştir (198).

Alzheimer modeli için A β 1-42 çözeltisi 4 μ g/1 μ L/taraf bilateral intrahipokampal enjeksiyonu yapılan anneler *T. gondii* ile enfekte edildiğinde median (IQR) 6,4(3,35-9,8) sn gibi çok kısa bir sürede platforma ulaşmıştır. Kontrol grubu ise 5,35(3,37-6,15) saniyede platforma ulaşmış ve aralarında istatistiksel bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçlara göre AH' da *T. gondii* enfeksiyonu klinik seyri olumlu olarak değiştirmiştir. Üstelik zamanlama olarak . *T.gondii* ile enfekte olup sonrasına AH modeli uygulanan grubumuzun sonuçlarından da istatistiksel olarak anlamlı fark ile kısa süreler ölçülmüştür. Shin ve ark. C57BL6 5XFAD suşu fareleri *T. gondii* ME49 kistleri enfekte edilip farklı zamanlarda beyin dokularını incelemiştir. Bu çalışmada beyin dokusundan total RNA izolesyonu ve real time PCR kullanılarak gen ekspresyon analizi, mikroglia ve amiloid plaklarını immünofloresan boyama histopatolojik inceleme ile korteks ve hipokampüsteki mikroglia fenotipi, miktarı ve mikroglial fagositoz değerlendirilmiştir. Kronik *T. gondii* enfeksiyonun üç haftasından itibaren mikroglial belirteç olan IBA1 ile ve TMEM119 ile boyanmış hücrelerde artışla mikroglial proliferasyon gözlenmiştir. *T. gondii* ile enfekte AH model fareleri, enfekte olmayan AH farelerine kıyasla amiloid plak yükünde önemli bir azalma saptanmıştır. Mikroglial hücreler hem AH hem de *T. gondii* ile enfekte AH gruplarında amiloid plakların etrafında birikmiştir ve enfekte grupta daha fazla sayıda mikroglia hücresi gözlenmiştir. AH modeli *T. gondii* enfekte grubunda IL-1b, TNF-a ve M1 gibi mikroglial aktivasyonu uyaran belirteçleri yüksek ve amiloid plak yükünü azalttığı bildirilmiştir. Kronik *T. gondii* enfeksiyonu, AHM farelerde homeostatik mikroglia artışı buna bağlı olarak amiloid plak yükünü azalmaya yol açmıştır (199). Bu çalışmada açıklanan

fizyopatolojik süreçler, bizim davranış testlerimizdeki iki kliniğin bir ara olduğunda daha iyi sonuçlar elde etmemizi desteklemektedir.

Annenin yaşam tarzı, beslenme egzersiz ve hastalıkları yavru sağlığının şekillenmesinde önemli bir roller oynamaktadır. Çalışmamızda AHM oluşturulan annelerin yavruları median(IQR) 32.7(21,0-40,0) saniyede platforma ulaşmış olup bu kontrol grubu annelerin yavrularında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. AH modeli uygulanan annelerin kontrol grupları ile yavruların kontrol grupları ile benzer bir sonuçla öğrenmenin bozulduğu saptanmıştır. AH modelinin F1 yavrularda etkisini inceleyen literatüre rastlanmamıştır. Ancak transgenetik 3xTg-AD fare modeli, Alzheimer hastalığını ve bunun yavrular üzerindeki potansiyel etkilerini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (200). Bu model hem plak hem de tau patolojisi sergilediğinden, diyet değişiklikleri de dahil olmak üzere çeşitli müdahalelerin AH üzerindeki etkisini araştırmak için ideal bir modeldir (201). Zhou ve ark. Uzamsal öğrenme ve hafızayı değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan Morris water maze testinde, 3xTg-AD fareleri bozulmuş öğrenme ve hafıza davranışı sergilediğini bildirmiştir (202). Benzer şekilde, Aloni ve ark. uzamsal öğrenmeyi ve hafızada tutmayı ölçen Barnes labirent testinde, 3xTg-AD fareler uzamsal hafızada eksikliklerini göstermiştir (203). Peng ve ark. dantrolen tedavisinin 3xTg-AD farelerinde bilişsel gerilemeyi ve nöropatolojiyi iyileştirmiştir (204). Benzer şekilde Ryou ve ark. aralıklı hipoksi eğitiminin 3xTg-AD farelerde uzamsal öğrenme-hafıza gerilemesini önlediği göstermiş ve bilişsel bozuklukların azaltılmasında farmakolojik olmayan müdahalelerin rolü olabileceğini iddia etmiştir (205). Bu genetik modeller dışında çevresel ve epigenetik etkilenmeler de olabilecektir. Bartra ve ark. çözünür epoksit hidrolaz inhibitörü N-[1-(1-oksopropil)-4-piperidinil]-N'-[4-(triflorometoksi)fenil] üre (TPPU) gibi nöroprotektif ajanlarla annenin tedavisinin yavrularda hafıza kaybını ve Alzheimer hastalığı patolojisini önleyen veya geciktiren epigenetik değişiklikleri tetikleyebileceğini göstermiştir (206). Çalışmaların bir çoğu trans genetik 3xTg-AD farelerde yapılmış olması ve yavruların aynı genetik soydan gelmesi ve hastalığı taşıması nedeniyle barnes testi gibi öğrenme testlerini doğal olarak olumsuz etkileyecektir. Çalışmamızda anneye uygulanan modelin yavru öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkisi direk söylemek mümkün değildir. Ancak anneye uygulanan A β 1-42 çözeltisinin gebelikteki nöroinflamasyonu tetikleyerek

veya diğ er epigenetik faktörleri etkileyerek yavruda Alzheimer fizyopatolojisinde etkili olabileceğini ve öğrenmeyi etkileyebilecektir.

Konjenital toksoplazmozis fetüsler üzerinde birçok anomalilere yol açıp enfeksiyona neden olmaktadır. Konjenital toksoplazmozun deneysel modelleri, *T. gondii*’ nin kistlerinin veya takizoitlerinin oral veya intraperitoneal verilmesi ile hayvanları enfekte ederek modeller geliştirilmiştir. Fare modelleri, kısa gebelik süresi ve insan konjenital toksoplazmozise benzer özellikleri ile yaygın olarak kullanılmakta farklı *T. gondii* suşlarının fetüslere bulaşma oranını değerlendirmesi ve kronik enfeksiyon üzerine koruyucu etkileri gibi araştırmalar yapılabilmektedir (207,208). Konjenital toksoplazmozis annenin immünolojik durumundan, parazit virölansından ve gebelik sırasında enfeksiyonun zamanlamasından etkilenmektedir. Çalışmamızda sağlıklı dişiler kullanılmış ve bu dişiler *T. gondii* RH suşu ile enfekte edilmiştir. Barnes labirent testi sonuçlarında en uzun süre ile *T. gondii* enfekte annenin yavruları en kötü sonuçları göstermiştir. Altı yavrunun dördü (%66.6) platformu bulamamıştır. Ayaz ve ark. ebeveynlerde *T. gondii* suşu ile enfekte edilerek yavrularda artı labirent ve açık alan testlerinde anksiyete ve hareketlilik düzeylerini incelemişler ve kronik *T. gondii* enfeksiyonu olan dişi sıçanlar, erkek yavrularda artmış anksiyete ve azalmış lokomotor aktivite gösterirken, erkek yavrularda artmış hareketlilik ve dişi yavrularda azalmış anksiyete ve depresyon saptamıştır. Ancak Morris Su Labirenti Testi, çalışmadaki tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar göstermemiştir (188). Morris su labirent testi, barnes labirent testi gibi öğrenme ve bellek fonksiyonları değerlendirmede kullanılmakta olup gruplar arası fark olmaması bizim çalışmamızdan farklı bir sonuç doğurmuştur.

Çalışmamızda *T. gondii* grubunda altı yavrunun dördü (%66) 60 saniyeden daha uzun sürede platformu bulamamış ve test sonlandırılmışken median(IQR) 60(16,3-60)saniye süre tespit edilmiş, *T. Gondii1* + Alzheimer2 grubunda altı yavrunun üçü (%50) platformu bulamamış 50,1(33-60) saniye süre tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve Alzheimer1 + *T. Gondii2* grupları istatistiksel anlamlı farkla çok daha kısa sürede platformu bulmuştur. Uygulanan *T. gondii* RH suşu ile ciddi olarak öğrenme ve bellek fonksiyonlarının etkilendiği görülmüştür. *T. gondii* konakçı beyinde medial amigdalada epigenetik modülasyona yol açarak sıçanların

avcıdan kaçınma davranışı azaltmakta ve kedi kokuları içeren alanların keşfinde sorunlara yol açmaktadır. *T. gondii* enfeksiyonu neofobik davranış değişiklikleri ile ilişkilendirilmiştir (192). Ancak deneysel çalışmalarda spesifik parazit kaynaklı davranış değişiklikleri, ara konağın cinsiyetine bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Ayrıca klinik fenotip ve AH ilerlemesinde cinsiyet farklılıkları olduğu da bildirmiştir (209,210). Cinsiyetler arasında amiloid- β seviyeleri farklılık göstermez, ancak kadınlarda AH tanısı sonrası beyin atrofisi, bilişsel fonksiyonlarda hızlı bir gerileme gözlenmiştir (211). Çalışmamızda cinsiyetin sonuçlara etkisi olamaması için sadece erkek yavru ratlarda çalışılmıştır.

Alzheimer, *T. gondii*, *T.gondii*1+Alzheimer2 gruplarının aksine kontrol grubuna benzer sonuçları ile çalışmamızın en önemli grubu olmuştur. Kontrol grubu median(IQR) 5.75(3,55-9,02) saniyede, Alzheimer1+*T.gondii*2 grubu 6.1(3,3-10,07) saniyede çok benzer sürelerde platformu bulmuşlar ve aralarında istatistiksel fark saptanmamıştır. Kontrol grubuna bu kadar yakın olması AH modelinin olumsuz etkilerine tolerans gelişmesine neden olabileceğini düşündürmektedir. Alzheimer hastalığı modellerinde kronik *T. gondii* enfeksiyonunun mikrogliya artışı buna bağlı olarak amiloid plak yükünü azaltmayla tolerans gelişiminde etkili olabileceği bildirilmiştir (199). *T. gondii* enfeksiyonunun beyin dokularında inflamatuvar araçların, anti-inflamatuvar sitokinleri, nöronal hasarı ve β -amiloid plak birikimini etkileyerek nöronal dejenerasyonu engelleyebildiğini ve Alzheimer hastalığının fare modelinde öğrenme ve hafıza bozukluklarını hafifletebildiği ve nöroprotektif etkilerin de olabileceği gösterilmiştir (212,213). *T. gondii* enfeksiyonunun nöronal hasarı arttırabileceği, hafıza bozukluğuna katkıda bulunabileceği Alzheimer hastalığının ilerlemesinde bir risk faktörü olabileceğini bildiren çalışmaların yanında tam aksi görüşlerde mevcuttur (214). Bizim çalışmamız da aksi yönde sonuçlanmıştır. Bu durum, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif durumlarda nöroenez, nöronal fonksiyon ve bilişsel sonuçlar arasındaki karmaşık etkileşimi vurgulamaktadır. AHM önce uygulanıp sonrasında *T. gondii* ile enfekte ettiğimiz ratlar çok daha kısa sürede hedefi bulduğu için öğrenme fonksiyonları daha iyi olarak yorumlanmıştır. Kontrol grubu ile hedefi bulma sürelerinde istatistiksel fark saptanmamıştır.

Kronik *T. gondii* modeli oluşturulan farelerde 40. Gün tiroin seviyelerinde azalma ve dopamin seviyelerinde artma saptanması ile nörotransmitter düzeylerini etkilediği gösterilmiştir (215). Yetişkin zebra balığına (*Danio rerio*) okadaik asit (OKA) uygulanarak oluşturulan modelde ortaya çıkan davranışsal ve nörokimyasal değişiklikler değerlendirmiş olup kontrole göre dopamin seviyeleri 3 te 1 olarak düşük bulunmuştur (216). *T. gondii* 'nin dopamin biyosentezinde yer alan enzimleri kodlayan genleri barındırarak enfeksiyon sırasında dopamin seviyelerinde bir artışa yol açtığı bildirilmiştir (217). *T. gondii* 'nin, mikroRNA düzensizliği ve enfeksiyon sırasında dopamin sentezinde aromatik amino asit hidroksilazların rolü ile dopamin sentezini etkilediği bildirilmiştir (217). *T. gondii* dopamin metabolizmasını etkileme yeteneği ile nörotransmitter seviyeleri ve davranışları değiştirebilmektedir. AH bulunan bireylerde de postmortem beyin striatum, amigdala, substantia nigra, singulat girus ve raphe çekirdeğinde temporal kortekste kontrollere kıyasla daha düşük dopamin seviyesi içerdiğini ancak frontal kortekste dopamin seviyelerinin korunduğu gösterilmiştir. Postmortem AH hastalarının striatumunda D2 reseptörlerin yoğunluğunun, aynı yaştaki kontrollere göre az olduğu bulunmuş ancak D1 reseptörleri (D1 ve D5) inceleyen çalışmalarda frontal korteks veya striatumdaki aynı yaştaki kontroller arasında bu reseptörlerin yoğunlukları açısından anlamlı bir fark olmadığını bulmuştur (218). İn vivo çalışmalarda ise pozitif emisyon tomografisi ile işaretli D2 antagonisti kullanılarak yapılan incelemede D2 reseptör düzeylerinin AH da azaldığı bulunmuştur (218,219). Çalışmamızda annelerde *T. gondii* ve AHM' nin beraber uygulandığı gruplarda tek tek *T. gondii* ve AHM uygulanan gruplara göre daha iyi bilişsel performans gözlenmiştir. Bu iki kliniğin birlikteliğinin erişkin beyinde olumlu etkisinin sebebi dopamin metabolizmasındaki zıt etkileşim olabilir. IL-12 *T. gondii* enfeksiyonu sırasında NK hücrelerini ile IL-10 üretimini uyarak immun cevapta önemli rolü olduğu bildirilmiştir (220). IL-12, *T. gondii* enfeksiyonuna karşı direnci ve aşı etkinliğini arttırmada veya bir tedavi seçeneği olabileceği konusunda önemli bir potansiyele sahip olabileceği literatürde yer almaktadır (221). Alzheimer hastalığı fare modelinde mikrogialar aracılığıyla interlökin-12 (IL-12) ve IL-23 alt birimi p40' ın üretiminin arttığını tespit edilmiştir (222). Bu etkinin farklı yöntemler ile azaltılması Alzheimer hastalığının bilişsel olumsuz etkilerini ortadan kaldırmıştır. IL12 artışı *T. gondii* ' ye dirençte rol alırken AH da ise bilişsel fonksiyonların olumsuz etkilemektedir. Bu bilgilere göre her iki kliniğin bir arada olması bilişsel

fonksiyonları olumuz etkiyeceğini düşündürse de bizim deneklerimizde her iki modeli bir arada olduğu grupların bilişsel fonksiyonları her iki kliniğin tek olduğu gruplardan daha iyi tespit edilmiştir.

Benzer şekilde başka bir nörotransmitter olan GABA ile ilgili çalışmalarda, *T. gondii* enfeksiyonlarının, beyinde GABA sentezini katalize eden glutamik asit dekarboksilaz 67 (GAD67) gibi nörotransmitter sentezinde yer alan anahtar enzimlerin dağılımında küresel değişiklikler yaptığını göstermiştir (223). *Toxoplasma gondii* ile enfekte olmuş glial hücreler tarafından salgılanan GABA, parankimal hücreler üzerinde göç etkisi oluşturabilmektedir. *Toxoplasma gondii* enfeksiyonu GABA seviyelerini lokal olarak modüle ederek nöronal fonksiyonları değiştirebilmektedir. Lökositler, mikroglia ve T hücreleri arasında hızlı parazit transferiyle beyin parankimine ulaşmaktadır. Dolayısıyla, enfekte hücreler tarafından GABA üretimi varsayımsal olarak yeni konak hücreleri çeken bir sinyal görevi görmektedir (224,225). Nöronlar ve astrositler, nörotransmisyonu sürdürmek için gerekli olan glutamat/GABA-glutamin döngüsünü sürdürür. AH'ı seyrinde astrositler, glutamat/GABA-glutamin döngüsü de değişikliğe uğramaktadır. Bu döngüde ve astrosit fonksiyonunda ve metabolizmasında anlaşılmayan noktalar mevcuttur. Sonuçta glutamat/GABA-glutamin döngüsündeki değişiklikler AH'ındaki sinaptik işlev bozukluğuna ve nörodejenerasyona katkıda bulunmaktadır (226,227). Hem *T. gondii* enfeksiyonunda hem de AH da nörotransmitter fonksiyonları etkilenmekte ve yeniden şekillenmektedir.

Çalışmamızda oluşturulan gruplarda Barnes Labirent Testi hem anne hem de yavrularda çalışılmıştır. *T. gondii* ve Alzheimer birlikte olan modellerde beyin dokusu üzerinde GABA, Dopamin gibi nörotransmitter düzeyleri veya bu nörotransmitterlerin gen ekspresyonu çalışılmamıştır. İmmünohistokimyasal boyama ve parankimal değişiklikler ve hücre sayıları da değerlendirilmemiştir. Bunlar çalışmamızın kısıtlı yönleri olup gelecekte farklı ölçüt ve belirteçler ile daha derin araştırmaların yapılabileceğini de ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, *T. gondii* ile enfekte bireylerde AH seyri enfekte olmayan bireylere göre farklı seyir göstermiştir. Ancak ilginç olarak AH olan bireylerin *T. gondii* ile sonradan enfekte olması bilişsel fonksiyonların korunmasında etkili

olmuştur. Alzheimer hastalığında *T. gondii* enfeksiyonu hastalığın seyrini değiştirmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Alzheimer Hastalığı yaşlanan dünya nüfusunda insidansı artarak halk sağlığı sorunu haline gelmektedir. Diğer yandan toksoplasmoz tüm dünyada yaygın görülen bir paraziter enfeksiyondur. Çalışmamızda deneysel olarak ratlarda oluşturulmuş *T. gondii* modeli ve Alzheimer Hastalığı A β 1-42 modelinin ilişkisi ve bir alt kuşak F1 yavrular üzerine etkileri Barnes Labirenti Testi ile görsel-uzamsal öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki etkilenme ve nöron hücreleri arasındaki beta amiloid kümelenmelerin congo red boyama yöntemine göre değerlendirilmiştir.

1) Anne ratlarda *T. gondii* modeli ve AHM oluşturulmuştur. Barnes labirent test sonuçları kontrol annelerle istatistiksel olarak anlamlı fark ile daha uzun sürelerde testi tamamlamıştır. Her iki modelde görsel-uzamsal öğrenme ve bellek fonksiyonlarını olumsuz etkilemiştir. AH modeli uygulanan ratlarda amiloid plaklar congo red boyası ile boyanarak beyin dokusunda gösterilmiştir.

2) *Toxoplasma gondii* enfekte annelere A β 1-42 enjeksiyonu sonrası oluşturulan modelde anne ratlar barnes labirent test sonuçları kontrol gurubuna göre çok daha uzun sürede testi tamamlamış ve istatistiksel fark saptanmıştır. Ancak yalnız *T. gondii* veya yalnız AH modeline göre istatistiksel fark olmasa da daha kısa sürede platformu bulmuştur.

3) A β 1-42 enjeksiyonu ile AH modeli oluşturulduktan sonra *T.gondii* enfeksiyonu yapılan anneler kontrol grubuna benzer sürelerde testi tamamlamıştır. Kontrol grubu ile istatistiksel fark saptanmamış olup AH kliniği üzerine gelişen toksoplasmoz AH seyrini olumlu yönde değiştirmiştir. Bu sonuçlar literatür eşliğinde tartışılmıştır.

4) Tüm gruplarda erkek yavrular Barnes Labirent Testi' ne tabi tutulmuştur. Konjenital toksoplasmoz gelişen beyin dokusunda ağır sekellere neden olan bir parazitoz olarak bilinmektedir. *T. gondii* ve *T. gondii*1+Alzheimer2 grubunda sırası ile %66,6 ve %50 yavru testi istenilen sürede testi tamamlayamamıştır.

5) Alzheimer Hastalığı gruplarının yavrularında da etkilenmenin olduğu görülmüştür. AH genetik olduğu kadar toksik çevre koşullarından da etkilenebileceği ve bu etkilenmenin yavruları da etkileyebileceğini düşündürmüştür.

- 6) F1 jenerasyon erkek yavruların gelişen beyinlerini etkileyen hastalık modellerinin *T. gondii* ile enfekte modelin üzerine Alzheimer Hastalığı modelinin uygulanması konjenital toksoplazmanın kötü klinik üzerine bir etkisi olmamıştır.
- 7) Alzheimer Hastalığı modelinin uygulanıp sonrasında *T. gondii* ile enfekte edilen annelerin F1 jenerasyon erkek yavrularında tıpkı annelerindeki gibi kontrol grubuna yakın sürelerde barnes labirent testini tamamlamıştır.
- 8) AH ve *T. gondii* birlikte olan kliniklerde, hangi kliniğin süreçte önce yer aldığı nörodejenaratif seyri davranışsal olarak tamamı ile değiştirmektedir. Bu sonuçları açıklamak üzere literatür değerlendirildiğinde mikrogliya aktivasyonun amiloid plakların gelişiminde ve ortamdan uzaklaştırılmasında etkili olabileceği, her iki kliniğin dopamin ve GABA gibi nörotransmitter üzerine zıt etkiler bildirilmiştir.
- 9) Çalışmamızın eksik yönleri olarak *T. gondii* ve Alzheimer birlikte olan modellerde beyin dokusu üzerinde GABA, Dopamin gibi nörotransmitter düzeyleri veya bu nörotransmitterlerin gen ekspresyonu çalışılmamıştır. Çalışmamızın kısıtlılıkları olarak TAU ve A β 1-42 gibi belirteçler immünohistokimyasal boyama ile veya parankimal değişiklikler, nöron, mikrogliyal hücre sayıları da değerlendirilememiştir. Yavru beyin dokularında sadece congo red boyası dışında TAU ve A β 1-42 gibi belirteçler immünohistokimyasal veya western blot, HPLC ile ölçülememiştir. Bunlar çalışmamızın kısıtlı yönleri olup gelecekte farklı ölçüt ve belirteçler ile daha derin araştırmaların yapılabileceğini de ortaya konmuştur. Ayrıca model olarak gibi AH taşıyan 3xTg-AD transgenetik fareler kullanılarak *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun etkisi incelenebilir.
- 10) Sonuç olarak, *T. gondii* ile enfekte ratlarda Alzheimer hastalığı seyri enfekte olmayan ratlara göre farklı seyir göstermiştir. Ancak ilginç olarak Alzheimer hastalığı olan ratların *T. gondii* ile sonradan enfekte olması bilişsel fonksiyonların korunmasında etkili olmuştur.
- 11) Alzheimer hastalığında *T. gondii* enfeksiyonu hastalığın seyrini değiştirmektedir. Her iki hastalığın birlikteliği süreçlere bağlı nörolojik defisite tolerans gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.)

1. Teimouri A, Mohtasebi S, Kazemirad E, Keshavarz H. Role of toxoplasma gondii IgG avidity testing in discriminating between acute and chronic toxoplasmosis in pregnancy. C. 58, Journal of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology; 2020 Aug 24;58(9):e00505-20
2. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. Toxoplasma gondii: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30(12-13):1217-58.
3. Lindsay DS, Dubey JP. Toxoplasma gondii: The changing paradigm of congenital toxoplasmosis. Parasitology. 2011 Dec;138(14):1829-31
4. JG Montoya Pol. Toxoplasmosis. Lancet. 2004 Jun 12;363(9425):1965-76.
5. Shojaee S, Teimouri A, Keshavarz H, Azami SJ, Nouri S. The relation of secondary sex ratio and miscarriage history with Toxoplasma gondii infection. BMC Infect Dis. 2018 Jul 5;18(1):307
6. Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in Pregnancy. Clinical Infectious Diseases 1994;18(6):853-62.
7. Thiebaut R . Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. Lancet. 2007 Jan 13;369(9556):115-22
8. Mitchell Cd, Erlich Ss, Mastrucci Mt, Hutto Sc, Parks Wp, Scott Gb. Congenital toxoplasmosis occurring in infants perinatally infected with human immunodeficiency virus 1. Pediatr Infect Dis J. 1990 Jul;9(7):512-8.
9. Goldstein EJC, Montoya JG, Remington JS. Management of Toxoplasma gondii Infection during Pregnancy. Clinical Infectious Diseases. 2008;47(4):554-66.
10. Boyer KM, Holfels E, Roizen N, Swisher C, Mack D, Remington J, vd. Risk factors for Toxoplasma gondii infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: Implications for prenatal management and screening. Am J Obstet Gynecol. 2005;192(2):564-71.
11. Bouscaren N, Pilleron S, Mbelesso P, Ndamba-Bandzouzi B, Dartigues JF, Clément JP, vd. Prevalence of toxoplasmosis and its association with dementia in older adults in Central Africa: a result from the EPIDEMCA programme. Tropical Medicine and International Health. 2018;23(12):1304-13.
12. Toledo JB, Zetterberg H, Van Harten AC, Glodzik L, Martinez-Lage P, Bocchio-Chiavetto L, vd. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker in cognitively normal subjects. Brain. 2015;138(9):2701-15.
13. Goedert M, Spillantini MG. A Century of Alzheimer's Disease. Science (1979). 2006;314(5800):777-81
14. Shima K, Kuhlenbäumer G, Rupp J. Chlamydia pneumoniae infection and Alzheimer's disease: A connection to remember? C. 199, Medical Microbiology and Immunology. 2010 Nov;199(4):283-9
15. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. Cold Spring Harb Perspect Med. 2011 Sep;1(1):a006189

16. Guttmacher AE, Collins FS, Nussbaum RL, Ellis CE. Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease [Internet]. 2003 Apr 3;348(14):1356-64
17. White MR, Kandel R, Tripathi S, Condon D, Qi L, Taubenberger J, vd. Alzheimer's associated β -Amyloid protein inhibits influenza a virus and modulates viral interactions with phagocytes. *PLoS One*. 2014 Jul 2;9(7):e101364
18. Li Z, Zhu H, Zhang L, Qin C. The intestinal microbiome and Alzheimer's disease: A review. C. 1, *Animal Models and Experimental Medicine*. John Wiley and Sons Inc; 2018 Sep 25;1(3):180-188.
19. Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, Deteresa R, Hill R, vd. Physical Basis of Cognitive Alterations in Alzheimer's Disease: Synapse h s s Is the Major Correlate of Cognitive Impairment. 1991 Oct;30(4):572-80
20. Chang CY, Liang HJ, Chow SY, Chen SM, Liu DZ. Hemorheological mechanisms in Alzheimer's disease. *Microcirculation*. 2007;14(6):627-34.
21. Mawanda F, Wallace R. Can infections cause Alzheimer's disease? *Epidemiol Rev*. 2013;35(1):161-80.
22. Mistridis P, Krumm S, Monsch AU, Berres M, Taylor KI. The 12 years preceding mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: The temporal emergence of cognitive decline. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;48(4):1095-107.
23. Mahmoudvand H, Sheibani V, Seyed KE, Mirbadie R, Shojaee S, Daneshvar H, vd. *Toxoplasma gondii* infection potentiates cognitive impairments of Alzheimer's disease in the BALB/c mice. *J Parasitol*. 2016 Dec;102(6):629-635
24. Geldmacher DS, Whitehouse PJ. Differential diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1997 May;48(5 Suppl 6):S2-9
25. Cerejeira J, Lagarto L, Mukaetova-Ladinska EB. Behavioral and psychological symptoms of dementia. *Front Neurol*. 2012 May 7;3:73
26. Rosenberg PB, Nowrangi MA, Lyketsos CG. Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: What might be associated brain circuits? C. 43-44, *Molecular Aspects of Medicine*. 2015 Jun-Oct;43-44:25-37
27. Pérez Romero A, González Garrido S. The importance of behavioural and psychological symptoms in Alzheimer's disease. C. 33, *Neurologia*. Spanish Society of Neurology; 2016 Apr 26:S0213-4853(16)30011-1
28. Isik AT. Late onset Alzheimer's disease in older people. C. 5, *Clinical interventions in aging*. 2010 Oct 11;5:307-11
29. Brunnström HR, Englund EM. Cause of death in patients with dementia disorders. *Eur J Neurol*. 2009;16(4):488-92.
30. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2010;362(4):329-44.
31. Galeh TM, Ghazvini H, Sarvi S, Mohammadi M, Asgarian-Omran H, Hajizadeh F, vd. Controversial Effects of Diverse Types of *Toxoplasma gondii* on the Anxiety-Related Behavior and Cognitive Impairments in the Animal Model of Alzheimer's Disease. *Iran J Psychiatry Behav Sci*. 2022 September; 16(3):e122961
32. Nayeri Chegeni T, Sarvi S, Moosazadeh M, Sharif M, Aghayan SA, Amouei A, vd. Is *Toxoplasma gondii* a potential risk factor for Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis. C. 137, *Microbial Pathogenesis*. Academic Press; 2019 Dec:137:103751

33. Ali BAM, Hamza DM, Al-Attabbi AS. Study levels of PDL-1, IL-10 and TGF- β in Patients with Toxoplasmosis. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*.2021; 25(3):1899-1913
34. Kartik Shankar. Environmental Forces that Shape Early Development: What We Know and Still Need to Know. *Curr Dev Nutr*. 2018 Aug; 2(8): nzx002
35. Kochanowsky JA, Koshy AA. *Toxoplasma gondii*. *Current Biology*. 2018;28(14):R770-1.
36. Dubey JP, Frenkel JK. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool*. 1972;19(1):155-77.
37. Buchbinder S, Blatz R, Rodloff AC, Pcr JAJ. Comparison of real-time PCR detection methods for B1 and P30 genes of *Toxoplasma gondii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003;45:269-71.
38. Ferguson DJP. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(2):133-48.
39. Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*. 1970;167(3919):893-6.
40. Siegel SE, Lunde MN, Gelderman AH, Halterman RH, Brown JA, Levine AS, vd. Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. *Blood*. 1971;37(4):388-94.
41. Attias M, Teixeira DE, Benchimol M, Vommaro RC, Crepaldi PH, De Souza W. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. C. 13, *Parasites and Vectors*. BioMed Central Ltd; 2020 Nov 23;13(1):588.
42. Attias M, Teixeira DE, Benchimol M, Vommaro RC, Crepaldi PH, De Souza W. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasit Vectors*. 2020;13(1):588.
43. Porchet E, Torpier G. [Freeze fracture study of *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infective stages (author's transl)]. *Z Parasitenkd*. 1977;54(2):101-24.
44. Dubremetz JF. Host cell invasion by *Toxoplasma gondii*. *Trends Microbiol*.1998;6(1):27-30.
45. Paredes-Santos TC, de Souza W, Attias M. Dynamics and 3D organization of secretory organelles of *Toxoplasma gondii*. *J Struct Biol*. 2012;177(2):420-30.
46. Dubois DJ, Soldati-Favre D. Biogenesis and secretion of micronemes in *Toxoplasma gondii*. C. 21, *Cellular Microbiology*. Blackwell Publishing Ltd; 2019 May;21(5):e13018
47. Carruthers VB, Sibley LD. Sequential protein secretion from three distinct organelles of *Toxoplasma gondii* accompanies invasion of human fibroblasts. *Eur J Cell Biol*. 1997;73(2):114-23.
48. Carruthers VB, Tomley FM. Microneme proteins in apicomplexans. *Subcell Biochem*. 2008;47:33-45.
49. Soldati D, Dubremetz JF, Lebrun M. Microneme proteins: structural and functional requirements to promote adhesion and invasion by the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*. 2001;31(12):1293-302.
50. Speer CA, Clark S, Dubey JP. Ultrastructure of the oocysts, sporocysts, and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol*. 1998;84(3):505-12.
51. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clin Microbiol Rev*. 1998 Apr; 11(2): 267–299.
52. Boothroyd JC, Dubremetz JF. Kiss and spit: the dual roles of *Toxoplasma* rhoptries. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6(1):79-88.

53. Mercier C, Dubremetz JF, Rauscher B, Lecordier L, Sibley LD, Cesbron-Delauw MF. Biogenesis of nanotubular network in *Toxoplasma* parasitophorous vacuole induced by parasite proteins. *Mol Biol Cell*. 2002;13(7):2397-409.
54. Magno RC, Lemgruber L, Vommario RC, De Souza W, Attias M. Intravacuolar network may act as a mechanical support for *Toxoplasma gondii* inside the parasitophorous vacuole. *Microsc Res Tech*. 2005;67(1):45-52.
55. Hu K, Mann T, Striepen B, Beckers CJM, Roos DS, Murray JM. Daughter cell assembly in the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*. *Mol Biol Cell*. 2002;13(2):593-606.
56. Nishi M, Hu K, Murray JM, Roos DS. Organellar dynamics during the cell cycle of *Toxoplasma gondii*. *J Cell Sci*. 2008;121(Pt 9):1559-68.
57. Tanabe K. Visualization of the mitochondria of *Toxoplasma gondii*-infected mouse fibroblasts by the cationic permeant fluorescent dye rhodamine 123. *Experientia*. 1985;41(1):101-2.
58. Rohloff P, Miranda K, Rodrigues JCF, Fang J, Galizzi M, Plattner H, vd. Calcium uptake and proton transport by acidocalcisomes of *Toxoplasma gondii*. *PLoS One*. 2011;6(4):e18390.
59. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(2):267-99.
60. Dubey JP. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. C. 39, *International Journal for Parasitology*. 2009 Jul 1;39(8):877-82
61. Speer CA, Dubey JP. Ultrastructure of schizonts and merozoites of *Sarcocystis neurona*. C. 95, *Veterinary Parasitology*. 2001 Feb 26;95(2-4):263-71
62. Lindsay DS, Collins M V, Mitchell SM, Wetch CN, Rosypal AC, Flick GJ, vd. Survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in Eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *J Parasitol*. 2004;90(5):1054-7.
63. Stelzer S, Basso W, Benavides Silván J, Ortega-Mora LM, Maksimov P, Gethmann J, vd. *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: Risk factors and economic impact. *Food Waterborne Parasitol*. 2019;15:e00037.
64. David CN, Frias ES, Szu JI, Vieira PA, Hubbard JA, Lovelace J, vd. GLT-1-Dependent Disruption of CNS Glutamate Homeostasis and Neuronal Function by the Protozoan Parasite *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog*. 2016;12(6):e1005643.
65. Dubey JP, Ferreira LR, Alsaad M, Verma SK, Alves DA, Holland GN, vd. Experimental Toxoplasmosis in Rats Induced Orally with Eleven Strains of *Toxoplasma gondii* of Seven Genotypes: Tissue Tropism, Tissue Cyst Size, Neural Lesions, Tissue Cyst Rupture without Reactivation, and Ocular Lesions. *PLoS One*. 2016;11(5):e0156255.
66. Lv L, Wang Y, Feng W, Hernandez JA, Huang W, Zheng Y, vd. iTRAQ-based differential proteomic analysis in Mongolian gerbil brains chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *J Proteomics*. 2017;160:74-83.
67. Features G. Genel Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı ile *Toxoplasma gondii* Enfeksiyonları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2020;44(2):94-101.
68. Brooks JM, Carrillo GL, Su J, Lindsay DS, Fox MA, Blader IJ. *Toxoplasma gondii* Infections Alter GABAergic Synapses and Signaling in the Central Nervous System. *mBio*. 2015;6(6):e01428-15.

69. Creuzet C, Robert F, Roisin MP, Van Tan H, Benes C, Dupouy-Camet J, vd. Neurons in primary culture are less efficiently infected by *Toxoplasma gondii* than glial cells. *Parasitol Res.* 1998;84(1):25-30.
70. Harker KS, Ueno N, Lodoen MB. *Toxoplasma gondii* dissemination: a parasite's journey through the infected host. *Parasite Immunol.* 2015;37(3):141-9.
71. Aldebert D, Durand F, Mercier C, Brenier-Pinchart MP, Cesbron-Delauw MF, Pelloux H. *Toxoplasma gondii* triggers secretion of interleukin-12 but low level of interleukin-10 from the THP-1 human monocytic cell line. *Cytokine.* 2007;37(3):206-11.
72. Gazzinelli RT, Wysocka M, Hayashi S, Denkers EY, Hieny S, Caspar P, vd. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol.* 1994;153(6):2533-43.
73. Pfefferkorn ER. Interferon gamma blocks the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81(3):908-12.
74. Selleck EM, Fentress SJ, Beatty WL, Degrandi D, Pfeffer K, Virgin HW 4th, vd. Guanylate-binding protein 1 (Gbp1) contributes to cell-autonomous immunity against *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog.* 2013;9(4):e1003320.
75. Johnston AC, Piro A, Clough B, Siew M, Virreira Winter S, Coers J, vd. Human GBP1 does not localize to pathogen vacuoles but restricts *Toxoplasma gondii*. *Cell Microbiol.* 2016;18(8):1056-64.
76. Saeij JPJ, Collier S, Boyle JP, Jerome ME, White MW, Boothroyd JC. *Toxoplasma* co-opts host gene expression by injection of a polymorphic kinase homologue. *Nature.* 2007;445(7125):324-7.
77. Sadzak I, Schiff M, Gattermeier I, Glinitzer R, Sauer I, Saalmüller A, vd. Recruitment of Stat1 to chromatin is required for interferon-induced serine phosphorylation of Stat1 transactivation domain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(26):8944-9.
78. Rosowski EE, Nguyen QP, Camejo A, Spooner E, Saeij JPJ. *Toxoplasma gondii* Inhibits gamma interferon (IFN- γ)- and IFN- β -induced host cell STAT1 transcriptional activity by increasing the association of STAT1 with DNA. *Infect Immun.* 2014;82(2):706-19.
79. Lima TS, Gov L, Lodoen MB. Evasion of Human Neutrophil-Mediated Host Defense during *Toxoplasma gondii* Infection. *mBio.* 2018 Feb 13;9(1):e02027-17
80. Nash PB, Purner MB, Leon RP, Clarke P, Duke RC, Curiel TJ. *Toxoplasma gondii*-infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis. *J Immunol.* 1998;160(4):1824-30.
81. S Goebel. Invasion by *Toxoplasma gondii* protects human-derived HL-60 cells from actinomycin D-induced apoptosis. *Med Microbiol Immunol.* 1999 May;187(4):221-6
82. Bastien P. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002;96 Suppl 1:S205-15.
83. Switaj K, Master A, Skrzypczak M, Zaborowski P. Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(3):170-6.
84. da Silva P de C, Shiraishi CS, Silva AV da, Gonçalves GF, Sant'Ana D de MG, Araújo EJ de A. *Toxoplasma gondii*: a morphometric analysis of the wall and epithelial cells of pigs intestine. *Exp Parasitol.* 2010;125(4):380-3.
85. J P Dubey, J L Carpenter. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952-1990). *J Am Med Assoc.* 1993 Dec 1;203(11):1556-66

86. Hutchison WM, Pittilo RM, Ball SJ, Siim JC. Toxoplasma Gondii: scanning electron microscope studies on the small intestine of infected and uninfected cats. *Acta Pathol Microbiol Scand B*. 1979;87(6):393-5.
87. Sims TA, Hay J, Talbott IC. An electron microscope and immunohistochemical study of the intracellular location of Toxoplasma tissue cysts within the brains of mice with congenital toxoplasmosis. *Br J Exp Pathol*. 1989 Jun;70(3):317-25.
88. Duygu Beder, Fatma Esenkaya Taşbent. Genel Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı İle Toxoplasma Gondii Enfeksiyonları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2020;44(2):94-101
89. Martin Prince, Emiliano Albanese, Maeleenn Guerchet MP. World Alzheimer Report 2014: Dementia and risk reduction: An analysis of protective and modifiable risk factors. 2014;6
90. Wu YT, Fratiglioni L, Matthews FE, Lobo A, Breteler MMB, Skoog I, vd. Dementia in western Europe: Epidemiological evidence and implications for policy making. C. 15, *The Lancet Neurology*. 2016 Jan;15(1):116-24
91. Matthews FE, Stephan BCM, Robinson L, Jagger C, Barnes LE, Arthur A, vd. A two decade dementia incidence comparison from the Cognitive Function and Ageing Studies i and II. *Nat Commun*. 2016 Apr 19;7:11398
92. Bateman RJ, Aisen PS, Strooper B De, Fox NC, Lemere CA, Ringman JM. Autosomal-dominant Alzheimer ' s disease : a review and proposal for the prevention of Alzheimer ' s disease. *Alzheimers Res Ther*. 2011; 3(1): 1
93. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2011;10(3):241-52.
94. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015;77(1):43-51.
95. Escott-Price V, Sims R, Bannister C, Harold D, Vronskaya M, Majounie E, vd. Common polygenic variation enhances risk prediction for Alzheimer's disease. *Brain*. 2015;138(Pt 12):3673-84.
96. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2018;25(1):59-70.
97. Xu W, Tan L, Wang HF, Jiang T, Tan MS, Tan L, vd. Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(12):1299-306.
98. Qizilbash N, Gregson J, Johnson ME, Pearce N, Douglas I, Wing K, vd. BMI and risk of dementia in two million people over two decades: a retrospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(6):431-6.
99. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;1(1):a006189.
100. Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol*. 2009;66(2):200-8.
101. Revesz T, McLaughlin JL, Rossor MN, Lantos PL. Pathology of familial Alzheimer's disease with Lewy bodies. *J Neural Transm Suppl*. 1997;51:121-35.
102. James BD, Wilson RS, Boyle PA, Trojanowski JQ, Bennett DA, Schneider JA. TDP-43 stage, mixed pathologies, and clinical Alzheimer's-type dementia. *Brain*. 2016;139(11):2983-93.
103. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002;297(5580):353-6.

104. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson P V, Bjornsson S, vd. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*. 2012;488(7409):96-9.
105. Forloni G, Artuso V, La Vitola P, Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. *Mov Disord*. 2016;31(6):771-81.
106. Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, vd. Amyloid- β protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med*. 2008;14(8):837-42.
107. Jin M, Shepardson N, Yang T, Chen G, Walsh D, Selkoe DJ. Soluble amyloid beta-protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(14):5819-24.
108. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med*. 2016;8(6):595-608.
109. Jost BC, Grossberg GT. The natural history of Alzheimer's disease: a brain bank study. *J Am Geriatr Soc*. 1995;43(11):1248-55.
110. Crutch SJ, Lehmann M, Schott JM, Rabinovici GD, Rossor MN, Fox NC. Posterior cortical atrophy. *Lancet Neurol*. 2012;11(2):170-8.
111. Gorno-Tempini ML, Hillis AE, Weintraub S, Kertesz A, Mendez M, Cappa SF, vd. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011;76(11):1006-14.
112. Lam B, Masellis M, Freedman M, Stuss DT, Black SE. Clinical, imaging, and pathological heterogeneity of the Alzheimer's disease syndrome. *Alzheimers Res Ther*. 2013;5(1):1.
113. Ryan NS, Rossor MN. Correlating familial Alzheimer's disease gene mutations with clinical phenotype. *Biomark Med*. 2010;4(1):99-112.
114. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, vd. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011;7(3):280-92.
115. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, vd. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: The IWG-2 criteria. C. 13, *The Lancet Neurology*. Lancet Publishing Group; 2014. s. 614-29.
116. Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, vd. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. C. 12, *Alzheimer's and Dementia*. Elsevier Inc.; 2016. s. 292-323.
117. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, vd. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*. 2014;13(6):614-29.
118. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, vd. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*. 2011;7(3):263-9.
119. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CRJ, Kawas CH, vd. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011;7(3):263-9.

120. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, vd. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011;7(3):270-9.
121. Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, vd. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimers Dement.* 2016;12(3):292-323.
122. Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, vd. EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. C. 17, *European Journal of Neurology.* 2010. s. 1236-48.
123. Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, vd. EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2010;17(10):1236-48.
124. Frisoni GB, Fox NC, Jack CRJ, Scheltens P, Thompson PM. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010;6(2):67-77.
125. Kato T, Inui Y, Nakamura A, Ito K. Brain fluorodeoxyglucose (FDG) PET in dementia. *Ageing Res Rev.* 2016;30:73-84.
126. Birks J. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;2006(1):CD005593.
127. Howard R, McShane R, Lindesay J, Ritchie C, Baldwin A, Barber R, vd. Nursing home placement in the Donepezil and Memantine in Moderate to Severe Alzheimer's Disease (DOMINO-AD) trial: secondary and post-hoc analyses. *Lancet Neurol.* 2015;14(12):1171-81.
128. Weidner JM, Kanatani S, Hernández-Castañeda MA, Fuks JM, Rethi B, Wallin RPA, vd. Rapid cytoskeleton remodelling in dendritic cells following invasion by *Toxoplasma gondii* coincides with the onset of a hypermigratory phenotype. *Cell Microbiol.* 2013;15(10):1735-52.
129. Fuks JM, Arrighi RBG, Weidner JM, Kumar Mendu S, Jin Z, Wallin RPA, vd. GABAergic Signaling Is Linked to a Hypermigratory Phenotype in Dendritic Cells Infected by *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog.* 2012;8(12).
130. Wohlfert EA, Blader IJ, Wilson EH. Brains and Brawn: *Toxoplasma* Infections of the Central Nervous System and Skeletal Muscle. C. 33, *Trends in Parasitology.* Elsevier Ltd; 2017. s. 519-31.
131. Kim SK, Boothroyd JC. Stage-Specific Expression of Surface Antigens by *Toxoplasma gondii* as a Mechanism to Facilitate Parasite Persistence¹. *The Journal of Immunology.* 2005;174(12):8038-48.
132. Lachenmaier SM, Deli MA, Meissner M, Liesenfeld O. Intracellular transport of *Toxoplasma gondii* through the blood-brain barrier. *J Neuroimmunol.* 2011;232(1-2):119-30.
133. Lambert H, Hitziger N, Dellacasa I, Svensson M, Barragan A. Induction of dendritic cell migration upon *Toxoplasma gondii* infection potentiates parasite dissemination. *Cell Microbiol.* 2006;8(10):1611-23.
134. Ueno N, Harker KS, Clarke E V., McWhorter FY, Liu WF, Tenner AJ, vd. Real-time imaging of *Toxoplasma*-infected human monocytes under fluidic shear stress reveals rapid translocation of intracellular parasites across endothelial barriers. *Cell Microbiol.* 2014;16(4):580-95.

135. Wohlfert EA, Blader IJ, Wilson EH. Brains and Brawn: Toxoplasma Infections of the Central Nervous System and Skeletal Muscle. *Trends Parasitol.* 2017;33(7):519-31.
136. Courret N, Darche S, Sonigo P, Milon G, Buzoni-Gâtél D, Tardieux I. CD11c- and CD11b-expressing mouse leukocytes transport single Toxoplasma gondii tachyzoites to the brain. *Blood.* 2006;107(1):309-16.
137. Barragan A, Brossier F, Sibley LD. Transepithelial migration of Toxoplasma gondii involves an interaction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) with the parasite adhesin MIC2. *Cell Microbiol.* 2005;7(4):561-8.
138. Harker KS, Jivan E, McWhorter FY, Liu WF, Lodoen MB. Shear forces enhance Toxoplasma gondii tachyzoite motility on vascular endothelium. *mBio.* 2014 Apr 1;5(2):e01111-13
139. Ayyildiz H. S100B and latent toxoplasmosis in Alzheimer's disease. *International Journal Of Medical Biochemistry* 2019;2(3):0-2.
140. Flegr J, Horáček J. Negative Effects of Latent Toxoplasmosis on Mental Health. *Front Psychiatry.* 2019; 10: 1012
141. Cetinkaya Z, Yazar S, Gecici O, Namli MN. Anti-Toxoplasma gondii Antibodies in Patients With Schizophrenia—Preliminary Findings in a Turkish Sample. *Schizophr Bull.* 2007;33(3):789-91.
142. Koseoglu E, Yazar S, Koc I. Is Toxoplasma gondii a causal agent in migraine? *American Journal of the Medical Sciences.* 2009;338(2):120-2.
143. Miman O, Kusbeci OY, Aktepe OC, Cetinkaya Z. The probable relation between Toxoplasma gondii and Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2010;475(3):129-31.
144. Pearce BD, Kruszon-Moran D, Jones JL. The relationship between Toxoplasma Gondii infection and mood disorders in the third national health and nutrition survey. *Biol Psychiatry.* 2012;72(4):290-5.
145. Kaushik M, Lamberton PHL, Webster JP. The role of parasites and pathogens in influencing generalised anxiety and predation-related fear in the mammalian central nervous system. *Horm Behav.* 2012;62(3):191-201.
146. Parlog A, Harsan LA, Zagrebelsky M, Weller M, von Elverfeldt D, Mawrin C, vd. Chronic murine toxoplasmosis is defined by subtle changes in neuronal connectivity. *Dis Model Mech.* 2014;7(4):459-69.
147. Fischer HG, Nitzgen B, Reichmann G, Gross U, Hadding U. Host cells of Toxoplasma gondii encystation in infected primary culture from mouse brain. *Parasitol Res.* 1997;83(7):637-41.
148. Halosen SK, Lyman WD. Growth and Development of Toxoplasma Gondii in Human Neurons and Astrocytes. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996 Nov;55(11):1150-6
149. Schlüter D, Deckert M, Hof H, Frei K. Toxoplasma gondii infection of neurons induces neuronal cytokine and chemokine production, but gamma interferon- and tumor necrosis factor-stimulated neurons fail to inhibit the invasion and growth of T. gondii. *Infect Immun.* 2001;69(12):7889-93.
150. Piekut T, Hurla M, Banaszek N, Szejn P, Dorszewska J, Kozubski W, vd. Infectious agents and Alzheimer's disease. *JIN.* 2022;21(2):73.
151. Torres L, Robinson SA, Kim DG, Yan A, Cleland TA, Bynoe MS. Toxoplasma gondii alters NMDAR signaling and induces signs of Alzheimer's disease in wild-type, C57BL/6 mice. *J Neuroinflammation.* 2018;15(1):57.

152. Wang T, Sun X, Qin W, Zhang X, Wu L, Li Y, vd. From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: Implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Behavioural Brain Research*. 2019;359:737-48.
153. Johnston D, Williams S, Jaffe D, Gray R. NMDA-receptor-independent long-term potentiation. *Annu Rev Physiol*. 1992;54:489-505.
154. Lang D, Schott BH, van Ham M, Morton L, Kulikovskaja L, Herrera-Molina R, vd. Chronic *Toxoplasma* infection is associated with distinct alterations in the synaptic protein composition. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):216.
155. Nava-Mesa MO, Jiménez-Díaz L, Yajeya J, Navarro-Lopez JD. GABAergic neurotransmission and new strategies of neuromodulation to compensate synaptic dysfunction in early stages of Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:167.
156. Fuks JM, Arrighi RBG, Weidner JM, Kumar Mendu S, Jin Z, Wallin RPA, vd. GABAergic Signaling Is Linked to a Hypermigratory Phenotype in Dendritic Cells Infected by *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog*. 2012;8(12):e1003051.
157. Bhandage AK, Kanatani S, Barragan A. *Toxoplasma*-Induced Hypermigration of Primary Cortical Microglia Implicates GABAergic Signaling. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:73.
158. Lucchese G. From toxoplasmosis to schizophrenia via NMDA dysfunction: Peptide overlap between *Toxoplasma Gondii* and n-methyl-d-aspartate receptors as a potential mechanistic link. *Front Psychiatry*. 2017; 8: 37
159. Beaulieu JM, Gainetdinov RR. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*. 2011;63(1):182-217.
160. Nobili A, Latagliata EC, Viscomi MT, Cavallucci V, Cutuli D, Giacobuzzo G, vd. Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. *Nat Commun*. 2017 Apr 3;8:14727
161. McFarland R, Wang ZT, Jouroukhin Y, Li Y, Mychko O, Coppens I, vd. AAH2 gene is not required for dopamine-dependent neurochemical and behavioral abnormalities produced by *Toxoplasma* infection in mouse. *Behavioural Brain Research*. 2018;347:193-200.
162. Wang T, Sun X, Qin W, Zhang X, Wu L, Li Y, vd. From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: Implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Behavioural brain research*. 2019;359:737-48.
163. Stibbs HH. Changes in brain concentrations of catecholamines and indoleamines in *Toxoplasma gondii* infected mice. *Ann Trop Med Parasitol*. 1985;79(2):153-7.
164. Piekut T, Hurla M, Banaszek N, Szejn P, Dorszewska J, Kozubski W, vd. Infectious agents and Alzheimer's disease. C. 21, *Journal of Integrative Neuroscience*. IMR Press Limited; 2022 Mar 28;21(2):73.
165. Chao Yan. Prevalence and genotyping of *Toxoplasma gondii* in naturally-infected synanthropic rats (*Rattus norvegicus*) and mice (*Mus musculus*) in eastern China. *Parasit Vectors*. 2014 Dec 17;7:591
166. Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicol Pathol*. 2015;43(6):776-93.
167. Sarlak Z, Moazzami M, Hosseini SRA, Gharakhanlou R. The effects of aerobic training before and after the induction of Alzheimer's disease on ABCA1 and APOE mRNA

- expression and the level of soluble A β 1-42 in the hippocampus of male Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2019;22(4):399-406.
168. Facchinetti R, Bronzuoli MR, Scuderi C. An animal model of alzheimer disease based on the intrahippocampal injection of amyloid β -peptide (1–42). *Methods in Molecular Biology.* 2018;1727:343-52.
 169. Ribeiro DA, Pereira PCM, Machado JM, Silva SB, Pessoa AWP, Salvadori DMF. Does toxoplasmosis cause DNA damage? An evaluation in isogenic mice under normal diet or dietary restriction. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2004;559(1-2):169-76.
 170. Brun-Pascaud M, Rajagopalan-Levasseur P, Chau FO, Guyle` G, Bertrand G, Garry L, vd. Drug Evaluation of Concurrent *Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii*, and *Mycobacterium avium* Complex Infections in a Rat Model. *Antimicrob Agent Chemother.* 1998 May;42(5):1068-72
 171. Stover KR, Campbell MA, Van Winssen CM, Brown RE. Early detection of cognitive deficits in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer’s disease. *Behavioural Brain Research.* 2015;289:29-38.
 172. Mahmut Ulubay, Ahmad Yahyazdeh, Ö Gülsüm Deniz. Effects of prenatal 900 MHz electromagnetic field exposures on the histology of rat kidney. *Int J Radiat Biol.* 2015 Jan;91(1):35-41
 173. Ayşenur Kaya. Sıçan Uterusunda Deneyisel Diyabetin Neden Olduğu Değişikliklerin Ve Kurkuminin Etkilerinin Araştırılması. 2020;21
 174. Canan Ünal. Ailevi Akdeniz Ateşi Olan Gebelerin Göbek Kordonu Wharton Jölesi Mezenkimal Kök Hücre İlişkisi. 2019;36
 175. Song J, Jia Y, Han H, Yang XH, Zhang J, Zhang MS, vd. Expression of SLC25A18 is positively correlated with Alzheimer’s disease. *Research Square.* 2022;3
 176. Nakano Y, Kondoh G, Kudo T, Imaizumi K, Kato M, Miyazaki JI, vd. Accumulation of murine amyloid β 42 in a gene-dosage-dependent manner in PS1`knockPS1`knock-in’ mice. *Eur J Neurosci.* 1999 Jul;11(7):2577-81
 177. Sasaguri H, Nilsson P, Hashimoto S, Nagata K, Saito T, De Strooper B, vd. APP mouse models for Alzheimer’s disease preclinical studies . *EMBO J.* 2017;36(17):2473-87.
 178. Eckert A, Pagani L. Amyloid-beta interaction with mitochondria. *International Journal of Alzheimer’s Disease.* *Int J Alzheimers Dis.* 2011; 925050
 179. Gribaldo L, Dura A. EURL ECVAM Literature Review Series on Advanced Non-Animal Models for Respiratory Diseases, Breast Cancer and Neurodegenerative Disorders. *Animals.* 2022;12(17).
 180. Konakli M, Erbas O. Alzheimer’s Disease and Animal Models. *Journal of Experimental and Basic Medical Sciences.* 2021;1:107-12.
 181. Hurley MJ, Urrea C, Garduno BM, Bruno A, Kimbell A, Wilkinson B, vd. Genome Sequencing Variations in the *Octodon degus*, an Unconventional Natural Model of Aging and Alzheimer’s Disease. *Front Aging Neurosci.* 2022;14.
 182. Hong HS, Rana S, Barrigan L, Shi A, Zhang Y, Zhou F, vd. Inhibition of Alzheimer’s amyloid toxicity with a tricyclic pyrone molecule in vitro and in vivo. *J Neurochem.* 2009;108(4):1097-108.
 183. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease at 25 years. *EMBO Mol Med.* 2016;8(6):595-608.

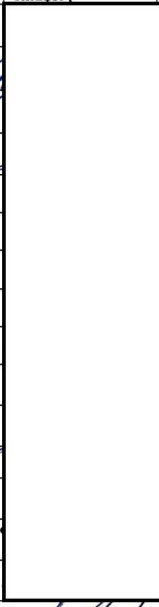
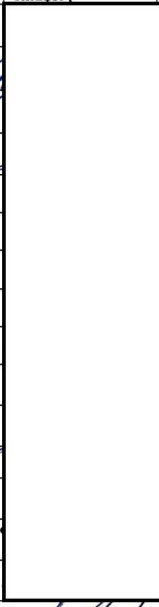
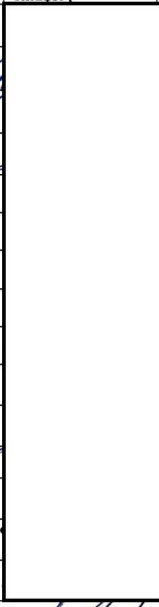
184. Song C, Zhang T, Zhang Y. Conformational Essentials Responsible for Neurotoxicity of A β 42 Aggregates Revealed by Antibodies against Oligomeric A β 42. *C. 27, Molecules*. MDPI; 2022 Oct 10;27(19):6751
185. Lorenzo A, Yankner BA. Beta-Amyloid Neurotoxicity Requires Fibril Formation and Is Inhibited by Congo Red. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994 Dec 6;91(25):12243-7
186. Zhang J, Sandberg A, Konsmo A, Wu X, Nyström S, Nilsson KPR, vd. Detection and Imaging of A β 1-42 and Tau Fibrils by Redesignated Fluorescent X-34 Analogues. *Chemistry - A European Journal*. 2018 May 17;24(28):7210-7216
187. Dubey JP, Frenkel JK. Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. *C. 77, Veterinary Parasitology*. 1998 May;77(1):1-32
188. Ayaz E, Orallar H, Yaman K, Çetinkaya A, Bozat BG, Çakmak M, vd. THE EFFECTS OF TOXOPLASMA GONDII INFECTIONS ON ANXIETY, DEPRESSION AND LEARNING IN OFFSPRINGS OF INFECTED PARENTS. *Medical Sciences*. 2019;14(1):33-45.
189. Corrêa, F. M., Chieffi, P. P., Lescano, S. A. Z., & Santos, S. V. dos. (2014). Behavioral And Memory Changes In *Mus musculus* COINFECTED BY *Toxocara canis* AND *Toxoplasma gondii* . *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De São Paulo*, 56(4), 353-356.
190. Vyas A, Kim SK, Sapolsky RM. The Effects of *Toxoplasma* Infection on Rodent Behavior Are Dependent on Dose of the Stimulus. *Neuroscience*. 2007 Aug 24; 148(2): 342–348.
191. Wang T, Tang Z hao, Li J fu, Li X nuan, Wang X, Zhao Z jun. A potential association between *Toxoplasma gondii* infection and schizophrenia in mouse models. *Exp Parasitol*. 2013;135(3):497-502.
192. Hari Dass SA, Vyas A. *Toxoplasma gondii* infection reduces predator aversion in rats through epigenetic modulation in the host medial amygdala. *Mol Ecol*. 2014;23(24):6114-22.
193. Yücel H, Açikel SB, Şenel S. An Investigation Into the Association Between Latent Toxoplasmosis and Suicide Attempts Among Adolescents. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2020 Dec 31;14(12):1437-1442
194. Flegr J, Zítková Š, Kodym P, Frynta D. Induction of changes in human behaviour by the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. *Parasitology*. 1996 Jul;113 (Pt 1):49-54
195. Deng Y. *Toxoplasma Gondii* Seropositivity and Cognitive Functioning in Older Adults: The National Health and Nutrition Examination Survey 2011 to 2014. *BMJ Open*. 2024 Mar 5;14(3):e071513
196. Lima MÉ de O, Barbosa-Silva MC, Maron-Gutierrez T. Microglial Priming in Infections and Its Risk to Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2022 Jun 15;16:878987
197. Mahmoudvand H, Sheibani V, Shojaee S, Mirbadie SR, Keshavarz H, Esmaeelpour K, vd. *Toxoplasma gondii* Infection Potentiates Cognitive Impairments of Alzheimer's Disease in the BALB/c Mice. *Journal of Parasitology*. 2016 Dec;102(6):629-635
198. Galeh TM, Ghazvini H, Mohammadi M, Sarvi S, Azizi S, Asgarian-Omran H, vd. Effects of Diverse Types of *Toxoplasma Gondii* on the Outcome of Alzheimer's Disease in the Rat Model. *Microbial Pathogenesis*. 2023 Jan;174:105931
199. Shin JH, Hwang YS, Jung BM, Seo SH, Ham DW, Shin EH. Reduction of Amyloid Burden by Proliferated Homeostatic Microglia in *Toxoplasma Gondii*-Infected Alzheimer's Disease Model Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Mar 9;22(5):2764

200. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, et al. Triple-Transgenic Model of Alzheimer's Disease With Plaques and Tangles. *Neuron*. 2003 Jul 31;39(3):409-21
201. Babygirija R, Sonsalla MM, Mill J, James I, Han JH, Green CL, et al. Protein Restriction Slows the Development and Progression of Alzheimer's Disease in Mice. *Res Sq*[Preprint]. 2024 Apr 24;rs.3.rs-3342413
202. Zhou L, Huang J, Zhang D, Zhao Y. Cognitive Improvements and Reduction in Amyloid Plaque Deposition by Saikosaponin D Treatment in a Murine Model of Alzheimer's Disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2020 Aug; 20(2): 1082–1090.
203. Aloni E, Oni-Biton E, Tsoory M, Moallem DH, Segal M. Synaptopodin Deficiency Ameliorates Symptoms in the 3xTg Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*. 2019 May 15; 39(20): 3983–3992
204. Peng J, Ge L, Inan S, Wu Z, Joseph DJ, Meng Q, et al. Dantrolene Ameliorates Cognitive Decline and Neuropathology in Alzheimer Triple Transgenic Mice. *Neuroscience Letters*. 2012 May 16;516(2):274-9.
205. Ryou MG, Chen X, Cai M, Wang H, Jung ME, Metzger D, et al. Intermittent Hypoxia Training Prevents Deficient Learning-Memory Behavior in Mice Modeling Alzheimer's Disease: A Pilot Study. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2021; 13: 674688
206. Bartra C, Irisarri A, Villoslada A, Corpas R, Aguirre S, García-Lara E, et al. Neuroprotective Epigenetic Changes Induced by Maternal Treatment With an Inhibitor of Soluble Epoxide Hydrolase Prevents Early Alzheimer's Disease Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Dec 2;23(23):15151.
207. Zenner L, Darcy F, Cesbron-Delauw MF, Capron A. Rat Model of Congenital Toxoplasmosis: Rate of Transmission of Three *Toxoplasma Gondii* Strains to Fetuses and Protective Effect of a Chronic Infection. *Infect Immun*. 1993;61(1):360-3.
208. Souza JS, Farani PSG, Ferreira BIS, Barbosa HS, Menna-Barreto RFS, Moreira OC, et al. Establishment of a Murine Model of Congenital Toxoplasmosis and Validation of a qPCR Assay to Assess the Parasite Load in Maternal and Fetal Tissues. *Front Microbiol*. 2023;14.
209. Nayeri T, Sarvi S, Sharif M, Daryani A. *Toxoplasma gondii*: A possible etiologic agent for Alzheimer's disease. *C. 7, Heliyon*. Elsevier Ltd; 2021 Jun 3;7(6):e07151
210. Xiao J, Kannan G, Jones-Brando L, Brannock C, Krasnova IN, Cadet JL, et al. Sex-specific changes in gene expression and behavior induced by chronic *Toxoplasma* infection in mice. *Neuroscience*. 2012;206:39-48.
211. Ferretti MT, Iulita MF, Cavedo E, Chiesa PA, Dimech AS, Chadha AS, et al. Sex differences in Alzheimer disease — The gateway to precision medicine. *C. 14, Nature Reviews Neurology*. Nature Publishing Group; 2018 Aug;14(8):457-469
212. Jung BK, Pyo KH, Shin KY, Hwang YS, Lim H, Lee SJ, et al. *Toxoplasma gondii* infection in the brain inhibits neuronal degeneration and learning and memory impairments in a murine model of alzheimer's disease. *PLoS One*. 2012;7(3):e33312
213. Parlog A, Schlüter D, Dunay IR. *Toxoplasma gondii*-induced neuronal alterations. *C. 37, Parasite Immunology*. Blackwell Publishing Ltd; 2015 Mar;37(3):159-70
214. Mu Y, Gage FH. Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. *Zoological Research*. 2022 May 18;43(3):481-496
215. Mirzaeipour M, Mikaeili F, Asgari Q, Nohtani M, Rashidi S, Bahreini MS. Evaluation of the Tyrosine and Dopamine Serum Levels in Experimental Infected BALB/c Mice with Chronic Toxoplasmosis. *J Parasitol Res*. 2021; 2021: 5511516

216. Jarosova R, Niyangoda SS, Hettiarachchi P, Johnson MA. Impaired Dopamine Release and Latent Learning in Alzheimer's Disease Model Zebrafish. *ACS Chem Neurosci*. 2022;13(19):2924-31.
217. Wang ZT, Harmon S, O'Malley KL, Sibley LD. Reassessment of the role of aromatic amino acid hydroxylases and the effect of infection by *Toxoplasma gondii* on host dopamine. *Infect Immun*. 2015;83(3):1039-47.
218. Mitchell RA, Herrmann N, Lanctôt KL. The Role of Dopamine in Symptoms and Treatment of Apathy in Alzheimer's Disease. *C. 17, CNS Neuroscience and Therapeutics*. 2011 Oct; 17(5): 411–427
219. Pizzolato G, Chierichetti ; F, Fabbri ; M, Cagnin ; A, Dam ; M, Ferlin ; G, vd. Single photon emission tomography study with the D2 tracer. *Neurology*. 1996;47:1065-1068
220. Wagage S, John B, Krock BL, Hall AO, Randall LM, Karp CL, vd. The Aryl Hydrocarbon Receptor Promotes IL-10 Production by NK Cells. *The Journal of Immunology*. 2014 Feb 15;192(4):1661-70
221. Zhang J, He S, Jiang H, Yang T, Cong H, Zhou H, vd. Evaluation of the Immune Response Induced by Multiantigenic DNA Vaccine Encoding SAG1 and ROP2 of *Toxoplasma Gondii* and the Adjuvant Properties of Murine Interleukin-12 Plasmid in BALB/c Mice. *Parasitology Research*. 2007 Jul;101(2):331-8
222. Berg J vom, Prokop S, Miller KR, Obst J, Kälin RE, Lopategui-Cabezas I, vd. Inhibition of IL-12/IL-23 Signaling Reduces Alzheimer's Disease-like Pathology and Cognitive Decline. *Nature Medicine*. 2012 Dec;18(12):1812-9
223. Brooks JM, Carrillo GL, Su J, Lindsay DS, Fox MA, Blader IJ. *Toxoplasma gondii* infections alter GABAergic synapses and signaling in the central nervous system. *mBio*. 2015 Oct 27;6(6):e01428-15
224. Bhandage AK, Kanatani S, Barragan A. *Toxoplasma*-Induced Hypermigration of Primary Cortical Microglia Implicates GABAergic Signaling. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019; 9: 73.
225. Dellacasa-Lindberg I, Fuks JM, Arrighi RBG, Lambert H, Wallin RPA, Chambers BJ, vd. Migratory activation of primary cortical microglia upon infection with *Toxoplasma gondii*. *Infect Immun*. 2011;79(8):3046-52.
226. Andersen J V, Schousboe A, Verkhratsky A. Astrocyte energy and neurotransmitter metabolism in Alzheimer's disease: Integration of the glutamate/GABA-glutamine cycle. *Prog Neurobiol*. 2022;217:102331.
227. Czapski GA, Strosznajder JB. Glutamate and gaba in microglia-neuron cross-talk in alzheimer's disease. *C. 22, International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Oct 28;22(21):11677

8. EKLER

EK 1: Etik Kurul Belgesi

T.C BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu																																																					
Sayı : 11 Konu: Kararlar		27.2.2019																																																			
BASVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Alzheimer Hastalığında Toxoplasma Gondii' nin Rolü																																																			
	ARAŞTIRMANIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	The Role of Toxoplasma Gondii In Alzheimer Disease Using Rat Models																																																			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA																																																			
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Dr. Çağrı ÇAMSARI, Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Nur ÖĞÜN, Dr. Öğr. Üyesi Kerem YAMAN, Dr. Öğr. Üyesi Şule AYDIN TURKOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Canan AKÜNAL TÜREL, Prof. Dr. Şerif DEMİR, Prof. Dr. Erol AYAZ																																																			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi																																																			
KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2019/05	Tarih (Date): 13.02.2019																																																			
	Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA'nın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın 56 adet sıçan ile gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliğiyle kararı verilmiştir.																																																				
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Üyeler</th> <th>Uzmanlık alanı</th> <th>Kurumu</th> <th>İmzası</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Prof. Dr. Tufan MERT (Başkan)</td> <td>Biyofizik AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> <td rowspan="15" style="vertical-align: middle; text-align: center;">  </td> </tr> <tr> <td>Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)</td> <td>Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)</td> <td>Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Doç. Dr. Yeşim YENER (Üye)</td> <td>Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Eğitim Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Doç. Dr. Uğur ÜYETÜRK (Üye)</td> <td>Üroloji AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Doç. Dr. Mustafa DİLEK (Üye)</td> <td>Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Dr. Öğr. Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)</td> <td>Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ORALLAR (Üye)</td> <td>Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü</td> <td>BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)</td> <td>Fizyoloji AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Dr. Öğr. Üyesi Canan TÜREL (Üye)</td> <td>Nöroloji AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Dr. Öğr. Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)</td> <td>Biyokimya AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Tıp Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Dr. Öğr. Üyesi Şevki GÜLER</td> <td>Periodontoloji AD Öğretim Üyesi</td> <td>BAİBÜ Diş Hekimliği F</td> </tr> <tr> <td>Vetr. Hek. Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)</td> <td>Veteriner Hekim</td> <td>BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi</td> </tr> <tr> <td>Vet. Hek. Orhan BULUT (TC Üyesi)</td> <td>Veteriner Hekim</td> <td>BOLU BEYPİLİÇ AŞ.</td> </tr> <tr> <td>Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)</td> <td>Avukat</td> <td>Tabaklar Mah. İzzet Baysal Cad. No:6 BOLU</td> </tr> </tbody> </table>				Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmzası	Prof. Dr. Tufan MERT (Başkan)	Biyofizik AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi		Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi	Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Doç. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi	Doç. Dr. Uğur ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Doç. Dr. Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Dr. Öğr. Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ORALLAR (Üye)	Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Dr. Öğr. Üyesi Canan TÜREL (Üye)	Nöroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Dr. Öğr. Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Dr. Öğr. Üyesi Şevki GÜLER	Periodontoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Diş Hekimliği F	Vetr. Hek. Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	Vet. Hek. Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.	Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Tabaklar Mah. İzzet Baysal Cad. No:6 BOLU
Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmzası																																																		
Prof. Dr. Tufan MERT (Başkan)	Biyofizik AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi																																																			
Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Doç. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi																																																			
Doç. Dr. Uğur ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Doç. Dr. Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Dr. Öğr. Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi																																																			
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ORALLAR (Üye)	Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi																																																			
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Dr. Öğr. Üyesi Canan TÜREL (Üye)	Nöroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Dr. Öğr. Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi																																																			
Dr. Öğr. Üyesi Şevki GÜLER	Periodontoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Diş Hekimliği F																																																			
Vetr. Hek. Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi																																																			
Vet. Hek. Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.																																																			
Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Tabaklar Mah. İzzet Baysal Cad. No:6 BOLU																																																			

Şekil 8.1. Etik Onay Belgesi



T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayı : 15
Konu: Etik kurul hak.

20.12.2020

Sayın Dr.Öğr.Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA
BAİBÜ Tıp Fakültesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Daha önce kurulumuzdan etik onay almış olan 2019/05 nolu "Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Alzheimer Hastalığında Toxoplasma Gondii' nin Rolü" başlıklı çalışmanın, materyal metod kısmına yeni grup eklenilmesi ve Doktora Öğrencisi Serhat GÖKTAŞ'ın çalışmaya eklenmesi talebinizin etik olarak uygun olduğuna, mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa ŞİT
Hayvan Araştırmaları
Yerel Etik Kurul Başkanı

Üyeler	Uzmanlık Alanı	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Tufan MERT (Başkan)	Biyofizik AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi	
Prof. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi	
Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Uğur ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ORALLAR (Üye)	Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Canan AKÜNAL TÜREL (Üye)	Nöroloji AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Şevki GÜLER (Üye)	Periodontoloji AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi	
Vetr. Hek. Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	
Vet. Hek. Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.	
Av.Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Aşağı Soku Mah. Şair Şinasi Sok. Ayşe Hanım Apt. 24/6 BOLU	

Şekil 8.2. Ek Etik Kurul Belgesi