

TÜRKİYE'DE İZOLE EDİLEN İKİ FARKLI *TOXOPLASMA GONDII* SUŞUNDAN ÜRETİLEN ADJUVANTE ERİYİK PROTEİN AŞILARININ UYARDIĞI İMMUN YANITIN KARŞILAŞTIRILMASI

Ceylan Polat¹, Sultan Gülçe İz², Mert Döşkaya³, Hüseyin Can⁴, Ayşe
Caner³, Aysu Değirmenci³, Erdal Balcan¹, Yüksel Gürüz³

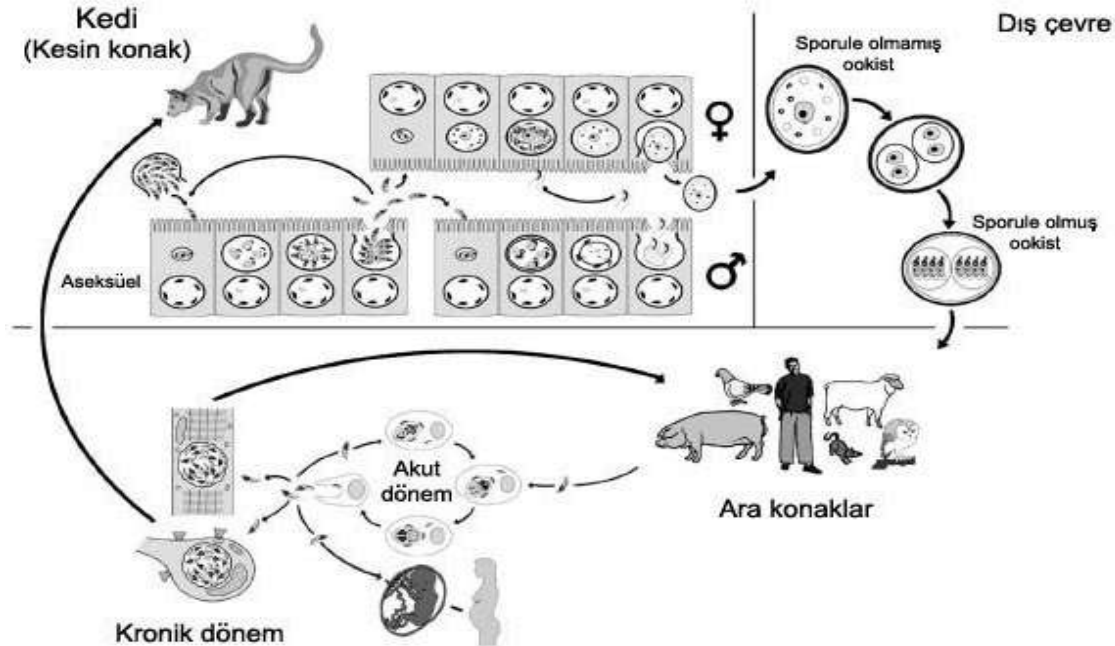
¹ Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Manisa

² Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik A.D., Bornova/İzmir

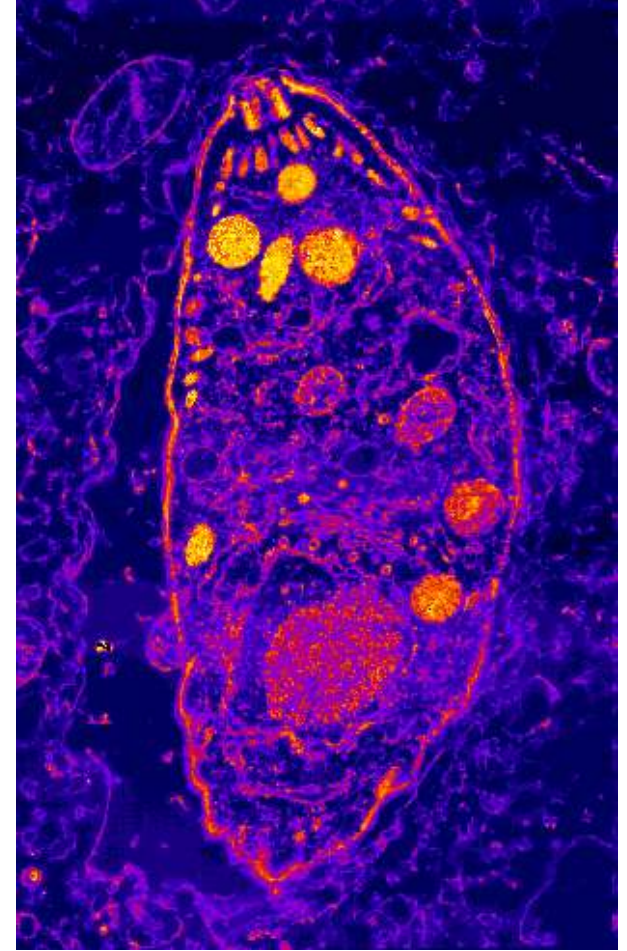
³ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji A.D., Bornova/İzmir

⁴ Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji A.D., Bornova/İzmir

- *Toxoplasma gondii* geniş konak çeşitliliği sebebiyle medikal önemi yüksek bir parazittir.
- *T. gondii* hayvan modelinin kolaylıkla oluşturulabilmesi sebebiyle parazit hastalıklarına karşı aşı geliştirmede model olarak sıklıkla kullanılmaktadır.



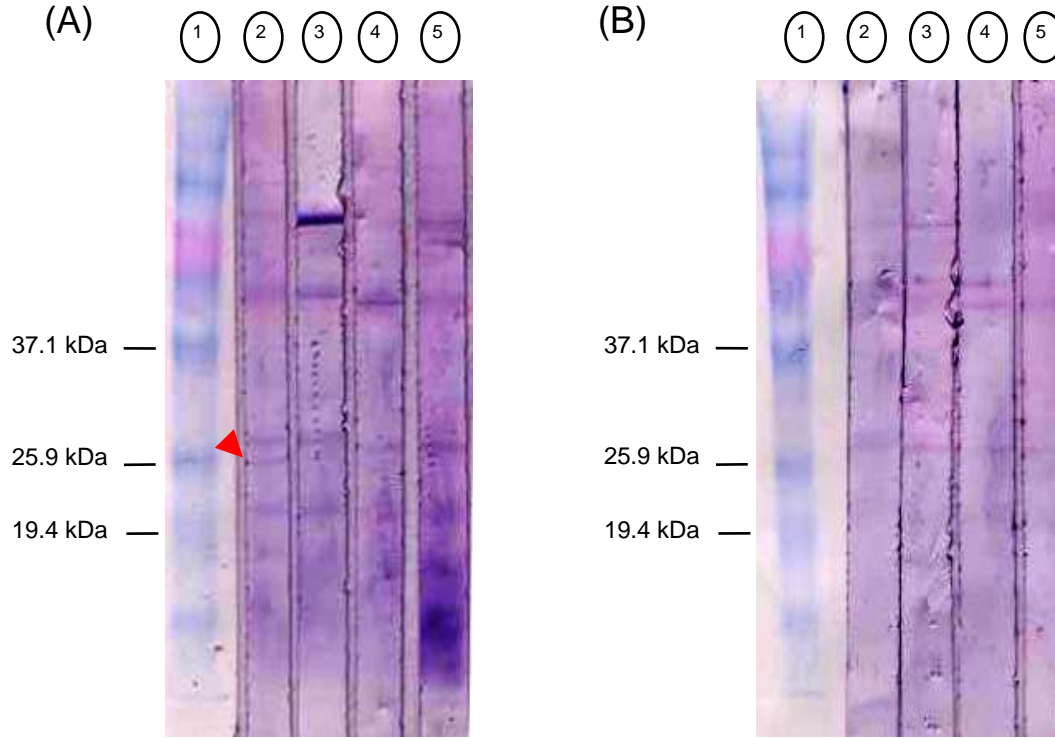
- *T. gondii* ookistlerinin su kaynaklarını tehdit eden kategori B bioterörizm ajanı ilan edilmesi ile toxoplasmosise karşı koruyucu aşı ihtiyacı daha da artmıştır.
- Bu çalışmada Türkiye’de izole edilen iki farklı *Toxoplasma gondii* suşundan üretilen eriyik proteinlerin Freund adjuvanı ile birleştirildikten sonra BALB/c farelere uygulanması ile uyarılan humoral ve hücresel immun yanıtın koruyucu immun yanıtı ne yönde uyardıkları araştırılmıştır.



***T. gondii* Eriyik Protein Hazırlanması, Aşılama ve Enfekte etme**

- Genelde toxoplasmosise karşı aşı çalışmalarında kullanılan 6-8 haftalık dişi BALB/c fareler kullanılmıştır.
- *T. gondii* RH Ankara ve Ege suşu takizoitleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan elde edilmiştir.
- *T. gondii* RH suşu eriyik proteini daha önceden adjuvan eşliğinde aşı denemelerinde kullanılmış ve BALB/c farelerde koruyuculuğu arttırdığı belirtilmiştir.
- Bu nedenle aşı gruplarından ikisinde her iki genotipe ait eriyik proteinler Freund adjuvanı ile birleştirildikten sonra uygulanmıştır.
- Her biri üçer adet dişi BALB/c fare içeren dört aşı ve iki kontrol grubu oluşturulmuş, TEgePE, TEgePE-Freund, TAnkPE ve TAnkPE-Freund aşıları üç hafta aralıklarla iki defa uygulanmıştır.

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez ve Western Blot Kullanılarak Aşılama ile Oluşturulan IgG Yanıtının Değerlendirilmesi



Aşılama ile elde edilen serum örneklerinde IgG antikor yanıtının (A) TANKPE antijeni; (B) TEgePE antijeni içeren western blot ile değerlendirilmesi. 1. sütun: Protein merdiveni; 2. sütun: TANKPE-Freund/TEgePE-Freund aşısı; 3. sütun: TANKPE/TEgePE aşısı; 4. sütun: Freund kontrol grubu; 5. sütun: PBS kontrol grubu

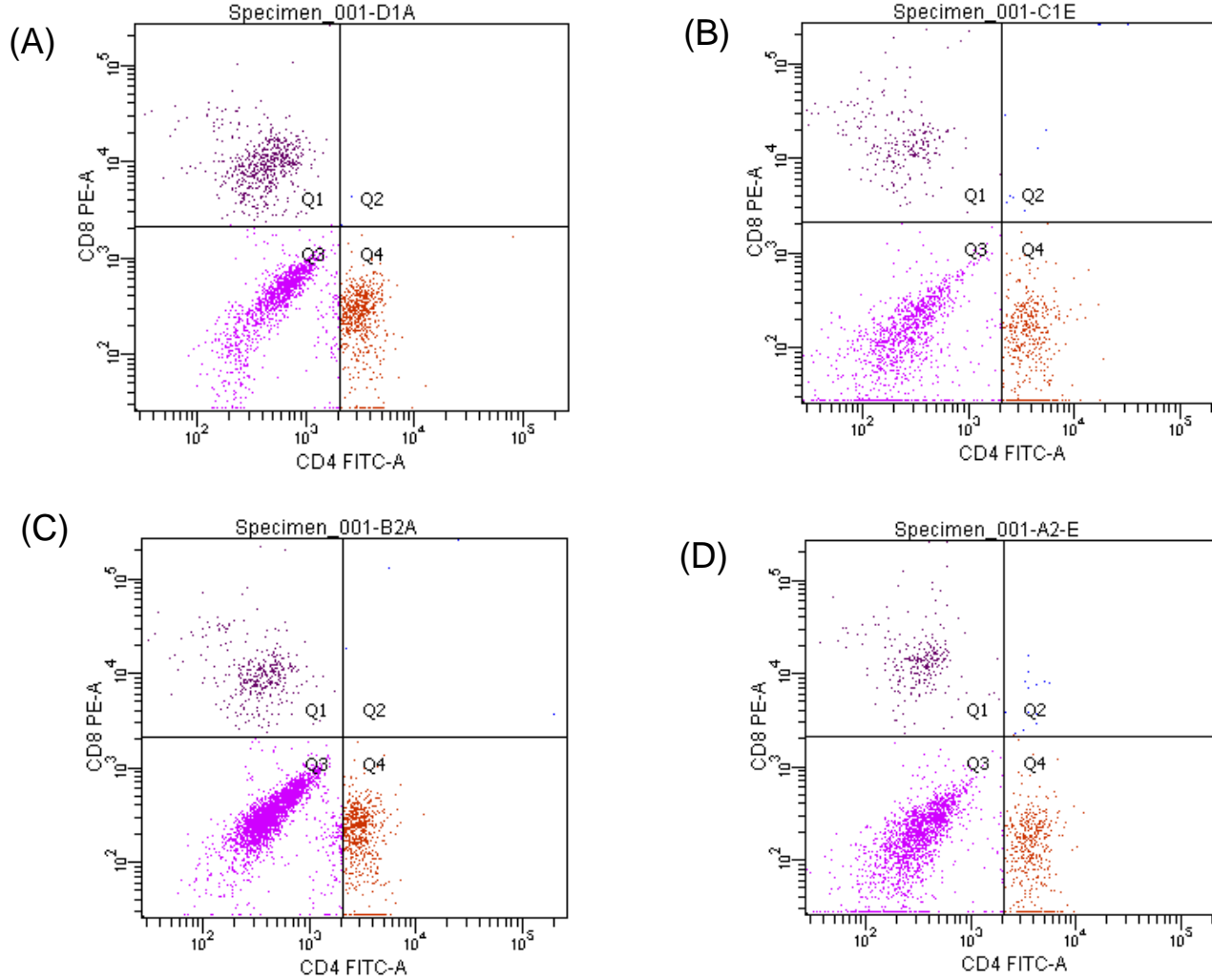
Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kullanılarak Aşılama ile Oluşturulan IgG Alt Gruplarının Belirlenmesi

- TAnkPE antijenleri kullanılan ELISA'ya göre TAnkPE, TAnkPE-Freund aşılı ve kontrollerin oluşturduğu IgG2a veya IgG1 antikor yanıtı ile TEgePE antijenleri kullanılan ELISA'ya göre TEgePE, TEgePE-Freund aşılı ve kontrollerin oluşturduğu IgG2a veya IgG1 antikor yanıtının herhangi bir yöne polarize olmadığı saptanmıştır.
- Aşılama öncesi IgG2a veya IgG1 antikorlarının aşılama ile belirgin şekilde artmadığı belirlenmiştir.
- TEgePE ve TAnkPE karşılaştırıldığında IgG2a yanıtında belirgin bir farklılık olmadığı, IgG1 yanıtında ise istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($P=0.03$).
- TEgePE-Freund ve TAnkPE-Freund karşılaştırıldığında IgG2a yanıtında belirgin bir farklılık olmadığı, IgG1 yanıtında ise belirgin bir fark olduğu gösterilmiştir ($P=0.056$).

Hücresel İmmun Yanıtın Değerlendirilmesi

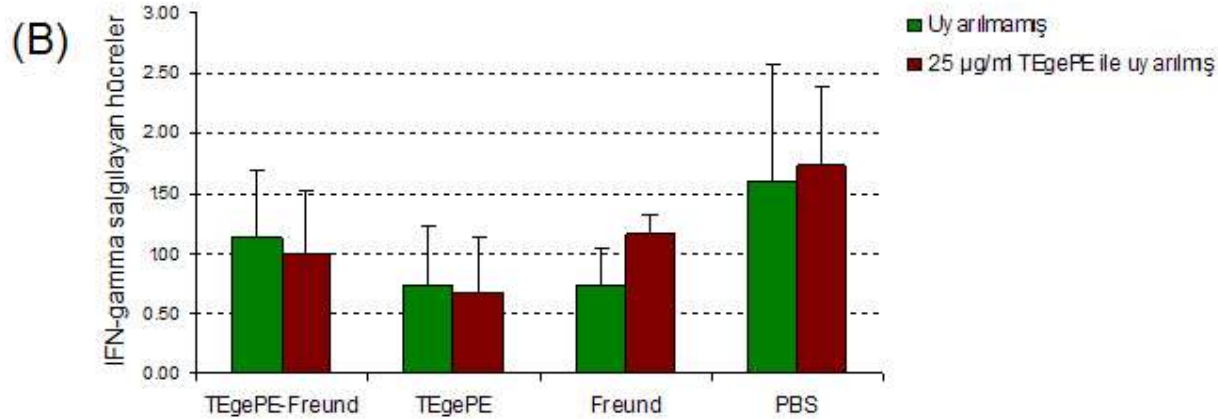
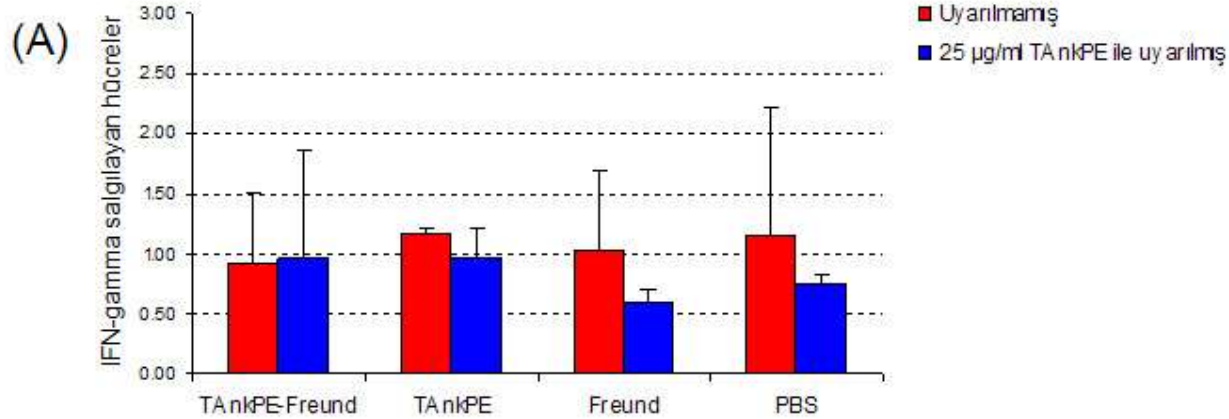
- Antijene özgü hücresel immün yanıtın değerlendirilmesi için, tek hücre süspansiyonlarını hazırlamak üzere farelerin dalakları kullanılmıştır.
- Hücre kültürü ortamında uyarılan dalak hücrelerinin CD8/CD4 oranı yanında IFN- γ ve IL-4 salgılayan hücrelerin oranı belirlenmiştir.

CD8/CD4 oranı TEgePE, TEgePE-Freund, TANKPE ve TANKPE-Freund aşılanmış farelerde belirgin olarak değişmemiştir.



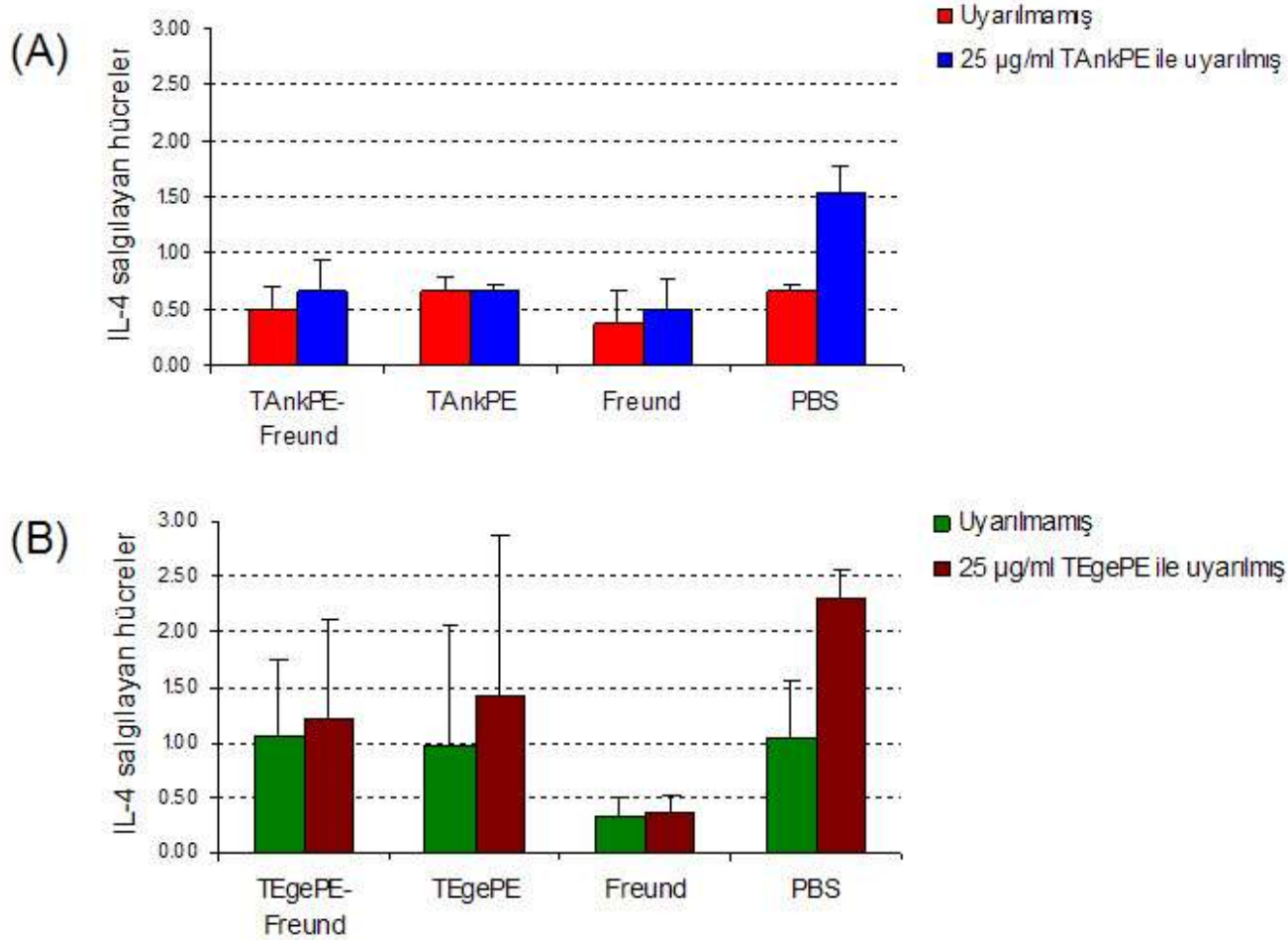
(A) TANKPE (B) TEgePE (C) TANKPE-Freund (D) TEgePE-Freund aşılı fare dalak hücrelerinin uyarılma sonrası CD8 ve CD4 oranının belirlenmesi sırasında elde edilen akış sitometrisi grafikleri.

IFN- γ oranı, TANKPE-Freund ile aşılanmış farelere ait dalak hücrelerinde uyarılmış dalak hücrelerinde uyarılmamışlara göre bir miktar artmıştır.



(A) TANKPE ve TANKPE-Freund (B) TEgePE ve TEgePE-Freund aşıları uygulanan fareler ve kontrol gruplarının IFN- γ oranları.

IL-4 oranı TAnkPE-Freund, TEgePE-Freund ve TEgePE ile uyarılmış dalak hücrelerinde uyarılmamışlara göre bir miktar artmıştır.



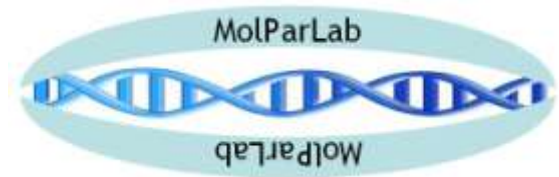
(A) TAnkPE ve TAnkPE-Freund (B) TEgePE ve TEgePE-Freund aşılı fareler ve kontrol gruplarının IL-4 oranları.

Sonuç olarak,

- Türkiye’de izole edilen iki farklı *Toxoplasma gondii* suşundan üretilen eriyik proteinlerin Freund adjuvanı ile birleştirilmesi sonrası BALB/c farelerde uyandırdıkları humoral ve hücresel immun yanıtın toxoplasmosise karşı tam koruyucu olmadıkları gösterilmiştir.
- Bu sebeple gelecekte yapılacak aşı çalışmalarında immunojen ve patojen olduğu gösterilmiş özgün antijenlerin kullanılmasının doğru olabileceği kanaatine varılmıştır.

Teşekkürler

- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi AREL laboratuvarı çalışanları



Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Parazitoloji A.D.
Moleküler Parazitoloji Laboratuvarı
(MolParLab)

<http://www.parasit.med.ege.edu.tr/molparlab>