Erciyes Üniv Vet Fak Derg 9(2) 113-122, 2012
J Fac Vet Med Univ Erciyes 9(2) 113-122, 2012

Derlemeler
Review Articles

Sığır Theileriosis'inde Metastaz

Abdullah İNCİ[1], Ahmet YAVUZ[2], Alparslan YILDIRIM[1], Önder DÜZLÜ[1], Zuhal BİŞKİN[1]
[1] *Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE*
[2] *Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı, Yenifakılı İlçe Müdürlüğü, Yozgat-TÜRKİYE*

Özet: Vektör keneler ile nakledilen *Theileria* türleri, evcil ve yabani ruminantlar ile equidelerde enfeksiyon oluştururlar. *Theileria parva* ve *T. annulata* Avrupa kökenli duyarlı sığırlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden lenfoproliferatif karakterde hastalığa neden olurken diğer türler daha hafif enfeksiyon oluştururlar. Endemik bölgelerde sığır theileriosis'i nedeniyle büyük ekonomik kayıplar görülür. Hastalığın başlıca karakteri, lenfoproliferasyon ve hücre transformasyonudur. Hastalık bu özelliği ile kansere benzetilir. Kanserli hücreler, bulundukları doku dışında doğrudan veya kan-lenf damarlarıyla başka bölgelere yayılabilirler ki, bu olaya "metastaz" denir. Daha çok kanser hücreleri için kullanılan bu terim, son zamanlarda kanser hücreleri gibi davrandığı sanılan Theileriosis için de kullanılmaktadır. Tıpkı kanser hücrelerinin metastaz ve invazyonunda rol oynayan Matrix Metalloproteinazların (MMPs) *Theileria* şizontları ile enfekte lenfoid hücrelerde de bulunduğunun ve aynı şekilde rol oynadığının saptanmasıyla theileriosis'in de metastazik davranışlar sergileyebileceği düşünülmüştür. *Theileria* enfeksiyonlarında 7 adet konak matriks metalloprotein aktivitesi bulunur. Bunlardan en büyük aktiviteyi MMP9 geni ile sentezlenen MMP9 sağlar. Bu durum, sığır theileriosisinde patolojik özelliklerin açıklanmasında önemli bir etkiye sahiptir. Diğer yandan *Theileria* gelişiminin bütün evrelerinde antijenik farklılığa sahiptir. *Theileria* türlerinin sporozoit, şizont ve merozoit gelişme dönemleri son konak (sığır gibi) için enfektif iken piroplazmik gelişme dönemi sadece ara konak (vektör kene) için enfektiftir. Şizogoni evresinde, *Theileria* makroşizontları konak hücrede hücre içi sinyalleri etkileyerek enfekte konak hücresinin transformasyonuna ya da apoptozisin baskılanmasına veya tam tersine aktive ederek parazitin kendisinin hücre dışına bırakılmasını sağlayabilirler. Bu sayede parazit, kontrol dışı çoğalma ve ölümsüzleşme olarak da nitelendirilen yaşam süresinin uzamasını gerçekleştirebilir. Parazit tarafından uyarılan konak MMP'leri *Theileria* makroşizontlarıyla enfekte konak hücrelerinin metastazına aracılık yapar. Sığır theileriosis'inde metastaz için sırasıyla bazı olayların gerçekleşmesi gerekir. Bunlar: i) Parazitin konak hücre sinyal yollarını etkilemesi, ii) sinyal yollarının etkilenmesi sonucu enfekte hücrenin transformasyona uğraması, iii) transformasyona uğrayan konak hücrede önce apoptozisin inhibe edilmesi ancak sonrasında apoptozise zorlanması ve iv) enfekte konak hücrenin metastaz yapacağı diğer konak hücreyi etkilemesidir. Bu derlemede sığır theileriosis'inde görülen bu mekanizmalar anlatılmaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Metastaz, sığır theileriosis'i

Metastasis in Bovine Theileriosis

Summary: Tick transmitted-*Theileria* species cause infections in domestic and wild ruminants and also in equides. *Theileria annulata* and *T. parva* cause lymph proliferative severe disease with high morbidity, mortality in susceptible European cattle breeds whereas mild infections occur in the indigenous breeds. Considerable economic losses have been reported due to cattle theileriosis in the endemic areas. The main characters of the diseases are lymphoid transformation and proliferations of schizont- infected monocytes and lymphocytes. The disease is resembled to cancer by these characters. The spreading of cancer cells in a tissue towards to other tissues via blood-lymph vessels is called "metastasis". Metastasis term is generally used for cancer cells. However recently this term has been also used in bovine theileriosis. *Theileria* schizont-transformed cells are immortalized, metastatic and express a number of metalloproteinases (MMPs) including MMP9 which they secrete likely in cancer cells. There are 7 host MMPs activities in *Theileria* infections. The most effective matrix metalloproteinase among these is MMP9. This has important implications for explaining a number of pathological features of theileriosis in cattle. On the other hand, *Theileria* parasites have antigenic diversity in the all-developing stages. The stages of sporozoite, schizont and merozoite are infective forms for the final host (e.g. cattle) whereas the piroplasm stage is infective form for only intermediate host (e.g. vector tick). During the schizogony stage, *Theileria* parasites affect the signaling way of the infected host cell and cause the transformation of the cell or the inhibition of apoptosis of the cell or releasing of the parasite (macroschizont) out of the host cell by itself with the just adverse effect. The schizont-infected cells reach to unlimited cell proliferations and also to the immortality level by the way. Host MMPs induced by the parasite mediate the metastasis of *Theileria* macroschizont-infected host cells. The metastasis of cattle theileriosis involves some stages consecutively. These are: I) *Theileria* schizonts affect the signaling way of the host cell. II) Transformation of the schizont-infected cell due to affect of the signaling way. III) Primarily inhibition of the apoptosis of the transformed cell and then to be forced to apoptosis. IV) The schizont-infected host cell acts towards to the other host cell for metastasis. In this review, the mechanism of the metastasis in cattle theileriosis has been pointed out.

Key Words: Bovine theileriosis, metastasis

Geliş Tarihi/Submission Date : 01.08.2011
Kabul Tarihi/Accepted Date : 23.05.2012

Giriş

Vektör kenelerle nakledilen *Theileria* türleri, evcil ve yabani ruminantlar ile equidelerde enfeksiyon oluştururlar (40, 62). Sığırlardaki türler, dünyanın hemen her tarafında yaygın olarak bulunurlar (2, 5, 9, 27, 32, 48, 60) ve sığır endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara yol açarlar (17, 22, 29-31, 42, 46, 48). *Theileria parva* ve *T. annulata* kültür ırkı duyarlı sığırlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden lenfoproliferatif karakterde hastalığa neden olurken diğer *Theileria* türleri hafif seyirli hastalığa yol açarlar (6, 19, 40-48, 50-56, 61).

Theileria türlerinin hayat siklusu *Ixodidae* ailesinde yer alan keneler ile sığır, koyun, keçi, manda, zebu ve geyik gibi ruminantlar ve equideler arasında geçer (50). Hayvanlarda parazitlerin hayat döngüsü, vektör kenenin nimf ve erişkin safhada kan emme esnasında sporozoitleri vermesiyle başlar. Lenfoid hücrelere giren sporozoitler, şizontları oluşturmak üzere gelişirler. Buna paralel olarak konak hücrede transformasyon ve bölünme başlar. Şizogoni sonucu meydana gelen merozoitler, eritrositlere girerek piroplazmik formları oluştururlar (50, 53, 56). Aç larva veya nimf safhasında vektör keneler enfekte konaktan kan emerken, kanla birlikte piroplasm formları alır ve kenenin bağırsak lumeninde gametogenez ve fertilizasyon gerçekleşir. Mikrogametin makrogameti döllemesi sonucu oluşan zigot, mide epitellerine girer ve hareketli kinetler oluşur. Kinetler mide duvarını delerek tükürük bezlerine ulaşır ve burada sporogonik çoğalma sonucunda binlerce sporozoit meydana gelir (50, 56).

Theileria parazitinin vektör kene tarafından sporozoitlerin verilmesiyle oluşan doğal enfeksiyonlarda veya şizontlarla enfekte kanın subkutan verilmesi sonucu oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda hastalığın şiddeti oldukça farklıdır. Bazı türler ileri derecede patojen etkiye ve yüksek mortaliteye, bazı türler düşük patojen etkiye sahipken, bazı türler ise patojen değildir. Hastalığın patojenitesi üzerine konağın doğal direnci veya duyarlılığı etki eder (1-4, 16, 18-20, 47). Bazı sığır ırkları doğal dirence sahipken bazıları aşırı duyarlıdırlar (8, 35, 38, 43-45). Doğal dirençlilikte Toll-like reseptörler önemli rol oynarlar (25, 28, 33, 36, 63). Toll-like reseptörleri (TLR), birçok patojene karşı doğal immun yanıtın oluşmasını sağlayan bir grup tip 1 transmembran proteinidirler. İlk olarak 1991 yılında *Drosophila melanogaster'*de keşfedilen, immun sistem cevabında önemli fonksiyonu olduğuna inanılan bu reseptöre "Toll geni"ne olan benzerliğinden dolayı "Toll" adı verilmiştir. Günümüzde insanlarda İnterlökin-1 reseptör (IL-1R)'ün homologu olan bu moleküllere "Toll-like reseptörler" denilmektedir. Bu reseptörler; başta makrofajlar olmak üzere mast hücreleri, dendritik hücreler, eozinofiller, nötrofiller, doğal öldürücü hücreler ve doğal öldürücü T hücrelerinde bulunurlar. Mikroorganizmaların tanınması ve yangının tetiklenmesinde görevlidirler. Bugüne kadar TLR ailesinde 14 üye saptanmıştır (25, 28). Bunlardan TLR1-TLR9 arası, TLR11 ve TLR15'in ligandları saptanmışken TLR10, TLR12 ve TLR13'ün ligandları ise henüz bilinmemektedir. Sığır theileriosisi üzerine yapılan bir araştırmada, akciğer ve B lenfositlerde gösterilen TLR 10'un parazitin virulensinde önemli rol oynadığı saptanmıştır (23, 35, 36, 62). *In vitro* koşullarda yapılan deneysel çalışmalarda Real time PCR tekniğine dayalı olarak yapılan ölçümler de kısa ve uzun süreli pasajlamaların virulens ve attenuasyondaki etkisi ölçülmeye çalışılmış, elde edilen değerler arasındaki farklılık parazitin membran yüzeyinde bulunan TLR 10 miktarına göre değişiklik gösterdiği ortaya konmuştur (23). Diğer yandan *in vivo* olarak TLR 10 düzeyleri arasındaki farklılıklar da araştırılmıştır (23, 35). Bir araştırmada TLR 10 seviyesinin, *T. annulata* ile enfekte sığırlarda enfeksiyonu takiben LPS (Lipopolysaccharides) ve IFN-γ (Interferon-gamma) aktivasyonu boyunca ilk iki saatte arttığı, Holstein ırkı sığırlarda ise azaldığı saptanmıştır (35). Bu çalışmalardan da anlaşılmaktadır ki, vektör kenenin *Theileria* sporozoitini konağa bulaştırmasını takiben o sığırın theileriosis'e karşı doğal dirençliliği veya duyarlılığı Toll-like reseptörlerle özellikle de TLR 10 ile ilgilidir. Şayet konak, doğal dirence sahipse hastalığa yakalanmamakta veya hastalığı hafif atlatmakta, duyarlı ise hastalık şiddetli seyretmekte ve hastalığın patogenezinde birçoğu hücre içi olmak üzere değişik faktörler rol almaktadır.

Hastalığın patogenezi, parazitin özellikle şizogoni evresinde lenfoid hücrelerde ve şizogoni sonucu oluşan merozoitlerin eritrositleri enfekte etmeleriyle ortaya çıkar (52-54). Özellikle şizogoni evresinde, retikuloendotelyal sistem [(RES), Mononuclear Phagocyte System (MPS)] inhibe olur ve kan hücrelerinin üretimi başlangıçta yavaşlar ve sonra hastalık tablosu ağırlaştıkça durur (55, 56). Bu tahribatın oluşmasında *T. parva*'da şizontlar, *T. mutans*, *T. sergenti*, *T. buffeli* ve *T. orientalis*'te piroplazmlar, *T. annulata*'da ise hem şizontlar hem de piroplazmlar etkin rol oynar (45, 55). Hastalık, lenfoprolifertif ve hücre transformasyonu karakterinde olup bu özelliği ile kansere benzetilir (1, 24, 34, 39, 41, 43-45).

Kanserli hücrelerin bulundukları doku dışında doğrudan ya da kan-lenf damarlarıyla başka bölgelere sıçramalarına "metastaz" (yayılma) denir. Kanser

hücrelerinin bağlı olduğu tümörden ayrılması bir bakıma moleküler açıdan "zincirlerini koparma" reaksiyonudur. Tüm sağlıklı ve kansere dönüşmüş hücreler birbirine hücre-dışı ağı proteinleri (extracellular matrix-ECM) ile sıkıca bağlıdır (1, 10 -15, 26, 57, 58). Metastazik hücreler, bu bağı bir şekilde kırarak ayrılmayı başarırlar (21).

Sığır Theileriosis'inin Patolojisinde Metastaz

Theileriosis'in patolojisi üzerine yapılan çalışmalarda, şizont ile enfekte konak hücrelerin metastazik davranışlar sergilediği Forsyth ve ark. (14)'nın yaptığı araştırmayla tarif edilmiştir. Bu metastazik davranışların, *Theileria* şizontları ile enfekte konak hücrede Matrix Metallopreteinaz (MMPs) aracılığı ile şekillenebildiği tespit edilmiştir (1, 58). Buna bağlı olarak da invazyon ve doku hasarını oluşturduğu ortaya konmuştur (1). Theileriosis bu özelliği ile kansere benzetilmiştir (1). Tıpkı kanser hücrelerinin metastaz ve invazyonunda rol oynayan MMPs'ın *Theileria* şizontları ile enfekte lenfoid hücrelerde de bulunduğunun ve aynı şekilde rol oynadığının saptanmasıyla theileriosisin de metastazik davranışlar sergileyebileceği düşünülmüştür. Howard ve ark. (26) *Theileria*'da 7 adet konak matrix metalloprotein aktivitesi olduğunu ancak bunlardan en büyük aktiviteyi MMP9 geni ile sentezlenen MMP9'un sağladığı, bunun da insan MMP9 ile % 81 homolog olduğunu belirtmişlerdir (1, 26). Ancak sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile metastazın kanser hücrelerinde olduğu kadar basit bir mekanizmaya sahip olmadığı, hücrenin farklılaşması ya da transformasyonuyla da ilişkili olduğu da ortaya konmuştur (1).

Theileriosis'e yol açan türler, konak hücrede şizogoni evresini geçirirken konak hücrenin hücre içi sinyallerini etkileyerek transformasyonuna ya da apoptozisinin inhibisyonuna veya tam tersine aktive ederek kendisinin (parazitin, şizontun) hücre dışına salınmasını sağlayabilirler. Bu sayede parazit, kontrol dışı çoğalma ve ölümsüzleşme olarak da nitelendirilen yaşam süresinin uzamasını gerçekleştirebilir (57).

Theileriosis'de metastaz için sırasıyla bazı olayların gerçekleşmesi gerekir. Bunlar: i) Parazitin konak hücre sinyal yollarını etkilemesi, ii) sinyal yollarını etkilemesi sonucu enfekte hücrenin transformasyona uğraması, iii) transformasyona uğrayan enfekte hücrenin önce apoptozisinin inhibe edilmesi ancak sonrasında apoptosize zorlanması ve iv) enfekte konak hücrenin metastaz yapacağı diğer konak hücreyi etkilemesi ve *Theileria* şizontunun ona invazyonu.

i. Parazitin konak hücre sinyal yollarını etkilemesi

Hücre içerisine giren *Theileria* şizontlarının yaşamlarını sürdürebilmeleri için konağın hücre sinyal yollarını kontrol altına almaları gerekir. Anti-apoptotik sinyal yollarının etkilenmesi, hem parazitin yaşam süresini uzatır hem de metastazik faaliyetine katkıda bulunacak sinyal yollarının tetiklenmesini sağlar (7, 11).

ii. Sinyal yollarını etkilemesi sonucu şizontla enfekte hücrenin transformasyonu

Parazit, konak hücre sinyal yollarını etkisi altına aldıktan sonra konak hücrenin transformasyonuna ya da apoptozisine sebep olabilir. Parazitin hangi yolu tercih edeceği uyarılan sinyal yollarına ve çevre şartlarına bağlı olarak şekillenir. Ancak hangi yolu seçerse seçsin hücrenin kullanacağı sinyal yolları birbirine yakın ve karmaşıktır. Transformasyon ve apoptozisde rol oynayan faktörler aşağıda verilmiştir.

ii.1. Polipeptitler, kinazlar ve fosfatlar

Transformasyonda üç sınıf polipeptit etkilidir. Bunlardan birinci sınıf polipeptitlerin hücresel transformasyonda özellikle hücre içi işlevlerin yürütülmesinde etkili olduğu belirtilmiştir. İkinci sınıf polipeptitlerin tam olarak işlevleri tanımlanamamış olsa da özellikle apoptozise sebep olduğu düşünülmektedir. Üçüncü sınıf polipeptitlerin ise konak hücrenin çekirdeğine lokalize olduğu ve çekirdekte translokalizasyona sebep olduğu saptanmıştır. Kinazların ve fosfatların ise hücrede replikasyon ve hücre döngüsünde rol aldığı tespit edilmiştir (57).

ii.2. JNK (C-Jun N-Terminal kinaz) aktivasyonu

C-Jun-N-Terminal Kinaz (JNK)'ın sentezlenmesinde, DNA üzerinde iki bölge görevlidir. Bunlardan birisi c-Jun diğeri ise v-Jun bölgesidir. C-Jun: N-terminal kinaz'ın sentezlendiği ya da fosforile olduğu DNA parçası üzerindeki proksimal kısmıdır. JNK sentezi, DNA'nın bu kısmında olur. N-terminal (V-Jun): Fosforilize olamayan distal kısımdan sentezlenen Jun-N-Terminal kinazı ifade eder. N-terminal sentezlense bile, fosforilasyon yeteneği yoktur. JNK üyeleri, çoklu hücre içi biyokimyasal sinyalleri yöneterek çoğalma, gelişme, farklılaşma, apoptozis, transkripsiyon düzenleyici gibi birçok değişken işlevleri gerçekleştiren birleşme noktası olarak rol alırlar. JNK, özel transkripsiyon faktörlerini hedefler ve böylece erken gen sentezine aracılık ederek çeşitli stres sinyallerine yanıt verir (41).

Transkripsiyon işlemi, polimerazın promotora bağlanmasına yardımcı olan bir transkripsiyon faktörü olmadan asla oluşamaz. Bazı denetleme molekülleri (proteinler; örneğin AP-1 protein) transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasına yardımcı olabilir ya da bağlanmayı inhibe edebilirler.

Theileria şizontları ile enfekte lenfoid hücrelerde meydana gelen transformasyon, JNK ve Ap-1 (aktivasyon protein-1) transkripsiyon faktörünün aktivasyonuyla olur. JNK ve AP-1 aktivasyonu yoluyla *T. parva* ile transforme olmuş B-lenfosit hücrelerinde anti-apoptotik proteinlerin genleri kontrol eden özellikle Src kinaz ailesine (non-receptor tyrosine kinases veya non-specific protein -tyrosine kinase, bir proto-onkojenik tirozin kinaz grubu) ait faktörler vardır. Bu faktörler aracılığı ile aktive olan gen bölgelerinden sentezlenen diğer faktörler [MMP9, Nükleer faktör- kappaB (NF-kB)] aracılığı ile konak hücrede apoptozis engellenmektedir. AP-1 aktivasyonunun B lenfosit hücresi proliferasyonunda önemli bir etkisi yoktur (33). Aktivasyon protein-1 (AP-1)'in aktivasyonunun esas amacı, MMP9'un sentezlenmesidir. AP-1 aktivasyonu ile MMP9 gen transkripsiyonu indüklenir. MMPs, sıklıkla yayılma özelliği gösteren kanser hücreleri ile *T. annulata* ile enfekte hücrelerde bulunur ve enfekte hücrelerin yayılmasında rol oynar (11). MMPs'un sentezlenmesi ile enfekte hücre, prolifere olmaz, bunun yerine metastazı tercih eder. MMPs sentezlenmiş ve metastazı tercih etmiş olan enfekte hücrede parazit, daha rahat hareket edebilme yeteneğine kavuşur. Bu sayede metastaz yapacağı diğer hücrede MMP9'un sentezini inhibe eder ve metastaz için kendine uygun ortamı hazırlar. Bu iki hücre birbirine yaklaşırlar ve temas ettikleri anda da parazit sağlam hücreye invaze olur.

ii.3. NF-kB (Çekirdek faktör-kappaB)

Theileria annulata ve *T. parva* şizontları ile enfekte lenfoid hücrelerde NF-kB aktivasyonun olduğu bilinmektedir. Bu şekilde *Theileria* şizontu ile enfekte lenfoid hücreler, sürekli olarak bölünerek çoğalır ve transforme olurlar (11, 16). NF-kB, *Theileria* şizontu ile enfekte lenfoid hücrelerde, hücre transformasyonu ve hücre proliferasyonunun yanında anti-apoptotik protein genlerinin transkripsiyonunda da önemli bir role sahiptir. NF-kB, hücre sitoplazmasında bir inhibitör protein olan IkBα (I kappa B kinaz alfa; NF-kB inhibitörü)'ya bağlı olarak inaktif halde bulunur. Diğer taraftan NF-kB, kendi inhibitörü olan IkBα'nın sentezini de sağlar. Bu durum, negatif geri bildirime bir örnektir. IkBα, hücre içi patojen varlığı veya hücre stresi meydana geldiğinde IKK kompleksi [IKKα, IKKβ ve IKK-gama (Nukler Faktor Kappa B Essantial Modulator) kısaca NEMO'dan meydana gelen kompleks] ile fosforilize olur ve yıkıma uğrar (24, 59). I kappa B kinaz alfa (IkBα)'nin fosforilize olması sonucu NF-kB serbest hale gelir ve şizontla enfekte lenfoid hücrenin çekirdeğinde spesifik DNA bölgesine bağlanır. Bu sayede ilgili gen bölgesini aktive ederek hücre üremesi ve gelişimini düzenleyen proteinler ile anti-apoptotik proteinlerin transkripsiyonunu sağlar (11, 63). Böylece *Theileria* şizontu ile enfekte lenfoid hücreler, anti-apoptotik karakterde ölümsüz bir fenotipe ulaşırlar (11, 24, 49). Bu sayede de metastaz için seçilen lenfoid hücreye penetrasyon yeteneği kazanırlar (Şekil 1).

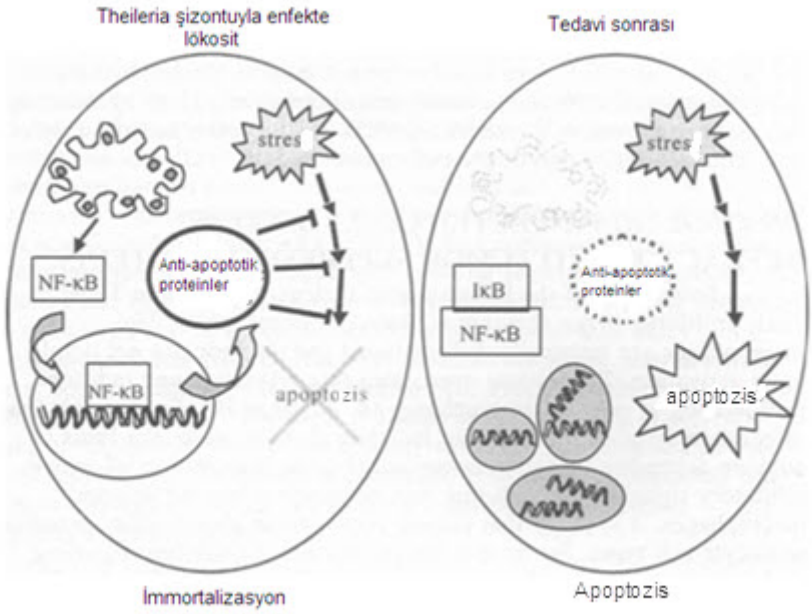
Diğer yandan paraziti öldürmeye yönelik olarak kullanılan buparvaquone ile transformasyon, tamamen geri döndürülebilir. Buparvaquone tedavisi ile parazit ortadan kaldırıldığında, NF-kB inhibitörü olan IkBα'nın yıkımı da durur ve NF-kB serbest hale geçer. Ancak NF-kB bu şekilde lenfosit sitoplazmasında bulunamayacağından anti-apoptotik proteinler ortadan kaybolur. Dolayısıyla *Theileria* şizontu ile enfekte lenfosit veya monosit apoptotik sinyal yoluna yönlenir ve apoptozise uğrar (37) (Şekil 1).

ii.4. CK2 (Kazein kinaz II) aktivasyonu

Kazein kinaz (CK2), ökaryotlarda korunmuş bir protein olan serin / treonin kinaz içeren bir protein kinazdır (38). CK2, iki katalitik alfa alt ünitesi ile iki düzenleyici beta alt ünitesinden meydana gelen heterodimer yapısında bir enzimdir. Alfa alt ünitesi, hücre canlılığı için önemliyken, Beta alt ünitesinin fonksiyonu ise henüz tam olarak açıklanamamıştır. Aktive edilmiş CK2, *Theileria* şizontları ile enfekte lenfoid hücre transformasyonunda çok önemli bir rol oynar. CK2, NF-kB ve c-Myc (bir transkripsiyon faktörünü kodlayan düzenleyici gen) gibi trasnkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu sağlar. *Theileria parva* ile enfekte B ve T lenfositlerde bu aktivasyonlar gerçekleşir (12). Diğer taraftan kaspaz enzimi, anti apoptotik proteinlerin sentezini baskılayan bir etkiye sahiptir. CK2 aktivasyonu ile kaspaz enziminin etkisi baskılanarak apoptozis engellenir. Ayrıca TNF-alfa (tümör nekroz Faktör alfa) ve büyüme faktörleri gibi faktörlerin uyarımı da CK2 aktivasyonu ile gerçekleşir (16, 39, 44).

ii.5. PI-3K (Phosphatidlinositol-3 kinaz)/ PKB (Protein kinaz B)

Phosphatidlinositol-3 kinaz/Protein kinaz B (PI-3K/ PKB), plazma membranında hücre proliferasyonunu düzenleyen ve membran yüzey reseptörleriyle aktive olan bir uyarım yolu olup aynı yerde bulu-



Şekil 1: *Theileria* parazitinin konak hücresinin apoptotik yollarını inhibe etmesi. Lökositlerin *Theileria* şizontu ile enfeksiyonu, stres kaynaklı sinyal yolunu ve kontrolsüz hücre üremesini indükler. Bu olaylar pro-apoptotik molekülleri aktive eder. Parazit bağımlı NF-kB aktivasyonu, hücre ölümünü inhibe eder ve bu yolla konak hücresinin immortalizasyonuna katkı sağlayan anti- apoptotik proteinleri uyarır. Buparvaquone ile parazitin spesifik olarak öldürülmesi durumunda NF-kB inhibitörü IkB, daha fazla parçalanmaz ve sitoplazmada NF-kB'yi tecrit eder. Anti-apoptotik proteinlerin ortadan kalkmasıyla apoptotik yol açılır ve çekirdeğin parçalanmasını kapsar şekilde hücre ölümüyle sonuçlanır (24).

nan fosfoinositide bağımlı kinaz-1'in (PDK 1) fosforilizasyonunu sağlar (13). Fosfoinositide bağımlı PDK 1 ve PKB, P70-S6-kinaz'ı aktive eder ve bu şekilde hücre siklusunun düzenlenmesinde PI-3K sinyal yolu ile bağlantılıdır. PKB hücre siklusundaki G_1 ve G_2 aşamalarında aktif olarak görev alır. Ayrıca burada oluşan mutasyonların da bertaraf edilmesinde görevlidir (11, 13). Phosphatidlinositol-3 kinaz/Protein kinaz B yolu, *Theileria* şizontu ile enfekte hücrelerin proliferasyonunda görevlidir (35). *Theileria parva* şizontu ile enfekte hücrelerde PI-3K/PKB yollarının bağımsız olarak aktive edildiği ortaya konmuştur (15, 38).

ii.6. TashAT (T. annulata şizont AT hook protein)

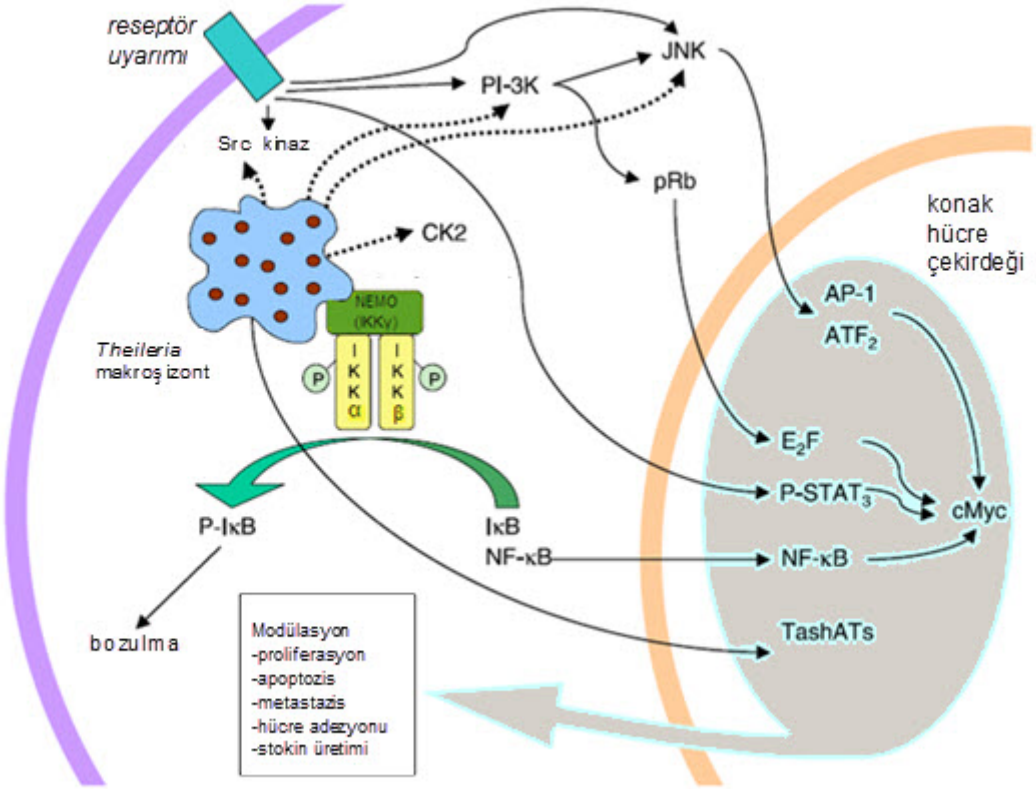
Theileria annulata şizontu ile enfekte monositlerde, parazit tarafından salgılanan bu polipeptit, konak hücrenin çekirdeğine yerleşir ve hücrenin proliferasyonunu düzenler (Şekil 2). Diğer yandan *T. parva*'da bu polipeptide (TashAT) karşılık gelen TpHN (*T. parva* host nuclear)'dir (47). Bunlarla birlikte *Theileria* şizontu ile enfekte hücrelerin transformasyonunda rol oynayan tüm faktörlerin ve etki mekanizmalarının halen tam olarak bilinmediği de belirtilmiştir (33, 35).

iii. Transformasyona uğrayan konak hücrenin önce apoptozis'i inhibe etmesi ancak sonrasında apoptozis'e yönlendirmesi

Konak hücrede bulunan şizont, hücre içi (ya da intrensik) olarak tarif edilen sinyal yollarını tetikleyerek hücreyi apoptozise zorlar. Bu sayede transformasyon ve metastazda da kullanılacak birçok sinyal yolunu tetiklemiş olur (15). Tetiklenen MAPK (Mitogen-activated protein kinase), NF-kB, PI-3K ve PKB sinyal yolları hem apoptozis hem de transformasyonda görev almaları dolayısıyla hücrenin akıbetini tayin ederler (10).

Şayet hücre, PKB yolunu kullanır ve p 70 genini sentezleyebilir ise hayatta kalmakta ve hayat siklusunu devam ettirebilmektedir. Eğer hücre MAPK sinyal yolunu kullanır, Jun-N-Terminal Kinaz'ı aktive eder ise bu durumda bir transkripsiyon faktör olan AP-1 aktive olur (3, 4, 13, 41, 43). Aktivasyon protein-1 (AP-1), promotor faktör olarak fonksiyon gösterir ve NF-kB'de dahil olmak üzere birçok gen

Erciyes Üniv Vet Fak Derg 9(2) 113-122, 2012



Şekil 2: *Theileria* şizontu ile enfekte hücrelerde aktive edilmiş daimi sinyal yolu. *Theileria* şizontuyla enfekte hücrede c-Jun NH2 terminal kinaz (JNK) yolu daimi olarak aktive edilir ve Ap-1 ile ATF-2 gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu gerçekleşir. Phosphatidlinositol-3 kinase (PI-3K) yolunun kalıcı aktivasyonu, enfekte hücrenin proliferasyonu için gerekli olup, p53 ve retinoblastom proteini gibi tümör supresorlerinin negatif regülasyonu ve E2F transkripsiyon faktörünün aktivasyonu aracılığı ile hücre siklusuna sinyal yollar. Transkripsiyon faktörü c-Myc, enfekte hücreyi apoptozisten korur: Kalıcı c-Myc ekspresyonu, STAT3, AP1 ve E2F gibi transkripsiyon faktörlerine bağlıdır ve CK2 aktivasyonu ile post translasyonel stabiliteye yükselir. STAT3'ün aktivasyonu, JAK2/STAT3 sinyal yolu ile meydana gelir. Enfekte hücreler, NF-kB'nin kalıcı aktivasyonu ile de apoptozisten korunur ki, NF-kB'nin aktivasyonu da makroşizontların yüzeyinde bulunan IKK komplekslerinin aktivasyonu sonucu gerçekleşir. TashAT ailesinin üyeleri, parazit tarafından salgılanır ve konak hücrenin çekirdeğine transloke olurlar. TashAT üyeleri, transkripsiyon transaktivatörleri gibi ya da gen ekspresyonunun negatif veya pozitif regülatörlerinin yardımcı faktörleri olarak görev alırlar. Şekildeki noktalı çizgiler, parazitin direkt olarak bu sinyal yollarını nasıl etkilediğinin tam olarak bilinmediğini gösterir. Non-receptor tyrosine kinases (Src), PI3K, JNK ve JAK/STAT sinyalleri, autocrine sarmalları ve yüzey reseptörleri boyunca veya adezyon moleküllerinin yüksek regülasyonunda görülür. Autocrine stimulasyonu veya hücre adezyonu için gerekli gen ekspresyonu, NF-kB, AP1 ve TashAT ailesi üyeleri tarafından sağlanan bir regülasyonu gerektirir (Shiels ve ark. (57)'dan yararlanılmıştır).

bölgesinin transkripte edilmesini sağlar. Diğer yandan MAPK sinyal yoluyla aktive olan AP-1, metastazik önemi olan MMP-9'unda sentezinde de önemli rol oynar (12). MAPK sinyal yolu, hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile ısıl şok, UV, ozmotik şok ve antioksidanlar aracılığı ile aktive edilir (12, 35).

iv. Enfekte konak hücrenin metastaz yapacağı diğer konak hücreyi etkilemesi

Konak hücrede bulunan şizont, MMP-9 sentezlemesini gerçekleştirdiği takdirde daha önceden engellemiş olduğu apoptozisi ters yönde etkileyerek tetikler ve bu sayede kendisinin hücre dışına çıkışını sağlar. Ancak metastaz yapacağı hücreyi belirlemeden önce apoptozisi tetiklemez. Bu konu üzerine yapılan çalışmalarda enfekte hücrenin

metastaz yapacağı hücreyi nasıl tercih ettiği tam olarak bilinmemekle beraber Toll-like reseptörler aracılığı ile olduğu sanılmaktadır (23). Enfekte hücre, metastaz yapacağı lenfoid hücreleri etkileyerek kendine doğru yönelmelerini ve yaklaşmalarını sağlar. Aynı zamanda apoptozise de zorlanmış olan bu hücrede, apoptozis sonucu serbest kalacak olan *Theileria* şizontu da yeni hücreye invazyon için hazır halde bekler. Metastaz yapılacak hücre de, yüzey reseptörleri yolu ile entrensik olarak tetiklenen apoptozis sonucu MMPs inhibe edilir. Böylece metastaz için uygun ortam yeni hücre içinde sağlanmış olur. Zaten hazır halde bekleyen *Theileria* şizontu da yeni hücreye invaze olur (24, 26).

Sonuç olarak halen izaha muhtaç bazı noktaları bulunmakla birlikte mevcut bilgilerin ışığında sığır theileriosis'inde metastazın, birbirine bağlı birçok enzimatik ve moleküler mekanizmalarla gerçekleştiğini söylemek mümkündür.

Kaynaklar

1. Adamson R, Hall R. Virulence and attenuation in *Theileria annulata.* Dobbelaere D, Mckeever D. eds. In: World Class Parasites 3 *Theileria*. Boston/ Dordrecht/ London. Kluwer Academic Publishers, 2002; pp.55-67.
2. Ahmet SJ, Glass EJ, Salih A, Seitzer U. Innate immunology to tropical theileriosis. Innate Immun 2008; 14(1):5-12.
3. Ahmet SJ, Schnittger L, Mehlhorn H. *Theileria* schizonts induce fundamental alterations in their host cells. Parasitol Res 1999; 85: 527-38.
4. Akoolo L, Pelle R, Saya R, Awino E, Nyanjui J, Taracha EL, Kanyari P, Mwangi DM, Graham SP. Evaluation of the recognition of *Theileria parva* vaccine candidate antigens by cytotoxic T lymphocytes from Zebu cattle. Vet Immunol Immunopathol 2008; 121 (3-4): 216-21.
5. Aktaş M, Altay K, Dumanlı N. Doğu Anadolu bölgesinde bazı illerde sığırlarda bulunan *Theileria* türlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması. Ondördüncü Ulusal Parazitoloji Kongresi. Eylül, 18-25, 2005; İzmir-Türkiye.
6. Altay K, Aktaş M. Sığır theileriosis'i. F Ü Sağ Bil Derg 2004; 18(2): 79-86.
7. Apoptosis. Erişim adresi: http://biyokimya.8m.net/apopitosiz.html. Erişim Tarihi: 10.02. 2011.
8. Ayerdem B, İnci A, Uyanık F, Iça A, Çakmak A, Yıldırım A. Sığırlarda doğal *Theileria annulata* enfeksiyonlarında monosit nitrik oksit düzeyleri. ERÜ Sağlık Bil Derg 2006; 15(2): 116-21.
9. Bilgin Z. Trakya'da Sığırlarda Bulunan *Theileria* ve *Babesia* Türlerinin ve Bunların Sığırlarda Yaygınlığının Reverse Line Blotting (RLB) Tekniği ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Programı. İstanbul-Türkiye, 2007.
10. Campbell JD, Spooner RL. Macrophages behaving badly: infected cell and subversion of immune responses to *Theilera annulata.* Parasitol Today 1999; 15(1): 10-16.
11. Dobbelaere D, Volker T Heussler. Transformation of leukocytes by *Theileria parva* and *T. annulata.* Annu Rev Microbiol 1999; 53: 1-46.
12. Dobbelaere DEA, Fernandez PC, Heussler VT. *Theileria parva*: taking control of host cell proliferation and survival mechanisms. Cell Microbiol 2000; 2(2): 91-9.
13. Engelberg D. Stress-activated protein kinases-tumor suppressors or tumor initiators? Semin Cancer Biology 2004; 14: 271-82.
14. Forsyth LMG, Minns FC, Kirvar E, Adamson RE, Hall FR, McOrist S, Brown CGD, Prestona PM. Tissue damage in cattle infected with *Theileria annulata* accompanied by metastasis of cytokine-producing, schizont-infected mononuclear phagocytes. J Comp Pathol 1999; 120 (1); 39-57.
15. Galley Y, Hagens G, Glaser I, Davis W, Eichhorns M, Dobbelaere D. Jun NH2-terminal kinase is constitutively activated in T cells transformed by the intracellular parasite *Theileria parva*. Proc Natl Acad Sci 1997; 94: 5119-24.
16. Galss JE, Jensen K. Resistance and susceptibility to a protozoon parasite of cattle-gene expression differences in macrophages from different breeds of cattle. Vet Immunol Immunopathol 2007; 120: 20-30.
17. Gharbi M, Sassi L, Dorchies P, Darghouth MA. Infections of calves with *Theileria annulata* in Tunisia: economic analysis and evaluation of the potential benefit of vaccination. Vet Parasitol 2006; 137:231-41.

18. Glass EJ. The balance between protective immunity and pathogenesis in tropical theiloriosis: What we need to know to design effective vaccines for the future. Res Vet Sci 2001; 70:71-5.

19. Godora R, Sharma RL, Sharma CS. Bovine tropical theileriosis in neonate calf. Trop Anim Health Prod 2010; 42: 551-3.

20. Graham SP, Pelé R, Honda Y, Mwangi DM, Tonukari NJ, Yamage M, Glew EJ, Villiers EP, Shah T, Bishop R, Abuya E, Awino E, Gachanja J, Luyai AE, Mbwika F, Muthiani AM, Ndegwa DM, Njahira M, Nyanju JK, Onono F, Osaso J, Saya RM, Wildmann C, Fraser CM, Maudlin L, Gardner MJ, Morzaria SP, Loosmore S, Gilbert SC, Audonnet JC, Bruggen P, Nene V, Taracha ELN. *Theileria parva* candidate vaccine antigens recognized by immunue bovine cytotoxic T lymphocytes. USA: Proc Natl Acad Sci 2006; 103: 3286-91.

21. Güllü İH, Akalın İ. Metastaz Biyolojisi. Üroonkoloji Bülteni. 2007; 4: 16-9.

22. Haese LD, Penne K, Elyn R. Economics of theileriosis control in Zambia. TM & IH 1999; 4(9): 49-57.

23. Haghparast A, Kharan MH, Malvandi MA. Differential expression of pattern recognition receptors in *Theileria annulata* schizont infected cell lines. Nineth International Veterinary Immunology Symposium. August, 16-20, 2010; Edogawa-ku-Tokyo.

24. Heussler VT. *Theileria* survival strategies and host cell transformation. Dobbelaere D, Mckeever D. eds. In: World Class Parasites 3 *Theileria*. Boston/ Dordrecht/ London. Kluwer Academic Publishers, 2002; pp.69-84.

25. Higgs R, Cormican P, Cahalane S, Allan B, Lloyd AT, Meade K, James T, Lynn DJ, Babiuk LA, O'farrelly C. Induction of a novel chicken Toll-like receptor following *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection. Infect Immun 2006; 74(3):1692-8.

26. Howard A, Baylis Anne M, Roger H. Infection with *Theileria annulata* induces expression of matrix metalloproteinase 9 and transcription factor AP-1 in bovine leucocytes. Mol Biochem Parasitol 1995; 69: (2); 211-22.

27. İça A, İnci A, Yıldırım A, Düzlü Ö, Aktaş M, Bişkin Z. Türkiye'de sığırlarda *Babesia* ve *Theileria* türlerinin moleküler prevalansı. Onaltıncı Ulusal Parazitoloji Kongresi. Kasım, 1-7, 2009; Adana-Türkiye.

28. İnci A, Bişkin Z. Toll-Like reseptörler ve protozoon enfeksiyonlarındaki rolleri. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2007; 4(2): 121-8.

29. İnci A, Çakmak A, İça A, Günay O. Kayseri yöresinde tropikal theileriosis'in istatiksel analizi. Türkiye Parazitol Derg 2002; 26(1): 38-41.

30. İnci A, Çam Y, Atasever A. Kayseri yöresinde tropikal theileriosis'e bağlı ekonomik kayıplar. Türkiye Parazitol Derg 2002; 26(2): 156-60.

31. İnci A, İça A, Yıldırım A, Vatansever Z, Çakmak A, Albasan H, Çam Y, Atasever A, Sarıozkan S, Düzlü Ö. Economical impact of tropical theileriosis in the Cappadocia region of Turkey. Parasitol Res 2007; 2: 171-4.

32. İnci A, İça A, Yıldırım A, Vatansever Z, Çakmak A, Albasan H, Çam Y, Atasever A, Düzlü Ö. Epidemiology of tropical theileriosis in the Cappadocia Region. Turk J Vet Anim Sci 2008; 32(1): 57-64.

33. Jann CO, King A, Corrale LN, Anderson IS, Jensen K, Ait-ali T, Tang H, Wu C, Cockett N, Archibald AL, Glass EJ. Comparative genomics of toll-like receptors signaling in five species. BMC genomics 2009; 10: 216.

34. Jensen K, Makins GD, Kaliszewska A, Hulme MJ, Paxtox E, Glass EJ. The protozoan parasite *Theileria annulata* alters the differentiations state of the infected macrophage and suppresses musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene (MAF) transcriptions factors. Int J Parasitol 2009; 39(10): 1099-108.

35. Jensen K, Paxton E, Waddington D, Talbot R, Darghouth MA, Glass EJ. Differences in the transcriptional responses induced by *Theileria annulata* infection in bovine monocytes derived from resistant and susceptible cattle breeds. Int J Parasitol 2007; 38: 313-25.

36. Jones BW, Heldwein KA, Means TK, Saukkonen JJ, Fenton MJ. Differential roles of toll like receptors in the elicitation of proinflammatory responses by macrophages. Ann Rheum Dis 2001; 60: 6-12.

37. Karagenç T, Aysul N, Aypak S. *Theileria*'ların moleküler biyolojik yapısı ve çalışmalar. Özcel MA, Tanyüksel M, Eren H. eds. Moleküler Parazitoloji. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 2009; pp. 527-42.

38. Katzer F, Ngugi D, Schnier C, Walker AR, Mckeever DJ. Influence of host immunity on parasite diversity in *Theileria parva*. Infect Immun 2007; 4909-16.

39. Litchfield DW. Protein kinase CK2: structure regulation and role in cellular decisions of life and death. Biochem J 2003; 369: 1-15.

40. Liu Q, Zhou YQ, He GS, Oosthuizen MC, Zhou DN, Zhao LJ. Molecular phylogenetic studies on *Theileria* spp. isolates based on small subunit ribosomal RNA gene sequences. Trop Anim Health Prod 2009; 42:109-14.

41. Lizunda R, Chaussepied M, Huerre M, Werling D, Santo JPD, Langsley G. c-jun NH2 terminal kinase/c-jun signaling promotes survival and metastasis of B lymphocytes transformed by *Theileria.* Cancer Res 2006; 66(12): 6105-10.

42. Marcellino WL, Salih DA, Julla II, EL Hussein AM. Economic impact of east coast fever in central equatorial state of south Sudan. Int Res J Agric Sci Soil Sci 2011; 1(6): 218-20.

43. Mckeever DJ. *Theileria parva* and the bovine CTL response: down but not out? Parasite Immunol 2006; 28: 339-45.

44. Mckeever JD. Bovine immunity- a driver for diversity in *Theileria* parasites? Trends in parasitol 2009; 25(6): 269-76.

45. Morrison WI. Progress towards understanding the immunobiology of *Theileria* parasites. Parasitology 2009; 136: 1415-26.

46. Mukhebi A.W. Economic impact of theileriosis and its control in Africa references. Norval RAI, Perry BD, Young AS. eds. In: The Epidemiology of Theileriosis in Africa. London: Academic press,1992; pp. 383.

47. Nafizi S, Razavi SM, Esmailnejad Z, Gheisari H. Study on acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A fibrinogen and ceruloplasmin) changes and their diagnostic values in bovine tropical theileriosis. Parasitol Res 2009; 105: 41-6.

48. Norval RA, Perry BD, Young AS. The epidemiology of theileriosis in Africa. London: Academic press,1992; pp. 279.

49. Palmer GH, Machado P, Fernandez V, Heussler T, Perinat T, Dobbelarea DA. Parasite-mediated nuclear factor kB regulation in lymphoproliferation caused by *Theileria parva* infection. Proceeding of the National Academy of Sciences USA 1997; 94: 12527-532.

50. Robinson PM. *Theileria annulata* and its transmission-a review. Trop Anim Health Prod 1982;14: 3-12.

51. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Inci A, Yukarı BA, Eren H, Ünsüren H. Ankara yöresinde elde edilen *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) izolatları üzerinde araştırmalar. 2. Ankara yöresinden *Theileria annulata'* nın izolasyonu ve hücre kültürünün yapılması. Türkiye Parazitol Derg 1999; 23 (4): 426-31.

52. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H. Ankara yöresinde elde edilen *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) izolatları üzerinde araştırmalar. 5. *Theileria annulata* kan stabilatları ile enfekte edilen danalar üzerinde antikor yanıtı ve serolojik çapraz reaksiyon çalışmaları. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1999; 46(2-3): 207-18.

53. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Brown CGD, Melrose TR. Ankara yöresinde elde edilen *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) izolatları üzerinde araştırmalar. 4. vektör kenelerin *Theileria annulata* ile deneysel enfeksiyonları. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1999; 46(1): 127-35.

54. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Nalbantoğlu S, Vatansever Z. Türkiye'de tropikal theileriosis üzerinde araştırmalar. 2. *Theileria annulata*'nın değişik yöntemlerle kültivasyonu ve izolasyonu. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2000; 47 (2): 157-66.

55. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Nalbantoğlu S, Vatansever Z. Türkiye'de tropikal theileriosis üzerinde araştırmalar. 1. Değişik kökenli *Theileria annulata* izolatlarının virulansı ile ilgili deneysel çalışmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2000; 47(1):1-11.

56. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Nalbantoğlu S, Vatansever Z, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Brown CGD, Melrose R. Türkiye'de tropikal theileriosis üzerinde araştırmalar. 3. *Theileria annulata* ile deneysel olarak enfekte edilmiş buzağılar üzerinde beslenen 4. *Hyalomma* (Ixodidae) türünün enfeksiyon oranları üzerinde karşılaştırmalı çalışmalar. Türkiye Parazitol Derg 2001; 25(3): 258-64.

57. Shiels B, Langsley G, Weir W, Pain A, McKellar S, Dobblaere. Alternation of host cell phenotype by *Theileria annulata* and *T. parva*: mining for manipulators in the parasite genomes. Int J Parasitol 2006; 36: 9-21.

58. Somerville RPT, Adamson RE, Brown CGD, Hall FR. Metastasis of *Theileria annulata* macroschizont-infected cells in scid mice is mediated by matrix metallopreteinases. Parasitology 1998; 116:223-28.

59. Sylla BS, Hung SC, DM Davidson, E Hatzivassiliou, NL Malinin, D Wallach, TD Gilmore, Kieff E, Mosialos G. Epstein-Barr virüs-transforming protein latent infection membrane protein 1 activates transcription factor NF-kB through a pathway that includes the NF-kB-inducing kinase and the IkB kinases IKKα and IKKβ. Proceeding of the National Academy of Sciences USA 1998; 95: 10106-11.

60. Uilenberg G, Goff WL. Polyphasic taxonomy. Ann N Y Acad Sci 2006; 1081: 492-7.

61. Uilenberg G. Highlights in recent research on tick-borne diseases of domestic animals. J Parasitol 1986; 72: 485-91.

62. Ververken C, Geysen D, Loots K, Janssens EM, Guisez Y, Goddeeris BM. Orientation of bovine CTL response toward PIM, an antibody -inducing surface molecule of *Theilera parva* by DNA subunit immunization. Vet Immunol Immunopathol 2008; 124: 253-63.

63. Werling D, Hope JC, Howard CJ, Jungi TW. Differential production of cytokines, reactive oxygen and nitrogen by bovine macrophages and dendritic cells stimulated with Toll-like receptor agonists. Immunology 2004; 111(1): 41-52.

Yazışma Adresi :

Prof. Dr. Abdullah İNCİ
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Parazitoloji Anabilim Dalı
Tel: 0352 339 94 84/29940
e-mail: ainci@erciyes.edu.tr