

Histopathological investigating of brain lesions caused by *Toxoplasma gondii* and ketamine-induced schizophrenia in mice after treatment with sulfadiazine-trimethoprim

Masoumi, S.M.¹, Youssefi, M.R.^{2*}, Shojaei, S.SH.R.¹.

Received: 12.08.2023

Accepted: 15.03.2024

Abstract

Toxoplasmosis is caused by the intracellular protozoan named, *Toxoplasma gondii*, in humans and animals. It is able to create parasitic cysts in various tissues during chronic infection, especially brain tissue. Considering the importance of this disease, which actually causes behavioral changes similar to schizophrenia in humans, this study is compared these two diseases based on histopathological analysis. 60 male BALB/c mice were randomly divided into 6 groups (10 mice in each group). Toxoplasmosis group is infected with 10^3 tachyzoites of *Toxoplasma gondii*. The ketamine group is induced schizophrenia by ketamine at a dose of 20 mg/kg for 14 days. Toxoplasmosis and ketamine group is induced schizophrenia after eight weeks of infection with *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmosis and sulfadiazine-trimethoprim group is received sulfadiazine and trimethoprim through oral gavage at doses of 100 and 2 mg/kg, respectively, for 14 days, eight weeks after infection with *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmosis, ketamine, and sulfadiazine-trimethoprim group is infected with *Toxoplasma gondii* and received ketamine, sulfadiazine, and trimethoprim for 14 days after infection, eight weeks after infection with *Toxoplasma gondii*. The control group is received normal saline. After euthanizing, the brains were isolated and kept in 10% buffered formalin and transferred to the pathology department. Tissue samples were cut with a thickness of 5 micrometers and stained by hematoxylin and eosin. Histopathological observations of the toxoplasmosis group showed the presence of parasite cysts, neuron apoptosis, gliosis, eosinophilic neurons, perivascular cuffs, and tissue necrosis. Gliosis and neurodegenerative changes were seen in the schizophrenic group. In the treated group, there was a decrease in parasitic cysts and inflammatory cells compared to the infected group ($P < 0.05$). The total number of cells including neurons, astrocytes and oligodendrocytes in the control group has a significant

difference ($P < 0.05$) with other groups, while the number of microglia cells between the control group and the toxoplasmosis and toxoplasmosis+ schizophrenia was significant ($P < 0.05$) and between the control and toxoplasmosis treated groups, with schizophrenia was not significant ($P > 0.05$). There was no significant difference between groups 2, 3, 4, 5 and 6 for the total number of counted cells, neurons and oligodendrocytes ($P > 0.05$). According to astrocytes, there was a significant difference between the toxoplasmosis-schizophrenic groups and the toxoplasmosis group ($P < 0.05$) and there was no significant difference between groups 2, 3, 5 and 6 and between groups 2, 4, 5 and 6. Also, the neuron size was not significant in any of the groups ($P > 0.05$).

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Schizophrenia, Mice, Histopathology, Sulfadiazine and Trimethoprim.

1. Department of Veterinary Parasitology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2. Department of Veterinary Parasitology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

*Corresponding author: youssefi929@hotmail.com

بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک مغزی ناشی از توکسوپلازما گوندی و شیزوفرنی القاء شده با کتامین در موش پس از درمان با سولفادiazین - تریمتوپریم

معصومی، س.م.^۱، یوسفی، م.ر.^۲، شجاعی، س.ش.ر.^۱

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۵

خلاصه

بیماری توکسوپلازماسموزیس در انسان و حیوانات در اثر آلودگی با تک یاخته درون سلولی توکسوپلازما گوندی ایجاد میشود که طی عفونت مزمن قادر بوده کیست های انگلی در بافت های مختلف علی الخصوص بافت مغز ایجاد کند. با توجه به اهمیت این بیماری که در واقع موجب تغییرات رفتاری هم سو با بیماری شیزوفرنی در انسان می شود، این مطالعه به بررسی و مقایسه این دو بیماری از لحاظ هیستوپاتولوژی پرداخته است. تعداد ۶۰ موش نر BALB/c به طور تصادفی به ۶ گروه ده تایی تقسیم شدند. گروه توکسوپلازماسموز که با ۱۰^۳ تاکی زوآئیت از توکسوپلازما گوندی آلوده شدند. گروه کتامین که با استفاده از کتامین با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز القاء شیزوفرنی در آنها انجام گرفت. گروه توکسوپلازماسموز و سولفادiazین و تری متوپریم که موش ها آلودگی موش ها با توکسوپلازما گوندی، القاء شیزوفرنی انجام شد. گروه توکسوپلازماسموز و سولفادiazین و تری متوپریم که موش ها هشت هفته پس از آلودگی با توکسوپلازما گوندی، سولفادiazین و تری متوپریم را از طریق گاواژ خوراکی به ترتیب با دوزهای ۱۰۰ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. گروه توکسوپلازماسموز، کتامین و سولفادiazین و تری متوپریم که موش ها با توکسوپلازما گوندی آلوده شدند و هشت هفته پس از عفونت، کتامین، سولفادiazین و تری متوپریم را به مدت ۱۴ روز دریافت کردند. گروه کنترل که موش ها نرمال سالیین دریافت کردند. پس از یوتانایز موش ها، مغز ها جداسازی شده و در فرمالین بافر ۱۰ درصد نگهداری شد و به بخش پاتولوژی انتقال یافت و نمونه های بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر زده شدند و با رنگ هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. مشاهدات هیستوپاتولوژیک مربوط به مغز موش های گروه توکسوپلازماسموز، حاکی از وجود کیست انگل، آپوپتوز نورون، گلیوز و نورون های ائوزینوفیلیک و التهاب اطراف عروقی و نکروز بافتی بوده است. در گروه شیزوفرن گلیوز و تغییرات نورودژنراتیو دیده شد. در گروه درمان شده کاهش کیست انگلی و سلول های التهابی نسبت به گروه آلوده دیده شد ($P < 0.05$). تعداد کل سلول ها اعم از نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت در گروه کنترل با سایر گروه ها دارای تفاوت معنادار ($P < 0.05$) بوده است و این در حالیست که تعداد سلول های میکروگلیا در بین گروه کنترل با گروه توکسوپلازماسموز و توکسوپلازماسموز-شیزوفرن معنادار بوده ($P < 0.05$) و بین گروه های کنترل و توکسوپلازماسموز درمان شده و شیزوفرن معنادار نبوده است ($P > 0.05$). تفاوت معناداری بین گروه های ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ از جهت معناداری برای تعداد کل سلول های شمارش شده، نورون و الیگودندروسیت وجود نداشته ($P > 0.05$) و در مورد آستروسیت تفاوت معنادار تنها بین گروه های توکسوپلازماسموز-شیزوفرن با گروه توکسوپلازماسموز بوده است ($P < 0.05$) و بین گروه های ۲، ۳، ۴ و ۵ تفاوت معنادار وجود نداشته و بین گروه های ۲، ۳، ۴ و ۵ نیز تفاوت معنادار وجود نداشته است ($P > 0.05$). همچنین سائز نورون نیز در هیچکدام از گروه ها معنادار نبوده است ($P > 0.05$).

واژه های کلیدی: توکسوپلازما گوندی، شیزوفرنی، موش، هیستوپاتولوژی، سولفادiazین و تریمتوپریم.

۱. گروه انگل شناسی دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۲. گروه انگل شناسی دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

*نویسنده مسئول: youssefi929@hotmail.com

روده گربه شکل می‌گیرد. تاکی زوآئیت داخل سلولی و برادی زوآئیت نشاندهنده سیکل غیر جنسی انگل بوده و کیست در بافت‌های مختلف مثل مغز، چشم و عضلات قلب و اسکلتی تشکیل می‌شود. همچنین، توکسوپلازما گوندی قادر به آلودگی نوروها نیز بوده است (Cabral et al., 2016).

توکسوپلازما گوندی در محل عفونت اولیه در روده باعث آلودگی سلول‌های ایمنی شده و از آنها به منظور مهاجرت و نفوذ به بافت مغز استفاده می‌کند. این انگل استراتژی‌های گوناگونی برای غلبه بر سد خونی مغزی دارد که در مراحل اولیه عفونت با علائمی مانند تب، خستگی و بزرگی عقده های لنفوی همراه است (Elsheikha et al., 2020). در بافت عصبی ضایعات جبران ناپذیری ایجاد کرده و با تهاجم و کلونیزه شده این انگل در بافت مغز و تشکیل کیست نهایتاً منجر به ایجاد اختلالات نورولوژیک در فرد می‌شود (Daher et al., 2021).

عفونت در انسان به واسطه بلع آب یا غذای آلوده به اوویست‌های آلوده یا گوشت آلوده به کیست‌های نهفته (Latent) و به وسیله انتقال مادر-فرزند و یا با آلوگرفت آلوده در حین پیوند ارگان می‌باشد (Dunay et al., 2018). درمان توکسوپلازموزیس با تلفیق آنتی میکروب-هایی از این دو دسته دارویی همراه است، دسته اول شامل مهارکننده‌های دیهیدروفولات ردوکتاز (DHFR) اعم از تریمتوپریم یا پیریمتامین و دسته دوم دیهیدروپتروآت سنتتاز که منجر به بلوک سنتز فولیک اسید می‌شوند و شامل دسته دارویی سولفانامید ها اعم از سولفادiazین، سولفامتوکسازول و سولفادوکسین می‌باشند (Dunay et al., 2018).

عفونت مزمن توکسوپلازما گوندی در جوندگان با اختلال عملکرد سیستم عصبی مرکزی، شامل تغییرات در سطوح انتقال دهنده های عصبی، بیان پروتئین و تغییرات رفتاری مانند بیش فعالی و اختلالات شناختی همراه است (Daher et al., 2021). در انسان، توکسوپلازموز مزمن با اختلال دوقطبی، صرع، روان پریشی و شیزوفرنی ارتباط دارد (Matta et al., 2021; Oncu-Oner and Can, 2022). اختلالات در انتقال دهنده های عصبی مختلف و مسیرهای سیگنالینگ از جمله دوپامین و اسید گاما آمینو بوتیریک در موش های آلوده به

توکسوپلازما گوندی یک تک یاخته درون سلولی متعلق به گروه آپی کامپلکسا بوده که قادر به آلوده کردن طیف وسیعی از حیوانات خونگرم است (Montazeri et al., 2015). اگرچه میزان های میانی آن بسیار متفاوت است لکن گربه ها به طور منحصر به فردی به عنوان میزبان قطعی عمل می‌کنند (Dubey, 2008). یک سوم از جمعیت جهان از لحاظ سرمی نسبت به توکسوپلازما گوندی مثبت می‌باشند (Castaño et al., 2022). توکسوپلازموز بیماری مشترک انسان و دام است که در سرتاسر جهان انتشار دارد. تقریباً 500 میلیون نفر دارای آنتی بادی ضد این تک یاخته هستند. توکسوپلازموز در مناطق معتدل، گرم و مرطوب شیوع بیماری بیشتر است و در مناطق سرد، خشک و کویری به حداقل میرسد (Torgerson & Mastroiacovo, 2013; Stanic & Fureš, 2020). آزمایش‌های سرولوژیکی انجام شده در ایران نشان میدهد که میزان شیوع عفونت توکسوپلازما گوندی در ایران 39% بوده و در هر منطقه متفاوت بوده است به طور مثال در ساکنین سواحل دریای خزر 55%، در استان آذربایجان غربی 23% و در استان فارس 29% گزارش شده است. (Youssefi et al., 2007; Daryani et al., 2014).

این انگل منجر به ایجاد بیماری توکسوپلازموزیس به دو فرم حاد و مزمن بوده که فرم حاد به واسطه حضور فرم تاکی‌زوآئیت در گردش و فرم مزمن به واسطه تشکیل کیست حاوی برادی زوآئیت در بافت شناخته می‌شوند (Dzierszinski et al., 2004; Elsheikha et al., 2020). زمانی که انگل وارد میزبان شد، مرحله تکثیر سریع تاکی زوآئیت انگل جای خود را به فاز مزمن می‌دهد که شامل برادیزوآئیت‌های آهسته تکثیر شده در بافت‌های میزبان است. این کیست‌ها که برادیزوآئیت‌ها را در خود جای داده اند، عفونت‌های مادام‌العمر را در بافت‌های مختلف ایجاد می‌کنند و تمایل قابل توجهی به سیستم عصبی مرکزی دارند (Smith et al., 2021). به طور کل این انگل دارای سه فرم اوویسیست (متشکل از اسپوروزوآیت)، تاکی زوآئیت و کیست بافتی (متشکل از برادی زوآیت) است. اوویسیست محصول آخر تولید جنسی انگل بوده و در

توکسوپلازما گوندی مشاهده شده است (Almeria and Dubey, 2021).

شیزوفرنی یک اختلال بوده به شکل مشکل در روند تفکر و فقدان پاسخ های احساسی تپیک شناخته می شود (Faizi, et al., 2014). تظاهرات شایع این بیماران اعم از توهم و اختلال در تفکر، توهمات شنیداری، اختلال پارانوئید، اختلال در تکلم، ناهماهنگی های اجتماعی و شعلی و هذیان می باشد (Van Os and Kapur, 2009). علائم شناختی این بیماری شامل اختلال در حافظه کاری، نقص توجه، تفکر بی نظم و انعطاف ناپذیری شناختی است که میتواند بر عملکرد اجتماعی فرد تأثیر منفی بگذارد و منجر به کاهش کیفیت زندگی فرد شود (Guessoum et al., 2020). کتامین یک آنتاگونیست رسپتور-N-methyl-D-aspartate (NMDAR) بوده که میتواند رفتار شبه شیزوفرنی را در جوندگان ایجاد کند و باعث تشدید روانپریشی در بیماران مبتلا به شیزوفرنی میشود. مکانیسم اثر کتامین بسته به زمان و دوز مصرف دارد. مصرف حاد کتامین در دوزهای زیر بیهوشی اثرات ضد افسردگی در انسان و حیوانات دارد. از طرف دیگر، مصرف مزمن این دارو که به عنوان مدل دارویی شیزوفرنی می باشد منجر به هذیان، توهم و علائم منفی مشابه با علائم شیزوفرنی را القاء میکند (McCutcheon et al., 2019).

مطالعات فراوانی نشان دادند که عفونت توکسوپلازمایی باعث آسیب بافت مغز می شود، که خود می تواند یکی از عوامل اصلی در ابتلاء به شیزوفرنی محسوب شود. همچنین نشان داده شده است که افراد دچار مشکلات روانی بیشتر در معرض ابتلا به بیماری توکسوپلازموزیس هستند . (Carruthers & Suzuki, 2007; Xiao et al., 2009)

در مطالعه Wang و همکاران که در سال 2019 انجام گرفت تغییرات رفتاری، آسیب پاتولوژیک و مسیر سیگنال مرتبط در موش های آلوده به توکسوپلازما گوندی با استفاده از تست رفتاری، هیستوپاتولوژی و رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس مورد بررسی قرار گرفت نشان داد که موش ها دو ماه بعد از ابتلا به عفونت با توکسوپلازما گوندی، اختلالات عصبی و رفتاری را بروز دادند و همینطور در نمونه های هیستوپاتولوژی فعال شدن آستروسیت ها، آپوپتوز نورون ها و کاهش سیناپس ها در مغز موش های

آلوده نشان داده شد. همچنین ترشح سیتوکین ها و کموکاین ها در مغز موش های آلوده به توکسوپلازما گوندی در مقایسه با موش های غیر آلوده بصورت معنی داری بیشتر بوده است (Wang et al., 2019).

با توجه به اینکه توکسوپلازموز مزمن ناشی از آلودگی با تک یاخته توکسوپلازما گوندی می تواند علائم رفتاری مشابه با شیزوفرنی ایجاد کند، مطالعه حاضر به بررسی این بیماری عفونی و شیزوفرنی از منظر هیستوپاتولوژیک پرداخته است.

مواد و روش کار

از نژاد آلبینوی سویسی با میانگین وزن 25 ± 30 گرم از انستیتو پاستور مرکز تحقیقاتی شمال کشور/BALB/c تعداد 60 موش نر از مرکز فرانس توکسوپلازموزیس دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شد. این سویه (Toxoplasma-Pru) و سوش توکسوپلازما مزمن جمع آوری شد. موشها پس از یک هفته سازگاری، به طور تصادفی به شش BALB/c از کیستهای مغزی موش های آلوده به گروه به شرح زیر تقسیم شدند. موش ها در شرایط استاندارد با درجه حرارت 23 ± 2 و رطوبت نسبی 55 ± 5 درصد، سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با دسترسی آزاد آب و غذا نگه داری شدند.

گروه اول (توکسوپلازموز): موش های این گروه از طریق تزریق داخل صفاقی 10^3 تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی معلق در ۰.۱ میلی لیتر سالین استریل فسفات بافر شده آلوده شدند.

(Martynowicz et al., 2020)

گروه دوم (کتامین): شیزوفرنی با تزریق داخل صفاقی کتامین با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز القاء شد. (Monte et al., 2013)

گروه سوم (توکسوپلازموز و کتامین): موش ها ابتدا با توکسوپلازما گوندی آلوده شدند و پس از هشت هفته، القای شیزوفرنی با تزریق کتامین با دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز انجام گرفت.

گروه چهارم (توکسوپلازموز و سولفادiazین و تری متوپریم): موش ها با توکسوپلازما گوندی آلوده شده و هشت هفته پس از آلودگی، سولفادiazین و تری متوپریم را به ترتیب با

دوزهای ۱۰۰ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز از طریق گاوژ خوراکی دریافت کردند.

گروه پنجم (توکسوپلاسموز، کتامین و سولفادiazین و تری‌متوپریم): موش‌ها ابتدا با توکسوپلاسمای گوندی آلوده شده و هشت هفته پس از عفونت، به مدت ۱۴ روز کتامین، سولفادiazین و تری‌متوپریم را با دوزها و روش‌های فوق‌الذکر دریافت کردند.

گروه ششم (کنترل): موش‌های این گروه نرمال سالیین دریافت کرده و به عنوان گروه کنترل استفاده شدند.

کتامین از شرکت Trittau-Rotexmedica آلمان، سولفادiazین و تری‌متوپریم از شرکت داروسازی ارس بازار (آمل، ایران)، و سالیین بافر فسفات از شرکت Art-med تهران، ایران تهیه شدند. اصول اخلاقی مرتبط با کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتوی ملی و سلامت و کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج (IR.IAU.K.REC.1401.137) در تمام مراحل آزمایش رعایت شد.

روش انجام تست پاتولوژی بر روی مغز موش های مورد مطالعه:

پس از یوتانایز موش‌ها از هر گروه مغزها جداسازی شده و در فرمالین بافر ۱۰ درصد نگهداری شد و به بخش پاتولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج انتقال یافت. نمونه‌ها با دستگاه پردازشگر بافت برش داده شد و بلوک‌های پارافینی از نمونه‌ها تهیه گردید. سپس نمونه‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر با رنگ همتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. مقاطع زنگ آمیزی شده با میکروسکوپ الیمپوس (Olympus, Japan) با بزرگنمایی‌های بین ۴۰ تا ۴۰۰ برابر مورد بررسی قرار داده شدند و با استفاده از دوربین عکس برداری دیجیتال (Olympus, Tokyo, Japan) عکس از اسلایدها تهیه گردید. تعداد سلول‌های التهابی، آستروسیت، الیگودندروسیت، میکروگلیا، نورون و تعداد کیست‌های انگل و همچنین سایز نورون‌ها به وسیله (MediaCybernetics, SilverSpring, Magnification X400) Image-Pro Plus®V.6 شمارش و اندازه‌گیری گردید. در هر کدام از گروه‌ها، تعداد این موارد ذکر شده مورد محاسبه میانگین و انحراف معیار قرار گرفته و سپس داده‌ها به طور مقایسه‌ای مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

تحلیل آماری:

داده‌های هیستوپاتولوژی تحت آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی آنالیز شد. مقدار P زیر ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد و تمام تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از SPSS نسخه ۲۶ انجام شد.

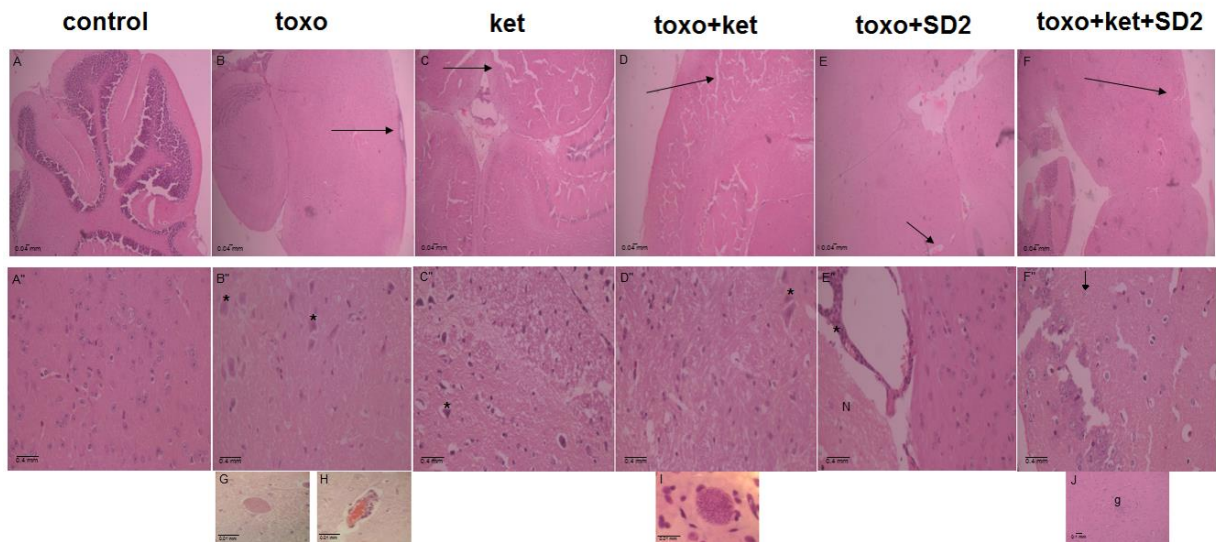
نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی:

در مشاهدات هیستوپاتولوژیک مغز موش‌های گروه کنترل هیچ گونه تغییرات پاتولوژیک مشاهده نگردید (شکل ۱). مشاهدات هیستوپاتولوژیک مربوط به مغز موش‌های گروه توکسوپلاسموز، حاکی از وجود کیست انگل که نشان از آلودگی مزمن انگلی به واسطه توکسوپلاسمای گوندی بوده است. دیگر تغییرات هیستوپاتولوژیک مربوط به این گروه شامل آپوپتوز نورون، (PVC) (perivascular cuffs) التهاب اطراف عروقی و نکروز بافتی بوده است. مشاهدات هیستوپاتولوژیک مغز موش‌های گروه شیزوفرین به علت استفاده از داروی کتامین نمایانگر گلیوزیس و تغییرات نورودژنراتیو در بافت عصبی مرکزی بوده است. مشاهدات هیستوپاتولوژیک مغز موش‌های گروه توکسوپلاسموزیس و شیزوفرین، حاکی از تاثیرات استفاده از داروی کتامین که منجر به تغییرات نورودژنراتیو در بافت عصبی مرکزی بوده است. همچنین کیست انگل به علت آلودگی مزمن با توکسوپلاسمای گوندی قابل رویت بوده است. به علاوه گلیوز و نورون‌های ائوزینوفیلیک نیز دیده شد که بیانگر پاسخ سلول‌های عصبی به ضایعات وارد شده به این بافت بوده است. مشاهدات هیستوپاتولوژیک مغز موش‌های گروه درمان شده با مصرف داروی سولفادiazین و تری‌متوپریم علیه آلودگی مزمن با توکسوپلاسمای گوندی حاکی از کاهش کیست انگلی

به بافت مغز و تغییرات نورودژنراتیو به علت القاء با داروی کتامین بوده است. اغلب ضایعات در کورتکس مغز وجود داشته است.

نسبت به گروه آلوده با این تک یاخته بوده است. همچنین به علت درگیری با توکسوپلاسموز ضایعات هیستوپاتولوژی اعم از التهاب اطراف عروقی و نکروز بافتی در مغز موش های این گروه نیز دیده شد. مشاهدات هیستوپاتولوژیک مغز موش های گروه توکسوپلاسموز درمان شده و شیزوفرن علاوه بر کاهش کیست انگلی نسبت به گروه آلوده با این انگل، به علت مصرف داروی سولفادiazین و تریمتوپریم علیه آلودگی با توکسوپلاسموز، نمایانگر گلیوز به علت ایجاد آسیب



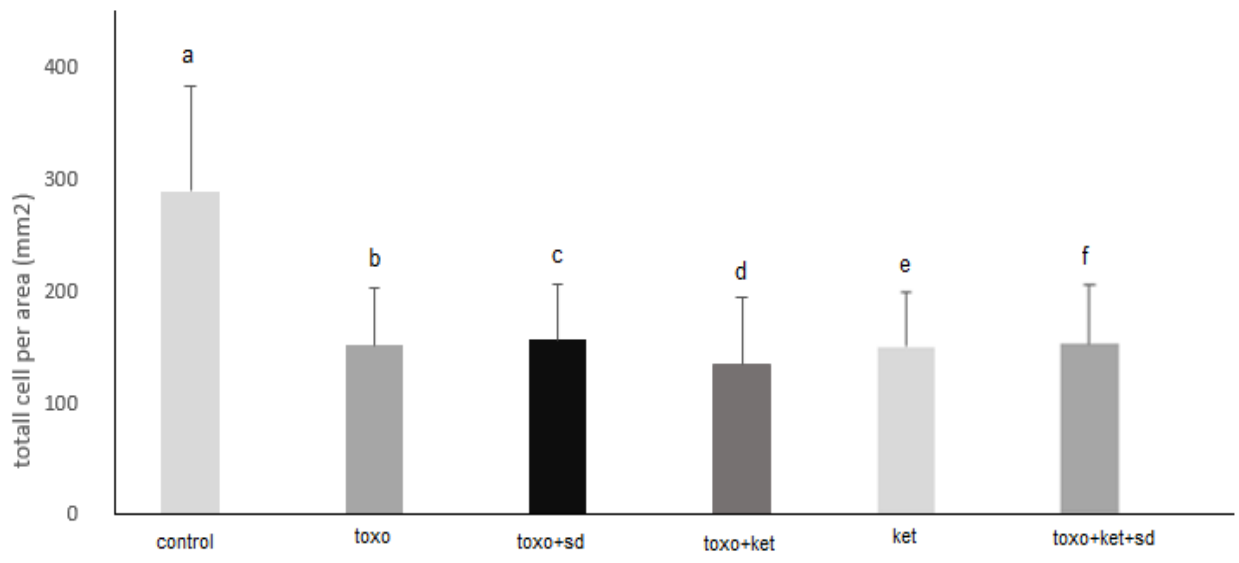
شکل ۱. تصاویر آسیب شناسی مغز موش گروه‌های مورد مطالعه با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. A, A' : تصویر هیستوپاتولوژیک مغز موش گروه کنترل. B, B' : تصویر هیستوپاتولوژیک مغز موش گروه آلوده با توکسوپلاسمای گوندی. التهاب اطراف عروقی لنفوسیتی با پیکان نشان داده شده است. * نمایانگر نوروآنژیوفیلیک بوده است. C, C' : تصویر هیستوپاتولوژیک مغز موش گروه شیزوفرن القایی با کتامین. تغییرات دژنراتیو و نکروز بافتی با پیکان نشان داده شد. * نمایانگر نوروآنژیوفیلیک بوده است. D, D' : تصویر هیستوپاتولوژیک مغز موش گروه آلوده با توکسوپلاسمای گوندی و شیزوفرن القایی با کتامین. تغییرات دژنراتیو و نکروز بافتی با پیکان نشان داده شد. * نمایانگر نوروآنژیوفیلیک بوده است. E, E' : تصویر هیستوپاتولوژیک مغز موش گروه آلوده با توکسوپلاسمای گوندی و درمان شده با سولفادiazین و تری متوپریم. پیکان نمایانگر کاهش التهاب اطراف عروقی است. * التهاب اطراف عروقی. N: نکروز. F, F' : تصویر هیستوپاتولوژیک مغز موش گروه آلوده با توکسوپلاسمای گوندی و درمان شده با سولفادiazین و تری متوپریم و شیزوفرنی القایی با کتامین. پیکان نمایانگر تغییرات دژنراتیو است (F). پیکان نمایانگر سلول گلیال آپتوز شده است (F'). G, I (F'') : کیست بافتی ناشی از درگیری با توکسوپلاسمای گوندی. H: التهاب اطراف عروقی. J: g: گلیوز.

بررسی هیستومورفومتری انجام شده بر روی مقاطع بافتی در گروه‌های مختلف نشان داد که تعداد کل سلول‌ها، شامل نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت، در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها تفاوت معناداری داشته است. ($P < 0.05$) در حالی که تعداد سلول‌های میکروگلیا بین گروه کنترل و گروه‌های توکسوپلاسموز و توکسوپلاسموز-شیزوفرن تفاوت معناداری نشان داد ($P < 0.05$)، اما بین گروه‌های کنترل، توکسوپلاسموز درمان شده و شیزوفرن تفاوت معناداری مشاهده نشد. ($P > 0.05$) همچنین، تفاوت معناداری بین گروه‌های ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ از نظر تعداد کل سلول‌های شمارش شده، نورون‌ها و الیگودندروسیت‌ها وجود نداشت ($P > 0.05$). در خصوص آستروسیت‌ها، تفاوت معنادار تنها بین گروه توکسوپلاسموز-شیزوفرن و گروه توکسوپلاسموز مشاهده شد ($P < 0.05$)، در حالی که بین گروه‌های ۲، ۳، ۵ و ۶ و همچنین گروه‌های ۲، ۴، ۵ و ۶ تفاوت معناداری دیده نشد ($P > 0.05$). علاوه بر این، اندازه نورون‌ها در هیچ کدام از گروه‌ها تفاوت معناداری نداشت ($P > 0.05$). (جدول ۱؛ شکل‌های ۲ تا ۷).

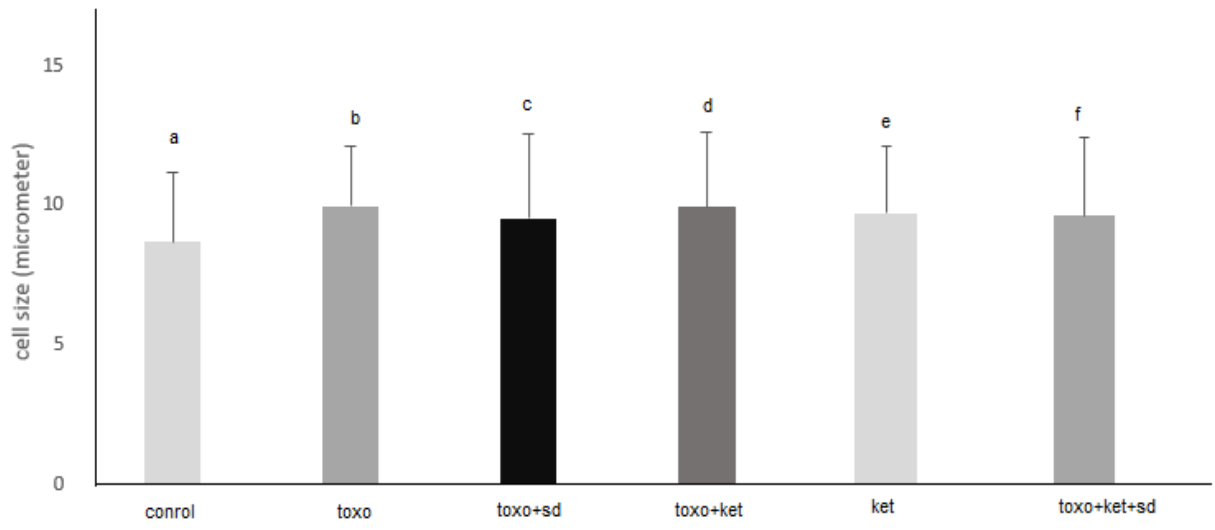
جدول ۱. آنالیز هیستومورفومتری و سایز نورون در مغز موش.

Mean \pm SD						
Exp. Group	Total cell per area (mm ²) (A)	Cell size (micrometer) (B)	Neuron (C)	Astrocyte (D)	Oligodendrocyte (E)	Microglia (F)
Control (1)	289.95 \pm 93.21	8.66 \pm 2.49	162.21 \pm 42.85	68.31 \pm 34.29	45.97 \pm 9.57	13.46 \pm 6.5
Toxoplasmosis (2)	151.32 \pm 51.31	9.95 \pm 2.14	81.59 \pm 31.66	28.45 \pm 9.10	15.5 \pm 1.87	25.78 \pm 8.68
Toxoplasmosis+SD2 (3)	156.78 \pm 49.23	9.51 \pm 2.99	84.12 \pm 24.44	37.75 \pm 12.97	16.22 \pm 3.71	18.69 \pm 8.11
Toxoplasmosis + ketamine (4)	134.95 \pm 60.21	9.87 \pm 2.7	72.36 \pm 23.89	20.97 \pm 14.2	15.5 \pm 11.5	26.21 \pm 10.62
Ketamine (5)	149.65 \pm 48.12	9.68 \pm 2.43	79.92 \pm 33.65	27.93 \pm 5.97	23.66 \pm 4.68	18.14 \pm 3.82
Toxoplasmosis+ketamine+SD2 (6)	152.34 \pm 53.51	9.59 \pm 2.81	82.08 \pm 36.67	29.77 \pm 6.3	21.58 \pm 5.1	18.91 \pm 5.44

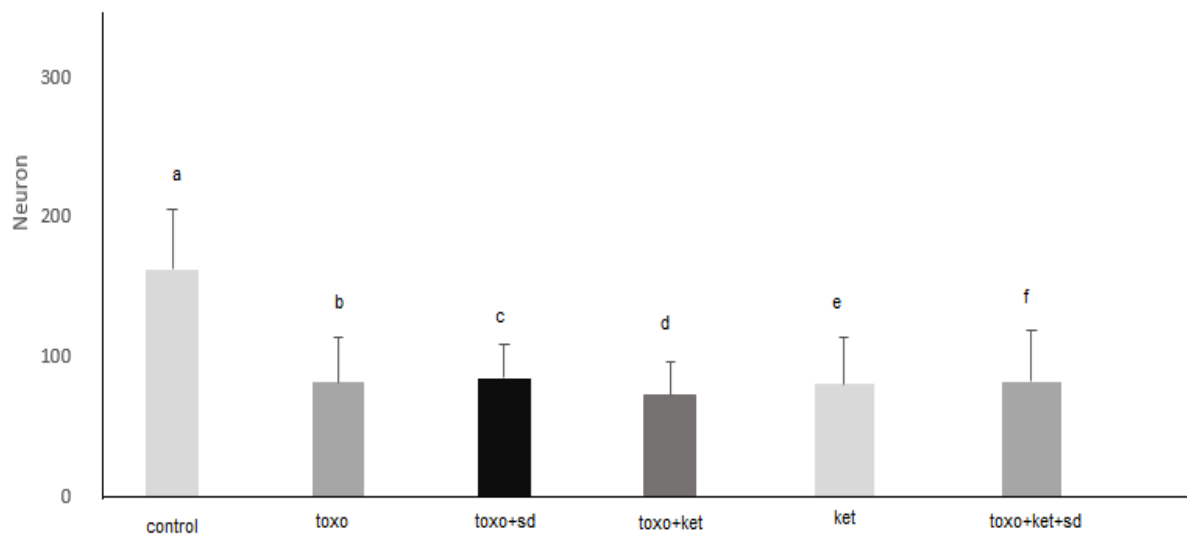
One-way ANOVA followed by Tukey post hoc test. [A, C, D, E: $P < 0.05$ (1 vs. 2, 3, 4, 5, 6), D: $P < 0.05$ (3 VS. 4)]. [F: $P < 0.05$ (1, vs 2, 4)].



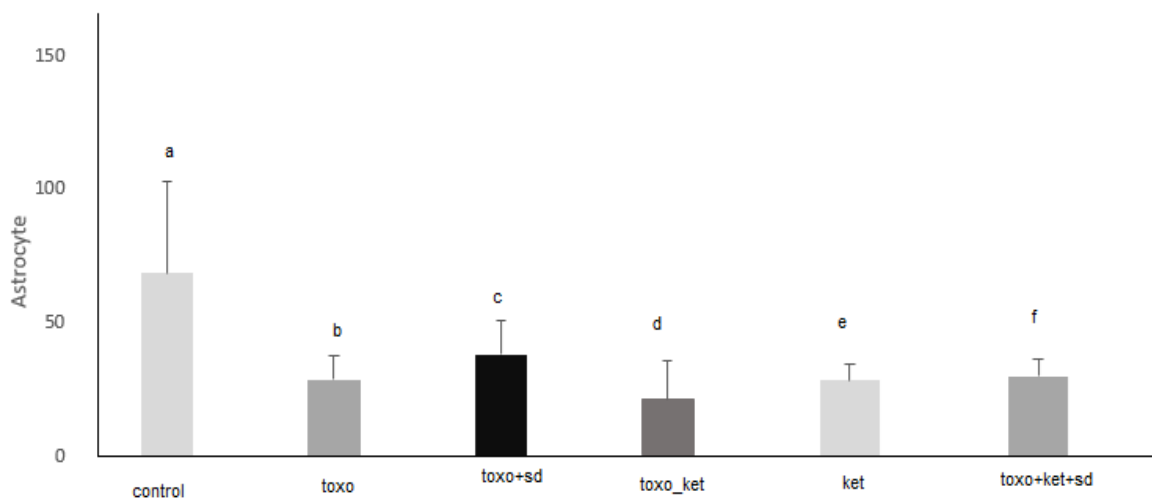
شکل ۲. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد کل سلول در گروه های آزمایشی. ($P < 0.05$ (a vs. b, c, d, e, f).



شکل ۳. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار سبب سلول در گروه های آزمایشی. هیچ تفاوت معناداری بین گروه ها وجود نداشته است ($P > 0.05$).

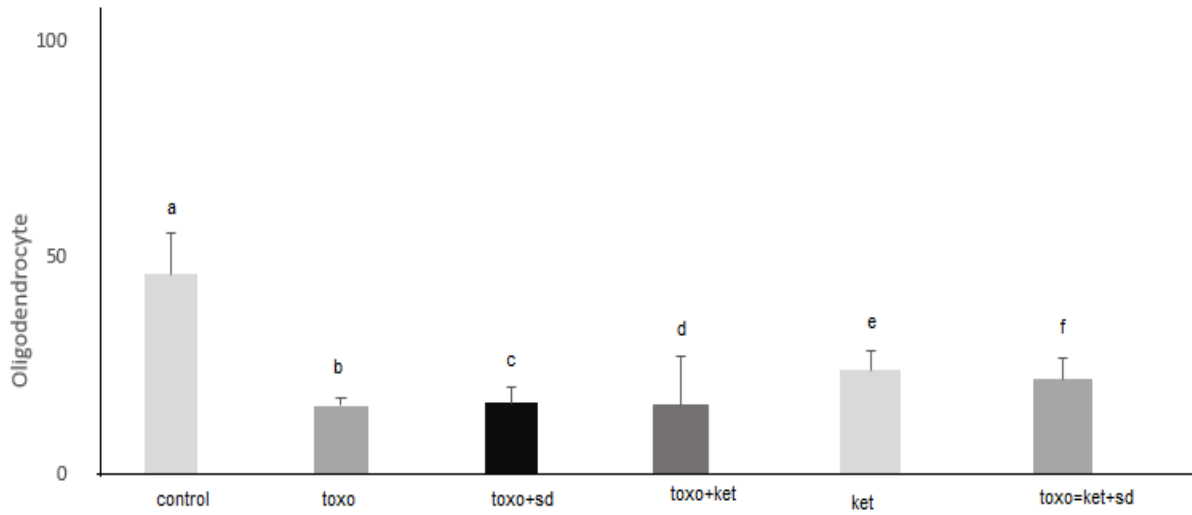


شکل ۴. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد نورون در گروه های آزمایشی. $P < 0.05$ (a vs. b, c, d, e, f).

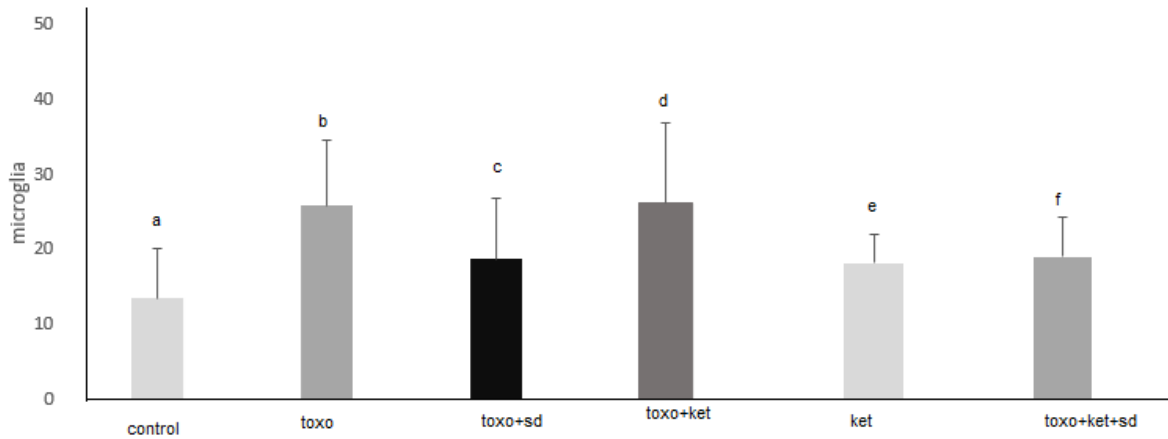


شکل ۵. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد آستروسیت در گروه های آزمایشی. $P < 0.05$ (a vs. b, c, d, e, f).

. $P < 0.05$ (c vs. d)

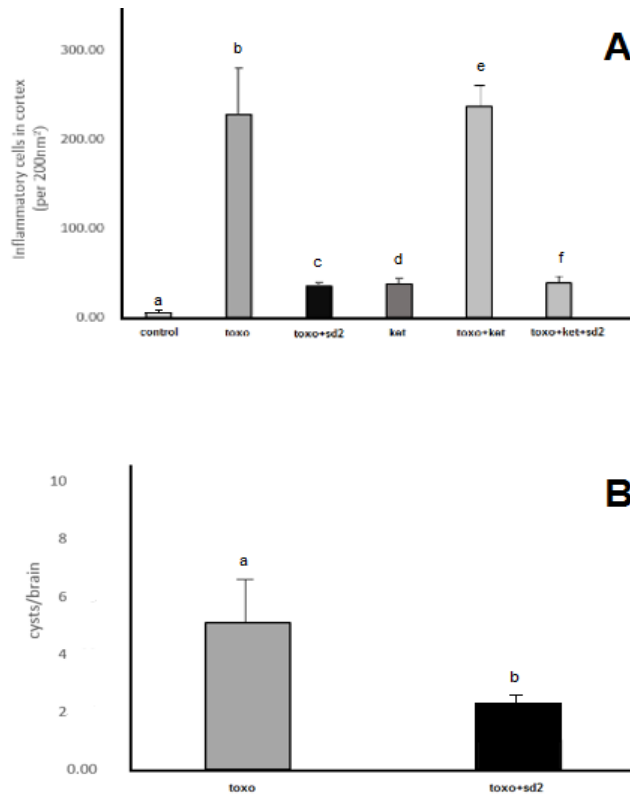


شکل ۶. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد الیگودندروسیت در گروه های آزمایشی $P < 0.05$ (a vs. b, c, d, e, f)



شکل ۷. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد میکروگلیا در گروه های آزمایشی. $P < 0.05$ (a, vs b, d).

تعداد کیست انگلی شمارش شده در گروه توکسوپلاسموز و درمان شده حاکی از کاهش تعداد کیست های بافتی انگل پس از درمان با سولفادiazین و تری متوپریم بوده است. همچنین تعداد سلول های التهابی در کورتکس مغز موش گروه های مختلف نشان از افزایش سلول های التهابی در گروه آلوده به توکسوپلاسم و کاهش سلول های التهابی در گروه درمان شده بوده است (شکل ۸).



شکل ۸. نمودار مقایسه میانگین و انحراف معیار تعداد سلول های التهابی و کیست در گروه های آزمایشی. A: تعداد سلول های التهابی در کورتکس مغز موش ها در گروه های مختلف. B: تعداد کیست در مغز موش های گروه آلوده به توکسوپلاسموز و درمان شده (log₁₀).

A: a vs. b, e: $P < 0.001$, a vs. c, d, f: $P < 0.01$. B: a vs. b: $P < 0.05$

بحث

مطالعات زیادی نشان دادند که بین توکسوپلاسموز و شیزوفرنی ارتباط تنگاتنگی وجود دارد بدین صورت که توکسوپلاسماز گوندی را به عنوان عامل ایجاد علائم مختلف عصبی و روانپزشکی پیشنهاد کردند و اذعان داشتند که توکسوپلاسموز از جهات مختلفی با رنج وسیعی از موارد شیزوفرنی در انسان مرتبط است (Schwarcz and Hunter, 2007; Elsheikha et al., 2016; Fuglewicz et al., 2017). در مدل‌های حیوانی نیز حاکی از آن بود که توکسوپلاسماز گوندی می‌تواند رفتار طبیعی میزبان خود را تغییر دهد تا شانس توزیع خود را افزایش دهد (Afonso et al., 2012). انگل تک یاخته ای نوروئروپیک، توکسوپلاسماز گوندی، تغییرات رفتاری خاصی را در جوندگان ایجاد می‌کند که منجر به کاهش بیزاری از شکارچی و کاهش اضطراب عمومی میشود (Boillat et al., 2020). به همین جهت در این مطالعه به بررسی هیستوپاتولوژیک و مقایسه ای این دو بیماری پرداخته شد و مشخص شد که هردو بیماری آسیب به نورون های مغز موش های گروه های درگیر کرده است.

با توجه به اینکه طی مطالعه حاضر توانسیم نشان دهیم که پس از درمان عفونت توکسوپلاسموز با داروهای رایج اعم از سولفادایازین و تریمتوپریم، ضایعات مربوط به بافت عصبی کاهش یافته و باعث کاهش لود کیست بافتی انگل در این بافت شده است، اما همچنان به علت درگیری بافت عصبی که موجب به ایجاد ضایعات جبران ناپذیری در این ارگان شده است، همچنان موضوع نقص های شناختی در اثر این بیماری مورد توجه میباشد. عفونت به توکسوپلاسماز گوندی می‌تواند به طور قابل توجهی بیان ژن های مرتبط با انتقال سیناپسی و رفتار شناختی را در قشر جلوی مغز موش کاهش دهد. تا به امروز، اگرچه عفونت انگلی به خوبی شناخته شده است که با مشکلات شناختی در حیوانات و انسان ارتباط دارد، اما هنوز هیچ درمان موثری در برابر نقصهای شناختی مرتبط با عفونت توکسوپلاسماز گوندی در دسترس نیست (Wu et al., 2023).

در انسان افسردگی، اضطراب، هایپراکتیویته و تغییر در عملکرد عصبی-شناختی با عفونت با توکسوپلاسماز گوندی در ارتباط است (Milne et al., 2020). اغلب این ناهنجاری ها به علت لود کیست مغزی، التهاب بافت

عصبی، اختلال در سد خونی مغزی و التهاب سیستمیک می‌باشد (Castaño et al., 2022). در مطالعه پیشین عفونت مزمن و طولانی مدت با تک یاخته توکسوپلاسماز گوندی در مغز موش های BALB/c مورد بررسی تست های رفتاری قرار گرفت که حاکی از آن بود که گروه های توکسوپلاسموز و شیزوفرن منجر به ایجاد رفتارهای متمایزی از جمله حرکت بیش از حد، اضطراب و اختلال حافظه شدند. همچنین سطح آنزیم آنتی اکسیدان کاهش یافت و پراکسیداسیون لیپیدی در مغز موش گروه توکسوپلاسموز و شیزوفرن افزایش یافت. کاهش NMDAR به ویژه NR-1 و NR2A بدلیل آلودگی با توکسوپلاسماز گوندی و القاء شیزوفرنی با داروی کتامین مشهود بود. در گروه درمانی دریافت کننده سولفادایازین و تری متوپریم کاهش بیان NMDAR بهبود بخشیده شده اما همه تغییرات رفتاری را کاهش نداد (Masoumi et al., 2024).

همچنین درمان با سولفادایازین-تری متوپریم میتواند باعث بهبود بخشی از کمبود حافظه در موشهای تحت درمان شود. دفاع آنتی اکسیدانی مغز نقش اساسی در محافظت در برابر آسیب های عصبی دارد. تخریب عصبی ناشی از توکسوپلاسماز گوندی، به آسیب اکسیداتیو در موش های آلوده به مغز نسبت داده می شود (Bottari et al., 2016). تجویز کتامین به موش باعث تغییر وضعیت آنتی اکسیدانی مغز و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شد که با یافته های مطالعه پیشین ما که کاهش سطوح SOD ، CAT و GPx و افزایش MDA را در موش های توکسوپلاسموزی و به ویژه توکسوپلاسموز-کتامین نشان داد، مطابقت دارد. میتوان اشاره کرد که پیامدهای مضر افزایشی عفونت توکسوپلاسموز و تجویز کتامین، اثرات منفی خود را بر وضعیت آنتی اکسیدانی مغز بدتر میکند. نظریه دوپامین شیزوفرنی برای چندین دهه نقطه عطف در علت شناسی این بیماری بوده است. با این حال، اخیراً تغییراتی به سمت نقش اصلی NMDARs در شیزوفرنی صورت گرفته است. برخلاف مدل دوپامینرژیک، طیف گسترده ای از علائم در شیزوفرنی و اختلال عملکرد عصبی روانشناختی آن را می‌توان به راحتی با دیدگاه گلوتامات-NMDA توضیح داد (Kantrowitz and Javitt, 2010).

در مطالعه Sun و همکاران که در سال 2013 در موش های صحرایی جوانی که مادرانشان در معرض استرس قبل از تولد (PS) قرار داشتند از نظر رفتارهای مرتبط با افسردگی در تست های رفتاری و تست ترجیح ساکارز مورد ارزیابی قرار گرفتند. زیر واحدهای گیرنده NMDA NR1 و NR2A در هیپوکامپ، قشر پیشانی با تست وسترن بلات مورد سنجش قرار گرفتند و نتایج نشان داد که استرس قبل از تولد منجر به چندین ناهنجاری رفتاری در آزمون های رفتاری می گردد. علاوه بر این، کاهش سطح زیر واحدهای گیرنده NR1 و NR2A در هیپوکامپ، و NR1 در موشهای جوان بعد از تولد یافت شد (Sun et al., 2013).

گیرنده های NMDA -D-آسپاراتات (NMDARs) نقش مهمی را در رشد و فیزیولوژی عصبی بر عهده دارند Nakazawa و Sapkota در سال 2020 نشان دادند که کاهش بیان ژن این گیرنده های در موش های BALB/C موجب تغییرات رفتاری مشابه با شیزوفرنی می شود و این تغییرات با تجویز داروهای آنتی شیزوفرنی مانند هالوپریدول بهبود می یابند. فرضیه کمکارکردی NMDAR در شیزوفرنی از مشاهده این موضوع نشأت میگیرد که دستهای از آنتاگونیستهای غیررقابتی NMDAR، مانند فن سیکلیدین و کتامین، رفتارهایی را القاء میکنند که یادآور نشانه های شیزوفرنی در افراد انسانی است. از آنجایی که آنتاگونیست های NMDAR علائم مشابه شیزوفرنی اصلی دارند، کم کاری NMDAR می تواند یکی از نقاط اصلی در پاتوفیزیولوژی شیزوفرنی باشد (Nakazawa & Sapkota, 2020) که این امر میتواند حاکمی از تشابهات در ضایعات ناشی از توکسوپلاسموز و شیزوفرنی باشد. در واقع اغلب این ضایعات در هر دو بیماری معطوف به تغییرات دیستروفیک سلول های بافت عصبی و آسیب های جبران ناپذیر در نورون های این بافت بوده است. بنابراین میتوان تشابه تغییرات رفتاری در این دو گروه را بر این اساس استنتاج کرد.

درمان توکسوپلاسموز به علت اینکه انگل درون سلولی بوده و از سد خونی مغزی عبور می کند بسیار چالش برانگیز است (Matta et al. 2021). براساس مطالعه حاضر از بعد هیستوپاتولوژیک، نشان داده شد که پس از درمان گروه آلوده در اثر عفونت مزمن با توکسوپلاسم گوندی توسط سولفادیازین و تریمتوپریم، تعداد کیست های بافتی در مغز

حاصل از این انگل نسبت به گروه آلوده به طور معناداری کاهش پیدا کرده است ($P < 0.05$) که حاکی از درمان موثر به واسطه داروهای ذکر شده بود. همچنین التهاب، احتقان و نواحی نکروز شده در گروه آلوده با توکسوپلاسم گوندی در مقایسه با گروه درمان شده و کنترل مقایسه شد. سلول های التهابی در گروه درمان شده به طور معناداری نسبت به گروه آلوده کاهش پیدا کردند ($P < 0.01$). در واقع درمان با این دو دسته دارویی منجر به کاهش التهاب حاصل از آلودگی با این تک یاخته و به علاوه منجر به ناپیدا شدن نواحی نکروز شده در بافت بوده است. در بافت مغز موش های درگیر عفونت، ضایعه توام با بروز گلیوزیس (پرولیفراسیون سلول های گلیال) و نورون های نکروز شده بوده است. التهاب اطراف عروقی (PVC)، اسفنجی شدن (spongiosis) و احتقان نیز در گروه آلوده مشاهده شد. نتایج این مطالعه هم سو با مطالعات پیشین بوده است Parlog et al. 2015; Fuentes-Castro et al. (2017; Hamoo and Al-Tai, 2023). درمان نه تنها منجر به کاهش التهاب بلکه منجر به کاهش نورون های مرده که یا مینرال شده یا توسط ندول های گلیوتیک جایگزین شدند نیز شد (Uranova et al., 2020; Uranova et al., 2021) که در این مطالعه نیز نشان داده شد که التهاب در گروه درمانی نسبت به گروه آلوده کاهش پیدا کرده و تعداد نورون های از بین رفته نیز کاهش پیدا کرد.

طی مطالعات Gober و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان داده شد که در کیس های شیزوفرن تراکم میکروگلیا در قشر ماده خاکستری در ناحیه فرونتال تمپورال افزایش پیدا کرد (Gober et al., 2021) که در مطالعه حال حاضر نیز این افزایش وجود داشته و بدون معناداری با گروه کنترل بوده است ($P > 0.05$). همچنین سایر مطالعات نشان دادند که در قشر ماده خاکستری مغز موش های شیزوفرن، سیتوپلاسم الیگودندروسیت ها لیز و واکوتله شده است که در واقع حاکی از تغییرات دیستروفیک در این سلول ها بوده است (Laskaris et al., 2016; Uranova et al., 2018; Uranova et al., 2020; Williams et al., 2023). در رابطه با گروه شیزوفرن در این مطالعه نیز نشان داده شد که تعداد سلول های الیگودندروسیت و آستروسیت نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری پیدا کرده است ($P < 0.05$). به طور کلی تعداد کل سلول های

شمارش شده در واحد سطح در گروه های درگیر با عفونت توکسوپلاسمایی و شیزوفرن نسبت به گروه کنترل و درمان شده با دارو تفاوت معناداری داشتند ($P < 0.05$) که همسو با مطالعات پیشین بوده است (Etewa et al., 2021; Allam et al., 2022; Castaño et al., 2022; Contopoulos-Ioannidis et al., 2022; Naji et al., 2023).

در مطالعه Allam و همکاران که در سال ۲۰۲۲ صورت گرفت داروهایی از قبیل اسپیرومایسین، نانو ذره چیتوزان و مترونیدازول برای درمان عفونت توکسوپلاسمایی استفاده گردید و حاکی از کاهش لود انگل در بافت مغزی پس از درمان بوده است. همچنین ضایعات حاصل از مشاهدات هیستوپاتولوژیک گروه آلوده به توکسوپلازما گوندی و درمان شده همسو با مشاهدات هیستوپاتولوژیک این مطالعه بوده است (Allam et al., 2022).

با توجه به شباهت نزدیک بیماری توکسوپلاسموزیس با بیماری شیزوفرنی از جهت تست های رفتاری و همینطور وضعیت آنتی اکسیدانی مغز و پراکسیداسیون لیپیدی و بیان NMDA-NR1 و NMDA (Contopoulos-Ioannidis et al., 2022; Zhu et al., 2024) این مطالعه به منظور درک بهتر ضایعات و آسیب های بافتی توانست نشان دهد که هر دو بیماری منجر به کاهش تعداد نورون های بافت مغز شده و در نتیجه آن اختلال در عملکرد فرد را بروز خواهد داد (Masoumi et al., 2024). هرچند این مقوله همچنان نیاز به مشاهدات بیشتر به منظور مقایسه پاتوفیزیولوژی در کنار تست های رفتاری و مطالعات هیستوپاتولوژیک دو بیماری دارد.

- Afonso, C.**, Paixao, V.B., Costa, R.M., 2012. Chronic Toxoplasma infection modifies the structure and the risk of host behavior. *PloS one* 7, e32489.
- Allam, A. F.**, Hagra, N. A. E., Farag, H. F., Osman, M. M., Shalaby, T. I., Kazem, A. H., ... & Mogahed, N. M. F. H. (2022). Remarkable histopathological improvement of experimental toxoplasmosis after receiving spiramycin-chitosan nanoparticles formulation. *Journal of Parasitic Diseases*, **46(1)**, 166-177
- Almeria, S.**, & Dubey, J. P. (2021). Foodborne transmission of Toxoplasma gondii infection in the last decade. An overview. *Research in veterinary science*, **135**, 371-385.
- Boillat, M.**, Hammoudi, P.-M., Dogga, S.K., Pages, S., Goubran, M., Rodriguez, I., Soldati-Favre, D., 2020. Neuroinflammation-associated aspecific manipulation of mouse predator fear by Toxoplasma gondii. *Cell reports* **30**, 320-334. e326.
- Bottari, N.B.**, Baldissera, M.D., Tonin, A.A., Rech, V.C., Alves, C.B., D'Avila, F., Thome, G.R., Guarda, N.S., Moresco, R.N., Camillo, G., 2016. Synergistic effects of resveratrol (free and inclusion complex) and sulfamethoxazole-trimetropim treatment on pathology, oxidant/antioxidant status and behavior of mice infected with Toxoplasma gondii. *Microbial pathogenesis* **95**, 166-174.
- Cabral CM**, Tuladhar S, Dietrich HK, Nguyen E, MacDonald WR, Trivedi T, Devineni A, Koshy AA. 2016. Neurons are the primary target cell for the brain-tropic intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog* **12**: e1005447.
- Carruthers, V. B.**, Suzuki, Y. (2007). Effects of Toxoplasma gondii infection on the brain. *Schizophrenia bulletin*, **33(3)**, 745-751.
- Castaño, B. L.**, Silva, A. A., Hernandez-Velasco, L. L., Pinheiro, A. P. D. S., Gibaldi, D., Mineo, J. R., ... & Lannes-Vieira, J. (2022). Sulfadiazine plus pyrimethamine therapy reversed multiple behavioral and neurocognitive changes in long-term chronic toxoplasmosis by reducing brain cyst load and inflammation-related alterations. *Frontiers in Immunology*, **13**, 822567.
- Contopoulos-Ioannidis, D. G.**, Gianniki, M., Ai-Nhi Truong, A., & Montoya, J. G. (2022). Toxoplasmosis and Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prevalence and Associations and Future Directions. *Psychiatric Research and Clinical Practice*, **4(2)**, 48-60
- Daher, D.**, Shaghlil, A., Sobh, E., Hamie, M., Hassan, M. E., Moumneh, M. B., ... & El Hajj, H. (2021). Comprehensive overview of Toxoplasma gondii-induced and associated diseases. *Pathogens*, **10(11)**, 1351.
- Daryani, A.**, Sarvi, S., Aarabi, M., Mizani, A., Ahmadpour, E., Shokri, A., . . . Sharif, M. (2014). Seroprevalence of Toxoplasma gondii in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis. *Acta tropica*, **137**, 185-194.
- Dubey, J. P.** (2008) .The history of Toxoplasma gondii—the first 100 years. *Journal of eukaryotic microbiology*, **55(6)**, 467-475.

- Dunay, I. R.,** Gajurel, K., Dhakal, R., Liesenfeld, O., & Montoya, J. G. (2018). Treatment of toxoplasmosis: historical perspective, animal models, and current clinical practice. *Clinical microbiology reviews*, **31(4)**, 10-1128.
- Dunay, I. R.,** Gajurel, K., Dhakal, R., Liesenfeld, O., & Montoya, J. G. (2018). Treatment of toxoplasmosis: historical perspective, animal models and current clinical practice. *Clinical microbiology reviews*, **31(4)**, e00057- 00017.
- Dzierszynski F,** Nishi M, Ouko L, Roos David S. Dynamics of *Toxoplasma gondii* Differentiation. *Eukaryotic Cell* (2004) **3(4)**:992–1003. doi: 10.1128/EC.3.4.992-1003.2004.
- Elsheikha, H. M.,** Marra, C. M., & Zhu, X. Q. (2020). Epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and management of cerebral toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*, **34(1)**, 10-1128.
- Etewa, S.,** Sarhan, M., Moawad, H., Mohammad, S., Samir, M., Kandil, A., & Mostafa, E. (2021). Behavior and neuropsychiatric changes in experimental chronic toxoplasmosis: histopathological and immunohistochemical studies. *Parasitologists United Journal*, **14(2)**, 183-192.
- Faizi, M.,** Salimi, A., Rasoulzadeh, M., Naserzadeh, P., & Pourahmad, J. (2014). Schizophrenia induces oxidative stress and cytochrome C release in isolated rat brain mitochondria: a possible pathway for induction of apoptosis and neurodegeneration. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, **13(Suppl)**, 93.
- Fuentes-Castro, B. E.,** Reyes-García, J. G., Valenzuela-Vargas, M. T., & Martínez-Gómez, F. (2017). Histopathology of murine toxoplasmosis under treatment with dialyzable leukocyte extract. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **112(11)**, 741-747.
- Fuglewicz, A.J.,** Piotrowski, P., Stodolak, A., 2017. Relationship between toxoplasmosis and schizophrenia: a review. *Adv Clin Exp Med* **26**, 1031- 1036.
- Gober, R.,** Ardalan, M., Shiadeh, S. M. J., Duque, L., Garamszegi, S. P., Ascona, M., ... & Vontell, R. T. (2022). Microglia activation in postmortem brains with schizophrenia demonstrates distinct morphological changes between brain regions. *Brain Pathology*, **32(1)**, e13003.
- Guessoum, S. B.,** Le Strat, Y., Dubertret, C., & Mallet, J. (2020). A transnosographic approach of negative symptoms pathophysiology in schizophrenia and depressive disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **99**, 109862.
- Hamoo, R.,** & Al-Tai, Z. N. (2023). The Histopathological & Behavioral Changes on Mice Experimentally Infected with *Toxoplasma Gondii*. *NTU Journal of Agriculture and Veterinary Science*, **3(2)**.
- Kantrowitz, J.T.,** Javitt, D.C., (2010). N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia? *Brain research bulletin* **83**, 108-121.
- Laskaris LE,** Di Biase MA, Everall I, Chana G, Christopoulos A, Skafidas E, et al. (2016). Microglial activation and progressive brain changes in schizophrenia. *Br J Pharmacol.*; **173(4)**: 666–80.

Martynowicz, J., Doggett, J.S. and Sullivan Jr, W.J. (2020). Efficacy of guanabenz combination therapy against chronic toxoplasmosis across multiple mouse strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64(9)**, e00539–e00520.

Masoumi, S.M., Youssefi, M.R., Shojaei, S.SH.R. (2024). Exploring the interplay of chronic toxoplasmosis and NMDAR dysfunction: insight into schizophrenia-like behaviors and therapeutic potential. *Open veterinary journal*, **14(7)**: 1634-1643.

Matta, S. K., Rinckenberger, N., Dunay, I. R., & Sibley, L. D. (2021). Toxoplasma gondii infection and its implications within the central nervous system. *Nature Reviews Microbiology*, **19(7)**, 467-480.

McCutcheon, R. A., Abi-Dargham, A., & Howes, O. D. (2019). Schizophrenia, dopamine and the striatum: from biology to symptoms. *Trends in neurosciences*, **42(3)**, 205-220.

Milne, G., Webster, J. P., & Walker, M. (2020). Toxoplasma gondii: an underestimated threat?. *Trends in parasitology*, **36(12)**, 959-969.

Montazeri, M., Daryani, A., Ebrahimzadeh, M., Ahmadpour, E., Sharif, M., & Sarvi, S. (2015). Effect of propranolol alone and in combination with pyrimethamine on acute murine toxoplasmosis. *Jundishapur journal of microbiology*, **8(9)**.

Monte, A.S., de Souza, G.C., McIntyre, R.S., Soczynska, J.K., dos Santos, J.V., Cordeiro, R.C., Ribeiro, B.M.M., de Lucena, D.F., Vasconcelos, S.M.M. and de Sousa, F.C.F. (2013). Prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia related behavior by minocycline in mice: possible involvement of antioxidant and nitregic pathways. *J. Psychopharmacol.* **27(11)**, 1032–1043.

Nakazawa, K., & Sapkota, K. (2020). The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Pharmacology & therapeutics*, **205**, 107426.

NAJL, M. M., AL-TAMIMI, T. G. Y., AL-HADRAAWY, S. K., AL-HASAN, B. A., & KADHIM, S. Some Hematological Markers Alteration in Patients Infected with Toxoplasmosis and Schizophrenia.

Oncu-Oner, T., & Can, S. (2022). Meta-analysis of the relationship between Toxoplasma gondii and schizophrenia. *Annals of parasitology*, **68(1)**.

Parlog, A., Schlüter, D., & Dunay, I. R. (2015). Toxoplasma gondii-induced neuronal alterations. *Parasite immunology*, **37(3)**, 159-170.

Schwarcz, R., & Hunter, C. A. (2007). Toxoplasma gondii and schizophrenia: linkage through astrocyte-derived kynurenic acid?. *Schizophrenia bulletin*, **33(3)**, 652-653.

Smith, N. C., Goulart, C., Hayward, J. A., Kupz, A., Miller, C. M., & van Dooren, G. G. (2021). Control of human toxoplasmosis. *International journal for parasitology*, **51(2-3)**, 95-121.

Stanić, Ž., & Fureš, R. (2020). Toxoplasmosis: a global zoonosis. *Veterinaria*, **69(1)**.

Sun, H., Guan, L., Zhu, Z., & Li, H. (2013). Reduced levels of NR1 and NR2A with depression-like behavior in different brain regions in prenatally stressed juvenile offspring. *PLoS One*, **8(11)**, e81775.

Torgerson, P. R., & Mastroiacovo, P. (2013). The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*, **91**, 501-508.

Uranova NA, Vikhreva OV, Rakhmanova VI, Orlovskaya DD. Ultrastructural pathology of oligodendrocytes adjacent to microglia in prefrontal white matter in schizophrenia. *NPJ Schizophr.* 2018; **4(1)**:26.

Uranova, N. A., Vikhreva, O. V., & Rakhmanova, V. I. (2021). Abnormal microglial reactivity in gray matter of the prefrontal cortex in schizophrenia. *Asian journal of psychiatry*, **63**, 102752.

Uranova, N. A., Vikhreva, O. V., Rakhmanova, V. I., & Orlovskaya, D. D. (2020). Dystrophy of oligodendrocytes and adjacent microglia in prefrontal gray matter in schizophrenia. *Frontiers in psychiatry*, **11**, 204.

Uranova, N. A., Vikhreva, O. V., Rakhmanova, V. I., & Orlovskaya, D. D. (2020). Dystrophy of oligodendrocytes and adjacent microglia in prefrontal gray matter in schizophrenia. *Frontiers in psychiatry*, **11**, 204.

Van Os, J, Kapur, S (2009). Schizophrenia. *Lancet* **374**, 635–645.

Wang, T., Sun, X., Qin, W., Zhang, X., Wu, L., Li, Y., ... & Cong, H. (2019). From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: Implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Behavioural brain research*, **359**, 737-748.

Williams, M. R., Macdonald, C. M., & Turkheimer, F. E. (2023). Histological examination of choroid plexus epithelia changes in schizophrenia. *Brain, Behavior, and Immunity*, **111**, 292-297.

Wu, Y., Xu, D., He, Y., Yan, Z., Liu, R., Liu, Z., He, C., Liu, X., Yu, Y., Yang, X., 2023. Dimethyl itaconate ameliorates the deficits of goal-directed behavior in *Toxoplasma gondii* infected mice. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **17**, e0011350.

Xiao, J., Buka, S. L., Cannon, T. D., Suzuki, Y., Viscidi, R. P., Torrey, E. F., & Yolken, R. H. (2009). Serological pattern consistent with infection with type I *Toxoplasma gondii* in mothers and risk of psychosis among adult offspring. *Microbes and Infection*, **11(13)**, 1011-1018.

Youssefi, M., Sefidgar, A., Mostafazadeh, A., & Omran, S. M. (2007). Serologic evaluation of toxoplasmosis in matrimonial women in Babol, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, **10(9)**, 1550-1552.

Zhu, Y., Yang, X., Chen, M., Hu, Y., Chang, Y., & Wu, X. (2024). Research Progress on the Association between Schizophrenia and *Toxoplasma gondii* Infection. *Biomedical and Environmental Sciences*, **37(6)**, 647-660.