

Diferensiasi Stadium Takizoit-Bradizoit pada *Toxoplasma gondii*

Suri Dwi Lesmana

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is an intracellular parasite whose definite host is cat or felidae and intermediate host is human or other mammals. It causes congenital and acquired toxoplasmosis. Infection with this apicomplexan parasite results in its dissemination throughout its host via the tachyzoite life stage. After dissemination, these tachyzoites differentiate into bradyzoites within cyst and remain latent. These bradyzoites can transform back into tachyzoites and in immunosuppressed individuals this often results in symptomatic disease. Both tachyzoites and bradyzoites develop in tissue culture and this crucial differentiation event can be studied. Interferon gamma (IFN γ) is the main mediator in tachyzoite-bradyzoite differentiation.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, stage differentiation, tachyzoite, bradyzoite, IFN γ

Toxoplasma gondii (*T.gondii*) merupakan parasit yang hidup intraseluler dan termasuk protozoa kelas sporozoa. Hospes definitifnya adalah kucing dan binatang sejenisnya (*felidae*). Hospes perantaranya adalah manusia, mamalia lainnya dan burung. Parasit ini menyebabkan toksoplasmosis kongenital dan toksoplasmosis akuisita. Toksoplasmosis merupakan salah satu infeksi parasit terbanyak. Hampir sepertiga manusia di seluruh dunia pernah terpapar oleh parasit ini.¹

T.gondii di dalam hospes perantara terdapat dalam dua stadium yaitu stadium takizoit yang menimbulkan infeksi akut dan stadium bradizoit yang berada dalam kista jaringan dan akan menetap seumur hidup. Takizoit menginfeksi semua sel berinti dan akan berkembang biak secara endodioteni.² Takizoit dengan cepat menyebar melalui aliran darah atau limfe ke seluruh tubuh. Setelah kira-kira dua minggu takizoit akan berkurang dan bradizoit akan berkembang dalam jaringan hospes. Perubahan takizoit menjadi bradizoit dimulai dengan adanya pembentukan kekebalan protektif.³ Bradizoit dapat menghindarkan diri dari sistem imun dan pengobatan karena berada di dalam

kista. Bradizoit dapat kembali berubah menjadi takizoit bila sistem imun terganggu misalnya pada keadaan immunosupresi. Reaktivasi bradizoit menjadi takizoit memiliki makna klinis yang penting oleh karena reaktivasinya menyebabkan toksoplasmosis akut pada penderita AIDS atau immunokompromais lainnya yang akan berakibat fatal.³

Telah diidentifikasi beberapa tingkat gen spesifik dan protein yang berperan dalam proses diferensiasi stadium *T.gondii* ini pada suatu penelitian. Mekanisme imunologi hospes juga berperan dalam proses diferensiasi tersebut. Banyak proses yang terjadi pada proses diferensiasi stadium takizoit-bradizoit, akan tetapi faktor-faktor yang terlibat dalam diferensiasi stadium tersebut belum sepenuhnya diketahui.³ Dalam artikel ini dibahas proses diferensiasi stadium *T. gondii* serta faktor-faktor yang diduga berperan dalam proses tersebut.

MORFOLOGI DAN DAUR HIDUP

Toxoplasma gondii adalah salah satu spesies Coccidia yang mirip dengan isospora. Dalam sel epitel usus kecil kucing berlangsung daur aseksual (skizogoni) dan daur seksual (gametogoni, sporogoni) yang menghasilkan ookista yang dikeluarkan bersama tinja. Ookista berbentuk lonjong dengan ukuran 12,5 mikron menghasilkan 2 sporozoa yang masing-masing mengandung 4

Penulis untuk korespondensi: Bagian Parasitologi Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Riau,
Alamat: Jl.Diponegoro No.1, Pekanbaru. Telp: 0761- 839264
ext 209.

sporozoit. Apabila ookista ini tertelan oleh mamalia lain atau burung (hospes perantara), maka pada berbagai jaringan hospes sementara ini dibentuk takizoit (*tachyzoite* = bentuk yang membelah cepat). Kecepatan takizoit *Toxoplasma* membelah berkurang secara berangsur dan terbentuklah kista yang mengandung bradizoit (bentuk yang membelah perlahan). Masa ini adalah masa infeksi klinis menahun yang biasanya merupakan infeksi laten. Pada hospes perantara tidak dibentuk stadium seksual tetapi dibentuk stadium istirahat yaitu kista jaringan. Pada berbagai jaringan tubuh kucing juga ditemukan takizoit dan kista jaringan.⁴

Takizoit berkembang biak secara endodiogeni. Bila sel penuh dengan takizoit, maka sel menjadi pecah dan takizoit memasuki sel-sel di sekitarnya atau difagositosis oleh sel makrofag. Kista jaringan dibentuk di dalam sel hospes bila takizoit yang membelah telah membentuk dinding. Ukuran kista berbeda-beda, ada kista kecil yang mengandung hanya beberapa bradizoit dan ada yang berukuran 200 mikron berisi kira-kira 3000 bradizoit.⁴

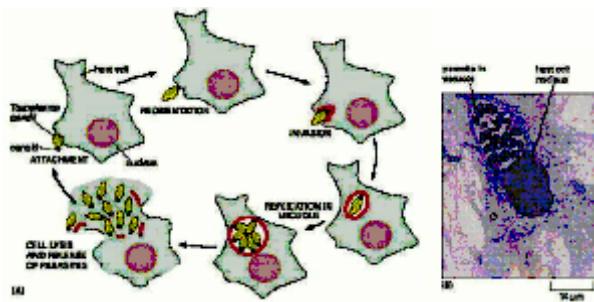
Infeksi toksoplasmosis ini dapat terjadi dengan berbagai cara yaitu:⁴

- a. Pada toksoplasmosis kongenital transmisi *Toxoplasma* kepada janin terjadi *in utero* melalui plasenta, bila ibunya mendapat infeksi primer waktu ia hamil.
- b. Pada toksoplasmosis akuisita infeksi dapat terjadi bila makan daging mentah atau kurang matang (misalnya sate) yang mengandung kista jaringan atau takizoit *Toxoplasma*. Pada orang yang tidak makan daging pun dapat terjadi infeksi bila ookista yang dikeluarkan dengan tinja kucing tertelan.
- c. Infeksi juga dapat terjadi di laboratorium pada orang yang bekerja dengan binatang percobaan yang diinfeksi dengan *T.gondii*, melalui jarum suntik dan alat laboratorium lain yang terkontaminasi dengan *T.gondii*. wanita hamil tidak dianjurkan untuk bekerja dengan *T.gondii* yang hidup. Infeksi dengan *T.gondii* juga pernah terjadi waktu mengerjakan autopsi.
- d. Infeksi dapat terjadi dengan transplantasi organ dari donor yang menderita toksoplasmosis laten
- e. Transfusi darah lengkap juga dapat menyebabkan infeksi.

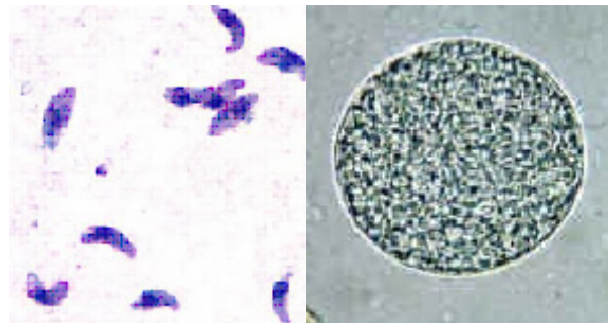
PROSES INVASI PARASIT

Dalam tubuh manusia takizoit segera keluar dari epitel usus, masuk ke sirkulasi darah dan menginvasi sel-sel yang berinti termasuk makrofag. Parasit menginvasi sel diawali dengan pengenalan parasit terhadap sel hospes kemudian melekatkan bagian apikalnya pada membran sel hospes diikuti dengan disekresikan protein dari mikronema, rhoptri dan *dense granula* (DGs) dan pada saat penempelan diduga disekresikan "*penetrating enhancing factor*" (PEF). Adanya protein sekretoris sebagai antigen dalam sirkulasi darah menunjukkan bahwa proses infeksi sedang aktif. Antigen ini beredar lebih kurang 72 jam setelah infeksi. Setelah parasit berhasil masuk, membran sel hospes tertutup. Vakuola parasitoforus (vakuola non fusogenik) terbentuk dari invaginasi membran sel hospes. Takizoit berdiferensiasi menjadi bradizoit melalui kompartemen ini dan vakuola ini yang diduga berdiferensiasi menjadi dinding terluar kista. Parasit setelah menginvasi sel hospes berada di dalam vakuola. Dengan adanya vakuola ini parasit intrasel dapat bertahan hidup oleh karena vakuola mencegah fusi takizoit dengan lisosom sehingga parasit tidak dapat didestruksi dalam keadaan imunokompeten. Selanjutnya takizoit mengalami replikasi parasit secara endodiogeni menghasilkan parasit-parasit baru. Setelah perkembangan parasit sempurna parasit tersebut keluar dan menyerang sel tetangga dan meninggalkan sel yang mati. Sel yang mengalami nekrotik tadi secara langsung atau tidak langsung menimbulkan keadaan patologis terutama jika keadaan tersebut terjadi di otak (Gambar 1).⁵

Proses invasi dan keluarnya parasit tersebut berlangsung dalam waktu kurang dari 60 detik. Pada penelitian-penelitian terbaru proses invasi dan keluarnya parasit ini melibatkan mekanisme molekuler yang sama. Proses tersebut diatur oleh banyak faktor antara lain: perubahan konsentrasi Kalsium sitoplasmik, perubahan konsentrasi Kalium ekstraseluler, *Toxoplasma gondii calmodulin like domain* protein kinase, NTPase (Nukleosida Trifosfat Hidrolase), motilitas parasit, dan lain-lain. NTPase merupakan enzim yang dihasilkan oleh takizoit. Enzim ini merupakan 8% dari total protein yang menyusun takizoit. Kadar NTPase sebanding dengan berat ringannya penyakit.⁵



Gambar 1. Proses invasi, replikasi dan pembentukan vakuola *Toxoplasma gondii*⁶



Gambar 2. Stadium takizoit dan bradizoit *Toxoplasma gondii* ⁽⁷⁾

Stadium Takizoit dan Bradizoit

Secara struktural perbedaan antara takizoit dan bradizoit yaitu pada takizoit nukleus terletak di sentral, memiliki sedikit atau tidak ada granula PAS positif dan ditemukan pada infeksi akut. Sedangkan bradizoit ditemukan nukleus yang lokasinya di terminal, banyak ditemukan granula PAS positif, ditutupi oleh dinding kista dan ditemukan pada infeksi kronis (Gambar 2).⁷

Perbedaan secara biologi yang mendasar antara stadium takizoit dan bradizoit adalah ketahanan bradizoit terhadap asam lambung sehingga bradizoit yang berada dalam kista jaringan adalah infeksi secara oral, sedangkan takizoit pada infeksi peroral dirusak oleh asam lambung. Efek tripsin dan pepsin pada takizoit *T.gondii* telah diteliti secara *in vitro* maupun *in vivo*. Sensitivitas terhadap enzim inilah yang dapat membedakan antara takizoit dan bradizoit. Penelitian yang dilakukan pada mencit, takizoit diinkubasi pada suhu 37°C pada larutan pepsin secara *in vitro* dalam kurun waktu yang bervariasi dan kemampuan infeksiya diukur dengan *bioassay* pada mencit. Kebanyakan takizoit mati pada paparan dengan pepsin selama 30 menit akan tetapi pada takizoit ekstraseluler dapat tahan selama lebih kurang 2 jam secara *in vitro*.⁷

Perbedaan lain yang telah diidentifikasi dari kedua stadium ini adalah *Heat Shock Protein* (HSP) yang merupakan antigen permukaan yang spesifik serta perbedaan enzim spesifik dan metabolismenya.^{8,9,10} Pada takizoit diidentifikasi bahwa HSP terletak di mitokondria sedangkan pada bradizoit terdapat pada badan vesikuler.

Pada *immunoblotting lysate* yang dilakukan oleh Tomovo *et al* diperlihatkan bahwa antigen yang dikenal pada bradizoit memiliki berat molekul 36 kDa (Pb36), 34 kDa (Pb34) dan 21 kDa (Pb21). Sedangkan takizoit memiliki 5 protein permukaan yaitu P22, P23, P30, P35 dan P43. Pada suatu penelitian ditemukan 2 antibodi monoklonal yang bereaksi dengan bradizoit yaitu P43 dan P23 sedangkan 3 protein lain tidak bereaksi dengan bradizoit. Oleh karena itu ada dua antigen takizoit yang juga ditemukan pada bradizoit, maka bradizoit sedikitnya mengekspresikan paling sedikit 5 antigen permukaan.¹⁰

Beberapa tingkat *Surface Antigen* (SAG) yang spesifik telah diidentifikasi. Antigen-antigen tersebut dikelompokkan dalam dua famili yaitu SAG1 dan SAG2. Yang termasuk dalam famili SAG1 adalah SAG3, *Bradyzoite Specific Recombinant* (BSR)⁴, *SAG Related Sequences* (SRS)1-4 protein, SAG5.1 dan SAG5.2. Protein SAG1 dan SRS1-SRS3 hanya ada pada takizoit, BSR4 hanya pada bradizoit dan SAG3 ada pada kedua stadium. Protein SAG1 merupakan protein permukaan takizoit yang merupakan faktor penentu virulensi dan ekspresinya dapat meningkatkan kemampuan invasi takizoit. SAG1 adalah gen yang mengkode P30 sedangkan SAG2 adalah gen yang mengkode P22. Famili protein ini memainkan peranan penting dalam proses perlekatan sebelum invasi parasit. Famili SAG2 terdiri dari SAG2A (sebelumnya SAG2) dan SAG2B – SAG2D, dimana SAG2A dan SAG2B diekspresikan oleh takizoit, SAG2C dan SAG2D diekspresikan oleh bradizoit. SAG4 dan SAG4.2 merupakan protein tambahan yang merupakan *Bradyzoite Specific Surface Protein*

non structural (Lyons RE, 2002). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bohne dan Gross terdapat gen BAG1 yang mengkode protein sitoplasmik 30 kDa yang hanya diekspresikan oleh bradizoit.¹⁰

Pada suatu penelitian biologi molekular, telah diidentifikasi beberapa enzim spesifik yang terekspresi antara lain: *bradyzoite enolases*, *glucosa 6 phosphate isomerase* dan *lactate dehydrogenase (LDH)*. Secara bersama-sama dengan peningkatan level enzim LDH ditemukan pada stadium bradizoit. Granula amylopectin hanya terdapat pada bradizoit tetapi tidak pada takizoit, hal ini menunjukkan adanya perbedaan metabolisme karbohidrat antara kedua stadium. Pada *Tricarboxylic Acid (TCA) cycle* dan jalur oksidasi dan fosforilasi, bradizoit memiliki ATPase tipe P yang tidak terdapat pada stadium takizoit. Enzim enolases pada stadium takizoit (ENO2) memiliki konstan Km yang mirip dengan enolases pada bradizoit (ENO1) akan tetapi ENO2 memiliki Vmax tiga kali lipat dibandingkan ENO1.¹¹

Diferensiasi Stadium Takizoit Menjadi Bradizoit

Infeksi awal dan infeksi akut diawali dengan adanya pembelahan cepat takizoit. Sekitar 10-14 hari setelah infeksi takizoit berdiferensiasi menjadi bradizoit yang membelah dengan lambat sehingga terbentuk kista jaringan. Kista jaringan dapat berada di dalam tubuh dan tidak menyebabkan manifestasi klinis. Akan tetapi pada orang-orang dengan imunodefisiensi seperti AIDS dan keganasan dapat menyebabkan pecahnya kista jaringan dan perubahan bradizoit menjadi takizoit yang menyebabkan reaktivasi akut. Diferensiasi stadium takizoit-bradizoit atau sebaliknya merupakan dasar terjadinya infeksi kronis dan terjadinya reaktivasi infeksi kronis menjadi infeksi akut.¹¹

Pada mencit kista jaringan dibentuk 2 dan 3 hari setelah inokulasi parenteral dengan takizoit. Akan tetapi pembentukan kista jaringan melalui ookista atau bradizoit peroral terjadi lebih lambat yaitu 5-6 hari setelah makan bradizoit dan 6-7 hari setelah makan ookista. Sedangkan pada manusia kista jaringan terbentuk rata-rata 10-14 hari setelah infeksi. Jumlah dan lokasi kista jaringan bergantung kepada hospes dan strain *T.gondii*. Pada mencit kista

jaringan banyak ditemukan di otak dan alat-alat dalam. Sedangkan pada mamalia yang lebih tinggi seperti kambing, sapi dan kucing, kista jaringan lebih banyak terdapat di otot daripada di otak.⁷ Parasit dalam vakuola parasitoforus berdiferensiasi dari takizoit menjadi bradizoit dan stadium bradizoit inilah yang mengubah vakuola menjadi kista. Pada permulaan peristiwa ini vakuola yang mengandung parasit secara simultan mengekspresikan baik antigen spesifik takizoit maupun antigen spesifik bradizoit.¹²

Ada tiga faktor yang mempengaruhi diferensiasi takizoit menjadi bradizoit atau kista jaringan yaitu: sistem imun hospes, faktor genetik hospes dan faktor yang berasal dari parasit itu sendiri.¹³ Respon imun seluler dan humoral hospes memegang peranan penting dalam diferensiasi stadium bradizoit-takizoit dengan cara mengatur lisisnya parasit atau menginduksi terbentuknya kista jaringan. Imunitas terhadap *T.gondii* bergantung kepada interferon gamma (IFN γ), limfosit T CD 8+, *Natural Killer (NK)*, dan T limfosit CD4+, *Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF α)*, *Nitric oxide(NO)*, atau penanda lain dari aktivasi makrofag sehingga pada penderita AIDS atau imunokompromais lainnya reaktivasi dapat terjadi terutama jika jumlah sel T limfosit CD4 berada di bawah batas kritis yaitu rata-rata kurang dari 100 sel/mm³. Interferon gamma merupakan mediator utama dalam respon imun terhadap *T.gondii*.

Pada suatu penelitian pada mencit dengan infeksi kronis oleh *T.gondii*, infeksi mengalami reaktivasi menjadi *toxoplasmic encephalitis* setelah disuntikkan monoklonal antibodi yang spesifik terhadap IFN γ . Hal ini menunjukkan bahwa IFN berperan langsung dalam mencegah rupturnya kista dan terjadinya *toxoplasmic encephalitis* dan menginduksi terbentuknya stadium dorman yaitu bradizoit dalam kista jaringan. Selain itu juga dilaporkan bahwa IFN berperan dalam pembentukan kista karena menghambat replikasi takizoit pada makrofag murin dan menginduksi antigen spesifik untuk bradizoit. Multiplikasi parasit juga dihambat oleh pembentukan NO dari aktivasi makrofag oleh IFN sehingga NO juga menginduksi terbentuknya kista jaringan. Selain itu NO juga memiliki efek anti mitokondria. Setelah invasi *T.gondii* ke dalam hospes, mitokondria biasanya

terletak di sekitar vakuola parasitoforus dan memberi energi untuk replikasi parasit. IFN menginduksi pelepasan NO yang akan menghambat fungsi mitokondria sehingga akan terjadi penghambatan replikasi parasit.^{14, 17}

Faktor selanjutnya yang mempengaruhi yaitu faktor dari parasit itu sendiri yaitu strain *Toxoplasma* yang menginfeksi. Ada strain yang cenderung berubah dari stadium takizoit menjadi bradizoit dan membentuk kista yaitu strain yang tidak virulen, sedangkan strain virulen yang stadium takizoitnya lambat berubah menjadi bradizoit.¹³

Selain respon imun, perubahan stadium antara takizoit dan bradizoit berhubungan dengan morfologi dan perubahan secara biologi molekuler termasuk ekspresi antigen spesifik dan perubahan metabolismenya. Pada suatu penelitian invitro tampak bahwa perubahan takizoit menjadi bradizoit berlangsung kompleks karena harus ada ekspresi protein spesifik bradizoit dan perubahan bagian-bagian vakuola menjadi kista yaitu melalui proses pengendapan protein spesifik untuk dinding kista. Walaupun ada laporan yang menyatakan bahwa antigen spesifik bradizoit telah diekspresikan sebelum pembentukan kista tetapi penelitian baru-baru ini memperlihatkan bahwa ekspresi protein permukaan bradizoit terjadi bersamaan dengan fase awal pengendapan dinding kista. Selama proses diferensiasi takizoit menjadi bradizoit terjadi pematangan vakuola parasitoforus yang diakhiri dengan pembentukan dinding kista yang terdiri dari komponen granula.^{3,7,17}

Salah satu antibodi spesifik bradizoit terhadap BAG-5 telah dipelajari untuk mengetahui perkembangan bradizoit secara *in vitro* dan *in vivo*. Pada penelitian secara *in vivo*, dengan adanya antibodi BAG-5 kista jaringan dapat terbentuk dalam 3 hari setelah infeksi. Beberapa bradizoit dapat langsung membentuk kista jaringan tanpa harus membentuk takizoit. Dengan menggunakan monoklonal antibodi spesifik terhadap dinding kista, dapat diketahui bahwa pembentukan dinding kista dimulai dua hari setelah infeksi. Akan tetapi berbeda halnya secara *in vitro* dimana seluruh bradizoit berubah menjadi takizoit setelah 18 jam infeksi dan BAG-5 menjadi negatif setelah 48 jam dan menjadi positif kembali setelah 5 hari.⁷

Pada suatu penelitian dilaporkan bahwa SAG-1 merupakan antigen permukaan takizoit yang dominan yang berperan dalam menginduksi respon imun sehingga terjadi proses infeksi kronis. Dalam hal ini respon imun tidak mengeradikasi parasit akan tetapi hanya membentuk parasit menjadi dorman dalam bentuk kista jaringan.³

Pada penelitian secara *in vitro* untuk melihat diferensiasi stadium takizoit-bradizoit yaitu dengan menginkubasi parasit pada medium alkalis. Diferensiasi stadium diinduksi dengan *heat shock* dan pengaturan keasaman media. Inhibitor fungsi mitokondria dan induksi stress oksidatif juga menginduksi proses terbentuknya kista secara invitro. Faktor-faktor tersebut menginduksi peningkatan cAMP atau cGMP yang akan menstimulasi perubahan stadium. Secara fisiologis demam atau panas dapat menginduksi diferensiasi stadium takizoit menjadi bradizoit.¹⁰

Diferensiasi Stadium Bradizoit Menjadi Takizoit

Diferensiasi stadium bradizoit kembali menjadi takizoit memiliki makna klinis yang penting oleh karena reaktivasinya menyebabkan toksoplasmosis akut pada penderita AIDS atau imunokompromais lainnya. Diferensiasi stadium bradizoit menjadi takizoit dipengaruhi oleh respon imun yaitu kerja dari sitokin-sitokin IFN , TNF , sel T, IL-12 dan NO. pada perubahan stadium tersebut terjadi penurunan kadar NO, IFN , TNF , sel T dan IL-12. Pada penelitian yang dilakukan oleh Gross dkk pada mencit yang diinfeksi secara kronis oleh *T. gondii* mengalami reaktivasi dapat terjadi terutama jika jumlah sel T limfosit CD4 berada di bawah batas kritis yaitu rata-rata kurang dari 100 sel/mm.¹⁴⁻¹⁷

Pada penelitian *invivo* pada mencit yang dilakukan oleh Hye Syong Mun et al disimpulkan bahwa *Heat Shock Protein* (HSP) 70 dan 30/ BAG 1 *T.gondii* serta SAG1 digunakan dalam menganalisa diferensiasi stadium. Tingginya kadar ekspresi HSP 70 menginhibisi terbentuknya NO yang dihasilkan oleh makrofag peritoneal sehingga menginduksi diferensiasi stadium bradizoit menjadi takizoit sehingga tingginya kadar HSP 70 merupakan tanda terjadinya reinfeksi akut.⁸

KESIMPULAN

Diferensiasi stadium takizoit dan bradizoit pada *T. gondii* melibatkan multifaktor yang kompleks. Peran utama dipengaruhi oleh sistem imun hospes yang melibatkan IFN γ , diferensiasi ini juga dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor yang berasal dari parasit itu sendiri seperti strain *T. gondii* yang menginfeksi. Diferensiasi stadium juga berhubungan dengan ekspresi antigen spesifik sehingga terjadi perubahan secara biologi molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: Transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infectious Disease*. 2002; 8: 634 – 40.
2. Jones J, Wilson M. Congenital toxoplasmosis. *American Family Physician*. 2003; 67: 2131- 6.
3. Kim SY, Boothroyd. Stage specific expression of surface antigens by *Toxoplasma gondii* as a mechanism to facilitate parasite persistence. *The Journal of Immunology*. 2005; 174: 8038 – 48.
4. Gandahusada S. *Toxoplasma gondii*. Dalam: Gandahusada S. Ilahude H, Pribadi W. *Parasitologi Kedokteran*. Edisi Ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia ; 1998.
5. Hoff E, Carruthers VB. Is *Toxoplasma* egress the first step invasion?. *Trends in Parasitology*. 2002; 18: 251 – 55.
6. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular biology of the cell*. Fourth edition. Garland science 2002. (diakses 18 Agustus 2010). Diunduh dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=mboc4&part=A4638>.
7. Dubey JP. Advances in the Life cycle of *toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*. 1998;11: 267 – 99.
8. Mun HS, Aosai F, Norose K, Chen M, Hata H, Tagawa YI et al. *Toxoplasma gondii* HSP70 as a danger signal in *Toxoplasma gondii* infected mice. *Cell Stress Chaperones*. 2000; 4: 328 – 35.
9. Hisaeda K, Himeno K. The role of host derived heat shock protein in immunity against *Toxoplasma gondii* infection. *Parasitology Today*. 1997; 13: 465 – 67.
10. Silva N, Gazzinelli RT, Silva D, Ferro EA, Kasper LH, Mineo J. Expression of *Toxoplasma gondii* specific heat shock protein during in vivo conversion of bradyzoite to tachyzoites. *Infect Immun*. 1998; 66: 3959 – 63.
11. Lyons RE, McLeod R, Roberts CW. *Toxoplasma gondii* tachyzoite – bradyzoite interconversion. *Trends in Parasitology*. 2002; 18: 198 – 201.
12. Black MW, Boothroyd JC. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2000; 64: 1092 – 2172.
13. Gross U, Böhne W, Soete M, Dubremet JF. Developmental differentiation between tachyzoites and bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Today*. 1996; 12: 30 – 2.
14. Gross U. *Toxoplasma gondii* research in Europe. *Parasitology Today*. 1996; 12: 1 – 4.
15. Scheidegger A, Vonlaufen N, Naguleswaran A, Gianinazzi C, Müller N, Leib S et al. Differential effects of interferon gamma and tumor necrosis factor alpha on *Toxoplasma gondii* proliferation in organotypic rat brain slice cultures. *Journal of Parasitology*. 2005; 91: 307 – 15.
16. Xu Q, Hu Y, Kleindienst R, Wick G. Nitric oxide induces heat shock protein 70 expression in vascular smooth muscle cells via activation of heat shock factor. *J Clin Invest*. 1997; 100: 1 – 18.
17. Zhang YW, Kim K, Ma YF, Wittner M, Tanowitz HB, Weiss LM. Disruption of the *Toxoplasma gondii* bradyzoite specific gene BAG1 decreases in vivo cyst formation. *Molecular Microbiology*. 1999; 31: 691.