

RADYOİODİN (¹³¹I) UYGULANAN RATLARDA KARACİĞERDEKİ HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE HEPATİK SATELLATE HÜCRELERDE ARTIŞ

Rahşan YILMAZ¹, Nihat YUMUŞAK¹, Hasan İkbâl ATILGAN², Gökhan KOCA³, Meliha KORKMAZ²

¹ Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji ABD, Şanlıurfa/Türkiye

² Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nükleer Tıp Bölümü, Ankara/Türkiye

³ Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Bölümü, Hatay/Türkiye

Geliş Tarihi: 03.11.2017 Kabul Tarihi: 22.11.2017

Makale Kodu: 349014

ÖZET

Radyoaktif iyot (¹³¹I) hipertiroidizm ve tiroid kanserlerinin tanı ve tedavisi amacıyla kullanılan bir radyonüklididir. Bu çalışma ile ratlarda radyoiodinden (¹³¹I) kaynaklanan karaciğer hasarının histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada 20 adet dişi Wistar Albino rat kullanıldı ve bunlar rastgele hiçbir işleme tabi tutulmayan kontrol grubu (n=10) ve ¹³¹I uygulama grubu (n=10) şeklinde ikiye ayrıldı. Üçüncü ayın sonunda nekropsileri yapılan ratların karaciğer dokuları rutin doku takibine alındı. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde ¹³¹I grubunda kapsula altında granulom oluşumlarına rastlandı. İmmunohistokimyasal boyamada ¹³¹I grubunda hepatik satellite hücrelerin (HPCs), yoğunluğunu gösteren GFAP boyamalarının kontrol grubundan daha yüksek bir değere sahip olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: ¹³¹I, histopatoloji, karaciğer, HPCs, GFAP, immunohistokimya, rat.

HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS AND HEPATIC SATELLITE CELLS INCREASE IN THE LIVER OF THE RATS APPLIED RADIOIODINE (¹³¹I)

ABSTRACT

Radioactive iodine (¹³¹I) is a radionuclide used for the diagnosis and treatment of thyroid cancers and hyperthyroidism. This study was aimed to evaluation by histopathological and immunohistochemical of hepatic damage caused by radioiodine (¹³¹I) in the rat. Twenty female Wistar Albino rats were used in the study and they were randomly divided into two groups as control group (n = 10) and ¹³¹I application group (n = 10). At the end of the third month, the liver tissues were taken of rats at the necropsy, the tissue specimens underwent routine tissue processing. Histopathological examination was observed granuloma formation in the liver in ¹³¹I group. Immunohistochemical staining the GFAP was showed in the ¹³¹I group the higher than in the control group, that showed density of the hepatic satellite cells (HPCs).

Key words: ¹³¹I, histopathology, liver, HPCs, GFAP, immunohistochemistry, rat.



İletişim / Correspondence

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Eyyübiye/ŞANLIURFA



0 414 318 39 09



rahsany@harran.edu.tr

GİRİŞ

Tiroid hastalıklarında radyonüklid tedavi amacı ile radyoaktif iyot (¹³¹I) kullanılmakta olup etkin, pratik, güvenilir ve ucuz olmasının yanısıra cerrahi komplikasyonlar gözönüne alındığında avantajlı bir tedavi modeli olması nedeniyle 1940'lı yıllardan beri başarı ile kullanılmaktadır (1). ¹³¹I tedavisi insan, kedi ve köpeklerde tiroid hastalıklarında, Graves ve toksik nodüler guatr gibi hipertiroidi ile seyreden hastalıklar ile diferansiye tiroid kanserlerinin ablasyon ve tedavileri gibi birçok alanda kullanılmaktadır (1-4). ¹³¹I'nin yarılanma ömrü 8,1 gündür. Yapısındaki beta partiküllerinin minimum enerjisi 69 kiloelektronvolt (keV), ortalama enerjisi 190 keV, maksimum enerjisi 606 keV, gama partiküllerinin enerjisi ise 364 keV ve dokudaki ortalama mesafe aralığı 0.4 mm olan bir radyonükliddir. İçerdiği beta partikülleri hücre hasarına yol açarak tedavide kullanılır iken, gama enerjisi ise sintigrafik görüntülemeye olanak tanımaktadır (5). Oral yolla uygulanan ¹³¹I gastrointestinal sistemden tam ve hızlı bir şekilde emilerek sistemik dolaşım geçmektedir (2,6). Tanı ve tedavi amacı ile kullanılan ¹³¹I'in erken, ara ve geç dönem yan etkileri bildirilmiştir (2, 7). Kısa dönem (ilk 96 saat) yan etkileri kserostomi, bulanıklık, karın ağrısı, kusma, tat alma duyusunda değişiklikler, paratiroid ve submandibular bezlerde hassasiyet ile tiroid çevresinde ağrı sayılabilir (7). Ara dönem yan etkileri (≤ 3 ay) siyaloadenitis, tat alma veya koklama duyusunda kayıp ve geçici alopesiden oluşmaktadır (2). Uzun dönem (> 3 ay) yan etkileri ise kseroftalmi, kronik ve tekrarlayan konjunktivit ve dakriyostenozidir (2, 8-10).

Karaciğer, parenkimal ve nonparenkimal hücrelerden oluşur. Nonparenkimal hücreler arasında endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, karaciğere bağlı doğal öldürücü hücreler, hepatik stellate hücreler (HSCs) ve kolangi-

yositlerdir yer almaktadır (11). Hepatic stellate hücreler (HSCs) karaciğerin onarımında önemli role sahiptir (12-14). HSCs'in kolla-gen üretiminde, fibrinogenezis ve dolayısı ile sirozun gelişiminde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (13, 15). Aktive olmuş HSCs normalde A vitamini sentezleyen hücrelerden, hasar görmüş karaciğer dokusunda ekstraselüler matriks (ECM) üreten kontraktil myofibroblastik hücrelere dönüşür (15, 16). HSCs sinüzoidal alanlardaki makrofaj, dentritik hücre veya kuffer hücreleri gibi antijen sunan hücreler (APC) ile etkileşim içerisinde olup, APC'lerin antijen sunma işlevlerini etkileyebilmektedir (17).

HSCs mezenkimal hücreler olarak tanımlanır. Bu hücreler vimentin, α -smooth muscle actin (α -SMA), desmin ve glial fibriler asidik protein (GFAP) gibi sitoskeletal proteinler içermektedir (18, 19). Ratlarda HSCs astrositlerdeki ara filamentlerin ana bileşeni olan Glial Fibrillar Asidik Protein (GFAP) içerirler. Ratlarda GFAP pozitif HSCs lobülde homojen dağılmış bulunurken, normal insan karaciğerinde az sayıda GFAP (+) küçük HSCs grubu portal alanın kenarına veya yakınına yerleşmiştir. Sirozda GFAP ekspresyonu, yeni oluşmuş nodüllerin kenarındaki HSCs veya nodüllerdeki hücre gruplarında artmaktadır (20, 21). Bu çalışmada, HSCs'in varlığını ve yoğunluğunu gösterebilmek için immunohistokimyasal olarak GFAP boyaması yapıldı. Daha önceki çalışmalarda ¹³¹I kullanımına bağlı karaciğerde şekillenen fibrozis, hepatosit degenerasyonu, granülom ve diğer histopatolojik değişikliklerde HSCs'in rolü ortaya konulmamıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvanlar:

Bu çalışmanın etik kurul onayı 03.05.2012 /0008-099 tarih ve sayılı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan

Deneyleeri Yerel Etik Kurul Komitesi tarafından verilmiştir. Çalışmada 20 adet (ortalama ağırlığı 225-275 gr, 4-6 aylık) dişi, Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar Saki Yenili DeneY Hayvanları Üretim Laboratuvarından sağlandı. Ratların ortama adaptasyonu amacıyla laboratuara bir hafta önceden getirildi. Tüm ratlar, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi DeneY Hayvanları Laboratuvarı'nda, % 65-70 nem, 22±1 °C sıcaklıkta, 12 saat gece ve 12 saat gündüz ışık periyodu olan ortamda barındırıldı. Ratlar polipropilen kafeslerde, radyoaktif bulaştan korunma amaçlı tek kullanımlık absorban bezler konularak barındırıldı ve ad libitum sistemine göre beslendi. Ratlar rastgele 2 gruba ayrıldı. İlki ¹³¹I kullanılmayan kontrol grubu (n=10), diğeri 111 MBq (~3 mCi) nazogastrik sondaj yolu ile (Radyoiyodin MON-IYOT-131Eczacıbaşı/MonrolNükleer Ürünler Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi Gebze, Kocaeli, Türkiye) verilen ¹³¹I grubu şeklindeydi. ¹³¹I grubundaki ratlar 3 ay sonra intraperitoneal olarak 50 mg/kg propofol verildikten sonra etik kurallara uygun olarak dekapite edilerek karaciğeri dokuları alındı.

Histopatolojik inceleme:

Gruplardaki ratlardan nekropsi sonrası alınan karaciğeri dokuları %10'luk nötral tamponlu formaldehit (pH 7.2-7.4) solüsyonu içerisinde tespit edildi. Rutin doku takibinden sonra oluşturulan parafin bloklardan 4 µ kalınlığında kesitler alınıp Hematoksilin-Eozin (H&E) ile boyandı. Boyama sonrası kesitler ışık mikroskobunda (Olympus BX53) ve yüksek çözünürlüklü kamera altında (Olympus DP73) incelendi. Dokular fibrozis ve granülom oluşumu yönlerinden incelendi.

GFAP immunohistokimyasal inceleme:

Mikrotomda 4 µ kalınlığında kesilerek lysinli lama alınan preparatlarda immunohistokimyasal boyamalar için streptavi-

din-biotin-peroksidaz yöntemi kullanıldı. Polyclonal Mouse Anti-Human Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) (DAKO) antikor 1:300 oranında sulandırılarak 37°C'de 1 saat inkube edilerek, Streptavidin Biotin Peroksidaz tekniğine göre boyandı. Antijen açığa çıkarma işlemi için 37 °C'de, 15 dakika, proteinaz K ile gerçekleştirildi, kromojen olarak diaminobenzidine 3 dakika (DAB, TA-012-HDC ve DAB substrate buffer, TA-125-HDS; Lab Vision) ve zemin boyaması için Harris Hematoksilin (Merck) kullanıldı. İmmunohistokimyasal boyama sonuçları ışık mikroskobunda öncelikle pozitif veya negatif boyama şeklinde incelendi. İmmunohistokimyasal skorlamada boyanmanın dağılımı ve yoğunluğu göz önüne alınarak, her kesitte x40 objektifde rastgele seçilen 5 objektif alanındaki pozitif boyanan hücreler sayılarak 0: yok, 1-15:1, 16-30: 2, 31-45: 3, 46≥4 şeklinde derecelendirildi.

İstatistiksel değerlendirme:

Gruplar arasında immunohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesi için non-parametrik testlerden Wilcoxon-kontesti uygulandı.

SONUÇLAR

Makroskobik olarak, ¹³¹I grubunda karaciğeri yüzeyinde 0,3 mm-1 cm arasında değişen boyutlarda, beyazımsı krem renkte, multifokal granülomlar gözlemlendi.

Histopatolojik inceleme sonuçları:

Mikroskobik incelemede, ¹³¹I grubunda makroskobik olarak karaciğeri yüzeyinde görülen odaklarda granülom oluşumlarına rastlandı. Bu granülomlar karaciğeri kapsülü altına yerleşmiş olup, çevresi bağ doku ile çevrili, bazılarında merkezde pembe renkte düzensiz yapıda nekroz alanlarının olduğu odaklar şeklindeydi. Ayrıca bu alan içerisinde gelişmiş güzel dağılım gösteren bazıları tam mineralize olmuş şekilsiz mor renkte kalsifikasyon alanları ile tam mineralize olma-

mış şeffaf mavimsi renkte kristalize yapılar gözlemlendi. Granulom içerisinde yabancı cisim dev hücrelerine rastlandı (Resim 1.C). Ayrıca karaciğer parankiminde özellikle portal üçgende bağ doku artışı dikkati çekti (Resim 1.B). Kontrol grubunda çok hafif şiddette hiperemi dışında herhangi bir histopatolojik lezyona görülmedi (Resim 1.A).

İmmunohistokimyasal inceleme sonuçları:

Pozitif boyanan GFAP pozitif HSCs hücreler kontrol grubunda sinuzoidlerde düzensiz, ince bantlar şeklinde koyu kahve renkte gözlemlendi (Resim 2.B). ¹³¹I grubunda ise yine sinuzoidlerde düzensiz, ince bantlar şeklinde, portal üçgende perivasküler fibrozis alanları ile granulom çevresindeki dejenerasyon hepatositlerin sitoplazmalarında koyu kahve renkte (Resim 2.C) görüldü. Boyanma sitoplazmada, koyu kahve renkteydi. ¹³¹I grubunda gözlenen pozitif boyanmaların kontrol (Resim 2.A) grubuna göre oldukça yoğun olduğu dikkati çekti.

İstatistiksel değerlendirme sonuçları:

Wilcoxon-kont testine göre gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edildi $p < 0,01$. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler Tablo 1 ve 2’de belirtilmiştir.

Tablo 1. Gruplar arası istatistiksel değerlendirme

	N	Mean rank	Sum of ranks
Negative ranks	0 ^a	,00	,00
¹³¹ I Positive ranks	10 ^b	5,50	55,00
Ties	0 ^c		
Total	10		

a: ¹³¹I < kontrol, b: ¹³¹I > kontrol, c: ¹³¹I = kontrol.

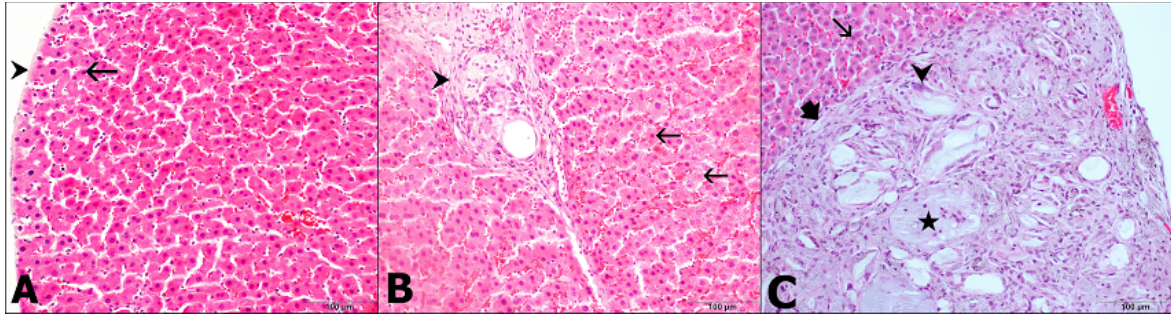
Tablo 2. Gruplar arası istatistik sonucu

Test Statistics ^a	¹³¹ I- kontrol
Z	-2,919 ^b
Asymp Sig. (2-tailed)	,004
a. Wilcoxon Signed ranks test	
b. Based on negative ranks	

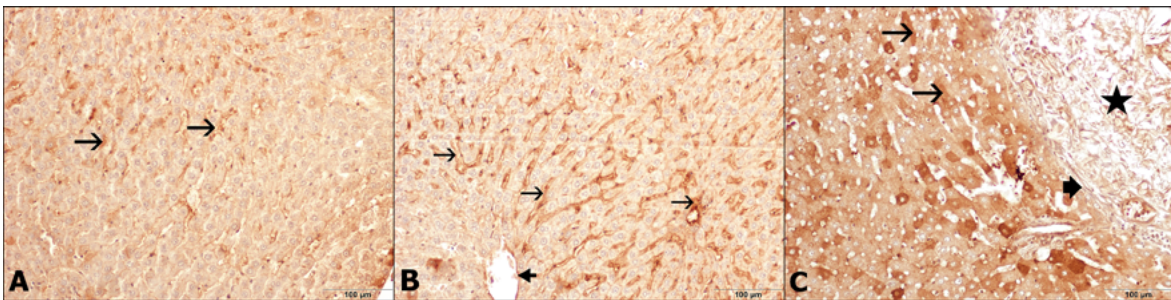
TARTIŞMA

Total vücut iyonize radioiodin uygulamaları hücresel oksidatif stresi artıran serbest oksijen radikallerine bağlı olarak çoklu organ disfonksiyonlarına neden olabilmektedir. Bu durum DNA ve hücre membranında hasara neden olmakta (22), DNA sentezini azaltmakta (23) ve pro-oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozmaktadır (24). ¹³¹I tedavisinin karaciğer dokusunda oluşturduğu hücresel hasarın en önemli nedeni lipid peroksidasyonudur. Bugüne kadar ¹³¹I uygulamasında karaciğerde radyasyon hasarını azaltmak için antioksidanlar, sitoprotektif ajanlar, angiotensin-II tip 1 reseptör antagonistleri, immün modülatörler, prostaglandinler ve A, C, E vitaminleri (25) ve montelukast (26) gibi birçok sentetik veya doğal ilaçlar kullanılmıştır. Karaciğerde özellikle kapsula altında oluşan lezyonlar histopatolojik olarak tipik granulom yapısı göstermekteydi (27). Bu çalışma ile Atılğan ve ark.’nın ¹³¹I uygulamasının karaciğerde hiperemi, steatozis, hücresel değişiklik, safra kanalı proliferasyonu, fibrozis, venöz lezyonlar, kapsülde kalınlaşma ve granulom oluşumuna neden olduğunu belirttiği çalışmanın bir ileri aşaması olarak granulomlu alanlarda HSCs’in varlığı ve yoğunluğunun göstergesi olarak GFAP’ın immunohistokimyasal boyanması ile gösterilmiştir. Lezyonlu bölgelerde GFAP’ın dolayısı ile HSCs’in yoğunluğunun artmış olması daha önceki çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir (28-30). Bu yoğunluk istatistiksel olarak gruplar arasında farklılık olduğunu göstermektedir $p < 0,01$.

Bu çalışma ile ¹³¹I uygulanan ratların karaciğer dokusunda perivasküler fibrosiz, hepatositlerde dejenerasyon ve kapsülde granulom oluşumlarına bağlı olarak artan HSCs’in varlığı GFAP’ın immunohistokimyasal olarak boyanması işle ilk kez gösterilmiştir.



Resim 1. Karaciğerin H&E boyamaları, A: Kontrol grubu, kapsül (ok başı), hepatosit (ok) X 200; B: ¹³¹I grubu, perivasküler fibrozis (ok başı), dejenere hepatositler (oklar) X 200; C: ¹³¹I grubu, kapsül (kalın ok), hepatosit (ok), dev hücre (ok başı), kristalizasyon (yıldız) X 200.



Resim 2. Karaciğerin IHC boyamaları, A: Kontrol grubu, GFAP pozitif HSCs (oklar) X 200; B: ¹³¹I grubu, vena sentralis (kalın ok), GFAP pozitif HSCs (oklar) X 200; C: ¹³¹I grubu, GFAP pozitif HSCs (oklar), fibröz kapsül (kalın ok), granulom (yıldız) X 200.

KAYNAKLAR

- Hibbert A, Gruffydd-Jones T, Barrett EL, Day MJ, Harvey AM. Feline thyroid carcinoma: diagnosis and response to high-dose radioactive iodine treatment. *J Feline Med Surg.* 2009; 11: 116-124.
- Alexander C, Bader JB, Schaefer A, Finke C, Kirsch CM. Intermediate and long-term side effects of high-dose radioiodine therapy for thyroid carcinoma. *J Nucl Med.* 1998; 39: 1551-1554.
- Liptak JM. Canine Thyroid Carcinoma. *Clin Tech Small Anim Pract,* 2007; 22: 75-81.
- Peremans K, Vandermeulen E, Van Hoek I, Daminet S, Vermeire S, Bacher K. Interference of iohexol with radioiodine thyroid uptake in the hyperthyroid cat. *J Feline Med Surg.* 2008; 10: 460-465.
- Silberstein EB, Alavi A, Balon HR, Clarke SE, Divgi C, Gelfand MJ, Goldsmith SJ, Jadvar H, Marcus CS, Martin WH, Parker JA, Royal HD, Sarkar SD, Stabin M, Waxman AD. The SNMMI practice guideline for therapy of thyroid disease with ¹³¹I 3.0. *J Nucl Med.* 2012; 53(10): 1633-1651.
- Peterson, ME. Radioiodine treatment of hyperthyroidism. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2006; 21 (1): 34-39.
- Lin WY, Shen YY, Wang SJ. Short-term hazards of low-dose radioiodine ablation therapy in postsurgical thyroid cancer patients. *Clin Nucl Med.* 1996; 21: 780-782.
- Markitziu A, Lustmann J, Uziel B, Krausz Y, Chisin R. Salivary and lacrimal gland involvement in a patient who had undergone a thyroidectomy and was treated with radioiodine for thyroid cancer. *Oral Surg Oral Med*

- Oral Pathol. 1993; 75(3): 18–22.
9. Solans R, Bosch JA, Galofré P, Porta F, Roselló J, Selva-O'callagan A, Vilardell M. Salivary and lacrimal gland dysfunction (sicca syndrome) after radioiodine therapy. *J Nucl Med.* 2001; 42: 738–43.
10. Zettinig G, Hanselmayer G, Fueger BJ, Hofmann A, Pirich C, Nepp J, Dudczak R. Long-term impairment of the lacrimal glands after radioiodine therapy: A crosssectional study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2002; 29: 1428–1432.
11. Bouwens L. Proliferation and phenotypic expression of non-parenchymal liver cells. *Scand J Gastroenterol.* 1988; 151: 46–51.
12. Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *PHYSIOL Rev.* 2008; 88: 125-172.
13. Friedman SL, Roll FJ, Boyles J, Bissell DM. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985; 82(24): 8681–8685.
14. Morini S, Carotti S, Carpino G, Franchitto A, Corradini SG, Merli M, et al. GFAP expression in the liver as an early marker of stellate cells activation. *Ital J Anat Embryol.* 2005; 110: 193–207.
15. Rostagi A, Bihari C, Maiwall R, Ahuja A, Sharma M.K, Kumar A, Sarin S.K. Hepatic stellate cells are involved in the pathogenesis of acute-on chronic liver failure (ACLF). *Virchows Arch.* 2012; 461: 393-398.
16. Savaş MC. Hepatik Fibrozisin Patogenezi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2005; 1(16): 5-10.
17. Ichikawa S, Mucida D, Tyznik A.J, kronenberg M, Cheroutre H. Hepatic stellate cells function as regulatory bystanders. *J Immunol.* 2011; 186(10): 5549-5555.
18. Sappino AP, Schurch W, Gabbiani G: Biology of disease. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal protein as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest.* 1990; 63: 144–161.
19. Tsutsumi M, Takada A, Takase S: Characterization of desmin-positive rat liver sinusoidal cells. *Hepatology.* 1987; 7(2): 277–284.
20. Buniation G, Gebhardt R, Schrenk D, Hamprecht B. Colocalization of three types of intermediate filament proteins in perisinusoidal stellate cells: glial fibrillary acidic protein as a new cellular marker. *Eur J Cell Biol.* 1996; 70: 23-32.
21. Hautekeete ML, Niki T, Van den Berg K, Delvaux G, Geerts A. A fraction of stellate cells in human liver express glial fibrillary acidic protein (GFAP). *J Hepatol.* 1996; 25: 112.
22. Gultekin FA, Bakkal BH, Guven B, Tasdoven I, Bektas S, Can M, Comert M. Effects of ozone oxidative preconditioning on radiation-induced organ damage in rats. *J Radiat Res.* 2013; 54: 36-44.
23. Albert MD, Bucher NL. Latent injury and repair in rat liver induced to regenerate at intervals after xradiation. *Cancer Res.* 1960; 20: 1514-1522.
24. Koc M, Taysi S, Buyukokuroglu ME, Bakan N. Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury. *J Radiat Res.* 2003; 44: 211-215.
25. Arora R, Gupta D, Chawla R, Sagar R, Sharma A, Kumar R, Prasad J, Singh S, Samanta N, Sharma RK. Radioprotection by plant products: present status and future prospects. *Phytother Res.* 2005; 19: 1-22.
26. Atilgan HI, Yumusak N, Sadic M, Gultekin SS, Koca G, Ozyurt S, Demirel K, Korkmaz M. Radioprotective effect of montelukast sodium against hepatic radioiodine (131I) toxicity: A histopathological investigation in the rat model. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2015; 62: 37-43.
27. Drebber U. Kasper HU, Ratering J. Wedemeyer I. Schirmacher P. Dienes HP.

- Odenthal M. Hepatic granulomas: histological and molecular pathological approach to diferential diagnosis a study of 442 cases. *Liver International*. 2008; 828-834.
28. Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Bioulac-Sage P, Balabaud C, et al. Hepaticfibrosis and cirrhosis: the (myo) fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006; 38: 135–51.
29. Tennakoon AH. Izawa T. Wijesundera KK. Murakami H. Ichikawa CK. Tanaka M. Golbar HM. Kuwamura M. Yamate J. Immunohistochemical characterization of glial fibrillary acidicprotein (GFAP)-expressing cells in a rat liver cirrhosis model inducedby repeated injections of thioacetamide (TAA). *Exp Toxicol Pathol*. 2014; 67: 53–63.
30. Atmaca HT, Gazyagci AN, Canpolat S, Kul O. Hepatik stellate cells increase in *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Parasit Vectors*. 2013; 6: 135.