

**KİSTİK EKİNOKOKOZ ŞÜPHELİ HASTALARIN
SERUMLARINDA İMMÜNOGLOBULİN DÜZEYLERİNİN
VE OKSİDAN STRESİN ARAŞTIRILMASI**

Kadriye YILMAZOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZİRAN 2006
ANKARA**

Kadriye YILMAZOĞLU tarafından hazırlanan KİSTİK EKİNOKOKOZ ŞÜPHELİ HASTALARIN SERUMLARINDA İMMÜNOGLOBULİN DÜZEYLERİNİN VE OKSİDAN STRESİN ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Bilge GÖNÜL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN

Üye : Prof. Dr. Zafer KARAER

Üye : Prof. Dr. Metin AKTAŞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Barbaros BALABANLI

Tarih : 01/06/2006

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Kadriye YILMAZOĞLU

**KİSTİK EKİNOKOKOZ ŞÜPHELİ HASTALARIN SERUMLARINDA
İMMÜNOGLOBULİN DÜZEYLERİNİN VE OKSİDAN STRESİN
ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Kadriye YILMAZOĞLU

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2006**

ÖZET

Sestod sınıfının bir üyesi olan *Echinococcus granulosus* türü kozmopolit bir zoonoz olan Kistik Ekinokokoz'a neden olmaktadır. İnsanlarda görülen en ağır helmint enfeksiyonlarından biri olan Kistik Ekinokokoz, koyun ve sığır yetiştiriciliği yapılan ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Yurdumuzda da görülen *E.granulosus*'un larval şekli, halkın ve kesim hayvanlarının sağlığını, iş gücünü ve verimini olumsuz yönde etkilemekte, ayrıca ciddi boyutlara varan ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Bu çalışmada; Kistik Ekinokokoz şüpheli hastaların serumlarında, IHA yöntemi ile hastalığın olup olmadığını, nefelometrik yöntemle immünoglobulin düzeylerini ve ayrıca oksidan olaylardaki değişiklikleri araştırmak amaçlanmıştır.

Bu araştırmada 2003-2005 yılları arasında REFİK SAYDAM Hıfzıssıhha ve Etlik SSK Hastanesine başvuran Kistik Ekinokokoz şüpheli 361 hastanın serumları alınmıştır. IHA yöntemi ile tespit edilen 361 hastanın 201'i (% 55,6) pozitif olarak saptanmıştır.

IHA yöntemiyle pozitif bulunan hasta serumlarında ve IHA yöntemiyle negatif örneklerinde nefelometrik yöntemle IgG, IgA, IgM düzeyleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif substansları (TBARS) düzeyi ve önemli bir antioksidan olan glutatyon (GSH) düzeyleri ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi pozitif örneklerde tüm titrelerde ve IHA yöntemiyle negatif örneklerde araştırılmıştır.

Sonuç olarak, IHA yöntemiyle pozitif bulunan hasta serumlarında IgA düzeylerinde artış tespit edilmişken IgG ve IgM düzeylerinde bir değişiklik bulunamamıştır. Bunlara ilaveten hasta serumlarında TBARS düzeyi ve MPO aktivitesinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir, GSH düzeylerinde ise bir değişiklik bulunamamıştır.

Bilim Kodu : 203 . 1.114
Anahtar Kelimeler : *Echinococcus granulosus*, İndirekt Hemagglütinasyon, Tiyobarbutirik asit, Glutatyon, Myeloperoksidaz
Sayfa Adedi : 55
Tez Yöneticisi : Yrd. Doç. Dr. Şule COŞKUN

**THE INVESTIGATION OF IMMUNOGLOBULIN LEVELS AND OXIDANT
STRESS IN THE SERA OF PATIENTS WITH CYSTIC ECHINOCOCCOSIS**

(M.Sc. Thesis)

Kadriye YILMAZOĞLU

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

June 2006

ABSTRACT

Echinococcus granulosus species is a member of the Cestod class causes and Cystic Echinococcosis which is a cosmopolite zoonosis. Cystic Echinococcosis which is one of the most severe helminth infections which are seen in human beings are commonly experienced in the countries where sheepfarming and stock farming are performed. Larval type of *Echinococcus granulosus* which is also seen in our country negatively affects the health of the people and the animals to be slaughtered, workforce and efficiency and causes serious economic losses.

In this study, it is aimed to diagnose whether the patients who are suspected of the having Cystic Echinococcosis are really infected with the disease in their serums by means of IHA method, measure their immunoglobulin levels by mean of nephelometric method, and examine their change in the oxidant status.

For this research, serums of 361 patients were received who applied to Refik Saydam Hıfzısıhha and Etlik SSK Hospital between 2003-2005 and are suspected of the having Cystic Echinococcosis. It was found that 201 (55,6%) out of 361 patients were positive for the disease.

IgG, IgA and IgM levels were measured by means of the IHA method in the positive and negative samples. Levels of thiobarbutiric acid reactive substances (TBARS) which are an indicator of lipid peroxidation and levels of glutathion (GSH) which is an important antioxidant in serum and the myeloperoxidase (MPO) activity were investigated.

As a result, while IgA levels of the IHA method in the positive patients samples were increased, IgG and IgM levels weren't changed. In addition, TBARS level and MPO activity were increased but GSH levels weren't changed in serum of patients.

Science Code : 203 . 1.114

Key Words : *E.granulosus*, Indirect Hemagglutination, TBARS, GSH, MPO

Page Number: 55

Adviser : Yrd.Doç.Dr. Şule COŞKUN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren hocam Yrd.Doç.Dr. Şule COŞKUN'a, yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım hocam Yrd.Doç.Dr. K. Barbaros BALABANLI' ya, ayrıca yardım ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof.Dr. Metin AKTAŞ ve Dr. Cahit BABÜR' e, laboratuvarında görevli tüm çalışma arkadaşlarıma ve SSK Ankara Eğitim Hastanesi'nde çalışan biyolog Mehtap EŞGİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
HARİTALARIN LİSTESİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Echinococcus Cinsinin Özellikleri	4
2.1.1. <i>Echinococcus granulosus</i>	4
2.1.2. <i>Echinococcus granulosus</i> 'un Morfolojisi ve Hayat Döngüsü	5
2.2. <i>Echinococcus</i> Türlerinin Yayılışı.....	8
2.3. <i>E. granulosus</i> 'un Epidemiyolojisi	9
2.4. Hidatik Kist	9
2.5. Kist Hidatik Hastalığı Tanısında Kullanılan Serolojik Yöntemler	12
2.5.1. Aglütinasyon teknikleri	12
2.5.2. Presipitasyon teknikleri	13
2.5.3. Complement fiksasyon (CF)	14

Sayfa

2.5.4. İmmunohistokimyasal teknikler	14
2.5.5. Binder-Ligand tayinleri	15
2.5.6. Spesifik IgE tayini.....	16
2.6. Bağışıklık (İmmünite)	17
2.6.1. Echinococ antijenlerine verilen immün cevap	22
2.7. Lipit Peroksidasyonu	25
2.7.1. Serbest radikallerin kaynakları.....	27
2.7.2. Serbest radikallerin membran lipitlerine etkileri (Lipit peroksidasyonu).....	27
2.8. Antioksidan savunma sistemleri	28
2.8.1. Glutasyon	29
2.9. Myeloperoksidaz enzim aktivitesi.....	30
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Kist Hidatik Tanısında Uygulanan IHA Yöntemi	33
3.2. İmmunoglobulin Düzeylerinin Tespiti	35
3.3. Oksidan Stres Düzeylerinin Tespiti	35
3.3.1. Lipid peroksid düzeyi tayini	35
3.3.2. Glutasyon tayini (RSH)	36
3.4. MPO Enzim Düzeyinin Tayini	36
3.5. İstatistik	37
4. BULGULAR	38
4.1. İmmunoglobulin Antikor Düzeyleri	39
4.2. TBARS, GSH Düzeyleri ve MPO Sonuçları	42

	Sayfa
5. SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Elde edilen dilisyonlar değerleri.....	36
Çizelge 4.1. Kistik Ekinokokoz tanılı hastaların IgG, IgA ve IgM sonuçları.....	38
Çizelge 4.2. Kistik Ekinokokoz tanılı hastaların TBARS, GSH düzeyleri ve MPO sonuçları.....	42

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>E. granulosus</i>	6
Şekil 2.2. <i>E. granulosus</i> ’ un hayat döngüsü	8
Şekil 2.3. Hidatik Kist.....	11
Şekil 2.4. Bir antikör molekülünün yapısı	19
Şekil 4.1. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların IgG sonuçları.....	39
Şekil 4.2. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların IgA sonuçları.....	40
Şekil 4.3. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların IgM sonuçları	41
Şekil 4.4. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların TBARS sonuçları	43
Şekil 4.5. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların GSH sonuçları	44
Şekil 4.6. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların MPO sonuçları.....	45

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Ergin <i>E. granulosus</i>	4
Resim 2.2. <i>Echinococcus</i> kesesi içinde görülen skolekslerden biri.....	5
Resim 2.3. <i>E. granulosus</i> yumurtası.....	6
Resim 2.4. İnsan akciğerinde hidatik kist.....	12

HARİTALARIN LİSTESİ

Harita	Sayfa
Harita 2.1. <i>Echinococcus</i> türlerinin yayılışı	8

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
Br⁻	Bromür
Cl⁻	Klorür
HCl	Hidroklorik Asit
HOBr	Hipobromit
HOCl	Hipokloröz asit
HOI	Hipoiyodür
H₂O₂	Hidrojen peroksit
I⁻	İyodür
Ig	İmmüoglobulin
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
nmol	Nanomol
μmol	Mikromol
NaOH	Sodyum Hidroksit
U	Ünite
Kısaltmalar	Açıklama
BD	Bazofil Degranülasyonu
BFT	Bentonit Filokülasyon Test
BSA	Bovin Serum Albumin
CF	Complement Fiksasyon
CEID	Crossed Elektroimmünodifüzyon
CIEP	Counter-İmmunoelektroforez

Kısaltmalar**Açıklama****Dot-ELISA**

Dot Enzyme- Linked İmmunosorbent- Assay

DD

Double Difüzyon

EDTA

Etilen daimin tetra asedik asit

EID

Elektro İmmünodifüzyon

ELISA

Enzyme-Linked-İmmunosorbent Assay

ELIEDA

Enzyme-Linked-İmmunoelectrodiffusion Assay

ELIFA

Enzim Bağlantılı İmmün-Filtrasyon Tahlili

GSH

Glutatyon

IEP

İmmünoelektroforez

IFI

İmmünofloresan

IHA

İndirekt Hemaglutinasyon

IFA

İndirect İmmünofloresan

LA

Lateks Aglutinasyon

MDA

Malondialdehid

MPO

Myeloperoksidaz

RAST

Radio-Allergo-Sorbent-Test

RIA

Radyoimmünoanalizi

SDS

Sodyumdodosil Sülfat

TBARS

Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde

TBA

Tiyobarbutirik Asit

TCA

Trikloroasetik Asit

1.GİRİŞ

Sestod sınıfının üyesi olan *Echinococcus* cinsinin (Taeniidae familyası) ergin veya larval safhaları, bir kozmopolit zoonoz olan Echinococcosis'e neden olmaktadır [1]. Bu cinsin üç türü insan sağlığı yönünden önem taşır. Bu türler; *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli*' dir. İnsan bu üç tür için ara konak durumundadır. Bu türlerden özellikle *E.granulosus* koyun ve sığır yetiştiriciliği yapılan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Yurdumuzda *E.granulosus*, *E.multilocularis* türleri görülür. *E.vogeli* Orta ve Güney Amerika'da görülen bir türdür. *E.granulosus*'un larval şekli, hem halkın ve kesim hayvanlarının sağlığını, iş gücünü ve verimini olumsuz yönde etkilemekte, hem de ciddi boyutlara varan ekonomik kayıplara yol açmaktadır [2].

Ara konakta *Echinococcus* cinsinin metasestod (hidatik) kistleri uzun gelişme dönemlerinde larval enfeksiyona (Kist Hidatik Hastalığı, Hidatidoz) neden olmaktadır [1].

Echinococcus granulosus'dan kaynaklanan Kistik Ekinokoz, insanlarda görülen en ağır helmint enfeksiyonlarından biridir ve dünya çapında dağılmaktadır [3].

Echinococcus granulosus hidatik kistleri insanlarda ve ara konaklarda (koyun, keçi, atlar, sığırlar, domuzlar, deve gibi herbivorlar) iç organlarda çoğunlukla karaciğer ve akciğerde gelişmektedir. Bu bölgelerde parazitten türeyen iki tabaka oluşmaktadır. İç tabaka; konakta üretilen fibroz kapsülde çekirdekli tabaka ve dış tabaka; hücresel olmayan lamina tabaka ile çevrilmiştir. Kuluçka kapsülleri ve protoskoleksler germinal tabakadan tomurcuklanırlar. *Echinococcus* cinsinin son konakları köpek, kurt ve tilki gibi karnivorlardır. Kuluçka kapsülleri ve protoskoleksleri içeren sakatları konağın yemesiyle, konağın ince bağırsağında 4-5 hafta sonra *Echinococcus granulosus* eşeysel olgunluğa erişerek ergin hale gelmektedir. Gebe halkaların veya yumurtaların feçesle atılmasıyla, insan veya ara konakların ağız yoluyla almasıyla, onkosfer larva intestinal epitelyum ve lamina bölgesine girerek serbest bırakılır. Larva kan veya lenf sistemiyle diğer organlara transfer edilir, bu

organlarda hidatik kistler meydana gelir. Bu şekilde herbivorlar ve karnivorlar arasında devam eden hayat döngüsü, insanlarda genellikle parazitin ölümüyle sonuçlanır [1].

Hidatik kist hastalığında humoral ve hücrel immün cevap oluşturmaktadır. Humoral immün göstergesi olarak serum antikor düzeyleri ölçülebilir. Enfeksiyondan en erken bir, genelde 16-17 hafta sonra antikorlar pozitif bulunur [4]. Tespit edilen major spesifik antikor IgG sınıfındandır. Bununla beraber fistül gelişmiş akciğer hidatik kistlerinde ise IgA major antikor olarak gösterilmiştir. Hidatik kist hastalığında hücre proliferasyonu, eozinofillerde ve mast hücrelerinde artış ile fibröz kapsül gelişmektedir [5].

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır [6].

Lipit peroksidasyonu, insanda hücrelerde ve dokularda oksidatif stresin bir göstergesidir. Tiyobarbitürik asit reaktif substansları (TBARS) lipid peroksidasyonunun yaygın indikatörü olarak kullanılmaktadır. Lipit peroksidasyon ürünlerinin artmış düzeyleri hem insan hem de hayvan modellerinde çeşitli kronik hastalıklarla ilişkilendirilebilir [7,8].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Önemli antioksidanlardan biri olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır [6].

Helmintlerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarında serum myeloperoksidaz (MPO) konsantrasyonu nötrofillerin fonksiyonel aktivitelerinin yansıması olarak düşünülmektedir. Nötrofillerin solunum patlaması sırasında oluşan süperoksit moleküllerinden, spontan dismutasyon reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur [9]. Nötrofil lökositlerin primer granüllerinden degranülasyon ile fagozom içine bırakılan myeloperoksidaz (MPO) enzimi, H_2O_2 ve Cl kullanarak hipokloröz asit (HOCl) oluşturur [10]. HOCl, lökositlerde üretilen ve mikrobisik etkiye sahip önemli bir oksidandır [11]. HOCl, nötrofil sitoplazmasında en çok bulunan serbest amino asit olan taurinle reaksiyona girerek HOCl'den daha az reaktif ve daha az toksik olan uzun ömürlü bir bileşik olan taurin monokloramini oluşturur [12,13].

Tüm bu bilgilerin ışığında, kistik ekinokoz şüphesi ile hastaneye başvuran hastalarının serumlarında hastalık etkeninin varlığı tespit edildikten sonra immünoglobulin antikor düzeyi, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan TBARS düzeyi, MPO aktivitesi ve organizma için önemli antioksidanlardan bir olan GSH düzeylerini araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Echinococcus Cinsinin Özellikleri

Cestoda sınıfının Cyplophyllidea takımının Taeniidae familyasına ait *Echinococcus* cinsinde; *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E.oligarthus*, *E.vogeli* olmak üzere 4 farklı türün bulunduğu bilinmektedir [5]. Bu türlerden *E.granulosus*, *E.multilocularis*, *E.vogeli* insan sağlığı yönünden önem taşır. İnsan, bu üç tür için ara konak durumundadır [2]. Ara konakta *Echinococcus* cinsinin metasestod (hidatik) kistleri uzun gelişme dönemlerinde larval enfeksiyona (Kist Hidatik Hastalığı, Hidatidoz) neden olmaktadır [1].

2.1.1. *Echinococcus granulosus*

E.granulosus'un ergin şekli başta köpekler olmak üzere dingo ve çakal gibi çeşitli karnivorlarda görülmektedir. Tilki ve kedilerde eşeyssel olgunluğa erişemediği bildirilmiştir [14].



Resim 2.1. Ergin *E. granulosus* [70]

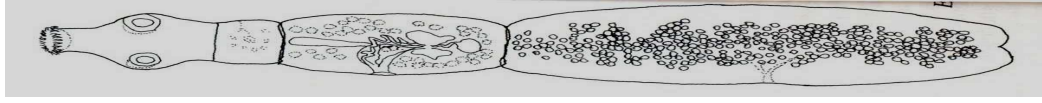
2.1.2. *Echinococcus granulosus*'un Morfolojisi ve Hayat Döngüsü

Son konakların (köpek ve köpekgillerin) ince bağırsaklarında yaşayan ergin parazitler 2-7 mm uzunluğunda, 0,6 mm eninde küçük bir sestoddur. Bağırsak çeperine çengel ve çekmenleri ile yapışır. Vücutları, skoleks, boyun ve halkadan oluşur. Skoleks küçüktür ve skolekste 4 çekmen ile 30-50 arasında değişen sayıda iki sıra çengel taşıyan belirgin bir rostellum bulunur. Büyük çengeller 33,2-39,8 μ (ortalama 36,8), küçük çengeller ise 22,1-34 μ (ortalama 28,5) uzunluğundadır [14,2].



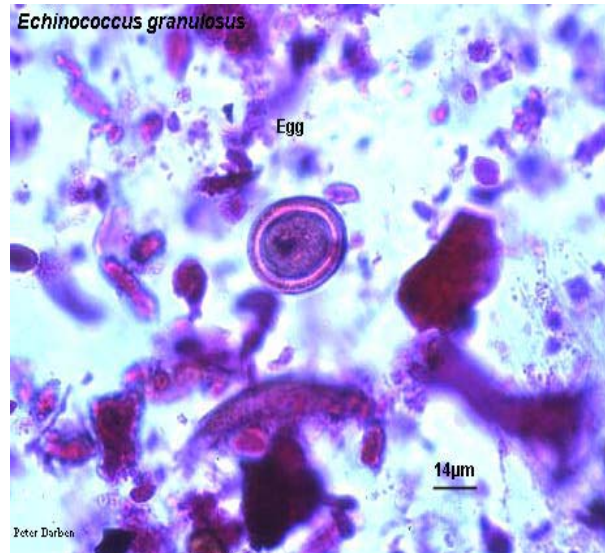
Resim 2.2. *Echinococcus* kesesi içinde görülen skolekslerden biri [16]

Boyun çok kısadır ve tomurcuklanmayla halkaları oluşturur. Genelde üç halka bulunmaktadır. İlk halka genç, ikinci olgun, son halka ise gebe halkadır. Olgun halkaların boyu eninin yaklaşık iki katı olup, gelişmiş genital organlara sahiptir. Böbrek şeklinde olan ovaryum halkanın ortasında yer almaktadır. Genital deliğin ön ve arka tarafında sayıları 30-60 arasında değişen testisler bulunur. Gebe halka yaklaşık tüm vücut uzunluğunun yarısı kadardır ve içinde 400-800 kadar yumurta bulunur. Bunlar konak bağırsağında kolayca parçalanır [14,2].



Şekil 2.1. *Echinococcus granulosus* [2]

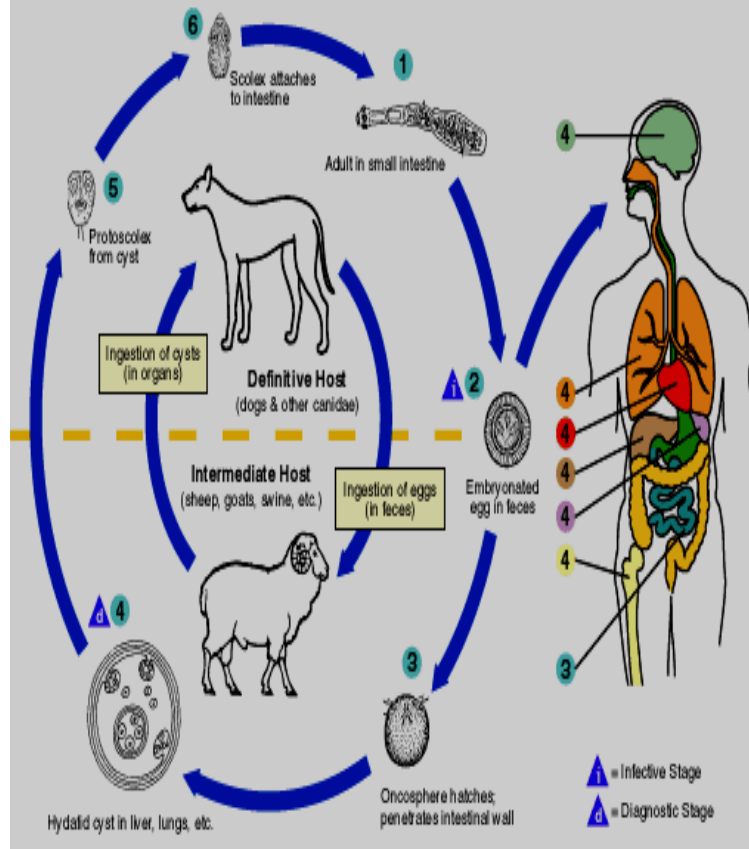
Ergin parazitten koparak dışarı atılan gebe halkanın dış etkilerle parçalanması sonucu serbest kalan yumurtalar çevreye dağılır. Yumurtaları 32-36 x 25-30 μ çapında olup üç çift çengelli bir onkosfer taşırlar. Onkosferler tenya yumurtalarından daha dayanıklıdır. Bunlar kuru toprakta, 0°C' nin altında ve formolde iki hafta, akarsuda 12 gün, kaynar suda bir dakika canlılığını koruyabilme özelliğine sahiptir.



Resim 2.3. *E. granulosus* yumurtası [71]

Yumurtalar su ve yiyeceklerle ya da kıllarına yapışmış köpeklerle yakın temas sonucu ağız yoluyla insan, koyun, sığır, geyik gibi ara konaklar tarafından alınır. İnce bağırsaklarda serbest kalan onkosferler mukozayı delerek kan yoluyla karaciğerlere lenf yoluyla akciğerlere ve buradan da akciğer kapiller damarları geçebilirse büyük dolaşım yoluyla diğer organlara giderek yerleşirler. Hatta hamile kadınların, gebe hayvanların kanında bulunan bu larvaların plasenta yoluyla cenine geçtikleri olur. Ceninlerde ve henüz yeni doğmuş çocuklarda Echinococcus'a rastlanmaktadır. Embriyo gelişiminden sonra hidatik kist adını alan larva şeklinin diğer tenya yumurtalarındaki gibi spesifik bir dokuyu seçme özellikleri yoktur. Hidatik kistin

karaciğer ve akciğerlerde fazla görülmesinin başlıca nedeni, bu organların onkosferlerin karşılaştığı ilk büyük kılcal damarlar ağına sahip olmalarıdır. Bu sebeple onkosferlerin çoğu bu organlarda tutulmaktadır [14-16].

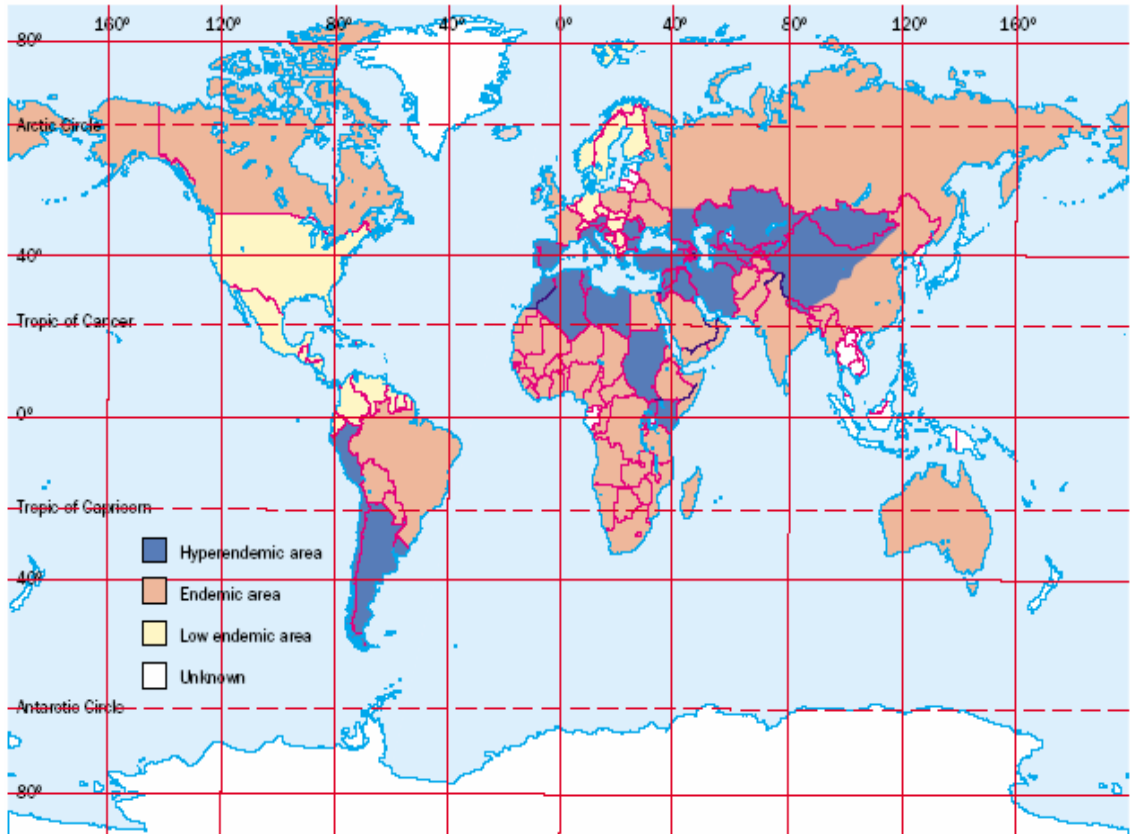


Şekil 2.2. *Echinococcus granulosus*'un Hayat Döngüsü: 1. Ergin *E. granulosus* (3-6 mm uzunluğunda). 2. Son konakta parazitten ayrılan gebe halkanın parçalanmasıyla serbest kalan yumurtaların feçesle dışarı atılması. 3. Ara konağa giren onkosferlerin intestinal yolla organlara dağılması. 4. Ara konakta karaciğer, akciğer gibi organlarda bulunan kist hidatik. 5. Kistten protoskolekslerin oluşması. 6. Bağırsakta skoleks [71]

Ara konak vücudunda larval parazit tarafından oluşturulan sulu keseler, son konak köpekçiller tarafından yendiğinde, keseler açılır ve içinde bulunan protoskolekslerin her biri konağın bağırsak çeperine çekmen ve çengelleri ile yapışır, beslenir, büyür ve yaklaşık 7 haftada erişkin parazite dönüşürler. *E. granulosus*'un konak zinciri; köpek, geviş getirenler, köpek olarak uzanır. Ara konak insan olduğunda bu parazitin neslini devamı için çıkmaz bir sokaktır [2].

2.2.Echinococcus Türlerinin Yayılışı

Echinococcus türlerinin yayılışı, genellikle o bölgenin iklimi, hayvan bakım ve otlatma şartları, ayrıca halkının sosyoekonomik yapısı ile doğrudan ilişkilidir [17,18,14].



Harita 2.1. *Echinococcus* türlerinin yayılışı [72]

Türkiye ve Yugoslavya dahil, Akdeniz kıyılarındaki ülkeler, Yeni Zelanda, Avustralya, Rusya'nın orta ve güney bölgeleri, Güney Amerika'nın Alaska ve Afrika'nın önemli bir bölümü Hidatidoz'un endemik olarak bulunduğu yerlerdir. Hatta Hidatidoz'un görülme sıklığına göre dünyada şu bölgeler ayırt edilmektedir. Uruguay, Arjantin, Yeni Zelanda, Yunanistan, Kıbrıs birinci grubu; Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu ülkeleri, ikinci grubu; İskandinavya, Birleşik Amerika, Kanada gibi ülkeler daha az görüldüğü üçüncü grubu oluşturmaktadır [19-22].

Son yirmibeş yılda ülkemizin bazı şehirlerinde; Kistik Ekinokokoz hastalığının yayılımında etken olan sokak köpeklerinin parazitleri üzerine yapılan çalışmalarda; *Echinococcus granulosus* Ankara’da %44 - 45,45, Bursa’da % 36, İzmir’de % 5,5, Sivas’ta % 16, Elazığ’da % 3,33-18,09, Kayseri’de % 24, Konya’da % 28,33, Kars’ta % 40,5 oranlarında yaygın olarak bulunmuştur [23].

2.3. *E. granulosus*’un Epidemiyolojisi

E.granulosus’ un gelişimi iki şekilde görülmektedir. Birincisi kırsal (pastoral), diğeri de ormansal (silvatik) şeklindedir. Bunlardan kırsal gelişme tipi, evcil köpek ile evcil ruminantların arasında, ormansal tipi ise yabancı Canidae (kurt, tilki vb.) ile yabani ruminantlar (geyik vb.) arasında görülmektedir [21,14]. Bununla birlikte, avcılarının avladıkları av hayvanlarının sakatatlarını av köpeklerine yedirmeleri ya da yabani köpekgillerin evcil ruminantları yemeleri sonucu bu iki gelişme tipi zaman zaman birbiriyle karışmaktadır [14].

Hidatidoz’un epidemiyolojisinde köpekler büyük rol oynarlar. Köpekler birbirlerinin anal bölgelerini koklama alışkanlığındadırlar. Bu nedenle köpek parazitile infekte olsun ya da olmasın bulaştırıcı olabilir. Çünkü burun kısmına, kıllarına parazit yumurtası bulaşmış olan köpeklerin öpüp koklanması esnasında yumurtalar kişilerin ağzından, burnundan girebilir. Solunum yoluyla giren yumurtalarla akciğer hidatik kistlerinin oluşabileceği bildirilmiştir.

Köpeklerin sokaklarda başıboş dolaşmaları, hayvan kesimlerinin kontrolsüz yapılıp, çıkan kistli organların kesilerek çevredeki köpeklere atılması parazitin konak zincirini tamamlayan adımlardır [2].

2.4. Hidatik Kist

Hidatik kist, *Echinococcus granulosus*’un ara konağın dokularında oluşan bir larva (metasestod) evresidir [24].

Karaciğere ve diğer dokulara yerleşen embriyo, çengellerini yitirip bir kese haline dönüşür. Zaman içinde gelişir, büyür ve içi dolu bir kese haline gelir. Buna Sulu Kist veya Kist Hidatik denir. Kesenin iç yüzeyini döşeyen çimlenme zarından gelecek nesilleri verecek olan protoskoleksler, yavru keseler oluşur.

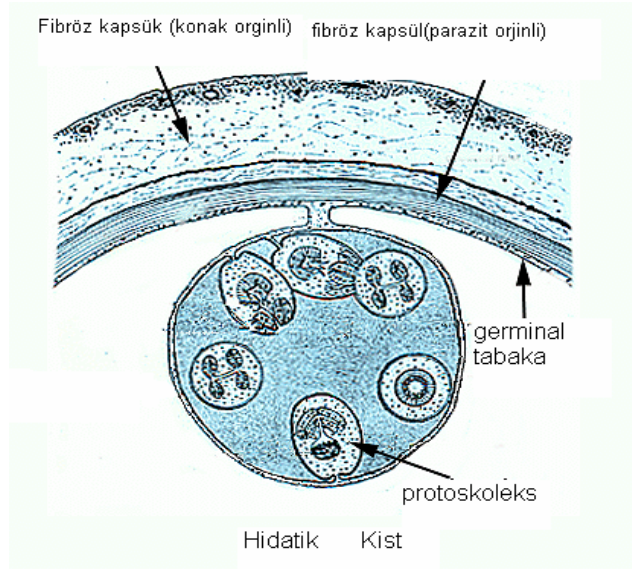
Kistler yıllarca gelişme özelliğine sahiptir. Hidatik kist, içi sıvı dolu bir kese biçimindedir. Kistin oluştuğu yapılar;

Pericyst (Adventisya): Oturduğu organ tarafından kistin etrafında oluşturulan reaksiyon sonucu ortaya çıkan fibröz dokudur.

Exocyst (Tabakalı membran ve kutikula): Kistin dış tabakası olup 1 mm kalınlıkta beyaz renklidir. Kiste gerekli maddelerin geçebilmesi için selektif bir permeabilite özelliğine sahiptir. Karmaşık yapılı olup mukopolisakkarit içerir.

Endocyst (Germinal membran veya çimlenme zarı): Kutikulanın iç kısmında, tanecikli, 10-15µ kalınlığında çekirdekli ve glikojenli özel bir embriyonel dokudur. Bu zardan tomurcuklanma ile protoskoleks ve yavru kapsüller oluşur. Bu yavru kapsüllerin içinde de birçok protoskoleks bulunur. Sayıları 10-60 arasındadır. Oluşan yavru kapsüller kist içinde kalabilir veya kist içine açılabilir. Son durumda, protoskoleksler sıvıda serbest olarak bulunur. Buna Hidatik Kumu denir. Ya da insanda nadiren, hayvanlarda daha sık olmak üzere dış yavru kapsüller oluşturabilir. Kutikula katını delerek dışarı doğru büyüyen bu dış yavru kapsüller bir sapla keseye bağlı kalabilir ya da buradan koparak yayılırlar [5,25-27].

Kist sıvısı: Renksiz, kokusuz ve yüksek oranda antijenik özelliktedir. Normalde steril olup pH'ı 7,2-7,4 arasındadır. Yoğunluğu 1007-1015 arasında değişir [5,22,36]. Hidatik kistin endojen salgı ürünüdür. Hidatik kistin endojen enfeksiyonuna oluşturduğu immünolojik reaksiyona bağlı olarak ortaya çıkabilir. % 40-60 oranında asemptomatiktir [14].



Şekil 2.3. Hidatik Kist [73]

İnsan vücudunda iki tip hidatik kist bulunur.

1.Primer Kist: Ağızdan alınan *E.granulosus* yumurtasında bulunan onkosferin doku ve organlarda yerleşmesi sonucu gelişir, vücuttaki sayısı genelde tektir. Temelde görülme sıklığına göre yerleşim yerleri; karaciğer, akciğerler, deri altı, böbrekler, pelvis organları, dalak, kemikler, dolaşım sistemi, göz boşluğu, sinir sistemi ve plevradır.

2.Sekonder Kist: Vücutta bulunan primer kistin çeperinin yırtılması veya delinmesi sonucu, kist sıvısının ve içindeki protoskolekslerin çevreye yayılmasıyla oluşur. Görülme sıklığına göre yerleşim yerleri; periton, karaciğer, akciğer, plevra ve dalak [2].



Resim 2.4. İnsan akciğerinde hidatik kist [71]

2.5. Kist Hidatik Hastalığı Tanısında Kullanılan Serolojik Yöntemler

2.5.1. Aglütinasyon teknikleri

İndirekt Hemaglütinasyon (IHA)

Duyarlılaştırılmış eritrositler kist hidatik antijeni ile kaplanarak serumla karşılaştırılır ve uygun antikor varlığında aglütinasyon meydana gelir. Duyarlılaştırılmamış eritrositlere kist hidatik antijenleri yapışmakta, daha sonra spesifik antikor ile karşılaşınca aglütinasyon meydana gelmemektedir. Aglütinasyonun olması pozitif, olmayışı ise negatif olarak değerlendirilir. Aglütinasyon, tüplerde veya mikrotitrasyon plaklarında yapılmaktadır [28-32].

Literatürlerde IHA yönteminin, birçok araştırmacı tarafından güvenilir bir yöntem olduğu kabul edilmiş olup sıklıkla kist hidatiğin tanısında kullanıldığı görülmektedir.

Kagan (1968), kist hidatik tanısında IHA'nın ortalama duyarlılığını % 83 olarak belirlemiştir. Çiftçi (1989), IHA testinin duyarlılığını % 87.5 olarak saptamıştır [33,34].

Latex Aglütinasyonu (LA)

Antijenle kaplanmış lateks partikülleri oda ısısında, hasta serumu ile karşılaştırılır ve ortamda antikor varlığında aglütinasyon oluşturmaktadır. Testin duyarlılığı % 53-82 arasında değişmektedir [30,34].

Bentonit Filokülasyon Testi (BFT)

Suda eriyen antijenler biyolojik olarak invert bazı maddelere bağlanarak, antikor varlığı aranır. Duyarlılık LA yöntemiyle alınan sonuçlara benzerdir [5].

2.5.2. Presipitasyon teknikleri

İmmünodiffüzyon Teknikleri

Bu tekniklerin tümünde amaç antijen ve antikor arasındaki reaksiyonu, çökme reaksiyonu ile tayin etmektir.

Double Diffüzyon (DD)

Agar gibi yarı katı ortamda yayılmaya bırakılan antijen ve antikorun birbirlerine uygun oldukları bölgede çökme bantları halinde oluşması esasına dayanır. Testin duyarlılığı % 70 dir [29,35,36].

Elektroforez Teknikleri

İmmünoelektroforez (IEP)

Proteinlerin uygun elektrolit ve pH ortamına konulduktan sonra elektrik akımı yardımıyla ayrıştırılması esasına dayanır. Bu yolla, ayrıştırılan antijen, hasta serumuyla agar içinde difüzyona bırakılır, antijen ve antikorun optimal miktarlarda karşılaştıkları yerde çökme çizgileri oluşur. Duyarlılığı % 64-84 arasındadır [28].

Elektro İmmünodifüzyon (EID)

Counter-İmmünoelektroforez (CIEP)

Jel ortamında antijen ve antikor elektrik akımı ile sürüklenir ve çökme band oluşturulur. Çabuk ancak kantitatif olmayan bir testtir. Duyarlılığı % 80'dir [5].

Crossed Elektroimmünodifüzyon(CEID)

İncelenen örnekteki antikor içeren agarda difüzyona bırakılır. Antijen miktarı çökme bandının uzunluğuna göre hesaplanır. Kantitatif bir test olup duyarlılığı CIEP yöntemine eşittir.

2.5.3. Komplement fiksasyon (CF)

Test iki aşamada gerçekleştirilir. İlk aşamada, antijen ve antikor, bilinen miktarda kompleman varlığında reaksiyona girer ve kompleman bağlanır. Hasta serumunda antikor yoksa kompleman serbest kalır ve ikinci aşamada ayıraç olarak eklenen hemolitik sistemle birleşerek eritrositleri eritir. Hemolizin derecesine göre antikor-antijen miktarı ölçülebilir. Testin duyarlılığı hidatidoz tanısında % 36-93 arasında bildirilmiştir [5,30,34].

2.5.4. İmmunohistokimyasal teknikler

İmmünofloresan (IFI)

İmmünofloresan tekniklerinde; floresan boyalar özel bir yöntemle immüoglobulinlere bağlanabilir. Bu şekilde floresan boyalarla birleşmiş antikorlar basitçe lamalar üzerindeki antijenler ile birleştikten sonra ultraviyole ışınlarıyla ışınlandırılan floresan mikroskop altında incelendiklerinde floresan verir ve görünür hale gelir.

Direct Immünofloresan

Bu yöntemde, antijen tespit edilmiş lamalar üzerine floresanlanmış bağışık serum eklenir ve ultraviyole ışıklı mikroskopla karanlık altında incelenir. Antijen ve antikorun uygun olması durumunda floresan görülür. Bu yöntem daha çok antijen aranmasında kullanılır [5].

İndirect Immünofloresan (IFA)

Antijen tespit edilmiş lamlara, hasta serumu eklenir. Antijen-antikor birleşmesini görünür hale getirmek için floresanlanmış anti-insan globulini ilave edilir. Kist hidatikte duyarlılığı ortalama % 87'dir. Çözünürlük antijenler aynı zamanda selüloz matrikse veya yuvarlak boncuklara da emdirilebilir [5].

2.5.5. Binder-Ligand tayinleri

Radyoimmünoanalizi (RIA)

Radyoaktif hale getirilebilen antijen ve antikor araştırılması için kullanılan çok duyarlı bir yöntemdir. Antijenle kaplanmış plastik tüplere kistik hidatikli hasta serumu ve radyoizotoplanmış antiglobulin ilave edilir. Eğer hastada antijene uygun antikor varsa plastik yüzey radyoaktivite kazanır. Radyoaktivite dedektörle sayılır. Testin kist hidatik tanısında duyarlılığı % 83-91 arasında bildirilmiştir [5].

Enzyme-Linked-İmmunosorbent Assay (ELISA)

Solid bir yüzeye antijen yapıştırılır ve tayin edilecek antikor bir komponente bağlanır. Daha sonra belirlenecek antikora karşı oluşturulmuş enzimle işaretli ikinci bir antikor konur. Renk değişimi gözle veya spektrofotometre ile değerlendirilir. ELISA ile konakta *E.granulosus* antijenlerinin varlığında gösterilebilir. Kist hidatik tanısında sık olarak kullanılan bu testin duyarlılığı % 62-92 arasındadır [4,37-39].

Enzyme-Linked-Immunoelctrodiffusion Assay (ELIEDA)

EID’ den duyarlı bir yöntem olup, EID’ de presipite olan immün kompleksler ve peroksidoz ile işaretli antikorlarla muamele edilerek immünoglobulinlerin sınıflandırılmasına olanak sağlar [5].

Dot Enzyme- Linked İmmunosorbent- Assay (Dot-ELISA)

ELISA’ nın modifiye şekli olup, antijen nitroselüloz filtre kağıtlarına noktalanmıştır. Kromojen substratlar kullanılarak gözle görülebilir bir reaksiyon elde edilmesi esasına dayanır. Kist hidatik tanısında duyarlılık % 92 olarak bildirilmiştir [1].

2.5.6. Spesifik IgE tayini

Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST)

Saflaştırılmış antijen kağıt disklere yapıştırılır. Kistik hidatikli hasta serumu ile muameleden sonra 125 ile işaretli anti IgE eklenir. Böylece antijeni ile bağlanmış IgE’nin radyoaktif işaretli anti IgE ile kompleks yapması sağlanır. Bağlı radyoaktivite ile gama sayacında sayılır. Duyarlılığı % 59 ile % 90 arasında bildirilmiştir [37,38].

Basofil Degranülasyonu (BD)

Dolaşımda, bazofillere bağlı olarak bulunan spesifik antikorları ortaya çıkarır. Kist hidatik tanısında duyarlılığı % 91’ dir. Bu amaçla kullanılan, diğer bir test de in vitro alerjik bir reaksiyon temeline dayanan histamin açığa çıkarma testidir. Hastadan alınan bazofiller ile histamin tayin edilir [5].

Casoni Deri Testi

E.granulosus antijenlerinin intradermal uygulamasından sonra reaksiyon izlenir. Olumlu reaksiyonda 1-2 cm çapında eritemle çevrili bir plak oluşur ve testin

duyarlılığı % 87' dir. Dolaşan antikorların uyarması ve yabancı pozitif oranın yüksek olması nedeniyle fazla kullanılmaması önerilir [5,27,40,41].

2.6. Bağışıklık (İmmünite)

İnsan vücudu doku ve organlarına zarar verebilecek hemen her türde organizma ve toksine karşı direnç gösterme yeteneğine sahiptir. Bu özellik Bağışıklık adını alır. Bağışıklığın büyük bölümü vücudun ancak bir bakteriyel hastalık ya da toksine karşı haftalar ya da aylar içinde geliştirdiği Edinsel (Kazanılmış) bağışıklıktır. Diğer bir bölüm bağışıklık ise hastalık oluşturan organizmalara yönelik özgül bir süreçten çok genel özelliklerin sonunda gelişir. Bu tip bağışıklık Doğal Bağışıklık adını alır [42].

Doğal Bağışıklık

Doğal bağışıklığa aracılık eden hücreler monositler ve Doğal Katil (Natural Killer, NK) hücrelerdir. NK hücreleri iri lenfositlerin bir popülasyonudur. Monositler ve NK hücreleri bakteri hücre duvarları için özgün olan lipid ve karbonhidratlara ve tümör ve göçürülen hücreler için karakteristik olan diğer maddelere yanıt verir. Bunlar etkilerini kompleman ve diğer sistemler üzerinden göstermekte olup saldırdıkları hücreler büyük ölçüde osmotik lizis veya apoptoz yoluyla ölür [43].

Kazanılmış Bağışıklık

Kazanılmış bağışıklığın anahtarı lenfositlerin, vücudu işgal edebilen milyonlarca yabancı ajana karşı antikor üretebilme yeteneğidir. Antikor üretimini uyaran antijenler genelde protein ve polipeptit ise de karmaşık karbonhidrat parçalarına karşı da antikor üretebilmektedir. Nükleik asitler ve lipidlerin nükleoproteinler ve lipoproteinler halinde sunulması halinde bunlara karşı da antikor üretilebilmektedir. Kazanılmış bağışıklığın iki bileşeni vardır; hüморal bağışıklık ve hücre sel bağışıklık. Hüморal bağışıklığa plazma proteinlerinin gama-globulin payında yer alan dolaşımdaki immünoglobulin antikorları aracılık eder. İmmünoglobulinler, B lenfositleri tarafından üretilir ve kompleman sistemini etkinleştirir ve antijenlere

saldırarak bunları nötralize eder. Hücresel bağışıklığa T lenfositleri aracılık eder. Gecikmiş alerjik tepkimelerden ve yabancı doku göçütlerinin (transplant) geri çevrilmesinden sorumludur. Sitotoksik T hücreleri, kendilerini etkinleştiren antijene sahip hücrelere saldırır ve bunları tahrip eder, apoptozla öldürür [43].

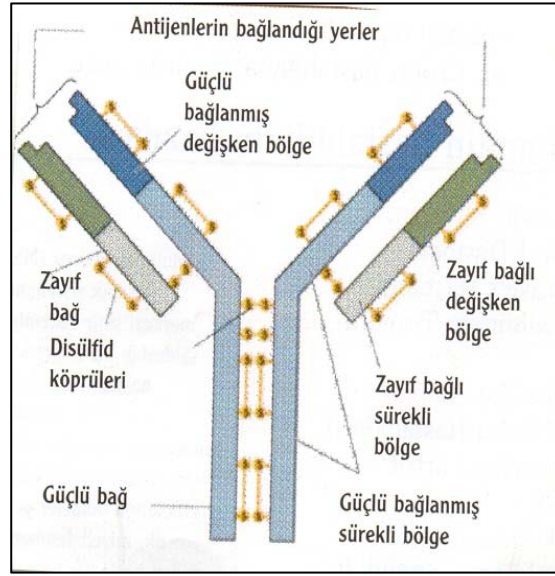
İmmünoglobulinler

İmmünoglobulinler, yabancı antijenlere karşı oluşan ve antijenlerle selektif olarak reaksiyona girebilen glikoprotein yapısında moleküllerdir. Antikor özelliği taşırlar ve plazma hücreleri tarafından sentezlenirler [44].

İmmünoglobulin molekülü iki uzun Ağır (Heavy, H) polipeptid zinciri, iki kısa Hafif (Light, L) polipeptid zincirinden yapılmıştır. Bir ağır zincir ortalama 420 amino asitten, bir hafif zincir ise ağır zincirin yarısı kadar, 210 amino asitten oluşmaktadır. Zincirlerin bir ucunda NH_2 , diğer ucunda COOH molekülleri bulunmaktadır. NH_2 bulunan uca Aminoterminal, COOH bulunan uca Karboksiterminal denilmektedir [45]. Amino asitlerin diziliş sırası büyük değişiklik gösterebildiğinden Aminoterminal kısmına ‘Değişken Bölge’(V), bu değişkenliğin görülmediği karboksiterminal kısmına ise ‘Sabit Bölge’ (C) denir. İmmünoglobulini oluşturan polipeptid zincirleri birbirine disülfid bağları ile bağlı bulunur. Bir immünoglobulin molekülünün ağır zincirlerinde, moleküle esneklik veren ve antijenle birleşme durumuna göre, gerektiğinde Y şeklinden T şekline dönebilmesini sağlayan ‘Menteşe’(Hinge) bölgesi bulunur.

İmmünoglobulin molekülü, ağır ve hafif zincirlerden oluşan Fab parçasından antijenle spesifik olarak birleşir. Fc parçasından da non-spesifik olarak Fc reseptörü taşıyan hücrelere (nötrofil, makrofaj, mast hücreleri...) bağlanabilir.

İmmünoglobulinler H zincirinin C bölgesindeki antijenik farklılıklara göre 5 sınıfa ayrılırlar. H zincirleri her immünoglobulin sınıfının özelliğini tayin eder. Antikorlar; IgG, IgA, IgM, IgE ve IgD olmak üzere 5 izotip içinde toplanan immünoglobulinlerden oluşmuşlardır [44].



Şekil 2.4. Bir antikor molekülünün yapısı [46].

IgG Antikoru

En temel antikor olan IgG'nin molekül ağırlığı 150.000 daltonudur. Her bir IgG molekülü, birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlanmış, 2 ağır ve 2 hafif olmak üzere 4 polipeptid zincirinden oluşmuştur (46). IgG'nin ağır zincirine gama adı verilir. Gama ağır zinciri kendi arasında da antijen farklılığı nedeniyle 4 alt sınıfa ayrılmıştır. Bu 4 ayrı gama zincirinin oluşturduğu 4 ayrı IgG alt sınıfı vardır; IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄ [47].

Alt sınıflar arasındaki antijenik farklılıklar, disülfid bağlarının pozisyon ve sayısındaki farklılıklardan kaynaklanır. IgG₁, total IgG miktarının %65'ini, IgG₂ % 23'ünü, IgG₃ % 8'ini, IgG₄ % 4'ünü oluşturur [44]. IgG moleküllerinin antijenleri bağlayan kısmına Fab, diğer kısmına Fc adı verilir. IgG, normal insan serumundaki immüoglobulinlerin % 80-85'ini oluşturan en önemli ve en fazla bulunan antikordur. En önemli işlevi doğrudan antijene bağlanarak onu etkisiz hale getirmektir. Güçlü bir antibakteriyel olan IgG, antijen çöktürücü etkiye sahiptir. Bakteri ve virüslere karşı vücudu korur, toksinlerin etkisini yok eder [46].

IgG, plasentadan geçebilen tek immüoglobulindir. Anneden fetusa geçen IgG

antikorları, doğumdan sonraki birkaç ay süresince, titreleri azalmakla beraber, bebekte kalır. Plazmada bulunan IgG, sızma ile eksternal sıvılara da geçebilir. Annenin emzirdiği ilk süte, serumdan sızmış IgG, bebeğin barsak mukozasından geçere, doğumu izleyen ilk günlerde pasif bağışıklığı güçlendirir [44].

IgM Antikoru

Molekül ağırlığı 950 000 daltondur. Her biri IgG molekülüne benzeyen, birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlanmış 5 monomerden oluşan bir pentamer yapı gösterirler. IgM sınıfı antikorların ağır zincirine mü (μ) zinciri denir ve her bir IgM molekülünde her bir molekül, iki mü zincirine disülfid bağlarıyla bağlanmış bir J (joining) zinciri içerir. Böylece tam bir IgM molekülünde 10 tane mü zinciri ve pentamerik yapı bütünlüğünü koruyan 1 tane J zinciri bulunur. Bunlarda menteşe bölgesi yoktur; bunun yerine 130 aminoasitlik ek CH_4 kangalı içerirler [46]. IgM, J zinciri taşıyan polimerler oluşturarak poliiimmünoglobulin reseptörler aracılığı ile epitelyal yüzeylere geçebilir. Plazmadaki total immünoglobulinlerin %8-10 kadarını IgM oluşturur. İnsanda IgM' in, IgM1 ve IgM2 olmak üzere iki alt sınıfı bulunmaktadır [44].

Molekül, 10 tane fab bölgesinin olması nedeniyle 10 antijeni tutabilme yeteneğine sahiptir. Normal serumda monomer IgM oldukça düşük derişimde bulunurken, bazı hastalıklarda yüksek oranda bulunur. Birincil immün cevapta sentezlenen ana immünoglobulin sınıfıdır; yani birçok antijene karşı ilk oluşan antikor sınıfıdır. Timustan bağımsız antijenlere karşı yalnızca IgM tipi antikorlar sentezlenir. İlk oluşan antikorlar olduklarından, serumda saptanmaları yeni bir enfeksiyonun göstergesi olarak kabul edilir. IgM antikorları polivalen özellik gösterirler. Örneğin bağışıklık sistem bileşenlerinin enfeksiyon bölgesinde toplanmasında, komplement adlı moleküllerin sabitlenmesi olayında ve hücre öldürmede önemli etkinlikleri vardır. Komplement sistemi etkinleştirmek için antijene bağlı iki IgG molekülü gerekirken, tek bir IgM molekülünün antijenle birleşmesi komplement sistemi aktive eder [46].

IgM antikor plasentayı geçemediğinden, yenidoğanda, herhangi bir antijene karşı IgM antikorları gösterilirse bu, bebeğin enfekte olduğunu kanıtlar. IgM esas itibariyle plazmada bulunur. Ayrıca çok daha az sekretuvar dokularda lokal olarak yapıldığı, mukoza hücrelerinden sekretuvar mekanizma ile sekresyonlara geçebildiği de bilinmektedir [44].

IgA Antikoru

Molekül ağırlığı monomer için 160 kDa, dimer için 400 kDa olan, plazmada %90 monomer, vücut sekresyonlarında hemen hemen tamamen dimer olarak bulunan bir immünoglobulindir. Çok az bir kısmı da polimer olarak bulunabilir.

Sekretuvar IgA molekülünün dimer yapısı, bir J zinciri ve sekretuvar parçadan oluşur. Ayrıca daha büyük sekretuvar IgA polimerleri de oluşur. Bunlar ‘Sekretuvar komponent’ de denen epitelyal bir transmembran protein olan polimerik immünoglobulin reseptörü ile, sekretuvar IgA olarak eksternal sekresyonlara entekre edilirler.

IgA’ nın, antijenik farklılık gösteren IgA1 ve IgA2 olmak üzere 2 alt sınıfı olduğu saptanmıştır. Plazmadaki total immünoglobulinlerin % 15 kadarını IgA oluşturur. Plazmadaki IgA nın %90 ını IgA1, %10 kadarını da IgA2 dir. Sekresyonlarda ise bu oran yarı yarıyadır [44].

IgA, esas itibariyle mukoza sekresyonlarının majör immünoglobulinidir ve bu nedenle sekresyon (mukus) ile örtülü dış yüzeylerde organizmanın lokal immün savunmasından sorumludur [44]. Tükürük, gözyaşı, anne sütü, ter, süt, salya, prostat salgısı, mide ve bağırsak salgıları gibi salgıların başlıca antikorudur. Vajinal sıvının temel antikorudur. Bakteri ve virüs için uygun nemli ortama sahip bu tip hassas bölgelerde bulunurlar. Enzimlere dayanıklı olmaları nedeniyle IgA antikorları, vücut sıvılarını mikroorganizmaların etkisinden korurlar. Ayrıca özel konumları nedeniyle salgılara yabancı moleküllerin karışmasını engellerler [46].

IgE Antikoru

Mol ağırlığı 190 kDa olan bir monomerdır. Normalde plazmadaki total immünoglobulinlerin ancak % 0.0004-0.001 kadarını IgE oluşturur [44]. Ancak parazitik enfeksiyonlarda ve alerjik durumlarda miktarı artar. IgE' nin büyük bir bölümü, savunma hücreleri olan bazofil ve mast hücrelerinin yüzeyine bağlı durumdadır. Serumda IgE miktarının artması, parazitlerin makrofaj ve eozinofiller tarafından parçalanmasını kolaylaştırır. IgE her hangi bir allerjenle (alerjiye sebep olan faktör) etkinleştğinde, bu hücreler tarafından birtakım aracı kimyasal maddelerin salgılanması başlatılarak tepki gösterilir [46].

IgD Antikoru

Mol ağırlığı 180 kDa olan bir monomerdır. Plazmada total immünoglobulinlerin % 0.2-1 kadarını IgD oluşturur [44]. Serumda az olmasına karşın, B lenfositlerin yüzeyinde antijen almacı olarak önemli rol oynar. Bu nedenle antijene uygun lenfositlerin uyarılmalarında ve çoğalmalarında etkin oldukları sanılıyor. IgD' nin menteşe bölgesi uzundur ve moleküle esneklik sağlar. B lenfositlerinin olgunlaşması boyunca, önce IgM almaçları, sonra IgD almaçları oluşur ve IgD, antijenik uyarımdan sonra lenfosit yüzeyinde kaybolur. Yapılarını tek tek incelediğimiz bu akıllı moleküller, savunma sistemimizin en önemli elemanlarından sayılabilir [46].

2.6.1. Echinococ antijenlerine verilen immün cevap

Hidatik kist hastalığında humoral ve hücrel immün cevap oluşturmaktadır. Humoral immün cevap göstergesi olarak serum antikor düzeyleri ölçülebilir. Enfeksiyondan en erken bir, genelde 16-17 hafta sonra antikorlar pozitif bulunur [4]. Tespit edilen majör spesifik antikor IgG sınıfındandır. Bununla beraber fistül gelişmiş akciğer hidatik kistlerinde ise IgA majör antikor olarak gösterilmiştir. Kist hidatik etrafında oluşan granümatöz infiltrasyon hücrel immünite sonucu gelişir. Hidatik kist hastalığında hücre proliferasyonu eozinofillerde ve mast hücrelerinde artış ile fibröz kapsül gelişmektedir [5].

Parazitin immünolojik kontrolünde esas rolü T lenfositler oynamakta; T lenfositler, makrofaj ve nötrofil lökositleri metasestodlara saldırmak için programlamaktadır [48]. T lenfositleri bu koordinatör rolü dışında ekinokok metasestodlarına doğrudan toksik etki de gösterebilmektedir [49]. Kist hidatik aynı zamanda konakçıda poliklonal B hücre aktivasyonuna yol açarak değişik sınıflarda (IgG, IgM, IgA ve IgE) antikorların oluşumuna yol açmaktadır [50,51]. Bu antikor sınıflarından hangisinin enfeksiyondan sonra ilk belirdiği bilinmese de [52] IgG antikor yanıtı, IgM ve IgA yanıtlarına göre daha sık görülmektedir [51]. Akciğer kist hidatikli hastalarda cerrahi rezeksiyon sonrası anti-ekinokok IgM düzeyleri 4-6 ay içinde, karaciğer kist hidatikli hastalarda ise 12 ay içinde normale dönerken IgG antikorları serumda daha uzun süre yüksek düzeyde kalmaktadır [51].

Echinococcus granulosus antijenlerine karşı verilen IgG antikor yanıtı özellikle IgG1 ve IgG4 'ü ilgilendirmektedir [53]. IgG1 ve IgE anti paraziter immün yanıtta önemli rol oynayan antikorlardır. Ekinokoka duyarlı T lenfositleri oluşturmak için köpeğe oral yol ile 1000-2500 adet, radyasyon ile inaktive edilmiş *E. granulosus* protoskoleksleri verilmiş ancak zaman içinde bu koruyucu direnç azalmıştır [48]. Koruyucu direncin azalmasında parazitin neden olduğu immünosupresyonun rolü olabilir. Vücudunda üreme gösteren metasestod taşıyan olgularda CD8(+) T lenfositlerin arttığı saptanmıştır [49]. Hidatidoz olgularında bazen açığa çıkan anti-HLA (Human Leukocyte Antigens) antikorları konakçı savunmasının bozulmasına neden olabilir [54]. Yine deneysel çalışmalar kiste komşu akciğer dokularının mikobakteriyel enfeksiyona daha duyarlı olduğunu göstermektedir [55]. Bir başka çalışmada ise anti-ekinokok antikorlarının tek başına parazitin büyümesini veya dokuya infiltre olmasını engelleyememesinin nedeni olarak metasestoddan salınan ve komplemanı nötralize eden faktörler sorumlu tutulmuştur [48].

Ekinokok antijenlerine verilen antikor yanıtı, ekinokok suşunun tipine, konakçıya ve kistin lokalizasyonuna göre değişmektedir [55]. Karaciğer ve periton hidatik kisti genellikle akciğer, beyin ve göz enfeksiyonlarına göre daha kuvvetli bir antikor reaksiyonu oluşturur [52,56]. Kist hidatikte serolojik tanı için ekinokok antijenlerinin

doğal enfeksiyona maruz kalmış at, fare, domuz, koyun, sığır, deve, insan gibi konakçılardan toplanması gerekmektedir [57]. Ekinokok antijenleri, kist sıvısından, kist membranından veya protoskolekslerden elde edilebilirse de serolojik tanıda kullanıma en uygun olanın kist sıvısı olduğu anlaşılmıştır. İnsan ve koyun kistlerinde sığır ve domuz kistlerine oranla, karaciğer kistlerinde de akciğer kistlerine oranla daha fazla antijen proteini olduğu gözlenmiştir. Koyundan elde edilen antijenler insan ve inek antijenlerine göre daha hassas sonuç vermektedir [58]. Koyun hidatik sıvı antijenleri diğer parazitlerle en az çapraz reaksiyon veren ve *Echinococcus* türüne ait tüm özgün fraksiyonları içeren bir komplekstir [59].

Kenya ve İngiltere’de Kist Hidatik hastalarında ELISA ile spesifik sirküle antijenler (CAG), spesifik immünokompleksler (CIC) ve spesifik antikolar (IgG, IgM, IgE, IgA) çalışılmıştır. Yapılan bu araştırmada; İngiltere’li Hidatik hastalarında çoğunlukla spesifik IgG, IgM antikoları mevcut bulunmuşken, Kenya’lı hastalarda tüm spesifik antikor sınıfları düşük bulunmuştur [4].

Hidatik kistli hastalara yönelik tanı kriterlerini belirlemek ve *E.granulosus*’ un işlevsel antijenik bileşenlerini tanımlamak amacıyla yapılan bir araştırmada, 36 hastadan alınan 87 serum, spesifik immünoglobulinlerin dört ana temel özelliklerini belirlemek ve numuneler ve denekler arasındaki karşılaştırılmalı immünolojik profilleri (CIP) tanımlamak üzere ELISA yöntemi ile incelenmiştir. *E.granulosus*’a yönelik spesifik IgA, IgE ve IgM hidatikli hastaların sırasıyla %19’unda, %53’ünde ve %69’unda tespit edilmiştir. Tedaviden bir yıl sonra IgM ve IgE antikolarının varlığı her zaman hastalıkla ilişkili olmuştur. Spesifik IgA, pulmoner kist bulunan hastalarda daha sıklıkla tespit edilmiştir [60].

Cerrahi müdahale geçirmiş 14 hastanın operasyon öncesi ve sonrası toplam 84 serum numunelerinde immün komponentler araştırılmış, total ve spesifik IgE ELISA yöntemi ile belirlenmiş, total IgG, IgA, IgM nefelometrik yöntemle belirlenmiştir. Hidatid hastalarında cerrahi müdahale sonrası Hidatid kistlerine bir daha rastlanmamıştır. Cerrahi müdahale sonrası total IgE düzeylerinde düşüş gözlenmesine karşın antijenler karşı üretilen IgE düzeylerinde artışın sürdüğü gözlenmiştir. Anti-ekinokokal IgG ve

total IgG düzeylerinde ve IgA ve IgM düzeylerinde araştırma boyunca bir değişim gözlenmemiş, ancak IgA ve IgG düzeylerinin Hidatid kistli hastalarda sağlıklı kişilerdekinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [61].

2.7. Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlardan dolayı oldukça reaktiftirler [6].

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir [6].

Süperoksit radikali; hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksit, hidrojen peroksitin kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. Süperoksit fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleştiğinde reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece NO etkisi inhibe edilir. Peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır. Süperoksit düşük pH değerlerinde daha reaktiftir [6].

Hidrojen peroksit; moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirir. Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir [6].

Hidroksil radikali; hidrojen peroksinin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici reaksiyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Son derece reaktif bir oksidan türüdür. Oluştuğu yerde büyük hasara sebep olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur [6].

Singlet oksijen; ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal iyonlarının başlamasına da sebep olur [6].

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller, peroksil radikalleri, alkoksil radikalleri, tiyl radikalleri gibi önemli serbest radikaller de meydana gelir [6].

2.7.1. Serbest radikallerin kaynakları

Biyolojik kaynakları

- ✓ Aktive olmuş fagositler
- ✓ Antineoplastik ajanlar
- ✓ Radyasyon
- ✓ Alışkanlık yapan maddeler (alkol, uyuşturucular)
- ✓ çevresel ajanlar (hava kirlilięi yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, aneztezikler, aromatik hidrokarbonlar)
- ✓ Stres

İntraselüler kaynakları

- ✓ Küçük moleküllerin otooksidasyonu
- ✓ Enzimler ve proteinler
- ✓ Mitokondrial elektrik transportu
- ✓ Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri

- ✓ Peroksizomlar
- ✓ Plazma membranı (Lipid peroksidasyonu)
- ✓ Oksidatif stres yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon [6].

2.7.2. Serbest radikallerin membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu)

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler [6].

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü, kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür [6].

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asiti zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asiti zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit radikalının moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali meydana gelir. Lipit peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksidlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder [6].

Plazma membranı ve orginal lipit peroksidasyonu, serbest radikal kaynaklarının hepsiyle stimüle edilebilir ve metallerin varlığında artar. Bu metaller redoks katalisti olarak görev yaparlar ve süperoksit ve hidrojen peroksitin daha güçlü oksidanlara

dönüşümünü katalizlerler [6].

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipit hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehidler oluşurlar. Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbiturik asitde ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. Bu metod lipit peroksidasyonu seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asiti oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir [6].

Lipit reaksiyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehidler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehid, membran kompanetlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, malondialdehidin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar [6].

2.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar Antioksidan Savunma Sistemleri veya kısaca Antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler

şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler [6].

Doğal (endojen) Antioksidanlar

1. Enzimler: Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi, süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz , glutatyon-S- transferaz, hidroperoksidaz.
2. Enzim olmayanlar: Lipit fazda bulunanlar; α - tokoferol (E-vitamini), β -karotendir. Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar; askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, miyoglobulin, hemoglobulin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutatyondur [6].

Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)

Ksantin Oksidaz İnhibitörleri, soya fasulyesi inhibitörleri, NADPH Oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksid dismutaz, Trolox-C, endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler, diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları (Mannitol, albumin, DMSO), demir redoks döngüsünün inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler, barbitüratlar, demir şelatörleridir [6].

Gıda Antioksidanları

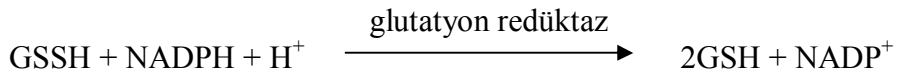
Butylated hydroxytoluene (BHT), Butylated hydroxyanisole (BHA), sodium benzoate, ethoxyquin, propylgalate, Fe- superoxyde dismutase [6].

2.8.1. Glutatyon

Karaciğerde, genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptiddir. Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelmiştir [6].

Çok önemli bir antioksidan olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında, proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membrandan transportunu sağlar. Glioksilaz ve insülin transhidrogenaz gibi bazı enzimlerin koenzimidir. Hemoglobulinin oksijenlenerek methemoglobine dönüşmesini önlemede rol alır [6].

Glutatyon (GSH) peroksinitriti, reaksiyon sonucu oksitlenerek okside glutatyona (GS-SH) dönüşür ve ortamdan uzaklaşır. Okside glutatyon daha sonra NADPH-bağımlı glutatyon redüktaz ile GSH'a dönüştürülür [62].



Glutatyon, eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Eritrosit zarını H_2O_2 den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan korur [6].

2.9. Myeloperoksidaz Enzim Aktivitesi

Fagositik lökositler çeşitli biyolojik hedeflerin parçalanmasına ve hasarına neden olabilen, enfeksiyona karşı vücudun hücresel cevabını başlatan hücrelerdir (6). Lökositler mikroorganizmaların öldürülmesi için hem oksijen bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmalar içerirler [11].

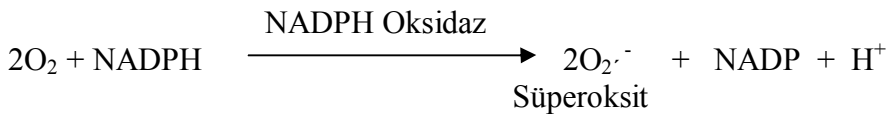
Oksijenin redüksiyon (süperoksid anyonu, hidrojen peroksid, hidroksil radikalleri) ve eksitasyon (singlet oksijen) ürünleri, fagositlerin (nötrofiller, eosinofiller, mononükleer fagositler) toksik özelliklerinden sorumludur. Bu toksik maddeler, fagositoz esnasında mikroorganizmaların ve diğer yabancı hücrelerin yıkımında kullanılırlar. Ancak, bunlar hücrelerin antioksidan savunma güçlerini aştıklarında

normal konak hücrelerine zarar verirler ve çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynarlar [6,63,64].

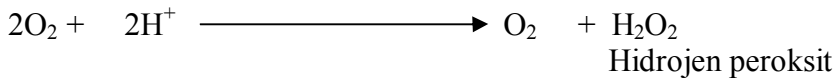
Fagositik lökositler çözünebilir ya da partiküler bir stimulusla uyarıldıktan sonra lizozomal komponentleri dışarı vermeye başlarlar ve reaktif oksijen metabolitleri oluşumuyla birlikte mitokondri dışındaki oksijen tüketiminde bir Solunumsal Patlama gösterirler. Fagositte edilmiş bakteri, solunumsal patlama ürünlerinin toksik etkisiyle öldürülür. Bu oksidan ürünler süperoksid anyonu, hidrojen peroksid, hidroksil radikali ve halid oksidasyon ürünleridir [6,10].

Solunumsal patlamadan sorumlu olan enzim NADPH Oksidaz' dır. Bu bir ektoenzim olup, plazma membranının dış yüzeyinde bulunur. Fagositik vakuol oluşturmak için plazma membranı invagine olduğunda, enzim iç tarafta kalır ve vakuoler boşluktaki oksijene etki eder [6].

Uygun bir stimulusla fagosit uyarıldıktan sonra NADPH Oksidaz aktive edilir ve indirgenmiş pirimidin nükleotitlerinden iki elektron alınarak iki molekül oksijene transfer edilir. Böylece iki molekül süperoksid oluşturulur [6].



Solunumsal Patlama sırasında tüketilen oksijen bakterisidal bir ajan olarak kullanılan hidrojen peroksida dönüştürülür.

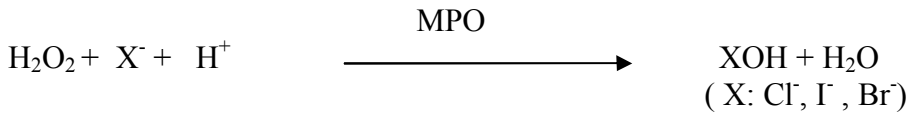


Süperoksidin sınırlı reaktivitesine rağmen, geçiş metalleri iyon komplekslerini indirgeyebilmesi ya da okside edebilmesi, metallerle ligandlar oluşturabilmesi, organik substratları okside edebilmesi ve perhidroksil radikaline protonlanabilmesi bu

radikalin fagositoz aracılığıyla olan sitotoksitede önemli bir rol oynamasına sebep olur.

Solunumsal patlamanın amacı; fagositler tarafından mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılabilecek oksidan ajanlar sağlamaktır. Bu oksidan ajanları kullanan mikrisidal sistemlerden biri de Myeloperoksidaz (MPO) Sistemi'dir. Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde bir hem enzimi olan MPO ihtiva ederler. Nötrofilde, antimikrobial aktiviteden sorumlu tutulan ilk oksidatif metabolizma ürünü hidrojen peroksiddir. H_2O_2 'in MPO ve bir halid ile kombinasyonu güçlü antimikrobial sistem, çeşitli bakteri, mantar, virüs, mikoplazma, çok hücreli organizmalara ve memeli hücrelerine karşı etkilidir (6, 63). MPO; çeşitli bileşikleri okside edebilen bir enzim-substrat kompleksi oluşturabilmek için, substratı olan hidrojen peroksid ile birleşir. Bunlardan oluşan halidlerin oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla mikroorganizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir ve bunlar hücre ölümüne yol açarlar [6].

Çeşitli stimulusların etkisiyle fagositler, MPO ihtiva eden granülleri ekstraselüler aralıktaki fagositik vakuol içine boşaltırlar. MPO, hidrojen peroksid varlığında, florür dışında halidlerin (klorür, iyodür ve bromür) oksidasyonu katalizler. Bu reaksiyonda MPO, halidden hidrojen perokside iki e^- transferi yapar, okside halid meydana gelir.



Hipohalöz asitler olan hipoklorit ($HOCl$), hipoiyodür (HOI) ve hipobromit ($HOBr$) ile bunların tuzları güçlü oksidanlardır ve biyolojik olarak önemli moleküllerle reaksiyona girerler. $HOCl$, lökositlerde üretilen ve mikrobisite etkiye sahip en önemli oksidandır [11]. H_2O_2 ile reaksiyona girerek singlet oksijeni, glukozamin ve taurin gibi aminlerle reaksiyona girerek kuvvetli oksidanlar olan klorlanmış aminleri oluştururlar [6,64].

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışmada 2003-2005 yılları arasında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi ve Etlik SSK Hastanesine başvuran Kistik Ekinokokoz şüpheli 361 hastanın (235 kadın, 126 erkek) serumları alınmıştır.

3.1. Kist Hidatik Tanısında Uygulanan IHA Yöntemi

IHA yöntemi, hasta serumlarında *E.granulosus* antikorlarının tespitinde kullanılan manüel bir yöntemdir. Çalışma esnasında test prosedürü dikkatli bir şekilde uygulanmıştır. Hazırlık aşamasında reagent ve hasta serumları oda sıcaklığına getirildi.

Mikroplate Reaksiyon

1. Mikropipet yardımı ile hazırlanan buffer solüsyondan 50 µl alınarak U mikroplate'in 8 godesine dağıtılır.
2. 50 µl'lik serum stok solüsyonu 1. godeye ilave edilerek karıştırılır.
3. Mikropipetle 1. godeden 50 µl alınarak 2. godeye koyulur.
4. 2. godeden 3. godeye 50 µl aktararak, bu işlemler 6. godeye kadar devam ettirilip 50 µl 6. godeden dışarı atılır.
5. 50 µl serum stok solüsyonundan 7.godeye ilave edilip, daha sonra karıştırılarak 50 µl dışarı atılır.
6. Kırmızı kan hücreleri süspansiyonu kullanılmadan önce karıştırılır.
7. 1 damla kırmızı kan hücresi 1.godeden başlayarak 6. godeye kadar damlatılır.
8. 1 damla kırmızı kan hücresi 7. godeye damlatılır (serum kontrol).
9. 1 damla kırmızı kan hücreleri 8. godeye damlatılır (reagent kontrol).
10. Her bir godedeki numune mikropipet yardımı ile homojenize edildi. Plate'ler oda sıcaklığında (22-25 °C) inkübe edilir.

Sonuçlar iki saat sonra değerlendirildi. Üretici firmanın test prosedürüne göre mikroplate godelerinin dibinde eritrositlerin aglutinasyon ağı oluşturarak dantele gibi

görünmesi pozitif, eritrositlerin düğme şeklinde godelerin ortasına çökmesi negatif olarak değerlendirildi.

Negatif Reaksiyon: Hemaglütinasyon yok.

Pozitif Reaksiyon: Hemaglütinasyon var.

Serum Kontrol: Godelerde düğme oluşumu gözlenmez.

Testin kontrolünde reagent kontrol negatif reaksiyon vermelidir. Kontrolün aglütinasyon verdiği durumlarda tekrar edilmelidir. Serum kontrol negatif sonuç vermelidir (fumouze,France).

Değerlendirme

Öncelikle kontroller incelenir. Pozitif (+) kontrol serumların pozitif, negatif (-) kontrol serumların negatif reaksiyon verdiği tespit edildikten sonra testin değerlendirilmesine geçilir.

Çizelge 3.1. Elde edilen dilisyonlar değerleri

1.gode	2. gode	3. gode	4. gode	5. gode	6. gode
1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560

Titre1/160'dan az ise; kist hidatik enfeksiyonu muhtemeldir.

Titre 1/160 civarı ise; şüpheli reaksiyon.

Titre 1/320 değerinde ya da üzerinde ise; belirgin bir kist hidatik reaksiyonu vardır.

Titreler 1/160 ya da az ise; test 2-3 kez tekrar edilmelidir.

3.2. İmmünoglobulin Düzeylerinin Tespiti

Kist hidatik şüpheli 361 hastanın kan serumlarında immünglobulin değerleri nefelometrik bir yöntem ile araştırılmıştır. Yöntem için insan immünglobulin N- antiserumları (IgG, IgA ve IgM) kullanıldı (BN Sistemi, Dade Bahring, USA).

Kullanılan Materyaller

- N Antiserum to Human IgG , Kod no: OSAS
- N Antiserum to Human IgA , Kod no: OSAR
- N Antiserum to Human IgM , Kod no: OSAT

Yöntemin İlkeleri

İmmünokimyasal bir reaksiyonda, insan serum numunesinin içerdiği proteinler spesifik antikorlar immunokomplekslerden oluşur. Bu kompleksler hafif bir ışın halinde numunenin içine yayılır, nüfus eder. Yayılan ışının yoğunluğu ile numunede bulunan protein yoğunluğu orantılıdır. Bulunan sonuç bir standart konsantrasyonu ile karşılaştırılarak değerlendirilir.

3.3. Oksidan Stres Düzeylerinin Tespiti

3.3.1. Lipit peroksit düzeyi tayini

Plazma lipit peroksidasyonu tayini Kurtel ve arkadaşlarının yöntemi ile tayin edildi. Lipit peroksidasyon düzeyleri Tiyoarbitürik asit reaktif madde (TBARS) oluşumu yöntemi ile çalışıldı. Hasta serumları oda sıcaklığına getirildi. Daha sonra serum üzerine TBA/TCA/HCl karışımı eklendi. Numune 5 dk santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü. Süpernatant tüplere alınarak üzerine BHT ilave edildi. Numuneler benmaride 15 dk süreyle bekletildi. Benmariden çıkartılan numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede köre karşı okundu. Plazma MDA düzeyleri nmol/ml plazma olarak hesaplandı [65].

3.3.2. Glutasyon tayini (RSH)

Önemli bir antioksidan olan GSH tayini Elmann'ın yöntemi ile tespit edilmiştir. Süpernatanın üstüne Tris/EDTA/SDS karışım solüsyonu eklendi. 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant tüplere alınarak üstüne DTNB ilave edilir ve karışım 15 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda numunelerin optik dansitesi spektrofotometre ile köre karşı okundu. Plazma GSH düzeyleri nmol/ml plazma olarak hesaplandı [66].

3.4. MPO Enzim Düzeyinin Tespiti

Kistik ekinokokoz şüpheli hastaların serumlarında MPO aktivitesi Glowick ve Kaplan'ın yöntemi ile çalışılmıştır. Serum üzerine sodyum fosfat tamponu eklenmiştir. Örnekler H_2O_2 ve Ortodianizidin ve su eklenir. Ayrı bir tüpe distile su, sodyum fosfat tamponu, H_2O_2 , ortodianizidin koyularak köre karşı hazırlandı. Serumların ve körün hazırlanmasından sonra inkübe edilir. İnkübasyondan sonra numunelerin ve körün üzerine HCl eklenir. Numunelerin optik dansitesi spektrofotometrede köre karşı okundu [67].

Lowry Metodu ile Protein Tayini

Protein tayini için Lowry metodundan yararlanılmıştır. Cam tüpe su, stok solüsyonu koyulup karıştırılarak kör hazırlandı. Standart hazırlamak için BSA alınıp üzerine su eklenir. Sonra stok solüsyonu eklendi. Serumlardan alınıp tüplere konuldu ve üzerlerine su ve stok solüsyonu eklendi. Kör, standart ve numune oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra üzerlerine folin eklendi. Karıştırılan bu örnekler oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.. Hazırlanan standart ve numunelerin optik dansitesi spektrofotometre ile köre karşı okundu [68].

Numunelerin protein absorbans değerleri plazma MPO düzeyleri U/ml protein olarak hesaplandı.

3.5. İstatistik

Bütün değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Sonuçlar ANOVA ve dağılımın homojen olup olmamasına göre Mann Whitney U testleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. $P < 0.05$ önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 İmmünoglobulin Antikor Düzeyleri

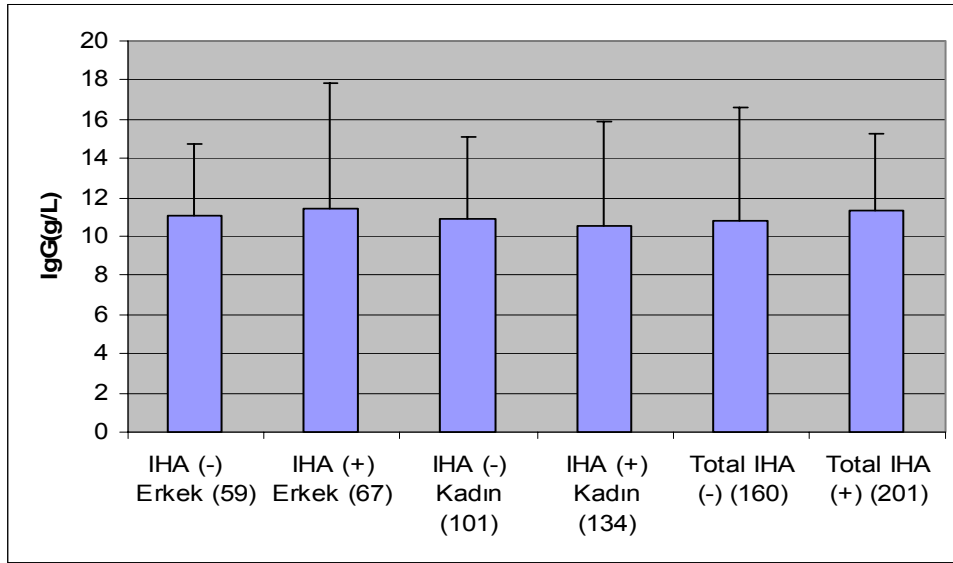
Kistik Ekinokokoz şüphesi ile hastaneye başvuran 361 kişinin serumlarında araştırılan immünoglobulin antikor düzeyleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

IHA yöntemiyle (-) kişilerde ve IHA yöntemiyle (+) kişilerde IgG, IgA ve IgM düzeyleri Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’ de grafiksel olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.1. Kistik Ekinokokoz tanıli hastaların IgG, IgA, IgM sonuçları

HASTALAR	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
IHA (-) Erkek (59)	11,1±3,6	1,9±1,0	1,0±0,8
IHA (+) Erkek (67)	11,4±6,5	2,8±1,0*	1,1±1,1
IHA (-) Kadın (101)	10,9±4,2	1,8±1,2	1,3±0,7
IHA (+) Kadın (134)	10,5±5,4	2,0±0,9	1,1±0,7
Total IHA (-) (160)	10,8±5,8	1,9±1,1	1,2±0,7
Total IHA (+) (201)	11,3±4,0	2,8±1,3*	1,0±0,6

*p<0.05 kontrolden istatistiksel olarak farklı

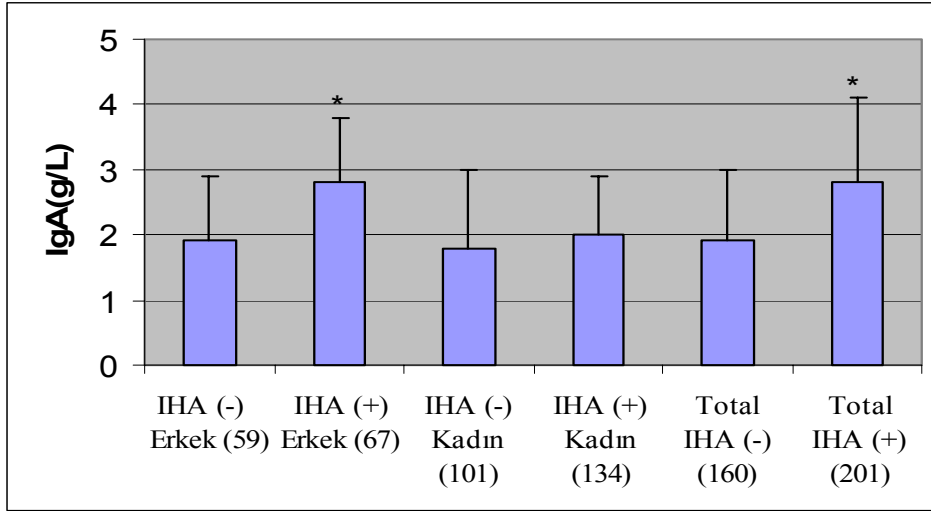


Şekil 4.1. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların IgG sonuçlar

Kistik Ekinokoz şüphesi ile başvuran hastaların IgG düzeylerinin incelenmesi sonucu IHA (-) grubu erkeklerde ortalama $11,1 \pm 3,6$ g/L, IHA (+) erkeklerde $11,4 \pm 6,5$ g/L., kadınlarda ise IHA (-) grubunda $10,9 \pm 4,2$ g/L iken, IHA (+) grubunda $10,5 \pm 5,4$ g/L olarak bulunmuştur.

Total IHA (-) grubunda IgG düzeyi ortalama olarak $10,8 \pm 5,8$ g/L, IHA (+) grubunda ise $11,3 \pm 4,0$ g/L olarak bulunmuştur.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, IHA (-) grubu ile IHA yöntemiyle (+) hastaların IgG düzeyleri arasında bir değişiklik bulunamamıştır.



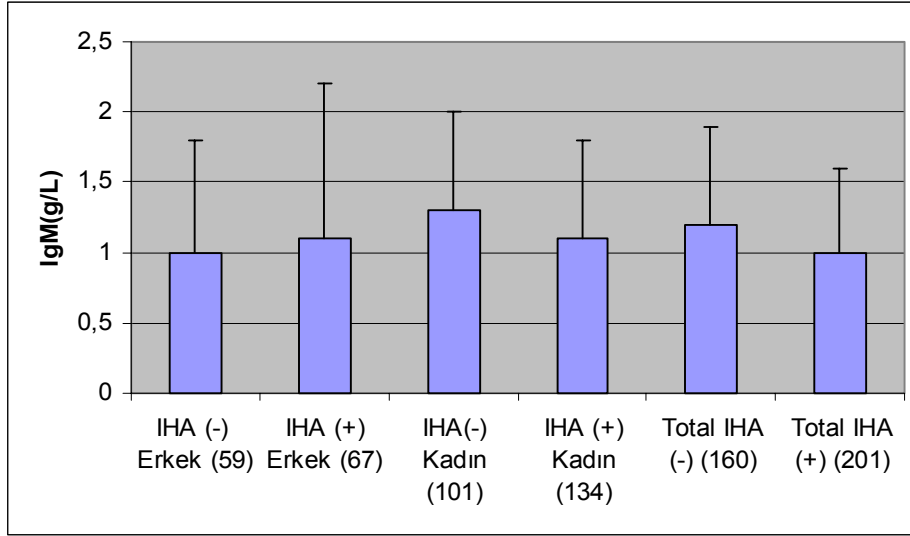
Şekil 4.2. Kistik Ekinokokoz tanılı hastaların IgA sonuçları

IgA düzeyleri IHA (-) erkeklerde ortalama $1,9 \pm 1,0$ g/L, IHA (+) erkeklerde $2,8 \pm 1,0$ g/L; IHA (-) kadınlarda $1,8 \pm 1,2$ g/L, IHA pozitif kadınlarda $2,0 \pm 0,9$ g/L olarak bulunmuştur.

Total IHA (-) grubunda IgA ortalama değeri $1,9 \pm 1,1$ g/L iken IHA (+)'lerde $2,8 \pm 1,3$ g/L olarak bulunmuştur.

IHA yöntemiyle (+) hastalarda, IHA (-) grubu ile kıyaslandığında IgA düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Pozitif erkek ve kadın hastalar karşılaştırıldığında IgA bakımından bir değişiklik bulunamamıştır. Fakat yine IHA yöntemiyle (+) erkek hastalar ile IHA (-) erkek grubu arasında anlamlı bir artış tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların IgM sonuçları

IgM düzeyleri IHA (-) erkek grubunda ortalama $1,0 \pm 0,8$ g/L, IHA (+) erkeklerde $1,1 \pm 1,1$ g/L ; IHA (-) kadınlarda $1,3 \pm 0,7$ g/L, IHA (+) kadınlarda $1,1 \pm 0,7$ g/L olarak bulunmuştur.

Total IHA (-) grubunda IgM ortalama değeri $1,2 \pm 0,7$ g/L iken, IHA(+)'lerde $1,0 \pm 0,6$ g/L olarak bulunmuştur.

IHA yöntemiyle (+) hastalar IHA (-) örneklerle kıyaslandığında IgM düzeyi bakımından bir değişiklik görülmemiştir.

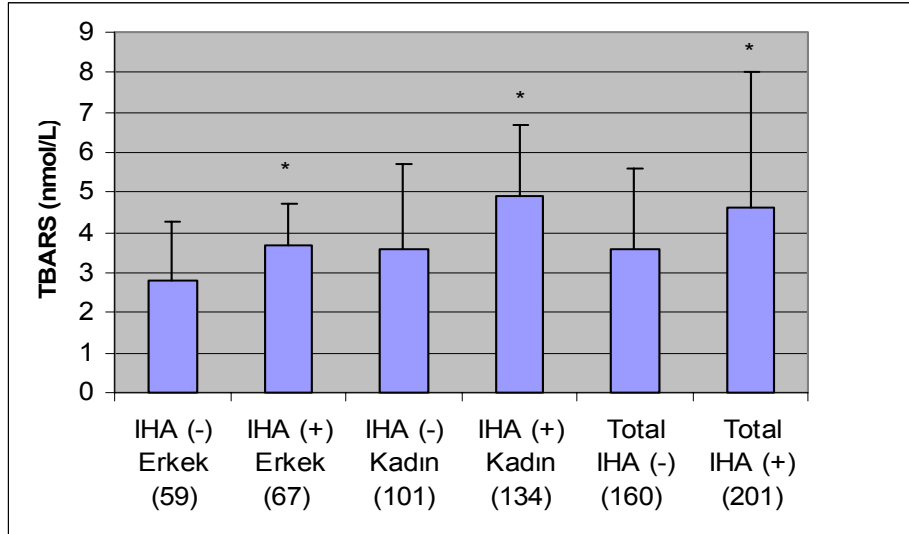
4.2. TBARS, GSH Düzeyleri ve MPO Sonuçları

IHA yöntemiyle (-) grubunda ve hastalık etkeni tespit edilen grupta plazma TBARS, GSH düzeylerinin ve MPO aktivitesinin sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6 da grafiksel olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.2. Kistik Ekinokokoz tanılı hastaların TBARS, GSH düzeyleri ve MPO sonuçları

HASTALAR	TBARS (nmol/L)	GSH (μ mol/L)	MPO (U/mg.protein)
IHA (-) Erkek (59)	2,8 $\pm$ 1,5	328 $\pm$ 149	3,3 $\pm$ 2,2
IHA (+) Erkek (67)	3,7 $\pm$ 1,0*	327 $\pm$ 181	7,8 $\pm$ 3,8*
IHA (-) Kadın (101)	3,6 $\pm$ 2,1	388 $\pm$ 143	3,1 $\pm$ 2,2
IHA (+) Kadın (134)	4,9 $\pm$ 1,8*	340 $\pm$ 131	6,1 $\pm$ 2,8*
Total IHA (-) (160)	3,6 $\pm$ 2,0	335 $\pm$ 152	3,1 $\pm$ 2,2
Total IHA (+) (201)	4,6 $\pm$ 3,4*	336 $\pm$ 172	6,0 $\pm$ 3,8*

*p< 0.05 kontrolden istatistiksel olarak farklı

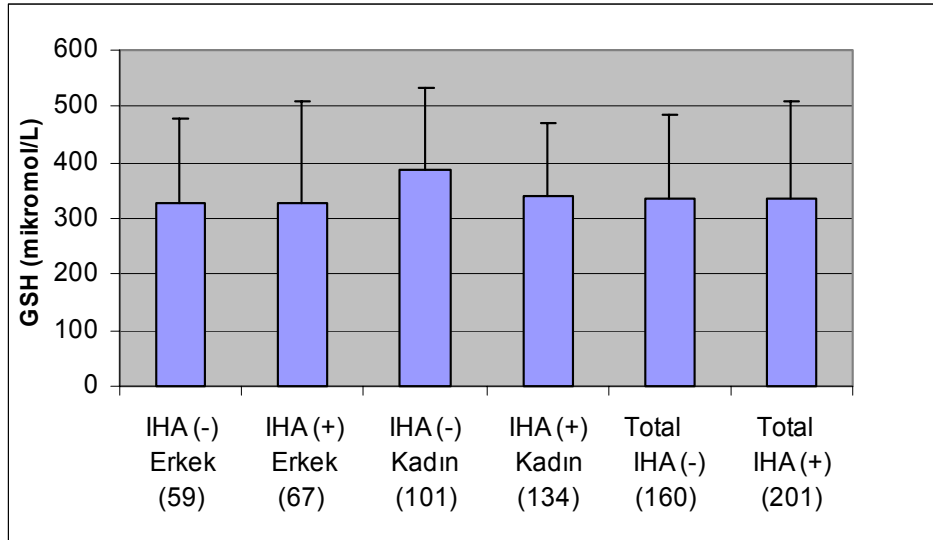


Şekil 4.4. Kistik Ekinokokoz tanılı hastaların TBARS sonuçları

Oksidatif stresin bir göstergesi olan TBARS düzeyinin ortalama değerleri IHA (-) grubu erkeklerde $2,8 \pm 1,5$ nmol/L iken, IHA (+) erkeklerde $3,7 \pm 1,0^*$ nmol/L olarak bulunmuş ve hastalarda TBARS düzeyinde anlamlı bir artış görülmüştür.

IHA (-) grubu kadınlarda TBARS düzeyi $3,6 \pm 2,1$ nmol/L olarak bulunmuşken IHA (+) kadınlarda ise $4,9 \pm 1,8^*$ nmol/L olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir.

Total IHA (-) grubu TBARS $3,6 \pm 2,0$ nmol/L düzeyinde ve total IHA (+)'lerde $4,6 \pm 3,4^*$ nmol/L düzeylerinde bulunmuştur ve yine hastalarda TBARS düzeyinde anlamlı bir artış gözlenmiştir.

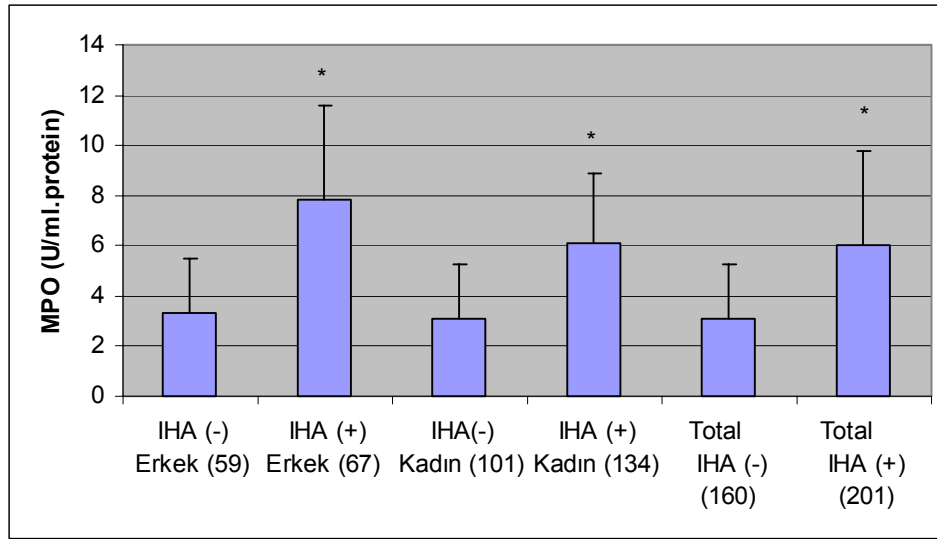


Şekil 4.5. Kistik Ekinokokoz tanılı hastaların GSH sonuçları

Önemli bir antioksidan olan glutatyon (GSH) düzeyinin ortalamaları IHA (-) erkeklerde 328 ± 149 µmol/L, IHA (+) erkeklerde 327 ± 181 µmol/L olarak tespit edilmiştir.

IHA (-) kadınlarda GSH düzeyi 388 ± 143 µmol/L, IHA (+) kadınlarda ise 340 ± 131 µmol/L olarak bulunmuştur.

Total IHA (-) grubunda GSH 335 ± 152 µmol/L düzeyinde bulunmuşken, IHA (+)'de 336 ± 172 µmol/L düzeyinde bulunmuştur. Bu sonuçlara göre gruplarda GSH düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmemiştir.



Şekil4.6. Kistik Ekinokoz tanılı hastaların MPO sonuçları

MPO enzim aktivitesinin ortalama değerleri IHA (-) erkeklerde $3,3 \pm 2,2$ U/mg.protein iken, IHA (+) erkeklerde $7,8 \pm 3,8$ U/mg.protein olarak bulunmuştur ve IHA pozitif erkeklerin MPO seviyelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir.

IHA (-) kadınlarda MPO ortalama değerleri $3,1 \pm 2,2$ U/mg.protein iken, IHA (+) kadın hastalarda $6,1 \pm 2,8$ U/mg.protein'dir ve hasta kadınların MPO değerlerinde bir artış gözlemlenmiştir.

Total IHA (-) grubunda MPO ortalama değeri $3,1 \pm 2,2$ U/mg.protein olarak bulunmuşken, total IHA (+) grubunda ortalama değer $6,0 \pm 3,8$ U/mg.protein olarak bulunmuştur ve hastaların MPO değerlerinde bir artış olduğu görülmüştür.

5. SONUÇ

Kistik Ekinokokoz Türkiye’de insanlarda ve hayvanlarda görülen endemik bir problemdir [69]. Bu hastalık, insan sağlığını, iş gücünü ve verimini olumsuz yönde etkilemekte, bununla birlikte ciddi boyutlara varan ekonomik kayıplara yol açmaktadır [2]. Bu nedenle hem insan hem de hayvan çalışmaları dikkate değerdir.

Bu çalışmada, 2003-2005 yılları arasında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi ile Etlik SSK Hastanesi’ne başvuran Kistik Ekinokokoz şüpheli 361 kişinin (235 kadın, 126 erkek) serumları alınmıştır. 201 kişinin serumlarında (134 kadın, 67 erkek) IHA yöntemiyle çeşitli titrelerde hastalık etkeninin varlığı tespit edilmiştir.

IHA yöntemiyle pozitif hastalarda Kistik Ekinokokoz hastalığının humoral immün yanıtın göstergesi olan immunoglobulin düzeylerine etkisini saptamak amacıyla IgG, IgA ve IgM düzeylerine hem IHA (-) hemde IHA (+) kişilerde bakılmıştır.

Hastalık etkeni tespit edilen kişilerde serum IgA düzeyleri IHA(-) grubuna kıyasla anlamlı olarak artmış bulunmuştur. Pozitif erkek ve kadın hastalar karşılaştırıldığında IgA bakımından bir ilişki görülmemiştir. IHA yöntemiyle pozitif hastaların IgG ve IgM düzeyleri IHA yöntemiyle negatif örneklerle kıyaslandığında ise bir anlamlılık bulunamamıştır.

Richard (1984), LA ve IEP yöntemleriyle Kistik Ekinokokoz varlığını tespit ettiği hastaların serumlarında IgG antikor yanıtının IgM ve IgA yanıtlarına göre daha sık rastlandığını; akciğer kist hidatikli hastalarda cerrahi rezeksiyon sonrası IgM düzeylerinin 4-6 ay içinde, karaciğer kist hidatikli hastalarda ise 12 ay içinde normale dönerken IgG’nin serumda daha uzun süre yüksek düzeyde kaldığını belirtmiştir [51].

Craig ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada İngiltere’de Hidatidosis hastalarının serumlarında spesifik IgG ve IgM antikorlarının varlığını tespit etmişlerdir. Aynı araştırma grubu Kenya’lı hastaların serumlarında ise tüm spesifik antikor sınıflarını düşük bulmuşlardır [4].

Hidatik Kistli hastalara yönelik tanı kriterlerini belirlemek ve *E.granulosus*'un işlevsel antijenik bileşiklerini tanımlamak amacıyla yapılan bir araştırmada, 36 hastadan alınan 87 serumda ELİFA yöntemiyle spesifik immünoglobulinler incelenmiştir. *E.granulosus*'a yönelik spesifik IgA, IgE ve IgM Hidatidli hastaların sırasıyla %19, %53 ve %69'unda tespit edilmiştir. Tedaviden bir yıl sonra IgM ve IgE antikorlarının varlığının belirlenmesi bu antikorların her zaman hastalıkla ilişkili olduğunu göstermiştir. Pulmoner kiste sahip olan hastalarda ise spesifik IgA'nın oranı yüksek bulunmuştur [60].

Barış ve arkadaşları yapmış oldukları araştırmada, fistül gelişmiş akciğer hidatik kistli hastalarda majör antikor sınıfının IgA olduğunu göstermişlerdir [5].

IgA esas itibariyle mukoza sekresyonlarının majör immünoglobulinidir ve bu nedenle sekresyon (mukus) ile örtülü dış yüzeylerde oraganizmanın lokal immün savunmasından sorumludur [44].

Bu çalışmada, hastalık etkeni tespit edilen kişilerde sadece IgA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. Bu sonucun, organizmaya giren *E.granulosus* onkosferlerinin organların mukozal yüzeylerine yerleşmesine ve burada bir hasar oluşturmaya karşı, humoral immün yanıtın devreye girmesiyle mukozanın temel immünoglobulini olan IgA sentezindeki artışa bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Çalışmamızda İHA yöntemiyle hastalık etkeni tespit edilmiş kişilerde, Kistik Ekinokokoz hastalığının oksidatif olaylar üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla, hastalık şüphesiyle başvuran tüm kişilerin serumlarında TBARS, GSH düzeyleri ve MPO aktivitesine bakıldı.

TBARS düzeylerinde ve MPO aktivitesinde hem erkek hem kadın hastalar birlikte değerlendirildiğinde İHA (-) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. GSH düzeyleri bakımından ise tüm gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Parazit hastalıklarında konağın oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmaları ile ilgili birçok çalışma mevcutken Kistik Ekinokokoz hastalarının TBARS, GSH düzeyleri ve MPO aktivitesinin araştırılmasına yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada enfekte olmuş hastalarda ister kadın ister erkek olsun lipid peroksidasyonunun son ürünü olan TBARS düzeyindeki anlamlı artışa karşılık, GSH düzeylerinin IHA (-) grupla karşılaştırıldığında bir değişiklik göstermemesi başka antioksidan savunma mekanizmalarının devreye girdiğini düşündürmektedir. Bu sebeple ileriki çalışmalarda diğer enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların çalışılması yerinde olacaktır.

IHA pozitif hastalarda TBARS düzeyi ve MPO aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışın bulunması; *E. granulosus* antijenlerine karşı hücrel immün yanıtın devreye girerek bölgedeki fagosit miktarının artmasıyla, solunumsal patlamanın gerçekleşmesi sonucu hem MPO aktivitesinde hem de HOCl ve OH radikallerinin üretiminde artış meydana gelmesine, artan radikal üretiminin de lipid peroksidasyonunun göstergesi olan TBARS düzeylerinde artışa neden olmasına bağlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Zhang, W., Li, J., WcManus P. D., "Concepts in Immunology and Diagnosis of Hydatid Disease", *Clinical Microbiology Reviews.*, 16 (1): 18-36 (2003).
2. Saygı, G., Temel Tıbbi Parazitoloji, *Esnaf Ofset Matbaacılık*, Sivas, 158-163 (1998).
3. Ortana. E., Margutti, P., Delunardo, F., Vaccari, S., Rigano, R., Profumo, E., Buttari, B., Teggi, A., Siracusano, A., "Molecular and immunological characterization of the C-terminal region of a new for *Echinococcus granulosus* Heat Shock Protein 70", *Parasite Immunology.*, 25: 119-126 (2003).
4. Craig, P. S., Gasser, R. B., Pwrad, L., Cabrera, P., Parietti, S., Borgues, C., Acuttis, A., Agula, J., Snowden, K., Paolillo, E., "Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay", *Veterinary Parasitol.*, 56 (4): 293-301 (1995).
5. Barış, İ., Şahin, A., Bilir, N., Kalyoncu, A. F., Emri, A. S., Selçuk, Z. T., "Hidatik kist hastalığı ve Türkiye 'deki konumu"., *Türkiye Akciğer Hastalıkları Vakfı Yayını.*, Ankara, 1 (1989).
6. Akkuş, İ., "Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri"., *Mimoza Yayınevi.*, Konya, 1-77 (1995).
7. Romero, F. J, Bosch-Morell, F., Romero, M. J., JAreno, E. J., Romero, B., Marin, N., Roma, J., "Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease"., *Environ Health Perspect.*, 106:1229-1234 (1998).
8. Draper, H. H., Hadley, M. A., "review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde"., *Xenobiotica.*, 20: 901-907 (1990).
9. Babior, B. M., "Phagocytes and oxidative stres"., *Am J Med.*, 109: 33-44 (2000).
10. Thomas, E. L., Bozeman, P. M., Jefferson, M. M., "Oxidation of bromide by the human leukocyte enzymes myeloperoxidase and eosinophil peroxidase. Formation of bromamines"., *J Biol Chem.*, 270: 2906-2913 (1995).
11. Barette, W. C., "Hannum D. M., Wheeler W. D., Hurst JK. General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: Abolition of ATP production"., *Biochemistry.*, 28: 9172-9178 (1989).
12. Wright, J., Schwartz, J. H., Olson, R., Kosowsky, J. M., Tauber, A. I., "Proton secretion by the sodium/hydrogen ion antiporter in the human neutrophil"., *J Clin Invest.*, 77(3): 782-788 (1986).

13. Marquez, L. A., Dunford, H. B., “Chlorination of taurine by myeloperoxidase. Kinetic evidence for an enzyme-bound intermediate”., ***J Biol Chem.***, 269(11): 7950-6 (1994).
14. Doğanay, A., Kara, M., “Hayvan sağlığı yönünden ekinokokozun Türkiye’ de ve Dünya’ daki epidemiyolojisi ve profilaksisi”., ***T Klin J Surgery.***, 3: 71-181 (1998).
15. Unat, E. K., Üner, A., Özcel, M. A., Altıntaş, N., Budak, S., Dalda, N., “İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik”, ***7. Ulusal Parazitoloji Kongresi özet kitabı***, Girne, 10 (1991)
16. Oytun, Ş. H., , Tıbbi parazitoloji, ***Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları***, Ankara, 193 (1968).
17. Roberts, M. G., Lawson, J. R., Gemmel, M. A., “Population dynamics in echinococcosis and cysticercosis:mathematical model of the life-cycle of *Echinococcus granulosus*”., ***Parasitology.***, 92: 621-641 (1986).
18. Altıntaş, K., ”İnsan sağlığı yönünden ekinokokozun Türkiye’de ve Dünya’daki epidemiyolojisi ve profilaksisi”, ***T. Clin., J. Surgery.***, 3: 182-186 (1998).
19. Farmer, P. M., Chatterleys, S., “Echinococcal cyst of the liver: Diagnosis and surgical management”., ***Ann Clin Lab Sci .***, 20 (6): 385-391 (1990).
20. Radhi, J. M., Thavanathon, M. J., “Hydatid cyst presenting as a breast lump”., ***Original Articals.***, 33 (1): 29-30 (1990).
21. Plorde, J. J., Cestodes In Ryan, K. J., (ed), (ed), “Sherris medical microbiology 3th ed”., ***Appleton & lange Norwalk***, Connecticut , 716-718 (1994).
22. Safioleas, M., Misiakos, E. Manti, C., Katsikas, A. Skalkeas G., “Dianostic evaluation and surgical managemant of hydatid disease of the liver”, ***Word journal af surgery***, 18 (6): 859-865 (1994).
23. Akyol, V. Ç., “Hidatidoz ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi”., ***J Fac Vet Med.***, 20: 137-142(2001).
24. Gönlügür. U., Gönlügür. E. T., Akkurt. İ., “Ekinokok Antijenleri”, ***Akciğer Arşivi.***, 5: 162-164 (2004).
25. Çetin, E. T., Ang, Ö., Töreci, K., “Tıbbi Parazitoloji”., ***İstanbul Üniversitesi Yayını.***, İstanbul, 528 (1985).
26. Unat, E. K., “*Echinococcus granulosus* ve parazitliği”., ***İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları.***, İstanbul, 106 (1979).

27. Merdivenci, A., "Klinik Parazitoloji", *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları*, İstanbul., 354 (1984).
28. Conder, G. A., Anderson, F. L., Schantz, P. M., "Immunodiagnostic tests for hydatidosis in sheep: An evaluation of double diffusion, immunoelectrophoresis, indirect hemagglutination, and intradermal tests", *J. Parasitol.*, 66: 577-584 (1980).
29. Sonnenwirth, A. C., Jaret, L., "Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis 8th ed", *the C. V. Mosby Company St. Louis Toronyo.*, London., 2036-2139 (1980).
30. Chemtai, A. K., Bowry, T. R., Ahmad, Z., "Evaluation of five immunodiagnostic techniques in echinococcosis patients", *Bulletin of the World Health Organization.*, 59 (5): 767-772 (1981).
31. Njeruf, F. M., Gathuma, J. M., "Serodiagnosis of hydatidosis in live-stock by the indirect hemagglutination test (IHA) and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)", *Bull. Anim. Hlth. Product.*, Africa, 35 (2) : 124-129 (1987).
32. Abo-Shedada, M. N. J., "Some observations on hydatidosis in Jordan", *Helminthology.*, 67(3): 248-252 (1993).
33. Kagan, I. G., "Review of serological tests for the diagnosis of Hidatid disease", *Bulletin of the World Health Organization*, 39: 25-37 (1968.).
34. Çiftçi, H., "İnsan Hydatidosis'inin Serolojik tanısında CF, IHA, LA, ve Dot-ELISA yöntemlerinin değeri", Uzmanlık Tezi, *Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü*, Ankara, 31 (1989).
35. Aykol, F., "Tabii enfekte koyunlarda kist hidatiğin (IEP) ve çift diffüzyon testlerle karşılaştırılmalı teşhisi", Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.*, Ankara, 38 (1986).
36. Isenberg, D. H., Clinical Microbiology Procedures Handbook, *American Society for Microbiology.*, 2, (1992).
37. Marioua, A., Bout, D., Capron, A., "Evaluation of ELISA and RAST using purified antigens for diagnosis of hydatidosis", *Pat. Biol.*, 32: 15-22 (1984).
38. Bakır, T., Üzümlü, K., Karadağ, Ş., Güllü, H. İ., "Kist Hidatikli hastalarda serum spesifik immunoglobulin E'nin tanısallık değeri", *Karadeniz Tıp Dergisi*, 1: 33-36 (1987).
39. Kaynar, V., Akaya, F., Tuğrul, M., "Post - operatif kist hidatik tanısı konan hastalarda KBT; IHA ve ELISA testleri ile alınan sonuçların değerlendirilmesi", *İnfeksi Derg.*, 4: 651-660 (1990).

40. Merdivenci, A., Aydınoglu, K., "Hidatidozis (Hidatik Kist Hastalığı)", *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları*, İstanbul, 97 (1982).
41. Brown, S. M., Reddy, K. R., Jeffers, L. J., Schiff, E. R., "Misdiagnosis of echinococcal cyst disease of the liver", *AM J. Gastroenterol.*, 81: 984-987 (1986).
42. Guyton, A. C., Hall, J. E., "Tıbbi Fizyoloji, 10th ed", Çavuşoğlu H., *Nobel Kitabevi*, 402-408 (2001).
43. Ganong, W. F., "Tıbbi Fizyoloji", 19th ed., *Barış Kitabevi*, Ankara, 550-557 (1999).
44. Kılıçturgay, K., "İmmunology", *Güneş & Nobel Tıp Yayınevleri*, Bursa., 119-128 (1997).
45. Özbal, Y., "Temel İmmünoloji, 2th ed", *Nobel Kitabevleri*, 106-122 (2000).
46. Goldsbay, R. A., Kindt, T. J., Osborne, B. A., "Kuby İmmunology, 4th ed", *W.H. Freeman and Co.*, New York, 83-113 ,149-172 (2000).
47. Gülmezoğlu, E., "Bağışıklığın Temelleri", *Hacettepe Bilim Merkezi Derneği*, 95-97 (1983).
48. Gottstein, B., "Molecular and immunological diagnosis of Echinococcosis", *Clin Microbiol Rev.*; 5: 248-61 (1992).
49. Wangoo, A., Ganguly, N. K., Mahajan, R. C., "Specific T cell cytotoxicity in experimental *Echinococcus granulosus* infected mice", *Indian J Med Res.*; 86: 588-90 (1987).
50. Ali Khan, Z., Rausch, R. L., "Demonstration of amyloid and immune complex deposits in renal and hepatic parenchyma of Alaskan alveolar hydatid disease patients", *Ann Trop Med Parasitol* ; 81: 381-92 (1987).
51. Richard, M. D., "Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. Latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid antigen", *Pathology*, 16: 207-10 (1984).
52. Sahip, N., Uysa, H., Öztoprak, A., "1993-2000 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesinde incelenen kist hidatik ön tanıli olguların serolojik sonuçları", *T Parazit Derg.*, 25: 236-238 (2001).
53. Shambesh, M. K., Craig, P. S., "Wen H, et al. IgG1 and IgG4 serum antibody responses in asymptomatic and clinically expressed cystic echinococcosis patients", *Acta Trop.*, 64: 53-63 (1997).

54. Ameglio, F., Saba, F., Bitti, A., et al. "Antibody reactivity to HLA classes I and II in sera from patients with hydatidosis", *J Infect Dis.*, 156: 673-676 (1987).
55. Ellis, M. E., Siner, W., Asraf, A. M., Hussain Qadri, S. M., "Echinococcal disease and mycobacterial infection", *Ann Trop Med Parasitol.*, 85: 243-251 (1991).
56. Sbihi, Y., Rmiqui, A., Rodriguez-Cabezas, M. N., "Comparative sensitivity of six serological tests and diagnostic value of ELISA using purified antigen in hydatidosis", *J Clin Lab Anal.*, 15: 14-18 (2001).
57. Mamuti, B., Yamasaki, H., Sako Y., et al., "Usefulness of hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus* developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic echinococcosis in humans", *Clin Diagn Lab Immunol.*, 9: 573-576 (2002).
58. Karaman, Ü., Atambay, M., Aycan, Ö. M., Daldal, N., "İndirekt hemaglutinasyon tekniğinde (IHA) insan, inek ve koyun antijenlerinin karşılaştırılması", *T Parazitol Derg.*, 26: 251-253 (2002).
59. Leggatt, G. R., Yong, W., McManus, D. P., "Serological evaluation of the 12 kDa subunit of antigen B in *E. granulosus* cyst fluid by immunoblot analysis", *Trans R Soc Trop Med Hyg* 86: 189-92 (1992).
60. Pinon, M. J., Poirriez, J., Lapan, H., Geers, R., Pena, R., Fernandez, D., "Value of Isotopic Characterization of Antibodies to *Echinococcus granulosus* by Enzyme-Linked Immuno-Filtration Assay", *Eur. J. Clin. Microbial.*, 291-295 (1987).
61. Bulut, V., İlhan, F., Yücel, A. Y., O nal, S., İlhan, Y., Godekmerdan, A., "Immunological Follow-up of Hydatid Cyst Cases", *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Jenerio, 96(5): 669-671 (2001).
62. Fang, Y. Z., Yang, S., WU, G., "Free radicals, antioksidants and nutrition, *Nutrition.*, 18:872-879 (2002).
63. Panasenkov, O. M., Chekanov A. V., Arnhold, J., Sergienko V. I., Osipov, A. N., Vladimirov, Y.A., "Generation of free radicals during decomposition of hydroperoxide in the presence of myeloperoxidase or activated neutrophils", *Biochemistry (Moscov)*, 70(9): 998-1004 (2005).
64. Klebanoff, S. J., "Myeloperoxidase: friends and foe", *J Leukoc Biol.*, 77(5):598-625 (2005).
65. Kurtel, H., Granger, D. N., Tso, P., "Grisham MB: Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress", *Am J Physiol* 263: G573-G578 (1992).
66. Elmann, G. L., "Tissue sulphydryl groups", *Arch Biochem. Biophys.*, 82: 70-77 (1959).

67. Glowick, S. P., Kaplan, S. D., "Methods in Enzymology"., *Academic Press.*, New York., 769 (1955).
68. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J., "Protein measurement with the Folin phenol reagent"., *J Biol Chem.*, 193 (1): 265-75 (1951).
69. Umur S., "Prevalance and Economic Importence of Cystic Echinococcosis in Slaughtered Ruminants in Burdur, Turkey"., *J. Vet. Met.*, 50: 247-252 (2003).
70. İnternet: Ergin E. *Granulosus*, <http://www.med.sc.edu:85/parasitology/ech2.jpg>. (2004).
71. İnternet: E. *Granulosus*, <http://www.med.sc.edu:85/parasitology/cestodes.htm> (2004).
72. İnternet: *Echinococcus* türlerinin yayılışı, http://www.biosci.ohiostate.edu/~parasite/distributions/hydatid_distribution.html (2004).
73. İnternet: Hidatik Kist, <http://cal.vet.upenn.edu/paralab/labs/hydatid1.gif> (2004).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YILMAZOĞLU, Kadriye
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 05.01.1981 ÇANKIRI
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 229 86 81
e-mail : kadriye1980@yahoo.com

Eğitim

<i>Derece</i>	<i>Eğitim Birimi</i>	
<i>Mezuniyet tarihi</i>		
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi/ Biyoloji	2003
Lise	Anıttepe Lisesi	1998

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Kitap okumak, yürüyüş, seyahat etmek, bilgisayar.