

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİSTİK EKİNOKOKKOZİSDE
PROİNFLAMATUAR SİTOKİN, SİTOKİN
RESEPTÖR VE KEMOKİN YANITI**

SERAP ARCAK

**TIBBİ PARAZİTOLOJİ
DOKTORA TEZİ**

İZMİR-2009

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİSTİK EKİNOKOKKOZİSDE
PROİNFLAMATUAR SİTOKİN, SİTOKİN
RESEPTÖR VE KEMOKİN YANITI**

**TIBBİ PARAZİTOLOJİ
DOKTORA TEZİ**

SERAP ARCAK

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Çiler Akısü

(Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2005.KB.SAG.011 numara ile desteklenmiştir.)

TEŐEKKÜR

Tez çalıŐmalarım esnasında ve doktora eğitimim sũresince beni her zaman destekleyerek bilgi ve deneyimlerini aktaran, değerli danışman hocam ve Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Parazitoloji Bilim Dalı Başkanı, Sayın Prof. Dr. iler Akısũ'ye, tez çalıŐmalarımın tamamlanmasında her tũrlũ katkı ve önerileri ile bana yardımcı olan, tez izleme komitemdeki değerli hocalarım, Sayın Doç. Dr. Őmit Aksoy ve Prof. Dr. Sedat Karademir'e, tez çalıŐmamın tũm aŐamalarında bilgi, deneyim ve desteğini esirgemededen benimle paylaŐan, Sayın Doç. Dr. Songũl Bayram Delibaş'a, örneklerin sağlanmasında önemli katkıları olan Sayın Uzm. Dr. Kenan Can Ceylan'a, istatistiksel analizlerin yapılmasında destek olan Sayın Uzm. Dr. Mustafa Delibaş'a, doktora eğitimim sũresince bana bilgi, deneyim ve yardımları ile destek olan Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Parazitoloji Bilim Dalı öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma, tũm yardımları için Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Mũdũrlũđũ'nũn ve Sağlık Bilimleri Enstitũsũ'nũn değerli çalıŐanlarına ve bu zorlu eğitimim sũresince her zaman yanımda olan çok sevgili aileme sonsuz teŐekkũr ediyorum.

İÇİNDEKİLER	i
TABLOLAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
KISALTMALAR	vi
ÖZET	1
ABSTRACT	4
1.GİRİŞ ve AMAÇ	7
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1 Echinococcus granulosus	9
2.1.1 TARİHÇE	9
2.1.2 SİSTEMATİKTEKİ YERİ	10
2.1.3 MORFOLOJİ	13
2.1.3.1 Erişkin Form.....	13
2.1.3.2 Yumurta	14
2.1.3.3 Larval Form.....	14
2.1.4 YAŞAM DÖNGÜSÜ	16
2.1.4.1 Ara Konaklarda Yaşam Döngüsü.....	16
2.1.4.2 Kesin Konaklarda Yaşam Döngüsü	18
2.2 KİSTİK EKİNOKOKKOZİS	19
2.2.1 PATOGENEZ	19
2.2.1.1 Karaciğer Tutulumunda Patogenez	20
2.2.1.2 Akciğer Tutulumunda Patogenez.....	21
2.2.1.3 Diğer Organ Tutulumlarında Patogenez	21
2.2.2 KLİNİK	22
2.2.2.1 Karaciğer Tutulumunda Klinik	23
2.2.2.2 Akciğer Tutulumunda Klinik	25
2.2.2.3 Diğer Organ Tutulumlarında Klinik.....	25
2.2.3 İMMÜNİTE (İMMÜN YANIT)	28
2.2.3.1 İmmünite ile İlgili Genel Bilgiler	28
2.2.3.2 KE'de İmmünite	32
2.2.3.2.1 Kist Oluşumu Öncesi İmmünite	33
2.2.3.2.2 Kist Oluşumu Sonrası İmmünite.....	34

2.2.4 EPİDEMİYOLOJİ, COĞRAFİ DAĞILIM VE PREVALANS	40
2.2.4.1 Dünyadaki Dağılım	40
2.2.4.2 Türkiye'deki Durum	42
2.2.5 TANI	43
2.2.5.1 Klinik Tanı	43
2.2.5.2 Görüntüleme Yöntemleri ile Tanı	43
2.2.5.3 Direkt Tanı	44
2.2.5.4 Serolojik Tanı	45
2.2.6 TEDAVİ	48
2.2.7 KORUNMA ve KONTROL	50
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	52
3.1 ÇALIŞMA GRUPLARI ve KONTROL GRUBU	52
3.2 <i>E. granulosus</i> ANTİJENİNİN HAZIRLANMASI	54
3.3 IgG ELISA TESTİ	54
3.3.1 KULLANILAN SOLÜSYON VE KİMYASAL MALZEMELER	54
3.3.2 ELISA PLAKLARININ ANTİJENLE KAPLANMASI	56
3.3.3 IgG ELISA TESTİNİN UYGULANMASI	56
3.4 PERİFERİK KAN MONONÜKLEER HÜCRELERİNİN ELDESİ	57
3.5 ÖZGÜN İN VİTRO T LENFOSİT PROLİFERASYONU	58
3.5.1 HÜCRE PROLİFERASYON BESİYERİ	58
3.5.2 ÖZGÜN <i>in vitro</i> T LENFOSİT PROLİFERASYONUNUN UYGULANMASI	58
3.6 SİTOKİN ve SİTOKİN RESEPTÖRÜ ELISA TESTLERİ	60
3.6.1 IFN γ , IL4, IL12(p40), IL1 β , IL8 SİTOKİN ve sIL2R α SİTOKİN RESEPTÖRÜ ELISA TESTLERİ	63
3.6.1.1 Kullanılan Solüsyonlar ve Standartlar	63
3.6.1.2 Testlerin Uygulanışı	65
3.6.1.2.1 IFN γ , IL4, IL12(p40), IL8 Sitokin ve sIL2R α Sitokin Reseptörü ELISA Testlerinin Uygulanışı	65
3.6.1.2.2 IL1 β Sitokin ELISA Testinin Uygulanışı	66
3.6.2 IL13 SİTOKİN ELISA TESTİ	67
3.6.2.1 IL13 Sitokin ELISA Testinde Kullanılan Solüsyonlar ve Standartlar	67

3.6.2.2 IL13 Sitokin ELISA Testinin Uygulanışı	68
3.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	69
3.8 KULLANILAN KİM YASAL MADDELER ve MALZEMELER	70
4. BULGULAR	71
4.1 IgG ELISA SONUÇLARI	71
4.2 SİTOKİN-ELISA SONUÇLARI	73
4.2.1 IFN γ ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI	74
4.2.2 IL4 ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI	76
4.2.3 IL12(p40) ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI	80
4.2.4 IL1 β ÜST SIVI ELISA Sonuçları	82
4.2.5 IL1 β SERUM ELISA SONUÇLARI	84
4.2.6 IL2SR α ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI	85
4.2.7 IL2SR α SERUM ELISA SONUÇLARI	87
4.2.8 IL13 ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI	88
4.2.9 IL8 SERUM ELISA SONUÇLARI	89
5. TARTIŞMA.....	91
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	108
7. KAYNAKLAR.....	113
EK. ETİK KURUL RAPORU.....	127

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: <i>E. granulosus</i> türleri ve genotipleri/suşları	12
Tablo 2: Kistik ekinokokkozis semptom ve bulgularının organlara göre dağılımı	27
Tablo 3: İmmün sistemin başlıca hücreleri	28
Tablo 4: KE hastalarında farklı primer testlerin antikor saptama sensitivite ve spesifite	46
Tablo 5: Çalışma grupları ve kontrol grubu özellikleri	52
Tablo 6: Hücre kültür plağındaki çalışma sistemi	60
Tablo 7: Sitokin ELISA ve sitokin reseptörü ELISA setleri/kiti, kullanılan solüsyonlar	61
Tablo 8: Tüm KE hastalarının ve kontrol grubu bireylerinin mevcut kistlerinin özellikleri ve IgG ELISA sonuçları	71
Tablo 9: Tüm gruplarda pozitif kontrollere, negatif kontrollere ve antijenlere ait üst sıvılardaki ortalama IFN γ , IL4, IL12(p40), IL1 β , IL2sR α , IL13 düzeyleri	73
Tablo 10: Üst sıvılardaki IFN γ düzeyleri	75
Tablo 11: Üst sıvılardaki IL4 düzeyleri	77
Tablo 12: Üst sıvılardaki IL12(p40) düzeyleri	80
Tablo 13: Üst sıvılardaki IL1 β düzeyleri	82
Tablo 14: Serumlardaki IL1 β düzeyleri	84
Tablo 15: Üst sıvılardaki IL2sR α düzeyleri	85
Tablo 16: Serumlardaki IL2sR α düzeyleri	87
Tablo 17: Üst sıvılardaki IL13 düzeyleri	88
Tablo 18: Serumlardaki IL8 düzeyleri	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: <i>E. granulosus</i> 'un erişkin formu	13
Şekil 2: <i>Echinococcus spp.</i> yumurtası	14
Şekil 3: <i>E. granulosus</i> 'un larval formu	15
Şekil 4: <i>E. granulosus</i> 'un yaşam döngüsü	18
Şekil 5: <i>E. granulosus</i> 'un yaşam döngüsü; kesin konaktaki gelişim	19
Şekil 6: Edinsel immünite tipleri	29
Şekil 7: T _h 1 hücrelerinin efektör fonksiyonları	30
Şekil 8: T _h 2 hücrelerinin efektör fonksiyonları	31
Şekil 9: <i>E. granulosus</i> enfeksiyonu boyunca görülen immunolojik mekanizmalar	32
Şekil 10: IL2 ve IL2 reseptörünün T hücre proliferasyonundaki rolleri	37
Şekil 11: <i>E. granulosus</i> 'un tüm dünyadaki coğrafik dağılımı	41
Şekil 12: Şematize edilmiş PAIR işlemi	49
Şekil 13: Çalışma kapsamına alınan erkek ve kadınların gruplara göre dağılımı	53
Şekil 14: Periferik kandan PKMH'lerinin elde edilmesi	58
Şekil 15: Hücrelerin antijensiz ortamda besiyerine verdikleri proliferasyon yanıtı (negatif kontrol)	59
Şekil 16: Hücrelerin PHA'e verdikleri proliferasyon yanıtı (pozitif kontrol)	59
Şekil 17: Üst sınılardaki ortalama IFN γ yanıtlarının gruplara göre dağılımı	76
Şekil 18: Üst sınılardaki ortalama IL4 yanıtlarının gruplara göre dağılımı	78
Şekil 19: Yirmibeş μ g/ml antijen konsantrasyonundaki progresif grup üst sıvı ortalama IL4 yanıtlarının KC ve AC kisti olan hastalara göre dağılımı	79
Şekil 20: Üst sınılardaki ortalama IL12(p40) yanıtlarının gruplara göre dağılımı	81
Şekil 21: Üst sınılardaki ortalama IL1 β yanıtlarının gruplara göre dağılımı	83
Şekil 22: Serumlardaki ortalama IL1 β yanıtlarının gruplara göre dağılımı	84
Şekil 23: Üst sınılardaki ortalama IL2sR α yanıtlarının gruplara göre dağılımı	86
Şekil 24: Serumlardaki ortalama IL2sR α yanıtlarının gruplara göre dağılımı	87
Şekil 25: Üst sınılardaki ortalama IL13 yanıtlarının gruplara göre dağılımı	89
Şekil 26: Serumlardaki ortalama IL8 yanıtlarının gruplara göre dağılımı	90

KISALTMALAR

KE	: Kistik ekinokokkozis
<i>E. granulosus</i>	: <i>Echinococcus granulosus</i>
<i>E. multilocularis</i>	: <i>Echinococcus multilocularis</i>
mAb	: Monoklonal antikor
T _h hücreleri	: Yardımcı T hücreleri
T _c hücreleri	: Sitotoksik T hücreleri
IL	: İnterlökin
IFN _γ	: İnterferon gama
sIL2R	: Solubl interlökin 2 reseptörü
PAS	: Periyodik asit-Schiff
NK hücreleri	: Doğal Öldürücü (Natural killer) Hücreler
TNF	: Tümör nekroz faktör
Ig	: İmmünoglobulin
AgB	: Antijen B
Arc5, Ag5	: Antijen 5
PKMH	: Periferik kan mononükleer hücresi
AE	: Alveoler ekinokokkozis
US	: Ultrasonografi
BT	: Bilgisayarlı tomografi
X-ray	: Radyografi
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
IFAT	: İndirekt floresan antikor testi
İmmünoblot	: İB
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
PAIR	: Puncture, Aspiration, Injection ve Reaspiration
IHA	: İndirekt hemaglutinasyon
LA	: Lateks aglutinasyon
IEP	: İmmünoelektroforez
IFAT	: İmmünofloresan antikor testi

PBS	: Fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu
T20	: Tween 20
DEAB	: Dietanolamin tampon solüsyonu
μ l	: Mikrolitre
PNPP	: Dört nitrofenil fosfat di (2-amino-2-etil-1,3-propandiol)
OD	: Optik dansite
FSS	: Fetal sığır serumu
PHA	: Phytohemagglutinin
SAv-HRP	: Streptavidin-horseradish peroksidaz
ng	: Nanogram
pg	: Pikogram
TMB	: Tetrametilbenzidin

ÖZET

Kistik Ekinokokkozisde Proinflamatuvar Sitokin, Sitokin Reseptör ve Kemokin Yanıtı

Serap ARCAK

Dokuz Eylül Üniversitesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
Parazitoloji BD
35340 Balçova-İZMİR

Giriş: Tüm dünyada ve Türkiye’de yaygın olarak bulunan *Echinococcus granulosus*’un (*E. granulosus*) larval formlarının neden olduğu kistik ekinokokkozis (KE), hem halk sağlığı yönünden hem de ekonomik yönden çok önemli olan paraziter bir hastalıktır. Hastalığın klinik olarak çeşitli formlarda ve farklı şiddetlerde ortaya çıkması, hastalığa karşı farklı immün yanıtların geliştiğini göstermektedir. Özellikle son 10 yılda olmak üzere, KE’in gelişiminin, klinik seyrinin, sonuçlarının ve farklı immün yanıtların belirlenebilmesinde, birçok immünolojik parametre araştırılmaktadır. Bu alandaki yeni bakış açıları, KE’de Th1 ve Th2 immün yanıtlarının birlikte bulunduğunu ortaya koyan çalışmalardan köken almaktadır. Bu nedenle KE’de bu immün yanıtların meydana gelmesinde görev alan spesifik sitokinlerin, sitokin reseptörlerinin ve kemokinlerin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Amaç: Bu çalışmada, cerrahi tedavi sonrası iyileşmiş KE hastaları ile progresif KE hastalarında, IFN gama, interlökin IL4, IL12(p40), IL13 sitokinlerini, solubl IL2 sitokin reseptörünü (sIL2Ralfa), IL1beta proinflamatuvar sitokinini, IL8 kemokinini ve bunların birbirleriyle ilişkileri ile hastalığın gelişimindeki rollerini araştırmayı, Türkiye’deki farklı KE hasta gruplarında görülen immün yanıtları tanımlayabilmeyi ve serum IgG antikor yanıtlarını değerlendirmeyi hedefledik.

Gereç ve Yöntemler: Cerrahi tedavi sonrası iyileşmiş 10 KE hastasının, 19 progresif KE hastasının ve 13 sağlıklı bireyin periferik kan mononükleer hücre (PKMH) kültürlerindeki IFN gama, IL4, IL12(p40), IL1beta, sIL2Ralfa, IL13 sentezleri ve serumlarındaki IL1beta, sIL2Ralfa, IL8 düzeyleri, ticari ELISA setleri ve kiti

kullanılarak araştırıldı. Bunun yanı sıra, hastaların ve kontrol bireylerinin serum IgG antikor yanıtları, in house ELISA yöntemiyle, belirlendi. İstatistik analizi SPSS 16.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular: İyileşmiş KE hastaları ve kontrol grubu bireylerinin hiçbirisinde spesifik IgG antikor yanıtının bulunmadığı, progresif KE hastalarının ise %74'ünde spesifik IgG antikor yanıtının bulunduğu saptandı. İyileşmiş KE hastalarının PKMH'lerinin IFN gama (Th1 sitokini) sentezi, progresif KE hastalarına ve kontrol grubu bireyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p < 0,0167$). Progresif KE hastalarının PKMH'lerinin ise kontrol grubu bireyelerininkine göre, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek miktarda IL4 (Th2 sitokini) sentezlediği tespit edildi ($p = 0,03$). Progresif KE hastaları, akciğer veya karaciğerde kist bulunmasına göre ele alındığında, karaciğerde kisti olanların anlamlı olarak daha yüksek IL4 sentezlediği tespit edildi ($p = 0,029$). Progresif hasta grubunda, IFN gama yanıtları ile IL4 yanıtları arasında, olumlu yönde anlamlı ilişki saptandı (Yirmibeş $\mu\text{g/ml}$ ve 10 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonları için sırasıyla $r = 0,520$ ve $r = 0,487$, $p < 0,05$). Bununla birlikte, çalışma kapsamındaki tüm bireyler göz önüne alındığında, 25 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ ve 5 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonuyla uyarılmış PKMH'lerinin IL4 yanıtları ile serumlardaki IgG yanıtları arasında, olumlu yönde, orta derecede anlamlı ilişki bulundu (sırasıyla $r = 0,383$, $r = 0,317$ ve $r = 0,419$, $p < 0,05$). İyileşmiş KE hastalarının PKMH'lerinde, kontrol grubu bireyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde IL12(p40) yanıtı tespit edildi ($p = 0,015$). IL2sRalfa yanıtları değerlendirildiğinde ise, progresif grup KE hastalarının PKMH'lerinin IL2sRalfa sentezi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde bulundu ($p < 0,05$). Hem iyileşmiş hem de progresif KE hastalarının PKMH'lerinde, kontrol grubu bireyelerininkinden daha yüksek IL13 düzeyleri olduğu tespit edildi ($p > 0,05$). Serumlardaki IL1beta, IL2sRalfa ve IL8 yanıtlarının ise, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği saptandı ($p > 0,05$).

Sonuç: Özellikle ilaç ya da cerrahi tedavi sonrası KE hastalarının takibinde, IgG ELISA testi ile birlikte IgG4 ya da IgE gibi farklı antikor yanıtlarını arayan testlerin kullanılması daha yararlıdır. Hem iyileşmiş, hem de progresif hasta grubunda IFN γ ile IL4 sentezinin bir arada bulunması, bu sitokin düzeylerinin kontrol grubundakilerden

yüksek olması ve progresif hasta grubunda IL4 yanıtları ile IFN gama yanıtları arasında olumlu yönde bir ilişki tespit edilmiş olması, kist sıvısının farklı antijenler içerdiğini ve dolayısıyla KE'de T_h1 ve T_h2 hücrelerinin birlikte aktive olduğunu göstermektedir. Cerrahi tedavi sonrasında iyileşmiş hastalarda IFN_γ sentezinin artmış olması ise, hastalığa direncin (koruyucu immünite) T_h1 hücre aktivasyonu ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir. Bu nedenle KE hastalarında, cerrahi tedavi öncesi ve sonrası IFN_γ düzeyleri, hastalığın cerrahi sonrası klinik takibinde kullanılabilir. Hem hastaların PKMH'lerinde yüksek IL4 düzeyleri saptandığından, hem de IL4 yanıtları ile serum IgG arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu; hastalığın progresyonunun belirlenmesinde IL4 takibi önemli olabilir. İyileşmiş hastalarda yüksek düzeyde saptanan IL12(p40)'ın, hastalığın cerrahi tedavisi ile bu sitokin arasında bir bağlantının bulunduğu ve cerrahi sonrası iyileşmede IL12'nin kritik bir role sahip olabileceğine işaret etmektedir. Bu nedenle, IL12, cerrahi sonrası hasta takibinde hem IFN_γ yanıtı, hem de spesifik antikor yanıtı ile birlikte yararlı olabilir. Elde etmiş olduğumuz tüm verilerin, bugüne kadar KE'de immünitinin araştırıldığı çalışmaları destekler nitelikte olması ya da yapılacak yeni çalışmalara katkıda bulunması bakımından, konuya yönelik ileri araştırmalar için yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Kistik ekinokokkozis, *E. granulosus*, sitokin, sitokin reseptörü, kemokin

ABSTRACT

Proinflammatory Cytokine, Cytokine Reseptor And Chemokine Responses in Cystic Echinococcosis

Serap ARCAK

Dokuz Eylül Üniversitesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
Parazitoloji BD
35340 Balçova-İZMİR

Background: Cystic echinococcosis (CE) caused by the larval stage of *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) which is widespread all around the world and Turkey, is a very important parasitic disease regarding both the public health and the economy. The clinical forms of the disease are various and severity of the disease is changeable that point at different immune response patterns to the disease. Immunological parameters, especially in the last decade, are investigated to determine the development, clinical course and outcome of CE and the different immune responses. The new perspectives in this area, originate from the studies where Th1 and Th2 immune responses in CE coexist. For this reason, it is of great importance to investigate the roles of spesific cytokines, cytokine receptors and chemokines that function in these immune responses in CE.

Aim: In this study, our objective was to investigate IFN gamma, interleukin IL4, IL12(p40), IL13, the solubl IL2 cytokine receptor (sIL2Ralfa), proinflammatory cytokine IL1beta and chemokine IL8, their relationship with each other, their roles in the development, clinical course and outcome of the disease, to evaluate the IgG antibody responses in the cured CE patients after surgery and in the progressive CE patients and to determine the different immune responses in different CE patients in Turkey .

Material and Methods: IFN gamma, IL4, IL12(p40), IL1beta, sIL2Ralfa, IL13 synthesis of the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from 10 cured CE patients, 19 progressive CE patients and 13 healthy volunteers and IL1beta,

sIL2Ralfa, IL8 levels in the sera of them were investigated by using commercial ELISA sets and kit. The IgG antibody responses in the sera of all the patients and volunteers were determined by in house ELISA. For statistical analysis, SPSS 16.0 software programme was used.

Results: None of the cured CE patients and the healthy volunteers were positive for specific IgG while 74% of the progressive CE patients exhibited specific IgG responses. IFN gamma (T_h1 cytokine) production of PBMCs from cured CE patients was significantly higher than the production of PBMCs of both the progressive CE patients and healthy volunteers ($p < 0,0167$). IL4 (T_h2 cytokine) was detected significantly higher in supernatants of PBMC cultures from progressive CE patients than the concentrations detected in the supernatants from healthy volunteers ($p = 0,03$). When the progressive CE patients divided into two groups with liver or lung cysts, the ones with liver cysts had significantly higher IL4 concentrations ($p = 0,029$). In the progressive CE patients, significant positive correlation was found between IFN gamma and IL4 responses (for 25 $\mu\text{g/ml}$ and 10 $\mu\text{g/ml}$ antigen concentrations $r = 0,520$ and $r = 0,487$ respectively, $p < 0,05$). In addition to this, regarding all the people in the study, significant medium positive correlation was found between IL4 responses of PBMCs stimulated with 25 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ and 5 $\mu\text{g/ml}$ antigen concentrations and IgG responses in sera ($r = 0,383$, $r = 0,317$ and $r = 0,419$ respectively, $p < 0,05$). IL12(p40) production of PBMCs was significantly higher in cured CE patients than in healthy volunteers ($p = 0,015$). Progressive CE patients had significantly higher levels of IL2sRalfa in the supernatants from PBMCs compared to control group ($p < 0,05$). IL13 production of PBMCs of both the cured and progressive patients was higher than the healthy volunteers ($p > 0,05$). The levels of IL1beta, IL2sRalfa ve IL8 levels in sera did not differ significantly between groups ($p > 0,05$).

Conclusion: Especially in the clinical follow up of the CE patients cured with drug or surgery, it is more useful to use IgG ELISA test with different kinds of tests searching different antibody responses such as IgG4 or IgE. The coexistence of IFN gamma and IL4 in both the cured and progressive patients, the higher levels of these cytokines in patients' PBMCs than the levels in healthy volunteers' PBMCs and also the significant positive correlation found between IFN gamma and IL4 responses in

the progressive CE patients, point at that cyst fluid has different antigenic epitops and so, in CE T_h1 and T_h2 cells are activated together. The high IFN gamma production in the cured patients after surgery implies T_h1 cell activation in protective immunity. For this reason, levels of IFN gamma in CE patients before and after surgical therapy may be useful for the clinical follow up after the surgery. Besides, because the high concentrations of IL4 was detected in supernatants from patients' PBMCs and the significant positive correlation was found between IL4 and IgG responses, IL4 may be a useful marker to determine the progression in CE. The high levels of IL12(p40) detected in cured patients indicate the association of this cytokine with the surgical treatment of CE and the critical role of IL12 in getting cured from the disease after surgery. Consequently, IL12 may prove useful with IFN gamma and spesific antibody responses in the clinical follow up of patients after surgery. The results of this study are expected to be useful for the further researches related to the immunity in CE, as they support the existing studies or contribute the new ones.

Keywords: Cystic echinococcosis, *E. granulosus*, cytokine, cytokine receptor, chemokine

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Kistik ekinokokkozis (KE), *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) larvaları ile meydana gelen, kozmopolitik dağılım gösteren, kronik zoonotik bir enfeksiyondur. Türkiye dahil Orta Doğu, Hindistan, Güney Amerika ve Avustralya gibi bölgelerde hiperendemik olan KE, hem insan ve hayvan sağlığı açısından, hem de ekonomik olarak önemli bir halk sağlığı sorunudur (1,2,3).

E. granulosus, yaşam döngüsünü, kesin konak (köpek, kurt gibi etçil hayvanlar) ve ara konak (koyun,sığır gibi otçul hayvanlar) olmak üzere iki farklı memeli konakta tamamlamaktadır (4). İnsanlar, bu döngüye rastlantısal olarak girmekte, *E. granulosus*'a ait embriyonlu yumurtaların, enfekte köpek dışkısı ile direkt ya da besin ve sularla indirekt olarak ağızdan alınmasıyla enfekte olmaktadır (1, 5, 6).

Parazit yumurtasından açığa çıkan onkosfer, en sık karaciğer olmak üzere, akciğer, böbrek, dalak, kas, abdominal ve pelvik boşluklar, kalp, beyin, kemik, pankreas, mesane, göz, over, testis gibi hemen her organ ve dokuda yerleşerek, içi sıvı dolu kist şeklindeki larval forma dönüşmektedir (1, 6, 7,8, 9, 10).

KE'de, birçok enfeksiyonda olduğu gibi, T lenfositlerinin oluşturduğu hücre sel immün yanıt (immünite) ve B lenfositlerinin oluşturduğu humoral immün yanıt meydana gelmektedir. Bu yanıtlar, yardımcı T lenfositlerini (T_h hücreleri) oluşturan iki farklı T hücre popülasyonunun (T_{h1} ve T_{h2}) sentezlediği ve genel olarak birbirlerine inhibitör etkili çeşitli regülatuar sitokinler tarafından düzenlenmektedirler (11). T_{h1} hücreleri, makrofajları aktive, eden intrasellüler mikroorganizmalara karşı hücre sel immünitede ve gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonlarında rol oynayan interlökin2 (IL2) ve interferon gama (IFN_γ) gibi çeşitli sitokinler sentezlemektedirler. T_{h2} hücreleri ise, antikör yapımından sorumlu olan B hücrelerinin düzenlenmesine aracılık etmekte; IL4, IL5 ve hücre sel immüniteyi baskılayan IL10 ve IL13 gibi sitokinleri sentezlemektedirler (12).

KE'in klinik olarak çeşitli formlarda ve farklı şiddetlerde ortaya çıkması, parazite karşı farklı immün yanıtların geliştiğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, tedavi öncesinde, tedavi sonrasında, hastalığın progresif, stabil ya da nökslerle seyretmesi durumunda, farklı paternlerde immün yanıtların olabileceği belirtilmiştir (13, 14, 15, 16, 17, 18, 19). Ayrıca kesin KE tanısı almış birçok hastada *E. granulosus* antijenine spesifik antikor bulunmasına rağmen, bazı hastaların serolojik olarak spesifik antikorlar yönünden negatif olması, farklı immün yanıtlar gelişmesinin bir göstergesi olup, bu durumun altında yatan immunolojik mekanizmaları henüz tanımlanmamıştır (20). Burada kist sayısı, kistin lokalizasyonu ve büyüklüğü, *E. granulosus* suşlarının farklılığı, yüksek antijen düzeyi, hastaların tedavi edilmesi gibi faktörler yanında sitokin yanıtının da önemli rol oynayabilecekleri düşünülmektedir. KE'de farklı immün yanıtların gösterilebilmesi için, T_H1 ve T_H2 hücrelerinin aktivasyonunun, birbirleri ile ilişkilerinin, hücresel ve humoral immün yanıtların düzenlenmesinde rol alan kemokinlerin, spesifik sitokinlerin ve reseptörlerinin tespit edilmesinin önemli olduğu bildirilmiştir (15, 16, 17, 21, 22, 23, 24).

E. granulosus enfeksiyonunun temelinde yatan moleküler, hücresel ve immünolojik mekanizmalarla ilgili bilimsel gelişmeler, son yıllarda hız kazanmış olmakla birlikte, halen enfeksiyonda görülen immün yanıt tam olarak tanımlanamamıştır ve bu konu ile ilgili olarak farklı hasta gruplarında, farklı immünolojik parametrelerin ele alındığı ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Biz de bu verileri göz önünde bulundurarak çalışmamızda, cerrahi tedavi sonrası iyileşmiş KE hastaları ile progresif KE hastalarında:

1. Serum IgG antikor yanıtlarını değerlendirmeyi,
2. $IFN\gamma$, IL4, IL12(p40), IL13 sitokinlerini, solubl IL2 sitokin reseptörünü (sIL2R α), IL1 β proinflatuar sitokinini, IL8 kemokinini ve bunların birbirleriyle ilişkileri ile hastalığın gelişimindeki rollerini araştırmayı,
3. Türkiye'deki farklı KE hasta gruplarında görülen immün yanıtı tanımlayabilmeyi hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Echinococcus granulosus*

Kistik ekinokokkozise (KE) neden olan *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*), yüzyıllar öncesinden günümüze kadar varlığını sürdürmekte olan, *Echinococcus* cinsi içinde yer alan diğer türlerden farklı olarak, tüm dünyada geniş bir coğrafi alana yayılım gösteren ve insanların yaşamakta olduğu hemen her kıtada bulunan önemli bir sestottur (1, 25, 26)

2.1.1 TARİHÇE

E. granulosus'un *erişkin formları* ve hidatik kistler (metasestod/larva) ile ilgili bilgiler antik çağlara dek uzanmaktadır. Hipokrat (MÖ 4.yy), Aretaeus (MS 1.yy) ve Galen (MS 2.yy) gibi antik çağda yaşamış hekimlerin, insanların ve çiftlik hayvanlarının karaciğer ve akciğerlerinde içi su dolu keselerin varlığından bahsettiği görülmektedir (26, 27, 28,). Benzer gözlemler daha sonraki yüzyıllarda da bildirilmişse de, kistlerin parazitik doğası ilk kez Francisco Redi tarafından, 17. yüzyılın sonlarında ortaya konulmuştur (26, 27). Ancak bu kistlerin yassı solucanların larvası olduğu hipotezinin, Alman bir klinisyen ve doğa tarihçisi olan Pierre Simon Pallas'a ait olduğu kabul edilmektedir. Palas, erişkin parazit ile hidatik kistteki skoleksin benzerliğini ortaya koymuş, hayvan ve insanlardaki kistlerin benzerliğini esas alarak, 1766'da bunlara, "hydatigena" denilmesini önermiştir. 18. yy sonlarında yaşamış bir diğer araştırmacı Goeze ise, koyunlardaki kistler için, *Taenia visceralis socialis granulosus* ismini kullanmıştır. Birkaç yıl sonra 1786'da, Batsch, bu kistlere, iki kelimelik adlandırma sistemine uygun olarak *Hydatigena granulosa* adını vermiştir (26, 28). Parazite *Echinococcus* cins ismini 1801'de veren ise, İsveç'li araştırmacı Rudolphi olmuştur (26, 27, 28, 29).

Carl von Siebold 1852'de koyun hidatik kistlerini köpeklere yedirerek, köpek bağırsaklarında erişkin parazitin oluşumunu gerçekleştirmiş ve böylece parazitin evrimi kanıtlanmıştır (26, 27, 28, 29). Araştırmacı, kist hidatiğin, parazitin larval formu olduğunu ortaya koyarak, parazitin olgun formuna *Taenia echinococcus* adını vermiştir. Bernhard Naunyn ise, 1863'de, insan hidatik kistlerini köpeklere yedirerek, köpeklerin bağırsağından erişkin parazitleri elde etmiştir (27, 28). *E. granulosus* yumurtaları ile enfekte edilen bir domuzda, hidatik kist gelişimini 1855'de gösteren araştırmacı ise Haubner'dir (26).

Sonraki süreçte (1920-1960) *Echinococcus* cinsinde yer alan en az 10 tür için öneri yapılmış, ancak bunlardan sadece dördünün tür olarak kalmasına karar verilmiştir [*E. granulosus*, *Echinococcus vogeli*, *Echinococcus multilocularis* (*E. multilocularis*), *Echinococcus oligarthrus*] (30).

İlerleyen yıllarda, özellikle de 20. yy sonlarında moleküler yöntemlerin kullanıma girmesiyle, *E. granulosus*'un farklı genotipleri/suşları ortaya koyulmuştur (25).

2.1.2 SİSTEMATİKTEKİ YERİ

E. granulosus'un sistematikteki yeri aşağıda yer almaktadır (31) :

- Subregnum (Ülkealtı) : *Helminthes*
- Phylum(Alem) : *Plathelminthes*
- Classis (Sınıf) : *Cestoda*
- Subclassis (Alt sınıf) : *Eucestoda*
- Ordo (Takım) : *Cyclophyllidea*
- Familia (Aile) : *Taeniidae*
- Genus (Cins) : *Echinococcus* (Rudolphi, 1801)
- Species (Tür) : *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786)

Son 40 yıldır yapılan birçok saha ve laboratuvar çalışmaları, *E. granulosus*'un farklı türdeki ara konaklardan elde edilen izolatları arasında oldukça önemli fenotipik değişikliklerin (morfolojik, gelişimsel, biyokimyasal, epidemiyolojik) bulunduğunu ortaya koymuştur (32, 33, 34, 35, 36). Sensitivitesi yüksek moleküler yöntemlerin kullanıma girmesiyle birlikte, sınıflandırma ile ilgili bilgilere sürekli yenileri

eklenmektedir. Böylece, günümüzde, *E. granulosus* kompleksi olarak isimlendirilen ve üç tür (*E. granulosus*, *E. equinus*, *E. ortleppi*) ile sekiz genotipten (G1, G2, G3, G6, G7, G8, G10, aslan suşu) oluşan yeni bir kompleks tanımlanmıştır (Tablo 1) (6, 25, 30, 37, 38, 39, 40, 41, 42).

Genetik analizler, G1 (koyun) genotipinin tüm kıtalarda olmak üzere, yoğun koyun yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerde ve insan KE prevalansının yüksek olduğu ülkelerde görüldüğünü ve insanları enfekte eden esas suş olduğunu ortaya koymaktadır (25, 41). Türkiye'den elde edilen iki koyun ve yedi insan izolatının Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP) yöntemiyle analizi sonucunda G1-G3 aralığına oldukça yakın oldukları görülmüştür (42). G6 (deve), G7 (domuz), G8, G9 (geyik) ve G10 (geyik) genotipleri, genetik olarak birbirine yakın suşlardır. Bunların, aynı tür içinde coğrafik varyantlar olabileceği bildirilmektedir (41). Daha önceleri G4 (at) genotipi olarak bilinen *E. equinus* türü ile enfekte bir insan olgusuna henüz rastlanmamış iken, eskiden G5 (sığır) genotipi olarak bilinen *E. ortleppi* ile enfekte, sadece tek bir insan olgusunun bulunduğu bildirilmiştir (25, 41). G9 genotipi ile ise sadece Polonya'da insanlarda enfeksiyon bildirilmiştir.

Tablo 1: *E. granulosus* türleri ve genotipleri/suşları (6, 25, 37, 41, 43, 44)

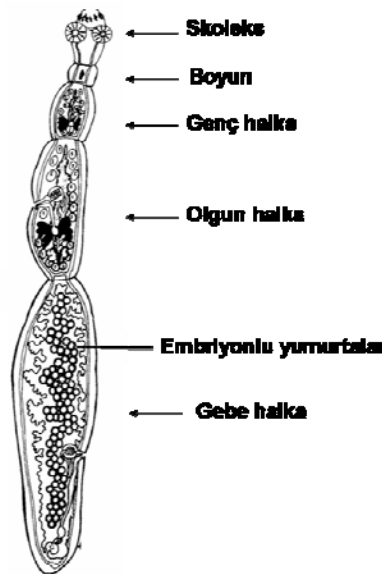
Tür	Genotip / suş	Bilinen ara konak	Bilinen kesin konak	İnsanda enf.	Olası coğrafik dağılım
<i>E. granulosus</i>	G1 (Koyun suşu)	Koyun, sığır, domuz, deve, keçi, kanguru	Köpek, tilki, dingo, çakal, sırtlan	Var	Avustralya, Avrupa, ABD, Orta Doğu, Yeni Zelanda, Afrika, Tazmanya, Güney Amerika Rusya
	G2 (Tazmanya koyun suşu)	Koyun, sığır ?	Köpek, tilki?	Var	Tazmanya, Arjantin
	G3 (Buffalo suşu)	Buffalo, sığır	Köpek, tilki	?	Asya
	G6 (Deve suşu)	Deve, keçi, sığır ?	Köpek	Var	Orta Doğu, İran, Afrika, Çin, Nepal, Arjantin
	G7 (Domuz suşu)	Domuz	Köpek	Var	Polonya, Slovakya, Ukrayna, Rusya, Arjantin
	G8 ve G10 (Geyik suşu)	Geyik	Kurt, köpek	Var	Kuzey Amerika, Avrasya
	G9 (hangi suş olduğu bilinmiyor)	Domuz	Köpek?	Var	Polonya
	Aslan suşu	Zebra, antilop, yaban domuzu, bufalo, çeşitli antilop türleri, zürafa?, hipopotam?	Aslan	Var	Afrika
<i>E. equinus</i>	G4 (At suşu)	at	Köpek	Yok	Avrupa, Orta Doğu, Güney Afrika (ABD?, Yeni Zelanda?)
<i>E. ortleppi</i>	G5 (Sığır suşu)	sığır	Köpek	Var	Avrupa, Güney Afrika Hindistan, Nepal, Sri Lanka, Rusya, Güney Amerika

2.1.3 MORFOLOJİ

E. granulosus'un, diğer *Taeniidae* ailesinde yer alan sestotlarda olduğu gibi, yumurta, larva (metasestod/hidatik kist) ve erişkin olmak üzere, üç farklı morfolojik formu bulunmaktadır (26, 41, 45, 46).

2.1.3.1 Erişkin Form

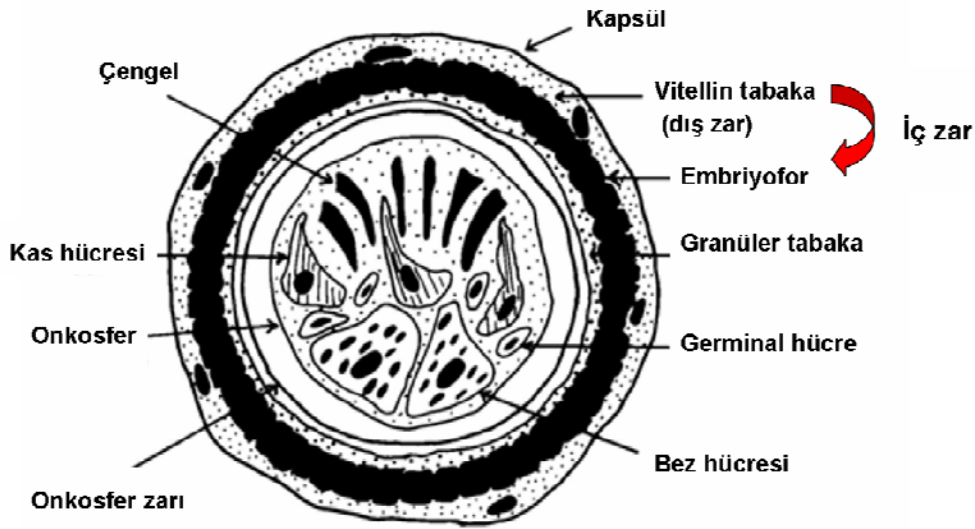
Baş (skoleks), boyun ve gövdeden (strobilia) oluşan *E. granulosus*'un erişkin formu, 2-7 mm uzunluktadır. Çapı 0.26-0.36 mm arasında olan skolekste, dört çekmen, bir rostellum ve onun üzerinde biri büyük diğeri küçük olmak üzere iki sıra çengel bulunmaktadır. Baştan sonra gelen boyun kısmı çok kısa olup, akabinde yer alan gövde ise genellikle üç halkadan (segment/proglottid) oluşmakta, 2-6 arasında değişebilen halka sayısı nadiren altıyı geçmektedir. Boyun kısmına en yakın halka genç, sonraki halka olgun, en sondaki halka ise gebe halka adını almaktadır (Şekil 1). Olgun ve gebe halkalarda genital organlar gelişmiş durumdadır. Bu halkalarda bulunan üreme kanalları, ortak genital deliğe açılmaktadır. Hermafrodit olan erişkin parazitte, genital delik tek taraflı olup, halkanın arka kısmında ortaya doğru dışarı açılmaktadır. Gebe halka içinde boydan boya uzanan uterus, iyi gelişmiştir ve keselenme şeklinde yan dallar ile karakterizedir. Uterus içinde yaklaşık 200-800 kadar yumurta bulunmaktadır. Sayıları 32-68 arasında değişen testisler, genital deliğin ön ve arka kısmında bulunmaktadır (26, 41, 46).



Şekil 1: *E. granulosus*'un erişkin formu (41)

2.1.3.2 Yumurta

E. granulosus, diğer *Echinococcus* türlerindeki ve *Taenia* cinsindeki parazit yumurtalarından morfolojik olarak ayırtedilemeyen, 30-40 µm çapında yumurtalara sahiptir (Şekil 2). Onkosfer denilen tam gelişmiş altı çengelli bir embriyo (1.larval evre) ve onu çevreleyen çok sayıda zardan oluşmaktadır. Bu zarlardan en belirgin olan embriyofor, oldukça kalın, keratinize yapıda olup, embriyoyu dış koşullardan korumakta ve yumurtaya koyu çizgili bir görünüm vermektedir. Çok ince olan en dıştaki kapsül ise, son konak dışkıyla atılır atılmaz kaybolmaktadır (41, 46).



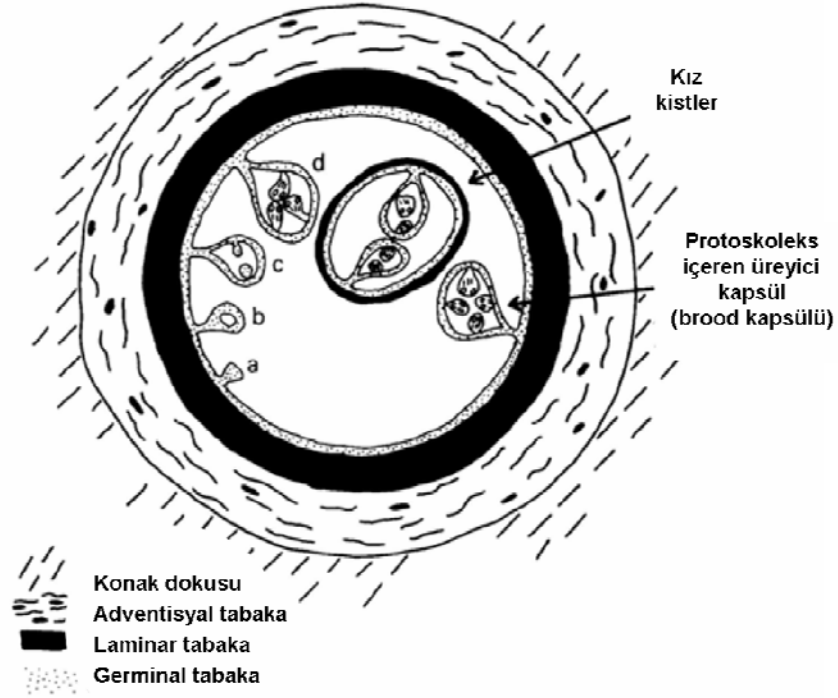
Şekil 2: *Echinococcus spp.* yumurtası (41)

2.1.3.3 Larval Form

E. granulosus'un "hidatik kist" ya da "metasestod" denilen larval formu (2.larval evre) tipik olarak, tek odalı, uniloküler, içi sıvı dolu bir kese (kist) şeklinde olup, konsantrik şekilde gelişim göstermektedir. Kist sıvısı, berrak, renksiz, kokusuz, normalde enflamasyon göstermeyen yüksek antijenik yapıda, doğal kaynak suyuna benzer bir sıvıdır (47).

Hidatik kist, içte sellüler yapıdaki germinal tabakadan, dışta ise asellüler ve elastik yapıdaki laminar tabakadan oluşmaktadır (Şekil 3). Endokist de denilen parazite ait bu tabakaların dışı, kiste yapışık olmayan, konağa ait, fibröz adventisyal bir tabaka (perikist) ile çevrilidir (Şekil 3) (5, 6). Laminar tabaka, kisti dıştan

desteklemekte, korumakta ve kapiller ağı sayesinde kistin beslenmesini sağlamakta, bazen de kalsifiye olabilmektedir. Bu tabakanın Periyodik asit-Schiff (PAS) boyası ile pozitif boyanma özelliği bulunmaktadır. Ayrıca, konağın immunolojik saldırılarına karşı bir engel oluşturarak kisti konak immun yanıtından korumaktadır. Ancak konak immünoglobulinleri (Ig), laminar tabakadan geçebilmektedir (26, 47).



Şekil 3: *E. granulosus*'un larval formu (41)

Yapısal olarak erişkin parazitin tegümenti ile aynı özellikleri gösteren germinal tabakanın görevi, makromoleküllerin geçişinin düzenlenmesinin yanı sıra, laminar tabakayı, protoskoleksleri, üreyici kapsülleri ve kist sıvısını üretmektir. Bu tabakadaki farklılaşmamış hücrelerin çoğalmasıyla, kist lümenine doğru büyüyen çimlenme kapsülleri (üreyici kapsüller/brood kapsül) ve zamanla onların da içlerinde yeni kapsüller ve aseksüel olarak çoğalan protoskoleksler meydana gelmektedir (41, 46). Protoskoleksler üreyici kapsüllerin içinde olabileceği gibi, direkt germinal tabakadan tomurcuklanarak, kist sıvısı içinde serbest olarak da bulunabilmektedirler (48). Protoskoleksler, 140x160µm boyutlarında, normal halde iken içeri çekilmiş durumda (invagine), dört çekmen ve çengellere sahip yapılardır (45, 47). Kist sıvısının

bekletilmesi ile dibe çöken ve üreyici kapsüller, protoskoleksler ve çengellerden oluşan yapılara “hidatid kum” denilmektedir (47).

Ana kist içerisinde, konağa ait fibröz adventisyal tabakanın yokluğu haricinde tamamen ana kiste benzeyen “kız kistler” ortaya çıkabilmektedir (Şekil 3) (30, 46, 48). Genel olarak kız kistlerin, ana kistin germinal tabakasından direkt tomurcuklanma yoluyla doğal bir süreç sonucu oluştuğu varsayılmakla beraber, bu durum henüz histolojik olarak kanıtlanmamıştır. Ancak kız kistlerin, ana kistin dejenere olduğu ya da travma gibi bir nedenle hasarlandığı durumlarda sıklıkla protoskolekslerden, daha az olarak üreyici kapsül duvarının artıklarından, nadiren ise germinal tabaka artıklarından meydana geldiğine dair kanıtlar bulunmaktadır (30, 157). İnsanda nadir olmakla birlikte, kız kistler kist dışına doğru da gelişebilmektedir (1, 26, 47).

İçlerinde üreyici kapsüller, protoskoleksler ve kız kistler bulunan kistlere “fertil kist”, bulunmayanlara ise “steril kist” denilmektedir (6, 47). Genellikle koyunlarda bulunan kistler fertil, sığırlarda bulunan kistler ise sterildir (26).

2.1.4 YAŞAM DÖNGÜSÜ

E. granulosus dahil *Echinococcus* türleri genel olarak, yaşam döngülerini tamamlayabilmek için iki farklı memeli konağa ihtiyaç duymaktadır. *E. granulosus*'un kesin konakları köpek, kurt, çakal, aslan, tilki gibi etçil hayvanlar iken, ara konakları koyun, sığır, keçi, domuz, deve, geyik gibi otçul hayvanlardan oluşmaktadır (Tablo1) (4).

İnsanlar, *E. granulosus*'un yaşam döngüsünde parazit için bir son olan, rastlantısal konak olarak kabul edilmektedir. Döngünün insanlar tarafından devam ettiği istisnai bazı durumlar vardır. Doğu Afrika'nın hiperendemik bölgelerinde yaşayan ve mevsimsel göç ile yer değiştiren yerli halk, ölümlerini gömmeyerek açıkta bıraktığı için enfekte cesetler köpek ve yabani etçiller tarafından yenilmekte; böylece parazitin yaşam döngüsü insanlar aracılığıyla sürmektedir (1).

2.1.4.1 Ara Konaklarda Yaşam Döngüsü

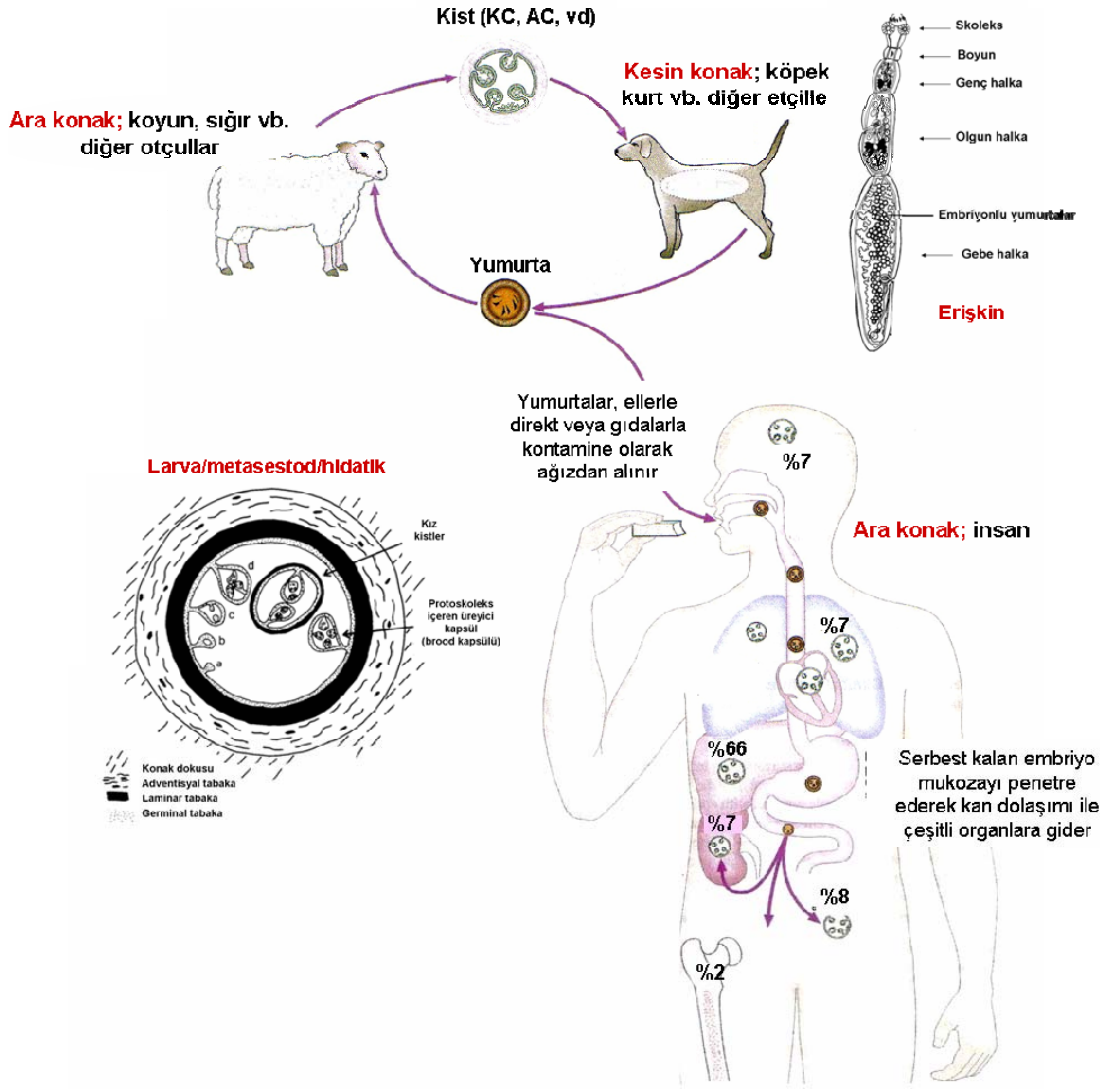
İnsanlar ve diğer tüm ara konaklar, *E. granulosus* ait embriyonlu yumurtaların ağız yoluyla alınması sonucunda enfekte olmaktadır. İnsanlar enfeksiyonu, enfekte köpek dışkısı ile direkt olarak ya da besin ve sularla indirekt olarak kazanırlar (1, 5,

6). Uygun bir ara konak tarafından ağız yoluyla alınan *E. granulosus* yumurtaları, mide ya da ince bağırsakta açılırlar. Bu olay iki aşamada gerçekleşmektedir (26, 41):

İlk basamakta, onkosferi saran embriyofor pepsin ve pankreatin gibi proteolitik enzimler ile parçalanmakta, açığa çıkan onkosfer membranında ise safra tuzlarının etkisi ile geçirgenlikte değişiklikler oluşmakta ve onkosfer aktif hale geçmektedir (26).

İkinci basamakta ise aktif hale gelen onkosfer, onkosfer zarını delerek serbest kalmakta ve çengelleri ile ince bağırsak villuslarına tutunarak birkaç saat içinde lamina propriaya ulaşmaktadır (26, 41). Bir kan ya da lenf damarına ulaşan onkosfer, dolaşım yolu ile pasif olarak karaciğere taşınmakta ve burada tutunarak kist şeklinde gelişen larval forma dönüşmektedir. Karaciğerde tutunamayan onkosferler, portal sistemle kalbe, oradan akciğerlere geçerek akciğerlerde ya da sistemik dolaşım ile böbrek, dalak, beyin, kemik, kas gibi vücudun farklı organ ve dokularına gidip yerleşebilmektedir (Şekil 41) (26, 41, 47).

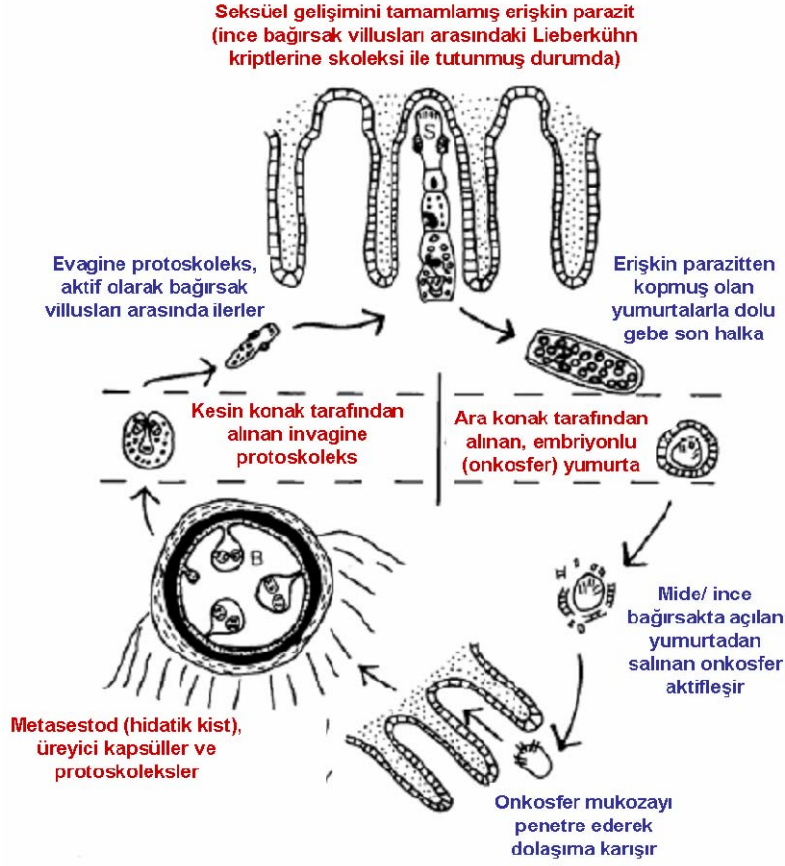
Onkosferin larval forma dönüşeceği organı belirleyen faktörler bilinmemekle beraber; parazitin yerleştiği ara konağın anatomik ve fizyolojik özellikleri, parazitin tür ve suşu olası nedenler arasında sayılmaktadır (26). Parazitin yaşam döngüsü şekil 4'de şematize olarak gösterildi.



Şekil 4: *E. granulosus*'un yaşam döngüsü (49)

2.1.4.2 Kesin Konaklarda Yaşam Döngüsü

Kesin konağın enfeksiyonu, ara konakta yerleşen hidatik kist içerisindeki invagine protoskolekslerin direkt ya da indirekt olarak oral yoldan alınmasıyla gerçekleşmektedir. Kesin konağın ince bağırsaklarına ulaşan protoskoleksler, buradaki enzimler ve diğer faktörlerin etkisi ile aktifleşmekte (evagine olmakta) ve emici diskleri ile hızla ince bağırsak villusları arasındaki Lieberkühn kriptlerine tutunarak, 34-58 gün içinde yumurta üreten erişkin parazite dönüşmektedirler (Şekil 5). Dışkı ile direkt atılan ya da gebe halkaların dış ortama atılmasından sonra açığa çıkan embriyonlu yumurtaların, ara konaklar tarafından alınması ile döngü devam etmektedir (26, 50).



Şekil 5: *E. granulosus*'un yaşam döngüsü; kesin konaktaki gelişim (41)

2.2 KİSTİK EKİNOKOKKOZİS

İnsan kistik ekinokokkozisi, içi sıvı dolu kist şeklindeki *E. granulosus* metasestodlarının neden olduğu ve hidatidozis, kist hidatik hastalığı veya hidatid hastalığı olarak da bilinen kronik zoonotik bir enfeksiyondur. Tüm dünyada ve ülkemizde, hem sağlık yönünden hem de ekonomik olarak önemli kayıplara neden olan ciddi bir halk sağlığı sorunudur (2, 51).

2.2.1 PATOGENEZ

Enfeksiyonun patogenezi, parazitin vücutta yerleştiği doku ve organa göre değişiklik göstermektedir. Parazitin bir doku ya da organa yerleşmesinde, ısı, mide asidi, safra tuzları gibi fizikokimyasal faktörler, sindirim sistemi enzimleri, spesifik ve nonspesifik T ve B hücre yanıtları rol oynamaktadır. İnsanlarda kist gelişimi genellikle

yavaştır ve gelişim oranları aynı kişideki, aynı organdaki kistler arasında bile değişim göstermektedir (6, 10).

Kistlerin en sık yerleştiği organlar, karaciğer (%50-70) ve akciğerlerdir (%10-30) (7, 8, 9). Daha az sıklıkla (%10) ise, böbrek, dalak, kas, abdominal ve pelvik boşluklar, kalp, beyin, kemik, pankreas, mesane, göz, over, testis gibi hemen her organ ve dokuda yerleşebilmektedirler (1, 6, 8, 10).

2.2.1.1 Karaciğer Tutulumunda Patogenez

Ekinokok kistlerinin en sık olarak karaciğerde görülmesinin başlıca sebebi, onkosferlerin barsak duvarını geçtikten sonra ulaştıkları ilk büyük kılcal damar ağına sahip organın karaciğer olmasıdır (26, 31). Karaciğerde oluşan kistler, daha büyük olması ve portal kan dolaşımının fazla olması nedeniyle en sık olarak sağ lobta görülmektedir. Onkosferler, ilk olarak kapillerlere tutunarak, mononükleer hücreler, polimorf nüveli lökositler ve eozinofillerden zengin bir inflamatuvar yanıt oluşturmaktadırlar. Onkosferlerin birçoğu fagosite edilirken, çok azı larval forma yani kiste dönüşmektedir (52).

Genel olarak kistler, yılda 1-5 cm büyüme göstermekte, içinde protoskoleks ve kapsül gelişimi ise 10 ay veya daha uzun bir süreyi bulmaktadır. Ancak kist büyüklüğü ile üreyici kapsül ve protoskoleks gelişimi doğru orantılı olmamaktadır (50). Hiperendemik bölgelerde yapılmış çalışmalarda, kistlerin yılda 1 mm ile 160 mm arasında değişen oranlarda büyüdüğü ve bazı kistlerin hiç büyümediği ya da küçüldüğü görülmüştür (6, 10). İnsandaki kistlerin büyüklüğü çok farklı olmakla birlikte, genellikle 1-15 cm arasında değişmekte, daha büyük kistler de oluşabilmektedir (10). Kistlerin canlılık süresinin, insanlarda 53 yıla kadar olduğu bildirilmektedir (53). Kistler, hastaların çoğunda (%40-80), tek organda ve tek bir kist şeklinde (47), %20-40'ında ise birden fazla organda multipl olarak bulunmaktadır (7).

Kist sıvısı berrak, antijenik yapıda, çeşitli enzim, protein, tuz ve toksik maddeler içermektedir. Sıvı, enfekte olmadığı sürece enflamasyon göstermemektedir. Çevreye yaptığı bası sonucu karaciğer dokusunda atrofi meydana gelmekte, kan damarları ve safra yolları tıkanmakta ve bu durum akımın mekanik olarak kesilmesine neden olmaktadır. Tüm bunların sonucunda reaktif hepatit görülebilmekte, nadiren de olsa siroz gibi ağır patolojiler oluşmaktadır (54). Kistin ana safra kanallarını basıya

uğratması, sarılığa neden olmaktadır. Kistin rüptürü sonucu, safra yollarına açılması ve kolanjit gelişimi olabilmektedir. Diyafragmaya doğru büyüme gösteren kistler, bazen diyafragmayı parçalayarak plevra, perikart boşluğu, akciğer dokusu veya bronşlara açılmaktadır. Karın boşluğuna doğru büyüyen kistler ise, duodenum, kolon, böbrek pelvisi veya peritona açılabilir (52).

2.2.1.2 Akciğer Tutulumunda Patogenez

Kistlerin karaciğerden sonra en sık ikinci yerleşim yeri akciğerlerdir. Genellikle sağ akciğer ve alt loblara yerleşim görülmektedir. Akciğerdeki kistler primer ya da sekonder olabilmektedir. Primer kistler, direkt kan yoluyla veya solunumla akciğerlere yerleşen onkosferler aracılığıyla oluşmakta ve genelde uniloküler olmaktadır. Sekonder kistler ise, karaciğer kistlerinin diyafragmaya açılması sonucu sağ akciğerde meydana gelmekte ve sayıca çok olabilmektedirler (54).

Akciğerde oluşan kistlerin etrafında da kısa zamanda epitelooid hücreler, yabancı cisim dev hücreleri, eozinofiller ve fibroblastlar toplanmakta ve fibröz bir kapsül oluşmaktadır. Kistin etrafı, ince atelektazik bir akciğer dokusu ile çevrelenmektedir. Akciğer parankimi yumuşak olduğu için, burada yerleşen kistler, 15-20 cm çapa kadar ulaşabilmektedir (52). Atelektazik akciğer dokusuna bakteriler kolaylıkla girebilmekte, dolayısıyla kistlerde ve solunum yollarında sık sık bakteriyel enfeksiyonlar görülmektedir (5, 54).

2.2.1.3 Diğer Organ Tutulumlarında Patogenez

Karaciğer ve akciğer dışı organ tutulumları, tüm organ tutulumları içinde %10 orana sahiptir. Böbrekte görülen kistler hemen daima primerdir ve genellikle böbrek alt ucuna yerleşmektedir. Kistler bazen rüptüre olarak bitişik organlara açılabilir (54).

Dalak kistleri primer veya sekonder olabilmekte, üst uç (torasik), alt uç (abdominal) ya da her iki uçta da (abdominotorasik) yerleşim gösterebilmektedirler. Bu kistlerin de çevresinde, konağa ait bir kollajen doku bulunmaktadır. Abdominal ya da abdominotorasik kistler nadiren rüptüre olarak karın boşluğu, mide veya kolona açılmakta, torasik yerleşimliler ise akciğere fistülizasyon ile sekonder kistlere neden olabilmektedir (52).

Diğer organ kistlerinden, beyin kistleri daha çok arteriel dolaşım ile, kemik kistleri ise karaciğer ve akciğerden metastaz ile meydana gelmektedir (54).

2.2.2 KLİNİK

E. granulosus enfeksiyonu, genellikle çocukluk çağında kazanılmakta ancak en çok erişkin yaş grubunda, özellikle 30-50 yaşları arasında klinik tablo oluşturmaktadır (1, 10, 47). Başlangıçta hemen her zaman asemptomatik olarak seyreden KE'de cinsiyet dağılımı belirgin bir özellik göstermemekte; kadın ve erkeklerde eşit oranlarda görülmektedir (55, 56, 57,58).

E. granulosus enfeksiyonu, kistin oluşum şekline göre primer ve sekonder KE olarak iki kısımda incelenmektedir (10):

Primer KE; insanlar tarafından ağız yoluyla alınan *E. granulosus* yumurtalarından açığa çıkan onkosferlerden, en çok karaciğer ve ardından akciğer olmak üzere çeşitli organ ve dokularda kistik yapıdaki metasestod gelişimidir.

Sekonder KE ise; vücutta önceden var olan kistik yapıdaki metasestodların bütünlüğünün bozularak içeriğinin, primer odakta yakın ya da uzaktaki organ ve dokulara yayılması ve o bölgelerde çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Hastalığın bu formu, spontan, travma, girişimsel ya da cerrahi tedavi sonrası kistin rüptüre olması ile içeriğindeki canlı protoskoleks/kız kistlerin etrafa dağılması sonucu meydana gelmektedir.

Hastalık bazen hiç belirti vermeden yıllarca sessiz kalmakta iken; bazen de birtakım belirtilerle ortaya çıkmaktadır. Hastalığın patogenezi ve klinik semptom vermesini etkileyen faktörler şunlardır (10, 26):

1. Kistin yerleştiği organ ve bu organdaki yerleşim yeri,
2. Kistin büyüklüğü,
3. Kistin çevre doku ile olan ilişkisi,
4. Kistin rüptüre olması,
5. Kistin enfekte olması (bakteriyel/fungal),
6. Sistemik konak reaksiyonu; ürtiker, anafilaksi, nefropati vb.

Ortaya çıkan semptom ve bulgular, tutulan organa bağlı olarak çok çeşitli olabilmektedir (8, 10, 59, 60) (Tablo 2).

2.2.2.1 Karaciğer Tutulumunda Klinik

Karaciğerin tutulduğu KE'de, hastalığa özgü bir klinik tablo tanımlamak oldukça güçtür. Çünkü, hastalarda çok farklı semptomlar görülebilmektedir. Bu hastalarda görülen klinik semptom ve bulgular, inkübasyon döneminde, semptomatik dönemde ve ilerlemiş dönemde görülenler olmak üzere üç grup altında incelenebilir (60).

Inkübasyon dönemi, enfekte yumurtaların alınmasından sonra, tam olarak bilinmeyen, kişiden kişiye değişen, aylar ve yıllarla ifade edilen bir süreyi tanımlamaktadır (6, 9, 10). Primer enfeksiyonun başlangıcında, hastalık genellikle asemptomatik olarak seyretmektedir. Özellikle küçük (< 5 cm), iyi sınırlı, dejenere ya da kalsifiye kistler, yıllarca ya da ömür boyu herhangi bir patoloji oluşturmadan, asemptomatik kalabilmektedir (9, 10, 47).

Semptomatik ve ilerlemiş dönemde, hastalarda genel olarak künt bir sağ üst kadranda ağrısı ve karında şişkinlik yakınması bulunmaktadır. En sık görülen semptomlar, karın ağrısı veya dolgunluk hissi, dispepsi, kusma, sarılık ve ateş iken; en sık görülen klinik bulgu ise hepatomegalidir (8). Kist büyük ise, sağ hipokondrumda bir yükseklik meydana getirerek, karının asimetric görünmesine neden olabilmektedir. Palpasyonda kistler genellikle yuvarlak, ele gelen, sabit, çok sert olmayan ve karaciğer parankim dokusundan ayrı bir kitle olarak tespit edilmektedir. Kistlerin komplikasyona neden olduğu durumlarda, klinik belirtiler daha da belirginleşmektedir (60).

Karaciğer kistlerinin komplikasyonları (1, 6, 9, 47, 60)

- a) Komşu organ basısı: Canlılığını sürdüren bazı kistler, büyük boyutlara ulaşarak komşu organlara bası yapabilmekte ve yerleşme yerine göre değişik belirtilere neden olabilmektedirler. Safra yollarını, baskı sonucunda tıkalayabilmekte ve safra akışını engellemektedirler. Kistler, vena portaya bası yaparak splenomegali, asit, portal hipertansiyon gibi bulgular meydana getirmekte ve hatta sindirim sistemi kanamalarına yol açabilmektedir. Vena kava inferior bası yapan kistler ise, tromboza neden olarak akut Budd-Chiari sendromuna yol açmaktadırlar.
- b) Kistlerin rüptürü: Hidatik kistlerin rüptüre olması durumunda, klinik olarak farklı durumlar görülmektedir;

1. Sadece endokistin rüptüre olması, perikistin bütünlüğünün bozulmaması: Metasestodun yaşlanması ile kendiliğinden olabilen veya travma sonrasında, cerrahi operasyon/girişimsel işlem sırasında ya da antihelmentik tedavi altındayken görülebilen bu durum, endokistin perikisten ayrılmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla perikist sağlam kalmakta, kistin enfekte olması veya kist içeriğinin allerjik reaksiyonlara neden olması önlenmektedir. Hastalarda belirgin semptomlar gözlenmemektedir.
2. Kist içeriğinin safra yollarına açılması: Paraziter artıkların safra yollarına atılması ile safra yollarında tıkanma meydana gelmekte ve kolestatik sarılık (tıkanma sarılığı), biliyer kolik, kolanjit ve pankreatit atakları gözlenebilmektedir. Safranın rüptüre kist içine geçmesi durumunda ise enfeksiyon gelişebilmektedir.
3. Endokist ve perikistin birlikte rüptüre olması: Kist sıvısı, kız kistler, çimlenme kapsülleri ve protoskoleksler periton, plevra veya perikard gibi komşu boşluklara ya da çevreleyen dokulara dağılmaktadırlar. Direkt rüptür veya serbest açılma olarak da adlandırılan bu durumun çok ciddi sonuçları bulunmaktadır. Ani başlayan çok şiddetli karın ve baş ağrıları, panik durumu, kısa sürede 40°C'ye yükselen ateş, genel bir ürtiker ile karakterize anafilaktik şok tablosu görülebilmektedir. Hasta bazen kardiyovasküler bir kollaps ile kaybedilebilmektedir. Bu durum özellikle peritona açılan bir rüptüre kist varlığında ortaya çıkmaktadır. Kistin plevraya açılması durumunda, plevrada yeni bir kist oluşabilmektedir. Nadiren mide veya bağırsağa açılan kistler, hematemez veya melenaya neden olabilmektedir. Kistlerin vena kavaya açılması oldukça seyrek olarak görülmektedir. Özellikle karaciğerin arka tarafına doğru gelişen büyük hidatik kistler, vena kavaya açılabilir. Başlangıçta ortaya çıkan şiddetli bir titremeyi, çok bol terleme, solunum sıkıntısı ve güçsüzlük takip etmektedir. Birkaç kez tekrarlayan bu belirtilerden sonra, her iki akciğerde çok sayıda metastatik hidatik kist meydana gelmektedir.

c) Kistlerin enfekte olması: Hidatik kistin laminar tabakası, güçlü bir antibakteriyel özelliğe sahiptir. Bu tabakanın parçalanarak devamlılığını kaybetmesi sonucunda, kistin içine serum sızmakta ve burada bakteri kolonizasyonu için iyi bir ortam meydana gelmektedir. Böylece hidatik kistlerin enfekte olması sonucu, apseler oluşmakta ve tutulan organa ait apse bulguları ve kliniği ortaya çıkmaktadır. Karaciğer apselerine ait belirtiler, hemen her zaman safra yollarına açılma sonucunda gelişmektedir. Önceden varolan karın ağrılarının şiddetlenmesi, değişken bir ateşin tabloya yerleşmesi, subikter, kusma ve sağ plevrada sıvı toplanması hidatik kist kaynaklı karaciğer absesinin klinik belirti ve bulguları arasında yer almaktadır.

2.2.2.2 Akciğer Tutulumunda Klinik

Akciğer kistleri genellikle sağ tarafta ve alt lobta yerleşim göstermektedirler (7, 59, 60). Bu kistlerin %75'i başlangıçta asemptomatik olup, nadiren göğüs ağrısı veya öksürükle seyretmektedirler. Bununla birlikte büyük bir akciğer kisti, komşuluğundaki bronşlarda stenoz ve tıkanmalara yol açarak kuru öksürük, hemoptizi gibi bronkopulmoner semptomlara neden olabilmektedir (6). Akciğer kistlerinin %25'inin tanı koyulduğunda rüptüre ve enfekte olduğu saptanmıştır. Bu durumda, tutulan akciğer tarafında ağrı (özellikle kist periferik yerleşimli ise), öksürük, hemoptizi, dispne, alerjik reaksiyonlar, kilo kaybı ve ateş gibi karakteristik olmayan semptom ve bulgular görülmektedir (60). Bazen de kist bronşlara açılmakta; subfebril ateş, hemoptizi ve göğüste yırtılma hissi yakınmaları olan hastada öksürükle kist sıvısı ve membranları atılmaktadır. Daha sık olarak hastalarda, ciddi bir inflamatuvar reaksiyon ve pnömoni ile ilişkili komplikasyonlar görülmektedir. Bu durumda ise, asemptomatik ya da komplike olmamış akciğer kistlerinde bulunmayan eozinofili, sıklıkla tabloya eşlik etmektedir (47).

2.2.2.3 Diğer Organ Tutulumlarında Klinik (1, 6, 9, 47, 60)

Karaciğer ve akciğer hidatik kistlerinde olduğu gibi, diğer organ tutulumlarında da etkilenen organa ait semptom ve bulgular bulunmaktadır.

KE'li olguların yaklaşık %2-3'ünde görülen dalak kistleri, genellikle karaciğer veya peritonda gelişen hidatik kistle birlikte dir. Hastalarda splenomegali, segmental

portal hipertansiyon, sol hipokondriumda şişkinlik, ağrı, bulantı gibi yakınma ve bulgular görülmektedir.

Böbrek yerleşimi olan KE olgularının sıklığı yaklaşık %4 oranındadır. Genellikle belirti vermeyen bu kistler, çok büyümeleri durumunda kitle, yan ağrısı ve dizüri gibi semptomlara sebep olabilmektedirler.

Beyin hidatik kistlerinin görülme sıklığı %1-2 oranındadır. En sık orta serebral arter etrafında yerleşim göstermektedirler. Beyin tutulumunda, ödemin görülmediği bir hidrosefali, şiddetli baş ağrısı, kusma, duyma bozuklukları, kafa içi basıncında artış ve fokal epileptik nöbetler görülebilmektedir.

Kemik hidatik kistleri daha az sıklıkta görülmektedir. En sık omurga ve pelviste yerleşmektedir. Hastalarda kemik ağrısı, ödem ve patolojik kırıklar bulunmaktadır.

Kalpteki kistler, çoğunlukla asemptomatiktir. Bazı olgularda, perikardiyal efüzyon, kardiyak tamponad ve ani ölümler görülebilmektedir.

Tablo 2: Kistik ekinokokkozis semptom ve bulgularının organlara göre dağılımı (10)

Tutulan organ ve vücut boşluğu/ Semptom ve bulgular	
KARACİĞER KE	Rüptüre akciğer kistlerinin solunum yollarına açılması
Kitle	Astım benzeri semptomlar
Sağ üst kadran ağrısı	Öksürük,
Karında şişkinlik hissi	Dispne
Hepatomegali	Ekspektorasyon
Kolestazis, sarılık	Hemoptizi
Sekonder biliyer siroz	Anafilaksi semptomları
Kolanjit veya pankreatit	Ateş
Apse	
Kalsifiye lezyonlar	KALP KE
Portal hipertansiyon ± asit	Ağrı
Kist rüptürü, peritona yayılım, peritonit	Kitle
Kistlerin deriye, bronşlara veya gastrointestinal sisteme açılması	Kalp yetmezliği
Vena kava inferior basısı ve trombozu	Perikardiyal efüzyon
Rüptüre karaciğer kistlerinin safra yollarına açılması	KEMİK ve KAS KE
Biliyer kolik	Ağrı
Kolestatik sarılık	Kemik büyümesi
Kolanjit	Kemik kırılabilirliği
Pankreatit semptomları	Hareketle rahatsızlık hissi
Anafilaksi semptomları	Kas kisti
Ateş	
AKCİĞER KE	BEYİN ve OMURGA KE
Kitle	Baş ağrısı
Göğüs ağrısı	Nörolojik semptomlarla seyreden tümör
Kronik öksürük	Sırt ağrısı
Dispne	
Hemoptizi	GÖZ KE
Pnömotoraks	Ağrı
Apse	Göz küresinin protrüzyonu
Eozinofilik pnömoni	Pitozis
Parazitik emboli	Görme ile ilgili rahatsızlıklar

2.2.3 İMMÜNİTE (İMMÜN YANIT)

2.2.3.1 İmmünite ile İlgili Genel Bilgiler

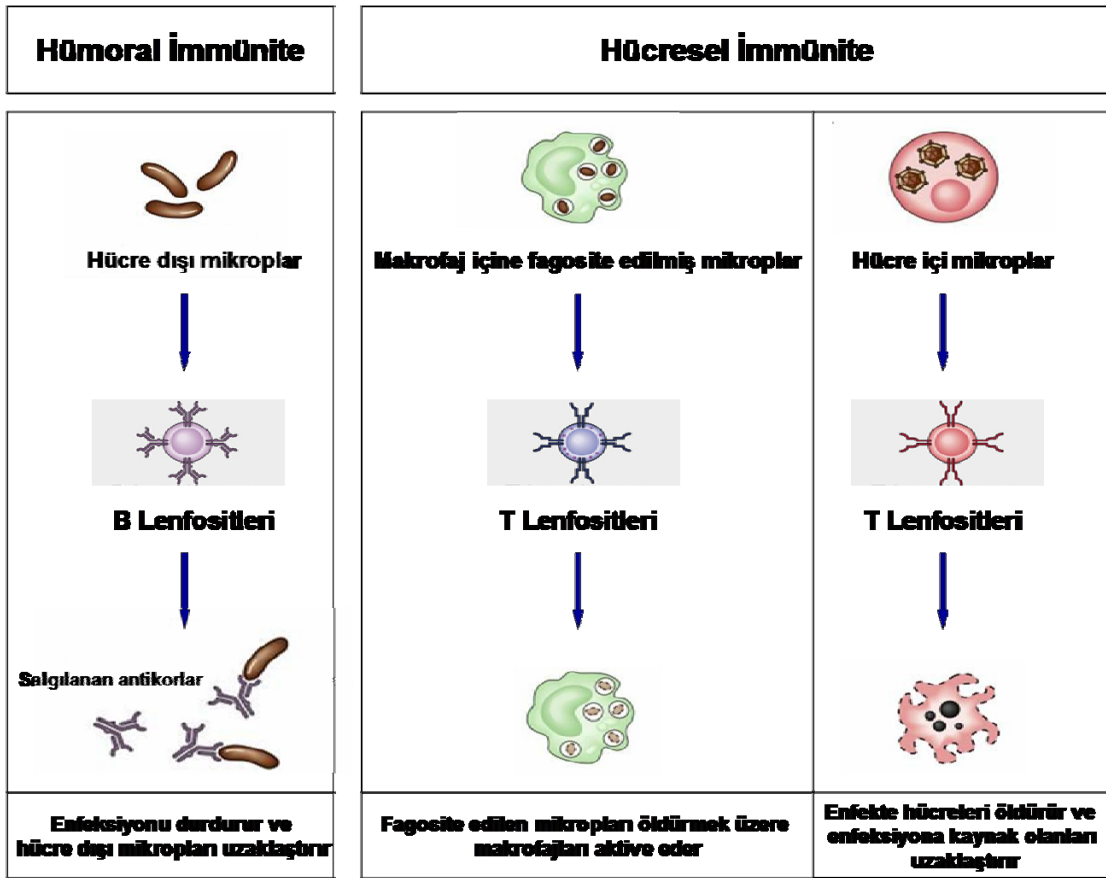
İmmün sistem, enfeksiyonların vücuda yerleşmesini engellemek veya yerleşmiş olan enfeksiyonları yok etmek üzere, mikrobiyal antijenleri yakalayıp yüzeyinde eksprese eden lenfositlerden ve mikropları ortadan kaldıran efektör hücrelerden meydana gelmektedir (Tablo 3).

Tablo 3: İmmün sistemin başlıca hücreleri (61)

HÜCRE TİPİ	BAŞLICA İŞLEVİ / İŞLEVLERİ
LENFOSİTLER	Antijenlerin özgül olarak tanınması
B Lenfositleri	Hümmoral immünitede görev alma
T Lenfositleri	Hümmresel immünitede görev alma
Doğal Öldürücü Hücreler (NK hücreleri)	Doğal immünitede görev alma
ANTİJEN SUNAN HÜCRELER	Lenfositlere sunulmak üzere antijenlerin yakalanması
Dendritik Hücreler	T hücre yanıtının başlatılması
Makrofajlar	Hümmresel immünitenin başlatılması ve efektör evreye dönüşüm
Foliküler Dendritik Hücreler	Hümmoral immünitede görevli olan B lenfositlerine antijen sunulması
EFEKTÖR HÜCRELER	Antijenlerin ortadan kaldırılması
T Lenfositleri	
Yardımcı T hücreleri (T _H hücreleri)	Antikor yapımı için B lenfositlerine, mikropların yıkımı için fagositik hücrelere yardım edilmesi
Sitotoksik T hücreleri (T _C hücreleri)	Mikropla enfekte hücrenin öldürülmesi
Makrofajlar ve Monositler	Fagositoz
Granülositler	
Nötrofiller ve eozinofiller	Fagositoz

İmmün sistemin temel fonksiyonu olan immünite, hastalıklara, özellikle de enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak tanımlanmaktadır. Doğal ve edinsel olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Doğal immünite, enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engeli oluşturan immünite iken; edinsel immünite daha geç ve yavaş olarak gelişen, ancak enfeksiyonlara karşı daha etkili savunma sağlayan immünitedir. Doğal

immünite, vücuttaki epitelyal bariyerler, nötrofil, monosit/makrofaj gibi fagositik hücreler, NK hücreleri, kompleman sistemi, çeşitli sitokinler (Tümör nekroz faktör (TNF), IL1, kemokinler, IL12, IFN γ , IL6, IL10 vb.) ve plazma proteinlerinden (MBL, CRP) oluşmaktadır. Edinsel immünite ise, değişik hücre ve moleküllerden oluşan, hücre dışı ve hücre içi mikroplara karşı savunma sağlayan B lenfositlerinin etkin olduğu humoral immüniteden ve T lenfositlerinin etkin olduğu hücrel immüniteden oluşmaktadır (Şekil 6) (11, 61).

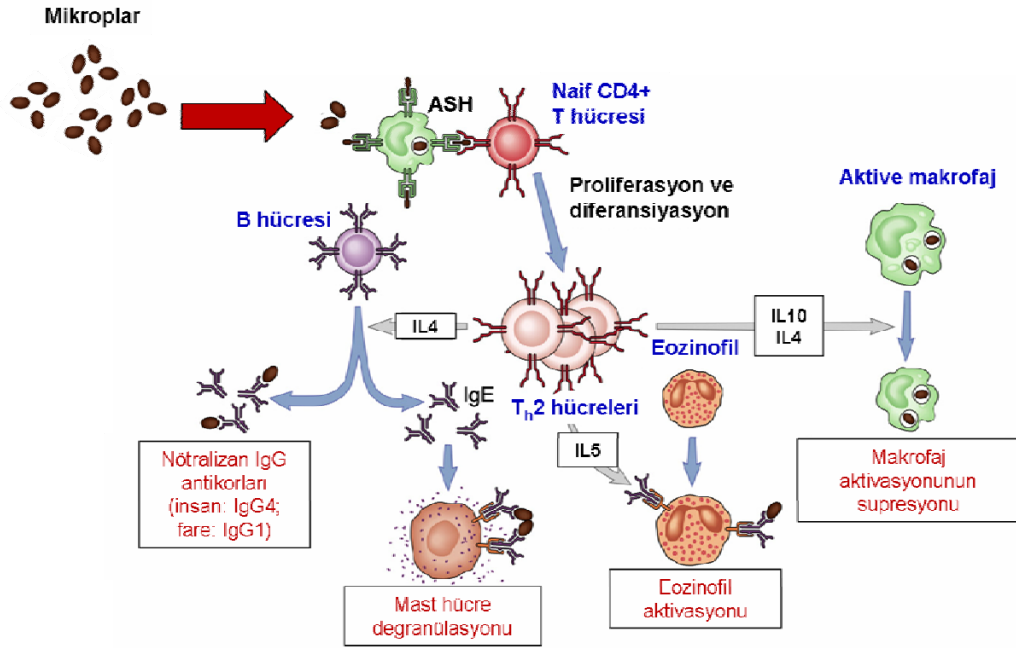


Şekil 6: Edinsel immünite tipleri (11, 61)

B lenfositleri, antikor üreterek humoral immüniteyi düzenleyen hücrelerdir. Yüzeylerinde bulunan antikorlar, reseptör görevi yaparak, antijenleri tanımaktadırlar. Antijenler ve mikroplar, bu antikorlara bağlanarak humoral immüniteyi aktive etmektedirler (61).

T lenfositleri ise, hücrel immünitede görevli hücrelerdir. T lenfositleri arasında, CD $_4$ yüzey proteini taşıyan (CD $_4^+$) T hücrelerine, yardımcı T hücreleri (T helper

T_h2 hücrelerinin ise, IgE antikorlarının oluşmasını uyaran IL4, eozinofilleri aktive eden IL5 ve IL4 ile birlikte hücrel immüniteyi baskılayan IL10 ve IL13 gibi sitokinleri sentezlediği gösterilmiştir. Dolayısıyla bu hücreler, özellikle helmentlere karşı etkili olan eozinofil aracılı, fagositozdan bağımsız immüniteyi uyarmaktadır (Şekil 8) (11, 61).



Şekil 8. T_h2 hücrelerinin efektör fonksiyonları (11)

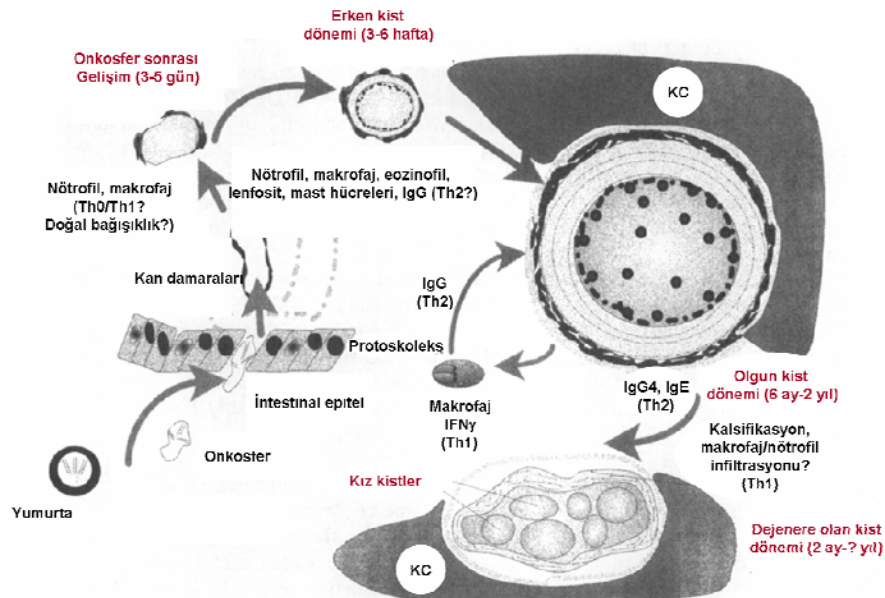
Genel olarak T_h1 ve T_h2 hücrelerinin sentezledikleri sitokinlerin, birbirleri üzerinde inhibitör etkileri bulunmaktadır. T_h2 hücrelerinin sentezledikleri IL4, IL10 ve IL13 gibi sitokinler, T_h1 hücrelerinin proliferasyonunu ve sitokin sentezlemelerini inhibe etmektedirler. T_h1 hücrelerince salgılanan IFN γ ise, T_h2 hücrelerinin aktivasyonunu engelleyebilmektedir (11, 61).

Uyaranlara cevap olarak edinsel immünitede genellikle aktive T lenfositlerinden; doğal immünitede ise aktive monosit/makrofaj/doğal öldürücü hücrelerden salgılanan sitokinler, son derece önemli olan, çözünebilir proteinlerdir. Aktive T lenfositlerinden salınan sitokinler, "lenfokin"; aktive monosit/makrofaj/doğal öldürücü hücrelerden salınan sitokinler "monokin", lökositler arasında etkileşim yapan sitokinler "interlökin", kemotaksis yapan sitokinler ise "kemokin" adını almaktadırlar. Sitokinlerin, üretildikleri

hücrelerin birçok fonksiyonunda etkili olmalarının yanı sıra, farklı immün ve inflamatuvar hücre gruplarının birbirleriyle iletişimini sağladıkları bilinmektedir (11, 61).

2.2.3.2 KE'de İmmünite

KE'de de, birçok enfeksiyonda olduğu gibi, T lenfositlerinin oluşturduğu hücresel immünite ve B lenfositlerinin oluşturduğu humoral immünite oluşmaktadır. Başlangıç döneminde, onkosfer hedef organa ulaştıktan 3-5 gün gibi kısa bir süre sonra onkosferin etrafında, erken inflamatuvar bir yanıt meydana gelmektedir. Bu yanıtta, T_H0 veya T_H1 hücreler düzenleyici rol üstlenebilmekle birlikte; daha çok nötrofil ya da makrofaj gibi doğal immüniteye ait hücrelerin neden olduğu inflamatuvar mekanizmaların sorumlu olduğu düşünülmektedir (20, 62). Bu dönemde, antikor yanıtı zayıftır ve normal olarak enfeksiyonun ilk 2-3 haftasında saptanamamaktadır (62). Enfeksiyonun daha sonraki aşamasında, olasılıkla T_H2 kontrolünde olan ağırlıklı bir antikor yanıtı bulunmaktadır ve kist gelişmeye devam ettikçe bu yanıt artmaktadır. Kist oluşumu tamamlandıktan sonra ise, T_H2 aracılı baskın antikor yanıtı enfeksiyona hakim olmaktadır (20). Ancak bazı olgularda, T_H1 hücre aktivitesinin de bulunduğu; bu gibi olgularda, kistlerin dejenere ve kalsifiye hale gelmelerinin mümkün olduğu görülmüştür. Sekonder KE'de ise, protoskolekslere karşı erken dönemde görülen etkili bir T_H1 yanıtı, takiben daha az etkili T_H2 yanıtına dönüşmektedir (Şekil 9) (20).



Şekil 9: *E. granulosus* enfeksiyonu boyunca görülen immunolojik mekanizmalar (20)

Tüm bu süreçler göz önüne alındığında, KE'de, henüz kist oluşmadan önceki, erken kist evresinde görülen immünolojik olaylar ile kist oluştuktan sonra etkin olanlar birbirinden farklılık göstermektedir. Bu nedenle, genel olarak KE'de immünite, kist oluşumu öncesi ve kist oluşumu sonrası olmak üzere, iki ayrı dönemde incelenmektedir (20, 21).

2.2.3.2.1 Kist Oluşumu Öncesi İmmünite

E. granulosus enfeksiyonunun erken dönemi ile ilgili yapılmış deneysel çalışmalar, bu dönemde özellikle hücresel immünitenin enfeksiyondan korunmada belirgin ve önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (21, 62). Bu döneme ait immünite ile ilgili bilgiler, daha çok fare ve koyunlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalardan elde edilmiştir (20, 21, 62).

Primer enfeksiyon

Enfekte yumurtaların ara konaklar tarafından alınmasından sonra meydana gelen primer *E. granulosus* enfeksiyonuna karşı doğal duyarlılığı etkileyen faktörler hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Yaş, cinsiyet, fizyolojik durum, tür gibi konağa ait çeşitli faktörlerin, enfeksiyona olan duyarlılığı ya da direnci etkileyebileceği gösterilmiştir. Enfeksiyona karşı doğal olarak duyarlı olan sığırlardan elde edilen kist sıvıları genellikle steril iken, koyunlardan elde edilen kistler, hemen hemen tamamen fertil olmaktadır (63). Bu durumun, enfeksiyona neden olan parazit suşlarının farklılığından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Aynı endemik bölgeye ait sığırlardaki kistlerin steril, koyunlardakilerin fertil olması ise; sığırlarda enfeksiyona karşı doğal bir direnç, koyunlarda ise yüksek bir duyarlılık bulunduğu işaret etmektedir (21). Bunun yanı sıra, farelere *E. granulosus* yumurtaları/onkosferleri verilerek yapılan *in vivo* çalışmalar, enfeksiyona karşı gelişen duyarlılığın farklı fare suşları arasında değişiklik gösterdiğini de ortaya koymaktadır (64).

İmmunize olmamış yani *E. granulosus* yumurtaları ile ilk kez karşılaşmış ara konaklarda, enfeksiyonu takiben görece olarak yavaş bir antikor yapımı bulunmaktadır (20). Kist sıvısına karşı en erken saptanabilen IgG yanıtı, farelerde 2 hafta, koyunlarda 11 hafta, bazı tür maymunlarda ise 4 hafta sonra oluşmaktadır. Ayrıca, enfeksiyonun erken evresinde, oldukça dikkat çekici bir hücresel inflamatuvar

yanıt gözlenmektedir. Koyunlarda yapılan bir çalışmada, enfeksiyondan 3-5 gün sonra, ilk gözlenen durumun, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu olduğu saptanmıştır. Daha sonra, 25-30. güne kadar ise esas olarak eozinofil, lenfosit ve makrofajlardan oluşan ve patolojik değişikliklerden sorumlu olabilen artmış bir lökositoz tablosu bulunduğu bildirilmiştir (20, 21). Ancak, bu durumun, konağın doğal immünitesi ve kemotaktik maddeler aracılığıyla mı, yoksa T_H0/T_H1 sitokinlerine bağlı olarak mı meydana geldiği bilinmemektedir (20). Ayrıca, yapılan *in vitro* çalışmalar, antikörlerle birlikte nötrofillerin, *E. granulosus* onkosferlerini öldürebildiğini ortaya koymuştur. Buna bağlı olarak da, enfeksiyonun erken döneminde antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksikite reaksiyonlarının da rol oynayabileceği düşünülmüştür (20).

Sekonder enfeksiyon

Deneysel olarak, intraperitoneal yoldan protoskolekslerin verilmesiyle farelerde oluşturulan sekonder enfeksiyonlarda, üç gün içerisinde protoskolekslerin etrafında belirgin bir hücreyel infiltrasyonun olduğu gösterilmiştir. İnfiltrasyonun, ilk olarak aktive makrofajları, hemen sonrasında ise nötrofil, eozinofil ve lenfositleri içerdiği bildirilmiştir (65, 66). Ayrıca, protoskolekslerle enfekte edilen farelerden, enfeksiyondan 1 hafta gibi kısa bir süre sonra alınan splenositlerin, *in vitro* olarak IL10, IL4 ve IL5 salgıladıkları ortaya koyulmuştur (67). Protoskoleks somatik antijeni kullanılarak, serumda $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, IL6, spesifik IgG1 ve peritoneal kavitede IgG3 saptandığı bildirilmiştir (67, 68). Tüm bu veriler, sekonder enfeksiyondaki immünitenin daha hemen başında, T_H2 reaksiyonlarının aktive olduğunu göstermektedir

2.2.3.2.2 Kist Oluşumu Sonrası İmmünite

KE'de, kist oluşumu tamamlandıktan sonra meydana gelen immünolojik olayların, enfeksiyonun erken döneminde meydana gelenlerle karşılaştırıldığında, çok daha karmaşık olduğu görülmüştür. İnsanlarda, özellikle IgG, IgM ve IgE antikor düzeylerinde yükselme görülmekle birlikte (13, 18, 69), olgularda %30'a varan oranlarda antikor yanıtı oluşmadığı bildirilmiştir (20, 21, 22, 23). Seropozitif bireylerde ise, ağırlıklı olarak, antijen 5 (Ag5) ve antijen B (AgB) tarafından tanınan IgG1 ve IgG4 antikorlarının saptandığı gösterilmiştir (23, 70). Ancak, antikor yanıtları

enfeksiyon süresince yüksek olarak saptansa da, bunun parazit için zararlı olup olmadığı kanıtlanmamıştır.

Kist oluşumu tamamlandıktan sonraki dönemde, antikorların yanı sıra eozinofil, nötrofil, makrofaj ve fibrositlerden oluşan hücresel bir infiltrasyon da bulunmaktadır. Bu efektör hücrelerin, parazit larvalarının bulunduğu enfeksiyon alanına gelmesi ve aktive olması, proinflamatuvar sitokinler (IL1 β , IL12, TNF α) ve bazı kemokinler (IL8, MCP1, MCP2, RANTES) aracılığıyla olmaktadır (71, 72). Bu sitokinlerin ve kemokinlerin aracılık ettiği inflamatuvar yanıt, genellikle ciddi değildir. Bununla birlikte, parazitin yerleştiği bölgede lokal olarak proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin sentezlenmesinin, oluşacak inflamatuvar veya anti-inflamatuvar immun yanıtı ve şiddetini ve de buna bağlı olarak enfeksiyonun seyrini belirleyici olduğu düşünülmektedir. Özellikle *E. multilocularis* ile yapılmış olan çeşitli çalışmalarda, persistan ve çoğalan larval formların, efektör hücre fonksiyonlarını baskıladığı (73), immun sistem hücreleri tarafından antijen tanınmasını ve nötrofil kemotaksisini zayıflattığı (74) bildirilmiştir. Larval formların neden olduğu bu immünolojik değişikliklerin, parazitin konağa ait koruyucu immun yanıtı kaçmasında etkili olduğu ve etrafındaki konak dokusunda hücresel yanıt mekanizmalarını bloke edebildiği vurgulanmıştır.

E. granulosus enfeksiyonunda da, birçok helment enfeksiyonunda olduğu gibi, hem T_h1, hem de T_h2 hücreleri aktive olarak, birbirine inhibitör etkili olan sitokinler salgılamakta ve dolayısıyla iki farklı sitokin salgı paterni oluşmaktadır. Bu iki sitokin grubu arasındaki denge, enfeksiyonun seyrini, reenfeksiyonların oluşmasını ve hatta tedavinin başarısını belirleyen en önemli faktördür (13, 21, 75).

KE hastalarından elde edilen periferik kan mononükleer hücrelerinin (PKMH), kist sıvısı ile uyarılması sonucunda, bu hücrelerin IL4, IL5, IL6, IL10 gibi T_h2 sitokinleri ile IFN γ , IL2 gibi T_h1 sitokinlerini bir arada sentezledikleri saptanmıştır (13, 15, 16 18, 19). Aynı şekilde, KE hastalarının serumlarında da bu sitokin düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (15, 17, 76) Her iki T_h hücrelerine ait sitokinlerin birlikte ve yüksek düzeylerde sentezlenebilmesi, *E. granulosus* enfeksiyonuna karşı oluşan immünitenin hem T_h1 hem de T_h2 hücreleri tarafından düzenlendiğini düşündürmektedir. Birbirleri üzerine inhibitör etkili olmalarına rağmen, T_h1 ve T_h2

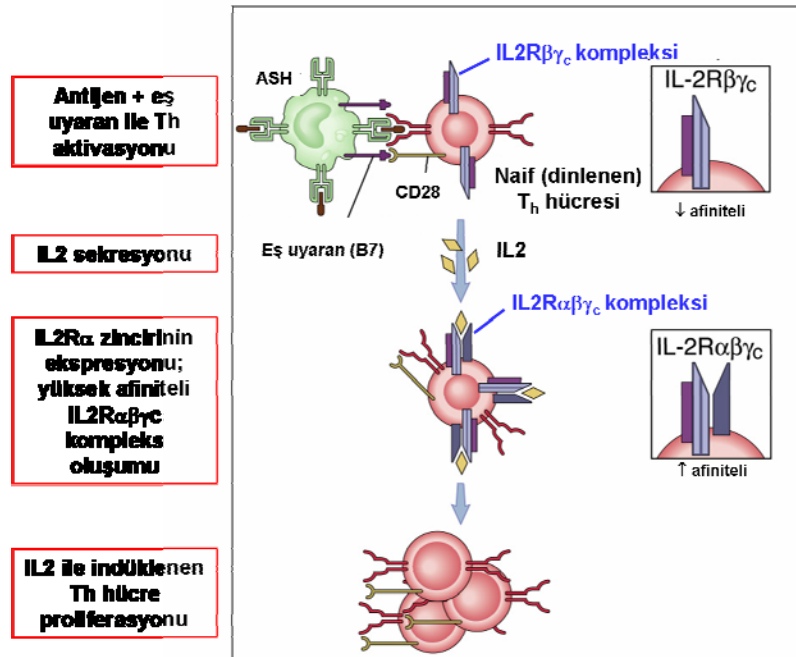
sitokinlerinin neden birlikte ve yüksek düzeylerde sentezlendiği tam olarak bilinmemektedir. Bu durumun kist sıvısının karmaşık bir antijenik yapıya sahip olmasından ve her T hücre alt grubu için farklı epitoplara içermesinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (20, 21, 77, 78).

Diğer birçok helment enfeksiyonunda olduğu gibi, KE'de de T_H1 hücre aktivasyonunun hastalığa dirençle (koruyucu immünite), T_H2 hücre aktivasyonunun ise hastalığa duyarlılıkla ilişkili olduğu bilinmektedir. İlaç tedavisine yanıt veren KE hastalarında, tipik olarak tabloya, $IFN\gamma$ ve $IL2$ 'yi içeren T_H1 sitokin profili hakim olmaktadır. Rigano ve ark. (14), albendazol tedavisine tam yanıt veren hasta PKMH'lerinin, yanıt vermeyen hastalarinkinden anlamlı olarak daha yüksek $IFN\gamma$, daha düşük $IL4$ ve $IL10$ sentezlediklerini saptamışlardır. Bu çalışmada olduğu gibi, T_H1 sitokinlerinin, enfeksiyonun geç dönemlerinde önemli bir öldürme mekanizmasında görev aldığı ileri sürülmektedir (20, 22).

Enfeksiyonlara karşı gelişen immünitede sitokinlerin bir diğer rolü de, antikor izotiplerinin sentezini düzenlemektir. $IL4$, IgE ve $IgG4$ sentezini düzenleyen bir sitokindir (79, 80). Rigano ve ark. (14), tedaviye yanıt vermeyen hasta PKMH'lerinin yüksek düzeylerde $IL4$ ve $IL10$ sentezlediklerini; aynı hastaların serumlarında ise spesifik IgE ve $IgG4$ antikorlarının da yüksek düzeylerde bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçların da ortaya koyduğu gibi, KE'de hastalığa duyarlılıkta, T_H2 yanıtı baskın olmaktadır.

Eozinofili ve yüksek IgE düzeyleri, helment enfeksiyonlarının en önemli ortak özelliklerindedir (81). Helmentler gibi, çok büyük olan parazitlerin doku formlarına karşı oluşan immünite, IgE sentezi ve eozinofil aktivasyonu ile gerçekleşmektedir (71). IgE bağımlı mast hücre reaksiyonu, primer olarak eozinofillerin parazite yakın bir bölgeye gelmesini ve antiparaziter etkilerinin artmasını sağlamaktadır. Bu etkinin, sitokinler aracılığıyla arttığı da gösterilmiştir (81). Eozinofiller, nötrofillere nazaran daha az fagositik etkiye sahip olmalarına rağmen, nötrofiller gibi, *Echinococcus* türlerinin larval formlarını öldürebilmektedir (82). KE'de, yükselmiş $IgG1$, $IgG4$ ve IgE antikor düzeyleri ve sıklıkla eozinofili bulunması, kist oluştuktan ve enfeksiyon oturduktan sonraki immünitenin T_H2 ağırlıklı olduğuna işaret etmektedir (20).

Koruyucu immunitayle ilgili olan bir diğer T_h1 sitokini ise IL2'dir. Aktive T_h hücrelerinin aktivasyonundan bir iki saat sonra, ilk sitokin olarak üretilen IL2'nin görevleri; T_h büyüme faktörü olarak hücre proliferasyonunun uyarılması, konak immünitesinin güçlendirilmesi, parazit gelişiminin sınırlandırılması ve anti-tümoral etki oluşturulmasıdır (83, 84). T_h hücrelerinin aktive olması, IL2 reseptörünün (IL2R) ekspresyonunu düzenleyerek, T_h hücrelerinin IL2'ye bağlanmasını artırır. IL2R, üç zincirli (α , β , γ) bir moleküldür. Ancak naif T_h hücre yüzeyinde, sadece β ve γ zincirlerinden oluşan düşük afiniteli IL2 reseptörü (IL2R $\beta\gamma_c$ kompleksi) bulunmaktadır. T_h hücresi, aktive olduktan sonra IL2 salgılamakta ve reseptörün yüksek afinite ile IL2'ye bağlanmasını sağlayan α zincirini üretmektedir (Şekil 10). Böylece, üç zincirden oluşan IL2 reseptörüne (IL2R $\alpha\beta\gamma_c$ kompleksi) bağlanan IL2, sentezlendiği T_h hücresinin proliferasyonunu uyarmaktadır (71). IL2 reseptörünün proteolizi ile, IL2R α zincirinin bir formu olan sIL2R α (sCD25) meydana gelmektedir (84). Solubl bir protein olan ve T_h hücre yüzeyinden kana salınan sIL2R α 'nin, *in vitro* olarak PKMH'lerinin IL2 aracılı aktivasyonunu engellediği gösterilmiştir (84, 85).



Şekil 10: IL2 ve IL2 reseptörünün T hücre proliferasyonundaki rolleri (11)

KE'de sIL2R ile ilgili olarak yapılmış tek bir çalışmada, çok sayıda büyük kisti olan hastaların serumlarında, tek kisti olan hastaların serumlarındakine oranla, anlamlı olarak daha yüksek düzeyde sIL2R saptanmıştır (24). Ayrıca, karaciğerin

merkezi kısmında çok sayıda kisti olan hastaların %17.8'inde hafif artmış sIL2R düzeyleri tespit edilmiştir. Alveoler ekinokokkozis (AE)'de meydana gelen patoloji ile çeşitli sitokinlerin serum düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, serum sIL2R düzeyi düşüklüğünün hastalığın erken evresi veya stabil durumunu yansıttığı, reseptör düzeyindeki yüksekliğin ise hastalığın progresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (86). AE hastaları ile yapılmış bir diğer çalışmada ise, artmış plazma sIL2R düzeyleri ile lezyonların hacimleri ve hastalığın şiddeti arasında anlamlı bir korelasyon olduğu ortaya konmuştur (87).

KE hastalarında IL4 ve IL10'un haricinde, büyük miktarlarda sentezlenen diğer T_h2 sitokinleri ise, IL5 ve IL6'dır. Rigano ve ark. (75) tarafından, KE hastalarının %89'unun PKMH'lerinin yüksek düzeylerde spesifik IL5 sentezlediği; kontrol grubundakilerin ise hiç sentezlemediği gösterilmiştir. Aynı zamanda IL5 ile IgE ve IgG4 arasında anlamlı bir korelasyon bulunduğu ortaya koyulmuştur.

Hernandez-Pomi ve ark. (18), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, KE hastalarının PKMH'lerinin anlamlı olarak daha yüksek düzeyde IL2, IFN γ ve IL5 sentezlediklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, rölaps görülen KE hastalarında, primer enfeksiyonu olanlarla karşılaştırıldığında, daha yüksek düzeyde IL5 ve daha düşük düzeyde IFN γ yanı sıra anlamlı olarak yüksek düzeyde IgE ve IgG4 tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, baskın bir T_h2 yanıtının, hastalığın klinik seyri ile ilişkisi olduğunu ve reenfeksiyona duyarlılıkta T_h2 yanıtlarının önemli bir rolü olduğuna işaret etmektedir. Bu konu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Rigano ve ark. (16), KE'ye spesifik antikor yanıtı bakımından gerek seropozitif gerekse seronegatif olan KE hastalarının hepsinde, PKMH'lerinin *E. granulosus* antijeni ile proliferasyona uğramasına rağmen, seronegatif hasta PKMH'lerinin, T_h2 sitokinlerini (IL4, IL10) düşük düzeyde sentezlediğini veya hiç sentezlemediğini (IL5) göstermişlerdir. Seronegatifliği, spesifik antikor yanıtında etkili olan T_h2 hücrelerinin aktivasyonunun konak, parazit veya her ikisine bağlı faktörlerden dolayı yetersiz olmasına bağlamışlardır.

Aktive makrofajlar, sentezledikleri ve salgıladıkları IL1, IL12 gibi bazı proinflamatuvar sitokinler ve farklı kemokinlerle hücrel immunitede önemli görevler üstlenmektedirler. IL12, T_h hücrelerinin T_h1 yönünde polarizasyonunu sağlayarak

IFN γ sentezlenmesine ve NK aracılı sitotoksositeye yol açmaktadır (61, 71). IFN γ ise, makrofajlardan kemokin salınımını stimüle etmektedir. İlaç tedavisi almış KE hastalarının, tedavi öncesi ve tedavi sonrası elde edilen PKMH'lerinde sitokin gen ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada; tedaviye tam yanıt veren hasta grubunda tedavi sonrası IL12(p40) mRNA ekspresyonunun anlamlı olarak yükseldiği saptanmış ve IL12'nin hastalığın ilaç tedavisi ile bağlantısının bulunmasından dolayı, hastalıktan iyileşmede önemli bir rolü olabileceği bildirilmiştir (19).

T_h1 aktivasyonunda etkili olduğu düşünülen IL1 β , IL1 sitokin ailesinin üyesidir. Diğer proinflamatuvar sitokinler gibi, sistemik ve lokal inflamasyona neden olurken, IFN γ ekspresyonuna katkıda bulunarak efektör hücre fonksiyonlarını ve hücrel sitotoksositeyi arttırmaktadır (61, 71). Refik ve ark. (24), KE hasta ve kontrol grubu bireylerinin serumlarındaki IL1 β düzeyleri arasında bir fark bulamamışlardır. Ancak cerrahi tedavi sonrası KE hasta serumlarındaki IL1 β düzeylerinin, cerrahi öncesine göre anlamlı olarak azaldığını saptamışlardır. AE'de proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler arasındaki ilişkiyi araştıran Eger ve ark. (88), AE hastalarına ait PKMH'lerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük düzeylerde IL1 β sentezlediklerini tespit etmelerine rağmen bu durumun aksine hastalara ait PKMH'lerinde IL8 sentezinin anlamlı olarak yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. İnflamatuvar sitokinlerle kemokin salınımı arasında görülen birbirine ters bu dinamiklerin, enfeksiyonda patolojik inflamasyonu önlediğini, efektör hücrelerin ise larvaların çoğalmasını ve gelişmesini sınırlandıran bir immun yanıt oluşturabileceğini belirtmişlerdir.

Kemokinler, enfeksiyon türüne uygun lökositlerin kemotaksisini sağlayan, enfeksiyonun erken döneminde görülen T hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasında görev alan, hastalığın ilerleyen dönemlerindeki klinik belirtilerde etkin rol alan kostimulatör moleküllerdir (72). IL8 ise, kemokinlerin nötrofil kemotaksisinde görevli olan CXC ailesine ait bir üyesidir. Refik ve ark. (24), KE hasta serumlarındaki IL8 düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Ayrıca cerrahi tedavi sonrası KE hasta serumlarındaki IL8 düzeylerinin, cerrahi öncesine göre anlamlı düzeyde azaldığını saptamışlardır. Dreweck ve ark. (89), AE hastalarında, *E. multilocularis* vezikül antijeni ile stimüle edilmiş PKMH'lerinin otolog serum varlığında,

yüksek IL8 sentezlediklerini tespit etmişler ve spesifik antikor varlığında IL8'in, efektör hücrelerin aktivitesini ve enfeksiyon alanına migrasyonunu arttırabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı çalışmada, progresif AE hastalarında IL12 ve IL13'ün yüksek düzeyde olduğu ve bu iki sitokin düzeyi arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, IL13, progresif AE hastalarında yüksek düzeylerde saptanan IgE ve IgG4 sentezini indükleyen bir sitokindir (90). Bunların sonucu olarak, bu çalışmada, *E. multilocularis* enfeksiyonu boyunca, parazitin invaze ettiği konak dokuya T_h1/T_h2 sitokinleri ve kemokinler aracılığıyla efektör hücrelerin toplanmasının ve bu hücrelerin uygun şekilde aktive olmasının, antikor aracılı hücrel immun yanıtı başlatabileceği ve bu yanıtın hastalığın progresyonunu sınırlandırmada kritik bir role sahip olabileceği sonucuna varılmıştır.

2.2.4 EPİDEMİYOLOJİ, COĞRAFİ DAĞILIM VE PREVALANS

İnsan KE prevalansı, büyük oranda çiftlik hayvanlarındaki prevalansla ilişkilidir (91). Tüm dünyada, hayvan besiciliği, özellikle de koyun yetiştiriciliği yapılan ve dolayısıyla sıklıkla köpek beslenen bölgelerde yüksek oranlarda görülmesi, halk sağlığı yönünden, *E. granulosus*'un insanlara bulaşında, koyun-köpek döngüsünün ve G1 genotipinin son derece önemli olduğunu göstermektedir (2, 41, 92). Koyun gibi ara konakların enfekte doku ve organlarının, özellikle hayvan besiciliği yapan kişiler tarafından kontrolsüz kesimler sonrasında köpeklere verilmesi, parazitin yaşam döngüsünün devamında, davranışsal ve mesleki faktörlerin ciddi bir yer tuttuğunu ortaya koymaktadır (1).

E. granulosus suşlarının yaşam döngüleri, evcil hayvan döngüsü (domestik siklus) ve yabani hayvan döngüsü (silvatik siklus) olarak sınıflandırılmaktadır (41). Evcil hayvan döngüsünde kesin konak köpek, ara konaklar ise başta koyun olmak üzere çeşitli besi hayvanlarıdır Yabani hayvan döngüsünde ise kesin konak kurt, çakal gibi etçil yabani hayvanlar iken, ara konaklar evcil ya da yabani hayvanlar olabilmektedir (Tablo 1).

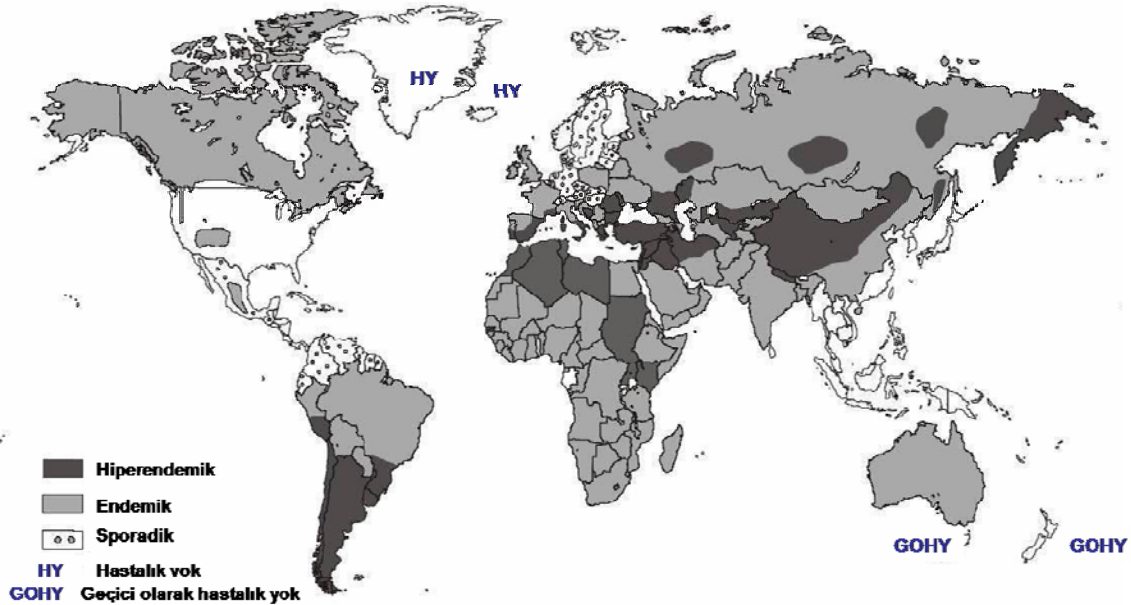
2.2.4.1 Dünyadaki Dağılım

E. granulosus geniş bir coğrafi alana yayılmış olup, tüm kıtalarda, kutupların çevresi, ılıman, subtropikal ve tropikal iklim kuşaklarında en az 100 ülkede

görülmektedir (2, 6, 38, 91, 93, 94, 95). Tüm dünyada, özellikle de koyun yetiştiriciliğinin yapıldığı kırsal bölgelerde olmak üzere, tahmini iki milyon kişinin enfekte olduğu bilinmektedir (30).

Tüm dünyada en sık görülen *E. granulosus* suşu, G1 koyun suşudur (25, 30). Parazit prevalansının en yüksek olduğu yerler ise, Avrasya (özellikle Akdeniz ülkeleri, Rusya ve komşuluğundaki bağımsız devletler ve Çin), Kuzey ve Doğu Afrika, Avustralya ve Güney Amerika'dır (1, 2, 51) (Şekil 6). Endemik bölgelerde parazit, sporadik olarak saptanabildiği gibi, yüksek prevalansa sahip olarak da bulunabilmektedir. İzlanda ve Grönland'da parazite hiç rastlanmadığı, dolayısıyla bu ülkelerde hastalığın bulunmadığı bildirilmiştir (Şekil 11) (2).

E. granulosus'un yaşam döngüsünün, Avrupa'da özellikle Akdeniz'e komşu olan İspanya, İtalya, Yugoslavya, Yunanistan, Türkiye gibi ülkelerde ve eski Sovyetler Birliği ülkelerinin Avrupa dışında kalan kısmında, köpek ile koyun arasında; Batı Avrupa ve İrlanda'da ise köpek ile at arasında geliştiği bildirilmiştir. Avrupa'nın Belçika, Almanya ve İsviçre gibi bazı ülkelerinde, çoğunlukla köpek ile sığır arasındaki, Polonya, Macaristan gibi Doğu Avrupa ülkelerinde ise köpek ile domuz arasındaki domestik sıklusa rastlanmaktadır (3).



Şekil 11: *E. granulosus*'un tüm dünyadaki coğrafik dağılımı (2)

2.2.4.2 Türkiye'deki Durum

Türkiye'de KE, *E. granulosus* ile ilgili ilk çalışmanın yayınlandığı 1928 yılından günümüze kadar önemini koruyan bir hastalık olmakla birlikte, henüz hastalığın önlenmesine ve kontrolüne yönelik tutarlı bir devlet politikası geliştirilmediği için, hala büyük bir sağlık problemi olarak süregelmektedir. Birçok ülkede olduğu gibi, verilerin iyi dökümente edilememiş olmasından dolayı, ülkemizde hiperendemik olarak görülen hastalığın prevalansı ve insidansı ile ilgili bilgiler yeterli değildir. Varolan verilerin çoğu da, hastane kayıtlarına dayanmaktadır (96). Az sayıda saha çalışması bulunmaktadır ve bunların da çoğunda serolojik yöntemler kullanılmıştır.

Ülkemizde hastalıkla ilgili ilk sonuçlar 1928 yılında bildirilmiştir (95). O günden bugüne birçok çalışmada çeşitli veriler elde edilmiştir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre, 1987-1994 yılları arasında cerrahi olarak doğrulanmış 21303 olgu bulunmaktadır. Bu veriye göre, Türkiye'de yılda yaklaşık 2000-2500 yeni olgu görülmektedir. Altıntaş ve ark. (97) ise, sero-epidemiolojik araştırmalarında KE prevalansını 291/ 100 000 olarak saptamışlardır. Tahmini cerrahi olgu oranı ise 0.87-6.6/100 000 olarak bildirilmektedir (96). Ülkemizde KE, bildiri zorunlu hastalıklar kapsamında yer almadığı için, varolan veriler güvenilir değildir.

Ülkemizde KE ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı tanı yöntemleri kullanılarak farklı seropozitiflikler elde edilmiştir. İzmir DEÜ Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na KE şüphesiyle başvuran 465 hastanın %17'sinde (98), Kars ili merkez ve köylerinde yaşayanlarda %34,6 oranında (99), İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi seroloji laboratuvarına KE şüphesi ile gönderilen 78 hastanın %34.6'sında (100), İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji AD'na KE ön tanısı ile gönderilen 2210 hastanın %37'sinde (101) seropozitiflik bulunduğu bildirilmiştir.

Türkiye'de KE'i önemli bir halk sağlığı sorunu yapan faktörlerden birisi de, parazitin yaşam döngüsünün devamında önemli yeri olan sokak köpeklerinin çok sayıda olması, bunların korunma ve tedavilerinin zor olmasıdır. Köpeklerde ülkenin farklı bölgelerinde yapılmış az sayıdaki çalışmada, enfeksiyonun %0.32-%40 oranlarında görüldüğü bildirilmiştir (96). Yetiştirilen çiftlik hayvan türleri arasındaki

enfeksiyon prevalansı çok değişken olmakla birlikte, en sık koyunlarda, ardından sığırlarda görüldüğü bildirilmektedir (96).

2.2.5 TANI

KE'de tanı, çeşitli basamaklardan oluşan bir süreci kapsamaktadır (10):

- Klinik bulgu ve belirtilere veya tarama bulgularına dayanarak hastalıktan şüphelenme
- Görüntüleme yöntemleri ile doğrulama (Şüpheli ya da karakteristik kist yapıları tanımlanarak)
- Spesifik antikor tayini ile doğrulama [Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), İndirekt floresan antikor testi (IFAT), immünoblot (İB) vb. immün tanı yöntemleri kullanılarak]
- Eğer kontrendike değilse, şüpheli olgularda ponksiyon
- Ponksiyon ya da cerrahi olarak elde edilen materyalin değerlendirilmesi (Kist sıvısında protoskoleks ya da çengellerinin araştırılması, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile protoskoleks DNA tayini, kist duvarı materyalinin karakteristik yapısal özelliklerinin histolojik olarak araştırılması)

2.2.5.1 Klinik Tanı

KE'de klinik bulgu ve belirtiler çok farklı, nonspesifik olabilmekte ve geniş bir aralıkta yer almaktadır. Hastalık her yaştan hasta grubunda görülmekte, her organ tutulumuyla seyredebilmektedir. Özellikle hastalığın endemik olmadığı bölgelerde, hafif veya ağır bir hastalık tablosu oluşturabilmesi, subakut veya akut bir seyir göstermesi nedeniyle, klinik bulgu ve belirtilerle KE tanısı koymak oldukça zordur (102). Ancak bunlara dayanarak hastalıktan şüphelenilmesi önemlidir ve bu şüphenin doğrulanması için, görüntüleme yöntemlerinin kullanılması, bunların da immunolojik tanı yöntemleriyle desteklenmesi gerekmektedir (1, 6, 10).

2.2.5.2 Görüntüleme Yöntemleri ile Tanı

KE'de, görüntüleme yöntemleri ile kesin tanı konulabilmektedir (62). KE tanısında kullanılmakta olan başlıca görüntüleme yöntemleri şunlardır (10, 103):

- Radyografi (X-ray)
- Ultrasonografi (US)
- Bilgisayarlı tomografi (BT)
- Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)

Akciğer radyografisi, akciğer hidatik kistlerinin tanısında günümüzde de en sık kullanılan görüntüleme yöntemi özelliğini sürdürmektedir.

US, sadece abdominal kistlerin saptanması, sayısının ve lokalizasyonunun belirlenmesinde değil; bunların hidatik kist olup olmadığının ve diğer organlarla ilişkisinin ortaya konmasında da kullanılmaktadır. US, ayrıca, kolay uygulanabilir ve ucuz olması gibi özellikleri nedeniyle, saha çalışmalarında ve toplum taramalarında da tek ve mükemmel bir görüntüleme yöntemidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Echinococcosis Çalışma Grubu, US ile karaciğerde saptanan kistik lezyonlar ve KE'ye bağlı kistler için uluslar arası bir sınıflandırma geliştirmiştir. Buna göre CL tipi kistler, hidatik kist olan veya olmayan kistleri; CE1, CE2, CE3, CE4 ve CE5 tipi kistler ise hidatik kistleri tanımlamaktadır. CL tipi hidatik kistler ile CE1 ve CE2 tipi kistler aktif, CE3 tipi kistler geçiş bölgesinde, CE4 ve CE5 tipi kistler de inaktif olarak tanımlanmaktadır (104).

BT, 1 cm \geq çapındaki kistlerin saptanmasında, kist boyutlarının belirlenmesinde ve KE kökenli kistler ile non-parazitik kistlerin ayırıcı tanısının yapılmasında US'ye göre daha üstündür (9, 105).

MRG'nin ise, sadece belli vücut bölgelerindeki kistlerin, özellikle de serebral kistlerin tanısında kullanılması önerilmektedir (9, 105).

2.2.5.3 Direkt Tanı

KE'de direkt tanı yöntemlerinden birisi, kist sıvısında, *E. granulosus*'a ait protoskoleks veya çengellerin görülmesidir. Bu yöntem, sadece basit bir ışık mikroskobu ve temel laboratuvar bilgisi gerektirdiği için, uygulaması kolay bir yöntemdir. Ancak kist sıvısı, tedavi amaçlı PAIR (Puncture, Aspiration, Injection ve Reaspiration), tanı amaçlı aspirasyon ya da cerrahi sonrası elde edilebildiği için, yöntemin uygulanması sınırlıdır. Kist sıvısı haricinde çok nadiren, spontan akciğer,

karaciğer ya da böbrek kisti rüptürü sonrasında balgam, safra, dışkı ve idrarda da protoskoleks veya çengellerine rastlanmaktadır (10).

Diğer bir direkt tanı yöntemi, cerrahi ile çıkarılan kist yapısının makroskopik olarak tanımlanması veya parazit dokusunun histolojik olarak incelenmesidir.

Çok daha detaylı ve ileri direkt tanı yöntemleri, steril kist sıvısında *E. granulosus* antijeninin araştırılması ve PZR yöntemi ile kist sıvısı ya da parazit dokusunda DNA saptanmasını kapsamaktadır (10).

2.2.5.4 Serolojik Tanı

KE'de tanı, görüntüleme yöntemleri ile serolojik yöntemlerin birlikte değerlendirilmesi ile koyulur. Serolojik yöntemler, özellikle görüntüleme yöntemleri ile karar verilemeyen olgularda, asemptomatik veya atipik bulguların olduğu hastalarda tanı veya ayırıcı tanı amacıyla kullanılmaktadır (10). Cerrahi ya da ilaç tedavisi sonrası hastaların takibinde de etkili olan bu serolojik tanı yöntemleri, aynı zamanda endemik bölgelerde geniş çaplı taramalarda ve görüntüleme yöntemlerinin bulunmadığı endemik bölgelerdeki hasta takiplerinde de önem kazanmaktadır (62).

KE tanısında, özellikle spesifik serum antikorlarının saptanması önemlidir. Anti-*Echinococcus* serum antikorlarının saptanmasında kullanılan testler primer testler adını almaktadır (Tablo 4). Bunlardan yaygın olarak kullanılanlar;

- IgG ELISA,
- İndirekt hemagglütinasyon (İHA),
- Lateks aglütinasyon (LA) testleridir.

Daha az sıklıkla kullanılan primer testler ise;

- İmmünofloresan antikor testi (İFAT)
- İmmünoelektroforez (İEP),
- Dot-ELISA,
- Casoni deri testleridir.

Tablo 4: KE hastalarında farklı primer testlerin antikor saptama sensitivite ve spesifite oranları

Test	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	Literatür
IgG ELISA	72,4-100	65,1-99,5	(106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116)
İHA	47-100	47-100	(113, 114, 117, 118, 119)
LA	58,2-74,1	99,5-100	(106, 115, 117)
İFAT	90-100	95-98	(120, 121)
İEP	25,8-77	100	(106, 113, 114, 115)
Dot-ELISA	94-100	90,5-98,7	(111, 122, 123)
Casoni deri testi	63,6-71,4	47-84	(113, 119)

Bu testlerle saptanan şüpheli sonuçlar, immunoblotting, IgG alt grup ELISA ve arc-5 presipitasyon yöntemleri gibi sekonder testler olarak bilinen, daha spesifik yöntemlerle doğrulanmalıdır (10, 62).

Testlerin sensitivite oranlarının artırılması amacıyla, en az iki farklı testin birlikte kullanılması önerilmektedir. Günümüzde birçok laboratuvarlarda rutin olarak, sensitivite ve spesifite oranları yüksek olan ELISA, İFA testi ve immunoblotting gibi en az iki test birlikte kullanılmaktadır (21, 62).

KE tanısında, serumda antijen arama esasına dayanan immunolojik tanı yöntemlerine nazaran, spesifik serum antikorlarını saptayan testler tercih edilmektedir. Ancak IgG ELISA gibi sensitivite oranları yüksek testler bile kullanılsa, hastaların belli bir kısmında, kistin organ lokalizasyonu ve biyolojik yapısı nedeniyle antikor yanıtı saptanamamaktadır. Ayrıca, beyin ve göz yerleşimli kistler ile kalsifiye kistler de düşük düzeyde antikor oluşturmakta hatta bu tip kistlerde hiç antikor yanıtı saptanamamaktadır. Küçük çocuklarda ve bazı özel popülasyonlarda da antikor yanıtı düşük olabilmektedir. Diğer helment enfeksiyonları olan hastalarda ise yanlış pozitif antikor yanıtı oluşabilmektedir (10, 69, 124).

Serum antikorları, cerrahi tedavi sonrası bile yıllarca yüksek seyredebileceği için, aktif ya da yeni hastalığın tanısında serumda antijen saptanmasının daha uygun bir yöntem olarak görülmesine karşın (69), hastaların ancak %33-85'inde serumda

solübl *E. granulosus* antijenleri gösterilebilmiştir (155). Bir diğer çalışmada ise, kesin KE tanısı almış hasta serumlarında ELISA ile antijen saptanmasının, yüksek spesifite (%90) ancak düşük sensitiviteye (%43) sahip olduğu bildirilmiştir (125). Bu nedenle, KE'nin immunolojik tanısında hala, serumda antikor tayini esastır (62).

Serolojik testlerde kullanılan *E. granulosus* antijenleri, protoskoleks, metasestod, erişkin parazit, kist sıvısı, kist membranı gibi değişik evredeki parazitten elde edilmektedir (126, 127, 128). Ancak KE'de tanı amacıyla uygulanan testlerde en çok kullanılan antijen, kist sıvısıdır. Kist sıvısı, farklı antijenlerin karışımı olup, glikoproteini lipoprotein, karbonhidrat ve tuzlar içermektedir. Kist sıvısının albumin ve immunoglobulin gibi içerikleri konaktan gelmekte, geri kalan kısmı ise metasestodun metabolik aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Farklı ara konaklardan elde edilen kist sıvılarının farklı antijenik özellikte olabileceği, insan ve koyun kist sıvılarının sığır ve domuz kistlerine, karaciğer kistlerinin akciğer kistlerine oranla daha antijenik olduğu bildirilmektedir (124). Pratik uygulamada kist sıvısı kullanılarak uygulanan ELISA %75-95 arasında yüksek bir sensitiviteye sahip iken, spesifitesi oldukça düşüktür (6, 21, 128).

Kist sıvısının yanı sıra, immunolojik tanı yöntemlerinde en çok kullanılmakta olan antijenler, kist sıvısında bulunan AgB ve Ag5'dir. Bu antijenlerin yapısı çok iyi tanımlanmıştır. Ag5, germinal tabaka, protoskoleks tegümenti ve çıkartı sisteminde bulunan, ısıya dayanıksız, AgB'ye göre daha immunojenik ve daha spesifik olan bir lipoproteindir. AgB ise, kist sıvısında 10 kat daha yoğun bulunan, ısıya dayanıklı, lipoprotein yapıda bir antijendir (128). Kist sıvısı ve her iki antijen, immunolojik tanı yöntemlerinde en çok kullanılmakta olan antijenlerdir. Ancak, tanısal açıdan değerli olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, bu iki antijenin eldesi, birçok laboratuvar tarafından genellikle mümkün olmamaktadır. Ayrıca sensitivite ve spesifitelerindeki eksiklikler ile ilgili zorlukların bulunması ve kullanımlarında standardizasyon sorunları yaşanmasından dolayı, daha çok bilimsel araştırmalarda olmak üzere sınırlı kullanımları bulunmaktadır (1, 10).

2.2.6 TEDAVİ

Günümüzde uygulanan KE tedavi seçenekleri aşağıda sıralanmaktadır (10).

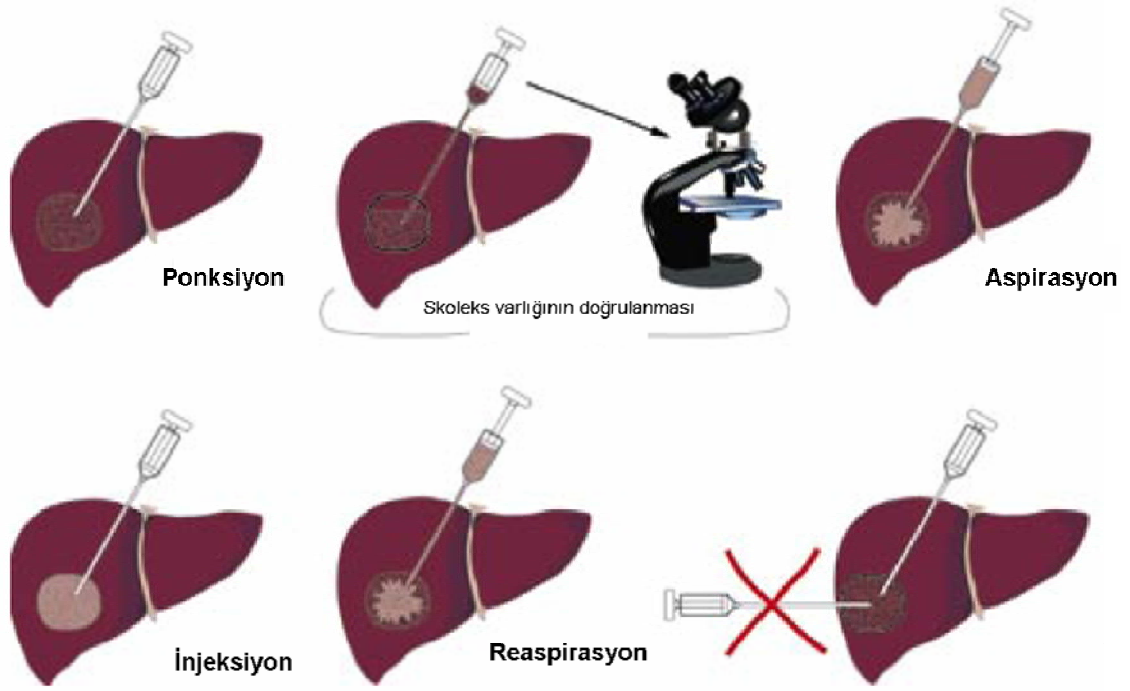
- Cerrahi tedavi
- Girişimsel tedavi
- İlaç tedavisi

Bunlar arasında en çok uygulanan yaklaşım cerrahi tedavidir. Yakın zamana kadar, cerrahi tek seçenek olarak uygulanmakta iken, günümüzde, benzimidazollerle ilaç tedavisi ve PAIR, cerrahi tedaviye destek olarak hatta cerrahinin yerine direkt tercih edilen tedaviler olmuştur (102).

Cerrahi tedavi: Bu tedavi metodu ile, *E. granulosus* kistleri vücuttan tamamen uzaklaştırılabilmekte, tam iyileşme mümkün olmaktadır (6, 10, 26). Cerrahi tedavi seçenekleri arasında, perikistektomi, parsiyel hepatektomi veya lobektomi, açık kistektomi, açık kistektomi+omentoplasti ve enfekte kistler için palyatif tüp drenajı gibi yöntemler yer almaktadır (1, 129). Eğer kist riskli bir lokalizasyonda değilse ve hastalık çok ilerlememişse, hastaların %90 kadarında cerrahi tedavi başarıyla uygulanmaktadır. Birden çok organda çok sayıda kisti olan, yüksek cerrahi risk taşıyan hastalarda ve yetersiz cerrahi olanakların bulunduğu durumlarda, PAIR ve ilaç tedavisi alternatif olmaktadır.

PAIR: İlk kez 1980'lerde literatüre girmiş olan bu tedavi yöntemi (Şekil 12), minimal düzeyde girişimsel bir yöntemdir ve dört basamaktan oluşmaktadır (1, 6, 10). Bunlar;

- Puncture (Ponksiyon)** : Ultrason eşliğinde kist kavitesine perkütan girişim,
Aspiration (Aspirasyon) : Kist sıvısının aspire edilmesi,
Injection (İnjeksiyon) : Kist kavitesine protoskolosidal solüsyon enjeksiyonu,
Reaspiration (Reaspirasyon): Kist kavitesindeki tüm sıvının geri aspirasyonudur.



Şekil 12: Şematize edilmiş PAIR işlemi (156)

İlaç Tedavisi: KE'de ilaç tedavisi, tek başına olabildiği gibi, diğer tedavi yöntemleri ile kombine olarak da uygulanabilmektedir. Cerrahi girişim ve PAIR (öncesi/sonrası) ile kombine ilaç kullanımının, kist içi basıncını azaltarak operasyonu kolaylaştırabildiği, rekürrens ya da sekonder KE riskini azaltabildiği ileri sürülmektedir (10).

Bununla birlikte tek başına ilaç tedavisi, inoperabl primer karaciğer KE kistleri olan hastalarda, iki veya daha fazla organda multipl KE kistleri olan hastalarda ve çok yaşlı hastalarda kullanılmaktadır. Rüptür riski taşıyan büyük kistler (yüzeyel yerleşimli, enfekte olan kistler) ile kalsifiye veya inaktif kistlerde ise ilaç tedavisi kontrendikedir (10).

İlaç tedavisinde, 1970'lerde geliştirilen benzimidazollerden albendazol ve mebendazol kullanılmaktadır. Albendazol, 10-15 mg/kg/gün dozunda, genellikle erişkinlerde 800 mg/gün olacak şekilde ikiye bölünerek verilmektedir. Dört hafta kullanılıp, iki hafta ara verilmesi şeklinde 3-6 siklus olarak ya da 3-6 ay boyunca kullanımı önerilmektedir. Mebendazol ise, 40-50 mg/kg/gün dozunda, genellikle 4-5 g/gün olacak şekilde üçe bölünerek en az 3-6 ay süreyle verilmektedir (130). Cerrahi

girişim veya PAIR ile kombine ilaç kullanımında ise, bu girişimlerden dört gün önce tedaviye başlanması ve cerrahi işlem sonrası en az bir ay (albendazol için) veya üç ay (mebendazol için) süreyle kullanılması önerilmektedir (10).

2.2.7 KORUNMA ve KONTROL

KE'den korunmada ve hastalığı kontrol altına alabilmede esas amaç, parazitin yaşam döngüsünü kırmak olmalıdır. Hastalığın kontrol altına alınmasına yönelik uygulamalar arasında en etkili iki strateji:

- Birinci basamak sağlık hizmetlerinin ve veterinerlik tabanlı halk sağlığı hizmetlerinin ortaklaşa çalışmaları ile amaca yönelik, özellikle de toplum katılımlı, uzun süreli halk sağlığı eğitim hizmetlerinin uygulanması,
- Parazitin yayılmasını önlemeye yönelik, yasalar çerçevesinde oluşturulmuş programların hayata geçirilmesidir.

Devlet tarafından örgütlendirilmiş, iyi planlanmış, sistemli, bilgili ve sürekli bir kontrol programı sayesinde başarılı sonuçlar alınabilmektedir (131). Hastalığın endemik olduğu bazı ülkelerde bölgesel olarak uygulanan bu tip kontrol çalışmaları ile parazitin eradike edildiği veya enfeksiyon oranlarında giderek azalma olduğu bildirilmiştir (1, 6, 38). Yeni Zelanda, İzlanda ve Tazmanyaya parazitin eradike edildiği ülkelerdir.

KE'in kontrol altına alınmasında ve bu hastalıktan korunmada uygulanan önlemler (1, 6, 38):

- Tüm toplumun özellikle de kırsal kesimde yaşayan, hayvancılık ya da çiftçilikle uğraşan kişilerin hastalık hakkında eğitilmesi ve bilinçlendirilmesi,
- Halkın hastalık konusunda sözlü ve yazılı basın tarafından da sürekli veya belirli aralarla etkin olarak bilgilendirilmesinin sağlanması,
- Özellikle Müslüman ülkelerde, kurban bayramlarından önce eğitim programlarına daha çok ağırlık verilmesi,
- Kesimi yapılmış hayvanlara ait enfekte doku ya da organların etrafa rastgele atılmayıp, bunların yakma fırınlarında yakılarak yok edilmesi,
- Hayvan kesimlerinin veteriner kontrolünde yapılması, kesimlerde hijyenin iyileştirilmesi ve kesilen etlerin sağlık kontrolünün yapılması,

- Köpek ya da diğer kesin konak dışkıları ile temasın önlenmesi,
- Köpeklerin, meyve ve sebze bahçelerinde dışkılamasını önlemek amacıyla buralara sokulmaması (Bahçelerin çitle çevrilmesi),
- Köpek sevme sonrası el yıkama gibi kişisel hijyenik kurallara uyumun sağlanması,
- Başiboş sokak köpeklerinin kayıtlanması, kontrolü ve sanitasyon şartlarının sağlanması,
- Sahipli köpeklerin kayıtlanması ve kontrolü,
- Köpek popülasyonunun azaltılması,
- Dışkı incelemeleriyle enfekte köpeklerin saptanması ve bunların tedavi edilmesi (Altı-sekiz haftada bir olmak üzere arecoline hydrobromide ve praziquantel ile tedavi),
- Aşı geliştirme çalışmalarına ağırlık verilmesi (EG95 adı verilen rekombinan aşının, koyunlarda koruyuculuğu kanıtlanmıştır).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1 ÇALIŞMA GRUPLARI ve KONTROL GRUBU

Bu tezde, iki çalışma grubunda 29 hasta ve kontrol grubunda ise 13 sağlıklı birey olmak üzere toplam 42 kişi çalışmaya dahil edildi (Tablo 5).

Tablo 5: Çalışma grupları ve kontrol grubu özellikleri

Grup A (İyileşmiş hastalar)

İki ile 11 yıl önce KE tanısı nedeniyle cerrahi girişim yapılan ve çalışma için kan örneğinin alındığı zamana dek nüks (reenfeksiyon=rölaps) görülmeyen hastalar (n=10)

Grup B (Primer ya da sekonder progresif hastalığı olanlar)

Kesin KE tanısı almış, primer ya da sekonder kistik lezyonları olan ve/veya cerrahi endikasyonu bulunan hastalar (n=19).

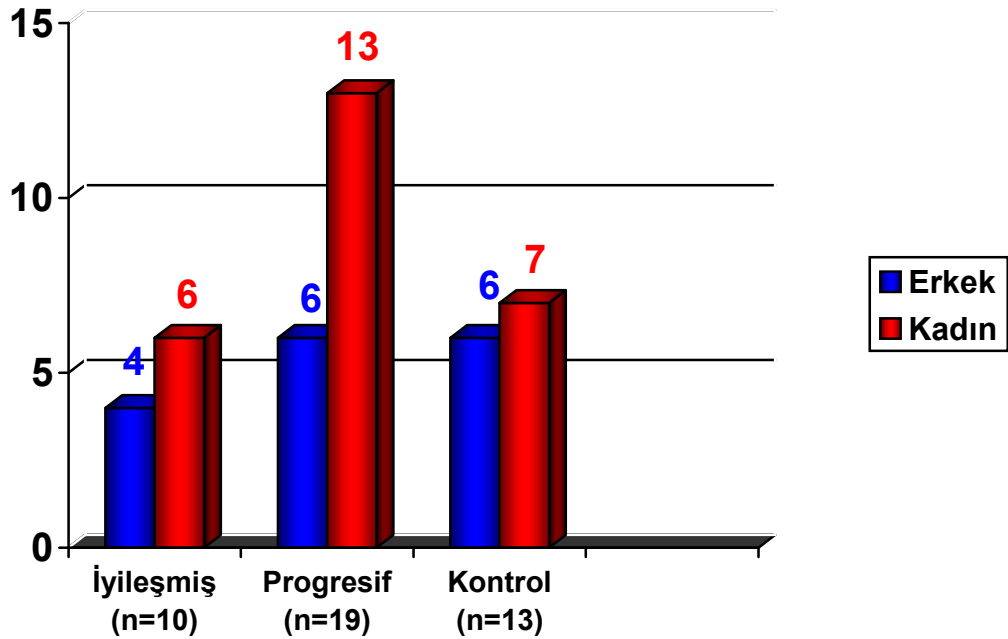
Ondokuz hastanın beşinde sadece karaciğerde, dokuzunda sadece akciğerde, üçünde karaciğer ve akciğerde, birisinde karaciğer ve dalakta, birisinde ise karaciğer, akciğer ve dalakta kistler saptandı. On üç hasta akciğerdeki kistleri, üç hasta ise karaciğerdeki kistleri nedeniyle yapılan cerrahi operasyondan bir/iki gün önce kanları alınarak çalışmaya dahil edildi.

Grup C (Kontrol grubu)

DEÜ Hastanesi Kan Merkezi'ne gelen, KE serolojisi negatif bulunan, akciğerlerinde, karaciğer ve diğer iç organlarında radyolojik tetkiklerle kist saptanmamış, rutin biyokimyasal tetkikleri normal sınırlarda olan sağlıklı bireyler, (n=13)

Çalışma gruplarını (Grup A ve B), DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı ile Parazitoloji Bilim Dalı'nda ve Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Cerrahisi Kliniği'ne başvuran 14-63 yaş arasındaki, her iki cinsiyetten 29 KE hastası oluşturdu. Hastalardaki kistlerin, karaciğer ve/veya akciğer lokalizasyonlu olması esas alındı. Görüntüleme yöntemleri (US, MRG, AC radyografisi veya kombine yöntemler), serolojik yöntem (IgG ELISA), cerrahi sonrası patolojik inceleme yöntemi veya bunların bir arada kullanılması ile progresif gruptaki hastalara KE tanısı konulurken; aynı yöntemler kullanılarak, iyileşmiş gruptakilerde ise nüks bulunmadığı saptandı. Çalışmaya kontrol grubu olarak ise, DEÜ Hastanesi Kan Merkezi'ne gelen, KE dahil herhangi bir hastalığı olmayan 13 sağlıklı birey dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen 42 bireyin 16'sı (%38) erkek ve 26'sı (%62) kadındı (Şekil 13).



Şekil 13: Çalışma kapsamına alınan erkek ve kadınların gruplara göre dağılımı

Çalışma grupları ve kontrol grubunu oluşturan hastaların/bireylerin %81 (34)'inin (iyileşmiş grupta: 7/10, progresif grupta 15/19, kontrol grubunda 12/13) 31-50 yaş grubunda olduğu saptandı. İyileşmiş gruptaki hastaların yaş ortalaması $37,8 \pm 2,66$

(26-48), progresif gruptaki hastaların yaş ortalaması $44,9 \pm 3,46$ (14-63), kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması ise $39,9 \pm 1,83$ (29-50) idi.

Tüm hastalardan/bireylerden antikor tayini için 8 ml düz kan; sitokin, kemokin ve sitokin reseptör tayinleri için 8 ml heparinize venöz kan alındı.

3.2 *E. granulosus* ANTİJENİNİN HAZIRLANMASI

IgG ELISA ve *in vitro* T lenfosit proliferasyon yönteminde kullanılan *E. granulosus* antijeni, İzmir Pınar Et Entegre Tesisleri'nden alınan hidatik kistli koyun karaciğerinden elde edildi. Fertil olduğu saptanan bir kist seçilerek, steril şartlarda kist sıvısı toplandı. Sıvı protoskolekslerin ve diğer partiküllerin çökmesi için 30 dakika bekletildikten sonra, 30 dakika süresince 1000g'de santrifüjlendi. Antijenin protein konsantrasyonu, Bradford yöntemiyle 3 mg/ml olarak saptandı. Üst sıvı alınarak, kullanılıncaya dek -80°C 'de saklandı.

3.3 IgG ELISA TESTİ

Hasta serumlarında IgG antikor tayini in house ELISA testi ile yapıldı (132).

3.3.1 KULLANILAN SOLÜSYON VE KİMYASAL MALZEMELER

Fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu (PBS):

NaH ₂ PO ₄	Fluka, 71496)	0.44 gr
K ₂ HPO ₄	(Fluka, 60355)	2.40 gr
NaCl	(Riedel-de Haen, 13423)	17.00 gr
Distile su		2000 ml'ye tamamlandı.
Tüm maddeler tamamen karıştırıldıktan sonra pH 7.4'e ayarlandı.		

Bloklama solüsyonu:

%1 salin azid		1800 ml
Stok BBS		200 ml
Tween 20 (T20)	(Merck, 8.22184.0500)	1 ml
Sığır serum albumini	(Sigma-Aldrich, A7284)	10 ml (Filtre edilerek)
Tüm maddeler tamamen karıştırıldı.		

% 1 salin azid	NaCl	(Riedel-de Haen, 13423)	10.0 g/L
	NaN ₃ (Sodyum azide)	(Fluka, 71290)	0.1 g/L

Stok BBS	H ₃ BO ₃ (Borik asit)	(Merck,1.00165.0500)	22.0 g/L
	NaOH	(Riedel-de Haen, 06203)	2.0 g/L
	NaCl	(Riedel-de Haen, 13423)	2.9 g/L
	Distile su		1000 ml
(Hepsi filtre edilmiş distile su içinde)			

Yıkama solüsyonu (PBS-T20):

1000 ml PBS içine 0.5 ml T20 ilave edilerek hazırlandı.

Dietanolamin tampon solüsyonu (DEAB):

Dietanolamin	(Merck, 8.03116.1000)	9.70 ml
NaN ₃	(Fluka, 71290)	0.02 g
MgCl ₂ -6H ₂ O	(Merck, 1.05832.1000)	0.01 g
450 ml distile içine 50 ml DEAB eklenerek pH 9.8'e ayarlandıktan sonra, solüsyona 50 mg MgCl ₂ -6H ₂ O ilave edildi ve kullanıma kadar +4°C'de saklandı.		

Konjuge :

- ❖ Anti-insan IgG Alkalen Fosfataz Konjüğe (Sigma, A3187)

PBS içinde 1/10000 olacak şekilde hazırlanarak kullanıldı.

Substrat :

- ❖ Dört nitrofenil fosfat di (2-amino-2-etil-1,3-propandiol) (PNPP) tuzu (Sigma, N6260)

10 ml DEAB içine 0.01 gr eklenerek kullanıldı.

3.3.2 ELISA PLAKLARININ ANTİJENLE KAPLANMASI

E.granulosus ile enfekte koyun karaciğerinden elde edilen kist sıvısı, 1µgr/100µl olacak şekilde PBS ile sulandırılıp, düz tabanlı ELISA plaklarının (Greiner, 655061) her bir çukuruna 100 µl olarak eklendi ve üzerleri parafilmle kapatılarak bir gece +4°C'de bekletildi. Ertesi gün plaklar boşaltıldı ve kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı.

3.3.3 IgG ELISA TESTİNİN UYGULANMASI

1. Antijen kaplı plaklar, tüm çukurlara 250 µl bloklama solüsyonu koyularak, bir saat oda ısısında bloklama işlemine tabi tutuldu.
2. Çalışma grubu hasta serum örnekleri, kontrol grubu serum örnekleri ve testte negatif, ara pozitif ve pozitif kontrol olarak kullanılan serum örnekleri, 1/80, 1/160, 1/320 ve 1/640 seri sulandırmaları elde edilecek şekilde PBS ile sulandırıldı.
3. Bloklama yapılan plaklar dökülüp, serum sulandırmaları çift çukur olacak şekilde plaklara 100'er µl aktarıldıktan sonra, plaklar üzerleri kapatılarak, 37°C etüvde 1 saat inkübe edildi.
4. Etüvden çıkarılan plaklardaki serum sulandırmaları dökülerek, her çukur üç kez beşer dakika olmak üzere 250 µl PBS-T20 ile yıkandı. Dördüncü yıkama ise, aynı şekilde PBS ile yapıldı.
5. PBS ile 1/10.000 oranında sulandırılan keçi anti-insan IgG konjuge, her bir çukura 100'er µl aktarıldıktan sonra plaklar, 37°C etüvde bir saat inkübe edildi.
6. Etüvden çıkarılan plaklardaki konjuge dökülerek, her çukur üç kez beşer dakika olmak üzere 250 µl PBS-T20 ile yıkandı. Dördüncü yıkama ise, aynı şekilde PBS ile yapıldı.
7. Yıkama sonunda, bir plak için hazırlanan 10 ml substrat solüsyonundan (10 ml DEAB + 0.01 gr PNPP) her çukura 100 µl aktararak, plaklar 30 dakika oda ısısında bekletildi. Oluşan renk değişikliği, ELISA okuma cihazıyla 405 nm'de değerlendirildi.

8. Testin Değerlendirilmesi:

A = (negatif kontrollerin optik dansite (OD) ortalaması – kör çukurların OD ortalaması) x 2

B = (negatif kontrollerin OD ortalaması – kör çukurların OD ortalaması) x 3

Negatif sonuç ; Hasta serum OD < A ise

Ara pozitif sonuç ; A < Hasta serum OD < B ise

Pozitif sonuç ; Hasta serum OD > B ise

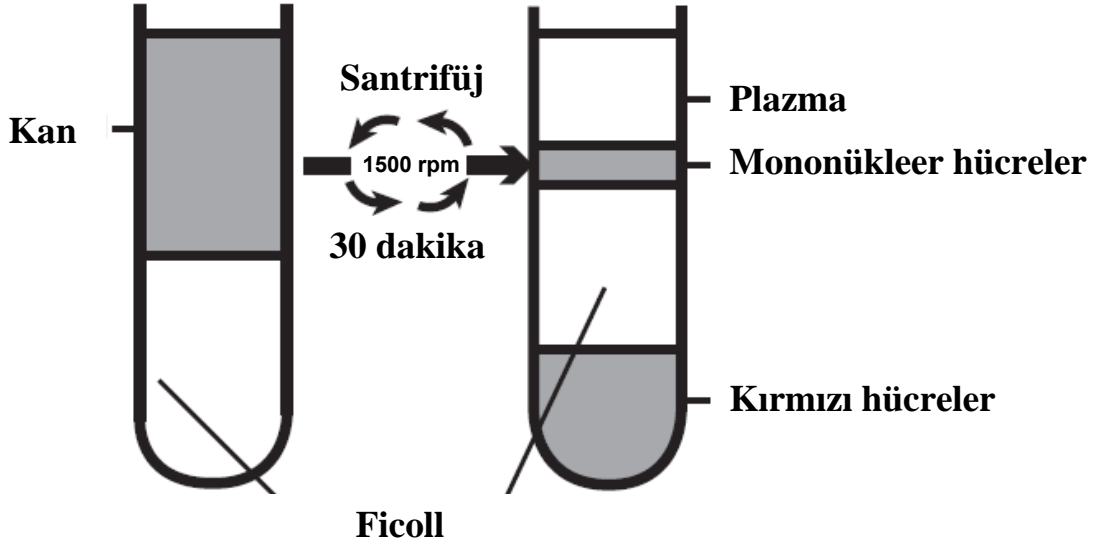
Hasta serumlarının her bir sulandırımı (1/80, 1/160, 1/320 ve 1/640) yukarıdaki gibi değerlendirilerek, pozitiflik saptanan son sulandırım kaydedildi.

9. 1/640 pozitif çıkan serum örneklerinin ileri sulandırmaları (1/1280'den başlayarak) yapıldı ve pozitiflik saptanan son sulandırım kaydedildi.

3.4 PERİFERİK KAN MONONÜKLEER HÜCRELERİNİN ELDESİ

Hastaların venöz kanlarından, kan alındıktan sonraki 4-6 saat içinde steril şartlarda PKMH'leri elde edildi (133).

1. Her hastadan EDTA'lı tüpe alınan 8 ml venöz kan, 8 ml RPMI-1640 (Biochrom AG, FG1385) ilavesi ile bire bir oranında sulandırıldı.
2. Onbeş ml'lik santrifüj tüpüne, 1/3 Ficoll + 2/3 sulandırılmış venöz kan olacak şekilde önce Ficoll (Biocoll) (Biochrom AG, L6113) koyuldu. Üzerine, sulandırılmış venöz kan, tüp kenarından çok yavaş olarak sızdırılarak, tabaka oluşturacak şekilde eklendi. Tüp içeriği, iki tabakanın karışmamasına dikkat edilerek 1500 devirde oda ısısında (22°C) 30 dk santrifüj edildi.
3. Santrifüj sonrası, tüplerde en dipten sırasıyla, kırmızı hücre (eritrosit-trombosit) çökeltisi, Ficoll, Buffy Coat ve plazma tabakasının olduğu gözlemlendikten sonra, PKMH'lerinin bulunduğu bulutsu bir tabaka halindeki Buffy Coat tabakası dikkatli bir şekilde steril Pasteur pipeti ile alındı (Şekil 14).
4. PMKH'leri, üç kez steril RPMI-1640 (Biochrom AG, FG1385) ile 1500 devirde oda ısısında (22°C) 15 dakika yıkandı.
5. Yıkamalardan sonra, metilen mavisi kullanılarak Thoma lamında canlı PKMH sayısı hesaplandı.



Şekil 14: Periferik kandan PKMH'lerinin elde edilmesi

3.5 ÖZGÜN *IN VITRO* T LENFOSİT PROLİFERASYONU

3.5.1 HÜCRE PROLİFERASYON BESİYERİ

RPMI-1640 (Biochrom AG, FG1385)	: 90 ml
Fetal sığır serumu (FSS) (Biochrom AG, S0113)	: 10 ml
Penisilin-Streptomisin (Biochrome AG, A2213)	: 100 µl

3.5.2 ÖZGÜN *in vitro* T LENFOSİT PROLİFERASYONUNUN UYGULANMASI

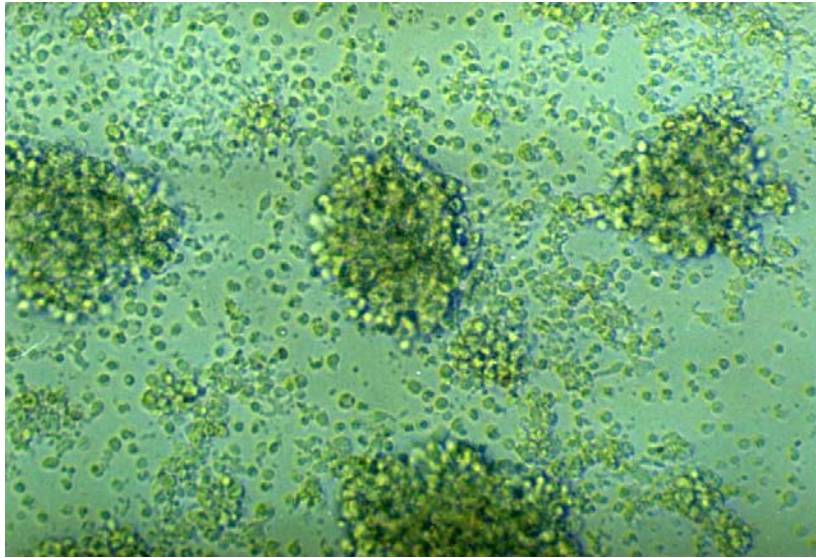
Hasta ve kontrol grubu bireylerinin venöz kanlarından elde edilen PKMH'leri, hücre kültür ortamında çoğaltıldı (13).

1. Tüm hastalardan ve kontrol grubu bireylerinden elde edilen PKMH'leri, *E. granulosus* antijeninin üç farklı konsantrasyonu ile (5 µg/ml, 10 µg/ml, 25µg/ml) inkübe edildi.

2. Her hasta ve kontrol grubu bireyi için, antijen içermeyen proliferasyon besiyeri kullanılarak negatif kontrol ve Phytohemagglutinin (PHA) (12 μ g/ml) (Biochrom AG, M5030) kullanılarak pozitif kontrol elde edildi. Hücrelerin antijensiz ortamda sadece besiyerine verdikleri proliferasyon yanıtı, özgün olmayan bir hücre yanıtıdır (Şekil 15). T lenfositlerinin bir mitojen olan PHA'e verdikleri proliferasyon yanıtı ise, hücrelerin canlı ve sağlıklı olduklarını gösteren bir hücre yanıtıdır (Şekil 16).



Şekil 15: Hücrelerin antijensiz ortamda besiyerine verdikleri proliferasyon yanıtı (negatif kontrol)



Şekil 16: Hücrelerin PHA'e verdikleri proliferasyon yanıtı (pozitif kontrol)

3. Doksan altı çukurlu, düz tabanlı, steril hücre kültür plağının (Greiner Bio-One, 655180) her bir çukuruna 100 µl proliferasyon besiyerinde 2×10^5 hücre olacak şekilde PKMH'leri ve üzerine 100'er µl proliferasyon besiyeri, PHA veya 5 µg/ml, 10 µg/ml ve 25µg/ml antijen steril koşullarda eklendi. Her üç antijen konsantrasyonu, pozitif kontrol veya negatif kontrol için 10 çukur kullanıldı (Hücre kültür plağındaki çalışma sistemi şematik olarak Tablo 6'da gösterildi).
4. Hücre kültür plağındaki işlemler tamamlandıktan sonra plaklar, hücreler 37°C'de %5 CO₂ ile, %95 nemli ortamda 48 saat proliferere olabilmesi için inkübasyona bırakıldı.
5. Her gün düzenli takipleri yapılan hücrelerin, proliferasyon yanıtı kontrol edildi.
6. İnkübasyon süresi sonunda, her çukurdan 130 µl üst sıvı toplandı ve sitokin ELISA'ları çalışılana kadar -80°C'de saklandı.

Tablo 6: Hücre kültür plağındaki çalışma sistemi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Antijensiz proliferasyon besiyeri (negatif kontrol)+ PKMH										
C		PHA (pozitif kontrol)+ PKMH										
D		5 µg/ml antijen içeren proliferasyon besiyeri + PKMH										
E		10 µg/ml antijen içeren proliferasyon besiyeri + PKMH										
F		25 µg/ml antijen içeren proliferasyon besiyeri + PKMH										
G												
H												

3.6 SİTOKİN ve SİTOKİN RESEPTÖRÜ ELISA TESTLERİ

IFN γ , IL4, IL12(p40) yalnızca *in vitro* T lenfosit proliferasyon kültürlerinden elde edilen üst sıvılarda, IL1 β sitokin ve sIL2R α sitokin reseptörü ölçümü hem üst sıvılarda hem de serumlarda, IL8 sitokin ise yalnızca serumlarda ticari sitokin ELISA setleri (BD Biosciences, San Diego, ABD) kullanılarak yapıldı. Sadece IL13

sitokininin üst sınırlarda ölçümünde ticari sitokin ELISA kiti (Biosource, Kaliforniya, ABD) kullanıldı.

Kullanılan sitokin ve sitokin reseptörü ELISA setleri, sitokin ELISA kiti içeriği ve kullanılan solüsyonlar tablo 7’de özetlendi.

Tablo 7: Sitokin ELISA ve sitokin reseptörü ELISA setleri/kiti, kullanılan solüsyonlar

Set/Kit	Örnek	Firma	Set/Kit İçerikleri	Kullanılan solüsyonlar
IFNγ ELISA Seti	Üst sıvı	(BD Biosciences, San Diego, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-insan IFNγ monoklonal antikoları (mAb) • Biotinle işaretli anti-insan IFNγ mAb’ları (Saptayıcı antikolar) • Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüge (SAv-HRP) (Enzim miyarı) • Liyofilize IFNγ rekombinan sitokini (standart) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagent Set B kapsamındaki solüsyonlar • Seri sulandırılmaları yapılmış standart solüsyonları
IL4 ELISA Seti	Üst sıvı	(BD Biosciences, San Diego, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-insan IL4 mAb’ları • Biotinle işaretli anti-insan IL4 mAb’ları (Saptayıcı antikolar) • Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüge (SAv-HRP) (Enzim miyarı) • Liyofilize IL4 rekombinan sitokini (standart) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagent Set B kapsamındaki solüsyonlar • Seri sulandırılmaları yapılmış standart solüsyonları
IL12(p40) ELISA Seti	Üst sıvı	(BD Biosciences, San Diego, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-insan IL12 mAb’ları • Biotinle işaretli anti-insan IL12 mAb’ları (Saptayıcı antikolar) • Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüge (SAv-HRP) (Enzim miyarı) • Liyofilize IL12 rekombinan sitokini (standart) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagent Set B kapsamındaki solüsyonlar • Seri sulandırılmaları yapılmış standart solüsyonları

Set/Kit	Örnek	Firma	Set/Kit İçerikleri	Kullanılan solüsyonlar
IL1β ELISA Seti	Üst sıvı ve Serum	(BD Biosciences, San Diego, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-insan IL1β mAb'ları • Biotinle işaretli anti-insan IL1β mAb'ları (Saptayıcı antikolar) • Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüge (SAv-HRP) (Enzim miyarı) • Liyofilize IL1β rekombinan sitokini (standart) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagent Set B kapsamındaki solüsyonlar • Seri sulandırılmaları yapılmış standart solüsyonları
IL8 ELISA Seti	Serum	(BD Biosciences, San Diego, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-insan IL8 mAb'ları • Biotinle işaretli anti-insan IL8 mAb'ları (Saptayıcı antikolar) • Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüge (SAv-HRP) (Enzim miyarı) • Liyofilize IL8 rekombinan sitokini (standart) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagent Set B kapsamındaki solüsyonlar • Seri sulandırılmaları yapılmış standart solüsyonları
IL2sRα (sCD25) Seti	Üst sıvı ve Serum	(BD Biosciences, San Diego, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-insan sIL2Rα mAb'ları • Biotinle işaretli anti-insan sIL2Rα mAb'ları (Saptayıcı antikolar) • Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüge (SAv-HRP) (Enzim miyarı) • Liyofilize sIL2Rα rekombinan sitokini (standart) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagent Set B kapsamındaki solüsyonlar • Seri sulandırılmaları yapılmış standart solüsyonları
IL13 Kiti	Üst sıvı	(Biosource, Kaliforniya, ABD)	<ul style="list-style-type: none"> • Rekombinan insan IL13 (standart) • Standart sulandırım solüsyonu • Anti-insan IL13 mAb'u (yakalayıcı antikor) kaplı plaklar • Biotinle işaretli anti-insan IL13 poliklonal antikor • Streptavidin-peroksidaz (HRP) (100x) • Streptavidin-peroksidaz (HRP) sulandırım solüsyonu • Stok Yıkama solüsyonu (Wash buffer concentrate-25x) 	Kit kapsamında yer alan solüsyonlar

3.6.1 IFN γ , IL4, IL12(p40), IL1 β , IL8 SİTOKİN ve sIL2R α SİTOKİN RESEPTÖRÜ ELISA TESTLERİ

3.6.1.1 Kullanılan Solüsyonlar ve Standartlar

Reagent Set B

İçerisinde farklı amaçlarla kullanılan beş farklı solüsyon bulunmaktadır. Bunlar;

1. Çalışma solüsyonu:
 - a. ELISA plaklarının bloklanmasında,
 - b. Standartların seri sulandırımının hazırlanmasında,
 - c. Hastalara ve kontrol grubu bireylerine ait özgün *in vitro* proliferasyon kültürlerinden elde edilen üst sıvılar ile serum sulandırımının hazırlanmasında,
 - d. “Anti-insan sitokin/sitokin reseptörü mAb’ları + Streptoavidin-HRP” hazırlanmasında
 - e. Anti-insan sitokin mAb’u (Yakalayıcı antikor), biotinle işaretli anti-insan sitokin mAb’u (Saptayıcı antikor) ve Streptavidin-horseradish peroksidaz konjüğe sulandırımının hazırlanmasında kullanıldı.
2. Plak kaplama solüsyonu:

ELISA plaklarının anti-insan sitokin/sitokin reseptörü mAb’u ile kaplanmasında kullanıldı.
3. Stok yıkama solüsyonu:

Yirmi kat konsantre stok yıkama solüsyonu, kullanımdan önce 1/20 oranında sulandırılarak, yıkama basamaklarında kullanıldı.
4. Substrat miyarı A ve B:

Kullanımdan 15 dakika önce, eşit hacimde karıştırılarak substrat solüsyonu haline getirildi.
5. Reaksiyon durdurucu solüsyon:

Reaksiyonu durdurma basamağında kullanıldı.

Standart Solüsyonları ve Hazırlanması

1. Stok standart solüsyonların hazırlanması
 - a. Standartlar (liyofilize rekombinan IFN γ , IL4, IL12(p40), IL1 β , IL8 ve sIL2R α) oda ısısına getirildi.

- b. Bir mililitre deiyonize su ile stok solüsyon oluşturuldu, karıştırıcı yardımı ile hafifçe karıştırıldı ve 15 dakika bekletildi.
- c. Bu sürenin hemen sonunda stok solüsyonlar, 50'şer µl olarak polipropilen ependorflara bölündü.
- d. Kullanıma kadar -80°C'de saklandı.

2. Standart solüsyonların seri sulandırımalarının hazırlanması

IFN γ : Stok standart solüsyonundan (100 ng/ml), çalışma solüsyonu kullanılarak 300pg/ml'bir standart solüsyon hazırlandı. Diğer standart sulandırımları, 300 pg/ml konsantrasyondan başlayarak, 2.3 pg/ml konsantrasyona kadar çalışma solüsyonu ile iki kat seyreltilerek hazırlandı.

IL4: Stok standart solüsyonundan (118 ng/ml), çalışma solüsyonu kullanılarak 500 pg/ml'lik bir standart solüsyon hazırlandı. Diğer standart sulandırımları, 500 pg/ml konsantrasyondan başlayarak, 3.9 pg/ml konsantrasyona kadar çalışma solüsyonu ile iki kat seyreltilerek hazırlandı.

IL12(p40): Stok standart solüsyonundan (135 ng/ml), çalışma solüsyonu kullanılarak 2000 pg/ml'lik bir standart solüsyon hazırlandı. Diğer standart sulandırımları 2000 pg/ml konsantrasyondan başlayarak, 7.8 pg/ml konsantrasyona kadar çalışma solüsyonu ile iki kat seyreltilerek hazırlandı.

IL1 β : Stok standart solüsyonundan (35 ng/ml), çalışma solüsyonu kullanılarak 250 pg/ml'lik bir standart solüsyon hazırlandı. Diğer standart sulandırımları 250 pg/ml konsantrasyondan başlayarak, 1.9 pg/ml konsantrasyona kadar çalışma solüsyonu ile iki kat seyreltilerek hazırlandı.

IL8: Stok standart solüsyonundan (38 ng/ml), çalışma solüsyonu kullanılarak 200 pg/ml'lik bir standart solüsyon hazırlandı. Diğer standart sulandırımları 200 pg/ml konsantrasyondan başlayarak, 3.1 pg/ml konsantrasyona kadar çalışma solüsyonu ile iki kat seyreltilerek hazırlandı.

sIL2R α : Stok standart solüsyonundan (45 ng/ml), çalışma solüsyonu kullanılarak 500 pg/ml'lik bir standart solüsyon hazırlandı. Diğer standart sulandırımları 500 pg/ml konsantrasyondan başlayarak, 3.9 pg/ml konsantrasyona kadar çalışma solüsyonu ile iki kat seyreltilerek hazırlandı.

3.6.1.2 Testlerin Uygulanışı

3.6.1.2.1 IFN γ , IL4, IL12(p40), IL8 Sitokin ve sIL2R α Sitokin Reseptörü ELISA Testlerinin Uygulanışı

1. ELISA plakları (Greiner Bio-one, 655061) kaplama solüsyonu kullanılarak, 1/250 oranında sulandırılmış olan anti-insan sitokin/sitokin reseptörü (IFN γ , IL4, IL12(p40), IL8, sIL2R α) mAb'u (yakalayıcı Ab) ile 100 μ l/çukur olacak şekilde kaplandı ve üzerleri kapatılarak, bir gece +4°C'de inkübe edildi.
2. Ertesi gün boşaltılan plaklar, 300 μ l/çukur olacak şekilde üç kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı. Son yıkamadan sonra plaklar ters çevrilerek, emici bir kağıt üzerinde fazla solüsyonu uzaklaştırmak üzere kurutuldu.
3. Plaklar, çalışma solüsyonu kullanılarak, 200 μ l/çukur olacak şekilde bir saat, oda ısısında bloklama işlemine tabii tutuldu.
4. Bloklama işlemi sonunda boşaltılan plaklar, 300 μ l/çukur olacak şekilde üç kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı.
5. Hasta ve kontrol gruplarının özgün *in vitro* proliferasyon kültürlerinden elde edilen üst sıvılar ve serum örnekleri, çalışma solüsyonu ile 1/2 oranında seyreltildi ve 100 μ l/çukur olacak şekilde dağıtıldı. Seri sulandırmaları çalışma solüsyonu içinde belirtildiği şekilde yapılmış olan rekombinan insan IFN γ , IL4, IL12(p40), IL8 ve sIL2R α , 100 μ l/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, üzerleri kapatılarak, iki saat oda ısısında inkübe edildi.
6. İnkübasyon sonunda plaklar, 300 μ l/çukur olacak şekilde beş kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı.
7. Biotinle işaretli anti-insan IFN γ , IL12(p40), IL8 mAb'u (saptayıcı Ab) çalışma solüsyonu kullanılarak, 1/250 oranında sulandırıldı. Biotinle işaretli anti-insan IL4 ve sIL2R α mAb'u (saptayıcı Ab) ise, çalışma solüsyonu kullanılarak, 1/500 oranında sulandırıldı. Bu şekilde hazırlanan solüsyonlarda, kullanımdan 15 dakika önce, 1/250 oranında SAV-HRP sulandırılarak iyice karıştırıldı. Bu son karışım (working detector), 100 μ l/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, üzerleri kapatılarak, bir saat oda ısısında, inkübe edildi.

8. İnkübasyon sonunda plaklar, yıkama solüsyonunda 30 saniye ile bir dakika süresince bırakılarak, yedi kez yıkandı.
9. Son yıkamadan 15 dakika önce, eşit hacimde substrat miyarı A ve B karıştırılarak hazırlanan substrat solüsyonu, 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, 30 dakika, oda ısısında, karanlık bir ortamda, üzerleri kapatılmadan inkübe edildi.
10. Bu sürenin sonunda, reaksiyon durdurucu solüsyon, 50 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı
11. Plaklardaki reaksiyon, reaksiyon durdurucu solüsyon aktarıldıktan sonra 30 dakika içinde, 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okutulmuş olarak değerlendirildi.
12. WinCurveFit version 1.1 bilgisayar programıyla kullanılarak, standartların optik dansite değerlerinden standart eğrisi oluşturuldu ve örneklerdeki sitokin ve sitokin reseptör değerleri buna göre hesaplandı.

3.6.1.2.2 IL1β Sitokin ELISA Testinin Uygulanışı

1. ELISA plakları (Greiner Bio-one, 655061) kaplama solüsyonu kullanılarak, 1/250 oranında sulandırılmış olan anti-insan IL1β mAb'u (yakalayıcı Ab) ile 100 µl/çukur olacak şekilde kaplandı ve üzerleri kapatılarak, bir gece +4°C'de inkübe edildi.
2. Ertesi gün boşaltılan plaklar, 300 µl/çukur olacak şekilde üç kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı. Son yıkamadan sonra plaklar ters çevrilerek, emici bir kağıt üzerinde fazla solüsyon uzaklaştırılmak üzere kurutuldu.
3. Plaklar, çalışma solüsyonu kullanılarak, 200 µl/çukur olacak şekilde bir saat, oda ısısında bloklama işlemine tabii tutuldu.
4. Bloklama işlemi sonunda boşaltılan plaklar, 300 µl/çukur olacak şekilde üç kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı.
5. Hasta ve kontrol gruplarının özgün *in vitro* proliferasyon kültürlerinden elde edilen üst sıvılar ve serum örnekleri, çalışma solüsyonu ile 1/2 oranında seyreltildi ve 100 µl/çukur olacak şekilde dağıtıldı. Seri sulandırılmaları çalışma solüsyonu içinde belirtildiği şekilde yapılmış olan rekombinan insan IL1β, 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, üzerleri kapatılarak, iki saat oda ısısında inkübe edildi.

6. İnkübasyon sonunda plaklar, 300 µl/çukur olacak şekilde beş kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı.
7. Biotinle işaretli anti-insan IL1 β , mAb'u (saptayıcı Ab) çalışma solüsyonu kullanılarak, 1/250 oranında sulandırıldı ve 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, üzerleri kapatılarak, bir saat oda ısısında inkübe edildi.
8. İnkübasyon sonunda plaklar, 300 µl/çukur olacak şekilde beş kez, yıkama solüsyonu ile yıkandı.
9. Yıkamalardan sonra, SAV-HRP, çalışma solüsyonu kullanılarak, 1/250 oranında sulandırıldı ve 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
10. İnkübasyon sonunda plaklar, yıkama solüsyonunda 30 saniye ile bir dakika süresince bırakılarak, yedi kez yıkandı.
11. Son yıkamadan 15 dakika önce, eşit hacimde substrat miyarı A ve B karıştırılarak hazırlanan substrat solüsyonu, 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, 30 dakika, oda ısısında, karanlık bir ortamda, üzerleri kapatılmadan inkübe edildi.
12. Bu sürenin sonunda, reaksiyon durdurucu solüsyon, 50 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı
13. Plaklardaki reaksiyon, reaksiyon durdurucu solüsyon aktarıldıktan sonra 30 dakika içinde, 450 nm'de ELISA okuyucusunda okutularak değerlendirildi.
14. WinCurveFit version 1.1 bilgisayar programı kullanılarak, standartların optik dansite değerlerinden standart eğrisi oluşturuldu ve örneklerdeki sitokin değerleri buna göre hesaplandı.

3.6.2 IL13 SITOKIN ELISA TESTİ

3.6.2.1 IL13 Sitokin ELISA Testinde Kullanılan Solüsyonlar ve Standartlar

- *IL13 ELISA kiti içeriğinde yer alan solüsyonlar:*
 - a. Anti-insan IL13 mAb'u (yakalayıcı antikor) kaplı plaklar
 - b. Biotinle işaretli anti-insan IL13 poliklonal antikor
 - c. Streptavidin-peroksidaz (HRP) (100x)
 - d. Streptavidin-peroksidaz (HRP) sulandırım solüsyonu

- e. Stok Yıkama solüsyonu (Wash buffer concentrate-25x)
Konsantre stok yıkama solüsyonu, kullanımdan önce 1/25 oranında sulandırılarak, yıkama basamaklarında kullanıldı.
- f. Stabilize kromojen, tetrametilbenzidin (TMB) Substrat solüsyonu
- g. Reaksiyon durdurucu solüsyon (Stop Solution)
Reaksiyonu durdurma basamağında kullanıldı.
- h. Standart sulandırım solüsyonu
-Standartın seri sulandırmalarının hazırlanmasında,
-Hastaların ve kontrol grubu bireylerinin özgün *in vitro* proliferasyon kültürlerinden elde edilen üst sıvı sulandırmalarının hazırlanmasında kullanıldı.

▪ *Standart rekombinan insan IL13 solüsyonunun seri sulandırmalarının hazırlanması*

Standart sulandırım solüsyonu kullanılarak 10.000 pg/ml'lik stok standart solüsyonu oluşturulup, hafifçe karıştırıldıktan sonra 10 dakika bekletildi. Bu şekilde hazırlanmış olan 10000 pg/ml'lik stok standart solüsyonundan, seri sulandırmalarda kullanmak üzere 2000 pg/ml'lik bir standart solüsyon oluşturuldu. Hazırlandıktan sonra bir saat içinde kullanılan 2000 pg/ml'lik standart solüsyon, 31.2 pg/ml konsantrasyona kadar standart sulandırım solüsyonu ile iki kat seyreltildi.

3.6.2.2 IL13 Sitokin ELISA Testinin Uygulanışı

1. Seri sulandırmaları standart sulandırım solüsyonu içinde belirtildiği şekilde yapılmış olan rekombinan insan IL13, 100 µl/çukur olacak şekilde anti-insan IL13 mAb'u (yakalayıcı antikor) ile kaplı ELISA plaklarına aktarıldı. Hasta ve kontrol gruplarının özgün *in vitro* proliferasyon kültürlerinden elde edilen üst sıvılar, standart sulandırım solüsyonu ile 1/2 oranında seyreltildi ve 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara dağıtıldı. Plaklar, üzerleri kapatılarak, iki saat oda ısısında inkübe edildi.
2. İnkübasyon sonunda plaklar, 400 µl/çukur olacak şekilde, yıkama solüsyonunda 30 saniye ile bir dakika süresince bırakılarak, dört kez yıkandı.

3. Yıkamalardan sonra, biotinle işaretli anti-insan IL13 poliklonal antikorunu, 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, üzerleri kapatılarak, 1 saat oda ısısında inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonunda plaklar, 400 µl/çukur olacak şekilde, yıkama solüsyonunda 30 saniye ile bir dakika süresince bırakılarak, dört kez yıkandı.
5. Yıkamalardan sonra, Streptavidin-peroksidaz (HRP) (100x), Streptavidin-peroksidaz (HRP) sulandırım solüsyonunda 1/100 oranında sulandırılarak 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
6. İnkübasyon sonunda plaklar, 400 µl/çukur olacak şekilde, yıkama solüsyonunda 30 saniye ile bir dakika süresince bırakılarak, dört kez yıkandı.
7. Son yıkamadan sonra, *stabilize kromojen*, TMB substrat solüsyonu, 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı. Plaklar, 30 dakika, oda ısısında, karanlık bir ortamda, üzerleri kapatılmadan inkübe edildi.
8. Bu sürenin sonunda, reaksiyon durdurucu solüsyon, 100 µl/çukur olacak şekilde plaklara aktarıldı
9. Plaklardaki reaksiyon, 450 dalga boyunda ELISA okuyucusunda okutulmuş olarak değerlendirildi.
10. WinCurveFit version 1.1 bilgisayar programıyla kullanılarak, standartların optik dansite değerlerinden standart eğri oluşturdu ve örneklerdeki sitokin değerleri hesaplandı.

3.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen sitokin, sitokin reseptörü konsantrasyonları, gruplar arasında farklılık ve ilişki açısından değerlendirildi. İstatistik analizi SPSS 13.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan verilere tek yönlü varyans analizi, normal dağılıma uymayan verilere ise Kruskal-Wallis testi uygulandı. Post hoc analizde varyansı benzer olan gruplarda Bonferroni, varyansı farklı olan gruplarda Tamhane analizi ile farklılığı oluşturan gruplar saptandı. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. Kruskal-Wallis ile anlamlı farklılık saptanan grupların post hoc analizinde Mann-Whitney U testi kullanıldı, p değerleri Bonferroni düzeltilmesi ile $< 0,0167$ anlamlı kabul edildi. Veriler

arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için normal dağılıma uyan verilerde Pearson, uymayan verilerde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Akciğer ve karaciğer kistleri olan progresif grup hastalarının sitokin yanıtlarının karşılaştırılmasında, Mann-Whitney U testi kullanıldı

3.8 KULLANILAN KİM YASAL MADDELER ve MALZEMELER

<i>Human IFN-γ ELISA Set</i>	_____	BD, 555142
<i>Human IL-4 ELISA Set</i>	_____	BD, 555194
<i>Human IL-12(p40) ELISA Set</i>	_____	BD, 555171
<i>Human IL-1β ELISA Set</i>	_____	BD, 557953
<i>Human IL-8 ELISA Set</i>	_____	BD, 555244
<i>Human IL- 2sRα(sCD25) ELISA Set</i>	_____	BD, 555244
<i>Human Interleukin-13 ELISA Kit (96 T.)</i>	_____	Biosource, KHC0131
NaCl	_____	Riedel-de Haen, 13423
NaOH	_____	Riedel-de Haen, 06203
K ₂ HPO ₄	_____	Fluka, 60355
NaH ₂ PO ₄	_____	Fluka, 71496
NaN ₃ (Sodyum azid)	_____	Fluka, 71290
Sığır serum albumini %30	_____	Sigma-Aldrich, A7284
H ₃ BO ₃ (Borik asit)	_____	Merck, 1.00165.0500
Tween-20	_____	Merck, 8.22184.0500
Dietanolamin	_____	Merck, 8.03116.1000
MgCl ₂ 6H ₂ O	_____	Merck, 1.05832.1000
RPMI 1640	_____	Biochrom AG, FG1385
<i>Phytohemagglutinin (PHA) L</i>	_____	Biochrom AG, M5030
Fetal sığır serumu	_____	Biochrom AG, S0113
Biocoll (Ficoll®)	_____	Biochrom AG, L6113
Penisilin-Streptomisin solüsyon	_____	Biochrome AG, A2213
Hücre kültür plakları	_____	Greiner Bio-one, 655180
ELISA plakları	_____	Greiner Bio-one, 655061
Penisilin-Streptomisin solüsyon	_____	Biochrome AG, A2213
Keçi anti-insan IgG (alkalen fosfataz ile işaretli)		Sigma, A-3187
Dört-nitrofenil fosfat di (2-amino-2-etil-1,3-propandiol) tuzu		Sigma, N6260-5G

4. BULGULAR

4.1 IgG ELISA SONUÇLARI

Kontrol grubu bireylerinin (13 kişi) ve iyileşmiş gruptaki hastaların (10 kişi) tamamı, IgG ELISA yönünden seronegatif olarak saptandı. Progresif gruptaki hastaların 14'ünün (%74) seropozitif, beşinin (%26) ise seronegatif olduğu tespit edildi (Tablo 8). Seronegatif hastalarda KE tanısı cerrahi olarak doğrulandı.

Tablo 8: Tüm KE hastalarının ve kontrol grubu bireylerinin mevcut kistlerinin özellikleri ve spesifik IgG ELISA sonuçları

	Hasta no	Mevcut kist lokalizasyonu	Kist sayısı	Geçirilmiş cerrahi kist operasyonu	IgG ELISA sonucu
İYİLEŞMİŞ GRUP	1	-	0	1 kez (KC*)	(-)
	2	-	0	1 kez (KC)	(-)
	3	-	0	1 kez (KC)	(-)
	4	-	0	1 kez (KC)	(-)
	5	-	0	1 kez (AC**)	(-)
	6	-	0	1 kez (KC)	(-)
	7	-	0	1 kez (KC)	(-)
	8	-	0	1 kez (KC)	(-)
	9	-	0	1 kez (KC)	(-)
	10	-	0	1 kez (KC)	(-)
	11	KC	1	2 kez (KC)	1/5000
	12	KC/dalak	Multipl	1 kez (beyin)	1/320
	13	KC	Multipl	-	1/640

PROGRESİF GRUP	14	KC	1	-	1/160	
	15	KC	1	-	1/1250	
	16	KC	1	-	(-)	
	17	AC	1	-	(-)	
	18	AC	2	-	1/5000	
	19	AC	1	-	1/1250	
	20	AC	2	-	1/1250	
	21	AC/KC	3	-	1/640	
	22	AC	1	-	1/640	
	23	AC/KC	3	-	1/5000	
	24	AC	1	-	1/1250	
	25	AC	1	-	1/160	
	26	AC	1	-	1/160	
	27	AC	1	-	(-)	
	28	AC/KC/dalak	3	-	(-)	
	29	AC/KC	3	-	(-)	
	KONTROL GRUBU	30	-	0	-	(-)
		31	-	0	-	(-)
		32	-	0	-	(-)
		33	-	0	-	(-)
		34	-	0	-	(-)
		35	-	0	-	(-)
		36	-	0	-	(-)
		37	-	0	-	(-)
		38	-	0	-	(-)
		39	-	0	-	(-)
		40	-	0	-	(-)
		41	-	0	-	(-)
		42	-	0	-	(-)

* : KC, karaciğer, **: AC, akciğer

4.2 SİTOKİN-ELISA SONUÇLARI

Tüm sitokin-ELISA sonuçlarına göre bütün gruplarda, pozitif kontrollere (PHA) ait üst sıvılardaki sitokin yanıtları ile negatif kontrollere (besiyeri) ait üst sıvılardaki sitokin yanıtları arasında ve pozitif kontrollere ait üst sıvılardaki sitokin yanıtları ile farklı konsantrasyonlardaki antijenlere (5 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml) ait üst sıvılardaki sitokin yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p<0,05) (Tablo 9).

Tablo 9: Tüm gruplarda pozitif kontrollere, negatif kontrollere ve antijenlere ait üst sıvılardaki ortalama IFN γ , IL4, IL12(p40), IL1 β , IL2sR α , IL13 düzeyleri

Sitokin	Grup	SİTOKİN DÜZEYLERİ (pg/ml)				
		Pozitif kontrol (PHA)	Negatif kontrol (Besiyeri)	25 µg/ml ag	10 µg/ml ag	5 µg/ml ag
IFN γ	İyileşmiş grup	2699,2	18,9	387,5	240,7	155,4
	Progresif grup	1889,9	9,1	12,9	10,3	9,3
	Kontrol grubu	2021,7	3,5	6,7	3,7	3,8
IL4	İyileşmiş grup	202,7	8,9	19,6	14,3	11,6
	Progresif grup	126,6	7,1	25,4	15,5	12,7
	Kontrol grubu	124,4	2,6	9,1	5,5	3,7
IL12(p40)	İyileşmiş grup	287,0	109,8	150,4	127,7	109,4
	Progresif grup	272,1	72,2	80,1	68,4	64,5
	Kontrol grubu	259,4	49,2	61,4	50,9	43,3
IL1 β	İyileşmiş grup	600,1	49,4	44,3	42,3	37,8
	Progresif grup	441,9	113,7	70,5	83,4	91,1
	Kontrol grubu	268,2	16,2	21,5	20,4	14,1

IL2sRα	İyileşmiş grup	2422,2	33,8	39,6	52,9	79,5
	Progresif grup	2140,6	30,8	33,0	32,3	38,8
	Kontrol grubu	2297,6	11,3	15,7	14,5	17,2
IL13	İyileşmiş grup	514,6	31,7	51,0	39,3	34,8
	Progresif grup	696,1	32,7	73,6	58,8	50,4
	Kontrol grubu	526,6	21,4	31,4	25,2	22,7

Pozitif kontrollere ait sitokin yanıtları ile negatif kontrollere ait sitokin yanıtları arasında görülen bu farklar, PKMH'lerinden oluşturulan hücre proliferasyonunun ve blast hücre formasyonunun gerçekleştiğini, izole edilen PKMH kökenli T lenfositlerinin canlı ve sağlıklı olduklarını göstermektedir.

4.2.1 IFN γ ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI

Her üç gruptaki (iyileşmiş, progresif, kontrol) hastaların/bireylerin PKMH'lerinin üç farklı antijen konsantrasyonu ile inkübasyonu sonrasında elde edilen üst sıvılardaki IFN γ düzeyleri tablo 10'da gösterildi.

Tablo 10: Üst sıvılardaki IFN γ düzeyleri

Sitokin	Grup Ag konsantrasyonu	Min Değ. (pg/ml)	Max Değ. (pg/ml)	Ort Değ. (pg/ml)	Standart sapma
IFNγ	İyileşmiş grup^a				
	25 μ g/ml	7	2162	387,5 ^{*f}	775,518
	10 μ g/ml	6	1347	240,7 ^{φω}	479,567
	5 μ g/ml	4	774	155,4 ^{σψ}	288,062
	Progresif grup^b				
	25 μ g/ml	1	36	12,9 [*]	9,512
	10 μ g/ml	1	44	10,3 ^φ	10,056
	5 μ g/ml	0	40	9,3 ^σ	10,957
	Kontrol grubu^c				
	25 μ g/ml	1	18	6,7 ^f	5,389
10 μ g/ml	0	8	3,7 ^ω	2,600	
5 μ g/ml	0	17	3,8 ^ψ	4,368	

a: (-) kontrol; 18,9 pg/ml (+) kontrol; 2692,2 pg/ml

b: (-) kontrol; 9,1 pg/ml (+) kontrol; 1889,9pg/ml

c: (-) kontrol; 3,5 pg/ml (+) kontrol; 2021,7 pg/ml

* p= 0,006 ^f p= 0,001

φ p= 0,012 ^ω p= 0,001

σ p= 0,007 ^ψ p= 0,001

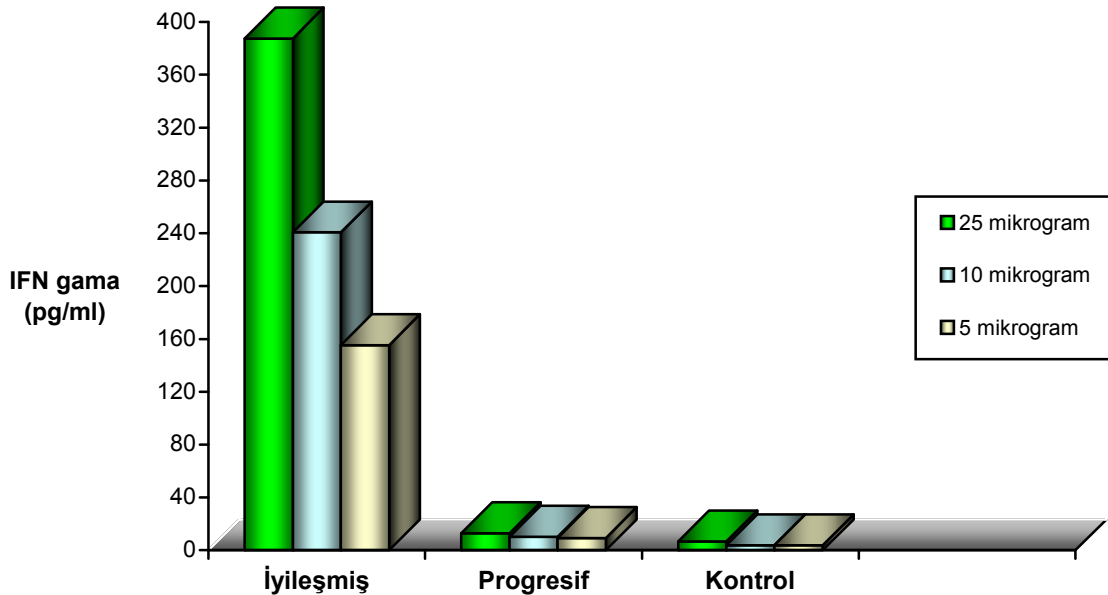
Tabloda görüldüğü gibi, en yüksek düzeydeki IFN γ yanıtının, iyileşmiş hasta grubunda, 25 μ g/ml antijen konsantrasyonunda bulunduğu saptandı. Bu antijen konsantrasyonunda, iyileşmiş gruptaki ortalama IFN γ düzeyinin 387,5 pg/ml, maksimum IFN γ düzeyinin ise 2162 pg/ml gibi oldukça yüksek bir değer olduğu saptandı.

Üst sıvılardaki ortalama IFN γ yanıtının, antijen konsantrasyonlarına göre gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında; her üç antijen konsantrasyonunda da, iyileşmiş

grupta, hem progresif gruba, hem de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek IFN γ yanıtı bulundu ($p < 0,0167$) (Tablo 10).

Her üç antijen konsantrasyonunda da progresif gruptaki IFN γ düzeyi, kontrol grubundaki IFN γ düzeyinden daha yüksek olmasına rağmen, her iki grup arasında IFN γ yanıtı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,0167$) (Tablo 10).

Her üç gruptaki IFN γ yanıtının, 25 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonunda en yüksek düzeyde olduğu tespit edildi (Şekil 17). Grupların, tüm antijen konsantrasyonlarındaki IFN γ yanıtlarının ortalamasına bakıldığında, iyileşmiş gruptaki hastaların diğer gruplara göre belirgin olarak daha fazla IFN γ sentezi gerçekleştirdikleri saptandı (Şekil 17).



Şekil 17: Üst sıvılardaki ortalama IFN γ yanıtlarının gruplara göre dağılımı

4.2.2 IL4 ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI

Her üç gruptaki (iyileşmiş, progresif, kontrol) hastaların/bireylerin PKMH'lerinin üç farklı antijen konsantrasyonuyla inkübasyonu sonrasında elde edilen üst sıvılardaki IL4 düzeyleri tablo 11'de gösterildi. Tabloda görüldüğü gibi, en yüksek düzeydeki IL4 yanıtının, progresif hasta grubunda, 25 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonunda bulunduğu saptandı (Ortalama değer: 25,4 pg/ml).

Tablo 11: Üst sıvılardaki IL4 düzeyleri

Sitokin	Grup Ag konsantrasyonu	Min Değ. (pg/ml)	Max Değ. (pg/ml)	Ort Değ. (pg/ml)	Standart sapma
IL4	İyileşmiş grup^a				
	25 µg/ml	1	57	19,6	15,377
	10 µg/ml	1	53	14,3	14,794
	5 µg/ml	1	42	11,6	12,713
	Progresif grup^b				
	25 µg/ml	6	87	25,4*	21,021
	10 µg/ml	4	51	15,5	13,735
	5 µg/ml	3	47	12,7	12,370
	Kontrol grubu^c				
	25 µg/ml	2	28	9,1*	7,535
10 µg/ml	1	14	5,5	3,974	
5 µg/ml	1	11	3,7	2,801	

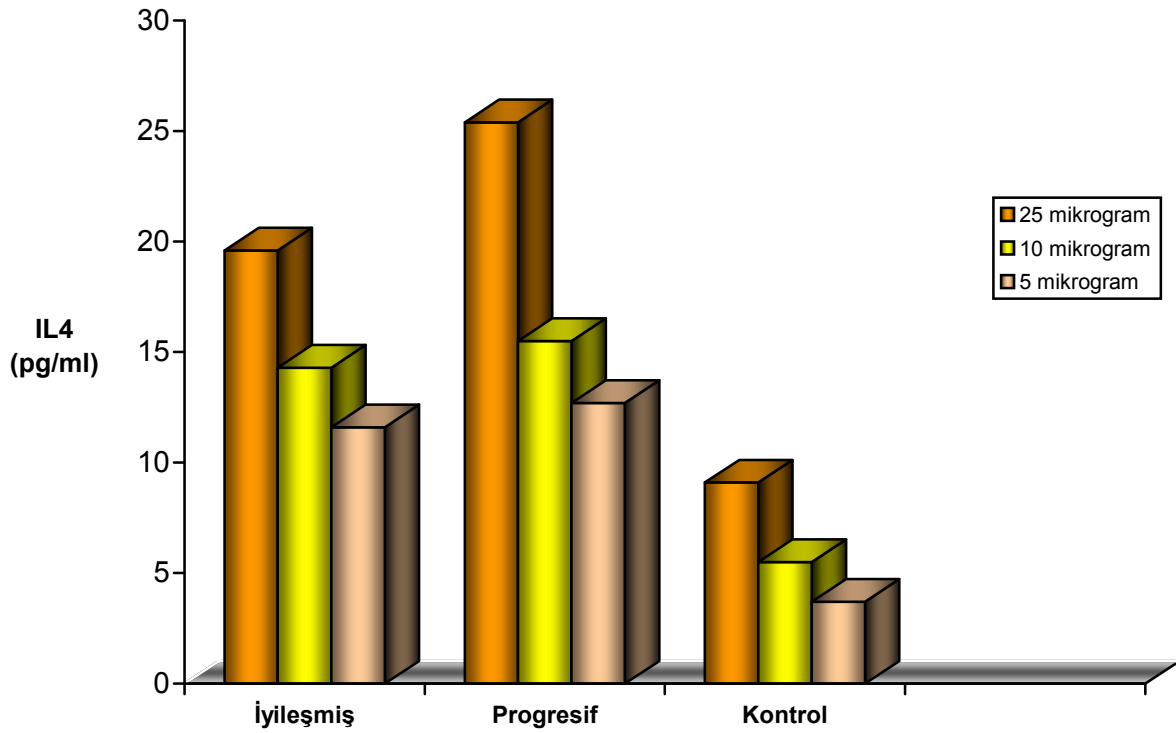
a: (-) kontrol; 8,9 pg/ml (+) kontrol; 202,7 pg/ml
b: (-) kontrol; 7,1 pg/ml (+) kontrol; 126,6 pg/ml
c: (-) kontrol; 2,6 pg/ml (+) kontrol; 124,4 pg/ml

*p= 0,03

Üst sıvılardaki ortalama IL4 yanıtının, antijen konsantrasyonlarına göre gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında; 25 µg/ml antijen konsantrasyonunda, progresif grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde IL4 saptandı (p=0,03). Bu konsantrasyonda, progresif grup ile iyileşmiş gruptaki IL4 düzeyleri karşılaştırıldığında, progresif gruptaki ortalama IL4 düzeyinin iyileşmiş gruptakinden daha yüksek bulunmasına rağmen, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Diğer antijen konsantrasyonlarında, progresif ve iyileşmiş grup IL4 düzeylerinin birbirine benzer olduğu görüldü (Tablo 11).

Gruplar arasında IL4 yanıtı açısından diğer antijen konsantrasyonlarında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

Her üç gruptaki IL4 yanıtının, 25 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonunda en yüksek düzeyde olduğu saptandı (Şekil 18). Grupların, tüm antijen konsantrasyonlarındaki IL4 yanıtlarının ortalamasına bakıldığında, progresif gruptaki hastaların iyileşmiş gruptaki hastalardan ve kontrol grubu bireylerinden; iyileşmiş gruptaki hastaların da kontrol grubu bireylerinden daha yüksek IL4 sentezledikleri tespit edildi (Şekil 18).



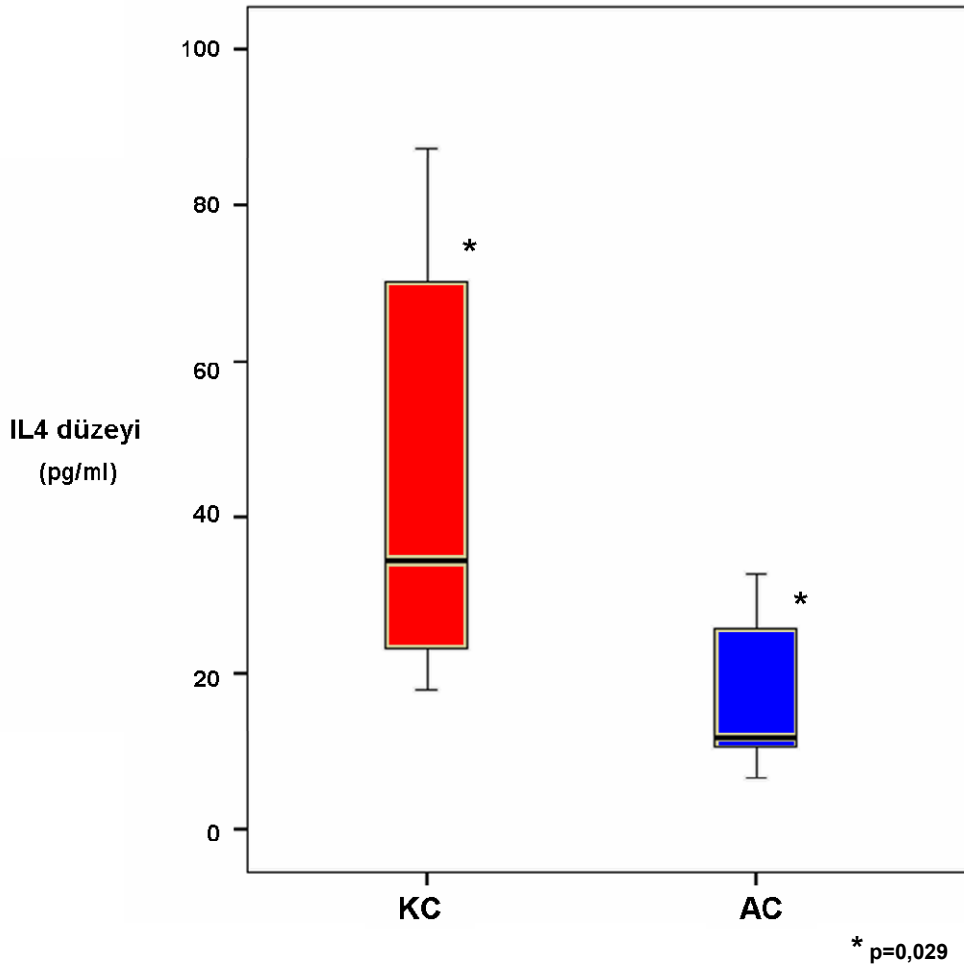
Şekil 18: Üst sınırlardaki ortalama IL4 yanıtlarının gruplara göre dağılımı

Çalışma kapsamına alınan 42 bireyin 25 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ ve 5 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonuyla uyarılmış PKMH'lerinin IL4 yanıtları ile, serumlarındaki antikor yanıtları arasında, olumlu yönde, orta derecede anlamlı ilişki tespit edildi. Korelasyon katsayıları sırasıyla $r=0,383$, $r=0,317$, $r=0,419$, p değerleri ise sırasıyla $p=0,012$, $p=0,041$ ve $p=0,006$ olarak bulundu.

Sitokin yanıtları arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde, progresif hasta grubunda, 25 $\mu\text{g/ml}$ ve 10 $\mu\text{g/ml}$ antijen konsantrasyonlarında, IL4 yanıtları ile IFN γ yanıtları arasında, olumlu yönde anlamlı ilişki bulundu. Bu ilişkilerin 25 $\mu\text{g/ml}$ antijen

konsantrasyonunda güçlü derecede, 10 µg/ml antijen konsantrasyonunda ise orta derecede olduğu saptandı. Korelasyon katsayıları ve p değerleri, 25 µg/ml ve 10 µg/ml antijen konsantrasyonları için sırasıyla $r=0,520$ ve $r=0,487$, $p=0,022$ ve $p=0,034$ olarak bulundu.

Ayrıca, progresif gruptaki hastalar, akciğer veya karaciğerde kist bulunmasına göre iki grupta incelendiğinde; karaciğerde kisti olan hastaların PKMH'lerinin 25 µg/ml *E. granulosus* antijeni ile uyarılması sonucu elde edilen IL4 düzeyinin, akciğerde kisti olan hastaların PKMH'lerinin aynı antijen konsantrasyonunda elde edilen IL4 düzeyinden, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p=0,029$) (Şekil 19). Akciğer ve karaciğer kistleri olan hastalar arasında, araştırılan diğer sitokinler bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$).



Şekil 19: Yirmibeş µg/ml antijen konsantrasyonundaki progresif grup üst sıvı ortalama IL4 yanıtlarının KC ve AC kisti olan hastalara göre dağılımı

4.2.3 IL12(p40) ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI

Her üç gruptaki (iyileşmiş, progresif, kontrol) hastaların/bireylerin PKMH'lerinin üç farklı antijen konsantrasyonu ile inkübasyonu sonrasında elde edilen üst sıvılardaki IL12(p40) düzeyleri tablo 12'de gösterildi. Tabloda görüldüğü gibi, en yüksek düzeydeki IL12(p40) yanıtının, iyileşmiş hasta grubunda, 25 µg/ml antijen konsantrasyonunda bulunduğu saptandı (Ortalama değer: 150,4).

Tablo 12: Üst sıvılardaki IL12(p40) düzeyleri

Sitokin	Grup Ag konsantrasyonu	Min Değ. (pg/ml)	Max Değ. (pg/ml)	Ort Değ. (pg/ml)	Standart sapma
IL12(p40)	İyileşmiş grup^a				
	25 µg/ml	40	530	150,4	151,852
	10 µg/ml	40	402	127,7	112,559
	5 µg/ml	32	252	109,4*	67,209
	Progresif grup^b				
	25 µg/ml	29	216	80,1	54,517
	10 µg/ml	27	191	68,4	42,104
	5 µg/ml	14	187	64,5	46,511
	Kontrol grubu^c				
	25 µg/ml	6	246	61,4	64,468
10 µg/ml	4	138	50,9	43,302	
5 µg/ml	4	169	43,3*	49,672	

a: (-) kontrol; 109,8 pg/ml (+) kontrol; 287,0 pg/ml
b: (-) kontrol; 72,2 pg/ml (+) kontrol; 272,1 pg/ml
c: (-) kontrol; 49,2 pg/ml (+) kontrol; 259,4 pg/ml

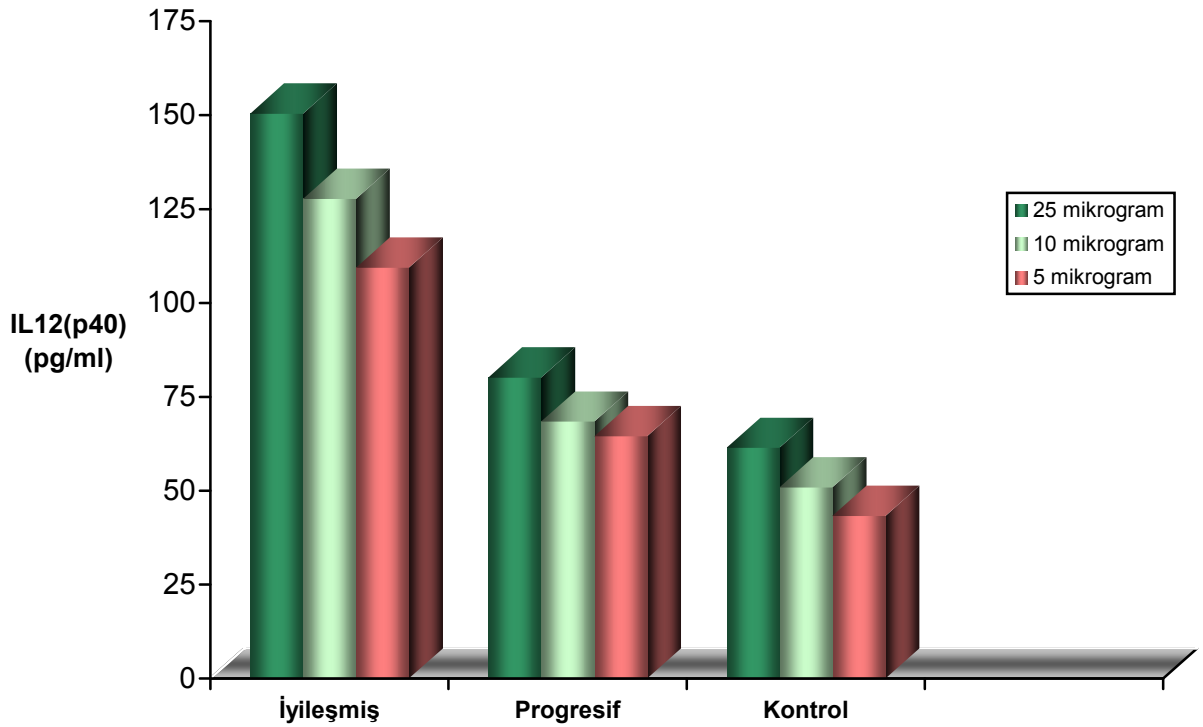
*p= 0,015

Üst sınırlardaki ortalama IL12(p40) yanıtının, antijen konsantrasyonlarına göre gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında; 25 µg/ml antijen konsantrasyonunda, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,058). Ancak aynı antijen konsantrasyonunda en yüksek IL12(p40) düzeylerinin, iyileşmiş grupta olduğu tespit edildi (Tablo 12).

Varyans analizi yapıldığında, 10µg/ml antijen konsantrasyonunda gruplar arasında IL12(p40) yanıtı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmasına rağmen (p=0,023), Post hoc analizde yapılan Tamhane değerlendirmesinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptandı (p>0,05).

Beş µg/ml antijen konsantrasyonunda ise, iyileşmiş grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde IL12(p40) yanıtı bulundu (p=0,015).

Her üç gruptaki IL12(p40) yanıtının, 25 µg/ml antijen konsantrasyonunda en yüksek düzeyde olduğu tespit edildi (Şekil 20). Grupların, tüm antijen konsantrasyonlarındaki IL4 yanıtlarının ortalamasına bakıldığında, en fazla IL12(p40) sentezini iyileşmiş gruptaki hastaların, en az IL12(p40) sentezini ise kontrol grubu bireylerinin gerçekleştirdiği görüldü.



Şekil 20: Üst sınırlardaki ortalama IL12(p40) yanıtlarının gruplara göre dağılımı

Sitokin yanıtları arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde, progresif hasta grubunda, her üç antijen konsantrasyonunda da (25 µg/ml, 10 µg/ml ve 5 µg/ml) IL2p40 yanıtları ile IFN γ yanıtları arasında, olumlu yönde, güçlü derecede anlamlı ilişki saptandı. Korelasyon katsayıları sırasıyla r=0,589, r=0,741, r=0,552, p değerleri ise sırasıyla p=0,007, p<0,001 ve p=0,014 olarak bulundu.

4.2.4 IL1 β ÜST SIVI ELISA Sonuçları

Her üç gruptaki (iyileşmiş, progresif, kontrol) hastaların/bireylerin PKMH'lerinin üç farklı antijen konsantrasyonuyla inkübasyonu sonrasında elde edilen üst sıvılardaki IL1 β düzeyleri tablo 13'de gösterildi. Tabloda görüldüğü gibi, en yüksek düzeydeki IL1 β yanıtının, progresif hasta grubunda olduğu tespit edildi (Ortalama değer: 91,1 pg/ml, maksimum değer: 767 pg/ml).

Tablo 13: Üst sıvılardaki IL1 β düzeyleri

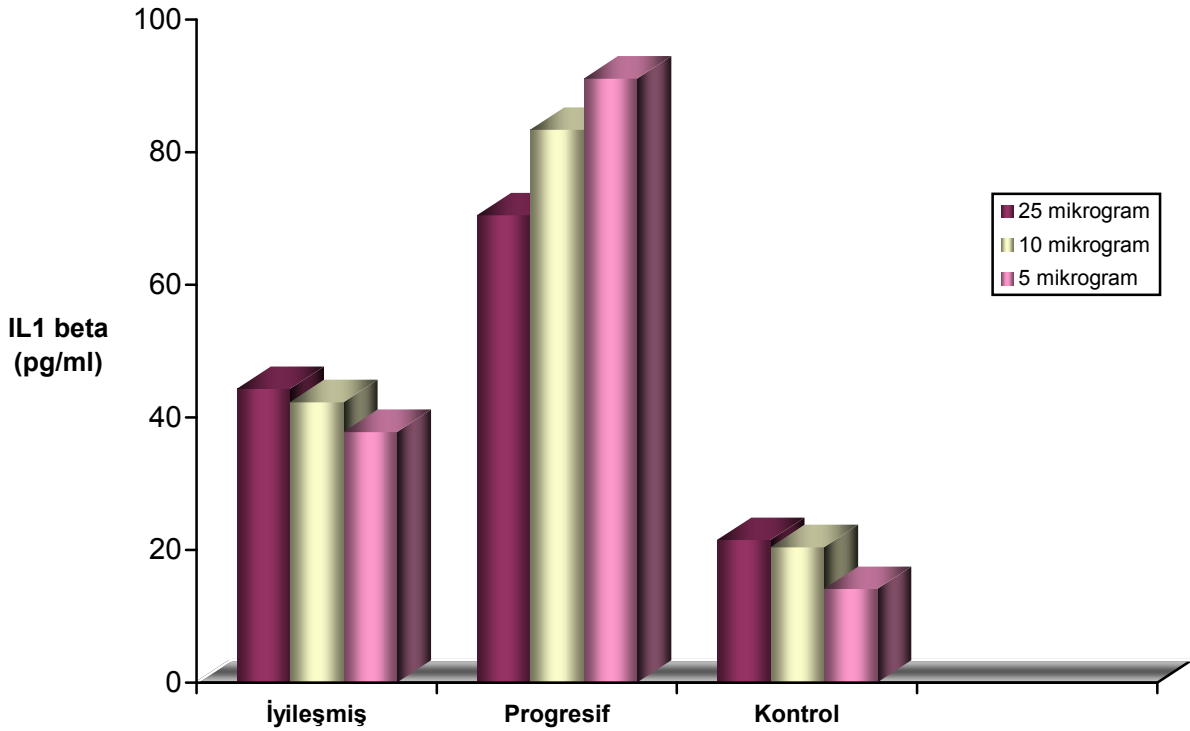
Sitokin	Grup Ag konsantrasyonu	Min Değ. (pg/ml)	Max Değ. (pg/ml)	Ort Değ. (pg/ml)	Standart sapma
IL1 β	İyileşmiş grup^a				
	25 µg/ml	3	134	44,3	47,792
	10 µg/ml	3	136	42,3	48,666
	5 µg/ml	3	120	37,8	38,293
	Progresif grup^b				
	25 µg/ml	2	579	70,5	135,763
	10 µg/ml	3	638	83,4	152,190
	5 µg/ml	2	767	91,1	184,660
	Kontrol grubu^c				
	25 µg/ml	2	48	21,5	15,023
	10 µg/ml	1	88	20,4	23,666
	5 µg/ml	2	48	14,1	13,654

a: (-) kontrol; 49,4 pg/ml (+) kontrol; 600,1 pg/ml

b: (-) kontrol; 113,7 pg/ml (+) kontrol; 441,9 pg/ml

c: (-) kontrol; 16,2 pg/ml (+) kontrol; 268,2 pg/ml

Üst sınılardaki ortalama IL1 β yanıtının, antijen konsantrasyonlarına göre gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında, her üç antijen konsantrasyonunda da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte; grupların tüm antijen konsantrasyonlarındaki IL1 β yanıtlarının ortalamasına bakıldığında, en fazla IL1 β sentezini progresif gruptaki hastaların, en az IL1 β sentezini ise kontrol grubu bireylerinin gerçekleştirdiği saptandı (Şekil 21).



Şekil 21: Üst sınılardaki ortalama IL1 β yanıtlarının gruplara göre dağılımı

Sitokin yanıtları arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde, iyileşmiş hasta grubunda 25 $\mu\text{g}/\text{m}$ ve 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ antijen konsantrasyonlarında, IL1 β yanıtları ile IL13 yanıtları arasında, olumlu yönde, güçlü derecede anlamlı ilişki saptandı. Korelasyon katsayıları ve p değerleri, her iki antijen konsantrasyonu için $r=0,745$, $p=0,0013$ olarak bulundu. Progresif hasta grubunda ise, 10 $\mu\text{g}/\text{m}$ ve 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ antijen konsantrasyonlarında, IL1 β yanıtları ile IL13 yanıtları arasında, olumsuz yönde, orta derecede anlamlı ilişki saptandı. Korelasyon katsayıları ve p değerleri, 10 $\mu\text{g}/\text{m}$ ve 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ için sırasıyla $r=-0,476$ ve $r=-0,493$, $p=0,039$ ve $p=0,031$ olarak bulundu.

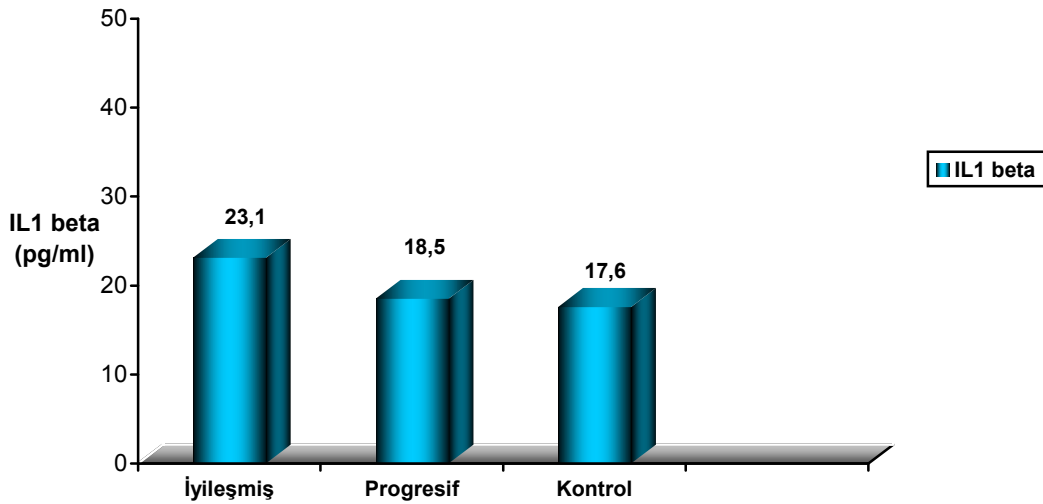
4.2.5 IL1 β SERUM ELISA SONUÇLARI

Her üç grubu oluşturan toplam 42 bireyin serumlarında saptanan IL1 β düzeyleri Tablo 14’de gösterildi.

Tablo 14: Serumlardaki 1 β düzeyleri

Grup	Minimum değer (pg/ml)	Maksimum değer (pg/ml)	Ortalama değer (pg/ml)	Standart sapma
<i>İyileşmiş grup</i> (n=10)	7	98	23,1	26,853
<i>Progresif grup</i> (n=19)	8	53	18,5	10,996
<i>Kontrol grubu</i> (n=13)	12	26	17,6	115,161

Serumlardaki ortalama IL1 β yanıtının gruplara göre dağılımına bakıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$). Bununla birlikte, iyileşmiş gruptaki IL1 β düzeyleri, diğer iki gruptaki IL1 β düzeylerinden daha yüksek olarak saptandı. Ancak, progresif grup ile kontrol grubu IL1 β düzeylerinin, birbirlerine çok yakın değerlerde olduğu bulundu (Şekil 22).



Şekil 22: Serumlardaki ortalama IL1 β yanıtlarının gruplara göre dağılımı

4.2.6 IL2SR α ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI

Her üç gruptaki (iyileşmiş, progresif, kontrol) hastaların/bireylerin PKMH'lerinin üç farklı antijen konsantrasyonuyla inkübasyonu sonrasında elde edilen üst sıvılardaki IL2sR α düzeyleri tablo 15'de gösterildi.

Tablo 15: Üst sıvılardaki IL2sR α düzeyleri

Sitokin	Grup Ag konsantrasyonu	Min Değ. (pg/ml)	Max Değ. (pg/ml)	Ort Değ. (pg/ml)	Standart sapma
IL2sR α	İyileşmiş grup^a				
	25 μ g/ml	13	254	79,5	77,004
	10 μ g/ml	8	119	52,9	43,001
	5 μ g/ml	10	94	39,6	29,674
	Progresif grup^b				
	25 μ g/ml	7	87	38,8*	22,794
	10 μ g/ml	5	104	32,3 ^ψ	24,187
	5 μ g/ml	6	105	33,0 ^f	24,092
	Kontrol grubu^c				
	25 μ g/ml	4	40	17,2*	10,809
	10 μ g/ml	2	32	14,5 ^ψ	10,415
	5 μ g/ml	1	55	15,7 ^f	13,345

a: (-) kontrol; 33,8 pg/ml (+) kontrol; 2422,2 pg/ml

b: (-) kontrol; 30,8 pg/ml (+) kontrol; 2140,6 pg/ml

c: (-) kontrol; 11,3 pg/ml (+) kontrol; 2297,6 pg/ml

* p= 0,004

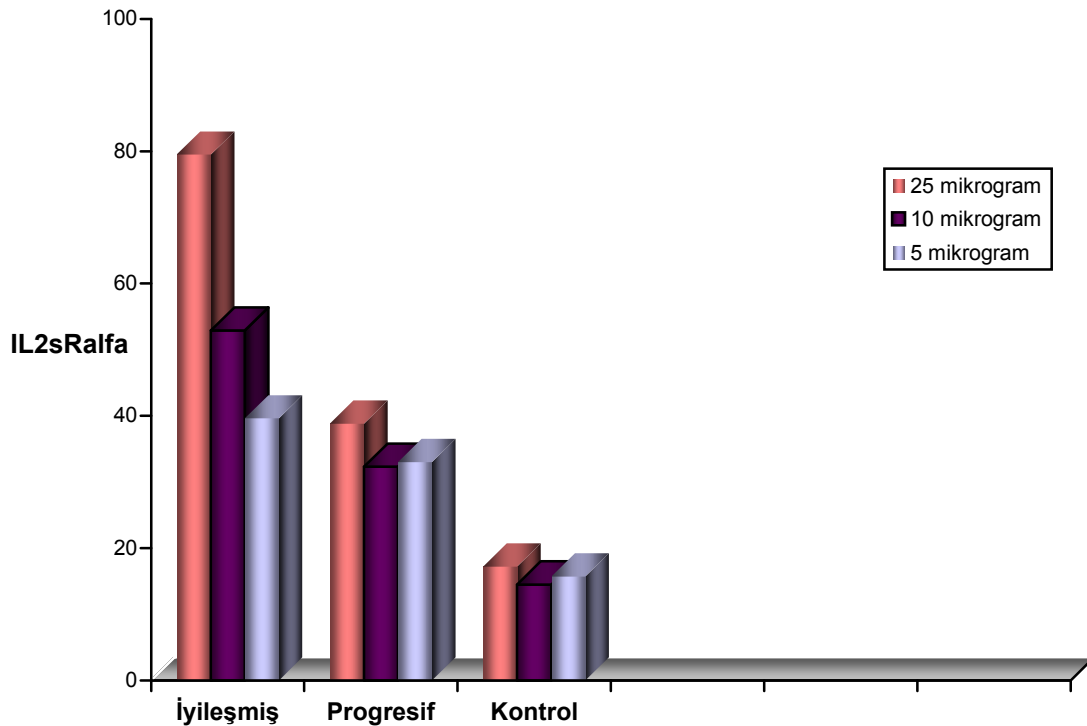
^ψ p= 0,025

^f p= 0,043

Tabloda görüldüğü gibi, en yüksek düzeydeki IL2sR α yanıtının, iyileşmiş hasta grubunda, 25 μ g/ml antijen konsantrasyonunda bulunduğu saptandı. Bu konsantrasyonda, maksimum sitokin düzeyinin 254 pg/ml, minimum sitokin düzeyi 13 pg/ml, ortalama sitokin düzeyi ise 79,5 pg/ml olarak bulundu.

Üst sınıflardaki ortalama IL2sR α yanıtının, antijen konsantrasyonlarına göre gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında, her üç antijen konsantrasyonunda da progresif grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde IL2sR α yanıtı saptandı ($p < 0,05$) (Tablo 15).

Her üç gruptaki IL2sR α yanıtının, 25 μ g/ml antijen konsantrasyonunda en yüksek düzeyde olduğu tespit edildi. Grupların, tüm antijen konsantrasyonlarındaki IL2sR α yanıtlarının ortalamasına bakıldığında ise, en fazla IL2sR α sentezini iyileşmiş gruptaki hastaların, en az IL2sR α sentezini ise kontrol grubu bireylerinin gerçekleştirdiği saptandı (Şekil 23).



Şekil 23: Üst sınıflardaki ortalama IL2sR α yanıtlarının gruplara göre dağılımı

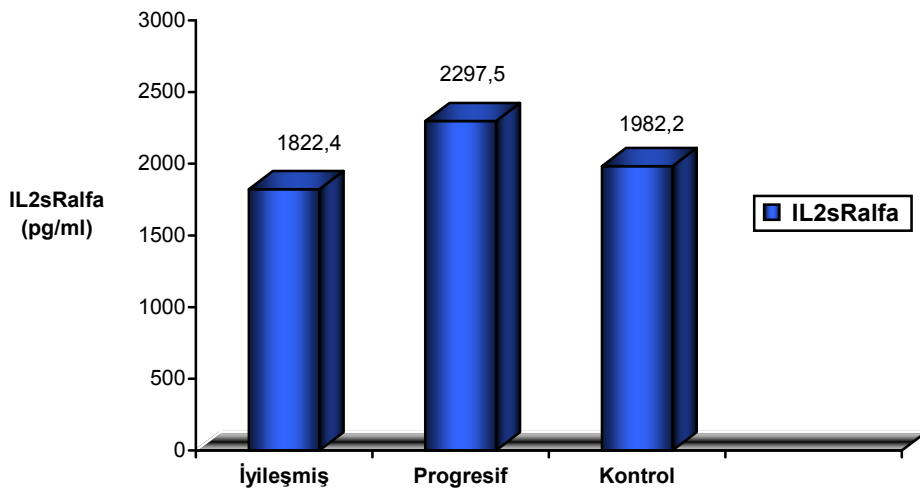
4.2.7 IL2SR α SERUM ELISA SONUÇLARI

Her üç grubu oluşturan toplam 42 bireyin serumlarında saptanan IL2sR α düzeyleri Tablo 16'da gösterildi. Serumlardaki ortalama IL2sR α yanıtının gruplara göre dağılımına bakıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 16: Serumlardaki IL2sR α düzeyleri

Grup	Minimum değer (pg/ml)	Maksimum değer (pg/ml)	Ortalama değer (pg/ml)	Standart sapma
<i>İyileşmiş grup</i> (n=10)	980	2483	1822,4	531,483
<i>Progresif grup</i> (n=19)	1319	3356	2297,5	622,110
<i>Kontrol grubu</i> (n=13)	1134	3330	1982,2	558,736

Her üç gruptaki IL2sR α düzeyleri birbirine yakın değerlerde bulunurken, progresif gruptaki IL2sR α düzeyleri, diğer iki gruptaki IL2sR α düzeylerinden biraz daha yüksek olarak tespit edildi (Şekil 24).



Şekil 24: Serumlardaki ortalama IL2sR α yanıtlarının gruplara göre dağılımı

4.2.8 IL13 ÜST SIVI ELISA SONUÇLARI

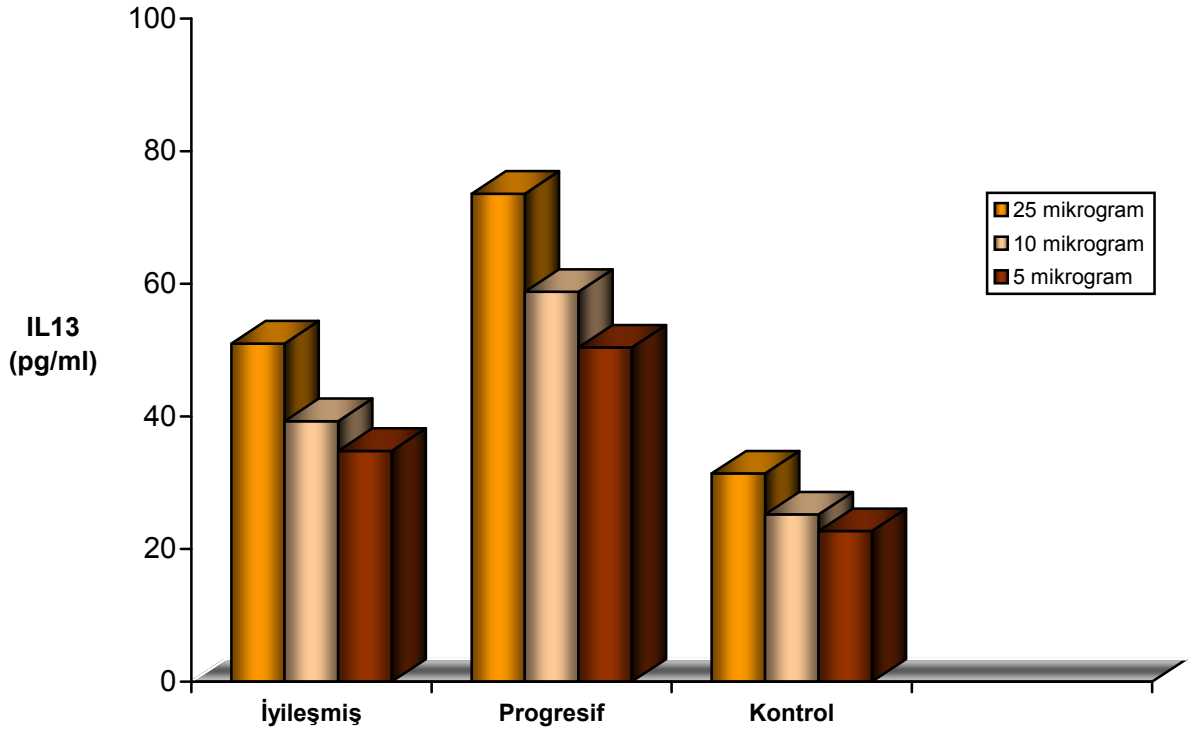
Her üç gruptaki (iyileşmiş, progresif, kontrol) hastaların/bireylerin PKMH'lerinin üç farklı antijen konsantrasyonu ile inkübasyonu sonrasında elde edilen üst sıvılardaki IL13 düzeyleri tablo 17'de gösterildi. Tabloda görüldüğü gibi, en yüksek düzeydeki IL13 yanıtının, progresif hasta grubunda, 25 µg/ml antijen konsantrasyonunda bulunduğu saptandı (Ortalama değer: 355 pg/ml)

Tablo 17: Üst sıvılardaki IL13 düzeyleri

Sitokin	Grup Ag konsantrasyonu	Min D (pg/ml)	Max D (pg/ml)	Ort D (pg/ml)	Standart sapma
IL13	İyileşmiş grup^a				
	25 µg/ml	6	150	51,0	47,637
	10 µg/ml	5	99	39,3	38,368
	5 µg/ml	5	93	34,8	29,005
	Progresif grup^b				
	25 µg/ml	5	355	73,6	83,436
	10 µg/ml	4	236	58,8	55,796
	5 µg/ml	5	185	50,4	45,268
	Kontrol grubu^c				
	25 µg/ml	5	75	31,4	24,182
10 µg/ml	2	63	25,2	23,013	
5 µg/ml	2	65	22,7	21,769	

a: (-) kontrol; 31,7 pg/ml (+) kontrol; 514,6 pg/ml
b: (-) kontrol; 32,7 pg/ml (+) kontrol; 696,1 pg/ml
c: (-) kontrol; 21,4 pg/ml (+) kontrol; 526,6 pg/ml

Üst sınılardaki ortalama IL13 yanıtının, antijen konsantrasyonlarına göre gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında; her üç antijen konsantrasyonunda da, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Ancak; progresif gruptaki hastaların diğer iki gruba göre daha fazla IL13 sentezi gerçekleştirdiği, kontrol grubu bireylerinin ise en az IL13 sentezi gerçekleştirdiği saptandı (Tablo 17). Ayrıca, her üç gruptaki IL13 yanıtının, 25 µg/ml antijen konsantrasyonunda en yüksek düzeyde olduğu saptandı (Şekil 25).



Şekil 25: Üst sınılardaki ortalama IL13 yanıtının gruplara göre dağılımı

4.2.9 IL8 SERUM ELISA SONUÇLARI

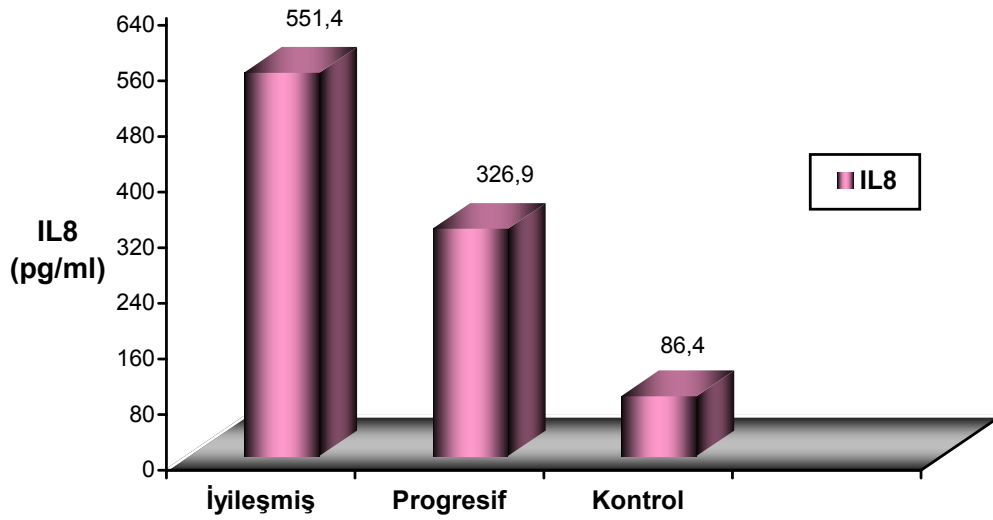
Her üç grubu oluşturan toplam 42 bireyin serumlarında saptanan IL8 düzeyleri Tablo 18’de gösterildi.

Serumlardaki ortalama IL8 yanıtının gruplara göre dağılımına bakıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte, iyileşmiş ve progresif gruptaki serum IL8 düzeyleri, kontrol grubundaki IL8 düzeylerinden belirgin olarak daha yüksek saptandı (Tablo 18).

Tablo 18: Serumlardaki IL8 düzeyleri

Grup	Minimum değer (pg/ml)	Maksimum değer (pg/ml)	IL8 ortalama değer (pg/ml)	Standart sapma
<i>İyileşmiş grup</i> (n=10)	4	1637	551,4	590,630
<i>Progresif grup</i> (n=19)	6	1519	326,9	410,249
<i>Kontrol grubu</i> (n=13)	12	382	86,4	115,161

Serumlarda IL8 yanıtı en fazla iyileşmiş grupta bulunurken, en az ise kontrol grubunda saptandı (Şekil 26).



Şekil 26: Serumlardaki ortalama IL8 yanıtlarının gruplara göre dağılımı

5. TARTIŞMA

KE, tüm dünyada ve Türkiye’de yaygın olarak bulunan *E. granulosus*’un içi sıvı dolu kistlerle karakterize larval formlarının neden olduğu, hem sağlık yönünden hem de ekonomik yönden önemli bir paraziter hastalıktır (6). Kistler, enfeksiyon oluştuktan aylar hatta yıllar sonra bile saptanamayabilmektedir. Kistlerin, oluşumları tamamlandıktan sonra, konak immünitesinden etkilenmemeleri, özellikle immünoloji alanında çalışan bilim adamlarının dikkatini çekmiş; KE’de immünite ve konak-parazit ilişkisi ile ilgili çalışmalara ağırlık vermelerine neden olmuştur. Hastalığın erken ve kronik dönemlerinde meydana gelen konak immün yanıtını tanımlamaya yönelik özellikle son yıllarda önemli bilimsel gelişmeler kaydedilmekle birlikte; henüz net ve kesin sonuçlar elde edilememiştir. Dolayısıyla; bu hastalıkta önemli rolleri olduğu düşünülen sitokinler ile ilgili hala eksiklikler bulunmaktadır.

KE’de, insanlarda hem hümmoral, hem de hüccresel immün yanıt uyarılmaktadır. Hümmoral immüniteden B lenfositler, hüccresel immüniteden ise T lenfositler sorumludur. Tüm bu immün yanıtlar ise, yardımcı T lenfositlerini oluşturan iki farklı T hücre popülasyonunun (T_h1 ve T_h2) sentezlediği çeşitli sitokinler tarafından düzenlenmektedir (12). T_h1 hücreleri, IFN γ , IL2 gibi sitokinleri sentezlemekte ve primer olarak sitolitik T hücreleri ve makrofajları kontrol etmekte iken; T_h2 hücreleri ise IL4, IL5, IL6, IL10 gibi sitokinleri sentezlemekte ve antikor yapımından sorumlu olan B hücrelerinin düzenlenmesine aracılık etmektedir. Genel olarak, bu iki hücre grubunun sentezlediği sitokinlerin birbirleri üzerinde inhibitör etkisi bulunmaktadır (11).

İnsan KE olgularında, antikor düzeylerinde yükselme görülmekle birlikte (13, 18, 69) %30’a varan yüksek oranlarda, antikor yanıtının oluşmadığı bilinmektedir (20, 21, 22, 23). Ayrıca, karaciğer kistlerinin akciğer kistlerine oranla daha antijenik olduğu

bildirilmektedir. Akısü ve ark. (134), ticari ELISA kiti kullanarak, cerrahi olarak doğrulanmış akciğer KE hastalarının %13'ünün IgG antikorları yönünden seronegatif olduğunu bildirmişlerdir. Siracusano ve ark. (135), KE hastalarının IHA ile %16.7'sinde, double diffüzyon yöntemi ile ise %37.5'unda antikor yanıtı saptamamışlardır. Rigano ve ark. (15), kesin KE tanısı almış hastaların %13'ünün IgG ELISA ile seronegatif olduklarını tespit etmişlerdir. Biz de literatür verileri ile uyumlu olarak, çalışmamıza dahil ettiğimiz, progresif grupta yer alan, cerrahi ve/veya patoloji ile KE olduğu doğrulanan hastaların %26'sında (5/19) in-house ELISA yöntemiyle IgG antikor yanıtının bulunmadığını saptadık. KE'de hümorale immün yanıtı gösteren spesifik antikor yanıtının hastalarda her zaman bulunmayışının altında yatan nedenler tam olarak bilinmemektedir. Ancak varolan kistlerin tipi, yerleşim yeri, büyüklüğü, sayısı, morfolojik yapısı, hastaların klinik özellikleri, konak-parazit arasındaki etkileşimde farklılıklar, saptanan seronegatifliğin olası nedenleri olarak sayılabilir.

KE'in klinik ve şiddet olarak çeşitliliği, parazite karşı gelişen immünitenin de çeşitli olabileceğini göstermektedir. Hastalıkta, serum antikorlarının artması ile karakterize olan hümorale immünitenin yanı sıra, T_h1 ve T_h2 sitokinlerinin etkili olduğu hücresele immünite rol almaktadır. Diğer birçok helment enfeksiyonunda olduğu gibi, KE'de de hem T_h1 , hem de T_h2 hücreleri aktive olarak birbirine inhibitör etkili olan sitokinler salgılamakta ve dolayısıyla iki farklı sitokin salgı paterni oluşmaktadır (21, 22, 78).

KE'de meydana gelen hücresele immünitenin değerlendirilmesi amacıyla, hastalardan elde edilen PKMH'lerinin hücre kültür ortamında spesifik antijenle proliferasyona tabi tutulmasından sonra toplanan üst sıvılarda, sitokin yanıtları araştırılmaktadır. Bu çalışmalarda, *in vitro* PKMH proliferasyonu için 1,5-100 µg/ml arasında değişen antijen konsantrasyonlarının kullanıldığı ve 48-120 saat arasında değişen sürelerin uygulandığı görülmektedir (13, 14, 18, 75, 136). Hernanadez-Pomi ve ark. (18), KE tanısı almış 25 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında, hastaların ve kontrol bireylerinin PKMH'lerinin proliferatif yanıtlarını, kist sıvısı antijeninin dört farklı konsantrasyonunu (1,5-6,3-12,5 ve 50 µg/ml) kullanarak değerlendirdiklerinde; 6 ile 50 µg/ml aralığındaki antijen konsantrasyonlarında her iki grup arasında PKMH stimülasyon indeksi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu

bildirilmişlerdir. Stimülasyon indeksinin 50 µg/ml dozunda en yüksek olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, farklı sitokinler için farklı optimal PKMH inkübasyon süreleri belirlemişlerdir (örn.: IFN γ :96 saat, IL2:48 saat). Biz de çalışmamızda, bu veriler ışığında, kist sıvısı antijeninin üç farklı konsantrasyonunu (25 µg/ml, 10 µg/ml ve 5 µg/ml) kullandık. Bunlar arasında en yüksek konsantrasyon olan 25 µg/ml ile uyarılmış PKMH'lerinin, araştırılan hemen tüm sitokinler için en yüksek düzeyde sitokin yanıtı oluşturduğunu tespit ettik. Her sitokinin optimal düzeyde saptanabilmesi için gerekli olan PKMH inkübasyon süresi, sitokinden sitokine değişmektedir. Hatta, çalışmalarda tek bir sitokin için bile farklı inkübasyon sürelerinin (48, 72, 96 veya 120 saat) kullanıldığı görülmüştür. Çalışmamızda araştırdığımız sitokin ve sitokin reseptörü sayısı fazla olduğundan, ayrıca hastalardan sadece 8 ml venöz kan alınabildiğinden, tüm sitokinler için yeterli hücre elde edebilmek için, ön çalışmalar sonrasında 48 saatlik inkübasyon süresinde PKMH'lerinin araştırılan tüm sitokinleri saptanabilir düzeyde sentezlediğini tespit ederek, çalışmalarımızda bu inkübasyon süresini kullandık.

KE hastalarından elde edilen PKMH'lerinin, kist sıvısı ile uyarılması sonucunda, bu hücrelerin IFN γ , IL2 gibi T_h1 sitokinleri ile IL4, IL5, IL6, IL10 gibi T_h2 sitokinlerini bir arada sentezledikleri saptanmıştır (13, 16, 18, 19). Benzer şekilde, KE hastalarının serumlarında da tüm bu sitokin düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (15, 17, 76). Her iki T_h hücrelerine ait sitokinlerin birlikte ve yüksek düzeylerde sentezlenebilmesi, *E. granulosus* enfeksiyonuna karşı oluşan immünitinin hem T_h1 hem de T_h2 hücreleri tarafından düzenlendiğini düşündürmektedir. Her iki hücre grubuna ait sitokinlerin birlikte ve yüksek düzeylerde sentezlenmelerinin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, kist sıvısının karmaşık bir antijenik yapısının olmasından ve her T hücre alt grubu için farklı epitoplara içermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (20, 21, 77, 78).

Rigano ve ark. (13), klinik olarak KE tanısı almış 30 hastanın PKMH'lerinin sitokin yanıtlarını araştırdıkları çalışmalarında, T_h1 hücrelerinde sentezlenen IFN γ konsantrasyonunun hastalarda kontrol grubu bireylerinden daha yüksek olduğunu; ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. T_h2

sitokinlerinden olan IL4 yanıtının ise, kontrol grubundakilerle karşılaştırıldığında, hastalarda, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Aynı araştırmacılar, kesin KE tanısı almış 40 hasta üzerinde yaptıkları bir başka çalışmalarında (136), kist sıvısı ile *in vitro* ortamda uyarılmış hasta PKMH'lerinin hem IFN γ sentezinin hem de IL4 sentezinin, kontrol grubundaki kişilerin PKMH'lerinin sentezlediği düzeylerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. IL4 sentezinin, hastalarda kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek düzeyde olduğunu da belirtmişlerdir.

Hernandez-Pomi ve ark. (18), 25 KE hastası ile yaptıkları sitokin analiz çalışmasında, hastalara ait PKMH'lerinin kontrol grubundakilere göre anlamlı olarak yüksek düzeyde IFN γ , IL2 gibi T_h1 sitokinlerini, IL5, IL10 gibi T_h2 sitokinlerini sentezlediklerini bildirmişlerdir.

Biz de çalışmamızda, hem iyileşmiş hem de progresif KE hastalarının PKMH'lerini *in vitro* ortamda kist sıvısı antijeninin üç farklı konsantrasyonu (25 μ g/ml, 10 μ g/ml ve 5 μ g/ml) ile uyarmak suretiyle, hastalarda mikst bir T_h1 (IFN γ) ve T_h2 (IL4) sitokin profili tespit ettik. Ayrıca, her üç antijen konsantrasyonunda da hem iyileşmiş hem de progresif KE hastalarında, kontrol grubu bireylerinden daha yüksek IFN γ ve IL4 düzeyleri olduğunu saptadık. IFN γ sentezini, iyileşmiş grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak (p=0,001) yüksek; IL4 sentezini ise progresif grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak (p=0,03) yüksek bulduk. Progresif hasta grubunda, IL4 yanıtları ile IFN γ yanıtları arasında, 25 μ g/ml antijen konsantrasyonunda güçlü derecede (r=0,520, p=0,022), 10 μ g/ml antijen konsantrasyonunda ise orta derecede, olumlu yönde anlamlı ilişki (r=0,487, p=0,034) saptadık. Her iki hasta grubunda IFN γ ile IL4 sentezinin bir arada bulunması ve bu sitokin düzeylerinin kontrol grubundakilerden yüksek olması, ayrıca progresif hasta grubunda IL4 yanıtları ile IFN γ yanıtları arasında olumlu yönde bir ilişki tespit edilmiş olması, kist sıvısının farklı antijenler içerdiği ve dolayısıyla hem T_h1 hem de T_h2 hücrelerinin aktivasyonunu sağladığını göstermektedir.

T_h1 ve T_h2 hücreleri, sentezledikleri çeşitli sitokinlerle, hastalığın klinik olarak seyrini, dolayısıyla reenfeksiyonların oluşmasını veya tedavinin başarısını belirlemede başlıca rol oynayan lenfosit alt gruplarıdır (13, 14, 21, 75). Birçok

parazitozda, T_h1 yanıtı enfeksiyona karşı direnci; T_h2 yanıtı ise hastalığa karşı duyarlılığı yansıtmaktadır (137). Özellikle son 15 yılda yapılan çalışmalar, KE'de de T_h1 hücre aktivasyonunun (IFN_γ, IL2 vb. sentezlenmesi) hastalığa direnç ile (koruyucu immünite), T_h2 hücre aktivasyonunun (IL4, IL5, IL10 vb. sentezlenmesi) ise hastalığa duyarlılık ile ilgisi olduğunu ortaya koymaktadır (13, 14, 15, 18, 75, 136, 138).

Rigano ve ark. (14), albendazol tedavisine tam yanıt veren hasta PKMH'lerinin, yanıt vermeyen hastalarinkinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek IFN_γ sentezlediklerini; IL4 ve IL10 sentezlerinin ise daha düşük düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Tedaviye yanıt vermeyen hastalarda ise, IL4 düzeylerinin, tedaviye yanıt veren hastalardan anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar bu verilerin, KE'de T_h1 ve T_h2 hücrelerinin aktivasyonunun bir arada bulunduğunu gösteren daha önceki çalışmalarla ve diğer parazitozlarda bildirilmiş sonuçlarla uyumlu olduğunu; T_h1 hücre aktivasyonunun hastalıktan korunmada, T_h2 hücre aktivasyonunun ise hastalığa yakalanmada rol aldığı sonucuna varmışlardır.

KE hastalarının, iyileşmiş/stabil ve progresif olmak üzere iki ayrı grupta ele alınarak bu grupların sitokin yanıtları bakımından karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada, iyileşmiş/stabil gruptaki hastaların daha yüksek konsantrasyonlarda IFN_γ yanıtı gösterdiği, her iki grup IL4 yanıtlarının ise benzer düzeylerde olduğu ortaya konmuştur (136). İki grup arasında tespit edilmiş olan IFN_γ yanıtındaki bu farkın, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir.

Rigano ve ark. (15), KE hastalarındaki (n=40) serum sitokin düzeyleri ile albendazol tedavisinin sonuçları arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmalarında, bir yıl süreli tedaviye yanıt veren hastaların serum IL4 konsantrasyonlarının, tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığını bulmuşlardır. Bu durumun aksine, tedaviye yanıt vermeyen grupta ise, IL4 düzeylerinin, tedavi sonrasında arttığını; bu artışın tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır. Tedaviden bir yıl sonra, tedaviye yanıt veren grupta IL4 düzeylerinde anlamlı düşüş, tedaviye yanıt vermeyen grupta ise artış olmasından dolayı; KE hastalarının klinik olarak takibinde, serum IL4 tayininin yararlı olacağı sonucuna varmışlardır.

Aynı araştırmacılar, *in vivo* yapmış oldukları bu çalışmalarını genişletmek ve ilaç tedavisinin, KE'de oluşan immün yanıtta değişikliklere neden olduğuna işaret eden ilk verileri doğrulamak amacıyla, *in vitro* olarak bir başka çalışma yapmışlardır. Bu alışmalarında, KE hastalarında üç aylık albendazol tedavisi öncesi ve sonrasında bazı sitokinlerin mRNA ekspresyonunu araştırmışlardır (19). Buna göre, tedaviye yanıt vermeyen hastalardan elde edilen PKMH'lerindeki (kist sıvısı antijeniyle uyarılmış) IFN γ mRNA ekspresyonunda tedavi sonrasında düşüş olduğu, tedaviye tam yanıt verenlerin PKMH'lerinde ise artış olduğu bildirilmiştir. IL4 mRNA ekspresyonunun ise, her iki hasta grubunda da tedavi öncesi zayıf olduğu, tedavi sonrasında artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, tedavi sonrasında IL4 mRNA ekspresyonunda görülen bu artışın, özellikle tedaviye yanıt vermeyen hastaların antijenle uyarılmış PKMH'lerinde en yüksek düzeyde olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, daha önceki çalışmalarında (14, 15), ilaç tedavisine yanıt veren hastalarda T_h1 sitokin konsantrasyonlarının (IFN γ) yüksek; yanıt vermeyen hastalarda ise T_h2 sitokin konsantrasyonlarının (IL4, IL10) yüksek olduğunu bulmuşlardır. Moleküler düzeyde sitokin ekspresyonunun temel alındığı bu *in vitro* alışma (19), literatürde yer alan önceki sonuçları, özellikle de T_h1 hücre aktivasyonu ile ilgili olanları doğrulamakta ve KE hastalarında, benzimidazollerle tedavinin, olasılıkla konak-parazit arasındaki ilişkiyi etkileyerek sitokin mRNA ekspresyonunda değişikliklere yol açtığı görüşünü ileri sürmektedir.

Aktif, inaktif ve transisyonel kistleri olan KE hastalarından kist sıvısı kullanılarak spesifik CD₄⁺ T hücre hatları oluşturulan bir çalışmada, aktif ve transisyonel kistleri olan yedi hastanın T hücre hatlarından elde edilen st sınırlarda büyük miktarlarda IL4, değişen miktarlarda IFN γ bulunduğu; inaktif kisti olan bir hastanın T hücre hattının çok miktarda IFN γ sentezlediği ancak IL4 sentezlemediği tespit edilmiştir (139). Bu veriler aynı zamanda, intrasitoplazmik sitokinlerin değerlendirildiği flow sitometrik yöntemle de doğrulanmıştır. Koruyucu immünitenin geliştiği ve enfeksiyonun başarıyla kontrol altına alındığı, inaktif kisti olan hastadan elde edilen T hücre hattının T_h1 (IFN γ) sitokin paterni göstermesi, bu durumun aksine, aktif ve transisyonel kistleri olan hastalardan sağlanan T hücre hatlarının, T_h2'nin baskın olduğu mikst bir T_h1/T_h2/T_h0 sitokin profiline sahip olması; T_h1 lenfositlerinin

hastalığın inaktif evresine, T_h2 lenfositlerinin ise hastalığın aktif ve transisyonel evresine katkıda bulunduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Biz de, 2-11 yıl önce KE tanısı nedeniyle cerrahi girişim yapılan ve çalışma için kan örneğinin alındığı zamana dek nüks (reenfeksiyon=rölaps) görülmeyen 10 KE hastası (iyileşmiş hasta grubu) ile primer ya da sekonder kistik lezyonları olan ve/veya cerrahi endikasyonu bulunan 19 KE hastasında (progresif hasta grubu), T_h1 ve T_h2 yanıtlarının değerlendirilmesi amacıyla, PKMH'lerindeki IFN γ ve IL4 sitokin düzeylerini ölçtük. *In vitro* ortamda kist sıvısı antijeninin üç farklı konsantrasyonu (25 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml) ile PKMH'leri uyarıldığında, her üç konsantrasyonda da iyileşmiş gruptaki hastaların PKMH'lerinin, progresif gruptaki hastaların PKMH'lerinden daha yüksek düzeyde IFN γ sentezlediklerini saptadık (p<0,0167). IL4 düzeylerinin ise, her üç antijen konsantrasyonunda da, iyileşmiş ve progresif grupta birbirlerine yakın değerlerde olduğunu bulduk. Bu sonuçların, literatürde bildirilmiş olan sonuçlarla (14, 15, 19, 136) uyumlu olduğu görülmektedir. Hem bizim çalışmamızda cerrahi ile iyileşmiş, hem de literatürdeki çalışmalarda ilaç tedavisi ile iyileşmiş hastalarda (tedaviye tam yanıt durumunda), armış bir T_h1 sitokin profilinin (IFN γ , IL2 gibi) bulunması, T_h1 sitokinlerinin KE'de hastalığa direnç ile ilgili olduğu bilgisini desteklemektedir.

Literatürde, özellikle karaciğer kistlerinin organdaki yerleşimine göre sitokin yanıtlarının araştırıldığı çalışmalara rastlanmakla birlikte, farklı organ yerleşimlerinde sitokin yanıtlarını gösteren bir çalışmaya rastlayamadık. Biz, progresif gruptaki hastaları, akciğer veya karaciğerde kist bulunmasına göre iki grupta inceledik. Karaciğerde kisti olan hastaların (n=5) PKMH'lerinin 25 μ g/ml *E. granulosus* antijeni ile uyarılması ile elde edilen IL4 düzeyinin, akciğerde kisti olan hastaların (n=9) PKMH'lerinin aynı antijen konsantrasyonunda uyarılması ile elde edilen IL4 düzeyinden, istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek olduğunu saptadık (p=0,029). Akciğer ve karaciğer kistleri olan hastalar arasında böyle bir fark bulunmasından dolayı, karaciğer tutulumunda, hastalığa duyarlılıkla ilişkili olan T_h2 sitokinlerinin (IL4, IL5, IL10 gibi) daha etkin olduğu söylenebilir. Ayrıca bu durum, onkosferlerin daha çok karaciğerde tutunup kiste dönüşmesi ile de ilişkili olabilir.

Enfeksiyonlara karşı gelişen immünitede sitokinlerin bir diğer rolü de, antikor sentezini düzenlemektir. IL4, IgE ve IgG4 sentezini düzenleyen bir sitokindir (79, 80). Tedaviye yanıt alınamayan hastalarda, IgE ve IgG4 yanıtları tedaviye yanıt alınan hastalara göre daha yüksek oranlarda saptanmıştır (14). Aynı hastaların PKMH'lerindeki artmış T_h2 sitokin yanıtı (IL4, IL10) ile, serumlarında spesifik IgE ve IgG4 antikor yüksekliğinin bir arada bulunması, T_h2 yanıtının hastalığa duyarlılık ile ilgili olduğu bilgisini desteklemektedir. Çalışmamızda, progresif gruptaki hastaların %74'ünde IgG ELISA ile seropozitiflik saptadık. Aynı zamanda, bu hastaların IL4 yanıtlarının, kontrol grubunun IL4 yanıtlarından anlamlı olarak yüksek olduğunu belirledik (p=0,03). Torcal ve ark. (138), KE'li hastalarda immün yanıt ve *in vivo* sitokin sentezlerini araştırdıkları çalışmalarında, IgG düzeyleri ile IL4 düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon elde etmişlerdir (p<0,05). Biz de çalışmamızda bu verilerle uyumlu olarak, IL4 yanıtları ile serumlardaki IgG antikor yanıtları arasında, olumlu yönde, anlamlı bir ilişki tespit ettik (p<0,05). Sitokinler, hümmoral immün yanıt ile hüccresel immün yanıt arasında önemli bir bağlantı oluşturduklarına göre; *E. granulosus*'a karşı oluşan konak yanıtında rollerinin oldukça önemli olduğu söylenebilir. Hem Torcal ve ark.'nın (138), hem de bizim sonuçlarımızın, bu durumu desteklemesi bakımından literatüre önemli bir katkıda bulunduğu düşüncesindeyiz.

IFN γ ve IL2 gibi T_h1 sitokinlerinin yanı sıra T_h2 yanıtını inhibe eden bir diğer sitokin, esas olarak monosit/makrofajlar tarafından sentezlenen IL12'dir. Bugüne kadar bilinen diğer sitokinlerden farklı olarak bu sitokin, p35 ve p40 alt ünitelerinden oluşan 70 KdA ağırlığında heterodimerik bir proteindir. Birbirine kovalent bağlı olan p35 ve p40, iki ayrı gen tarafından kodlanmaktadır. Biyolojik olarak aktif IL12'yi sentezleyebilen antijen sunan hücrelerin (monosit/makrofaj, dendritik hücreler vb.) çoğunun, IL12(p40) ağır zincirini, IL12p35 hafif zincirinden 100 kat daha fazla sentezledikleri bilinmektedir (140). Dolayısıyla, bu hücrelerin IL12 sentezleyebilme yeteneği IL12(p40) tarafından belirlenmektedir. IL12, T lenfositlerinin ve NK hücrelerinin proliferasyonunu uyaran, sitotoksik aktivitelerini ve sitokin sentezlerini arttıran proinflamatuvar bir sitokindir. Birçok *in vitro* fare ve insan modellerinde, T_h1 hücrelerinin proliferasyon ve gelişiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir (141). Böylelikle, T_h1 sitokini olan IFN γ sentezini destekleyerek koruyucu immünitede etkin rol oynamaktadır. Deneysel çalışmalar, IL12 sentezleme yeteneği bulunmayan

hayvanların, *Leishmania*, *Listeria* ve *Mycobakteri* gibi çeşitli paraziter ya da bakteriyel patojenlere karşı koruyucu T_h1 yanıtlarını oluşturamadığını ortaya koymaktadır (141). IL12'nin, leishmaniasis, trypanosomiasis ve schistosomiasis gibi farklı parazitlerde koruyucu immünitete etkin olduğu gösterilmiştir (142, 143, 144, 145). Ayrıca, alveoler ekinokokkozisde, *E.multilocularis*'le enfekte farelerin rekombinan IL12 ile tedavi edilmesi sonrasında, özellikle IFN γ sentezinin aracı olduğu larval gelişimin engellendiği bildirilmiştir (146). Benzer şekilde, Al-Qaoud ve ark. (147), *E. granulosus* protoskoleksleriyle sekonder ekinokokkozis oluşturulan farelerde, T_h1 sitokinlerini (IFN γ , IL12) ve T_h2 sitokinlerini (IL4) kodlayan genleri taşıyan plasmid vektörlerinin intramuskuler yoldan verilmesi sonrasında, IL12 ve IFN γ 'nın farelerdeki kist yükünü sırasıyla %60 ve %47 oranında azalttığını ortaya koymuştur. Bu durumun aksine, IL4'ün ise kontrol grubuna oranla, altı kat daha fazla kist yüküne neden olduğu gösterilmiştir. Bu iki çalışmadaki benzer sonuçlar, diğer birçok parazitlerde olduğu gibi KE'de de, IL12'nin, koruyucu immünitelyi desteklediğini göstermektedir.

Üç aylık albendazol tedavisi almış KE hastalarının, tedavi öncesi ve tedavi sonrası elde edilen PKMH'lerinde sitokin gen ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada; tedaviye tam yanıt veren hasta grubunda tedavi sonrasındaki IL12(p40) mRNA ekspresyonunun tedavi öncesine göre anlamlı olarak yükseldiği saptanmıştır (19). Bunun yanı sıra, tedavi sonrasındaki mRNA ekspresyonları karşılaştırıldığında, kontrol grubunun, tedaviye tam yanıt veren hasta grubuna göre anlamlı olarak düşük IL12(p40) mRNA ekspresyonu gösterdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada, tedaviye tam yanıt verenlerde tedavi sonrası IFN γ mRNA ekspresyonunun arttığı; tedaviye yanıt vermeyenlerde ise azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, bu sonuçlar göz önüne alındığında, hastalığın ilaç tedavisi ile IL12'nin bağlantısının bulunduğunu ve dolayısıyla hastalıktan iyileşmede olasılıkla T_h1 hücre aktivitesini destekleyerek (özellikle IFN γ sentezini) kritik bir role sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca, *E. granulosus* enfeksiyonunda klinik seyrin öngörülebilmesinde de IL12'nin yararlı olabileceği yorumu yapılmıştır.

Ekinokokkozisde farklı sitokinlerin araştırıldığı bir başka çalışmada ise, hem progresif AE'li hem de progresif KE'li hasta serumlarındaki IL12 düzeyleri, iyileşmiş AE ve KE'li hasta serumlarındaki düzeylerden daha yüksek olarak bulunmuştur (89).

Wellinghausen ve ark. (148), AE'li hasta serumlarında, IL12(p40) düzeylerini kontrol serumlarındaki düzeylerden yüksek olarak bulmuşlardır. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hastaları farklı gruplarda değerlendirdiklerinde, progresif gruptaki IL12(p40) düzeylerinin (132.9 pg/ml), iyileşmiş gruptaki IL12(p40) düzeylerinden (56.6 pg/ml) daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Rigano ve ark. (136), kesin KE tanısı almış 40 hasta üzerinde yaptıkları bir başka çalışmalarında, kist sıvısı ile *in vitro* ortamda uyarılmış hasta PKMH'lerinin IL12(p40) sentezinin, kontrol grubundaki kişilerin PKMH'lerinin sentezlediği düzeylerden daha düşük olduğunu saptamışlardır. Hastalar, iyileşmiş/stabil ve progresif olmak üzere iki ayrı grupta ele alınarak sitokin yanıtları bakımından karşılaştırıldığında, iyileşmiş/stabil gruptaki hastaların daha yüksek konsantrasyonlarda IL12(p40) yanıtı gösterdiği ortaya konmuştur. İki grup arasında tespit edilmiş olan bu farkın, istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir.

Çalışmamızda, bu çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak, her üç antijen konsantrasyonunda (25 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml) da, iyileşmiş gruptaki hastaların progresif gruptaki hastalardan daha yüksek düzeylerde IL12(p40) sentezlediğini, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını tespit ettik. Rigano ve ark.'nın çalışmasında (19), ilaç tedavisine tam yanıt veren hastaların IL12(p40) mRNA ekspresyonunun, tedavi sonrasında arttığı gösterilmiştir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak, çalışmamızda cerrahi tedavi sonrası iyileşmiş hastalarda, progresif gruba göre daha yüksek düzeylerde IL12(p40) saptamış olmamız, IL12'nin KE'de sadece ilaç tedavisi ile değil cerrahi tedavi ile de ilişkili olduğuna işaret etmektedir. Bunun yanı sıra iyileşmiş hasta grubunda tespit ettiğimiz IL12(p40) sentezindeki artışa, IFN γ artışının da eşlik etmesi, T_h1 hücre aktivasyonunun hastalığa dirençle ilgili olduğu görüşünü desteklemektedir. Çalışmamızda, her üç antijen konsantrasyonunda da, hem iyileşmiş hem de progresif hasta PKMH'lerinin kontrol grubundakilere oranla daha yüksek IL12(p40) sentezlediğini saptadık. Ancak, sadece 5 mg/ml kist sıvısı ile uyarım sonrası, iyileşmiş hasta grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulduk (p=0,015). Bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak, Wellinghausen ve ark. (148), AE hasta serumlarında kontrol grubuna göre daha yüksek düzeylerde IL12(p40) tespit etmişlerdir. Ancak sonuçlarımızdan farklı

olarak, hem bu çalışmada hem de Dreweck ve ark.'nın çalışmasında (89), progresif gruptaki AE'li hasta serumlarındaki IL12(p40) düzeyleri, iyileşmiş gruptaki AE'li hasta serumlarındakinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu iki çalışmadaki sonuçlar ile bizim sonuçlarımız arasındaki tutarsızlık, çalışmalara alınan hastalardaki farklılıklardan ve kullanılan hasta ve kontrol örneklerinin farklı olmasından (PKMH ve serum) kaynaklanmış olabilir.

T_h1 aktivasyonunda etkili olduğu düşünülen bir başka sitokin IL1β'dir. Proinflamatuvar bir sitokin olan IL1β, IL1 sitokin ailesinin üyesidir. IL12 gibi, esas olarak monosit/makrofajlar tarafından sentezlenmektedir (149). Diğer proinflamatuvar sitokinler gibi, sistemik ve lokal inflamasyona neden olurken, IFN_γ ekspresyonuna katkıda bulunarak efektör hücre fonksiyonlarını ve hücrel sitotoksiteyi arttırmaktadır (61, 71). IL1β'nin, T_h2 yanıtlarını azaltma kapasitesi olduğu gibi, T_h2 yanıtlarının oluşmasında da rolü olabileceği bildirilmiştir (149).

KE'de meydana gelen immün yanıtlarda IL1β'nin etkisinin araştırıldığı çalışmalar nadirdir. Bunlardan Refik ve ark.'nın çalışmasında (24), KE hasta ve kontrol grubu bireylerinin serumlarındaki IL1β düzeyleri arasında bir fark bulunamamıştır. Ancak cerrahi tedavi sonrası KE hasta serumlarındaki IL1β düzeylerinin, cerrahi öncesine göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

Torcal ve ark. (138), karaciğer KE'li 21 hastada immün yanıt ve *in vivo* sitokin sentezlerini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol grubu serumlarındaki IL1β düzeylerini (40±5pg/ml), hasta serumlarındakinden (21±2 pg/ml) daha yüksek olarak bulmuşlardır.

AE'de proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler arasındaki ilişkiyi araştıran Eger ve ark. (88) ise, kontrol grubu PKMH'lerinin, hastalara göre anlamlı olarak yüksek düzeylerde IL1β sentezlediklerini tespit etmişlerdir.

Biz de, Refik ve ark.'nın çalışmaları (24) ile uyumlu olarak, iyileşmiş, progresif ve kontrol gruplarındaki bireylerin serum IL1β düzeyleri arasında bir fark bulamadık (p>0,05). Gruplar arasında, PKMH'lerdeki IL1β düzeyleri yönünden istatistiksel olarak fark olmamasına rağmen, her üç antijen konsantrasyonunda da en fazla IL1β sentezinin progresif grupta, en az sentezin ise kontrol grubunda olduğunu tespit ettik.

AE'de ise, hem serumlarda hem de PKMH'lerinde kontrol grubunda hasta grubuna göre daha yüksek IL1 β düzeyleri saptanmıştır (88, 138). Bu durumun aksine, çalışmamızda hasta (iyileşmiş/progresif) PKMH'lerinin kontrol grubuna göre daha yüksek düzeylerde IL1 β sentezlediğini bulduk. IL1 β , KE'de hastalığa duyarlılıkla ilgisi olan T_h2 yanıtlarını azaltabildiği gibi, bu yanıtların oluşmasına da neden olabilmektedir. Progresif grup hastalarında yüksek düzeyde IL1 β saptanmış olmamız bu durumla açıklanabilir. Ancak diğer iki çalışmadaki (88, 138) sonuçlarla uyumsuz sonuçlar elde etmiş olmamız, iki ayrı türden parazite (*E. granulosus*/*E. multilocularis*) karşı gelişen immün yanıtların da farklılık gösterebilmesiyle ilişkili olabilir. Bunun yanı sıra, hem AE hem de KE'de IL1 β ve immün yanıtlar arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışma sayısının az olması, dolayısıyla daha kapsamlı olarak yapılacak ileri çalışmaların, bu konuya netlik kazandırması bakımından önemli olacağı düşüncesindeyiz.

Koruyucu immüniteyle ilgisi olan bir diğer T_h1 sitokini ise IL2'dir. T_h hücrelerinin aktivasyonundan sonra üretilen ilk sitokindir. T_h hücre proliferasyonunun uyarılması, konak immünitesinin güçlendirilmesi, parazit gelişiminin sınırlandırılması ve anti-tümoral etki oluşturulması gibi görevleri bulunmaktadır (61, 83). T_h hücresi, aktive olduktan sonra IL2 salgılamakta ve üç zincirli (α , β , γ) bir molekül olan IL2R reseptörünün (IL2R) yüksek afinite ile IL2'ye bağlanmasını sağlayan α zincirini üretmektedir. IL2R'nin proteolizi ile IL2R α zincirinin bir formu olan sIL2R α (sCD25) meydana gelmektedir (84). Solubl bir protein olan ve T_h hücre yüzeyinden kana salınan sIL2R α 'nin, in vitro olarak PKMH'lerinin IL2 aracılı aktivasyonunu engellediği gösterilmiştir (84, 85).

KE'de sIL2R α ile ilgili olarak yapılmış tek bir çalışmada, çok sayıda büyük kisti olan hastaların serumlarında, tek kisti olan hastaların serumlarındakine oranla, anlamlı olarak daha yüksek düzeyde sIL2R saptanmıştır (24). Ancak hastalarla kontrol grubu serum sIL2R düzeyleri arasında fark bulunmamıştır. Ayrıca, karaciğerin merkezi kısmında çok sayıda kisti olan hastaların %17,8'inde hafif artmış sIL2R düzeyleri tespit edilmiştir.

AE'de meydana gelen patoloji ile çeşitli sitokinlerin serum düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada ise, serum sIL2 düzeyi düşüklüğünün hastalığın

erken evresi veya stabil durumunu yansıttığı, reseptör düzeyindeki yüksekliğin ise hastalığın progresyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (86).

AE hastaları ile yapılmış bir diğer çalışmada ise, artmış plazma sIL2R düzeyleri ile lezyonların hacimleri ve hastalığın şiddeti arasında anlamlı bir korelasyon olduğu ortaya konmuştur (87).

KE hastaları ile kontrol grubu bireyleri arasında serum sIL2R bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit etmemiş olan Refik ve ark.'nın çalışmalarıyla (24) uyumlu olarak, çalışmamızda biz de gruplar arasında serum sIL2R α düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Ancak PKMH'lerinin sIL2R α düzeyleri karşılaştırıldığında, her üç antijen konsantrasyonunda da progresif gruptaki sIL2R α sentezinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha yüksek olduğunu tespit ettik. Bu sonuç, AE hastaları ile yapılmış çalışmalarda elde edilen verilerle uyumludur. Çalışmamızda, arada anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, progresif grup hastalarının serum sIL2R α düzeyleri, kontrol grubu hastalarınınkinden daha yüksekti. Serum ve PKMH sIL2R α düzeyleri arasındaki bu benzerlik, serum sIL2R α düzeyinin, dolaşan PKMH'lerinin hassas ve kantitatif bir belirteci olduğu bilgisini desteklemektedir (84). Serum sIL2R α düzeyi, diğer doku ya da sıvı kompartmanlarının da immünolojik yönden aktivasyonunu yansıtmaktadır. Buralarda oluşan sIL2R α da dolaşıma katılmaktadır. Dolayısıyla, vücutta meydana gelebilecek metabolik değişimler, serum sIL2R α düzeylerini etkileyebilmektedir. Serum sIL2R α düzeylerini etkileyebilen bir diğer faktör de yaşa bağlı değişikliklerdir. Tüm bunlar birlikte değerlendirildiğinde, ekinokokkozisde PKMH veya serum sIL2R α düzeyleri ile ilgili az sayıda çalışmada farklı sonuçların elde edilmiş olması beklenebilecek bir durumdur.

KE'de gelişen immünitede rolü yeni yeni araştırılan bir sitokin de IL13'tür. Esas olarak, T_h2 hücreleri tarafından sentezlenen IL13, aslında T_h0, T_h1 ve T_h2 hücrelerinin de bir ürünüdür. Ayrıca, B hücreleri ile mast hücreleri de IL13 sentezleyebilmektedir IL4 ile birçok özelliği ortak olan IL13, bu sitokin gibi, B hücre gelişimi ve farklılaşmasında görev almakta, monositler üzerindeki etkisi aracılığıyla, anti-inflamatuar bir sitokin gibi davranmaktadır (150). Ancak IL4'den farklı olarak, T hücreleri tarafından sentezlenmesine rağmen bu hücreler üzerine etkisi

bulunmamaktadır. Ayrıca IL13'ün etkileri IL4'ünküne oranla daha azdır (150). Özellikle IgE sentezini indükleyen IL13, IgE ve IgG4 sentezinde anahtar rol oynamaktadır. Doksanlı yılların ortasına doğru keşfedilmiş bir sitokin olması nedeniyle, 80'lerin başlarında keşfedilmiş olan IL4'e oranla, birçok fizyolojik durum ya da hastalıktaki rolü tam olarak anlaşılammıştır (150). Ancak, alerji durumunda görülen IgE sentezi ve IL4 ile ilişkili olan atopik dermatit, inflamatuvar barsak hastalığı, bronşiyal astım gibi çeşitli hastalıklarda önemi bulunmaktadır. Örneğin; allerjenlerle indüklenmiş olan inflamatuvar yanıtların geç fazının düzenlenmesinde IL13'ün rol aldığı gösterilmiştir (151).

Yeni keşfedilmiş bir sitokin olan IL13'ün, KE'de rolünü araştıran yayınlar az sayıda olup, bunlar da 2000'den sonra literatüre girmiştir (136, 152). Bu çalışmalardan birisinde, KE hastalarında, *E. granulosus* protoskolekslerinden elde edilen karbonhidrattan zenginleştirilmiş antijen fraksiyonu tarafından uyarılan immün yanıtlar araştırılmıştır (152). Çalışmada, hem bu antijen fraksiyonları hem de krut protoskoleks antijeni ile benzer düzeylerde IL13 yanıtlarının alınmış olması, KE'de T_H2 yanıtının varlığını desteklemekte ve kist sıvısı antijeninden başka antijenlerle de bu yanıtın uyarılabileceğini göstermektedir. Kesin KE tanısı almış 40 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, kist sıvısı ile *in vitro* ortamda uyarılmış hasta PKMH'lerinin IL13 sentezinin, kontrol grubundaki kişilerin PKMH'lerinin sentezlediği düzeylerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (p<0,0001) (136). Hastalar, iyileşmiş/stabil ve progresif olmak üzere iki ayrı grupta ele alınarak sitokin yanıtları bakımından karşılaştırıldığında ise, iyileşmiş/stabil gruptaki hastaların IL13 düzeyleri (ort: 185,3 pg/ml) ile progresif gruptaki hastaların IL13 düzeylerinin (ort: 177,2 pg/ml) birbirine yakın değerlerde olduğu ortaya konmuştur. Çalışmada IL13 düzeyleri ile ne IL4 düzeyleri, ne de IL12 düzeyleri arasında bir korelasyon bulunmadığı bildirilmiştir.

Doksanlı yılların hemen sonunda yayınlanmış olan, ekinokokkozizde çeşitli sitokinlerin araştırıldığı bir başka çalışmada ise, progresif AE'li hasta serumlarındaki IL13 düzeyleri, iyileşmiş AE'li hasta serumlarındaki düzeylerden daha yüksek olarak bulunmuşken; bu durumun aksine progresif KE'li hasta serumlarındaki IL13 düzeyleri ise iyileşmiş KE'li hasta serumlarındaki IL13 düzeylerinden daha düşük olarak bulunmuştur (89). Tüm hasta serumlarındaki IL12 ve IL13 serum konsantrasyonları

arasında güçlü ve olumlu yönde bir korelasyon tespit edilmiştir. Bunların yanı sıra progresif AE hastalarında yüksek IgE ve IgG4 düzeyleri bulunmuştur.

Çalışmamızda, Rigano ve ark.'nın çalışmasındaki (136) sonuçlarla uyumlu olarak, her üç antijen konsantrasyonunda (25 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml) da, hem progresif gruptaki hastaların hem de iyileşmiş gruptaki hastaların PKMH'lerinin, kontrol grubu bireylerinin PKMH'lerinden daha yüksek düzeylerde IL13 sentezlediğini saptadık. Aradaki farkların ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığını tespit ettik. Bu çalışmadakine benzer olarak, IL13 düzeyleri ile IL4 düzeyleri arasında ve IL13 düzeyleri ile IL12 düzeyleri arasında herhangi bir ilişki saptamadık. Ayrıca, Dreweck ve ark.'nın çalışmasındaki (89) AE hastalarına ait sonuçlarla uyumlu olarak, biz de progresif hasta grubunda, iyileşmiş hasta grubuna göre daha yüksek IL13 düzeyleri saptadık. Ancak bu araştırmacılardan farklı olarak çalışmamızda, IL12 ile IL13 arasında bir korelasyon bulmadık. IL13'ün IgE ve IgG4 sentezini indükleyici etkisinin bulunması, bu antikörlerin progresif AE hastalarında yüksek olarak saptanması (89) ve hem progresif AE hastalarında (89), hem de bizim çalışmamızda olduğu gibi progresif KE hastalarında, IL13'ün daha yüksek düzeylerde saptanmış olması, IL13'ün KE'de hastalığa duyarlılıkta önemli bir sitokin olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, IL13 ile ilgili olarak az sayıdaki ve farklı hasta materyallerinin kullanıldığı bu çalışmalardan elde edilmiş farklı sonuçlardan dolayı, KE'de IL13'ün rolünün daha ileri araştırmalarla tanımlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Kemokinler, enfeksiyon türüne uygun lökositlerin kemotaksisini sağlayan, enfeksiyonun erken döneminde görülen T hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasında görev alan, hastalığın ilerleyen dönemlerindeki klinik belirtilerde etkin rol alan küçük protein molekülleridir (72). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, organ gelişmesi, anjiyogenezis, anjiostazis, lökositlerin homeostatik olarak tekrar dolaşıma katılması ve immün yanıtların düzenlenmesinde de görev aldıklarını göstermektedir. Bununla birlikte, enfeksiyon ve enflamasyonda temel olay lökosit yanıtı olduğu için; kemokinlerin özellikle, enfeksiyon ve enflamasyon ile ilişkisini anlamaya ve açıklamaya yönelik birçok bilimsel çalışma bildirilmiş ve hala bildirilmeye devam etmektedir (72). Buna göre, bakteriyel, fungal, protozoal, helmentik ve viral olmak üzere hemen tüm patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda kemokin ekspresyonu gösterilmiştir. Farklı kemokin ailesinin üyeleri,

uygun lökosit alt gruplarını harekete geçirerek ve efektör fonksiyonlar oluşturmalarını sağlayarak, bu patojenlere karşı gelişen konak direncine yardım etmektedirler (153). Buna örnek olarak; bakteriyel enfeksiyonda nötrofiller, helmentik enfeksiyonlarda eozinofiller, viral enfeksiyonlarda sitotoksik T hücrelerinin yanıt olarak harekete geçirilmesi ve fonksiyonlarını göstermesi verilebilir. Bununla birlikte, kemokinler, aktivitelerini nötralize edebilen, taklit edebilen veya bozabilen bu patojenler tarafından kendi çıkarları doğrultusunda kullanılabilirler.

IL8 ise, kemokinler (8-17kDa) içinde, yaklaşık 20 yıl önce, ilk klonlanmış olan moleküldür (72). Bundan sonra günümüze kadar, farklı ailelerde yer alan 40'dan fazla insan kemokini tanımlanmıştır. IL8, kemokinlerin, CXC ailesine ait bir üyesidir. Monosit, makrofaj, endotel hücresi, lenfosit, epitel hücresi, düz kas hücresi, böbrek mezenşim hücresi, kondrosit, sinoviyal hücre, hepatosit, fibroblast, birçok tümör hücresi vb. birçok doku ve organa ait hücre tarafından sentezlendiği gösterilmiştir (154). Diğer CXC kemokinlerinde olduğu gibi etkileri, özellikle polimorf nüveli lökositlerin (nötrofil) kemotaksisi ve granül salınımı esas olmak üzere, nötrofillerin aktivasyonu olarak tanımlanmaktadır (153). IL8'in bildirilmiş diğer fonksiyonları arasında, B hücre gelişimi ve IL4 aracılı IgE sentezinin inhibisyonu, anjiyogenezis, mitogenezis, keratinosit kemotaksisi ve hematopoezin regülasyonu yer almaktadır (154). IL8'in paraziter hastalıklarla ilişkisinin olabileceğine yönelik çalışmalar daha çok, yakın tarihlidir. *Plasmodium falciparum* enfeksiyonunda, dolaşımdaki parazit düzeyi düşük iken IL8 düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiş olmakla beraber, direkt bir antimalarial etki ortaya konamamıştır (72). *Leishmania major* promastigotları ile enfekte edilen insan monositlerinin, IL8'i hızlı bir şekilde indüklediği bildirilmiştir (72). Helment enfeksiyonlarında meydana gelen immünolojik olaylar ve bu olaylarda etkili olan mekanizmalar çok daha karmaşık bir yapıya sahiptir. Enfeksiyon etkeni olan helmente göre, hem T_H1 hem de T_H2 yanıtları, antihelmentik etki göstermektedir. Kemokinlerin, bu immün yanıtların oluşmasında düzenleyici role sahip olduğu düşünülmektedir. *Onchocerca volvulus*, konağın olasılıkla paraziti öldürmeye yönelik girişimiyle ilişkili olarak, yıkıcı korneal enflamasyona neden olmaktadır. Antihelmentik etkili ivermektin tedavisinin, parazitin harabiyetine yol açtığı, bu durumun, IL8 sentezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (72).

KE'de, immünite ve IL8 arasındaki ilişkiyi araştıran tek bir çalışmada, Refik ve ark. (24), KE hasta serumlarındaki IL8 düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda serum IL8 düzeylerinin, iyileşmiş, progresif ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediğini tespit ettik. Ancak, hem iyileşmiş grup hem de progresif grup hastalarının ortalama serum IL8 düzeylerinin, kontrol grubunun ortalama serum IL8 düzeylerinden belirgin olarak daha yüksek olduğunu bulduk. Bu sonuçlar, Refik ve ark.'nın (24) sonuçları ile uyumludur.

Dreweck ve ark. (89), AE hastalarında, *E. multilocularis* vezikül antijeni ile stimüle edilmiş PKMH'lerinin otolog serum varlığında, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek IL8 sentezlediklerini tespit etmişler ve spesifik antikor varlığında IL8'in, efektör hücrelerin aktivitesini ve enfeksiyon alanına migrasyonunu arttırabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı çalışmada, progresif AE hasta serumlarında IL12 ve IL13'ün yüksek düzeyde olduğu ve bu iki sitokin düzeyi arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir. IL13, IgE ve IgG4 sentezinin indükleyen bir sitokindir (90). Bunların sonucu olarak, bu çalışmada, *E. multilocularis* enfeksiyonu boyunca, parazitin invaze ettiği konak dokuya T_h1/T_h2 sitokinleri ve kemokinler aracılığıyla efektör hücrelerin toplanmasının ve bu hücrelerin uygun şekilde aktive olmasının, antikor aracılı hücrel immun yanıtı başlatabileceği ve bu yanıtın hastalığın progresyonunu sınırlandırmada kritik bir role sahip olabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda ise, sadece serum IL8 düzeylerine bakıldığı; PKMH'lerinin IL8 yanıtları değerlendirilmediği için, ayrıca KE'de IL8 ve immünite arasındaki ilişkiyi araştıran çok az sayıda çalışma bulunduğu için, bu konu ile ilgili daha açıklayıcı sonuçların ve yorumların elde edilebilmesi amacıyla, ileri çalışmaların gerekli olduğu sonucuna vardık.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Farklı KE hasta gruplarında sitokin, sitokin reseptör ve kemokin yanıtlarını araştırdığımız bu çalışmada,

- 1. İyileşmiş KE hastalarının tümünde (10/10) IgG antikor yanıtının negatifleştiğini, progresif KE hastalarının ise %74'ünde (14/19) IgG antikor yanıtının pozitif bulunduğunu saptadık.**

Elde ettiğimiz bu veriler, hastalığın takibinde IgG antikor yanıtının araştırılmasının değerli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, progresif hastalarda %26 oranında seronegatiflik saptanmış olması, hastaların serolojik takibinde tek başına IgG antikor yanıtı değerlendirilmesinin yeterli olmayabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, KE hasta takibinde, özellikle ilaç ya da cerrahi tedavi sonrasında hastaların, tek başına bu testle değerlendirilemeyeceği, örneğin önceki bazı çalışmalarda önerilen IgG4 ve IgE gibi farklı antikor yanıtlarını saptayan testlerin de kullanılmasının gerekli olduğu kanısındayız.

- 2. Hem iyileşmiş hem de progresif KE hastalarının PKMH'lerinde, kontrol grubu bireylerinkinden daha yüksek IFN γ ve IL4 düzeyleri olduğunu saptadık. Ayrıca, progresif hasta grubunda, IFN γ yanıtları ile IL4 yanıtları arasında, olumlu yönde anlamlı ilişki saptadık.**

Her iki hasta grubunda IFN γ ile IL4 sentezinin bir arada bulunması, bu sitokin düzeylerinin kontrol grubundakilerden yüksek olması ve progresif hasta grubunda IL4 yanıtları ile IFN γ yanıtları arasında olumlu yönde bir ilişki tespit edilmiş olması, kist sıvısının farklı antijenler içerdiği ve dolayısıyla bu sıvının hem T_h1, hem de T_h2 hücrelerinin aktivasyonunu sağladığını göstermektedir.

- 3. Cerrahi tedavi sonrası en az iki yıl geçmiş olan iyileşmiş KE hastalarının PKMH'lerinin IFN γ (T_h1 sitokini) yanıtını, progresif KE hastalarına ve kontrol grubu bireyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulduk.**

Daha önce literatürde, benzimidazollerle yapılan tedaviyle tam iyileşme sonrasında $IFN\gamma$ sentezinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda, cerrahi tedavi sonrasında iyileşmiş hastalarda da $IFN\gamma$ sentezinin artmış olması, hastalığa direncin (koruyucu immünite) T_h1 hücre aktivasyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

O halde, KE hastalarında, cerrahi tedavi öncesi ve sonrası $IFN\gamma$ düzeyleri, hastalığın cerrahi sonrası klinik takibinde kullanılabilir.

4. Progresif KE hastalarının PKMH'lerinin kontrol grubu bireylerinkine göre, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek IL4 sentezlediğini tespit ettik.

Bu durum, hastalıkta T_h2 hücrelerinin de aktive olduğunu ve özellikle aktif hastalık durumunda, hastalığa karşı duyarlılığı yansıtan T_h2 yanıtının ağırlıklı olarak bulunduğunu göstermektedir.

Bu bulgunun yanı sıra, hasta PKMH'lerinin IL4 yanıtları ile hasta serumlarındaki IgG yanıtları arasında, olumlu yönde, orta derecede anlamlı ilişki bulduk.

Sitokin yanıtının artmasıyla serumdaki antikor yanıtında da artış olması, sitokinlerin hücrel ve humoral immünite arasında önemli bir köprü oluşturduğu bilgisini desteklemektedir.

Hem hastaların PKMH'lerinde yüksek IL4 düzeylerinin saptanmış olması, hem de IL4 yanıtları ile serum IgG arasında anlamlı bir ilişki bulunması; hastalığın progresyonunun belirlenmesinde IL4 takibinin önemli olabileceğine işaret etmektedir.

Ayrıca, progresif KE hastalarını, akciğer veya karaciğerde kist bulunmasına göre ele aldığımızda, karaciğerde kisti olanların anlamlı olarak daha yüksek IL4 sentezlediğini tespit ettik.

Bu sonuç, özellikle seronegatif KE hastalarında karaciğerde saptanan kistlerde, görüntüleme yöntemleriyle *E. granulosus* kökenli ya da basit kist ayrımı yapılamadığı durumlarda önemli olabilir.

5. İyileşmiş KE hastalarının PKMH'lerinde, kontrol grubu bireylerine göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde IL12(p40) yanıtı bulunduğunu saptadık.

T_h1 sitokini olan IFN γ sentezini destekleyen IL12(p40)'ın, cerrahi sonrası iyileşmiş hastalarda yüksek düzeyde bulunması, hastalığın cerrahi tedavisi ile bu sitokin arasında bir bağlantının bulunduğunu ve cerrahi sonrası iyileşmede IL12'nin kritik bir role sahip olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, IL12, cerrahi sonrası hasta takibinde hem IFN γ yanıtı, hem de spesifik antikor yanıtı ile birlikte değerlendirilebilir.

6. Progresif grup KE hastalarının PKMH'lerinin IL2sR α yanıtlarını, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek düzeyde bulduk.

Literatürde, KE'de PKMH'lerinin IL2sR α yanıtlarını araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Ancak, bu sitokin reseptörünün, kist sayısı çok olan KE hasta serumlarında, tek kisti olan KE hasta serumlarına oranla anlamlı olarak yüksek düzeylerde olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle ve çalışmamızda progresif grup PKMH'lerinin IL2sR α yanıtlarının yüksek olması dolayısıyla, hastalığın şiddetini göstermesi bakımından IL2sR α sentezinin önemli olduğu görüşünderiz. Burada elde ettiğimiz sonucun ise, ileride yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

7. Hem iyileşmiş gruptaki hastaların hem de progresif gruptaki hastaların PKMH'lerinin, kontrol grubu bireylerinin PKMH'lerinden daha yüksek düzeylerde IL13 sentezlediğini saptadık.

Her ne kadar gruplar arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değilse de, IL13'ün IgE ve IgG4 sentezini indükleyici etkisinin bulunduğu bilinmesi ve, bu antikorların daha önce progresif AE hastalarında da yüksek olarak saptanmış olması, IL13'ün KE'de hastalığa duyarlılıkta önemli bir sitokin olabileceğine işaret etmektedir.

Bununla birlikte, literatürde ekinokokkozisde IL13'ün ele alındığı çalışmaların kısıtlı olması ve bu çalışmalarda farklı hasta örneklerinin

kullanılmış olması, elde edilen sonuçların da farklı olmasına yol açmıştır. Bu sebeple, KE'de IL13'ün rolünün daha ileri araştırmalarla tanımlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Ayrıca, iyileşmiş hasta grubunda IL13 yanıtları ile IL1 β yanıtları arasında, olumlu yönde, güçlü derecede anlamlı bir ilişki saptadık. Progresif hasta grubunda ise, IL13 yanıtları ile IL1 β yanıtları arasında, olumsuz yönde, orta derecede anlamlı ilişki saptadık.

Bu iki sitokinin, progresif hasta grubunun PKMH'lerinde daha yüksek olarak saptanmış olması ve ikisi arasında olumlu yönde güçlü bir ilişkinin bulunması nedeniyle, IL13 ve IL1 β 'nin, hastalığın klinik seyri ve şiddeti ile bağlantısı olabileceği söylenebilir. Ancak her iki sitokinle ilgili olarak yapılmış sınırlı sayıda araştırma olması nedeniyle, bu iki sitokinin birlikte ele alınacağı ileri düzey araştırmaların, daha net ve kesin sonuçların elde edilebilmesi bakımından, önemli ve gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

8. Serumlardaki IL8 yanıtının, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediğini saptadık. Bununla birlikte, iyileşmiş ve progresif gruptaki serum IL8 düzeylerini, kontrol grubundaki IL8 düzeylerinden belirgin olarak daha yüksek bulduk.

IL8, diğer kemokinler gibi, son 20 yılda keşfedilmiş ve araştırma konusu olmuş bir kemokindir. Dolayısıyla bizim bilgilerimize göre literatürde, IL8'in KE'de immüniteyi nasıl etkilediğine dair verilerin elde edildiği tek bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, IL8'in, KE hasta serumlarında kontrol bireylerinin serumlarına göre anlamlı olarak yüksek düzeyde bulunduğu gösterilmiştir. Hem bu çalışma hem de anlamlı sonuç elde etmemiş olsak da bizim çalışmamız, IL8'in KE'nin immünitesinde önemli rolü olabileceğine işaret etmektedir. IL8'in bu rolünün, daha kapsamlı çalışmalarla araştırılmasının gerekli olduğu, elde ettiğimiz verinin literatüre ve bu çalışmalara katkıda bulunacağı sonucuna vardık.

KE'de Th1 yanıtıyla ilişkili sitokinler olan IFN γ ve IL12(p40) ile Th2 yanıtı ile ilişkili sitokinler olan IL4 ve IL13'ün, hastalıktan iyileşmede ya da hastalığın aktif olarak seyretmesinde, konak-immün yanıt ilişkisinin tanımlanması bakımından önemli immünolojik parametreler olduğu; bununla birlikte az sayıda çalışmaya konu olan sIL2R α sitokin reseptörünün, proinflamatuvar bir sitokin olan IL1 β 'nın ve bir kemokin olan IL8'in hastalıkta gelişen immünitadaki rollerinin ortaya konabilmesinde, daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunduğu sonucuna vardık. Elde etmiş olduğumuz tüm verilerin ise, bugüne kadar KE'de immünitenin araştırıldığı çalışmaları destekler nitelikte olması ya da yapılacak yeni çalışmalara katkıda bulunması bakımından, konuya yönelik çalışan araştırmacılar için yararlı olacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. **McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB.** Echinococcosis. *Lancet*. 2003; 18, 362 (9392): 1295-304.
2. **Eckert J, Schantz PM, Gasser RB, Torgerson PR et al.** 2001. Geographic distribution and prevalence In Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2001; 101–143.
3. **Kilimcioğlu A, Ok ÜZ.** İnsanda Echinococcosis Türlerinin Epidemiyolojileri, Coğrafi Yaygınlık ve Türkiye'deki Durum. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis. İzmir, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, 2004; 129-140.
4. **Eckert J, Deplazes P, Craig P, M.A. Gemmell et al.** Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. In Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2001; 72–99.
5. **Merdivenci A, Aydınlioğlu K.** Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İstanbul, İÜ Cerrahpasa Tıp Fak, Yay no:2972/97, 1982.
6. **Eckert J, Deplazes P.** Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev*. 2004; 17 (1): 107.
7. **Raether W, Hanel H.** Epidemiology, clinical manifestations and diagnosis of zoonotic cestode infections: an update. *Parasitol Res*. 2003; 91 (5): 412-38.
8. **Sayek İ.** Kist Hidatik Hastalığı: Klinik yönleri. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, İzmir, 2004; 141-147.
9. **Ammann RW, Eckert J.** Cestodes: Echinococcus. *Gastroenterol Clin N Am*.1996; 25: 655–689.
10. **Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW et al.** Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. In Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and

animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2001; 20-72.

11. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 2nd edition, London: W.B. Saunders. 1994; p.187-222.

12. Abbas KA, Lichtman AH. Basic Immunology (Functions and disorders of the immune system). Second Edition. Saunders Production, Philadelphia, 2004; p 95-99

13. Rigano R, Profumo E, Di Felice G, Ortona E et al. In vitro production of cytokines by peripheral blood mononuclear cells from hydatid patients. *Clin Exp Immunol.* 1995; 99, 3 :433-9.

14. Rigano R, Profumo E, Ioppolo S, Notargiacomo S et al. Immunological markers indicating the effectiveness of pharmacological treatment in human hydatid disease. *Clin. Exp. Immunol.* 1995; 102: 281-285

15. Rigano R, Profumo E, Ioppolo S, Notargiacomo S et al. Serum cytokine detection in the clinical follow up of patients with cystic echinococcosis. *Clin Exp Immunol.* 1999; 115, 3 :503-507.

16. Rigano R, Profumo E, Ioppolo S, Notargiacomo S et al. Cytokine patterns in seropositive and seronegative patients with Echinococcus granulosus infection. *Immunology Letters.* 1998; 64: 5–8.

17. Touil-Boukoffa C, Bauvois B, Sanceau J, Hamrioui B et al. Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis: relationship between nitrite production and interferon-gamma levels. *Biochimie.* 1998; 80; 8-9: 739-44.

18. Hernandez-Pomi A, Borrás-Salvador R, Mir-Gisbert A. Analysis of cytokine and specific antibody profiles in hydatid patients with primary infection and relapse of disease. *Parasite Immunol.* 1997; 19: 433-8

19. Rigano R, Profumo E, Buttari B, Teggi A et al. Cytokine gene expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with pharmacologically treated cystic echinococcosis. *Clin Exp Immunol.* 1999; 118, 1: 95-101.

20. Rogan MT, Craig PS. Immunology of E. granulosus infections. *Acta Trop.* 1997; 7: 7-17.

21. Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16 (1): 18-36.

-
- 22. Ortona E, Riganò R, Buttari B, Delunardo F et al.** An update on immunodiagnosis of cystic echinococcosis. *Acta Trop.* 2003; 85 (2): 165-71.
- 23. Siracusano A, Buttari B, Delunardo F, Profumo E et al.** Critical points in the immunodiagnosis of cystic echinococcosis in humans. *Parassitologia.* 2004; 46 (4): 401-3
- 24. Refik M, Mehmet N, Durmaz R.** Postoperative changes in serum cytokines profile and nitric oxide levels in patients with cystic echinococcosis. *Parasite.* 2005; 12 (3): 265-9.
- 25. Jenkins DJ, Romig T, Thompson RC.** Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp.--a global update. *Int J Parasitol.* 2005; 35 (11-12): 1205-19.
- 26. Thompson RCA.** Echinococcosis. In: Gillespi S, Pearson RD, editors. *Principles and Practice of Clinical Parasitology*, John Wiley and Sons, Ltd, Chichester, UK, 2001; 585-608.
- 27. Cox FEG.** History of Human Parasitology. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15 (4): 595–612.
- 28. Tınar R.** Echinococcosisin Tarihçesi. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. *Echinococcosis, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1*, İzmir, 2004; 1-13.
- 29. Unat EK.** Ekinokokların ve Enfeksiyonlarının Tarihçesi. In: Unat EK, Üner A Özcel MA, Altıntaş N ve ark., editors. *İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (echinococcosis)*. İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no: 10, 1991; 1-12.
- 30. Craig PS, Rogan MT, Campos-Ponce M.** Echinococcosis: disease, detection and transmission. *Parasitology.* 2003; 127 Suppl: S5-20.
- 31. Soulsby E JL.** *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.* 7th ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1982.
- 32. McManus DP, Thompson RC.** Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *Parasitology.* 2003; 127 Suppl: S37-51.
- 33. Turcekova L, Snabel V, D'Amelio S, Busi M et al.** Morphological and genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in the Slovak Republic. *Acta Trop.* 2003; 85 (2): 223.
- 34. Smyth JD, Davies Z.** Occurrence of physiological strains of *Echinococcus granulosus* demonstrated by in vitro culture of protoscoleces from sheep and horse hydatid cysts. *Int J Parasitol.* 1974; 4 (4): 443-5.

-
- 35. McManus DP, Rishi AK.** Genetic heterogeneity within *Echinococcus granulosus*: isolates from different hosts and geographical areas characterized with DNA probes. *Parasitology*. 1989; 99 (Pt 1): 17-29.
- 36. Dubinsky P, Stefancikova A, Turcekova L, Macko JK et al.** Development and morphological variability of *Echinococcus granulosus*. *Parasitol Res*. 1998; 84 (3): 221-9.
- 37. Thompson RC, McManus DP.** Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends Parasitol*. 2002; 18 (10): 452-7.
- 38. Craig PS, McManus DP, Lightowers MW, Chabalgoity JA et al.** Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7(6): 385-94.
- 39. Lavikainen A, Lehtinen MJ, Meri T, Hirvela-Koski V et al.** Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 2003; 127 (Pt 3): 207-15.
- 40. Lavikainen A, Lehtinen MJ, Laaksonen S, Agren E et al.** Molecular characterization of *Echinococcus* isolates of cervid origin from Finland and Sweden. *Parasitology*. 2006; 133 (Pt 5): 565-70.
- 41. Thompson RCA, McManus DP.** Aetiology: parasites and life-cycles. In Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2001; 1–19.
- 42. Yolasıǧmaz A, Altıntaş N.** Echinococcosisde Genetik Farklılaşmalar. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis. İzmir, Hidatidoloji Derneği, Yayın no:1, 2004; 45-54.
- 43. Thompson RCA.** The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp. Parasitol*. 2008
- 44. Ito A, Nakao M, Sako Y.** Echinococcosis: serological detection of patients and molecular identification of parasites. *Future Microbiol*. 2007; 2: 439-49.
- 45. Unat EK, Yücel A, Atlas K, Samastı M.** Unat'ın Tıp Parazitolojisi (İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıklar). 5. baskı. İstanbul, Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yayınları, Yayın no:15, Cilt 1, s.440-453.

-
- 46. Şenlik B, Diker Aİ.** Ekinokokların Taksonomisi ve Morfolojisi. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, İzmir, 2004; 13-30.
- 47. Kern P.** Echinococcus granulosus infection: clinical presentation, medical treatment and outcome. *Langenbecks Arch Surg.* 2003; 388(6): 413-20.
- 48. Dixon JB.** Echinococcosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 1997; 20 (1): 87-94.
- 49. Chiodini PL, Moody AH, Manser DW.** Atlas of Helminthology and Protozoology. Fourth edition. London, Churchill Livingstone, 2001; 25.
- 50. Üner A.** Ekinokokların Sistematiği ve Biyolojisi. In: Unat EK, Üner A, Özcel MA, Altıntaş N ve ark., editors. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (echinococcosis). İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no: 10, 1991; 13-28.
- 51. Eckert J, Conraths FJ, Tackmann K.** Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? *Int J Parasitol.* 2000; 30 (12-13): 1283-94.
- 52. Nart D.** Cystic ve Alveolar Echinococcosis Patogenezi. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis, Hidatidoloji Derneği yayın no:1, İzmir, 2004; 149-158.
- 53. Spruance SL.** Latent period of 53 years in a case of hydatid cyst disease. *Arch Intern Med.* 1974; 134 (4): 741-2.
- 54. Daldal N, Özdemir N.** Kist Hidatikin Patogenezi. In: Unat EK, Üner A Özcel MA, Altıntaş N ve ark., editors. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (echinococcosis). İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no: 10, 1991; 65-76.
- 55. Ertağlar H, Pektaş B, Turgay N, Yolasığmaz A ve ark.** İzmir ve çevresindeki Hastanelerde Ocak 1997- Mayıs 2001 Arasında Saptanan Kistik Ekinokokkozis Olguları. *T Parazitol Derg.* 2003; 27 (2): 125-128.
- 56. Tefik M, Aldemir OS, Karadaş K, Çelik T ve ark.** Malatya bölgesinde ünloküler kistik ekinokokkozis. *T Parazitol Derg.* 2000; 24 (1): 33.
- 57. Canda MŞ.** Ekinokokkozis: 47 olgunun sunumu ve Türkiye'nin Ekinokokkozis sorunu. *T Parazitol Derg.* 1995; 19 (1): 64-82.
- 58. Ertuğ S, Sarı C, Gürel M, Boylu Ş et al.** Aydın ve çevresinde 1996-2000 yılları arasında cerrahi olarak saptanan kist hidatik olguları. *T Parazitol Derg.* 2002; 26 (3): 254-256.

-
- 59. Kuman HA.** Kist Hidatikin Kliniği. In: Unat EK, Üner A Özcel MA, Altıntaş N ve ark., editors. İnsanlarda ve hayvanlarda kist hidatik (echinococcosis). İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no: 10, 1991; 77-87.
- 60. Altıntaş N, Doğanay A.** Kistik Ekinokokkozis. In: Altıntaş N, Doğanay M, editors. Zoonozlar: Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2009, 901-939.
- 61. Abbas AK, Lichtman AH.** Temel İmmünoloji (İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları) (çev: Prof. Dr. Yıldız Camcıoğlu, Prof. Dr. Günnur Deniz). 1. baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007; s.1-20.
- 62. Zhang W, McManus DP.** Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006; 47 (1): 24-41.
- 63. Thompson RC, Kumaratilake L M, Eckert J.** Observations on *Echinococcus granulosus* of cattle origin in Switzerland. *Int J Parasitol.* 1984; 14: 283–291.
- 64. Dempster RP, Berridge MV, Harrison GB, Heath DD.** *Echinococcus granulosus*: development of an intermediate host mouse model for use in vaccination studies. *Int J Parasitol.* 1991; 21 (5): 549-54.
- 65. Riley EM, Dixon JB, Jenkins P, Ross G.** *Echinococcus granulosus* infection in mice: host responses during primary and secondary infection. *Parasitology.* 1986; 92: 391–403.
- 66. Riley EM, Dixon JB, Kelly DF, Cox DA.** The immune response to *Echinococcus granulosus*: sequential histological observations of lymphoreticular and connective tissues during early murine infection. *J Comp Pathol.* 1985; 95: 93–104.
- 67. Dematteis S, Baz A, Rottenberg M, Fernández C et al.** Antibody and Th1/Th2-type responses in BALB/c mice inoculated with live or dead *Echinococcus granulosus* protoscoleces. *Parasite Immunol.* 1999; 21(1): 19-26
- 68. Haralabidis S, Karagouni E, Frydas S, Dotsika E.** Immunoglobulin and cytokine profile in murine secondary hydatidosis. *Parasite Immunol.* 1995; 17 (12): 625-30.
- 69. Siracusano A, Ortona E, Riganò R.** Molecular and Cellular Tools in Human Cystic Echinococcosis. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.* 2002; 2 (3): 235-45.

-
- 70. Ortona E, Margutti P, Delunardo F, Rigano R et al.** Recombinant antigens of *Echinococcus granulosus* recognized by IgE and IgG4 of sera from patients with cystic echinococcosis. *Parassitologia*. 2004; 46 (4): 435-6.
- 71. Abbas AK, Lichtman AH.** Temel İmmünoloji (İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları) (çev: Prof. Dr. Yıldız Camcıoğlu, Prof. Dr. Günnur Deniz). 1. baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007; s.83-103
- 72. Chensue SW.** Molecular Machinations: Chemokine Signals in Host-Pathogen Interactions. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14, 4: 821–835.
- 73. Gottstein B, Mesarina B, Tanner I et al.** Specific cellular and humoral immune responses in patients with different long-term courses of alveolar echinococcosis (infection with *Echinococcus multilocularis*). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1991; 45: 734–742.
- 74. Alkarmi T, Behbehani K.** *Echinococcus multilocularis*: inhibition of murine neutrophil and makrophage hemotaxis. *Exp Parasitol*. 1989; 69: 16–22.
- 75. Rigano R, Profumo E, Teggi A, Siracusano A.** Production of IL-5 and IL-6 by peripheral blood mononuclear cells (PKMH) from patients with *Echinococcus granulosus* infection. *Clin Exp Immunol*. 1996; 105; 3: 456-9.
- 76. Bayraktar MR, Mehmet N, Durmaz R.** Th1 and Th2 inducing cytokines in Cystic echinococcosis. *Turkiye Parazitol Derg*. 2005; 29 (3): 167-170.
- 77. Vuitton DA.** The ambiguous role of immunity in echinococcosis: protection of the host or of the parasite? *Acta Trop*. 2003; 85 (2): 119-32
- 78. Siracusano A, Riganò R, Ortona E, Profumo E et al.** Immunomodulatory mechanisms during *Echinococcus granulosus* infection. *Exp Parasitol*. 2008.
- 79. King CL, Nutman TB.** IgE and IgG subclass regulation by IL-4 and IFN-gamma in human helminth infections. Assessment by B cell precursor frequencies. *J Immunol*. 1993;1,151(1): 458-65.
- 80. King CL, Ottesen EA, Nutman TB.** Cytokine regulation of antigen-driven immunoglobulin production in filarial parasite infections in humans. *J Clin Invest*. 1990; 85 (6): 1810-5
- 81. Bell RG.** IgE, allergies and helminth parasites: a new perspective on an old conundrum. *Immunol Cell Biol*. 1996; 74: 337-345.

-
- 82. Meeusen EN, Balic A.** Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? *Parasitol Today*. 2000; 16: 95-101
- 83. Turgay N, Üstün Ş.** Echinococcosisde İmmun Cevap. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. *Echinococcosis*. İzmir, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, 2004; 107-113.
- 84. Rubin LA, Nelson DL.** The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Intern Med*. 1990; 113, 8: 619-27.
- 85. Zorn U, Dallmann I, Grosse J, Kirchner H et al.** Soluble interleukin 2 receptors abrogate IL-2 induced activation of peripheral mononuclear cells. *Cytokine*. 1994; 6, 4: 358-64.
- 86. Shi DZ, Li FR, Bartholomot B, Vuitton DA et al.** Serum sIL-2R, TNF- α and IFN- γ in alveolar echinococcosis. *World J Gastroenterol*. 2004; 10 (24): 3674-3676
- 87. Bresson-Hadni S, Monnot-Jacquard B, Racadot E, Lenys D et al.** Soluble IL-2-receptor and CD8 in the serum and the periparasitic granuloma of patients with alveolar echinococcosis. *Eur. Cytokine Network*.1991; 2, 339-344
- 88. Eger A, Kirch A, Manfras B, Kern P et al.** Pro-inflammatory (IL-1beta, IL-18) cytokines and IL-8 chemokine release by PBMC in response to *Echinococcus multilocularis* metacestode vesicles. *Parasite Immunol*. 2003; 25, 2: 103-5.
- 89. Dreweck CM, Soboslay PT, Schulz-Key H, Gottstein B et al.** Cytokine and chemokine secretion by human peripheral blood cells in response to viable *Echinococcus multilocularis* metacestode vesicles. *Parasite Immunol*. 1999; 21 (8): 433-8.
- 90. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie AN et al.** Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993; 90 (8): 3730-4.
- 91. Romig T.** Epidemiology of echinococcosis. *Langenbecks Arch Surg*. 2003; 388 (4): 209-17.
- 92. McManus DP.** The molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* and cystic hydatid disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002; 96, 1: 151-7.
- 93. Romig T, Dinkel A, Mackenstedt U.** The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol Int*. 2006; 55 Suppl: S187-91.

-
- 94. Sadjadi SM.** Present situation of echinococcosis in the Middle East and Arabic North Africa. *Parasitol Int.* 2006; 55 Suppl: S197-202.
- 95. Altintas N.** Cystic and alveolar echinococcosis in Turkey. *Ann Trop Med Parasitol.* 1998; 92 (6): 637-42.
- 96. Altintas N.** Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Trop.* 2003; 85 (2): 105.
- 97. Altıntaş N, Yazar S, Yolasiğmaz A, Akısü C et al.** A sero-epidemiological study of cystic echinococcosis in İzmir and its surrounding area, Turkey. *Helminthologia.* 1999; 36 (1) : 19-23.
- 98. Bayram Delibaş S, Özkoç S, Şahin S, Aksoy Ü ve ark.** Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Hastaların Değerlendirilmesi. *T Parazitol Derg,* 2006; 30 (4): 279-281.
- 99. Karaman Ü, Miman Ö, Kara M, Gıcık Y ve ark.** Kars bölgesinde Hidatik Kist prevalansı. *T Parazitoloji Dergisi.* 2005; 29, (4): 238-240.
- 100. Aslan M, Polat E, Aygün G, Sağlam GM ve ark.** Kistik ekinokokkozis şüpheli serum örneklerinde IHA, ELISA IgG ve kendi hazırladığımız ELISA IgG test sonuçlarının karşılaştırılması. *T Parazitol Derg.* 2003; 27 (2): 122-124.
- 101. Sahip N, Uysal H, Öztoprak A, Öğüt T.** 1993-2000 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi'nde İncelenen Kist Hidatik Ön Tanılı Olguların Seroloji Sonuçları. *T Parazitol Derg.* 2001; 25 (3): 236-238.
- 102. Schantz PM.** Progress in diagnosis, treatment and elimination of echinococcosis and cysticercosis. *Parasitol Int.* 2006; 55: 7-13.
- 103. Sever A, Elmas N.** Echinococcosisde görüntüleme yöntemleri. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis. İzmir, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, 2004; 203-218.
- 104. WHO Informal Working Group.** International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Tropica.* 2003; 85, 253-261.
- 105. Von Sinner WN.** Advanced medical imaging and treatment of human cystic echinococcosis. *Sem Roentgenol.* 1997; 32, 276-290.

-
- 106. Sbihi Y, Rmiqui A, Rodriguez-Cabezas MN, Orduña A et al.** Comparative sensitivity of six serological tests and diagnostic value of ELISA using purified antigen in hydatidosis. *J Clin Lab Anal.* 2001; 15(1): 14-8.
- 107. Kanwar JR, Kaushik SP, Sawhney IM, Kamboj MS et al.** Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognised by immunoblotting. *J Med Microbiol.* 1992; 36(1): 46-51.
- 108. Poretti D, Felleisen E, Grimm F, Pfister M et al.** Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60 (2): 193-8.
- 109. Ramzy RM, Helmy H, El Zayyat EA, Rifaat MM et al.** An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgG1 antibodies specific to human cystic echinococcosis in Egypt. *Trop Med Int Health.* 1999; 4(9): 616-20.
- 110. Grimm F, Maly FE, Lü J, Llano R.** Analysis of specific immunoglobulin G subclass antibodies for serological diagnosis of Echinococcosis by a standard enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1998; 5(5): 613-6.
- 111. Siavashi MR, Taherkhani H, Rezaei K, Deligani MRR et al.** Comparison of Dot-ELISA and Sandwich ELISA Diagnostic Tests in Detection of Human Hydatidosis. *Iran Biomed J.* 2005; 9 (2): 91-94.
- 112. Khabiri AR, Bagheri F, Assmar M, Siavashi MR.** Analysis of specific IgE and IgG subclass antibodies for diagnosis of Echinococcus granulosus. *Parasite Immunol.* 2006; 28(8): 357-62.
- 113. Force L, Torres JM, Carrillo A, Buscà J.** Evaluation of eight serological tests in the diagnosis of human echinococcosis and follow-up. *Clin Infect Dis.* 1992; 15(3): 473-80
- 114. Ortona E, Riganò R, Margutti P, Notargiacomo S et al.** Native and recombinant antigens in the immunodiagnosis of human cystic echinococcosis. *Parasite Immunol.* 2000; 22(11): 553-9.
- 115. Zarzosa MP, Orduña Domingo A, Gutiérrez P, Alonso P et al.** Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 35(4): 255-62.
- 116. Lorenzo C, Ferreira HB, Monteiro KM, Rosenzvit M et al.** Comparative analysis of the diagnostic performance of six major Echinococcus granulosus

antigens assessed in a double-blind, randomized multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(6): 2764-70.

117. Gadea I, Ayala G, Diago MT, Cuñat A et al. Immunological diagnosis of human hydatid cyst relapse: utility of the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot and discriminant analysis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000; 7(4): 549-52.

118. Rashed SM, el-Hyawan IA, Nagaty IM, Hussein AH et al. Demonstration of species-specific and cross-reactive components of hydatid cyst fluid antigens. *J Egypt Soc Parasitol.* 2003; 33(1): 315-28.

119. Ray R, De PK, Karak K. Combined role of casoni test and indirect haemagglutination test in the diagnosis of hydatid disease. *Indian J Med Microbiol.* 2002; 20(2): 79-82

120. Wattal C, Malla N, Khan IA, Agarwal SC. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of pulmonary echinococcosis. *J Clin Microbiol.* 1986; 24(1): 41-6.

121. Altıntaş N, Özcel MA. Kist hidatikli hastalarda operasyon öncesi ve sonrası IFAT ile IgG ve IgM antikorlarının araştırılması. *T Parazitol Derg.* 1991; 15: 31-40.

122. Wang Y, Bradshaw H, Rogan MT, Craig PS. Rapid dot-ELISA for the detection of specific antigens in the cyst fluid from human cases of cystic echinococcosis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2002; 96 (7): 691-4.

123. Rogan MT, Craig PS, Zeyhle E, Romig T et al. Evaluation of a rapid dot-ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991; 85 (6): 773-7.

124. Altıntaş N, Yazar S. Cystic echinococcosisde İmmun tanı. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis. İzmir, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, 2004; 159-180.

125. Craig PS. Detection of specific circulating antigen, immune complexes and antibodies in human hydatidosis from Turkana (Kenya) and Great Britain, by enzyme-immunoassay. *Parasite Immunol.* 1986; 8 (2): 171-188.

126. Lorenzo C, Ferreira HB, Monteiro KM, Rosenzvit M et al. Comparative analysis of the diagnostic performance of six major *Echinococcus granulosus* antigens assessed in a double-blind, randomized multicenter study. *J Clin Microbiol.*

2005; 43 (6): 2764-70. **Carmena D, Benito A, Eraso E.** Antigens for the immunodiagnosis of Echinococcus granulosus infection: An update. *Acta Trop.* 2006; 98 (1): 74-86.

127. Carmena D, Martínez J, Benito A, Guisantes JA. Shared and non-shared antigens from three different extracts of the metacestode of Echinococcus granulosus. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005; 100 (8): 861-7.

128. Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immunodiagnosis of Echinococcus granulosus infection: An update. *Acta Trop.* 2006; 98 (1): 74-86.

129. Çoker A, Zeytunlu M. Karaciğer Kist Hidatik Cerrahisi. In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A, editors. Echinococcosis. İzmir, Hidatidoloji Derneği Yayın No:1, 2004; 229-238.

130. Korkmaz M, Zeyrek FY, Ok ÜZ, Kuman HA. Antihelmintik Tedavi (II) Sestod ve Trematod Hastalıklarında Tedavi (Bölüm IV: Helmint Hastalıklarında Tedavi). In: Akısü Ç, Korkmaz B, editors. Tıbbi Parazitolojide Tedavi. İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği yayın no: 20, 2005; 305-328.

131. Gemmell MA, Roberts MG, Beard TC, Campano Diaz S et al. Control of *Echinococcus granulosus*. In Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health, Paris, France, 2001; 195-229

132. Coltorti EA. Standardization and evaluation of an enzyme immunoassay as a screening test for the seroepidemiology of human hydatidosis. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35: 1000-1005

133. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* 1968; 21:77-81

134. Akisu C, Bayram Delibaş S, Yuncu G, Aksoy U et al. Evaluation of IHA, ELISA and Western Blot tests in diagnosis of pulmonary cystic hidatidosis. *Tuberk Toraks.* 2005; 53(2): 156-60.

135. Siracusano A, Teggi A, Quintieri F, Notargiacomo S et al. Cellular immune responses of hydatid patients to Echinococcus granulosus antigens. *Clin Exp Immunol.* 1988; 72 (3): 400-5.

-
- 136. Rigano R, Profumo E, Bruschi F, Carulli G et al.** Modulation of human immune response by *Echinococcus granulosus* antigen B and its possible role in evading host defenses. *Infect Immun.* 2001; 69 (1): 288-96.
- 137. Grau GE, Modlin RL.** Immune mechanisms in bacterial and parasitic diseases: protective immunity vs. pathology. *Curr Opin Immunol.* 1991; 3:480-5.
- 138. Torcal J, Navarro-Zorraquino M, Lozano R, Larrad L et al.** Immune response and in vivo production of cytokines in patients with liver hydatidosis. *Clin Exp Immunol.* 1996; 106 (2): 317-22.
- 139. Rigano R, Buttari B, De Falco E, Profumo E et al.** *Echinococcus granulosus*-specific T-cell lines derived from patients at various clinical stages of cystic echinococcosis. *Parasite Immunol.* 2004; 26 (1): 45-52.
- 140. Kalinski P, Storkus WI, Thomson AW, Lotze MT.** Interleukin- 12 Family (Cytokines and Chemokins). In: Thomson AW, Lotze MT, editors. *Cytokine Handbook.* Academic Press, 2003; p. 383-408.
- 141. Chizzonite R, Gubler V, Magram J, Stern AS.** Interleukin-12. In: Mire-Sluis A, Thorpe R, editors. *Cytokines.* Academic Press, UK, 1998; p. 183-203.
- 142. Heinzl FP, Schoenhaut DS, Rerko RM, Rosser LE et al.** Recombinant interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. *J Exp Med.* 1993; 177(5): 1505-9.
- 143. Hunter CA, Slifer T, Araujo F.** Interleukin-12-mediated resistance to *Trypanosoma cruzi* is dependent on tumor necrosis factor alpha and gamma interferon. *Infect Immun.* 1996; 64(7): 2381-6.
- 144. Wynn TA, Eltoun I, Oswald IP, Cheever AW et al.** Endogenous interleukin 12 (IL-12) regulates granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni* and exogenous IL-12 both inhibits and prophylactically immunizes against egg pathology. *J Exp Med.* 1994; 179(5):1551-61
- 145. Wynn TA, Jankovic D, Hieny S, Zioncheck K et al.** IL-12 exacerbates rather than suppresses T helper 2-dependent pathology in the absence of endogenous IFN-gamma. *J Immunol.* 1995; 154(8): 3999-4009.
- 146. Emery I, Leclerc C, Sengphommachanh K, Vuitton DA et al.** *In vivo* treatment with recombinant IL-12 protects C57BL/6J mice against secondary alveolar echinococcosis. *Parasite Immunol.* 1998; 20:81–91.

-
- 147. Al-Qaoud KM, Abdel-Hafez SK.** The induction of T helper type 1 response by cytokine gene transfection protects mice against secondary hydatidosis. *Parasitol Res.* 2008; 102 (6): 1151-1155.
- 148. Wellinghausen N, Gebert P, Kern P.** Interleukin (IL)-4, IL-10 and IL-12 profile in serum of patients with alveolar echinococcosis. *Acta Trop.* 1999; 73(2): 165-74.
- 149. Francesco C, Ghezzi P, Mantovani A.** Interleukin 1. In: Mire-Sluis A, Thorpe R, editors. Cytokines. Academic Press, UK, 1998; p. 1-18
- 150. Matthews DJ, Callarrrd RE.** Interleukin-13. In: Mire-Sluis A, Thorpe R, editors. Cytokines. Academic Press, UK, 1998; p. 205-215
- 151. Huang S, Xiao H, Kleine-Tebbe J, Paciotti G et al.** IL-13 expression at the sites of allergen challenge in patients with asthma. *J. Immunol.* 1995; 155, 2688-2694.
- 152. Cardozo G, Tucci P, Hernandez A.** Characterization of the immune response induced by a carbohydrate enriched fraction from *Echinococcus granulosus* protoscoleces in patients with cystic hydatid disease. *Parasitol Res.* 2002; 88 (11): 984-90
- 153. Lindley IJD.** Interleukin-8. In: Mire-Sluis A, Thorpe R, editors. Cytokines. Academic Press, UK, 1998; p. 125-140
- 154. Mukaida N, Ketlinsky SA, Matsushima K.** Interleukin-8 and other CXC chemokines. In: Thomson AW, Lotze MT, editors. Cytokine Handbook. Academic Press, 2003; p. 1050-1081
- 155. Gottstein B.** An immunoassay for the detection of circulating antigens in human echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1984; 33 (6): 1185-91.
- 156. WHO-informal Working Group on Echinococcosis.** PAIR: Puncture, Aspiration, Injection, Re-aspiration: An option for the treatment of cystic echinococcosis. Geneva, 2001, WHO/CDS/CSR/APH/2001.6
- 157. Rogan MT, Hai WY, Richardson R, Zeyhle E et al.** Hydatid cysts: does every picture tell a story? *Trends Parasitol.* 2006; 22 (9): 431-8.

EK. ETİK KURUL RAPORU



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK VE LABORATUVAR ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
Tarih ve Sayı: 03.05.2005/108

Etik Kurul Üveleri

Prof. Dr. Mehmet ALAKAVUKLAR
Doç. Dr. Cem Şeref BEDİZ
Doç. Dr. Uğur MÜNGAN
Doç. Dr. Hüseyin İŞLEKEL
Doç. Dr. Arzu SAYINER
Doç. Dr. Özgül SAĞOL
Doç. Dr. Görsev YENER
Yard. Doç. Dr. Cenk ERDAL
Doç. Dr. Kamer UYSAL
Doç. Dr. Mustafa SEÇİL
Yard. Doç. Dr. Ayşe KARCI

Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Mehmet ALAKAVUKLAR

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Etik Kurulumuzun 03 Mayıs 2005 tarih ve 01/09/05 no.lu toplantısında, Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Programı Öğrencisi olan Dr. Serap ŞAHİN'in sorumlu olduğu 72 protokol no.lu "Kistik Ekinokokkozisde Proinflatuar Sitokin, sitokin Reseptör ve Kemokin Yanıtı" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Prof. Dr. Mehmet ALAKAVUKLAR
Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları
Etik Kurul Başkanı