

# Hidatik Kistlerde Süperoksit Dismütaz, Glutasyon, Vitamin C, Total Antioksidan ve Total Tiyoil Düzeyleri

*SUPEROXIDE DISMUTASE, GLUTATHIONE, VITAMIN C, TOTAL ANTIOXIDANT AND TOTAL THIOL LEVELS IN HYDATID CYSTS*

Dr.Ramazan AMANVERMEZ,<sup>a</sup> Dr.Cemil ÇELİK<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Biyokimya AD, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, SAMSUN

## Özet

**Amaç:** Cystic Echinococcosis (CE) biyokimyasal açıdan birçok yönleriyle araştırılmıştır. Ancak CE gelişimi ile antioksidanlar arasındaki ilişki, özellikle konak oksidanlarına karşı parazitlerin nasıl bir antioksidan mekanizmalarının olduğu tam aydınlatılabilmemiş değildir.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmamızda fertil (koyun ve sığır; karaciğer, akciğer) ve infertil (sığır; karaciğer, akciğer) CE membranlarında süperoksit dismütaz (SOD), hem membranlarda hem de protoskolekslerde total tiyoil ve redükte glutasyon, fertil ve infertil kist sıvılarında; SOD, total antioksidan, total tiyoil, redükte glutasyon ve vitamin C düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Çalışılan parametrelerin istatistiksel değerlendirilmesinde; koyun fertil hidatik kist sıvılarında total antioksidan, total tiyoil, redükte glutasyon ve vitamin C düzeyleri (karaciğer ve akciğer;  $1.42 \pm 0.52$ ,  $1.21 \pm 0.09$  mmol/L;  $31.6 \pm 3.70$ ,  $28.0 \pm 3.90$   $\mu$ mol/L;  $7.21 \pm 1.03$ ,  $6.96 \pm 0.80$   $\mu$ mol/L;  $0.43 \pm 0.08$ ,  $0.32 \pm 0.04$  mg/dL, sırasıyla) sığır infertil hidatik kist sıvılarına (karaciğer ve akciğer;  $0.80 \pm 0.13$ ,  $0.87 \pm 0.13$  mmol/L;  $14.70 \pm 1.58$ ,  $16.90 \pm 3.82$   $\mu$ mol/L;  $3.03 \pm 0.30$ ,  $3.02 \pm 0.18$   $\mu$ mol/L;  $0.08 \pm 0.01$ ,  $0.09 \pm 0.01$  mg/dL, sırasıyla) göre daha yüksek ( $P < 0.05$ ), koyun fertil hidatik kist sıvıları (karaciğer ve akciğer;  $1.35 \pm 0.99$ ,  $1.12 \pm 0.52$  U/ml) ve membranlarında (karaciğer ve akciğer;  $1.76 \pm 0.66$ ,  $1.50 \pm 0.49$  U/mg yaş doku proteini/dk) SOD aktivite düzeyi, sığır fertil hidatik kist sıvıları (karaciğer ve akciğer;  $0.47 \pm 0.30$ ,  $0.50 \pm 0.24$  U/mL) ve membranları (karaciğer ve akciğer;  $0.55 \pm 0.16$ ,  $0.36 \pm 0.28$  U/ mg yaş doku proteini/dk), ve sığır infertil hidatik kist membranlarına (karaciğer ve akciğer;  $0.15 \pm 0.05$ ,  $0.12 \pm 0.02$  U/mg yaş doku proteini/dk) kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ( $P < 0.05$ ). Ancak, sığır infertil kist sıvılarında ölçülebilecek düzeyde SOD aktivitesi bulunmadı.

**Sonuç:** Parazit larvalarını içeren fertil hidatik kist sıvılarında total antioksidan, total tiyoil, redükte glutasyon ve vitamin C düzeylerinin infertil hidatik kist sıvılarından yüksek, fertil kist membranlarında ise infertil kist membranlarına göre daha yüksek SOD aktivitesinin bulunması; bu antioksidanların parazitlerin antioksidan defans sisteminde yer alabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidanlar, fertilitte, hidatik kist

T Klin J Med Sci 2004, 24:213-218

## Abstract

**Objective:** Cystic echinococcosis (CE) has been investigated for many biochemical aspects. However, the relationship between growing CE and antioxidants, especially with respect to known hydatid cyst antioxidant mechanisms against host oxidants, has not been sufficiently clarified.

**Material and Methods:** In this study, the levels of superoxide dismutase (SOD) in fertile (sheep and cattle, liver and lung) and infertile (cattle, liver and lung) CE membranes, and total thiol and reduced glutathione levels in both membranes and protoscoleces, as well as total antioxidant status, total thiol, reduced glutathione, vitamin C levels and SOD activity in fertile and infertile hydatid cyst fluids were determined.

**Results:** Total antioxidant, total thiol, reduced glutathione and vitamin C levels in fertile cyst fluids (liver and lung;  $1.42 \pm 0.52$ ,  $1.21 \pm 0.09$  mmol/L;  $31.6 \pm 3.70$ ,  $28.0 \pm 3.90$   $\mu$ mol/L;  $7.21 \pm 1.03$ ,  $6.96 \pm 0.80$   $\mu$ mol/L;  $0.43 \pm 0.08$ ,  $0.32 \pm 0.04$  mg/dL, respectively) were higher than in cattle infertile hydatid cyst fluids (liver and lung;  $0.80 \pm 0.13$ ,  $0.87 \pm 0.13$  mmol/L;  $14.70 \pm 1.58$ ,  $16.90 \pm 3.82$   $\mu$ mol/L;  $3.03 \pm 0.30$ ,  $3.02 \pm 0.18$   $\mu$ mol/L;  $0.08 \pm 0.01$ ,  $0.09 \pm 0.01$  mg/dL, respectively) ( $P < 0.05$ ). SOD activity in sheep fertile cyst fluids (liver and lung;  $1.35 \pm 0.99$ ,  $1.12 \pm 0.52$  U/mL) and its cyst membranes (liver and lung;  $1.76 \pm 0.66$ ,  $1.50 \pm 0.49$  U/mg tissue protein/min.) were found to be significantly higher compared to cattle fertile cyst fluids (liver and lung;  $0.47 \pm 0.30$ ,  $0.50 \pm 0.24$  U/mL) and its cyst membranes (liver and lung;  $0.55 \pm 0.16$ ,  $0.36 \pm 0.28$  U/mg tissue protein/min.), as well as in cattle infertile cyst membranes (liver and lung;  $0.15 \pm 0.05$ ,  $0.12 \pm 0.02$  U/mg tissue protein/min) ( $P < 0.05$ ). However, in cattle, infertile hydatid cyst fluids could not be measured for SOD activity.

**Conclusion:** These results show that the higher levels of total antioxidant status, total thiol, reduced glutathione and vitamin C in fertile hydatid cyst fluids with parasite larvae, in comparison with those in infertile hydatid cyst fluids, as well as the higher levels of SOD activity in fertile hydatid cyst membranes in comparison with those of infertile hydatid cyst membranes, may be evidence that these antioxidants might be implicated in the antioxidant defence systems of parasites, in particular in fertile hydatid cyst membranes and parasite larvae.

**Key Words:** Antioxidants, fertility, hydatid cysts

Geliş Tarihi/Received: 09.06.2003

Kabul Tarihi/Accepted: 26.02.2004

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr.Ramazan AMANVERMEZ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya AD, 55139 SAMSUN  
aramazan@omu.edu.tr

Copyright © 2004 by Türkiye Klinikleri

T Klin J Med Sci 2004, 24

**E**chinococcus granulosus'un larval evresi olan hidatik kist (Cystic Echinococcosis, CE), dünyanın birçok ülkesinde önemli bir paraziter hastalıktır. İlaç ile tedavisi sınırlı düzeyde yapılan bu hastalığın, teşhis ve tedavisi ile alakalı

birçok çalışma yapılmaktadır.<sup>1,2</sup> Bu çalışmaların bir bölümünde, hidatik kist metabolizmasında rol alan biyomoleküllerin fonksiyonel önemi aydınlatılabilmektedir.<sup>3-5</sup>

Konak immün sisteminde parazitlere (erişkin ve larval form) karşı savunma, hücreler aracılığı ile yapılır. Bu savunma mekanizmasında aktive olmuş fagositer hücrelerce üretilen değişik sitotoksik ajanlar; reaktif oksijen ve nitrojen ara ürünleri rol almaktadır. Bu ürünler serbest radikal tabiatında oksidan moleküller olup, parazit viabilitesini olumsuz yönde etkilemektedirler.<sup>6-8</sup>

Parazitik canlılar, oksidan ajanların detoksifikasyonu için enzimatik (superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi) ve non-enzimatik (vitamin E, vitamin C, tiyoller, glutatyon vb.) antioksidanlardan en az bir veya birkaçını içermektedir.<sup>9-12</sup> Bununla birlikte, hidatik kistler biyokimyasal açıdan birçok yönleriyle araştırılmış olmasına rağmen, hidatik kistlerin gelişimi ile oksidanların ve antioksidanların rolünü ortaya koyan bilgilerin yeterli düzeyde olmadığı görülmektedir. Buradan hareketle, yapılan bu çalışmada hidatik kistlerde süperoksit dismutaz (SOD), total antioksidan, total tiyol, redükte glutatyon ve vitamin C fertil (protoskoleks içeren)-infertil hidatik (protoskoleks içermeyen) kist sıvılarında, kist membranlarında ve protoskolekslerdeki (hidatik kist larvası) düzeylerine bakılarak, hidatik kist ile bu antioksidanlar arasındaki ilişki, özellikle hidatik kistlerin fertilitesi ile antioksidan mekanizmalar arasındaki bağlantının aydınlatılması amaçlandı.

### Gereç ve Yöntemler

Araştırmada kullanılan fertil ve infertil hidatik kist örnekleri, *Echinococcus granulosus* ile infekte olmuş koyun ve sığır; karaciğer, akciğer hidatik kistleri ve protoskoleksleri (larvalar) Samsun Belediyesi mezbahasından temin edildi. Hidatik kist'e ait materyaller (kist membranları ve protoskoleksler) serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ya hemen cam-cam homojenizatörle (Quickfit BC15/150, Bibby Sterilin Ltd., İngiltere) homojenize edilerek deneylerde kullanıldı veya -70 °C de derin dondurucuda saklandı. Fertil ve infertil kist sıvıları ise deneysel ölçümler için he-

men kullanıldı veya benzer şekilde derin dondurucuda deney vaktine kadar saklandı.

SOD aktivitesi spektrofotometrik esasa dayanan Ransod (Randox Lab. Ltd., İngiltere) kiti ile tayin edildi.<sup>13</sup> SOD aktivitesinin arandığı koyun ve sığır fertil hidatik kist membranı ile sığır infertil hidatik kist membranından 500 mg alınıp, 0.1 M fosfat tamponu (pH: 7.4) ile hacim 5 mL'ye tamamlandı ve Quickfit marka cam-cam homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenat 5000 x g de 30 dk +4 °C de soğutmalı santrifüjle (Mistral 3000i, MSE Ltd., İngiltere) santrifüje edildi. Enzim kaynağı olarak santrifüjleme sonunda elde edilen süpernatant fraksiyonu ve fertil-infertil kist sıvıları kullanıldı.

Redükte glutatyon konsantrasyonu (fertil-infertil kist sıvıları, protoskoleksler ve kist membranları) florometrik yöntemle göre tayin edildi.<sup>14</sup> Homojenizasyon için koyun ve sığır hidatik kist membranları ve protoskolekslerden 500 mg alındı. 0.1 M fosfat-5mM EDTA tamponu (pH:8.0) ile hacim 5 mL'ye tamamlandı ve Quickfit cam-cam homojenizatörü ile homojenize edildi. Elde edilen süpernatant fraksiyonundan deney tüplerine 0.25 mL alındı, üzerine soğuk %10'luk trikloroasetik asitten 0.25 ml ilave edildi. 3000 x g de 15 dk +4°C santrifüj edilip, elde edilen deproteinize süpernatant deney için kullanıldı. Ayrıca kist sıvılarında benzer şekilde deproteinize edildikten sonra deneysel çalışmada kullanıldı.

Çalışılan örneklerde total tiyol konsantrasyonu spektrofotometrik yöntemle göre belirlendi.<sup>15</sup> Homojenizasyon için koyun ve sığır hidatik kist membranları ve protoskolekslerden 500 mg alınıp 0.2 M tris-0.02 M EDTA (pH: 8.2) tamponu ile hacim 5 mL'ye tamamlandı ve Quickfit cam-cam homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenat 3000 x g de 20 dk +4 °C de MSE marka soğutmalı santrifüj ile santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant fraksiyonu ve kist sıvıları deneysel çalışmada kullanıldı.

Fertil ve infertil kist sıvılarında vitamin C ve total antioksidan kapasite Randox (Randox Lab. Ltd., İngiltere) kiti ile spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü.<sup>16,17</sup>

Tayin edilen parametrelerin istatistiki analiz sonuçları ortalama  $\pm$  standart hata olarak, koyun ve sığır hayvanlarından sağlanan karaciğer ve akciğer hidatik kist (fertil ve infertil) örneklerinin sayısı (n) ve bulguların ikili karşılaştırmalarında alfabetik harfler (a, b,...) tablolarda ifade edildi. Belirlenen düzeylerin istatistiksel değerlendirilmesinde Mann-Whitney U test'i kullanıldı,  $P < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi ve istatistiksel anlamlılık sonuçları tablo altında ek not olarak verildi.

### Bulgular

Sonuçlar Tablo 1, 2 ve 3'de görülmektedir.

### Tartışma

Canlılığını sürdüren aktif kistler, konak canlıda enflamasyona neden olacağından, konağın non-spesifik immun defans sisteminden salınan reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerine karşı enzimatik ve non-enzimatik antioksidanları bünyelerinde bulundurabilirler. Özellikle fertilitte gücü yüksek olan koyun hidatik kist sıvılarında, kist membranlarında ve protoskolekslerde SOD aktivitesinin yüksek oluşu, bu enzimin süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) karşı parazitin antioksidan savunmasında rol alabileceğine işaret etmektedir.

Feng ve ark.<sup>18</sup> hidatik kist duvarında (lamine tabaka + germinal tabaka) SOD aktivitesi ( $4.4 \pm 2.9$  ve  $6.1 \pm 1.4$  U/mg protein/dk) ölçerek, bu enzimin

parazitin antioksidan defans sisteminde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucu bulgularımız ile paralellik göstermektedir.

Batra ve ark.<sup>19</sup> Lcarini ve S. Cervi flarial parazitlerinde SOD (sırasıyla; 0.53, 14.72 U/mg protein) katalaz (sırasıyla; 0.82, 0.49 U/mg protein) ve glutasyon peroksidaz (sırasıyla; 0.36, 0.35 U/mg protein) aktivitesi tespit ederek, in vitro koşullarda ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan reaktif oksijen ürünlerine karşı parazitlerin SOD, katalaz ve düşük miktarda glutasyon peroksidaz sekrete ettiklerini bildirmişlerdir. Kazura ve Mesnic<sup>20</sup> ise Tricinellosis spiralis'in oksijen aracılı hasara karşı defans sistemini araştırmışlar ve parazitin larval ekstraktlarında; larvaların erken evrelerinde katalaz (0.05 U/mg protein), glutasyon peroksidaz (0.003 U/mg protein) ve yüksek düzeyde SOD (6.8 U/mg protein); kas dönemi larvasında ise katalaz (0.05 U/mg protein), glutasyon peroksidaz (0.036 U/mg protein) ve yüksek düzeyde SOD (30.8 U/mg protein) aktivitesi tesbit etmişlerdir. Fertil kist sıvılarında, membranlarda ve protoskolekslerde yüksek düzeyde SOD aktivitesinin bulunması yukarıdaki çalışma bulguları ile paralellik göstermektedir. Ayrıca T. colubriformis (27.3 U/mg protein), T. vitrunus (16.3 U/mg protein), N. battus (38 U/mg protein), N. brasiliensis (38.5 U/mg protein), H. contortus (19.3 U/mg protein) ve T. circumcincta (79.3 U/mg protein) larva-

**Tablo 1.** Fertil ve infertil hidatik kist sıvıları ve kist membranlarında süperoksit dismutaz aktivitesi

Konakçı	Hidatik Kistli Organ	SOD (U/ml)	Hidatik Kistli Organ	SOD (U/mg yaş doku proteini/dk)
KOYUN	Karaciğer Fertil Hidatik Kist Sıvısı (n=5)	1.35 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	Karaciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=4)	1.76 $\pm$ 0.66 <sup>e</sup>
	Akciğer Fertil Hidatik Kist Sıvısı (n=6)	1.12 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	Akciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=4)	1.50 $\pm$ 0.49 <sup>f</sup>
SIĞIR	Karaciğer Fertil Hidatik Kist Sıvısı (n=4)	0.47 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	Karaciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=3)	0.55 $\pm$ 0.16 <sup>g</sup>
	Akciğer Fertil Hidatik Kist Sıvısı (n=4)	0.50 $\pm$ 0.24 <sup>d</sup>	Akciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=3)	0.36 $\pm$ 0.28 <sup>h</sup>
SIĞIR	Karaciğer <i>İnfertil</i> Hidatik Kist Sıvısı (n=3)	**	Karaciğer <i>İnfertil</i> Hidatik Kist Membranı (n=3)	0.15 $\pm$ 0.05 <sup>i</sup>
	Akciğer <i>İnfertil</i> Hidatik Kist Sıvısı (n=3)	**	Akciğer <i>İnfertil</i> Hidatik Kist Membranı (n=3)	0.12 $\pm$ 0.02 <sup>j</sup>

\***Bulguların istatistiksel anlamlılık sonuçları:** a,c:  $P < 0.01$ ; a,d:  $P < 0.01$ ; b,c:  $P < 0.05$ ; b,d:  $P < 0.05$ ; e,g:  $P < 0.05$ ; e,h:  $P < 0.01$ ; e,i:  $P < 0.01$ ; e,j:  $P < 0.01$ ; f,g:  $P < 0.05$ ; f,h:  $P < 0.05$ ; f,i:  $P < 0.01$ ; f,j:  $P < 0.01$ ; g,i:  $P < 0.05$ ; g,j:  $P < 0.05$ ; h,i:  $P < 0.05$ ; h,j:  $P < 0.05$ .

\*\***:** Ölçümlerde enzim aktivitesi bulunamadı.

**Tablo 2.** Fertil ve infertil hidatik kist membranı ve protoskolekslerde; total tiyol ve redükte glutatyon düzeyleri

Konakçı	Hidatik Kistli Organ	Total Tiyol (nmol/mg yaş doku proteini)	Redükte Glutatyon (nmol/mg yaş doku proteini)
KOYUN	Karaciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=5)	61.78 ±5.49	5.51 ±0.90
	Akciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=6)	58.07 ±8.42	6.05 ±0.49
SIĞIR	Karaciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=4)	56.98 ±13.00	5.41 ±0.78
	Akciğer Fertil Hidatik Kist Membranı (n=5)	47.58 ±9.43	4.11 ±0.95
SIĞIR	Karaciğer İnfertil Hidatik Kist Membranı (n=4)	45.07 ±8.44	4.58 ±0.64
	Akciğer İnfertil Hidatik Kist Membranı (n=4)	47.95 ±5.25	4.38 ±1.10
KOYUN	Karaciğer Hidatik Kist Protoskoleks (n=5)	46.20 ±9.60	3.30 ±0.41
	Akciğer Hidatik Kist Protoskoleks (n=5)	45.79 ±9.40	3.26 ±0.43
SIĞIR	Karaciğer Hidatik Kist Protoskoleks (n=4)	51.56 ±16.10	3.48 ±0.94
	Akciğer Hidatik Kist Protoskoleks (n=5)	69.32 ±10.50	3.44 ±0.39

\*Bulguların istatistiksel anlamlılık sonuçları: P< 0.05.

**Tablo 3.** Fertil ve infertil hidatik kist sıvılarında total antioksidan, total tiyol, redükte glutatyon ve vitamin C düzeyleri

Konakçı	Hidatik Kist Sıvısı Alınan Organ	Total Antioksidan (mmol/L)	Total Tiyol (µmol/L)	Redükte Glutatyon (µmol/L)	Vitamin C (mg/dl)
KOYUN	Karaciğer Fertil Hidatik Kist (n = 3)	1.42 ±0.52 <sup>a</sup>	31.6 ±3.7 <sup>e</sup>	7.21 ±1.03 <sup>k</sup>	0.43 ±0.08 <sup>p</sup>
	Akciğer Fertil Hidatik Kist (n = 3)	1.21 ±0.09 <sup>b</sup>	28.0 ±3.9 <sup>g</sup>	6.96 ±0.80 <sup>l</sup>	0.32 ±0.04 <sup>q</sup>
SIĞIR	Karaciğer Fertil Hidatik Kist (n = 3)	1.41 ±0.38 <sup>c</sup>	37.3 ±6.4 <sup>h</sup>	5.26 ±0.88 <sup>m</sup>	0.18 ±0.02 <sup>r</sup>
	Akciğer Fertil Hidatik Kist (n = 3)	1.16 ±0.02 <sup>d</sup>	34.4 ±6.0 <sup>i</sup>	5.16 ±0.45 <sup>n</sup>	0.21 ±0.01 <sup>s</sup>
SIĞIR	Karaciğer İnfertil Hidatik Kist (n = 3)	0.80 ±0.13 <sup>e</sup>	14.7 ±1.58 <sup>i</sup>	3.03 ±0.30 <sup>o</sup>	0.08 ±0.01 <sup>t</sup>
	Akciğer İnfertil Hidatik Kist (n = 3)	0.87 ±0.13 <sup>f</sup>	16.9 ±3.82 <sup>j</sup>	3.02 ±0.18 <sup>o</sup>	0.09 ±0.01 <sup>u</sup>

\*Bulguların istatistiksel anlamlılık sonuçları: a,e: P<0.05; a,f: P<0.05; b,e: P<0.05; b,f: P<0.05; c,e: P<0.05; c,f: P<0.05; g,i: P<0.05; g,j: P<0.05; g,h: P<0.05; g,i: P<0.05; g,j: P<0.05; h,i: P<0.05; h,j: P<0.05; i,i: P<0.05; i,j: P<0.05; k,o: P<0.05; k,ö: P<0.05; l,o: P<0.05; l,ö: P<0.05; m,o: P<0.05; m,ö: P<0.05; n,o: P<0.05; n,ö: P<0.05; p,r: P<0.05; p,s: P<0.05; p,t: P<0.01; p,u: P<0.01; q,r: P<0.05; q,s: P<0.05; q,t: P<0.01; q,u: P>0.01; r,t: P<0.05; r,u: P<0.05.

larında SOD aktivitesi tayin edilerek, larval parazitlerin gelişimi süresince O<sub>2</sub>'in toksik etkisinden SOD enzimi ile korundukları ifade edilmektedir.<sup>21</sup> Buna paralel hidatik kistlerde SOD aktivitesinin bulunması; kist viabilitesi için önemlidir. Koyun hidatik kist sıvısı ve kist membranlarında SOD aktivitesi, sığır hidatik kist materyallerinde tayin edilen SOD aktivitesinden oldukça yüksektir (Tablo 1) (P<0.05). Dolayısıyla koyun hidatik kist fertilitesi ve viabilitesi sığır hidatik kistlere nazaran daha fazla olduğu söylenebilir.

Hidatik kist sıvısı içerisinde yaşamlarını sürdüren protoskoleksler ve diğer parazitler büyüme ve

gelişmeleri için konak canlıının birçok metabolitini kullandığı, konak canlıının mikrobeseinlerinden yararlandığı ifade edilmektedir.<sup>4,5,22</sup> Öyleyse fertil kistler konak canlıının mikrobeseinlerini daha fazla kullanma ihtiyacı duyacaklardır. Bu bilgiler ışığında fertil hidatik kist (koyun ve sığır; karaciğer, akciğer) ve infertil hidatik kist (sığır; karaciğer, akciğer) sıvılarında tayin edilen total antioksidan, total tiyol, redükte glutatyon ve vitamin C düzeylerini gösteren Tablo 3'deki bulgularımızı tartışacak olursak, koyun fertil hidatik kist (karaciğer, akciğer) ile sığır fertil hidatik kist (karaciğer, akciğer) sıvılarında tayin edilen total antioksidan, total

tiyol, redükte glutatyon ve vitamin C düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ( $P > 0.05$ ). Ancak fertil kist sıvıları ile infertil kist sıvılarında ölçülen total antioksidan, total tiyol, redükte glutatyon ve vitamin C düzeylerinin istatistiksel anlamda farklı olduğu görüldü ( $P < 0.05$ ) (Tablo 3).

Fertil ve infertil hidatik kist membranları ve protoskoleks homojenatlarında non-enzimatik antioksidan içeriği olarak, total tiyol ve redükte glutatyon düzeyleri Tablo 2’de verildi. Bu tabloda görüldüğü gibi protoskolekslerde (koyun ve sığır; karaciğer, akciğer hidatik kistlerinde), fertil ve infertil hidatik kist membranları arasında istatistiksel karşılaştırmada anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $P > 0.05$ ). Bununla birlikte, hidatik kist dokularında tayin edilen bu iki parametrenin fertil ve infertil kist membranlarında ve protoskolekslerde ölçülen düzeylerinin farklı olmadığı görüldü de, hidatik kist antioksidan sistemine katkılarının olduğu düşünülebilir.

Antioksidan enzimlere sahip olan veya olmayan parazitler, oksidan hasara karşı tiyol içeren yapıları bünyelerinde bulundurabilirler. Örneğin; *Trypanosome* ve *Leshmania* türlerinde redükte glutatyon (GSH), ilave olarak *Trypanosome*’larda “trypanothion” ( $T[SH]_2$ ) (R), *L.donovani*’ de ve *Crithidia fasciculata*’ da “ovathiol”, *Mycobacterium bovis*’te “mycothiol” olarak adlandırılan tiyol yapılarına sahip olduğu ve paraziter canlılarda tiyol içeren moleküllerin serbest radikal hasarına karşı önemli antioksidan fonksiyon gördükleri bildirilmektedir.<sup>23</sup> Örneğin, NO radikalının tiyol gruplarına affinitesinden dolayı (s-nitrosotiyoller, s-nitrososistein, s-nitrosoglutatyon) GSH ve diğer tiol bileşiklerine reaktivitesi bir hayli fazladır. Dolayısıyla tiyol (-SH) bileşikleri non-enzimatik antioksidandır. *E. histolytica* ekstraktlarında ise antioksidan enzimlerin olmadığı, buna karşılık düşük konsantrasyonda GSH ve yüksek düzeyde sistein içermektedir.<sup>24</sup> *S. mansoni*’nin gelişim evrelerinde GSH düzeyleri; 17.8 iki haftalık larva, 24.8 dört haftalık larva ve 8 haftalık larvada 29.2  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein olarak bulunmuştur. Burada parazitin oksidan ajanlara karşı ve metabolik fonksiyonları için diğer parazitlere göre

yüksek düzeyde GSH içerdiği ifade edilmiştir.<sup>25</sup> Literatürde bazı parazitlerde ifade edildiği gibi hidatik kist membranlarında ve protoskolekslerde GSH ve identifiye edilmemiş tiyol yapıları ile birlikte total tiyol içerikleri bulgularımızda ifade edilmiştir. Bu durumda hidatik kist germinal membranı ve protoskolekslerin metabolizmasında GSH ve tiyol bileşiklerine gereksinim duyabileceklerini akla getirmektedir. Diğer yandan kist sıvılarında, membranlarda ve protoskolekslerde total tiol değeri; protein ve non-protein moleküllerde bulunan tiyol (-SH) gruplarının tamamını oluşturmaktadır. Bununla birlikte detoksifikasyonda major rol oynayan glutatyon-s transferaz enzimi protoskolekslerde izole edilmiştir.<sup>26</sup> Bu enzim aktivitesi için kofaktör olarak GSH gereklidir. Buradan hareketle tiyol içeren redükte glutatyonun kist içeriğinde bulunması doğaldır. Fertil kist sıvılarının, infertil kist sıvılarına göre daha yüksek düzeyde total tiyol ve GSH içermesi; fertil hidatik kistlerde tiyollerin antioksidan savunma sistemine katkısının olabileceğine işaret edebilir.

Bazı sesto d’ların (*R. Echinobothride*, *A. Centripunctata*, *M. Expansa*, *S.globipunctata*) vitamin C gereksinimlerinin immatür parazitik evrede, matür parazitik evreye göre daha yüksek olması sestode parazitlerin memelilerde ve kuşlarda olgunlaşması ve büyümeleri için askorbik asitin fizyolojik etkisinin olduğu ifade edilmiştir.<sup>27</sup> Ayrıca Marva ve ark.<sup>28</sup> ise askorbik asitin *P. falciparum*’ un in vitro gelişim safhalarına olan etkisi araştırıldığında; vitamin C’nin genç parazitlerin gelişimini arttırdığı fakat gelişmiş parazitler için tahrip edici etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada ise vitamin C düzeylerinin infertil kist sıvılarına kıyasla fertil kist sıvılarında yüksek bulunması, bu vitaminin de fertil kistlerde özellikle protoskoleks gelişimi için muhtemel bir fonksiyonunun olduğuna işaret edebilir.

Total antioksidan kapasitenin, total tiyol, redükte glutatyon ve vitamin C düzeylerinin infertil kist sıvılarına göre fertil kist sıvılarında anlamlı olarak yüksek bulunması fertil kistlerde kist doğurgan tabakalarının (germinal membran) ve protoskolekslerin oksidan ajanlara karşı savun-

mada non-enzimatik antioksidanlar olarak fonksiyon gören mikrobeseinlere metabolik fonksiyonları için gereksinim duyabileceklerini düşündürmektedir.

Sonuç olarak fertil ve infertil hidatik kistlerde araştırılan SOD ve non-enzimatik antioksidan moleküllerin, özellikle fertil kistlerde daha potent olarak buldukları görülmektedir. Bu bilgiyle birlikte, hidatik kist enfeksiyonu süresince oksidan ajanların (serbest radikaller) ve konağın diğer savunma elemanları ile birlikte hidatik kist viabilitesini etkileyebileceklerinden, hidatik kistlerin fertil ve steril kalmalarında antioksidanlar etkin bir rol icra edebilir.

### KAYNAKLAR

- Eckert J, Gemmel MA, Soulsby E, Matya Z. Echinococcosis / Hydatidosis, Surveillance, Prevention and Control: FAO/UNEP/WHO Guidelines, Food and Agriculture Organization of the United Nations 1982, Roma.
- Merdivenci A, Aydınlioğlu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İstanbul: İst Üniv Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları; 1982. p.97.
- Barret J. Developmental aspects of metabolism in parasites. *Int J Parasitol* 1987; 17:105-10.
- Çelik C, Şahinoğlu H, Alvr M. İnsan hidatik kist sıvısının (*Echinococcus granulosus*) biyokimyasal kompozisyonu. *T Klin T Bil Araş* 1989; 7: 4-7.
- Jansen D, Rueda M, De Rycke PH, Osuna A. Host parasite relationship in hydatidosis: Comparative analysis of hydatid cyst fluid and sheep serum. *Belgium J Zool* 1991; 121(2): 179-91.
- Clark IA, Hunt NH, Cowden WB. Oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of parasitic disease. *Advances in Parasitology* 1986; 25(1): 1-44.
- Clark IA, Rockett KA. Nitric oxide and parasitic disease. *Advances in Parasitology* 1996; 37: 1-55.
- Amanvermez R, Çelik C. Effectiveness of free radicals in hydatid cysts. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 2002; 32(1): 259-69.
- Barret J. Biochemistry of parasitic helminth's. London: Macmillan Publishers Ltd; 1981. p.65-250.
- Callahan HL, Crouch RK, James ER. Helminth antioxidant enzymes a protective mechanism against host oxidants? *Parasitology Today* 1988; 4(8): 218-25.
- Fairlamb AH. Novel biochemical pathways in parasitic protozoa. *Parasitology* 1989; 99 (sup.): S93-112.
- Levander OA, Ager AL. Malarial parasites and antioxidant nutrients. *Parasitology* 1993; 107(sup.): S95-106.
- Beauchamp C, Fridovic I. Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 1971; 44: 276-87.
- Hissin PT, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem* 1976; 74: 214-226.
- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein-bound, and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Elman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
- Burtish CA, Ashwood ER. Photometric method for the determination of ascorbic acid. *Tietz Textbook of Clinical Biochemistry*. 3<sup>rd</sup> ed. Pennsylvania: WB Saunders Co; 1999. p.1025.
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MT, Gopinathan V, Milner A. Total antioxidant status. *Clinical Science* 1993; 84: 407-12.
- Feng JJ, Guo HF, Yao MY, Xiao SH. Effects of mebendazole, albendazole, and paraziqentel on glutathione s-transferase and superoxide dismutase of *E. granulosus* cyst wall harbored in mice. *Chung-Kuo Yao Li Hsueh Pao-Acta Pharmacol Sinica* 1995; 16(4):297-300.
- Batra S, Chatterjee RK, Srivastava VML. Antioxidant system of *Litomosoides carini* and *Setari cevri*: Effect of a macrofilaricidal agent. *Vet Parasitol* 1992; 43: 93-103.
- Kazura JW, Meshnick SR. Scavenger enzymes and resistance to oxygen mediated damage in *Trichinella spiralis*. *Molecular and Biochem Parasitol* 1984; 10: 1-10.
- Knox DP, Jones DG. A comparison of superoxide dismutase (SOD, EC: 1.15.1.1) distribution in gastrointestinal nematodes. *Int J Parasitol* 1992; 22(2): 209-14.
- Frayha GJ, Haddad R. Comparative chemical composition of protoscolices and hydatid cyst fluid of *E granulosus*. *Int J Parasitol* 1980; 10: 359-64.
- Spies HSC, Steenkamp DJ. Thiols of intracellular pathogens. *Eur J Biochem* 1994; 224: 203-13.
- Fahey RC, Newton GL, Arrick B, Aley SB. *Entomoeba histolytica*: A eucaryote without glutathione metabolism. *Science* 1984; 224: 70-2.
- Nare B, Smith TM, Prichard RK. *Schistosoma mansoni*: Levels of antioxidants and resistance to oxidants increase during development. *Exp Parasitol* 1990; 70: 389-97.
- Fernandez C, Hormaeche CE. Isolation and biochemical characterisation of a glutathione s-transferase from *E. granulosus* protoscolices. *Int J Parasitol* 1994; 24(7): 1063-6.
- Tandon RS, Gupta S. Ascorbic acid levels in the proglottides of four species of cestode parasites of mammals and birds in relation to their sexual maturity. *J Helminthol* 1988; 62: 163- 5.
- Marva E, Golenser J, Cohen A, Kitrossky N, Har-El R, Chevion M. The effect of ascorbate-induced free radicals on *Plasmodium falciparum*. *Trop Med Parasitol* 1992; 43: 17-23.