

DENEYSSEL KİST HİDATİK MODELLERİ

50. BÖLÜM

Çağrı AKALIN¹

Giriş

Deneysel kist hidatik (KH) modelleri yeni ilaçlar, cerrahi yaklaşımlar ve aşı geliştirme çalışmalarında önemli rol oynamaktadır. İdeal bir deneysel model ortotopik olarak en fazla etkilenen organ olan karaciğerde KH hastalığını indüklemelidir. Oluşturulan model doğal enfeksiyon yoluna benzemeli ve öngörülebilir bir büyüme paterni ile seyretmelidir. Bununla birlikte, geleneksel hayvan modelleri, parazitik yumurtalı hayvanları beslerken biyolojik tehlike riski gösterir ve ikincil enfeksiyon olarak karın boşluğunda parazit kisti oluşturur ⁽¹⁾.

Parazitin Elde Edilmesi

Yapılacak olan deneysel model için canlı protoskoleks gerekmektedir olup koyun, inek gibi enfekte hayvanlardan elde edilmelidir. Bunun için mezbahalardan enfekte hayvanların kistlerinden elde edilen protoskolekslerin canlı bir şekilde alınması gerekmektedir. Bunun için kistlerin yüzeyi aseptik koşullarda iyodize alkol ile silinip kist sıvısı enjektör ile aspire edilir. Sonrasında kist dokusu açılıp hidatik kum pipet yardımı ile dışarı alınır. Santrifüj tüpüne alınan hidatik kumun iyice çökmesi beklenir ve fosfat tampon çözeltisi içerisinde iyice karıştırılıp kumun çökmesi beklenip protoskoleksler toplanır. Bu işleme ölü protos-

koleksler kalana yok edilene kadar devam edilmelidir ⁽³⁾. Figür 1 ve 2'de enfekte hayvanlardan parazitin elde edilme süreci gösterilmiştir.



Figür 1: Enfekte hayvanın çıkartılmış karaciğerinde multipl sayıda hidatik kistlerin görünümü



Figür 2: Kist açıldığında ortaya çıkan kız veziküller

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, dr.cagriakalin@gmail.com

rol (n=10) gruplarına ayırmış ve çalışma grubuna 1000'er adet protoskoleksler intraperitoneal yoldan enjekte edilmiştir (26). Enjeksiyondan altı ay sonra iki gruptaki fareler bir hafta boyunca erkek fareler ile çiftleştirilmiş ve doğumdan sonra bebeklerin büyüklüğü ile ağırlığı gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Riley ve ark.ı KH'yi immunolojik olarak değerlendirmek amacıyla subkutan yoldan 200 protoskoleksi BALB/c türü fareye enjekte etmişlerdir (27). 2008 yılında Kakru ve ark.larının çalışmasında ise intraperitoneal ve subkutan olarak sayıları 1000 ile 2000 olmak üzere iki farklı miktarda protoskoleksler enjekte edilmiş ve kist hidatiğin indüklenme durumu karşılaştırılmıştır (28). Bu çalışmada, subkutan in-vivo deneysel KH'nin modelinin intraperitoneal yöntemle göre daha az miktarda doz ile enfeksiyon oluşturduğu ve farelere daha uzun hayatta kalma süresi sağladığı saptanmıştır.

Son zamanlarda biyoteknolojinin ilerlemesi ile KH tanı ve tedavisi için çalışmalar da hız kazanmıştır. 2016 yılında Wang ve ark.ları, karaciğer içerisindeki parazitlerin tanısını koymak ve ölçmek için non-invaziv bir görüntüleme yöntemi olan optik moleküler görüntülemenin KH'nin spesifik molekülleri ile kombine edildiği bir in-vivo çalışma modeli hazırlamışlardır (29). Bu çalışmada, ilaçla tedavi edilen protoskoleksler, in-vitro ve in-vivo çalışmalarda JC-1 boyası ile işaretlendikten sonra izlenmiştir. Floresan yöntemi ile işaretlenmiş protoskolekslerde kırmızı ve yeşil oranının sadece lokalizasyon değil aynı zamanda parazitin canlılığına da gösterdiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise, Chen ve ark.ları tarafından nanosaniye darbeleri elektrik alanının (nsPEF) karaciğer KH tedavisinde alternatif bir metod olarak araştırıldığı çalışmada, 72 tane C57B6 faresinin 10'u kontrol grubu, 60 tanesi ise çalışma grubu olarak kabul edilmiştir. Çalışma grubundaki farelere portal venden protoskoleksler enjekte edilmiş ve protoskolekslerin direk olarak venöz yolla karaciğere ulaşımını KH oluşturmasını sağlanmıştır (30).

Sonuç

Deneyisel KH modelleri, parazitin yaşam döngüsünü daha iyi anlamamızı sağlamış olup geliştirilecek tedavi yöntemlerine de olanak sağlamıştır. Geçtiğimiz yüzyılda bilimde gerçekleşen ilerleme sayesinde deneysel KH modellerinde hem nicelik ve hem de niteliksel anlamda olumlu artışlar mevcuttur. Önümüzdeki yıllarda bu modellerin biyoteknoloji yardımı ile daha da gelişeceğini düşünmekteyiz.

Teşekkür: Bu bölümdeki fotoğraflar Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr.Ülkü Karaman'ın izni ile paylaşılmıştır.

Kaynaklar

1. Possenti A, Manzano-Román R, Sánchez-Ovejero C, et al. Potential Risk Factors Associated with Human Cystic Echinococcosis: Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10:e0005114. Doi: 10.1371/journal.pntd.0005114
2. Mandal S, Mandal MD. Human cystic echinococcosis: epidemiologic, zoonotic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Asian Pac J Trop Med.* 2012;5:253-260. Doi: 10.1016/S1995-7645(12)60035-2
3. Smyth JD. The biology of hydatid organisms. *Adv Parasitol.* 1964;2:169-219. Doi: 10.1016/s0065-308x(08)60588-6
4. Yıldırım A, İça A, Düzlü O, İnci A. Kistik echinococcosis'de canlılık tayininde kullanılan çeşitli boyama yöntemlerinin istatistiksel analizi [Statistical analyses of different staining methods for viability assessment in cystic echinococcosis]. *Türkiye Parazit Derg.* 2007;31(2):105-108.
5. Aydınuraz, K., Daphan, ÇE. (2005). Deneyisel Kist Hidatik Modelleri. Nuh Zafer Cantürk, İskender Sayek (Eds.), *Cerrahi Araştırma* içinde (s. 429 - 438). İstanbul: Nobel Kitabevi
6. Altıntaş, N. (1991). Ekinokokların İn Vitro Üretilmesi. *İnsan ve Hayvanlarda Kist Hidatik* içinde (s. 43 - 54). Kıbrıs-Girne: 7.Ulusal Parazitoloji Kongresi Özel Kitabı
7. Heath DD, Smyth JD. In vitro cultivation of *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, *T. ovis*, *T. pisiformis* and *T. serialis* from oncosphere to cystic larva. *Parasitology.* 1970;61:329-343. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0031182000041184>
8. Heath D, Lawrence S. *Echinococcus granulosus*: Development in vitro from oncosphere to imma-

- ture hydatid cyst. *Parasitology*. 1976;73:417-423. Doi:10.1017/S003118200047089
9. Voge, M. (1978). *Cestoda*. A.E.R. Taylor and J.R. Baker (Eds), *Methods of Cultivating Parasites In Vitro* (pp. 193-225). London and New York: Academic Press.
 10. Kumaratilake LM, Thompson RCA. Maintenance of the life cycle of *Echinococcus granulosus* in the laboratory following in vivo and in vitro development. *Z Parasit Kde*. 1981;65:103-106. Doi: 10.1007/BF00926559
 11. Gemmell MA. Safe handling of infected definitive hosts and eggs of *Echinococcus* spp. *Bull World Health Organ*. 1968;39:122-125.
 12. Youssefi MR, Mirshafiei S, Moshfegh Z, et al. Cystic echinococcosis is an occupational disease? *J Parasit Dis*. 2016;40:586-590. Doi: 10.1007/s12639-014-0543-2
 13. Farahmand M, Yadollahi M. Echinococcosis: An occupational disease. *Int J Occup Environ Med*. 2010;1:88-91.
 14. Siracusano A, Delunardo F, Teggi A, et al. Host parasite relationship in cystic echinococcosis: an evolving story. *Clin Dev Immunol*. 2011;2012:639362. Doi: 10.1155/2012/639362
 15. Hemphill A, Stadelmann B, Rufener R, et al. Treatment of echinococcosis: albendazole and mebendazole what else? *Parasite*. 2014;2:70. Doi: 10.1051/parasite/2014073
 16. Maggiore MA, Albanese AA, Gende LB, et al. Anthelmintic effect of *Mentha* spp. essential oils on *Echinococcus granulosus* protoscoleces and metacestodes. *Parasitol Res*. 2012;110:1103-1112. Doi: 10.1007/s00436-011-2595-x
 17. Zeghir-Bouteldja R, Amri M, Aitaissa S, et al. In Vitro Study of Nitric Oxide Metabolites Effects on Human Hydatid of *Echinococcus granulosus*. *J Parasitol Res*. 2009;2009:624919. Doi: 10.1155/2009/624919
 18. Walker M, Rossignol JF, Torgerson P, et al. In vitro effects of nitazoxanide on *Echinococcus granulosus* protoscoleces and metacestodes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54:609-616. Doi: 10.1093/jac/dkh386
 19. Zak O, Sande MA. Hand book of animal models of infection. In: Romig T, Bilger B, editors. *Animal models for echinococcosis*. 1. San Diego, London, Boston: Academic press; 1999. pp. 877-884.
 20. Heath DD, Lawrence SB, Yong WK. *Echinococcus granulosus* in sheep: transfer from ewe to lamb of ARC 5 antibodies and oncosphere-killing activity, but no protection. *Int. Parasitol*. 1992;22:1017-1021. Doi: 10.1016/0020-7519(92)90063-q
 21. Dempster RP, Harrison GBL, Berridge MV, et al. *Echinococcus granulosus*: Use of an intermediate host mouse model to evaluate sources of protective antigens and a role for antibody in the immune response. *Int. Parasitol*. 1992;22:435-441. Doi: 10.1016/0020-7519(92)90144-A
 22. Rogan MT, Marshall I, Reid GDF, et al. The potential of vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) and baboons (*Papio anubis*) as model for the study of the immunology of *Echinococcus granulosus* infections. *Parasitology*. 1993;106:511-517. Doi: 10.1017/s0031182000076812
 23. Dempster RP, Harrison GBL, Berridge MV. Maternal transfer of protection from *Echinococcus granulosus* infection in sheep. *Res. Vet. Sci*. 1995;58:197-202. Doi: 10.1016/0034-5288(95)90101-9
 24. Pennoit-De Cooman E, De Rycke PH. Serial passage of larval *Echinococcus granulosus* from equine origin in mice. II. Infections with sterile cysts. *Z Parasitenkd*. 1978;56:39-45. Doi: 10.1007/BF00925935
 25. Pensel PE, Elissondo N, Gambino G, et al. Experimental cystic echinococcosis therapy: In vitro and in vivo combined 5-fluorouracil/albendazole treatment. *Vet Parasitol*. 2017;245:62-70. Doi: 10.1016/j.vetpar.2017.08.011
 26. Moazeni M, Asadpour M, Malekpour SH. Influence of hydatid disease on the pregnancy outcomes: An experimental study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2018;44:1896-1901. Doi: 10.1111/jog.13721
 27. Riley EM, Dixon JB, Kelly DF, et al. The immune response to *Echinococcus granulosus*: sequential histological observations of the lymphoreticular and connective tissues during early murine infection. *J. Comp. Path*. 1985;95:93-104. Doi: 10.1016/0021-9975(85)90081-7
 28. Kakru DK, Sofi BA, Assadullah S. Novel route of infection in experimental model of hydatid disease. *Indian J Pathol Microbiol*. 2008;51(3):373-375. Doi: 10.4103/0377-4929.42514
 29. Wang S, Yang T, Zhang X, et al. Construction of In Vivo Fluorescent Imaging of *Echinococcus granulosus* in a Mouse Model. *Korean J Parasitol*. 2016;54(3):291-299. Doi: 10.3347/kjp.2016.54.3.291
 30. Chen X, Zhang R, Aji T, et al. Novel Interventional Management of Hepatic Hydatid Cyst with Nanosecond Pulses on Experimental Mouse Model. *Scientific reports*. 2017;7:1-8. Doi: 10.1038/s41598-017-04873-5