

Ekinokok Antijenleri

Uğur Gönülgür, Tanseli E. Gönülgür, İbrahim Akkurt
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Özet

Her ne kadar ekinokok enfeksiyonunun primer kontrolü T lenfositler tarafından gerçekleştirilse de kist hidatik konağında poliklonal B hücre aktivasyonuna neden olmaktadır. Antijen B ve antijen 5 major lipoprotein antijenler olmakla birlikte diğer ekinokok antijenleri gibi zayıf bir antikor cevabına yol açarlar. Karaciğerdeki kistler akciğerdeki kistlere göre daha immünoreaktiftir. Kist hidatik hastalığının tanısında kullanılan serolojik testler, ortak antijenler nedeniyle diğer parazitik hastalıkların seyrinde de pozitif çıkabilir. Akciğer Arşivi: 2004; 5: 162-164

Anahtar Kelimeler: Kist hidatik hastalığı, ekinokokkozis, tanı

Summary

Echinococcus Antigens

Although primary control of Echinococcus infection is performed by T lymphocytes, hydatid cyst causes polyclonal B cell activation in the host. Antigen B and antigen 5 are major lipoprotein antigens but they induce a weak antibody response like other Echinococcus antigens. Liver cysts are more immunoreactive than pulmonary cysts. Serological tests for cystic hydatid disease can be positive during other parasitic diseases due to shared antigens. Archives of Lung: 2004; 5: 162-164

Key Words: Cystic hydatid disease, echinococcosis, diagnosis

Giriş

Hidatik kist, Echinococcus granulosus 'un ara konağın dokularında oluşan bir larva (metasestod) evresidir. Gerek erişkin şekilleri gerekse larva şekillerinin hem evcil hem de yabani hayvanlarda bulunmaları nedeniyle hastalıkla savaş zorlaşmaktadır. Hem hastalığın tanısında önemli bir yer tutan serolojik testlerde kullanıldığından hem aşının bileşimine girdiklerinden hem de ajanın doğasını anlamak açısından biz bu yazımızda parazitin antijenlerini irdelemeyi amaçladık.

Ekinokok Antijenlerine verilen İmmün Yanıt

Hidatik kiste karşı sıvısal ve hücresele immün yanıt verilebilmekle beraber parazitin immünolojik kontrolünde esas rolü T lenfositler oynamakta; T lenfositler, makrofaj ve nötrofil lökositleri metasestodlara saldırmak için programlanmaktadır (1). T lenfositleri bu koordinatör rolü dışında ekinokok metasestodlarına doğrudan toksik etki de gösterebilmektedir (2). Kist hidatik aynı zamanda konağında poliklonal B hücre aktivasyonuna yol açarak değişik sınıflarda (IgG,

IgM, IgA ve IgE) antikorların oluşumuna yol açmaktadır (3,4). Bu antikor sınıflarından hangisinin enfeksiyondan sonra ilk belirlediği bilinmese de (5) IgG antikor yanıtı, IgM ve IgA yanıtlarına göre daha sık görülmektedir (4). Akciğer kist hidatikli hastalarda cerrahi rezeksiyon sonrası anti-ekinokok IgM düzeyleri 4-6 ay içinde, karaciğer kist hidatikli-lerde ise 12 ay içinde normale dönerken IgG antikorları serumda daha uzun süre yüksek düzeyde kalmaktadır (4). Echinococcus granulosus antijenlerine karşı verilen IgG antikor yanıtı özellikle IgG1 ve IgG4 'ü ilgilendirmektedir (6). IgG1 ve IgE antiparaziter immün yanıtta önemli rol oynayan antikorlardır. Schistosomiasis 'de yumurta çıkaran olgularda spesifik IgG1 ve IgG4 düzeyleri, kronik olgularda ise spesifik IgG4 ve IgE düzeyleri artmaktadır (7). Keneler gibi ektoparazitler, T lenfositler ile eozinofil ve bazofil lökosit aracılı, IgG1 bağımlı bir mekanizmayla immün rejeksiyona uğrayabilmektedirler (8). Oncocerca volvulus 'a verilen koruyucu immünitede IgE ve IgG1 'in primer rolü üstlendiği sanılmaktadır (9). Hem IgG1 hem IgE 'nin sentezinin IL-4 tarafından tetiklendiği düşünüldüğünde (10) bu parazitlerin kontrolünde T helper 2 fenotipinde bir lenfosit alt tipinin görev aldığı anlaşılabilir. Ekinokoka duyarlı T lenfositleri

oluşturmak için köpeğe oral yol ile 1000-2500 adet, radyasyon ile inaktive edilmiş *E. granulosus* protoskoleksleri verilmiş ancak zaman içinde bu koruyucu direnç azalmıştır (1). Koruyucu direncin azalmasında parazitin neden olduğu immüno-supresyonun rolü olabilir. Vücudunda üreme gösteren metasestod taşıyan olgularda CD8(+) T lenfositlerin arttığı saptanmıştır (2). Hidatidoz olgularında bazen açığa çıkan anti-HLA (Human Leukocyte Antigens) antikorları konakçı savunmasının bozulmasına neden olabilir (11). Yine deneysel çalışmalar kiste komşu akciğer dokularının mikobakteriyel enfeksiyona daha duyarlı olduğunu göstermektedir (12). Bir başka çalışmada ise anti-ekinokok antikorlarının tek başına parazitin büyümesini veya dokuya infiltrasyonunu engelleyememesinin nedeni olarak metasestodan salınan ve komplemanı nötralize eden faktörler sorumlu tutulmuştur (1).

E. granulosus ile enfekte olmuş köpekte 2-3 hafta sonra anti-ekinokok antikorlarının ortaya çıktığı ELISA ile gösterilmiştir (1). Bununla beraber hidatik kiste verilen antikor yanıtı olgudan olguya çok değişik olabilmektedir. Bazı olgularda antikorlar immün kompleks oluşturup dokuda çökerek amiloidozis, membranöz nefropati gibi hastalıklara yol açabilirken (3) bazı araştırmacılar % 10 olgunun seronegatif olduğunu ifade etmektedirler (5). Ekinokok antijenlerine verilen antikor yanıtı, ekinokok suşunun tipine, konakçıya ve kistin lokalizasyonuna göre değişmektedir (13,14). Karaciğer ve periton hidatik kisti genellikle akciğer, beyin ve göz enfeksiyonlarına göre daha kuvvetli bir antikor reaksiyonu oluşturur (5,13). Kist hidatikte serolojik tanı için ekinokok antijenlerinin doğal enfeksiyona maruz kalmış at, fare, domuz, koyun, sığır, deve, insan gibi konakçılardan toplanması gerekmektedir (15). Ekinokok antijenleri, kist sıvısından, kist membranından veya protoskolekslerden elde edilebilirse de serolojik tanı için kullanıma en uygun olanın kist sıvısı olduğu anlaşılmıştır. İnsan ve koyun kistlerinde sığır ve domuz kistlerine oranla, karaciğer kistlerinde de akciğer kistlerine oranla daha fazla antijen proteini olduğu gözlenmiştir. Koyundan elde edilen antijenler insan ve inek antijenlerine göre daha hassas sonuç vermektedir (16). Koyun hidatik sıvı antijenleri diğer parazitlerle en az çapraz reaksiyon veren ve *Echinococcus* türüne ait tüm özgün fraksiyonları içeren bir komplekstir (17).

Ekinokokun Antijenik Bileşenleri

İmmünize tavşan serumunda *E. granulosus* için 23 ve *E. multilocularis* için 27 farklı antijenik komponent olduğu gösterilmiştir (18). Bununla beraber dikkatler kist sıvısı ve protoskolekslerde bulunan iki majör lipoproteinde yoğunlaşmıştır. Antijen 5, çimlenme zarında, protoskolekslerin parankiminde ve boşaltım sistemlerinde bulunur (16,18). İmmüno-difüzyon veya immünoelektroforez testlerinde bir jelin içine optimal konsantrasyonlarda antijen ve antikor molekülleri konulunca, molekül göçü esnasında antijen antikor ile karşılaştığında çökerek presipitasyon bandı meydana getirir. Chord ve Kagan, kist sıvı antijenlerinin aynı bölgede çok belirgin bir presipitasyon bandı verdiğini gözlemişler ve "Arc5" fenomeninden sorumlu antijenin adı böylece antijen 5 olmuştur (19,20). Antijen 5, molekül ağırlıkları 37-38 kDa ve 20-24 kDa olan iki alt ünitelerden oluşmaktadır (21,22). Enfeksiyondan sonra ilk saptanabilir dü-

zeyeye ulaşan antikorlardan biri de antijen 5'e yönelik antikorlardır. Buna karşın her olguda antijen 5'e yönelik antikor bulunmayabilir (1). Kist hidatikli olguların % 74'ünde, alveoler ekinokokkozis olanların % 58'inde immünoelektroforezde Arc5 bandı gözlenmiştir (22). Antijen 5'e yönelik antikorların alveoler ekinokokkozis dışında nörosistiserkozis olgularında da gözlenmesi (22) bu antijenin diğer Ekinokok türleri dışında *Taenia solium* tarafından da üretilebileceğini göstermektedir (20). Normal insan serumunda veya diğer parazit enfeksiyonu olanların serumunda antijen 5'i bağlayan antikorlar olsa da bunlar immünoelektroforezde Arc5 bandını oluşturamazlar (23).

Antijen B, termostabil bir lipoprotein olup 100 °C'ye 15 dakika dayanabilmektedir. Dış kütikülde, çimlenme kapsülünde ve protoskolekslerin dış örtüsünde bulunur (16,18,20). Antijen B, molekül ağırlıkları 8-12 kDa, 16 kDa ve 23-24 kDa olan üç alt ünitelerden oluşmaktadır (20,22). Antijen B, antijen 5'e göre daha az immünoreaktiftir (13). Önceleri antijen B'nin *E. granulosus* için spesifik olduğu sanılmış fakat daha sonra *E. multilocularis* ve *Schistosoma* türlerince de ekspres edilebileceği anlaşılmıştır (13). Bununla beraber sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi ve immüno-blotting gibi ileri teknikler ile yapılan çalışmalar antijen B'nin en küçük alt ünitesinin (8 kDa) ekinokok türüne özgü olduğunu göstermektedir (15,20).

Kist Hidatik Serolojisinde Çapraz Reaksiyonlar

Koyun, keçi, domuz ve insan kökenli hidatik kist sıvılarında molekül ağırlıkları 8-116 kDa arasında değişen en az 15 protein fraksiyonu olduğu, ancak bu fraksiyonlardan 8 kDa ve 116 kDa'luk fraksiyonlara sadece operasyonla kist hidatik olduğu ispatlanmış olgularda rastlandığı bildirilmiştir. Diğer fraksiyonlar ise başka bir parazit enfeksiyonlu hasta serumlarıyla çapraz reaksiyon vermiştir (24). Kist hidatik tanısında kullanılan serolojik testler ortak antijenler nedeniyle, *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana*, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Fasciola hepatica*, *Schistosoma mansoni*, *Toxocara canis*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, *Oncocerca volvulus*, *Plasmodium* enfeksiyonlarında yanlış pozitiflik verebilir (25-27). En fazla yanlış pozitiflik oranı *Taenia* türlerinde olmakla beraber bu enfeksiyonların % 3-6 kadarında hidatidoz serolojisi pozitif çıkmaktadır (25). Bu yanlış pozitifliklerden başlıca disülfid köprüsüyle birbirine bağlanan 38 kDa ve 20 kDa'lık bir molekül sorumludur (28).

Serolojik testlerde kullanılan antijenler, evcil hayvanlardaki fertil kist hidatik sıvısından soyutlanmaktadır. Bununla beraber kist sıvısında sadece parazit kökenli materyal değil aynı zamanda konakçının serum komponentleri de bulunmaktadır (16,23). Konakçı kökenli protein ve antikorlar ise yanlış negatiflik ve pozitifliğin bir başka nedenidir.

P1 antijeni hem kist sıvısında hem de kanserli hastaların serumunda bulunabilen bir antijendir (29). Yapılan bir araştırmada 200 sağlıklı bireyin birinde ve 270 kanserli hastanın ise 17'sinde (% 6.3) kist hidatik serolojisi pozitif çıkmıştır (22). Hodgkin hastalığı, lenfoma, lösemi, multipl myelom, akciğer kanseri ve hepatosellüler karsinom yanlış pozitifliğin bildirildiği kanser tipleridir (30-32). Bununla beraber tüberküloz, siroz ve kollagen doku hastalıkları seyrinde de yanlış pozitiflik görülebilmektedir (16,31).

Fosforilkolin surfaktanın yapısında yer alan ve yüzey geriliminin düşmesinden sorumlu en önemli moleküllerden biridir (33). Ekinokok dış yüzeyine yer yer koyduğu fosforilkolin molekülleri sayesinde kendi antijenik yapısını konakçıdan saklayabilir, modifiye edebilir ve bu sayede parazite yüksek afiniteli yerine düşük afiniteli antikor oluşumuna neden olur. Normal insanlarda anti-fosforilkolin antikorları bulunabilir ve bu da başka bir yanlış pozitiflik nedenidir (28).

Kist Hidatik Aşısı

Kistlerden elde edilen antijenlerle oluşturulan immünite sadece kist oluşumundan sonraki devreye etkilidir. Kistlerin boyutunun küçük kalmasına veya kistin kalsifikasyonuna neden olabilmekte ama kist oluşumunu engelleyememektedir. Deneysel çalışmalar hidatidozda aşılama için onkosferlerden elde edilen antijenlerin en uygun olduğunu göstermiştir. Bu antijenlerden özellikle EG95 koyunlarda % 96 koruyuculuk sağlamıştır. EG95 aşısı, bir ay arayla iki kez kas içine enjekte edildiğinde en az bir yıl koruma sağlamaktadır. Oluşan IgG antikorları kompleman varlığında onkosferi lizise uğratarak metasestoda dönüşmesini engellemektedir. Yalnız uzun süre yüksek antikor titreleri için aşının adjuvan ile birlikte kullanılması gerekir. Koruma oranı adjuvansız % 18 iken adjuvan ile % 96-98 'e çıkmaktadır (34).

Kaynaklar

- Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of Echinococcosis. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5: 248-61.
- Wangoo A, Ganguly NK, Mahajan RC. Specific T cell cytotoxicity in experimental Echinococcus granulosus infected mice. *Indian J Med Res* 1987; 86: 588-90.
- Ali Khan Z, Rausch RL. Demonstration of amyloid and immune complex deposits in renal and hepatic parenchyma of Alaskan alveolar hydatid disease patients. *Ann Trop Med Parasitol* 1987; 81: 381-92.
- Rickard MD. Serological diagnosis and post-operative surveillance of human hydatid disease. Latex agglutination and immunoelectrophoresis using crude cyst fluid antigen. *Pathology* 1984; 16: 207-10.
- Sahip N, Uysal H, Öztoprak A. 1993-2000 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesinde incelenen kist hidatik ön tanılı olguların serolojik sonuçları. *T Parazit Derg* 2001; 25: 236-8.
- Shambesh MK, Craig PS, Wen H, et al. IgG1 and IgG4 serum antibody responses in asymptomatic and clinically expressed cystic echinococcosis patients. *Acta Trop* 1997; 64: 53-63.
- Evengard B, Hammarstrom L, Smith CI, et al. Subclass distribution and IgE responses after treatment in human schistosomiasis. *Clin Exp Immunol* 1988; 73: 383-8.
- Brown SJ, Askenase PW. Immune rejection of ectoparasites (ticks) by T cell and IgG1 antibody recruitment of basophils and eosinophils. *Fed Proc* 1983; 42: 1744-9.
- Lange AM, Yutanaviboonchai W, Scott P, Abraham D. IL-4- and IL-5-dependent protective immunity to *Onchocerca volvulus* infective larvae in BALB/cBYJ mice. *J Immunol* 1994; 153: 205-11.
- Chan SY, De Bruyne LA, Goodman RE, et al. In vivo depletion of CD8+ T cells results in Th2 cytokine production and alternate mechanisms of allograft rejection. *Transplantation* 1995; 59: 1155-61.
- Ameglio F, Saba F, Bitti A, et al. Antibody reactivity to HLA classes I and II in sera from patients with hydatidosis. *J Infect Dis* 1987; 156: 673-6.
- Ellis ME, Sinner W, Asraf Ali M, Hussain Qadri SM. Echinococcal disease and mycobacterial infection. *Ann Trop Med Parasitol* 1991; 85: 243-51.
- Sbihi Y, Rmiqui A, Rodriguez-Cabezas MN, et al. Comparative sensitivity of six serological tests and diagnostic value of ELISA using purified antigen in hydatidosis. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 14-8.
- Gottstein B, Eckert J, Michael SA, Thompson RCA. Echinococcus granulosus: immunoelectrophoresis and Western blot analysis of hydatid cyst fluids. *Parasitol Res* 1987; 73: 186-9.
- Mamuti B, Yamasaki H, Sako Y, et al. Usefulness of hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic echinococcosis in humans. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 573-6.
- Karaman Ü, Atambay M, Aycan ÖM, Daldal N. İndirekt hemagglütinasyon tekniğinde (IHA) insan, inek ve koyun antijenlerinin karşılaştırılması. *T Parazit Derg* 2002; 26: 251-3.
- Leggatt GR, Yong W, McManus DP. Serological evaluation of the 12 kDa subunit of antigen B in E. granulosus cyst fluid by immunoblot analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 189-92.
- Gökçen A. Kist hidatik ve aşısı. *T Parazit Derg* 2000; 24: 419-25.
- Chordi A, Kagan IG. Identification and characterization of antigenic components of sheep hydatid fluid by immunoelectrophoresis. *J Parasitol* 1965; 51: 63-71.
- Maddison SE, Slemenda SB, Schantz PM, et al. A specific diagnostic antigen of E. granulosus with apparent molecular weight of 8 kDa. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40: 377-83.
- Sbihi Y, Janssen D, Osuna A. Serologic recognition of hydatid cyst antigens using different purification methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24: 205-11.
- Poretti D, Felleisen E, Grimm F, et al. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 193-8.
- Lightowers MW, Liu D, Haralambous A, Rickard MD. Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of Echinococcus granulosus. *Mol Biochem Parasitol* 1989; 37: 171-82.
- Kanwar JR, Kaushik SP, Sawhney IM, et al. Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognized by immunoblotting. *J Med Microbiol* 1992; 36: 46-51.
- Yazar S, Altıntaş N. Cystic echinococcosis (CE) 'in serolojik tanısında karşılaşılan çapraz reaksiyonların araştırılması. *T Parazit Derg* 1999; 23: 129-32.
- Sjölander A, Guisantes JA, Torres Rodriguez JM, Schroder H. The diagnosis of human hydatidosis by measurement of specific IgE antibody by enzyme immunoassay. *Scand J Infect Dis* 1989; 21: 213-8.
- Zarzosa MP, Domingo AO, Gutierrez P, et al. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35: 255-62.
- Shepherd JC, McManus DP. Specific and cross-reactive antigens of Echinococcus granulosus hydatid cyst fluid. *Mol Biochem Parasitol* 1987; 25: 143-54.
- Kuru C, Baysal B. Uniloküler kistik ekinokokkozis 'in tanısında indirekt hemagglütinasyon yönteminin değeri. *T Parazit Derg* 1999; 23: 251-4.
- 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: 41-6.
- Yalçınöz MC, Tarlan Ş, Güder M ve ark. Akciğer hidatik kist hastalığında serolojik yöntemlerin tanı değerleri ve karşılaştırılmaları. *Heybeliada Tıp Bülteni* 1996; 2: 21-4.
- Baran R, Baysal M, Kır A ve ark. Akciğerin hidatik kist hastalığında spesifik IgG-ELISA yönteminin tanısallık değeri. *Solunum Hastalıkları* 1994; 5: 197-202.
- Dobbs LG. Pulmonary surfactant. *Ann Rev Med* 1989; 40: 431-46.
- Şenlik B. Hidatidosis ve sistiserkosis 'te aşılama. *T Parazit Derg* 2001; 25: 296-300.