

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**KARACİĞER ALVEOLER EKİNOKOK
HASTALARINDA PERİFERİK KAN
LENFOSİT ALT GRUPLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mehmet Yusuf GÖGEBAKAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK

ERZURUM-2024



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Adı, Soyadı : MEHMET YUSUF GÖGEBAKAN	Sınav tarihi: 30 / 11 / 2023
Anabilim Dalı : TIBBİ BİYOKİMYA	
Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: NURİNNİSA ÖZTÜRK 29/06/2022	
Tezin Konusu ve Başlığı : Karaciğer Alveolar Ekinokok Hastalarında Periferik Kan Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirilmesi	
Belirlenme Tarihi : 01/02/2022	
Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi ☐ Klinik Çalışmalar ☐ Prospektif ☐ Retrospektif ☐ Kesitsel ☒ Laboratuvar Çalışmaları ☐ Invitro (Cansız) Çalışmaları ☐ Hayvan Çalışmaları	
Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☒ Yüz yüze katılım sağlanarak ☐ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)	

II. KARAR
Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçen tezsinin, jüri üyelerince "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak; ☒ Kabulüne
1.Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY'nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)
2.Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY'nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişkisinin kesilmesine)
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

IV. JÜRİ ÜYELERİ				
	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ	Tıbbi Biyokimya	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Esra LALOĞLU	Tıbbi Biyokimya	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLolar DİZİNİ	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
KISALTMALAR DİZİNİ	v
TEŞEKKÜR	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. <i>E. alveolaris</i> 'in Yaşam Döngüsü	4
2.2. <i>E. alveolaris</i> 'in Farklı Formlarının Yapıları	6
2.3. Epidemiyoloji	8
2.4. Konak – Parazit İlişkisi	9
2.5. Patogenez	12
2.6. Klinik.....	13
2.6.1. Semptom ve Bulgular	13
2.6.2. Tanı.....	14
2.6.3. Tedavi	15
2.7. İmmün sistem	16
2.7.1. B Lenfositler.....	19
2.7.2. T Lenfositler	26
2.7.2.1. CD4+ T Lenfositler	33
2.7.2.2. CD 8 T Lenfositler.....	36
2.7.3. NK Hücre Alt Grupları.....	38
2.8. Akan Hücre Ölçer.....	39
2.8.1. Temel Bileşenleri	40
2.8.2. Çalışma Prensibi.....	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1. Flow Sitometri Analizi	43
3.2. Yöntem	45

4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR	62



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. CD4+ T lenfosit alt grupları ve özellikleri.....	36
Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar	44
Tablo 3. Panel ve antikor bilgileri	44
Tablo 4. Katılımcıların Demografik Özellikleri ve p değerleri	48
Tablo 5. Alveolar Ekinokokkozis hastaları ve kontrol grubunun hemogram parametreleri ve istatistik anlamlılık değerleri.....	49
Tablo 6. AE Hastaları ve Kontrol Grubunun Lenfosit Alt Grup Değerleri ve İstatistik Anlamlılık Değerleri.....	50
Tablo 7. Alveolar Ekinokokkozis Hastaları ve Kontrol Grubunun Yardımcı T Hücreleri Alt Grup Değerleri ve İstatistik Anlamlılık Değerleri	51
Tablo 8. AE Hastaları ve Kontrol Grubunun Sitotoksik T hücreleri Alt Grup Değerleri ve İstatistik Anlamlılık Değerleri.....	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Echinococcus multilocularis</i> parazitlerinin yaşam döngüsü.....	6
Şekil 2. <i>Echinococcus multilocularis</i> 'in yetişkinlerinin yapısı	7
Şekil 3. AE kistinin yapısı	8
Şekil 4. İnsan AE vakalarının Türkiye'deki dağılımı	9
Şekil 5. Karaciğerde alveolar kistin makroskopik görüntüsü	13
Şekil 6. Doğal ve edinsel bağışıklık sistemi hücreleri	17
Şekil 7. B lenfosit yüzey belirteçleri.....	19
Şekil 8. Naif B lenfosit göç yolu.....	21
Şekil 9. T bağımlı ve bağımsız B lenfosit aktivasyonu. a) T lenfosit bağımsız yanıt b) T lenfosit bağımlı yanıt.....	22
Şekil 10. Solübl antijen ile B lenfosit aktivasyonu a) Kompleman C3d proteini ve b) TLR aracılığı ile B lenfosit proliferasyonu ve farklılaşması.....	23
Şekil 11. B lenfosit ve yardımcı T lenfosit etkileşimi	24
Şekil 12. B lenfosit aktivasyon yolağı ve germinal merkez reaksiyonları.....	26
Şekil 13. T hücre reseptör çeşitleri	27
Şekil 14. T lenfosit yüzey belirteçlerinden bazıları	28
Şekil 15. CD4+ ve CD8+ lenfosit ASH etkileşimi	29
Şekil 16. ASH ve T lenfosit yüzey reseptörlerinin etkileşimi	30
Şekil 17. ASH ile etkileşim sonrası T lenfosit aktivasyonu.....	31
Şekil 18. Treg hücrelerin dendritik hücre ve T lenfositleri baskılama fonksiyonu	34
Şekil 19. Granzim ve perforin ile CD8+ sitotoksik aktivitesi.....	37
Şekil 20. CD8+ Tc'lerin kansere karşı immün yanıtları.	38
Şekil 21. Flow sitometrinin temel bileşenleri.	40
Şekil 22. Flow sitometrinin çalışma prensibi.....	41
Şekil 23. Lenfosit Alt Grup Belirleme İçin Akım Sitometri İle Kapılama Stratejisi.....	46

KISALTMALAR DİZİNİ

AE	Alveolar ekinokokkoz
AID	Sitidin deaminaz
ASH	Antijen sunucu Hücre
BC	B hücresi
Bcl 6	B-cell lymphoma 6
BCR	B hücre reseptörü
BMZ	Benzimidazol
CCR7	C-C kemokin reseptör tip 7
CD	Başkalaşım kümesi
CLP	Ortak lenfoid progenitörler
COVID-19	SARS-CoV-2 virus hastalığı
CR2	Kompleman reseptörü 2
CXCL13	C-X-C kemokin ligandı 13
CXCR4	C-X-C kemokin reseptör tip 4
DN	Çift negatif
DP	Çift pozitif
EDTA	di-potasyum etilen diamin tetra asetik asit
Fo BC	Folikuler B hücresi
FSC	İleri açılı ışık saçılması
GM	Germinal merkez
HIV	Human immun deficiency virus, insan immun yetmezlik virusu
ICAM-1	Hücrel adezyon molekülü-1
IFN	İnterferon
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin
IL-2R	IL-2 reseptörü
Kİ	Kemik iliği
LFA-1	Lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1
MHC	Büyük doku uyum kompleksi
MZ BC	Marjinal zon B hücresi

NK	Doğal öldürücü
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
S1P	Sfingosin-1-fosfat
S1PR1	Sfingosin-1-fosfat reseptörü
SP	Tek pozitif
SSC	Yan açığı saçılması
Tc	Sitotoksik T
TCM	Merkezi hafıza T lenfositleri
TCR	T hücre reseptörü
TEM	Etkili hafıza T lenfositler
TEMRA	Terminal diferansiyasyon efektör bellek
TFH	T foliküler yardımcı hücreleri
TFR	Foliküler regülatör T
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörü
Th1	Yardımcı T 1
Th17	Yardımcı T 17
Th2	Yardımcı T 2
TLR	Toll benzeri reseptör
Tn	Naif T hücresi
Treg	Regülatuar T
$\alpha\beta$ TCR	Alfa-beta T hücresi reseptörleri

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, beni ileriki meslek yaşantıma eksiksiz olarak hazırlamak için büyük uğraş veren, bilgi, deneyim ve enerjisi ile her zaman yanımda olan, danışmanım Sayın Prof. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e tez çalışmam boyunca sağladığı sonsuz destek için teşekkürlerimi sunuyorum.

Destekleri ve emekleri sayesinde tez çalışmamı ve diğer akademik çalışmalarımı yürütmemde bana emek veren çok kıymetli hocam Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ' a teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora eğitimim boyunca bilgilerinden yararlandığım, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, bölümümüz değerli hocalarına ve asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim. Tezimin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen bölüm personellerimize de ayrıca teşekkür ederim. Bu çalışmayı TTU-2023-12734 proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi BAP birimine teşekkürlerimi sunarım. Son olarak hayatım boyunca bana maddi manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama, kardeşlerime teşekkür ederim. Çalışmamın ilk aşamasından sonuna kadar aralıksız şekilde bana destek olan sevgili eşim Dr Kübra Gögebakan'a ve biricik oğlum Ömer Bera'ya teşekkür ederim.

Mehmet Yusuf GÖGEBAKAN

ÖZET

Karaciğer Alveoler Ekinokok Hastalarında Periferik Kan Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirilmesi

Amaç: Alveolar ekinokokkoz hastalığı *Echinococcus multilocularis* paraziti ile enfekte insanlarda gelişen, ülkemizde endemik olarak görülen ve sıklıkla karaciğeri tutmasına rağmen uzak organ metastazı da yapabilen zoonotik bir enfestasyondur. Tedavisiz kalması durumunda %90'ın üzerine çıkan mortalitesiyle ülkemizde ciddi bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir.

Bu araştırmanın amacı, alveolar ekinokokkoz hastalarında hemogram parametreleri ile birlikte lenfosit alt gruplarında olası değişiklikleri araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya 18 yaş ve üzeri görüntüleme yöntemleriyle ön tanısı konmuş, serolojiyle tanısı desteklenmiş 30 alveolar ekinokokkoz hastası ile 30 sağlıklı yetişkin dahil edildi. Kan örneklerinden akım sitometri ile lökosit, lenfosit, eozinofil, bazofil, nötrofil, monosit, CD3+ lenfosit, CD4+ lenfosit, CD8+ lenfosit, CD 16+ natural killer, CD 16+ 56+ natural killer, CD19+ B lenfosit, CD 4+ veya 8+ efektör bellek T Hücreleri, santral bellek T lenfosit, terminal diferansiye efektör bellek T lenfosit, naif T lenfosit, yeni timik göç yaşayan T lenfositlerin hem sayıları hem de oranları belirlendi.

Bulgular: Çalışmamızda lökosit sayı ve alt gruplarını değerlendirdiğimizde, nötrofil, eozinofil mutlak sayı ve yüzdelерinin alveolar ekinokokkoz hastalarında yüksek olduğunu belirledik. Her iki hücre grubu değеr ortalamaları referans aralık değеrleri içerisinde olmalarına rağmen kontrol grubuna göre daha yüksekti. alveolar ekinokokkoz hastaları ve kontrol grubunun lenfosit alt grup mutlak sayı ve yüzde değеrleri her iki grup arasında benzerdi. Yardımcı T hücreleri alt grup değеrleri karşılaştırıldığında, TEM CD4+ ve TEMRA CD4+ mutlak sayı ve yüzde değеrleri alveolar ekinokokkoz hastalarında yüksek, TCM CD4+, TN CD4+ ve RTEs hücre mutlak sayıları ve yüzdelерinin ise daha düşük olduğunu belirledik. Sitotoksik T hücreleri alt gruplarında ise TEM CD8+ hücreleri mutlak sayı ve yüzde değеrlerinin

alveolar ekinokokkoz hastalarında yüksek, TN CD8+ hücre mutlak sayıları ve yüzde değerlerinin daha düşük olduğunu belirledik.

Sonuç: Gelecekte yeni immünoterapötik yaklaşımların geliştirilmesi ve alveolar ekinokokkoz hastalarında hastalık tablosunun ilerlemesiyle ilişkili tükenmiş T hücrelerini hedeflemek için çalışmamızın sonuçları önemli olabilir. Bizim çalışmamızda numunelerimiz parazitin olduğu dokudan değil kandan elde edilmiştir. Alveolar ekinokokkoz hastalığının sadece bölgesel tutulumlu ve lokal destrüktif özellikler taşıyan bir hastalık değil, sistemik bir hastalık olması sebebiyle kandan alınan örneklerde immunolojik etkiler görülebilmektedir. Buradan hareketle hastalığın tedavisiyle uğraşan ekiplere, özellikle lokal tedavisi mümkün olmayan veya anti-parazitik ilaçların etkinliğinin sınırlı olduğu durumlarda hem bu ilaçların etkinliğinin artırılması hem de bu ilaçlara alternatif geliştirilmesinde immünoterapi yaklaşımlarını dikkate almaları önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: alveolar ekinokokkoz, CD4+ T lenfosit alt grupları, CD8+ T lenfosit alt grupları, akım sitometri

ABSTRACT

Evaluation of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Patients with Hepatic Alveolar Echinococcosis

Objective: Alveolar echinococcosis is a zoonotic infestation prevalent as an endemic disease in our country, caused by the *Echinococcus multilocularis* parasite. It often affects the liver and can lead to distant organ metastasis. In the absence of treatment, with a mortality rate exceeding 90%, it is recognized as a significant health concern in our country.

The aim of this study is to investigate possible changes in lymphocyte subgroups along with hemogram parameters in patients with alveolar echinococcosis.

Materials and Methods: The study included 30 patients diagnosed through imaging methods and serology, aged 18 and above, with alveolar echinococcosis, and 30 healthy adults. Flow cytometry was used to measure the numbers and ratios of leukocytes, lymphocytes, eosinophils, basophils, neutrophils, monocytes, CD3+ lymphocytes, CD4+ lymphocytes, CD8+ lymphocytes, CD16+ natural killer cells, CD16+56+ natural killer cells, CD19+ B lymphocytes, CD4+ or 8+ effector memory T cells, central memory T cells, terminal differentiated effector memory T cells, naive T lymphocytes, and recent thymic emigrant T lymphocytes from blood samples.

Results: We evaluating leukocyte count and subgroups in our study, we found that the absolute counts and percentages of neutrophils and eosinophils were elevated in alveolar echinococcosis patients. Although the mean values of both cell groups were within the reference range, they were higher compared to the control group. The absolute counts and percentage values of lymphocyte subgroups were similar between alveolar echinococcosis patients and the control group. We compared the values of helper T cell subgroups, and we found that the absolute counts and percentages of TEM CD4+ and TEMRA CD4+ were elevated in alveolar echinococcosis patients. The absolute counts and percentages of TCM CD4+, TN

CD4+, and RTEs cells were lower in alveolar echinococcosis patients. In cytotoxic T cell subsets, we found that TEM CD8+ cell absolute counts and percentages were higher in alveolar echinococcosis patients, while TN CD8+ cell absolute counts and percentages were lower.

Conclusion: In the future, expanding this study may be crucial for gaining a better understanding of exhausted T lymphocytes associated with the progression of the disease in alveolar echinococcosis patients and for the development of new immunotherapeutic approaches. In our study, our samples were obtained from blood, not from the tissue containing the parasite. Since alveolar echinococcosis disease is not only a disease with regional involvement and local destructive properties, but also a systemic disease, its immunological consequences can be seen in blood samples. Based on this, clinicians may be advised to consider immunotherapeutic approaches to both increase the effectiveness of these drugs and develop alternatives to these drugs, especially in cases where local treatment is not possible or the effectiveness of anti-parasitic drugs is limited.

Keywords: alveolar echinococcosis, CD4+ T lymphocyte subsets, CD8+ T lymphocyte subsets, flow cytometry

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan ekinokok hastalığı ekinokok tenyalarının neden olduğu zoonotik bir enfestasyondur. *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) kistik ekinokokkoz hastalığının etkeni iken *Echinococcus multilocularis* (*E. Multilocularis*) ya da diğer adıyla *Echinococcus alveolaris* (*E.alveolaris*) alveoler ekinokokkozis (AE) hastalığının etkeni olan parazittir. Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi bu hastalık açısından endemik bir bölgedir (1-4). *E.Multilocularis*'in larva formu olan metasestod insan vücudunda herhangi bir organda gelişebilir ancak bağırsaklardan portal dolaşım ile geldiği karaciğer en sık tuttuğu organdır. Genel olarak 5-15 yıl semptom göstermeyen kuluçka döneminin ardından karaciğerde ağır ağır büyüyen tümöral lezyona dönüşür. Kilo kaybı, halsizlik, abdominal ağrı gibi non-spesifik bulgular olabileceği gibi bazı vakalarda karaciğer yetmezliği, multiple organ tutulumları, hatta ölüm görülebilmektedir. Larvaların kan ve lenf yolu ile yayılması sonucu lokal invazyon ve uzak metastazlar görülebilir. Bölgesel invazyondan en fazla etkilenen bölgeler; diyafram, periton, hepatoduodenal ligament, perikard, plevra, akciğerler, böbreküstü bezleri, böbrekler, hepatik venler ve inferior vena kavadır. Uzak metastazlar akciğer, beyin, kemik ve dalakta görülebilir (5-8). Bu hastalarda tekrarlayan kolanjit, sekonder biliyer siroz veya Budd-Chiari sendromu gibi önemli hepatobiliyer komplikasyonlar görülebilir (9-11). Tedavi edilmediğinde, AE'de ölüm oranı tanıdan sonraki 10-15 yıl içinde % 90'nın üzerindedir (12). Cerrahi rezeksiyon tek küratif seçenektir ancak hastaların çoğu ileri evrede teşhis edilir ve bu geç dönemlerde rezektabilite düşüktür. Karaciğer ve komşu organlarda rezeke edilemeyen kitlesi olan ve uzak metastazı olmayan olgularda karaciğer transplantasyonu diğer bir küratif seçenektir (13, 14). *E. multilocularis* karaciğere yerleştiği andan itibaren etrafında fibröz bir perikist oluşuma neden olur. Bu reaksiyon vücudun kiste karşı oluşturduğu güçlü bir inflamatuvar reaksiyondur. Oluşan reaksiyonun şiddeti aslında hastalığın nasıl seyredeceği hakkında da bilgi içerir. Bazı hastalarda hastalık hiç ilerleyemeden abortif form ile sonlanır. Bu hastalıkta savunma reaksiyonunda etkili başlıca hücreler T lenfositlerdir (15, 16). İnsanlarda *E. multilocularis* enfestasyonu sırasında, yardımcı T 2 (T helper 2, Th2) yönelimli bir bağışıklık kronik ve ilerleyici AE'ye yol açarken, yardımcı T 1 (T

helper 1, Th1) hücre aktivasyonu abortif (died-out, sönmüş) enfestasyona neden olur (17, 18). Th1 erken dönemde ilk reaksiyonu gösterirken devamında Th2 kronik hastalık aşamasındaki esas savunma hücresidir.

CD4+CD25+FoxP3+ regülatuar T (Treg) hücreleri ve yardımcı T17 (T helper 17, Th17) hücreleri enflamasyonda rol oynayan en önemli iki hücre alt grubu olup Th17/Treg dengesi inflamasyonu kontrol etmede ve immün cevaptan kaçış patogeneğinde önemli rol oynar. Tuxun T. ve ark. (15) *Ecinococcus* ile enfekte kişilerde Treg hücrelerinin arttığını, Th17 hücrelerinin azaldığını ve bu durumun parazitin konağın immün cevabından korunmasında önemli olduğunu savunmuşlardır. Ayrıca Nono ve ark (16) intraperitoneal olarak *E. multilocularis* ile enfekte olmuş farelerin intraperitoneal hücrelerinde *E. multilocularis* antijenlerinin T hücrelerinin Treg hücrelerine farklılaşmasını teşvik ettiğini ve CD4+CD25+ Treg hücrelerinin arttığını bildirmişlerdir.

Dai ve ark. (19) yaptıkları çalışmalarında farelerde CD4+ $\alpha\beta$ + T hücrelerinin *E. multilocularis* proliferasyonun sınırlamada önemli rol oynadıklarını ancak CD8+ T lenfositlerin ve B hücrelerinin paraziti büyümesinin kontrolünde daha az rol oynadıklarını belirlemişlerdir. Manfras ve ark. (20) ise aktive CD8+ T hücre sayısının AE'nin kronik safhasında arttığını bildirmişlerdir. B hücre ve antikör aracılı cevabın bakterilere karşı etkileri iyi bilinmesine rağmen *E. multilocularis* gibi parazitlere karşı etkinlikleri tam olarak açıklanamamıştır. Dai ve ark. (19) yaptıkları çalışmalarda matür B hücresi eksik olan farelerin, parazit büyümesi için bir yatkınlıklarının olmadığını ancak larvanın koruyucu karbonhidrat açısından zengin lamine tabaka tarafından korumasını kaybettiğinde, yani antikörlere erişilebilir hale geldiğinde, bağışıklık sisteminin paraziti öldürme potansiyeli kazanacağını bildirmişlerdir. Lenfositler T, B ve doğal öldürücü (Natural killer, NK) hücreler olmak üzere kabaca 3 sınıftan oluşur. Dolaşımdaki lenfositlerin % 80'nini T hücreleri %10'nunu B hücreleri ve % 10'nunu ise NK hücreleri oluşturmaktadır. T hücre maturasyon süreçlerinde timusdan CD4 ve CD 8 pozitif (single pozitif) olarak perifere çıktıktan sonra naïve CD4+ T helper hücreler sitokin sinyalleri ile Th1, Th2, Th17 ve Treg fenotiplerine doğru farklılaşmak üzere indüklenir. Sitotoksik T (Tc) hücreleri virüs bulaşmış ve tümör hücrelerini yok eder ve transplant reddinde rol

oyunlar. Yardımcı CD4⁺ T hücreleri, immünolojik süreçlerde diğer lökositlere yardımcı olur. Düzenleyici CD4⁺ T hücreleri ise immünolojik toleransın devam ettirilmesinde fonksiyoneldirler (21). Dolaşımdaki T hücrelerinin % 95'i T hücre reseptörü (TCR) alfa/beta pozitif iken kalan %5 den az kısmı ise TCR gamma/delta pozitifler. % 1-4'lük bir kısmı ise T regülatuar (Treg) hücreler ve NK hücrelerdir. CD4⁺ hücreler immünofenotipik olarak pan T lenfosit markırı olan CD3⁺ pozitifler ve CD8⁻ negatiftirler. CD8⁺ T lenfositler ise CD3⁺CD8⁺CD4⁻tirler. Diğer T lenfositler CD4⁺CD8⁺ double pozitif, CD4⁺CD25⁺ ve CD3⁺HLA-DR⁺ aktive T hücreler, CD4⁺CD45RA⁺ naive T hücreler ve CD4⁺CD45RO⁺ memory T hücreleri olarak immünofenotipik olarak gösterilen T hücre alt grupları olarak dolaşan kanda bulunur. B hücreleri CD19⁺CD20⁺ pozitifler. CD19⁺CD23⁺ aktive B hücreler ve CD19⁺CD38⁺ early B hücreleri olarak immünofenotipik olarak gösterilir. NK hücreleri CD16⁺CD56⁺, CD16⁺, CD16⁺CD56⁺ ve CD3⁺CD56⁺ NKT hücreleri olmak üzere NK hücre alt grupları olarak tanınırlar.

Parazit büyümesini kontrol etmede immün sistem hücrelerinin münferit etkileri kanıtlanmamıştır. Bizde bu çalışmada cerrahi tedavi planlanan AE hastalarının tanı anında lenfosit alt gruplarını belirlemeyi ve lenfosit alt grup oranlarında olası değişikliklerin tanı amaçlı kullanımlarını değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Ekinokokkozis, plathelminth şubesine ait cestod sınıfının tenya ailesinden olan *Echinococcus* cinsi parazitlerden kaynaklanan bir zoonozdur. 6 çeşit *Echinococcus* vardır. Bunlar; *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis* (*alveolaris*), *Echinococcus vogeli* ve *Echinococcus oligarthus*'dur. İnsan hastalıklarından bu 4 alt grup sorumludur. *E. Felidis* ve *E. Shiquicus*'un insanlardaki patojeniteleri tam olarak bilinmemektedir (22). Bunlardan en patojenik olanı *E. alveolaris*'tir. *E. alveolaris* tüm ekinokokkal karaciğer lezyonlarının %3'üne neden olur (23). Hayat döngüsü tilki ve çeşitli yabani kemiriciler arasında seyreder. Tilkiler parazitin ana konakçı ya da diğer adıyla kesin konakçıdır. Ayrıca birçok vahşi avcı, evcil köpek ve kedide parazit bulunur. Kemiriciler ve sıçangiller de dahil olmak üzere çok sayıda tür yabani kemirgenlerin ara konakçı olduğu bildirilmiştir. İnsanlar geçici konakçıdırlar ve diğer ara konakçılar gibi tilki dışkısına bırakılan enfekte yumurtaların ağız yoluyla alınmasıyla enfekte olurlar. Yumurta ince bağırsakta açılarak portal sistem aracılığıyla karaciğere taşınır ve burada larva formu olan metasestod oluşur. Karaciğere yerleştikten sonra diğer organlara metastaz yapabilir ve mide bulantısı gibi basit bir semptomdan ölüme kadar gidebilen sonuçlara yol açar. Genellikle karaciğerin sağ lobu, metasestodların olduğu organdır. Lokal yayılım ile diyafram, portal ve kaval tutulumu görülebilir; akciğer, beyin, kemiklere metastaz yapabilir (24). AE olarak adlandırılan bu hastalık ölümcül, ilerleyici, invaziv bir enfestasyondur ve kötü prognozludur. En etkili tedavi olan radikal rezeksiyondan sonra bile hastalık ölümcül seyredebilir (2, 25, 26).

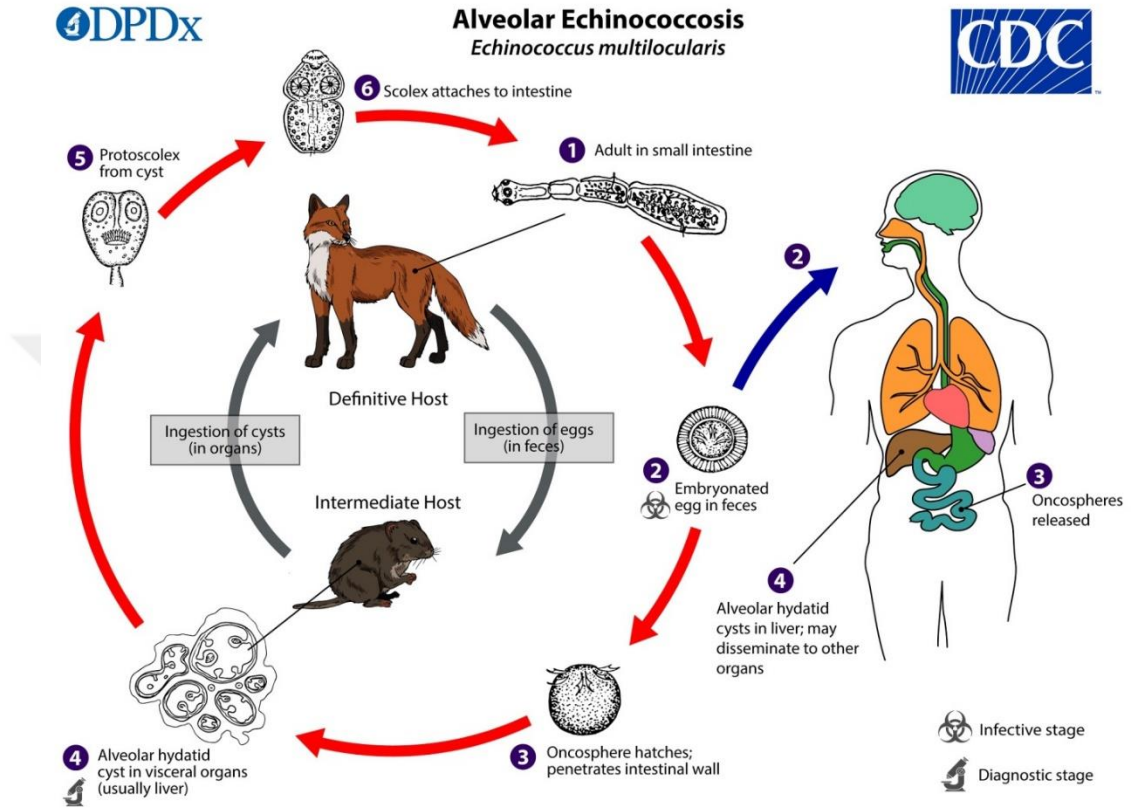
2.1. *E. alveolaris*'in Yaşam Döngüsü

E. alveolaris, yaşam döngüsünü tamamlamak için diğer cestodlar gibi iki konakçıya ihtiyaç duyar. Başlıca kesin konakçıları genellikle kızıl tilki, kutup tilkisi, çakal, yaban kedisi, kurt, evcil kedi ve köpeklerdir (27). *Echinococcus multilocularis*'in temel ara konakları, Arvicolidae familyasındaki kemirgenlerdir. Bunun yanı sıra, Soricidae, Sciuridae, Cricetidae, Talpidae, Muridae, Dipodidae ve Ochotonidae familyalarında yer alan çeşitli küçük memeliler de ara konak olarak görev yapabilirler. İnsanlar, evcil köpekler, atlar, bataklık kunduzları, evcil ve yabani

domuzlar, ayrıca maymunlar ve goriller gibi hayvanlar ise tesadüfi konaklar arasında bulunmaktadır. Tesadüfi ya da rastlantısal ya da kör nokta konak tabiri, parazitin kesin konağına geçişini engelleyen, bu sebeple gelişiminin tamamlanamamasına neden olan canlılardır. İnsanlar da rastlantısal konak oldukları için *Ecinocuccus* insan vücuduna geçtiğinde hayat döngüsü devam edemez (28).

Yetişkin parazitler, kesin konakçıların ince bağırsağında bulunurken larva formu ise ara konakçıların iç organlarında bulunur. Etçil kesin konakçılar, ara konağın vücudundaki kistin sindiriminden açığa çıkan protoskoleksin alınmasıyla enfekte olur. Protoskoleksler; enfekte dokunun tüketimi ile kesin konağın vücuduna alındıktan sonra, duodenum girişinde pH'da bir değişiklik ve safra ile etkileşimin bir sonucu olarak kesin konağın türüne bağlı olarak değişik zaman dilimlerinde yetişkin parazitler haline gelirler (29). Yetişkin parazit, kendisini kesin konakçının ince bağırsak mukozasına sıkıca bağlayarak hayatta kalır (30). *E. multilocularis*'in yetişkinleri, bağırsak içerikleriyle beslendikleri için dokulara nüfuz etmezler. Bu hastalık nedeniyle, kesin konakçıda birkaç bin parazit bulunan ciddi enfestasyonlarda bile genellikle asemptomatiktir. Kesin konakçılar için bulaşıcı larva aşaması olan metasestod yapıyı oluşturmak için farklı tipte ara konaklara gereksinim duyar (31). Bir ara konağın ya da rastlantısal konak olan insanın enfestasyonu, tükettiği gıda veya suyun parazit yumurtaları ile kontaminasyonu yoluyla gerçekleşir (23). Embriyolu yumurtaları ağızlarından alan ara konakçıların vücudunda larvalar oluşur. Mide ve ince bağırsağa giren yumurtalar sindirim enzimleri tarafından açılır ve içinden salınan onkosfer, kancalı hareketle doku çözücü enzimler sayesinde hızla bağırsak villus epiteline invaze olur ve lamina propriaya yayılır. Onkosfer, daha sonra venüle veya lenfatik damara girerek, kan ve lenfatik sıvı ile birlikte karaciğere aktarılır. Karaciğer kılcal damarlarının yapısal yoğunluğundan dolayı onkosferlerin bir kısmı burada kalırken, yapışamayanlar ise kalbe ve akciğerlere taşınırlar. Akciğer, karaciğerden sonra ikinci en sık tutulan organdır. Akciğere tutunamayanlar ise vücudun diğer doku ve organlarında yerleşerek yavaş yavaş kistik yapıları oluştururlar (28, 30). Enfekte insanlarda karaciğerde protoskoleks oluşumu görülmez ve metasestod aşamasını tamamlayamaz. Bu sebeple yaşam döngüsü insanda son bulur. Ara konak olan kemiricilerin dokularında ise metasestodlardan oluşan

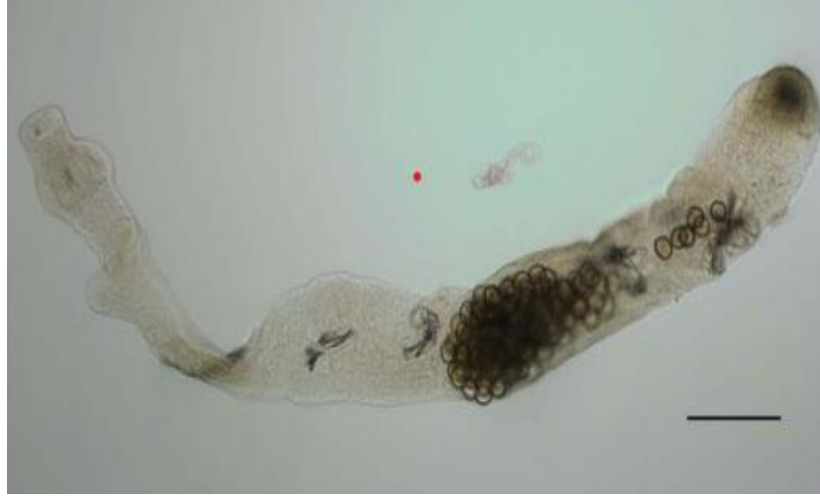
protoskoleksler; kesin konak olan etçil hayvanlar tarafından tüketilince bağırsaklarında yetiştirilen *E. alveolaris* oluşumu başlar ve döngü devam eder (şekil 1) (22-24, 27).



Şekil 1. *Echinococcus multilocularis* parazitlerinin yaşam döngüsü (32).

2.2. *E. alveolaris*'in Farklı Formlarının Yapıları

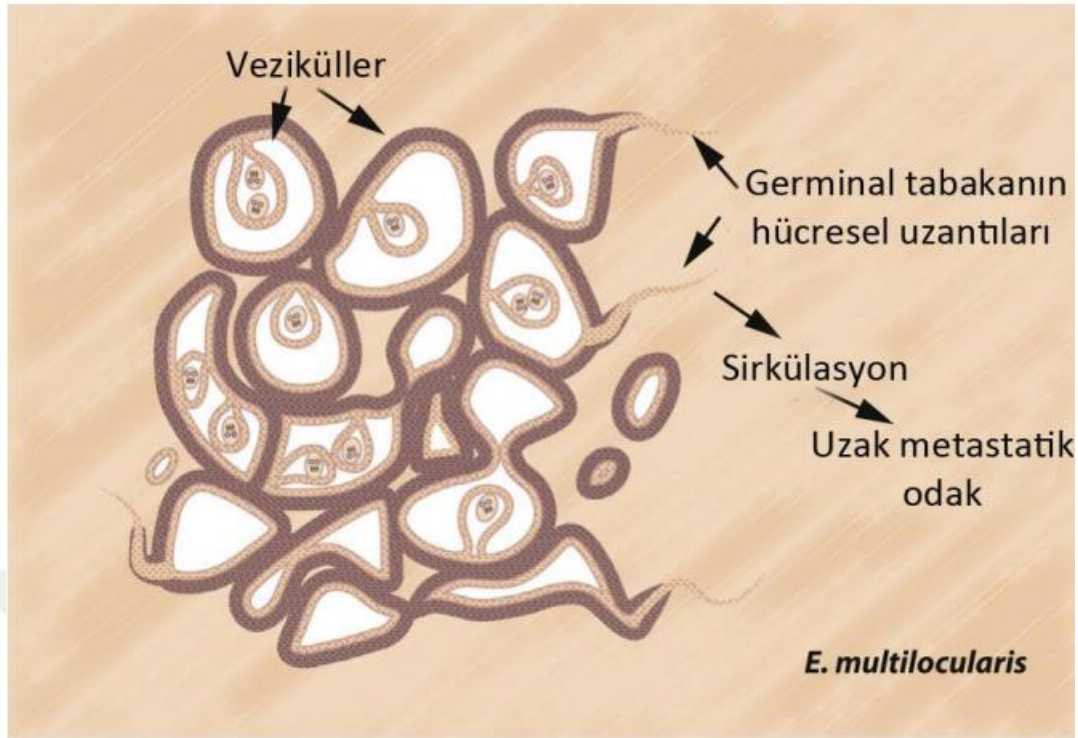
E. alveolaris; erişkin, metasestod ve yumurta formlarında bulunur. Erişkinleri ortalama 4 olmak üzere en fazla 6 halkadan oluşur. Birinci halkadaki skoleksler bağlanma organlarıdır. Skolekslerde 4 kas emici ve 2 kanca bulunur. İkinci halka boyun kısmıdır. Yetişkinlikte hermafrodit olan parazitin üçüncü kısmı, testisleri ve yumurtalıkları içerir. Son halka hamile halkadır ve yumurtaları içerir. Yetişkin parazit ortalama 1,2 - 4,5 mm ebatlarındadır (şekil 2). Ekinokokların bağırsağı olmadığı için metabolik süreçler tegumen adı verilen bir dış kabukta gerçekleşir (2, 23)



Şekil 2. *Echinococcus multilocularis*'in yetişkinlerinin yapısı (33)

Yumurtalar son konağın dışkıları ile atılır, yumurtaların çapı yaklaşık 30-40 mikrondur. Heksojenik bir embriyo (ilk larva) ve keratinize bir embriyosferden oluşur. Keratinize edici embriyosfer oldukça kararlı bir yapıya sahiptir. Suda bir hafta, toprakta on ay ve buzda dört ay yaşayabilirler. Isıya ve kurumaya karşı çok dayanıklı değildirler. Dış kapsül, konakçıdan ayrıldıktan sonra hızla çözünür (2, 22)

Yumurtalar ara konağa ya da geçici konak olan insan vücuduna girdiğinde dokuda metasetod denilen larva aşaması oluşur. Bu larva kistik ve multiloküler yapıdadır. İçinde kız keseleri ile protoskoleksleri barındırır. Alveolar kist veya multiloküler kist olarak adlandırılan bu yapı, adventisyal tabakaya (fibröz katman) sahip değildir. Kütiküler (laminar) katman zayıf ve kolayca yırtılabilir özelliktedir, ayrıca birbirleriyle bağlantılı boşluklara sahiptir. Bu özellikler nedeniyle kistin kesiti süngerimsi bir görünüme sahiptir. Kist sıvısı, jelatinimsi ve akışkan bir madde içerir; bu madde çevre dokuyu eritebilir özelliktedir. Kütiküler membranın ince olması ve konağın kiste karşı fibröz kapsül oluşturmaması, sıvının organ veya doku boşluklarına kolayca yayılmasına olanak tanır (şekil 3). Bu yayılan sıvı, kistin organda yayılmasına, ayrıca dağılan germinal hücrelerin proliferasyon olarak yeni kistlerin oluşmasına neden olabilir. Kan ve lenf yoluyla diğer organlara giderek metastazlara yol açar (23, 34, 35).



Şekil 3. AE kistin yapısı (36)

2.3. Epidemiyoloji

AE, Orta ve Doğu Avrupa, Kuzey Asya ve Kuzey Amerika'da endemiktir. Orta Avrupa, Baltık ülkeleri, Çin, Japonya, Moğolistan, Kırgızistan, Rusya, Alaska'nın batısı ve Türkiye gibi bazı ülkelerde yüksek yaygınlık bildirilmiştir. Dünyada son konaklar arasında *E. multilocularis*'in dağılımı ile doğal ve tesadüfi ara konaklarda alveolar kistlerin dağılımı hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Kuzey Arktik bölgesindeki kutup tilkilerinde (*Vulpes lagopus*) *E. multilocularis* yetişkinlerinin ortalama sıklığının %70'in üzerindeyken ara konakçılarda *E. multilocularis* kistlerinin sıklığının yaklaşık %40 olduğu bildirilmiştir. Avrupa'da kırmızı erişkin parazitlerin tilkilerde (*Vulpes vulpes*) yaygınlığı %0,1-80 iken, evcil ve yabani kedilerde bu oran %0,5-5,5 olarak bildirilmiştir. Yetişkin parazitlerin prevalansının Kuzey Amerika'daki tilkilerde %2-89, Asya'daki tilkilerde %60'ın üzerinde olduğu ve ara konaklarda metasetodların %1-11 arasında değiştiği rapor edilmiştir (12, 37). Dünya çapında yılda 18.000'den fazla AE vakasının meydana geldiği tahmin edilmektedir. Bu vakaların %91'i Çin'dedir (38). AE, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, ihmal edilen 20 tropikal hastalıktan biri olarak

tanımlanmıştır. *E. multilocularis*, gıda kaynaklı bir parazit olarak tanımlanmakta ve küresel çapta etki gösteren gıda kaynaklı 24 hastalık içinde üçüncü sırada yer almaktadır (39). Türkiye tropik ve subtropikal iklim kuşağında yer alması nedeniyle AE Türkiye’de nadir görülür (40). Doğu Anadolu bölgesi hastalık açısından endemiktir (1-4). Gürler ve ark. (41) Türkiye’de 2019’a kadar 641 ila 918 civarında insan AE vakasının olduğunu bildirmişlerdir. Türkiye’de *E. multilocularis*’in kesin ve ara konakçı prevalansı ile ilgili yapılmış çok az sayıda çalışma vardır (37). Çalışmamızın yapıldığı il olan Erzurum; Doğu Anadolu bölgesine sağlık hizmeti verdiğinden, Erzurum’da AE vakalarının görülme sıklığının gerçekte olduğundan daha yüksek görüldüğü bildirilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. İnsan AE vakalarının Türkiye’deki dağılımı (41)

2.4. Konak – Parazit İlişkisi

Bağışıklık sistemi ile birbirine zıt iki gereklilik yerine getirilmektedir. Bu yapısı ile bağışıklık sistemi, saldırgan patojenlere karşı etkili bir şekilde savaşmaktadır ve vücut için hastalık oluşturmaz ya da hatta hayatta kalmak için yararlı olan birçok flora bileşenini de tolere etmektedir. Parazitler, bağışıklık sistem cevabının iki zıt gerekliliği yani savaş ya da tolere etme durumunu incelemek için uygun modellerdir. Etkili bir bağışıklık cevabı parazitin ölümüne; yetersiz bir bağışıklık cevabı, hızlı büyüyen bir parazit tarafından konağın hasta olmasına yol

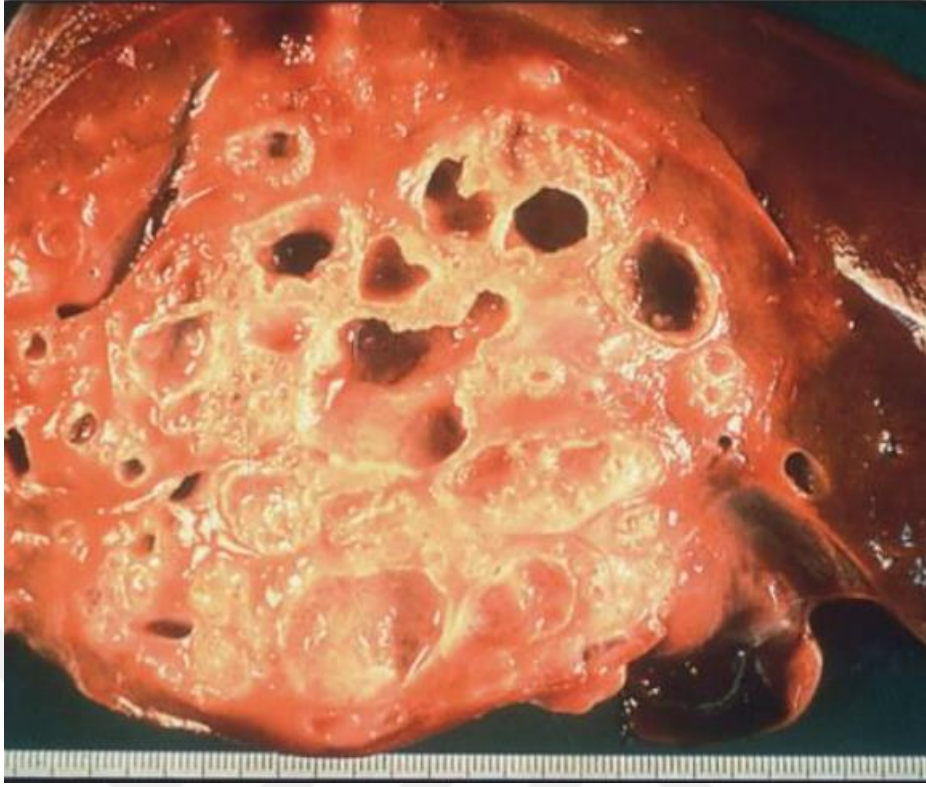
açacaktır. Onkosferlerin bağırsak bariyerini geçmesini engelleyen immünolojik olmayan koruyucu faktörlerin yanı sıra, larva büyümesini karaciğerde yerleşiminden sonra durduran doğal immünolojik savunma mekanizmaları ile abortif kalsifiye karaciğer lezyonları ile de parazite karşı etkili cevap oluşturulabilmektedir. *E.multilocularis* larvalarının neden olduğu karaciğer lezyonları, çapraz bağlı kollajen içeren geri dönüşümsüz bir fibrozis ile birlikte T-lenfositler ve makrofajlardan oluşan periparazitik granümlarla karakterizedir. İnsanlarda üretilen antikorlar tanı amaçlı kullanılabilmektedir ancak enfestasyona karşı koruyucu olamamaktadır. İnsanlarda karaciğerdeki T lenfosit alt gruplarının oranlarının granülomun etkinliğini ve dolayısıyla enfestasyonun sonucunu etkilediğini göstermiştir. Granülom içindeki nispeten yüksek sayıda CD4+ T hücresi larvaların abortif olması veya yavaş ilerlemesiyle ilişkiliyken, şiddetli vakalarda granümlerde CD8+ T hücreleri baskındır (42). Doğal immünite *E.alveolaris*'e karşı savunmanın ilk basamağıdır. Bu doğal immünitenin etkili olması, konağın immünogenetik geçmişine ve tesadüfi konak olan insanın genetik ve fizyolojik parametrelerine bağlıdır (43). Ara konak olan farelerde *E. multilocularis*'e karşı direnci ve yatkınlığı birçok genetik faktör belirlemektedir. Genetik yatkınlığın ikincil enfestasyonun gelişimi üzerindeki etkisi bu fare modellerinde farklı fare türlerinin kullanılmasıyla gösterilmiştir (44). CD4+ T hücrelerinin aktifliği, duyarlılığı veya direnci belirlemede en önemli faktörlerden biridir (45). Alveoler kistin yüzeyiyle konakçının fagositik hücreleri arasında sağlam bir ilişki vardır. Kistin fagositer hücrelerle kurduğu bu ilişki sayesinde laminer tabaka, germ tabakasının antijenik yapısını maskeleyebilir ve germ tabakası konakçı makrofajlarından salınan nitrik oksitten korunabilir (46).

Ara konakçada onkosferin yüzeyine karşı daha önce geliştirilen bağışıklık tepkisi, ikincil kistlerin gelişmesine veya kısmi baskılanmaya yol açabilir. Yapılan in vivo ve in vitro deneyler; bağışıklık tepkisinin alveolar kistlere karşı koruma sağlamadığını; onkosferin, laminer tabakası yoluyla konakçı immün yanıtlarından kaçtığını bildirilmiştir (47, 48). Ara konakçıdaki bir alveolar kist, konakçı bağışıklık tepkisinden kurtulduğunda kademeli olarak çoğalabilir ve metastaz yapabilir. Alveoler kistlere sahip farelerin kan değerlerindeki değişimlerin metasestodların boyutu ile doğrudan bir bağlantısı olduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte, ara

konaktaki AE enfeksiyonunda helmintlerdeki gibi belirgin bir eozinofil artışının olmadığı görülmüştür (49). AE'nin kemirgen ara konakçıları ve insan tesadüfi konakçılarındaki doğuştan gelen bağışıklık veya duyarlılık gibi konak genetik parametrelerine bağlı olduğu rapor edilmiştir (50, 51). AE'li çoğu ara konakçada, tüm immünoglobulin izotipleri dahil olmak üzere ölçülebilir seviyelerde parazite özgü antikorlar oluşur (52, 53). İnsan AE vakalarında artmış serum immunoglobulin (Ig) G1 ve IgG4 seviyeleri, hastalığa karşı en etkin alt grup immün cevap olarak belirlenmiştir. *E. multilocularis*'in düşük molekül ağırlıklı antiijenini en iyi tanıyan antikor olan IgG4 düzeyi, hastalığın ortadan kalktığı durumlarda düşer, hastalık aktifleştince tekrar yükselir (54, 55). Enfeksiyonun erken evrelerinde birincil hücresel cevaba Th1 hücreleri aracılık ederken, sonraki evrelerde Th2 aracılı bir bağışıklık cevabı gelişir (56). T lenfositlerinin larva gelişimine karşı önemi, timusu olmayan farelerde gösterilmiştir. Bu farelerde alveoler kistin agresif büyüme gösterdiği ve konak doku yanıtının timusu olan farelere kıyasla daha az olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (57). İnsanlarda akut veya kronik AE enfestasyonunda monositlerin, makrofajların ve Kupffer hücrelerinin immün yanıt üzerindeki etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte, monosit türevi makrofajların, özellikle Th1/Th2 uyarılmasına neden olan klasik olarak aktive edilmiş M1 makrofaj hücrelerinin ve alternatif olarak aktive edilmiş M2 makrofaj hücrelerinin fibrotik aşamaya değişik şekilde etkileri olduğu belirlendi (58). Lenfoproliferatif yanıtın, larvanın hacimsel olarak büyümesi ve metasestodun aktivitesinin artmasıyla paralel olarak baskılandığı belirlenmiştir. İnaktif veya cerrahi olarak uzaklaştırılmış larvaların immünsupresyon etkisinin sona erdiği, ardından etkili bir hücre aracılı bağışıklık yanıtının geliştiği rapor edilmiştir. (59). Fare deneylerinde, Th1 profilini tetiklemede kilit faktör olan interlökin (IL) 12 alveoler lezyonların gelişimini inhibe eder ve bu sayede periparazitik bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonu ve fibrozu ile çevrili abortif bir parazitik vezikül oluşturur (45). Aksine, Th2 sitokin profili, hastalığın ilerlemesi ile bağlantılı bulunmuştur. Ağır seyreden hastaların serumunda abortif olan bireylere oranla daha yüksek IL-5 ve IL-10 seviyeleri bulunmuştur (60-63).

2.5. Patogenez

E. alveolaris yumurtaları ile enfestasyonu takiben, onkosfer öncelikle karaciğere gelir. Gelişmekte olan kistlerin boyutları birkaç mm ile 15-20 cm arasında değişebilmektedir. Nadir durumlarda, alveoler kistler esas olarak karaciğerin dışında büyür (23). Oral alımdan sonra, *Echinococcus* yumurtaları asidik mideden geçer ve bazik duodenumda pankreas sıvılarının etkisiyle parçalanır. Serbest kalan onkosfer daha sonra bağırsak mukozasına bağlanır. Vena porta ile karaciğere gelen parazit, inflamatuvar yanıtı uyarır ve bu sırada fagosit edilebilir veya konakçı savunma sisteminden kaçarak birincil hastalığa neden olur. Buraya tutunmadan kan yoluyla devam eden parazitler akciğerlere giderek akciğerde hastalık yapabilir. Akciğerde tutunamazsa sistemik dolaşıma girerek diğer organlarda hastalık yapabilir. Dokuda gelişen embriyo, endotel hücreleri, eozinofiller ve dev hücreler içeren fibröz bir doku ile çevrililir. Evre ilerledikçe kronik iltihabik doku reaksiyonu, yabancı cisim benzeri dev hücre, fibröz doku ve kalsifikasyon oluşumu görülür (2, 64-66). Karaciğer haricinde bulunan alveolar kistler sekonder metastatik lezyonlar olarak kabul edilir. Metastazlar en sık akciğerlerde, dalakta veya beyinde gelişir (67). Metastaz germ hücrelerinin kan ve lenf yolu ile taşınması sonucu oluşur (2). Makroskopik olarak karaciğerde metasetodlar genellikle çapı 1 ila 30 mm arasında değişkenlik gösteren çok sayıda düzensiz kistten oluşan alveolar yapı olarak görülürler. Alveoler kistler genellikle karaciğer hasarı oluşturmak yerine karaciğer dokusunu istila etme eğilimindedir. Makroskopik olarak malign neoplazi veya siroza benzeyen lezyonlara neden olurlar (68). Oluşan nekroz sebebiyle kistin orta kısımları sıvı ve nekrotik doku içeren boşluklarla dolar (Şekil 5). Kist içerisinde bulunan açık renkli sıvı sitotoksik ve sitolitik aktivite gösterir. Kist, mikroskop altında ince bir laminar tabaka ve Periyodik Asit-Schiff boyası ile pozitif olarak boyanabilen bir germinal tabakadan oluşmaktadır. Üreme kapsülü ve protoskoleks insanlarda seyrek de olsa gelişebilmektedir (2, 48, 69, 70).



Şekil 5. Karaciğerde alveolar kistin makroskopik görüntüsü (71)

2.6. Klinik

2.6.1. Semptom ve Bulgular

E. alveolaris enfestasyonunun ardından metasetodlar %98 karaciğere ve büyük oranda sağ loba yerleşirler. Hastalığın öncelikle karaciğer haricindeki bir organda görülmesi düşük ihtimaldir. Dokudaki boyutu birkaç milimetreden 15 ila 20 cm çapa kadar değişebilir (23, 64, 65). *E. multilocularis* ile enfekte bir hastada hastalık, uzun yıllar belirti göstermeden sessiz seyredebilir. Lezyon boyutları büyüdükçe hastalar iştahsızlık, kilo kaybı, ateş belirtileri yaşayabilir. Hepatomegali, hassasiyet, karaciğer konturlerinde düzensizlik, batında serbest sıvı saptanabilen bulgulardır (72). Akciğer tutulumu olan hastalarda öksürük, ateş, sırt ve göğüs ağrısı, hemoptizi, balgam çıkarma, nefes darlığı gelişebilir (72). Hastalık ilerledikçe büyük damarların ve safra yollarının tutulumuna bağlı olarak kolanjit, tıkanma sarılığı, portal hipertansiyon ve karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilir (27, 73, 74). Komplike portal hipertansiyon vakalarında dalak büyümesi meydana gelebilir (2). İlerlemiş

hastalarda torasik ve abdominal bölgelerde alt ve üst vena kava arasında kollateral dolaşım gözlenebilir (65, 70). Bu belirtilerin yanı sıra kistin bulunduğu organa ve konumuna bağlı olarak değişken semptom ve bulgular da görülebilir. Bazı durumlarda aktif metasestodların dejenerasyonu nedeniyle parazit ölür ve kalsifiye olur. Tedavi edilmeyen ya da yetersiz tedavi edilen olgularda prognoz kötüdür (27, 74, 75).

2.6.2. Tanı

AE'nin erken tanısı yeterli tedavi için çok önemlidir. Rutin laboratuvar testlerinde spesifik bir değişiklik yoktur. Sedimentasyon artışı ve orta derecede eozinofili olabilir. Splenomegalinin olması durumunda lökosit ve trombosit sayısı azalabilir. Genelde hipergammaglobulinemi ve yüksek IgE düzeyleri vardır (76). Tanı öykü, klinik muayene, seroloji ve görüntülemeye dayanır. Kist içeriğinin mikroskopik incelenmesi tanıyı doğrular (68, 77). Serolojik yöntemde serumda *E.multilocularis*'e karşı spesifik antikorlar belirlenir. Hastalığın erken evrelerinde, yani AE'nin asemptomatik olduğu dönemde bile serolojik tanı yöntemlerinin tanıda kullanılabileceği rapor edilmiştir (77). Yeni *E. multilocularis* antijenlerinin keşfi ve serolojik yöntemlerdeki ilerlemelerin özellikle son dönemlerde AE'li hastaların ilaç sonrası izleminde önemli bir yer tuttuğu tespit edilmiştir (78). Görüntüleme yöntemleri arasında ultrason en çok tercih edilen tarama yöntemidir. Çok sayıda lezyonu tespit etmek veya ultrason muayenesi sonrasında karakteristik kalsifikasyonları belirlemek için bilgisayarlı tomografinin kullanılması da önerilir. Görüntülemenin net olmadığı durumlarda tanıyı kolaylaştırmak ve doğrulamak için manyetik rezonans (MR) yöntemi kullanılır (2, 76, 79). AE'nin başlangıç lezyonu, metasestodun invaziv büyümesine bağlı olarak düzensiz sınırları olan karaciğer dokusunun varlığı ile karakterize edilir ve bu aşamada görüntüleme yöntemlerinde sıklıkla küçük fibröz nodüller rapor edilir. Bu fibröz nodüllerin hemanjiyomlarla karıştırıldığı bildirilmektedir. Ardından parazitik fibröz doku ile çevrelenmiş ve merkezi bir nekroz bölgesi içeren geniş bir karaciğer lezyonu raporlanabilir (80-83).

Parazitin tanımlanması alveoler kistten alınan cerrahi materyalin veya biyopsi materyalinin histolojik incelenmesiyle de yapılabilir fakat ince iğne biyopsi

örneklerinde veya kalsifiye kist vakalarında karakteristik yapıların tanınmasının güç olduğu rapor edilmiştir. Böyle durumlarda kalsifiye kistlerde bulunan monoklonal antikorların test edilmesiyle sonucun doğrulanabileceği ileri sürülmüştür (84). Buna ilaveten kist materyalinin değerlendirilmesi spesifik bir polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analiziyle de yapılabilir (85). Enfekte kişilerin %90'ından fazlasında serolojik olarak pozitifdir. Enfekte vakalarda antikorlar, *E. multilocularis*'ten adı oluşturulmuş olan EM-2 (laminer türetilmiş karbonhidrat antijeni), EM-18, EM alkalın fosfataz antijeni ve EM-10 antijenlerine dayanan bir ELISA testi kullanılarak değerlendirilir. EM-2'nin özgüllüğü tek başına %94'ü aşmaktadır ancak aktif ve inaktif lezyonlar arasında ayırım yapmamaktadır. EM-10'un bozunma ürünü olan EM-18-ELISA'nın duyarlılığı %87, spesifikliği ise %97'dir. İmmünolojik testler cerrahi tedavinin yeterliliğini değerlendirmek için kullanılır fakat kemoterapinin etkinliğinin belirlenmesine katkısı düşüktür (2, 64, 73, 76, 86). Karaciğer lezyonundan ultrason eşliğinde iğne biyopsisi yapılabilir ve kesin tanı histopatolojik olarak konur (2, 64).

2.6.3. Tedavi

Sık görülmeyen ancak tedavi edilmediği veya yetersiz tedavi edilebildiği durumlarda %90 ölüm oranı taşıyan AE'nin tedavisinde cerrahi, kemoterapi ve girişimsel yöntemleri de içeren birkaç seçenek vardır (87). Bu seçeneklerden AE için mevcut olan tek iyileştirici tedavi, enfekte organın invaziv cerrahi rezeksiyonudur. AE'de larvaların metastazı nedeniyle karaciğer etrafındaki lenf düğümleri etkilenir. Ancak hastalığın tekrarlamasının lenf bezlerinin çıkarılmasına değil, karaciğer kistin tam rezeksiyonunun başarısına bağlı olduğu rapor edilmiştir (88-90). Her ne kadar akla ilk gelen seçenek ameliyat olsa da, etken parazitin dokulara düzensiz infiltrasyonu ve tüm dokuya yayılabilmesi nedeniyle cerrahi müdahalenin her zaman iyi sonuç vermediği iddia edilmiştir (2). Çalışmalar sonucunda lokal veya tam cerrahi rezeksiyonun medikal tedavi ile birlikteliğinde kist gelişimini geriletmediği görülmüştür (91). Cerrahi rezeksiyonun medikal tedavi ile kombine edildiği veya tek başına medikal tedavinin verildiği hastalarda başarı erken teşhis, özellikle metastaz yapmamış kistin erken teşhisi, tedaviye erken başlanması ve hastada kronik inflamatuvar hastalıkların bulunmaması gibi sebeplere bağlıdır (91). Cerrahi operasyonla birlikte albendazol gibi bir benzimidazol (BMZ) tedavisinin de

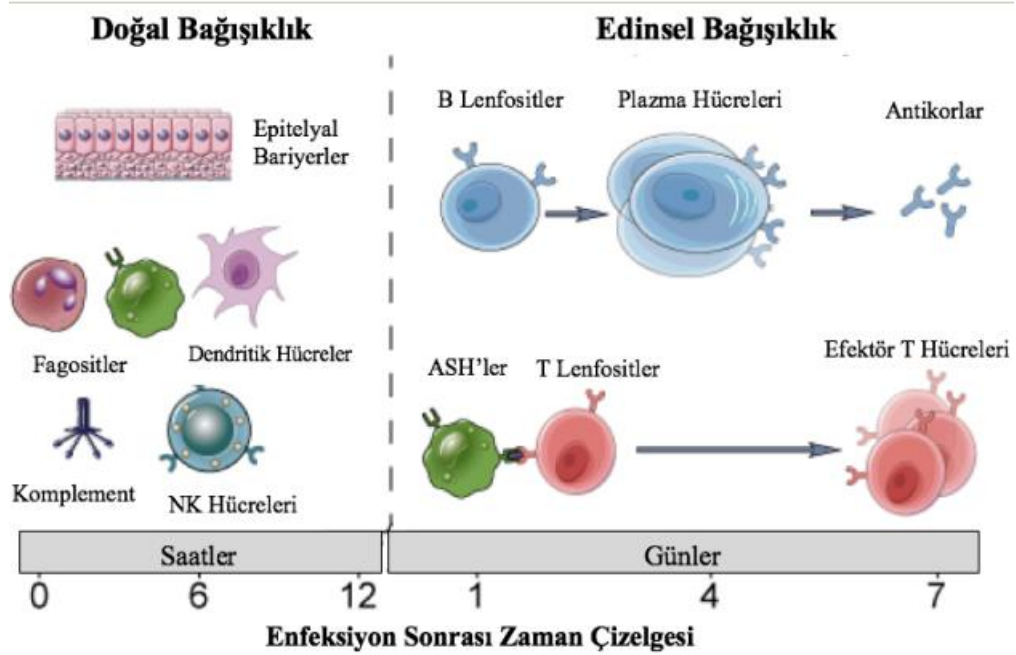
verilmesi, ameliyatın mümkün olmadığı durumlarda ise tek başına BMZ tedavisinin uygulanması tavsiye edilmektedir. Fakat *E.multilocularis*'e olan duyarlılığın düşük olması ve yarı ömrünün kısa olması nedeniyle BMZ, *E.multilocularis* için öldürücü etkiden ziyade büyümeyi sınırlayıcı etkiye sahiptir, ek olarak BMZ tedavisi hastalarda toksisiteye neden olabilmektedir (80). Son dönemde yapılan bir çalışmada, sıtma tedavisinde kullanılan meflokininin AE'ye karşı etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Meflokininin metasestodu öldürmediği fakat büyümesini sınırlandırdığı görüldü. Bu araştırma, meflokinin insanlarda alternatif tedavi olarak kullanılabileceğini ve aynı etki mekanizmasına sahip diğer antimalaryal ilaçların da araştırılması gerektiğini öne sürmüşlerdir (80, 92).

2.7. İmmün sistem

Bağışıklık sistemi vücudumuzu virüs, bakteri, mantar ve parazit gibi yabancı mikroorganizmalardan korur. Ayrıca bunların metabolik artıklarını da etkisiz hale getirir. Bağışıklık sistemi, patojen organizmalara karşı ilk savunmayı sağlayan doğuştan gelen bağışıklık sistemi ve uzun süreli koruma sağlayan edinilmiş bağışıklık sisteminden oluşur (93). Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, patojenlere kazanılmış bağışıklık sistemine göre daha hızlı tepki verir ve patojeni birkaç saat içinde ortadan kaldırır (94). Fakat bellek tepkisi oluşturamadığı ve doğal bağışıklık reseptörleri monoklonal değişiklik göstermediği için, enfeksiyonlara karşı özgün olmayan bir koruma sunar (95, 96). Dolayısıyla, doğal bağışıklık hücreleri antijeni daha önce tanımış olsalar bile, ilk temasla aynı süre ve etkide tepki gösterirler (97). Edinsel immün sistemin doğal bağışıklıktan en büyük farkı, patojenleri tanıma konusundaki belirgin özgülükleridir (94, 96). Edinsel immün sistem hücre reseptörleri yalnızca tek bir antijene özgüdür ve antijenle temas ettiğinde sadece o antijene özgü lenfositlerin klonal çoğalmasına yol açar (94, 95). Bunun yanı sıra, edinsel immün sistem hücreleri antijene karşı bellek tepkisi geliştirerek hızlı, uzun süreli ve daha etkili bir bağışıklık tepkisi oluşturur (95, 97).

Doğal bağışıklık, organizmanın özellikle hastalık etkenlerinin vücuda girmesini engelleyen anatomik, fizyolojik, biyokimyasal ve endositik fagositik bariyerlere sahiptir (98). Deri ve mukozalar, bu bariyerlerin en önemlilerinden biridir. Deri altı yağ bezleri

tarafından üretilen sebum, derinin pH seviyesini 5-5.5 arasında tutarak birçok mikroorganizma için öldürücü bir etki oluşturur. Aynı zamanda solunum yollarındaki epitelyal yüzeyde bulunan silia, midenin düşük pH'sı, tükürük, mukus ve gözyaşı gibi sekresyonlar da mikroorganizmalara karşı etkin bir savunma sağlar (99). Doğal bağışıklık, bu bariyerlere ek olarak iltihap sonucu oluşan engelleri de içerir. Herhangi bir hastalık etkeni deriden organizmanın içine girdiğinde, bu etkenle lokal olarak kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve ağrı gibi bir direnç oluşturulur. Vazodilatasyon ve kapiller geçirgenliğin artması ile bölgede hücresel çoğalma meydana gelir ve kemotaksis yoluyla fagositler bu bölgeye çekilir, böylece doğal bağışıklık etkin bir şekilde devam eder (100). Kan ve dokularda bulunan fagositik hücreler (makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, NK hücreleri), akut faz proteinleri, sitokinler ve kompleman sistemi doğal immün sistemin temel bileşenleridir (Şekil 6). Bu bileşenler, yabancı ve zararlı maddeleri ayırmaksızın engellemekte, kontrol altına almaktadır veya organizmayı bu maddelerden temizlemektedir (101). Doğal bağışıklık yanıtı, yabancı bir antijenle karşılaşıldıktan sonraki ilk 4 saat içinde hızla gelişir ancak uzun süreli bir bağışıklık sağlama özelliğine sahip değildir. Doğal immün sistemin elemanları belleğe sahip değildir, bu nedenle aynı antijenle yeniden karşılaştıklarında önceki yanıtı benzer bir tepki verirler.



Şekil 6. Doğal ve edinsel bağışıklık sistemi hücreleri (97).

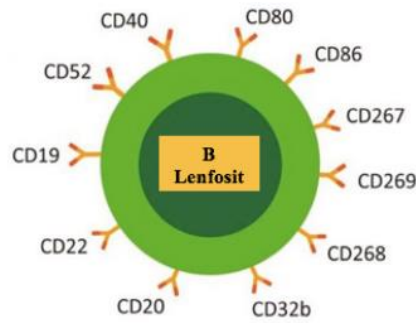
Ayrıca, doğal immün sistemin elemanları, yabancı antijenleri edinsel immün sistemin elemanlarına tanıtılarak onları uyarır (101, 102). Edinsel bağışıklık sistemi, doğal bağışıklığa kıyasla daha uzun bir süre gerektirse de (günler veya haftalar), yabancı antijenlere karşı daha etkili bir immün tepki oluşturur. Bu sistem, antijenlere özgüdür ve immün hafızaya sahiptir. Ek olarak, antikorlar ve T bellek hücreleri sayesinde uzun vadeli immünite sağlar (103). İlk antijen karşılaşmasında özel bir immün yanıt başlatır ve aynı antijenle tekrar karşılaşıldığında daha güçlü bir yanıt verir (102, 103). Edinsel bağışıklıkta, hastalık etkenleri organizmaya girebilir, yerleşebilir ve sınırlı bir şekilde çoğalabilirler. Ancak, immün sistemin etkin çalışması sonucu hastalık oluşturmazlar (99). Edinsel bağışıklık baskılandığında organizmanın hastalık etkenlerine karşı direnci azalabilir, bu da patojenlerin daha ciddi hastalıklara hatta ölüme neden olabileceği anlamına gelir (99, 104). Edinsel bağışıklık sistemi, hücresel (T hücre aracılığı) ve humoral (B hücre aracılığı) immün sistem olmak üzere iki ana kısma ayrılır (Şekil 6). Hücresel immün sistem, Th1, Th2 ve Tc lenfositleri içerirken, humoral immün sistem B lenfositleri ve bu lenfositlerden salgılanan immünglobülinleri (IgA, IgD, IgE, IgM ve IgG) içerir (100, 102). İmmün sistemin, yabancı bir antijen veya molekülle uyarıldıktan sonra tek yönlü çalışması mümkün değildir. Hücresel ve humoral immün yanıt her zaman birbirine bağımlıdır ve ayrı ayrı gelişmezler. Ancak, bazı antijenler hücresel immün sistemi daha fazla uyarırken, bazıları antikor üretimini daha fazla teşvik eder (98). Paraziter enfestasyonlara karşı korunmada, her iki grup edinsel immün sistem (hücresel ve humoral) elemanları etkilidir. Bununla birlikte, genellikle hücre içi parazitlere karşı korunmada hücresel immün yanıt daha etkilidir, hücre dışı kan ve doku parazitlerine karşı korunmada ise humoral immün yanıt daha belirgin bir rol oynar (100, 105).

Bağışıklık sistemi, embriyonik gelişim sırasında "gut-associated" dokulardan türetilir. İlk olarak, "pluripotent hematopoetik kök hücreleri," yaklaşık olarak gestasyonel haftanın 2-3. haftasında yolk kesesinde oluşur. Ardından bu kök hücreler, kemik iliğine (Kİ) göç ederler ve bireyin ömrü boyunca orada bulunurlar. Bu kök hücrelerden türetilen lenfoid hücre serisi öncü hücreleri, bir kısmı timus dokusunda T lenfositlere dönüşürken, diğer bir kısmı kemik iliğinde B lenfositlere ve NK hücrelerine farklılaşırlar. Bağışıklık sisteminin birincil lenfoid organları, gestasyonun

ilk trimesterinin ortalarından itibaren gelişmeye başlar. Bu organlar arasında timus ve kemik iliği bulunur. İkincil lenfoid organlar ise, birincil lenfoid organların hemen ardından gelişir ve bu organlar arasında dalak, lenf düğümleri, tonsiller, Peyer plakları ve lamina propria gibi yapılar yer alır. Bu lenfoid organlar, B, T ve NK hücrelerinin farklılaşma ve aktivasyon bölgeleri olarak bireyin ömrü boyunca görev yaparlar. Bu hücrelerin farklılaşması, özellikle hücre yüzeylerindeki moleküler ifadelerin değişiklikleriyle gerçekleşir. Hücre yüzeyindeki molekül sayısı ve karmaşıklığı, bu hücrelerin kendilerine özgü antijenlerinin uluslararası bir sınıflandırma ve adlandırma sisteminin oluşturulmasına yol açmıştır. Bu moleküller başkalaşım kümesi (cluster of differentiation, CD) olarak adlandırılır (106). T ve B hücreleri, periferik kanımızda sırasıyla %75 ve %15 oranında bulunurken, geriye kalan %10'luk lenfosit grubu, NK hücreleri olarak adlandırılan diğer lenfosit türlerinin bir araya gelmesiyle meydana gelir (106).

2.7.1. B Lenfositler

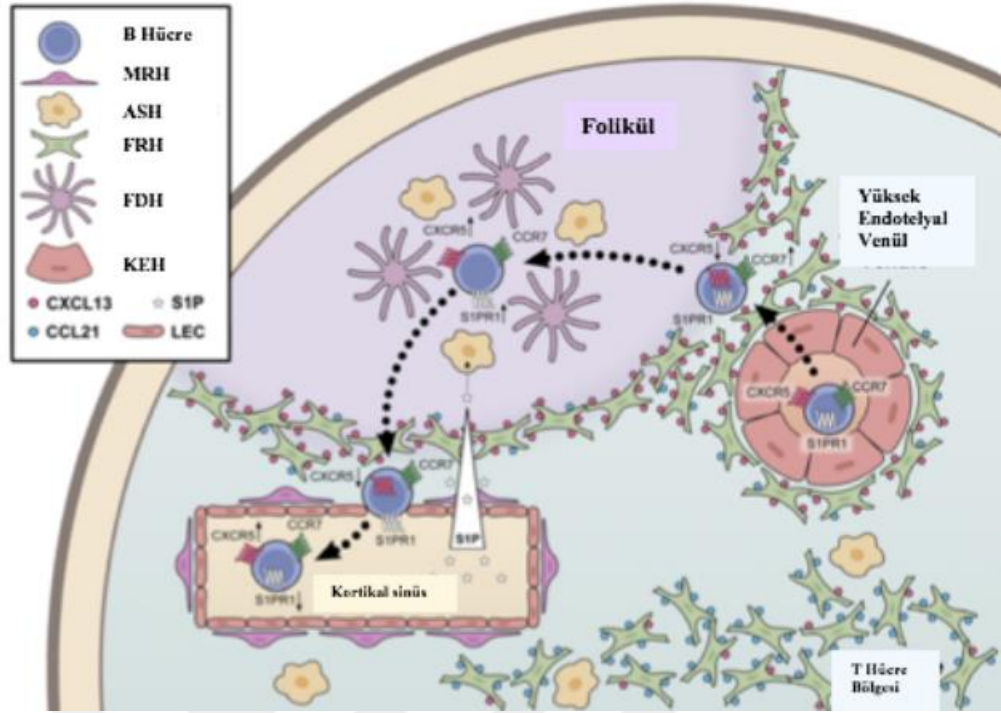
Hümmoral bağışıklığın sorumlusu olan B hücreleri, embriyonal karaciğerde gelişmeye başlarlar ve bu süreç gebeliğin sekizinci haftasında başlar.



Şekil 7. B lenfosit yüzey belirteçleri (107).

On beşinci haftadan itibaren ise kemik iliği, fetal karaciğerle birlikte B hücrelerinin (B cell, BC) gelişimine katkıda bulunur (108). Doğum sonrasında, B hücreleri sadece kemik iliğindeki hematopoetik kök hücrelerden türemeye devam eder (109). B hücreleri, CD45+CD19+CD20+CD22+ fenotipine sahip hücrelerdir (şekil 7). B lenfositler B1 ve B2 hücre alt gruplarından oluşur. B1 ve B2 hücre gelişimi, Kİ ve dalakta gerçekleşir. Kİ'de, ortak

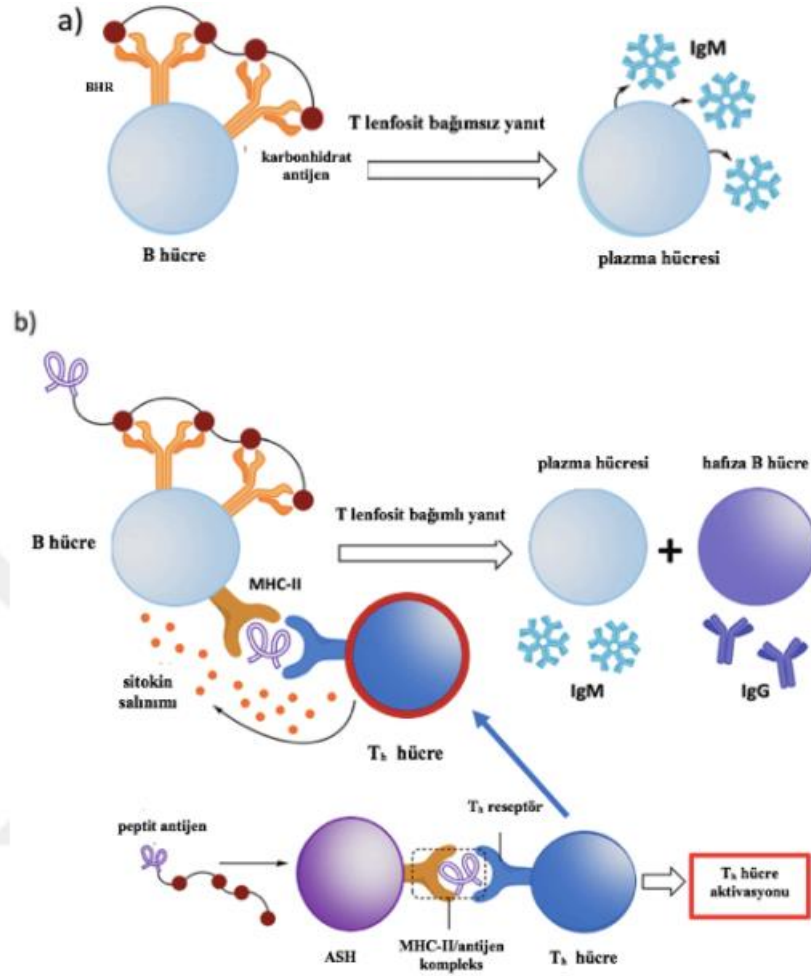
lenfoid progenitörler (common lymphoid progenitors, CLP) B1 veya B2 özgül pro-BC, pre-BC ve olgun BC'ye farklılaşır. Bu farklılaşma sürecinde, immünooglobulin lokusundaki düzenlemeler, pre-B hücre reseptörünün (BCR) oluşturulmasına ve sonunda antijen bağlayabilen olgun bir BCR'nin yüzeyde ifade edilmesine neden olur. BCR, yeniden düzenlenmiş ağır ve hafif zincir genlerinden türetilmiştir. Bu aşamada, BC'ler kendiliğinden reaktif hücreleri engellemek için bir seçim süreci geçirirler. Bu kontrol noktasını başarıyla tamamlayan hücreler kemik iliğini terk eder ve nihayetinde baskın foliküler B2 (Fo BC), marjinal-zon B2 (MZ BC), B1a ve B1b BC'ye olgunlaşırlar (110). Afinite olgunlaşma süreci, yabancı antijenlere yüksek afiniteye sahip uzun süreli bellek BC'leri ve büyük miktarlarda antikor salgılayabilen uzun süreli plazma hücrelerini üretir. Kemik iliğinde üretilen ve olgunlaşarak periferik kana geçen ancak henüz antijenle karşılaşmamış naif B lenfositler, CD19+IgM+IgD+ fenotipine sahiptirler ve yüksek endotelial venüller aracılığıyla lenf nodlarına yönlendirilirler (111-113). Genellikle bu hücreler, lenf nodlarının korteks bölgesinde bulunan primer lenfoid foliküllerinde veya dalakta beyaz pulpa içindeki foliküllerde bulunurlar (112, 114). C-C kemokin reseptör tip 7 (CCR7) ve C-X-C kemokin reseptör tip 4 (CXCR4), yüksek endotelial venüllerle göç eden naif B lenfositlere rehberlik eder. Foliküler dendritik hücreler (FDH) tarafından üretilen C-X-C kemokin ligandı 13 (CXCL13), C-X-C kemokin ligandı 5 (CXCR5, diğer adı ile CD185) ekspresyonunu artırarak foliküllerin içine doğru hareket etmelerini sağlar. Antijenle henüz temas etmemiş naif B lenfositler, sfingosin-1-fosfat reseptörü (S1PR1) ekspresyonunu artırarak kortikal sinüslerde bulunan sfingosin-1-fosfat (S1P) ligandı aracılığıyla dolaşıma geri dönerler. Tekrar dolaşıma katılan naif B lenfositler, spesifik antijenlerle karşılaşmadıkları sürece yaklaşık 1-3 ay içinde apoptoza uğrarlar (111). B lenfositlerin lenf nodlarındaki göç yolları Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Naif B lenfosit göç yolu (MRH, marjinal retiküler hücre; ASH, antijen sunucu hücre; FDH, foliküler dendritik hücre; FRH, fibroblastik retiküler hücre; KEH, kan endotelial hücre) (115)

Naif B lenfositler, antijenik uyarılma ile aktive olurlar ve bu antijenik uyarımlar T lenfosit bağımlı ve T lenfosit bağımsız olmak üzere iki şekilde olur (95, 116). T lenfositler, yalnızca protein tabanlı antijenleri tanır ve polisakkarit, lipid gibi protein olmayan antijenlere tepki vermezler. Bu nedenle polisakkarit, lipid ve diğer protein olmayan antijenlere karşı oluşan yanıtlar için B lenfositlerinin T lenfosit uyarımına ihtiyaçları yoktur. Bu tür immün yanıtlara "T bağımsız yanıt" denir ve bu yanıtlar sonucunda B lenfositler sadece IgM tipi antikorlar üretirler (116, 117).

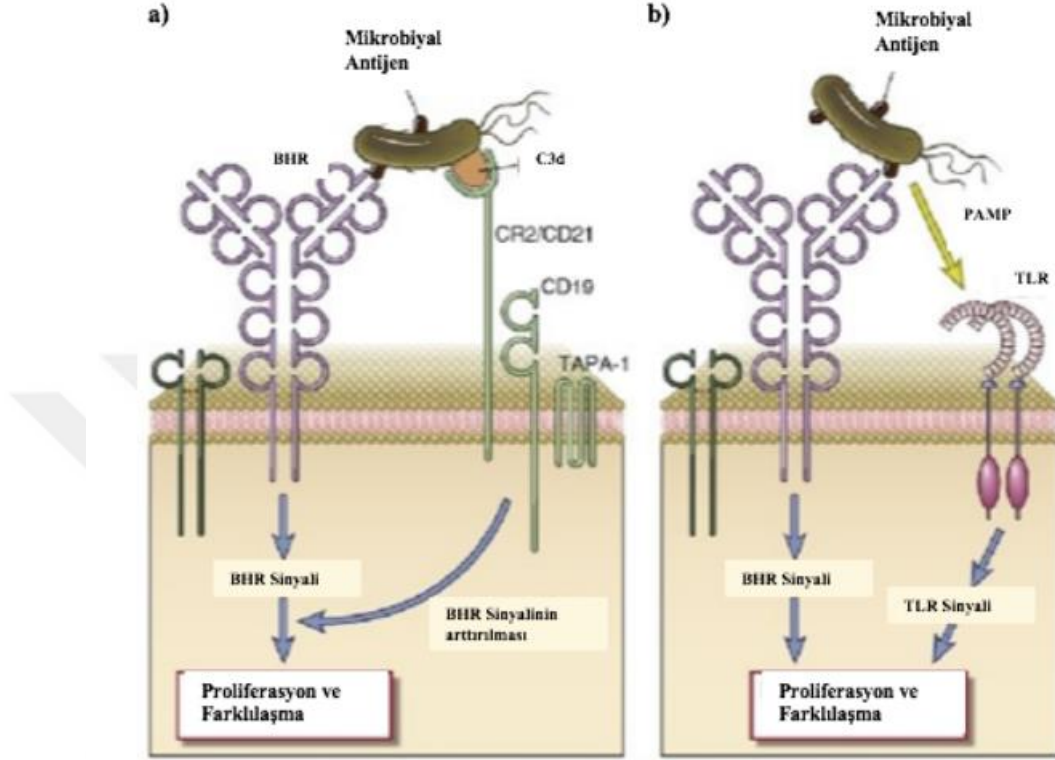
Olgun B lenfositler, dalak ve lenfoid foliküllerde yer alır ve protein yapılı antijenlere tepki geliştirirler. Protein yapılı bir antijenle uyarılan B lenfositler, bu antijeni T lenfositlerine sunarak afinite olgunlaşması ve izotip değişimi için gerekli sinyalleri alırlar. Bu tip immün yanıtlar "T lenfosit bağımlı yanıtlar" olarak adlandırılır ve bu yanıtlar sonucunda B lenfositler, antijenin türüne ve çevrede bulunan sitokin türüne bağlı olarak IgG, IgA ve IgE izotiplerinde antikorlar salgırlar (113, 118). T lenfosit bağımlı ve T lenfosit bağımsız B lenfosit aktivasyonu Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. T bağımlı ve bağımsız B lenfosit aktivasyonu. a) T lenfosit bağımsız yanıt b) T lenfosit bağımlı yanıt (ASH, Antijen Sunucu Hücre; BHR, B Hücre Reseptörü; IgM, İmmüoglobulin M; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; Th, yardımcı T lenfosit)(115)

Naif B lenfositler, lenf nodu foliküllerindeki çözünür (solübl) antijenlere veya foliküler dendritik hücrelerin sunmuş olduğu antijenlere yanıt vererek aktif hale gelirler (119). Bu lenfositler, yüzeylerinde sadece B hücre reseptörleri (BHR) değil, aynı zamanda kompleman reseptör 2 (CR2; CD21) ve Toll benzeri reseptörler (Toll-like receptors-TLR) gibi reseptörleri de ifade ederler. Çözünür antijen, birden fazla BHR ile etkileşime girdiğinde, hem BHR sinyallerini hem de B lenfositler üzerindeki Igα (CD79a) ve Igβ (CD79b) reseptörleri ile hücre içi sinyal iletim yollarını harekete geçirir (şekil 10). Ayrıca, mikrobiyal antijenlerin yüzeyini kaplayan kompleman C3d proteininin, B lenfositlerin yüzeyindeki CD21 veya mikrobiyal antijenlerin TLR'ler tarafından doğrudan tanınması da iç sinyal yollarını aktif hale getirir. Myc, NFAT, NF-κB ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörleri aktif hale gelir ve

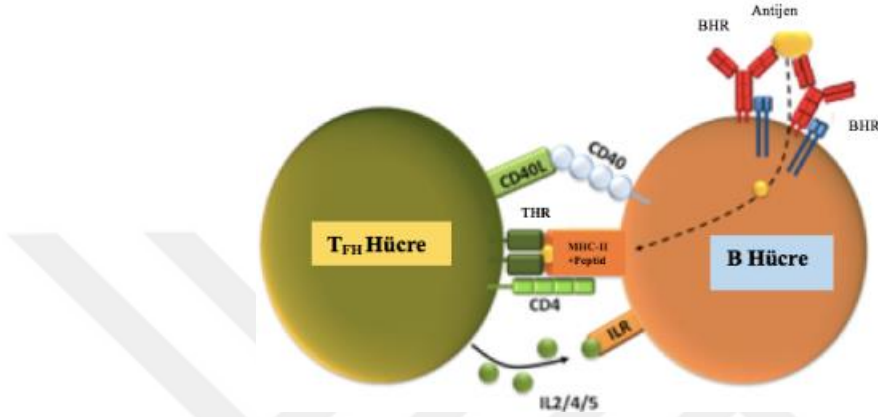
ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak B lenfositlerin aktivasyonunu, çoğalmasını, farklılaşmasını ve sitokin salınımını tetikler (119, 120).



Şekil 10. Solübl antijen ile B lenfosit aktivasyonu a) Kompleman C3d proteini ve b) TLR aracılığı ile B lenfosit proliferasyonu ve farklılaşması (BHR, B Hücre Reseptörü; CR2-CD21, Kompleman reseptör 2; PAMP, Patojenle ilişkili moleküler örgü; TLR, Toll benzeri reseptör; TAPA-1, Antiproliferatif antikorun hedefi)(97)

Antijenle etkileşime gelen B lenfositler, CD19+IgM+IgD yüksek fenotipine dönüşür ve aktivasyon sonrası CXCR5 ekspresyonunu azaltıp CCR7 ekspresyonunu artırır (121). Lenf nodu içinde bulunan parakortikal bölge olarak adlandırılan alandan çıkan B lenfositler, CCR7 kemokin reseptörünün ligandı olan C-C kemokin ligand 19 (CCL19) ve CCL21 ile etkileşimde bulunarak T lenfosit bölgesine doğru göç eder (121, 122). Aynı antijenle aktive olan yardımcı T lenfositler, CXCR5 ekspresyonunu artırarak foliküle göç ederler ve bu T lenfositlere CD3+CD4+CXCR5+ T foliküler yardımcı hücreleri (TFH) denir (123). Bu hücreler, birbirleriyle etkileşimde bulunabilmek için yüzeylerinde kemokin reseptörlerinde değişiklik yaparlar ve lenf nodunun parakortikal ve folikül sınır bölgesinde buluşurlar. Sınır bölgesindeki B lenfositler, TFH protein yapılı antijenleri büyük doku uyum kompleksi (major

histocompatibility complex, MHC) II aracılığıyla sunarlar (124). T lenfositlerin yüzeyinde bulunan CD40 Ligand (CD40L), CD40 ile etkileşime girerek T lenfositler ve B lenfositler arasındaki fiziksel etkileşimi sağlar (125). Ayrıca, T lenfositler tarafından salgılanan IL-21 ve IL-4 gibi çeşitli sitokinler, B lenfositlerin çoğalmasını, izotip değişimini ve afinite olgunlaşmasını teşvik eder (Şekil 11) (124-126).



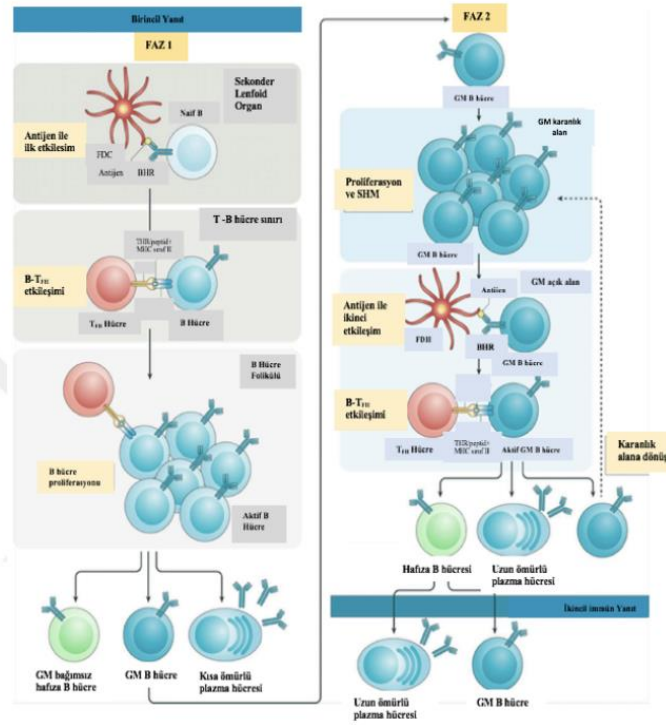
Şekil 11. B lenfosit ve yardımcı T lenfosit etkileşimi (BHR, B Hücre Reseptörü; THR, T Hücre Reseptörü; ILR, İnterlökin Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; TFH, Foliküler yardımcı T hücre)(127)

T ve B hücrelerinin T-B sınırında buluşmasının ardından, B lenfositler kısa süreli plazma hücreleri, germinal merkez (GM) B hücreleri ve efektör hücrelere dönüşürler. Kısa süreli plazma hücreleri, CD19, CD20 seviyeleri düşük, CD27 ve CD38 seviyeleri yüksek bir fenotipe sahiptir ve IgM tipi antikolar üretirler (128). GM B hücreleri, ikincil lenfoid organlardaki B hücre foliküllerinde bulunan GM'lere göç ederler. Bu göç sürecinde, S1P2 ekspresyonu, hücrelerin GM'ye bağlanmasına yardımcı olur (129). GM'de, karanlık bölge ve açık bölge olarak adlandırılan iki bölge mevcuttur (130). Karanlık bölgede, yoğun bir şekilde CXCR4 ifade eden B lenfositler, çoğalma süreciyle yerleşirler. Ayrıca, CD40-CD40L etkileşimi sonucunda B lenfositlerin aktivasyonu başlar ve sitidin deaminaz (activation-induced cytidine deaminase, AID) enzimi harekete geçer. AID, Ig genlerinin değişken bölgelerinde noktasal mutasyonlar yaparak somatik hiper mutasyon oluşturur. Bu sayede, antijene daha yüksek bir afiniteye sahip B lenfosit klonları üretilir, bu sürece afinite olgunlaşması adı verilir (124). Afinite olgunlaşmasından sonra, B lenfositler CXCR4 seviyelerini azaltarak GM'in açık bölgesine geçerler (126). Bu hücreler, henüz izotip

değişimi yaşamadıkları için dönmemiş hafıza hücreleri olarak adlandırılır ve CD19+CD20+IgM-/IgD+CD27+ bir fenotipe sahiptirler. Açık bölgede, foliküler dendritik hücrelerin sunmuş olduğu antijeni tanıyan B lenfositleri apoptozdan kurtarır ve ikinci kez TFH ile karşılaşır (129). B lenfositler, sunulan antijeni MHC sınıf II molekülleri aracılığıyla tanırken, TFH'ler TCR'leri kullanarak tanır (124, 129). B lenfositler üzerinde bulunan CD40 ve indüklenbilir T hücre kostimulatör sistem ligandı (ICOS-L, inducible costimulator-ligand) molekülleri ile etkileşime girerler (114). Bu etkileşimin ardından, B lenfositlerde AID enzimi yeniden aktive olur ve Ig genlerinin sabit (C) bölgelerinde DNA kırıkları meydana gelir, böylece izotip değişimi (class switched recombination, CSR) gerçekleşir. Bu sayede IgM tipi antikorlar yerine IgA, IgE veya IgG tipi antikorlar üretilir (131). İmmünglobulin sınıf değiştirmiş hücrelere CD19+CD20+IgM-IgD-CD27+ bir fenotip adı verilir ve bu hücreler dönüşmüş hafıza hücreleri olarak anılır.

GM'de açık bölgede ikinci kez TFH ile etkileşime giren B lenfositler, uzun süreli plazma hücrelerine dönüşür. Bu hücreler, antikor üretimi ve salgılaması ile görevli olan efektör hücrelerdir ve CD19 ve CD20 seviyeleri düşük, CD27 ve CD38 seviyeleri yüksek, CD138+ bir fenotipe sahiptirler. Ayrıca, bu hücrelerin Blimp-1 aracılığıyla TFH oluşumunu negatif olarak düzenlediği, daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (132).

GM'de oluşan bir diğer hücre grubu ise hafıza hücreleridir. Bu hücreler, aynı patojen tekrar vücuda girdiğinde hızlı bir koruma sağlarlar. Hafıza B hücreleri, CD27+ bir fenotipe sahiptirler ve naif B lenfositlerden farklı olarak IgG, IgA ve IgE antikorları salgırlar (133). B lenfositlerin, lenf nodlarında antijen ile karşılaştıktan sonra gerçekleşen süreçler Şekil 12'de gösterilmiştir.



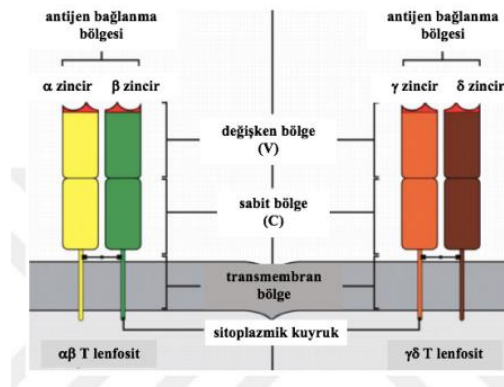
Şekil 12. B lenfosit aktivasyon yolağı ve germinal merkez reaksiyonları (BHR, B Hücre Reseptörü; FDH; Foliküler Dendritik Hücre; GM; Germinal Merkez; SHM; Somatik Hipermutasyon; THR, T Hücre Reseptörü; ILR, İnterlökin Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; TFH. Foliküler yardımcı T hücre)(129)

2.7.2. T Lenfositler

T lenfositler kemik iliğinde hematopoetik kök hücreden gelişir. B lenfositlerden farklı olarak gelişimlerini ve olgunlaşmalarını timusta tamamlarlar (134, 135). Timik gelişim gebeliğin 8. haftasında başlarken T lenfosit oluşumu 14. haftadan itibaren gözlenmektedir (136). Kemik iliğinden timusa göç eden CLP, orada T hücrelerine olgunlaşır. Timusa girdiklerinde, CLP öncelikle T hücresi reseptörleri CD4 ve CD8'i veya TCR ifade etmeyen çift negatif (double negative, DN) timosit haline gelir. DN aşamasında, CD4-CD8- timosit, adhezyon molekülü CD44 ekspresyonunu kaybetmeye başlar ve hücre yüzeylerinde IL-2 reseptörünün α zinciri olan CD25'i eksprese etmeye başlar. Bu durum sayesinde, TCR- β zincir lokusları başarılı bir şekilde yeniden düzenlenmiş olur. Daha sonra, DN T hücre, pre-TCR'yi ifade etmeye başlar. Bu, yeniden düzenlenmiş β zincir ve pre- α zincirinden oluşan bir yapıdır. Pre-TCR aşamasından sonra hem CD4 hem de CD8'in (CD4+CD8+) ifade edildiği çift pozitif (DP) hücreye geçiş gerçekleşir. Ardından pre-TCR, hem α zinciri

hem de β zinciri yeniden düzenlenmiş olan TCR ile değiştirilir (137). DP T hücreleri TCR'nin self-peptid tarafından sunulan MHC ile etkileşim aracılığıyla iletilen sinyallere bağlıdır (ihmal sonucu ölüm, pozitif seçim), ancak fazla sinyal akut apoptozu destekleyebilir (negatif seçim) (138, 139). Bu DP T hücreleri daha sonra yüksek düzeyde self-peptid-MHC komplekslerini ifade eden timus kortikal epitelyal hücreleri ile etkileşime girerler. Self-peptid-MHC I komplekslerine bağlanan DP T hücreleri, sinyal kesilmesi nedeniyle CD4 ifadesini yitirdikleri için sitotoksik CD8+ T hücrelere dönüşürler. Self-peptid-MHC II ligandlarına bağlananlar ise CD8 ifadesini yitirdikleri için naif CD4+ T hücrelere (Tn CD4+) dönüşürler. Bu tek-pozitif (single positive, SP) T hücreleri artık olgunlaşmış durumdadır ve çevresel lenfoid bölgelere göç ederler. CD8+ T hücreleri sitotoksik özellikleriyle virüs ile enfekte olmuş hücreleri ve tümör hücrelerini yok ederler ve aynı zamanda transplant reddinde de rol oynarlar. Yardımcı CD4+ T hücreleri immunolojik süreçlerde diğer lökositlere yardımcı olurken, düzenleyici CD4+ T hücreleri immunolojik toleransı sağlar (140).

Doku ve dolaşım sisteminde bulunan çoğu T lenfosit, alfa-beta T hücresi reseptörlerine ($\alpha\beta$ TCR) sahiptir (şekil 13).

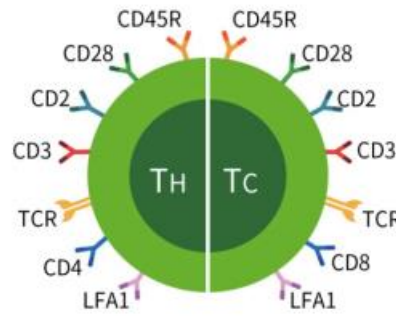


Şekil 13. T hücre reseptör çeşitleri (a, alfa; b, beta; g, gamma; d, delta)(141)

$\alpha\beta$ TCR ifade eden T lenfositler, hücrel bağışıklıktan sorumludur. Bu T lenfositler, CD3+ bir grup hücreyi oluşturur ve iki alt gruptan meydana gelirler: CD3+ CD4+ ve CD3+ CD8+ fenotipleri. CD3+ CD8+ T lenfositler, hücrel patojenlere ve tümörlere karşı bağışıklık tepkisi oluştururken, CD3+ CD4+ T

lenfositler, interferon (IFN) γ , IL-4, IL-17 gibi çeşitli sitokinler salgılayarak immün sistem hücrelerini (örneğin B lenfositler, makrofajlar ve NK hücreleri gibi) uyarak bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesine katkıda bulunur (135, 142).

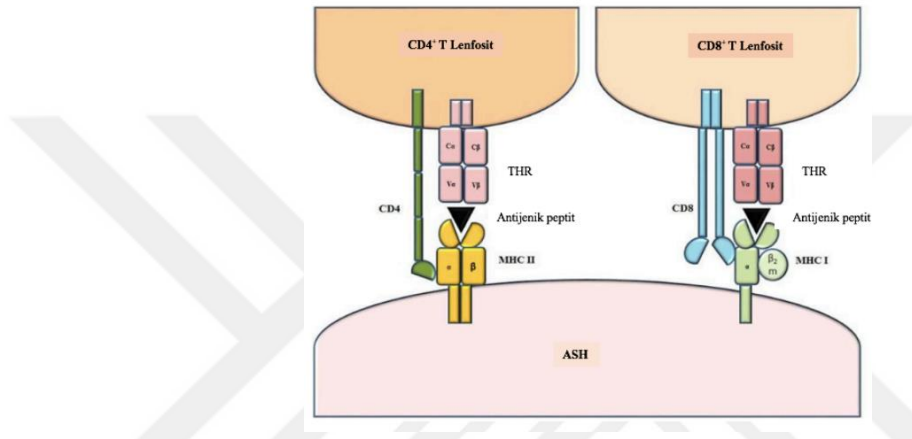
Kemik iliğinde oluşan ve timusta olgunlaşma sürecini tamamlayan naif $\alpha\beta$ T lenfositler, CD3⁺ CD45RA⁺ CCR7⁺ fenotipine sahip hücrelerdir (143). Aynı zamanda CD62L, CD28 ve CD27 gibi yüzey belirteçlerini ifade ederler. Bu naif T lenfositler, lenfoid dokulara yüksek endotel venüller yoluyla göç edebilmek için CCR7 ve L-selektin gibi molekülleri yüzeylerinde taşırlar (144, 145). CCR7 reseptörü, parakorteks (T hücre bölgesi) adı verilen bölgelerde bulunan fibroblastik retiküler hücreler tarafından üretilen CCL19 ve CCL21 moleküllerine özgüdür ve naif T lenfositlerin lenf nodunun parakorteks bölgesine göç edip antijen sunan hücreler (ASH) ile etkileşime girebilmesi için gereklidir (145). Antijenle henüz karşılaşmamış olan T lenfositler, aynı şekilde B lenfositler gibi bir kez daha dolaşıma katılmak için lenf nodundan çıkarlar. Bu nedenle, S1PR1 ekspresyonu artan hücreler, lenf nodundan çıkarak artan S1P konsantrasyonunu takip eder ve dolaşıma yeniden katılırlar. Ancak bu T lenfositler, antijenle karşılaşmazlarsa, B lenfositlerde olduğu gibi 1-3 ay içinde apoptoza uğrarlar (144). T lenfositlerin yüzey belirteçleri şekil 14'te verilmiştir.



Şekil 14. T lenfosit yüzey belirteçlerinden bazıları (Tc. Sitotoksik T hücre; Th. Yardımcı T hücre)(146)

ASH'ler içinde en güçlü T lenfosit uyarıcılarından biri dendritik hücrelerdir. Bu hücreler, patojenleri tanır ve fagosite ederler, ardından antijen sunumu için CCR7 kemokin reseptörünü ifade ederek lenf noduna doğru göç ederler. Dendritik hücreler,

yakaladıkları protein yapıdaki antijenleri işleyerek peptit-MHC sınıf I veya MHC sınıf II kompleksi ile T lenfositlerine sunarlar. Hücre içi patojenlere ait antijenleri MHC sınıf I molekülü ile CD3+ CD8+ Tc lenfositlere sunarlar, hücre dışı patojenlere ait antijenleri ise MHC sınıf II molekülü ile CD3+ CD4+ Th lenfositlere sunarlar (147, 148). Bu sunulan antijenler, T lenfositlerin yüzeylerinde bulunan TCR ile MHC tarafından sunulan özgül antijenleri tanır. MHC-peptit+ TCR kompleksi, T lenfosit aktivasyonu için gerekli olan ilk sinyali oluşturur (şekil 15) (149).

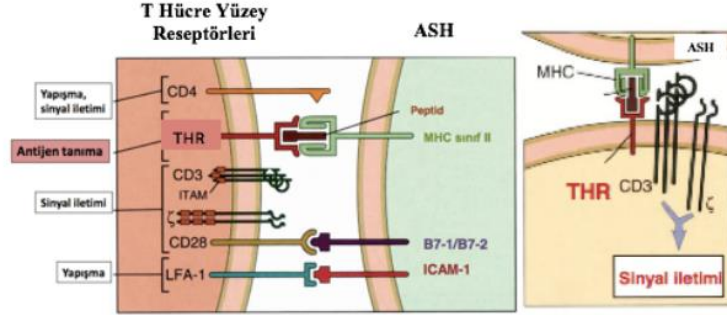


Şekil 15. CD4+ ve CD8+ lenfosit ASH etkileşimi (ASH, antijen sunan hücre; THR, T Hücre Reseptörü (TCR); ILR, İnterlökin Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II)(150)

T lenfositlerin aktivasyonu için TCR'ler tarafından tanınan protein yapıdaki antijen tek başına yeterli değildir. CD3, TCR ve z zincirlerinden oluşan üç polipeptid zinciri olan CD3 kompleksi, hücre yüzeyinde sinyal iletiminden sorumludur (137). Aynı zamanda T lenfositlerin yüzeyinde bulunan lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) ve ASH hücreleri arasındaki bağlantıyı güçlendiren hücrel adezyon molekülü-1 (ICAM-1) bulunur (151).

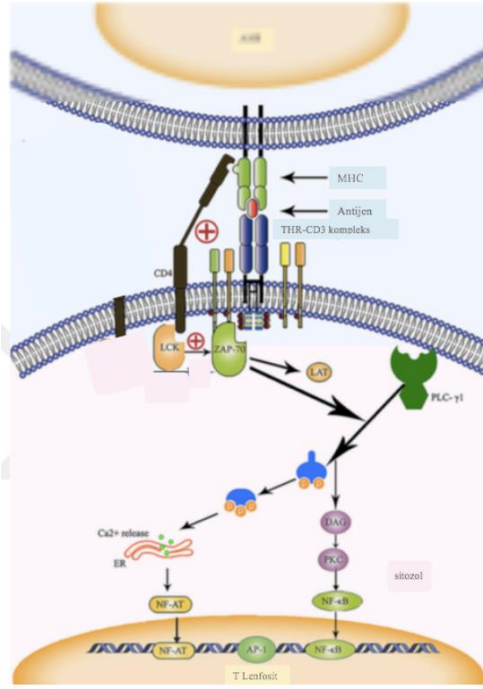
ASH'ler, T lenfositler tarafından tanındığında, aktive olan T lenfositler aynı zamanda yüzeylerinde bulunan CD40L ile ASH üzerindeki CD40 molekülüne bağlanır. Bu bağlanma, ASH'lerde bulunan B7 ve ICOS-L moleküllerinin ekspresyonunu artırır. B7 ve ICOS-L ko-stimülatörleri, aktif T lenfositlerin yüzeyinde bulunan CD28 ve ICOS reseptörleri ile etkileşime girerek T lenfosit aktivasyonunu teşvik eder (152). Bu ko-stimülatörler ve ko-reseptörler, T lenfosit aktivasyonunun ikinci sinyalini oluşturmada görevlidir (149). Diğer taraftan, PD-1-

PD-1L ve B7-CTLA-4 etkileşimi, T lenfositlerin aktifleşmesini engeller (şekil 16)(153, 154).



Şekil 16. ASH ve T lenfosit yüzey reseptörlerinin etkileşimi (ASH, Antijen Sunucu Hücre; THR, T Hücre Reseptörü (TCR); ITAM, immünoresptör tirozin bazlı aktivasyon motif; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; LFA-1, lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1; ICAM-1, hücreler arası adezyon molekülü-1)(97)

T hücrelerinin TCR'leriyle ASH'lere bağlanıp bu hücrelerin birbirlerini tanımaları sonucunda T lenfositler içinde bir dizi biyokimyasal aktivasyon yolunun tetiklendiği görülür. CD3 zinciri, immün reseptör tirozin bazlı aktivasyon motifleri adı verilen motifleri içeren sitoplazmik uzantılara sahiptir. CD4 ve CD8 gibi hücre içi sitoplazmik uzantılarda, immün reseptör tirozin bazlı aktivasyon motifleri fosforile eden reseptör ile ilişkili protein kinazlar, özellikle Lck adlı kinazlar bulunur. Bu fosforilasyon olayları, zeta zinciri ile ilişkili protein 70 gibi faktörlerle işbirliği yaparak çeşitli aktivasyon yollarının başlatılmasına neden olur (Şekil 17).



Şekil 17. ASH ile etkileşim sonrası T lenfosit aktivasyonu (ASH, Antijen Sunucu Hücre; THR, T Hücre Reseptörü; MHC-II, majör doku uygunluk kompleksi II; ZAP-70, zeta zincir ile ilişkili protein 70)(155)

Bu aktivasyon yolları sonucunda T lenfositlerin çoğalması ve farklılaşması için gereken NFAT, NF-kB ve AP-1 gibi faktörler oluşur. Bu faktörler hem IL-2 salınımı sağlar hem de başka hücrelerin yüzeyinde IL-2 reseptörü (IL-2R) ve CD40 ligandının ekspresyonunu artırır (137).

Antijenle karşılaştıktan sonra harekete geçen T lenfositlerin bir kısmı periferik dokularda dolaşan etkili hafıza T lenfositlerine (T effector memory, TEM) farklılaşırken bir kısmı da merkezi hafıza T lenfositlerine (T central memory, TCM) farklılaşır. Bu iki hafıza hücresi türü işlevsel olarak, CCR7 kemokin reseptörünün varlığına bağlı olarak sınıflandırılır (156).

TEM lenfositleri, CD45RA⁺ CCR7⁻ fenotipi taşırlar ve IL-4, IL-5 (yalnızca CD4⁺ T lenfositleri) ve IFN- γ (hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T lenfositleri) gibi sitokinler üreterek patojenlere hızlı bir yanıt verirler ve koruma sağlarlar (156, 157). Bu hücreler, enflamatuvar dokulara göç etmek için yüksek düzeyde b1 ve b2 integrinlerini, CD103 ve kutanöz lenfosit ilişkili antijen gibi dokuya özgü reseptörleri

yüzeylerinde ifade ederler. Ayrıca CCR1, CCR3 ve CCR5 gibi enflamatuvar kemokin reseptörlerini de eksprese ederler (156).

TCM lenfositleri ise CD45RA- CCR7+ fenotipe sahiptir. Başlıca salgıladıkları sitokin IL-2'dir. TCM lenfositleri, CD62L olarak bilinen yüzey reseptörünü ifade ederek ikincil lenfoid dokulara göç ederler ve CCR7 kemokin reseptörü aracılığıyla bu dokularda kalırlar. Bu alanlarda lenfatik sistem aracılığıyla toplanan periferik doku antijenlerini gözlem altında tutarlar. İkinci bir uyarım sonrası, hızla çoğalarak etkili hücrelere dönüşebilme yeteneklerini artırmak için yüksek seviyede CD40L ifade ederler ve dendritik hücrelerle güçlü bir etkileşim kurarlar. TCM lenfositlerinden TEM lenfositlerine dönüşenler ise, CCR7 ekspresyonunu azaltırken enflamatuvar dokulara göç için gerekli olan adezyon moleküllerini sergilemeye başlarlar (156).

İnsanlarda bulunan bir diğer hafıza T lenfosit grubu, terminal diferansiye efektör bellek (terminally differentiated effector memory, TEMRA) lenfositleri olarak adlandırılır. Bu hücreler CD45RA ifadesi gösterir, ancak CCR7 eksprese etmezler ve CD45RA+CCR7- fenotipine sahiptirler. TEMRA lenfositleri, TEM lenfositleri gibi CCR3 eksprese eder ve böylece enflamatuvar periferik dokulara göç ederler (158).

Yeni thymic emigrantler (RTE'ler), intratimik gelişimi tamamladıktan sonra thymustan en son çıkan, fenotipik ve işlevsel olarak farklı T hücresi alt gruplarından oluşan bir topluluktur (159, 160). Kemik iliğinden veya fetal karaciğerden gelen T hücresi öncüler, thymusa girdiklerinde kortekste pozitif seçilimden geçerler ve medullada negatif seçilime uğrarlar(161). Bu süreç, thymic epitel hücreleri (TEC'ler), dendritik hücreler (DC'ler) ve diğer stromal hücrelerle normal etkileşimlere bağlıdır(162).

RTE'ler, thymic çıktıyı ve dolaşımdaki T hücre havuzunu birbirine bağlayarak insan bağışıklığını sistematik olarak etkilediği için klinik ve immünolojik açıdan önemli bir T hücresi popülasyonudur. Bu hücreler, yeni doğanlardan başlayarak

bebeklerde ve genç yetişkinlerde periferik T hücre havuzunun önemli bir kısmını oluşturur(163).

2.7.2.1. CD4+ T Lenfositler

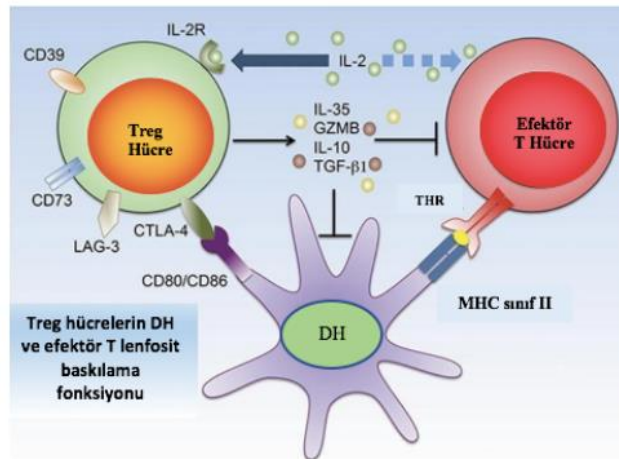
Kandaki lenfositlerin yaklaşık %35-60'ını oluşturan Th hücreleri, farklı bir grup içinde yer alırlar (164). CD4+ olarak da bilinen bu hücreler, CD8 uyarılmasının yanı sıra, NK hücreleri, makrofajlar ve granülositler gibi birçok hücrenin işlevini düzenlemekten sorumludur (165). Diğer taraftan eksprese ettikleri IL-10 ve dönüştürücü büyüme faktörü beta (transforming growth factor β , TGF- β) gibi sitokinlerle inflamatuvar cevabı da inhibe ederler (166). ASH'lerin uyarıcı sitokinler, CD4+ T lenfositlerin çeşitli alt gruplara farklılaşmasını tetikler. Bu sitokinlerin etkisiyle, hücre içinde çeşitli transkripsiyon faktörleri harekete geçer. Bu transkripsiyon faktörleri, hücre içinde farklı genlerin aktive olmasını sağlayarak, hücrelerin salgıladığı sitokin profili ve yüzey belirteçlerini değiştirir (135, 167, 168).

Th1 hücreleri, IL-12 ve IFN- γ ile uyarılarak farklılaşır. Bu süreçte anahtar bir transkripsiyon faktörü olan T-bet etkinleşir (135). Th1 hücreleri, yüzeylerinde bulunan CXCR3 belirteci sayesinde tanımlanır (168). Bu hücreler, IFN- γ , IL-2 ve tümör nekroz faktörü (TNF) alfa gibi sitokinler salgılayarak makrofaj ve NK hücre aktivasyonuna katkıda bulunur (135, 167, 169). Ayrıca, enfeksiyonlarla savaşırken hücrel bağışıklık yanıtlarını destekler ve IgG tipi antikorların üretimine yardımcı olur (170).

Th2 hücreleri, CD 194 (diğer adıyla CCR4) ve CD294 gibi belirteçleri bulundurulur (168). Th2 hücreleri, IL-4 aracılığıyla farklılaşır ve bu sürecin anahtar transkripsiyon faktörü GATA3'dür (135) Bu hücreler, IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi sitokinler salgılayarak IgE antikorlarının üretimini teşvik eder ve helmantik parazitlere karşı yanıtta eozinofillerin aktivasyonuna yardımcı olurlar. Ayrıca, hücrel olmayan patojenlere karşı konakçının savunmasında ve alerjik reaksiyonlarda önemli bir rol oynarlar (135, 169, 171).

Th17 hücrelerinin farklılaşmasında rol oynayan ana sitokinler TGF- β , IL-23 ve IL-6'dır ve ana transkripsiyon faktörü ROR γ t'dir (135). Th17 hücreleri, CD196 (diğer adıyla CCR6) veya CD161 gibi belirteçleri taşırlar (168). Bu hücreler, IL-17, IL-21, IL-22, IL-25 ve IL-26 gibi çeşitli sitokinler salgılayarak enfeksiyon bölgesine nötrofil ve monosit göçünü teşvik ederler (172). Ayrıca, hücre dışı bakteri ve mantarlara karşı konakçının savunmasını artırarak vücudu korurlar (172-174).

Treg hücreleri, TGF- β ve IL-2 sitokinleri ile farklılaşır. Bu hücreler, CD3+CD4+CD25yüksekCD127düşük/-FoxP3+ belirteçlerine sahiptir ve FoxP3 adlı ana transkripsiyon faktörü tarafından sentezleri düzenlenir (169). Yüzeylerinde yüksek miktarda IL-2R (CD25) ve CTLA4 (CD152) belirteçleri bulunur. Treg hücreleri, granzim-B, IL-10, IL-35 ve TGF- β gibi anti-enflamatuar sitokinler üreterek veya CTLA4 aracılığıyla immün sistem hücrelerini baskılayarak immün yanıtları düzenler ve vücutta homeostaz sağlar. Ayrıca, yüzeylerindeki yüksek miktarda CD25 molekülü ile çevresel IL-2'yi bağlayarak diğer T hücrelerinin aktivasyonunu baskılar ve otoimmün hastalıklara karşı koruma sağlar (175). Son çalışmalar, Treg hücrelerinin tümör spesifik efektör T hücrelerinin aktivasyonunu ve çoğalmasını baskılayarak antitümör immünite yanıtlarını pasif hale getirebileceğini göstermektedir (şekil 18)(176).



Şekil 18. Treg hücrelerin dendritik hücre ve T lenfositleri baskılama fonksiyonu (177)

TFH hücreleri, IL-6, IL-23 ve TGF- β gibi sitokinlerin etkisiyle farklılaşırlar (178). Fenotip olarak CD3+CD4+CXCR5 yüksek CCR7 düşük ICOS yüksek PD-

lyüksek hücrelerdir ve bcl-6 adı verilen başlıca transkripsiyon faktörü tarafından düzenlenirler (123). TFH hücreleri, yüzeylerinde taşıdıkları CD40L, IL-21 ve IL-6 gibi çeşitli sitokinler aracılığıyla B lenfositlerin afinite olgunlaşmasını ve izotip değişimini teşvik ederler. Bu şekilde yüksek afiniteli plazma hücrelerinin oluşumunu artırır ve hafıza B lenfositlerinin gelişimine katkıda bulunurlar (178). Aynı zamanda uzun ömürlü plazma hücrelerinin oluşumunu teşvik ederek antikor üretimini artırır (179).

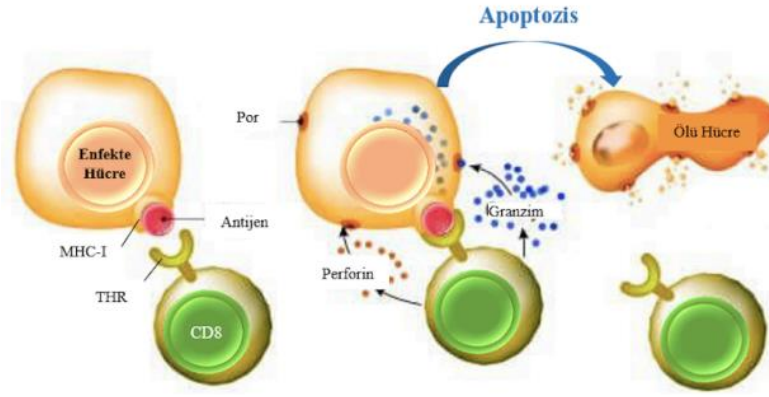
Son araştırmalar, Treg hücreleri içinde CD185, diğer adıyla CXCR5 ekspresyonu gösteren yeni bir alt grup tanımlamıştır. Bu yeni hücre grubuna foliküler regülatör T (follicular regulatory T, TFR) hücreleri denir. TFR hücreleri, hem TFH hem de Treg hücrelerinin özelliklerini taşırlar. PD-1, CXCR5 ve ICOS gibi TFH hücrelerine ait yüzey belirteçlerini ve CTLA-4 gibi Treg hücrelerine ait yüzey belirteçlerini taşırlar (180). Aynı zamanda Treg hücrelerine ait Foxp3 gibi transkripsiyon faktörlerine ve TFH hücreleri için gerekli olan Bcl6 gibi transkripsiyon faktörlerine sahiptirler (180, 181). Bu hücreler, genel olarak GM reaksiyonlarının düzenlenmesinden, antikor üreten hücrelerin ve antikor yanıtlarının azaltılmasından, TFH hücrelerinin ve GM'deki B lenfositlerinin çoğalmasının engellenmesinden sorumlu olduğu belirtilmektedir (182). CD4+ T lenfosit alt gruplarının özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. CD4+ T lenfosit alt grupları ve özellikleri

CD4+ T Hücre Alt Grupları	T _H 1 Hücreleri	T _H 2 Hücreleri	T _H 17 Hücreleri	T _{reg} Hücreleri	T _H 1 Hücreleri	T _{FR} Hücreleri
Farklaşmayı İndükleyen Sitokinler	IL-12 IFN- γ	IL-4	IL-23 IL-6 IL-21	TGF- β	IL-6 IL-23 TGF- β	TGF- β
Transkripsiyon Faktörleri	T-bet	GATA3	ROR γ t	FoxP3	Bcl-6	FoxP3 Bcl-6
Sekrete Ettiği Sitokinler	IL-2 IFN- γ	IL-4 IL-5 IL-13	IL-17	TGF- β IL-10	IL-21	TGF- β IL-10
Yüzey Belirteçleri	CXCR3	CCR4 CD294	CCR6 CD161	IL2R(CD25) CTLA-4 PD-1	CXCR5 ICOS PD-1	CXCR5 ICOS PD-1 CD25 CTLA-4
Fonksiyonları	Makrofaj aktivasyonu	IgE ve eozinofil/mast hücre aracılı immün reaksiyonların uyarılması, Alerjik reaksiyonlar	Bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı koruyucu yanıtın sağlanması	Diğer efektör hücrelerin baskılanması	B hücre aktivasyonunun ve antikor yanıtının uyarılması	GM B hücre proliferasyonunun ve antikor üretiminin sınırlandırılması

2.7.2.2. CD 8 T Lenfositler

CD8+ sitotoksik T lenfositleri, hem virüsler ve bakteriler tarafından enfekte olmuş hücrelerin hem de tümör hücrelerinin yıkımında görev alan hücrelerdir. Bu lenfositler, kendilerine sunulan protein yapıdaki antijenleri MHC sınıf I ile tanır ve ardından perforin ve granzim gibi sitotoksik enzimleri salgılar (142). Perforin, hedef hücre zarında delikler açarak osmotik dengesizliklere yol açar. Granzim ise hedef hücrede kaspaz yolu aktivasyonunu başlatarak programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) meydana getirir, böylece enfekte hücreleri veya tümör hücrelerini apoptoza yöneltir (şekil 19)(183). CD8+ sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonu, yardımcı T hücrelerine benzer şekilde iki sinyal gerektirir. İlk sinyal, antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan antijen-MHC sınıf I kompleksi tarafından sağlanır. İkinci sinyal ise uyarılmış yardımcı T hücrelerince üretilen IL-2 sitokinidir (106).

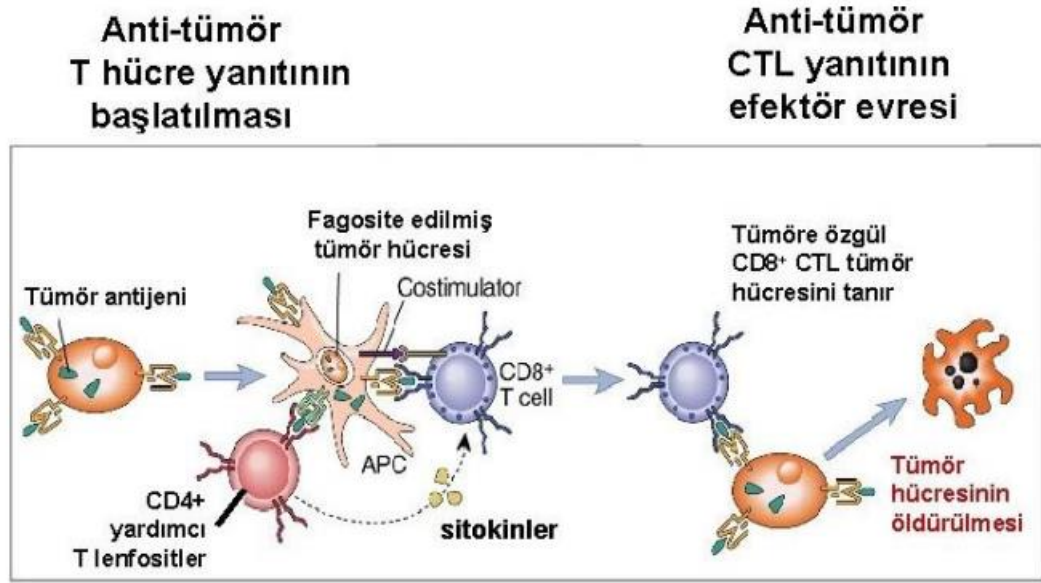


Şekil 19. Granzim ve perforin ile CD8+ sitotoksik aktivitesi (184)

Saf bir CD8+ T hücrenin tam anlamıyla sitotoksik T hücreğine dönüşmesi için, antijene özgü bir CD4+ T hücreсі ile etkileşime girmesi gerekmektedir (185). Ayrıca, viral tehditlere karşı başlangıç CD8+ T hücre yanıtını güçlendirmek için, doğrudan CD4+ T hücre yardımı da gerekebilir (185, 186). Sitotoksik T hücreleri, lenfoid dokularda efektör özellikler kazandıktan sonra, periferde dolaşarak enfekte olmuş hücreleri hedefler. Hedeflenen hücreler genellikle MHC sınıf I moleküllerini ifade eden somatik hücrelerdir. Lizis sürecindeki ilk adım, T hücre reseptörüne özgü antijenlerin sunulduğu, sitotoksik ve hedef hücreler arasındaki membran temasıdır. Çoğu sitotoksik T lenfosit, alfa-beta T hücre reseptörü heterodimerini ve CD8 molekülünü içerir. Bu temas, CD8'in MHC sınıf I reseptörü ile TCR etkileşiminin yanı sıra birkaç T hücreсі/hedef hücre adezyon molekülü etkileşimi tarafından sağlanır (187, 188). Sitotoksiste, granüllerin (perforin, granzim vb.) hedef hücrelere salınımı veya Tc'ler üzerindeki Fas ligandının hedef hücrelerdeki Fas ile etkileşimi gibi iki temel mekanizma ile gerçekleşir. Tc'ler, hedef hücrelere doğrudan zarar verebilen veya mikrobiyal replikasyonu engelleyebilen çeşitli sitokinleri (IFN-gama, TNF vb.) salgılar (187, 188).

Tc'ler, tümör antijenlerini tanıyan ve bu hücreler üzerinde doğrudan sitotoksik etki gösteren, bu nedenle tümör immünitesinde önemli bir rol oynayan ana hücre gruplarıdır. Efektör Tc'ler, tümöre özgü neoantijenleri tanıyarak kanserli hücrelere bağlanır ve perforin, granülin ve granzim gibi sitotoksik granülleri serbest bırakır (189). Perforin, kanserli hücre zarında porlar oluşturur ve granülin ile

granzim, bu porlardan geçerek hücrelerin parçalanmasını sağlar (şekil 20). Tümör mikroçevrede CD8+ Tc infiltrasyonunun, akciğer, meme, prostatik, kolorektal kanser gibi birçok kanser türünde iyi bir prognoz ve daha uzun hastalıksız sağkalım ile ilişkilendirildiği rapor edilmiştir (190).



Şekil 20. CD8+ Tc'lerin kansere karşı immün yanıtları (191).

CD8+ TFH hücreleri, germinal merkez B hücre yanıtlarını düzenleyerek ve otoantikor üretimini kontrol ederek görev alan hücrelerdir (192). CD8+ TFH'ler, B-cell lymphoma 6 (Bcl 6) proteini aracılığıyla foliküllere yerleşir (193). CD8+ TFH'lerin birçok kanser türünde, özellikle B hücreli, foliküler ve Hodgkin lenfomalarında, prognozla ilişkilendirildiği rapor edilmiştir (194, 195). Ayrıca yapılan araştırmalarda, CD8+ TFH hücrelerinin eksikliğinin, tümörün büyümesine ve tümör hücrelerinin immün yanıtlardan kaçmasına neden olduğu gösterilmiştir (194).

2.7.3. NK Hücre Alt Grupları

NK lenfositler, ayrı bir lenfosit grubu olarak kabul edilirler. Yüzeylerinde Ig reseptörleri de antijen reseptörleri de bulunmamaktadır. Bütün NK hücreleri CD16 ve CD56 yüzey moleküllerini taşımaktadır. Bunun yanı sıra CD57 (%30-40), CD7, CD2 (%70-90), ve CD8 (%30-40) gibi diğer antijenler de bulunur. Kemik iliğinden ayrılan

NK hücreleri dolaşıma katılır ve dalak gibi lenfoid organlara göç eder. Dolaşımdaki lenfositlerin yaklaşık %10-15'ini, dalaktaki lenfositlerin %1-2'sini oluştururlar. En önemli işlevleri tümör hücrelerini ve virüs taşıyan hücreleri hedef alarak bunları etkisiz hale getirmektir. MHC antijenlerini tanıma gerekliliği olmadan, otolog (kendi) ve allojenik (başkasına ait) tümör hücrelerini öldürebilirler (106).

NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesi, özellikle virüslü hücrelere karşı etkinliği, gama interferon ile artar. Bu şekilde aktive olan NK hücrelerinin işlevine lenfokin ile aktive edilmiş öldürücü aktivitesi adı verilir. Bunun yanı sıra, NK hücrelerinin bilinen fonksiyonlarına ek olarak, antikorlar aracılığıyla bağımlı hücrel sitotoksikite olarak adlandırılan, hedef hücre antijenlerine karşı öldürücü etki gösterme yetenekleri vardır. NK hücreleri aktive olduğunda; gama interferon, bazı esterazlar, TNF, koloni uyarıcı faktörler gibi sitokinler de dahil olmak üzere diğer lenfositlerin işlevlerini hızlandıran molekülleri salgılar (106)

İnsan periferik kanında, düşük-affiniteli Fc-reseptör γ IIIA (CD16) ve sinir hücre yapışma molekülü (NCAM, CD56) ifade seviyelerine dayalı olarak üç temel NK hücresi alt tipi ayırt edilebilir. CD56yüksekCD16yüksek ya da düşük, CD56düşükCD16düşük ve CD56düşükCD16yüksek fenotipik özellikler gösterirler. Kİ kökenli CLP'den önce CD56yüksekCD16yüksek ya da düşük NK hücreleri ilk olarak ayrılırlar (196). Bu CD56yüksekCD16yüksek ya da düşük NK'ler lenf düğümünde kalır ve DC ile etkileşime geçer veya daha sonra CD56düşükCD16düşük hale gelir ve ardından sitotoksik CD56düşükCD16yüksek NK'ler haline gelir (197).

2.8. Akan Hücre Ölçer

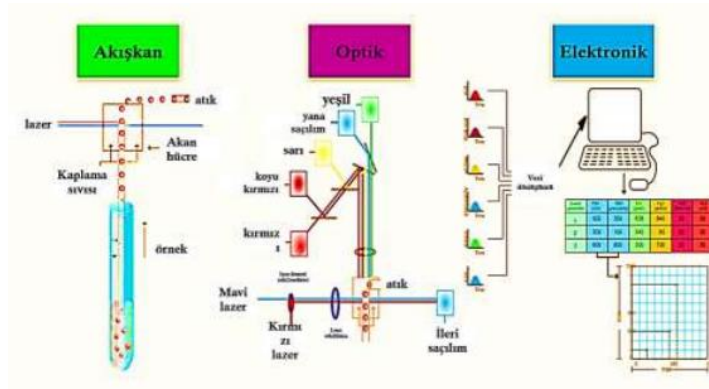
Akan hücre ölçer (flow cytometri) süspansiyon halindeki hücreleri bir akış kanalından, belli bir hızda tek tek geçiren ve geçiş esnasında hücrelerin belirli özelliklerini kullanarak sınıflandıran laboratuvar sistemlerdir. Bu sistemlerde çok sayıda hücre kısa sürede analiz edilebilir. Kapılama (gating) ile belirli özelliklere göre gruplanabilen hücreler analiz edilir. Analiz floresan yoğunluğunun ölçümüne dayanır. Bu sistemler ile hücrelerin hücre büyüklüğü sayısı yüzey belirteçleri gibi çok sayıda özelliği analiz edilebilir. Genel olarak, akış sitometreleri, akışkan

sistemler, optik bileşenler, elektronik algılayıcılar ve bilgisayarlar olmak üzere üç temel bileşen içerir. Parçacıklar, bir akışkan akışı içinde bir ışık huzmesinde hareket ederler. Farklı açılardan saçılan ışık ile hücrelerin boyut farklarını ve granülerliği ayırt edebilir. Öte yandan, floresanla işaretlenmiş antikorlardan yayılan ışık, geniş bir hücre yüzeyi ve sitoplazmik antijenler yelpazesi tanımlamada yardımcı olabilir. Temel akış sitometri prensibi, hareket halindeki bireysel parçacıkların etkileşime girdiğinde meydana gelen floresan yayılma ve ışık saçılmasına dayanmaktadır (genellikle bir lazer ışını olarak kullanılır).

Akış sitometrisi, geniş bir uygulama yelpazesi için kullanılır. Hematoloji bağlamında, bu uygulamalar, DNA içeriği analizi, lösemi ve lenfoma immunofenotipleme, insan immun yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte bireylerin immünolojik izlenmesi, eritrositlerin, lökositlerin ve trombositlerin yapısal analizi ve işlevsel özelliklerinin değerlendirilmesi, hücre proliferasyonunu belirleme, hücre döngüsü analizi, kalsiyum akışı ve membran potansiyel ölçümleri gibi konuları içerir (198-200).

2.8.1. Temel Bileşenleri

Akış sitometri cihazı; sıvı sistemi, lazer ışını kaynağı, filtreler ve sinyal dedektörleri, bilgisayar yazılım programları ve hücre ayırma mekanizması bileşenlerinden oluşmaktadır. Esasen, bir akış sitometri cihazının akışkan bileşen, optik bileşen ve elektronik bileşen olarak üç ana bileşeni mevcuttur (Şekil 21)



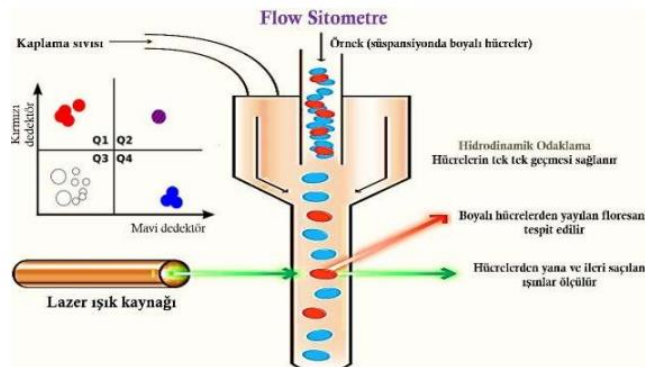
Şekil 21. Flow sitometrinin temel bileşenleri.

Hidrolik eleman, akış sistemini temsil eder ve partiküllerin lazer önünden geçişi için taşıyıcı sistem olarak görev yapar. Optik eleman, lazer önünden geçen hücrelerden kaynaklanan floresan saçılımını çapraz ve silindirik filtrelerle toplar ve düzgün bir şekilde fotodetektöre aktarır. Elektronik eleman, elde edilen optik sinyali “photo multipler tubes” ile amplifiye ederek elektrik sinyaline dönüştürme ve analiz için bilgisayara aktarma sürecinden sorumludur (201).

Akış sistemi, tek bir merkezi kanaldan meydana gelir ve örnek bu noktadan cihaza yönlendirilir. Merkezde bulunan örnek içeren sıvı (laminer akış) ve çevresindeki sıvı karışmadan ilerler. Bu nedenle partiküller tek bir sıra halinde düzenlenir ve bu hidrodinamik odaklanma olarak adlandırılır. Bu sayede lazer ışığı aynı anda tek bir hücreye odaklanır ve bu hücrenin analizi yapılır. Işın öne doğru yayıldığında, genellikle lazerle aynı yönde olan 20°'lik açıya sahip ışınlar ileri açış ışık saçılması (forward scatter chanel, FSC) adı verilen bir lens yardımıyla toplanır. FSC detektörü, hücrenin boyutu hakkında bilgi sağlar. Eksitasyon çizgisine yaklaşık 90° açıyla yayılan ışınların ölçülmesi ise yan açış saçılması (side scatter chanel, SSC) olarak adlandırılır. SSC, partiküllerin granüler içeriği ve iç yapısı hakkında bilgi sunar (202).

2.8.2. Çalışma Prensibi

Flow sitometri, floresan yoğunluğuna bağlı olarak süspansiyon halindeki hücrelerin boyutu ve granülaritesine göre tek hücre düzeyinde kantitatif ölçüm yapan bir sistemdir (Şekil 22)



Şekil 22. Flow sitometrinin çalışma prensibi (203)

Süspansiyon içindeki hücreler, hava basıncı kullanılarak sıvı içerisinden geçirilir. Sıvının yüksek hızda akışı, yüksek bir hidrostatik basınç oluşturur ve bu basınçla hücreler, cam veya kuvars malzemeden yapılmış akış kabini (flow cell) içine ulaşırlar. Bu kabinin geometrik şekli ve sıvının laminar akışı, hücrelerin tek bir sıra halinde lazer kaynağı önünden geçişini sağlar. Hücrelerin analizi için sistemde FSC, SSC ve floresan (FL-1, FL-2, FL-3 vb.) dedektörleri bulunur. Temel olarak, bir flow sitometri cihazından elde edilen forward scatter grafiği ile hücrelerin yaklaşık büyüklüğü, side scatter grafiği ile yaklaşık granülerliği ve floresan grafiği (belirli dalga boylarına özgü parlaklık) ile floresan miktarı hakkında bilgiler ediniriz (204, 205).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeki Genel Cerrahi Kliniği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından Haziran 2023 ile Kasım 2023 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya; klinik semptom ve bulgularla, radyolojik görüntüleme yöntemleriyle AE tanısı almış, 18-80 yaş arasında 30 hasta ve 18 -80 yaş arasında 30 sağlıklı kontrol dahil edildi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06/07/2023 tarihli 2023.05.13 numaralı kararı ile bu çalışmaya onay verilmiştir. TTU-2023-12734 proje kodlu çalışma Atatürk üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Hastalara çalışma ve uygulanacak işlemler hakkında bilgi verilerek yazılı onamları alındı. Örnek alımı sırasında, hastalara ilaç kullanım geçmişleri soruldu, AE için oral tedavi almayan, cerrahi tedavi geçmişi olmayan hastalardan örnek alındı. Akış sitometri analizi için örnekler, endotel hücre kontaminasyonunu önlemek amacıyla tam kan sayımı için örnekler alındıktan sonra alındı. Tam kan sayımı için di-potasyum etilen diammin tetra asetik asit (EDTA) içeren hemogram tüplerine (Becton Dickinson-BD, CA, ABD) alınan tam kan örnekleri, analiz için laboratuvara iki saat içinde aktarıldı. Tam kan sayımı analizleri, Sysmex Results Hematoloji Analiz Cihazı (Sysmex Corporation, Kobe, Japonya) üzerinde gerçekleştirildi.

3.1. Flow Sitometri Analizi

Hastalardan EDTA içeren tüplere 4 ml kan örneği alınarak, en geç 6 saat içerisinde, akım sitometri yöntemiyle CD45 Kro, CD3 PB,CD14 PB, CD8 PC7,CD27 PC7,TCR a/b APC, IgD APC,CD16 APC, TCR g/d PC5,CD24 PC5,CD197 PE, CD21 PE, CD56 PE, CD4 FITC,CD38 FITC, CD45 RA A750,HLA A750 ,CD45 RO ECD, CD19 ECD, CD20 A700 monoklonal antikor kitleri kullanılarak üretici firma önerilerine uygun olarak akım sitometri cihazında çalışıldı.

Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya laboratuvarında bulunan ve çalışma sırasında kullanılan cihazların listesi Tablo 2'de verildi

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar

CİHAZ	MARKA	MODEL	
Akan Hücre Ölçer	BECKMAN COULTER	NAVIOS 10C/3L	ABD
Santrifüj	NÜVE	NF-200	TÜRKİYE
Kan sayımı cihazı	SYSMEX RESULTS		JAPONYA
Vorteks	SIEMENS	NUVEMIX	ALMANYA

Analizi yapılacak hücrelerin ve bu hücrelerin alt gruplarının saptanması için 3 panel (B hücre, T hücre ve Total lenfosit hücre paneli) oluşturuldu. B hücre, T hücre ve total lenfosit hücre panellerinde kullanılan antikorlar ve özellikleriyle ilgili detaylı bilgiler Tablo 3’de verildi. Kullanılacak olan monoklonal antikorların floresan seçiminde antijen ekspresyon seviyeleri dikkate alındı. Hücre yüzeyinde yüksek düzeyde ifade edilen antijenler için düşük floresan ışımaya sahip boyalar, az ifade edilen antijenler için ise parlak florokrom özelliğe sahip boyalar seçildi.

Tablo 3. Panel ve antikor bilgileri

HÜCRE	ANTİKOR	FLOROKROM	MARKA
T LENFOSİT	CD45	kro	Beckman Coulter
	CD3	PB	Beckman Coulter
	CD8	PC7	Beckman Coulter
	TCR ab	Apc	Beckman Coulter
	TCR qd	Pc5	Beckman Coulter
	CD 197	PE	Beckman Coulter
	CD 45 RA	A 750	Beckman Coulter
	CD 45 RO	ECD	Beckman Coulter
B LENFOSİT	CD 45	kro	Beckman Coulter
	CD 19	ECD	Beckman Coulter
	IgD	APC	Beckman Coulter
	CD 27	PC 7	Beckman Coulter
	CD 21	PE	Beckman Coulter
	CD 38	Fitc	Beckman Coulter
	CD 24	PC5 ŞDŞDSDS	Beckman Coulter
	HLA	A750	Beckman Coulter
	CD 14	PB	Beckman Coulter

Tablo 3. (Devamı)

TOTAL LENFOSİT	CD 45	kro	Beckman Coulter
	CD 3	PB	Beckman Coulter
	CD 4	Fıtc	Beckman Coulter
	CD 8	PC 7	Beckman Coulter
	CD 16	APC	Beckman Coulter
	CD 56	PE	Beckman Coulter
	CD 19	ECD	Beckman Coulter
	CD 20	A700	Beckman Coulter

3.2. Yöntem

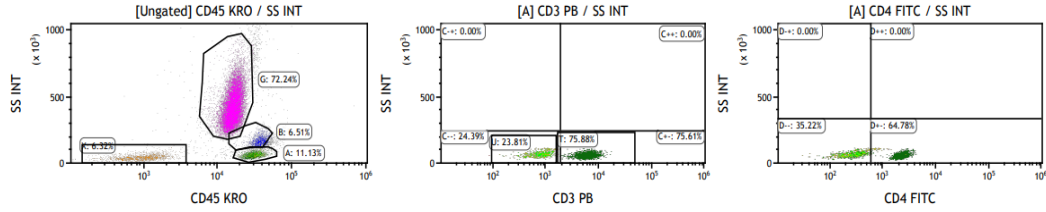
Venöz kan numuneleri 200 µL'lik alikotlar halinde üç polipropilen tüpe (Beckman Coulter Inc, Brea, CA, USA) alındı. Üzerlerine uygun B hücre, T hücre ve total lenfosit hücre panel tüplerine fluorochrome- conjugated MoAb lar eklendi- 15 dakika karanlıkta oda sıcaklığında inkübasyon-2 mL lysing (Optilyse, Beckman Coulter Inc, Brea, CA, USA) solüsyonu eklenerek karıştırıldı ve eritrosit lizisi yapıldı- 15 dk oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyon sonrası Beckman Coulter Navios (Beckman Coulter Inc, Brea, CA, USA) akış sitomeri cihazında cihaz yazılımı Kaluza Analysis 2.1 programı (Beckman Coulter Inc, Brea, CA, USA) kullanılarak analiz edildi. Toplam 1×10^6 hücre her numune için sayıldı. Kadranlar, izotip kontrolleri tarafından sağlanan floresans sinyallerine göre koyuldu.

CD45/SSC histogramından lenfositler kapılandı. CD3/SSC histogramı ile T hücreleri kapılanarak CD4 ve CD8 pozitif hücre yüzdesi ile dolaşımdaki T hücre yüzdeleri belirlendi. CD19, CD20, CD16-56 kadranları ile B lenfosit ve NK hücre oranları belirlendi (Şekil 23).

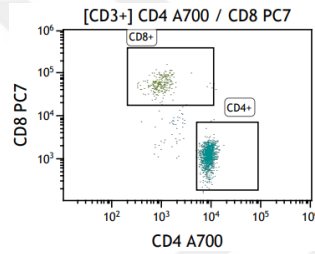
CD3 ve CD4 pozitif hücreler kapılanarak CD45RA-CD197 histogramı ile yardımcı T hücre alt grupları yüzdeleri belirlendi. Naive T Hücreleri (TN) CD45RA+CD197+ bölge, Santral Bellek (Central Memory) T Hücreleri (TCM) CD45RA-CD197+ bölge , Efektör Bellek (Effector Memory) T Hücreleri (TEM) CD45RA-CD197- bölge, Terminal Diferansiye Efektör Bellek T Hücreleri (TEMRA)

CD45RA+CD197- ve Yeni Timik Göç Yaşayan T Hücreleri T Hücreleri (RTEs) ise CD31+CD45RA+ bölgelerden kadran grafikleri ile belirlendi (Şekil 23).

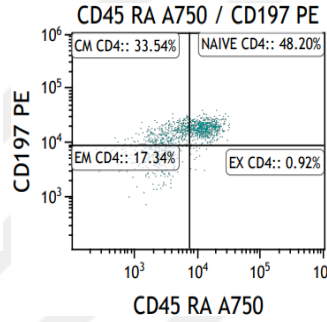
A



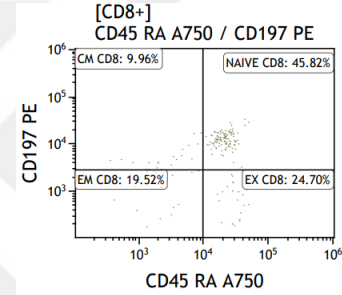
B



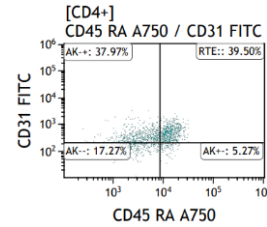
C



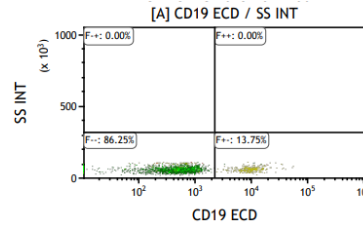
D



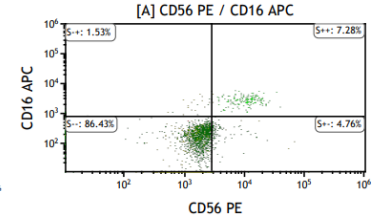
E



F



G



A: CD45/SSC Grafiği, CD3 + T Lenfosit kadranı, CD4+ T Lenfosit Kadran Grafiği, B: CD4+ CD8+ T Lenfositleri Belirleme Grafiği, C: Yardımcı T Hücre Alt Tiplerini Belirleme Grafiği, D: Sitotoksik T Hücre Alt Tiplerini Belirleme Grafiği, E: RTEs Belirleme Grafiği, F: CD19+ T lenfositleri Belirleme Grafiği, G: CD16+ CD56+ NK Hücreleri Belirleme Grafiği

Şekil 23. Lenfosit Alt Grup Belirleme İçin Akım Sitometri İle Kapılama Stratejisi

CD3 ve CD8 pozitif hücreler kapılanarak CD45RA-CD197 histogramı ile sitotoksik T hücre alt grupları yüzdeleri belirlendi. Naive T Hücreleri (TN) CD45RA+CD197+ bölge, Santral Bellek (Central Memory) T Hücreleri (TCM) CD45RA-CD197+ bölge, Efektör Bellek (Effector Memory) T Hücreleri (TEM)

CD45RA-CD197- bölge, Terminal Diferansiye Efektör Bellek T Hücreleri (TEMRA) CD45RA+CD197- ve Yeni Timik Göç Yaşayan T Hücreleri T Hücreleri (RTEs) ise CD31+CD45RA+ bölgelerden kadran grafikleri ile belirlendi (Şekil 23).

Hücre popülasyonunun mutlak sayıları, bu hücre popülasyonlarının yüzdeleri ve tam kan sayımı cihazından (Sysmex XN-1000 Hematology Analizörü (Sysmex Corporation)) elde edilen WBC sayısı ile hesaplandı (% hücre x WBC sayısı/100).

3.2.1. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu için Kolmogrov-Smirnov testi kullanıldı. Tüm parametreler normal dağılım gösterdiğinden AE hastaları ve kontrol grubu arasındaki farkların bağımsız örneklemelerde t-testi (independent samples t-testi- student t-testi) kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SS) olarak verildi. Gruplar arasındaki anlamlı farklılık için $p < 0,05$ olarak kullanıldı. İstatistik analizleri SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, United States) programı kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 30 hasta ve 30 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı yaş ve cinsiyet farkı yoktu. Hasta grubun yaş ortalaması $52,27 \pm 15,8$ olarak sonuçlandı. Hasta grubun % 60'ı kadın, % 40'ı erkekti (Tablo 4).

Tablo 4. Katılımcıların Demografik Özellikleri ve p değerleri

Parametreler	Kontrol grubu	AE Hasta grubu	p
Yaş (yıl)	46,80 $\pm$ 12,21	52,27 $\pm$ 15,80	0,136
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	12/18	18/12	0,158

AE hastaları ve kontrol grubunun hemogram parametreleri karşılaştırıldığında lenfosit, nötrofil ve eozinofil değerlerinde istatistiksel anlamlı seviyeler olduğunu belirledik. Her iki gruba ait ortalama $\pm$ standart sapma (ss) değerleri ve istatistik anlamlılık düzeyleri Tablo 5'de verilmiştir.

Hastaların lenfosit yüzdesi ve mutlak sayısı sağlıklı gruba göre düşük olarak ölçüldü fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 5).

Bazofil ve monositlerin hem mutlak sayıları hem de oranları incelendiğinde iki grup arasında anlamlı bir fark izlenmedi (Tablo 5).

Hastaların nötrofil sayısı $4,75 \pm 1,92$ ile; nötrofil yüzdesi $59,82 \pm 9,52$ ile sağlıklı gruptan anlamlı düzeyde yüksek ölçüldü (sırasıyla p: 0,01 ve p: 0,039)(Tablo 5).

Hasta grupta eozinofil yüzdesi ($3,62 \pm 3,24$) anlamlı şekilde kontrol grubundan yüksekken (p:0,018); eozinofil mutlak sayısı da hasta grupta $0,26 \pm 0,21$ ile anlamlı seviyede yüksek saptandı (p: 0,005) (Tablo 5).

Tablo 5. Alveolar Ekinokokkozis hastaları ve kontrol grubunun hemogram parametreleri ve istatistik anlamlılık değerleri

Parametre	Kontrol grubu	AE Hastaları	p
WBC (10^3 cells/ μ L)	6,93 $\pm$ 0,68	7,74 $\pm$ 2,31	0,068
Lenfosit (%)	33,65 $\pm$ 5,01	30,94 $\pm$ 6,46	0,052
Lenfosit (10^3 cells/ μ L)	2,27 $\pm$ 0,44	2,11 $\pm$ 0,71	0,293
Nötrofil (%)	55,51 $\pm$ 6,07	59,82 $\pm$ 9,52	0,039*
Nötrofil (10^3 cells/ μ L)	3,77 $\pm$ 0,71	4,75 $\pm$ 1,92	0,010*
Monosit (%)	8,45 $\pm$ 1,71	8,07 $\pm$ 2,30	0,471
Monosit (10^3 cells/ μ L)	0,57 $\pm$ 0,14	0,61 $\pm$ 0,21	0,446
Eozinofil (%)	2,10 $\pm$ 1,26	3,62 $\pm$ 3,24	0,018*
Eozinofil (10^3 cells/ μ L)	0,14 $\pm$ 0,08	0,26 $\pm$ 0,21	0,005*
Bazofil (%)	0,45 $\pm$ 0,26	0,39 $\pm$ 0,2	0,323
Bazofil (10^3 cells/ μ L)	0,03 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,02	0,945

*: İstatistiksel anlamlı p değeri

AE Hastaları ve kontrol grubunun lenfosit alt grup mutlak sayı yüzde değerlerini karşılaştırdığımızda CD3 T lenfosit sayısı ve CD16+ NK hücresi yüzdesi haricinde iki grup arasında istatistik anlamlı bir farklılık olmadığını belirledik ($p>0.05$) (Tablo 6).

Hasta grupta CD3+ T lenfositlerin yüzdesi ve sayısı sağlıklı gruba göre düşük olarak ölçüldü fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p:0,7$, $p:0,051$)(Tablo 6).

Hasta grupta CD4+ lenfositlerin sayısı azalırken oranı artmış olup anlamlı fark saptanmadı. Benzer şekilde CD8+ T lenfositlerin sayısı azalırken oranı artmış ölçüldü ve anlamlı fark yoktu (Tablo 6).

CD19 + B Lenfositler, B lenfositlere ait bakılan tek parametreydi. Sayı ve oranlarının hasta ve sağlıklı grupta benzer seviyelerde olduğu görüldü (Tablo 6).

CD16+ NK hücreleri de CD16+ CD56+ NK hücreleri de sayı ve oran olarak iki grupta ölçüldü fakat 4 değerinde de istatistiksel anlamlı sonuç çıkmadı (Tablo 6).

Tablo 6. AE Hastaları ve Kontrol Grubunun Lenfosit Alt Grup Değerleri ve İstatistik Anlamlılık Değerleri

Parametre	Kontrol grubu	AE Hastaları	P
CD3+ T Lenfosit (%)	72,31±8,78	71,26±12,61	0,706
CD3+ T Lenfosit (cells/ μ L)	1472,50±422,40	1214,65±569,02	0,051
CD4+ T Lenfosit (%)	44,04±7,45	44,27±9,04	0,913
CD4+ T Lenfosit (cells/ μ L)	889,09±260,53	767,42±400,77	0,164
CD8+ T Lenfosit (%)	29,53±4,54	31,08±8,31	0,365
CD8+ T Lenfosit (cells/ μ L)	597,26±163,24	549,95±294,99	0,439
CD19+ B Lenfosit (%)	11,99±3,68	11,56±3,89	0,656
CD19+ B Lenfosit (cells/ μ L)	249,48±106,51	200,96±112,05	0,088
CD16+ NK Cell (%)	13,97±7,78	17,62±6,88	0,059
CD16+ NK Cell (cells/ μ L)	317,70±174,87	279,50±152,95	0,367
CD16+CD56+ NK Cell (%)	12,66±5,53	14,25±6,93	0,328
CD16+CD56+ NK Cell (cells/ μ L)	259,81±121,46	218,09±170,73	0,275

*: İstatistiksel anlamlı p değeri

Efektör memory yardımcı T hücreleri olan, CD45RA- ve CD197- fenotipe sahip TEM CD4+ hücrelerin hem oranının ($43,72 \pm 10,78$, $p:0,001$) hem de sayısının ($786,72 \pm 451,98$, $p:0,003$) hasta grupta daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı seviyede olduğu görüldü (Tablo 7).

Merkezi bellek yardımcı T hücreleri olan; CD45RA- ve CD197+ fenotipe sahip TCM CD4+ T lenfosit grubuna ait hücrelerin hem oranının ($25,61 \pm 8,52$, $p:0,001$) hem de sayısının ($432,82 \pm 214,94$, $p:0,001$) AE hastalarında daha düşük olduğu ölçüldü ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 7).

CD45RA+ CD197+ olan naif yardımcı T lenfositler (TN CD4+) değerlendirildiğinde hem sayılarının ($447,53 \pm 319,82$) hem de oranlarının ($26,02 \pm 12,51$) hasta grupta belirgin şekilde düşük olduğu görüldü ve p değeri ikisinde de 0,001 olarak sonuçlandı (Tablo 7).

Hücre yüzey markırları CD45RA+ CD197- olan terminal diferansiye efektör bellek T hücrelerinden CD4 pozitif olanların (TEMRA CD4+) oranları ve sayıları hasta grupta anlamlı seviyede yüksek saptandı (sırasıyla $4,63 \pm 2,92$, $p:0,001$ ve $77,26 \pm 71,16$, $p: 0,012$) (Tablo 7).

Timüstan yeni perifere çıkan yardımcı T lenfosit hücre grubu olan ve CD31 markırı bulunduran RTEs CD31+CD4+ T lenfositlerin oranı ($19,76 \pm 10,45$) ve sayısı ($325,09 \pm 247,46$) ise hasta grupta anlamlı seviyede düşüktü, her ikisinin de p değeri 0,001'di (Tablo 7).

Tablo 7. Alveolar Ekinokokkozis Hastaları ve Kontrol Grubunun Yardımcı T Hücreleri Alt Grup Değerleri ve İstatistik Anlamlılık Değerleri

Parametre	Kontrol grubu	AE Hastaları	p
TEM CD4+ (%)	$24,30 \pm 7,43$	$43,72 \pm 10,78$	0,001*
TEM CD4+ (cells/ μ L)	$496,16 \pm 205,22$	$786,72 \pm 451,98$	0,003*
TCM CD4+ (%)	$32,39 \pm 4,67$	$25,61 \pm 8,52$	0,001*
TCM CD4+ (cells/ μ L)	$654,74 \pm 165,62$	$432,82 \pm 214,94$	0,001*
TN CD4+ (%)	$41,71 \pm 5,94$	$26,02 \pm 12,51$	0,001*
TN CD4+ (cells/ μ L)	$843,35 \pm 244,49$	$447,53 \pm 319,82$	0,001*
TEMRA CD4+ (%)	$1,98 \pm 0,88$	$4,63 \pm 2,92$	0,001*
TEMRA CD4+ (cells/ μ L)	$41,61 \pm 23,82$	$77,26 \pm 71,16$	0,012*
RTEs CD31+CD4+ (%)	$36,62 \pm 10,71$	$19,76 \pm 10,45$	0,001*
RTEs CD31+CD4+ (cells/ μ L)	$739,12 \pm 260,24$	$325,09 \pm 247,46$	0,001*

CD4+: Yardımcı T Hücreleri, TEM: Efektör Bellek (Effector Memory) T Hücreleri, TN: Naive T Hücreleri, TCM: Santral Bellek (Central Memory) T Hücreleri, TEMRA: Terminal Diferansiye Efektör Bellek T Hücreleri, RTEs: Yeni Timik Göç Yaşayan T Hücreleri, TCM: Santral Bellek T Hücreleri, TN: Naive T Hücreleri, TEMRA: Terminal Diferansiye Efektör Bellek T Hücreleri, RTEs: Yeni Timik Göç Yaşayan T Hücreleri, *: İstatistiksel anlamlı p değeri

Hasta ve sağlıklı grupta CD8+ T lenfosit alt tiplerinden olan ve yüzey markırlarından CD45RA ve CD197 negatif olan efektör bellek hücrelerinin (TEM CD8+) hem oranı ($58,51 \pm 8,50$) hem de sayısı ($1021,37 \pm 499,83$), hasta popülasyonda

sağlam kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek saptandı. Bu parametrelerin p değerleri ikisinde de 0,001 olarak hesaplandı (Tablo 8).

CD45RA negatifken CD197 pozitif olan merkezi bellek sitotoksik T lenfositlerin sayısı ve oranı TCM CD8+ olarak tablo 8’de gösterilmiştir. Hem sayıları hem de oranları hasta grupta yüksek sonuçlandı fakat p değeri 0,05’ten küçük değildi.

Naif CD8+ T lenfositler CD45RA+CD197+ olanlardır ve çalışmamızda sayıları (272,59±200,34) ve oranları (15,83±7,01) hasta grupta anlamlı şekilde düşük sonuçlandı. Her ikisinin de p değeri 0,001’di (Tablo 8).

Son olarak terminal diferansiye efektör bellek T hücreleri olan ve CD45 markırını bulundururken CD197 markırını bulundurmayan TEMRA CD8+ T lenfositlerle ilgili yapılan ölçümde anlamlı fark saptanmadı (Tablo 8).

Tablo 8. AE Hastaları ve Kontrol Grubunun Sitotoksik T hücreleri Alt Grup Değerleri ve İstatistik Anlamlılık Değerleri

Parametre	Kontrol grubu	AE	p
TEM CD8+ (%)	29,79±5,48	58,51±8,50	0,001*
TEM CD8+ (cells/μL)	608,88±204,25	1021,37±499,83	0,001*
TCM CD8+ (%)	4,55±2,43	5,82±2,51	0,058
TCM CD8+ (cells/μL)	91,43±49,12	105,80±73,08	0,405
TN CD8+ (%)	45,57±4,93	15,83±7,01	0,001*
TN CD8+ (cells/μL)	932,84±274,46	272,59±200,34	0,001*
TEMRA CD8+ (%)	20,09±5,49	19,84±5,68	0,876
TEMRA CD8+ (cells/μL)	395,62±108,44	344,92±192,07	0,206

CD8+: Sitotoksik T Hücreleri, TEM: Efektör Bellek (Effector Memory) T Hücreleri, TCM: Santral Bellek (Central Memory) T Hücreleri, TN: Naive T Hücreleri, TEMRA: Terminal Diferansiye Efektör Bellek T Hücreleri, *: İstatistiksel anlamlı p değeri

5. TARTIŞMA

AE, Orta ve Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Çin, Türkiye ve İran'da yaygın olarak karşılaşılan ekinokokkoz enfestasyonlarından biridir. Zoonotik ve helmintik olan bu enfestasyon *Echinococcus multilocularis*'in metasestod olarak isimlendirilen larva aşamasının sürekli çoğalması tarafından oluşturulur. Karaciğerde tümör benzeri bir büyümenin ardından komşu organ tutulumlarına veya uzak metastazlara neden olabilir. Karaciğer ile birlikte komşu veya uzak organ tutulumu, ileri evre AE'de görülür. İnkübasyon süresi beş ila on beş yıl arasında değişmektedir ve asemptomatik evrenin uzun olması nedeniyle tanıda zorluk yaşanabilir. AE için verilen benzimidazol kemoterapisi yeterince etkili olmayıp tam kür sağlamakta başarısızdır. Enfestasyonun kontrolü için yeni seçeneklere ihtiyaç vardır. En etkili tedavi kistin olduğu organın rezeksiyonudur. Tedavi edilmeyen hastalarda ilk tanıdan sonraki on yıllık mortalite oranının %95 olduğu bildirilmiştir (206).

Parazit dokusunun çoğalma potansiyeli, konakçının bağışıklık aracılı süreçlerinin fonksiyonuna göre değişir. AE hastalığının ileri safhalarında bağışıklık toleransı gelişmesi veya bağışıklığın baskılanması belirgin bir özelliktir. Gelecekteki çalışmalar, AE'de yanıtızlığa katkıda bulunan temel bağışıklık elemanlarını açıklamaya odaklanmalı ve immünolojinin aydınlatılmasının terapötik etki sağlanması için yeni yollar açacağı öngörmelidir (42).

Çalışmamızda lökosit sayı ve alt gruplarını değerlendirdiğimizde, nötrofil, eozinofil mutlak sayı ve yüzdelerinin AE hastalarında yüksek olduğunu belirledik. Her iki hücre grubu değer ortalamaları referans aralık değerleri içerisinde olmalarına rağmen kontrol grubuna göre daha yüksekti. AE hastaları ve kontrol grubunun lenfosit alt grup mutlak sayı ve yüzde değerleri her iki grup arasında benzerdi. Yardımcı T hücreleri alt grup değerleri karşılaştırıldığında, TEM CD4+ ve TEMRA CD4+ mutlak sayı ve yüzde değerleri AE hastalarında yüksek, TCM CD4+, TN CD4+ ve RTEs hücre mutlak sayıları ve yüzdelerinin ise daha düşük olduğunu belirledik. Sitotoksik T hücreleri alt gruplarında ise TEM CD8+ hücreleri mutlak sayı ve yüzde değerlerinin AE hastalarında yüksek, TN CD8+ hücre mutlak sayıları ve yüzde değerlerinin daha düşük olduğunu belirledik.

Fransa’da AE hastalığının yüksek risk grupları daha iyi tanımlamak amacıyla 180 hasta üzerinde yapılan araştırmada kadın ve erkek cinsiyetler arasında hastalığın görülme sıklığı açısından anlamlı fark olmadığı ve hastaların yaş ortalamasının 58 olduğu bulunmuştur (207). Bu çalışmadan farklı olarak bizim hastalarımızın yaş ortalamasının daha erken yaşta ve 52 olması; ülkemizin sağlık politikalarının iyi şartlarda olmasından ve insanların sağlık hizmetlerine ücretsiz ulaşması nedeniyle daha erken yaşlarda hastalığın belirlenebilmesinden kaynaklanmış olabilir.

1055 hasta taranarak yapılan geniş bir çalışmada kadınların, erkeklere göre 1,35 kat daha fazla AE olma riski taşıdığı bildirilmiştir. AE için 15 yaş altı kişiler en düşük prevalansa sahip bulunmuşken 15 ila 35 yaş grubunda prevalansın zirveye çıktığı, daha sonra yüksek yaş gruplarında tekrar düştüğü bulunmuştur. Aynı çalışmada kadın cinsiyete ek olarak ileri yaş, çobanlık mesleği yapma ve okuma yazma bilmeme AE için risk faktörleri olarak belirtilmiştir (208).

Literatürde bazı çalışmalarda kadın AE hastalarının oranının fazla görülmesi sebebiyle kadınların AE için daha çok yatkın olmaları sonucu çıkarılabilir fakat AE’nin kadınlarda daha çok görülmesinin, kadınlarda daha kolay saptanmasına bağlı olabileceği de çalışmalarda ileri sürülmüştür (209). Özellikle gebelik sırasında ya da diğer üreme sağlığı sorunlarıyla ilgili sık karın ultrasonu taraması yaptırmaları nedeni ile tanı almaları kolaylaşıyor olabilir. Asemptomatik seyreden ve başka amaçlı hastane taramaları ile birçok AE hastasının tanı alması alışlagelmiş bir durumdur.

Weijian ve ark.’nın (210) 200 AE hastasında yaptıkları çalışmada nötrofil sayısı sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek ve lenfosit sayısı AE hastalarında anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Bizim çalışmamızda bu makaleyle benzer şekilde, nötrofil mutlak sayısı ve yüzdesi AE tanılı hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek sonuçlandı ancak lenfosit yüzde ve mutlak sayısı açısından her iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Bu sonuç bizim çalışmamızda hasta sayısının daha az olmasından kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızda, primer amacımız lenfosit alt gruplarındaki değişiklikleri belirlemek olduğu için ve alt grup oranlarını belirlemek pahalı ve zahmetli laboratuvar işlemleri olduğu için katılımcı sayısı düşük tutuldu. Çalışmamızda lenfosit yüzdesi ve mutlak sayısı AE hastalarında daha

düşüktü fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızda katılımcı sayısı fazla olsa idi bu düşüklük istatistik anlamlılıkla sonuçlanabilirdi. Yine çalışmamızda nötrofil ve eozinofil yüzdelерinin yüksek olması ve lenfositlerin lezyon çevresinde toplanarak periferik kanda seviyelerinin düşmesi nedenleri ile bu küçük orandaki düşüklük açıklanabilir. *Echinococcus multilocularis* ile gelişen enfestasyona karşı T lenfosit bağımlı bir cevap olduğu ve parazitin karaciğerde granülom oluşturması ve çevresinde çok sayıda lenfosit toplanması nedeni ile periferik lenfositlerin azaldığı çalışmalarda bildirilmiştir (57).

Çalışmamızda eozinofil mutlak sayı ve yüzdelерinin AE hastalarında yüksek olduğunu belirledik. Eozinofil mutlak sayı ve oran değerlerinin AE hastalarında anlamlı düzeyde yüksek olması literatürdeki pek çok çalışmayla benzerdir (78, 82, 211). Hastaların %70 kadarında eozinofili olmadığı, daha çok rüptüre kisti olan hastalarda anlamlı seviyede eozinofili olduğu gösterilmiştir (212). Bizim çalışmamızda da AE hastalarında eozinofili belirlemedik ancak eozinofil sayı ve oranları hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksekti. Genel olarak AE hastalarında eozinofili belirgin değildir. Eozinofili saptandığında bu kişilerin AE açısından taramanın anlamsız olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (213).

Lenne ve ark.'nın (214) yaptığı bir çalışmada Th2'lerin ve ürettikleri sitokinlerin AE gelişiminde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu sitokinlerden biri olan IL-5 üretiminin anlamlı şekilde yükselmesine rağmen IL-5 tarafından uyarıldığı bilinen eozinofillerin sayısının artmadığını rapor etmişlerdir (214).

CD4+ TEM hücreleri IL-5 salgılayarak eozinofilleri uyaran ve patojene hızlı yanıt vererek koruma sağlayan hücre grubudur (215). Çalışmamızda TEM CD4+ T lenfositlerin hem sayısının hem de oranının AE hastalarında yüksek olduğunu belirledik. Çalışmamızda hem CD4+ TEM hücreleri hem eozinofil sayısının yüksek saptanması Sun ve ark.'nın (215) yaptığı çalışma ile benzer şekilde bu ilişki ile açıklanabilir. Çalışmamızla benzer şekilde COVID-19 hastalarında yapılan bir değerlendirmede hastalığın ilk anındaki TEM CD4+T lenfosit sayısı düşükken, servis ya da yoğunbakım yatışı gerektiren hastalarda takiplerde zamanla bu lenfosit alt grubunun sayısının anlamlı seviyede yükseldiği bulunmuştur (216).

Çalışmamızda CD4+ T lenfosit sayısı ya da oranında hasta grubu ile sağlıklı grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptamadık. Literatürde inflamatuvar ya da enfeksiyöz kaynaklı pek çok hadisede CD4+ T lenfosit sayısı düşük bulunmuştur. Farklı kategorilerden pek çok çalışmada gösterilen bu durum CD4+ T lenfositlerin diğer immun sistem hücrelerinin modülatörü vasfında olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ming Li ve ark.'nın (217) yaptığı çalışmada AE hastalarında CD4+ T lenfosit sayısının anlamlı şekilde düşük olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde Xinling Hou ve ark.'nın (218) yaptığı çalışmada kistik ekinokokkoz hastalarında CD4+ T lenfosit sayısının anlamlı şekilde düşük olduğu ve bunun da ötesinde CD4 + T hücresi eksikliğinin, *E. granulus* ile enfekte olmuş farelerde karaciğerde kistlerin oluşumunu kolaylaştırıcı olduğu gösterilmiştir. Karaciğeri tutan bir diğer parazit enfestasyonu olan şistozomiazis hastalığının ileri safhasında CD4+ T lenfosit sayısının düşüşünün daha fazla olduğu, bu düşüşün karaciğer fibröz derecesiyle korele olduğu kaydedilmiştir (219). Birbirinden farklı çeşitte kanser tanısı olan 201 hastada yapılan bir çalışmada CD4+ T lenfosit sayısı düşük olan grupta bağırsak parazitlerinin daha fazla olduğu kanıtlanmıştır (220). *Necator americanus* ve *Ancylostoma duodenale* ile enfekte olan bağırsak parazitozlu hastalarında yapılan çalışmada CD4+ T lenfosit oranlarının anlamlı şekilde düştüğü görülmüştür (221). HIV negatif tüberküloz hastalarında yapılan bir çalışmada CD4+ T lenfosit sayısı kliniği kötü olanlarda en düşük seviyedeysen sağlıklı grupta en yüksek seviyede saptanmıştır, ayrıca çalışmada ex olan 3 olgunun da CD4+ T lenfosit sayısının diğer tüm vakalara göre daha düşük olduğuna dikkat çekilmiştir. Aynı çalışmada tedavi sonrası bu lenfosit grubunun sayısının arttığı bildirilmiştir (222). İnflamatuvar ve nadiren enfeksiyöz bir süreç olan pankreatit hastalarında yapılan bir çalışmada da CD4+ T lenfosit sayısının az oluşu, pankreatit şiddetiyle ilişkilendirilmiştir (223). Enfeksiyöz ve otoimmün bir hastalık olan subakut sklerozan panensefalit hastası olan çocuklarda lenfosit alt gruplarının değerlendirildiği bir çalışmada sağlıklı grupla kıyaslandığında hasta olanlarda CD4+ T lenfosit oranı düşük bulunmuştur (224).

Literatürde AE'li hastalarda CD8+ T lenfositlerinin periferik kan düzeylerinin değerlendirildiği çalışmalarda farklı bulgular belirlenmiştir. Çalışmamızda CD8+T lenfosit sayısında ya da oranında anlamlı fark saptanmamıştır. Manfras ve ark. (20)

AE hastalarında yaşla değişen hücre sayılarını da dikkate alarak yaptıkları çalışmalarında CD8+ T lenfosit sayısı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu artışın AE'nin şiddetiyle de ilgili olduğu hatta tam tedavi sonrası normal seviyesine döndüğü saptanmıştır. Bu durum CD8+ T lenfositlerin bilinenin aksine ekstraselüler patojenlere karşı da son derece aktif olduğuna işaret etmektedir. Hui Zhao ve ark.'nın (225) yaptıkları çalışmalarında, AE hastalarında CD8+ T lenfositlerin sayısının ve fonksiyonlarının arttığını göstermişlerdir. *E.alveolaris* gibi karaciğere yerleşen bir parazit olan *S. japonicum* ile enfekte insanlarda 2023 yılında yapılan bir çalışmada sağlıklı grup, kronik hastalık evresi ve ileri evrede olan hastalar kıyaslandığında CD8+ T lenfositlerin sayılarının hastalığın evresinin ilerlemesiyle korele şekilde azaldığı görülmüştür (219). Benzer bir çalışmada şistozomiazis hastalarında düşük CD8+ T lenfosit sayısının karaciğer fibrozunun artışıyla ilişkili olduğu vurgulanmıştır (226). Bizim çalışmamızda hastaların nispeten erken dönemlerde yakalanması sebebiyle CD8+ T lenfositlerinin sayı ve oranında bir değişiklik saptanmamış olabilir.

Çalışmamızda TCM CD4+ T lenfositlerin hem sayısı hem de oranı hasta grubunda anlamlı seviyede düştüğü görülürken, TCM CD8+ T lenfositlerin sayısının her iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. *E.multilocularis* ile enfekte farelerin karaciğer dokuları incelenerek yapılan bir çalışmada hasta farelerin karaciğerinde CD4+ TCM hücrelerinin yüzdesi çok düşükken yüksek yüzdede CD8+ TCM hücreleri bulunmuştur (227). Kistik ekinokokozlu farelerde yapılan başka bir çalışmada da CD8+ TCM hücrelerinin yüzdesi hasta grupta daha düşük ve CD8+ TEM hücrelerinin yüzdesi ise kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (228). Farelere *E.multilocularis* protoskoleksleri enjekte edilerek yapılan bir çalışmada karaciğer ve dalaktaki CD8+ Tcm hücrelerinin arttığı histopatolojik olarak gösterilmiştir (229). Neumann ve ark.'nın (230) yaptığı çalışmada COVID-19 hastalarında TCM CD4+ T lenfositlerin sayısının arttığı görülmüş fakat bu durumun yalnızca şiddetli kliniğe sahip olanlarda gözlemlendiği, hafif ve orta grupta gözlenmediği belirtilmiştir.

Yüksek sitotoksiteleri ve zayıf proliferasyon kapasiteleriyle TEMRA hücreleri terminal olarak farklılaşmış hücreler olarak kabul edilir. Bu hücreler yaş,

genetik yapı gibi faktörlerden etkilendiği ve herhangi bir immunolojik olayda sayıları artıp azalabildiği için oldukça değişken kabul edilmektedirler (231). Sağlıklı insanlarda CD4+ TEMRA hücrelerinin oranı %0,3-18 arasında değişir ve fonksiyonel rolleri üzerine bilgilerimiz nispeten azdır (232). Çalışmamızda CD4+ TEMRA hücrelerinin mutlak sayısı ve oranı AE hastalarında anlamlı seviyede yükselmiştir fakat CD8+ TEMRA hücrelerinde bu değişiklik gözlenmemiştir. İnsan sitomegalovirüs enfeksiyonunda (233, 234) ve Dang virüs enfeksiyonunda CD4+ TEMRA hücrelerinin arttığı gösterilmiştir (235). Mathew ve ark.'nın (236) yaptıkları çalışmada, COVID-19 hastalarında CD4+ ve CD8+ TEMRA hücreleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. Neumann ve ark.'nın (230) COVID-19 hastalarında yaptıkları çalışmalarında TEMRA hücrelerinin sayısında ve oranında önemli bir değişiklik olmadığını göstermişlerdir (230).

Çalışmamızda hem TEM CD4+ T lenfositlerin sayısı ve oranının hem de TEM CD8 + T lenfositlerin sayısı ve oranının AE hastalarında anlamlı seviyede yüksek olduğunu belirledik. Farelerin portal veninden farklı miktarlarda *E.multilocularis* protoskoleksleri verilerek yapılan bir çalışmada yüksek miktarda parazite maruz kalan farelerin karaciğerinde daha yüksek düzeyde CD4+ TEM lenfosit olduğu belirtilmiştir (227). Neumann ve ark.'nın (230) COVID-19 hastalarında TEM CD4+ T lenfositlerin sayısının azaldığı görülmüş fakat bu durumun yalnızca şiddetli kliniğe sahip olanlarda gözlendiği, hafif ve orta grupta gözlenmediği belirtilmiş (230). Pediatrik gruptaki COVID-19 hastalarında yapılan bir çalışmada TEM CD4+ hücreleri 18 yaş altı tüm yaş gruplarında azalmış olarak saptanmıştır (237).

Çalışmamızda diğer lenfosit alt grup hücrelerinde olduğu gibi NK lenfosit sayısında da her iki grupta anlamlı bir değişiklik olmadığını belirledik. Literatürde NK hücrelerinin sayısının AE'li farelerde azaldığı hatta antikor aracılı NK hücrelerinin azalması ile paraziter yükün arttığı gösterilmiştir (228). Yine farelerde yapılan bir çalışma enfekte farelerin dalaklarında NK hücrelerinin arttığını belirtmiştir fakat hastalık şiddetiyle bu artışın korele olmadığı hesaplanmıştır. Ayrıca tedavi sonrası anlamlı düşüş de görülmemiştir (238).

Yardımcı T lenfositlerin timusta üretildikten sonra kana geçtiği anda sahip olduğu fenotip CD31+'lıdır. Timustan yeni göçen anlamına gelen RTEs (recent thymic emigrants) denilen hücreler CD31 pozitifler ve ardından naif lenfositlere dönüşürler, dokuda ya da kanda bellek hücrelere dönüşene kadar CD31 markırını bulundurlar (239). RTEs CD31+CD4+ lenfosit grubunun AE hastalığında değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda RTEs CD31+CD4+ T lenfosit sayı ve oranı hasta grubunda anlamlı düşüktü. COVID-19 hastalarında yapılan bir çalışmada pediatrik grupta RTEs CD31+CD4+ T lenfositlerin 16 yaşa kadar olan tüm hasta çocuklarda düşük olduğu bulunmuştur (237). Başka bir çalışmada CD3+ CD4+ CD45RA+ CD62L+ CD31+ hücre sayısı fazla olan COVID-19 hastalarında tat ve koku kaybı görülme sıklığının arttığı belirlenmiştir (240).

Çalışmamızda Tn CD4+ ve CD8+ hücrelerinin sayı ve oranlarının hasta grubunda anlamlı şekilde düşük olduğunu belirledik. Bu hücre gruplarının patojenle ya da antijenle uyarılma sonrası periferik kanda artması, ardından bellek hücrelerine dönüşmesi beklenirken (215) çalışmamızda düşüşün saptanması dikkat çekicidir. Sayılarının azalması bu bilgi ile çelişmekte olup ileri araştırma gerektirmektedir. Farklı miktarda parazitin farelere verildiği bir çalışmada haftalar içinde naif lenfositlerin sayısında anlamlı değişiklik olmadığı gibi düşük ya da yüksek miktarda parazite maruz kalınmalarıyla da naif lenfositlerin sayısında anlamlı değişiklik olmadığı kaydedilmiştir (227). Bizim çalışmamızda düşüşün saptanması nispeten AE hastalığının kronik bir enfeksiyon olması ve konakçı immünitesinden kaçarak lezyon oluşturmamasından kaynaklanmış olabilir.

Lenfosit alt kümeleri, bağışıklık tehdidi oluştuğunda farklı zaman pencerelerinde üretilir ve farklı doku lokasyonlarında toplanırlar. Hücrelerin farklılaşması; transkripsiyon faktörlerinin, epigenetik modifikasyonun ve metabolik programların karmaşık bir düzenlemesi altındadır (215). Hastalığın evresinden fazlaca etkilenen bu hücre gruplarını AE kliniğinin safhalarına göre incelendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın bazı sınırlamaları vardır. Öncelikle bu çalışma tek merkezli bir klinik çalışmadır ve dahil edilen hasta sayısı azdır. Daha büyük örneklem

büyükluğüne sahip çok merkezli klinik çalışmalara hâlâ ihtiyaç vardır. Çalışmada hastaların lenfosit alt grup sayıları klinik şiddetlerine göre karşılaştırılamamıştır. Cerrahi eksizyon ya da medikal tedavi sonrası kan değerlerinin değışimi kontrol edilememiştir. Son olarak, bu çalışmada T lenfositlerin alt kümelerinden dokuda öneme haiz olan bellek hücrelerinden TEM, TCM ve TEMRA lenfositlerinin değerlerine bakılmıştır ve bu hücre gruplarının periferik kandaki değerlerinin dokudaki seviyeleriyle korelasyonu da değlendirilememiştir. Ekinokokkoz ve diğer parazitozlarda T lenfositlerin bellek hücreleriyle ilgili çalışma sayısı oldukça azdır, bu konuda hem doku örneklerinin histolojik olarak incelendiği, hem de periferdeki sayılarının kıyaslandığı çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gelecekte yeni immünoterapötik yaklaşımların geliştirilmesi ve alveolar ekinokokkoz hastalarında hastalık tablosunun ilerlemesiyle ilişkili tükenmiş T hücrelerini hedeflemek için çalışmamızın sonuçları önemli olabilir. Bizim çalışmamızda numunelerimiz parazitin olduğu dokudan değil kandan elde edilmiştir. AE hastalığının sadece bölgesel tutulumlu ve lokal destrüktif özellikler taşıyan bir hastalık değil, sistemik bir hastalık olması sebebiyle kandan alınan örneklerde immunolojik etkiler görülebilmektedir. Buradan hareketle hastalığın tedavisiyle uğraşan ekiplere, özellikle lokal tedavisi mümkün olmayan veya anti-parazitik ilaçların etkinliğinin sınırlı olduğu durumlarda hem bu ilaçların etkinliğinin artırılması hem de bu ilaçlara alternatif geliştirilmesinde immünoterapi yaklaşımlarını dikkate almaları önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Calderini P, Magi M, Gabrielli S, Brozzi A, Kumlien S, Grifoni G, et al. Investigation on the occurrence of *Echinococcus multilocularis* in Central Italy. *BMC Veterinary Research*. 2009;5(1):1-6.
2. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical microbiology reviews*. 2004;17(1):107-35.
3. Miman Ö, Yazar S. Alveolar echinococcosis in Turkey: in the light of the literature. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2012;36(2):116.
4. Romig T. *Echinococcus multilocularis* in Europe-state of the art. *Veterinary Research Communications*. 2009;33:31-4.
5. Akyıldız HY, Akcan A, Karahan İ, Kucuk C, Sözüer E, Esin H. Recurrent liver hydatid disease: when does it become symptomatic and how does one diagnose it? *Clinical imaging*. 2009;33(1):55-8.
6. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta tropica*. 2010;114(1):1-16.
7. Nunnari G, Pinzone MR, Gruttadauria S, Celesia BM, Madeddu G, Malaguarnera G, et al. Hepatic echinococcosis: clinical and therapeutic aspects. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012;18(13):1448.
8. Menteş A, Yalaz S, Killi R, Altıntaş N. Radical treatment for hepatic echinococcosis. *HPB*. 2000;2(1):49-54.
9. Graeter T, Ehing F, Oeztuerk S, Mason RA, Haenle MM, Kratzer W, et al. Hepatobiliary complications of alveolar echinococcosis: a long-term follow-up study. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2015;21(16):4925.
10. Soyer V, Ara C, Yaylak F, Sarıcı B, Özsoy M, Koc O, et al. Advanced alveolar echinococcosis disease associated with Budd–Chiari syndrome. *International Journal of Surgery Case Reports*. 2015;7:154-6.
11. Frei P, Misselwitz B, Prakash MK, Schoepfer AM, Vavricka BMP, Müllhaupt B, et al. Late biliary complications in human alveolar echinococcosis are associated with high mortality. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014;20(19):5881.
12. Davidson RK, Romig T, Jenkins E, Tryland M, Robertson LJ. The impact of globalisation on the distribution of *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology*. 2012;28(6):239-47.
13. Bresson-Hadni S, Koch S, Miguet J-P, Gillet M, Mantion G-A, Heyd B, et al. Indications and results of liver transplantation for *Echinococcus alveolar* infection: an overview. *Langenbeck's archives of surgery*. 2003;388:231-8.
14. Koch S, Bresson-Hadni S, Miguet J-P, Crumbach J, Gillet M, Mantion G, et al. European Collaborating Clinicians. Experience of liver transplantation for

- incurable alveolar echinococcosis: a 45-case European collaborative report. *Transplantation*. 2003;75(6):856-63.
15. Tuxun T, Wang JH, Lin RY, SHAN JY, TAI QW, Li T, et al. Th17/Treg imbalance in patients with liver cystic echinococcosis. *Parasite immunology*. 2012;34(11):520-7.
 16. Nono JK, Lutz MB, Brehm K. EmTIP, a T-Cell immunomodulatory protein secreted by the tapeworm *Echinococcus multilocularis* is important for early metacystode development. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2014;8(1):e2632.
 17. Vuitton DA, Zhang SL, Yang Y, Godot V, Beurton I, Manton G, et al. Survival strategy of *Echinococcus multilocularis* in the human host. *Parasitology international*. 2006;55:S51-S5.
 18. Wang J, Vuitton DA, Mueller N, Hemphill A, Spiliotis M, Blagosklonov O, et al. Deletion of fibrinogen-like protein 2 (FGL-2), a novel CD4⁺ CD25⁺ Treg effector molecule, leads to improved control of *Echinococcus multilocularis* infection in mice. *PLoS neglected tropical diseases*. 2015;9(5):e0003755.
 19. Dai WJ, Waldvogel A, Siles-Lucas M, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* proliferation in mice and respective parasite 14-3-3 gene expression is mainly controlled by an $\alpha\beta$ ⁺ CD4⁺ T-cell-mediated immune response. *Immunology*. 2004;112(3):481-8.
 20. Manfras BJ, Reuter S, Wendland T, Kern P. Increased activation and oligoclonality of peripheral CD8⁺ T cells in the chronic human helminth infection alveolar echinococcosis. *Infection and immunity*. 2002;70(3):1168-74.
 21. Hadiani S, Mubarak A. Sistem Pendukung Keputusan Pemilihan Mata Pelajaran Unggulan Pada LPI Al-Muhajirin Cibeurih. *Jurnal Informatika*. 2017;4(1).
 22. Craig P, Pawłowski Z. *Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis: an emergent and global problem*: IOS press; 2002.
 23. Eckert J, Gemmell M, Meslin F-X, Pawłowski Z. Organization WH. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. 2001.
 24. Eckert J, Deplazes P, Kern P, Palmer S, Soulsby L, Torgerson PR, et al. Alveolar echinococcosis (*Echinococcus multilocularis*) and neotropical forms of echinococcosis (*Echinococcus vogeli* and *Echinococcus oligarthrus*). *Oxford Textbooks In Public Health*. 2011:669-99.
 25. Eckert J, Deplazes P. Alveolar echinococcosis in humans: the current situation in Central Europe and the need for countermeasures. *Parasitology today*. 1999;15(8):315-9.
 26. Conraths FJ, Deplazes P. *Echinococcus multilocularis*: epidemiology, surveillance and state-of-the-art diagnostics from a veterinary public health perspective. *Veterinary parasitology*. 2015;213(3-4):149-61.

27. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. The lancet. 2003;362(9392):1295-304.
28. Şenlik B. Echinococcus türlerinin gelişmeleri. Echinococcosis Hidatidoloji Derneği Yayın. 2004(1):31-42.
29. Thompson R, McManus D. Aetiology: parasites and life-cycles. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. 2001:1-16.
30. Eryıldız C. Echinococcus granulosus izolatlarının genotiplendirilmesi. 2010.
31. Çelik T. Echinococcus granulosus Antijenlerinin İzolasyonu ve Tanıdaki Değerlerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü: Doktora Tezi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı: Ankara ...; 2006.
32. CDC.-*. Echinococcosis/Life cycle. <https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/indexhtml>. 2018.
33. Catalano S, Lejeune M, Liccioli S, Verocai GG, Gesy KM, Jenkins EJ, et al. Echinococcus multilocularis in urban coyotes, Alberta, Canada. Emerging infectious diseases. 2012;18(10):1625.
34. Şenlik B, AI D. Echinococ'ların taksonomisi ve morfolojisi. Echinococcosis Hidatidoloji Derneği Yayın. 2004(1):13-30.
35. Tınar R, Umur Ş, Köroğlu E, Güçlü F, Ayaz E, Şenlik B. Veteriner Helmintholoji. Dora Basım Yayın Ltd Şti, Bursa. 2011.
36. Thompson R, Jenkins D. Echinococcus as a model system: biology and epidemiology. International journal for parasitology. 2014;44(12):865-77.
37. Deplazes P, Rinaldi L, Rojas CA, Torgerson P, Harandi M, Romig T, et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis. Advances in parasitology. 2017;95:315-493.
38. Torgerson PR, Keller K, Magnotta M, Ragland N. The global burden of alveolar echinococcosis. PLoS neglected tropical diseases. 2010;4(6):e722.
39. Baumann S, Shi R, Liu W, Bao H, Schmidberger J, Kratzer W, et al. Worldwide literature on epidemiology of human alveolar echinococcosis: a systematic review of research published in the twenty-first century. Infection. 2019;47:703-27.
40. Geramizadeh B, Nikeghbalian S, Malekhosseini SA. Alveolar echinococcosis of the liver: report of three cases from different geographic areas of Iran. Hepatitis Monthly. 2012;12(9).
41. Gürler AT, Bölükbaş CS, Açıcı M, Umur Ş. Overview of Echinococcus multilocularis in Turkey and in the World. Türkiye Parazitolojii Dergisi. 2019;43(Suppl 1):18-35.
42. Vuitton D, Bresson-Hadni S, Laroche L, Kaiserlian D, Guerret-Stocker S, Bresson J, et al. Cellular immune response in Echinococcus multilocularis infection in humans. II. Natural killer cell activity and cell subpopulations in the blood and in the periparasitic granuloma of patients with alveolar echinococcosis. Clinical and Experimental Immunology. 1989;78(1):67.

43. Armua-Fernandez MT, Joekel D, Schweiger A, Eichenberger RM, Matsumoto J, Deplazes P. Successful intestinal *Echinococcus multilocularis* oncosphere invasion and subsequent hepatic metacestode establishment in resistant RccHanTM: WIST rats after pharmacological immunosuppression. *Parasitology*. 2016;143(10):1252-60.
44. Nakao R, Kameda Y, Kouguchi H, Matsumoto J, Dang Z, Simon AY, et al. Identification of genetic loci affecting the establishment and development of *Echinococcus multilocularis* larvae in mice. *International journal for parasitology*. 2011;41(11):1121-8.
45. Emery I, Leclerc C, Sengphommachanh K, Vuitton Da, Liance M. In vivo treatment with recombinant IL-12 protects C57BL/6J mice against secondary alveolar echinococcosis. *Parasite immunology*. 1998;20(2):81-91.
46. Vuitton DA, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* and its intermediate host: a model of parasite-host interplay. *BioMed Research International*. 2010;2010.
47. Gottstein B, Deplazes P, Aubert M. *Echinococcus multilocularis*: immunological study on the “Em2-positive” laminated layer during in vitro and in vivo post-oncospherical and larval development. *Parasitology Research*. 1992;78(4):291-7.
48. Gottstein B. Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 1992;5(3):248-61.
49. Mejri N, Gottstein B. *Echinococcus multilocularis* metacestode metabolites contain a cysteine protease that digests eotaxin, a CC pro-inflammatory chemokine. *Parasitology research*. 2009;105(5):1253-60.
50. Knapp J, Bart J, Glowatzki M-L, Ito A, Gerard S, Maillard S, et al. Assessment of use of microsatellite polymorphism analysis for improving spatial distribution tracking of *Echinococcus multilocularis*. *Journal of clinical microbiology*. 2007;45(9):2943-50.
51. Knapp J, Bart J-M, Giraudoux P, Glowatzki M-L, Breyer I, Raoul F, et al. Genetic diversity of the cestode *Echinococcus multilocularis* in red foxes at a continental scale in Europe. *PLoS neglected tropical diseases*. 2009;3(6):e452.
52. Gottstein B. An immunoassay for the detection of circulating antigens in human echinococcosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1984;33(6):1185-91.
53. Vogel M, Gottstein B, Müller N, Seebeck T. Production of a recombinant antigen of *Echinococcus multilocularis* with high immunodiagnostic sensitivity and specificity. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1988;31(2):117-25.
54. Zhang W, McManus DP. Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2006;47(1):24-41.
55. Gottstein B, Hemphill A. Immunopathology of echinococcosis. Immunopathogenetic aspects of disease induced by helminth parasites. 1997:177-208.

56. Mejri N, Müller J, Gottstein B. Intraperitoneal murine *Echinococcus multilocularis* infection induces differentiation of TGF- β -expressing DCs that remain immature. *Parasite immunology*. 2011;33(9):471-82.
57. Fotiadis C, Sergiou C, Kyrou I, Troupis TG, Tselentis J, Doussaitou P, et al. Experimental echinococcus infection in the mouse model: pericystic cellular immunity reaction and effects on the lymphoid organs of immunocompetent and thymectomized mice. *In Vivo*. 1999;13(6):541-6.
58. Beschin A, De Baetselier P, Van Ginderachter JA. Contribution of myeloid cell subsets to liver fibrosis in parasite infection. *The Journal of pathology*. 2013;229(2):186-97.
59. Vuitton DA. The ambiguous role of immunity in echinococcosis: protection of the host or of the parasite? *Acta tropica*. 2003;85(2):119-32.
60. Godot V, Harraga S, Beurton I, Tiberghien P, Sarciron E, Gottstein B, et al. Resistance/susceptibility to *Echinococcus multilocularis* infection and cytokine profile in humans. II. Influence of the HLA B8, DR3, DQ2 haplotype. *Clinical & Experimental Immunology*. 2000;121(3):491-8.
61. Godot V, Harraga S, Beurton I, Deschaseaux M, Sarciron E, Gottstein B, et al. Resistance/susceptibility to *Echinococcus multilocularis* infection and cytokine profile in humans. I. Comparison of patients with progressive and abortive lesions. *Clinical & Experimental Immunology*. 2000;121(3):484-90.
62. Sturm D, Menzel J, Gottstein B, Kern P. Interleukin-5 is the predominant cytokine produced by peripheral blood mononuclear cells in alveolar echinococcosis. *Infection and Immunity*. 1995;63(5):1688-97.
63. Godot V, Harraga S, Deschaseaux M, Bresson-Hadni S, Gottstein B, Emilie D, et al. Increased basal production of interleukin-10 by peripheral blood mononuclear cells in human alveolar echinococcosis. *European Cytokine Network*. 1997;8(4):401-8.
64. Craig PS, Li T, Qiu J, Zhen R, Wang Q, Giraudoux P, et al. Echinococcoses and Tibetan communities. *Emerging infectious diseases*. 2008;14(10):1674.
65. Deplazes P, Eckert J. Veterinary aspects of alveolar echinococcosis—a zoonosis of public health significance. *Veterinary parasitology*. 2001;98(1-3):65-87.
66. Suzuki Y, Fujimoto Y, Hosoki Y, Suzuki M, Inoue M, Sakurai S, et al. Usefulness of contrast-enhanced wide-band Doppler ultrasonography to diagnose alveolar echinococcosis of the liver and evaluate the effect of the treatment. *European journal of radiology*. 2003;48(3):305-11.
67. Pawłowski Z, Eckert J, Vuitton D, Ammann R, Kern P, Craig P, et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. 2001:20-66.
68. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *International journal of Infectious diseases*. 2009;13(2):125-33.

69. McManus DP, Li Z, Yang S, Gray DJ, Yang YR. Case studies emphasising the difficulties in the diagnosis and management of alveolar echinococcosis in rural China. *Parasites & vectors*. 2011;4:1-4.
70. McManus DP, Gray DJ, Zhang W, Yang Y. Diagnosis, treatment, and management of echinococcosis. *Bmj*. 2012;344.
71. Goodfellow M, Shaw S, Morgan E. Imported disease of dogs and cats exotic to Ireland: *Echinococcus multilocularis*. *Irish Veterinary Journal*. 2006;59:1-3.
72. Öztekin İ. *Echinococcus Alveolaris* parazitliği. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*. 1995;1(3-4).
73. Ammann R, Hoffmann A, Eckert J. Swiss study of chemotherapy of alveolar echinococcosis--review of a 20-year clinical research project. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*. 1999;129(8):323-32.
74. Sezgin O, Altintas E, Saritas Ü, Sahin B. Hepatic alveolar echinococcosis: clinical and radiologic features and endoscopic management. *Journal of Clinical gastroenterology*. 2005;39(2):160-7.
75. Ammann R, Eckert J. Parasitic diseases of the liver and intestines. *Gastroenterol Clin*. 1996;25(3):656-83.
76. Ammann RW, Eckert J. Cestodes: echinococcus. *Gastroenterology Clinics*. 1996;25(3):655-89.
77. Siles-Lucas M, Gottstein B. Molecular tools for the diagnosis of cystic and alveolar echinococcosis. *Tropical Medicine & International Health*. 2001;6(6):463-75.
78. Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths F, Müller N. Laboratory diagnosis of *Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. *Advances in parasitology*. 2017;96:159-257.
79. Kern P, Kratzer W, Reuter S. Alveoläre Echinokokkose: Diagnostik. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*. 2000;125(03):59-62.
80. Woolsey ID, Miller AL. *Echinococcus granulosus sensu lato* and *Echinococcus multilocularis*: A review. *Research in veterinary science*. 2021;135:517-22.
81. Bartholomot G, Vuitton DA, Harraga S, Giraudoux P, Barnish G, Wang YH, et al. Combined ultrasound and serologic screening for hepatic alveolar echinococcosis in central China. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2002;66(1):23-9.
82. Kern P, Da Silva AM, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi K, Budke C, et al. The echinococcoses: diagnosis, clinical management and burden of disease. *Advances in parasitology*. 2017;96:259-369.
83. Bhutani N, Kajal P. Hepatic echinococcosis: A review. *Annals of medicine and surgery*. 2018;36:99-105.
84. Deplazes P, Gottstein B. A monoclonal antibody against *Echinococcus multilocularis* Em2 antigen. *Parasitology*. 1991;103(1):41-9.

85. Dinkel A, von Nickisch-Rosenegk M, Bilger B, Merli M, Lucius R, Romig T. Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host: coprodiagnosis by PCR as an alternative to necropsy. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36(7):1871-6.
86. Polat KY, Balik AA, Celebi F. Hepatic alveolar echinococcosis: clinical report from an endemic region. *Canadian journal of surgery*. 2002;45(6):415.
87. Yazar S, Kuk S, Miman Ö. Saygı'nın temel tıbbi parazitoloji'si. Erciyes Üniversitesi Yayınları. 2016(206):82-95.
88. Hillenbrand A, Gruener B, Kratzer W, Kern P, Graeter T, Barth TF, et al. Impact of safe distance on long-term outcome after surgical therapy of alveolar echinococcosis. *World journal of surgery*. 2017;41:1012-8.
89. He Y-B, Bai L, Aji T, Jiang Y, Zhao J-M, Zhang J-H, et al. Application of 3D reconstruction for surgical treatment of hepatic alveolar echinococcosis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2015;21(35):10200.
90. Hillenbrand A, Beck A, Kratzer W, Graeter T, Barth TF, Schmidberger J, et al. Impact of affected lymph nodes on long-term outcome after surgical therapy of alveolar echinococcosis. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 2018;403:655-62.
91. Grüner B, Kern P, Mayer B, Gräter T, Hillenbrand A, Barth TE, et al. Comprehensive diagnosis and treatment of alveolar echinococcosis: A single-center, long-term observational study of 312 patients in Germany. *GMS infectious diseases*. 2017;5.
92. Lundström-Stadelmann B, Rufener R, Hemphill A. Drug repurposing applied: activity of the anti-malarial mefloquine against *Echinococcus multilocularis*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2020;13:121-9.
93. Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2018;14(2):1-10.
94. Medzhitov R, Janeway C, Jr. Innate immunity. *N Engl J Med*. 2000;343(5):338-44.
95. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *The Lancet*. 2001;357(9270):1777-89.
96. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006;124(4):783-801.
97. Abbas AK, A.H. Lichtman, and S. Pillai. *Cellular and Molecular Immunology*. US: Elsevier. 2017.
98. EK U. İnsanin Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Olusan Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi. 1991.
99. Özcel M, İnci A, Turgay N, Köroğlu E. Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, Türkiye Parazitoloji Derneği.: 21: 155-166. 2007.
100. Özcel MA ÖY, and Ak M. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir:Türkiye Parazitoloji Derneği. 2007;3-76.

101. Lamb TJ. Notes on the immune system. *Immunity to Parasitic Infection*. 2012;13-57.
102. G. S. The Immune System. New York: Infobase Pub. 2003.
103. Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunobiology: the immune system in health and disease* Garland Science. New York, USA. 2005.
104. RS. B. Parasitic infections in organ transplantation. *Exp Clin Transplantation*. 2004;258-67.
105. G. S. Genel Parazitoloji. Genel Parazitoloji Second Edition, Sivas: Cumhuriyet Universitesi. 1999.
106. S. K. Febril konvülsiyonlu çocuklarda lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. 2004.
107. from: SCaeiBcA, <https://www.sinobiological.com/research/cd-antigens/b-cell>.
108. Holt P, Jones C. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy*. 2000;55(8):688-97.
109. Hardy RR, Hayakawa K. B cell development pathways. *Annual review of immunology*. 2001;19(1):595-621.
110. Jacobi AM, Diamond B. Balancing diversity and tolerance: lessons from patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of experimental medicine*. 2005;202(3):341.
111. Park SM, Brooks AE, Chen CJJ, Sheppard HM, Loef EJ, McIntosh JD, et al. Migratory cues controlling B-lymphocyte trafficking in human lymph nodes. *Immunology and cell biology*. 2021;99(1):49-64.
112. Batista FD, Harwood NE. The who, how and where of antigen presentation to B cells. *Nature Reviews Immunology*. 2009;9(1):15-27.
113. Durmaz E. B cell activation and antibody production B hücre aktivasyonu ve antikor üretimi. *Turkderm Deri Hastalıkları ve Frengi Arsivi*. 2013;47.
114. Biram A, Davidzohn N, Shulman Z. T cell interactions with B cells during germinal center formation, a three-step model. *Immunological reviews*. 2019;288(1):37-48.
115. Perry HM, Bender TP, McNamara CA. B cell subsets in atherosclerosis. *Frontiers in immunology*. 2012;3:373.
116. Baumgarth N. A two-phase model of B-cell activation. *Immunological reviews*. 2000;176:171-80.
117. LaRosa DF, Orange JS. 1. Lymphocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008;121(2):S364-S9.
118. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2008;112(5):1570-80.
119. Heesters BA, van der Poel CE, Das A, Carroll MC. Antigen presentation to B cells. *Trends in immunology*. 2016;37(12):844-54.

120. Carroll MC, editor CD21/CD35 in B cell activation. Seminars in immunology; 1998: Elsevier.
121. Okada T, Ngo VN, Ekland EH, Förster R, Lipp M, Littman DR, et al. Chemokine requirements for B cell entry to lymph nodes and Peyer's patches. The Journal of experimental medicine. 2002;196(1):65-75.
122. Sagaert X, Sprangers B, Wolf-Peeters D. The dynamics of the B follicle: understanding the normal counterpart of B-cell-derived malignancies. Leukemia. 2007;21(7):1378-86.
123. Wei Y, Feng J, Hou Z, Wang XM, Yu D. Flow cytometric analysis of circulating follicular helper T (Tfh) and follicular regulatory T (Tfr) populations in human blood. T follicular Helper Cells: Methods and Protocols. 2015:199-207.
124. Mesin L, Ersching J, Victora GD. Germinal center B cell dynamics. Immunity. 2016;45(3):471-82.
125. Papa I, Vinuesa CG. Synaptic interactions in germinal centers. Frontiers in immunology. 2018;9:1858.
126. Stebegg M, Kumar SD, Silva-Cayetano A, Fonseca VR, Linterman MA, Graca L. Regulation of the germinal center response. Frontiers in immunology. 2018:2469.
127. Charles A Janeway PT, Mark Walport, Mark Shlomchik, . Immunologie 5th ed 2002.
128. Fink K. Origin and function of circulating plasmablasts during acute viral infections. Frontiers in immunology. 2012;3:78.
129. Akkaya M, Kwak K, Pierce SK. B cell memory: building two walls of protection against pathogens. Nature Reviews Immunology. 2020;20(4):229-38.
130. Hauser AE, Junt T, Mempel TR, Sneddon MW, Kleinstein SH, Henrickson SE, et al. Definition of germinal-center B cell migration in vivo reveals predominant intrazonal circulation patterns. Immunity. 2007;26(5):655-67.
131. Okazaki I-m, Kinoshita K, Muramatsu M, Yoshikawa K, Honjo T. The AID enzyme induces class switch recombination in fibroblasts. Nature. 2002;416(6878):340-5.
132. Pelletier N, McHeyzer-Williams LJ, Wong KA, Urich E, Fazilleau N, McHeyzer-Williams MG. Plasma cells negatively regulate the follicular helper T cell program. Nat Immunol. 2010;11(12):1110-8.
133. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(2 Suppl 2):S33-40.
134. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T cell development, localization, and function throughout life. Immunity. 2018;48(2):202-13.
135. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4⁺T cells: differentiation and functions. Clin Dev Immunol. 2012;2012:925135.

136. Rackaityte E, Halkias J. Mechanisms of fetal T cell tolerance and immune regulation. *Frontiers in immunology*. 2020;11:588.
137. Germain RN. T-cell development and the CD4–CD8 lineage decision. *Nature reviews immunology*. 2002;2(5):309-22.
138. Hogquist KA, Baldwin TA, Jameson SC. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature Reviews Immunology*. 2005;5(10):772-82.
139. Cho JH, Sprent J. TCR tuning of T cell subsets. *Immunological reviews*. 2018;283(1):129-37.
140. Fang P, Li X, Dai J, Cole L, Camacho JA, Zhang Y, et al. Immune cell subset differentiation and tissue inflammation. *Journal of hematology & oncology*. 2018;11(1):1-22.
141. Parham P. *The Immune System*. 3. ed. The Immune System 3 ed. 2009.
142. Mittrücker H-W, Visekruna A, Huber M. Heterogeneity in the differentiation and function of CD8⁺ T cells. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2014;62:449-58.
143. Mullen KM, Gocke AR, Allie R, Ntranos A, Grishkan IV, Pardo C, et al. Expression of CCR7 and CD45RA in CD4⁺ and CD8⁺ subsets in cerebrospinal fluid of 134 patients with inflammatory and non-inflammatory neurological diseases. *Journal of neuroimmunology*. 2012;249(1-2):86-92.
144. Nolz JC, Starbeck-Miller GR, Harty JT. Naïve, effector and memory CD8 T-cell trafficking: parallels and distinctions. *Immunotherapy*. 2011;3(10):1223-33.
145. Tasnim H, Fricke GM, Byrum JR, Sotiris JO, Cannon JL, Moses ME. Quantitative measurement of naïve T cell association with dendritic cells, FRCs, and blood vessels in lymph nodes. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1571.
146. SinoBiological CaeiTc. SinoBiological, CD antigens expression in T cells. SinoBiological, CD antigens expression in T cells.
147. Patente TA, Pinho MP, Oliveira AA, Evangelista GC, Bergami-Santos PC, Barbuto JA. Human dendritic cells: their heterogeneity and clinical application potential in cancer immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2019;9:3176.
148. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-52.
149. Kapsenberg ML. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(12):984-93.
150. Majumdar S, Pathak S, Nandi D. Thymus: the site for development of cellular immunity. *Resonance*. 2018;23(2):197-217.
151. Walling BL, Kim M. LFA-1 in T cell migration and differentiation. *Frontiers in immunology*. 2018;9:952.
152. Heissmeyer V, Ansel KM, Rao A. A plague of autoantibodies. *Nature Immunology*. 2005;6(7):642-3.

153. Greenfield EA, Nguyen KA, Kuchroo VK. CD28/B7 costimulation: a review. *Critical Reviews™ in Immunology*. 1998;18(5).
154. Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7–CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2004;4(5):336-47.
155. Wen S, Wang F, Ji Z, Pan Y, Jian M, Bi Y, et al. Salp15, a multifunctional protein from tick saliva with potential pharmaceutical effects. *Frontiers in immunology*. 2020;10:3067.
156. Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*. 1999;401(6754):708-12.
157. Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F, Roederer M, Lugli E. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets. *European journal of immunology*. 2013;43(11):2797-809.
158. Willinger T, Freeman T, Hasegawa H, McMichael AJ, Callan MF. Molecular signatures distinguish human central memory from effector memory CD8 T cell subsets. *The Journal of Immunology*. 2005;175(9):5895-903.
159. Fink PJ. The biology of recent thymic emigrants. *Annual review of immunology*. 2013;31:31-50.
160. Ao Y-Q, Jiang J-H, Gao J, Wang H-K, Ding J-Y. Recent thymic emigrants as the bridge between thymoma and autoimmune diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2022;1877(3):188730.
161. Lee DK, Hakim FT, Gress RE. The thymus and the immune system: layered levels of control. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010;5(10):S273-S6.
162. Gao Y, Liu R, He C, Basile J, Vesterlund M, Wahren-Herlenius M, et al. SOCS3 expression by thymic stromal cells is required for normal T cell development. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:642173.
163. Lewis D, Haines C, Ross D. Protein tyrosine kinase 7: a novel surface marker for human recent thymic emigrants with potential clinical utility. *Journal of Perinatology*. 2011;31(1):S72-S81.
164. K. K. İmmünoloji (3. baskı). Bursa: Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri. 2003.
165. CH. J. Signal transduction in T cells. *Curr Opin Immunol*. 1999;287-293.
166. Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annual review of immunology*. 2009;28:445-89.
167. Başkan EBİl. T hücre immunitesi. *Türkderm*. 2013; 1:18-23
168. Mousset CM, Hobo W, Woestenenk R, Preijers F, Dolstra H, van der Waart AB. Comprehensive phenotyping of T cells using flow cytometry. *Cytometry Part A*. 2019;95(6):647-54.
169. Kondelková K, Vokurková D, Krejsek J, Borská L, Fiala Z, Ctírad A. Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2010;53(2):73-7.

170. Wan YY, Flavell RA. How diverse—CD4 effector T cells and their functions. *Journal of molecular cell biology*. 2009;1(1):20-36.
171. Emanuel S, Hawarden D. Th1 versus Th2 immune response. *Current Allergy & Clinical Immunology*. 2018;31(2):96-7.
172. Lee GR. The balance of Th17 versus Treg cells in autoimmunity. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(3):730.
173. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity*. 2006;24(6):677-88.
174. Bedoya SK, Lam B, Lau K, Larkin J. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Journal of Immunology Research*. 2013;2013.
175. Corthay A. How do regulatory T cells work? *Scandinavian journal of immunology*. 2009;70(4):326-36.
176. Nishikawa H, Sakaguchi S. Regulatory T cells in tumor immunity. *International journal of cancer*. 2010;127(4):759-67.
177. Geem D, Harusato A, Flannigan K, Denning TL. Harnessing regulatory T cells for the treatment of inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2015;21(6):1409-18.
178. Eivazi S, Bagheri S, Hashemzadeh MS, Ghalavand M, Qamsari ES, Dorostkar R, et al. Development of T follicular helper cells and their role in disease and immune system. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2016;84:1668-78.
179. Raphael I, Joern RR, Forsthuber TG. Memory CD4⁺ T cells in immunity and autoimmune diseases. *Cells*. 2020;9(3):531.
180. Ding T, Niu H, Zhao X, Gao C, Li X, Wang C. T-follicular regulatory cells: potential therapeutic targets in rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:2709.
181. Vanderleyden I, Fra-Bido SC, Innocentin S, Stebegg M, Okkenhaug H, Evans-Bailey N, et al. Follicular regulatory T cells can access the germinal center independently of CXCR5. *Cell reports*. 2020;30(3):611-9. e4.
182. Fazilleau N, Aloulou M. Several follicular regulatory T cell subsets with distinct phenotype and function emerge during germinal center reactions. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1792.
183. Cooper AM, D'Souza C, Frank AA, Orme IM. The course of *Mycobacterium tuberculosis* infection in the lungs of mice lacking expression of either perforin-or granzyme-mediated cytolytic mechanisms. *Infection and immunity*. 1997;65(4):1317-20.
184. attack Ctrirrpq, from: iccaA, <https://www.dreamstime.com/cytotoxic-t-cell-regulate-immune-responses-release-perforin-granzymes-attack-infected-cancerous-cells-actionimage111842867>. Cytotoxic t cell regulate immune responses release perforin granzymes attack infected cancerous cells action Available from:

- <https://www.dreamstime.com/cytotoxic-t-cell-regulate-immune-responses-release-perforin-granzymes-attack-infected-cancerous-cells-action-image111842867>.
185. Zhang S, Zhang H, Zhao J. The role of CD4 T cell help for CD8 CTL activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;384(4):405-8.
 186. Kitchen SG, Jones NR, LaForge S, Whitmire JK, Vu BA, Galic Z, et al. CD4 on CD8(+) T cells directly enhances effector function and is a target for HIV infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(23):8727-32.
 187. Fooksman DR, Grönvall GK, Tang Q, Edidin M. Clustering class I MHC modulates sensitivity of T cell recognition. *J Immunol*. 2006;176(11):6673-80.
 188. Henkart PA, Catalfamo M. CD8+ effector cells. *Adv Immunol*. 2004;83:233-52.
 189. Lieberman J. The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(5):361-70.
 190. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):298-306.
 191. Abbas A LA, Pillai S, . Temel İmmünoloji. Philadelphia, PA, Elsevier, . 2015;42-55.
 192. Chen Y, Yu M, Zheng Y, Fu G, Xin G, Zhu W, et al. CXCR5(+)PD-1(+) follicular helper CD8 T cells control B cell tolerance. *Nat Commun*. 2019;10(1):4415.
 193. Rao DA. T Cells That Help B Cells in Chronically Inflamed Tissues. *Front Immunol*. 2018;9.
 194. Wahlin BE, Sander B, Christensson B, Kimby E. CD8+ T-cell content in diagnostic lymph nodes measured by flow cytometry is a predictor of survival in follicular lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2007;13(2 Pt 1):388-97.
 195. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(4):251-62.
 196. Gasteiger G, Rudensky AY. Interactions between innate and adaptive lymphocytes. *Nature Reviews Immunology*. 2014;14(9):631-9.
 197. Bostik P, Takahashi Y, Mayne AE, Ansari AA. Innate immune natural killer cells and their role in HIV and SIV infection. *HIV therapy*. 2010;4(4):483-504.
 198. Brown M, Wittwer C. Flow cytometry: principles and clinical applications in hematology. *Clinical chemistry*. 2000;46(8):1221-9.
 199. Guide AL. Introduction to Flow Cytometry 2002.
 200. Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A. Flow cytometry: basic principles and applications. *Critical reviews in biotechnology*. 2017;37(2):163-76.
 201. Pozarowski P, Grabarek J, Darzynkiewicz Z. Flow cytometry of apoptosis. *Current protocols in cell biology*. 2003;21(1):18.8. 1-8. 33.

202. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*. 2008;111(8):3941-67.
203. Daniel H. A review and applications of flow cytometry. Department of Chemistry, University of Illinois at Urbana-Champaign, Dec. 2004;17.
204. Taneli F. Flow sitometri tekniği ve klinik laboratuvarlarda kullanımı. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2007;5(2):75-82.
205. Youli Z, Shahjahan M, Chang C. Basic principles of flow cytometry. basic concepts of molecular pathology. *Molecular Pathology Library*. 2009;2:139-46.
206. Kartal M. Karaciğer Alveolar Ekinokok Hastalığı Nedeniyle Karaciğer Rezeksiyonu Yapılan Hastalarda Nötrofil/Lenfosit Oranı, Trombosit/Lenfosit Oranı Ve Preoperative Beslenme İndeksinin Ameliyat Sonrası Dönemdeki Komplikasyonlarla İlişkisinin Araştırılması. <https://tezyokgovtr/UlusalTezMerkezi/girisjsp>. 2019.
207. Piarroux M, Piarroux R, Knapp J, Bardonnnet K, Dumortier J, Watelet J, et al. Populations at risk for alveolar echinococcosis, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2013;19(5):721.
208. Ma T, Wang Q, Hao M, Xue C, Wang X, Han S, et al. Epidemiological characteristics and risk factors for cystic and alveolar echinococcosis in China: an analysis of a national population-based field survey. *Parasites & Vectors*. 2023;16(1):181.
209. Paternoster G, Boo G, Wang C, Minbaeva G, Usubalieva J, Raimkulov KM, et al. Epidemic cystic and alveolar echinococcosis in Kyrgyzstan: an analysis of national surveillance data. *The Lancet Global Health*. 2020;8(4):e603-e11.
210. Weijian E, Wang Z, Pang M, Lu Y, Fan H. The correlation between platelet-to-lymphocyte ratio and neutrophil-to-lymphocyte ratio with hepatic echinococcosis. *Journal of Inflammation Research*. 2021;14:2403.
211. Jonaitytė E, Judickas M, Tamulevičienė E, Šeškutė M. Alveolar echinococcosis in children. *Case reports in pediatrics*. 2020;2020.
212. Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. Manual of commercial methods in clinical microbiology. 2001:274-305.
213. Karadam SY, Ertabaklar H, Sari C, Dayanir Y, Ertuğ S. Should cystic echinococcosis be investigated in patients having high eosinophil counts? *Türkiye Parazitolojii Dergisi*. 2009;33(3):203-6.
214. Jenne L, Kilwinski J, Scheffold W, Kern P. IL-5 expressed by CD4+ lymphocytes from Echinococcus multilocularis-infected patients. *Clinical & Experimental Immunology*. 1997;109(1):90-7.
215. Sun L, Su Y, Jiao A, Wang X, Zhang B. T cells in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8(1):235.
216. ABISHOVA U. Covid-19 hastalarının takibinde hastalık şiddeti ile dolaşımdaki T ve B lenfosit alt gruplarının ilişkisinin multiparametrik immünofenotiplendirme aracılı belirlenmesi / Determination of the relationship between disease severity and circulating T and B lymphocyte subgroups in the

- follow-up of Covid-19 patients by means of multiparametric immune phenotyping. <https://tezyokgovtr/UlusalTezMerkezi/girisjsp>. 2023.
217. Li M, Zhu Y, Li Z, Song J, Zhao W. Immunoprotective effect and mechanism of rEg. P29 against CD4⁺ T cell-deficient mice with *Echinococcus multilocularis* infection. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2023.
218. Hou X, Shi Y, Kang X, Rousu Z, Li D, Wang M, et al. *Echinococcus granulosus*: The establishment of the metacestode in the liver is associated with control of the CD4⁺ T-cell-mediated immune response in patients with cystic echinococcosis and a mouse model. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12:983119.
219. Zhou Z, Li J, Jiang J, Luo Y, Yingzi M. Characteristics of peripheral lymphocyte subsets in patients with different stages of schistosomiasis japonica. *Parasite Immunology*. 2023;45(10):e13006.
220. Mülâyim S. Lenfosit Alt Grupları İle Bağırsak Parazitleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması Doktora Tezi <https://tezyokgovtr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>. 2021.
221. Onyemelukwe G, Musa B. T-lymphocyte subsets in patients with hookworm infection in Zaria, Nigeria. *African journal of medicine and medical sciences*. 2001;30(4):255-9.
222. Seyhan EC. HIV (-) akciğer tüberkülozlu olgularda T-lenfosit alt grupları, T-lymphocyte subgroup in patients with HIV (-) pulmonary tuberculosis. <https://tezyokgovtr/UlusalTezMerkezi/girisjsp>. 1999.
223. Batıkan O. Akut Pankreatitlerde Mortalite Ve Morbidite Belirlenmesinde Flow Sitometri Kullanılabilir Mi? <https://tezyokgovtr/UlusalTezMerkezi/girisjsp>. 2021.
224. Yılmaz C. Subakut Sklerozan Panensefalitli Çocuklarda Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirilmesi, Evaluation of lymphocyte subgroups in children with subacute sclerosing panencephalitis. <https://tezyokgovtr/UlusalTezMerkezi/girisjsp>. 2008.
225. Zhao H, Li B, Pang N, Li Z, Aibibula M, Tian F, et al. High Expression of Tim-3 in Alveolar Echinococcosis Mediates Depletion of CD8⁺ T Cell Function. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2021;51(6):827-36.
226. Cardoso LS, Barreto AdSR, Fernandes JS, Oliveira RR, Souza RdPd, Carvalho EM, et al. Impaired lymphocyte profile in schistosomiasis patients with periportal fibrosis. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013;2013.
227. Zhang C, Shao Y, Yang S, Bi X, Li L, Wang H, et al. T-cell tolerance and exhaustion in the clearance of *Echinococcus multilocularis*: role of inoculum size in a quantitative hepatic experimental model. *Scientific reports*. 2017;7(1):11153.
228. Abulizi A, Shao Y, Aji T, Li Z, Zhang C, Aini A, et al. *Echinococcus multilocularis* inoculation induces NK cell functional decrease through high expression of NKG2A in C57BL/6 mice. *BMC Infectious Diseases*. 2019;19(1):1-12.

229. Ning Z, Chuan-shan Z, Zhi-de L, Liang L, Hui W, Ya-chao T, et al. The effects of *Echinococcus multilocularis* protoscoleces infection on lymphocytes and their subpopulations in mouse liver and spleen. *Chinese Journal Of Parasitology and Parasitic Diseases*. 2020;38(1):30.
230. Neumann J, Prezzemolo T, Vanderbeke L, Roca C, Gerbaux M, Janssens S. Increased IL-10-producing regulatory T cells are characteristic of severe cases of COVID-19. *Clin Transl Immunology*. 2020; 9 (11): e1204. Epub 2020/11/20. <https://doi.org/10.1002/cti2.1204> PMID: 33209300.
231. Burel JG, Qian Y, Lindestam Arlehamn C, Weiskopf D, Zapardiel-Gonzalo J, Taplitz R, et al. An integrated workflow to assess technical and biological variability of cell population frequencies in human peripheral blood by flow cytometry. *The Journal of Immunology*. 2017;198(4):1748-58.
232. Tian Y, Babor M, Lane J, Schulten V, Patil VS, Seumois G, et al. Unique phenotypes and clonal expansions of human CD4 effector memory T cells re-expressing CD45RA. *Nature communications*. 2017;8(1):1473.
233. Gordon CL, Miron M, Thome JJ, Matsuoka N, Weiner J, Rak MA, et al. Tissue reservoirs of antiviral T cell immunity in persistent human CMV infection. *Journal of Experimental Medicine*. 2017;214(3):651-67.
234. Libri V, Azevedo RI, Jackson SE, Di Mitri D, Lachmann R, Fuhrmann S, et al. Cytomegalovirus infection induces the accumulation of short-lived, multifunctional CD4⁺ CD45RA⁺ CD27[–] T cells: the potential involvement of interleukin-7 in this process. *Immunology*. 2011;132(3):326-39.
235. Weiskopf D, Bangs DJ, Sidney J, Kolla RV, De Silva AD, de Silva AM, et al. Dengue virus infection elicits highly polarized CX3CR1⁺ cytotoxic CD4⁺ T cells associated with protective immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(31):E4256-E63.
236. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Oldridge DA, Greenplate AR, Wu JE, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*. 2020;369(6508):eabc8511.
237. Orhan MF, Özdemir Ö, Gülay T. COVID-19 Tanılı Çocuklarda T Hücreleri ve Alt Grupları. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2022;8(3):239-43.
238. Wang J, Jebbawi F, Bellanger A-P, Beldi G, Millon L, Gottstein B. Immunotherapy of alveolar echinococcosis via PD-1/PD-L1 immune checkpoint blockade in mice. *Parasite Immunology*. 2018;40(12):e12596.
239. Fink PJ. The Biology of Recent Thymic Emigrants. *Annual Review of Immunology*. 2013;31(1):31-50.
240. Bernhard K. Immunological imprint of COVID-19 on human peripheral blood leukocyte populations. 2021.