



## Bir Kıl Keçisinde İntrakardiyak Hidatik Kistin Moleküler Karakterizasyonu ve Patolojisi

Canan AKDENİZ İNCİLİ<sup>1,a</sup>  
Şeyma GÜNYAKTI KILINÇ<sup>2,b</sup>  
Burak KARABULUT<sup>1,c</sup>  
Aydın ÇEVİK<sup>1,d</sup>  
Necati TİMURKAAN<sup>1,e</sup>  
Figen ÇELİK<sup>3,f</sup>  
Hatice ERÖKSÜZ<sup>1,g</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Patoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Bingöl Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı,  
Bingöl, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0003-1893-7531

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0001-8454-1901

<sup>c</sup> ORCID: 0000-0002-4907-6159

<sup>d</sup> ORCID: 0000-0001-6576-2151

<sup>e</sup> ORCID: 0000-0001-5567-991X

<sup>f</sup> ORCID: 0000-0002-2188-0196

<sup>g</sup> ORCID: 0000-0002-8407-5792

**Geliş Tarihi** : 13.12.2019

**Kabul Tarihi** : 24.01.2020

### Yazışma Adresi Correspondence

**Canan AKDENİZ İNCİLİ**  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Patoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ – TÜRKİYE

[caincili@firat.edu.tr](mailto:caincili@firat.edu.tr)

Bu çalışmada 4 aylık dişi bir kıl keçisinin nekropsisinde kalbin sol ventrikülünün myokard ve endokardına intraluminal olarak yerleşmiş hidatik kist tanımlandı. Sol ventriküle yerleşmiş olan kist, histopatolojik olarak incelendiğinde; kist çevresinde fibröz bağ doku artışı ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize bir lezyon saptandı. Yapılan PZR incelemesi ile şüpheli örneğin *Echinococcus granulosus sensu stricto* olduğu belirlendi. Bu olgu sunumu ile kalp kasında nadir görülen hidatik kist moleküler ve patolojik olarak tanımlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Hidatik kist, kalp, kıl keçisi, PZR, *Echinococcus granulosus sensu stricto*

### Molecular Characterization and Pathology of Intracardiac Hydatid Cyst in a Hair Goat

In this study, a hydatid cyst intraluminally located in the myocardium and endocardium of the left ventricle of the heart during necropsy of a 4-month-old female hair goat was identified. As the left ventricular cyst was examined histopathologically, fibrous connective tissue increase and mononuclear cell infiltration were detected around the cyst. As a result of PCR, the suspected specimen was identified as *Echinococcus granulosus sensu stricto*. In this case report, hydatid cyst rarely seen in heart muscle was characterized defined as molecular and pathologically.

**Key Words:** Hydatid cyst, hair goat, heart, PCR, *Echinococcus granulosus sensu stricto*

### Giriş

Kistik Ekinokokkozis, birçok ülkede önemli ekonomik kayıplara ve halk sağlığı sorunlarına neden olan *Echinococcus granulosus*'un, arakonaklarda sebep olduğu zoonotik bir hastalıktır. *Echinococcus* cinsi Taeniidae ailesindeki cinslerden farklı olarak bazı özellikler taşımaktadır. Erişkin bir *Echinococcus* diğer Taeniid sestodlara benzememekte olup, sadece birkaç mm uzunluğunda ve genellikle üç veya dört halkaya sahiptir. *Echinococcus granulosus*, köpek, tilki, kurt, çakal ve sırtlan gibi son konakların ince bağırsaklarına yerleşir. Hidatik kist olarak bilinen larval formları ise ara konaklar olan sığır, koyun, keçi, deve, domuz, manda gibi memelilerin ve insanların başta karaciğer ve akciğer olmak üzere değişik organ ve dokularına yerleşmektedir (1).

Kistik ekinokokoziste en yaygın gelişim şekli köpek-koyun döngüsüdür. Ara konakçılar tarafından sindirim yoluyla alınan onkosferler ince bağırsakta subepitelyal kapillarlara veya lenfatiklere girer, daha sonra kan yoluyla karaciğere veya lenf yoluyla akciğerlere ulaşırlar. Ancak, zaman zaman genel dolaşıma giren onkosferler karaciğer ve akciğer dışında diğer organ ve dokulara da gitmektedir. Koyunlarda hidatik kistlerin %65'i karaciğer, %25'i akciğer de, sığır ve atlarda ise %90'ı karaciğerde gelişir. Evcil hayvanlarda daha az olarak beyin, kalp, kemik iliği ve subkutan dokularda da kist gelişimi görülmektedir. Enfekte organlarda tek bir kiste veya çok sayıda kiste rastlanabilir. Ara konaklarda akciğer ve karaciğerdeki kistlerle ilgili klinik hastalık tablosuna rastlanmazken kalp, beyin, böbrek, pankreas veya kemik iliğinde gelişen kistlere ilişkin klinik bulgular nadiren ortaya çıkabilir (2-5).

Hidatik kistlerin gelişimi yavaş olur ve bazen 6-12 ay sürebilir. Karaciğer ve akciğerlerdeki kistler genellikle 5-10 cm çapına kadar ulaşabilir. Abdominal boşluk gibi sınırsız büyümenin kolay olduğu kimi yerleşim yerlerinde kistler çok daha büyük olabilir ve litrelerce sıvı kapsayabilirler (2).

Mikroskopik olarak, olgunlaşmamış hidatik kistlerin çevresinde dev hücreler ve eozinofillerin de yer aldığı yangısal hücre infiltrasyonu şekillenir. Kist gelişirken mononükleer hücreleri ve eozinofilleri de içeren bir granülasyon dokusu kisti çevreler. Fibröz kapsülün iç kısmı nispeten hücreden yoksun olup, olgun kollagen bağ dokudan oluşur. Bu dokunun hemen altında hidatik kist duvarının, lamellar hyalin polisakarid-protein kompleksi yapısında olan dış tabakası yer alır. Kist ince sinsityal germinal tabaka ile döşeli olup bu kısımdan üreme kapsülleri gelişir. Eğer kist ruptura uğrarsa protoskoleksler çevre dokuya yayılır ve ikincil kistler şekillenebilir. Hidatik kistler konak bağışık yanıtı neticesinde dejenerer olup iç yapıları kollabe olur ve kitle kazeifikasyon nekrozuna uğrayarak sonunda kireçlenebilir (6).

Bu olgu sunumu ile bir kıl keçisinin kalbinde rastlanan kistin moleküler ve histopatolojik olarak tanımlanması yapılmıştır.

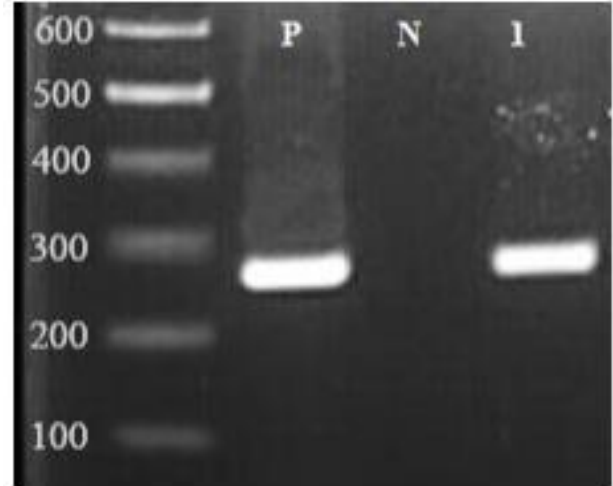
## Olgu Sunumu

Ani ölüm anemneziyle getirilen 4 aylık bir kıl keçisinin, yapılan nekropsisinde sol ventriküle intraluminal olarak yerleşim gösteren kistik yapı izlendi. Kist ilk bakışta hidatik kist olarak düşünüldü ve PZR ile ileri moleküler analiz yapılarak doğrulandı. Bu amaçla; kalp kası üzerinde şüpheli kist bistüri ile kesilerek germinal membran parçası 1.5 mL'lik ependorf tüpe aktarıldı. Takiben 1X PBS solüsyonundan 600 µL eklenip, kısa bir vorteks yapıldıktan sonra 14.000 rpm'de 1 dk süreyle santrifüj edildi ve üstteki sıvı atıldı. Daha sonra ependorf tüp içerisindeki doku üzerine RTA genomik DNA izolasyon kiti (RTA Lab. Türkiye) içeriğinde bulunan 200 µl solüsyon DL ve 20 µL Proteinase K (Thermo Scientific, 20 mg/mL) ilave edilip, vortekslenildikten sonra 1 gece 56 °C'de inkübe edildi. Ertesi gün sıcak su banyosundan çıkarılan dokudan kit protokolü takip edilerek genomik DNA izolasyonu yapıldı. Takiben, *Echinococcus granulosus*'un yalnızca G1-G3 clusterini (*Echinococcus granulosus sensu stricto*) çoğaltan ve genom üzerinde mitokondrial 12S rRNA genini amplifiye eden E.g.ss1.for 3'-GTATTTTGTAAAGTTGTTCTA-5' ve E.g.ss1.rev 3'-CTAAATCACATCATCTTACAAT-5' primerleri kullanılarak PZR kuruldu (7). Toplam 50 µL'lik hacimde hazırlanan PZR karışımına; 5 µL 10X PCR buffer, 5 µL 25 mM MgCl<sub>2</sub>, deoksinükleotidlerin her birinden 250 µM, 1.25 U Taq DNA polimeraz, primer çiftlerinin her birinden 20 pmol ve 5 µL template gDNA ilave edildi. Karışım, 95°C'de 3 dakika ön denatürasyon aşamasını takiben, toplam 40 PZR siklusu olacak şekilde 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 57 °C'de 1 dk hibridizasyon ve 72 °C'de 40 sn sentez aşamasını takiben 72 °C'de 5 dk ekstra sentez işlemine tabi tutuldu. Elde edilen ürünler 1.4'lük agaroz jelde yürütüldü ve jel, UV transilluminatörde bandların varlığı yönünden incelendi. Bandların moleküler ağırlığını belirlemek için 100 bp'lik marker kullanıldı. PZR işleminde pozitif kontrol olarak daha önce DNA dizi analizi yaptırılarak *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3) olduğu belirlenen izolatin gDNA'sı, negatif kontrol olarak steril distile su kullanıldı (8). Yapılan PZR işlemi neticesinde şüpheli örneğin *E. granulosus sensu stricto* olduğu belirlendi (Şekil 1).

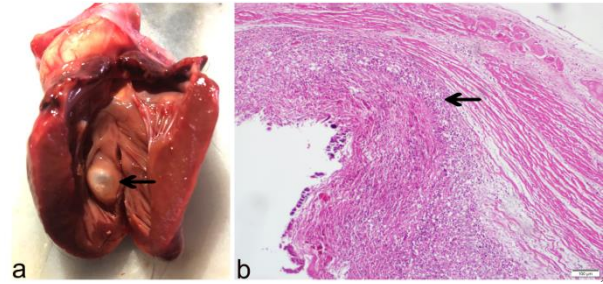
Histopatolojik incelemeler için, kist ile birlikte çevre kalp kası örnekleri alınarak %10 formalin çözeltisinde tespit edildi. Rutin yöntemlerle hazırlanan parafin bloklardan yaklaşık 5 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak hematoksilin-eozin yöntemiyle boyandı (9), ışık mikroskopunda incelendi ve resimlendi. Kalp dokusunun mikroskopik incelemesinde kistin etrafında yoğun bağ doku artışı ile birlikte yaygın mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu. Kisti çevreleyen kalp kası hücrelerinde intersitisyel ödem saptandı (Şekil 2).

## Tartışma

Kistik Ekinokokkozis, kutup bölgeleri hariç Dünya'da yaygın olarak görülmekte olup insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Türkiye'de ise özellikle mera hayvancılığının yapıldığı Doğu Anadolu



**Şekil 1.** 12S rRNA gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda oluşan bant profillerinin görünümü, **M:** DNA marker (100 bp), **P:** Pozitif kontrol, **N:** Negatif kontrol, **1:**Şüpheli örnek



**Şekil 2. a:** Sol ventrikül lümeninde parazit kisti (ok). **b:** Kist duvarında lenfosit, makrofaj infiltrasyonu (ok) (H&E, x10)

bölgesinde daha yaygın olarak görülmektedir (5, 10). Hidatik kist, yaygın olarak karaciğer ve akciğeri etkilemesine rağmen nadir olarak da kalp, beyin, dalak, ovaryumlar, çizgili kaslarda görülebilmektedir. Hidatik kistin organlardaki lokalizasyonu; %65 karaciğer, %25 akciğer tutulumu şeklindeyken, kalpte lokalize olma oranı %0.2-2 oranındadır (11). Elazığ'da 2008-2012 yılları arasında beş farklı kesimhanede yapılan bir çalışma sonucuna göre 46.500 keçinin %3.3'ünde akciğer, %3.7'sinde karaciğerde hidatik kistler saptanmıştır. Kalpte ise sadece 2009 yılında %0.67 oranında hidatik kistin varlığı bildirilmiştir (12). Van ilindeki bir kesimhanede yapılan diğer bir araştırmada ise 525 koyunda %46.4, 184 sığırdada ise %38.5 oranında hidatik kiste rastlanmıştır. Bu kistlerin tamamının karaciğer, akciğer ya da hem karaciğer hem de akciğerde olduğu tespit edilmiş, kalpte hidatik kistlere rastlanmamıştır (13). Afyonkarahisar ilinde sığırlarda yapılan kesimhane taramasında, %29.47 oranında hidatik kist varlığı bildirilmiştir. Bu kistlerin %44.06 oranında sadece karaciğerde, %30.85 oranında sadece akciğerde, %0.68 oranında ise sadece kalpte olduğu görülmüştür (14). Erzurum'da, sığırlarda nadir yerleşimli hidatik kistlerin tespitine yönelik yapılan çalışmada

sadece bir hayvanda kalbin sağ ventrikülünde kist hidatiğe rastlanılmıştır (15). Bu verilere dayanarak kalpte hidatik kistin görülme oranının oldukça düşük olduğunu söylemek mümkündür. Kalpte lokalizasyon olarak, sol ventrikül duvarına %75, sağ ventrikül duvarına %18 ve interventriküler septuma %7 oranında yerleşmiş olarak görülür. Kalpteki kistlerin daha çok sol ventrikül duvarına yerleşmiş olarak bulunmasının sebebi olarak; sol ventrikül koroner sirkülasyonun fazla olmasına dikkat

çekilmektedir (11). Kalpte bulunan hidatik kistler, kardiak kavite içerisinde yırtılarak, intrakardiyak blokaj, pulmoner veya serebral emboliye neden olarak ani ölümler ile sonuçlanabilmektedir (1-5).

Bu sunum ile post-mortal incelemede ve klinik muayenede kalbin daha dikkatli incelenmesi gerekliliği vurgulanarak, intrakardiyak kist hidatik olgularına dikkat çekilmiştir.

### Kaynaklar

- Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski Z. (Editors). WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. Paris: World Health Organisation for Animal Health, 2001.
- Dighiero J, Canabal EJ, Aguirrejacobo CV, Hazan J, Horjal JO. Echinococcus disease of the heart. Journal of the American Heart Association 1958; 17: 127-132.
- Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: A review. International Journal of Infectious Diseases 2009; 13: 125-133.
- Conceição MAP, Cravo I, Costa IMH, et al. *Echinococcus granulosus* ss in dog – A report in center-northern Portugal. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports 2017; 9: 84-87.
- Ütük AE, Şimşek S, Köroğlu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and southeast regions of Turkey. Acta Tropica 2008; 107: 192-194.
- Li T, Ito A, Nakaya K, et al. Species identification of human echinococcosis using histopathology and genotyping in northwestern China. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 2008;102: 585-590.
- Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, et al. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus* complex, with reference to the epidemiological situation in Eastern Africa. International Journal for Parasitology 2004; 34: 645-653.
- Ütük AE, Şimşek S. Molecular characterization of the horse isolate of *Echinococcus granulosus* in Turkey. Journal of Helminthology 2013; 87, 305-308.
- Luna, LG. Manual of Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology. United States of America: The Blakiston Division, McGraw-Hill Book Company, 1968.
- Cardona GA, Carmena D. A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. Veterinary Parasitology 2013; 192: 10-32.
- Şahin MA, Güler A, Doğanç S, Demirkılıç U, Tatar H. İnterventriküler septumda yerleşmiş kardiak kist hidatik: İki olgunun analizi. Türkiye Klinikleri Journal of Cardiovascular Sciences 2010; 22: 262-265.
- Başpınar S, Kaplan M, Keleştemur N. Elazığ'da 2008-2012 yılları arasında kesilen kasaplık hayvanlarda kistik ekinokokkozis yaygınlığı. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 2014; 28: 89-92.
- Oğuz B, Değer S. Van belediye mezbahasında kesilen sığır ve koyunlarda *Taenia hydatigena* sistiserkozusu ve kistik ekinokokkozis. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2013; 37: 186-189.
- Köse M, Sevimli Kırçalı F. Prevalence of cystic Echinococcosis in slaughtered cattle in Afyonkarahisar. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2008; 32: 27-30.
- Avcıoğlu H, Terim Kapakın KA İbrahim, Balkaya İ. Sığırlarda nadir yerleşimli kistik ekinokokoz olguları. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2010; 16: 139-141.