

49055

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TAENIA SAGINATA LAKTAT DEHİDROGENAZ VE MALAT  
DEHİDROGENAZ ENZİM AKTİVİTELERİNE  
BAZI ANTİHELMİNTİKLERİN İN VİTRO ETKİLERİ**

**DOKTORA TEZİ**

**A. YASEMİN ÖZTOP**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: Prof. Dr. GÜLENDAME SAYGI**

**SİVAS-1996**

**Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 5.1.1984 tarih ve 84/1 No'lu kararıyla kabul edilen tez yazma yönergesine göre hazırlanmıştır.**

## **TEŞEKKÜR**

Bu çalıőmanın gerçekleőmesinde büyük katkıları bulunan danışman hocam sayın Prof Dr. Glendame SAYGI'ya en içten teőekkürlerimi sunarım.

Çalıőmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Semra ÖZÇELİK ve sayın Yrd. Doç.Dr. Nursevin ÖZTOP'a teşekkür ederim.

Çalıőmalarımın bir bölümünü gerçekleőtirdiėim Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Spektrofotometre Sorumlularına, antihelmintiklerin etken maddelerini sağladığım Atabay İlaç Fabrikası'na teşekkür ederim.

Ayrıca sayın hocam Yrd. Doç.Dr. Muharrem GÖKOğLU'nu saygıyla anıyorum.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	II
ÇİZELGELER DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	21
BULGULAR	28
TARTIŞMA ve SONUÇLAR	69
ÖZET	76
İNGİLİZCE ÖZET	77
KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	83

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1 : MDH için elde edilen absorbands değerleri	31
Çizelge 2 : MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	31
Çizelge 3 : 0.032 mM niklozamid ile etkileşen MDH için absorbands değerleri	34
Çizelge 4 : 0.032 mM niklozamidle etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	34
Çizelge 5 : 0.063 mM niklozamidle etkileşen MDH için absorbands değerleri	35
Çizelge 6 : 0.063 mM niklozamidle etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	35
Çizelge 7 : 0.127 mM niklozamidle etkileşen MDH için absorbands değerleri	36
Çizelge 8 : 0.127 mM niklozamidle etkileşen MDH için substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	36
Çizelge 9 : Değişik niklozamid çözeltileri ile etkileşimde MDH için Vmax değerleri	40
Çizelge 10 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen MDH için absorbands değerleri	42
Çizelge 11 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	42
Çizelge 12 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen MDH için absorbands değerleri	43
Çizelge 13 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	43
Çizelge 14 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen MDH için absorbands değerleri	44
Çizelge 15 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	44
Çizelge 16 : Değişik albendazol çözeltileri ile etkileşimde MDH için Vmax değerleri	48
Çizelge 17 : LDH için absorbands değerleri	50
Çizelge 18 : LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	50
Çizelge 19 : 0.032 mM niklozamid ile etkileşen LDH için absorbands değerleri	53
Çizelge 20 : 0.032 mM niklozamidle etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	53
Çizelge 21 : 0.063 mM niklozamid ile etkileşen LDH için absorbands değerleri	54
Çizelge 22 : 0.063 mM niklozamid ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	54

Çizelge 23 : 0.127 mM niklozamid ile etkileşen LDH için absorbans değerleri	55
Çizelge 24 : 0.127 mM niklozamid ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	55
Çizelge 25 : Değişik niklozamid çözeltileri ile etkileşimde LDH için Vmax değerleri	59
Çizelge 26 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen LDH için absorbans değerleri	61
Çizelge 27 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	61
Çizelge 28 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen LDH için absorbans değerleri	62
Çizelge 29 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	62
Çizelge 30 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen LDH için absorbans değerleri	63
Çizelge 31 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri	63
Çizelge 32 : Değişik albendazol çözeltileri ile etkileşimde LDH için Vmax değerleri	67

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1: Niklozamid, piperazin, albendazolün kimyasal formülleri	10
Şekil 2: <i>H. diminuta</i> 'nın enerji metabolizması	16
Şekil 3: Parazitik helmintler ve protozoa'daki ETS	17
Şekil 4: Malat-aspartat mekik sistemi	20
Şekil 5: Protein derişimi için standart çalışma eğrisi	28
Şekil 6: Mitokondri-albendazol etkileşiminin UV-VIS fark spektrumu	29
Şekil 7: Sitolol-niklozamid etkileşiminin UV-VIS fark spektrumu	29
Şekil 8: Mitokondri-piperazin etkileşiminin UV-VIS fark spektrumu	30
Şekil 9: MDH için Lineweaver-Burk Grafiği	32
Şekil 10: 0.127 mM niklozamidle etkileştirilen MDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi	33
Şekil 11: MDH - Niklozamid etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri	37
Şekil 12: 0.032 mM niklozamid ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği	38
Şekil 13: 0.063 mM niklozamid ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği	39
Şekil 14: 0.127 mM niklozamid ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği	40
Şekil 15: 0.633 mM albendazol ile etkileşimde MDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi	41
Şekil 16: MDH - Albendazol etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri	45
Şekil 17: 0.158 mM albendazol ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği	46
Şekil 18: 0.316 mM albendazol ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği	47
Şekil 19: 0.633 mM albendazol ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği	48
Şekil 20: LDH için Lineweaver-Burk Grafiği	51
Şekil 21: 0.127 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi	52
Şekil 22: LDH - Niklozamid etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri	56

Şekil 23 : 0.032 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği	57
Şekil 24 : 0.063 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği	58
Şekil 25 : 0.127 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği	59
Şekil 26 : 0.633 mM albendazol ile etkileştirilen LDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi	60
Şekil 27 : LDH - albendazol etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri	64
Şekil 28 : 0.158mM albendazol ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği	65
Şekil 29 : 0.316 mM albendazol ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği	66
Şekil 30 : 0.633 mM albendazol ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği	67



## GİRİŞ ve AMAÇ

*Taenia saginata*, erişkin şekliyle insanların ince bağırsağında yaşayan bir parazittir. Bu parazitin neden olduğu Taeniasis saginata enfeksiyonuna dünyanın sığır eti yenilen her yerinde rastlanır (1). Yurdumuzda bu enfeksiyon özellikle Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu bölgeleri ve Sivas yöresinde yaygındır (1, 2).

Çeşitli antihelmintik ilaçlar, taeniasis saginata tedavisinde kullanılmaktadır. Fakat bu ilaçların parazitlerdeki etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir (3). İlaçların etki mekanizmalarını açıklayabilmek için ise, parazit metabolizmalarının işleyiş yollarını çok iyi bilmek gerekir.

Parazit helmintlerdeki enerji metabolizması hakkındaki bilgilerin, diğer canlıların metabolizmaları konusundaki bilgilerle karşılaştırıldığında, yeterli düzeyde olmadığı görülür. Bununla birlikte, helmintlerdeki enerji üretim yolu, parazit biyokimyasının en iyi bilinen konusudur. Şimdiye kadar, bir çok parazitin biyokimyasal özellikleri, karbohidrat metabolizmasında görev alan enzimleri ve bu enzimlerin özellikleri araştırılmıştır (4-12). *Taenia* cinsinin farklı türleriyle antihelmintiklerin etkileri ve sözü edilen konularda da araştırmalar yapılmış olmasına rağmen (13-22), *T. saginata* 'nın enerji üretim yolu ve antihelmintiklerin etkilerini konu alan bir çalışma bulunamamıştır.

Taeniasis saginata'nın yöremizdeki yaygınlığı nedeniyle (2), bu enfeksiyona neden olan parazitin biyokimyasal açıdan incelenmesi düşünülmüş, parazitin tüm biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi mümkün olmadığından, laktat dehidrogenaz (LDH) ve malat dehidrogenaz (MDH) gibi önemli iki enzimin varlığının

araştırılmasına karar verilmiştir (23). Bu alışmada, LDH ve MDH enzimlerinin *T.saginata'* nun erişkin şeklinde bulunup bulunmadığını saptayarak, metabolik yolların işleyişi konusunda yorum yapabilmek, enfeksiyonun tedavisinde kullanılan ilaçların etken maddesi olan niklozamid, yine sestodların tedavisinde önerilen albendazol ve ascariasis gibi nematod enfeksiyonlarında kullanılan piperazinin (24-28), bu enzimler üzerindeki etkilerini değerlendirerek bilimsel literatüre katkıda bulunabilmek amaçlanmıştır.

Araştırma, yurdumuzda yapılan çalışmalar içinde, *T. saginata'*nın biyokimyasal yönü ve ilaç etkileşimini konu alan ilk çalışma olması yönünden önem taşımaktadır.

## GENEL BİLGİLER

*T. saginata*, Plathelminthes şubesinde yer alan bir helminttir. Helmint terimi, hücreleri dokular ve organlar yapmak üzere özelleşmiş, bilateral simetrik, kasları çizgisiz, eklemli eklentileri bulunmayan, Nemathelminthes ve Plathelminthes şubelerinde bulunan canlılar için kullanılmaktadır. Plathelminthes (yassı solucanlar) şubesinde yer alan canlıların genel özellikleri şöyledir; vücutları sırt karın yönünde yassılaştırmış durumdadır, dış yüzeyleri ince kütikül tabakasıyla örtülüdür ve vücut boşlukları yoktur. Boşaltım sistemlerinde parenkim içine dağılmış durumdaki alev hücreleri görev yapar ve hermafroditlerdir (1).

### *T. saginata*'nın Sistematikteki Yeri ve Tarihçesi

<i>Alem (Regnum)</i>	: <i>Animale</i>
<i>Alt Alem (Subregnum)</i>	: <i>Metazoa</i>
<i>Şube (Phylum)</i>	: <i>Plathelminthes</i>
<i>Sınıf (Clasis)</i>	: <i>Cestodes</i>
<i>Takım (Ordo)</i>	: <i>Cyclophyllidea</i>
<i>Aile (Familya)</i>	: <i>Taeniidae</i>
<i>Cins (Genus)</i>	: <i>Taenia</i>
<i>Tür (Species)</i>	: <i>Taenia saginata</i>

Wepher'in 1675 yılında *T. saginata*'nın larval dönemini incelemesinden önce, Plater 1656 yılında *Taenia* türleri ve *Diphyllobotrium latum* arasındaki yapı farklılıklarını çizerek göstermiştir. Andry 1700 yılında *T. saginata* hakkında ilk raporu yazmış, fakat bu parazitin diğer solucanlardan farklı olduğunu bildirmemiştir. Bu parazitin ilk doğru tanımlamasını Goeze 1782 yılında yapmıştır, böylece, *T. saginata* ve *Taenia solium*'un erişkin şekillerinin ayırıcı sınıflaması Helmintholoji Dergisi'nde yayınlanmıştır. Leucart ise, 1863 yılında *T. saginata*'nın ara konağının sığır olduğunu deneysel olarak kanıtlamış ve 1870 yılında enfeksiyonun insanlara, ara konakta bulunan parazitin larval döneminin, sistiserkusunun, yenilmesiyle geçtiğini göstermiştir (1, 29, 30).

## T. saginata'nın Yapısal Özellikleri

*T. saginata*'nın erişkin şeklinin boyu genellikle 4-12 m'dir. Fakat uzunluğunun 25 m'ye ulaştığı da bildirilmiştir (1). Bu parazitin vücut yapısı Plathelminthes şubesinde bulunan canlılara özgü özellikleri gösterir ve vücudu üç kısımdan oluşur. Bu kısımlar; skoleks, boyun ve halkalardır (proglotidler).

Skoleks armut şeklinde ve 1.2-2 mm çapındadır. Vücudun bu kısmında parazitin konak bağırsağının çeperine yapışmasını sağlayan bir takım organlar bulunur. Bu organlardan biri olan çekmenler veya vantuzlar, eliptik ve dört tanedir. Çekmenlerin çapı 0.8 mm kadar olabilir, bazen skoleksin tümü veya yalnız çekmenler koyu renkte görülürler. Çekmenlerin üzerinde veya skoleksin tam ön kısmındaki bölgede çengeller bulunmaz. Çengellerin olmaması bu paraziti *T.solium*'dan ayırt etmeye yarar.

Boyun, skoleksi halkalara bağlayan parçadır ve buradan tomurcuklanmayla yeni halkalar meydana gelir. Vücudun bu bölümü 1-1.5 mm uzunluğundadır ve eni skoleksin eninin yarısından daha dardır. Fakat boyun kısmı kasıldığı veya gevşediği zaman farklı boyutlara ulaşmaktadır.

Halkalar sarı krem renkte ve yassıdırlar. Erişkin bir parazitteki halka sayısı 1000'den fazladır. Halkaların boyutu, vücutta bulunma yerlerine göre değişir. Boyundan sonra gelen halkaların boyları kısadır, boyundan uzaklaştıkça uzamaya ve olgunlaşmaya başlarlar. Halkalar tam olarak geliştikten sonra birer birer veya birkaçı birden şeritten koparak ayrılır. Genital organlarının gelişme durumuna göre halkalar üç grupta incelenir ve genç, olgun, gebe halkalar olarak adlandırılırlar. Genç halkalar boynun hemen arkasında bulunur. Bu halkalarda üreme organları gelişmemiştir ve boyları kısadır. Olgun halkaların genital organları ve yumurtaları vardır. Olgun halkalarda üreme deliği, vajina deliği ve erkeklik deliği bulunur. Gebe halkalar 16-20 mm boyunda, 4-7 mm enindedir ve vücudun arka kısmında bulunurlar. Bu halkaların genital organları az çok yozlaşmış ve yumurtaları gelişmiş durumdadır. Gebe halkalardaki döl yatağı ortadan boyuna ve yana dallar veren bir boru şeklindedir, döl yataklarının bir taraftaki yan dalları 15-30 kadardır. Bu dalların da her biri genellikle iki dalcıkla biter. Gebe halkalar parazitten teker teker ayrılır, kasılınca kabak çekirdeğine benzer şekil alırlar. Döl yataklarının içi yumurtalarla doludur. Fakat yumurtlama deliği olmadığından yumurtalar halkanın parçalanmasıyla serbest hale geçerler.

*T. saginata*'nın yumurtası küresel yapıda ve 31-43 µm çapındadır. Yumurtanın kalın , çizgili , sarı-kahverengi renkte olan bir kabuğu vardır. Yumur-

tanın içinde altı tane çengeli olan ve onkosfer denilen bir embriyo bulunur. Yumurta bazen embriyo zarıyla görülür, bu gibi durumlarda en dışta vitellüs zarı, bunun içinde vitellüs artıkları, daha içte embriyo vardır. Taenia yumurtasının kabuğu asit ve alkole dirençlidir. Bir gebe halkada bulunan yumurta sayısı yaklaşık 120 bin kadardır ve bir parazitin yılda ürettiği yumurta sayısı 600 milyona ulaşmaktadır (1, 29-31).

### ***T. saginata*'nın Yaşam Döngüsü ve Epidemiyolojisi**

İnsanların ince bağırsağında yaşayan *T. saginata*'nın gebe halkaları belli bir süre sonra parazitten ayrılarak dışkıyla birlikte veya kendi hareketleriyle anüsten dışarıya çıkarlar. Böylece halkalar, hasta farkında olmadan normal yaşamını sürdürürken; yürürken, otururken, yatarken çamaşırlarına düşebilir. Parçalanmış halkalardan ortalığa saçılan embriyonlu yumurtalar kuruluğa 3-10 hafta dayanıklıdır. Yumurtalar 2-5 °C'de 16.5 hafta içinde, 44 °C'de 11 haftada ölürler. Parçalanmış halkalardan etrafa saçılan yumurtalar, kanalizasyon sistemi yetersiz yerlerde parazitin ara konaklarından olan sığırlar başta olmak üzere, manda hörgüçlü yabani öküz, ren geyiği gibi hayvanlar tarafından ağız yoluyla alındıklarında parazitin ara konaktaki yaşam şekli başlar. Ara konağın sindirim borusunda embriyonlar serbest kalır. Daha sonra bağırsak çeperini delerek, kapı karadamarı yoluyla karaciğere geçip, sağ kalbe ulaşırlar. Ayrıca lenf yoluyla da sağ kalbe ulaşabilirler, küçük dolaşımın sol kalbe gelir ve buradan büyük dolaşım yoluyla vücudun herhangi bir yerine, genellikle çizgili kasları çeviren bağ dokuya yerleşirler. Burada embriyon çengellerini kaybederek sistiserkus adı verilen bir kurtçuğa döner ve sistiserkus, ancak 10-12 hafta sonra bulaşıcı olabilir. *T.saginata*'nın ara konağında gelişen sistiserkusa *Cysticercus bovis* adı verilir (1, 29).

Olgunlaşmış *Cysticercus bovis* 4-9 mm boyunda ve 3-3.5 mm enindedir. Bir bezelye tanesine benzer. Sistiserkus; içi sıvıyla dolu kese, dört çekmenli skoleks ve skoleksi keseye bağlayan boyun olmak üzere üç bölümden oluşur. Skoleks ve boyun genellikle bir eldiven parmağı gibi tersine dönüktür. Fakat hafifçe bastırarak veya 37- 40°C'lik sıcakta bekletmekle, mide öz suyu veya safranın etkisiyle normal şekline dönebilir.

*Cysticercus bovis*'in ara konaktaki bulunma yerleri; çiğneme kasları, kalp, dil, göğüs kasları ve diyafram gibi çizgili kasları saran bağ dokularıdır. Daha ender olarak lenf düğümlerinde, akciğer, karaciğer, beyin ve yemek borusunda da

bulunabilir. Et muayenelerinde *Cysticercus bovis*, en sık görüldüğü yerlerde, örneğin; çiğneme kaslarında, çene kemiğinde aranır. Fakat hemen bulup tanımak kolay değildir. Çünkü, kesecikler ufak, yağ lopcuklarına benzer ve genellikle az sayıdadırlar. *Cysticercus bovis* belli bir süre sonra ara konağın vücudunda soysuzlaşmaya başlar.

Parazitin yaşam döngüsü, *Cysticercus bovis*'i taşıyan sığır etinin çiğ veya az pişmiş olarak insanlar tarafından yenilmesiyle tamamlanmaya başlar. Sistiserkus ince bağırsakta etrafını çeviren kas dokusunun sindirilmesiyle serbest kalır. Ters duran skolek yüzüne dönerek düzeler ve keseden ayrılır. Daha sonra çekmenleriyle bağırsağa yapışır ve boyun kısmından halkalar oluşmaya başlar. Günde ortalama 5-8 halka oluşarak parazit büyür, 10 hafta kadar sonra halkalar parazitten kopar ve vücut dışına çıkmaya başlarlar (1, 29, 31).

*Taeniasis saginata* dünyanın her yerinde görülür (1). Enfeksiyonun yaygınlık derecesi, sığır etinin yenilme sıklığına, pişirilme şekline, bölgedeki hayvancılığın yaygınlığı ve bölgenin sanitasyon durumuna göre değişir. Enfeksiyon, Meksika, Güney Afrika, özellikle Müslüman ülkelerinde olmak üzere Yugoslavya ve Avrupa'nın birçok ülkesinde yaygındır. Orta ve Güney Amerika'da görülme oranı ise daha azdır (32, 33). Bu enfeksiyona yurdumuzda oldukça sık rastlanır. Fakat enfeksiyonun yaygınlık oranı Güneydoğu, Doğu Anadolu ve Sivas yöresinde oldukça yüksektir (2).

Yöremizde bağırsak parazitlerini araştırmak için yapılan çeşitli çalışmalarda *T. saginata*'nın bulunma oranları şöyledir; İlkokul öğrencilerinde yapılan iki farklı çalışmada *T. saginata*, sırasıyla, % 24.3 ve % 20.6 oranında (34, 35) bulunmuş, farklı yaş gruplarındaki kişilerde yapılan dört ayrı çalışmada ise; parazit, % 34.2, % 7.6, % 16.7, % 17.2 oranında saptanmıştır (2, 36-38).

### **Taeniasis saginata'nın Belirtileri**

*Taeniasis saginata* bazı insanlarda hiç bir hastalık belirtisi vermezken, bazılarında ise, parazit büyümeye başladığı zaman sindirim sistemine ait hastalık belirtileri; iştah bozukluğu, karın ağrısı, karında şişkinlik, geğirme, bulantı, kusma, kabızlık veya ishal görülebilir. Halkalar düşmeden önce zayıflama, lökositoz, eozinofili gelişebilir. Halkaların apandise girmesiyle burada yangı belirtileri de ortaya çıkabilir. Seyrek olarak karaciğer bozuklukları bildirilmiştir. Bir hastada söz edilen bu belirtilerden bir veya birkaçı birden bulunabilir. Bazen bu paraziti taşıyanlarda belirtiler dönem dönem görülür. Ayrıca bağırsağın delinmesiyle

parazitin periton boşluğuna geğtiği ve ameliyat sonrası fistüllerden halkaların çıkabileceği de bildirilmiştir (1, 39).

Konağın bağırsak lümenindeki parazit, genellikle mukozada görülebilen değişikliklere neden olmaz. İnce bağırsakta parazite bağlanabilen bir yapı bozukluğu bildirilmemiştir. Fazlaca uzun olan bu parazit, konağın besinlerini kullanır ve metabolizma ürünlerini bağırsağa salar. Bu nedenle paraziti taşıyan insanların yarısında mide salgısı azalmakta ve daha az asitli olmaktadır. *T. saginata* esnek, kolay bükülebilir özellikte olduğu için, ince bağırsak lümeninin büyük bölümünü işgal eder ve bazen de bağırsak tıkanmasına neden olur.

*T. saginata*'ya karşı konakta minimal yangısal yanıt gelişir. Bağırsak lümenindeki bu parazit immunojeniktir. Bağışık yanıtta özgül antikolar üretilir (29).

### **Taeniasis saginata'nın Tanısı**

İnfeksiyonun kesin tanısı, dışkıyla birlikte veya aktif hareketlerle anüsten dışarı çıkan parazit halkalarının incelenmesiyle konur. Halkalar birkaç yöntemle incelenebilir. Bu yöntemlerden biri şu şekilde yapılır; lam üzerine halka konur , lam büyüklüğünde bir kağıt hazırlanarak bu kağıtın ortası halkanın boyutlarında kesilir ve kağıt, halka ortada kalacak şekilde yerleştirilir. Bunların üzerine başka bir lam konarak bastırılır. Bastırma işlemi sonunda halkanın uterus ve dalları belirginleşir. Tanıda kullanılan bir başka yöntem ise şöyle uygulanır; halka % 10'luk formaldehit çözeltisinde tespit edildikten sonra, genital açıklığından çini mürekkebi veya hematoksilen boyası enjekte edilir. Her iki yöntem sonunda halkalar mikroskopta incelenerek uterusun yapısına göre tür tanısı yapılabilir (1, 29).

Skoleks ele geçirildiği zaman skoleksin büyüklüğü ve çengellerinin olup olmadığına bakılarak *T. saginata*'nın tanısı yapılır.

Eğer halkalar bağırsakta parçalanmışlarsa parazitin yumurtaları dışkı ile dışarıya atılır. Dışkının mikroskobik incelenmesiyle yumurtalar görülebilir. Halkalarda yumurtlama deliği olmadığından normalde dışkıda yumurtalar bulunmaz (1). Bu nedenle hastaya sellofanband yöntemi uygulanarak yumurtaların elde edilmesine çalışılır (2). Yumurtaların parazitolojik incelenmesiyle tür tanısı konulamaz. Çünkü bu yumurtalar *T. solium*'un yumurtaları ile aynı morfolojik görünüme sahiptirler (1).

Ayrıca son yıllarda dışkı örneklerinde *T. saginata* antijenlerini saptamaya yönelik ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) deneyi geliştirilmiştir (30).

## **Taeniasis saginata'nın Tedavisi**

Taeniasis saginata'lı hastaların tedavisinde bazı antihelmintik ilaçlar kullanılır. Antihelmintik ilaçlar, konağa zarar vermeden parazitin ölmesini veya kolayca vücut dışına atılmasını sağlamaktadırlar. İdeal bir antiparazitik etken, yüksek tedavi edici dozlarda güvenilir olmalı, tercihan oral yolla tek doz veya aynı günde bölünebilen dozlarla alınabilmeli, farklı iklim koşullarında kimyasal olarak stabil ve ucuz olmalıdır (3).

Yirminci yüzyıldan önce parazitik enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla çeşitli bitkiler ilaç yapımında kullanılmıştır. Bu dönemlerde taeniasisin tedavisinde kullanılan ilaçlardan bazıları şunlardır; nar ağacı kabuğu; *Brayera anthelmintica* veya *Hagenia abyssinica*'nın çiçeklerinden elde edilen Kusso; eğrelti otunun dişisi, bu otun erkeğinin toprak altındaki gövdesi ve yaprak sapının tozu veya eterli özütü, tomurcukları; kabak çekirdeği; felfelek (*Areca catechu*), *Mallotus philippiensis* ağacının meyvelerini örten kıl ve bezelerinden elde edilen Kamala (40).

Yirminci yüzyılın başlarında antihelmintik olarak kullanılan ilaçların etken maddesini saptama, bu maddelerin kimyasal yapısında değişiklikler yaparak en ideal ilaçları bulma yönünde çalışmalar yapıldı. İkinci Dünya Savaşından sonra taeniasisin tedavisinde atebrinin etkili olduğu bildirildi. Fakat ilacın yaygın olarak kullanımından sonra insanlarda önemli yan etkiler yaptığı görüldü.

Günümüzde ise, helmintiyazların tedavisinde şimdiye kadar sözü edilen ilaçların yerini iyi özelliklere sahip olan, benzimidazol türevleri, pyrantel pamoate, ivermektin, niklozamid ve praziquantel gibi ilaçlar almıştır (40).

## **Antihelmintiklerin Özellikleri**

Her parazitin yaşam döngüsü, vücut yapısı, fizyolojik gelişmesi ve insanlardaki yaşama alanlarının farklı olması nedeniyle, antihelmintiklerin her biri farklı helminte etki ederler. Böylece antihelmintler, helmintlerin nematod, sestod, trematod gibi alt gruplarına karşı özgüllük göstererek, etki ettikleri helmint gruplarına göre sınıflandırılırlar. Ancak bazen bir alt gruba etki eden antihelmintik, başka bir alt gruptaki helminte de etki edebilir (3, 41).

### **Niklozamid**

Niklozamid, insan ve hayvanlarda sestodlar ile meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçların etken maddelerinden biridir.



Özellikle *T. saginata* ve *Hymenolepis nana* enfeksiyonlarına karşı kullanımda daha fazla tercih edilmektedir (3, 41).

Niklozamid ilk kez 1959 yılında Schraufstaater ve Gönner tarafından hazırlandı. Bu araştırmacılar 1960 yılında hazırladıkları maddenin *Hymenolepis diminuta* enfeksiyonuna etkili olduğunu bildirdiler (40). Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar niklozamidin oral alımdan sonra toksik olmadığını gösterdi. Niklozamid 1961 yılında Yomesan adıyla Bayer AG tarafından Amerika Birleşik Devletleri (ABD) dışındaki ülkelerde ticari kullanıma sunuldu. Fakat bu ilaç, ABD'de Hastalık Kontrol Merkezi tarafından kullanım lisansı verilene kadar araştırılan bir ilaç konumunda kaldı (27).

Niklozamid bir klorosalisilamid türevidir. Kimyasal formülü Şekil 1'de verilmiştir. Bu antihelminitiğin sestodlara karşı etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat ilacın düşük derişimlerinin sestodlardan *H. diminuta*'nın oksijen alınımını stimule ettiği, yüksek derişimlerinin solunumu inhibe ettiği ve glukoz alınımını önlediği bildirilmiştir. Niklozamidin sestodların anaerobik metabolizmalarını etkileyerek, adenosin difosfatın (ADP) fosforilasyonunu inhibe ettiği ve adenosin trifosfatın (ATP) aktivitesini stimule ettiği sanılmaktadır (3, 41).

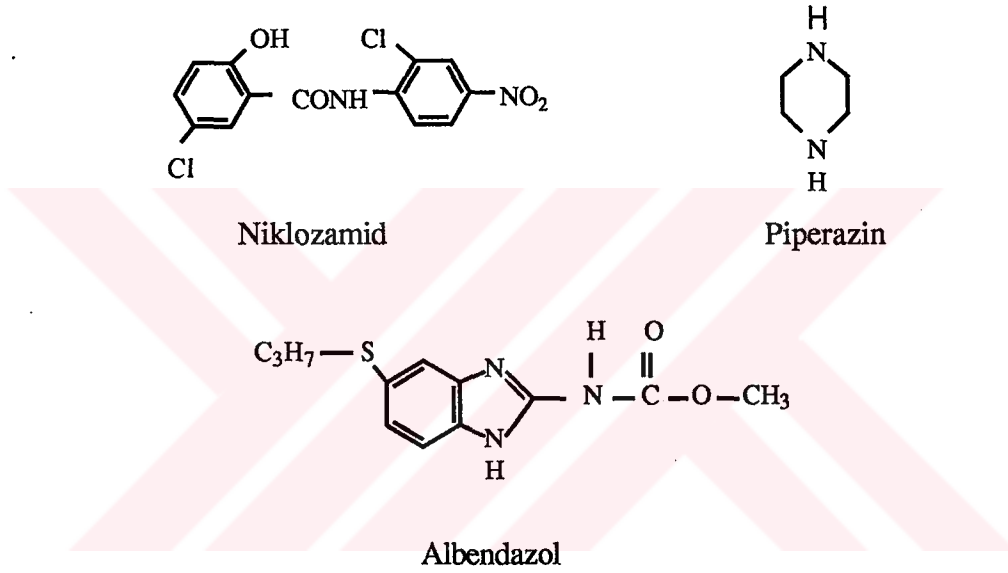
Niklozamid sestodlara hem in vivo hem de in vitro ortamda yapılarını bozarak etki eder. Konak bağırsağında bu ilacın etkisiyle ölen tenyaların skoleks ve halkaları kolayca sindirime uğrayabilir. Bu nedenle niklozamid tedavisinden sonra skoleksin dışkıyla vücut dışına çıkıp çıkmadığını araştırmak anlamsızdır. Eğer tedaviden sonra üç ay içinde hasta halka çıkarmazsa skoleksin düşmüş olduğuna karar verilir.

Niklozamid, 500 mg'lık tabletler şeklinde hazırlanır. Yetişkin için önerilen doz 2 g'dır, 2-8 yaş arasındaki çocuklara 1 g, 2 yaşından küçüklere 0.5 g dozunda verilir. İlaç alınımından önce genellikle hafif yiyecekler yenilmesi söylenir ve kronik kabızlığı olanlara bir laksatif verilir. Tabletler çiğnedikten sonra az miktar su ile yutulmalıdır. *T. solium* enfeksiyonlarında veya tedavinin başarı ile sonuç-landığından emin olabilmek amacıyla, skoleksin parçalanmadan vücut dışına çıkmasını sağlamak için, hastalara ilaç verildikten 2 saat sonra sonra bir müşhil verilir. Buna rağmen skoleks kısmen sindirilmiş olabilir.

Niklozamid ender olarak yan etki yapar. Gastrointestinal sistemden çok az absorbe edilir ve direkt olarak irrite edici etkisi yoktur. Gebelerde, yaşlı ve zayıf hastalarda yan etki gözlenmemiştir. Niklozamidle tedavi edilen hastaların karaciğer,

böbrek fonksiyonlarında ve kan tablolarında değişiklik olmadığı bildirilmiştir. İlaç nadiren bulantı, kusma ve karın ağrısı yapar.

Niklozamidin bir tenyasid olarak kullanımında hiç bir kontrendikasyon yoktur. Fakat ilacın parazitin yumurtalarına değil, erişkin şekline öldürücü etki yapması önemlidir. Bu nedenle, *T. solium* enfeksiyonunda niklozamidin kullanımı, ölen halkaların parçalanması sonucu bağırsak lümenine yumurtaların salınacağı ve hastanın sistiserkosis riskine uğratılacağı için sakıncalıdır (3). *T. solium*'un neden olduğu enfeksiyonun tedavisi için hastalara praziquantel verilir (42).



Şekil 1: Niklozamid (41), piperazin (3), albendazolün (42) kimyasal formülleri

### Albendazol

Albendazol, benzimidazol karbamat türevi geniş spektrumlu ve güçlü antihelmintik etki gösteren bir etken maddedir (3). Kimyasal formülü Şekil 1'de verilmiştir.

Albendazol 1975 yılında Gyurik ve Theoderides tarafından hazırlanmıştır. Bu ilaç 1981 yılında Williams ve arkadaşları, ayrıca Stevensen ve arkadaşları tarafından incelendikten sonra, Pene ve arkadaşları tarafından da incelenerek, albendazolle ilgili bulgular 1982 yılında yayınlanmıştır (40).

Albendazol antihelmintik spektrumu, etki mekanizması ve kullanılış yerleri bakımından benzimidazol türevinden biri olan mebendazole benzer. Fakat albendazol mebendazole göre daha lipofilik olduğundan mide bağırsak kanalından yüksek oranda absorbe edilir. Bu iki etken maddenin bulunduğu ilaçlar, aynı miktarda

ağızdan alındıklarında, albendazolün kanda yaptığı etkin ilaç ve metabolit konsantrasyonu, mebendazolünkine göre çok daha yüksek olur (41). Albendazolün vücut sıvılarında sülfoksit ve sülfon olmak üzere iki metaboliti saptanmış ve bu konuda birçok araştırma yapılmıştır (43-47). Karaciğerde albendazol, sülfoksite dönüşür ve bu metabolit enterohepatik dolanıma girerek ilacın etki süresinin uzamasına neden olur. Absorbsiyonunun fazla olması nedeniyle albendazol, duyarlı sistemik helmint enfeksiyonlarında mebendazole tercih edilir (41).

Albendazol etkilediği parazitlerin erişkin ve larval şekillerinin glukoz alımını bloke ederek, glikojen depolarının tüketilmesi ve ATP oluşumunun azalmasına yol açar. Sonuçta parazit hareketsizleşir ve ölür (3, 24).

*T. saginata* enfeksiyonunda, albendazolün üç gün süreyle günde bir defa olmak üzere 400 mg'lık dozu etkilidir. Ayrıca Albendazol, *Echinococcus granulosus*'un neden olduğu kist hidatik hastalığının tedavisinde en fazla kullanılan maddedir (25, 40). Farklı helmint türleri üzerine albendazolün etkisini araştıran birçok araştırma yapılmıştır. Prasad ve ark. (48) albendazolün üç gün süreyle günde 400 mg'lık dozunun *T. saginata* ve *T. solium* üzerine %100 etkili olduğunu bildirmişlerdir. Tanyüksel ve ark. yaptıkları çalışmada albendazolün *E. vermicularis* ve *T. saginata*'ya %100 etkili olduğunu bulmuşlardır (49).

Albendazol 1-3 gün süreyle kullanıldığı zaman genellikle yan etki yapmaz. Fakat, çok az kişide karın ağrısı, ishal, baş ağrısı, mide bulantısı, baş dönmesi, halsizlik ve uykusuzluk yapabilir. Kist hidatik gibi uzun süre tedavi edilmesi gereken hastalıklarda, lökopeni, serum transaminazında artma ve nadiren sarılık görülebilir (3, 41).

### **Piperazin**

Piperazin, özellikle *A. lumbricoides* ve *E. vermicularis* enfeksiyonlarına karşı etkili heterosiklik yapıda organik bir bazdır. Kimyasal formülü Şekil 1'de verilmiştir. Piperazin kimyasal olarak heksahidrat şeklinde bulunur (bunun % 44'ü piperazindir). Başlıca tuzları, sitrat, fosfat, adipattır.

Piperazinin antihelmintik olarak değer kazanması 1949 yılına rastlar. İlk kez Fayard adlı araştırmacı piperazinin iyi bir askaryaz ilacı olduğunu bildirmiştir. Fakat bu araştırmacının ilacın antihelmintik özelliği konusundaki düşüncesini Boismare isimli bir eczacıdan edindiği söylenmektedir. Daha sonra 1951 yılında Mouriquand ve arkadaşları bu ilacın enterobiyaz tedavisinde iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Piperazin tuzları (sitrat ve adipat) 1950'li yıllarda askaryaz ve enterobiyaz tedavisinde

tedavisinde sıklıkla kullanılmıştır. Wagner 1963 yılında, Waks 1963 yılında triklorofenolpiperazinin, çengelli solucan, *Trichuris* ve *Strongyloides*'in neden olduğu enfeksiyonlara karşı da etkili olduğunu bildirmişlerdir (40).

Piperazin, *Ascaris* ve *Enterobius*'un nöromüsküler kavşaklarındaki iyon kanallarını bozarak kas membranını hiperpolarize eder ve impuls aşırımını bloke eder. Söz konusu etki sonucu bu solucanlarda gevşek felç oluşarak, barsağın peristaltik hareketleriyle parazitin canlı olarak vücut dışına atılması sağlanır. Dışarı atılan solucanların ilaçsız uygun bir ortamda bekletildiğinde normal durumlarına döndükleri bildirilmiştir (3, 25, 41).

Piperazin tuzları 100 mg/ml şurup ve 250 mg'lık tabletler şeklinde ticari olarak satılır. İlaç ağız yoluyla alındıktan sonra kolaylıkla absorbe edilir ve yaklaşık %20'si değişmeden idrarla atılır. İlaç verilmeden önce hastaya perhiz veya lavman yapılması gerekmez. Askariyaz'ın tedavisinde, günde tek doz olarak iki gün süreyle 75 mg/kg piperazin kullanılır. Çocuklar da aynı şekilde tedavi edilir.

Piperazin en az yan etkisi olan ilaçlardan biridir. Seyrek olarak olarak bulantı, kusma, baş dönmesi, ürtiker ve kaslarda güçsüzlük, allerjik hepatit, ateş, artralji, ataksi ve görme bozukluğu yapabilir (41).

Piperazin, epilepsi hikayesi olan hastalarda kontrendikedir. Nörotoksik etkileri böbrek fonksiyonları bozuk kişilerde de meydana gelir (3).

### **Helmintlerin Karbohidrat Katabolizmasının Genel Özellikleri**

Katabolik yolların temel görevi enerji üretimidir. Genellikle ATP şeklinde olan bu enerji, mekanik, sentetik veya ozmotik iş için gereklidir. Enerji üretiminden başka katabolik yolların üç önemli işlevi daha vardır. Bunlar; sentetik tepkimeler için indirgeyici güç üretmek, ara ürünler oluşturmak ve hücrenel bileşenlerin değişmezi olan makromoleküllerin parçalanması için mekanizma sağlamaktır.

Parazit helmintlerin katabolizması memelilerin katabolizmasından farklıdır. Memelilerde katabolizma üç aşamada gerçekleşir. Önce, makromoleküller sindirim enzimleri veya hücre içi enzimlerle, monomerleri olan aminoasitlere, monosakkaritlere ve yağ asitlerine parçalanır. Sonra, oluşan monomerler basit bileşiklere parçalanırlar. Örneğin, karbohidratlar asetil-koenzim a'ya (asetil-CoA) yıkılırlar. Aminoasitler ve lipitler de asetil-CoA'ya parçalanırlar. Daha sonra ise, ikinci aşamada oluşan ürünler, karbondioksit ve suya tamamen yıkılırlar. Parazit helmintlerin katabolize edebildiği substrat oranı sınırlıdır ve hepsinde olmasa bile çoğunda karbohidratlar parazitik evrede tek enerji kaynağıdır. Asetil-CoA helmint

metabolizmasında memelilerdeki gibi temel rol oynamaz. Bu bileşimin yerine fosfoenol pirüvatu (PEP) anahtar metabolit olarak kabul edilir. Ayrıca, parazit helmint katabolizmasının son ürünleri genellikle organik asit olan kompleks ürünlerdir (5, 50).

Parazit helmintler, karbohidrat katabolizmaları sonunda oluşan ürünlere göre üç gruba ayrılırlar. Bunlar;

1. Asetat ve propiyonat üreticileri: Bu gruba giren parazitler, *Fasciola hepatica*, *Ancylostoma caninum*, *Schistocephalus solidus*, *Trichostrongylus colubriformis* gibi asetat ve propiyonat salgılayan parazitlerdir.

2. Asetat, laktat ve propiyonat (süksinat) üreticileri: *E. granulosus*, *Taenia taeniaformis*, *H. diminuta*, *Ligula intestinalis* ve *Heterakis gallinae* gibi parazitler asetat, propiyonat veya süksinat, bunlara ek olarak da laktat üretirler. Laktat glikolizle üretilir, sitoplazmada oluştuğu için sitoplazmik bir son ürün olarak tanımlanabilir. Özellikle asetat ve propiyonat üreticisi olan *S. solidus* ve *F. hepatica*'nın inkübasyon ortamına glukoz eklendiğinde önemli miktarda laktat oluşturdukları bulunmuştur. Bu parazitlerin fazla miktardaki karbohidratları laktata çevirme kapasiteleri vardır.

3. Süksinat ve laktat üreticileri: Bu gruba *Moniezia expansa*, *Diphyllobothrium dendriticum*, *Polymorphus minutus*, *Echinorhynchus gadi* gibi parazitler girer. Bu gruptaki parazitlerin karbohidrat yıkım son ürünleri baskın şekilde süksinat ve laktattır (5).

Helmintler parazitik dönemlerinde temel enerji kaynağı olarak karbohidratları kullanırlar. Kullanılan karbohidratların başında glikojen gelir. Parazit helmintlerdeki serbest glukoz düzeyi oldukça düşüktür. Glikojen fosforilazla glukoz-1-fosfat ve az miktarda dekstrine yıkılır. Dekstrinlerin tam hidrolizi için ikinci bir enzim olan amilo-1,6-glukozidaz gereklidir. Şimdiye kadar bu enzim yalnızca *H. diminuta*'da gösterilmiştir.

Helmintler tarafından trehalozun kullanımı ilginçtir. Bazı mikroorganizma ve protozoa trehalaz fosforilazın yardımıyla trehalozu parçalayabilir. Bu tepkimede glikojen, trehaloz ile glukoz hidrolize edilir. Sonra heksokinazla glukoz-6-fosfat'a fosforile edilir. Trehalaz allosterik bir enzim değildir ve bu yüzden metabolitlerle düzenlenmez. Glukoz ve glikojenin katabolizmasını kontrol eden enzimler, düzenleyici enzimlerdir. Trehalaz asidik pH'da optimum çalışır ve hücre içi pH ile düzenlenebileceği görülür. Parazitik dokulardaki trehalazın dağılım durumu

*A. lumbricoides*'de çalışılmıştır. Bu enzim parazitin kas ve genital dokularında gösterilmiştir.

Parazit helmintlerdeki karbohidrat yıkımının göze çarpan özelliği, indirgenmiş organik son ürünlerin üretimi ve bu durumun aerobik koşullar altında bile kalıcı olmasıdır. Helmintler tarafından üretilen son ürün miktarı, mikroorganizmalarda bulunanlardan oldukça azdır.

Karbohidrat katabolizma yolları farklı parazit helmintlerde ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Bu araştırmalarla karbohidratların başlangıçta glikolizle yıkıldıkları, fosfoenolpirüvata kadar olan reaksiyon adımlarının omurgalı dokularındakine benzediği bulunmuştur. PEP'dan sonra reaksiyonun devam ediş şekli ise omurgalılardakinden farklıdır. Parazitik helmintlerde PEP'in katabolizması için iki önemli yol vardır. Bu yollar şöyledir;

1. PEP'a CO<sub>2</sub> eklenerek oksaloasetat oluşur. Bu tepkimeyi fosfoenolpirüvat karboksikinaz kataliz eder. Oluşan oksaloasetat daha sonra sitoplazmik MDH ile malata indirgenir ve malat mitokondriye girer. Fakat pirüvat karboksikinazın, çoğu helminte olmadığı bildirilmiştir.

2. PEP için alternatif bir son memeli dokularında olduğu gibi pirüvat kinaz ile gerçekleşir. PEP pirüvata dönüşür. Pirüvat daha sonra sitoplazmada laktata indirgenir veya mitokondriye girer. Mitokondride asetil-CoA'ya oksidatif olarak dekarboksillenir. Bu iki yolun önemi pirüvat kinaz veya fosfoenol pirüvat karboksikinazın farklı parazitlerde ve farklı çevresel durumlar altında farklı şekilde işlemedir.

*A. lumbricoides*'in kas dokularında karbohidratların katabolizma yolları oldukça ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Bu çalışmalar parazitte bir anaerobik enerji üretim yolu olduğunu açığa çıkarmıştır. Bu yolun ortaya çıkarılmasından kısa süre sonra aynı reaksiyon şemasının *H. diminuta* için de geçerli olduğu bildirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarla da birçok parazitte bu metabolik yolun olduğu ve sonunda süksinat veya türevlerinin meydana geldiği saptanmıştır (4, 5, 21).

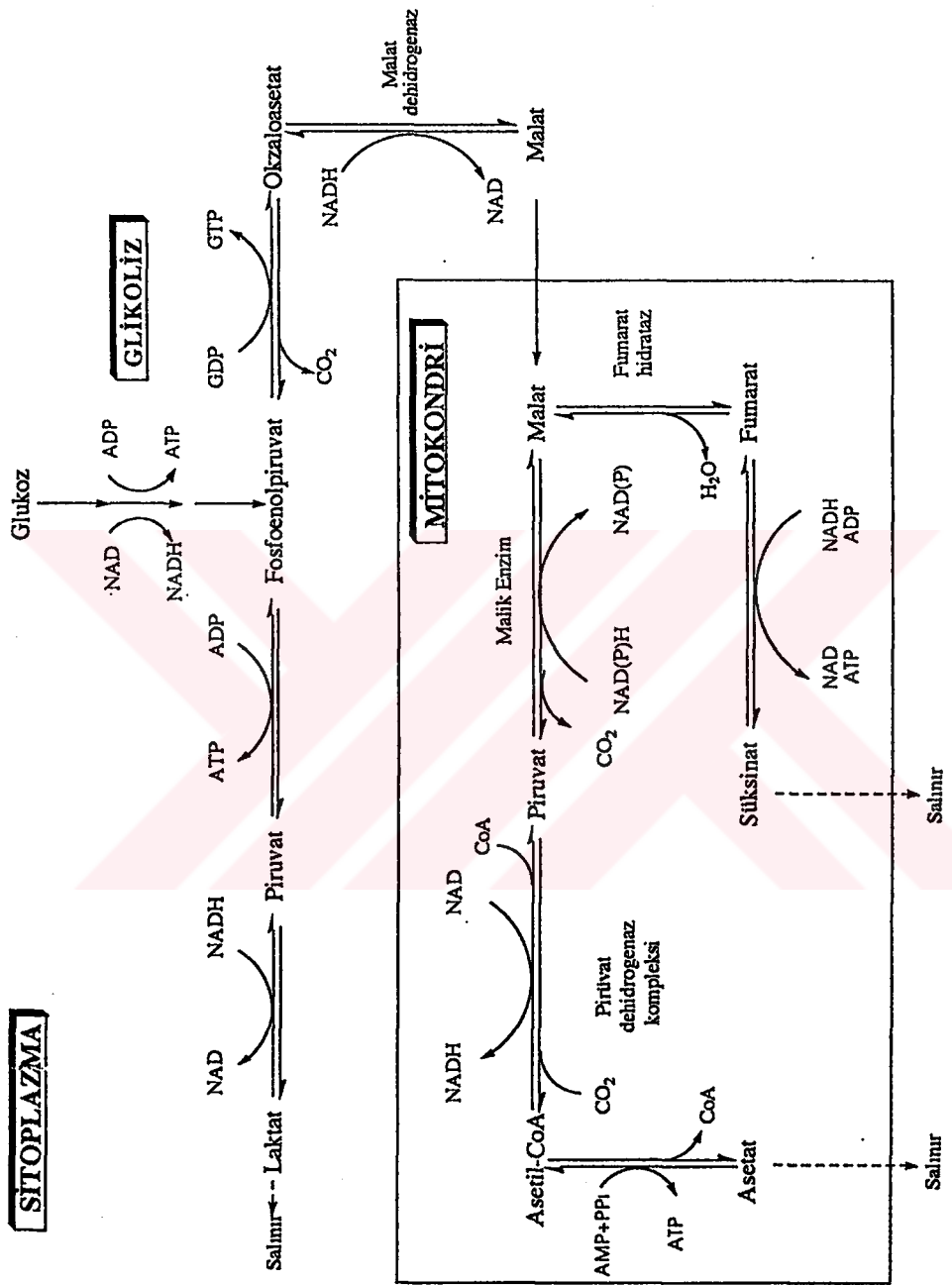
## Sestodların Karbohidrat Katabolizması

Yetişkin sestodlar fakültatif anaerobtur. Enerji glukoz ve glikojenin katabolize edilmesiyle sağlanır. Sestodlarda da diğer gruplardaki canlılarda olduğu gibi, glukozun oksidasyonu sonunda organik son ürünler meydana gelir.

Sestodların yağ ve aminoasitleri parçalama yetenekleri sınırlı olduğu için, karbohidratları depolama ve katabolize etme yolları enerji üretimi için çok önemlidir. Genç ve erişkin sestodlar aşırı miktarda glikojen depo ederler. Örneğin bir sestod kuru ağırlığının yaklaşık % 20- % 50'si kadar glikojen depolayabilir. Sestodlarda glukozun katabolize edilme yolları Şekil 2'de verilmiştir.

Glikojenden oluşturulan glukoz, glikolizle PEP'a kadar parçalanır. PEP oluştuktan sonra yol ikiye ayrılır. Birincisinde PEP, fosforilasyonla pirüvata ve pirüvatin indirgenmesiyle laktata dönüşür. İkincisinde ise PEP, fosfoenolpirüvat karboksikazla oksaloasetata dönüşür. Oksaloasetat sitoplazmik MDH ile malata indirgenir. Malat daha sonra fosfat bağlı translokazla mitokondriye girer. Mitokondri içinde malatın bir kısmı NAD bağımlı malik enzimle (ME) pirüvata dekarboksile edilir. Bu yolun sonunda asetat meydana gelir. Mitokondriye giren malatın diğer kısmı fumaraz ile fumarata dönüşür. Daha sonra fumarat, fumarat redüktaz ile süksinata indirgenir (51). Bu şekilde sestodlar memelilerdeki trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün bir kısmını bulundurarak PEP'ı parçalarlar. Mitokondride gerçekleşen bu reaksiyon kısmi tersine TCA döngüsü olarak tanımlanabilir (5).

Süksinat ve asetat ürünlerinin oluşumu sırasında elde edilen ATP, glukozun laktata indirgenmesi sırasında oluşan ATP'den iki fazladır. Bazı sestodlarda, süksinattan propiyonat oluşumu sırasında bir ATP daha kazanılır. Mitokondriyal reaksiyonlar enerji kazanımı yönünden avantajlı olmalarına rağmen, bu reaksiyonların önemi tam olarak belli değildir. *H. diminuta*'nın bazı suşları genellikle laktat, daha az oranda asetat ve süksinat oluşturur. Bazı suşlarda ise, asetat ve süksinat miktarı daha baskındır. Aynı tür içinde son ürün miktarındaki bu farklılıklar, sestodun gelişimine, strobilanın yapısına, hatta konağın bağışıklık durumuna göre değişir (51).

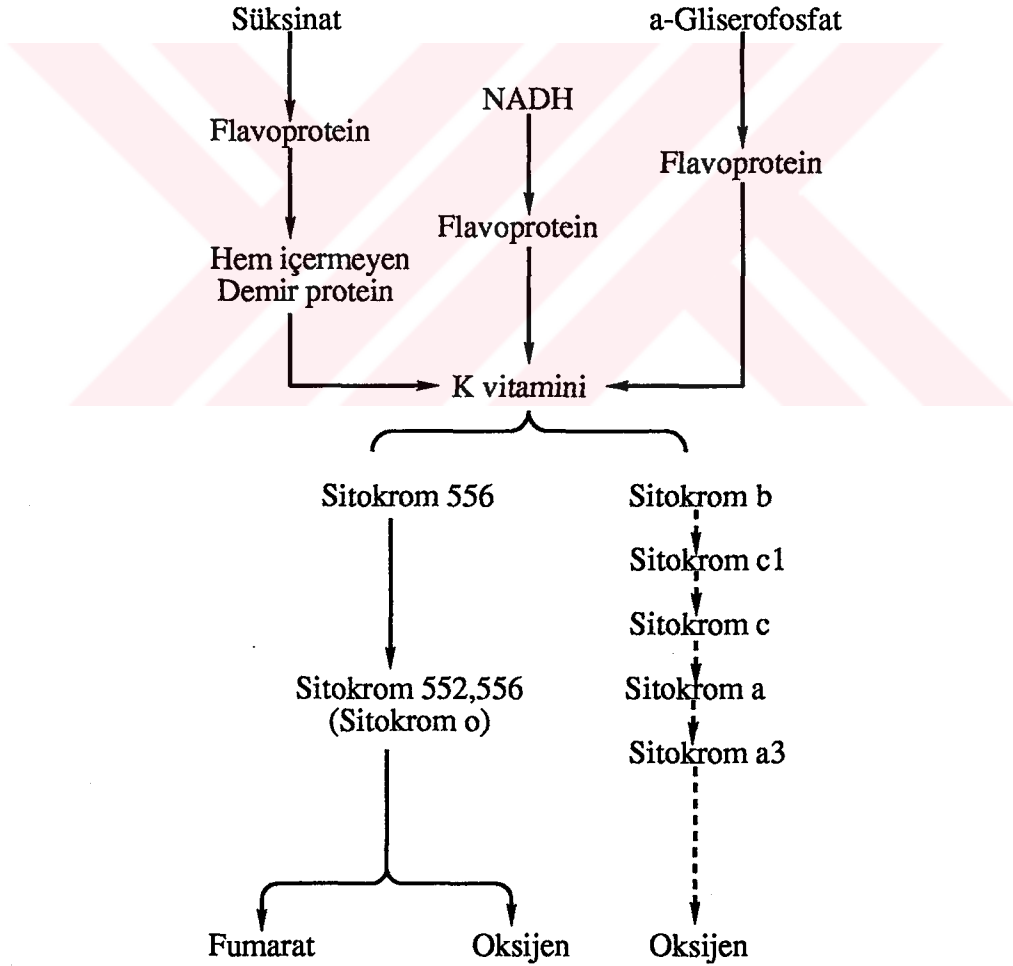


Şekil 2: H. diminuta'nın enerji metabolizması (51)



### Sestodlarda Elektron Taşınım Sistemi (ETS)

Duyarlı tekniklerin kullanılmasıyla, bazı sestodlarda iki tip ETS'nin olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sistemlerden biri memelilerdeki klasik ETS ve diğeri o tipi olarak adlandırılan ETS'dir. Böylece ortamın aerop veya anaerop olmasına göre, katabolizmanın son aşamasında elektronlar, son elektron alıcısı olarak oksijene veya fumarata transfer edilebilir ve sonuçta süksinat veya hidrojen peroksit meydana gelir. Aerop koşullarda oluşan hidrojen peroksit bir peroksidazla parçalanırken, anaerop koşullarda oluşan süksinat ortama salınır (51). ETS Şekil 3'de verilmiştir.



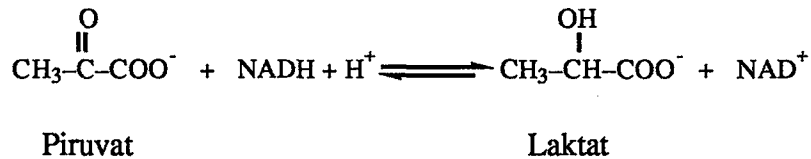
Şekil 3: Parazitik helmintler ve protozoa'daki ETS (51).

### Laktat Dehidrogenaz Enziminin Özellikleri ve İşlevi

LDH ( L-Laktat: NAD oksidoredüktaz, EC 1.1.1.27) ilk defa 1943 yılında keme kasından kristalize edilmiştir. Daha sonra iskelet ve kalp kasında bulunan LDH enzimleri ayrıntılı olarak çalışılmıştır. LDH tetramer yapıdadır. Bu enzimin mol kütlesi 140.000'dir. LDH molekülü her biri 35.000 mol kütleli iki alt birimden oluşur. Alt birimlerden biri, iskelet kası ve diğer anaerobik dokularda bol olarak bulunan M şeklindedir. Diğer alt birim ise, kalpte bol bulunan H şeklindedir. Alt birimler değişik genler tarafından üretilir ve bunların katalitik özellikleri yoktur; fakat aynı veya farklı diğer tiplerle birleşerek aktif enzimi oluştururlar. H ve M alt birimlerinin tüm kombinasyonları eşit olasılıktadır ve beş farklı kombinasyon oluşturabilirler (52). LDH izoenzimleri, alt birimlerin bileşimleri ve başlıca bulunma bölgeleri aşağıda gösterilmiştir (23).

Tip	Bileşim	Yerleşim Yeri
LDH <sub>1</sub>	HHHH	Kalp kası ve Eritrosit
LDH <sub>2</sub>	HHHM	Kalp kası ve Eritrosit
LDH <sub>3</sub>	HHMM	Beyin ve Böbrek
LDH <sub>4</sub>	HMMM	Bilinmiyor
LDH <sub>5</sub>	MMMM	Karaciğer ve iskelet kası

Glikolitik yolda piruvat oluştuğundan sonra çevresel koşullara ve metabolik yolların işleyişine bağlı olarak hücre çeşitli seçeneklere sahiptir. Eğer hücre bol miktarda oksijenleniyorsa, piruvat asetil-CoA'ya dönüşür. İndirgenmiş NADH+H<sup>+</sup> üzerindeki elektronlar ve protonlar ise önce flavoproteine ve sitokromlara, sonra da oksijene aktarılır. Eğer ortam hipoksik veya oksijensiz ise, NADH'ların mitokondride NAD<sup>+</sup> şekline oksitlenmesi engellenir ve hücre piruvatı laktata çevirir. Piruvat, LDH enziminin kataliziyle laktata dönüşür. Bu tepkime şöyledir:



Piruvatın laktata ve etanole indirgenmesi sırasında NAD<sup>+</sup>'nin yeniden ortaya çıkışı anaerobik koşullarda glikolizisin sürekli işleyişini sağlar (52).

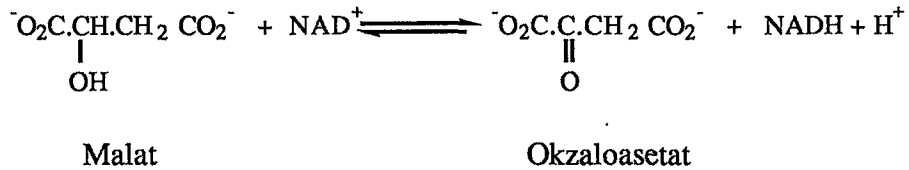
Normal koşullarda sağlıklı hücreslerin çoğunda pek az laktik asit birikimi olur. Piruvat laktata dönüşmeyip mitokondrilerde TCA döngüsünde yükseltgenir. Kısa mesafe koşusu gibi aşırı kas çalışmasına yol açan durumda solunan oksijen yetersizdir ve iskelet kası geçici olarak oksijensiz kalır. Bu durumda glukoz laktata yıkılır ve fazla miktarda laktat meydana gelir. Eritrositlerde piruvatın oksidasyonuna ait mekanizmayı içeren mitokondriler bulunmadığı için, aerobik koşullarda bile glikoliziz sonrası laktat oluşur. Eritrositler için gerekli enerjinin % 90'ı glikolizisten sağlanır. İskelet kası ve eritrositlerin yanısıra beyin, mide barsak sistemi, böbrek medullası, retina ve deriyi kapsayan diğer dokular normal olarak enerjilerinin çoğunu glikolizisten sağlarlar ve laktat oluştururlar. Karaciğer, böbrek ve kalp laktatı alarak okside eder (23, 52).

LDH parazit helmintlerin karbohidrat metabolizmasında glikoliziz sırasında oluşan pirüvatı laktata çevirir. Solunum son ürünlerinin oranı parazitin aerobik veya anaerobik ortamlarda bulunmasına bağlıdır. Bryant anaerob koşullar altındaki parazitlerde laktatın en önemli son ürün olduğunu göstermiştir (4).

### Malat Dehidrogenaz Enziminin Özellikleri ve İşlevi

MDH (L-Malat: NAD oksidoredüktaz, EC 1.1.1.37) Thunberg, Batelli ve Stern tarafından 1910 yılında bulunmuş, daha sonra Straub bu enzimi domuz kalbinden saflaştırmıştır. MDH hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda bulunur. Enzimin sitoplazmada bulunan şekli sitoplazmik MDH (s MDH), mitokondride bulunan şekli mitokondriyal MDH (m MDH) olarak adlandırılır. Her iki tip MDH farklı genler tarafından kontrol edilir ve farklı fiziksel, katalitik özellikler gösterir (52).

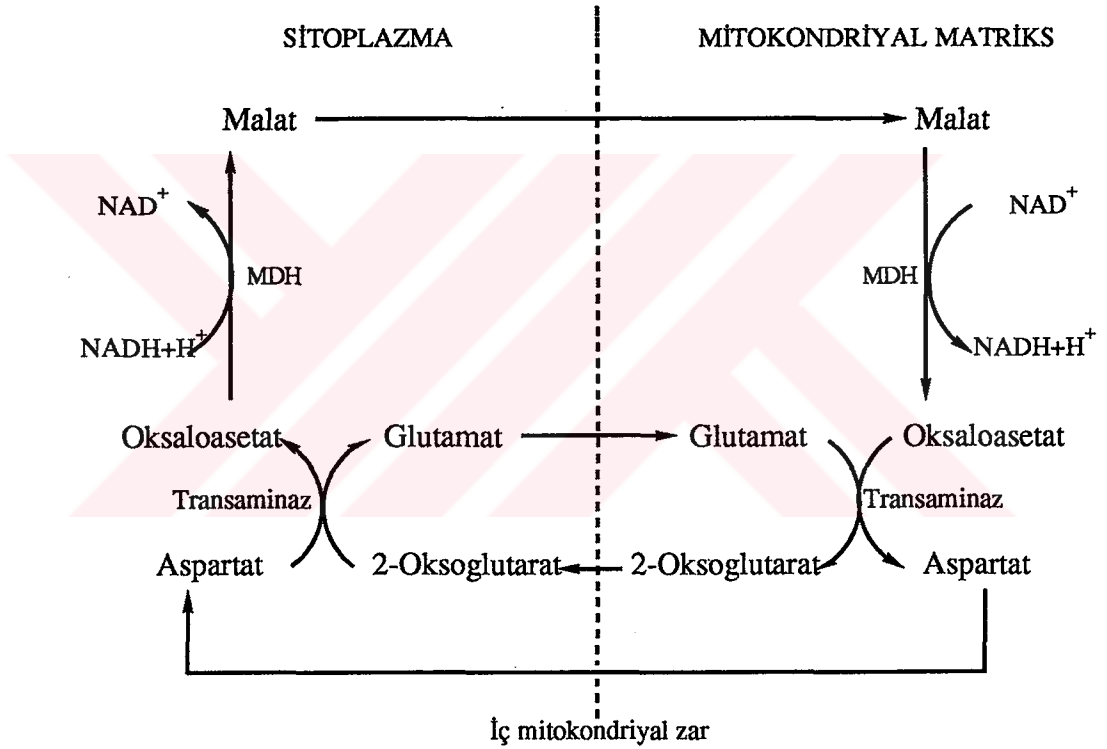
MDH memeli hücrelerinde karbohidrat katabolizmasının önemli bir enzimidir. Bu enzim şu tepkimeyi katalizler;



MDH ayrıca, sitoplazmada glikoliziz sırasında oluşan NADH+H<sup>+</sup>ların mitokondriye taşınmasını sağlayan malat-aspartat mekik sisteminde görev yapar. Bu

taşıma sistemi karaciğer, böbrek ve kalp mitokondrisinde bulunur. Malat-aspartat mekik sistemi şekil 4'de verilmiştir .

Helminlerin mitokondrisi omurgaluların mitokondrisi gibi NADH'a geçirgen değildir. Bu özelliğin mitokondrinin iç zarında bulunduğu görülür. Parazit helmintlerin aktif bir gliserol-fosfat mekik sistemine sahip oldukları düşünülmüştür. Çünkü, *A. lumbricoides*, *M. expansa*, *H. diminuta* ve *T. taeniaeformis*'den izole edilen mitokondriyle, gliserol-3-fosfat kolaylıkla okside edilmiştir. Malat-aspartat mekik sistemi ise, daha kompleksdir. Bu mekik sisteminin enzimlerinin de helmintlerde saptanmış olmasına rağmen, işlerliği konusunda bir bilgi yoktur (5).



Şekil 4 : Malat-aspartat mekik sistemi (5).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Kullanılan Araç ve Gereçler

Derin Dondurucu (-20 °C)

Buzdolabı

Terazi

Braun Peter Elwehjen doku homojenizatörü

J2-21 Beckman santrifüj, JA- 20 başlık

Fisher Sonikatör Model 300

Sichimatsu UV-VIS spektrofotometre

Damıtık su elde etme aleti

Pipet, mikropipet

Balon joje, mezür, erlenmayer

### Kullanılan Kimyasal Maddeler

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, sukroz, EDTA, NaNO<sub>2</sub>, Comassie Brilliant Blue G250 [C.I.Nr.42655] ve perklorik asit (Merck)

Sığır serum albumin, okzaloasetat, NADH, piruvat (Sigma)

Piperazin, albendazol, niklozamid (Atabay)

Albendazol karbamat yapısında bir kimyasal madde olduğu için hiçbir çözücüde çözülememiş ve deneylerde saf halde kullanılamamıştır. Bunun yerine Atabay firmasının çıkardığı ve tenya için antihelmintik olarak kullanılmakta olan andazol isimli ilaç ile çalışılmıştır. Bu ilaç 20 mg mL<sup>-1</sup> albendazol içeren süspansiyon halindedir.

### *T. saginata* Halkalarının Elde Edilmesi

Deneylerde Taeniasis saginatalı kişilerin herhangi bir antihelmintik kullanmadan önce düşürmüş olduğu *Taenia* halkaları kullanıldı. Bu halkaların vücut dışına çıkarılabilmemesi için laboratuvarımıza ulaştırılması sağlandı. Halkalar önce Ringer çözeltisi ile yıkanarak dışkı artıkları giderildi. Daha sonra bu halkaların *Taenia saginata*'ya ait olduğu saptanarak, çalışma gününe kadar -20 °C'ta saklandı (53).

## Sitozol ve Mitokondrinin Elde Edilmesi

### Kullanılan Çözeltiler

EDTA (0.005 M) içeren sukroz çözeltisi (0.24 M, pH:7.4)

### Deneyin Yapılışı

EDTA'lı sukroz çözeltisinin 10 mL'sinde 1g *Taenia* halkalarının homojenizasyonu ile elde edilen homojenat, santrifüjde 110 g'de +4 °C'ta 10 dk santrifüj edildi. Hücre parçacıklarını içeren çökelek atıldı ve üstteki sıvı kısım 6750 g'de 30 dk santrifüj edildikten sonra, elde edilen dökelti sitozol olarak kullanılmak üzere -20°C'ta saklandı. Mitokondri içeren çökelek sukroz çözeltisi ile elle homojenize edildi. Sonikatörde 3 kere 15 saniye süren sonikasyon yapıldı ve çalışmada kullanılmak üzere -20°C'ta saklandı (53).

## Toplam Protein Analizi

### Kullanılan Çözeltiler

60 mg Comassie brillant blue (CB) içeren % 3'lük perklorik asit Albumin çözeltileri

### Deneyin Yapılışı

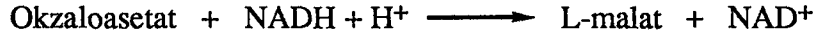
Değişik derişimlerde albümin çözeltileri hazırlandı. 1 mL CB ile 1 mL albümin karıştırılarak 595 nm'de spektrofotometrede soğurum ölçüldü. Aynı işlemler mitokondri ve sitozol örneklerine de uygulandı. Protein düzeyleri standart çalışma eğrisi yardımıyla saptandı (54).

## Mitokondri ve Sitozol İle Albendazol, Nikozamid ve Piperazinin Etkileşimlerinin Spektrofotometrik Olarak İncelenmesi ve Fark Spektrumları

Mitokondri ve sitozol proteinlerine albendazol, niklozamid ve piperazinin etkisinin araştırılması amacıyla; mitokondriyal ortamın 50 mL'si 3 mL fosfat tampon içinde albendazol ve piperazin çözeltileriyle, aynı miktardaki sitozol ise, niklozamid çözeltisiyle etkileştirildi ve spektrofotometrede 200-600 nm dalga boyları arasında fark spektrumları alındı.

## Malat Dehidrogenaz (MDH) Aktivitesinin Saptanması

MDH aktivitesinin saptanmasında kullanılan yöntem; okzaloasetatın malata enzimatik olarak çevrilmesi sırasında oksitlenen NADH'ın 340 nm dalga boyunda azalan soğurumunun spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır (55).



### Deneylerde Kullanılan Stok Çözeltiler

1. 0.1 M'lık fosfat tampon (pH=7.5)
2. 15 mM'lık okzaloasetat çözeltisi (deney sırasında hazırlandı)
3. 12 mM'lık NADH (deney sırasında hazırlandı)

### Deney Karışımı

Fosfat tampon	2875 $\mu\text{L}$
Okzaloasetat	50 $\mu\text{L}$
NADH	25 $\mu\text{L}$
Enzim	50 $\mu\text{L}$

Enzim kaynağı olarak mitokondri fraksiyonu, substrat olarak oksaloasetatın 0.004 mM, 0.008 mM, 0.016 mM, 0.031 mM, 0.062 mM, 0.125 mM, 0.250 mM'lık çözeltileri kullanıldı. Deneylerde 25 °C' ta 3 dakika süreyle soğurum değişimi kaydedildi.

### Özgül Aktivitenin Saptanması:

Başlangıç hızının doğrusal kesiminden dakikadaki soğurum değişimi  $\Delta A$  bulunarak aşağıdaki eşitlikten enzimin özgül aktivitesi saptandı (55) .

$$\text{Özgül Aktivite} = \frac{V_t}{\epsilon \times d \times V_e \times C_p} \times \frac{\Delta A}{\Delta t}$$

$V_t$  = Toplam hacim (mL)

$V_e$  = Enzim hacmi (mL)

$d$  = Küvet kalınlığı (cm)

$C_p$  = Protein derişimi ( $\text{mg mL}^{-1}$ )

$\epsilon$  = NADH'in molar soğurum katsayısı =  $6.22 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$

Bulunan bu aktiviteler tepkime hızı (V) olarak kabul edildi. Substrat derişimleri (S), tepkime hızları (V) ve bunların tersleri olan  $1/S$  ,  $1/V$  değerleri bulundu.

### **MDH-Niklozamid Etkileşiminin İncelenmesi**

#### **Zamanın Etkisi**

Mitokondri ile 0.127 mM'lık niklozamid çözeltisi karıştırılarak 25 °C'ta 5, 10, 15, 20 dk süreyle etkileştirildi. Farklı sürelerde etkileştirilen bu karışımlara 0.250 mM'lık okzaloasetat substrat olarak eklendi. Spektrofotometrede 340 nm'de soğurumları 3 dk süre içersinde ölçüldü. Enzim aktiviteleri daha önce anlatıldığı şekilde saptandı ve zamana karşı aktivite grafiklendi.

#### **Niklozamid Derişiminin Etkisi**

0.032 mM, 0.063 mM ve 0.127 mM'lık niklozamid çözeltileri mitokondri ile karıştırılıp 25 °C'ta 10 dk inkübe edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanıldı. 0.004 mM ile 0.250 mM arasındaki okzaloasetat çözeltileri kullanılarak değişik substrat derişimlerinde enzim aktivitesi yukarıdaki yöntemle göre saptandı. Özgül aktivite enzim hızı olarak alınıp, enzim hızına (V) karşı substrat derişimi ([S]) grafiklendi.  $1/V$  'ye karşı  $1/[S]$  değerleri kullanılarak Lineweaver-Burk grafiği çizildi. Buradan enzim için maksimum hız ( $V_{max}$ ) ve  $K_m$  değerleri bulundu.

### **MDH-Albendazol Etkileşiminin İncelenmesi**

#### **Zamanın Etkisi:**

0. 633 mM albendazol içeren andazol çözeltisi ile mitokondri karıştırılarak 25 °C'ta inkübe edildi; 5, 10, 15, 20 dakikalık etkileşimden sonra enzim kaynağı olarak kullanıldı. Yukarıda anlatıldığı şekilde aktivite saptandı. Zamana karşı aktivite grafiklendi.

#### **Albendazol Derişiminin Etkisi:**

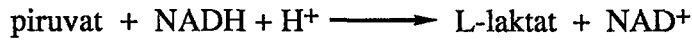
0. 158 mM, 0. 316 mM ve 0. 633 mM albendazol içeren andazol çözeltileri mitokondri ile karıştırılıp 25 °C'ta 10 dk inkübe edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanıldı. 0.004 mM ile 0.250 mM arasındaki okzaloasetat çözeltileri kullanılarak değişik substrat derişimlerinde enzim aktivitesi yukarıdaki yöntemle göre saptandı. Özgül aktivite enzim hızı olarak alınıp, enzim hızına (V) karşı substrat



derişimi ([S]) grafiklendi. 1/V'ye karşı 1/[S] değerleri kullanılarak Lineweaver-Burk grafiği çizildi. Buradan enzim için Vmax ve Km değerleri bulundu.

### Laktat Dehidrogenaz (LDH) Aktivitesinin Saptanması

LDH aktivitesinin saptanmasında kullanılan yöntem; piruvatın enzimatik olarak L-laktata dönüşümü sırasında oksitlenen NADH'ın 340 nm dalga boyundaki azalan soğurumunun spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır (55).



#### Deneylerde Kullanılan Stok Çözeltiler:

1. 0.1M fosfat tampon (pH=7.0)
2. 23 mM sodyum piruvat çözeltisi (deney sırasında hazırlandı)
3. 12 mM NADH çözeltisi (deney sırasında hazırlandı)

#### Deney Karışımı:

Fosfat tampon	2875 µL
Piruvat	50 µL
NADH	25 µL
Enzim	50 µL

Enzim kaynağı olarak tenya sitozolü, substrat olarak da 0.012 mM, 0.024 mM, 0.048 mM, 0.095 mM, 0.190 mM, 0.380 mM piruvat çözeltileri kullanıldı. Deneylerde 25 °C' ta 3 dakika süreyle soğurum değişimi kaydedildi.

#### Özgül Aktivitenin Saptanması:

Başlangıç hızının doğrusal kesiminden dakikadaki soğurum değişimi  $\Delta A$  bulunarak aşağıdaki eşitlikten enzimin özgül aktivitesi saptandı (55).

$$\text{Özgül Aktivite} = \frac{V_t}{\epsilon \times d \times V_e \times C_p} \times \frac{\Delta A}{\Delta t}$$

$V_t$  = Toplam hacim (mL)

$V_e$  = Enzim hacmi (mL)

$d$  = Küvet kalınlığı (cm)

$C_p$  = Protein derişimi ( $\text{mg mL}^{-1}$ )

$\epsilon$  = NADH'in molar soğurum katsayısı =  $6.22 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$

Bulunan bu aktiviteler tepkime hızı (V) olarak kabul edildi. Substrat derişimleri (S), tepkime hızları (V) ve bunların tersleri alınarak  $1/S$ ,  $1/V$  değerleri bulundu.

## LDH-Niklozamid Etkileşiminin İncelenmesi

### Zamanın Etkisi

0.127 mM niklozamid çözeltisi ile sitozol karıştırılarak  $25^\circ\text{C}$ 'ta 5, 10, 15, 20 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda bu karışımların her birine substrat olarak 0.380 mM'lık piruvatın bulunduğu deney karışımı eklendi. Yukarıda anlatıldığı şekilde aktiviteler saptandı ve zamana karşı grafikleildi.

### Niklozamid Derişiminin Etkisi

0.032 mM, 0.063 mM ve 0.127 mM niklozamid çözeltileri sitozol ile karıştırılarak  $25^\circ\text{C}$ 'ta 10 dk inkübe edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanıldı. Farklı derişimlerdeki bu enzim kaynağı bulunan çözeltilere 0.012 mM, 0.024 mM, 0.048 mM, 0.095 mM, 0.190 mM, 0.380 mM piruvat çözeltileri kullanılarak değişik substrat derişimlerinde enzim aktivitesi yukarıdaki yöntemle göre saptandı. Özgül aktivite enzim hızı olarak alınıp, enzim hızına (V) karşı substrat derişimi ([S]) grafikleildi.  $1/V$  'ye karşı  $1/[S]$  değerleri kullanılarak Lineweaver-Burk grafiği çizildi. Buradan enzim için maksimum hız  $V_{\text{max}}$  değerleri bulundu.

## LDH-Albendazol Etkileşiminin İncelenmesi

### Zamanın Etkisi

0.633 mM albendazol içeren andazol çözeltisi ile sitozol karıştırılarak  $25^\circ\text{C}$ 'ta inkübe edildi; 5, 10, 15, 20 dakikalık etkileşimden sonra enzim kaynağı olarak kullanıldı. Yukarıda anlatıldığı şekilde aktivite saptandı. Zamana karşı aktivite grafikleildi.

### **Albendazol Derişiminin Etkisi:**

0.158 mM, 0.316 mM ve 0.633 mM albendazol içeren andazol çözeltileri sitozol ile karıştırılıp 25 °C'ta 10 dk inkübe edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanıldı. 0.012 mM ile 0.380 mM arasındaki piruvat çözeltileri kullanılarak değişik substrat derişimlerinde enzim aktivitesi yukarıdaki yöntemle göre saptandı. Özgül aktivite enzim hızı olarak alınıp, enzim hızına (V) karşı substrat derişimi ([S]) grafiklendi.  $1/V$  'ye karşı  $1/[S]$  değerleri kullanılarak Lineweaver-Burk grafiği çizildi. Buradan enzim için maksimum hız  $V_{max}$  değerleri bulundu.

### **LDH ve MDH İle Piperazinin Etkileşimi**

Değişik derişimlerde piperazin (3 mM ve 12 mM ve 22 mM) ile sitozol ve mitokondri etkileştirilerek yukarıdaki deney karışımlarında LDH ve MDH aktivitesi hesaplandı.

### **Hesaplamalar**

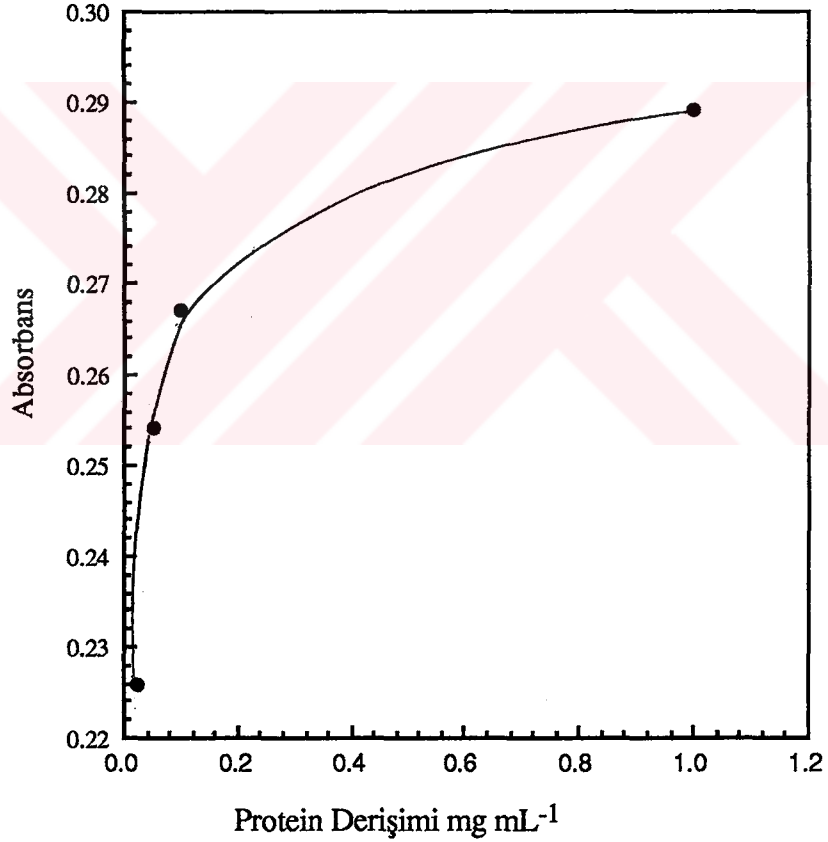
Hesaplamalar Gwbasic programlama dili ile hazırlanan özel bir bilgisayar programıyla yapıldı (56).

## BULGULAR

Çalışmamızda, *T. saginata*'nın MDH ve LDH gibi önemli iki enzime sahip olup olmadığını ve niklozamid, albendazol, piperazin gibi antihelmintiklerin bu enzimler üzerindeki etkilerini araştırdık. Çalışmada elde ettiğimiz bulgular ayrı başlıklar altında aşağıda verilmiştir.

### Toplam Protein Analizi

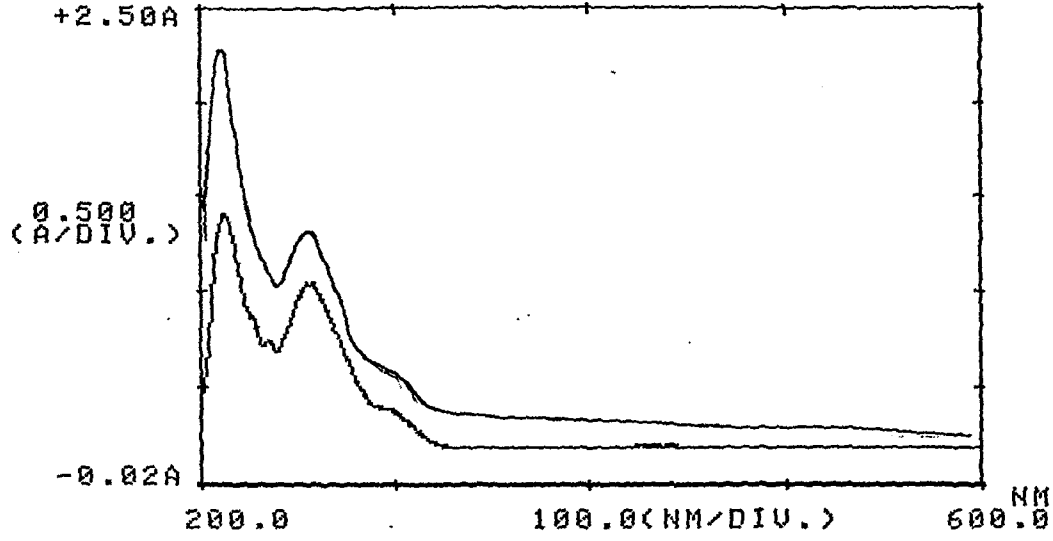
Değişik derişimlerdeki albümin çözeltilerinin absorbans değişimini gösteren standart çalışma eğrisi Şekil 5'te verildi. Mitokondri ve sitozol protein düzeyleri bu standart çalışma eğrisi yardımıyla saptandı.



Şekil 5 : Protein derişimi için standart çalışma eğrisi

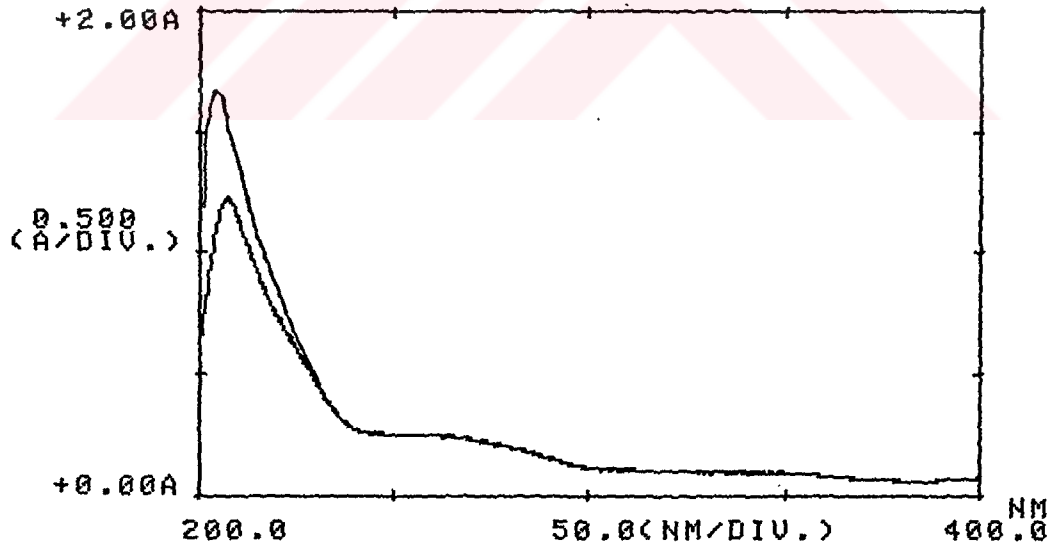
### Mitokondri ve Sitozol İle Albendazol, Niklozamid ve Piperazinin Etkileşiminin Spektrofotometrik Olarak İncelenmesi ve Fark Spektrumları

Mitokondri albendazol etkileşimine ait fark spektrumu Şekil 6'da, sitozol niklozamid etkileşimine ait fark spektrumu Şekil 7'de ve mitokondri piperazin etkileşimine ait fark spektrumu Şekil 8'de görüldüğü gibidir.



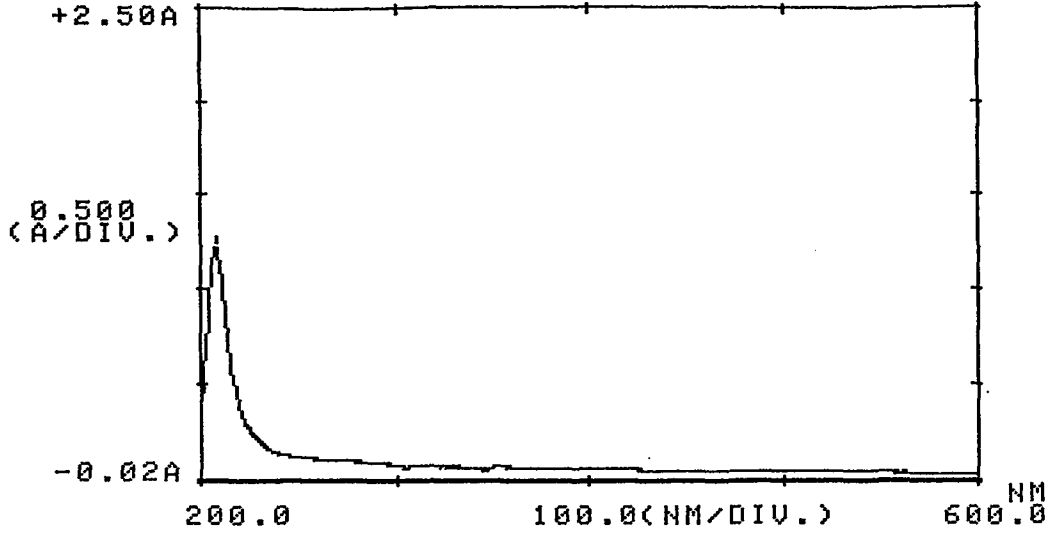
Şekil 6 : Mitokondri-albendazol etkileşiminin UV-VIS fark spektrumu

- Referans: Fosfat tampon ;  
Örnek : Fosfat tampon + 0.316 mM Albendazol
- - - Referans: Fosfat tampon + mitokondri ;  
Örnek : Fosfat tampon + mitokondri + 0.316 mM Albendazol



Şekil 7 : Sitosol-niklozamid etkileşiminin UV-VIS fark spektrumu

- Referans: Fosfat tampon ;  
Örnek : Fosfat tampon +sitosol
- - - Referans: Fosfat tampon + 0.127 mM niklozamid ;  
Örnek : Fosfat tampon + 0.127 mM niklozamid + sitozol



Şekil 8 : Mitokondri-piperazin etkileşiminin UV-VIS fark spektrumu

- Referans: Fosfat tampon ;
- Örnek : Fosfat tampon + piperazin
- Referans: Fosfat tampon + mitokondri;
- Örnek : Fosfat tampon + mitokondri + piperazin

### Malat Dehidrogenaz (MDH) Aktivitesinin Saptanması

MDH aktivitesinin saptanması ve bu enzim üzerine niklozamid ve albendazolün etkilerinin araştırılması için yapılan çalışmalarda enzim kaynağı olarak Taenia mitokondrisi, substrat olarak 0.004 mM, 0.008 mM, 0.016 mM, 0.031mM, 0.062 mM, 0.125 mM, 0.250 mM okzaloasetat çözeltileri kullanıldı. Değişik sürelerde absorbans değerleri ölçüldü ve değişik substrat (S) derişimlerinde ölçülen absorbans değerleri Çizelge 1'de verildi. Bu ölçümler aşağıdaki denklemde kullanılarak enzim özgül aktivitesi hesaplandı. Bulunan bu aktiviter tepkime hızı (V) olarak kabul edildi. ve substrat derişimleri (S), tepkime hızları (V) ve bunların tersleri alınarak bulunan değerler ise (1/S, 1/V) Çizelge 2'de verildi. Çizelge 2'deki veriler Lineweaver-Burk grafiğinin çiziminde kullanıldı ve bilgisayar programı ile hesaplanan enzime ait Km ve Vmax değerleri grafik üzerinde gösterildi (Şekil 9).

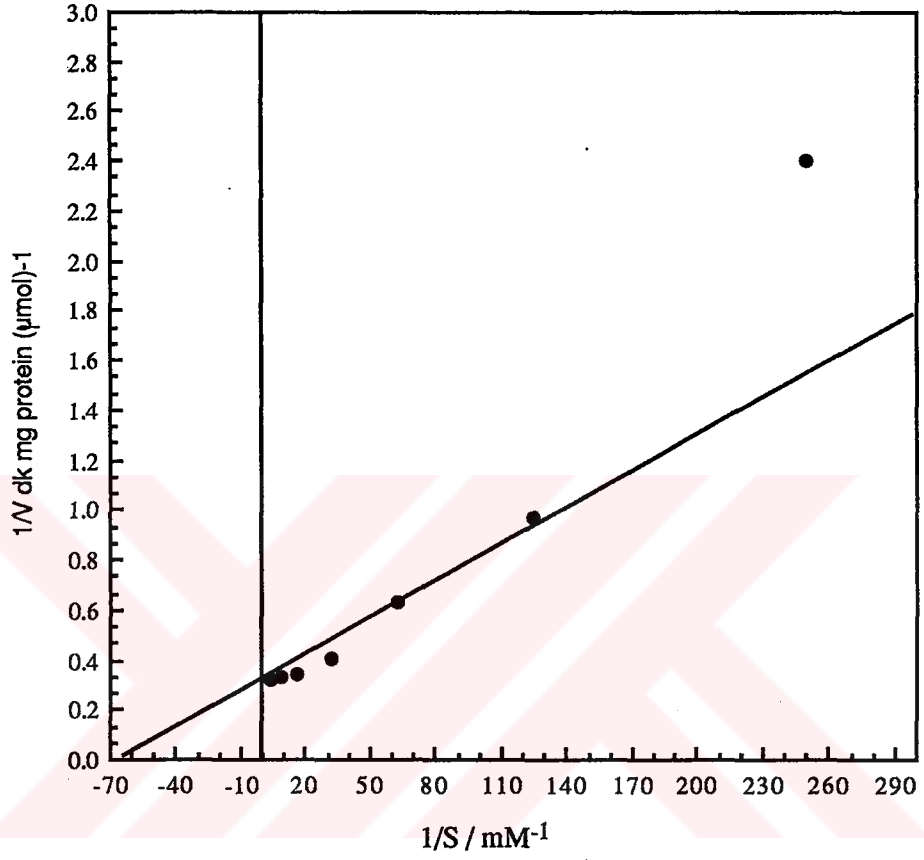
$$\text{Özgül Aktivite} = \frac{3\text{mL}}{6.22 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1} \times 1\text{cm} \times 0.05 \text{ mL} \times 0.44 \text{ mg mL}^{-1}} \times \frac{\Delta A}{1 \text{ dk}}$$

Çizelge 1 : MDH için elde edilen absorbans değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.625
	1	0.605
	2	0.587
0.008	0	0.650
	1	0.601
	2	0.556
0.016	0	0.720
	1	0.647
	2	0.574
0.031	0	0.750
	1	0.637
	2	0.528
0.062	0	0.758
	1	0.623
	2	0.494
0.125	0	0.800
	1	0.663
	2	0.526
0.250	0	0.815
	1	0.671
	2	0.533

Çizelge 2 : MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.004	250.0000	0.4165	2.4007
0.008	125.0000	1.0304	0.9705
0.016	62.5000	1.6004	0.6248
0.031	32.2581	2.4334	0.4109
0.062	16.1219	2.8938	0.3456
0.125	8.0000	3.0035	0.3329
0.250	4.0000	3.0912	0.3235



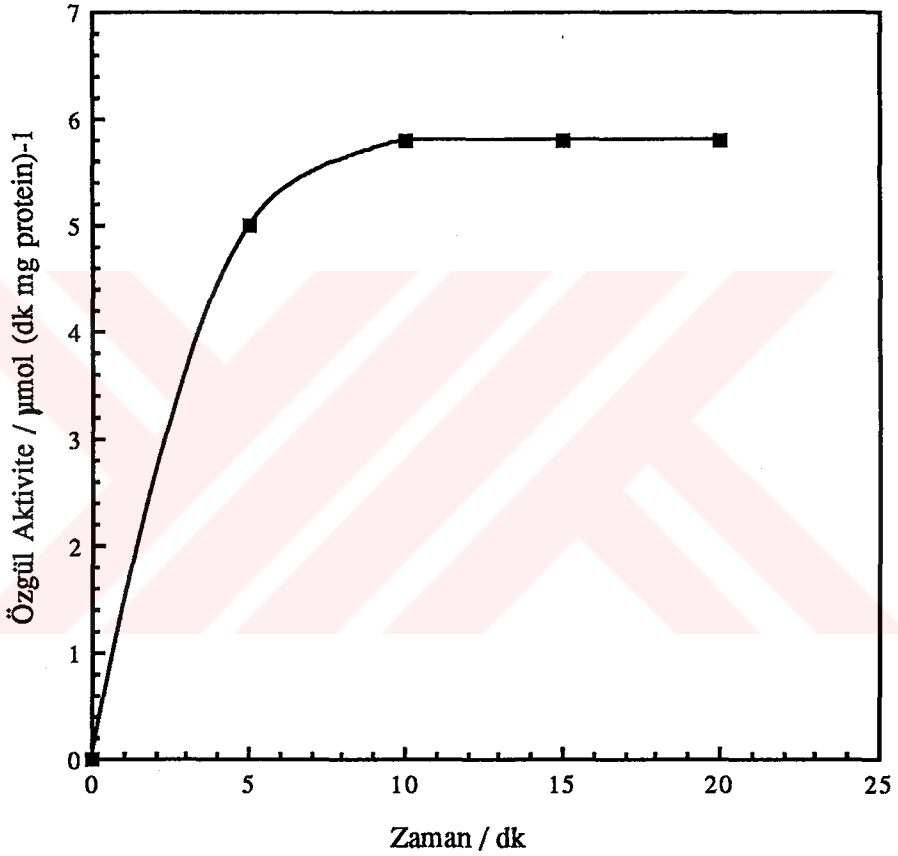
Şekil 9 : MDH için Lineweaver-Burk Grafiği

MDH için  $V_{\text{max}}$  değeri  $3.00 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $K_m$  değeri  $0.0166 \text{ mM}$  olarak bulundu.



### MDH Niklozamid Etkileşiminin İncelenmesi

**Zamanın etkisi:** Şekil 10'da 0.127 mM niklozamid çözeltisi ile mitokondrinin 25°C'taki 5, 10, 15, 20 dakikalık inkübasyonu sonrası zamana karşı aktivite sonuçları grafiklendi. Grafikte görüldüğü gibi etkileşim 10 dk içinde gerçekleştiğinden, inkübasyon süresi olarak 10 dk seçildi.



Şekil 10 : 0.127 mM niklozamidle etkileştirilen MDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi

**Niklozamid Derişiminin Etkisi:** MDH için enzim kaynağı olarak kullanılan mitokondri, 0.032 mM, 0.063 mM, 0.127 mM niklozamidle etkileştirilmiş değişik substrat derişimlerinde elde edilen absorbans değerleri ve yukarıda anlatıldığı şekilde hesaplanan tepkime hız değerleri sırasıyla aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 3- 8) verildi. Substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri grafiklendi (Şekil 11). Her bir niklozamid çözeltisi için çizilen Lineweaver-Burk grafikleri Şekil 12, 13 ve 14'de, bulunan Vmax değerleri ise, Çizelge 9'da görüldüğü gibidir.

Çizelge 3 : 0.032 mM niklozamid ile etkileşen MDH için absorbands değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.630
	1	0.610
	2	0.590
0.008	0	0.720
	1	0.667
	2	0.620
0.016	0	0.780
	1	0.680
	2	0.582
0.031	0	0.799
	1	0.662
	2	0.525
0.062	0	0.820
	1	0.662
	2	0.506
0.125	0	0.830
	1	0.660
	2	0.492
0.250	0	0.835
	1	0.665
	2	0.495

Çizelge 4 : 0.032 mM niklozamidle etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein <sup>-1</sup> (- <sup>1</sup> mol) <sup>-1</sup>
0.004	250.0000	0.4380	2.2807
0.008	125.0000	1.0960	0.9123
0.016	62.5000	2.1700	0.4607
0.031	32.2581	3.0035	0.3329
0.062	16.1219	3.4419	0.2905
0.125	8.0000	3.7050	0.2699
0.250	4.0000	3.7269	0.2683

Çizelge 5 : 0.063 mM niklozamidle etkileşen MDH için absorbands değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.600
	1	0.530
	2	0.464
0.008	0	0.650
	1	0.559
	2	0.468
0.016	0	0.680
	1	0.555
	2	0.434
0.031	0	0.756
	1	0.592
	2	0.428
0.062	0	0.760
	1	0.558
	2	0.358
0.125	0	0.765
	1	0.553
	2	0.345
0.250	0	0.780
	1	0.568
	2	0.356

Çizelge 6 : 0.063 mM niklozamidle etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

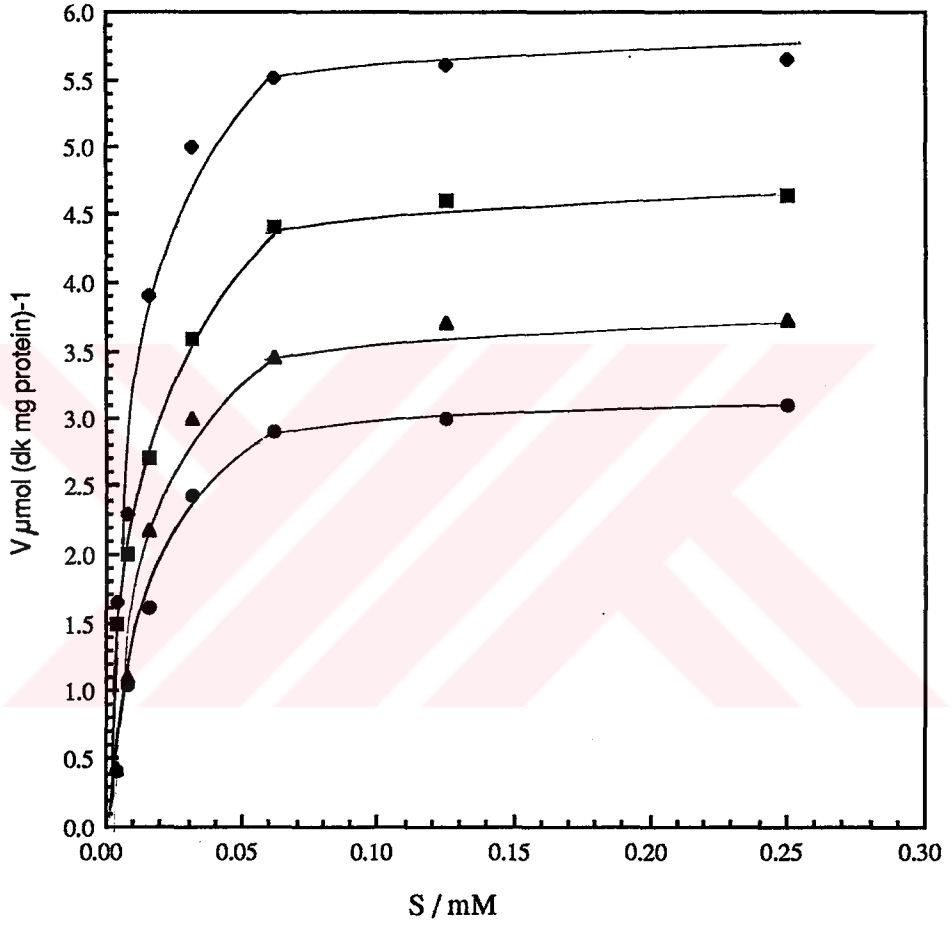
S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.004	250.0000	1.4907	0.6708
0.008	125.0000	1.9950	0.5012
0.016	62.5000	2.6965	0.3708
0.031	32.2581	3.5954	0.2781
0.062	16.1219	4.4066	0.2269
0.125	8.0000	4.6039	0.2172
0.250	4.0000	4.6477	0.2152

Çizelge 7 : 0.127 mM niklozamidle etkileşen MDH için absorbands değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.630
	1	0.555
	2	0.480
0.008	0	0.650
	1	0.543
	2	0.440
0.016	0	0.695
	1	0.515
	2	0.339
0.031	0	0.720
	1	0.637
	2	0.528
0.062	0	0.745
	1	0.492
	2	0.264
0.125	0	0.751
	1	0.494
	2	0.293
0.250	0	0.780
	1	0.522
	2	0.264

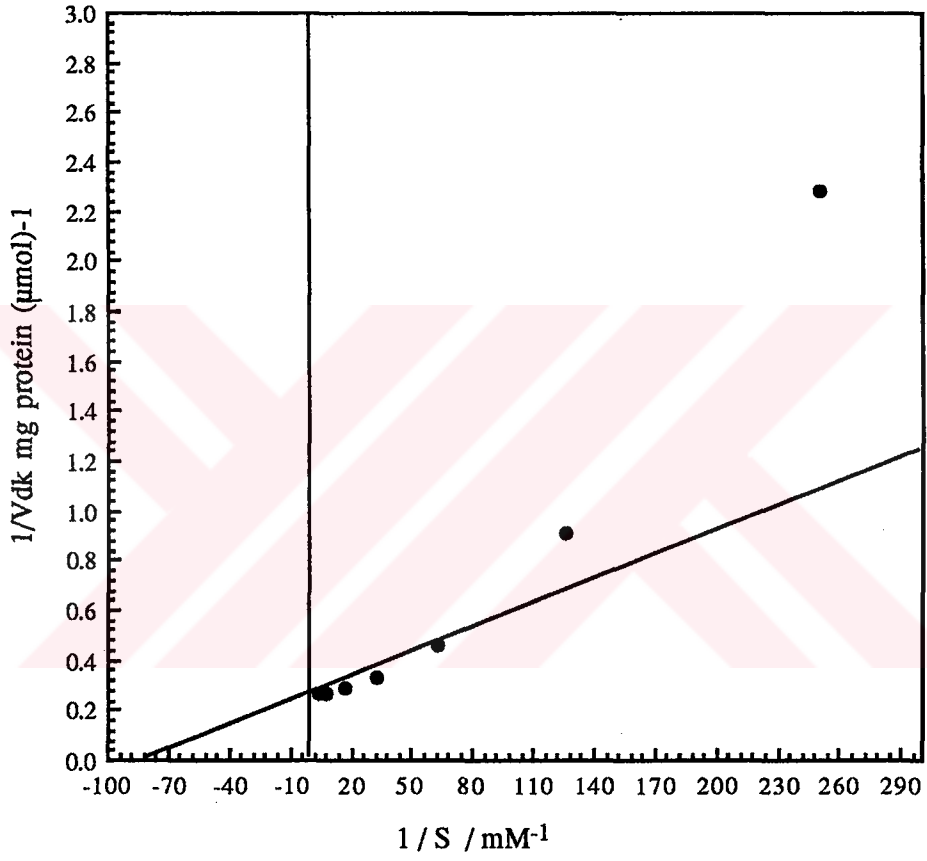
Çizelge 8 : 0.127 mM niklozamidle etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$	1/V / dk mg protein ( $\mu\text{mol})^{-1}$
0.004	250.0000	1.6442	0.6082
0.008	125.0000	2.3019	0.4344
0.016	62.5000	3.9023	0.2563
0.031	32.2581	4.9985	0.2001
0.062	16.1219	5.5027	0.1817
0.125	8.0000	5.6123	0.1782
0.250	4.0000	5.6562	0.1768

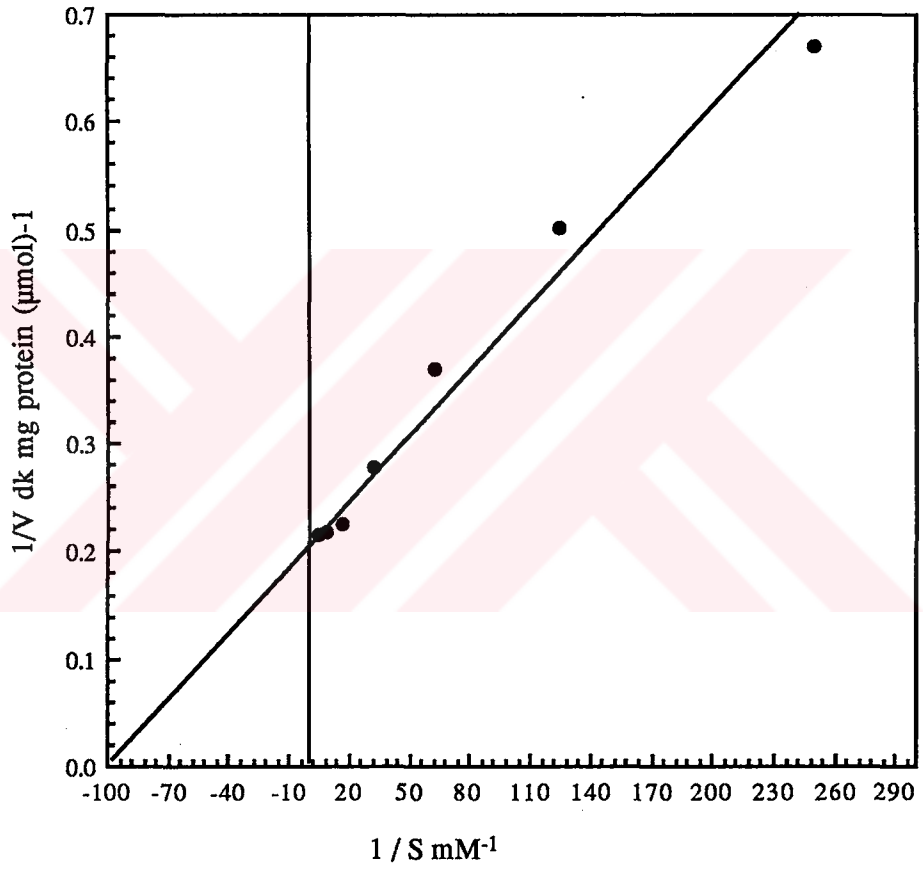


Şekil 11: MDH - Niklozamid etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri

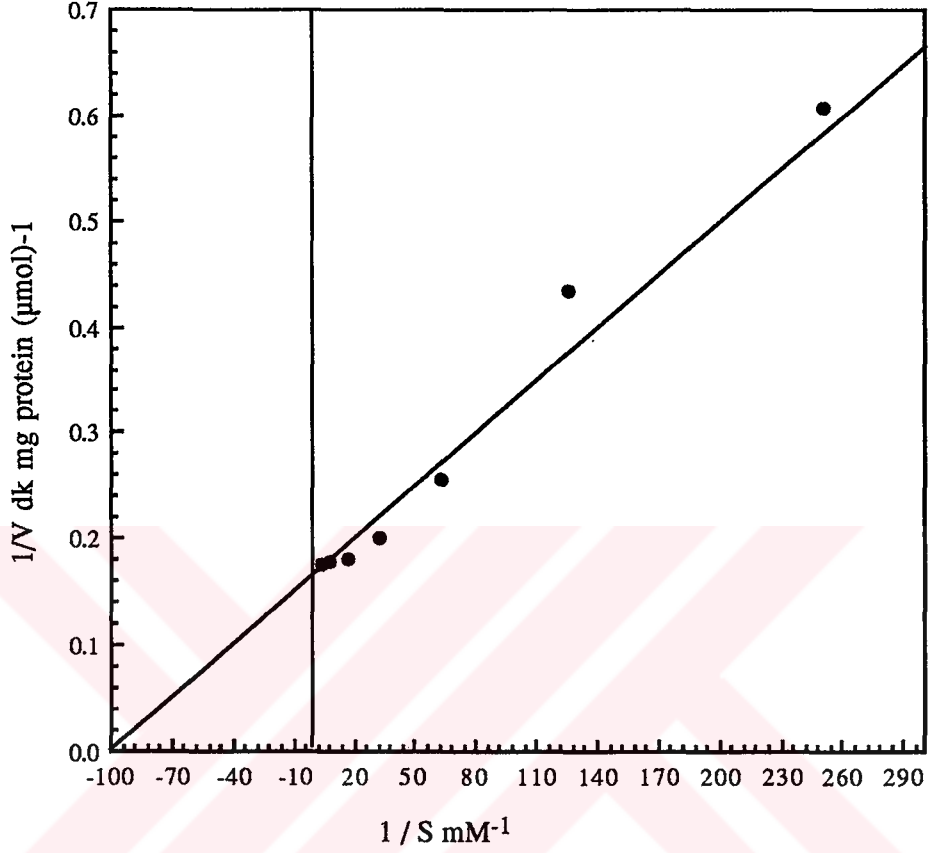
- : Enzim ; ▲ : 0.032 mM niklozamid ;
- : 0.063 mM niklozamid ; ◆ : 0.127 mM niklozamid



Şekil 12 : 0.032 mM niklozamid ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 13 : 0.063 mM niklozamid ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 14 : 0.127 mM niklozamid ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği

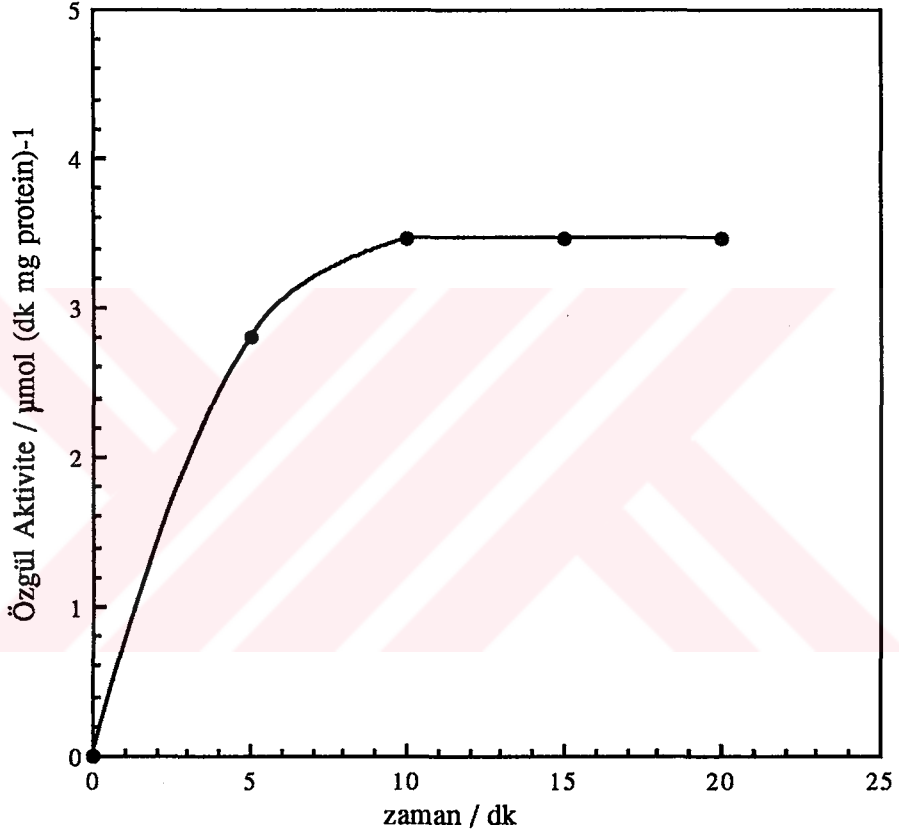
Çizelge 9 : Değişik niklozamid çözeltileri ile etkileşimde MDH için Vmax değerleri

Niklozamid Derişimi / mM	Vmax / $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$
0.000	3.00
0.032	3.70
0.063	4.60
0.127	5.80



## MDH Albendazol Etkileşiminin İncelenmesi

**Zamanın etkisi:** Şekil 15'te 0.633 mM albendazol çözeltisi ile mitokondrinin 25°C'ta 5, 10, 15, 20 dakikalık inkübasyonu sonrası zamana karşı aktivite sonuçları grafik halinde verildi. Grafikte görüldüğü gibi etkileşim 10 dk içinde gerçekleşti, bu nedenle de inkübasyon süresi olarak 10 dk seçildi.



Şekil 15 : 0.633 mM albendazol ile etkileşimde MDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi

**Albendazol Derişiminin Etkisi:** MDH için enzim kaynağı olan mitokondri 0.158 mM, 0.316 mM, 0.633 mM albendazol ile etkileştirildi, değişik substrat derişimlerinde elde edilen absorbans değerleri ve yukarıda anlatıldığı şekilde hesaplanan tepkime hız değerleri sırasıyla aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 10-15); substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri Şekil 16'da, her bir albendazol çözeltisi için çizilen Lineweaver-Burk grafikleri de Şekil 17,18,19' da verildi. Bulunan Vmax değerleri Çizelge16'da görüldüğü gibidir.

Çizelge 10 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen MDH için absorbans değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.703
	1	0.671
	2	0.639
0.008	0	0.715
	1	0.658
	2	0.605
0.016	0	0.850
	1	0.732
	2	0.622
0.031	0	0.862
	1	0.734
	2	0.606
0.062	0	0.885
	1	0.738
	2	0.601
0.125	0	0.892
	1	0.745
	2	0.600
0.250	0	0.895
	1	0.748
	2	0.601

Çizelge 11 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$	1/V / dk mg protein ( $\mu\text{mol})^{-1}$
0.004	250.0000	0.7015	1.4254
0.008	125.0000	1.2057	0.8293
0.016	62.5000	2.4992	0.5000
0.031	32.2581	2.8061	0.3564
0.062	16.1219	3.1131	0.3212
0.125	8.0000	3.2008	0.3124
0.250	4.0000	3.2227	0.3103

Çizelge 12 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen MDH için absorbans değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.725
	1	0.676
	2	0.633
0.008	0	0.768
	1	0.695
	2	0.622
0.016	0	0.825
	1	0.707
	2	0.593
0.031	0	0.850
	1	0.714
	2	0.578
0.062	0	0.920
	1	0.769
	2	0.618
0.125	0	0.925
	1	0.768
	2	0.615
0.250	0	0.932
	1	0.773
	2	0.616

Çizelge 13 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

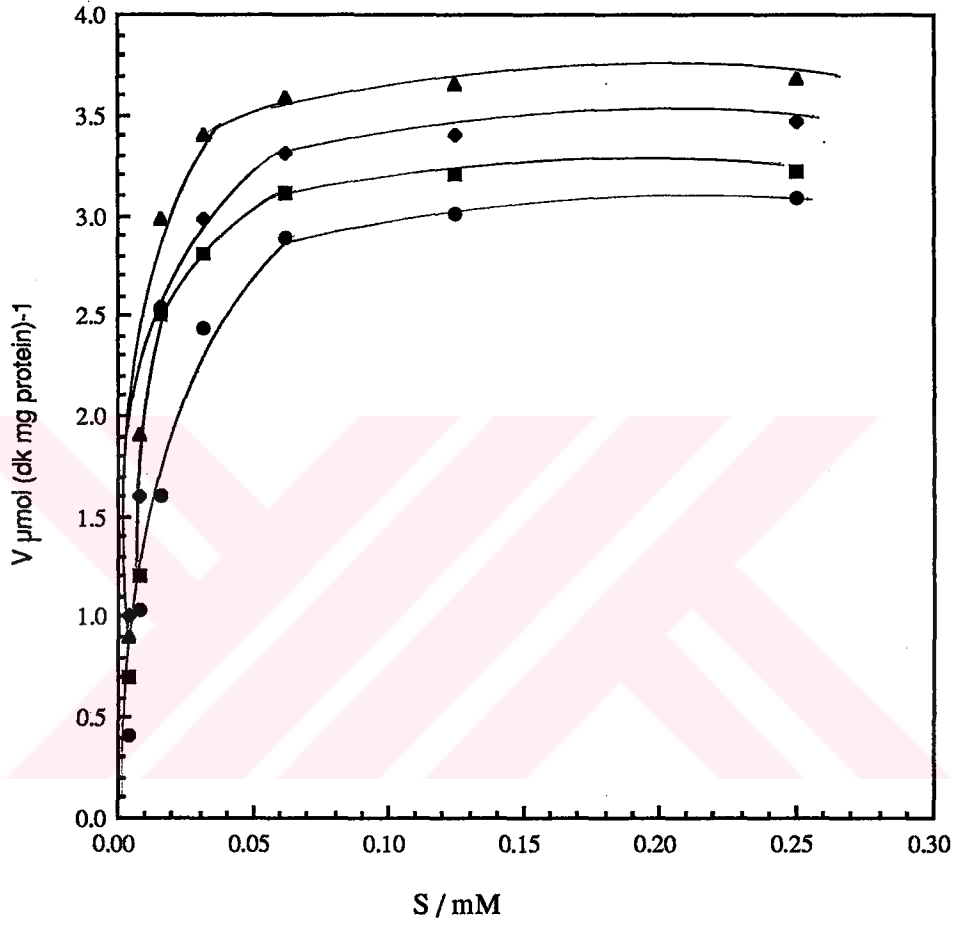
S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.004	250.0000	1.0084	0.9916
0.008	125.0000	1.6004	0.6248
0.016	62.5000	2.5431	0.3932
0.031	32.2581	2.9815	0.3354
0.062	16.1219	3.3104	0.3021
0.125	8.0000	3.3981	0.2943
0.250	4.0000	3.4639	0.2887

Çizelge 14 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen MDH için absorbans değerleri

S / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.004	0	0.712
	1	0.668
	2	0.630
0.008	0	0.812
	1	0.724
	2	0.638
0.016	0	0.928
	1	0.792
	2	0.656
0.031	0	0.931
	1	0.773
	2	0.621
0.062	0	0.982
	1	0.818
	2	0.654
0.125	0	0.992
	1	0.823
	2	0.658
0.250	0	0.991
	1	0.822
	2	0.655

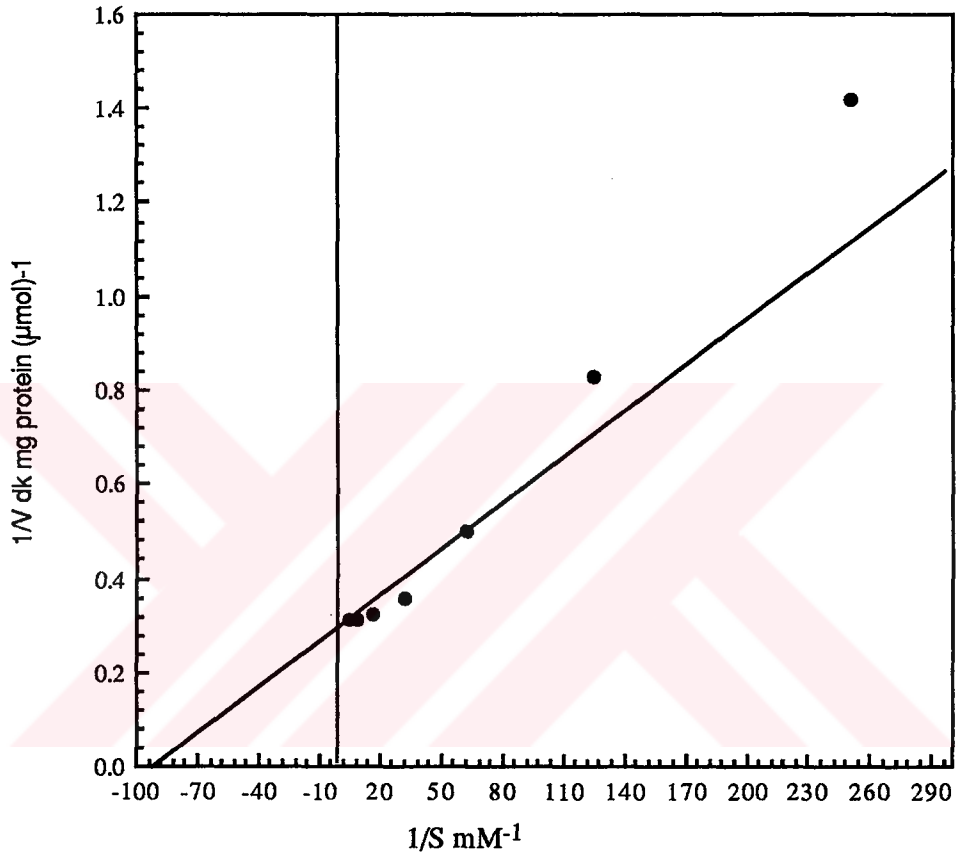
Çizelge 15 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen MDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.004	250.0000	0.8988	1.1125
0.008	125.0000	1.9073	0.5243
0.016	62.5000	2.9815	0.3354
0.031	32.2581	3.3981	0.2943
0.062	16.1219	3.5954	0.2781
0.125	8.0000	3.6612	0.2731
0.250	4.0000	3.6831	0.2715

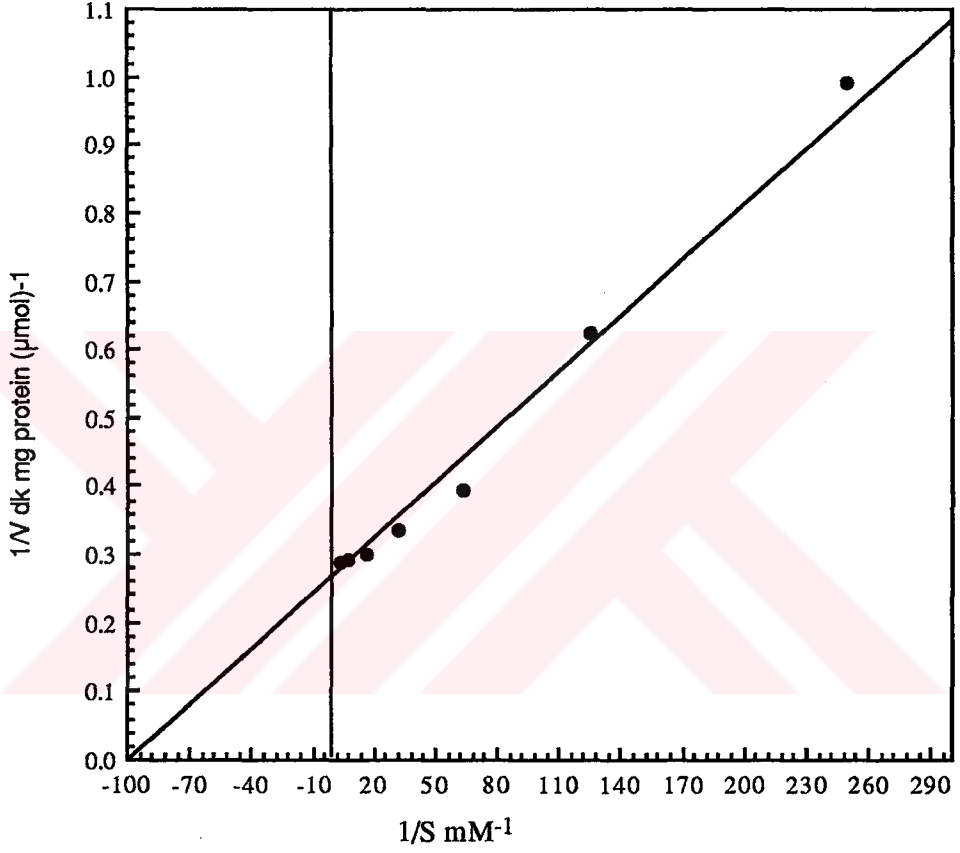


Şekil 16 : MDH - Albendazol etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri

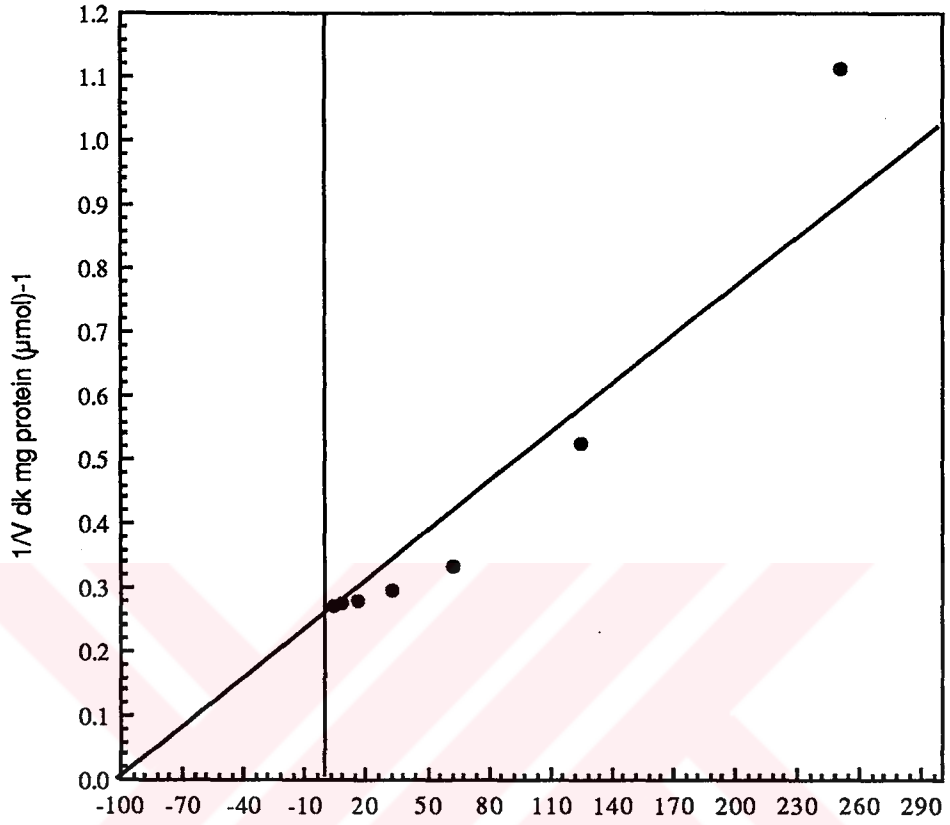
- : Enzim ; ■ : 0.158 mM albendazol ;
- ◆ : 0.316 mM albendazol ; ▲ : 0.633 mM albendazol



Şekil 17 : 0.158 mM alendazol ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 18 : 0.316 mM alendazol ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 19 : 0.633 mM albendazol ile etkileştirilen MDH için Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 16 : Değişik albendazol çözeltileri ile etkileşimde MDH için  $V_{max}$  değerleri

Albendazol Derişimi / mM	$V_{max}$ / $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$
0.000	3.00
0.158	3.30
0.316	3.45
0.633	3.46



## Laktat Dehidrogenaz (LDH) Aktivitesinin saptanması

LDH aktivitesinin saptanması ve bu enzim üzerine niklozamid ve albendazolün etkilerinin araştırılması için yapılan çalışmalarda enzim kaynağı olarak *T. saginata* sitozolü, substrat olarak 0.012 mM, 0.024 mM, 0.048 mM, 0.095 mM, 0.190 mM, 0.380 mM piruvat çözeltileri kullanıldı. Değişik sürelerde absorbans değerleri ölçüldü ve değişik substrat (S) derişimlerinde ölçülen absorbans değerleri Çizelge 17'de verildi. Bu ölçümler aşağıdaki denklemde kullanılarak enzimin özgül aktivitesi hesaplandı. Bulunan bu aktiviteler tepkime hızı (V) olarak kabul edilerek, substrat derişimleri (S), tepkime hızları (V) ve bunların tersleri alınarak bulunan değerler (1/S ve 1/V) Çizelge 18'de verildi. Çizelge 18'deki veriler Lineweaver-Burk grafiğinin çiziminde kullanıldı ve yine kullandığımız bilgisayar programı ile hesaplanan enzime ait Km ve Vmax değerleri grafik üzerinde gösterildi (Şekil 20).

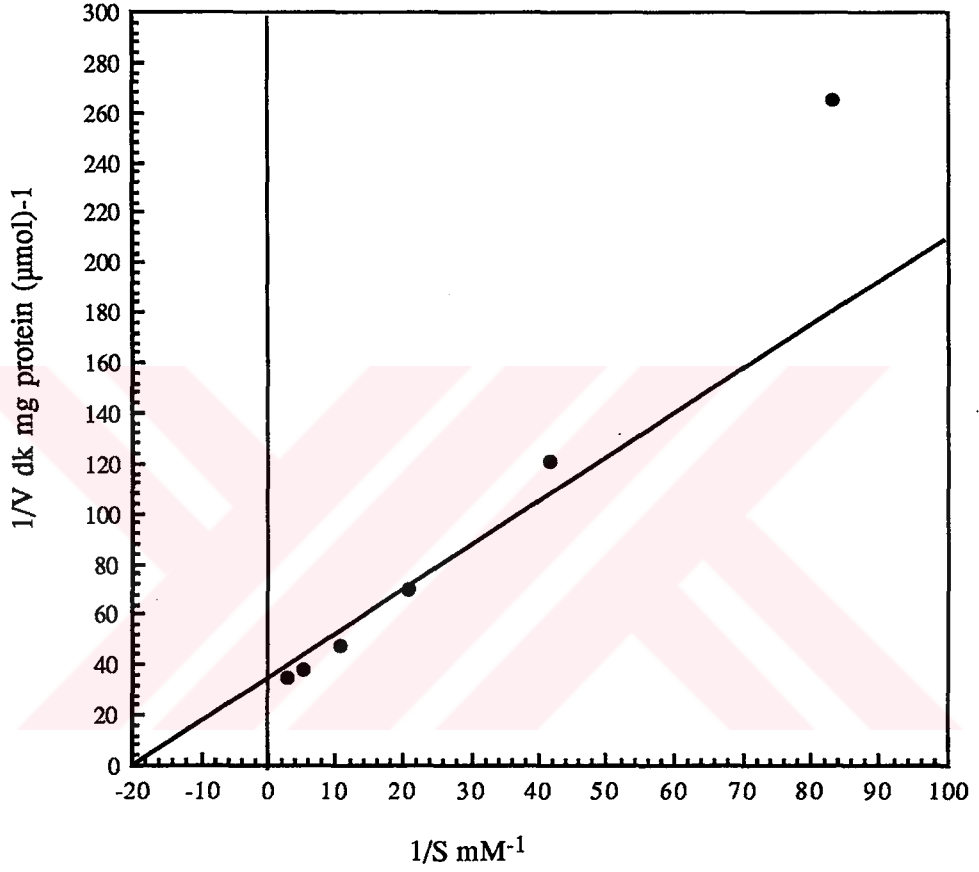
$$\text{Özgül Aktivite} = \frac{3\text{mL}}{6.22 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1} \times 1\text{cm} \times 0.05 \text{ mL} \times 12.8 \text{ mg mL}^{-1}} \times \frac{\Delta A}{1 \text{ dk}}$$

Çizelge 17 : LDH için absorbans değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.643
	1	0.637
	2	0.633
0.024	0	0.673
	1	0.662
	2	0.651
0.048	0	0.843
	1	0.823
	2	0.805
0.095	0	0.845
	1	0.817
	2	0.789
0.190	0	0.916
	1	0.789
	2	0.846
0.380	0	0.920
	1	0.881
	2	0.844

Çizelge 18 : LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S /mM <sup>-1</sup>	V / $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$	1/V / dk mg protein ( $\mu\text{mol})^{-1}$
0.012	83.33	0.0037	265.38
0.024	41.66	0.0082	120.63
0.048	20.83	0.0143	69.84
0.095	10.53	0.0211	47.84
0.190	5.26	0.0263	37.91
0.380	2.63	0.0286	34.91

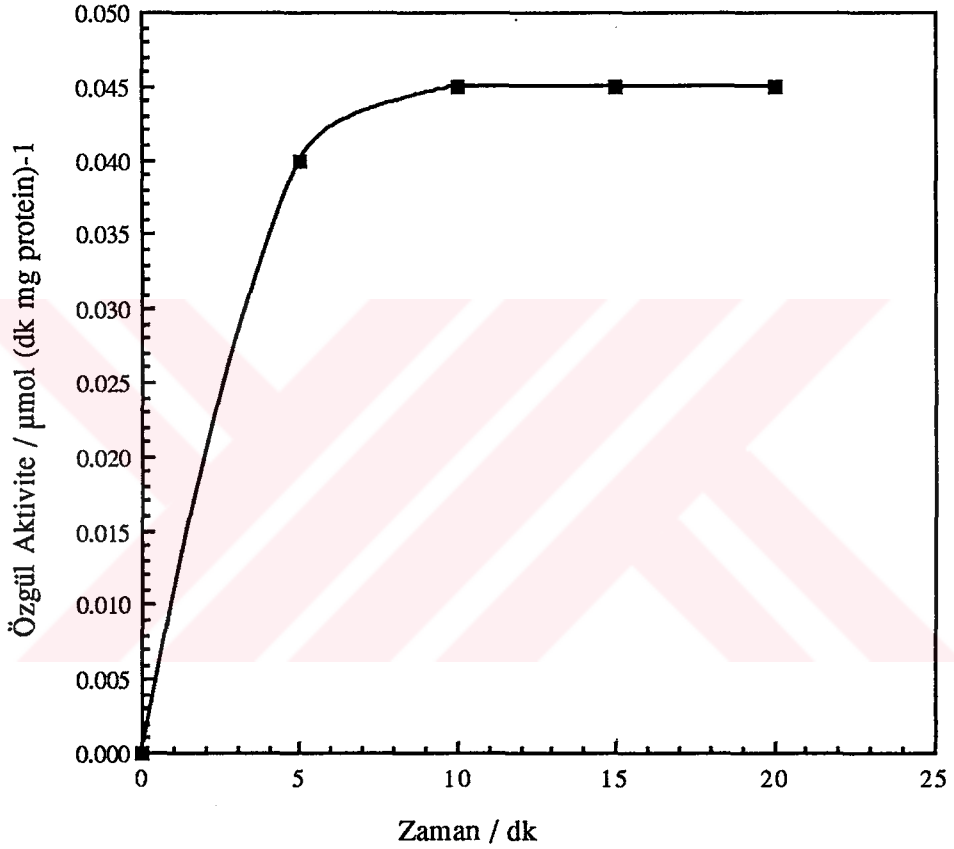


Şekil 20 : LDH için Lineweaver-Burk Grafiği

LDH için  $V_{\text{max}}$  değeri  $0.028 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $K_m$  değeri  $0.055 \text{ mM}$  olarak bulundu.

### LDH Niklozamid Etkileşiminin İncelenmesi

**Zamanın etkisi:** Şekil 21'de 0.127 mM niklozamid çözeltisi ile sitozolün 25°C'ta 5, 10, 15, 20 dakikalık inkübasyonu sonrası zamana karşı aktivite sonuçları grafik halinde verildi. Grafikte görüldüğü gibi etkileşim 10 dk içinde gerçekleştiğinden, inkübasyon süresi olarak 10 dk seçildi.



Şekil 21 : 0.127 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi

**Niklozamid Derişiminin Etkisi:** LDH için enzim kaynağı olan sitozol, 0.032 mM, 0.063 mM, 0.127 mM niklozamidle etkileştirildi; değişik substrat derişimlerinde elde edilen absorbans değerleri ve yukarıda anlatıldığı şekilde hesaplanan tepkime hız değerleri sırasıyla aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 19-24); substrat derişimlerine karşı çizilen Michaelis Menten eğrileri Şekil 22'de, her bir niklozamid için çizilen Lineweaver-Burk grafikleri ise, Şekil 23, 24 ve 25'te verildi. Bulunan Vmax değerleri Çizelge 25'tedir.

Çizelge 19 : 0.032 mM niklozamid ile etkileşen LDH için absorbands değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.685
	1	0.678
	2	0.671
0.024	0	0.692
	1	0.676
	2	0.662
0.048	0	0.700
	1	0.676
	2	0.652
0.095	0	0.712
	1	0.679
	2	0.652
0.190	0	0.720
	1	0.681
	2	0.646
0.380	0	0.732
	1	0.692
	2	0.652

Çizelge 20 : 0.032 mM niklozamid ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S /mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.012	83.33	0.0053	189.56
0.024	41.66	0.0113	88.46
0.048	20.83	0.0180	55.29
0.095	10.53	0.0226	44.23
0.190	5.26	0.0278	35.86
0.380	2.63	0.0301	33.17

Çizelge 21 : 0.063 mM niklozamid ile etkileşen LDH için absorbans değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.708
	1	0.695
	2	0.682
0.024	0	0.709
	1	0.686
	2	0.669
0.048	0	0.722
	1	0.689
	2	0.662
0.095	0	0.725
	1	0.688
	2	0.651
0.190	0	0.738
	1	0.692
	2	0.650
0.380	0	0.755
	1	0.708
	2	0.661

Çizelge 22 : 0.063 mM niklozamid ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

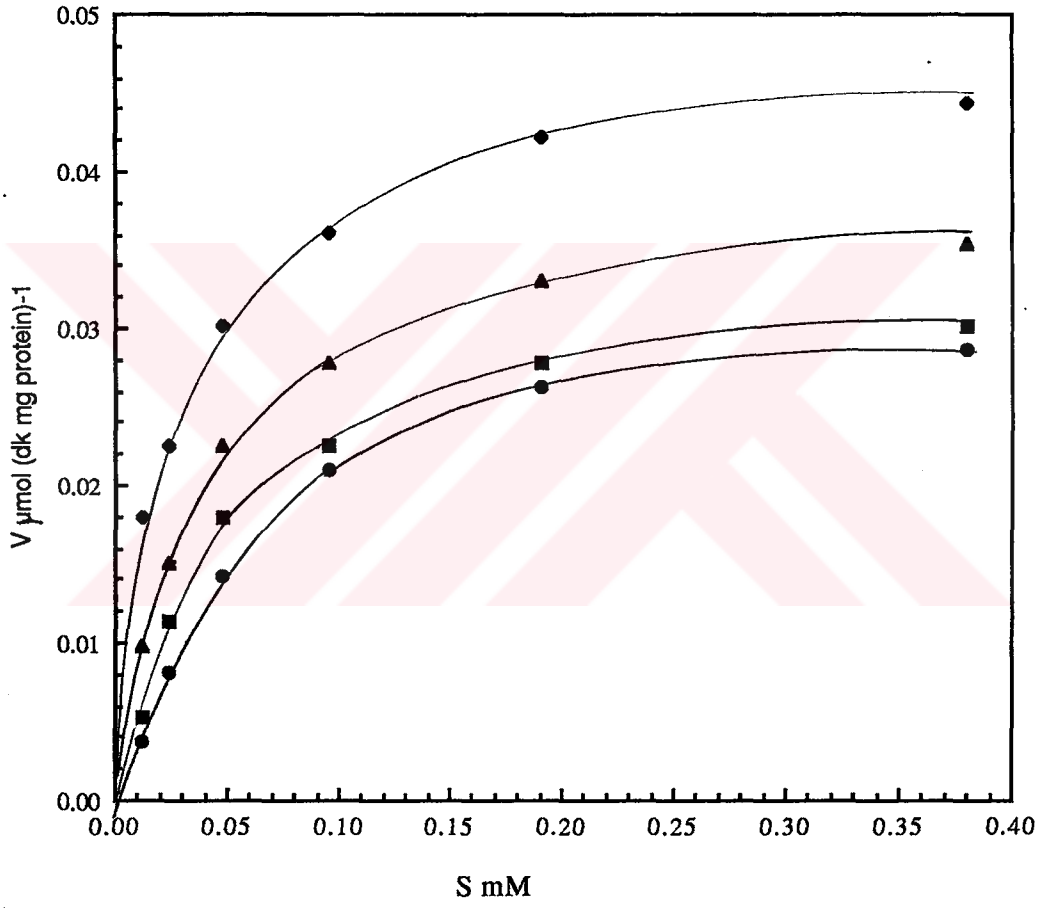
S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.012	83.33	0.0098	102.07
0.024	41.66	0.0150	66.35
0.048	20.83	0.0226	44.23
0.095	10.53	0.0278	35.86
0.190	5.26	0.0331	30.16
0.380	2.63	0.0354	28.23

Çizelge 23 : 0.127 mM niklozamid ile etkileşen LDH için absorbans değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.815
	1	0.789
	2	0.767
0.024	0	0.822
	1	0.788
	2	0.762
0.048	0	0.838
	1	0.798
	2	0.758
0.095	0	0.875
	1	0.826
	2	0.779
0.190	0	0.902
	1	0.846
	2	0.790
0.380	0	0.905
	1	0.845
	2	0.787

Çizelge 24 : 0.127 mM niklozamid ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.012	83.33	0.0180	55.29
0.024	41.66	0.0226	44.23
0.048	20.83	0.0301	33.17
0.095	10.53	0.0361	27.64
0.190	5.26	0.0422	23.69
0.380	2.63	0.0444	22.49

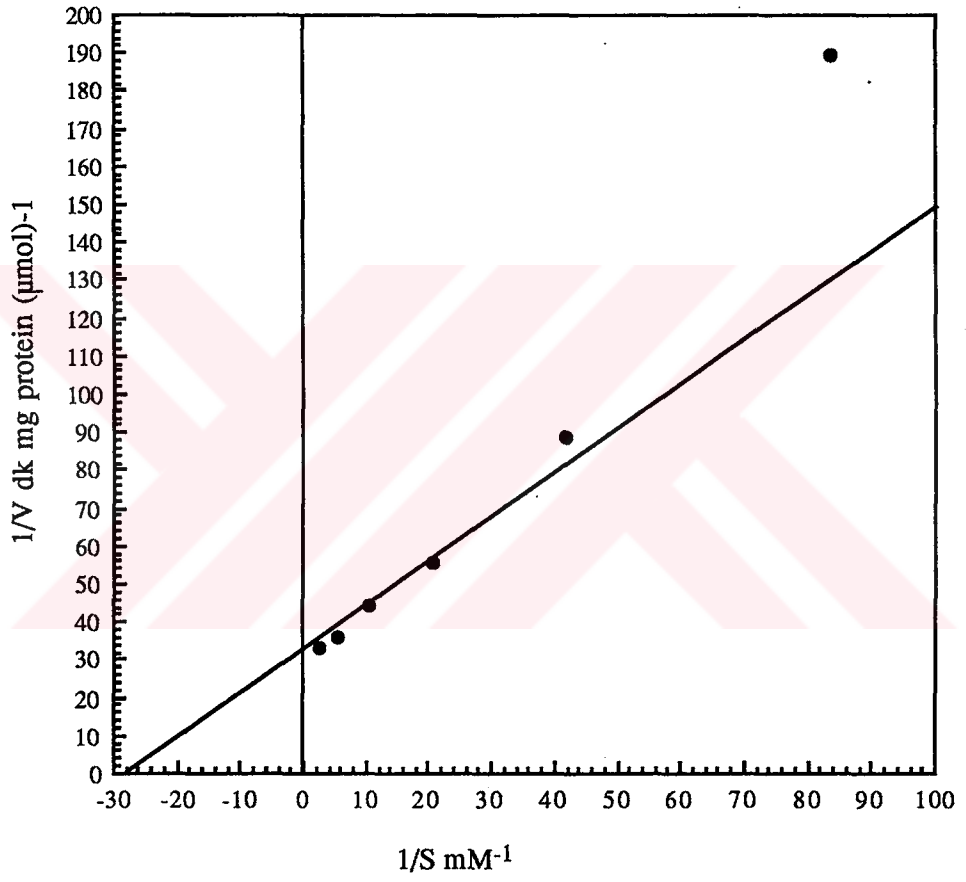


Şekil 22 : LDH - Niklozamid etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri

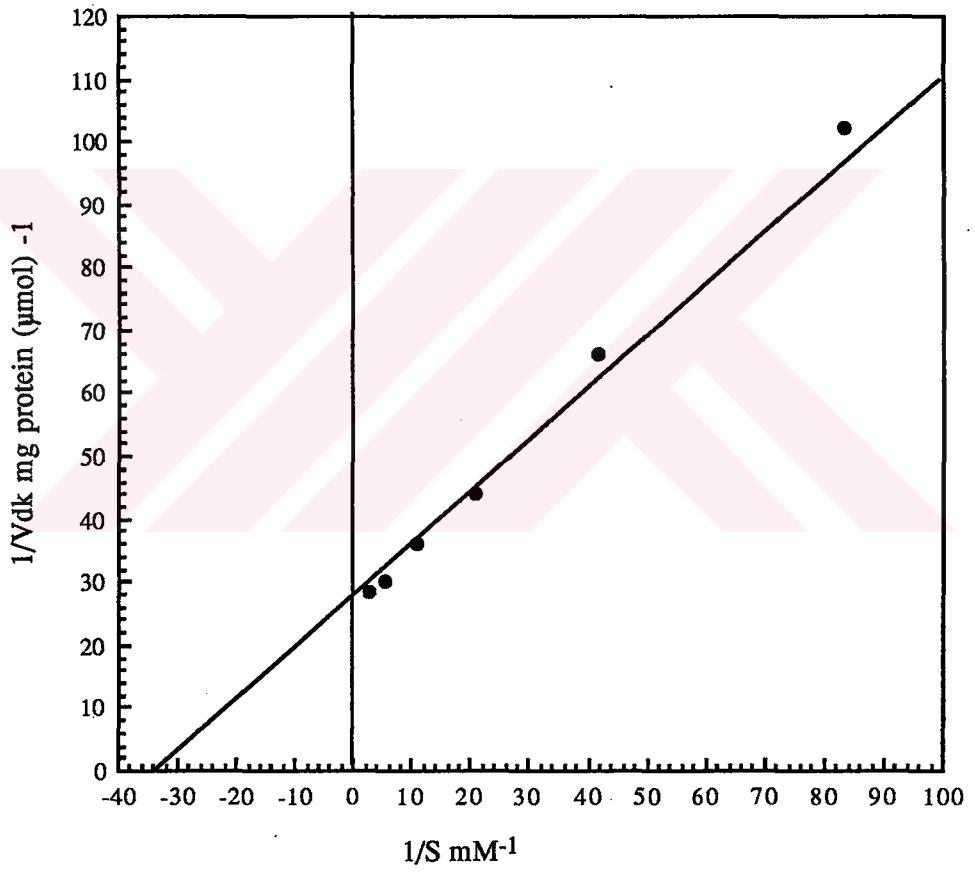
● : Enzim ; ■ : 0.032 mM niklozamid ;

▲ : 0.063 mM niklozamid ; ◆ : 0.127 mM niklozamid

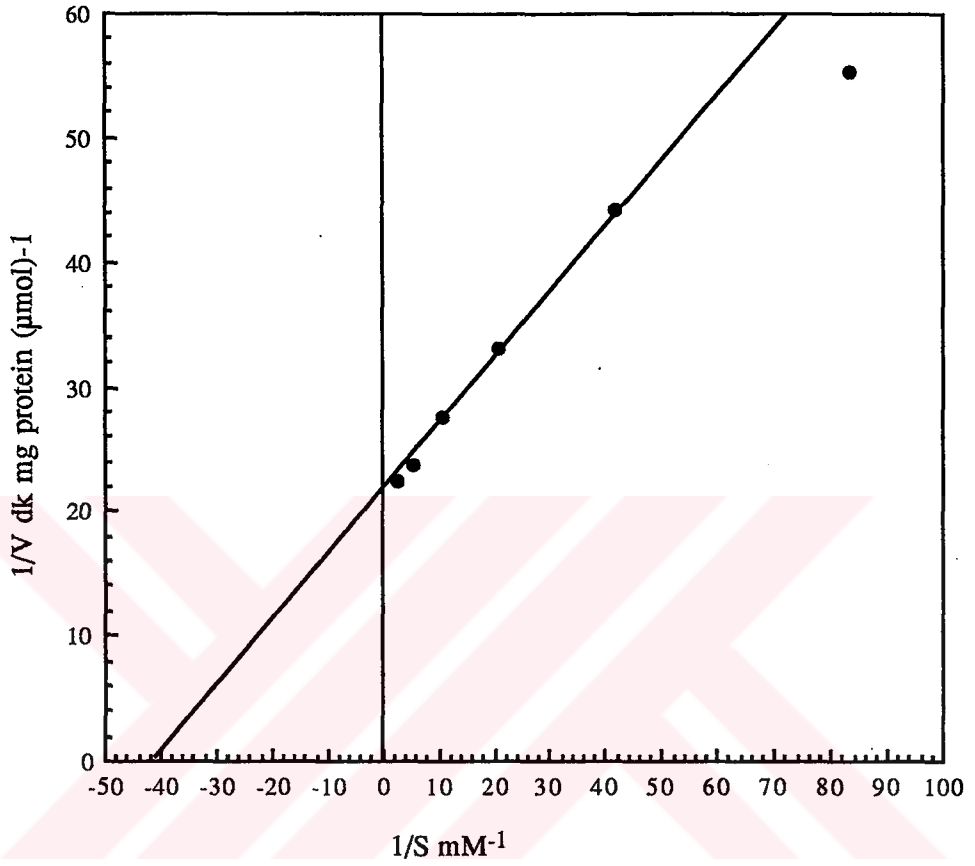




Şekil 23 : 0.032 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 24 : 0.063 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği



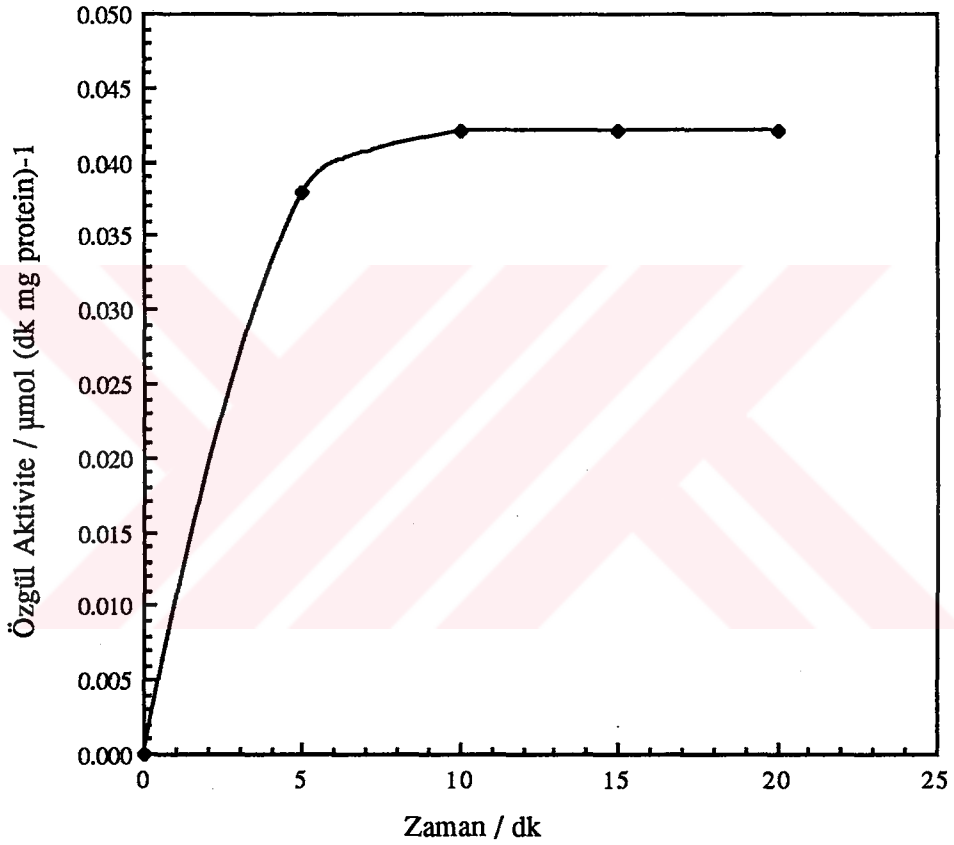
Şekil 25 : 0.127 mM niklozamid ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 25 : Değişik niklozamid çözeltileri ile etkileşimde LDH için Vmax değerleri

Niklozamid Derişimi / mM	Vmax / μmol (dk mg protein) <sup>-1</sup>
0.000	0.028
0.032	0.030
0.063	0.036
0.127	0.045

### LDH Albendazol Etkileşiminin İncelenmesi:

**Zamanın etkisi:** Şekil 26'da 0.633 mM albendazol çözeltisi ile sitozolün 25°C'ta 5, 10, 15, 20 dakikalık inkübasyonu sonrası zamana karşı aktivite sonuçları grafik halinde verildi. Grafikte görüldüğü gibi etkileşim 10 dk içinde gerçekleştiği için inkübasyon süresi olarak 10 dk seçildi.



Şekil 26: 0.633 mM albendazol ile etkileştirilen LDH aktivitesine inkübasyon zamanının etkisi

**Albendazol Derişiminin Etkisi:** LDH için enzim kaynağı olan sitozol , 0.158 mM, 0.316 mM, 0.633 mM albendazol ile etkileştirilmiş, değişik substrat derişimlerinde elde edilen absorbans değerleri ve yukarıda anlatıldığı şekilde hesaplanan tepkime hız değerleri sırasıyla aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 26-31) verildi. Substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri çizilerek (Şekil 27), her bir albendazol için çizilen Lineweaver-Burk grafikleri Şekil 28, 29, 30'da gösterildi. Bulunan Vmax değerleri Çizelge 32'dedir.

Çizelge 26 : 0.158 mM albendazol ile etkilişen LDH için absorbands değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.612
	1	0.602
	2	0.594
0.024	0	0.728
	1	0.710
	2	0.696
0.048	0	0.730
	1	0.706
	2	0.682
0.095	0	0.800
	1	0.765
	2	0.736
0.190	0	0.850
	1	0.809
	2	0.772
0.380	0	0.860
	1	0.820
	2	0.780

Çizelge 27 : 0.158 mM albendazol ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S /mM <sup>-1</sup>	V / $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$	1/V / dk mg protein ( $\mu\text{mol})^{-1}$
0.012	83.33	0.0068	147.44
0.024	41.66	0.0121	82.93
0.048	20.83	0.0181	55.29
0.095	10.53	0.0241	41.47
0.190	5.26	0.0294	34.02
0.380	2.63	0.0301	33.17

Çizelge 28 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen LDH için absorbands değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.615
	1	0.601
	2	0.591
0.024	0	0.620
	1	0.601
	2	0.582
0.048	0	0.720
	1	0.691
	2	0.666
0.095	0	0.732
	1	0.692
	2	0.654
0.190	0	0.750
	1	0.706
	2	0.662
0.380	0	0.755
	1	0.709
	2	0.665

Çizelge 29 : 0.316 mM albendazol ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

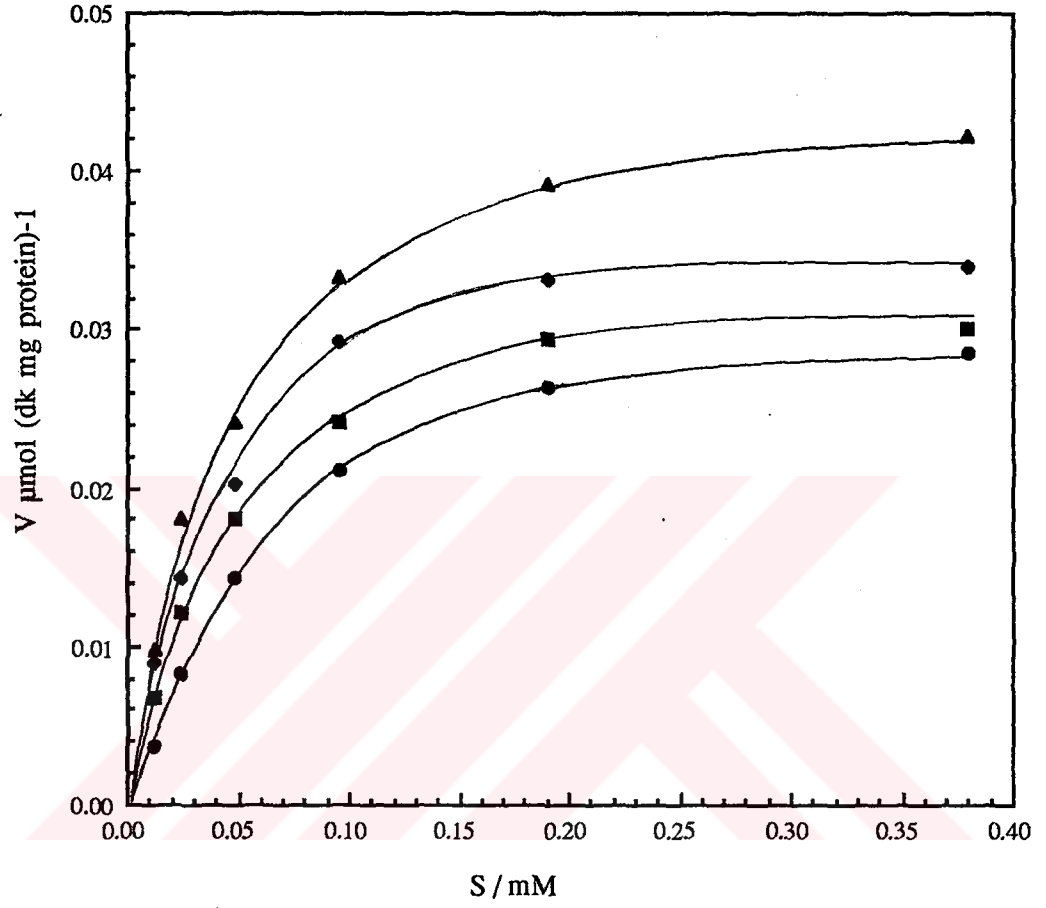
S / mM	1/S /mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.012	83.33	0.0090	110.58
0.024	41.66	0.0143	69.83
0.048	20.83	0.0203	49.15
0.095	10.53	0.0293	34.02
0.190	5.26	0.0331	30.16
0.380	2.63	0.0339	29.49

Çizelge 30 : 0.633 mM albendazol ile etkileşen LDH için absorbands değerleri

Derişim / mM	Zaman / dk	Absorbans
0.012	0	0.650
	1	0.637
	2	0.624
0.024	0	0.655
	1	0.629
	2	0.607
0.048	0	0.685
	1	0.653
	2	0.621
0.095	0	0.732
	1	0.686
	2	0.644
0.190	0	0.758
	1	0.705
	2	0.654
0.380	0	0.832
	1	0.775
	2	0.720

Çizelge 31: 0.633 mM albendazol ile etkileşen LDH için hesaplanan substrat derişimi ve tepkime hızı değerleri

S / mM	1/S / mM <sup>-1</sup>	V / $\mu$ mol (dk mg protein) <sup>-1</sup>	1/V / dk mg protein ( $\mu$ mol) <sup>-1</sup>
0.012	83.33	0.0098	102.07
0.024	41.66	0.0181	55.29
0.048	20.83	0.0241	41.47
0.095	10.53	0.0332	30.16
0.190	5.26	0.0392	25.52
0.380	2.63	0.0422	23.69

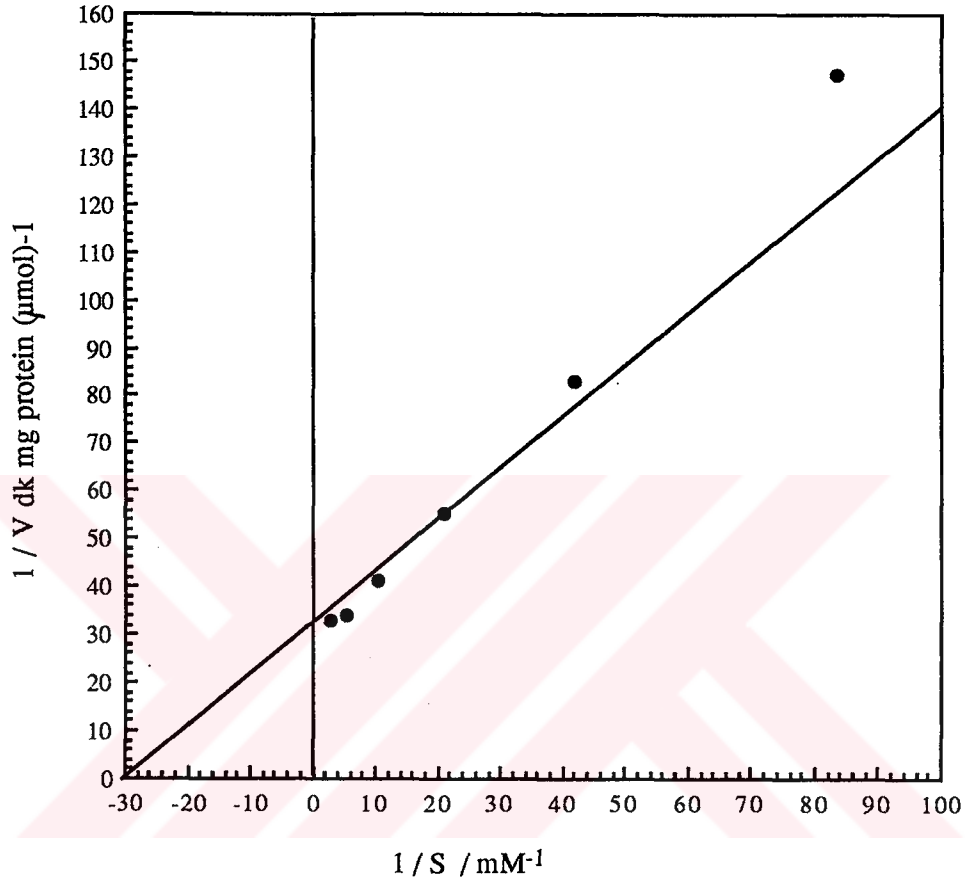


Şekil 27 : LDH - albendazol etkileşiminde Michaelis Menten eğrileri

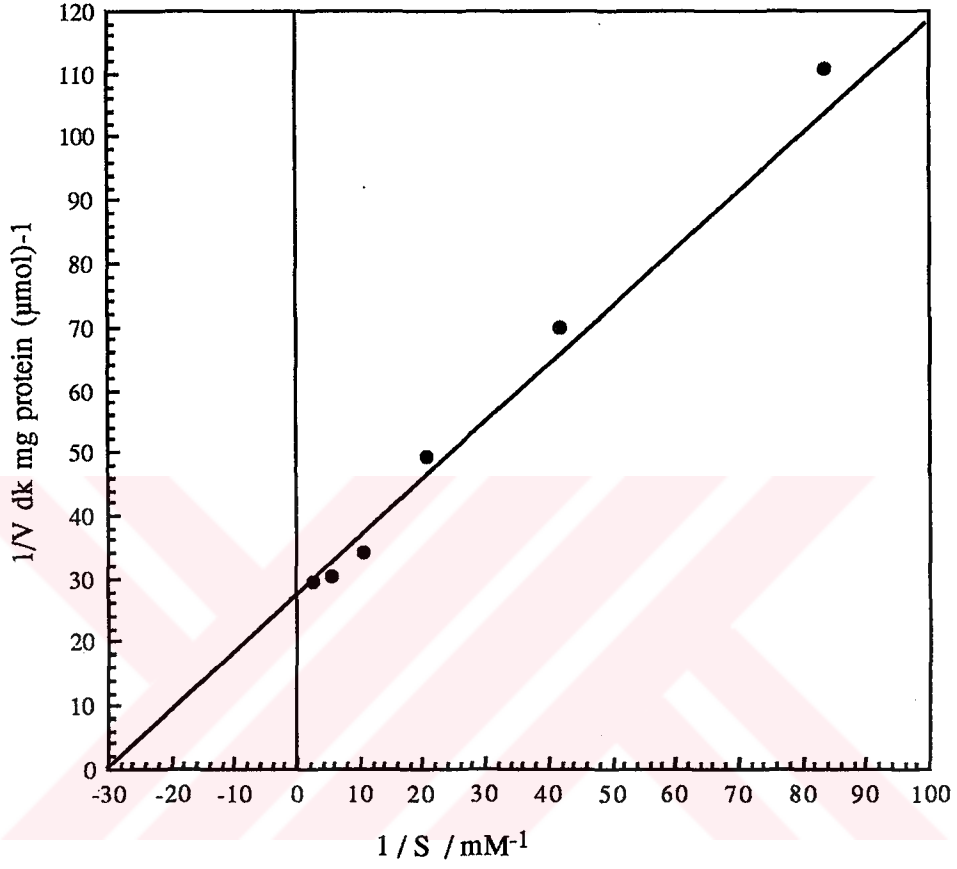
● : Enzim ; ■ : 0.158 mM albendazol ;

◆ : 0.316 mM albendazol ; ▲ : 0.633 mM albendazol

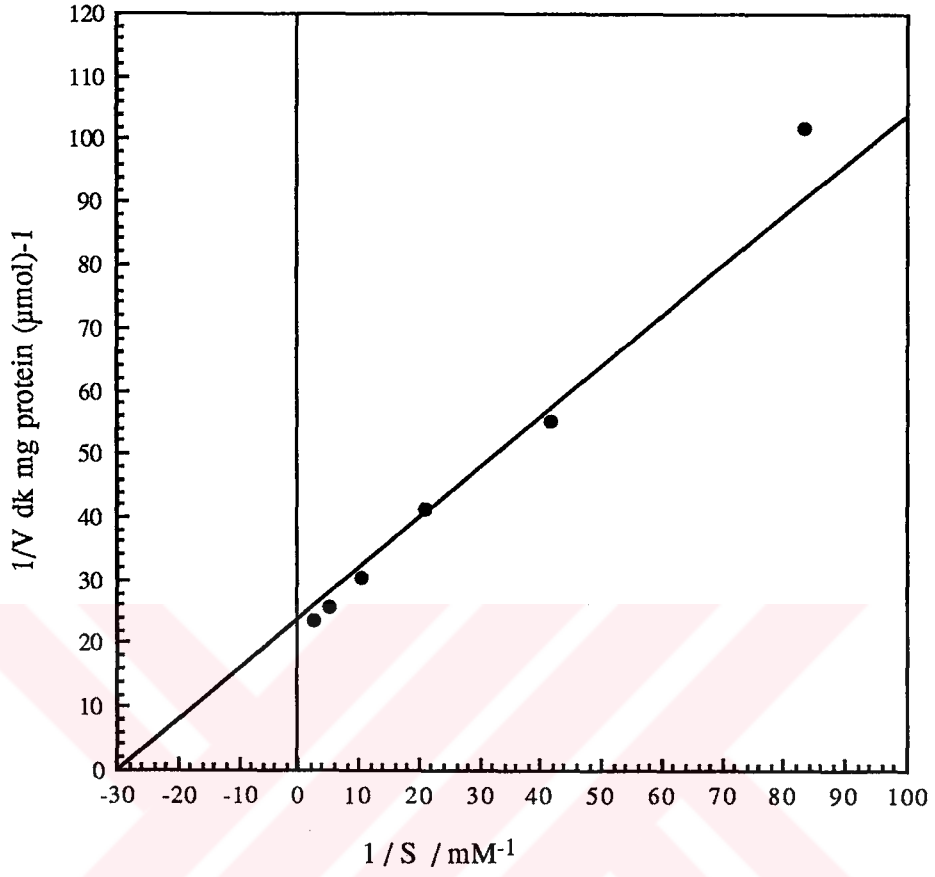




Şekil 28 : 0.158mM albendazol ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 29 : 0.316 mM alendazol ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 30 : 0.633 mM albendazol ile etkileştirilen LDH için Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 32 : Değişik albendazol çözeltileri ile etkileşimde LDH için Vmax değerleri

Albendazol Derişimi / mM	Vmax / μmol (dk mg protein) <sup>-1</sup>
0.000	0.028
0.158	0.030
0.316	0.035
0.633	0.042

### **LDH ve MDH İle Piperazinin Etkileşimi**

3 mM, 12 mM, 22 mM piperazin çözeltileri ile sitozol ve mitokondri etkileştirilerek yapılan deneylerde enzimlerle piperazin arasında bir etkileşim gözlenmemiştir.



## TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Parazit helmintlerdeki karbohidrat yıkımının en önemli özelliği, indirgenmiş organik son ürünlerin üretimi ve bu durumun aerobik koşullar altında bile kalıcı olmasıdır. Karbohidratlar, helmintlerin parazitik dönemlerinde temel enerji kaynağıdır. Enerji glukoz ve glikojenin katabolize edilmesiyle sağlanmaktadır. Karbohidrat katabolizması sırasında glukoz, glikolizisle PEP'a kadar parçalanır. PEP, ya fosforilasyonla pirüvata ve daha sonra pirüvatin indirgenmesiyle laktata dönüşür, ya da karboksikinazla oksaloasetata çevrilir. Oksaloasetat ise, sitoplazmik MDH ile malata indirgenir. Malatın mitokondri içine girmesiyle de asetat veya süksinat meydana gelir (51).

Şimdiye kadar birçok sestodun karbohidrat metabolizması ve metabolizma sonunda oluşan ürünler araştırılmıştır. Bu araştırmaların bazılarında elde edilen sonuçlar şöyledir; *Diphyllobothrium dentriticum*'un erişkin şekli ve plöroserkoidinde aerobik ve anaerobik ortamda, süksinat ve laktat, erişkin *E. granulosus*'da aerop ve anaerop ortamda süksinat, laktat ve asetat; bu parazitin larvasında aerop ortamda laktat, pirüvat, asetat, süksinat ve etanol; anaerop ortamda, pirüvat hariç aerop ortamda üretilenler saptanmış, *H. diminuta*'da aerop ortamda laktat, asetat, süksinat; anaerop ortamda, daha fazla süksinat meydana gelmiş ve *T. taeniaeformis*'in erişkin şeklinde aerop ortamda laktat, asetat, pirüvat, süksinat ve etanol, anaerop ortamda ise, daha fazla oranda süksinat ile aerob ortamda üretilenler saptanmıştır. Farklı cinsteki sestodların enerji metabolizmaları sonunda oluşan ürünlere göre bu sestodlarda benzer metabolik yolların olduğu söylenmektedir. Ayrıca larval ve erişkin dönemde oluşan son ürünlerin farklı olabileceği, bunun nedeninin parazitlerin evrim dönemlerini geçirdikleri ortama göre metabolizmalarını da değiştirmelerinden kaynaklandığı bildirilmektedir (5).

Sestodların karbohidrat metabolizmaları ve metabolizma sonunda oluşan ürünleri araştıran çalışmaların yanısıra, bu gruptaki canlıların diğer hücresel faaliyetleri ve enzimlerinin özelliklerini de araştıran çalışmalar yapılmıştır. Örneğin, Zenka ve arkadaşının *T. crassiceps* sistiserkusunun sitokrom bileşenlerini inceledikleri bir çalışmada, bu parazitte sitokrom b, sitokrom c ve sitokrom aa3'ün varlığını saptamışlardır (18). Cheah'ın yapmış olduğu bir araştırmada,

*M.expansa*'dan izole edilen mitokondrinin özellikleri incelenmiş, parazit mitokondrisinin memeli mitokondrisiyle yapısal olarak benzer olduğu ve bağırsak parazitlerinin de düşük O<sub>2</sub> bulunan çevrelere uyum sağlamak için klasik memeli solunum zincirinin farklı bir şekline sahip oldukları öne sürülmüştür (57). Zenka ve arkadaşının yaptıkları diğer bir çalışmada, *T. crassiceps* sistiserkusunun mitokondriyasında NADPH/NAD ve NADH/NAD transhidrogenazları araştırılmış ve bu farklı enzim sistemlerinin aktiviteleri bulunmuştur (58). Fioravanti'nin yaptığı bir araştırmada, *Hymenolepis microstoma*'nın erişkin şeklinde malik enzim ve transhidrogenaz aktiviteleri incelenmiş, Pappas ve Schroeder'in aynı canlıyla yaptıkları başka bir çalışmada ise, MDH, LDH aktiviteleri saptanmıştır (9). Cheah *Taenia hydatigena*'nın süksinat oksidaz sistemini araştırmış ve memelilerdeki sitokrom sisteminden farklı bir sistem bulmuştur (59).

Çeşitli parazit helmintlerde MDH enzimi ve bu enzimin özellikleri araştırılmıştır. Zenka ve arkadaşı *Taenia crassiceps* larvasının sitoplazma ve mitokondrisinde MDH, ME, SDH ve fumarat redüktaz aktivitelerini araştırmışlar bu parazitin sitoplazmik MDH aktivitesini 0.1235 µmol (dk mg protein)<sup>-1</sup>, mitokondriyal MDH aktivitesini ise, 84 µmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> olarak saptamışlardır. Bu sonuca göre sitoplazmik MDH aktivitesinin mitokondriyal MDH aktivitesinden 1.47 kere daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (60).

Yine Zenka ve arkadaşının *T. crassiceps* sistiserkusundaki sitoplazmik ve mitokondriyal ME ve MDH enzimlerinin özelliklerini araştırdıkları bir çalışmada, sitoplazmik MDH aktivitesinin mitokondriyal MDH aktivitesinden 1.47 kere daha fazla olduğunu, mitokondrideki ME aktivitesinin ise, sitoplazmadaki ME aktivitesinden daha fazla olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar ayrıca, MDH ve ME'nin mitokondride 5 izoenziminin olduğunu; bu enzimlerin sitoplazmada, 7 izoenziminin bulunduğu öne sürmüşlerdir (61).

Zenka ve arkadaşının *T. crassiceps*'in sistiserkusunun sMDH'sını saflaştırarak, bu enzimin temel kinetik özelliklerini belirledikleri bir çalışmada oksaloasetat için MDH enzimin Km değerini  $7.8 \times 10^{-5}$  M ve enzimin optimum pH'ı 6- 8.5 olarak bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise, *S. mansoni*'nin MDH enzimi için Km değerini  $4 \times 10^{-5}$  olarak saptamışlardır (62).

Çalışmamızda ise, MDH aktivitesinin saptanması için enzim kaynağı olarak mitokondriyal homojenat kullanılmıştır. MDH'nin Vmax değeri 3.00 µmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> ve Km değeri 0.0166 mM olarak bulunmuştur (Şekil 9).

Farklı araştışıcılar tarafından yapılan çalışmalarda parazitlerdeki LDH enziminin varlığı araştırılmış, *A. lumbricoides*'in erişkin Şeklinin kasında LDH aktivitesi 143 nmol (dk mg protein)<sup>-1</sup>, *H. diminuta*'nın erişkin Şeklinin sitozolünde 353 nmol (dk mg protein)<sup>-1</sup>, *Litomosoides carinii*'nin erişkin Şeklinde 1365 nmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> ve *Ascaridia galli*'nin erişkin Şeklinin sitozolünde 6.1 nmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> protein bulunmuştur (4).

Çalışmamızda LDH aktivitesinin bulunmasında enzim kaynağı olarak *T. saginata* sitozolü kullanılmıştır. LDH'nin V<sub>max</sub> değeri 0.028 μmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> ve K<sub>m</sub> değeri 0.055 mM olarak bulunmuştur (Şekil 20). *T. saginata*'nın erişkin Şeklinde bulunan MDH ve LDH enzimlerinin aktivitelerini araştıran çalışmalar bulunamadığından, çalışma sonuçlarımız başka sonuçlarla karşılaştırılamamaktadır.

Deneylerimiz sırasında MDH ve LDH ile etkileşimde kullanılacak niklozamid ve albendazol çözeltileri derişik olarak hazırlanmış ancak bunlarla yapılan çalışmalarda aktivite çok yüksek olduğundan spektrofotometrik olarak incelenememiştir. Bu özeltiler sürekli olarak seyreltilmiş ve üç farklı derişim Őeilmiřtir. Deneylerde kullanılan albendazol, niklozamid ve piperazinin mitokondri ve sitozol fraksiyonlarıyla etkileşime girip girmedikleri UV-VIS fark spektrumları ile incelenmiştir. Şekil 6'daki mitokondri albendazol spektrumunda albendazole ait piklerin yüksekliğinin azalması ve dalga boyu kayması onun mitokondrideki değişik proteinleri bağlandığının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Şekil 7'deki sitozol niklozamid etkileşim spektrumunda sitozoldeki protein pikinin azalması ve dalga boyu kayması niklozamidin buradaki proteinlere bağlandığını göstermektedir. Şekil 8'de mitokondri piperazin etkileşim spektrumunda ise bir değişiklik görülmemektedir. Bu da piperazinin proteinlerle etkileşmediğinin bir kanıtıdır.

Niklozamid MDH etkileşimi Şekil 10'da görüldüğü gibi 10 dk içinde tamamlanmaktadır. Etkileşimin aktivasyon mu yoksa inhibisyon mu olduğunun anlaşılması için 0.032 mM, 0.063 mM, 0.127 mM derişimlerdeki niklozamidle MDH etkileşimi incelenmiştir. Şekil 11'de substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri niklozamidin MDH enzimini aktive ettiğini göstermektedir. Her bir niklozamid çözeltisi için çizilen Lineweaver-Burk grafiklerinin (Şekil 12, 13 ve 14) incelenmesi ve bunlara bağlı olarak yapılan hesaplamalar sonucu 3 μmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> bulunan V<sub>max</sub> değerinin, 0.032 mM'lık niklozamid ile 3.70 μmol (dk mg protein)<sup>-1</sup>, 0.063 mM niklozamid ile 4.60 μmol (dk mg protein)<sup>-1</sup> ve

0.127mM niklozamid ile 5.80  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine yükseldiği bulunmuştur.

Albendazol, MDH etkileşimi Şekil 10'dan görüldüğü gibi 10 dk içinde tamamlanmaktadır. Etkileşimin aktivasyon mu yoksa inhibisyon mu olduğunun anlaşılması için 0.158 mM, 0.316 mM, 0.633 mM derişimlerdeki albendazol MDH etkileşimi incelenmiştir. Şekil 16'da substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri albendazolün MDH enzimini aktive ettiğini göstermektedir. Her bir albendazol çözeltisi için çizilen Lineweaver-Burk grafiklerinin (Şekil 17, 18 ve 19) incelenmesi ve bunlara bağlı olarak yapılan hesaplamalar sonucu 3.00  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  olan  $V_{\text{max}}$  değeri, 0.158 mM albendazol ile 3.30  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ , 0.316 mM albendazol ile 3.45  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve 0.633 mM albendazol ile 3.46  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine arttığı bulunmuştur.

Niklozamid LDH etkileşimi Şekil 21'den görüldüğü gibi 10 dk içinde tamamlanmaktadır. Etkileşimin aktivasyon mu yoksa inhibisyon mu olduğunun anlaşılması için 0.032 mM, 0.063 mM, 0.127 mM derişimlerdeki niklozamidle LDH etkileşimi incelenmiştir. Şekil 22'de substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri niklozamidin LDH enzimini aktive ettiğini göstermektedir. Her bir niklozamid çözeltisi için çizilen Lineweaver-Burk grafiklerinin (Şekil 23, 24 ve 25) incelenmesi ve bunlara bağlı olarak yapılan hesaplamalar sonucu 0.028  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  bulunan  $V_{\text{max}}$  değerinin, 0.032 mM niklozamid ile 0.030  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ , 0.063 mM niklozamid ile 0.036  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve 0.127 mM niklozamid ile 0.045  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine arttığı bulunmuştur.

Albendazol, LDH etkileşimi Şekil 26'dan görüldüğü gibi 10 dk içinde tamamlanmaktadır. Etkileşimin aktivasyon mu yoksa inhibisyon mu olduğunun anlaşılması için 0.158 mM, 0.316 mM, 0.633 mM derişimlerdeki albendazol LDH etkileşimi incelenmiştir. Şekil 27'de substrat derişimlerine karşı Michaelis Menten eğrileri albendazolün LDH enzimini aktive ettiğini göstermektedir. Her bir albendazol çözeltisi için çizilen Lineweaver-Burk grafiklerinin (Şekil 28, 29 ve 30) incelenmesi ve bunlara bağlı olarak yapılan hesaplamalar sonucu 0.028  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  olan  $V_{\text{max}}$  değerinin, 0.158 mM albendazol ile 0.030  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ , 0.316 mM albendazol ile 0.035  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve 0.633 mM albendazol ile 0.042  $\mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine arttığı bulunmuştur.



Değişik derişimlerde hazırlanan piperazin çözeltileri ile sitozol ve mitokondri homojenatlarının etkileştirilmesi sonucunda, enzim aktivitelerinde bir değişim gözlenmemiştir.

Birçok helmint üzerinde farklı antihelmintiklerin etki şekli araştırılmış ve bu ilaçların helmintlerin enzimlerine olan etkileri incelenmiştir. Bu amaçla Tejada ve arkadaşları tarafından yapılan albendazol, parbendazol, mebendazol ve thiabendazol gibi benzimidazolün *A. suum*, *F. hepatica* ve *M. expansa*'nın sitoplazmik MDH ve mitokondriyal MDH enzim aktivitelerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bu enzimlerin en yüksek oranda mebendazolla inhibe edildiği bulunmuş, albendazolün *A. suum*'un enzimlerini %50, *F. hepatica*'daki enzimleri % 63, *M. expansa*'daki enzimleri %100 oranında inhibe ettiği, parbendazolün enzimler üzerinde inhibitör etki yaptığı ve thiabendazolün ise enzimleri çok az oranda inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, albendazolün MDH enzimini inhibe ederek glikolitik yolun kesilmesine yol açtığı öne sürülmüştür (63) .

Sharma ve arkadaşları tarafından yapılan, *A. galli* ve *H. gallinae*'nin MDH enzimine albendazol ve levamisolün etkisinin araştırıldığı bir çalışmada  $10^{-2}$  M'lık albendazolün *A. galli*'de oksaloasetat indirgenmesini % 53 oranında, *H. gallinae*'de % 67 oranında inhibe ettiği, levamisolün ise bu enzimi % 100 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir (64) .

*A. galli* ve *H. gallinae*'nin MDH enzimlerine piperazinin etkisi araştırılmış, her iki parazitteki MDH aktivitelerinin bu antihelmintikle % 78 oranında inhibe edildiği öne sürülmüştür (65) .

Çalışmamızda ise, niklozamid ve albendazol çözeltilerinin MDH enziminin aktivitesini arttırdığı saptanmıştır. *T. saginata*'nın erişkin şeklinde bulunan MDH enzimi ve antihelmintiklerin etkileşimini araştırmanın bir çalışmaya rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamaktadır. Fakat, elde ettiğimiz sonucu aynı antihelmintiklerin farklı parazit gruplarındaki enzimlere farklı şekilde etki yapabilme özelliklerinin bulunmasıyla açıklayabiliriz.

Pampori ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, bir sestod olan *Cotugnia diagnopora*'nın karbohidrat metabolizmasına bazı antihelmintiklerin etkileri araştırılmış ve parazitin glukozu kolaylıkla metabolize ettiği, ürünlerini ortama salgıladığı bulunmuştur. Glukozun parazit tarafından alınımının ve metabolizma ürününün salınımının ortamdaki şeker derişiminin artmasına bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. İlginç olarak, laktik asit ve diğer metabolitlerin glukozun ortamda bulunmadığı zamanlarda bile üretildiğinin saptanmış olmasıdır.

Araştırmada niklozamid, praziquantel, tetramisol, mebendazol gibi antihelmintiklerin parazitin metabolizmasına etkileri incelenmiş, buna göre, niklozamid, praziquantel ve mebendazolün glukoz alınımını belirgin bir şekilde önledikleri, diğer ilaçların ise, etkili olmadıkları bildirilmiştir. Ayrıca, niklozamid, mebendazol ve praziquantelin parazitteki laktik asit üretimini arttırdığı bulunmuş, bu sonuca göre laktik asit üretimini arttıran ilaçların parazitteki katabolizmanın işleyişini değiştirerek etki yaptıkları öne sürülmüştür (66). Çalışmamızda da *T. saginata*'nın LDH aktivitesinin niklozamid ve albendazol ile arttığı saptanmıştır. LDH aktivitesinin artması sonucu laktik asit üretimi de artacaktır. Bulduğumuz sonucun yukarıdaki çalışma sonucu ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Sharma ve arkadaşları tarafından yapılan, *A. galli* ve *H. gallinae*'nin LDH, aldolaz, asit ve alkali fosfomonoesteraz, kolinesteraz enzimleri üzerine piperazinin etkisini araştıran bir çalışmada, her iki parazit de  $10^{-2}$  ve  $10^{-3}$  M'lık piperazinle in vitro olarak 30-50 dk etkileşim süresi sonunda öldükleri, parazitlerin  $10^{-4}$  ve  $10^{-5}$  M'lık ilaç çözeltilerinde aynı süre kaldıklarında ise, hareketsizleştikleri saptanmıştır. Ayrıca her iki parazit aldolaz ve kolinesteraz enzimlerinin piperazinle inhibe olduğu, LDH ve fosfomonoesteraz aktivitelerinin değişmediği bildirilmiştir (65). Çalışmamızda da piperazinin *T. saginata*'nın LDH ve MDH enzimlerine etki etmediği saptanmıştır.

Aynı araştırmacılar tarafından yapılan, *A. galli* ve *H. gallinae*'nin LDH, aldolaz, asit ve alkali fosfomonoesteraz enzimlerine albendazol ve levamisol'ün etkilerini araştıran bir çalışmada, levamisol'ün her iki parazitteki aldolazı inhibe ettiği, albendazolün bu enzimi etkilemediği, albendazol ve levamisol'ün parazitlerdeki LDH enzimlerine önemli bir etkilerinin olmadığı, fosfomonoesterazların levamisol ile çok az etkilendiği, albendazolle ise, etkilenmediği bildirilmiştir (64). Çalışmamızda ise, albendazolün *T. saginata*'nın LDH enzimini aktive ettiği bulunmuştur.

Çalışmamız sonucunda niklozamid ve albendazolün *T. saginata*'nın MDH ve LDH enzimlerini aktive ettiği, piperazinin ise bu enzimlere bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Daha önce anlatıldığı gibi antihelmintiklerin parazitler üzerinde çok yönlü etkileri bulunmaktadır. Örneğin, niklozamidin sestodların oksidatif fosforilasyonunu inhibe ettiği ve glukoz alınımını önlediği bildirilmiştir (3,41). Albendazolün parazitlerin glukoz alınımını önleyerek, glikojen depolarının tüketilmesi ve ATP oluşumunun azalmasına yol açtığı söylenmektedir (3,24). Bunlara ek olarak albendazolün parazitlerin mikrotübüllerini etkilediği de saptanmıştır (47). Tüm bu bilgilerin ışığı altında niklozamid ve albendazolün MDH

ve LDH enzimlerini aktive etmeleriyle sonuçlanan çalışmamızı yorumlayacak olursak, parazitte *in vivo* ortamda şu olayların gelişebileceğini düşünmekteyiz. Helmint katabolizmasında önemli bir enzim olan MDH'nin sitoplazmada ve mitokondride farklı görevleri bulunmaktadır. Bu enzim sitozolde okzaloasetatı malata çevirerek mitokondriye girmesini sağlarken, sitoplazmada ise, glikolizis sırasında oluşan NADH+H<sup>+</sup>ların mitokondriye taşınmasını sağlayan malat-aspartat mekik sisteminde görev yapmaktadır (23). Bu nedenle mitokondrideki MDH'in aktiflenmesi Şekil 4'teki mekik sisteminde malatın sürekli olarak okzaloasetata dönüşümünü, sitoplazmada ise, okzaloasetatın yeniden malata dönüşümünü arttıracak ve sürekli bu dönüşü sağlayacaktır. Bu da tenyanın enerji kazanımını azaltacaktır.

Sestodların karbohidrat metabolizmasında bir diğer önemli enzim olan LDH'nin aktive olması sonucunda, PEP' tan sonraki metabolik yolun laktat oluşum yoluna kayması beklenir. Bu olay parazitte aşırı miktarda laktat birikimine neden olacaktır. Fakat, sürekli olarak oluşan laktatın diğer organizmalarda yok edilebilmesini sağlayan Cori döngüsünün sestodlardaki varlığı hiç bir kaynakta bildirilmemiştir. Bu nedenle biriken laktat kaslarda yorgunluk oluşturacak parazitin bağırsakta tutunmasını güçleştirecektir. Laktat oluşumu ile birlikte ortamdaki hidrojen iyonu derişiminin de arttığı bilinmektedir. Hidrojen iyonu derişiminin artmasıyla ortamın pH'ı düşecek, yani asidite artacak ve parazitte zararlı bir etki meydana gelecektir.

Çalışmamızda piperazinin *T. saginata*'nın LDH ve MDH enzim aktivitelere etki yapmamasını, bu ilacın nematodlara yönelik bir ilaç olması ve bu gruptaki parazitlere de, nöromüsküler kavşaklardaki iyon kanallarını bozarak ve kas membranını hiperpolarize ederek etki yaptığının bilinmesiyle açıklayabiliriz.

Sonuç olarak, *T. saginata*'da MDH ve LDH enzimlerinin aktivitelerini saptamış olmamız nedeniyle, bu parazitte diğer sestodlara benzer bir enerji üretme yolunun bulunduğunu, niklozamid ve albendazolün MDH ve LDH aktivitelerini *in vitro* olarak arttırdığını, piperazinin ise, etkilemediğini söyleyebiliriz.

## ÖZET

Bu çalışmada, *Taenia saginata* halkalarının mitokondriyal ve sitoplazmik homojenatlarındaki MDH ve LDH aktiviteleri UV-VIS spektrofotometrik yöntemle saptandı. Enzim aktivitelerine niklozamid, albendazol ve piperazin çözeltilerinin in vitro etkileri araştırıldı.

Mitokondriyal MDH'nin  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri sırasıyla  $3.00 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $0.0166 \text{ mM}$  iken, sitoplazmik LDH'nin  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri  $0.028 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $0.055 \text{ mM}$  olarak bulundu.

$0.032 \text{ mM}$ ,  $0.063 \text{ mM}$  ve  $0.127 \text{ mM}$ 'lık niklozamid çözeltileri MDH'nin  $V_{max}$  değerini sırasıyla,  $3.70 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ ,  $4.60 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $5.80 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine yükselttiği saptandı. Aynı derişimlerde hazırlanan niklozamid çözeltilerinin LDH'nin  $V_{max}$  değerini sırasıyla,  $0.030 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ ,  $0.036 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $0.045 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine arttırdıkları bulundu.

$0.158 \text{ mM}$ ,  $0.316 \text{ mM}$  ve  $0.633 \text{ mM}$  derişimlerindeki albendazol çözeltilerinin MDH'nin  $V_{max}$  değerini sırasıyla,  $3.30 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ ,  $3.45 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $3.46 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine çıkarmalarının yanısıra, Aynı derişimlerdeki albendazol çözeltileri, LDH'nin  $V_{max}$  değerini sırasıyla  $0.030 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$ ,  $0.035 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  ve  $0.042 \mu\text{mol (dk mg protein)}^{-1}$  değerlerine yükseltti.

$3 \text{ mM}$ ,  $12 \text{ mM}$  ve  $22 \text{ mM}$ 'lık piperazin çözeltilerinin MDH ve LDH enzim aktivitelerini etkilemedikleri bulundu.

Bu sonuçlara göre, *T. saginata*'nın MDH ve LDH enzimlerine sahip olduğu ve bu parazitin karbohidrat metabolizmasının diğer sestodların metabolizmasına benzediği saptandı. Niklozamid ve albendazol gibi antihelmintiklerin *T. saginata*'nın LDH ve MDH enzimlerini etkilediği ve bu etki sonucunda parazitin karbohidrat metabolizmasının değiştiği bulundu.

## SUMMARY

### IN VITRO EFFECTS OF SOME ANTHELMINTICS ON THE LDH AND MDH ENZYME ACTIVITIES OF *TAENIA SAGINATA*.

In this study, malat dehydrogenase (MDH) and lactate dehydrogenase (LDH) activities in the mitochondrial and cytoplasmic homogenate of *T. saginata* proglottids were obtained by UV-VIS spectrophotometric method. In vitro effects of niclosamide, albendazole and piperazine solutions on these enzymes were investigated.

While  $V_{max}$  and  $K_m$  values of mitochondrial MDH were  $3.0 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$  and  $0.0166 \text{ mM}$ ,  $V_{max}$  and  $K_m$  values of cytoplasmic LDH were found to be as  $0.028 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$  and  $0.055 \text{ mM}$  respectively.

It was established that  $0.032 \text{ mM}$ ,  $0.063 \text{ mM}$  and  $0.127 \text{ mM}$  niclosamide solutions increased  $V_{max}$  value of MDH to  $3.70 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $4.60 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $5.80 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ . It was found that same solutions of niclosamid also increased  $V_{max}$  value of LDH to  $0.030 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $0.036 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $0.045 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ .

$0.158 \text{ mM}$ ,  $0.316 \text{ mM}$ ,  $0.633 \text{ mM}$  albendazole solutions increased  $V_{max}$  value of MDH, to the values,  $3.30 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $3.45 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $3.46 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ , while the same albendazole solutions increased  $V_{max}$  value of LDH, to the values,  $0.030 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $0.035 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ ,  $0.042 \mu\text{mol (dk mg)}^{-1}$ , respectively.

It was found that  $3$ ,  $12$ ,  $22 \text{ mM}$  piperazine solutions did not effect MDH and LDH activities.

According to these results, it was established that, *T. saginata* has MDH and LDH enzymes and the carbohydrate metabolism of this parasite is the same as the metabolism of other parasites. It was found that, anthelmintics like niclosamide and albendazole affect MDH and LDH of *T. saginata* and hence the carbohydrate metabolism of this parasite is changed.

## KAYNAKLAR

1. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M: Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, No. 15, Beşinci Baskı, 1995, s. 226-246 ve 411-439.
2. Saygı G, Yılmaz M: Sivas Halk Eğitim Merkezi kursiyerlerinde ve akrabalarında bağırsak asalaklarının araştırılması. **T. Parasitol. Derg.**, 7 (1-2): 73-82, 1984.
3. Webster L J: Chemotherapy of Parasite Infections. In "Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics". (eds. A G Gilman, T W Rall, A S Nils, P Taylor), Eighth Ed, Vol 2. Macmillan, New York. 1991, pp: 954-977.
4. Bryant C: Carbon Dioxide Utilisation, and the Regulation of Respiratory Metabolic Pathways in Parasitic Helminths. In "Advances in Parasitology". (ed. B. Dawes), Vol 13. Academic Press Inc, London. 1975, pp: 36-63.
5. Barrett J: Catabolism and Energy Production. In "Biochemistry of Parasitic Helminths". Macmillan Publ, London. 1981, pp: 72-146.
6. Tielens A G, Van den Heuvel J M: The energy metabolism of *Fasciola hepatica* during its development in the final host. **Mol Biochem Parasitol.**, 13: 301-7, 1984.
7. Munir W A, Barrett J: The metabolism of xenobiotic compounds by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda: Cyclophyllidae). **Parasitology.**, 91: 145-56, 1985.
8. Fioravanti C F: Coupling of mitochondrial NADPH: NAD transhydrogenase with electron transport in adult *Hymenolepis microstoma*. **J. Parasitol.**, 67 (6): 823-31, 1981.
9. Fioravanti C F: Mitochondrial malate dehydrogenase, decarboxylating ("malic" enzyme) and transhydrogenase activities of adult *Hymenolepis microstoma* (Cestoda). **J. Parasitol.**, 68 (2): 213-20, 1982.
10. Diaz F, Komuniecki R W: Pyruvate dehydrogenase complexes from the equine nematode, *Parascaris equorum*, and the canine cestode, *Dipylidium caninum*, helminths exhibiting anaerobic mitochondrial metabolism. **Mol. Biochem. Parasitol.**, 67 (2): 289-99, 1994.

11. Sangster N C, Prichard R K: The contribution of a partial tricarboxylic acid to volatile end-products in thiabendazole-resistant and susceptible *Trichostrongylus colubriformis*. **Mol Biochem Parasitol.**, **14** (3): 261-74, 1985.
12. Sarwal R, Sanyal S N, Khera S: In vitro effect of benzimidazole drugs on the enzymes of lipid metabolism in *Trichuris globulosa*. **J. Parasitol.**, **75** (5): 808-10, 1989.
13. Brand T, Charchwell F, Eckert J: Aerobic and anaerobic metabolism of larval and adult *Taenia taeniaeformis*. **Exp. Parasitol.**, **23**: 309-18, 1968.
14. Zenka J, Prokopic J: Characterization of malic enzyme from *Taenia crassiceps* (Zeder, 1800) cysticerci. **Folia Parasitol.**, **34**: 233-41, 1987.
15. Zenka J, Prokopic J: Contribution to the knowledge of aerobic processes in *Taenia crassiceps* larvae (Zeder, 1800). **Folia Parasitol.**, **33** (4): 331-6, 1986.
16. Dennis R D, Baumeister S, Geyer R, Peter J, Härtmann R, Egge H, Geyer H, Wiegandt H: Glycosphingolipids in cestodes. Chemical structures of ceramide monosaccharides, disaccharide, trisaccharide and tetrasaccharide from metacestodes of the fox tapeworm, *Taenia crassiceps* (Cestoda: Cyclophyllidea). **Eur. J. Biochem.**, **207** (3): 1053-62, 1992.
17. Zenka J, Jegorov A: Substrate specificity of fumarate reductase activity of *Taenia crassiceps* mitochondria. **Int. J. Parasitol.**, **23** (7): 1993.
18. Zenka J, Prokopic J: Study of cytochromes from mitochondria of *Taenia crassiceps* (Zeder, 1800) cysticerci. **Folia Parasitol.**, **33** (21): 145-8, 1986.
19. Zenka J, Prokopic J: Study of properties of alkaline phosphatase in *Taenia crassiceps* (Zeder, 1800) cysticerci. **Folia Parasitol.**, **33** (3): 281-4, 1986.
20. Okamoto M, Bessho Y, Kamiya M, Kurosawa T, Horii T: Phylogenetic relationships within *Taenia taeniaeformis* variants and other taeniid cestodes inferred from the nucleotide sequence of the cytochrome c oxidase subunit I gene. **Parasitol. Res.**, **81** (6): 451-8, 1995.
21. Köhler P: The strategies of energy conservation in helminths. **Mol. Biochem. Parasitol.**, **17**, 1-18, 1995.
22. Saz H J: Energy metabolism of parasitic helminths. **Ann. Rev. Physiol.**, **43**: 323-41, 1981.

23. Devlin T: Textbook of Biochemistry. Willey and Sons. Pub, New York. 1993, pp: 185, 303-304.
24. Who Model Prescribing Information: Drugs Used In Parasitic Diseases, World Health Organization, Genevo. 1990, pp: 75-80.
25. Edward G, Breckenridge A M: Clinical pharmacokinetics of anthelmintic drugs. **Clin. Pharm.**, **15**: 67-93, 1988.
26. Katz M: Anthelmintics. Current concepts in the treatment of helminthic infections. **Drugs**, **4**: 358-71, 1986.
27. Pearson R D, Hewlet E L: Niclosamide therapy for tapeworm infections. **Ann. Inter. Med.**, **102**: 550-51, 1985.
28. Kassai T, Takats C, Redl P: Treatment of taenia with albendazole. **Vet. Rec.**, **24** (12) : 303, 1984.
29. Beaver P C, Jung R C, Wayne E: Clinical Parasitology. 9th ed. Lea Febiger, Philadelphia. 1984, pp: 488-493, 505-543.
30. Despommier D D, Gwadz R W, Hotez P J: Parasitic Diseases, 3th ed. Springer Verlag, New York, 1995, pp: 76-84.
31. Joshua G W P, Harison L J S, Sewell M M H: Excreted/ secreted products of developing *Taenia saginata* metacestodes. **Parasitology**, **97**: 477-7, 1988.
32. Despommier D D: Tapeworm infection - the long and the short of it. **N. Eng. J. Med.**, **327** (3): 727-8, 1992.
33. Fan PC: Taiwan taenia and taniasis. **Parasitol. Today**, **4** (3): 86-8, 1988.
34. Saygı G: Enterobiasis tanısında dışkı ve sellofanband yöntemlerinin karşılaştırılması. **Haseki Tıp Bül.**, **20** (3): 215- 21, 1982.
35. Saygı G: Sivas'da iki ilkokulun öğrencileri arasında bağırsak asalaklarının dağılımı. **C. Ü. Tıp Fak. Derg.**, **8** (1- 2) : 101-8, 1986.
36. Saygı G, Yılmaz M, Özçelik S: Sivas kapalı cezaevi hükümlü ve personeline bağırsak parazitlerinin araştırılması. **T. Parazitol. Derg.**, **15** (1) : 67-75, 1991.
37. Özçelik S, Poyraz Ö, Saygı G, Öztürkcan S: Prevalence of intestinal parasites in children of the orphanage in Sivas, Turkey. **Ind. Ped.**, **32**: 230-2, 1995.
38. Saygı G, Özçelik S, Poyraz Ö: A survey of intestinal parasites in students of adult educational center in Sivas, Turkey. **J. Egypt. Soc. Parasitol.**, **25** (2): 303-10, 1995.
39. Saygı G: Yurdumuzda bağırsak parazitlerine bağlı olarak görülen komplikasyonlar. **Sağ. Derg.**, **65** (1): 27-42, 1993.



40. Unat E K: İnsanın helmint infeksiyonlarının kemoterapisindeki ilerlemelerin tarihçesi. **T. Parasitol. Derg.**, **18** (1): 89-100, 1994.
41. Kayaalp S O: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1, Altıncı Baskı, Feryal matbaacılık, Ankara. 1991, s: 908-920.
42. Harnett W: The anthelmintic action of praziquantel. **Parasitol. Today**, **4** (5): 144-50, 1988.
43. Hoakseş P E, Awedzi K, Ward S A, Coventry P A, Orme M L, Edwards G: Rapid and sensitive method for the determination of albendazole and albendazole sulphoxide in biological fluids. **J. Chromatog.**, **556** (1): 244-9, 1991.
44. Moskopp D, Lotterer E: Concentration of albendazole in serum, cerebrospinal fluid and hydatidous brain cyst. **Neurosurg Rev.**, **16** (1): 35-7, 1993.
45. Zeugın T, Zysset T, Cotting J: Therapeutic monitoring of albendazole: a high performance liquid chromatography method for determination of its active metabolite sulfoxide. **Ther. Drug. Monit.**, **12** (2): 187- 90, 1990.
46. Jung H, Hurtado M, Sanchez M, Medino M T, Sotelo J: Clinical pharmacokinetics of albendazole in patients with brain cysticercosis. **J Clin Pharmacol.**, **32** (1): 28-31, 1992
47. Cook G C: Use of benzimidazole chemotherapy in human helminthiasis: Indications and efficiency. **Parasitol. Today.**, **6** (4) : 133-6, 1990.
48. Prasad R, Mathur P P, Taneja V K, Jagota S C: Albendazole in the treatment of intestinalis helminthiasis in children. **Clin. Ther.**, **7** (2) : 164-8, 1985.
49. Tanyüksel M, Haznedaroğlu T, Albay A, Yukarı B A, Demirel K, Gün H: Ankara'da bir askeri birliğe yeni katılan askerlerde barsak paraziti sıklığı ve anti-paraziter tedavinin etkinliği. **T. Parazit. Derg.**, **19** (4) : 498-509, 1995.
50. Çelik C: Parazit helmintlerde enerji metabolizması. **Doğa T.U.Sağ. Bil. Derg.**, **13** (1) :29-34, 1989.
51. Roberts L S, Janovy J: Gerald D. Smidt and Larry S. Roberts' Foundation of Parasitology, 5 th. ed. W C B Publ, Dubuque, 1996, pp: 297-323.
52. Cengiz S, Cengiz M: Tıp ve Fen Bilimleri Öğrencileri İçin Enzim Bilgisi (Çeviri) Palmer T, Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı, İstanbul. 1994, s. 100-2.
53. Saz H J, Berta J, Kowalski J: Transhydrogenase and anaerobic phosphorylation in *Hymenolepis diminuta* mitochondria. **Comp. Biochem. Physiol.**, **43 B**: 725- 32, 1972.

54. Scopes K R: Protein Purification Principles Practies, Springer-Verlag, New York, 1984, p. 266.
55. Boehringer Mannheim GMBH: Biochemica Information, pp: 121-125.
56. Saraydın D, Öztıp H N, Çetinkaya Ö, Candan F: Enzim kinetik değęlerinin hesaplanması için bilgisayar programı. **M Ü Fen Bilim Derg.**, 9 : 73-81, 1992.
57. Cheah K S: Oxidative phosphorylation in *Moniezia* muscle mitochondria. **Biochim. Biophys. Acta.**, 253: 1-11, 1971.
58. Zenka J, Prokopic J : Transhydrogenase activities in the mitochondria of *Taenia crassiceps* (Zeder, 1800) cysticerci. **Folia Parasitol.**, 35 (1) : 31-6, 1988.
59. Cheah K S: Spectrophotometric studies on the succinate oxidase system of *Taenia hydatigena*. **Comp. Biochem. Physiol.**, 20: 867-75, 1967.
60. Zenka J, Prokopic J: Malic enzyme, malate dehydrogenase, fumarate reductase and succinate dehydrogenase in the larvae of *Taenia crassiceps*. **Folia Parasitol.**, 34 (2) : 131-6, 1987.
61. Zenka J, Kopacek P, Vokurova N: Studies on the properties of malic enzyme and malate dehydrogenase from *Taenia crassiceps* (Zeder, 1800) cysticerci. **Folia Parasitol.**, 34 (4) : 323-8, 1987.
62. Zenka J, Prokopic J : Purification and properties of cytoplasmic malate dehydrogenase from *Taenia crassiceps*. **Folia Parasitol.**, 36 (1) : 59-65, 1989.
63. Tejada P, Sanchez M M, Monteoliva M, Banqueri H G: Inhibition of malate dehydrogenase enzymes by benzimidazole anthelmintics. **Vetern. Parasitol.**, 24: 269-74, 1987.
64. Sharma R K, Singh K, Saxena K K: The effect of levamisole and albendazole on some enzymes of *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinae*. **Vetern. Parasitol.**, 30: 213-22, 1989.
65. Sharma R K, Singh K, Saxena K K: Effect of parbendazole and piperazine adipate on the activity of some enzymes of *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinae*. **Vetern. Parasitol.**, 24: 211-20, 1987.
66. Pampori N A, Singh G, Srivastava V M L: *Cotugnia diagnophora*: carbohydrate metabolism and effect of anthelmintics on immature worms. **J, Helminthol.**, 58: 39-47, 1984.

## ÖZGEÇMİŞ

28.01.1969 tarihinde Sivas'ta doğdu. İlk ve orta öğrenimini 1974-1985 yılları arasında Sivas'ta tamamladı. 1985-1986'da İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi Çevre Mühendisliği bölümünde öğrenim gördü. 1986 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdi ve 1990 yılında bu bölümden mezun oldu. 1990 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 22.08.1991 tarihinde Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi oldu. 9.09.1992 tarihinde Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. 1992 yılında aynı Anabilim Dalında Doktora programına girdi.

Halen aynı Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.