



T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSİTÜSÜ

BALB/c FARELERDE OLUŞTURULAN KUTANÖZ
LEISHMANIASIS TEDAVİSİ ÜZERİNE
BENZOTHIAZOLE'ÜN ETKİSİ

Rıdvan ŞİMŞEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI
SIVAS-2019

**BALB/c FARELERDE OLUŞTURULAN KUTANÖZ
LEISHMANASIS TEDAVİSİ ÜZERİNE
BENZOTHIAZOLE'ÜN ETKİSİ**

Rıdvan ŞİMŞEK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT**

SİVAS-2019

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Çalışma sırasında bana destek olan sevgili eşim İLKAY, neşe kaynaklarım olan sevgili çocuklarım EMİR KAAN ve KEREM'e ithaf ediyorum.

ÖZET

BALB/c FARELERDE OLUŞTURULAN KUTANÖZ LEISHMANIASIS TEDAVİSİ ÜZERİNE BENZOTHIAZOLE'ÜN ETKİSİ

Rıdvan ŞİMŞEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Parazitoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

2019,62 sayfa

Kutanöz Leishmaniasis (KL), küresel çapta yaygınlık gösteren Antartika, Avustralya kıtası dışında, yaklaşık 98 ülkede endemik ve milyonlarca insanı etkileyen vektör kaynaklı bir paraziter hastalıktır. Ekonomik gelişmişlik, yaygın kentleşme, ormanların yok olması, endemik bölgelerden göçler, endemik bölgelere iş ve turistik seyahatler, KL yaygınlığını arttırmaktadır. Aşı ve vektör kontrol programlarının etkisizliği, tedavi maliyetinin yüksek olması, toksisite, tedaviye karşı direnç kazanılması gibi etkenler tedavi başarısını etkiler. Mevcut tedavilerin sınırlamaları nedeniyle, daha etkin ve daha düşük sitotoksik aktiviteye sahip yeni kemoterapik ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bizim çalışmamız bu amaca yönelik olarak benzothiazole'ün (BTA) KL standart tedavi rejimlerine alternatif olabilecek, daha iyi kontrol edilebilmesi, daha iyi hasta uyumu ve daha yüksek etkinliği amaçlayan bir çalışmadır.

Çalışmamızda, BALB/c ırkı farelerde oluşturulan KL üzerine BTA'nın etkisini araştırdığımız çalışmada; BTA tedavi grubu (I:BTA 10^{-4} M, II:BTA 10^{-5} M, III: BTA 10^{-6} M, IV: BTA 10^{-7} M) ve 3 kontrol grubu (V: Miltefosin, VI: Pozitif kontrol, VII: Negatif kontrol) olacak şekilde gruplara ayrıldı. BTA konsantrasyonları, farelerin ayak tabanındaki KL lezyonlarına, 4 farklı

konsantrasyonda intralezyonel olarak uygulandı. 4 hafta boyunca lezyon büyüklüğü kumpas ile ölçülerek tedavi etkisi belirlendi ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı. Ayrıca KL lezyonları tedavi sonrası histopatolojik olarak değerlendirildi.

Tedavi sonrası, BTA tedavi gruplarında (Grup: I, II, III, IV) ilk haftadan itibaren lezyon büyüklükleri azalmaya başladığı belirlendi. 2., 3., ve 4. haftalarda lezyon büyüklüklerindeki azalma daha hızlı seyretti. 4. hafta sonunda BTA tedavi grupları, kontrol grupları ile kıyasla ileri düzeyde iyileşme sağlandığı belirlendi. Bu bulgular histopatolojik olarak da desteklenmiştir. Sonuç olarak, BTA KL tedavisinde kullanılabilir, alternatif bir tedavi rejimi olma potansiyeli göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Benzothiazole, BALB/c, Kutanöz Leishmaniasis

ABSTCRAT

THE EFFECT OF BENZOTHIAZOLE ON THE TREATMENT OF CUTANEOUS LEISMANIASIS IN BALB/c MICE

Rıdvan ŞİMŞEK

MASTER'S THESIS

Department of Parasitology

Consultant: Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

2019, 62 pages

Cutaneous Leishmaniasis (CL) is a vector-borne parasitic disease that is endemic in nearly 98 countries and affects millions of people, with the global prevalence of Antarctica and Australia. Economic development, widespread urbanization, destruction of forests, migrations from endemic regions, business and touristic trips to endemic regions increase the prevalence of CL. Factors such as ineffectiveness of vaccine and vector control programs, high cost of treatment, toxicity, and resistance to treatment affect the success of treatment. Due to the limitations of existing therapies, there is a need for new chemotherapeutic drugs with more effective and lower cytotoxic activity. For this purpose, our study is an alternative to the standard treatment regimens of benzothiazole (BTA), aiming to better control, better patient compliance and higher efficacy.

In our study, we investigated the effect of BTA on CL in BALB / c mice; BTA treatment group (I: BTA 10^{-4} M, II: BTA 10^{-5} M, III: BTA 10^{-6} M, IV: BTA 10^{-7} M) and 3 control groups (V: Miltefosin, VI: Positive control, VII: Negative control) divided into groups. BTA concentrations were administered intralesionally to 4

different concentrations of CL lesions on the soles of the feet of the mice. For 4 weeks, the lesion size was measured with a caliper and the treatment effect was determined and compared with the control groups. In addition, CL lesions were evaluated histopathologically after treatment.

After treatment, lesion sizes started to decrease in the BTA treatment groups (Group I, II, III, IV) from the first week. At 2, 3, and 4 weeks, the reduction in lesion size was faster. At the end of the 4th week, it was determined that BTA treatment groups improved significantly compared to the control groups. These findings were supported histopathologically. In conclusion, BTA has the potential to be an alternative treatment regimen that can be used in the treatment of CL.

Keywords: Benzothiazole, BALB/c, Cutaneous Leishmaniasis

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, deneyimlerini ve fikirlerini paylaşarak bana yol gösteren, adım adım ilerleyerek başarıya ulaşabileceğini gösteren ve bu tezin oluşmasında büyük katkı sağlayan Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT 'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum Parazitoloji Anabilim Dalındaki diğer bütün öğretim görevlilerine teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca bana destek olan Sivas CÜTF Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hatice Reyhan EĞİLMEZ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca bana destek olan Sivas CÜTF Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Ü. Sayın Prof. Dr. Yalçın KARAGÖZ'e teşekkür ederim.

Bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp yardımlarını eksik etmeyen Sayın Uz. Vet. Hekim Necati ÖZPINAR' a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	Hata
! Yer işareti tanımlanmamış....	iv
ABSTRACT.....	ivi
TEŞEKKÜR.....	viii
TABLolar.....	xii
ŞEKİLLER.....	xiii
ÇİZELGELER.....	xiii
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	4
2.3. Morfoloji	6
2.4. Yaşam Döngüsü	8
2.5. Vektör	9
2.6. Rezervuar	11
2.7. Epidemiyoloji.....	12
2.7.1. Türkiyede’ki Durum.....	14
2.8. Klinik Görünüm	16
2.8.1. Kutanöz Leishmaniasis.....	17
2.8.2 Diffüz Kutanöz Leishmaniasis.....	19
2.8.3. Muko-Kutanöz Leishmaniasis	19
2.9. KL Olgularında Klinik Yaklaşım	20
2.10. Tanı	21

2.10.1. Direkt Mikroskopi.....	21
2.10.2. Serolojik Yöntemler	22
2.10.3. Kültür Yöntemleri	22
2.10.4. Moleküler Testler	22
2.10.5. Deney Hayvanlarından Leishmania Parazitlerinin İzolasyonu.....	23
2.11. Tedavi	23
2.11.1. Sistemik İlaç Tedavisi	25
2.11.1.1. Beş Değerli Antimon Bileşikleri.....	25
2.11.1.2. Amfoterisin B.....	25
2.11.2. İntralezyonel Tedavi.....	25
2.11.3. Oral Tedavi	26
2.11.3.1. Miltefosin.....	26
2.11.4. Fiziksel Yöntemler	26
2.11.4.1 Kriyoterapi.....	26
2.11.4.2. Termoterapi.....	27
2.11.5 Topikal Tedavi	27
2.12. Genel Korunma Önlemleri.....	27
2.13. BTA	28
2.14. Hastalığın Ekonomiye Etkisi.....	29
3. MATERYAL ve METOD	
3.1. BTA'nın Sitotoksik Potansiyelinin Belirlenmesi	30
3.1.1. İlaç ve Konsantrasyonları	30

3.1.2. L929 Fare Fibroblast Hücrelerinin Kültürü.....	30
3.1.3. Sitotoksosite Testi.....	30
3.2. Deneysel KL Modelinin Oluşturulması.....	32
3.2.1. Deney Hayvanları	32
3.2.2. Parazit İnokülasyonu	33
3.2.3. Deneysel KL Oluşturulması	33
3.3. BTA'nın Tedavisi.....	35
3.3.2. Deney Grupları.....	35
3.4. Tedavinin Etkisinin Belirlenmesi.....	36
3.4.1. Lezyon büyüklüğü.....	36
3.4.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	37
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	38
4. BULGULAR.....	40
4.1. BTA'nın Sitotoksik Potansiyeli	40
4.2. Deneysel KL Modeli ve Tedaviye Etkisi.....	41
4.3. Histopatoloji.....	44
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ.....	51
7. KAYNAKLAR.....	51

TABLolar

Tablo 1. <i>Leishmania</i> sınıflandırma.....	5
Tablo 2. Bazı endemik ülkelerde KL rezervuarları	12
Tablo 3. Çalışmada kullanılacak deney grupları, tedavi dozları, tedavi uygulama şekli ve hayvan sayıları.	36
Tablo 4. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan derecelendirme.....	38
Tablo 5. Araştırma süresince deney gruplarında ayak tabanlarındaki lezyon büyüklükleri istatistiksel değerlendirmesi.	43

ŞEKİLLER

Şekil 1. <i>Leishmania spp.</i> formlarının görünümü.....	6
Şekil 2. <i>Leishmania spp.</i> promastigot ve amastigot formlarının şematik görünümü .	7
Şekil 3. Dişi tatarcık ve memeli konakçıda Leishmaniasis infeksiyonu döngüsü. Hata! Yer işareti tanımlanmamış.....	9
Şekil 4. Dişi tatarcık sineği görünümü.....	10
Şekil 5. DSÖ'nün 2015 yılında yayınlanmış KL coğrafyasını vurgulayan global bir	13
Şekil 6. KL İnsidans Haritası, 2012.....	15
Şekil 7. KL'nin tipik lezyonlarının şematik ve klinik görünümleri.	18
Şekil 8. KL iyileştikten sonraki skar dokusunun görünümü.....	18
Şekil 9. DKL (A), MKL (B)'un klinik görünümü.....	20
Şekil 10. BTA'nın bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların kimyasal yapısındaki farmakolojik faaliyetleri.	28
Şekil 11. BTA'nın sitotoksik potansiyelinin belirlenmesinde kullanılan XTT yönteminin aşamaları.	32
Şekil 12. İnokülasyon sıvısının fare ayak tabanına deri altı enjeksiyonu.....	34
Şekil 13. BALB/c farelerinin ayak tabanı dijital kumpas ile ölçümü.....	37
Şekil 14. BALB/c fare ayak tabanında deneysel KL lezyonlarının 3 haftalık oluşum süreci.	41
Şekil 15. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan derecelendirmenin görünümü	45

GRAFİKLER

- Grafik 1.** KL Vakalarının Yıllara Göre Dağılımı, Türkiye, 2008-2017.....16
- Grafik 2.** BTA'nın 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} M konsantrasyonlarının XTT metodu ile L929 fare fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksitesi..40
- Grafik 3.** Deney ve kontrol gruplarındaki BALB/c ayak tabanında oluşturulan KL lezyon büyüklüklerinin ortalamalarının zamana bağlı değişimleri.44



SİMGELER DİZİNİ

°C	:	Santigrat derecesi
%	:	Yüzde
G	:	Gram
M	:	Mikro
µL	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre
mg	:	Miligram
mL	:	Mililitre
mM	:	Milimolar

KISALTMALAR DİZİNİ

BP	Baz Çifti
BTA	Benzothiazole
CPLM	Cysteine- peptone-liver-maltose
DFAT	Direkt Fluoresan Antikor Testi
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DSPC	Distearoil-fosfatidilkolin
EKG	Elektrokardiogram
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HIV	Human Immunodeficiency Virus/İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
IFAT	İndirekt Fluoresan Antikor Testi
IHAT	İndirekt Hemaglunitasyon Testi
MD	Modifiye Diamond besiyeri
NNN	Novy-MCNeal-Nicole
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribo Nükleik Asit
RPMI	Media Designed at Roswell Park Memorial Institute
SbV	Sodyum Stibogluconate
SD	Sapma Derecesi
KL	Kutanöz Leishmaniasis
LCT	Leishmaniasis cilt testi
VL	Visseral Leishmaniasis

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Leishmaniasis, *Leishmania* (Trypanosomatidae (Aile)) cinsinden hücre içi zorunlu protozoan parazitlerinin neden olduğu vektör kaynaklı hastalıklar grubunu ifade eder ¹. *Leishmania*, tropiklerin, alttropiklerin ve Akdeniz havzasının geniş bölgelerinde endemiktir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) raporlarına göre, toplamda 350 milyon insanın bulunduğu ve 12 milyon enfeksiyon vakası bulunan 98'den fazla ülkeyi kapsamaktadır ve her yıl bunlara 2 milyon yeni olgunun (1.5 milyon KL, 500.000 VL) eklendiği tahmin edilmektedir ². Vektör kaynaklı paraziter hastalık olan leishmaniasis, çeşitlilik ile karakterizedir; 20'den fazla *Leishmania* türünden kaynaklanır ve 30'dan fazla tür dışı tatarcık sinekleri tarafından insanlara bulaştırılır ³. İnfekte edici türlere bağlı olarak, Leishmaniasis enfeksiyonu, üç klinik belirtiyeye neden olabilir. Birincisi, bir veya birden çok deri ülseri, uydu lezyonu veya nodüler lenfanjit ile lokalize Kutanöz Leishmaniasis (KL). İkincisi, mukozal tutulumlu Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL) ve üçüncüsü, karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi iç organların dahil olduğu, uygun şekilde tedavi edilmezse öldürücü olan sistemik Visseral Leishmaniasis'dir (VL). Parazitin tipi ve konağın immün yanıtı hastalığın klinik görünümünde belirleyicidir ⁴. Endemik ülkelerde, *Leishmania* HIV pozitif ve diğer bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı bir patojen olarak öne çıkmıştır ⁵.

KL enfeksiyonu yüzyıllardır Türkiye'de de bilinmektedir ve aynı zamanda yerel olarak Şark çıbanı, Urfa çıbanı, Antep çıbanı, Halep çıbanı, yıl çıbanı veya gözellik çıbanı da denir. Ülkemizde son on yılda, leishmaniasis vakalarının sayısında önemli bir artış görülmüştür. İnsanların endemik bölgelere seyahatlerinin çoğalması ve Suriye'den gelen göçmen sayısının artmasıyla endemik olmayan bölgelerde de KL görülmeye başlanmıştır. Sağlık Bakanlığının (SB) verilerine göre, 2008 ve 2017 yılları arasında, Türkiye'de yeni KL vakası 26,356 olarak bildirilmiştir, bu vakaların çoğu Güneydoğu Anadolu'da yer alan illerde rastlanmaktadır ve diğer bölgelerde de artan bir insidansı mevcuttur. Bu yönüyle KL artık endemik olmayan bölgeler için de önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır ^{6,7,8}.

2014'te, DSÖ “Küçük ısırık, büyük tehdit” sloganıyla leishmaniasis dahil vektörle bulaşan hastalıkların ciddi ve artan tehdidine dikkat çekmiştir ⁹. Gelişmekte olan ve kontrol edilemeyen bir hastalık kategorisi olan leishmaniasis, ciddi bir şekilde ihmal edilmiş bir hastalık olarak düşünölmekte ve daha fazla insidans ve morbiditeyi düşörmek için vektör kontrol, teşhis ve terapötik ilaçların iyileştirilmesi için yoğunlaştırılmış araştırma programları gerektiğini vurgulamaktadır. Şu anda mevcut bir insan aşısı yoktur. Bununla birlikte, aşılama yoluyla enfeksiyonun önlenmesi uygun bir seçenek gibi görünmektedir, çünkü endemik bölgelerde enfekte kişilerin çoğunluğu klinik semptomlar geliştirmemektedir ve daha önceki enfeksiyon parazitlere karşı güçlü bir bağışıklığa yol açmaktadır ¹⁰. Aşıların yokluğunda, hastalığın kontrolü profilaksi ve tedaviye dayanır ¹¹. Tedavi seçenekleri sınırlıdır, mevcut tedaviler önemli toksisite ile ilişkilidir ve oral ajanlar hariç, hastahane şartlarında uygulama gerektirir ¹². İlaç direnci, bazı anti-leishmanial tedavi rejimlerinde tedavilerinde de giderek artan bir sınırlamadır ¹³. Bu nedenle yeni tedavi seçenekleri geliştirmek esastır. Bu çalışmada amacımız; KL tedavisine Benzothiazole'ün (BTA) etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Leishmania parazitlerinin etken olduğu hastalıklar her tarih döneminde bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmış ve yazı kaynaklarda sözü edilmiştir. Mısır’da keşfedilen Ebers papirüslerinde (MÖ 1600) “Nil Tanesi” olarak adlandırılır¹⁴. Asur tabletlerinde (MÖ VII. yy) kayıtları tutulmuştur¹⁵, Güney Amerika’da yer alan And dağları bölgesinden dönen mevsimlik İspanyol işçilerinde görülmüş ve “Vadi Hastalığı” veya “And Hastalığı” olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca XV. ve XVI. yüzyıllardan kalma Inca yazıtlarında da bu hastalıktan bahsedilmiştir^{16,17}. Alexander Russel 1756 yılında Halep’te bu lezyonlar üzerine bir çalışma yapmıştır. İyileşmeyen burun ve ağız lezyonlarıyla cüzzama çok benzemesinden dolayı hastalığa “beyaz cüzzam” adı da verilmiştir¹⁸. 1882 yılında Clarke, Hindistanlı hekimler tarafından, sanskritçe “Kala Azar” adı verilen ve anlamı “kara ateş” olan hastalığın varlığını bildirmiştir. Cunnigham 1885 yılında bu lezyonlara etken olarak parazitleri göstermiştir¹⁹. Borovski 1898 yılında amastigotların içinde parazit çekirdeğini ve kinetoplastı gözlemlemiştir²⁰. Leishman ve Donovan ayrı ayrı çalışmalarda VL hastaların dalağında elde ettiği örneklerde parazitleri tanımlamış ve bulgularını 1903 yılında yayınlamışlardır^{21,22}. Ross 1904 yılında bu protozoonu yeni bir cins kabul etmiş ve Kala-Azar etkeni bu organizmayı *Leishmania donovani* olarak adlandırmıştır²³. Nicolle 1908 yılında kültür ortamında paraziti çoğaltmış ve Akdeniz ülkelerinde bulunduğu kala-azar etkenlerine *Leishmania infantum* adını vermiştir. Ayrıca Nicolle ve Compte içlerinde köpeklerin de bulunduğu bir grup memelinin *Leishmania* paraziti için rezervuar rolü oynadığını bildirmiştir^{24,25,26}. 1911’de Vianna, MKL olgularında bulunduğu etkenleri *L. brasiliense* olarak adlandırmış ve parazitlerin köpek, kedi, çakal gibi memeli hayvanlarda da rastlandığını belirtmiştir²⁷. Wenyon 1911 yılında hastalığın bulaşmasında sivri sineklerin vektörlüğünden şüphelenmiştir. 1914 yılında Yakimoff ve Shakor kurak, kentsel ve ıslak, kırsal biçime neden olan parazitleri ayırt etmiştir²⁸. 1921 yılında Sergent kardeşler, Parrot, Donatein ve Bequet çalışmalarında infekte tatarcık sineklerinin ısırması sonucu deri lezyonu geliştirmişlerdir, 1941 yılında dişi tatarcık

sineklerinin vektörlüğü S.Adler tarafından kesinleştirilmiştir ^{29,30}. 1970’lerde DNA analizi ve ELISA, 1980’lerde DNA hibridizasyonu, 1990’larda parazitin kinetoplastın PCR ile saptanması ve laboratuvaradaki gelişmeler *Leishmania* ‘nın genetik türleşmesinde ve tür tayininde etkili olmuştur ^{31,32}.

2.2. Sınıflandırma

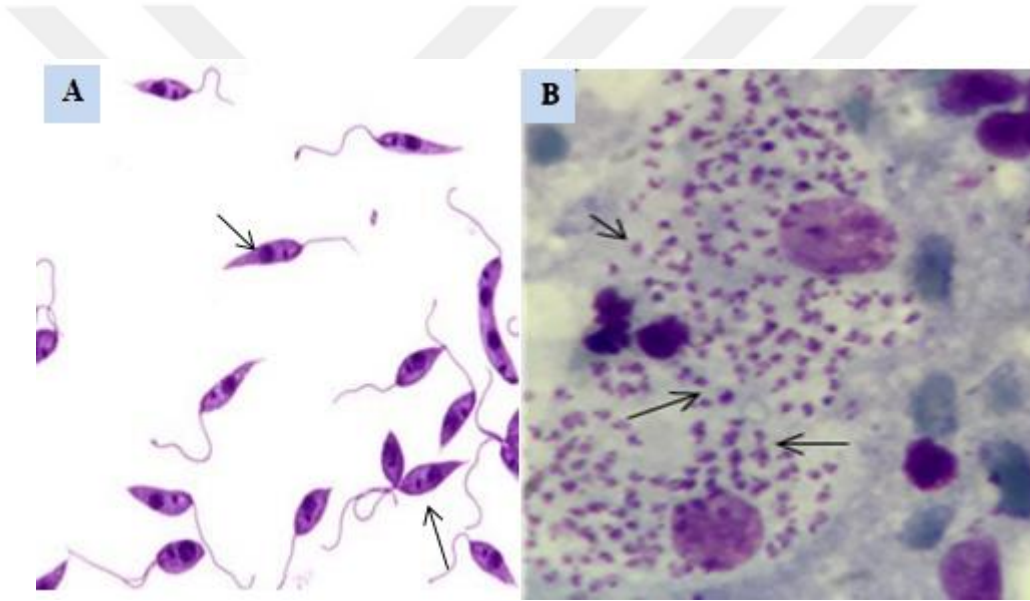
Leishmania, protozoanların Mastigophara alt şubesinde bulunan Trypanosomatidae ailesinde yer alan, insanlarda ve diğer omurgalılarda parazitin yaklaşık 53 türü dünyanın farklı bölgelerinden tanımlanmıştır; Bunlardan 31 türün memelilerin parazitleri olduğu ve 20’den fazla türün insanlar için patojen olduğu bilinmektedir ³³. Bu farklı türler morfolojik olarak ayırt edilememektedir, ancak izoenzim analizleri, monoklonal antikorlar ve PCR’a dayalı moleküler yöntemler kullanılarak *Leishmania* varlığı gösterilmekle beraber tür tayini de yapılmaktadır ³⁴.

Tablo 1. *Leishmania* sınıflandırma ³³.

Evren	: ANIMALIA				
Üst şebe (Superphylum)	: PROTOZOA				
Alt şebe (Subphylum)	: SARCOMASTIGOPHORA				
Sınıf (Class)	: ZOOMASTIGOPHORA				
Takım (Order)	: KINETOPLASTIDA				
Alt takım (Suborder)	: TRYPASOMADITINA				
Aile (Family)	: TRYPASONOMATIDAE				
Cins (Genus)	: LEISHMANIA				
Alt Cins					
Leishmania					
Kompleks	<i>L. donovani</i>	<i>L. tropica</i>	<i>L. major</i>	<i>L. aethopica</i>	<i>L. mexicana</i>
Tür	<i>L. donovani</i>	<i>L. kilicki</i>	<i>L. major</i>	<i>L. aethopica</i>	<i>L. amazonensis</i>
	<i>L. chagasi</i>	<i>L. tropica</i>			<i>L. mexicana</i>
	<i>L. infantum</i>				<i>L. venezuelensis</i>
					<i>L. pifanoi</i>
Alt Cins					
Viannia					
Kompleks	<i>L. bralizensis</i>	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. lainsoni</i>	<i>L. naiffi</i>	
Tür	<i>L. brasiliense</i>	<i>L. guyanensis</i>			
	<i>L. peruviana</i>	<i>L. panamensis</i>			
Alt Cins					
Sauroleishmania					
Tür	<i>L. tarantolea</i>	<i>L. gymnodactyli</i>			
Alt Cins					
Mundinia					
Tür	<i>L. enriettii</i>	<i>L. macropodum</i>			

2.3. *Leishmania* Morfolojisi

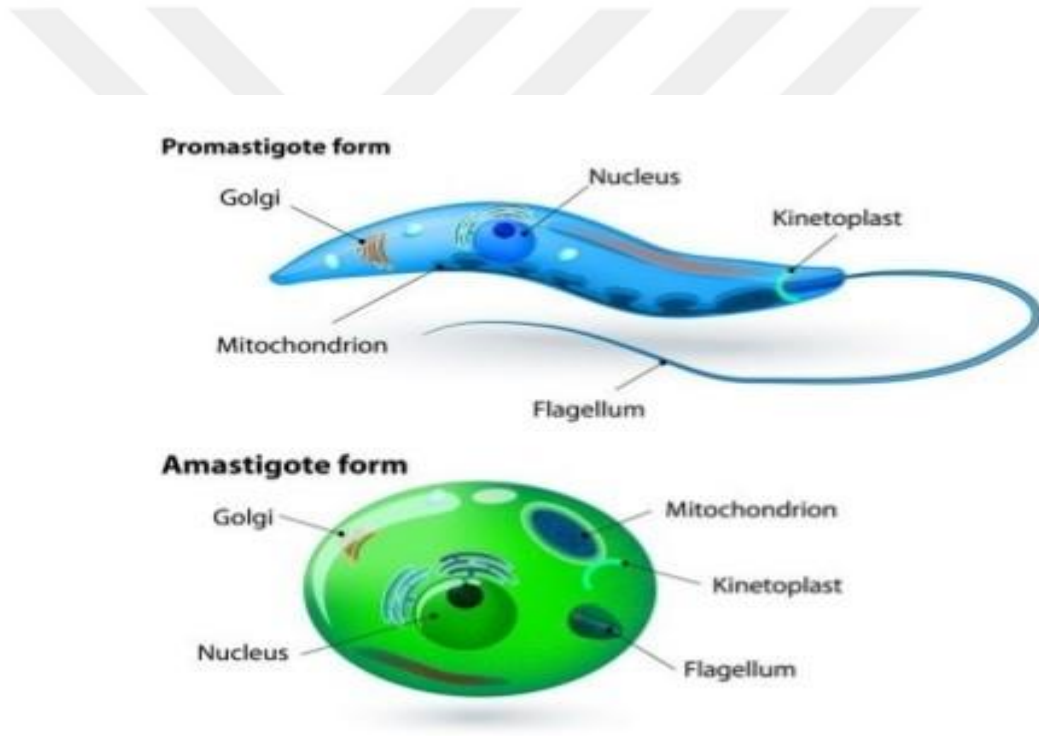
Leishmania parazitleri, farklı hücre morfolojileri konak veya vektöre uyarlanmış bir dizi hücre tipi sergiler (şekil 1) ³⁵. Omurgalı konakta olduğu zaman, hareketsiz, kamçısız (aflagellar) form olan amastigot ve vektörde konakçı olduğu zaman ise hareketli kamçılı form olan promastigot (flagellar) halinde bulunurlar. Tüm *Leishmania* türleri iyi tanımlanmış bir çekirdek (nükleus) bir kinetoplast bir kamçı (flagella) ve tek büyük bir mitokondri mevcuttur ³⁶.



Şekil 1. *Leishmania spp.* promastigot (A) ve amastigot (B (Orijinal) formlarının görünümü. Giemsa boyama. (x 1000.) ³⁵.

Amastigot form; yaklaşık 1–3 µm eninde ve 2-5 µm boyunda yuvarlak veya oval gövde olup, hareketsiz ve uygun sıcaklıkta (37 °C) ikiye bölünerek omurgalı konakta retiküloendotelial sistem makrofajlarının fagolizozomları içinde çoğalmaktadır ³⁷. Sitoplazmada merkezi olmayan bir yerde çekirdek ve çekirdeğe bitişik kinetoplast bulunmaktadır. Sitoplazmada ayrıca vakuoller, kamçı kökü (bleforablast) ve kamçı kökünden çıkan bir aksonem (kamçının sitoplazmada kalan kısmı) bulunmakta, ancak kamçı sitoplazma içinde sınırlı kalmıştır. Sitoplazmada tek bir mitokondri yer almakta, amastigotun beslenmesine yardımcı olan golgi cisimciği ve lizozomlar bulunmaktadır (Şekil 2) ³⁸.

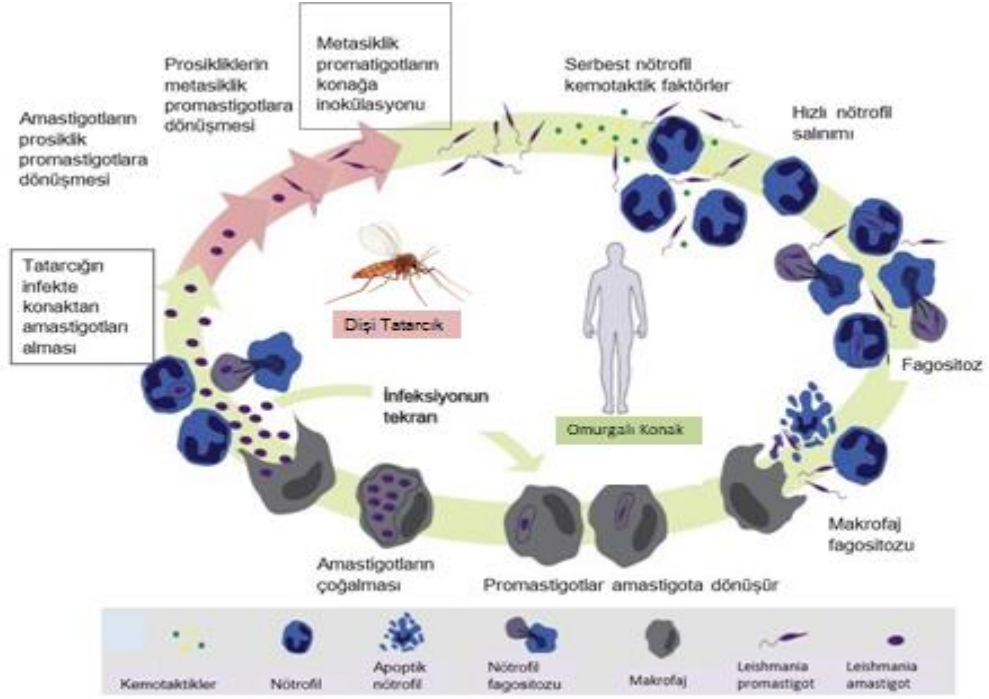
Promastigot form; parazitin omurgalı konak dışı formu olan promastigotlar (leptomonas) ise, 14-20 μm boyunda, 2-3 μm genişlikte ve ön uçtan çıkan ve serbest bir kamçı boyutu 20 μm 'ye ulaşabilen ve yüksek oranda hareketliliğe izin veren bir yapıya sahiptirler³⁹. Kamçı serbest olup aksonemden köken alır ve dip kısmında bleforablast bulunmaktadır. Vektörde 27 °C uzunlamasına bölünerek çoğalır. Vektörü olan tatarcık sineklerinin sindirim sisteminde ve besiyerlerinde amastigotun şekil değiştirmesinden sonra görülen formdur. Ön uçta bir kinetoplast, merkezi bir nükleusa sahiptir. Ayrıca sitoplazma içinde organeller olarak golgi cisimciği ve endoplazmik retikulum bulunmaktadır ve bu form mekik şekline ince bir gövdeye sahiptir (Şekil 2)^{40,41}.



Şekil 2. *Leishmania* spp. promastigot ve amastigot formlarının şematik görünümü³⁸.

2.4. Yaşam Döngüsü

Leishmania türleri, omurgalı konak ve *Phlebotomus* ve *Lutzomyia* cinsi tatarcıkları içeren, yaşam döngüsüne sahip bir dihydroksen parazittir ⁴². Dişi tatarcık, enfekte konaktan kan emerken enfekte makrofajları alır. Emilen kan tatarcığın orta midesinde “peritrofik membran” ile sarılmakta ve amastigotların bir kısmı makrofajların lizis olması esnasında sindirilirken kalanların vücudu uzamakta ve “prosiklik promastigot” denilen enfektif olmayan forma dönüşmektedir. Bu evrim formu sindirim kanalının farklı bölgelerinde birkaç farklı morfolojik şekle farklılaştıktan sonra promastigotlar midenin ön tarafına göç ederek özofagus ve farinkteki kıvrım ve yarıklara kamçıları aracılığı ile tutunmakta ve lümeni tıkamaktadır ⁴³. Promastigotlar, tatarcıkların kan emmesini düzenleyen kardiyak kapağa zarar vererek, tatarcığın omurgalı konaktan kan emmesi esnasında kan akımının tersi yönünde tatarcığın vücudundan, omurgalı konağa geçerler. Omurgalı konağa infeksiyonu bulaştıran dönem promastigottan farklıdır, bu enfektif şekil “metasiklik promastigot” olarak adlandırılır. Omurgalı konakta, promastigotlar deri makrofajları veya dendritik hücreler tarafından reseptör temelli fagositoz ile fagosite edilir. Fagosite edilen promastigotlar, amastigot formuna dönüşerek çoğalırlar ve hücreyi patlatarak serbest kalırlar ⁴⁴. Hücreyi parçalayarak serbest hale geçen amastigotlar, yeniden makrofajları enfekte ederek deri, dalak, karaciğer ve kemik iliği gibi retikuloendotelial sistem organlarına yerleşirler. Klinik hastalık tablosunun oluşması, parazitin türüne ve konağın bağışıklık durumuna bağlı olarak birkaç hafta ile 1 yıl arasında değişir. *Leishmania* cinsinin konak zinciri, omurgalı konak (insan)-tatarcık-omurgalı konak şeklinde uzanır (Şekil 3) ⁴⁵.



Şekil 3. Dişi tatarcık ve memeli konakçıda leishmaniasis infeksiyonu döngüsü ⁴⁵.

2.5. Vektör

Bugünkü bilgilerimize göre leishmaniasisin bilinen tek vektörü Phlebotomin sinekleridir (Tatarcık, Yakarca). Tatarcık sinekleri, çift kanatlılar takımının *Psychodidae* familyasından olan zararlı bir böcek cinsidir ve birçok hastalığın da (Leishmaniasis, viral hastalıklar, 3 Gün hastalığı) biyolojik vektörlüğüne yapmaktadırlar ⁴⁶. Gece boyu aktif olan, gündüz nemli ve karanlık yerlerde saklanırlar. Sivrisineklerden daha çok can acıtacak şekilde sokup kan emerler ve hastalık yapıcı etmenleri bu şekilde bulaştırırlar. Bilinen yaklaşık 500 tatarcık sineği türünün sadece 30'unun vektörel bir kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Kum sinekleri yaklaşık 2–3 mm vücut uzunluğunda, renkleri gümüş-griden, neredeyse siyaha kadar değişir ve istirahat halindeyken kanatları karakteristik V şeklini alırlar (Şekil 4). Hem dişi hem de erkek tatarcık sinekleri yetişkinleri, normalde bitki

sularının karbonhidrat besinleri ile beslenirler. Bununla birlikte, dişi tatarcıklar aynı zamanda yumurtaların gelişimini tamamlamak için en az bir kez kan emmeleri gerekir, dolayısıyla hastalık etmenlerinin kazanımını kan emerek kazanırlar⁴⁷.



Şekil 4. Dişi Tatarcık sineği görünümü⁴⁷.

Kum sinekleri, tropik bölgeler ve alt tropik bölgelerde olduğu kadar ılıman bölgelerde de görülür. Eski Dünya Leishmaniasis vektörü olan *Phlebotomus* ve *Sergentomyia*, Avrupa'nın belirli bölgelerinde (özellikle Akdeniz bölgesi), Orta Doğu'da, Asya'da (özellikle de Hindistan alt kıtasında) ve Afrika'da görülür. Yeni Dünya Leishmaniasisi vektörü *Lutzomyia* cinslerinden gelir, Orta ve Güney Amerikada görülür⁴⁸.

Dişi tatarcık sinekleri, dehidratasyona karşı çok hassastır, bu yüzden çoğu sıcaklığın düşük olduğu geceleri aktiftir. Hayvan yuvalarına, ağaç kovuklarına, mağaralara, kaya oyuntularına ve insan yerleşim alanları dahil olmak üzere korunaklı habitatlara sığınır. Genellikle kısa mesafede zemine yakın uçarlar (yaklaşık 300 m)⁴⁹.

2.6. Rezervuar

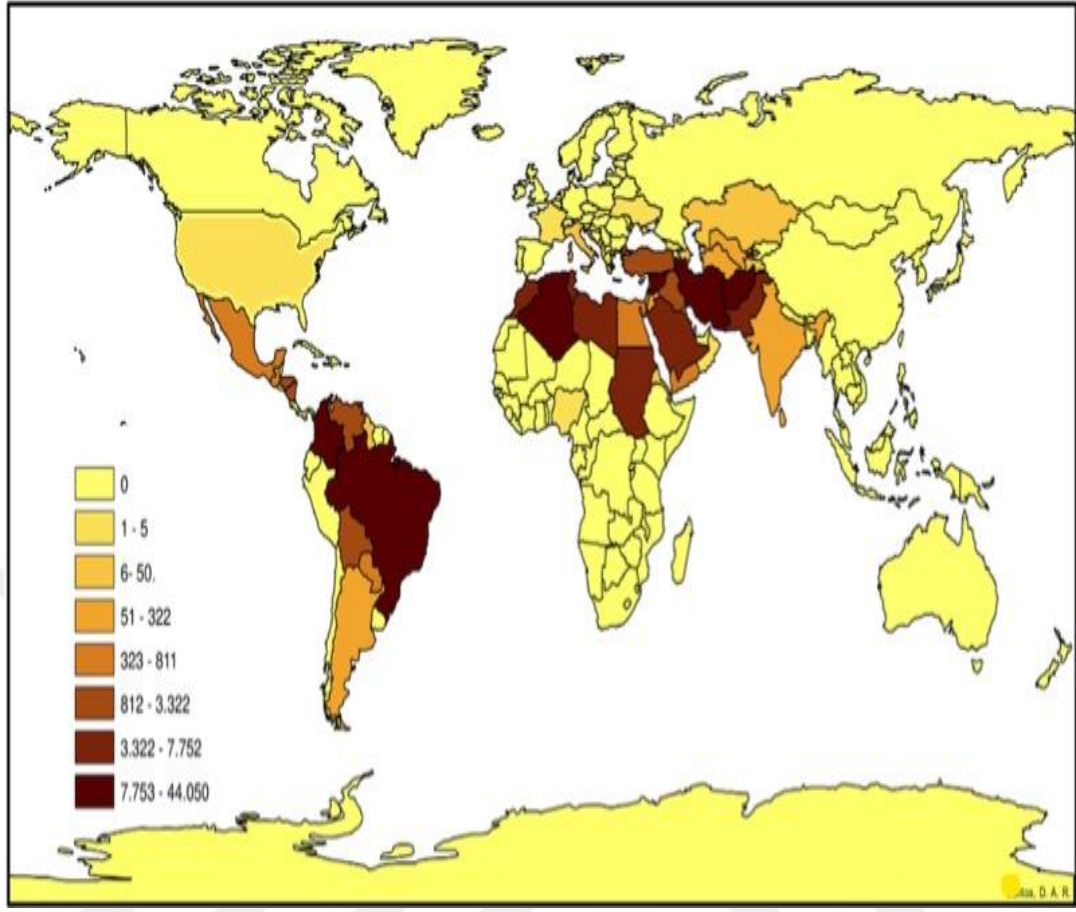
Hayvan rezervuarları, birçok *Leishmania* türünün yaşam döngüsünü korumak ve dolayısıyla zoonotik ve kırsal/ormansal infeksiyonların iletimi için önemlidir. Rezervuar konakların vahşi hayvanlar, komensal veya evcil hayvanların olduğu zoonotik leishmaniasis ve rezervuar konaklarının insan olduğu antroponotik leishmaniasis diye kategorilendirilir. Vahşi, evcil ve sinantropik memelilerin çeşitli türleri *Leishmania* türlerinin konakçıları veya rezervuarları olarak kaydedilmiştir. Dünyanın farklı bölgelerinde, köpekler, kediler, tilkiler, çakallar, kurtlar, yarasalar, primatlar, armadillolar ve diğer evcil hayvanlar çok yönlü rezervuarlar arasındadır ⁴⁹. Leishmaniasisin ormansal (sylvatik) iletimi, uygun vektörün varlığında insan yerleşimleri çevresinde ve çevresinde yerleşik yaban hayatı popülasyonlarının bir sonucu olarak gerçekleştirilir ⁵⁰. Köpekler ve kediler, kentsel alanlarda bu parazitlerin iletim döngülerine dahil olabilirler ve bu hayvanların varlığı ve sıklığı, insanlarda hastalık baskısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Kentsel ve peri-kentsel alanlarda, yaban hayatı ve insanlar arasındaki temasın sıklığı, dağınık karşılaşmalardan çevreyi kalıcı olarak paylaşmaya kadar değişmekte, bu da *Leishmania* parazitlerinin insanlara bulaşma şansını büyük ölçüde arttırmaktadır (Tablo 2) ⁵¹.

Tablo 2. Bazı endemik ülkelerde KL rezervuarları ⁵¹.

Bölge	Ülkeler	Rezervuar
Eski Dünya	Kuzey Afrika, orta ve batı Asya	Köpek, insan, kemirgen
	Etiyopya, Kenya	Kemirgenl, köpek, evcil hayvanlar, yarasalar, insan, kaya faresi
	Hint Yarımadası, (Hindistan, Nepal, Bangladeş) ve Doğu Afrika	Köpek, insan, kaya faresi, kemirgen
	Akdeniz havzası, orta batı Asya ve batı Afrika	Köpek, tilki, bazı kemirgen, insan
	Avrupa	Köpek, tilki
Yeni Dünya	Arjantin, Belize, Bolivya, Brezilya, Kolombiya, Kosta Rika, Dominik, Ekvador, El Salvador, Fransız Guyana, Guadeloupe, Guatemala, Guyana, Honduras, Martinik, Meksika, Nikaragua, ABD, Venezuela, Paraguay, Peru, Surinam, Panama	Köpek, kediler, kemirgen, keseliler, karıncayiyen, tilki, maymun, tembel hayvan, armadillo, kirpi, rakun, kızıl sincap

2.7. Epidemiyoloji

Leishmaniasis, Avustralya ve Antartika dışındaki her kıtadaki 98 ülkeyi kapsayan tropik, alt tropik ve Akdeniz havzasının geniş alanlarda endemik, dünyada 350 milyon kişi risk altında olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte yılda yaklaşık 12 milyon olgu ve yaklaşık her yıl 1.5 milyon KL vakası ve 500.000 VL vakası olmak üzere 2 milyon yeni vaka eklenmektedir (Şekil-5) ⁵².



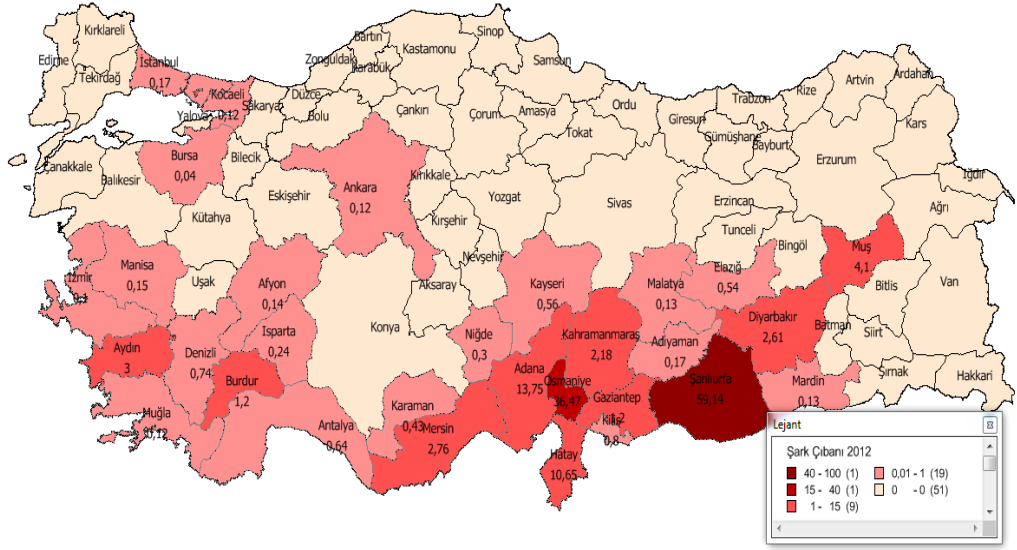
Şekil 5. DSÖ'nün 2015 yılında yayınlanmış KL coğrafyasını vurgulayan global bir harita ⁵².

DSÖ, leishmaniasisi ciddi bir şekilde ihmal edilmiş bir durum olarak gören ve gelişmekte olan veya kontrol edilemeyen hastalık kategorisi olarak sınıflandırmıştır. KL vakalarının büyük çoğunluğu Afganistan, Cezayir, Brezilya, Kolombiya, İran, Pakistan, Peru, Suudi Arabistan ve Suriye'de görülür ⁵³. Leishmaniasis coğrafik dağılımı, tatarcığın doğal yaşam alanlarına bağlı olarak değişir. Ekonomik gelişmişlik, yaygın kentleşme, ormanların yok olması ve kentsel alanlara göç sonucu yeni yerleşim yerlerinin kurulması *Leishmania*'nın vektörü olarak dişi tatarcık sineğinin yayılmasında neden olarak gösterilebilir. Son 25 yılda dünyada gözlenen leishmaniasis vakalarının sayısındaki artış, çeşitli faktörlerden bazıları da

küreselleşme ve iklim değişikliği leishmaniasisin endemik olmayan bölgelere yayılmasına katkıda bulunan iki faktördür. Örneğin son on yılda uluslararası gezginlerde (turistler ve iş adamları) leishmaniasis vakalarının sayısının arttığı bilinmektedir. Uzun yıllardır leishmaniasise karşı mücadele yapılmasına rağmen, hastalığın giderek yayılması devam etmektedir ^{54,55}. Hastalık rezervuarı olan köpeklerin başta kırsal alanlar olmak üzere her yerde bulunması ve vektörlerin bu kaynaktan alabilecekleri paraziti her zaman insanlara bulaştırma olasılığı, leishmaniasis yayılmasının önemli diğer nedenidir ⁵¹. Diğer bir risk faktörü savaş ve ülkelerdeki iç çatışmalardır ^{56,57,58}.

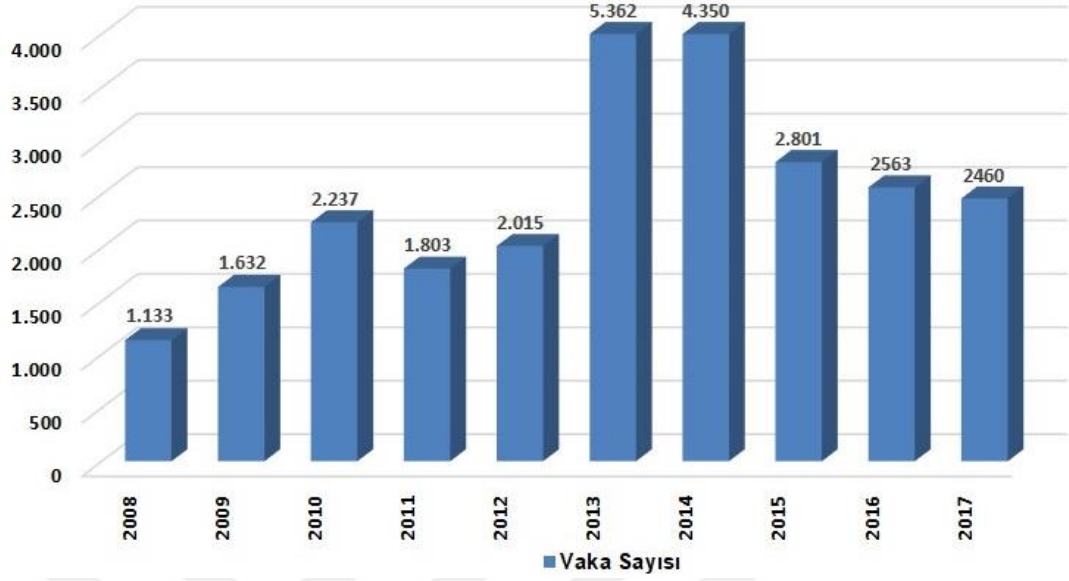
2.7.1. Türkiyede'ki Durum

Sağlık Bakanlığı verilerine göre hastalık son yıllarda giderek artış göstermektedir. Son 20 yılda ülkemizde görülen KL olgularının ortalama olarak % 45'i Şanlıurfa kaynaklı olup, Osmaniye, Adana, Hatay, Kahramanmaraş ve Mersin illerinden çok sayıda olgu bildirilmektedir (Şekil 6) ⁵⁹. KL endemik bölgelerden endemik olmayan bölgelere kalıcı veya mevsimsel göçlerin artması, ticaret ve turizm amaçlı seyahatlerin sıklaşması, endemik bölgelerdeki büyük tarım ve sulama projeleri, baraj ve petrol işletmelerinde giderek artan sayıda endemik olmayan bölge kökenli insanların çalışması gibi nedenlerle sınırlı bir hastalık olmaktan çıkmıştır ⁶⁰.



Şekil 6. KL İnsidans Haritası, 2012 ⁵⁹.

Ülkemizde *L. tropica*'nın etken olduğu antroponotik KL, zaman zaman epidemilerle karakterize olacak şekilde 1833 yılından beri bildirilmektedir. KL, ülkemizde 1950'li yıllardan önce özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yaygın şekilde görülüyorken, 1950 sonrası sıtma kontrolünde kullanılan dikloro difenil trikloroethan (DDT) nedeniyle azalan vektör popülasyonuna bağlı olarak olgu sayısı azalmıştır. Ancak 1960'dan sonra sıtma kontrol çalışmalarının yetersizliği, vektörlerin insektisitlere direnç kazanması gibi sebeplerle tekrar olgu sayısının arttığı bildirilmektedir ⁶¹. 1988-1999 yılları arasında 27.960 KL olgusu bildirilmiştir. SB'nin son verilerine göre ülkemizdeki 2008-2017 yılları arasındaki olgu sayıları Şekil 7'de verilmiştir. Bununla birlikte, gerçek sayının bildirilen sayılardan çok daha yüksek olabileceği tahmin edilmektedir. Dolayısıyla hem bu durum hem de yukarıda sayılan faktörlerin etkisi ile KL ülkemizin her bölgesinde karşılaşılabileceği bir hastalık haline gelmiştir ⁶².



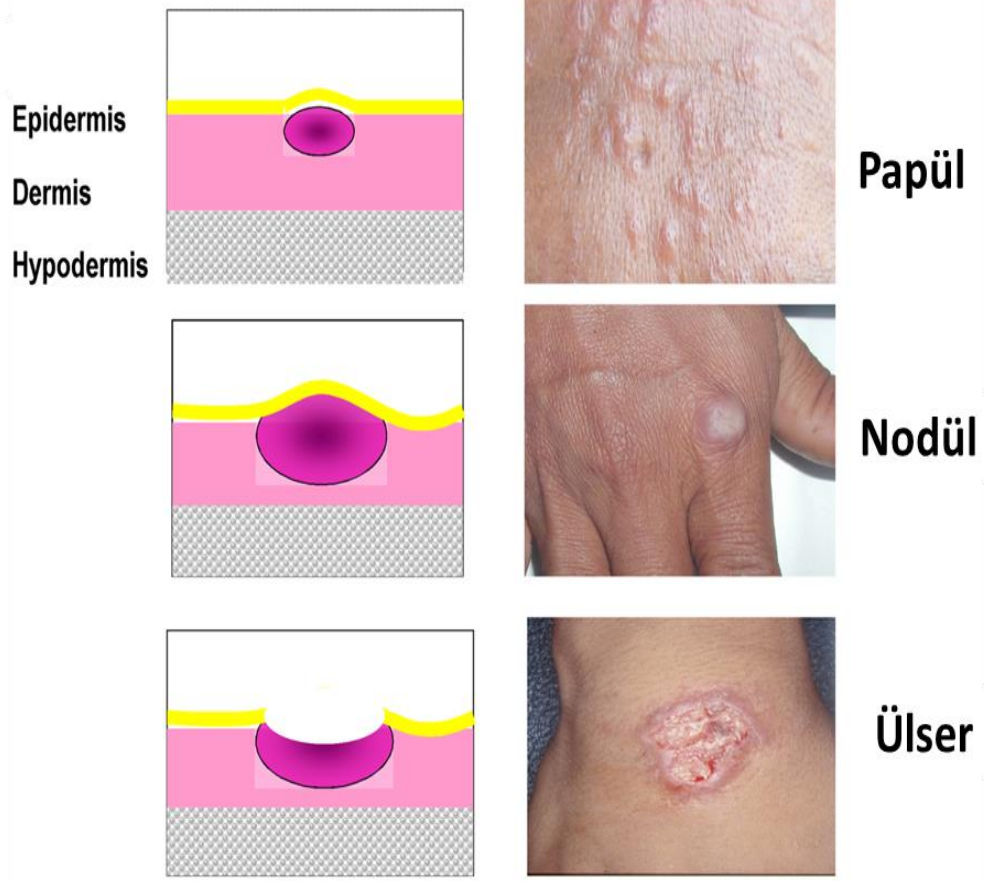
Grafik 1. KL Vakalarının Yıllara Göre Dağılımı, Türkiye, 2008-2017 ⁹.

2.8. Klinik Görünüm

Önceden infekte olmamış tüm kişiler KL açısından duyarlıdır. Lezyonlar çoğunlukla tatarcığın kan emdiği yerler olan vücudun açıkta kalan bölümleri özellikle kollar, yüz ve bacaklarda görülür. Enfekte tatarcıkların yaz aylarında kan emmesi nedeniyle infeksiyon kış sonu veya ilkbahar aylarında daha sık görülür. Lezyonun doğal seyri *Leishmania* türüne ve konağın hücresel immün yanıtındaki farklılıklara bağlı olarak değişir ⁶³.

2.8.1. Kutanöz Leishmaniasis

Genel olarak KL, tatarcığın kan emdiği vücut bölgesinde oluşur. En çok etkilenen bölgeler kulaklar, burun, üst dudak, yanaklar, bacaklar, eller, önkollar ve ayak bilekleridir ⁶⁴. KL, enfekte tatarcık kan emmesini takiben subklinik olarak kalabilir veya 1-12 haftalık inkübasyon döneminden sonra oluşan bir papül, nodüler plak ve sonrasında ülseratif lezyona dönüşür ⁶⁵. Lezyon, sivilce şeklinde başlar ve kişinin immün sistemi, *Leishmania* türü gibi faktörlerin etkisiyle bir-iki ay bu şekilde kalabilir. Lezyon, yaklaşık 6 ay içinde giderek genişler ve 1-4 santimetrelik çapa ulaşır ve ortasından ülserleşir. Ülser, sıkıca yapışmış bir kabukla kaplıdır ve bu kabuk kanatılmadan kaldırılırsa krem-beyaz renkte sivri yapılar görülebilir ki bu yapılara “Hulusi Behçet Çivi Belirtisi” denir. Bazı lezyonlar papül veya nodüller olarak kalmaktadır. Şekil 7’de KL’nin tipik lezyonları görülmektedir. Lezyonlar genellikle ağrısızdır, ancak özellikle ülseratif lezyonlar bakterilerle enfekte olduğunda veya lezyonlar eklem yakınıdaysa ağrılı olabilir ^{66,67}. Lezyona yakın damar endotellerinin istilası sonucu damar tıkanmaları ve sonrasında gelişen nekroza bağlı olarak, yaklaşık bir yıl gibi bir süre sonunda atrofik skar ile kendiliğinden iyileşir (şekil 8) ⁶⁸.



Şekil 7. KL'nin tipik lezyonlarının şematik ve klinik görünüşleri ^{66,67}.



Şekil 8. KL iyileştikten sonraki skar dokusunun görünümü ⁶⁸.

2.8.2 Diffüz Kutanöz Leishmaniasis

L. aethiopica ve *L. mexicana* kompleksi türlerinin etken olduğu bu form, parazit antijenlere karşı hücrel immün yanıtın olmaması durumunda ortaya çıkan (özgül immünolojik tolerans), kronik, ilerleyici, ülseratif olmayan, yaygın deri lezyonlarıyla karakterizedir. Genellikle sert eritematöz nodüller ve kırmızımsı kahverengi infiltratif pürüzsüz veya verrüköz plaklarla başlar. Deri lezyonları ülserleşebilir ve bazı durumlarda tüm cilt yüzeyini kaplayabilir (Şekil 9. A) ⁶⁹. Lenfödem, lenfadenopati ve ateş görülebilir. Orofarinks ve nazofarenks gibi mukozalar tutulduğunda ağrılı nodüllere ve hava yolu tıkanıklığına neden olabilir. ⁷⁰. DKL genellikle Orta Amerika, Amazon Brezilya, Venezuela, Etiyopya ve Kenya'da görülür ⁷¹. Bu klinik formu tedavi etmek çok zordur ⁷².

2.8.3. Muko-Kutanöz Leishmaniasis

L. braziliensis kompleksine ait türlerin etken olduğu, kısmi veya total nazal, ağız ve boğaz dokularının lezyonları ile karakterizedir. Bu klinik formun etken türleri, *L. braziliensis*, *L. guyanensis* ve *L. panamensis* içeren *L. braziliensis* kompleksidir aittir. “Olguların % 90’ı Bolivya, Brezilya ve Peru'dan bildirilmiştir. Endemik olduğu bölgelerde “Espundia” diye de bilinmektedir ^{73,74}.

Genellikle, lezyonlar burun mukozasında başlar ve ağız ve farenks mukoza, larinks ve burun ve dudak derisine yayılır. Ağız mukozasının lezyonları genellikle hafif klinik belirtilerden veya odinofajiden kaşeksiye kadar değişen bulgular gösterir ⁷⁵. Hastalığın erken döneminde, mukozaya yüzeysel ülser infiltrasyonu olur. Daha sonra ülserler geliştiğinde, sınırları nekrotik bir görünüme sahiptir ve yırtılarak ayrılır. Damak çatısı ve bademcikler tahrip olabilir. Sekonder enfeksiyonlar nedeniyle, bölgesel lenf düğümleri enfekte olabilir ve ağrılı hale gelebilir. Enfeksiyon burun boşluğunda olduğunda, nazal konkaların atrofisi ve kötü kokulu

kıkırdaklı septumun tahribi meydana gelebilir ve ağır olgular ölüme neden olabilir (Şekil 9. B) ⁷⁶.



Şekil 9. DKL (A), MKL (B)'un klinik görünümü ^{69,76}.

2.9. KL Olgularında Klinik Yaklaşım

KL her yaşta görülebilmekle beraber özellikle çocuklarda ve gençlerde daha sık görülmektedir. Lezyonlar tatarcığın kolayca ısırabilecekleri sıklıkla elbiselerle örtülmeyen vücut bölgelerinde, özellikle baş-boyun bölgesinde tek veya çok sayıda lezyonlar şeklinde gelişir ⁷⁷. Bazen aynı odada aynı gece ısırılma nedeni ile aile enfeksiyonu şeklinde gözlenebilir. Uzun süredir (en az 1 ay) iyileşmeyen, sekonder olarak bakterilerle infekte olmadıkça ağrısız, eritemli papül, nodül, nodülo-ülseratif, plak, ülser plak şeklinde lezyon, özellikle endemik bölgelere seyahat öyküsü açısından ayrıntılı anamnez alınmalıdır. KL, rahatsız edici lezyonları ve izleri, etkilenen bireylerin sosyal ve psikolojik işlevlerini ciddi şekilde etkiler ve kaygı, depresyon, vücut doyumunda azalmaya ve yaşam kalitesinin düşük olmasına neden olabilir ⁷⁸.

2.10. Tanı

KL, bazı cilt hastalarına fiziksel görünüm olarak benzeyebilir (akne, kan çıbanı, egzama, lupus eritromatoz, lupus vulgaris, tuberculosis verrucosus, frengi, leptomlu lepra, yumuşak yara, psoriasis, deri tümörleri) bu benzerlik bazen tanı koymada zorlaştırıcı olabilir ve buna bağlı olarak yanlış tedavilere neden olabilmektedir ⁷⁹. Bu nedenle KL tanısıyla uyumlu her olgu laboratuvar tanısı ile doğrulanmalıdır ⁸⁰.

2.10.1. Direkt Mikroskopi

Dalak, kemik iliği, karaciğer, deri lezyonu, lenf düğümünden invaziv (biyopsi materyaline dayalı tüm testler) yöntemlerle elde edilen örnekler ile periferik kandan ve buffy coat katmanından elde edilen örneklerde bu yöntem kullanılır. Elde edilen örneklerin Giemsa boyası ile boyanması sonucunda mikroskopta *Leishmania* parazitlerinin amastigot formunun görülmesi ile tanı konulmaktadır. Bunun için örnekler lama yayılıp fikse edildikten sonra Giemsa boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenir. Leishmaniasis infeksiyonunda mononükleer fagositik hücrelerin içinde 2-5 µm boyutundaki amastigotların varlığını saptamak oldukça güç olmaktadır. Amastigotların etrafını çeviren plazma membranı, koyu boyanan ve daha büyükçe bir çekirdek ile nisbeten küçük yine koyu boyanan ve DNA içeren çubuk şekilli kinetoplast ile ayırt edilebilmektedir. Hücre içerisinde veya dışarısında *Leishmania* amastigot formlarının görülmesi ile parazitolojik tanı konulur ⁸¹. Hızlı ve ucuz bir yaklaşımdır fakat gerçekleştirilmesi kolay olmayan invaziv yöntemdir. Parazit yükü üzerine kısmi bilgi verir fakat *Leishmania* formları arasında tür ayırımı yapılmasına izin vermez. Buna ek olarak, hassasiyet, biyopsideki parazitlerin sayısına ve dağılımına, ayrıca testleri yapan personelin örnekleme süreci ve teknik becerilerine bağlıdır. Yine de, endemik bölgelerde maliyet etkinliği ve sadeliği nedeniyle birincil sağlık hizmetleri için halen faydalı bir teşhis yaklaşımıdır ⁸².

2.10.2. Serolojik Yöntemler

KL tanısında Floresan antikor (FA), Doğrudan Aglütinasyon (DA), enzime bağlı Immunosorbent Assay (ELISA) ve western blot analizi gibi pek çok serolojik test kullanılmaktadır. KL tanısında serolojik yöntemlerle çok düşük titrede saptanabilen veya hiç saptanamayan antikorlar oluştuğu için, tanıda serolojik test tercih edilmemektedir ⁸³.

Ayrıca dermal tanı testleri olan leishmaniasis cilt testi (LCT) veya Montenegro testi, basitliği, duyarlılığı ve özgüllüğü nedeniyle KL tanısı için yararlı ve önemli bir araçtır. Bununla birlikte, *Leishmania* türlerinin tanımlanmasına izin vermez ve geçmiş ve mevcut infeksiyonları ayırt etmez, mevcut ve geçmiş infeksiyonu ayırt etmediği için endemik bölgelerde teşhis için endike değildir, ancak non-endemik bölgelerde yaşayan gezginlerin teşhisi için yararlı olabilir ⁸⁴.

2.10.3. Kültür Yöntemleri

Leishmania parazitlerinin doku aspiratları, kazıntıları veya biyopsilerinden in-vitro kültürü rutin teşhisler için önemlidir. Bu zaman alıcı ve gelişmiş bir laboratuvar düzeneği gerektiren bir yöntemdir. Kullanılan kültür ortamı monofazik olabilir (Schneider'ın besiyeri, M199, RPMI ve modifikasyonları RPMI 1629, RPMI 1630, RPMI 1640) veya bifazik olabilir (N.N.N). Öte yandan, *Leishmania* türleri arasında ayırım yapmak için geliştirilen bir dizi DNA bazlı ve protein esaslı yöntem için parazit kültürlerine ihtiyaç vardır ⁸⁵.

2.10.4. Moleküler Testler

Moleküler tanı yöntemlerinde, parazitin sadece nükleik asitlerinin (DNA ve ya RNA) aranmasına ve varlığına yönelik teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerden en bilineni ve sürekli gelişim göstereni Polimerase Chain Reaktion (PCR) tekniğidir ⁸⁶. Bu yöntemin diğer parazitolojik yöntemlerle karşılaştırıldığında

sağladığı avantajlardan bazıları şunlardır: Düşük bir parazit yüküyle bile özgüllük, sonuçların hızlı bulunabilirliği, farklı (biyopsi örneği, taze ya da arşivlenmiş deri örnekleri, Giemsa boyalı ya da boyasız yayma örnekleri) biyolojik materyallerin kullanılması ihtimali ve amastigotların ve promastigotların DNA'sını bulma imkânı sağlamaktadır ⁸⁷.

2.10.5. Deney Hayvanlarından *Leishmania* Parazitlerinin İzolasyonu

Alternatif bir tanı yöntemi, biyolojik materyalden izole edilen *Leishmania* parazitlerinin duyarlı bir BALB/c fare veya hamsterin ayak tabanı, burnu veya kuyruk tabanı içine aşılmasıdır. Biyopsinin histopatolojik değerlendirmesi bilgilendirici olabilir, ancak tanı için yeterli olmayabilir ⁸⁸.

2.11. Tedavi

KL çeşitli klinik belirtilerini yönetmek için evrensel bir tıbbi protokol yoktur. Aksine, tedavi genellikle bireyselleştirilir, enfekte edici *Leishmania* türlerine bağlı olarak seçim, hastanın bağışıklık sisteminin durumu ve İnfeksiyonun elde edildiği coğrafi konum bulgularını içerir. KL'un tedavi yaklaşımı, temel olarak mukozal yayılma riski ile birlikte hastanın cilt lezyonlarının;

- ✓ Lezyon boyutu: ≥ 4 cm
- ✓ Lezyon yerleşimi: vücut bölgelerinde yara izi oluşumundan (örneğin yüz, parmaklar, ayak parmakları, kulaklar, büyük eklemler) potansiyel olarak deforme olma
- ✓ Lezyon sayısı: 3 aktif lezyon
- ✓ Lezyon süresi: > 6 ay
- ✓ İlişkili tıbbi durumlar; diyabetes mellitus, gebelik, immünoşüpresyon (HIV dahil) ve kronik komorbiditeler (örneğin, konjestif kalp yetmezliği, orta ila şiddetli karaciğer hastalığı, böbrek fonksiyon bozukluğu)

- ✓ Yaş: ≥ 55 yıl
- ✓ Yerel yayılma veya yayılma enfeksiyonu
- ✓ Enfeksiyonun kazanıldığı coğrafi bölge

gibi klinik özelliklerine bağlıdır ⁸⁹.

Farklı türlere bağlı lezyonlar klinik seyir ve tedaviye cevap açısından da farklılık gösterir. *L.tropica* ve *L.major* 'un etken olduğu KL koruyucu immünite gelişir, tedavi edilmeksizin spontan iyileşme gerçekleşebilir (% 90 - % 95). Bu yüzden bu türlerin enfeksiyonlarında ilaç kullanılmaksızın özellikle endemik bölgelerde takibi yeterli olabilmektedir. Ancak iyileşmenin bir yıl ya da daha fazla süre alabilmesi nedeni ile özellikle endemik bölgelerde iyileşme süresinin azaltılması amacı ile lezyonun tedavi edilmesi önerilmektedir ⁹⁰. *L.mexicana* ve *L.brazilensis*'in neden olduğu MKL daha ciddi ve daha uzun sürelidir. *L.braziliensis* türü MKL hastalığına neden olduğu için bu türün tespit edildiği hastalara sistemik tedavi başlanılmalıdır ⁹¹. KL tedaviye başlamadan önce yarının sekonder enfekte olup olmadığı saptanmalıdır, eğer varsa ek olarak antibiyotik veya anti-fungal ilaçların da tedaviye eklenmesi gereklidir. Kullanılan ilaçlar lezyon içine veya eğer lezyonun yeri enjeksiyon yapmaya uygun değilse veya fazla sayıda lezyon varsa sistemik uygulama tercih edilmektedir. Mevcut seçenekler arasında, ısı ve kriyoterapiyi içeren lokal terapi ile sistemik parenteral ve sistemik oral terapi yer alır. Çoğu ülkede ilk tercih edilen ilaçlar, sodyum stiboglukonat (SbV) ve meglumine antimoniate gibi beş değerli antimon bileşikleridir. Sık kullanılan alternatifler miltefosin ve pentamidin yer almaktadır. Bu ilaçlar önemli toksisiteye ve yan etkilere neden olduğundan, tedavinin potansiyel riskleri ve yararları, her bir KL hastası için bir uzman tarafından dengelenmelidir ⁹².

2.11.1. Sistemik İlaç Tedavisi

2.11.1.1. Beş değerli Antimon bileşikleri

1940'lardan beri leishmaniasisin geleneksel tedavisinde sıkça kullanılan sodyum stiboglukonat (Pentostam®) intra venöz (IV) ve meglumine antimoniate (Glucantime®) intra müsküler (IM) olarak tercih edilir. Meglumin antimoniate IM ile günde bir kez enjeksiyonla verilir, ancak SbV yavaş IV enjeksiyon gerektirir. DSÖ tavsiyeleri, Önerilen doz, IM veya IV yolla 21-28 gün boyunca günde 15-20 mg SbV / Kg doz önerilir ⁹³.

Çeşitli yan etkiler bildirilmiştir; tedavinin başında ortaya çıkan ateş, artraljiler, miyaljiler, sindirim bozuklukları gibi hoşgörüsüzlük belirtileri, doza bağımlıdır ve tedaviyi durdurmaya neden olmaz. Bunun aksine, çoğu zaman ciddi olan stibio-toksisite belirtileri (kardiyotoksisite, pankreatit, hepatik sorunlar, pansitpeni ve nadiren böbrek toksisitesi) doza bağımlıdır ve ikinci haftaya kadar ortaya çıkar. Böylece gebelik, hepatik, kalp, böbrek yetmezliği gibi kontrendikasyonlar düşünülmeli ve yakın denetim altında tutulmalıdır ⁹⁴.

2.11.1.2. Amfoterisin B

1959'dan beri, amfoterisin B KL tedavisinde kullanılmaktadır. İki varyant mevcuttur: (Fungisone®), glikoz serum IV perfüzyonunda (yetişkinlerde <50 mg / gün; çocuklarda <25 mg / gün) ve lipozomal amfoterisin B (Ambiosome®) her 2 günde 1 mg/ kg /gün dozuyla reçete edilir. İkinci varyant, varsayılan güvenlik profili olarak kabul edildiğinden daha yaygın olarak uygulanmaktadır ve özellikle dirençli KL'un tedavisinde tercih edilir. Yüksek maliyet ve nefrotoksisite riski, endemik bölgelerdeki Amfoterisin B kullanımını sınırlıdır ⁹⁵.

2.11.2. İntralezyonel Tedavi

İnfekte lezyonun içine, yüksek konsantrasyonda SbV veya meglunim antimoniat şeklindeki beş değerli antimon bileşiklerinin verilmesidir. DSÖ, lezyonun

kenarlarının altında 1-3 ml'lik bir enjeksiyon önermektedir. Enjeksiyon her 5-7 günde 2-5 kez uygulanabilir. Enjeksiyon erken inflamasyonsuz lezyonlar için yararlıdır. Eski Dünya KL'nin endemik olduğu bölgelerde, lezyonun az sayıda özellikle yeni, basit olduğu durumda, lezyonun eklem hareketlerini kısıtlamayacak veya estetik açıdan risk taşımayan vücut bölgelerinde olduğunda ve lokal lenf nodu tutulumunun olmadığı lezyonlarda intra-lezyonel tedavi tercih edilmektedir ⁹⁶.

2.11.3. Oral Tedavi

2.11.3.1. Miltefosin

Miltefosin (MLT), 1980 yılında keşfedilen oral anti-tümör bir ajandır ve hematolojik toksisitesi nedeniyle hızla terk edilmiştir. 1992'de, iyi sonuçlara sahip anti-leishmanial bir ilaç olarak kabul ediliyordu. O zamandan beri, KL tedavisinde miltefosin (oral kullanımda 28 gün boyunca 50-100 mg/kg/gün) reçete edilmiştir ⁹⁷.

Pentamidine, Metronidazol, Azoller, Allopurinol, Rifampicine KL tedavisinde kullanılan diğer sistemik ilaçlardır.

2.11.4. Fiziksel Yöntemler

2.11.4.1 Kriyoterapi

Parazitin düşük sıcaklıklara duyarlılığı üzerine temel alan bu tedavi yöntemi sadece eski dünya KL'de özellikle küçük lezyonlarda tercih edilir. Ülsersiz lezyonlarda bir kriyospaz kullanılarak haftada bir kez (1 seansta 2 kez, 15-20 saniye dondurma süresi, 1 dakika eritilme) bir sıvı nitrojen uygulamasını kapsar. Yan etkileri arasında % 68 oranında hipopigmentasyon görülürken, 2-3 ay içinde repigmentasyon meydana gelmiştir. Ayrıca bazı hastalarda yeni uydu lezyonlar gelişebilir ⁹⁸.

2.11.4.2. Termoterapi

Yüz bölgesi dışında kalan küçük lezyonlarda tercih edilir. Lokalleştirilmiş kontrollü ısı (39-40 °C) ile lezyon bölgesine 30 sn müddettince uygulanır, işlem ağrılıdır ve lokal anestezi gerektirir⁹⁹.

Radyoterapi, CO₂ lazer, elektroterapi, Dinamik fototerapi, küretaj ve cerrahi eksizyon KL'da uygulanan diğer fiziksel yöntemlerdir.

2.11.5 Topikal Tedavi

Paromomisin, antibiyotiklerin aminoglikozid ailesine aittir. KL için iki topikal preparat mevcuttur. Yumuşak beyaz bir parafin bazda çözünen % 15 paromomisin sülfat, ya da % 12 metil benzotiyen klorür 10 gün boyunca günde iki kez uygulandığında etkinliğini gösterir. Yan etkiler nadirdir ve genellikle kaşıntı eritemi, ödem ve hassasiyet gözlenir¹⁰⁰.

2.12. Genel Korunma Önlemleri

Bir aşı veya kemoprofilaksi eksikliği KL önleme seçeneklerini sınırlar. Enfekte olmuş dişi tatarcık sineklerinin (vektör kontrol) sayısının azaltılmasıyla ya da yaygın olarak zoonotik (rezervuar kontrolü) hastalığın bulunduğu bölgelerde hayvan rezervuarının indirgenmesiyle önlenabilir. Dişi tatarcık sineklerinin üreme, dinleme, ve beslenme ortamlarının farklı olması, erişkin ve larvaları ile yapılacak mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Organik besinlerin bol olarak bulunduğu nemli olan her ortamda büyüyebilmekte, erişkinleri gündüzleri karanlık, rüzgar almayan her yerde saklanabilmektedir^{46,47}.

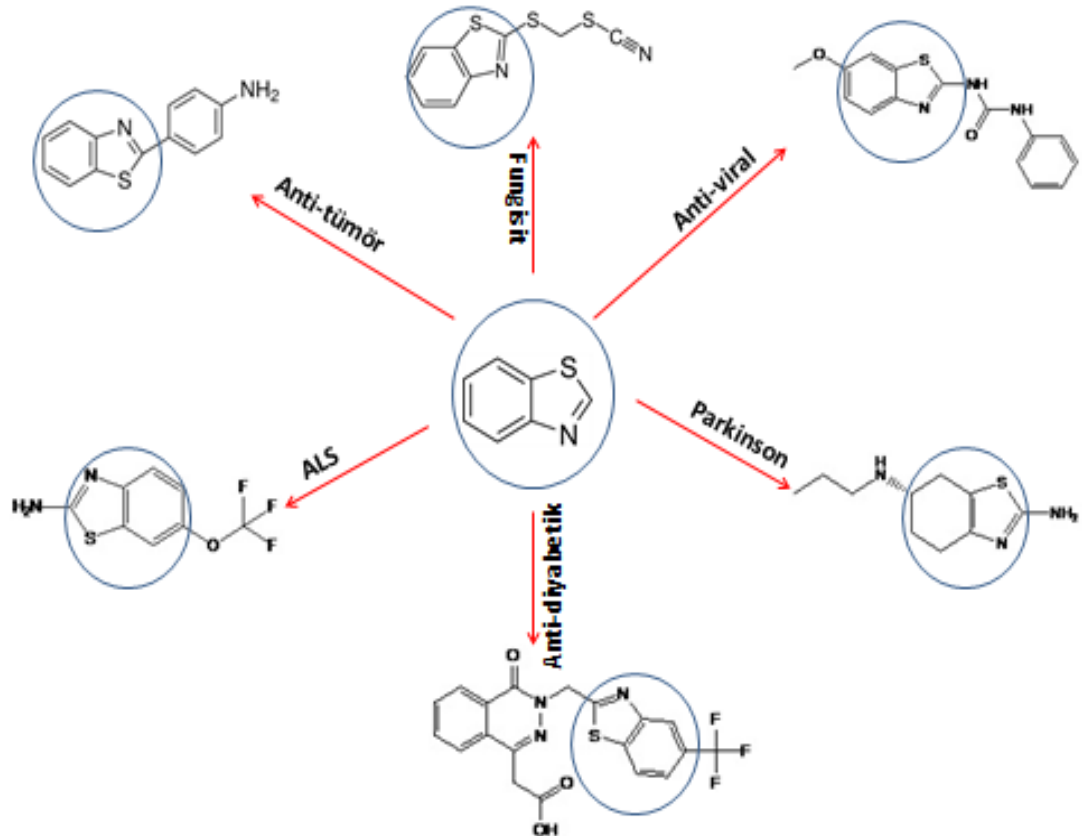
Özellikle endemik bölgelerde, dişi tatarcık sineklerin en aktif olduğu akşam karanlığı ile şafağa kadar olan zamanda mümkün olduğunca açık hava etkinliklerinden kaçınmak, vücudun açıkta kalan bölgelerine böcek ilacı püskürtmek, klimalı ve iyi ışık alan alanlarda yatmak ve yatak odalarında cebinlik kullanmak, dişi tatarcığın ısırığına karşı koruma sağlayabilir¹⁰¹.

İnsektisit kullanımı erişkin dişi tatarcıkların olası dinlenme yerleri olan evlerin içinde, dışında, hayvan barınaklarında, evlerin çevresindeki ağaçların kovukları, ve kemirgen yuvalarında insektisitlerle koruma yapılabilir. Yatak ağlarının etkinliği, piretroid içeren bir insektisit ile muamele edilerek artırılabilir,

aynı muamele pencereler, perdeler, çarşaf lar ve giysiler için de uygulanabilir. KL endemik bölgelerde bilgilendirme toplumları önleyici tedbirlerin daha iyi alınmasına, daha düşük riskli davranışa ve daha erken yardım arama davranışlarına, etkili tanı ve tedaviye yol açmaktadır ¹⁰².

2.13. BTA

BTA yapısı kükürt, azot atomları ve tiyazol halkası eklenerek birçok farmakolojik ve biyolojik olarak aktif bir bileşik oluşturur. BTA, çeşitli farmakolojik özellikler gösteren ve analogları, yeni tedavi rejimlerinin araştırılmasında yararlı olduğu kanıtlanmış yüksek derecede yapısal çeşitlilik sunar. BTA çeşitli doğal ürünlerin ve farmasötik ajanların ortak ve ayrılmaz özelliği olan önemli bir heterosiklik bileşiktir ¹⁰³. Heterosiklik bileşikler, biyolojik ve farmakolojik olarak ilgi çekici birçok bileşiğin çekirdek yapısını oluşturur ¹⁰⁴.



Şekil 10. BTA'nın bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların kimyasal yapısındaki farmakolojik faaliyetleri ¹⁰⁴.

BTA çeşitli deniz ve karasal doğal bileşiklerden (derin deniz balıkları, ateşböceği, kızılçık ve bazı mantarlarda) ya da sentetik olarak izole edilebilir. Son yıllarda heterosiklik bileşikler ve türevleri, bunların yararlı biyolojik ve farmakolojik özellikleri tıbbi kimyadaki ayrıcalıklı yapılardan biri olduğundan BTA ve türevleri yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Mevcut bilimsel literatürlerde bildirilen bu bileşikler sınıfı ile ilişkili önemli tıbbi aktiviteler; anti-leishmanial ¹⁰⁵, anti-viral ¹⁰⁶, anti-bakteriyel ¹⁰⁷, anti-mikrobiyal ¹⁰⁸ ve anti-malariyal ¹⁰⁹ gibi farmakolojik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca anti-tümöral ¹¹⁰, anti-inflamatuar ¹¹¹, anti-helmintik ¹¹² ve anti-HIV ¹¹³ etkinliği ile ilgili önemli çalışmalar yapılmıştır.

2.14. Hastalığın Ekonomiye Etkisi

Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) / İstatistik Bilgi İşlem Daire Başkanlığı Bilgi Edinme Birimi ile yapılan yazışmalarda hastalığın ekonomimize olan etkileri sorulmuş ve bu kurumdan; “Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Bulaşıcı Hastalıklar Kontrol Programları Başkan Yardımcılığı bünyesinde vektörel yolla bulaşan infeksiyonların, ekonomimize zararları kapsamında herhangi bir veri toplanmamaktadır” cevabı alınmıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. BTA'nın Sitotoksik Potansiyelinin Belirlenmesi

3.1.1. İlaç ve Konsantrasyonları

Araştırmada kullanılan BTA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) ticari olarak satın alınmıştır. BTA, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M konsantrasyonlarda PBS içerisinde hazırlanarak kullanılmıştır.

3.1.2. L929 Fare Fibroblast Hücrelerinin Kültürü

Sitotoksisite çalışmaları, memelilerde en baskın hücre tipi olması, kolay kültüre edilebilmesi ve ikiye bölünme süresi 24 saat olduğu için fibroblast hücreleri kullanıldı. L929 fare fibroblast hücreleri (ATCC cell line, NCTC clone 929) % 10 Fetal calf serumu (FCS) ve 2 mM/mL L-glutamine içeren in Dulbecco's minimum Eagle medium (DMEM) (Sigma, St. Louis, MO, USA) içerisinde ve 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatör ortamında kültüre edildi. Kültür besiyeri içerisine antibiyotik eklenmedi.

Çalışma süresince kullanılacak L929 hücre serisinin devamının sağlanması ve çoğaltılması için pasajlar yapıldı. Pasaj işlemi kısaca, hücrelerin kültür tabanından kaldırmak için önce Fosfat buffer saline (PBS) ile yıkandı ve sonrasında Tripsin/EDTA solüsyonu (0,05 trypsin+%0,02 EDTA, WISENT Inc St. Bruno, Quebec, Canada) ile muamele edilerek hücreler yapıştığı yüzeyden ayrılması sağlandı. PBS içermeyen DMEM ilave edilerek tripsin aktivasyonu durdurulduktan sonra hücre süspansiyonu yeni kültür kaplarına bölünerek besiyeri eklendi. Çalışmada L929 fibroblast hücre serisinin 4 ile 9. pasajlar arasındaki saf hücreler kullanıldı (Şekil 11).

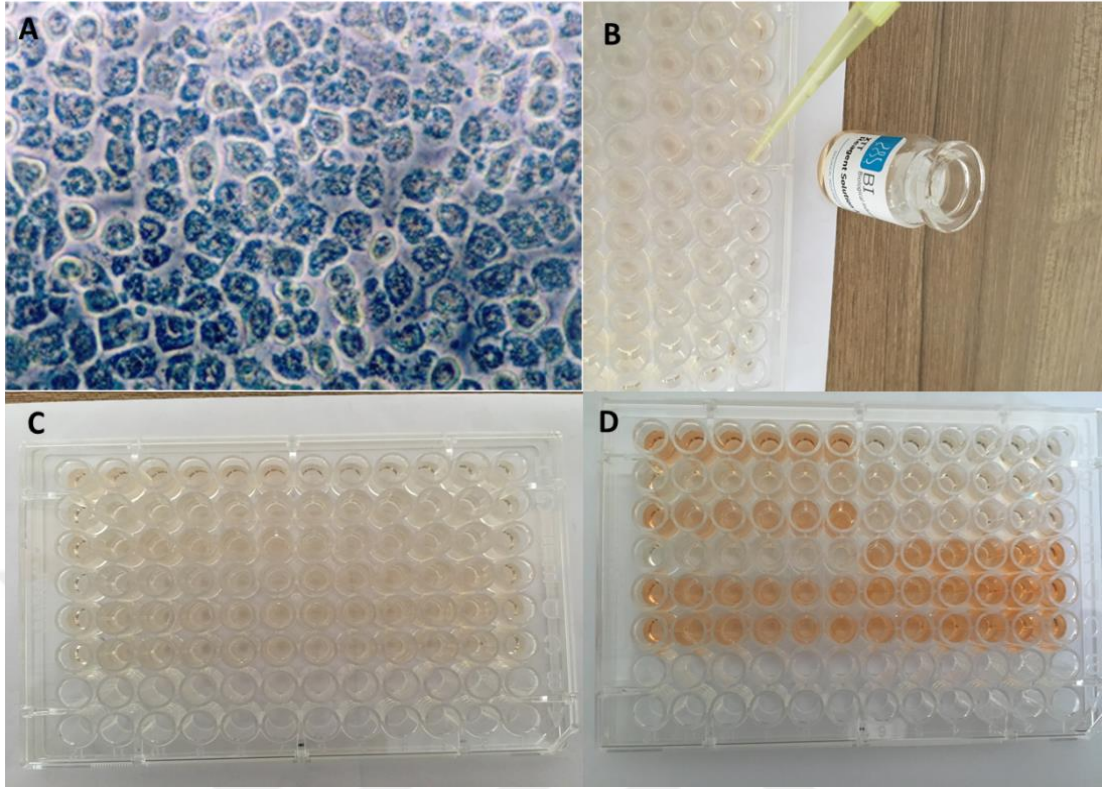
3.1.3. Sitotoksisite Testi

BTA'nın 4 farklı konsantrasyonun (10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M) sitotoksik potansiyelleri XTT; (2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide) testi ile araştırıldı. BTA konsantrasyonları ISO 10993-5 numaralı protokolünde belirtildiği üzere fenol red içermeyen DMEM içerisine, FBS ve L-glutamin eklenen besiyeri ile hazırlandı.

Sitotoksisite analizi, Hücre Proliferasyon Reaktifi XTT (Biological Industries, ABD) kullanılarak, kültür ortamına eklenen tetrazolyum tuzlarının bölünmesiyle canlı hücrelerin sayısını analiz eder. Analiz sırasında tetrazolyum tuzları, hücresel enzimler tarafından formazana ayrılır. Canlı hücrelerin sayısındaki artış ile mitokondrial dehidrogenaz enziminin miktarında da bir artışa sebep olur. Enzim aktivitesindeki bu artış, formazan boyası miktarında bir artışa neden olmakta, bu da kültürdeki metabolik olarak aktif hücre sayısı ile doğrudan ilişkilidir¹¹⁴.

Hücreler, hücre konsantrasyonu 1×10^5 hücre/mL olacak şekilde hazırlandı ve 96 kuyucuklu hücre kültürü plaklarına kuyucuk başına 100 µL'lik bir son hacimde dağıtıldı. Hücreler daha sonra 24 saatlik inkübasyon sonrasında (37°C , % 5 CO_2 ortamında), 10 µL Hücre Proliferasyon Reaktifi XTT, her kuyucuğa 10 µL eklendi (Şekil 11B) ve 2 saat inkübe edildi (Şekil 11C). İnkübasyon sonrasında örneklerin ve kontrolün absorbansı (Şekil 11D), mikrotitre plaka okuyucusu (Thermo Scientific Microplate Photometer, Multiskan FC, ABD) ile 450 nm'de ölçülmüştür.

Sitotoksisite değerlendirmesi, her konsantrasyon için 8 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin optik yoğunluğu (OD), aşağıdaki gibi, canlılık yüzdesini elde etmek için negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır; hücre canlılığı (%) = $[(\text{OD}_{450} (\text{örnek}) / \text{OD}_{450} (\text{negatif kontrol})) \times 100]$.



Şekil 11. Benzothiazolün sitotoksik potansiyelinin belirlenmesinde kullanılan XTT yönteminin aşamaları. **A.** L929 fare fibroblast hücrelerinin 400x büyütmedeki görünümü. **B.** Hücre Proliferasyon Reaktifi XTT solüsyonunun kuyucuklara eklenmesi. **C.** XTT solüsyonu eklendikten sonraki görünümü. **D.** XTT solüsyonu eklendikten 2 saat sonraki görünümü.

3.2. Deneysel KL Modelinin Oluşturulması

3.2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan erkek 6-8 haftalık BALB/c fareleri, Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalara ve Uygulamalar Merkezinden (DEKAM, Kayseri, Türkiye) elde edildi. Hayvanlar, yiyecek ve suya serbestçe erişebilecek koşullar altında muhafaza edildiği, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Biriminde tutuldu. Hayvan bakımı ve tüm deneyler, etik komite tarafından bölümün hayvan haklarıyla ilgili bir protokole uygun olarak yürütülmüştür. Hayvanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışıklandırması olan, ısı ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) ve

nemi (% 45-% 50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatılmıştır. Deneye başlanmadan önce hayvanların bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu adaptasyon sürecinde tüm fareler polikarbonat şeffaf kafeslerde standart yem ile beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir.

Deney hayvanlarına uygulanacak protokol, Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol No: T-712)

3.2.2. Parazit İnokülasyonu

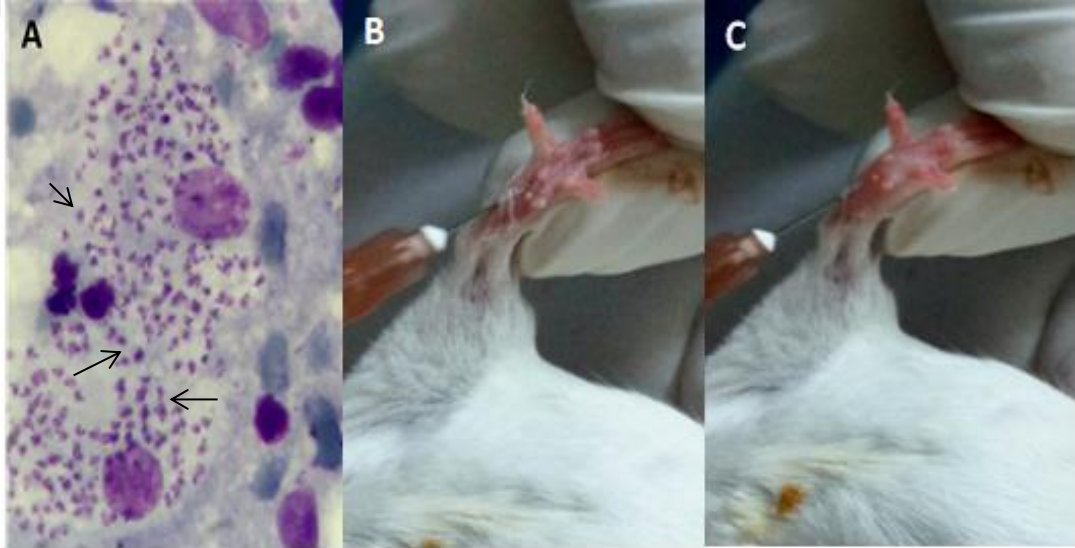
Araştırmamızda kullanılan *L. major* MHOM/TR/2013/MANİSAPB145 suşu Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi parazit bankasından temin edildi. KL'li donör farelerin ayak tabanından izole edilerek inokülasyon yapıldı.

3.2.3. Deneysel KL Oluşturulması

Deneysel KL oluşturma basamakları aşağıdaki verilen şekildedir:

- I. KL oluşturulmuş olan donör farenin enfekte ayağı, kesilmeden önce % 70 etanol kullanılarak temizlendi.
- II. Ayak, steril bir bisturi ve makas kullanılarak cilt, kıl ve tırnaklardan temizlenerek kesildi.
- III. Ayakta bulunan lezyon kesilerek %10 at serumu (Sigma, H0146) içeren RPMI-1640 (Sigma, R8758) besiyerinden 5 mL eklendi ve steril bir cam baget yardımıyla homojenizasyonu sağlandı.
- IV. Homojenize edilen sıvı süzülerek doku parçalarında arındırıldı ve üzerine PBS eklenerek 800 rpm hızında 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant atıldı ve bu işlem 2 kere daha tekrarlandı. Böylece parazitten zengin inokülasyon sıvısı oluşturuldu.

- V. Anestezi altındaki farelerin ayak tabanlarına, amastigot yoğunluğu 1×10^8 /mL olan (Şekil 12 B) inokülasyon sıvısından 50 μ L 27.5-gauge enjektör kullanılarak farelerin ayak tabanına intradermal olarak enjekte edildi (Şekil 12 C).
- VI. Parazit inokülasyonundan 3 hafta sonra, BALB/c farelerin ayak tabanlarında oluşan KL lezyonları (Şekil 13) kumpas ile ölçülerek birbirlerine yakın büyüklükteki lezyonlar çalışmaya alındı.



Şekil 11. *Leishmania* amastigotları içeren inokülasyon sıvısının fare ayak tabanına deri altı enjeksiyonu. İnokülasyonun sıvısı mikroskopik görünümü (A), 27,5 Gauge enjektör ile deri altına giriş (B), inokülasyonun tamamlanması (C) (Orijinal).

3.3. BTA Tedavisi

3.3.2. Deney Grupları

Ayak tabanlarında KL lezyonu olan 48 fare rastgele 6 gruba ayrıldı ve çalışmada 4 deney grubu, 2 kontrol grubundan oluşacak ve non-enfekte 4 fare çalışmaya alındı; Deney grubu ve tedavi grubunda n=8'er, enfekte edilmeyen grup n=4 olmak üzere, toplam 52 fare bulunacaktır.

Lezyonlar kumpas ile ölçülerek aynı büyüklükteki lezyonlar çalışmaya alındı. BTA, KL oluşturulmuş farelere 4 farklı konsantrasyonu (10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M) tek doz 100 µL olarak, lezyon içine uygulandı ve 4 hafta boyunca lezyon büyüklüğü kumpasla ölçülerek tedaviye etkisi takip edildi. İnfekte Balb/c farelerinin BTA tedavisi sonrası kontrol gruplarıyla karşılaştırılacaktır.

Miltefosin (MLT) tedavi grubuna referans ilaç olarak 10 gün boyunca 25 mg/kg/gün oral miltefosin, pozitif kontrol grubuna (tedavi edilmeyen enfekte grup) lezyon içine tez doz %0.09 (w/v)'luk sodyum klorid solüsyonu verildi, enfekte edilmeyen gruba hiçbir işlem yapılmadan bırakıldı. İşlemler esnasında hayvanlara sedasyon sağlamak için intraperinal olarak % 10'luk ketaminden (Ketalar, Pfizer) 60 µL olarak uygulandı. Çalışmada kullanılacak deney grupları, tedavi dozları, tedavi uygulama şekli ve hayvan sayıları Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılacak deney grupları, tedavi dozları, tedavi uygulama şekli ve hayvan sayıları.

Grup	Tedavi Dozu	Tedavi uygulama şekli	Hayvan Sayısı
Grup I	10 ⁻⁴ M BTA	Lezyon içi - tek doz	8
Grup II	10 ⁻⁵ M BTA	Lezyon içi - tek doz	8
Grup III	10 ⁻⁶ M BTA	Lezyon içi - tek doz	8
Grup IV	10 ⁻⁷ M BTA	Lezyon içi - tek doz	8
Grup V (Kontrol-tedavi edilen enfekte grup)	MLT (25 mg/kg/gün)	Oral – 10 gün	8
Grup VI (Kontrol-tedavi edilmeyen enfekte grup)	%0.9 (w/v) –Sodyum klorid	Lezyon içi - tek doz	8
Grup VII (Kontrol-enfekte edilmeyen grup)	-	-	4

BTA: Benzothiazole, MLT: Miltefosin

3.4. Tedavinin Etkisinin Belirlenmesi

Tedavinin etkisi, tedaviye başladıktan sonra 4 hafta takip edildi. Tedavi etkinliği, KL lezyon büyüklüğü ve histopatolojik değerlendirme ile yapıldı.

3.4.1. Lezyon büyüklüğü

Klinik değerlendirme fare ayak tabanlarındaki lezyonların, kontralateral olarak, tedavi süresi (4 hafta) boyunca, her hafta, dijital kumpas (Stilson Dijital

Kumpas 150 mm) kullanılarak ölçüldü. Lezyon alanları mm olarak ifade edildi ve ölçüm kaydedildi. Stereo mikroskop (Olympus Binoküler mikroskop CX41) ile 4x objektikte ayak tabanındaki lezyonların fotoğrafları çekildi (Şekil 13). Tedavinin etkisi, tedavi edilmemiş enfekte kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında, lezyonların boyutundaki azalmaya göre, klinik olarak değerlendirildi. Bununla birlikte lezyonun sekonder infeksiyonu ve mortalite günlük olarak kontrol edildi.



Şekil 12. BALB/c farelerinin ayak tabanı dijital kumpas ile ölçümü (Orijinal).

3.4.2. Histopatolojik Değerlendirme

28 gün sonra, fareler anestezi madde uygulanarak sakrifiye edildi; Fare ayak tabanındaki KL lezyon bölgesi ve lezyon çevresindeki cilt alınıp serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra % 10'luk tamponlanmış nötral formalin fiksatifi ile tespit edildi. Dokular, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarında, rutin ışık mikroskopik işlemlerden geçirildikten sonra, blokları hazırlanarak 4 mm kalınlığında kesitleri alındı ve lamlara monte edildi. Preparatlar Hematoksilen&Eozin boyası ile boyanarak, histopatolojik olarak değerlendirildi.

Dokulardan hazırlanan preparatlar doku zararı ve inflamasyona ek olarak, nekroz ve ülser oluşumu açısından Tablo 4’te verilen şekilde derecelendirildi.

Tablo 4. Histopatolojik değerlendirilmede kullanılan derecelendirme.

Derece (D)	Histopatolojik bulgular
D0	Doku zararı yok İnflamasyon yok
D1	Hafif doku zararı Nekroz veya ülserin oluşmadığı granüloamatöz inflamasyon varlığı
D2	Orta derecede doku zararı Ülserin oluşmadığı nekroz ve granüloamatöz inflamasyon varlığı
D3	Şiddetli doku zararı Nekroz ve ülserle birlikte granüloamatöz inflamasyon varlığı

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

- i. **Sitotoksisite sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi:** Her bir konsantrasyon için 6 tekrardan ortalama \pm SD olarak ifade edilen sonuçlar, çoklu karşılaştırmalar için % 95 güven seviyesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve iki grup karşılaştırmaları için Student t testi kullanılarak, istatistiksel olarak analiz edildi. Yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı.
- ii. **Tedavinin etkisinin istatistiksel değerlendirilmesi:** Sonuçlar ortalama \pm SD olarak analiz edilmiştir. Sonuçlar, çoklu karşılaştırmalar için % 95

güven seviyesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve iki grup karşılaştırmaları için Tukey testi kullanılarak, istatistiksel olarak analiz edildi. Yanılma düzeyi üç şekilde (* Sig. $p<0.05$, ** Sig. $p<0.01$, *** Sig. $p<0.001$) ifade edildi.

3.6. Beklenen Yararlar/Uygulamaya Aktarma/Ekonomiye Katkı

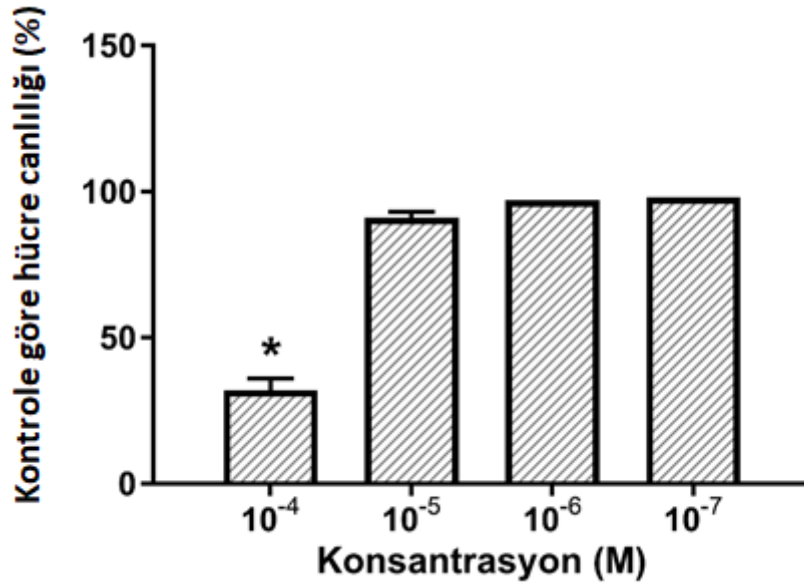
Ülkemizde son yıllarda KL vakalarının sayısında önemli bir artış görülmüştür. İnsanların endemik bölgelere seyahatlerinin çoğalması ve Suriye'den gelen göçmen sayısının artmasıyla endemik olmayan bölgelerde de KL görülmeye başlamıştır. Bu yönüyle leishmaniasis artık endemik olmayan bölgeler için de önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavi girişimleri başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Uygulanan tedaviler sonucunda yara yerinde bir skar dokusu kalmaktadır. Bu çalışmada KL tedavisine BTA'nın etkisi araştırılacaktır. Çalışmamız sonucunda KL olgularında faydalanılabilecek etkili bir tedavi yöntemi literatüre kazandırılacak, bu yöntem birçok hastane ve kliniklerde kullanılabilecektir.

4. BULGULAR

4.1. BTA'nın Sitotoksik Potansiyeli

BTA'nın, 10^{-4} M, 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M konsantrasyonlarının XTT metodu ile L929 fare fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksitesi değerlendirildi. BTA'nın 4 konsantrasyonunun ve kontrolün 450 nm'de 6 tekrarlı olarak yapılan absorbans ölçüm değerleri tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

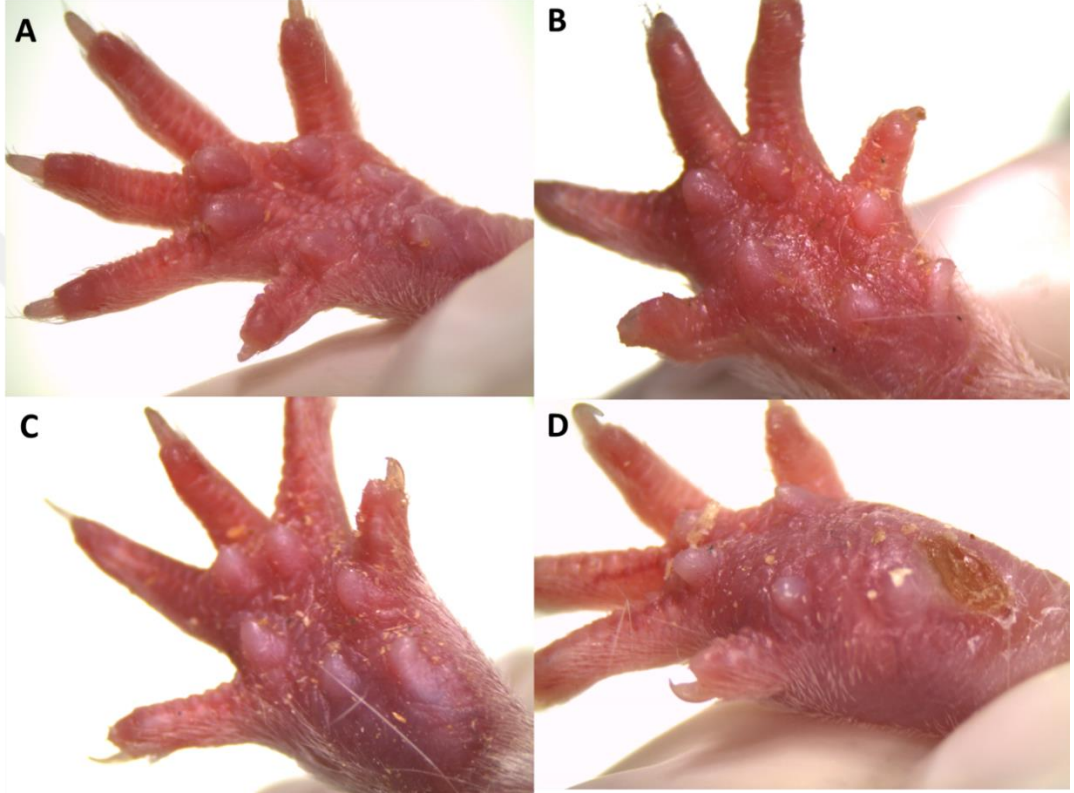
Araştırmamızda BTA'nın 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M konsantrasyonlarının hücreler üzerine negatif etki göstermediği, kontrole göre canlılık yüzdesinin sırasıyla % 91, % 94 ve % 98 olduğu belirlenmiştir. Bu üç konsantrasyon, kontrole karşılaştırıldığında fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). BTA'nın 10^{-4} M konsantrasyonunda canlılık oranı % 32 olarak bulunmuş olup, veriler kontrole kıyaslandığında, fark anlamlı ($p<0.05$) ve bu doz sitotoksik olarak değerlendirilmiştir (Grafik 2).



Grafik 2. BTA'nın 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} M konsantrasyonlarının XTT metodu ile L929 fare fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksitesi. * $P<0.05$ vs kontrol.

4.2. Deneysel KL Modeli ve Tedaviye Etkisi

Bütün deney gruplarında, *L. major* amastigotları inoküle edilen ayak tabanlarına, ilk hafta sonundan itibaren basit bir şişlik şeklinde başlayan KL lezyonları şekillenmeye başladı ve 3 hafta sonunda kademeli olarak maksimum seviyeye ulaştı (Şekil 14. A-D).



Şekil 13. Balb/c fare ayak tabanında deneysel KL lezyonlarının 3 haftalık oluşum süreci. A. Normal ayak, B. 1. hafta sonundaki genel görünüm, C. 2. hafta sonundaki genel görünüm, D. 3. hafta sonundaki genel görünüm (x4 Orijinal).

Lezyonlardaki değişimler haftalık olarak 4 hafta boyunca dijital kumpas ile ölçülerek tedaviye etkisi takip edildi. Enfekte Balb/c fareleri BTA tedavisi sonrası, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı.

İnfekte kontrol grubunda (Grup VI) 1. ve 2. haftalarda lezyon büyüklüğünde artış görülürken, 2. ve 3. haftalarda lezyonlarda gerileme tespit edilmiştir. MLT ile tedavi edilen kontrol grubunda (Grup V) da 4 hafta boyunca lezyon büyüklüklerinde gerileme belirlendi. Bu gruptaki lezyon büyüklük ortalamaları ile tedavi edilmeyen

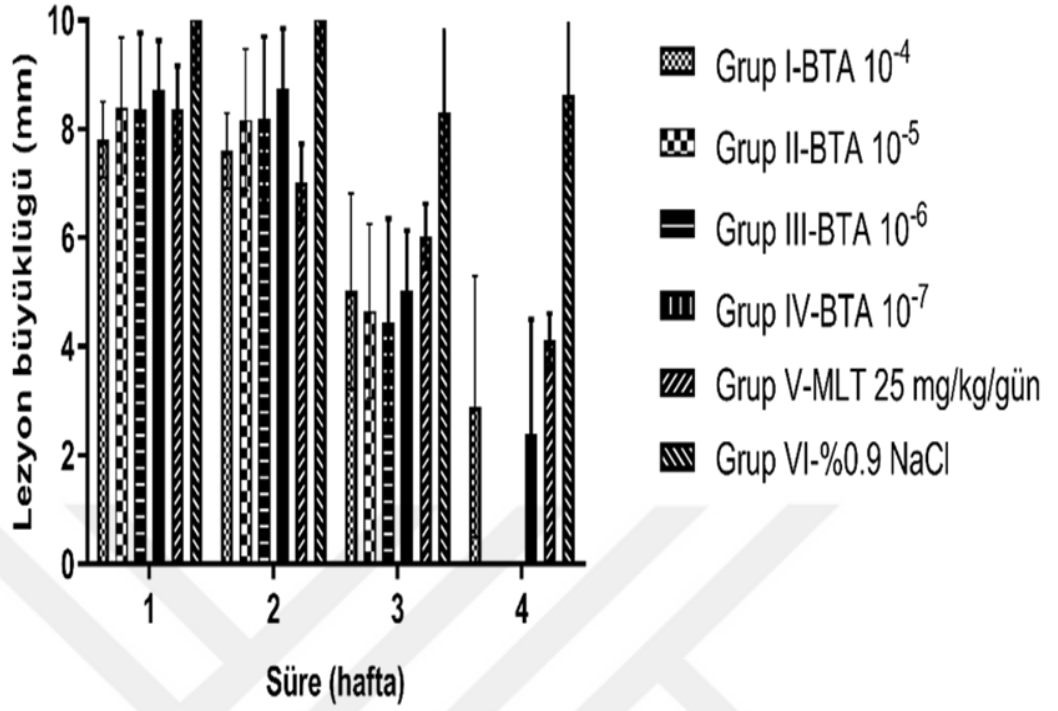
kontrol grubundaki lezyon büyüklüğü ortalamaları kıyaslandığında, sadece 4. haftada anlamlı bir farklılığın olduğu belirlendi ($p=0.001$) (Tablo 7).

BTA ile tedavi edilen bütün gruplarda lezyon büyüklüğünün zamana bağlı olarak azaldığı tespit edildi. BTA ile tedavi edilen grupların lezyon büyüklük ortalamaları, tedavi edilmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 1. haftada BTA 10^{-4} M (Grup I) grubu ($p=0.004$), 2. haftada BTA 10^{-4} M (Grup I), BTA 10^{-5} M (Grup II) ve BTA 10^{-6} M (Grup III) grupları, 3. ve 4. haftada ise BTA'nın tedavide uygulanan dört konsantrasyonu ile, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde, azaldığı tespit edilmiştir. Dördüncü hafta sonunda yapılan incelemede, BTA 10^{-5} M (Grup II) ve BTA 10^{-6} M (Grup III) gruplarında ayak tabanlarının tamamen normal görünümde olduğu ve klinik görünümün infekte edilmeyen grupla (Grup VII) aynı olduğu gözlemlendi. BTA 10^{-4} M (Grup I) ve BTA 10^{-7} M (Grup IV) lezyon büyüklüklerinin çok azaldığı görülürken; lezyon büyüklük ortalamaları tedavi edilen ve edilmeyen gruplara göre, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde, düşük olduğu belirlendi. Deney ve kontrol gruplarında fare ayak tabanlarında oluşturulan KL lezyon büyüklüğündeki değişimler (ortalama \pm SD), **Tablo 5** ve **Grafik 3**'te verilmektedir.

Tablo 5. Araştırma süresince deney gruplarında ayak tabanlarındaki lezyon büyüklükleri istatistiksel değerlendirmesi (mm).

Tedavi Haftaları	Grup I: BTA 10 ⁻⁴ M	Grup II: BTA 10 ⁻⁵ M	Grup III: BTA 10 ⁻⁶ M	Grup IV: BTA 10 ⁻⁷ M	Grup V: MLT 25 mg/kg/gün	Grup VI: %0.9 NaCl
1. hafta	7.80±0.7	8.39±1.3	8.37±1.4	8.73±0.9	8.36±0.8	10.07±1.2
İstatistiksel anlamlılık	Grup VI**	-	-	-	-	Grup I**
2. hafta	7.6±0.7	8.17±1.3	8.20±1.5	8.75±1.1	7.03±0.7	10.43±1.2
İstatistiksel anlamlılık	Grup VI***	Grup VI**	Grup VI**	-	Grup V***	Grup I***, II**, III**, V***
3. hafta	5.02±1.8	4.65±1.6	4.45±1.9	5.04±1.1	6.03±0.6	8.30±1.5
İstatistiksel anlamlılık	Grup VI**	Grup VI***	Grup VI***	Grup VI**		Grup I**, II***, III***, IV**
4. hafta	2.9±2.4	0	0	2.4±2.1	4.11±0.5	8.63±1.3
İstatistiksel anlamlılık	Grup VI***	Grup VI***, V***	Grup VI***, V***	Grup VI***, V***	Grup VI**	Grup I***, II***, III***, IV***, V**

BTA: Benzothiazole, MLT: Miltefosin, NaCl: Sodyum klorid. Bütün veriler ortalama±SD şeklinde verilmiştir * Sig. p<0.05, ** Sig. p<0.01, *** Sig. p<0.001



Grafik 3. BTA ve kontrol gruplarındaki Balb/c farelerin ayak tabanında oluşturulan KL lezyon büyüklüklerinin ortalamalarının zamana bağlı değişimleri.

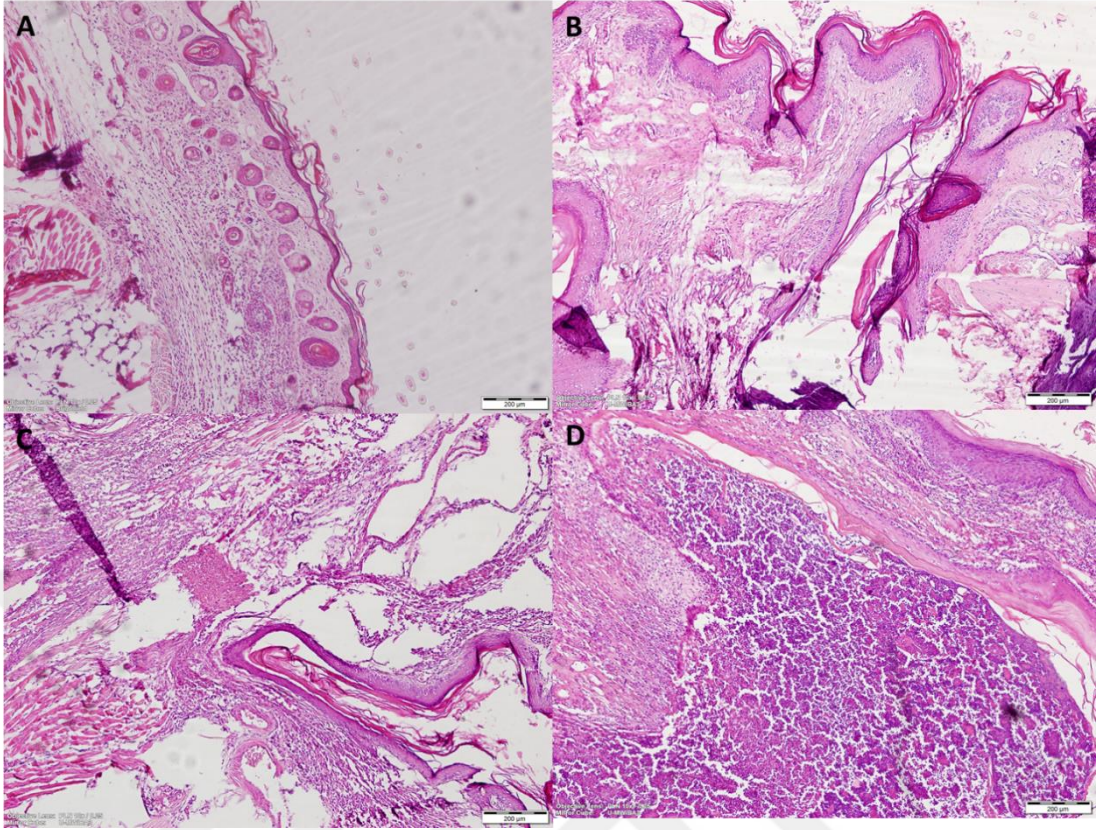
4.3. Histopatoloji

Dördüncü haftanın sonunda, gruplardaki farelerin ayak tabanlarından hazırlanan preparatlar, doku zararı ve inflamasyon açısından değerlendirilerek; doku zararı ve inflamasyon yoksa, D0 (Şekil 15. A).

Hafif doku zararının eşlik ettiği nekroz veya ülserin oluşmadığı granülomaöz inflamasyon varlığına, D1 (Şekil 15. B).

Orta derecede doku zararı ile birlikte ülserin oluşmadığı nekroz ve granüloma varlığı, D2 (Şekil 15. C).

Şiddetli doku zararının eşlik ettiği nekroz ve ülserle birlikte granümatöz inflamasyonun varlığında, D3 (Şekil 15. D) şekilde derecelendirildi.



Şekil 14. Histopatolojik değerlendirmede kullanılan derecelendirmenin görünümü (10x). A. D0, B. D1, C. D2, D. D3 (Orijinal).

Mikroskopik analizler sonucunda deney gruplarından Grup II (BTA 10^{-5} M) ve Grup III (BTA 10^{-6} M)'ün, enfekte edilmeyen kontrol grubu (Grup VII) ile aynı görünümde olup, doku hasarı ve inflamasyonun olmadığı (D0) belirlenmiştir.

Grup I'de (BTA 10^{-4} M) hafif doku zararı ile birlikte nekroz veya ülserin oluşmadığı granülomaöz inflamasyon olduğu belirlendi (D1).

Grup IV'de (BTA 10^{-7} M) orta derecede doku zararı ve ülserin oluşmadığı nekroz ve granümatöz inflamasyon oluşumu (D2) görülmüştür.

Grup V'te (MLT, 25mg/kg/gün) orta derecede doku zararı ve ülserin oluşmadığı nekroz ve granümatöz inflamasyon oluşumu (D2) görülmüştür.

Tedavi edilmeyen kontrol grubunda ise (Grup VI) şiddetli doku hasarı, nekroz ve ülserle birlikte granümatöz inflamasyon belirlendi (D3).

5. TARTIŞMA

Kutanöz leishmaniasis, *Leishmania* cinsinin hücre içi protozoanlarının neden olduğu, ihmal edilen paraziter bir hastalıktır. KL her yıl dünya genelinde 1,5 milyon kişiyi etkileyen en yaygın leishmaniasis formudur. Hastalık infekte olmuş tatarcık sineği ısırığı bölgesinde, cilt ülserleri ile karakterizedir ¹¹⁵. Son 20 yılda Dünya çapında tüm leishmaniasis formlarının vaka sayısında artış; Kentsel gelişim, iç savaş sonucu mülteci göçleri, ormansızlaşma, çevresel değişiklikler, bağışıklık durumu ve tedavi başarısızlığı muhtemel faktörlerdir ^{6,7}.

KL, ölümcül olabilen VL tedavisinde kullanılan, toksik olabilen ilaçlarla, tedavi edilmektedir. Etkili bir aşı ve vektör kontrol programının etkisizliği kemoterapiyi leishmaniasis tedavisi için birincil araç yapar. Mevcut tedaviler yüksek maliyet, toksisite ve endemik bölgelerde tedaviye direnç gibi ciddi kısıtlamalara sahiptir. DSÖ, KL tedavisinde, beş değerli antimon bileşikleri, oral miltefosin, amfoterisin B ve paramomisin gibi kemoterapik rejimlerin kullanılmasını tavsiye eder. SbV veya meglumine antimoniat gibi anti-leishmanial beş değerli antimon bileşiklerin intra-lezyonel, IV, IM enjeksiyonları, şu anda endemik ülkelerde altın standart tedavi olarak uygulanmaktadır ⁹².

Hindistan'daki Bihar eyaletinde 2005 yılında 30 KL tanısı konulmuş hasta ile yapılan bir çalışmada; hastalar standart doz SbV ile tedavi edilmiş, tedavinin sona ermesinden iki ay sonra hastaların % 60'ında (18/30) iyileşme sağlanmıştır, ancak % 76.7 oranında (yüksek karaciğer enzimleri, artralji, ateş, miyalji, trombositopeni, lökopeni, kilo kaybı ve tromboflebit) yan etkiler görülmüştür. Ayrıca hastalar VL'dan ayırt edilemeyen semptomlar yaşayabilir. Uyuşukluk, baş ağrısı, bulantı, kusma ve elektrokardiyogram değişiklikleri tedaviyi duraklatmanın bir göstergesi sayılmıştır ¹¹⁶.

KL tanısı koyulan bir olgu sunumunda, 22 yaşındaki erkek hastaya 20 gün boyunca 10 mg / kg / gün, beş değerli antimon bileşikleri dozuna eşdeğer SbV ile tedavi uygulanmış, hastada üçüncü dozdan sonra artralji, miyalji, mide bulantısı ve güçsüzlük gelişmiştir. Devam eden tedavi sırasında semptomlara karın ağrısı şikayeti eklenmiştir. Yedinci dozdan sonra hafif nefes darlığı ve göğüs ağrısı gelişmiştir.

Dokuzuncu dozdan sonra, daha fazla klinik tabloda bozulma meydana gelişmiş ve tedavi sonlandırılmıştır ¹¹⁷.

Beş değerli antimon bileşikleri, yıllardır tedavinin ilk basamağıdır ama endemik bölgelerde artan parazit direnci ve yüksek sitotoksosite bu ilaçların kullanımını sınırlandırmıştır. Amfoterisin B, beş değerli antimon bileşiklerine karşı yüksek oranda yanıtızlık veren hastalarda alternatif ikinci basamak tedavi olarak kullanılmaktadır. Hastaneye yatış ihtiyacı, hastaların sürekli takibi, uzun süreli tedavi süresi ve infüzyonla ilişkili advers olaylar (ateş, titreme, tromboflebit) amfoterisin B'nin dezavantajlarıdır. Ayrıca intra-dermal enjeksiyonlar KL lezyonlarının, lenf bezleri, kulak, burun (peri-kıkırdak), eklem (peri-artiküler) veya peri-orifisiyel yerleşimli durumunda önerilmemektedir ^{118,119}.

Beş değerli antimon bileşiklerine diğeri bir alternatif ilaç pentamidindir. KL ve MKL üzerine yapılan bir çalışmada, kısa süreli düşük dozda bir pentamidin, beş değerli antimon bileşiklerine benzer bir iyileşme oranına (% 96) sahip olduğu ve benzer oranlarda yan etkileri (% 91) olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, MKL tedavisi için gerekli olan daha yüksek (> 2000 mg) dozajlar diyabete (diabetes mellitus) neden olabileceği saptanmıştır ¹²⁰. KL'nin dermatolojik sorununa alternatif bir yaklaşım, krem veya merhem gibi topikal formülasyonlardır. Bu tedavinin avantajları, hastalar tarafından daha iyi uyum, düşük maliyetler ve sistemik toksisiteden kaçınmadır. Bununla birlikte, topikal anti-leishmanial ilaçlarının geliştirilmesi, aktif maddenin dermis bölgesindeki infeksiyon bölgesine iyi bir şekilde emilmesini ve tutulmasını gerektirir. Bu ilaçların etkileri kimyasal sınıfına ve lezyonların tipine bağlı olarak zor olabilir ¹²¹. MLT, bir anti-kanser ilacı olarak geliştirilmiştir. Hindistan, Bangladeş ve Nepal'deki eleme programında potansiyel bir araç olarak ve Kolombiya ve Bolivya'da KL için ikinci sıra tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Klinik çalışmalarda, gastrointestinal semptomlar en sık görülen yan etkiler olarak kabul edilmiştir. Karaciğer enzimlerinin geçici orta yükselmesi de gözlenmiştir. MLT en önemli kısıtlılığı, gebelikte zorunlu kontrasepsiyondur ^{122,123}.

1996- 2016 yılları arasında İsveç'te KL tanısı konulan hastaların tıbbi kayıtları kullanılarak geriye dönük gözlemsel bir çalışmada; bu hastaların çoğunluğunun, ya endemik bölgelere seyahat öyküsü ya da endemik bölgelerden göç eden kişiler oluşturmaktadır ve en sık infeksiyon menşei olan ülkeler ise Suriye, Afganistan ve

İran'dır. Hastalara tedavi olarak, 16'sına intra-lezyonel SbV, 39'una IV SbV, 29'una Lipozomal Amfoterisin B (LA), 21'ine kriyoterapi ve 15'ine flukonazol pomad uygulanmıştır. 17 hasta da ise KL lezyonları kemoterapi almadan kendiliğinden iyileşmiştir. İntra-lezyonel SbV kemoterapik alan 13 hasta (% 81) ve IV SbV 31 (% 80) hasta uygulama sonrası iyileşme sağlanmıştır. 13 (% 23) hasta ya tedaviye cevap vermediği ya da lezyonların nüks sonucu ikinci basamak tedavi almıştır, bunlardan 2 hasta tekrar KL lezyonları nüks etmiştir. SbV ile tedavi uygulanan, 31 hastada (% 56) karaciğer ve 29 hastada (% 52) pankreas enzimleri yükselmiştir. LA ile tedavi olan 15 hasta (% 52) iyileşmiş, 14 (% 48) hasta tedaviye yanıt vermediği veya KL lezyonları nüks etmiştir, ancak ikinci basamak tedaviden sonra tedavi lezyonlarda iyileşme sağlanmıştır. Tedavi olarak LA alan sekiz hasta (% 27), ilk dozun uygulanması sırasında göğüs ağrısı, çarpıntı, baş dönmesi, solunum bozuklukları ve halsizlik semptomları ile reaksiyon gösterdiğini bildirilmiştir. 1-8 seans arasında kriyoterapi uygulanana hastalardan 20'sinde (% 95) iyileşme sağlanmıştır, ancak hastalar kriyoterapiye maruz kalan bölgede ağrı tarif etmişlerdir ¹²⁴.

DSÖ'nün başlıca KL endemik odakları için, önerilen tedavi rejimleri ile yapılan bazı literatür çalışmaları yukarıdaki gibi özetlenmiştir. Çalışmalardan anlaşılacağı üzere KL, standart tedavi rejimlerinin, yüksek sitotoksisite aktiviteye sahip oldukları, sistemik yan etkilere neden oldukları, parazitin tedavi rejimlerine direnç kazandıkları ve aynı form lezyonlar üzerinde bile farklı kür oranlarına sahip oldukları anlaşılmaktadır. Mevcut tedavilerin sınırlamaları nedeniyle, daha etkin ve daha düşük sitotoksik aktiviteye sahip yeni tedavi rejimlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamız, yukarıda belirtilen amaca yönelik olarak BTA'nın KL standart tedavi rejimlerine alternatif olabilecek, daha iyi kontrol edilebilmesi, daha iyi hasta uyumu ve daha yüksek etkinliği amaçlayan bir çalışmadır.

Leishmaniasisi tedavi etmek için uygun hale getirilebilecek daha erişilebilir alternatif tedavi rejimlerinin yanı sıra daha etkili olan yeni, daha az toksik ve daha uygun maliyetli tedavi rejimlerinin geliştirilmesi bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu doğrultuda alternatif olabilecek bazı çalışmalar yapılmıştır ve aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

Meşe ağacı ekstresinin, in-vivo anti-leishmanial aktivitesini ölçmeyi amaçlayan bir çalışmada; *L. major* suşlu BALB/c farelerin KL lezyonlarına topikal

olarak uygulanmıştır. 4 haftalık bir tedaviden sonra, 20 mg / kg, 10 mg / kg ve 5 mg / kg meşe özütü ile tedavi edilen enfekte olmuş farelerde sırasıyla, % 91.6 % 66.66 ve % 50 olarak, KL lezyon büyüklüklerinde gerileme olduğu rapor edilmiştir ¹²⁵. *Pistacia khinjuk* (Melengiç) alkollü ekstresinin, in vitro ve in vivo intra-lezyonel anti-leishmanial aktiviteleri değerlendirilmelerinde. Melengiç alkolik ekstresinin in vitro *L. major* promastigot formlarının büyüme hızını inhibe ettiği, bu ekstrenin infeksiyon oranını ve akabinde makrofajlarda amastigotun canlılığını kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşürdüğü belirtilmiştir. In-vivo çalışmada ise % 30 konsantrasyondaki, melengiç ekstresinin intra-lezyonel olarak 30 gün boyunca uygulama sonucunda, % 87.5 oranında *L. major* ile enfekte olmuş BALB/c farelerin KL lezyonlarının üzerinde güçlü bastırma etkileri olduğu rapor edilmiştir ¹²⁶. Japon melekotu kökü etanolik özü ile yapılan başka bir çalışmada ise 2006 ve 2008 yılları arasında, klinik ve parazitolojik olarak KL tanısı koyulan, 56 hastaya art arda 30 gün boyunca günde bir kez pomad şeklinde uygulanmıştır. Japon melekotu kökü etanolik ekstresinin, KL lezyonları üzerinde 30 günlük tedavi sonrası iyileşme oranı % 91 olarak rapor edilmiştir ¹²⁷.

BTA ve bileşikleri, geniş bir farmakolojik faaliyet yelpazesi gösterir uzun zamandan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde tedavi rejimi olarak dünya çapında kullanılmaktadır ve çeşitli biyolojik özellikler sergilediği belirtilmektedir. BTA, heterosiklik yapısından dolayı, türevleri niteliğinde bileşik geliştirilmesine olanak sağlamaktadır: In-vitro olarak *L. major* suşu üzerine, 22 farklı BTA bileşiği kullanılarak anti-leishmanial etkiyi araştıran bir çalışmaya göre; BTA bileşikleri, pentamidin ile inhibe değerleri (IC50) kıyaslanmıştır. BTA bileşiklerinin, standart doz pentamidin (IC50 = 5.09 ± 0.04 µM) ile kıyasla IC50 değerleri 18.32-81.89 µM arasında değişen çeşitli ve etkili anti-leishmanial aktivite gösterdikleri belirtilmiştir ¹²⁸. Delmas ve ark. bir amino-akridinon halkası üzerine bir BTA bileşiğinin, eklenmesi sonucu oluşan bileşiğin anti-leishmanial ve sitotoksitesite aktivitesini, *L. infantum* suşuna karşı in-vitro değerlendirilmelerinde; bileşiğin memeli hücrelerine karşı sitotoksitesiteyi azaltmaya ve antiparaziter özellikleri arttırmaya katkıda bulunduğunu sonucuna varmışlardır ¹²⁹. Yapılan bir çalışmada BTA'nın çeşitli bileşikleri olan, benzoaminofenil, in-vitro insan hücre hattında, over, meme, akciğer, renal ve kolon tümörleri üzerinde anti-tümöral aktivite gösterdiği rapor edilmiştir ¹¹⁰.

BTA bileşikleri ile yapılan başka çalışmada ise; bu bileşiklerin, anti-bakteriyel, anti-fungal aktivitelerinin, Gram pozitif bakterileri (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*), Gram negatif bakterileri (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii*) ve mantarlara (*Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans*) karşı maksimum etki gösterdiği yazarlar tarafından belirtilmiştir¹⁰⁷. BTA, çeşitli gelecek vaat eden biyolojik profil, doğal ve sentetik erişilebilirlik, potansiyel tedavi rejimi olarak tasarlanmasında ve geliştirilmesinde çekici olmuştur. BTA'nın bu özellikleri yukarıdaki bazı çalışmalarda özetlenmiştir. Bu yüzden güçlü anti-leishmanial etki ve düşük sitotoksikite beklentisi BTA'nın çalışmamızda kullanılmasının nedeni olmasını sağlamıştır.

Anti-leishmanial aktiviteye sahip bir molekülün, konak hücrelere sitotoksikite kazandırmaması önemlidir. Çalışmamızda BTA'nın dört farklı konsantrasyonun sitotoksik potansiyeli değerlendirmesinde; 10^{-5} M, 10^{-6} M ve 10^{-7} M konsantrasyonları, kontrol ile karşılaştırılmasında anlamlı olduğu ($p > 0,05$) ve hücre canlılık yüzdelerinin sırasıyla % 91, % 94 ve % 98 olarak hesapladık ve bu konsantrasyonları sitotoksik olarak değerlendirmedik. Yalnız 10^{-4} M konsantrasyonu kontrol ile anlamsız bulunmuştur ($p < 0,05$) ve hücre canlılık yüzdesi % 32 olarak hesapladık ve bu konsantrasyonu sitotoksik olarak değerlendirdik. Ayrıca dört haftalık çalışma diliminde, BALB/c farelerin klinik durumunda (yeme-içme davranışı, hayvanın kürk durumu, genel iyilik hali) herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi.

Çalışmamızda, BTA'nın dört farklı konsantrasyonun (Gruplar: I (10^{-4} M), II (10^{-5} M), III (10^{-6} M), IV (10^{-7} M)) in-vivo anti-leishmanial aktiviteleri, *L. major* ile enfekte edilmiş erkek BALB / c farelerinde oluşturulan, KL lezyonlarına karşı değerlendirildi. BTA'nın 10^{-4} M ve 10^{-5} M konsantrasyonları, enfekte tedavi gruplarının (Gruplar: II, III), lezyonları üzerinde kontrol grupları ile kıyasla ileri düzey bastırma etkileri olduğu sonucuna vardık. Buna karşılık BTA'nın 10^{-4} M ve 10^{-7} M konsantrasyonları bastırma etkileri orta düzey olarak değerlendirdik. Ayrıca histopatolojik değerlendirmede; BTA konsantrasyonları, kontrol grupları ile kıyasla ileri, orta ve hafif düzeyde lezyon iyileşmesine katkı sağladıkları sonucuna vardık.

6. SONUÇ

BTA, *L. major*'ün neden olduğu KL üzerinde etkili olduğu ve BALB/c farelerde bu hastalığın ileri düzeyde ilerlemesini azaltabileceği sonucuna vardık. BTA KL karşı alternatif tedavi stratejileri için kullanılabileceğini ve kemoterapötik ajan olarak ileri değerlendirme için potansiyel bir aday olabileceğini göstermiştir.



7. KAYNAKLAR

1. Georgiadou SP, Makaritsis KP, Dalekos GN. Leishmaniasis revisited: Current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. *J Transl Int Med* 2015; 3: 43-50.
2. World Health Organization: Control of the leishmaniasis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2010;949:186.
3. Roque AL, Jansen AM Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 2014; 3: 251-262.
4. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis: disease burden and epidemiological trends. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Geneva: WHO; 2002.
5. Antinori S, Schifanella L, Corbellino MEur *J Clin Microbiol Infect Dis*. Leishmaniasis: new insights from an old and neglected disease. 2012 Feb; 31(2):109-18.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı istatistikleri <http://www.saglik.gov.tr>. 2008-2017.
7. Gürel M.S, Kartal Ş, Mülayim M, Ersoy E. Şanlıurfa kutanöz leishmaniasis 2006-2008 yılları tarama sonuçlarımız. 22.Ulusal Dermatoloji Kongresi. Konya, 2008.
8. World Health Organization. Vector Borne Diseases- Overview. Available from: <http://www.who.in-/mediacentre/factsheets/fs387/en/>[Last accessed on 10March2014]
9. Evans KJ, Kedzierski L. Development of Vaccines against Visceral Leishmaniasis. *J Trop Med*. 2012; 892817.
10. Stockdale L, Newton. A review of preventative methods against human leishmaniasis infection. *RPLoS Negl Trop Dis*. 2013; 7(6):e2278.
11. Van Griensven J, Balasegaram M, Meheus F, Alvar J, Lynen L, Boelaert M *Lancet* Combination therapy for visceral leishmaniasis. *Infect Dis*. 2010 Mar; 10(3):184-94.
12. Yasinzai M, Khan M, Nadhman A, Shahnaz G. Drug resistance in leishmaniasis: current drug-delivery systems and future perspectives. *Future Med Chem*. 2013 Oct; 5(15):1877-88.

13. Maspero G. *The Dawn of Civilization - Egypt and Chaldaea*. 5th ed. London: Society for the Promotion of Christian Knowledge; 1910. p. 218.
14. Manson-Bahr PEC. Old World leishmaniasis. In: Cox FEG, editor. *The Wellcome Trust Illustrated History of Tropical Diseases*. London: The Wellcome Trust; 1996. p. 206–17.
15. Frías L, Leles D, Araújo A. Studies on protozoa in ancient remains - a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108:1–12.
16. Lainson R. The neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Rev Pan-Amaz Saude*. 2010;1:13–32.
17. Russell A. *The Natural History of Aleppo, and Parts Adjacent*. London: A. Millar; 1756. p. 262–6.
18. Cunningham D.D. On the presence of peculiar parasitic organisms in the tissue of a specimen of Delhi Boil. *Sci Mem Med Offic Army India*. 1885;1:21–31.
19. Hoare CA. Early discoveries regarding the parasites of Oriental sore. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1938; 32:66–92.
20. Donovan C. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. *Br Med J*. 1903; 2:79.
21. Gibson ME. The identification of kala azar and the discovery of *Leishmania donovani*. *Med Hist*. 1983; 27:203–13.
22. Ross R. Further notes of Leishman's bodies. *Br Med J*. 1903;2:1401.
23. Nicolle C. Sur trois cas d'infection splénique infantile à corps de Leishman observés en Tunisie. *Arch Inst Pasteur Tunis*. 1908:3–26.
24. Nicolle C, Comte C. Origine canine du kala-azar. *Bull Soc Pathol Exot*. 1908; 1: 299–301.
25. Nicolle C. Recherches sur le kala-azar entreprises à l'Institut Pasteur de Tunis. *Arch Inst Pasteur Tunis*. 1908: 97–112.
26. Vianna G. Sobre uma nova espécie de *Leishmania* (nota preliminar). *Bras Méd*. 1911; 25:411.
27. Yakimoff W.L, Schokhor N.I. Recherches sur les maladies tropicales humaines et animales au Turkestan. II. La leishmaniose cutanée (bouton d'Orient) spontanée du chien Turkestan. *Bull Soc Pathol Exot*. 1914; 7:186–7.
28. Adler S, Ber M. The transmission of *Leishmania tropica* by the bite of *Phlebotomus papatasi*. *Ind J Med Res*. 1941; 29:803–9.

29. Swaminath CS, Shortt HE, Anderson LAP. Transmission of Indian kala-azar to man by the bites of *Phlebotomus argentipes*, *Ann. and Brun. Ind J Med Res.* 1942; 30:473–7.
30. Lequin RM. (Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin Chem* 2005; 51:2415–2418
31. Miles L, Hales C Labelled antibodies and immunological assay systems. *Nature* 1968; 219:186–189
32. Barker D. C., Butcher J., Gibson L. J., Kennedy W. P. K., Williams R. H., Cuba Cuba C. A., Marsden P. D., Lainson R. Shaw J. J. : Sequence homology of kinetoplast DNA in *Leishmania* studied by filter hybridization of endonuclease digested fragments and in situ hybridization of individual organisms. In: *Leishmania. Taxonomie et phylogenèse* (Rioux J. A., ed.). IMEEE, Montpellier, 1986, 41-55.34
33. Chance, M.L., Peters, W. and Shchory, L. *Leishmania*. I. Observations on DNA. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology Biochemical taxonomy* 1974; 68, 307–316. (1974).
34. Unat E.K, Yücel A, Atlas K, Samastı M. Unat'ın Tıp Parazitolojisi 5. Baskı, İstanbul: Doyuran Matbası, 1995: 564-586.
35. Desjeux P. *Leishmaniasis*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 692.
36. Sundar, S. ve Rai, M. "Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis", *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002; 9:951-958
37. Roberts, L.J., Handman, E., ve Foote, S.J. "Science, medicine, and the future: *Leishmaniasis*". *BMJ*, 2000; 321:801-804.
38. Garcia, L.S. "*Diagnostic medical parasitology*", 4th Edition, (Washington, D.C: ASM Press). 2001.
39. Bryceson, A. "*Manson's Tropical Diseases*", 20th Edition, (London: WB Saunders Ltd). 1996.
40. Hosseinzadeh M, Omidifar N, Lohrasb MH. Use of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis: a comparison with the conventional scraping method. *Trop Doct.* 2012;42(2):112–113
41. Gürel M.S, Ulukanlıgil M, Özbilge H. Şanlıurfa'da Kutanöz leishmaniasis: Son dört yılın epidemiyolojik ve klinik özellikleri (1997-2000). *Int J Dermatol* 2002; 41: 32-7.

- 42.** Descoteaux, A. ve Turco, S.J. "Functional aspects of the *Leishmania donovani* lipophosphoglycan during macrophage infection", *Microbes Infect*, 2002; 4:975-981.
- 43.** Pau M, Atzori L, Aste N, Aste N. Two cases of primary endonasal leishmaniasis in Sardinia (Italy). *Dermatol Online J*. 2009 Jun 15; 15(6):5.
- 44.** Ueno N, Wilson ME. Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: implications for intracellular survival, *Trends Parasito*, 2012, vol. 28 (pg. 335-44).
- 45.** Tesh RB, Guzman H. *The Biology of Disease Vectors*. Niwot CO: University of Colorado Press; 1998. pp. 117–27.
- 46.** Lewis DJ. Bull Phlebotomid sandflies. *World Health Organ*. 1971; 44(4):535-51.
- 47.** Harwood RF, James MT. *Entomology in Human and Animal Health*. 7th ed. New York: Macmillan Publishing Colk Inc; 1977.
- 48.** Goddard J. *Physician's Guide to Arthropods of Medical Importance*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 1996
- 49.** Dereure J, Boni M, Pratlong F, El Hadi Osman M, Bucheton B, et al. Visceral leishmaniasis in Sudan: First identifications of *Leishmania* from dogs. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; 94:154-155.
- 50.** Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Trop* 2000; 78: 103-116.
- 51.** Alvar J, I.D. Vélez, C. Bern, M. Herrero, P. Desjeux, J. Cano, J. Jannin, M. den Boer WHO leishmaniasis control team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence *PLoS One*, 7-2012.
- 52.** Bern C., J.H. Maguire, J. Alvar Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2 -2008.
- 53.** Organization. W.H. Expert Committee on the Control of Leishmaniases, *Technical Report Series*: 2010; 949.
- 54.** Shaw J. The leishmaniases - survival and expansion in a changing world. A mini-review. *Mem Inst83*. Aspöck H, Geresdorfer T, Formayer H, Walochnik J. Sandflies and sandfly-borne infections of humans in Central Europe in the light of climate change. *Wien Klin Wochenschr*. 2008;120(Suppl 4):24–9.
- 55.** Du R, Hotez PJ, Al-Salem WS, Acosta-Serrano A. Old World cutaneous leishmaniasis and refugee crisis in the Middle East and North Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004545.

56. Al-Salem WS, Pigott DM, Subramaniam K, Haines LR, Kelly-Hope L, Molyneux DH, et al. Cutaneous leishmaniasis and conflict in Syria. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22:931–3. doi: 10.3201/eid2205.160042.
57. Global leishmaniasis update, a turning point in leishmaniasis surveillance. 2006–2015.
58. Ok, Ü.Z. Balcıoğlu, I. C. Özkan, A. T. Özensoy, S. Özbel, Y. Türkiye’de Leishmaniasis. *Acta Tropica*, 2002; 84:43-8
59. Gürel M.S, Yeşilova Y, Ölgün M.K, ve ark. Türkiye’de kutanöz leishmaniasisin durumu. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2012; 36:121-9.
60. Korkmaz S, Özgöztaş O, Kayıran N. Gaziantep üniversitesi tıp fakültesi leishmaniasis tanı ve tedavi merkezine başvuran leishmaniasis olgularının değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2015;39:13-6
61. <http://www.halksagligiens.hacettepe.edu.tr/etk070414.html>.2018.
62. Özkeklikçi A, Karakuş M, Özbel Y ve ark. : Türkiye'nin güneydoğusundaki Gaziantep kentinde Suriye iç savaşından sonra kutanöz leishmaniasis'in yeni durumu. *Acta Trop.* 2017; 166 : 35-8. 10.1016 / j.actatropica.2016.10.019
63. Walton BC. American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. In: *The Leishmaniases in Biology and Medicine (Volume II)*. Peters W, Killick-Kendrick R (Eds). Academic Press, London, UK, 1987; 637–664.
64. R. Firdous, M. Yasinzai, and K. Ranja, “Efficacy of glucantime in the treatment of old world cutaneous leishmaniasis,” *International Journal of Dermatology*, vol. 48, no. 7, 2009; pp. 758–762.
65. S. Rahman, F. H. Abdullah, and J. A. Khan, “The frequency of old world cutaneous leishmaniasis in skin ulcers in Peshawar,” *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad*, vol. 21, 2009; no. 3, pp. 72–75.
66. Markle W, Makhoul K. Cutaneous Leishmaniasis: Recognition and Treatment. *American Family Physician* 2004; 69: 6. 1455-60.
67. Ayub S, Khalid M, Mujtaba G, Bhutta RA. Profile of patients of cutaneous Leishmaniasis from Multan. *J Pak Med Assoc* 2001; 51: 279-81.
68. <https://web.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Leishmaniasis/Mucocutaneous.htm>. 2006.
69. Convit, J., Kerdel-Vegas, J. Disseminated cutaneous leishmaniasis. *Arch. Dermatol.* 1965; 91: 439-47

- 70.** Dowlati Y. Cutaneous leishmaniasis: clinical aspect. *Clin Dermatol.* 1996 Sep-Oct; 14(5):425-31
- 71.** Bravo F, Sanchez MR New and re-emerging cutaneous infectious diseases in Latin America and other geographic areas. *Dermatol Clin.* 2003 Oct; 21(4):655-68, viii.
- 72.** Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S *Lancet Infect Dis.* 2007 Sep; 7(9):581-96
- 73.** Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodriguez N Cad. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Saude Publica.* 2000 Oct-Dec; 16(4):925-50.
- 74.** Vera-Izaguirre D, Vega-Memije E, Quintanilla Cedillo M, et al. : Leishmaniasis revisión. *DCMQ.* 2006;4(4):252–260.
- 75.** Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911). Marsden PD *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1986; 80(6):859-76.
- 76.** Ghosn SH, Kurban AK. Leishmaniasis and Other Protozoan Infections. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ. Eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* Vol. 2, 7th ed. Mcgraw Hill Inc. 2008: 2001-9.
- 77.** Scarisbrick JJ, Chiodini PL, Watson J et al. Clinical features and diagnosis of 42 travellers with cutaneous leishmaniasis. *Travel Med. Infect. Dis.* 4, 14–21 (2006).
- 78.** Yanık M, Gürel M.S, Şimşek Z, Kati M: Kutanöz leishmaniasisin psikolojik etkisi. *Clin Exp Dermatol* 2004; 29: 464-467
- 79.** Vega-Lopez F. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2003; 16, 97–101.
- 80.** Al-Hucheimi SN, Sultan BA, Al-Dhalimi MA. A comparative study of the diagnosis of Old World cutaneous leishmaniasis in Iraq by polymerase chain reaction and microbiologic and histopathologic methods. *Int. J. Dermatol.* 2009; 48, 404–408.
- 81.** Sundar, S. ve Rai, M. "Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis", *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002; 9:951-958.
- 82.** M. Akhoundi, H. Hajjarian, A. Baghaei, M. Mohebalı Geographical distribution of leishmania species of human cutaneous leishmaniasis in Fars province, southern Iran. 2013 Jan-Mar; 8(1): 85–91.

- 83.** K.A. Weigle, L. Valderrama, A.L. Arias, C. Santrich, N.G. Saravia Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1991; pp, 260-271
- 84.** Boelaert M, Rijal S, Regmi S, Singh R, Karki B, Jacquet D, Chappuis F, Campino L, Desjeux P, Le Ray D, Koirala S, Van der Stuyft P. A comparative study of the effectiveness of diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70: 72-77.
- 85.** J.D. Berman Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years *Iran. J. Parasitol.*, 2013; pp. 85-91
- 86.** Reithinger R, Dujardin JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. *J. Clin. Microbiol.* 2007; pp. 21–25.
- 87.** Grimaldi G, McMahon-Pratt D. Monoclonal antibodies for the identification of New World *Leishmania* species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1996;37–42.
- 88.** E.N. Loría-Cervera, F.J. Andrade-Narváez Animal models for the study of leishmaniasis immunology *Rev. Inst. Med. Trop.* 2014; pp. 1-11
- 89.** Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006; 19, 111–126.
- 90.** de Vries HJ, Reedijk SH, Schallig HD. Cutaneous leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol.* 2015;16: 99-109.
- 91.** Jha RK, Sah AK, Shah DK, Sah P. The treatment of visceral leishmaniasis: safety and efficacy. *JNMA J Nepal Med Assoc* 2013; 52: 645-651.
- 92.** Salmanpour R, Razmavar MR, Abtahi N. Comparison of intralesional meglumine antimoniate, cryotherapy and their combination in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol* 2006; 45: 1115-1116
- 93.** Minodier P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel Med Infect Dis.* 2007 May; 5(3):150-8.
- 94.** Masmoudi A, Maalej N, Mseddi M, Souissi A, Turki H, Boudaya S, Bouassida S, Zahaf A *Med Mal Infect.* 2005 Jan; 35(1):42-5.
- 95.** Goto H, Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Lindoso JA Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010 Apr; 8(4):419-33.
- 96.** Blum JA, Hatz C.F. Treatment of cutaneous leishmaniasis in travelers. *J Travel Med* 2009; 16: 123-131.

- 97.** Mohabeli M, Fotouhi A, Hoosmand B, Zarei Z, Akhoundi B, Rahnema A, Comparison of miltefosine and meglumine antimoniate for the treatment of zoonotic cutaneous. *Acta Trop.* 2007 Jul;103(1):33-40.
- 98.** Uzun S, Uslular C, Yücel A, Acar M, Özpoyraz M, Memişoğlu Kutanöz leishmaniasis: Türkiye'nin Çukurova bölgesindeki 3074 vakanın değerlendirilmesi 1999; 140(2):347-50.
- 99.** Reithinger R, Mohsen M, Wahid M, Bismullah M, Quinnell RJ, Davies CR, Kolaczinski J, Some Epidemiological Aspects of Cutaneous Leishmaniasis in Northern Khorasan Province, Iran, David JR *Clin Infect Dis.* 2005 Apr 15; 40(8):1148-55.
- 100.** Dedet JP, Pratlong F. Leishmaniasis. In: Manson P, Cook GC, Zumla A, eds. *Manson's Tropical diseases.* 21st ed. London: Saunders, 2003:1339–64.
- 101.** Stockdale L, Newton R. A review of preventative methods against human leishmaniasis infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(6):e2278.
- 102.** Saberi S, Zamani A, Motamedi N, Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Rahimi E, et al. The knowledge, attitude, and prevention practices of students regarding cutaneous leishmaniasis in the hyperendemic region of the Shahid Babaie Airbase. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12(4):306–309.
- 103.** V. N. Telvekar, V. K. Bairwa, K. Satardekar, A. Bellubi, Novel 2-(2-(4-aryloxybenzylidene) hydrazinyl)benzothiazole derivatives as anti-tubercular agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22, 649–652.
- 104.** R. V. Patel, P. K. Patel, P. Kumari, D. P. Rajani, K. H. Chikhaliya, Synthesis and studies of novel 2-(4-cyano-3-trifluoromethylphenyl amino)-4-(quinoline-4-yloxy)-6-(piperazinyl/piperidinyl)-s-triazines as potential antimicrobial, antimycobacterial and anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 53, 41-
- 105.** Delmas F. Synthesis and antileishmanial activity of (1,3-benzothiazol-2-yl) amino-9-(10H)-acridinone derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry* 39 2004; 685–690
- 106.** Akhtar, T., Hameed, S., Al-Masoudi, N.A., Loddo, R., Colla, P.L. In vitro antitumor and antiviral activities of new benzothiazole and 1,3,4-oxadiazole-2-thione derivatives. Volume 58, Issue 2, 1 June 2008, Pages 135-149
- 107.** L. Racané, S. K. Pavelic, R. Nhili, S. Depauwc, C. PaulConstant, I. Ratkaj, M. H. David-Cordonnier, K. Pavelic, V. Tralic-Kulenovic, G. Karminski-Zamola, *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 63, 882–891.

- 108.** B. Soni, M. S. Ranawat, R. Sharma, A. Bhandari, S. Sharma, Synthesis and evaluation of some new benzothiazole derivatives as potential antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2010, 45, 2938–2942.
- 109.** D. S. B. Ongarora, J. Gut, P. J. Rosenthal, C. M. Masimirembwa, K. Chibale, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 5046–5050
- 110.** R. M. Kumbhare, T. Dadmal, U. Kosurkar, V. Sridhar, and J. V. Rao, “Synthesis and cytotoxic evaluation of thiourea and N-bis-benzothiazole derivatives: a novel class of cytotoxic agents,” *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, vol. 22, no. 1, pp. 453–455, 2012.
- 111.** S. Shafi, M. M. Alam, N. Mulakayala et al., “Synthesis of novel 2-mercapto benzothiazole and 1,2,3-triazole based bis-heterocycles: their anti-inflammatory and anti-nociceptive activities,” *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 49, pp. 324–333, 2012.
- 112.** Md. Afzal Azam, L. Dharanya, C. C. Mehta, S. Sachdeva. Synthesis and biological evaluation of some novel pyrazolopyrimidines incorporating benzothiazole ring system. *Acta. Pharm.* 2013;63:19-30. doi: 10.2478/acph-2013-0001
- 113.** D. Munirajasekhar, M. Himaja, S. V. Mali, *Int. Res. J. Pharm. D.* Munirajasekhar, M. Himaja, S. V. Mali, *Int. Res. J. Pharm.* 2011; 2, 114.
- 114.** Mosmann T J, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Immunol Methods.* 1983 Dec 16; 65(1-2):55-63.
- 115.** S.R.B. Uliana, C.T. Trinconi, A.C. Coelho Chemotherapy of leishmaniasis present challenges *Parasitology*, 20, 2017; pp. 1-17
- 116.** Sharma NL, Mahajan VK, Kanga A, et al. Localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania donovani* and *Leishmania tropica*: Preliminary findings of the study of 161 new cases from a new endemic focus in Himachal Pradesh, India. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72:819–824.
- 117.** Herwaldt, B. L. & Berman, J. D. Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 46, 1992; 296–306.
- 118.** Wasan, K M; Wasan, E K; Gershkovich, P; Zhu, X; Tidwell, R R; Werbovetz, K A; Clement, J G; Thornton, S J Highly effective oral amphotericin B formulation against murine visceral leishmaniasis *J. Infect. Dis.* 2009; 200, 357-60.

- 119.** Olliaro, P L; Guerin, P J; Gerstl, S; Haaskjold, A A; Rottingen, J A; Sundar, S Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980-2004 *Lancet Infect. Dis*, 2005; 5, 763-74.
- 120.** Esther J. S. K. Lai A Fat MD Martinus A. Vrede MD, PhD Ramon M. Soetosenojo MD Rudy F. M. Lai A Fat MD, PhD Pentamidine, the drug of choice for the treatment of cutaneous leishmaniasis in Surinam 09 December 2002
- 121.** Carneiro G, Aguiar MG, Fernandes AP, Drug delivery systems for the topical treatment of cutaneous leishmaniasis. Ferreira LA *Expert Opin Drug Deliv*. 2012 Sep; 9(9):1083-97.
- 122.** Bhattacharya, S K; Sinha, P K; Sundar, S; Thakur, C P; Jha, T K; Pandey, K; Das, V R; Kumar, N; Lal, C; Verma, N; Singh, V P; Ranjan, A; Verma, R B; Anders, G; Sindermann, H; Ganguly, N K Phase 4 trial of miltefosine for the treatment of Indian visceral leishmaniasis *J. Infect. Dis*, 2007; 196, 591-8.
- 123.** Bryceson, A A policy for leishmaniasis with respect to the prevention and control of drug resistance *Trop. Med. Int. Health*, 2001; 6, 928-34.
- 124.** Leif Dotevall, Sara Karlsson Söbirk, Anna Färnert and Maria Bradley Cutaneous, mucocutaneous and visceral leishmaniasis in Sweden from 1996–2016: a retrospective study of clinical characteristics, treatments and outcomes *BMC Infectious Diseases* 2018; 18:632
- 125.** Kheirandish, F., Delfan, B., Mahmoudvand, H., Moradi, N., Ezatpour, B., Ebrahimzadeh, F., & Rashidipour, M. (2016). Antileishmanial, antioxidant and cytotoxic activities of *Quercus infectoria* Olivier extract. *Biomedical and Pharmacotherapy*, 2016; 82, 208-215.
- 126.** Behrouz Ezatpour, Ebrahim Saedi Dezaki, Hossein Mahmoudvand, Mojgan Azadpour, and Fatemeh Ezzatkah In Vitro and In Vivo Antileishmanial Effects of *Pistacia khinjuk* against *Leishmania tropica* and *Leishmania major* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2015, Article ID 149707, 6 pages
- 127.** Alternative therapy for pure leishmaniasis Zuño Burstein Abelardo Tejada Diana Flores Hiroyuki Fuchino First published: 23 October 2017; <https://doi.org/10.1002/tkm2.1084>
- 128.** Fazal Rahim, Muhammad Taha. Antileishmanial Activities of Benzothiazole Derivatives. *Journal- Chemical Society of Pakistan* 37(01) · February 2015
- 129.** Delmas, F., Avellaneda, A., Giorgio, C.D., Robin, M., Clercq, E.D., Timon-David, P. and Galy, J.P., Synthesis and antileishmanial activity of (1,3-benzothiazol-2-yl) amino-9-(10H)-acridinone derivatives *Eur. J. Med. Chem.*, 2004; 39, 685.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Rıdvan ŞİMŞEK
Doğum Yeri ve Tarihi : Diyarbakır, 1981
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dil : -
E-posta Adresi : emirkkerem@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise : Silvan Lisesi Diyarbakır, 2001
Lisans : Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri
Fakültesi Sağlık Memurluğu. 2007