



**T.C.**  
**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISIRGAN OTU YAPRAĞI ÖZÜTÜNÜN  
SİTOTOKSİTİTESİ VE FARE MODELİNDE  
KLOROKİN İLE KOMBİNASYONUNUN SİTMA  
TEDAVİSİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Sevinç ÇAMDALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**SIVAS-2019**

**ISIRGAN OTU YAPRAĞI ÖZÜTÜNÜN  
SİTOTOKSİTİTESİ VE FARE MODELİNDE  
KLOROKİN İLE KOMBİNASYONUNUN SİTMA  
TEDAVİSİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Sevinç ÇAMDALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI**

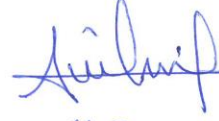
**TEZ DANIŐMANI**

**Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT**

**SİVAS-2019**

“ Isırgan Otu Yaprağı Özütünün Anti-Malaryal Etkisinin Fare Modelinde Araştırılması ” adlı yüksek lisans tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan (Danışman) Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT



Üye Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Duran ATAŞ



Üye Dr. Öğr. Üyesi Ülfet ÇETİNKAYA



#### ONAY

Bu tez çalışması, 31.07.2019 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSİTÜSÜ

MÜDÜRÜ



Bu tez, Sivas 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.

## TEŐEKKÖR

Yüksek Lisans eğitimin boyunca desteklerini esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT olmak üzere bütün hocalarıma, Hayatımın her anında birlikte olmaktan mutluluk ve huzur duyduğum eşim Ahmet Turan ÇAMDALI'ya sevgili kızım Zeynep Su ÇAMDALI'ya, eşimin annesi Aslı ÇAMDALI'ya teşekkür ederim.



## ÖZET

Sıtma, sivrisinekler yoluyla bulaşan *Plasmodium* cinsine ait protozoonların neden olduğu hastalıktır. Geçmişte yetersiz alt yapıya sahip yoksul olan toplumların hastalığı iken ululararası seyahatler, parazitin ilaçlara direnç kazanması, vektör kontrolünün güçlüğü nedeniyle dünyada giderek yaygın hale gelmektedir. Sıtma enfeksiyonu, beş *Plasmodium* türünden herhangi birini taşıyan sivrisineklerden kaynaklanır ve yüksek ateş ,titreme, terleme, yorgunluk, baş ağrısı ile karakterizedir. Tedavi edilmez ise akut anemi, bulantı gibi problemlerin eşliğinde, organ yetmezliği ve beyin hasarı gibi durumların oluşmasıyla ölüme götürebilir. Sıtma tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, mevcut ilaçlara karşı parazitin direnç kazanması, araştırmacıları yeni tedaviler aramaya yöneltmektedir. *Urtica dioica* üzerine yapılan çalışmalar antioksidan, anti-inflamatuar, anti-ülser, anti-kanser, anti-mikrobiyal, anti-viral, kardiyovasküler, hepatoprotektif, anti-diyabetik, anti-romatizmal etkileri olduğunu göstermiştir. Sivas'tan toplanan ısırgan otu (*U. dioica*) yapraklarının metanolik özütünün sitotoksitesi ve klorokin (KL) ile birlikte kombinasyonunun sıtma tedavisi üzerine etkisini araştırmayı amaçladığımız çalışmada *U. dioica*'nın 13 farklı konsantrasyonun (15, 7.5, 3.25, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, 0.006, 0.003 mg/mL) sitotoksik potansiyeli XTT yöntemiyle araştırılmıştır. Balb/c ırkı farelerde *Plasmodium berghei* verilerek oluşturulan sıtma modelinde, KL (25 mg/kg/gün) ile *U. dioica* özütü üç farklı dozda kombine edilerek (5, 10, 15 mg/kg/gün), tedaviye etkisi pozitif (KL-25 mg/kg/gün)ve negatif kontrole (%0.09 (w/v) –NaCl) karşılaştırılarak, araştırılmıştır. Tedavinin etkisi, % parazitemi , %parazitemi düşüşü ve hayatta kalma süreleri açısından değerlendirilmiştir. Sitotoksite değerlendirmesinde, 0.1 mg/mL'dan düşük konsantrasyonlar non-sitotoksik olarak belirlenmiştir. *U. dioica*'nın 10 ve 15 mg/kg dozlarının KL kombinasyonlarında, pozitif kontrole kıyaslandığında paraziteminin düşük olduğu belirlenmiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bununla birlikte pozitif kontrol grubu 4. günde tamamen iyileşme gösterirken, *U. dioica* 10 ve 15 mg/kg dozlarının KL kombinasyonlarının uygulandığı fareler 3. günde tamamen iyileştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak *U. dioica*'nın KL ile kombinasyonu sıtma tedavisinde olumlu etkide bulunmuştur.

## ABSTRACT

Malaria is a disease caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, which is transmitted through mosquitoes. While it was the disease of poor societies with insufficient infrastructure in the past; international travel, parasite gaining resistance to drugs, and the difficulty of vector control is becoming increasingly common in the world. Malaria infection is caused by mosquitoes carrying any of the five kind of *Plasmodium* and is characterized by high fever, chills, sweating, fatigue, headache. If left untreated, can lead to death by the occurrence of conditions such as acute anemia, nausea, and organ failure and brain damage. Although malaria is a treatable disease, the resistance of the parasite to existing drugs has led researchers to seek new treatments. Studies on *Urtica dioica* have shown antioxidant, anti-inflammatory, anti-ulcer, anti-cancer, anti-microbial, anti-viral, cardiovascular, hepatoprotective, anti-diabetic, anti-rheumatic effects. In this study we aimed to investigate the effect of methanolic extract of the leaves of nettle (*U. dioica*) collected from Sivas and its combination with cytotoxicity and chloroquine (KL) on the treatment of malaria, 13 different concentrations of *Urtica Dioica*'s (15, 7.5, 3.25, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, 0.006, 0.003 mg / mL) cytotoxic potential was investigated by XTT method. In the malaria model of *Plasmodium berghei* in Balb / c mice, combined with KL (25 mg / kg / day) and *U. dioica* extract in three different doses (5, 10, 15 mg / kg / day), the effect of treatment was investigated with positive (KL- 25 mg / kg / day) and negative control (0.09% (w / v) -NaCl). The effect of treatment was evaluated in terms of % parasitemia, % parasitemia decline and survival times. In the cytotoxicity assessment, the concentrations less than 0.1 mg / mL was found as non-cytotoxic. When the combinations of *U. dioica* 10 and 15 mg / kg with KL were compared with the positive control, parasitemia was found to be low and the difference was statistically significant. However, the positive control group showed complete recovery on day 4, whereas mice were found to be completely treated with combinations of 10 and 15 mg / kg doses of *U. dioica* with KL recovered on day 3. In conclusion, the combination of *U. dioica* with KL had a positive effect on malaria treatment.

Keywords: *Plasmodium*, malaria, in vivo, *Urtica dioica*

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

İÇ KAPAK.....	ii
ONAY .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR .....	v
ÖZET .....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLERİN DİZİNİ .....	xi
KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sıtma .....	3
2.1.1. Tarihçe .....	3
2.1.2. Sınıflandırma .....	3
2.1.3. İnsanda Sıtma etkeni Türler .....	4
2.1.4. Sıtma Vektörü .....	5
2.1.5. Morfoloji .....	6
2.1.6. Hayat döngüsü .....	8
2.1.6.1. İnsandaki Evrim .....	8
2.1.6.2. Dişi Anofeldeki Evrim .....	9
2.1.7. Klinik Belirtiler .....	10
2.1.7.1. Sıtmada kuluçka dönemi .....	11
2.1.7.2. Sıtmada nöbeti.....	11
2.1.7.2.1. Üşüme-titreme.....	11
2.1.7.2.2. Yüksek ateş .....	12



2.1.7.2.3. Terleme .....	12
2.1.8. Tanı .....	12
2.1.9. Tedavi.....	15
2.1.10. Epidemiyoloji.....	17
2.1.11. Korunma .....	18
2.2. Isırgan Otu.....	18
3. MATERYAL METOD.....	21
3.1. <i>U. dioica</i> yapraklarının toplanması .....	21
3.2. <i>U. dioica</i> özütünün hazırlanması.....	21
3.3. <i>U. dioica</i> ekstraktının sitotoksik potansiyelin değerlendirilmesi .....	21
3.3.1. Hücre Kültürü.....	21
3.3.2. XTT Testi.....	21
3.4. Farelerde sıtma modelinin oluşturulması ve tedavi .....	23
3.4.1. Deney Hayvanları .....	23
3.4.2. Parazit .....	23
3.4.3. Gruplar .....	23
3.4.4. Farelerde sıtma modelinin oluşturulması ve tedavi: .....	24
3.5. Tedavinin Değerlendirilmesi.....	25
3.5.1. Paraziteminin düşüşü.....	25
3.6. İstatistiksel Analiz.....	26
4.BULGULAR.....	27
4.1. <i>U. dioica</i> Ekstraktının Sitotoksik Potansiyelin Değerlendirilmesi .....	27
4.2. Tedavinin Değerlendirilmesi.....	28
5. TARTIŞMA .....	32
6.KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ .....	40

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 2.1. <i>Plasmodium</i> türlerinin taksonomisi .....	4
Tablo 2.2. İnsanı enfekte eden sıtma türlerinin eritrositlerdeki döngüleriyle ilgili temel özellikleri.....	7
Tablo 2.3. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarının hazırlanma aşamaları (Korkmaz M, 2011).....	13
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılacak deney grupları, tedavi dozları, tedavi uygulama şekli ve hayvan sayıları.....	24
Tablo 4.1. <i>P. berghei</i> ile enfekte farelerde <i>U. dioica</i> özütünün KL ile kombinasyonunun parazitemi oranına etkisi.....	29
Tablo 4.2. <i>P. berghei</i> ile enfekte farelerde <i>U. dioica</i> özütünün KL ile kombinasyonunun paraziteminin düşüşüne (%) etkisi.....	29

## ŞEKİLLERİN DİZİNİ

### Sayfa No

- Şekil 2.1. *Anopheles* türü sivrisineklerin yaşam döngüsü (Training Manual on Malaria Entomology)..... 6
- Şekil 2.2. *Plasmodium* Türlerinin Hayat Döngüsü (Uyar Y, 2015 )..... 10
- Şekil 2.3. A. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarının görünümü. B. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarında *Plasmodium* türlerine ait evrim dönemlerinin mikroskopik görünümü (Akdur R, 2004)..... 14
- Şekil 2.4. Dişi (a) ve erkek (b) çiçekli ısırgan otu (*Urtica dioica*) (Ayan A ve ark., 2006)..... 19
- Şekil 3.1. Isırgan otu özütünün sitotoksik potansiyelinin belirlenmesinde kullanılan XTT yönteminin aşamaları. A. L929 fare fibroblast hücrelerinin 40x büyütmedeki görünümü. B. Hücre proliferasyon Reaktif XTT solüsyonunun kuyucuklara eklenmesi. C. XXT solüsyonu eklendikten 2 saat sonraki görünümü.....22
- Şekil 3.2. A. May Grunwald-Giemsa boyası ile boyanmış ince yayma kan preparatlarındaki %30 parazitemi oranının görünümü. B. İntraperitoneal olarak farelerin enfekte edilmesi. .... 25
- Şekil 3.3. A. Farelerin kuyruk veninden alınan kanlarla hazırlanan ince yayma kan preparatlarının görünümü. B. Hazırlanan ince yayma kan preparatlarının mikroskopta incelenmesi ve fotoğraflanmasının görünümü. .... 26
- Şekil 4.1. *U. dioica* özütünün 11 farklı konsantrasyonunun XTT metodu ile L929 fare fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksitesisi. \*P<0.05 vs kontrol.....28
- Şekil 4.2. *P. berghei* ile enfekte farelerde *U. dioica* özütünün KL ile kombinasyonunun parazitemi (A) ve parazitemi düşüş (B) oranlarına görünümü..... 30
- Şekil 4.3. İnce yayma kan preparatlarında *P. berghei*'nin eritrosit içerisindeki evrim dönemlerinin (oklar) görünümü (x100)..... 31

## KISALTMALAR DİZİNİ

°C :Selsius derecesi

% :Yüzde

G :Gram

M :Mikro

µl :Mikrolitre

µm :Mikrometre

mg :Miligram

ml :Mililitre

Klorokin: KL

Urtica dioica: UD

## 1. GİRİŞ ve AMAC

Anophel cinsi dişi sivrisineklerle insana bulaşan ve bilinen geçmişi M.Ö. 1700 yıllarına kadar dayanan sıtma, daha çok tropikal ve subtropikal ülkelerde gözlenen yaygın bir protozoon hastalığıdır (12). Sıtma, dünyada halk sağlığı açısından önemli bir konudur ve yılda 0,7-1 milyon ölümlle sonuçlanır. Dünya nüfusunun yaklaşık yarısı sıtma riski altındadır ve vakaların büyük çoğunluğunun (% 78) Afrika bölgesinde, bunu Güneydoğu Asya (% 15) ve Doğu Akdeniz bölgesi (% 5) izlemektedir. Hastalık önlenebilir ve iyileştirilebilse bile, özellikle Sahra altı Afrika'da en büyük küresel kamu sağlığı sorunlarından biridir (6).

Sıtmaya neden olan *Plasmodium* türleri Sporozoa sınıfından olup Apicomplexa şubesine ait protozoon parazitlerdir. *Plasmodium* türlerinin insanda enfeksiyona neden olan dört ana türü mevcuttur. Bunlar *P.falciparum*, *P.ovale*, *P.malaria* ve *P.vivax*'tır. İnsanlarda enfeksiyona neden olan beşinci bir tür olan *P.knowlesi* aslında primatların sıtma etkeni olup insanlarda da zoonoz şeklinde sıtmaya neden olmaktadır. İki veya daha fazla *Plasmodium* türüyle kombine enfeksiyonlar da görülebilmektedir. Sıtma etkenleri arasında en ağır klinik tabloyu oluşturan ve en fazla ölüme neden olan tür, *P.falciparum*'dur (43). Klinik belirtiler yaklaşık iki haftalık bir inkübasyondan sonra görülür. Sıtmanın ilk semptomları nonspesifiktir ve sistemik viral enfeksiyon semptomlarına benzer. Sıtma endemik bölgelerde yaşayanlarda ya da bu bölgelere seyahat öyküsü olanlarda mutlaka akla getirilmelidir. Başlangıçta baş ağrısı, halsizlik, yorgunluk, karın ağrısı, kas ve eklem ağrıları, ateş, titreme, terleme, iştahsızlık, bazı hastalarda kusma, öksürük ya da ishal olabilir. İnatçı ve tekrarlayan enfeksiyonlarda anemi gelişebilir. Diğer klinik bulgular; splenomegali, anemi, trombositopeni, hipoglisemi, pulmoner ve renal disfonksiyon ve nörolojik değişiklikler şeklinde sıralanabilir. Klinik, parazitin türüne, paraziteminin düzeyine ve hastanın immün direncine göre değişiklik gösterebilir (34).

Sıtma tedavisinde parazit türü ve bölgenin olası direnç durumu göz önüne alınarak, vakit geçirmeden tedavi başlanmalıdır. Tedavi olarak ilk seçenek klorokindir. KL'ye direnç durumunda meflokin, kinin sulfat, doksisisiklin, atovakuan/proguanil, artemeter/lumefantrin, artesunat ile sulfadoksin/primetamin kombinasyonu

verilebilir. Proguanil, sülfadoksin-pirimetamin ve atovakuon gibi anti-sıtma ilaçlarının çoğunluğu için direnç bildirilmiştir. Bu nedenle yeni sıtma ilaçlarına ihtiyaç vardır (42).

Ülkemizde *U. dioica* L. bitkisel ilaç olarak yaygın bir kullanıma sahiptir. *U. dioica* üzerinde son yıllarda çok sayıda biyolojik aktivite çalışması yapılmış olması, bu bitkiden elde edilen ürünlerin de artmasını ve kullanımlarının yaygınlaşmasını sağlamıştır. Bitkisel ilaçların yanında, gıda desteği şeklinde, çok sayıda ürün değişik kullanımları sağlamak üzere piyasada bulunmaktadır (49). Isırganın yaprakları % 1-2 flavonoid içerir (özellikle glikozitler ve quercetin, kaemferol ve isohamnetin rutosidleri). Karakteristik bileşenler, skopoletin, sitosterol ve 3-O-βD-glukozid ve kafeik asit esterleridir (22).

Bitkisel kökenli bileşiklerin araştırılması geçerli bir stratejidir. Doğal ürünler, *P. falciparum* sıtması tedavisinde kullanılan en önemli ilaçlardan, kinin ve artemisini üretmiştir (44). Böylece, bitkiler, yeni antimalaryal ilaçlara dönüşebilen, yeni moleküllerin geniş bir kaynağını temsil eder. Dolayısıyla, yeni antimalaryal ajanlar keşfetmek için yapılan çabalar, geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkilerin güvenlik ve etkinliğini değerlendirmelidir (16). Araştırmalar *U. dioica* 'nın antioksidan, anti-inflamatuar, anti-ülser, antikanser, antimikrobiyal antiviral, kardiyovasküler ve hepatoprotektif, anti-diyabetik, antiromatizmal etkilerini göstermiştir (3,48). Sıtma tedavisi, destek tedavi ve kemoterapik ilaçlarla birlikte uygulanmaktadır. Destek tedavi, kullanılan ilacın etkinliğini de arttırmaktadır. Parazit ilaçlara hızla direnç geliştirmekte ve bu durum araştırmacıları sıtma tedavisinde yeni stratejiler geliştirmeye itmektedir. Bu çalışmada amacımız, fare sıtma modelinde, Sivas'tan toplanan ısırgan otu (*U. dioica*) yapraklarının metanolik özütünün sitotoksitesi ve KL ile birlikte kombinasyonunun sıtma tedavisi üzerine etkisini araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sıtma

#### 2.1.1. Tarihçe

Sıtma, dünya tarihinde uygarlıkların çöküşüne, nüfusların değişimine, savaşların sonuçlarına etki eden dünya tarihine damga vuran bir hastalıktır. MÖ 5. yy'da Hippocrates hastalığın bataklıkla ilgisini tanımlamış ve hastalığın ateş döngüsünü tarif etmiştir. Jacquier, 1743 yılında hastalığın kötü havanın solunmasıyla ortaya çıktığı ifade ederek kötü hava anlamında “malaria” ismi ile hastalığı tanımlamıştır. Günümüzde hala bu isimlendirme yaygın olarak kullanılmaktadır (30).

Fransız askeri doktor Alphonse Lavern 1880 yılında Cezayir'de paraziti ilk kez kanda göstererek tanımlamış ve metilen mavisi ile boyamış ama iyi sonuç alamamıştır (14). 1885 yılında Rusya'da kuşların kanında parazit gösterilmiştir. Parazitin kuşlarda gösterilmesinden sonra sıtmanın insanlara bulaşmasında kuşların rol oynayabileceği ile ilgili kısa süren bir spekülasyon olsa da 1889 yılında İngiliz doktor Sir Ronald Ross, paraziti anofellerin midesinde tanımlamasıyla yaşam döngüsü ve vektörü açıklığa kavuşmuştur. Grassi ise insan sıtmasının sadece *Anopheles* sivrisinekleri tarafından bulaşabileceğini göstermiştir (29).

Ülkemizde Cumhuriyetin ilanından sonra ilk ele alınan sağlık problemi sıtmadır. 13 Mayıs 1926 tarihinde “Sıtma Mücadelesi Kanunu” yayınlanmış ve sıtmaya karşı çok başarılı bir eradikasyon çalışması yürütülmüştür (30,29).

#### 2.1.2. Sınıflandırma

Günümüze *Plasmodium* cinsi altında yaklaşık 200 tür tanımlanmış, moleküler yöntemlerin gelişmesiyle yeni türler de tanımlanmaya devam etmektedir. Bugün ki bilgilerimize göre 5 *Plasmodium* türü insanı enfekte etmekte diğer türler maymunlar, kemirgenler ve sürüngenler dahil diğer hayvanları enfekte ederek sıtmaya neden olmaktadır. Tablo 1'de *Plasmodium* türlerinin taksonomisi görülmektedir (9,15).

**Tablo 2.1.** *Plasmodium* türlerinin taksonomisi

<b>Kingdom</b>	Animalia
<b>Subkingdom</b>	Protozoa
<b>Phylum</b>	Apicomplexa
<b>Class</b>	Sporozoasida
<b>Order</b>	Eucoccidiorida
<b>Family</b>	Plasmodiidae
<b>Genus</b>	Plasmodium
<b>Species</b>	<i>P. vivax</i> <i>P. falciparum</i> <i>P. malariae</i> <i>P. ovale</i> <i>P. knowlesi</i>

### 2.1.3. İnsanda Sıtma etkeni Türler

Sürüngen kuşlar gibi birçok hayvan türünü ve çeşitli memelileri enfekte edebilen 200'den fazla *Plasmodium* türü vardır. Beş *Plasmodium* türünün doğada insanlara bulaştığı uzun zamandır bilinmektedir.

- *P. falciparum*, dünya çapında tropikal ve subtropikal olarak bulunur. Her yıl yaklaşık 1 milyon insanın, özellikle bu türün baskın olduğu Afrika'da *P. falciparum* türünün neden olduğu sıtma sebebiyle öldürüldüğü tahmin edilmektedir. *P. falciparum*, her yaştaki eritrositleri enfekte etme potansiyeline sahip olduğu için, kandaki parazitemi çok yüksek olmakta ve bunun sonucu olarak ciddi kan kaybına (anemi) neden olabilmektedir. Enfekte eritrositler kılcal damarları tıkayabilir ve bunun sonucu birçok organda komplikasyon gelişebilmektedir. Mortalite ve morbiditesi yüksektir. Neden olduğu sıtmaya tropikal sıtma denmektedir (28, 29).

- *P. vivax*, çoğunlukla Asya, Latin Amerika ve Afrika'nın bazı bölgelerinde bulunur. Asya'daki nüfus yoğunluğu nedeniyle en yaygın insan sıtma parazitidir. Neden



olduğu sıtmaya “Tersiyana Sıtması” da denmektedir. *P. vivax* sporozoitleri karaciğerde bölünmeksizin atıl olarak kalır ki bunlara hipnozoit denir. Hipnozoitler rölapslardan sorumludur (28, 29).

- *P. ovale* çoğunlukla Afrika'da (özellikle Batı Afrika'da) ve batı pasifik adasında bulunur. Biyolojik ve morfolojik olarak *P. vivax*'a çok benzer. Bununla birlikte, *P. vivax*'tan farklı olarak, Sahra altı Afrika'nın pek çok sakini için geçerli olan Duffy kan grubu için negatif olan kişileri enfekte edebilir. Bu, Afrika'nın çoğunda *P. ovale* prevalansını açıklar. Bu tür de *P. vivax* gibi karaciğer hipnozoitlerinden sorumludur (28,29).

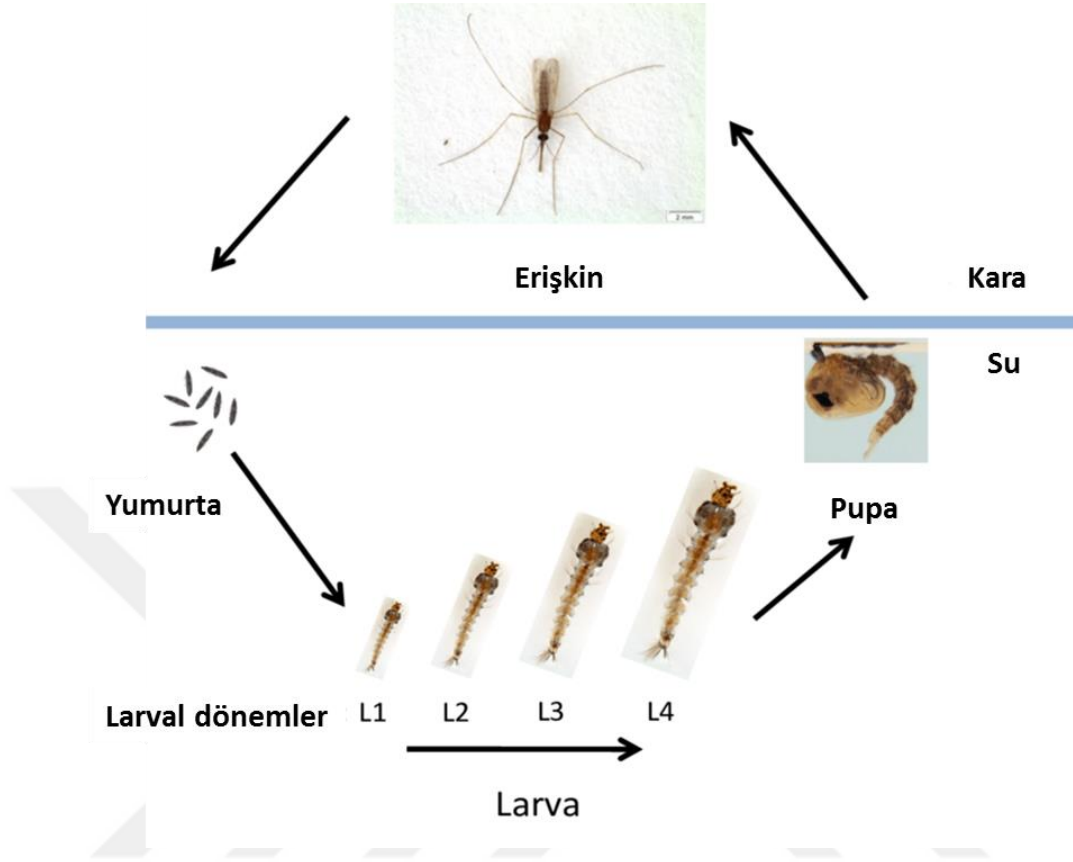
- Dünya çapında nadir saptanan bir tür olan *P. malariae*, quartan döngüsüne (üç günlük döngü) sahip olan tek insan sıtma paraziti türüdür. Bu nedenle sebep olduğu sıtmaya “Kuartana Sıtması” da denmektedir (Diğer üç tür tertian, iki günlük döngüye sahiptir). *P. malariae*, bazı durumlarda ömür boyu sürebilen uzun ömürlü, kronik bir enfeksiyona neden olur. Bazı kronik enfekte hastalarda *P. malariae* nefritik sendrom gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilir (28, 29).

- *P. knowlesi* Güney Asya'da maymunların sıtma etkeni olarak görülmektedir. Son zamanlarda, o bölgede, özellikle Malezya'da, zoonotik sıtmanın önemli bir nedeni olduğu gösterilmiştir. *P. knowlesi* 24 saatlik bir replikasyon döngüsüne sahiptir ve böylece komplike olmayan bir durumdan ciddi bir enfeksiyona hızla ilerleyebilir(28,29).

#### **2.1.4. Sıtma Vektörü**

Sıtma, *Anopheles* cinsi sivrisineklerin enfekte olması ile yayılmaktadır. *Anopheles* vektörünün 465 türü tespit edilmiş olup 100'den fazla tür insana *Plasmodium spp.* taşıma yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. *Anopheles gambiae*, *P. falciparum*'un bulaşmasındaki baskın rolü nedeniyle en iyi bilinenlerden biridir.( 33).

Tüm sivrisinekler gibi, *Anopheles* türleri de de yaşam döngüleri dört evreden oluşur: yumurta, larva, pupa ve erişkin. İlk üç aşama, suda ve türlere ve ortam sıcaklığına bağlı olarak 5-14 gün içinde gelişir. Yaşam döngüsünde sadece erişkin dönem karada yaşamaktadır. Erişkinler bir aya kadar yaşayabilir (10). Şekil 1.'de *Anopheles* türü sivrisineklerin yaşam döngüsü şematik olarak görülmektedir.



**Şekil 2.1.** *Anopheles* türü sivrisineklerin yaşam döngüsü (39)

### 2.1.5. Morfoloji

*Plasmodium* türlerinin evrim dönemlerinde her biri arasında benzerlik ve farklılıklar mevcuttur. İnsan vücudunda eşeysiz üreme (şizogoni) görülürken dişi anofelde eşeyli üreme (gametogoni) görülmektedir. Bu durumda dişi anofel son konak olurken, insan ise ara konak rolündedir. Zigot, ookinet, ookist, sporokist ve sporozoit şekilleri *Plasmodium*'ların sivrisinek vücudundaki evrim dönemleridir. Genç trofozoid, ameboid, genç şizont olgun şizont ve merozoit şekilleri insanda oluşan üreme evreleridir (29,30,35).

*Plasmodium* türleri eritrositi sindirildikten sonra geriye kalan atıkları eritrosit sitoplazmasında biriktirmektedirler.. *P. vivax* ve *P. ovale* sıtmasında, parazitli eritrositlerin sitoplazmasındaki yapılar "Schüffner tanecikleri", *P. falciparum*'da "Maurer tanecikleri", *P.malaria*'da ise "Ziemanın tanecikleri" denmektedir.

(29,30,35). Tablo 2.'de insanda sıtmaya sebep olan beş sıtma türünün eritrosit içindeki döngüleri ile ilgili özellikler görülmektedir.

**Tablo 2.2.** İnsanı enfekte eden sıtma türlerinin eritrositlerdeki döngüleriyle ilgili temel özellikleri

<i>P. falciparum</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hem genç hem de yaşlı eritrositleri enfekte edebilirler.</li><li>• Total eritrosit popülasyonunun %10'unundan fazlasını enfekte eder.</li><li>• Bir eritrosit içine birden fazla parazit girebilir, böyle görünüşler sıktır.</li><li>• Şizogoni süresi 48-72 saatte birdir.</li><li>• Şizogoni sonunda 8-32 (ortalama 20) merozoit oluşur.</li><li>• Sıtma pigmenti hemozoin mavi renge boyanan bazofilik yapıda, kaba görümlü ve az sayıdadır; Maurer tanecikleri olarak adlandırılır.</li></ul>
<i>P. vivax</i> <i>P. ovale</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• İmmatür-geç eritrositlere girerler.</li><li>• Total eritrosit popülasyonunu %1'ini enfekte eder.</li><li>• <i>P. vivax</i>'ta daha belirgin olmak üzere enfekte eritrosit genişler-büyür.</li><li>• <i>P. vivax</i> ile enfekte eritrositlerin içinde görülen asidofilik, kırmızı boyanan yapılara Schüffner tanecikleri denilir.</li><li>• 48 saatte tamamlanan eritrosik şizogoni sonunda 12-24 merozoit oluşur.</li></ul>
<i>P. malariae</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Yaşlı eritrositleri enfekte eder.</li><li>• Total eritrosit popülasyonunun %0.2 kadarını enfekte eder.</li><li>• Eritrosit genişlemez, normal görümlüdür.</li><li>• Olgun trofozoitte stoplazma daha yoğun ve eritrosit ortasında bir bant gibi görülür.</li><li>• Şizogoni süresi 72 saattir.</li><li>• Şizogoni sonunda 6-12 (ortalama 8) merozoit oluşur</li></ul>
<i>P. knowlesi</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Eritrosik şizogoni süresi 24 saattir ki bu süre <i>Plasmodium</i> türleri arasında en kısa olanıdır.</li><li>• Eritrosit içinde bant şeklinde görülmesi <i>P. malariae</i> ile karıştırılabilir.</li></ul>

### 2.1.6. Hayat döngüsü

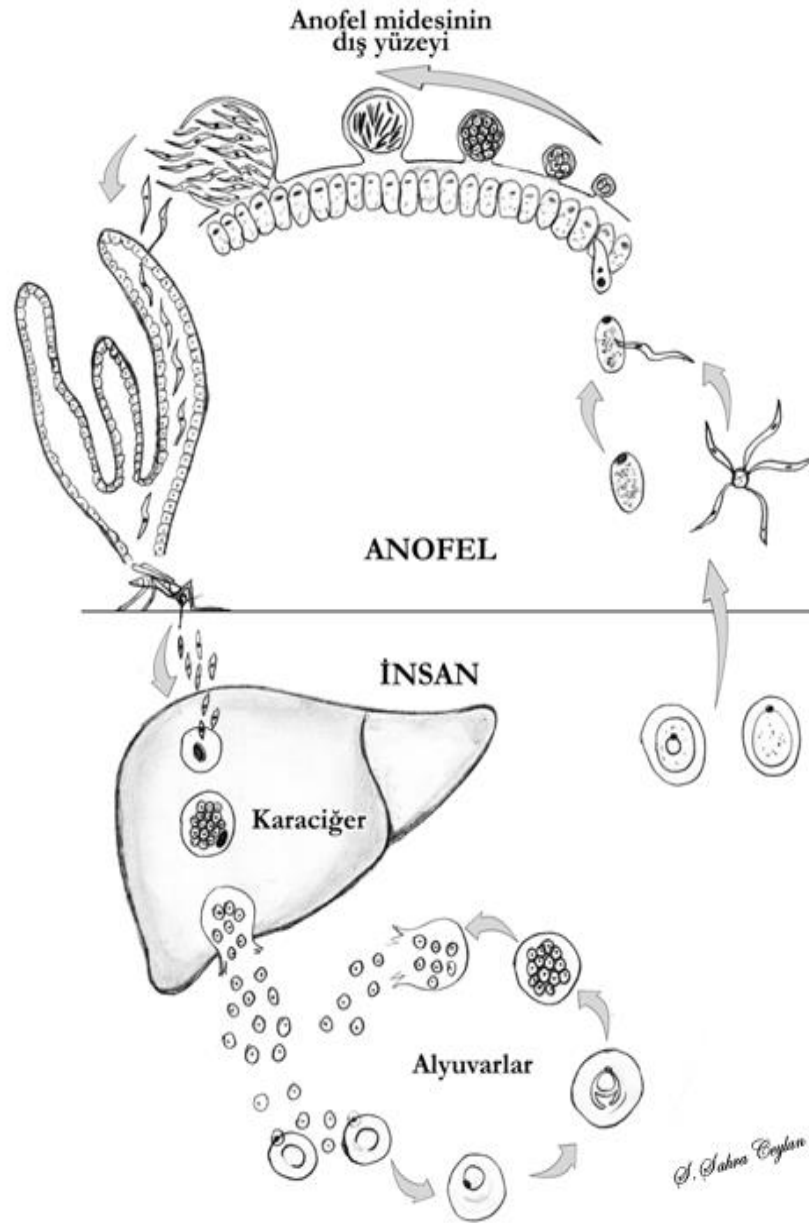
*Plasmodium* türlerinin sivrisinek ve insanda tamamlanan karmaşık bir hayat döngüsü vardır.

#### 2.1.6.1. İnsandaki Evrim

*Plasmodium*'u taşıyan dişi anofelin tükürüğünde bulunan sprozoitlerin, insanda kan emerken kan dolaşımına vermesi ile insandaki yaşam döngüsü başlamaktadır. Bu sprozoitlerin bir kısmı, kan dolaşımı sayesinde karaciğere doğru ilerlerken, diğer sprozoitler dendritik hücreler tarafından fagosite edilerek pre-eritrosik dönemi başlatır. Sprozoitlerin karaciğer parankim hücrelerine girmesinde circumsporozoite proteinin (CSP) önemli rolü vardır. Karaciğer parankim hücreleri CSP'yi tanıyarak sprozoitleri içeri alırlar. Karaciğere ulaşanlar hepatositler içerisinde çoğalmaktadırlar. Hepatositler içerisinde çoğalan merozoitler, hücrelerin parçalanması ile kan dolaşımına karışmaktadırlar. Kan dolaşımına karışan çok sayıda merozoit artık eritrositlere doğru yol almaktadırlar. *P. vivax* ve *P. ovale*'nin karaciğerde uzun süreler latent halde kalan ve sonra aktif hale geçerek enfeksiyona neden olabilen hipnozoit diye adlandırılan formları oluşabilir. Kana dökülen merozoitler eritrositleri enfekte ederek eritrositik döngüyü başlatırlar. Merozoitlerin eritrositlere girişinde merozoit yüzey protein-1'in (Merozoite Surface Protein-1, MSP-1) önemli bir rolü vardır. Eritrosit içine giren merozoitin şekli değişir ve boyalı preparatlarda boyanmayan büyük bir vakuol, halka şeklinde ince ve maviye boyanan stoplazma ve kırmızıya boyanan çekirdek nedeniyle taşlı yüzük görünümünde olan genç trofozoit şeklini alır. Genç trofozoitten sonra sırasıyla amoboid yapıda olgun trofozoit, çekirdeğin parçalanmasıyla genç şizont ve bundan da olgun şizont gelişir. Olgun şizont içindeki merozoitler eritrositlerin parçalanmasıyla kana dökülür (Şekil 2.2) (29,30,35).

### 2.1.6.2. Dişi Anofeldeki Evrim

*Anopheles* cinsi dişi sivrisinekler, sıtmalı kişiden kan emerken kanındaki mikrogametosit ve makrogametositleri alır. Bu yapılar sivrisineğin midesinde mikro ve makro gametlere dönüşür ve mikrogametinin makrogameti döllemesiyle zigot oluşur. Zigot, yaklaşık 18-20 saat sonra fuziform ve hareketli bir yapı olan ookinete dönüşür. Ookinet midenin dış duvarında yuvarlak bir şekil alarak ookist denilen yapıya dönüşür. Ookist içindeki oluşan ortalama 10- 15 µm boyundaki sporozoitler ookistin yıtilmasıyla serbest kalır ve sivrisineğin tükrük bezine yerleşir. Dişi anofel insandan kan emerken bu sporozoitleri insana enjekte eder (Şekil 2.2). (29,30,35).



Şekil 2.2. Plasmodium Türlerinin Hayat Döngüsü (43 )

### 2.1.7. Klinik Belirtiler

Sıtma da ateş, üşüme, titreme ve terleme en belirgin semptomlardır. Sıtma çeşitlerine göre bu belirtilerin şiddeti değişmektedir. Hızlı gelişen sıtma nöbetlerine kansızlık ve karaciğer büyümesi de eşlik etmektedir. Bu nöbetler; Plasmodium türlerine göre 36-48-72 saatte bir tekrarlayarak görülmektedir. Sıtma nöbeti sırasında gelişen semptomlar; hastalanan kişinin parazite karşı bağışıklık geliştirmesine, sağlık

durumuna, kalıtsal özelliklerine, beslenmesine, hastalığa neden olan parazitin türüne ve suşlarına, hastalanan kişinin yaşına ve enfeksiyon gelişen coğrafik konuma göre farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Sıtma nöbeti başlamadan önce birtakım belirtiler görülmektedir. Bunlar halsizlik, baş ağrısı, kas ve eklem ağrısı, kol ve bacak ağrısı, hafif ateş gibi gribe benzer belirtilerdir. Sıtma nöbet öncesi gelişen bu belirtilerin olduğu döneme prodrom denir. Bazen prodrom dönemi görülmeden de nöbet aşamasına geçildiği gözlenmiştir. Endemik bir bölgeden gelmiş veya o bölgede yaşayan, önceden kan transfüzyonu yapılmışsa prodrom dönemi belirtileri görülen kişiden mutlaka sıtma düşünölmelidir (29,30,35)

#### **2.1.7.1. Sıtmada kuluçka dönemi**

Kuluçka dönemi; *Anopheles* cinsi dişi sivrisineğin, insandan kan emmesi sırasında, kan dolaşıma sprozoitlerinin karışmasından ilk nöbetin ortaya çıktığı zamana kadar geçen süredir. Bu süre 14-30 gün arasında değişmektedir. *Plasmodium* türlerine göre farklılık gösteren kuluçka süresi *P. vivax* sıtmasında 12-18 gün, *P. falciparum* sıtmasında 7-12 gün, *P. ovale* sıtmasında 11-16 gün, *P. malaria* sıtmasında 28-37 gün olarak bilinmektedir. *Plasmodium* türlerinin suşlarına göre de kuluçka süresi değişmektedir (29,30,35).

#### **2.1.7.2. Sıtmada nöbeti**

Parazitin eritrositer şizogeni evresinin süresine bağlı olarak sıtma nöbeti görölmektedir. Üşüme-titreme, yüksek ateş ve terleme belirtileri sıtma nöbetinde görölmektedir. Bu nöbet *P. vivax* ve *P. ovale* sıtmalarında 48 saatte bir, *P. falciparum* sıtmasında 36-48 saatte bir, *P. malaria* sıtmasında ise 72 saatte bir gerçekleşmektedir (29,30,35).

##### **2.1.7.2.1. Üşüme-titreme**

Sıtmalı kişiye önce ürperir ve ardından üşüme gelir. Öyle bir üşümedir ki hasta güneş kalsa ya da yorgan altında bulunsa da üşüme geçmez. Üşüme esnasında dudakları morarır ve çeneleri titrer. Hastanın nabızı hızlanır. Cildi kurur ve soluklaşır. Halsizlik, mide bulantısı, kusma üşümeye eşlik eder. Üşüme ve titreme hali yaklaşık 0.5-2 saat sürebilmektedir (29,30,35).

#### **2.1.7.2.2. Yüksek ateş**

Üşüme, titremeyi müteakiben ateş yükselmektedir. 40 dereceyi bulan ateş ile birlikte yüzde kızarıklık, gözlerde parlaklık ve deri kuru görünümünde olmaktadır. Şiddetli baş ağrısı, mide bulantısı kusma, ajitasyon ile birlikte nabız taşikardik ve solunum hızlanmaktadır. Deride döküntüler görülmektedir. İdrar miktarı azalırken idrarda albümin ve ürobilinojen pozitif, kanda ise üre ve kolesterol yüksek ölçülmektedir. Ateş genellikle 2-6 saat sürebilmektedir (29,30,35).

#### **2.1.7.2.3. Terleme**

Yükselen ateşin düşmeye başlaması ile terleme görülmektedir. Ateşin tamamen düşmesi tüm vücudun terlemesine neden olmaktadır. Hasta kendini bitkin hisseder ve rahatlamanın ardından uykuya dalmaktadır (29,30,35).

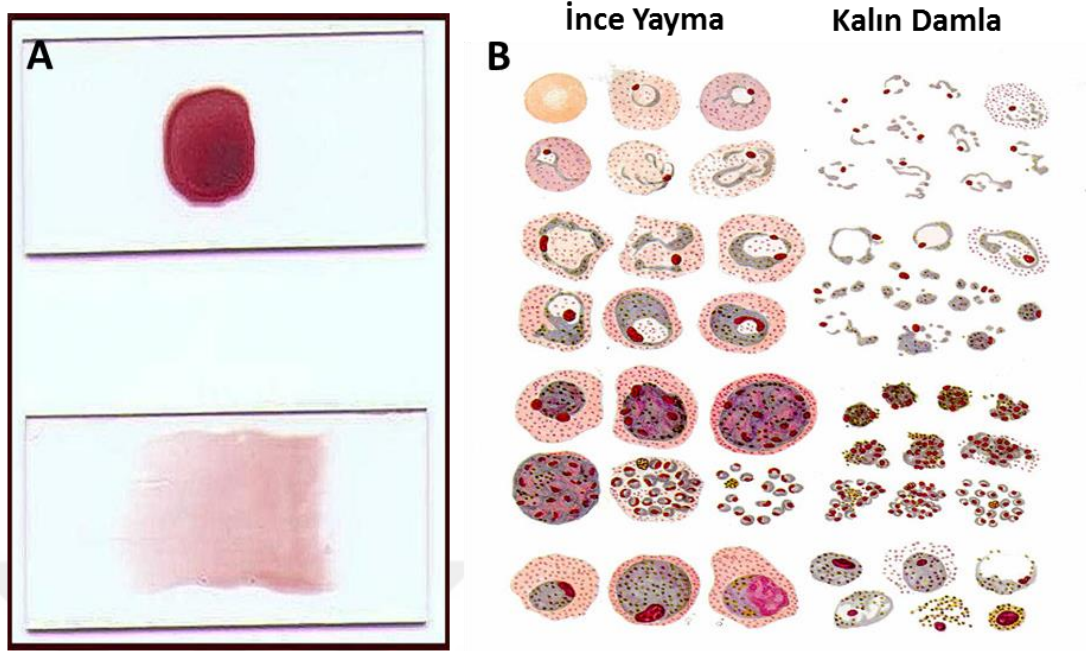
#### **2.1.8. Tanı**

Sıtma endemik bölgelerde yaşayan veya o bölgelere seyahat eden kişilerde ateş görülmesi akla sıtmayı getirmelidir. DSÖ, sıtma ile mücadelenin temel noktasının tanının konularak sıtmalı kişilerin tespit edilmesi gerekliliğini vurgulamaktadır. Kesin tanıda altın standart ince yayma ve kalın damla kan preparatlarında parazitin eritrosit içindeki dönemlerinin görülmesi olarak kabul edilir (25). Preparatlar hazırlandıktan sonra Wright, Giemsa veya Wright-Giemsa boyaarıyla boyanarak *Plasmodium* türlerinin trofozoit, şizont ve gametosit şekilleri (Şekil 2.6.) görülerek tanı konulabilir. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarının hazırlanma aşamaları Tablo 3'de görülmektedir. Bu yöntem, maliyeti düşük, pratik ve etkilidir. Kandaki parazitenin türü, parazitemi seviyesi ve gametositlerin oluşup oluşmamasının görülmesi gibi avantajları vardır. Fakat bu konuda kendini yetiştirmiş personel gerekli olması ve zaman alması dezavantajıdır ( 21).



**Tablo 2.3.** İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarının hazırlanma aşamaları (21).

<b>KALIN DAMLA</b>	<b>İNCE YAYMA</b>
<b>1. Yayma için gerekli araç gereç hazır hale getirilir.(temiz lamlar,steril pamuk, lanset, alkol)</b>	
<b>2.Alkole,cilt temizliği yapılır ve kuruması beklenir.</b>	
<b>3. Lanset ile parmak delinir ve ilk damla pamukla silinir.</b>	
<b>4. Kan damlası (3-4 damla) lamın sağ parçasının orta kısmına aktarılır.</b>	4.kan damlası (1 damla) preparat lamın sağ bölümüne aktarılır.
<b>5.Kan, diğer bir lamın köşesi veya toplu iğne başı ile, bir bir buçuk santimetre çapta yayılır.</b>	5.Başka bir lam ile 45 derece açı olacak şekilde lam sola doğru seri ,homojen ve titreksiz olmayan bir hareketle kaydırılarak ince yayma yapılır.
<b>6.TESPİT YOKTUR. Kurumaya bırakılır.</b>	6. Doğal kurumaya bırakılır.
<b>7.Boya köprüsü üzerine yerleştirilir. Taze hazırlanmış Giemsa boyası karışımı kanın üzerine kapatılacak şekilde dökülür ve 45 dk beklendikten sonra boyanın fazlası dökülür.</b>	7. Preparat metil alkol (2-3 dk) veya etil alkol (20-25 dk) ile tespit işlemi yapılır. Tespit sonrası kuruması beklenir.
<b>8. Distile su kapına daldırılıp çıkarılarak boya fazlası yıkanır ve havada kurutulur.</b>	8. Boya köprüsü üzerine yerleştirilir. Taze hazırlanmış Giemsa boyası karışımı kanın üzerine kapatılacak şekilde dökülür ve 30 dk beklendikten sonra boyanın fazlası dökülür. Akan çeşme suyunda yıkandıktan sonra havada kurutulur.
<b>9. Mikroskofta inceleme yapılır.</b>	



**Şekil 2.3.** A. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarının görünümü. B. İnce yayma ve kalın damla kan preparatlarında *Plasmodium* türlerine ait evrim dönemlerinin mikroskopik görünümü (2).

Son yıllarda sıtma enfeksiyonlarının saptanmasında daha fazla duyarlılığa ve özgüllüğe sahip alternatif tanı metodları geliştirilmiştir. Kantitatif buffy coat (QBC), seralojik tanı metodları, meleküler yöntemler, hızlı tanı testleri bunlardan bazılarıdır (29).

QBC tekniği, floresan mikroskopisi temelli bir testtir (45). Test, cam kapiller tüp içinde akridin turuncu bulundurur. Tüpün üstüne kan eklendikten sonra kapak kapatılır ve küçük bir plastik yüzer top yüzdürülür. Şamandıra, iç boru boşluğunun neredeyse tamamını kendi uzunluğu kadar değiştirir ve santrifüjlendiğinde, plazma-kırmızı kan hücresi ara yüzünde kalır, fiziksel olarak 10 kat genişletir. Beyaz kan hücresi ayrı bir yerde kalır, özel bir cihazla ölçülebilir. Şamandıra, parazitlenmiş kırmızı kan hücrelerinin fazla olduğu kırmızı kan hücresi bulunan kısmın üstüne uzanır ve genişler. Santrifüjlenen tüp doğrudan bir floresan mikroskop ile incelenir. Bu yöntemle yoğunluğundan dolayı parazitli kısım kolayca görülür. QBC, hızlı ve verimli bir şekilde tanıya gidilir. Kan yaymaları incelemede uzman olan kişilere ihtiyaç yoktur. Kılcal boruların maliyeti ve bir santrifüj ve floresan mikroskop gibi ek ekipman ihtiyacı, QBC'nin dezavantajıdır (21,29).

İndirek tanı yöntemleri sıtma tanısında fazla kullanılmamaktadır. Çünkü enfeksiyonun uzayan evrelerinde ancak pozitif oldukları belli olur. Erken dönemde tanıya gidilememesi dezavantajdır. Tedavi olduktan uzan zaman sonra bile pozitif sonuç çıkabilir. Kişinin annesinin yaşam öyküsünde bu hastalığı geçirmiş olması sonucun pozitif çıkmasına sebep olabilir. Oldukça pahalı olan ve endemik bölgelerde bu nedenden tercih edilmeyen bu yöntemler, o bölgelerde yalancı pozitiflik gösterebilir. Serolojik tanı yöntemleri daha önceden geçirilmiş sıtma vakalarında, radikal tedavinin uygulanıp uygulanmadığının tespitinde, gametositlerin görülmesinde, karaciğer hipnozoitlerinin bulunduğu evrelerde yararlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ELISA yöntemi, sıtmaya karşı aşı hazırlanmasında kullanılmaktadır (29).

Sıtmanın dört ayrı türüne özel RNA problemleri belirlenmiştir. Çok az parazit varlığını bile saptayan PCR yöntemleri bulunmuştur. Nested PCR'ın kolay ve duyarlılığının yüksek olmasının yanında, *P.falciparum* parazitlerinin tespitini sağlar. Moleküler biyolojik tanı yöntemleriyle dört ayrı sıtma türünün ayrımı ve KL direncine sebep olan genin tespiti yapılabilmektedir. Moleküler biyolojik tanı yöntemlerinin çok pahalı olması, yüksek düzeyde eğitilmiş personel gerektirmesi, özel ekipman istemesi ve zor uygulanması gibi dezavantajları vardır. (29)

İmmüno kromatografik yöntemler kullanılarak geliştirilen hızlı tanı testleri sıtmanın endemik olduğu bölgelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Su anda DSÖ ve diğer kuruluşların işbirliği ile geliştirme aşamasında olan birçok hızlı diagnostik test (RDT) endemik bölgelerde yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu testler *Plasmodium* türlerine spesifik Histidinden Zengin Protein-2 (HRP-2), aldolaz ve laktat dehidrogenazı (pLDH) belirlemek üzere dizayn edilen testlerdir (18,26).

### **2.1.9. Tedavi**

Sıtma etkeni bulunmadan tedavisi bulunan bir hastalıktır (29). Sıtma tedavisi kemoterapiye ek olarak yatak istirahati, ateş kontrolü, sıvı replasmanı, parenteral beslenme ve bazı olgularda kan transfüzyonunu içeren destek tedaviyle birlikte yapılmaktadır. Klasik sıtma ilacı daha önceleri kına kına ağacının kabuklarından elde edilen sonrasında sentetik olarak üretilen kinindir. Sıtma tedavisindeki en büyük

zorluk bütün *Plasmodium* türlerine ve parazitin her evrim dönemine etki eden tek bir preparat olmamasıdır (29, 51).

Tedavide kullanılan ilaçlar etki ettiği evrim dönemine göre 4 farklı şekilde gruplandırılabilir:

1. **Eritrositler içindeki siklusun eradike eden ilaçlar:** Parazitin eritrositer şizogonisine ya da eritrositer merozoitlerin çoğalmasını etkileyen ilaçlardır. Buna bağlı olarak akut atak tedavisinde kullanılır. Bu grupta en çok kullanılan ilaçlar kinin, KL, kinakrin ve pyrimethamine'dir (2,51).

Kinin, geçmişte sıtma tedavisinde kullanılan tek ilaçtır. Kınakına ağacından elde edilir. Sonradan geliştirilen ilaçlar hem daha etkili hem de toksik yan etkileri kinine göre azdır. Başta *P. falcifarum* sıtması olmak üzere ilaçlara direncin yaygınlaşması buna karşılık kininin acil olgular üzerindeki başarısı gibi nedenler tekrar kinini değerli kılmıştır. Etkili şizontosittir. Ancak kandaki kalış süresi kısa olduğu için koruma amaçlı tercih edilmez. Sporozoitlere ve doku formları üzerinde etkisi bulunmazken gametositlere etkisi çok azdır. Sadece klinik atak üzerinde etkisinden dolayı tercih edilir (2,51).

KL, 1934'te sentezlenen klorokin, 4-Aminoquolinler grubunun en çok bilinenidir. Grubun diğer tedavi üyeleri Amodiakın, amopirakin ve siklokin'dir. Tedavinin doz ve uygulanış biçimleri bu türler arasında farklılık gösterir fakat etkileri birbirine benzer şekildedir. KL tüm türlere etkili şizontosittir. *P. falciparum* dışında gametositler üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Ancak doku şizontosit ve sporontosit üzerinde etkisi hiç yoktur. Normal dozlarda kullanıldığında yan etkisi görülmez. Toksik etkisi oldukça düşüktür. Emilimi hızlı ve iyidir. Oral olarak alındıktan 2-3 saat içinde kana karışır. Dokularda depolanıp yavaş bir şekilde salgılanır (2,51).

Pyrimethamine, folik asit antagonistidir. Oral kullanımında Emilimi çok iyidir. Yarılanma ömrü 4-6 gün ilaç, tüm türler üzerinde etkili bir şizontosittir. Ancak Emilimi yavaş ilerler. Ağır ataklarda tercih edilmez. Daha çok koruma amaçlı tercih edilir. *P. falciparum* sıtmasında da uygun doz ve süre de tedavi sağlarken diğer türlerde kliniği erteler. Gametositler üzerinde etkili değildir. Sporogoniyi engellediği

için bulaşı kesmede kullanılır. Toksik etkisi düşük, ucuz ve tadı acı değildir. Fakat hızlı direnç gelişir, anemiye neden olur ve gebelerde kullanılmaz (2,51).

2. **Karaciğer parankim hücrelerindeki şizogonik evrim dönemlerine karaciğer hipnozoitlerine etkili olanlar:** Karaciğerdeki parazitin doku merozoit formlarına etki eder. Parazitin karaciğer de üreme aşamasında müdahale ederek üremeyi önler ya da kana dökülen parazitlerin eritrositlere ulaşmasına engel olur. Bu nedenden hastalığa ilk gelişen atağı ya da nüksleri engeller. Bu amaç için en çok kullanılan ilaç primakindir. İlk bulunan yapay sıtma ilaçlarından olan primakin, tüm türler için etkili bir gametosit ve *P. falciparum*, *P. ovale* ve *P. vivax* için etkili bir doku şizontositidir. Ağızdan emilimi iyi olurken parenteral uygulanamaz. Koruyucu olarak kullanılmaz çünkü toksitesi yüksektir. Relaps yapan türler üzerinde etkili olup nüksleri önler. Radikal tedavi ve sekonder koruma da oldukça önemlidir. Parazitin eritrosit evresine etkisi zayıf olduğundan klinik atak tedavisinde tek başına kullanılmaz. Gametosidal etkisi nedeniyle bulaşmayı önler. Yan etkileri nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır. En önemli yan etkisi kemik iliğini baskılar ve hemolize neden olur (2,51).

3. **Gametositlere etkili olan ilaçlar:** Sıtma bulaşını engelleyen ilaçlardır. Parazitin gametositleri etkilerler. Gametositlerin sivrisineğe geçişini ya da sivrisinekteki döllenmeyi önler (2,51).

### 2.1.10. Epidemiyoloji

Sıtmanın bir bölgede olması için, sıtmalı insanların hastalığın kaynağı olarak bulunması, o bölgede yaşayan insanların sıtma çeşidine duyarlı olması, sıtmayı insandan insana bulaştırabilecek *Anopheles* cinsi sivrisineklerin bulunması, iklim koşullarının sıtma parazitlerinin *Anopheles* cinsi sivrisineklerrde evrimini tamamlayabilmesi için uygun olması ve kişilerin yaşam koşullarının ve eğitim düzeylerinin sıtmanın bulaşmasına uygun olması gerekmektedir. Bu epidemiyolojik koşulların hepsi bir arada bulunduğu zaman o bölge veya ülkede sıtmanın yaygın olarak görülebileceği bildirilmektedir (29).

Sıtma vakaları dünya genelinde 32. güney ve 64. kuzey enlemlerinde sıtmanın olması için gerekli epidemiyolojik koşullar olduğu ülke ya da bölgelerde görülmektedir.

Dişi anofelin yaşayabileceği uygun koşullar hastalık ile doğrudan alakalıdır. Dişi anofelin vücudunda parazitin evrimini tamamlayabilmesi için sıcaklığın 15° C'nin üzerinde olması gerekmektedir (51).

DSÖ tarafından 2014'te duyurulan Dünya Sıtma Raporu'na göre 2013 yılında 198 milyon sıtma vakası ve 584 bin ölüm bildirilmiştir. Bu ölümlerin %90'ı Afrika'da görülen %78'ini ise 5 yaş altı çocuklar oluşturmaktadır (46). DSÖ'nün 2018 raporunda 2016 yılındaki sıtma olgularıyla kıyaslandığında sıtmanın bazı ülkelerde %24 oranında azaldığı ve dünya genelinde bu oranın 2020'ye kadar %40'a ulaşacağını bilgisi yer almaktadır. Aynı raporda küresel olarak tüm sıtma vakalarının ve ölümlerin büyük bölümünü oluşturan 11 ülkede (Burkina Faso, Cameroon, Democratic Republic of the Congo, Ghana, India, Mali, Mozambique, Niger, Nigeria, Uganda and United Republic of Tanzania) yetersiz finansman, koordinasyon problemleri gibi nedenlerle sıtma eradikasyon çalışmalarının yavaş ilerlediği bildirilmektedir (47).

Sıtma ülkemizde bilinen bir hastalık olup Cumhuriyetin ilk yıllarında çıkarılan kanunlarda çok başarılı eradikasyon çalışmaları yürütülmüştür. Son yıllarda yerli sıtma vakalarının görülme oranı çok azalmış olup, sıtmanın görülme ihtimali en yüksek olduğu bölgeler Çukurova ve Güneydoğu Anadolu bölgeleridir. Vakalar ülkemizde sayıca önemli ölçüde azalmış olsa da halen yeni yeni olgular ortaya çıkabilmektedir (29,51).

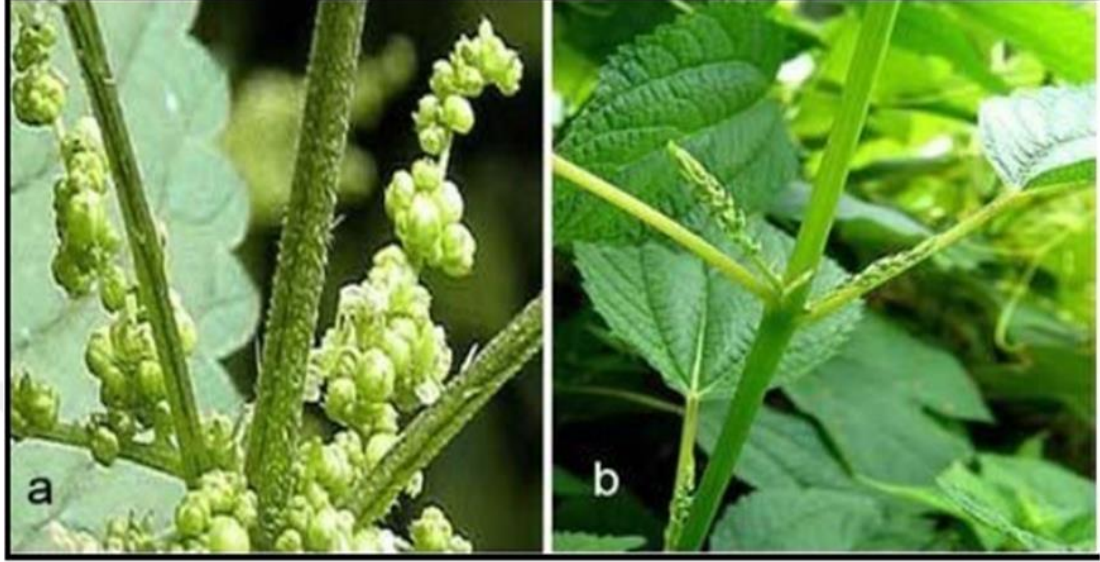
#### **2.1.11. Korunma**

Sıtmanın eradikasyonu için sivrisinek-insan geçiş döngüsünün kırılması çok önemlidir. Bunun için, sıtmalı insanların sağlanması, sağlıklı kişileri sıtmadan koruyacak önlemlerin alınması, sivrisineklerin yok edilmesi gerekmektedir (29,51).

#### **2.2. Isırgan Otu**

Isırgan otu (*Urtica dioica* L.) ısırganotugiller familyasına (Urticaceae) ait olup Urticales takımı içerisinde dünyanın hem kuzey hem güney yarım küresinde yetişebilen, çok yıllık otsu bir bitkidir. Bu bitki saplarında birbirinin karşısına gelecek şekilde yaprak dizilimine sahiptir. Yaprakları yakıcı tüylü, koyu yeşil renkte ve kenarları dişlidir. Yakıcı tüyler bitkinin saplarında da bulunur. Yapraklarının boyu 10 cm'yi bulurken bitki boyu 100 cm'yi aşabilmektedir. Isırgan otu yaprak

koltuklarında gelişen gelen çiçekler erkek veya dişi olarak tanımlanır. Erkek çiçekler 5 Stamenli iken dişi çiçekler 4 ya da 5 taç yaprağın birleştiği karpel bir ovarie sahiptir. Gösterişli olmayan ısırgan otu çiçekleri tür ayrımında önemlidir (4,41).



**Şekil 2.4.** Dişi (a) ve erkek (b) çiçekli ısırgan otu (*Urtica dioica*) (4)

En çok Haziran – Eylül ayları arasında yetişen bu bitki, bahçelerde, ormanlarda, bataklık kenarlarında ve çok su bulunan bölgelerde bol miktarda bulunur. Isırgan otu yapısında 20'ye yakın kimyasal madde bulundurmaktadır. Bunların bazıları, yağ asitleri, lektinler, steroller, aminler, asitler ve poliholozitlerdir. Bu kimyasal maddeler bitkinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarında ayrılmış olarak bulunurlar. (8, 20).

Yaprak yüzeyinde bulunan yakıcı tüylerinin içeriğinde bulunan formik asit, histamin, serotonin ve kolin yakıcı özelliğini veren maddelerdir. Bu maddeler ısırgan otuna dokundulduğunda ciltte kaşıntılı kabarıklıklar oluşturur. Isırganotu yaprakları mineraller, klorofil, amino asitler, lesitin, karetenoidler, flavonoidler, steroller, taninler ve vitaminlerce zengin, bitki kökleri scopoletin, steroller, yağ asitleri, polisakkaritler ve izolectin gibi kimyasal maddeler içermektedir Isırgan otu yaprakları K, vitamin B1, provitamin A, ürtisin glikozidi, sistosterin, sepi maddeleri, ksantofil, yönünden zengindir (37).

Isırganotu geçmiş dönemlerden günümüze kadar kolay bulunabilmesi ve maliyetinin düşük olması nedeniyle ilaç, kozmetik, boya, gıda, gübre gibi çok farklı alanlarda

kullanım alanı bulmuştur. Bunlara ek olarak, ağırlığının % 17'sini oluşturan yüksek kalitede gerilmeye dayanıklı zarif, hafif, uzun ve dirençli liflere sahiptir. Bu özellikleri ile ısırganotu hem bir tıbbi bitki hem de bir lif bitkisi olarak değerlendirilmesi noktasında büyük bir potansiyele sahiptir (4).

Isırgan otunun içerdiği kimyasal maddeler ısırgan otunun tıpta yaygın bir kullanım alanına sahip olmasını sağlamıştır. İçerdiği maddelerden biri olan  $\beta$  - sitosterol kanser olmayan prostat büyümesine karşı kullanılan bir maddedir. Isırgan otunun en yaygın kullanıldığı alan romatizmal hastalıklardır. Bunların dışında ısırgan otu şeker hastalığında, sivilce, sedef ve egzama gibi deri hastalıklarında, kızamık ve çiçek hastalıklarında ve yüksek tansiyona karşı kullanılmaktadır (8,20).



### **3. MATERYAL METOD**

#### **3.1. *U. dioica* yapraklarının toplanması**

Dişi çiçekli *U. dioica* yaprakları Sivas ili merkez Beypınar Köyü etrafından Eylül 2017’te toplanarak taksonomist Dr. Esra UÇAR tarafından *U. dioica* olarak tanımlandıktan sonra yapraklar yabancı maddelerden temizlenerek, oda sıcaklığında gölgede kurutuldu. Bundan sonraki aşamada kurutulan yapraklardan özüt hazırlandı.

#### **3.2. *U. dioica* özütünün hazırlanması**

Öğütülerek toz haline getirilmiş ısırgan otu yaprakları 1/10 w/v oranında metanol çözücüsünde manyetik karıştırıcıda 24 saat karıştırıldı ve sonrasında buncher hunisi yardımıyla 0,2 mm Whatman No:1 filtre kâğıdından geçirilerek katı faz ve sıvı faz birbirinden ayrılması sağlanarak, seramik goach krozesi yardımıyla ince filtre seramikten geçirilip evaporatöre hazır hale getirildi. Evaporatöre hazır hale gelen süzöntü 40°C sıcaklıkta ve basınç altında çözücüsünden uzaklaştırılarak kuru özüt elde edildi.

#### **3.3. *U. dioica* ekstraktının sitotoksik potansiyelin değerlendirilmesi**

##### **3.3.1. Hücre Kültürü**

Araştırmamızda sitotoksik potansiyeli belirlemek için Pensilin-streptomisin (%1), L-glutamin (%1) ve fetal bovine serum (FBS)(%10) ilave edilerek hazırlanan Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium (DMEM) içerisinde çoğaltılan L929 fare fibroblast hücre serisi kullanıldı (Şekil 3.1.A)

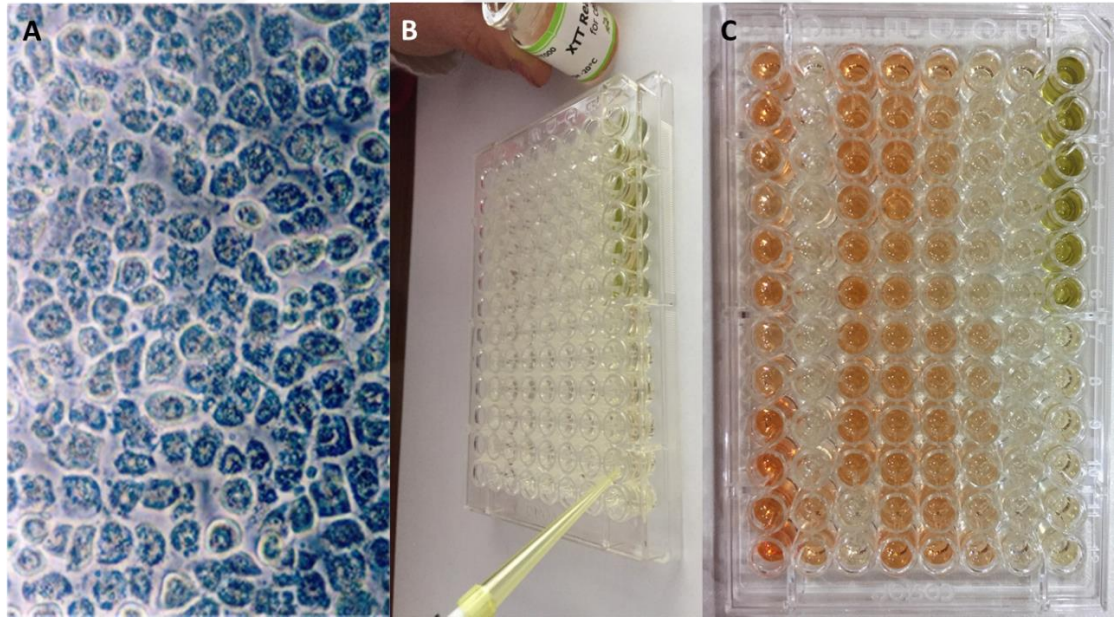
##### **3.3.2. XTT Testi**

Bu yöntem ile canlı veya apoptosisin erken evresindeki canlı hücreler XTT solüsyonda bulunan tetrazolium halkası hücre mitokondrilerinde bulunan dehidrogenaz enzimlerince parçalanarak renkli formazon kristalleri oluşturur. Reaksiyon sonucu oluşan rengin yoğunluğu mitokondrial aktiviteyle doğrudan ilişkilidir. Tetrazolium halkası sadece aktif mitokondri aracılığı ile kırılabilirdiğinden ölü hücrelerin varlığında formazon kristali oluşmaz.

*U. dioica*’nın sitotoksik potansiyelini belirlemek için öncelikle, logaritmik fazda üreyen L929 hücreleri üretildiği besiyeri içerisinde steril, hücre kültürüne uygun, düz

tabanlı 96 kuyucuklu mikroplate kuyucuklarına aktarıldı. Hücrelerin yapışması için 4-5 saat beklendikten sonra fosfat tampon tuz çözeltisi (PBS) ile yıkanarak yapışmayan hücrelerin uzaklaştırılması sağlandı. Daha sonra hücreler üzerine 15, 7.5, 3.25, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, 0.006, 0.003 mg/mL konsantrasyonlarda ısırgan otu özütü eklenerek 24 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda kuyucuklara 10 mikrolitre ( $\mu$ l) XTT solüsyonu (Cell Proliferation Kit, Biological Industries, Israel) eklenerek 2 saat 37°C’de inkübe edildi (Şekil 3.1.B) İnkübasyon sonunda kuyucuklarda oluşan renk oluşumları (Şekil 3.1.C) mikroplate okuyucuda (Thermo Scientific Microplate Photometer, Multiskan FC, ABD) 450 nm dalga boyunda okutuldu.

Sitotoksik potansiyelin belirlenmesinde her bir konsantrasyon için 6 tekrar yapılmıştır. Örneklerin optik yoğunluğu (OD), aşağıdaki gibi canlılık yüzdesini elde etmek için negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır: hücre canlılığı (%) =  $[(OD_{450}(\text{örnek}) / OD_{450}(\text{negatif kontrol})) \times 100]$ .



**Şekil 3.1.** Isırgan otu özütünün sitotoksik potansiyelinin belirlenmesinde kullanılan XTT yönteminin aşamaları. A. L929 fare fibroblast hücrelerinin 40x büyütmedeki görünümü. B. Hücre proliferasyon Reaktif XTT solüsyonunun kuyucuklara eklenmesi. C. XTT solüsyonu eklendikten 2 saat sonraki görünümü.

### **3.4. Farelerde sıtma modelinin oluşturulması ve tedavi**

#### **3.4.1. Deney Hayvanları**

Çalışmada kullanılan erkek 6-8 haftalık, 20-22±10 g ağırlığında Balb/c ırkı fareler, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Biriminden elde edildi. Hayvan bakımı ve tüm deneyler, etik komite tarafından bölümün hayvan haklarıyla ilgili bir protokole uygun olarak yürütüldü. Hayvanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışıklandırması olan, ısı (22±2C°) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Tüm fareler polikarbonat şeffaf kafeslerde standart yem ile beslenmiş ve çeşme suyu verilmiştir.

Deney hayvanlarına uygulanacak protokol, Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 050.04.04-148 protokol numarası ile onaylanmıştır.

#### **3.4.2. Parazit**

Araştırmamızda kullanılan *P. berghei* MRA-311 suşu Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi parazit bankasından temin edildi. Parazitin devamlılığı intravenöz pasajlar yapılarak devam ettirildi.

#### **3.4.3. Gruplar**

Araştırmada her grupta 8 farenin olduğu 3 tedavi grubu, pozitif kontrol ve negatif kontrol olmak üzere 5 grup oluşturulmuştur. Tedavi gruplarına KL (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA) 25 mg/kg/gün dozuna kombine olarak 5, 10 ve 15 mg/kg/day *U. dioica* intraperitoneal olarak verilecek şekilde 3 grup oluşturuldu. Pozitif kontrol grubuna sadece 25 mg/kg/gün KL intraperitoneal olarak verilirken, negatif kontrol grubuna %0.09 (w/v) –NaCl solüsyonu verildi (Tablo 3.1).

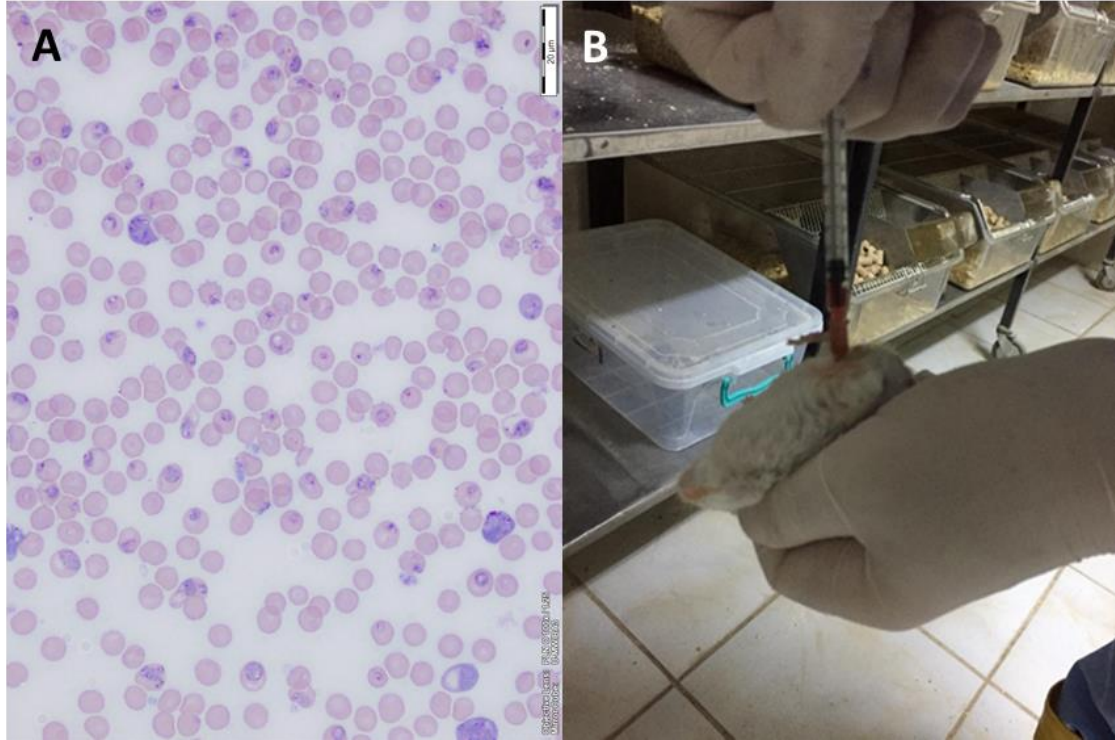
**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılacak deney grupları, tedavi dozları, tedavi uygulama şekli ve hayvan sayıları.

Grup	Tedavi Dozu	Hayvan Sayısı
Grup I	KL (25 mg/kg/gün) + UD özütü (5 mg/kg/gün)	8
Grup II	KL (25 mg/kg/gün)+UD özütü (10 mg/kg/gün)	8
Grup III	KL (25 mg/kg/gün) + UD özütü (15 mg/kg/gün)	8
PK	KL (25 mg/kg/gün)	8
NK	%0.09 (w/v) –NaCl	8

UD-*Urtica dioica* , KL- KL, PK-Pozitif kontrol, NK-Negatif kontrol

#### 3.4.4. Farelerde sıtma modelinin oluşturulması ve tedavi:

Donör fareden enfeksiyonun 3. gününden itibaren kuyruk veninden alınan kanla hazırlanan May Grunwald-Giemsa boyası ile boyanmış (ChemBio Laboratory Research) ince yayma kan preparatlarının incelenmesinde parazitemi oranı %30'a ulaştığında (Şekil 3.2.A), farenin göğüs kafesi açılarak intrakardiyak olarak alınan kan steril şekilde antiqagülan içeren tüplere alınmıştır. Fizyolojik su (%0.09 w/v) ile sulandırılarak  $10^6$ /mL *P. berghei* yoğunluğundaki süspansiyondan 0.2 mL intraperitoneal olarak her fareye verilmiştir (Şekil 3.2.B).



**Şekil 3.2.** A. May Grunwald-Giemsa boyası ile boyanmış ince yayma kan preparatlarındaki %30 parazitemi oranının görünümü. B. İntraperitoneal olarak farelerin enfekte edilmesi.

Fareleri enfekte ettikten iki saat sonra tedaviye başlandı. Tablo 3.1.'de belirtilen ilaçlar gruplara ayrılan farelere intraperitoneal verildi. Negatif kontrol grubuna %0.09 NaCl (w/v) intraperitoneal olarak verildi.

### 3.5. Tedavinin Değerlendirilmesi

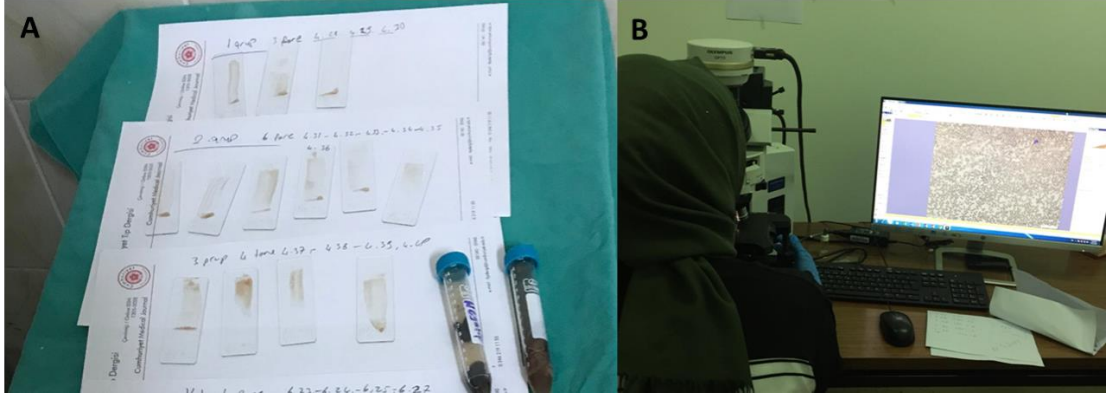
Tedavinin değerlendirilmesi parazitemi ve hayatta kalma süreleri açısından değerlendirildi. Çalışmada bütün değerlendirmeler sabah aynı saatte yapıldı.

#### 3.5.1. Paraziteminin düşüşü

Hergün sabah aynı saatte kuyruk veninden alınan kanlardan ince yayma kan preparatları hazırlandı (Şekil 3.3.A). Hazırlanan preparatlar May Grunwald-Giemsa boyası ile boyandıktan sonra mikroskopun 100'lük objektifinde her bir preparatın 5 farklı alanının fotoğrafları çekildi (ŞEKİL 3.3.B). Fotoğraflar üzerinden enfekte eritrositler sayıldı ve fotoğrafı çekilen 5 alanın ortalaması alındı. Veriler elde edildikten sonra aşağıda verilen formüllerle % parazitemi ve % parazitemi düşüşü hesaplandı.

$$\% \text{ Parazitemi} = \frac{\text{Parazitli alyuvar sayısı}}{\text{Total alyuvar sayısı}} \times 100$$

$$\% \text{ Parazitemi düşüşü} = \frac{\text{Kontrol grubunun parasitemisi} - \text{Çalışma gruplarının parasitemisi}}{\text{Kontrol grubunun parasitemisi}} \times 100$$



**Şekil 3. 3.** A. Farelerin kuyruk veninden alınan kanlarla hazırlanan ince yayma kan preparatlarının görünümü. B. Hazırlanan ince yayma kan preparatlarının mikroskopta incelenmesi ve fotoğraflanmasının görünümü.

### 3.5.2. Hayatta kalma süresi

Çalışma süresince hayatta kalma verileri günde iki kez izlenerek kaydedildi.

### 3.6. İstatistiksel Analiz

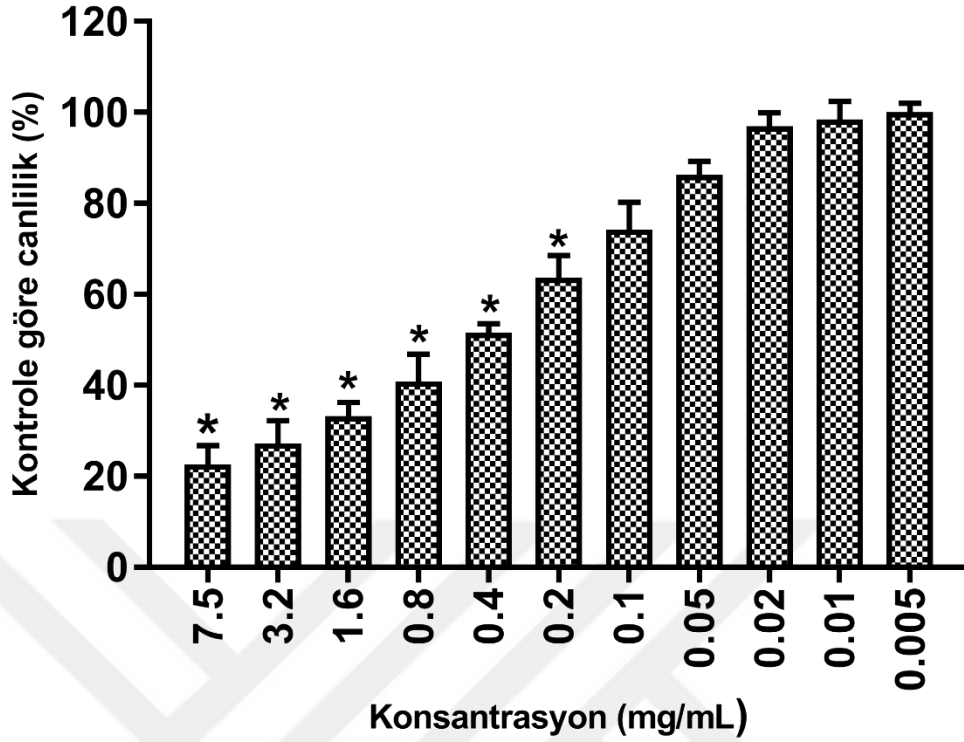
Veriler, ortalama  $\pm$  standart hata ortalaması (Mean+SEM) olarak ifade edilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde Windows SPSS Sürüm 22.0 kullanıldı. Gruplar arasında parazitamik düşüş, ağırlık, rektal ateş ve sağ kalım süresinin karşılaştırılmasında istatistiksel önemi belirlemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve post hoc test olarak Tukey testi uygulandı. İstatistiksel değerlendirmede frekans, ortalama ve standart sapma gibi tamamlayıcı ölçütler de araştırmanın istatistik değerlendirilmesinde kullanıldı. Araştırmada P değerinin  $<0.05$  olması anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. *U. dioica* Ekstraktının Sitotoksik Potansiyelin Değerlendirilmesi

Isırgan otunun 15, 7.5, 3.25, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, 0.006, 0.003 mg/mL konsantrasyonlarının XTT metodu ile L929 fare fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksitesi değerlendirildi. Araştırmada kullanılan en yüksek konsantrasyon olan 15 mg/mL 5 kere yıkanmasına rağmen ısırgan otunun yeşil rengi uzaklaştırılmadığından değerlendirmeye alınmadı (Şekil 3.1.C). Isırgan otunun 13 farklı konsantrasyonunun ve kontrolün 450 nm’de 6 tekrarlı olarak yapılan absorbans ölçüm değerleri tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Araştırmamızda *U. dioica* özütünün 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, 0.006, 0.003 mg/mL konsantrasyonlarının hücreler üzerine negatif etki göstermediği, kontrole göre canlılık yüzdesinin sırasıyla % 74.2, 86.3, 96.9, 98.4 ve 99 olduğu belirlenmiş olup, bu konsantrasyonların kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). *U. dioica* özütünün 7.5, 3.25, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2 mg/mL konsantrasyonunda canlılık oranının düşük olduğu (sırasıyla % 22.7, 27.2, 33.3, 40.9, 51.5, 63.6) belirlenmiş olup, veriler istatistiksel olarak kontrole kıyaslandığında farkın anlamlı olduğu belirlenmiş ( $p<0.05$ ) ve bu konsantrasyonlar sitotoksik olarak değerlendirilmiştir (ŞEKİL 4.1).



**Şekil 4.1.** *U. dioica* özütünün 11 farklı konsantrasyonunun XTT metodu ile L929 fare fibroblast hücreleri üzerine *in vitro* sitotoksitesisi. \*P<0.05 vs kontrol.

#### 4.2. Tedavinin Değerlendirilmesi

Araştırmada *U. dioica* metolonik özütü ile standart sıtma tedavisinde kullanılan KL kombinasyonunun sıtma fare modelinde tedaviye etkisini araştırdığımız çalışmamızda % parazitemi, % parazitemi düşüşü ve ortalama hayatta kalma süreleri pozitif kontrol grubu (standart tedavi) ile karşılaştırılarak tedavinin etkinliği değerlendirildi. Pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, *U. dioica* özütünün dozuna bağımlı olarak sıtma tedavisinin etkisini arttırdığı belirlendi. Pozitif kontrol grubunda 4. günde tamamen iyileşme görülürken; *U. dioica* özütünün 10 ve 15 mg/kg dozlarının KL ile kombinasyonlarında 3. günde farelerin tamamen iyileştiği tespit edildi.

Grup I, II ve III'ün parazitemi oranı pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görüldü ama bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı farklı değildi ( $p > 0.05$ ). Grup II ve III'ün parazitemi oranları pozitif ve negatif kontrol grupları ile



karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.1.).

**Tablo 4.1.** *P. berghei* ile enfekte farelerde *U. dioica* özütünün klorokin(KL) ile kombinasyonunun parazitemi oranına etkisi

% Parazitemi				
	1.gün	2. gün	3. gün	4. gün
<b>Grup I</b>	8.0±0.58 <sup>a*</sup>	6.01±0.92 <sup>a*</sup>	3.8±0.72 <sup>a*</sup>	0.0
<b>Grup II</b>	7.2±0.88 <sup>a*,b*</sup>	4.4±0.42 <sup>a*,b*</sup>	0.0	0.0
<b>Grup III</b>	6.9±0.30 <sup>a*,b*</sup>	3.9±0.5 <sup>a*,b*</sup>	0.0	0.0
<b>PK</b>	8.5±0.54 <sup>a*</sup>	6.78±0.98 <sup>a*</sup>	4.65±0.33 <sup>a*</sup>	0.0
<b>NK</b>	14.0±0.71 <sup>b*</sup>	18.6±0.42 <sup>b*</sup>	28.3±0.61 <sup>b*</sup>	47.6±1.6 <sup>b*</sup>

Veriler ortalama ± standart hata ortalaması (mean+SEM) olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Negatif kontrolle karşılaştırma; <sup>b</sup>pozitif kontrolle karşılaştırma, \* $p<0.05$

Grup II ve III'de paraziteminin düşüş oranı 2. Günde sırasıyla % 76.34 ve % 79.03, pozitif kontrol grubunda ise % 63.54 olarak belirlendi. Grup II ve III'de paraziteminin düşüş oranları 1. ve 2. günde pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.2.).

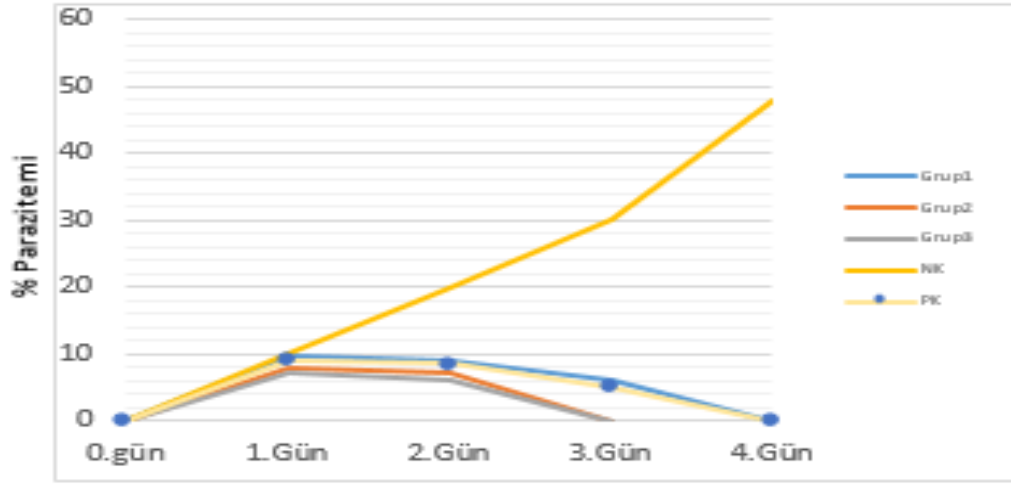
**Tablo 4.2.** *P. berghei* ile enfekte farelerde *U. dioica* özütünün klorokin (KL) ile kombinasyonunun paraziteminin düşüşüne (%) etkisi

Paraziteminin düşüşü (%)				
	1.gün	2. gün	3. gün	4. gün
<b>Grup I</b>	42.85	67.68	86.57	100
<b>Grup II</b>	48.50 <sup>b*</sup>	76.34 <sup>b*</sup>	100	100
<b>Grup III</b>	50.71 <sup>b*</sup>	79.03 <sup>b*</sup>	100	100
<b>PK</b>	39.28	63.54	83.51	100
<b>NK</b>	-	-	-	-

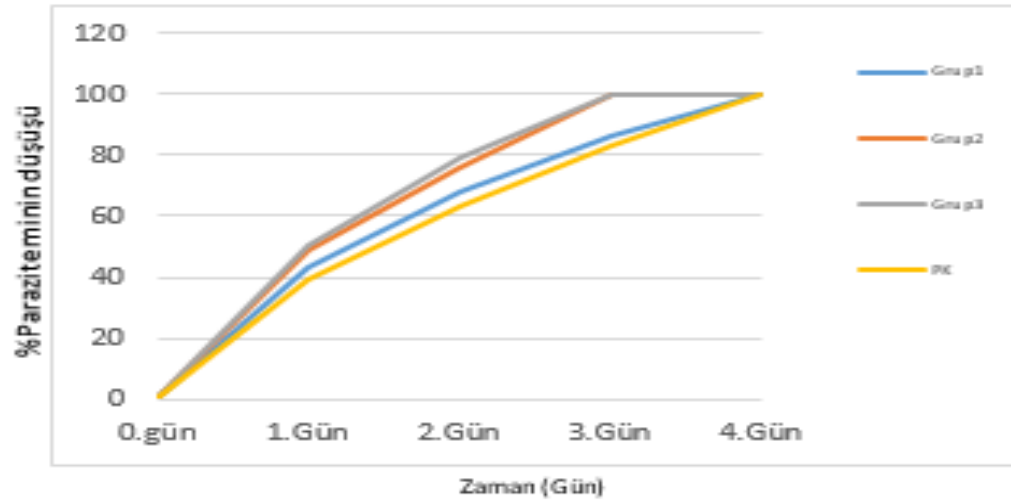
Veriler ortalama ± standart hata ortalaması (mean+SEM) olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Negatif kontrolle karşılaştırma; <sup>b</sup>pozitif kontrolle karşılaştırma, \* $p<0.05$

A

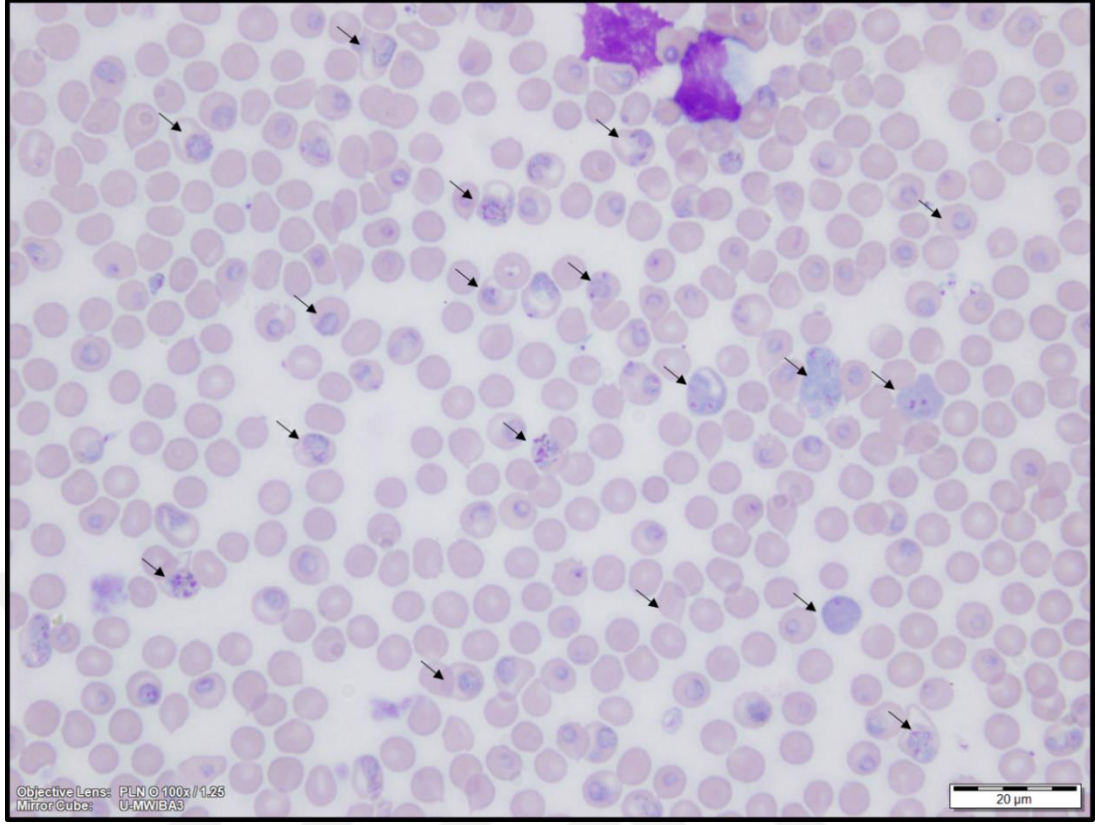


B



Şekil 4.2. *P. berghei* ile enfekte farelerde *U. dioica* özütünün KL ile kombinasyonunun parazitemi (A) ve parazitemi düşüş oranlarına görünümü.

Hazırlanan ince yayma kan preparatlarının incelenmesi esnasında *P. berghei*'nin eritrosit içerisindeki evrim dönemlerinden genç trofozoit, amoboid yapıda olgun trofozoit, çekirdeğin parçalanmasıyla oluşan genç şizont ve olgun şizont dönemleri görüldü.



**Şekil 4.3.** İnce yayma kan preparatlarında *P. berghei*'nin eritrosit içerisindeki evrim dönemlerinin (oklar) görünümü (x100).

Negatif kontrol grubunun ortalama hayatta kalma süresi  $8.83 \pm 0.75$  (ortalama  $\pm$  SD) iken; diğer gruplarda farelerin takip edildiği 20 gün boyunca ölen farelerin olmadığı belirlendi.

## 5. TARTIŞMA

Sıtma, dünyadaki en tehlikeli ve önemli bulaşıcı hastalıklardan biridir. Parazitin insan vücudunda birbirinden farklı antijenik formları içermesi etkili bir sıtma aşısının geliştirilmesini zorlaştırmakta ve bu nedenle de kemoterapi hala sıtma tedavisinde ilk adım olarak kullanılmaktadır. Bu kemoterapötik maddelere karşı direncin gelişmesi araştırmacıları yeni ilaçlarını araştırmaya sevk etmektedir. Bununla birlikte sıtma tedavisinin başarısı yatak istirahati, ateş kontrolü, sıvı replasmanı, parenteral beslenme gibi destek tedavisi ile mümkündür. Kişinin kişinin bağışıklığını güçlendirecek veya kemoterapinin etkinliğini arttıracak ilaçlar tedavide önemini korumaktadır (29,35).

Yeni antimalarial ilaçların ilavesine ek olarak, doğal ajanların ve geleneksel şifalı bitkilerin etkinliğini ve güvenliğini kanıtlamak da mümkündür. Doğal ajanların ve geleneksel ilaçların, temel sıtma ve diğer hastalıklarda kullanıldığı iyi bilinmektedir. Öyle ki doğal ürünlerin sıtma tedavisine etkisinin araştırılması sıtma tedavisinde kullanılan en önemli ilaçlar olan kinin ve artemisinin keşfini sağlamıştır (16).

Dünyada, *U. Dioica*, farklı kullanım alanları ile ilgi görmektedir. Gıda desteği ve endüstride kullanımına ek olarak son yıllarda yapılan birçok biyolojik aktivite araştırmaları antioksidan, anti-inflamatuar, anti-ülser, antikanser, antimikrobiyal antiviral, kardiyovasküler, hepatoprotektif, anti-diyabetik, antiromatizmal gibi etkileri olduğunu göstermiştir (44).

Araştırmalar *U. dioica*'nın fenol bileşiklerinden dolayı antioksidan etkisi olduğu ve bazı ilaçların detoksifikasyonunu sağlayan, hücreleri koruyan enzimlerin sistemlerini etkilediğini göstermiştir. Bununla birlikte yapısında bulunan aktif bileşiklerin serbest reaktif radikalleri ortadan kaldırdığı da araştırmalarda ortaya çıkarılmıştır (31).

Harput ve arkadaşları *U. dioica*'nın sulu özütü ile yaptıkları araştırmada lipopoliholozitleri stimüle ettiği ve makrofajlarda, nitrik oksit radikalinin üretimini engellediğini ortaya çıkarmış ve araştırmacılar bulguları neticesinde ısırgan otunun antienflamatuar etki mekanizmasını ortaya koymuşlardır. (17).

Uncini Manganelli ve arkadaşları tarafından, *U. dioica*'nın aralarında bulunduğu birkaç bitki özütünün araştırıldığı çalışmada, antiviral etki kedilerde bağışıklık

yetersizlik virüsünün (FIV) neden olduğu enfeksiyonu engelleyecek bileşiklerin bulunmasında, CrFK hücrelerinde sinsityum oluşumunun engellenmesi temel alınmıştır. FIV, insan Bağışıklık Yetersizlik Virüsü (HIV) ile aynı yapısal özelliktedir. Her iki virüs de bir lentivirüstür. Araştırmada, *U. dioica*'nın sulu ekstratı düşük dozlarda sinsityumun oluşumunu önlediği bulunmuştur. Yüksek dozlarda ısırgan otu kullanımı antiviral etkiyi % 84 seviyesine çıkarmıştır. Aynı zamanda yüksek doz kullanımı sitotoksik etkinin varlığını ortaya çıkarmıştır. (40). Araştırmamızda *U. dioica*'nın 15, 7.5, 3.25, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, 0.006, 0.003 mg/mL konsantrasyonlarındaki sitotoksik potansiyelleri değerlendirilmiş olup 7.5-0.2 mg/mL konsantrasyonlarında hücre canlılığı düşük bulunmuş ve istatistiksel değerlendirmede kontrol ile karşılaştırılmış ve bu konsantrasyonlarda sitotoksik olduğu görülmüştür. *U. dioica* metanolik ekstraktını 0.1 mg/mL'den düşük konsantrasyonlarda non-sitotoksik olduğu belirlenmiştir. Halk arasında bitkisel içerikli malzemelerin fazla kullanımının zararlı olmayacağı kanısı hakimdir. Bizim *in vitro* olarak yaptığımız çalışmada bu bitkinin yüksek miktarda kullanımının hücreler üzerinde negatif etki oluşturacağı sonucu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle ısırgan otunun *in vivo* çalışmalarla güvenilirliğinin ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

Protetos ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışma da *U. dioica*'nın *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* türü bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. (32).

Isırgan otunun kardiyovasküler sistem üzerine etkisinin araştırıldığı *in vivo* çalışmalarda, natriüretik ve diüretik etkilerle birlikte kan basıncını düşürdüğü görülmüştür (36). Çalışmalar, *U. dioica* bitkisinin flavonoid ve polifenolik bileşiklerinin trombosit agregasyonunu doza bağlı olarak engellediğini ortaya koymuştur. (23). Testai ve arkadaşları antihipertansif olarak kullanıldığı bilinen *U. dioica*'nın potasyum kanallarının açılmasını ve endotel tabakadan nitrik oksit salınımını ile damarlarda genişlemeye neden olduğunu, dolayısı ile de hipotansif etkinin vazodilatasyona bağlı olduğu bildirmişlerdir (38).

Musette ve arkadaşları *in vivo* olarak yaptıkları araştırmada, ısırgan otunun otoimmün hastalığın klinik semptomlarını ortadan kaldırdığı ve farelerde görülen

lenf nodüllerinin büyümesini geriletmediğini bildirmişlerdir (27). Bununla birlikte *U. dioica*'nın pankreasta yer alan Langerhans adacıklarından insulinin sekresyonunu doza bağı olarak arttırarak antidiyabetik etki gösterdiği bulunmuştur (13,52).

Isırgan otunun yapısındaki flavonoid bileşiklerinin bağışıklık sistemini düzenleyici etkisi olduğu yapılan araştırmalarda bulunmuştur. *In vitro* deneyler sonucunda ısırgan otu yapısındaki bazı bileşiklerin nötrofiller üzerindeki etkileri nedeniyle immunostimulan bir etki gösterdiği ve nötrofillerin hücre içi ölüm kapasitelerini artırma yeteneğini arttırdığı görülmüştür. Araştırmacılar, ısırgan özütü nötrofil fonksiyon bozukluğu olan hastalardan kronik granüloatoz hastalık taşıyan alanlara kadar kullanılabileceğı bildirilmiştir (1).

Bir çalışmada içinde *U. dioica*'nın bulunduğu çeşitli bitki özütlerinin *Toxoplasma gondii*'ye etkinliklerinin *in vitro* ortamda primetamin ve sulfadiazin ile karşılaştırılması yapılmıştır. Başta ısırgan otu olmak üzere tüm bitkiler primetamin ve sülfadiazin karşısında değışen oranlarda üst dozlarda etkin bulunmuştur.(53)

Başka bir çalışmada *Hypericum perforatum* ve *Urtica dioica*'nın leishmania spp. üzerine *in vitro* etkinliğı araştırılmıştır. *H. Perforatum* esansiyel yağının, *Urtica dioica* kök ve yaprak ekstratlarının Leishmania promastigotlarına karşı yüksek etki göstermiştir. (54)

Sıtma destek tedavisi ile kemoterapinin etkisinin arttırılabileceğı bir hastalıktır. Tedavinin başarısı kişinin immün sistemi ile yakından ilişkilidir. Araştırmamızda *U. dioica*'nın 10 ve 15 mg/mL dozlarının KL ile kombinasyonu % parazitemi ve farelerin hayatta kalma süreleri açısından değılendirildiğinde KL'nin tek başına kullanımına kıyasla tedaviye olumlu etki gösterdiği görülmüştür. Bu etkinin *U. dioica*'nın immün sistem üzerine olumlu etkisinden kaynaklanabileceğini düşünürüz. Literatür taramamız sonucu *U. dioica* özütünün anti malaryal etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönüyle bu etkinin gösterildiğı ilk çalışmadır. Yapılan çalışmalarda gösterildiğı gibi *U. dioica* doğal ajanlar arasında önemli bir yere sahiptir. Yaptığımız *in vivo* sıtma modelinde ısırgan otunun sıtma tedavisine olumlu etkisi bulunmuştur. Ancak, sıtma üzerine etki mekanizmasının araştırılacağı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Akbay P, Basaran A, Undeger U et. al. In vitro Immunomodulatory Activity of Flavonoid Glycosides From *Urtica dioica L.* Phytotherapy Research, 2003,17:34-7.
2. Akdur R. Sıtma. Temel Bilgiler. Palme Yayınları: 278, Ankara,2004.
3. Alford L. The use of nettle stings for pain. Altern Ther Health Med. 2007,13:58.
4. Ayan A, Çalışkan Ö, Çırak C. Isırganotu (*Urtica spp.*)’nun ekonomik önemi ve tarımı. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 2006.21:3
5. Ayan A, Çalışkan Ö. ve Çırak C. Isırgan otunun ekonomik önemi ve tarımı. On Dokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Derg. 2006. 21, 357-63.
6. Bantie L, Assefa S, Teklehaimanot T, et. al. In vivo antimalarial activity of the crude leaf extract and solvent fractions of *Croton macrostachyus* Hocsht. (Euphorbiaceae) against *Plasmodium berghei* in mice. BMC Complement Altern Med. 2014,14:79.
7. Başaran A, Eritoğlu I, Ündeğer Ü, et. al. Immunomodulatory Activities of Some Turkish Medicinal Plants. Phytotherapy Research, 1997, 11: 609-11.
8. Calderone V, Nencioni G, Nieri P, et. al. Cardiovascular effects of *Urtica dioica L.* roots extracts: In vitro and In vivo pharmacological studies, Universita di Pisa. Italy. 2001.
9. Chavatte J.M., Chiron F., Landau I. “Probable speciations by “host-vector ‘fidelity’”: 14 species of *Plasmodium* from magpies” (in French). *Parasite*. 2007, 14: 21-37.
10. Crans WJ. A classification system for mosquito life cycles: life cycle types for mosquitoes of the northeastern United States. J Vector Ecol. 2004 ,29:1-10.
11. De Clercq E. Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. Med Res Rev. 2000, 20:323-49.
12. Delibaş SB, Akisü Ç, Aksoy Ü ve ark. *Plasmodium falciparum* ve *Plasmodium ovale*’nin etken olduğu impote bir miks sıtma olgusu. Türkiye Parazit Derg. 2005, 29: 63-7.

13. Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, et. al. Induction of Insulin Secretion by a Component of *Urtica dioica* leave extract in Perfused Islets of Langerhans and Its In Vivo Effects in Normal an Streptozotocin Diabetic Rats. **J. Ethnopharmacol.**2003, 89: 47-53.
14. Freicher B. Editorial. 100 years ago. Giemsa's solution for staining of Plasmodia. **Trop. Med. Int. Health.** 2004, 9:755-6.
15. Gueriard P., Tavares J., Thiberge S.,et al. "Development of the malaria parasite in the skill if the mammalian host". **Proc. Natl. acad. Sci. U.S.A.** 2010, 107: 18640-5
16. Haddad MHF , Mahbodfar H, Zamani Z. Antimalarial evaluation of selected medicinal plant extracts used in Iranian traditional medicine. **Iran J Basic Med Sci.** 2017, 20: 415-422.
17. Harput Ş, Saraçoğlu İ, Ogihara Y. Stimulation of Lymphocyte Proliferation and Inhibition of Nitric Oxide Production by Aqueous *Urtica dioica* Extract. **Phytotherapy Research**, 2005,19: 346-48.
18. Hawkes M, Conroy AL, Opoka RO, et al. Use of a three-band HRP2/pLDH combination rapid diagnostic test increases diagnostic specificity for *falciparum* malaria in Ugandan children. **Malar J.** 2014, 13:43.
19. Hoşbaş S, *Urtica dioica L.* Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, *T.C. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı / İzmir, Yüksek Lisans Tezi.* 2008.
20. Karakaş S. Isırgan otu toprak altı ve toprak üstü kısımlarından ısırgan otu ekstraktının eldesi ve özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. 2003
21. Korkmaz M, Ok ÜZ. Parazitolojide Laboratuvar. **Türkiye Parazitol Derg.** Yayın No.23, İzmir, 2011.
22. Martkoplshvili I, Kvavadze E. Some popular medicinal plants and diseases of the Upper Palaeolithic in Western Georgia. **J Ethnopharmacol.** 2015, 26: 42-52.
23. Mekhfi H, Haouari M. E, Legssyer A, et. al. Platelet Anti-aggregant Property of Some Moroccan Medicinal Plants. **J. Ethnopharmacol,** 2004, 94: 317-22.



24. Mittman, P. Randomized Double-Blind Study of Freeze-Dried *Urtica dioica* in the Treatment of Allergic Rhinitis. *Planta Medica*, 1990, 56: 44-7.
25. Moody AH, Chiodini PL. Methods for the detection of blood parasites. *Clin and Lab Haematol*. 2000, 22:189-201.
26. Mouatcho JC, Goldring JP. Malaria rapid diagnostic tests: challenges and prospects. *J Med Microbiol* 2013, 62:1491-505.
27. Musette P, Galelli A , Chabre H, et. al. *Urtica dioica* Agglutinin, a V $\beta$ 8.3-specific Superantigen, Prevents the Development of the Systemic Lupus Erythematosus- Like Pathology of MRL lpr/lpr Mice. *EJI*, 1996, 26 : 1707-11.
28. Okwa, O.O. Malaria parasites. *InTech*. doi: 0.5771/1477, 2012.
29. Özcel MA. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. *Türkiye Parazit Derg*. Yayın No.22, İzmir, 2007.
30. Özcel MA. Sıtma. *Türkiye Parazit derg*. Yayın No.16, İzmir, 1999.
31. Özen T, Korkmaz H, Modulatory Effect of *Urtica dioica* L. (*Urticaceae*) Leaf Extract on Biotransformation Enzyme Systems, Antioxidant Enzymes, Lactate dehydrogenase and Lipid Peroxidation in Mice. *Phytomedicine*, 2003, 10: 405-15.
32. Protetos C, Boziaris I. S, Nychasg J. E, et. al. Analysis of Flavonoids and Phenolic Acids in Greek Aromatic Plants: Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity. *Food Chemistry*, 2006, 95 : 664- 71.
33. Rossati A, Bargiacchi O, Kroumova V, et. al. Climate, environment and transmission of malaria. *Infez. Med*. 2016. 2: 93-104.
34. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi, ss 1-6
35. Saygı G, Temel Tıbbi Parazitoloji. 1. Baskı, Esnaf Ofset Matbaacılık, Sivas, 1998
36. Tahri A, Yamani S, Legssyer A, et. al. Acute Diuretic, Natriuretic and Hypotensive Effects of a Continuous Perfusion of Aqueous Extract of *Urtica dioica* in the Rat. *J. Ethnopharmacol*, 2000, 73 : 95-100.

37. Taylor L. The Healing Power of Rainforest Herbs. New York. 2006. ISBN: 0-7570-01440
38. Testai L, Chericoni S, Vincenzo C, et. al. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) Root Extracts: In Vitro and In Vivo Pharmacological Studies. *J. Ethnopharmacol.* 2002, 81: 105-9.
39. Training Manual on Malaria Entomology - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/Stages-of-the-Anopheles-mosquito-life-cycle\\_fig1\\_262450744](https://www.researchgate.net/figure/Stages-of-the-Anopheles-mosquito-life-cycle_fig1_262450744)
40. Uncini Manganelli R. E, Zaccaro L, Tomei P. E. Antiviral Activity In Vitro of *Urtica dioica* L., *Parietaria diffusa* M. Et K. and *Sambucus nigra* L. *J. Ethnopharmacol.* 2005, 98 : 323-27.
41. Upton R, Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine, *J Herb Med* . 2013, 3: 9-38.
42. Ural S, Aslan S, Kaptan F, et al. *Plasmodium falciparum* Malaria: A Case of Cameroonian Origin Treated With Artemether/Lumefantrine. *Klimik Derg.* 2015, 28: 35-7.
43. Uyar Y. Sıtma Aşısında Alternatif Kombinasyon: *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein ve MF59. 2015. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
44. Vale VV, Vilhena TC, Trindade RC, et al. Anti-malarial activity and toxicity assessment of *Himatanthus articulatus*, a plant used to treat malaria in the Brazilian Amazon. *Malar J.* 2015, 14:132.
45. Wardlaw SC, Levine RA. Quantitative buffy coat analysis. A new laboratory tool functioning as a screening complete blood cell count. *JAMA.* 1983,249:617-20
46. WHO World Malaria Report. Available from: URL: [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2014/en/](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/) (07.07.2015), 2014.
47. WHO World Malaria Report. Available from: URL: <https://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2018-qa/en/2018>.

[www.raintreenutrition.com/nettles.htm](http://www.raintreenutrition.com/nettles.htm)

48. Yarnell E. Botanical medicines for the urinary tract. *World J Urol.* 2002, 20: 285-
49. Yattoo MI, Gopalakrishnan A, Saxena A, et al. Anti-Inflammatory Drugs and Herbs with Special Emphasis on Herbal Medicines for Countering Inflammatory Diseases and Disorders - A Review. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2018,12:39-58.
50. Yavuz M, İlçe A.Ö, Kaymakçı Ş, ve ark. Meme Kanserli Hastaların Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Yöntemlerini Kullanma Durumlarının İncelenmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci,* 2007, 27: 680-6.
51. Yazar S, Kuk S, Miman O, Saygı G. Saygı'nın Temel Tıbbi Parazitoloji'si. Erciyes Üniversitesi Yayınları No:206, Kayseri, 2016.
52. Ziyat A, Legssyer A, Mekhfi H, et. al. Phytotherapy of Hypertension and Diabetes in Oriental Morocco. *J. Ethnopharmacol.*1997, 58: 45-54.
53. Düzgün B. Çeşitli bitkisel özütlerin (Zingiber officinale, Urtica dioica , Nigella sativa ) *Toxoplasma gondii*'ye etkinliklerinin in vitro ortamda primetamin-sulfadiazin ile karşılaştırılması .2012. On Dokuz Mayıs Üniversitesi.
- 54.İslamoğlu F. *Hypericum perforatum* ve *Urtica dioica*'nın *leishmania spp.* üzerine in vitro etkinliğinin araştırılması.2014. İstanbul Üniversitesi.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı Sevinç ÇAMDALI  
Doğum Yeri Kaman 17.03.1985  
\Tarihi  
Medeni Hali Evli  
Yabancı Dil İngilizce  
İletişim Adresi İbni Sina Toplum Sağlığı Merkezi  
E-posta Adresi sevinccamdali58@gmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise Fatih Sultan Mehmet Lisesi  
Lisans Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü  
Yüksek Lisans .....  
Ünvan .....  
İş Tecrübesi 10 yıl ebe