



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞIRNAK BÖLGESİNDEN TOPLANAN *Prangos ferulaceae* ve
Ferula orientalis EKSTRELERİNİN TÜRKİYE'DEN İZOLE
EDİLMİŞ *Leishmania tropica*'YA KARŞI ANTİLEISHMANIAL
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN: SEFER ÖZER BABAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. NOGAY GİRGİNKARDEŞLER



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞIRNAK BÖLGESİNDEN TOPLANAN *Prangos ferulaceae* ve
Ferula orientalis EKSTRELERİNİN TÜRKİYE'DEN İZOLE
EDİLMİŞ *Leishmania tropica*'YA KARŞI ANTİLEISHMANIAL
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN: SEFER ÖZER BABAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. NOGAY GİRGİNKARDEŞLER

TEZ SAVUNMA SINAVI JÜRİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Nogay GİRGİNKARDEŞLER

Prof. Dr. İ. Cüneyt BALCIOĞLU

Prof. Dr. Metin KORKMAZ

TEZ VERİ GİRİŞİ ve YAYIMLAMA İZİN FORMU

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10309858
Yazar Adı / Soyadı	SEFER ÖZER BABAT
T.C.Kimlik No	66697277842
Telefon	5316372820
E-Posta	sozerbabat@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	ŞIRNAK BÖLGESİNDEN TOPLANAN Prangos ferulaceae ve Ferula orientalis EKSTRELERİNİN TÜRKİYE'DEN İZOLE EDİLMİŞ Leishmania tropica'YA KARŞI ANTİLEISHMANIAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Tezin Tercümesi	Investigating the antileishmanial effects of Prangos ferulacea and Ferula orientalis extracts collected from Şırnak province against Leishmania tropica isolated from Turkey
Konu	Parazitoloji = Parasitology
Üniversite	Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Parazitoloji Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	50
Tez Danışmanları	PROF. DR. NOGAY GİRİNKARDEŞLER
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	Prangos ferulacea, Ferula orientalis, Leishmania tropica, Antileishmanial effect

22.11.2019

İmza: 

Tez Adı: ŞIRNAK BÖLGESİNDEN TOPLANAN *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* EKSTRELERİNİN TÜRKİYE'DEN İZOLE EDİLMİŞ *Leishmania tropica*'YA KARŞI ANTİLEISHMANIAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Öğrenci: Sefer Özer BABAT

Danışman: Prof. Dr. Nogay GİRİNKARDEŞLER

Bu tez çalışması 28.11.2019 tarihinde jürimiz tarafından "Tıbbi Parazitoloji Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nogay GİRİNKARDEŞLER (imza)
(Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

Üye: Prof. Dr. İ. Cüneyt BALCIOĞLU (imza)
(Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

Üye: Prof. Dr. Metin KORKMAZ (imza)
(Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

Bu tez, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından başarılı bulunmuştur. 28 / 11 / 19

Prof. Dr. Ömer TETİK
Enstitü Müdürü

I. BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından, veri toplanması ve yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazılması sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Sefer Özer BABAT

II. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimine başladığımdan beri her konuda bilgisini ve tecrübesini eksik etmeyen hem tez danışmanlığı hem de her konuda yol gösteren çok kıymetli danışmanım Prof. Dr. Nogay GİRĞİNKARDEŞLER'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve becerilerini aktarmaktan çekinmeyen Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN, Prof. Dr. Ali KİLİMCİOĞLU, Prof. Dr. Kor YERELİ, Prof. Dr. Ülgen Zeki OK ve Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. İ. Cüneyt BALCIOĞLU'na,

Tezimin çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Dr. Öğretim Üyesi Mehmet FİDAN'a, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoknozi Anabilim dalından Prof. Dr. Hüsniye KAYALAR'a ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim dalından Prof. Dr. Cumhuri GÜNDÜZ'e,

Çalışmalarımın her aşamasında benden desteğini esirgemeyen, bilgisi ve tecrübesiyle akademik hayatıma yön vermiş olan ve tanımdan onur duyduğum değerli hocam Prof. Dr. Metin KORKMAZ'a,

Hayatımın her alanında benden desteğini esirgemeyen ve hayatımda olmasından büyük onur duyduğum sevgili ablam Dr. Aylin BABAOĞLU'na,

Eğitimim sırasında hep bir arada olduğumuz Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda eğitim gören ve çalışan tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafında BAP 2018-194 numaralı proje ile desteklenmiştir.

III. KISALTMA ve SİMGELER

μ L	: Mikrolitre
AmpB	: Amfoterisin B
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
<i>F. orientalis</i>	: <i>Ferula orientalis</i>
FoHC	: <i>Ferula orientalis</i> gövde/yaprak kloroform ekstresi
FoHE	: <i>Ferula orientalis</i> gövde/yaprak etanol ekstresi
FoHS	: <i>Ferula orientalis</i> gövde/yaprak su ekstresi
FoKC	: <i>Ferula orientalis</i> kök kloroform ekstresi
FoKE	: <i>Ferula orientalis</i> kök etanol ekstresi
FoKS	: <i>Ferula orientalis</i> kök su ekstresi
FoMC	: <i>Ferula orientalis</i> meyve kloroform ekstresi
FoME	: <i>Ferula orientalis</i> meyve etanol ekstresi
FoMS	: <i>Ferula orientalis</i> meyve su ekstresi
IC ₅₀	: %50 inhibitör konsantrasyonu
KL	: Kutanöz leishmaniasis
<i>L. tropica</i>	: <i>Leishmania tropica</i>
MIC	: Minimum Inhibitör konsantrasyonu
MKL	: Mukokutanöz leishmaniasis
mL	: Mililitre
<i>P. ferulaceae</i>	: <i>Prangos ferulaceae</i>
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PfHC	: <i>Prangos ferulaceae</i> gövde/yaprak kloroform ekstresi
PfHE	: <i>Prangos ferulaceae</i> gövde/yaprak etanol ekstresi
PfHS	: <i>Prangos ferulaceae</i> gövde/yaprak su ekstresi
PfKC	: <i>Prangos ferulaceae</i> kök kloroform ekstresi
PfKE	: <i>Prangos ferulaceae</i> kök etanol ekstresi
PfKS	: <i>Prangos ferulaceae</i> kök su ekstresi
PfMC	: <i>Prangos ferulaceae</i> meyve kloroform ekstresi
PfME	: <i>Prangos ferulaceae</i> meyve etanol ekstresi
PfMS	: <i>Prangos ferulaceae</i> meyve su ekstresi
PKDL	: Post-Kala-Azar dermal leishmaniasis
VL	: Viseral leishmaniasis

IV. İÇİNDEKİLER

I. BEYAN	-
II. TEŞEKKÜR	i
III. KISALTMA ve SİMGELER	ii
IV. İÇİNDEKİLER	iii
TABLO DİZİNİ	vi
ŞEKİL DİZİNİ	vii
RESİM DİZİNİ	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ ve AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1 <i>Leishmania</i> 'NİN TARİHÇESİ	7
4.2 <i>Leishmania</i> 'NİN SINIFLANDIRILMASI	7
4.3 <i>Leishmania</i> 'NİN VEKTÖRLERİ	8
4.4 <i>Leishmania</i> 'NİN REZERVUARLARI	9
4.5 <i>Leishmania</i> 'NİN EVRİMİ	10
4.6 <i>Leishmania</i> 'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ	12
4.7 LEİSHMANİASİSİN PATOGENEZİ VE KLİNİĞİ	15
4.7.1 Kutanöz leishmaniasisin patogenezi ve kliniği	15
4.7.2 Viseral leishmaniasisin patogenezi ve kliniği	18
4.7.3 Muko-Kutanöz leishmaniasisin patogenezi ve kliniği	18
4.7.4 Diffüz kutanöz leishmaniasis (Yaygın Deri Leishmaniasisi) 'in patogenezi ve kliniği	19
4.7.5 Post-Kala-Azar dermal leishmaniasis (PKDL) 'in patogenezi ve kliniği	20
4.8 LEİSHMANİASİSİN TANISI	21
4.9 LEİSHMANİASİSİN TEDAVİSİ	22
4.9.1 KL tedavisi	22
4.9.2 VL tedavisi	23
4.9.3 ML tedavisi	24
4.10 YENİ ANTİLEİSHMANİYAL AJANLAR OLARAK BİTKİ EKSTRELERİ	24
4.10.1 <i>Prangos ferulaceae</i> (L.) Lindl.	25

4.10.2 <i>Ferula orientalis</i> L.	26
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
5.1 BİTKİLERİN TOPLANMASI VE TÜR TAYİNLERİNİN YAPILMASI.....	27
5.1.1 <i>Prangos ferulaceae</i> bitkisinin toplanması.....	27
5.1.2 <i>Ferula orientalis</i> bitkisinin toplanması.....	27
5.1.3 <i>Prangos ferulaceae</i> ve <i>Ferula orientalis</i> bitkilerinin tür tayinlerinin yapılması	27
5.2 <i>Prangos ferulaceae</i> ve <i>Ferula orientalis</i> BİTKİLERİNİN EKSTRELERİNİN ÇIKARILMASI	27
5.2.1 Su ekstresinin hazırlanması.....	28
5.2.2 Sulu etanol ekstresinin hazırlanması.....	28
5.2.3 Kloroform ekstresinin hazırlanması.....	28
5.3 <i>Prangos ferulaceae</i> ve <i>Ferula orientalis</i> BİTKİLERİNİN EKSTRELERİNİN SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	29
5.4 NNN (NOVY, MACNEAL, NİCOLLE) BESİYERİNİN HAZIRLANMASI ...	29
5.5 STOK RPMI 1640 MEDİUMUN HAZIRLANMASI.....	30
5.6 <i>Leishmania tropica</i> İZOLATININ CANLANDIRILMASI VE ÜRETİLMESİ .	30
5.7 <i>Leishmania tropica</i> PROMASTİGOTLARININ PZR YÖNTEMİ İLE GENOTİPLENDİRİLMESİ.....	31
5.8 <i>İN VİTRO Prangos ferulaceae</i> ve <i>Ferula orientalis</i> BİTKİLERİNİN EKSTRELERİNE KARŞI ANTİLEİSHMANİAL İLAÇ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	33
5.9 <i>Leishmania tropica</i> İZOLATININ HEMOSİTOMETRE YÖNTEMİ İLE SAYIMI	35
5.10 XTT (SODİUM 3,3',5,5'-TETRAZOLİYUM]-BİS(4-METHOXY-6-NİTRO) BENZENE SÜLFONİK ASİT HİDRAT) DİRENÇ TESTİ.....	35
5.11 İSTATİKSEL ANALİZ	36
5.12 ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZİ	36
6. BULGULAR.....	38
6.1 <i>Prangos ferulaceae</i> ve <i>Ferula orientalis</i> BİTKİ EKSTRELERİNİN ANTİLEİSHMANİAL AKTİVİTESİ.....	38
6.2 <i>Prangos ferulaceae</i> VE <i>Ferula orientalis</i> BİTKİ EKSTRELERİNİN SİTOTOKSİK AKTİVİTESİ.....	39

6.3 <i>Prangos ferulaceae</i> ve <i>Ferula orientalis</i> BİTKİ EKSTRELERİNİN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTESİ.....	40
7. TARTIŞMA	41
8. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	46
9. KAYNAKLAR	47
10. EKLER.....	52
10.1 MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÖNETİM KURULU KARARI	52
10.2 ETİK KURUL KARARI	53
10.3 TEZ ORJİNALLİK RAPORU	54
11. ÖZGEÇMİŞ.....	55



TABLO DİZİNİ

Tablo 1. *Leishmania* cinsinin DSÖ tarafından kabul edilen modern taksonomisi 8

Tablo 2. Bitki ekstraktlarının antileishmanial aktivitesi ve sitotoksik aktivitesi..... 39



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Vektör kum sineği midesinde <i>Leishmania</i> spp.'nin gelişimi	11
Şekil 2. <i>Leishmania</i> spp.'nin yaşam döngüsü.....	12



RESİM DİZİNİ

Resim 1. Vektör kum sineği tipik üreme alanları (a. Termit höyükleri, b. Kırsal ve ormanlık biyotop, c. Periferik kayalar ve d. Taş duvarlı ahıl) (Bruschi e Gradoni 2018).	9
Resim 2. VL'in dünya genelindeki coğrafik dağılım haritası (Aronson ve ark. 2017).13	
Resim 3. KL'in dünya genelindeki coğrafik dağılım haritası (Aronson ve ark. 2017).14	
Resim 4. Ön kolda KL erken dönem lezyon (Torres-Guerrero ve ark. 2017).....	16
Resim 5. Üst extremitelerde ileri dönem kabarık kenarlı KL ülser (Torres-Guerrero ve ark. 2017).....	16
Resim 6. Üst extremitelerde atrofik scar (Torres-Guerrero ve ark. 2017).....	17
Resim 7. Kulaktaki atrofik scar (Torres-Guerrero ve ark. 2017).	17
Resim 8. Mukokutanöz leishmaniasis (Torres-Guerrero ve ark. 2017).....	19
Resim 9. DKL klinik form (Torres-Guerrero ve ark. 2017).	20
Resim 10. PKDL klinik form (Chakrabarti ve ark. 2019).	21
Resim 11. Semear boyalı örnekte <i>Leishmania</i> amastigotları (Orijinal).	22
Resim 12. <i>Prangos ferulaceae</i> (L.) Lindl. Bitkisi (Şırnak kırsalı, Orijinal).....	25
Resim 13. <i>F. orientalis</i> L. bitkisi (Şırnak kırsalı, Orijinal).	26
Resim 14. <i>P. ferulaceae</i> ve <i>F. orientalis</i> bitki ekstraktlarının çıkarılması (Orijinal). ..	27
Resim 15. <i>L. tropica</i> 'nın NNN besiyerine ekimi (Orijinal).....	30
Resim 16. <i>L. tropica</i> izolatının sıvı azot tankından çıkarılması (Orijinal).	30
Resim 17. a). <i>L. tropica</i> izolatının RPMI-1640 Medium içerisinde üremesi, b). RPMI-1640 Mediumdan alınan boyalı örnekte <i>Leishmania</i> promastigotları, (Orijinal).....	31
Resim 18. <i>P. ferulaceae</i> ve <i>F. orientalis</i> bitki ekstraktlarının antileishmanial etkisini incelenmesi (Orijinal).....	34

Tezin Başlığı: Şırnak bölgesinden toplanan *Prangos ferulacea* ve *Ferula orientalis* ekstralarının Türkiye'den izole edilmiş *Leishmania tropica*'ya karşı antileishmanial etkilerinin araştırılması

Öğrencinin Adı: Sefer Özer BABAT

Danışman: Prof. Dr. Nogay GİRİNKARDEŞLER

Anabilim Dalı: Tıbbi Parazitoloji

1. ÖZET

Amaç: Her yıl yaklaşık 1,2 milyon yeni olgunun geliştiği leishmaniasisin tedavisinde son yıllarda giderek artan ilaç direnci görülmektedir. Bu nedenle, bitki kaynaklı bileşiklere ilgi son yıllarda artmış ve *in vitro* çalışmalarda yeni antileishmanial ajan adayları olarak denenmektedir. Bu nedenle leishmaniasise karşı uygulanacak yeni terapötiklerin belirlenmesini amaçlayan çalışmalar zorunlu bir hale gelmektedir. Bu çalışmada, Şırnak kırsalından toplanan *Prangos ferulacea* ve *Ferula orientalis* bitki ekstralarının *Leishmania tropica*'ya karşı antileishmanial etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinden ekstralar elde edilmiş ve elde edilen ekstraların sitotoksik aktivite testleri yapılmıştır. Daha sonra sıvı azotta muhafaza edilen Türkiye'den elde edilmiş *L. tropica* izolatu NNN ve RPMI 1640 besiyerlerinde üretilmiştir. *L. tropica* izolatu, elde edilen her bir ekstreya karşı antileishmanial etkinliği XTT kiti ve hemositometre yöntemi ile değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada ilaç adayı olabilecek ajanların saptanması için minimum inhibitör konsantrasyon değerleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda bitki ekstralarının parazitletlerin %100'ünü inhibe eden 1 mg/mL konsantrasyonun altındaki bitki ekstralarından *P. ferulaceae* bitkisinin kök ve meyve kloroform ekstraları, *F. orientalis* bitkisinin kök ve meyve etanol ekstraları ile gövde ve meyve kloroform ekstraları antileishmanial aktivite gösterirken, diğer ekstralarımız antileishmanial aktivite açısından zayıf olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: Antileishmanial aktivitelerini incelediğimiz altı bitki ekstraları arasında en etkili iki ilaç adayının *P. ferulaceae* kök etanol ekstresi ve meyve kloroform ekstresi olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca çalışmamızda sadece *P. ferulaceae* kök etanol ekstresinin sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Prangos ferulacea*, *Ferula orientalis*, *Leishmania tropica*,
Antileishmanial etki



Project Title: Investigating the antileishmanial effects of *Prangos ferulacea* and *Ferula orientalis* extracts collected from Şırnak province against *Leishmania tropica* isolated from Turkey

Student Name: Sefer Özer BABAT

Advisor: Prof. Dr. Nogay GİRGIN KARDEŞLER

Master of Science: Medical Parasitology

2. ABSTRACT

Purpose: Drug resistance has increased in recent years in the treatment of leishmaniasis, which develops approximately 1.2 million new cases each year. For this reason, the interest in plant-derived compounds has increased in recent years; and *in vitro* studies have been conducted to use such compounds as candidates of new antileishmanial agents. In this respect, studies aiming to determine new therapeutics against leishmaniasis become compulsory. In the present study, the purpose was to investigate the antileishmanial effects of *Prangos ferulacea* and *Ferula orientalis* plant extracts collected from the Şırnak countryside against *Leishmania tropica*.

Method: The extracts of *P. ferulaceae* and *F. orientalis* plants were obtained; and cytotoxic activity tests of these extracts were carried out. Then, the *L. tropica* isolate that was obtained from Turkey and stored in liquid nitrogen, was reproduced in NNN and RPMI 1640 broth medium. The *L. tropica* isolate was evaluated in terms of its' antileishmanial efficacy against each extract obtained with the XTT Kit and Haemocytometer Method. In the study, the minimum inhibitory concentration values were determined to identify the agents that might be candidates as drugs.

Results: In the present study, it was determined that the root and fruit chloroform extracts among the plant extracts below 1 mg/mL concentration inhibiting 100% of parasites, the root and fruit ethanol extracts of the *P. ferulaceae* plant, and the root and fruit ethanol extracts of the *F. orientalis* plant and ethanol extracts and the body and fruit chloroform extracts show antileishmanial activity; however, other extracts were evaluated to be weak in terms of antileishmanial activity.

Conclusion: It was concluded that, among these six plants extracts we examined for antileishmanial activity, the two most effective drug candidates were might be *P. ferulaceae* root ethanol extract and fruit chloroform extract. In addition, it was also determined that only *P. ferulaceae* root ethanol extract showed cytotoxic activity in our study.

Keywords: *Prangos ferulacea*, *Ferula orientalis*, *Leishmania tropica*, Antileishmanial effect



3. GİRİŞ ve AMAÇ

Leishmaniasis *Leishmania* cinsi hücre içi zorunlu protozoonların neden olduğu vektör kaynaklı bir hastalıktır. Leishmaniasis dünya genelinde 98 ülkeyi kapsayan tropik, subtropik ve Akdeniz havzasının geniş alanlarında endemiktir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre endemik bölgelerde yaklaşık 350 milyon insanın risk altında ve yaklaşık 12 milyon insanın da enfekte olduğu tahmin edilmektedir (World Health Organization 2018). Endemik bölgelerde yıllık 0,7-1,2 milyon aralığında kutanöz leishmaniasis (KL) vakası ve 200-400 bin visceral leishmaniasis (VL) vakası meydana geldiği ve mortalitesinin ise 20-50 bin aralığında olduğu tahmin edilmektedir (Akhoundi ve ark. 2016). Tropikal hastalıklar içerisinde leishmaniasis, morbiditede açısından dördüncü sırada yer alırken, mortalitede açısından ikinci sırada yer almaktadır. İnsanlardaki paraziter hastalıklar içerisinde leishmaniasis, sıtma ve schistosomiasisten sonra en yüksek morbiditeye sahip üçüncü ve sıtmadan sonra en fazla mortaliteye sahip ikinci paraziter hastalıktır (Savoia 2015).

Gelişen moleküler teknikler ve protein analizleri gibi modern yöntemler sayesinde tür ayrımı kesin olarak yapılabilmektedir. Bu güne kadar *Leishmania* cinsine ait 53 tür tanımlanmıştır ve bunlardan 31'i memelilerde parazitemi oluştururken, sadece 20'sinin insanlarda parazitemiye neden olduğu bildirilmiştir (Bruschi e Gradoni 2018).

İnsanlarda VL, KL ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL) olmak üzere leishmaniasisin 3 farklı temel klinik formu görülür. VL iç organlara yerleşen ve tedavi edilmediğinde ölümlü sonuçlanan en ağır klinik formudur. KL ise genellikle kendiliğinden iyileşebilen cilt ülserleri şeklindeki formudur. MKL ise ağız, burun ve boğaz mukoza zarlarının şekillerinin bozulmasına sebep olur. Bunlara ek olarak hastada yüzde ya da diğer açık alanlara plak benzeri ya da nodüller şeklinde gelişen fakat lezyon oluşturmeyen diffüz kutanöz leishmaniasis (DKL) ve VL sonrasında hastada Post-Kala-Azar Dermal Leishmaniasis (PKDL) şeklinde hastalığın bu iki sekonder formu da görülebilmektedir (Alemayehu e Alemayehu 2017).

Leishmania tedavisi temelde beş değerlikli antimon bileşiklerinin kullanımına dayanmakla birlikte Pentamidin, amfoterisin B (AmpB) ve lipozomal formülasyonu, paramomisin ve miltefosin gibi ikinci basamak ilaçlar da kullanılmaktadır. Bununla birlikte toksisite, yüksek maliyet ve/veya parazit direncinin artması bu bileşiklerin etkinliğini engellemiştir. AmpB, *Leishmania* tedavisinde uygulduğu iyi

değerlendirilmiş bir ilaçtır; fakat böbrek, karaciğer ve kalp toksisitesi gibi yan etkileri, uygulamasını sınırlandırmıştır. AmpB içeren lipit bazlı formülasyonlar serbest ürünün kullanımına kıyasla daha yüksek etkinlik ve daha düşük toksisite göstermiştir; Bununla birlikte, bu formülasyonların yüksek maliyeti, gelişmekte olan ülkelerde sınırlayıcı bir faktördür. Bu bağlamda, leishmaniasise karşı uygulanacak yeni terapötiklerin belirlenmesini amaçlayan çalışmalar zorunlu bir hale gelmektedir (Tavares ve ark. 2019).

Doğal ürünler ilaç endüstrisi tarafından biyolojik aktivite gösteren değerli yeni bir molekül kaynağı olarak kabul edilmiştir. Bitki kaynaklı bileşiklere son yıllarda ilgi artmış ve *in vitro* çalışmalarda yeni antileishmanial ajanlar olarak belirlenmiştir (Cheuka ve ark. 2017).

Bu çalışmada, Şırnak kırsalından toplanan *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının su, sulu etanol ve klorofom ekstraktlarının *Leishmania tropica* parazite karşı antileishmanial etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından ekstraktlar elde edilerek ve elde edilen ekstraktların sitotoksik aktivite testleri yapılmıştır. Daha sonra Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankasında sıvı azotta muhafaza edilen Türkiye'den elde edilmiş *L. tropica* izolatu uygun koşullarda sıvı azottan çıkarılarak, NNN ve RPMI 1640 besiyerinde üretilmiştir. Logaritmik faza giren *L. tropica* elde edilen her bir ekstreye karşı antileishmanial etkinliği XTT kiti ve hemositometre yöntemi ile değerlendirilmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 *Leishmania*'NİN TARİHÇESİ

Leishmaniasise ait ilk yazılı kayıtlar M.Ö. 7. yüzyıla dayandırılmakla birlikte, ilk defa 1900 yılında İskoç patolog William Boog Leishman tarafından Hindistan'daki İngiliz ordusu birliğinde zayıflama ve splenomegali nedeniyle ölen bir askerin dalağından alınan örneklerde ovoid yapılar gördüğünü bildirmiştir. Kısa bir süre sonra Madras Tıp Fakültesi'nde İrlandalı doktor Charles Donovan, hastalardan alınan örneklerden benzer yapılar bulunduğunu bildirmiştir. Literatüre ilk önce *Piroplasma donovani* olarak geçtikten sonra *Leishmania* cinsinin tanımlanmasıyla *Leishmania donovani* olarak değiştirilmiştir. Başlangıçta sporozoan olarak düşünülen parazitin, 1904 yılında Leonard Rogers tarafından kamçılı bir kan paraziti olduğu bildirmiştir (Steверding 2017).

L. tropica için ise; ilk olarak James Homer Wright tarafından bir yara örneğinden izole ettiği bu protozoonun ayrıntılı bir tanımlamasını yaparak *Helcosoma tropicum* adını vermiştir. Fakat Max Lühe tarafından *L. tropica* olarak değiştirilmiştir. Wassily Larionovich Yakimoff ve Nathan Isaakovich Schokhor tarafından 1914 yılında, *L. tropica*'ya ait küçük amastigotlar şeklinde görülen *L. tropica minor* ve daha büyük amastigotlar şeklinde görülen *L. tropica major* olarak iki alt türe ayrıldığını bildirdiler. Bray ve ark. 1973 yılında *L. tropica*'nın iki alt türünden biri olarak kabul edilen *L.t. minor*'ün kuru tip lezyonlar oluşturduğu ve kentsel bölgelerde görüldüğünü, diğer bir alt tür olarak kabul edilen *L. t. major*'un ise ıslak tip ülsere benzer lezyonlar oluşturduğunu ve kırsal bölgelerde görüldüğünü bildirmişlerdir (Steверding 2017).

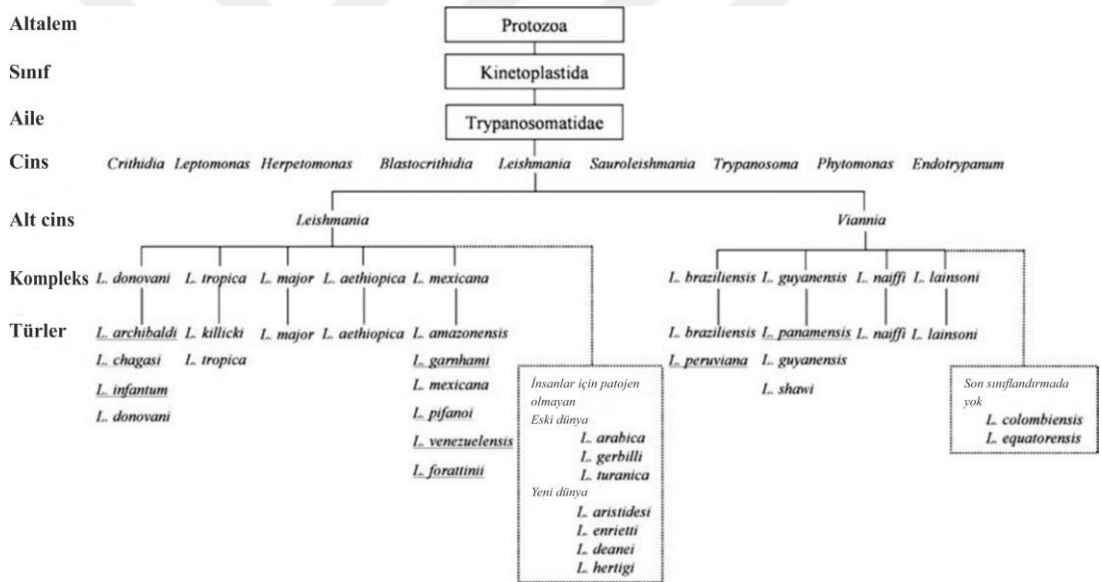
Moleküler tekniklerin ve protein analizleri gibi modern yöntemlerin hayatımıza girmesiyle bugüne kadar *Leishmania* cinsine ait 53 tür tanımlanmıştır. Bu 53 türün 31'i memelilerde ve 20'sinin insanlarda parazitemiye sebep olduğu bildirilmiştir (Bruschi e Gradoni 2018).

4.2 *Leishmania*'NİN SINIFLANDIRILMASI

Başlangıçta *Leishmania* cinsi protozoonların sınıflandırılması coğrafik dağılımlarına, yönelimlerine, antijenik özelliklerine ve klinik formları gibi ekolojik ve biyolojik özelliklerine göre yapılmıştır. Moleküler tekniklerin gelişmesi ile birlikte güncel sınıflandırma kriterleri olarak kinetoplast DNA'sı (kDNA), proteinler,

antijenler ve izoenzim analizleri gibi yöntemler sınıflandırmada kullanılmaya başlanmıştır. 1970'lerden bu yana *Leishmania* cinsinin türlerini tanımlamak için immünolojik, biyokimyasal ve genetik veriler gibi temel kriterler kullanılmıştır. Bu moleküler tekniklerin kullanılmasıyla birlikte Dünya Sağlık Örgütü tarafından taksonomik bir program yayınlamıştır. Yeni tür tespit programı ile izolasyon ve genetik tanımlama yöntemleri tanımlanan türlerin sayısında büyük bir artışa neden olmuştur. Günümüzde memelilerde parazitemiye neden olan *Leishmania* cinsine ait 31 tür tanımlanmış ve yaklaşık 20 tanesinin insanlar için patojenik olduğu bildirilmiştir (Bañuls ve ark. 2007). *Leishmania* cinsi türlerin DSÖ tarafından kabul edilen modern taksonomisi Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Leishmania* cinsinin DSÖ tarafından kabul edilen modern taksonomisi (Bañuls ve ark. 2007).



4.3 *Leishmania*'NİN VEKTÖRLERİ

Leishmania cinsi parazitlerin vektörlüğünü *Phlebotomus* ve *Lutzomyia* cinsi kum sinekleri yapmaktadır. Bugüne kadar altı cinse ait 700'den fazla kum sineği türü tanımlanmıştır. Bunlardan *Lutzomyia*, *Warileya* ve *Brumptomyia* Yeni Dünya, *Lutzomyia*, *Warileya* ve *Brumptomyia* ise Eski Dünya cinsi vektörlerdir. Bu cinslerden sadece *Lutzomyia* ve *Phlebotomus* *Leishmania* parazitlerinin bulaşmasında vektörlük yapar (Akhoundi ve ark. 2016).

Vücudunun tamamının kıllarla kaplı olması, uzun bacakları, sivrisineklere oranla çok daha küçük yapıda olmaları ve hareketsiz olduklarında kanatları birbirine 45°'lik açı yapacak şekilde “V” harfine benzer şekilde olmaları onların morfolojik olarak ayırt edilmelerini sağlar. Baş kısımları küçük olup, gözler baş kısımda geniş bir yer kaplar. Sarı renkte görünürler.

Kum sineklerinin aktiviteleri nemli havalarda olmaktadır. Yağmurlu ya da rüzgârlı havalarda inaktif halde olurlar. En aktif oldukları zamanlar; şafak vaktinde, akşam karanlığında ve özellikle gecenin erken saatlerindedir. Günün diğer zamanlarında hayvan yuvaları, ağaçlardaki oyuklarda, mağaralarda ve evlerin nispeten daha serin ve nemli alanlarında dinlenerek geçirirler (Resim 1). Bu sineklerin hareket alanı çok kısadır ve bin metreden daha uzun mesafe alamazlar (Alemayehu e Alemayehu 2017; Biologics 2017).



Resim 1. Vektör kum sineği tipik üreme alanları (a. Termit höyükleri, b. Kırsal ve ormanlık biyotop, c. Periferik kayalar ve d. Taş duvarlı ahıl) (Bruschi e Gradoni 2018).

4.4 *Leishmania*'NİN REZERVUARLARI

Leishmaniasis rezervuar tipine göre “Antroponotik leishmaniasis” ve “Zoonotik leishmaniasis” olarak ikiye ayrılır. Antroponotik leishmaniasis; bulaş insan-vektör-insan şeklindedir ve insan rezervuar durumundadır. Zoonotik leishmaniasis; bulaş

hayvanlar-vektör-insan şeklindedir ve rezervuar olarak vahşi hayvanlar, çiftlik hayvanları ve evcil hayvanlardır (Bruschi e Gradoni 2018).

İnsanlar leishmaniasiste iki farklı klinik formda ana rezervuar olarak rol oynar: Birincisi Hindistan ve Doğu Afrika'daki *L. donovani* kaynaklı antroponotik VL formudur. Diğer formu ise Güneydoğu Türkiye'den Hindistan'ın kuzey batısına kadar uzanan subtropikal bölgelerde *L. tropicaca*'nın neden olduğu antroponotik KL formudur.

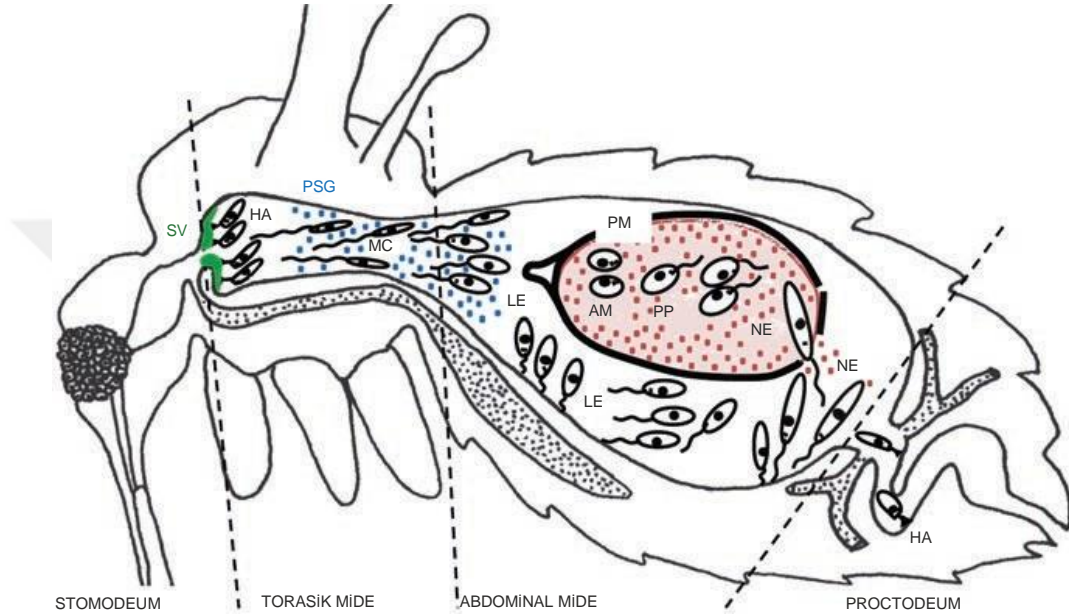
Leishmania infantum Orta ve Güney Amerika, Akdeniz Havzası, Orta Doğu ve Asya'daki birçok ülkede zoonotik VL'in etiyolojik ajanıdır. Köpekçiller insan enfeksiyonu için ana rezervuardır. *Leishmania major* Hindistan'dan Orta Asya, Orta Doğu, Kuzey ve Batı Afrika'ya kadar uzanan bir bölgedeki zoonotik KL'nin ana nedenidir. Bazı kemirgen türleri rezervuar olarak tanımlanmıştır. Türkiye, Orta Asya ve Güney Avrupa'da, *L. major*'un bu bölgelere yayılmasında rezervuar olarak tarla farelerinin büyük rol oynadığı bildirilmiştir (Bruschi e Gradoni 2018).

Türkiye'de yapılan deneysel çalışmalar sonucunda *Mus*, *Mesocricetus*, *Meriones* ve *Rattus* cinslerinin *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* ve *L. donovani* ile enfekte oldukları görülmüştür. Şanlıurfa'da yapılan başka bir çalışmada *L. tropica* izolatının, *M. musculus*'u enfekte ettiği bildirilmiştir. Buda ülkemizde doğal ortamlarda bulunan *Meriones*, *Mesocricetus*, *Rattus* ve *Mus* cinslerinin *Leishmaniasis*'in yayılmasında potansiyel rezervuarlar olabileceğini düşündürmektedir (Özbilgin ve ark. 2018).

4.5 *Leishmania*'NIN EVRİMİ

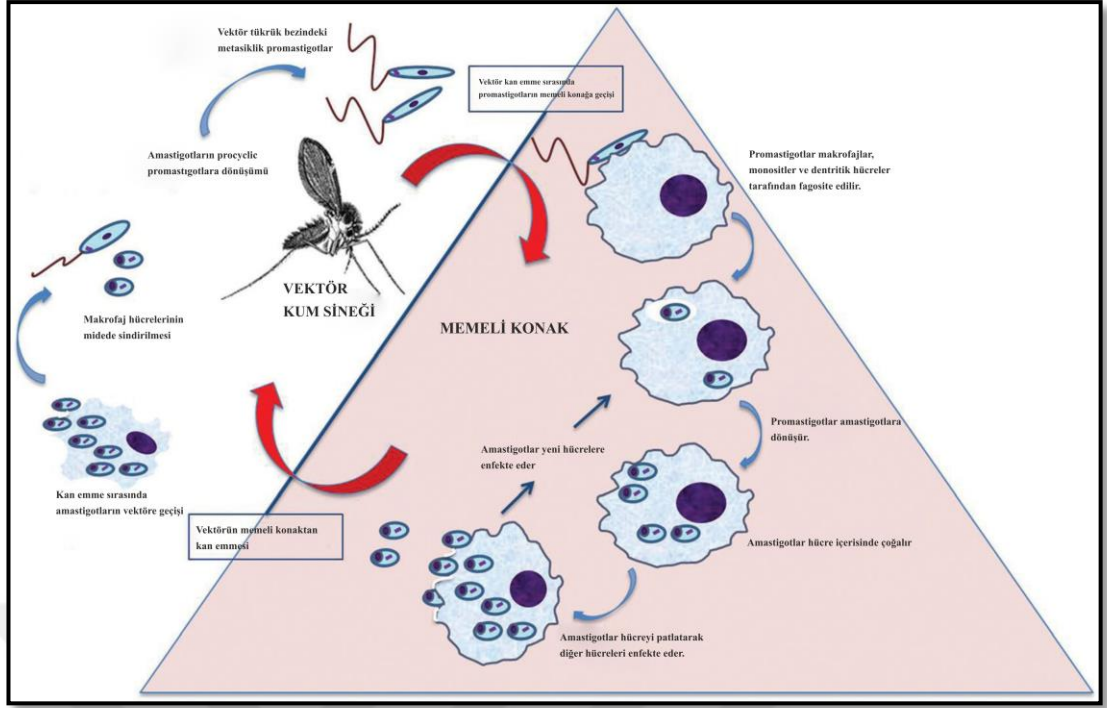
Leishmania türlerinin hayat döngüsü vektör ile omurgalı konak arasında gerçekleşir. Enfekte omurgalı konaktan kan emme sırasında amastigotlar vektöre geçer. Vektör tarafından konaktan alınan kan ve amastigotlar vektörün orta midesinde bir membran ile sarılmakta ve sindirim enzimleri bu membran içine salgılanmaktadır. Kan ile birlikte alınan amastigotların bir kısmı burada sindirilirken diğer bir kısmı ikiye bölünerek çoğalır. Daha sonra amastigotlar burada şekil değiştirmeye başlarlar ve prosiklik promastigot forma dönüşürler. Prosiklik promastigotlar burada ikiye bölünerek çoğalmaya başlarlar. Sindirim kanalına yerleşen ve çoğalmaya devam eden prosiklik promastigotlar buradan torasik mideye geçer. Torasik mideye geçen promastigotlar "nektomonad" adı verilen prosiklik promastigotlara göre daha uzun ve ince bir forma dönüşürler. Buradan torasik

midenin ön ucundaki kapağa gelirler ve bağırsak epiteline tutunurlar. Burada "haptomonad" adı verilen forma dönüşürler. Haptomonad formundaki promastigotlar vektörün ağız parçalarındaki boşluklara yerleşirler. Buraya yerleşen promastigotlar "metasiklik promastigot" olarak adlandırılır. Metasiklik promastigotlar enfektif formdur ve bölünmezler (Şekil 1). Vektördeki bu döngü 3-7 gün sürer (Bruschi e Gradoni 2018).



Şekil 1. Vektör kum sineği midesinde *Leishmania* spp'nin gelişimi (amastigot (AM), peritrophic matrix (PM), prosiklik promastigot (PP), nektomonad (NE), LE = short nectomonads, haptomonad (HA), metasiklik (MC)) (Bruschi e Gradoni 2018).

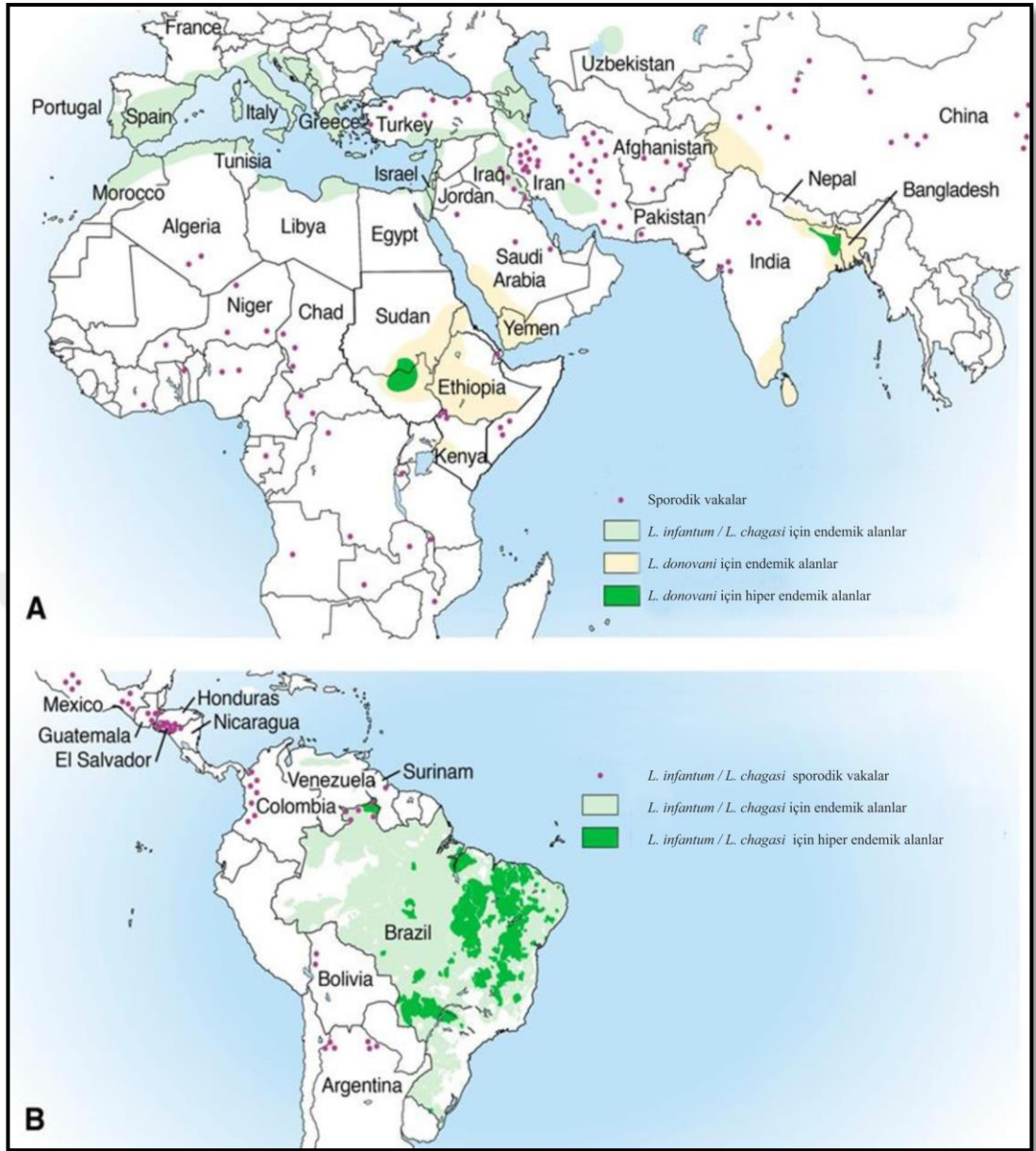
Vektörün omurgalı konaktan kan emmesi sırasında hortum kısmında bulunan enfektif metasiklik promastigotlar omurgalı konağın kanına geçer. Omurgalı konağın vücuduna giren promastigotlar omurgalı konağın bağışıklık sistemi tarafından tespit edilirler ve makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Makrofojlar tarafından fagosite edilen bu promastigotlar fagositik vakuol (fagolizozom) içerisinde amastigot forma dönüşürler. Fagositik vakuol içerisinde sürekli ikiye bölünerek çoğalırlar. Makrofaj içerisinde amastigotların çoğalması sonucu hücre parçalanır ve amastigotlar serbest hale geçer. Serbest hale geçen bu amastigotların her biri başka bir makrofajı enfekte eder (Şekil 3). Enfeksiyon deride sınırlı kalıp KL'ye ya da iç organlara geçip VL'ye sebep olur. Enfeksiyonun klinik formu parazitin türüne ve omurgalı konağın bağışıklık sistemine bağlıdır (Satoskar ve ark. 2014).



Şekil 2. *Leishmania* spp.'nin yaşam döngüsü (Cabezas ve ark. 2015).

4.6 *Leishmania*'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ

2015 yılında tüm dünyadaki VL vakalarının %90'ından fazlası Brezilya, Etiyopya, Hindistan, Kenya, Somali, Güney Sudan ve Sudan'dan bildirilmiştir. Bununla birlikte 60'tan fazla ülkede endemik olarak görülmektedir. Doğu Afrika ve Hindistan yarımadasında yıkıcı salgınlara neden olmuştur. Küresel bazda son on yılda VL vakalarında önemli ölçüde bir azalma olmuştur. 2012 yılında 200-400 bin yeni VL vakası olduğu tahmin edilirken, 2017 yılında 50-90 bin aralığına indiği tahmin edilmektedir. Özellikle zorunlu göçler ve HIV-VL koenfeksiyonu yeni VL vakalarında bir artışa neden olacağı gibi coğrafik olarak yayılmasına katkıda bulunacağı öngörülmektedir. *L. infantum* ve *L. donovani* türleri bu bölgelerde VL'e neden olmaktadır (Resim 2) (Burza ve ark. 2018).



Resim 2. VL'in dünya genelindeki coğrafik dağılım haritası (Aronson ve ark. 2017).

DSÖ, dünya genelinde yıllık 0,7-1 milyon yeni KL vakası tahmin etmektedir. Bu vakaların %90'ı Afganistan, Pakistan, Suriye, Sudi Arabistan, Cezayir, İran, Brezilya ve Peru'da görülmektedir. Zorunlu göçten dolayı endemik olmayan ülkelerde önemli ölçüde artmıştır. Akdeniz Havzası, Orta Doğu, Afrika Boynuzu veya Hint Yarımadası çevresinde yaygın olarak *L. major*, *L. tropica* ve *L. aethiopica* KL'in ana sebebi iken, Orta ve Güney Amerika'da endemik olan *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. braziliensis* ve *L. guyanensis* KL'e neden olmaktadır (Resim 3) (Burza ve ark. 2018).

infantum'un da bazı yerlerde KL'e neden olduğu bildirilmiştir. Asya ve Afrika kıtasının endemik ülkelerinde VL in bir diğer etkeni olan *L. donovani*, Türkiye'de 2014 yılından beri VL etkeni olduğu bildirilmiştir (Gündüz ve ark. 2017; Özbilgin ve ark. 2016).

4.7 LEİSHMANİASİSİN PATOGENEZİ VE KLİNİĞİ

Parazitin türüne ve konağın immun tepkisine bağlı olarak leishmaniasis kliniği; (1) kutanöz (lokalize veya yayılmış), (2) mukokutanöz ve (3) viseral veya kala-azar olarak üç farklı ana formda ortaya çıkarken, sekonder olarak diffuz kutanöz leishmaniasis (Yaygın Deri Leishmaniasisi) ve PKDL formları da görülmektedir (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

4.7.1 Kutanöz leishmaniasisin patogenezi ve kliniği

Ülkemizdeki nedensel ajan genelde *L. tropica* ve *L. major* olarak kabul edilir. Vektörün kan emdiği bölgelerde lokalize olur. Kulaklar, burun, üst dudak, yanaklar, bacaklar, el-kol ve ayak bilekleri lezyonun en yoğun olarak görüldüğü yerlerdir. Kuluçka süresi genellikle 1 ile 4 hafta arasındadır fakat, bir kaç yıl kadar da sürebilir (Torres-Guerrero ve ark. 2017). Lezyonun oluşmaya başladığı bölge; ateş ve şişme ile karakterizedir. Isırık bölgesinde eritematöz asemptomatik bir papül görülür ancak prurit de görülebilir. Boyutu 1 ile 10 mm arasında değişmektedir. İki gün sonra bir veziküle ve daha sonra bir püstül haline dönüşür ve kendiliğinden veya travma sonucu hasar gördüğünde keskin ve sivri uçlu kenarları olan nodüler veya kalın sınırları olan yuvarlak bir ülserli yapı ile sonuçlanır (Resim 4). Bu ülserler 3-5 ay ile 15-20 yıl kadar sürebilir. Ülserin tabanı sürtünme sırasında kanlanan ve pembe bir periferi olan ve bazen beyazımsı bir zarla kaplanan granülasyon dokusunu gösterir (Resim 5). Bazı durumlarda bol miktardaki salgı yapışık bir kabuk oluşturur. Sekonder enfeksiyon yoksa lezyon ağrılı değildir. Ülserler tek veya çoklu olabilir; önceden vektörün ısırığına uzak bölgelerdeki ülserli alanlarda uzun süreli temasta enfeksiyon ile otoinokülasyon gözlenmiştir. Klinik tablo genellikle bölgesel adenopati ile ilişkilidir (Torres-Guerrero ve ark. 2017; Gündüz ve ark. 2017).



Resim 4. Ön kolda KL erken dönem lezyon (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

Nadir durumlarda ilk lezyon ülserli olmayabilir ve vejetatif görünüm geliştirebilir. KL *L. mexicana* kaynaklı olduğunda 3-9 ay, *L. major* olduğu durumlarda 2-6 ay ve *L. braziliensis*, *L. tropica* veya *L. panamensis* ise 6-15 ay içerisinde kendiliğinden iyileşme görülebilir (Torres-Guerrero ve ark. 2017).



Resim 5. Üst extremitelerde ileri dönem kabarıklık kenarlı KL ülser (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

Periferinden lezyonun merkezine kadar iyileşmenin sürdüğü 4 yıla kadar spontan iyileşme tanımlanmıştır. Spontan iyileşme, düzensiz pigmentasyon ve telanjiektazi ile depresif bir plak veya hipopigmente merkez ve hiperpigmente periferik retrakar yaraların yanı sıra büyük doku yıkımına bağlı olarak lokal deformiteye neden olur (Resim 6).



Resim 6. Üst ekstremelerde atrofik scar (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

Kulak etkilendiğinde çentik veya yarık şeklinde yaralara neden olur (Resim 7).



Resim 7. Kulaktaki atrofik scar (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

Hastaların yaklaşık %33'ünde nüksedebilir ya da skar lezyonu orjinal ataktakilere benzer özellikler göstererek yeniden açılabilir. Tekrarlanan yaralar ilk bölümde görüldüğünden daha hafif veya daha şiddetli olabilir (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

4.7.2 Viseral leishmaniasisin patogenezi ve kliniği

Kala-Azar olarak da bilinen ateşli enfeksiyöz bir hastalıktır. Güney ve Doğu Asya'nın büyük bir bölümünde (özellikle Hindistan ve Çin'de), Afrika kıtasının büyük bir bölümünde, Güney Amerika'da, Akdenizin güney bölümlerinde yaygın olarak görülmektedir. Hastalık etkeni (Güney Amerika, Hindistan ve Doğu Afrika'da) *L. donovani*, (Akdeniz bölgesinde) *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. amazonensis* ve *L. tropica* türleridir. Kuluçka süresi 3 ile 8 ay kadardır. Risk altındaki popülasyonu genelde okul öncesi çocuklar, bağışıklığı baskılanmış kişiler ve yetersiz beslenen bireylerdir.

Son zamanlarda VL AIDS'li veya intravenöz uyuşturucu ilaç kullanan kişilerde ortak enjektör kullanımına bağlı olarak aktarım mekanizmasının oluşmasıyla vakalarda artış gözlenmiştir. Retiküloendotelial sistemdeki lezyonlar subklinik bir seyir izleyebilir veya hastalarda oligosemptomatik ya da semptomatik olabilir. Enfeksiyon, lenfadenopati, hepatomegali, splenomegali, soluk ten rengi, anemi, lökopeni, trombositopeni, ateş, gece terlemesi, anoreksi, asteni, deri pigmentasyonu ve aşırı kilo kaybıyla kendini gösterir. Bunlara ek olarak çocuklarda kronik ishal ve büyüme geriliği görülebilir.

Tipik laboratuvar anomalileri arasında pantositopeni ve hiperglamaglobülinemi vardır. Tedavi edilmediğinde trombositopeniye bağlı kanama ve üst üste binmiş enfeksiyonlar nedeniyle ölümle sonuçlanır (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

4.7.3 Muko-Kutanöz leishmaniasisin patogenezi ve kliniği

Güney Amerika'da ve endemik bölgelerde KL hastalarının %1'i ile %10'u arasındaki oranlarda iyileştikten 5 yıl sonra MKL'ye dönüşebilmektedir. Bu klinik formun nedensel ajanı *L. braziliensis*, *L. guyanensis* ve *L. panamensis*'i içeren *L. braziliensis* kompleksidir. Nazofarenks mukozasının tutulumuna ve tahribatına neden olur (Resim 8). Yaygın tutulum yavaştır ve başlangıçta rahatsızlık verici bir durum görülmez. Bu nedenle mukozal hasar fark edilmez. Bazı durumlarda da sadece hafif yerel kaşıntı ve şişme görülür.



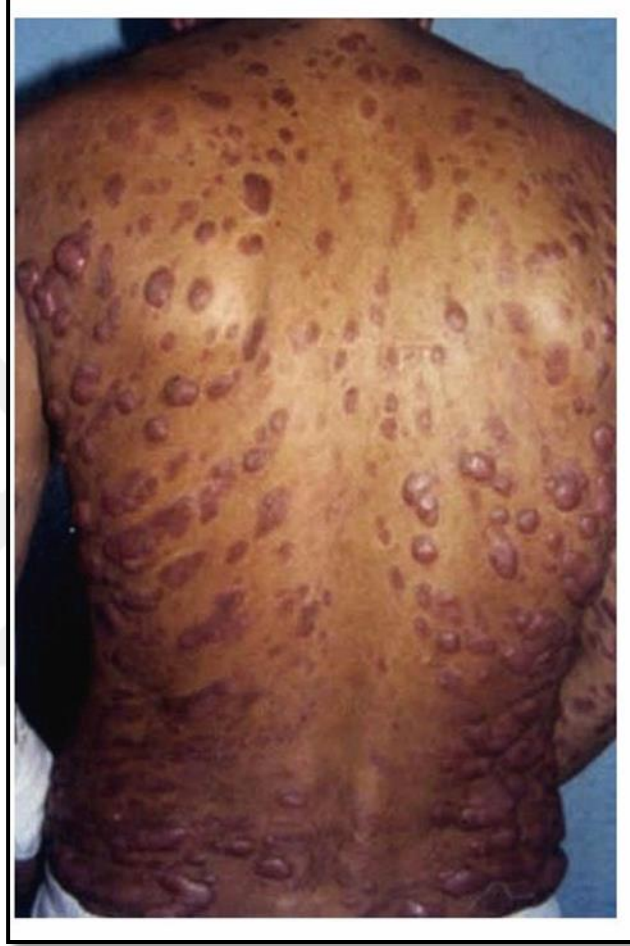
Resim 8. Mukokutanöz leishmaniasis (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

Genellikle lezyonlar burun mukozasında başlar, oral ve farenks mukozasına, gırtlak, burun ve dudak derisine yayılır. Oral mukoza lezyonları genellikle hafif ağrı veya odinofaji ile kaşeksi arasında değişen semptomlar üretir. Lezyonun farinks, larinks ve özefagusu içerdiği durumlar da gözlenir. Hastalığın erken döneminde yüzeysel ülserasyonlarla mukozanın infiltrasyonu daha sonra ülserler geliştikçe sınırları nekrotik bir hal alır. Üst üste binen enfeksiyonlar nedeniyle bölgesel lenf bezleri enfekte olabilir ve ağrılı bir hal alabilir. Enfeksiyon burun boşluğundayken nazal tirbünlerin atrofisi ve kıkırdaklı septumun tahribatı görülebilir. Aşırı ağır durumlarda ölümle sonuçlanabilir (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

4.7.4 Diffüz kutanöz leishmaniasis (Yaygın Deri Leishmaniasisi) 'in patogenezi ve kliniği

Bu form alerji ile karakterize edilir, yani parazit antijenlerine karşı hücresel immün yanıt olmaması durumudur. Bu form kafa derisi hariç ve bazen de mukoza zarının tutulumu ile derinin çoğunda lezyonlar geliştirerek doku, lenf ve kan yolları yoluyla yayılmasına izin verir. Orta Amerika, Brezilya, Venezuela, Etiyopya ve Kenya'da görülür. *L. mexicana* kompleksi (*L. amazonensis*, *L. braziliensis* ve *L. pifanoi*) kaynaklıdır ve kulaklarda yanaklarda ve ekstremitelerde daha yaygın olarak görülür. Genellikle sert eritemli nodüller ve kırmızımsı kahverengi infiltratif düz veya verrüköz plaklar ile başlar. Sonucusu ülser olabilir ve ilk olarak yüzde bulunur daha sonra ekstremiteleri, kalçaları ve mukozaları aşamalı olarak etkiler.

Bazı durumlarda tüm cilt yüzeyini kaplayabilir (Resim 9). Lenfödem, lenfadenopati, genel durumda kötüleşme ve ateş görülebilir. Orofarinks ve nazofarinks gibi mukozalar dahil edildiğinde ağırlı nodüller hava yolu tıkanıklığına neden olabilir. Bu klinik formun tedavisi çok zordur ve kendiliğinden iyileşme görülmez. Yaklaşık 20 yıllık bir gelişim gözlemlenmiştir (Torres-Guerrero ve ark. 2017).



Resim 9. DKL klinik form (Torres-Guerrero ve ark. 2017).

4.7.5 Post-Kala-Azar dermal leishmaniasis (PKDL) 'in patogenezi ve kliniği

VL tedavisi almış kişilerde 6 ay ile 2-3 yıl kadar asemptomatik olarak kalan bir hasta alt grubudur. VL tedavisi başarılı olmasına rağmen daha sonralarda deride yaygın maküller, makülopapüller veya nodüler lezyonlara yol açan parazitlerin fulminan ve progresif poliferasyonu gelişir. *L. donovani* kaynaklı olan bu form Hindistan'da VL geçiren kişilerde 6 ay sonra %5-10 oranında görülürken, Sudan'da hastaların %50'sinde 2-3 yıl sonra ortaya çıkmaktadır. PKDL'in patogenezi tam olarak anlaşılamamış olsa da dermal olarak kalan parazitlere karşı üretilen interferon

kaynaklı konak immun yanıtı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Lezyon biyopsi örneklerinde VL sebep olan *Leishmania*'larla aynı genotipik özelliğe sahip olan *Leishmania* amastigotları yoğun olarak makrofajlar içerisinde görülmektedir. PKDL'nin en sık görülen şekli hipopigmente maküller veya yüzdeki papüllerdir. Lezyonlar nodüler şekilde en sık kol, bacak ağız ve burun bölgesi ile gövdede yaygınlık gösterir (Resim 10). Lezyonlar kaşıntılı veya ağrılı değildir. PKDL vakalarının çoğu kendi kendini sınırlar ve tedaviye gerek görülmez. Şüpheli PKDL vakalarında geçmiş tarihli VL öyküsü ile tanıya gidilir (Satoskar ve ark. 2014; KENYA; e Health; Chakrabarti ve ark. 2019).

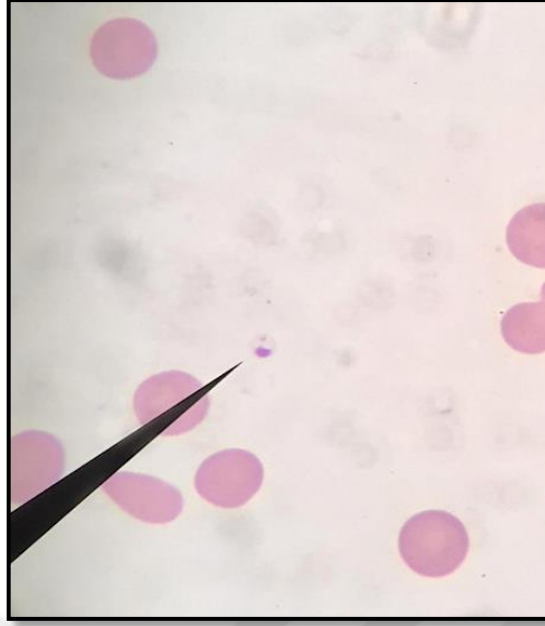


Resim 10. PKDL klinik form (Chakrabarti ve ark. 2019).

4.8 LEISHMANİASİSİN TANISI

Leishmaniasisi kuluçka döneminde asemptomatik olabilir, bazen de kendiliğinden iyileşme görülebilir. Klinik bulgular kesin tanıyı koyamadığından leishmaniasiste kesin tanı için laboratuvar tanısı büyük önem arz etmektedir. Pozitif bir *Leishmania* sonucunun olasılığını en üst düzeye çıkarmak için çoklu tanı yaklaşımları kullanılması önerilmektedir (Aronson ve ark. 2017).

Leishmaniasis doku aspiratlarında veya biyopsi örneklerinde boyama teknikleri kullanılarak amastigotların tespit edilmesiyle tanı konulmaktadır (Resim 11). Boyanan preparatlarda amastigotlar görülmediğinde yüksek bir spesifiteye sahip olan *in vitro* kültür yöntemiyle parazit izolasyonu için Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) besiyerinde *Leishmania* kültürü tanıda kullanılmaktadır (Aronson ve ark. 2017).



Resim 11. Semear boyalı örnekte *Leishmania* amastigotları (Orijinal).

Özellikle VL tanısında serolojik tanı yöntemlerinden Leishmanin (Montenegro) Deri Testi (LDT), Direkt Aglütinasyon Testi (DAT), IFAT, ELISA, ve Western-Blot testleri kullanılmaktadır. Bu testlerin özgüllüğü ve duyarlılığı kullanılan teste, kullanılan antijenlere ve konağın özelliklerine göre değişiklik gösterebilir. Serolojik testler mikroskopi ve kültür sonucunda kesin tanı konulamayan VL hastaları için önerilmektedir. HIV/AIDS hastalarında ya da allta yatan başka sebeplerden dolayı bağışıklığı baskılanmış kişilerde VL için; tanıda yanlış-negatif sonuçtan dolayı serolojik yöntemler önerilmemektedir (Aronson ve ark. 2017).

Tanı duyarlılığı %70-93'lere ulaşan ve mevcut en hassas tanı yöntemi olan moleküler tanı olarak PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile periferel kanda ve doku aspiratlarında *Leishmania* parazitinin DNA'sının tespiti yapılabilmektedir. Moleküler tanı yöntemleri diğer testlerde kesin tanı konulmadığı durumlarda yapılmaktadır. Ayrıca DNA bazlı analizler veya izoenzim analizleri yapılarak parazit türünün tespiti de yapılmaktadır (Aronson ve ark. 2017).

4.9 LEİSHMANİASİSİN TEDAVİSİ

4.9.1 KL tedavisi

KL hastalarının %90'dan fazlası herhangi bir tedaviye gerek kalmadan kendiliğinden iyileşme görülebilmektedir. Sistemik bir tedavi gerektiğinde ise

parental seçenekler; Amfoterisin B deoksikolat (Fungizone®) günlük 0.5-1.0 mg/kg dozda toplam 15-30 mg/kg ya da beş değerlikli antimonallerden (Pentavalent antimonials); Sodyum stiboglukonat (Pentostam®) ve Meglümin antimonat (Glucantamine®) 20 gün için toplam 20 mg SbV/kg, Lipozomal amfoterisin B (AmBisome®) günlük 3 mg/kg dozda toplam 18-21 mg/kg, Pentamidin isetionat (Pentam 300®) her doz için 3-4 mg/kg toplam 3-4 doz uygulanır. Sistemik tedavide oral seçenekler ise; Flukonazol (Diflucan®) yetişkinler için altı hafta boyunca 200 mg/gün, Ketokonazol (Nizoral®) yetişkinler için 28 gün boyunca 600 mg/gün, Miltefosin (Impavido®) 30-44 kg aralığında olanlar için 28 gün boyunca 2,5 mg/gün iken 45 kg ve yukarısı olanlar için 28 gün boyunca 50 mg/kg doz uygulanır. Sistemik tedavide intralezyonel seçenekler ise; beş değerlikli antimonallerden (Pentavalent antimonials) Sodyum stiboglukonat (Pentostam®) yada Meglümin antimonat (Glucantamine®) 0,1 ml/cm² veya 5 nokta/lezyon beyazlaşmaya kadar enjekte edilerek bu tedavi şekli lezyon iyileşinceye kadar yapılır. Sistemik tedavide topikal seçenekler ise; Paromomisin preparatlarından %15 paromomisin ve %12 MBKL pomad (Leshcutan®) lezyona 10 gün boyunca uygulandıktan sonra 10 gün ara verilir ve tekrar 10 gün uygulanır, %15 paromomisin ve %0,5 gentamisin krem (WR 279, 396) pomad 20 gün boyunca her gün uygulanır. Sıcak terapi (ThermoMed TM) 1-3 seans lokal anestezi altında sağlıklı görünen cilde kadar 1-2 mm aralıklarla kare şeklinde 30 sn uygulanır. Sıvı azotla kryoterapi lezyon kenarında sağlıklı görünen cilt dokusu 1-2 mm çevresi 15-20 sn dondurulur ve çözülmesi için 20-60 sn beklenip tekrar uygulanır. Kryoterapi için 3 doz ve her doz 3 hafta da bir olacak şekilde önerilmektedir (Aronson ve ark. 2017).

4.9.2 VL tedavisi

VL tedavisi için geleneksel sistemik tedavi seçenekleri; Lipozomal amfoterisin B (AmBisome®) günlük 3 mg/kg dozda toplam 21 mg/kg, immunosüprese hastalarda ise günlük 4 mg/kg dozda toplam 40 mg/kg şeklinde, Miltefosin (Impavido®) 30-44 kg aralığında olanlar için 28 gün boyunca 2,5 mg/gün iken 45 kg ve yukarısı olanlar için 28 gün boyunca 50 mg/kg doz uygulanır. Beş değerlikli antimonallerden (Pentavalent antimonials); Sodyum stiboglukonat (Pentostam®) ve Meglümin antimonat (Glucantamine®) günlük 20 mg SbV/kg 28 gün boyunca, Amfoterisin B deoksikolat (Fungizone®) günlük 1 mg/kg dozda 15-20 gün, Amfoterisin B Lipid kompleks (Abelcet®) günlük 2-3

mg/kg dozda 5-10 gün, immunosüprese hastalarda ise günlük 3-4 mg/kg dozda 10 gün olacak şekilde, Pentamidin isetionat (Pentam 300[®]) haftada 3 doz uygulanacak şekilde her doz için 4 mg/kg toplam 15-30 doz uygulanır. AIDS/HIV hastalarında antileishmanial ilaçlarla beraber antiviral tedavilerinin de beraber uygulanması önerilmektedir (Aronson ve ark. 2017).

4.9.3 ML tedavisi

ML tedavisi kişinin durumuna bağlı olarak değişmesine rağmen geleneksel ML sistematik seçenekleri; Amfoterisin B deoksikolat (Fungizone[®]) günlük 0,5-1,0 mg/kg dozda toplam 20-45 mg/kg, Lipozomal amfoterisin B (AmBisome[®]) günlük 3 mg/kg dozda toplam 20-60 mg/kg, Miltefosin (Impavido[®]) 30-44 kg aralığında olanlar için 28 gün boyunca 2,5 mg/gün iken 45 kg ve yukarısı olanlar için 28 gün boyunca 50 mg/kg doz uygulanır. Beş değerlikli antimonallerden (Pentavalent antimonials); Sodyum stiboglukonat (Pentostam[®]) ve Meglümün antimonat (Glucantamine[®]) 28 gün boyunca 20 mg SbV/kg, Pentamidin isetionat (Pentam 300[®]) haftada 3 doz ve her doz için 3-4 mg/kg şeklinde 15 doz uygulanır (Aronson ve ark. 2017).

4.10 YENİ ANTİLEISHMANİAL AJANLAR OLARAK BİTKİ EKSTRELERİ

DSÖ tarafından en önemli yedi enfeksiyon arasında gösterdiği *Leishmania* enfeksiyonlarına karşı kullanılmakta olan antileishmanial ilaçların yüksek toksisite, uygulamadaki kısıtlamalar, direnç gelişimi ve yüksek maliyet gibi dezavantajlarından dolayı, araştırmalar daha çok bitkisel bileşiklerden yeni antileishmanial ilaçlar geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Etkili bir aşı olmadığından ve mevcut ilaçlardaki sıkıntılar daha etkili ve ulaşılabilir ilaçlara acil ihtiyaç duyulmaktadır. Yeni antiparaziter ilaçların geliştirilmesi için bitkisel ajanlar ciddi bir potansiyel olarak görülmektedir. Ülkemizde ve dünyadaki birçok toplumda bitkiler geleneksel tedavilerde ilaç olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bitki ekstrelerinden elde edilen bazı ajanların antileishmanial etkileri gösterilmiştir. Bu bitkisel ajanlardan, Flavonoidlerin; *L. donovani*'nin amastigot ve promastigot formları üzerine etkili olduğu, kalkonların; hem *L. major* hem de *L. donovani* amastigotları ve promastigotları üzerinde etkili olduğu, iridoitlerin; parazitin DNA'sıyla enzim arasındaki kompleks oluşumunu engelleyerek antileishmanial etkinlik gösterdiği, kinolin

alkoloidlerinin; *L. amazonensis*'e karşı güçlü antileishmanial özellik gösterdiği, saponinlerin; *L. infantum* ve *L. donovani* amastigotlarında ve promastigotlarında güçlü antileishmanial özellik gösterdiği, lignanların; *L. infantum* ve *L. donovani* amastigotları ve promastigotları üzerinde güçlü antileishmanial özellik gösterdiği, taksoidlerin; *L. donovani*'nin hücre içi amastigotları üzerinde güçlü antileishmanial etki gösterdiği, monoterenlerin; *L. amazonensis* amastigotları ve promastigotları üzerinde güçlü antileishmanial özellik gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca bazı bitkisel yağların da *L. amazonensis* amastigotlarında ve promastigotlarında güçlü antileishmanial özellik gösterdiği bildirilmiştir. *Leishmania* parazitleri üzerinde de bitkisel ajanların etkilerinin incelendiği çalışmalar her geçen gün dahada önem kazanmaktadır. (Abamor ve ark. 2014; Hammi ve ark. 2019).

4.10.1 *Prangos ferulaceae* (L.) Lindl.

Apiceae familyasına ait *Prangos ferulaceae* (L.) Lindl. çok yıllık otsu bir bitkidir (Resim 12). Türkiye bu bitki için önemli bir merkezdir. Özellikle Doğu Anadolu bölgesinde yayılış göstermektedir. *P. ferulaceae* birçok ülkede geleneksel halk hekimliği alanında kullanılmaktadır. Bitkinin meyve, gövde ve kök kısımlarından elde edilen ekstraktlar sindirim bozuklukları, yaraları iyileştirmek için ve kanamayı durdurmak için kullanılmaktadır. *Prangos* türlerinin uçucu yağları üzerine yapılan çalışmalarda kimyasal bileşenlerinde antifungal, antioksidan ve antibakteriyel gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *P. ferulaceae* bitkisinde yüksek antioksidan özelliğe sahip flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, fenolik bileşikler gibi çeşitli bileşiklerin olduğu bildirilmiştir (Soosaraei ve ark. 2017).



Resim 12. *Prangos ferulaceae* (L.) Lindl. Bitkisi (Şırnak kırsalı, orijinal).

4.10.2 *Ferula orientalis* L.

Apiceae familyasına ait *F. orientalis* L. çok yıllık otsu çiçekli bir bitkidir (Resim 13). *Ferula* cinsine ait türler Orta ve Batı Asya ile Doğu Akdeniz ülkelerinde yayılış gösterirler. Özellikle 1800-2000 m yükseklikteki kayalık alanlarda yayılış gösterirler. Bu cinse ait türlerin en belirgin özelliği küküret içeren türevler, kumarinler, seskiterpenler, glukoronik asit, galaktoz, arabinoz, rhanoz ve glukoronik esterler gibi biyolojik olarak aktif fitokimyasalların zengin bir kaynağıdır. Ayrıca çok güçlü sitotoksik etki gösterdikleri bildirilmiştir (Razavi ve ark. 2016). *F. orientalis* üzerinde daha önceden yapılan çalışmalarda antioksidan ve antifungal özellikler gösterdiği bildirilmiştir. Geleneksel halk tıbbında şişkinliklerin tedavisinde, kanser tedavisinde, astım, dizanteri ve gastrointestinal bozukluklar için kullanıldığı bildirilmiştir (Iransahi ve ark. 2018).



Resim 13. *F. orientalis* L. bitkisi (Şırnak kırsalı, orijinal).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1 BİTKİLERİN TOPLANMASI VE TÜR TAYİNLERİNİN YAPILMASI

5.1.1 *Prangos ferulaceae* bitkisinin toplanması

P. ferulaceae bitkisinin toprak altı ve toprak üstü kısımları Şırnak, Hakkâri, Van ve Siirt illerinin kesişim noktası olan 2090 m rakımlı yaylarından toplanmıştır.

5.1.2 *Ferula orientalis* bitkisinin toplanması

F. orientalis bitkisinin toprak altı ve toprak üstü kısımları Şırnak, Hakkâri ve Van illeri ile İran sınırının kesişim noktası olan 1.890 m rakımlı Faraşın yaylasından toplanmıştır.

5.1.3 *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* bitkilerinin tür tayinlerinin yapılması

P. ferulaceae ve *F. orientalis* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımları toplandıktan sonra tür tayinlerinin yapılması için Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne götürülerek tür tayinleri Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Fidan tarafından yapılmış ve herbaryum numaraları (*Prangos ferulaceae*: SUFAF1536- *Ferula orientalis*: SUFAF1538) verilmiştir.

5.2 *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* BİTKİLERİNİN EKSTRELERİNİN ÇIKARILMASI

Toplanan *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımları Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoknozi Anabilim dalında Prof. Dr. Hüsnüye Kayalar sorumluluğunda uygun koşullarda kurutularak daha sonra değirmende toz haline getirilmiş ve bitkilerin su, etanol ve kloroform ekstraktları çıkarılmıştır (Resim 14).



Resim 14. *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitki ekstraktlarının çıkarılması (Orijinal).

5.2.1 Su ekstresinin hazırlanması

1. Toprak üstü ve toprak altı kısımları toplanıp küçük parçalar haline getirilmiş ve oda sıcaklığında kurutulmuştur.

2. Kurutulan toprak üstü ve toprak altı kısımlar değirmende toz hale getirilmiştir.

3. %2'lik infüzyonu şeklinde su ekstresi hazırlandı. 2 g toz edilmiş bitkisel materyal 100 ml kaynamış su içinde 10 dk bekletilip sıcakken süzgeç kâğıdı kullanılarak süzölmüştür.

4. Süzölen kısım alçak basınçta rotavaporda 50 °C geçmeyen sıcaklıkta kuruluğa kadar evapore edilmiştir.

5. Daha sonra -80 °C dondurulup liyofilize edildi. Liyofilize edilen materyal eksi 20 °C'de aktivite çalışmaları yapılmak üzere muhafazaya alınmıştır.

5.2.2 Sulu etanol ekstresinin hazırlanması

1. Toz haline getirilmiş olan toprak üstü ve toprak altı kısımlar (5 g), %60'lık sulu etanol (100 ml) ile oda sıcaklığında çalkalama maserasyonu tekniği ile ekstre edilmiştir.

2. Filtre edilip, çözücü rotavaporda 50 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve ekstre -80 °C'de dondurulup liyofilize edilmiştir.

3. Liyofilize edilen materyal -20 °C'de aktivite çalışmaları yapılana kadar muhafazaya alınmıştır.

5.2.3 Kloroform ekstresinin hazırlanması

1. Toz haline getirilmiş olan toprak üstü ve toprak altı kısımlar (5 g), kloroform (100 ml) ile oda sıcaklığında çalkalama maserasyonu tekniği ile ekstre edilmiştir.

2. Filtre edilip kloroform alçak basınçta kurulğa kadar uçurulmuştur.

3. Bakiye bir miktar distile su içinde süspande edilip -80 °C'de dondurulup liyofilize edilmiştir.

4. Liyofilize edilen materyal -20 °C'de aktivite çalışmaları yapılana kadar muhafazaya alınmıştır.

Tüm ekstrelerin yüzdelik verimleri hesaplanarak ayrıca total fenolik madde miktarı, toplam flavonoit madde içeriği ve DPPH yöntemi le antioksidan aktiviteleri de tayin edilmiştir.

5.3 *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* BİTKİLERİNİN EKSTRELERİNİN SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Prangos ferulaceae ve *Ferula orientalis* bitkilerinin su, sulu etanol ve kloroform ekstralarının sitotoksik aktiviteleri için bitki ekstrallerinden 10-1000 ppm farklı konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraller XTT yöntemi kullanılarak WI-38 Fetal Akciğer Fibroblast hücre hattında IC₅₀ Analiz yöntemi (Değişken eğimli normalize cevaba karşı log (inhibitör) doğrusal olmayan regresyon analizi (Nonlinear regression analysis of log (inhibitor) versus normalized response with a variable slope)) ile sitotoksik aktiviteleri saptanmıştır.

5.4 NNN (NOVY, MACNEAL, NİCOLLE) BESİYERİNİN HAZIRLANMASI

1. Fluka® Milk Agar 4 gr, Fluka® Yeast Extract 1,12 gr, Tat Nişasta® Crystalline Fructose Type C 0,47 gr ve 150 ml distile su bir balona konulmuş, 121⁰C'de 20 dk. otoklavlanmıştır.

2. Tavşan kalbinden aseptik bir şekilde 15 ml kan alınıp defibrine edildikten sonra steril küçük bir balona alınmıştır.

3. Daha sonrasında agarın 50 ⁰C sıcaklığa gelmesi sağlanmış ve kan bu agarın üzerine eklenip karıştırılmıştır.

4. Daha önceden tinerilize edilmiş koyun sütü 20 ml olacak şekilde eklenmiştir.

5. Bunun içerisine Gibco® Pen Strep (penisilin/streptomisin) solüsyonundan 1 ml ve 0,5 ml Gibco® Gentamicin Reagent Solution eklenmiştir.

6. Karışım bekletilmeden steril tüplere 3-4 ml hacminde olacak şekilde aktarılmıştır.

7. Tüplere hafif eğim verilerek katılaşınca kadar oda ısısında bekletilmiş ve +4⁰C'de saklanmıştır.

Sıvı faz: NNN besiyeri kullanılacağı zaman buzdolabından çıkarılarak içerisine 1 mL Stok RPMI 1640 besiyeri eklenerek kullanılmıştır (Resim 15) (Özbilgin ve ark. 2018).



Resim 15. *L. tropica*'nın NNN besiyerine ekimi (Orijinal).

5.5 STOK RPMI 1640 MEDİUMUN HAZIRLANMASI

Ticari olarak temin edilen 500 ml'lik Gibco® RPMI Medium 1640 (1X) besiyeri içerisine %10 oranında (50 ml) Gibco® FBS (Fetal Bovine Serum) eklenerek, üzerine Gibco® Pen Strep (penisilin/streptomisin) %1 (5 ml) oranında ve %0,05 (1 ml) oranında Gibco® Gentamicin Reagent Solution (gentamisin; 10 ml'lik şişede toz halindeki 500 mg stok üzerine 10 ml distile su eklenerek 50 mg/mL olacak şekilde hazırlanan) eklenerek stok RPMI 1640 Medium hazırlanmıştır.

5.6 *Leishmania tropica* İZOLATININ CANLANDIRILMASI VE ÜRETİLMESİ

1. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankasında sıvı azot içerisinde (-196 °C) ülkemizden elde edilmiş *L. tropica* izolatu uygun koşullarda sıvı azot tankından çıkarılmıştır (Resim 16).

2. Sıvı azottan çıkarılan 1 mL'lik kriyotüpler içerisindeki parazit süspansiyonu 37 °C su banyosunda içerisinde 1-2 dk tutularak çözündürülmüştür.



Resim 16. *L. tropica* izolatının sıvı azot tankından çıkarılması (Orijinal).

3. Kriyotüp içerisindeki 1mL'lik parazit süspansiyonu daha önce içerisinde 9 mL Stok RPMI 1640 Medium konulmuş 15 mL'lik kapaklı santifürüj tüpüne aktarılmıştır.

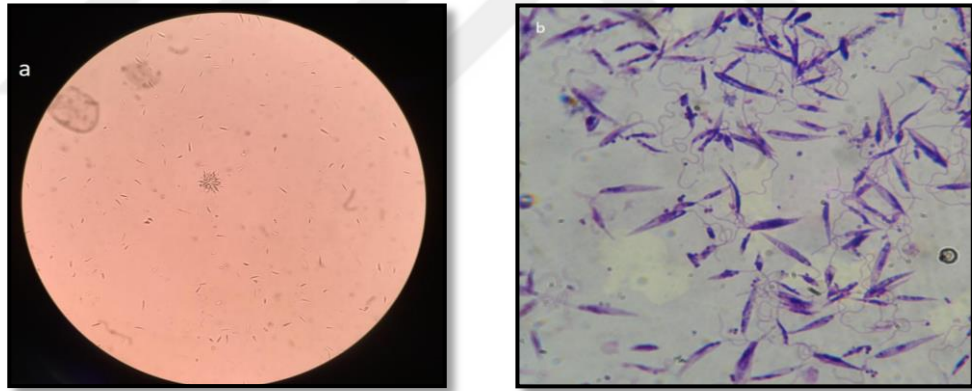
4. 1500 rpm'de 5 dk santifürüj edilerek üst kısımdaki süpernatant atılmıştır.

5. 15 mL'lik kapaklı santifürüj tüpünün içerisinde kalan yaklaşık 1 mL'lik kısım dan 1 damla lam üzerine alınarak üzerine 1 damla Eosine boyası damlatılmış ve lamel ile kapatılıp yaklaşık 1-2 dk beklendikten sonra ışık mikroskopunda canlılık kontrolü yapılmıştır.

6. Canlılık kontrolü yapıldıktan sonra içerisinde 5-7,5 mL Stok RPMI-1640 Medium konulmuş flaksa ekim yapılmış ve 26 °C'de etüv içerisinde inkübasyona alınmıştır.

7. Ekim işlemi yapıldıktan sonra ardışık günlerde besiyerleri kontrol edilerek hemositometre yöntemi ile parazitin üreme yoğunluğuna bakılmıştır (Resim 17).

8. Ürettiği görülen ve logaritmik faza giren *L. tropica* promastigotları (10^7 promastigot/mL) çalışmada kullanılmıştır (Ozbilgin ve ark. 2018).



Resim 17. a). *L. tropica* izolatının RPMI-1640 Medium içerisinde üremesi, b). RPMI-1640 Mediumdan alınan boyalı örnekte *Leishmania* promastigotları, (Orijinal).

5.7 *Leishmania tropica* PROMASTİGOTLARININ PZR YÖNTEMİ İLE GENOTİPLENDİRİLMESİ

DNA izolasyonu: *Leishmania* izolatının genotiplendirilmesinde DNA izolasyonu için QIAGEN DNA-MİNİ KİT kullanılarak yapılmıştır (QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. 2019). DNA izolasyon işlemi için;

Ön hazırlık:

Isı bloğu 56 °C'ye ayarlanmıştır.

Örnek sayısı kadar 2 ml'lik mini santifürüj tüpü ve spin kolon çıkarılıp etiketlenmiştir.

Kit kutusundan çıkan Buffer-1 (AW-1)'in üzerine 25 ml ethanol, Buffer-2 (AW-2)'nin üzerinede 30 ml ethanol eklenerek karışımları sağlandı ve izalasyon işlemi için hazı hale getirilmiştir.

İzalasyon İşlemi:

1. *Leishmania* kültüründen yaklaşık 200 µL kadar 2 ml'lik mini santifürüj tüpüne aktarılmıştır.
2. Örneğimizin üzerine 200 µL Buffer AL (Lysis Buffer) ve 20 µL Proteinaz K eklenmiştir.
3. Tüplerin kapakları kapatılarak 3-5 sn santifürüj/vortex edilmiştir.
4. Santifürüjlenen örnek ısı bloğunda (56 °C) 15 dk inkübasyona (inaktivasyona) bırakılmıştır.
5. Inkübasyon işleminden sonra örneğin üzerine 200 µL Ethanol ilave edilip 3-5 sn santifürüj/vortex edilmiştir.
6. Tüpün içindeki tüm karışım spin kolona aktarılmıştır.
7. Spin kolon 8000 RPM'de 1 dk santifürüj edilmiştir.
8. Santifürüjden sonra spin kolonun alt kısmındaki toplama tüpü atılıp boş bir toplama tüpüne alınmıştır.
9. Üzerine 500 µL AW-1 eklenip (spin kolonun filtreli tüpüne) 8000 RPM'de 1 dk santifürüj edilmiştir.
10. Santifürüj sonra spin kolonun alt kısmındaki toplama tüpü atılıp boş bir toplama tüpüne alınmıştır.
11. Üzerine 500 µL AW-2 eklenip (spin kolonun filtreli tüpüne) 13 000 RPM'de 3 dk santifürüj edilmiştir.
12. Santifürüj sonra spin kolonun alt kısmındaki toplama tüpü atılıp boş bir toplama tüpüne alınmış ve 13 000 RPM'de 1 dk boş olarak (üzerine hiç bir şey eklemeden) santifürüj edilmiştir.
13. Santifürüj sonra spin kolonun alt kısmındaki toplama tüpü atılmış ve yeni kapaklı 2 ml'lik mini santifürüj tüpüne alınmıştır.
14. Üzerine 200 µL Buffer AE (Elution Buffer) eklenip 1-2 dk beklenmiştir.
15. Bekleme işleminden sonra 8000 RPM'de 1 dk santifürüj edilmiştir.

16. Santifürüj işleminden sonra üstteki filtrelili tüp atılmış ve mini kapaklı santifürüj tüpünde biriken sıvı (izole edilmiş DNA örneğimiz) PZR aşamasına kadar -20 °C'ye kaldırılmıştır.

Genotiplendirme: Çalışmada, Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) problu gerçek zamanlı PZR testi uygulanmıştır. Leishmania'ya özgü Small Subunit (SSU) ve 5.8S rRNA'yı kodlayan genler arasındaki ribozomal ITS1 bölgesini hedefleyen gerçek zamanlı PZR yöntemi uygulanmıştır.

Kullanılan Primer ve Prob dizilimi;

Forward primer; 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3',

Probe 1: 5'- CCGTTTATACAAAAATATACGGCGTTTCGGTTT-Fluo-3'

Reverse Primer; 5'-GAAGCCAAGTCATCCATCGC-3'

Probe 2: 5'-LCRed-640-GCGGGGTGGGTGCGTGTGTG-Pho-3' şeklindedir.

Gerçek zamanlı PZR işlemi için PZR tüpüne;

1. 1,5 µL H₂O (PCR grade water),
2. 1 µL Forward Primer ve 1 µL Reverse Primer,
3. 0,5 µL Probe1 ve 0,5 µL Probe2,
4. 12,5 µL QuantiTect Prop PCR Kit Master karışımı (QIAGEN®)
5. 5 µL Genomik DNA (Daha önce izole edilen)

eklenerek toplam 25 µL karışım içeren tüp Rotor-Gene cihazında melting analizi yapılarak sonuçlar elde edilmiştir. (Ozbilgin ve ark. 2018; Toz ve ark. 2013)

5.8 İN VİTRO Prangos ferulaceae ve Ferula orientalis BİTKİLERİNİN EKSTRELERİNE KARŞI ANTİLEİSHMANİAL İLAÇ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Prangos ferulaceae ve *Ferula orientalis* bitki ekstralarının logaritmik faza giren ve çalışma için gerekli üreme yoğunluğuna ulaşan (10^7 promastigot/mL) *L. tropica* promastigotları üzerine antileishmanial etkisini incelemek için;

1. Düz tabanlı 96'lık hücre kültürü plağının tüm kuyucuklarına 100 mL stok RPMI 1640 Medium besiyeri çoklu pipet ile dağıtılmıştır.

2. Çalışmada her bir bitki ekstresi için ayrılan 3 kuyuğa ekstrakt konsantrasyonları 300, 200, 100, 50, 25 ve 12,5, 6,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olacak şekilde ilk kuyucuğa 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak hazırlana ekstrakt süspansiyonundan 100 μL eklenmiştir.

3. Ekstraktların antileishmanial etkinlikleri kontrol ilacı olarak Pentostam için de 3 kuyucuk ekstrakt dilisyonlarının aynısı olacak şekilde eklenmiştir.

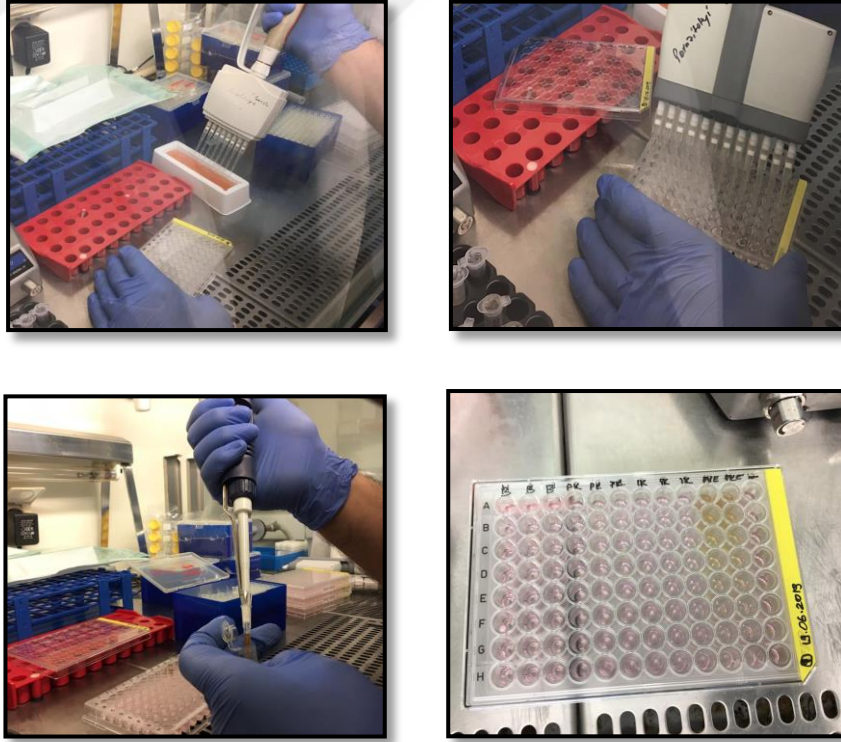
4. Çoklu pipet ile ilk kuyucuktan diğerlerine 100 μL aktarım yapılarak ve en son 100 μL atılarak ekstrakt ve kontrol ilacı konsantrasyonları hazırlanmıştır.

5. İlk kuyucuğa (kör)100 μl stok RPMI 1640 Medium besiyeri eklenmiştir.

6. Geriye kalan kuyucuklara stok RPMI 1640 Medium besiyeri içerisindeki parazit süspansiyonundan 100 μl eklenmiştir.

7. Daha sonra ağzı kapatılan plaklar 27 $^{\circ}\text{C}$ ' de etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

8. Etüvde 27 $^{\circ}\text{C}$ 'de 24, 48 ve 72 saatlerdeki XTT (sodium 3,39-[1-(phenylaminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro) kiti ve hemositometre yöntemi ile ekstraktların antileishmanial etkinliklerinin kontrol ilacı olan 1 mg/mL konsantrasyona sahip amfoterisin B ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Resim 15) (Ozbilgin ve ark. 2018).



Resim 18. *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitki ekstraktlarının antileishmanial etkisini incelenmesi (Orijinal).

5.9 *Leishmania tropica* İZOLATININ HEMOSİTOMETRE YÖNTEMİ İLE SAYIMI

1. Neubauer'in Thoma lamının her iki yanında bulunan çıkıntılar hafifçe ıslatılmış ve her iki yanında bulunan çıkıntıların üzerine gelecek şekilde lamel ile kapatılarak iki elin başparmakları ile hafifçe bastırılarak konsantrik Newton halkaları oluşturulmuştur.

2. Daha sonra 26 °C'de etüv içerisinde inkübasyona alınmış plak/flask çıkarılıp her bir örnekten ayrı ayrı bir damla alınarak lam-lamel arasına sayım kamaralarının olduğu kenardan damlatılmıştır.

3. Sayım alanına yayılan örneğin hareketsizleşmesi için 1-2 dakika beklenilmiştir.

4. Işık mikroskopunda sayım yapılacak olan lam üzerindeki karelere düşen *Leishmania* promastigotlarını saymak için 40X büyütme kullanılmıştır.

5. Toplam promastigot sayısını hesaplamak için Thoma lamının üzerinde her bir köşesinde bulunan toplam dört kare ve orta alandaki kare içerisinde bulunan promastigotlar sayılıp 10.000 ile çarpılıp sayılan kareye bölünerek mL'deki promastigot sayısı bulunmuştur (Ozbilgin ve ark. 2018).

5.10 XTT (SODİUM 3,3',5,5'-TETRAZOLİUM]-BİS(4-METHOXY-6-NİTRO) BENZENE SÜLFONİK ASİT HİDRAT) DİRENÇ TESTİ

Çalışmada direnç testi Cell Signaling TECHNOLOGY® XTT Cell Viability Kit kullanılarak yapılmıştır. XTT direnç testi için;

1. Kit kutusundan çıkan 0.5 mL'lik Electron couplin solüsyonundan 0,1 mL ve 25 ml'lik XTT Reagent solüsyonundan 5 mL ayrı bir tüp içerisinde karıştırılarak XTT çalışma için hazırlanmıştır.

2. XTT solüsyonu hazırlandıktan sonra düz tabanlı 96'lık düz tabanlı hücre kültür plağı alınıp daha önceden inkübasyona koyduğumuz plak etüvden çıkarılarak her bir kuyucuktan 100 µ alınıp yeni plağa çalışmada ki sıraya göre aktarılmıştır.

3. Çalışma için hazırladığımız XTT solüsyonundan her kuyucuğa 50 µL aktararak plağın üstü kapatılarak 4 saat boyunca 25 °C' de etüvde inkübasyona kaldırılmıştır.

4. İnkübasyon süresinin sonunda plak spektrofotometre cihazında 450 nm dalga boyunda okuma işlemi yapılmış ve okuma sonucunda çıkan absorbans değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanarak ekstraktların antileishmanial aktiviteleri değerlendirilmiştir (Ozbilgin ve ark. 2018).

$$\text{Canlılık yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çalışma örneği absorbansı} - \text{Blank absorbansı}}{\text{Kontrol örneği absorbansı} - \text{Blank absorbansı}} \times 100$$

5.11 İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışma sonucunda elde edilen ortalama standart sapma ve diğer değerler tanımlayıcı istatistiksel analiz ile belirlenmiştir. Ortalama değerlerin *Students't* analizi ile gerçekleştirilerek ve FDR düzeltmesi uygulanarak analizler yapılmıştır. Anlamlılık derecesi olarak $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

5.12 ANTIOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZİ

Ekstrelerin antioksidan aktivite ölçümü 1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikali yakalama aktivitesi yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde, temel olarak hidrojen atomu vermeye eğilimli molekül (antioksidan) tarafından DPPH serbest radikale proton transferi sonucu, absorbans değerinde azalma gözlenmektedir. Bu süreç, DPPH radikalinin indirgenerek mor renginin azalmasına bağlı olarak UV-Vis spektrofotometre ile takip edilmiştir. Tüm Ekstreler öncelikle 1 mg/mL metanolde olacak şekilde çalışılmış ancak çok yüksek aktivite göstermeleri nedeniyle en uygun konsantrasyon olarak 0,4 mg/ mL belirlenmiştir. 1mL örnek üzerine (0,4 mg/mL) %0,004 konsantrasyonda metanollü DPPH çözeltisinden 4 ml ilave edilip 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. 517 nm dalga boyundaki absorbansı ölçülerek %DPPH inhibisyonları hesaplanmıştır (%DPPH inhibisyonu = $(A_k - A_e / A_k) \times 100$). Ölçümlerde Optima SP-3000 Nano Spektrofotometresi kullanılmıştır. Tüm çalışmalar 3 kez tekrarlanmış ve sonuçlar ortalama değerler olarak verilmiştir.

A_k : madde içermeyen 1 mL metanol ve 4 ml DPPH stok çözeltisinden oluşan kör çözeltisinin 30 dk sonunda 517 nm dalga boyundaki absorbansı.

A_e:1 mL ekstre ve 4 ml DPPH stok çözültüsü karışımının 30 dk sonunda 517 nm dalga boyundaki absorpsansı.



6. BULGULAR

Yapılan çalışmada *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitki ekstralarının kök, gövde/yaprak ve meyve kısımlarının her birinin etanol, kloroform ve su ekstralarının ayrı ayrı antileishmanial aktiviteleri, sitotoksik aktiviteleri ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir.

6.1 *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* BİTKİ EKSTRELERİNİN ANTİLEİSHMANIAL AKTİVİTESİ

Yapılan çalışma sonucunda *P. ferulaceae* bitkisinin kök etanol ekstresi (PfKE), gövde/yaprak etanol ekstresi (PfHE), meyve etanol ekstresi (PfME), kök kloroform ekstresi (PfKC), gövde/yaprak kloroform ekstresi (PfHC), meyve kloroform ekstresi (PfMC), kök su ekstresi (PfKS), gövde/yaprak su ekstresi (PfHS) ve meyve su ekstresi (PfMS) ile *F. orientalis* bitkisinin kök etanol ekstresi (FoKE), gövde/yaprak etanol ekstresi (FoHE), meyve etanol ekstresi (FoME), kök kloroform ekstresi (FoKC), gövde/yaprak kloroform ekstresi (FoHC), meyve kloroform ekstresi (FoMC), kök su ekstresi (FoKS), gövde/yaprak su ekstresi (FoHS) ve meyve su ekstresi (FoMS) olmak üzere *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinden 18 farklı ekstrenin antileishmanial etkinliği *in vitro* olarak 48. saatteki etkinliği her ekstre için hem XTT, hem de hemositometre yöntemi ile değerlendirilmiştir. Çalışmada antileishmanial aktivitenin olup olmadığı ve antileishmanial aktivite gösteren ekstraların minimum inhibasyon dozu belirlenmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızda kontrol ilacı olarak 1 mg/mL konsantrasyona sahip amfoterisin B ile karşılaştırılan bitki ekstraları parazitletlerin %100'ünü inhibe eden 1 mg/mL konsantrasyonun altında olan PfKC, PfMC, FoKE, FoHC, FoME ve FoMC antileishmanial aktivite açısından etkili, parazitletlerin %100'ünü inhibe eden 1 mg/mL konsantrasyonun üzerinde minimum inhibasyon dozu veren diğer ekstralarımız antileishmanial aktivite açısından zayıf olarak değerlendirilmiştir.

P. ferulaceae bitkisinin total ekstralarını kullandığımız çalışmamızda PfKC ve PfMC ekstralarının sırasıyla 0,78 mg/mL ve 0,40 mg/mL konsantrasyonlarında 48. saate *L. tropica* promastigotlarının %100'ünü inhibe ettiği saptanmıştır. PfKE, PfKS, PfHE, PfHC, PfHS, PfME ve PfMS ekstraları 1 mg/mL'nin üzerindeki konsantrasyonlarda *L. tropica* promastigotlarının %100'ünü inhibe ettiğini için antileishmanial aktivite açısından etkisiz olarak kabul edilmiştir.

Araştırmamızda kullandığımız diğer bitki türü olan *F. orientalis* bitkisinin total ekstrelerinden FoKE, FoHC, FoME ve FoMC ekstreleri sırasıyla 0,05 mg/mL, 0,48 mg/mL, 0,96 mg/mL ve 0,062 mg/mL konsantrasyonlarında 48. saate *L. tropica* promastigotlarının %100'ünü inhibe ederken FoKC, FoKS, FoHE, FoHS ve FoMS ekstreleri 1 mg/mL'nin üzerindeki konsantrasyonlarda *L. tropica* promastigotlarının %100'ünü inhibe ettiğini için antileishmanial aktivite açısından etkisiz olarak kabul edilmiştir.

6.2 *Prangos ferulaceae* VE *Ferula orientalis* BİTKİ EKSTRELERİNİN SİTOTOKSİK AKTİVİTESİ

P. ferulaceae ve *F. orientalis* bitkilerinin su, sulu etanol ve kloroform ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri için bitki ekstrelerinden 10-1000 ppm farklı konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstreler XTT yöntemi kullanılarak WI-38 Fetal Akciğer Fibroblast hücre hattında sitotoksik aktiviteleri saptanmıştır. Sitotoksik aktivite sonucunda 24. ve 48. saatlerde hiçbir bitki ekstresi sitotoksik aktivite göstermezken, 72. saatte FoKE 65,19 µg/mL oranında sitotoksik aktivite göstermiştir.

Tablo 2. Bitki ekstrelerinin antileishmanial aktivitesi ve sitotoksik aktivitesi.

Bitki ekstreleri	Antileishmanial aktivite sonuçları (Minumum inhibasyon dozu- mg/mL)	WI-38 Fetal Akciğer Fibroblast hücre hattı üzerine 24, 48 ve 72. saatlerdeki Sitotoksik aktivite sonuçları
PfKE	1,87	YOK
PfKC	0,78	YOK
PfKS	15,68	YOK
PfHE	3,75	YOK
PfHC	3,125	YOK
PfHS	6,25	YOK
PfME	1,95	YOK
PfMC	0,40	YOK
PfMS	62,5	YOK
FoKE	0,05	72. Saatte 65,19 µg/mL
FoKC	1,56	YOK
FoKS	31,25	YOK
FoHE	1,95	YOK
FoHC	0,48	YOK
FoHS	15,62	YOK
FoME	0,96	YOK
FoMC	0,062	YOK
FoMS	12,5	YOK

6.3 *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* BİTKİ EKSTRELERİNİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ

Tüm Ekstreler öncelikle 1 mg/mL metanolde olacak şekilde çalışılmış ancak, çok yüksek aktivite göstermeleri nedeniyle en uygun konsantrasyon olarak 0,4 mg/mL belirlenmiştir.

P. ferulaceae ekstrelerinde en yüksek antioksidan aktivite PfHE ekstresinde %67,93 DPPH inhibisyonu ile gözlenmiştir. PfHS ekstresi %56,45, PfME ekstresi %31,64, PfMS ekstresi %30,12 ve PfKS %22,87 DPPH inhibisyonu göstermiştir.

0,4 mg/mL konsantrasyonda *F. orientalis* bitki ekstrelerinde en yüksek antioksidan aktivite FoKC gözlenmiştir. FoKC 0,2 mg/mL olarak çok daha düşük konsantrasyon tekrar çalışılmış ve %4,78 DPPH inhibisyonu saptanmıştır. Diğer ekstreler 0,4 mg/mL konsantrasyonda FoME ekstresi %57,51, FoHS ekstresi %55,05, FoHE ekstresi %49,83, FoKE ekstresi %20,12, FoMS ekstresi %10,11 ve FoMC ekstresi %9,79 DPPH inhibisyonuna göstermiştir.

7. TARTIŞMA

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemini koruyan bir halk sağlığı sorunu olan leishmaniasisin tedavisinde birçok zorluk yaşanmaktadır. Leishmaniasis için son yıllarda çeşitli ilaç tedavi seçenekleri ortaya çıkmış olmakla birlikte, ilaca karşı oluşan direnç ve buna bağlı olarak kullanılan yüksek dozların sebep olduğu yan etkiler, maliyet, uzun tedavi süresi ve uygulamadaki sıkıntılar ciddi dezavantajlar doğurmaktadır. Tedavi seçeneklerine bakıldığında hastalığın formuna ve bölgesel farklılıklara göre değişiklik göstermektedir. Bunula birlikte bu ilaçlar genellikle toksiktir ve dünya genelinde bu ilaçlara karşı bir direnç gelişmiştir (Mérillon 2018).

Uzun yıllardır leishmaniasis tedavisinde kullanılmakta olan pentavalent antimon bileşiklerine karşı oluşan direnç nedeniyle doz ve uygulama sürelerinde artış gelişmiş ve buna bağlı olarak hastalarda böbrek, kalp ve karaciğerde yüksek toksisiteye neden olmuştur. Pentavalent antimon bileşiklerine karşı oluşan direnç nedeniyle endemik bölgelerde bu bileşiklerin yerine pentamidin, amfoterisin B ve Miltefosin gibi ilaçlar tercih edilmektedir. İkinci basamak olarak tercih edilen bu ilaçlar ölüme kadar götürebilecek ciddi yan etkiler göstermektedir (Abamor ve ark. 2014).

Leishmaniasise karşı etkili bir aşının henüz olmayışı ve mevcut ilaçların kullanımında ortaya çıkan direnç, ilaçlardan kaynaklı yan etkiler, uygulamadaki zorluklar ve maliyet gelişmemiş ve gelişmekte olan endemik bölgelerde ciddi bir endişe yaratmaktadır (Bansal ve ark. 2019). Bu ve benzeri nedenler yeni antileishmanial ajanların araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Bu amaçla birçok araştırmacı tıpta alternatif ilaç kaynağı olarak bitkiler üzerine yoğunlaşmıştır. Dünyada yaklaşık 250 bin bitki türü bulunduğu tahmin edilmektedir. Bu bitki türlerinin sadece %6'sının biyolojik aktiviteleri taranmış ve %0,75'lik bölümü tıbbi çalışmalarda kullanılmıştır. Bitkisel ajanlar mevcut bileşiklere oranla hem daha az maliyetli hem de daha düşük toksik etki göstermektedir (Oryan 2015).

Yapılan bitkisel ürün çalışmalarının büyük çoğunluğu bizim araştırmamızda olduğu gibi *in vitro* çalışmalardır ve klinik alanlarda uygulanabilmeleri için prelinik çalışmaların ön aşamasıdır. Bitkisel ürünlerin ilaç üretimlerinin %25'inde yer aldığı tahmin edilmektedir. Farklı bitki türlerinin ham ekstrelerinin ve uçucu yağlarının CL ve VL'e neden olan *Leishmania* cinsi bazı parazitler üzerine *in vitro* yada *in vivo*

olarak antileishmanial etki gösterdiklerini bildiren bir çok çalışma vardır (Oryan 2015).

Bir bileşiğin antileishmanial aktivitesini değerlendirmek için MIC (Minimum Inhibitor Concentration), IC₅₀ (Half Maximal Inhibitor Concentration) ve selektif endeksi olmak üzere çeşitli kriterler göz önüne alınmaktadır (Mahmoudvand ve ark. 2014). MIC bir bileşiğin veya ilacın minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak değerlendirilir. Aynı zamanda IC₅₀ konağın canlı makrofaj hücreleri içinde kullanılır. CC₅₀, genellikle BALB/c makrofaj hücre ölümünün %50'sine neden olan ilacın sitotoksikite konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır (Monzote ve ark. 2014). Bizim yaptığımız çalışmada *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitki ekstralarının 48. saatteki antileishmanial aktiviteleri ve WI-38 Fetal Akciğer Fibroblast hücre hattı üzerine 24, 48 ve 72. saatlerdeki etkinliğini değerlendirmek için MIC değerleri baz alınmıştır. *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitki ekstralarının antileishmanial etkilerini değerlendirirken kullandığımız XTT ve hemositometre yöntemi sonuçları arasında bazı farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu farklılığın XTT kiti içerisindeki bileşikler ile bitki ekstraları arasında meydana gelen amaç dışı reaksiyonlardan kaynaklandığı düşünülmüş, bu nedenle parazitolojide altın standart olarak kabul edilen mikroskopi (hemositometre) sonuçları doğru kabul edilmiştir.

Dünyanın bir çok yerinde geleneksel halk tıbbında *P. ferulaceae* bitkisinin kök, gövde, çiçek ve meyve kısımları sindirim bozukluklarının tedavisinde, yaraların iyileştirilmesinde ve kanamayı durdurmak için kullanılmaktadır (Agricultural ve ark. 2013). Ayrıca bu bitkinin uçucu yağlarının antifungal, antibakteriyel ve antioksidan özellikler taşıdığı bildirilmiştir (M. ve ark. 2016; CESUR ve ark. 2017). Yaptığımız literatür taramasında üyesi olduğu *Apiceae* familyasının bir çok türünde antileishmanial aktivite gösteren bitki türü olmasına rağmen *P. ferulaceae* bitkisinin total ekstraları üzerine herhangi bir antileishmanial aktivite çalışmasına rastlanılmamıştır (Soosaraei ve ark. 2017). Bu nedenle araştırmamızın literatürde *P. ferulaceae* bitkisinin antileishmanial etkisinin araştırıldığı ilk çalışma olduğu düşünülmektedir.

Kermani ve ark. 2016 yılında yayınladıkları makalede *P. ferulaceae* bitkisinden elde ettikleri osthole maddesinin çarpıcı derecede antileishmanial aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Kermani ve ark. 2016). Rodrigues ve ark. 2015 yılında yayınladıkları makalelerinde farklı bir bitki türünden izole ettikleri α -pinen maddesinin *L. amazonensis* promastigotları üzerine güçlü antileishmanial aktivite

gösterdiğini bildirmişlerdir (Rodrigues ve ark. 2015). Bruno ve ark. 2019 yılında yayınladıkları çalışmalarında ise *P. feruluceae* bitkisinin uçucu yağlarını inceledikleri çalışmada osthole ve alfa-pinen maddelerinin bitkinin ana komponentlerinden olduğunu bildirmişlerdir (Bruno ve ark. 2019). Her üç çalışma ile bizim yaptığımız çalışma karşılaştırıldığında *P. feruluceae* bitkisinin antileishmanial aktivite göstermesini doğrulamaktadır.

Ülkemizde 24 türü olan ve bu türlerden 13'ü endemik olarak yetişen *Apiceae* familyasının *Ferula* cinsine ait bir tür olan *F. orientalis* bitkisi ülkemizde geleneksel halk tıbbında karminatif, sedativ, antispazmodik, laksatif, dijestif, ekspektoran, diüretik, afrodisyak, antiseptik, antihelmintik, analjezik ve stimulant olarak kullanılmaktadır (Karakaya ve ark. 2019). Yapılan çalışmalarda *F. orientalis* bitkisinin özellikle toprak üstü kısımlarının ana komponentini α -pinen (%75,9)'nin oluşturduğu bildirilmiştir (Karakaya ve ark. 2019). Iransahahi ve ark. 2017 yılında yayınladıkları makalelerinde *F. orientalis* bitkisinin içeriğindeki komponentlerin antibakteriyel, antileishmanial ve antioksidan özelliklerinin olduğunu ve bu bitkiden elde edilecek komponentlerin gelecekte biyolojik aktiviteler için umut verici olduğunu bildirmişlerdir (Iranshahi ve ark. 2018). Bu da bizim araştırmamız için bitki seçimimizi desteklemektedir. Bitkinin ana komponentini oluşturan α -pinen maddesinin antileishmanial aktivite gösterdiği çalışmalar bildirilmiştir (Rodrigues ve ark. 2015; Engin e Erman 2016). Bizim yaptığımız araştırmada *F. orientalis* bitkisinin dört farklı total ekstresinin antileishmanial aktivite göstermesinin ana komponenti olan α -pinen ile ilişkisi olabileceği düşünülmüştür.

F. orientalis bitkisinin total ekstrelerinin antileishmanial aktivitesini inceleyen bir literatüre rastlanılmaması, araştırmamızın bize bu bitkinin total ekstresinin kullanılarak antileishmanial aktivitesini inceleyen ilk çalışma olduğunu düşündürmüştür. Iranshahi ve ark. 2007 yılında aynı genusta yer alan *F. szowitsiana* bitkisinin *L. major* üzerine güçlü antileishmanial aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Iranshahi ve ark. 2007). Bafghi ve ark. 2014 yılında yayınladıkları makalelerinde yine *Ferula* cinsine ait başka bir tür olan *F. assa-foetida* bitkisinin yine *L. major* üzerine antileishmanial aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Bagheri ve ark. 2014).

Coğrafik konumu ve iklim çeşitliliği nedeniyle çok zengin bir bitki çeşitliğine sahip olan ülkemizde bitki ekstreleri ile yapılan antileishmanial aktivite çalışmaları sınırlı sayıdadır. Yapılan literatür taramalarında Özbilgin ve ark. 2014 yılında *Centaurea calolepis* Boiss, *Phlomis lycia*, *Eryngium thorifolium*, *Origanum*

sipyleum, *Galium incanum ssp. centrale* bitkilerinin ekstreleriyle *L. tropica* üzerine yaptıkları *in vitro* ve *in vivo* antileishmanial aktivite çalışmasında özellikle *E. thorifolium* bitkisinin hem sitotoksik aktivite, hemde antileishmanial aktivite açısından umut verici olduğunu bildirmişlerdir (Ozbilgin ve ark. 2014). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışma ise Can ve ark. 2018 yılında yayınladıkları makalelerinde *Sarcopoterium spinosum* bitkisinin *L. tropica* üzerine *in vitro* antileishmanial aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında *S. spinosum* bitkisinin ciddi antileishmanial aktivite gösterdiğini ve *L. tropica* tedavisinde geliştirilmeye değer yeni bir terapötik ajan olduğunu bildirmişlerdir (Can ve ark. 2018). Her iki çalışma ve bizim araştırmamızın sonuçları ülkemizdeki yeni terapötik ajanların ortaya çıkarılması için ne kadar gerekli olduğunu göstermektedir.

L. tropica üzerine *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitki total ekstrelerinin antileishmanial etkinliğinin *in vitro* olarak değerlendirdiğimiz çalışmamızda PfKC, PfMC, FoKE, FoHC, FoME ve FoMC ekstrelerini sırasıyla 0,78 mg/mL, 0,40 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,48 mg/mL, 0,96 mg/mL ve 0,062 mg/mL konsantrasyonlarında 48. saate *L. tropica* promastigotlarının %100'ünü inhibe ettiği saptanmıştır. Literatürde *L. tropica* üzerine yapılan diğer çalışmalarda ise Mahmoudvand H ve ark. *Allium sativum* bitkisi soğanının metanol ekstresinin *L. tropica* promastigotları üzerine antileishmanial aktivitesini 72. saatteki IC₅₀ değerini 12,3 µg/mL olarak bildirmişlerdir (Mahmoudvand ve ark. 2016). Yine Mahmoudvand ve ark. 2015 yılında yayınladıkları bir başka çalışmada *Nigella sativa* bitkisinin toparak üstü kısımlarının *in vitro* olarak uçucu yağlarını *L. tropica* promastigotları üzerine antileishmanial aktivitesinin IC₅₀ değerini 9,3 µg/mL, metanol ekstresinin IC₅₀ değerini 14,8 µg/mL olarak bildirmişlerdir (Mahmoudvand ve ark. 2015). Behrouz Ezatpour ve ark. 2015 yılında yayınladıkları makalede *Pistacia khinjuk* bitkisinin meyvesinin alkol ekstresinin hem *L. tropica* üzerine antileishmanial aktivitesini IC₅₀ değerini promastigotlar üzerine 58,6 µg/mL olarak bildirmişlerdir (Dalimi ve ark. 2015). Mahmoudv ve ark. 2014 yılında yayınladıkları başka bir çalışmalarında *Berberis vulgaris* bitkisinin toprak üstü kısımlarının su ekstresinin *L. tropica* promastigotları üzerine antileishmanial aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini 26,6 µg/mL olarak bildirmişlerdir (Mahmoudv ve ark. 2014). Abdulkarim Dakah and Mohammed Maarrouf 'un 2019 yılında yayınladıkları makalelerinde *Achillea santolina L.* bitkisinin uçucu yağlarının *L. tropica* üzerine antileishmanial aktivitesinin *in vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmada *A. santolina L.* bitkisinin

uçucu yağının antileishmanial aktivitesinin IC₅₀ değerini 56,17 µg/mL olarak bildirmişlerdir (Dakah e Maarrouf 2019). Literatürdeki *L. tropica* üzerine yapılan sınırlı sayıdaki antileishmanial aktivite çalışmalarının sonuçları ile bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçları karşılaştırdığımızda PfKC, PfMC, FoHC ve FoME ekstreleri ile benzer sonuçlar olduğunu, fakat FoKE ve FoMC ekstrelerimizin hepsinden daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Literatürde *L. tropica* üzerine bitki ekstrelerinin antileishmanial aktivite çalışmalarının sınırlı sayıda olduğu bulunmuştur. Yaptığımız literatür çalışmalarında en fazla sayıda bitki ekstreleri ile yapılan antileishmanial aktivite çalışmalarının ülkemiz ile sınır komşusu olan İran'da yapıldığı ve bu çalışmaların çok büyük bir bölümünün İran'da endemik olan *L. major* üzerine yapıldığı görülmüştür (Soosaraei ve ark. 2017). Yapılan antileishmanial aktivite çalışmalarının büyük bir bölümü bizim çalışmamızda olduğu gibi tek bir *Leishmania* türü üzerine yapılmıştır. Halbuki *Leishmania* türleri arasında görülen klinik form farklılıkları antileishmanial aktivite sonuçlarında farklılıklara sebep olabilir ve bu da sonuçların farklılıklar göstermesine neden olabileceği görülmüştür (Can ve ark. 2018). Araştırmamızda, ülkemizde endemik olarak görülen *L. tropica* suşunu tek başına kullanmamız *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin gerçek antileishmanial potansiyelini ortaya koymamız açısından bir eksiklik doğurmaktadır. Yine total bitki ekstrelerini kullandığımız araştırmamızda *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin içeriğindeki komponentlerin izole edilerek ve bitkilerin bünyelerinde barındırdığı komponentlerin total bitki ekstreleri yerine, ayrı ayrı antileishmanial potansiyelini değerlendirmiş olsaydık çok farklı sonuçların ortaya çıkabileceğini düşünmekteyiz.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin kök gövde/yaprak ve meyve kısımlarının her birinin ayrı ayrı etanol, kloroform ve su ekstreleri elde edilmiştir. Şırnak ili ve çevresinde yetişen *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinden çıkarılan 18 farklı ekstre yine ülkemizden elde edilmiş *L. tropica* izolatu üzerine ayrı ayrı antileishmanial aktiviteleri izlenmiştir. Yaptığımız araştırmada hemositometre sonucunda minimum inhibasyon değeri 1 mg/mL konsantrasyonun altında olan PfKE (0,78 mg/mL), PfMC (0,40 mg/mL), FoKE (0,05 mg/mL), FoHC (0,48 mg/mL), FoME (0,96 mg/mL) ve FoMC (0,062 mg/mL) ekstrelerinin bitkisel yeni antileishmanial ilaç adayı olabileceği gösterilmiştir. Kullandığımız bitki ekstrelerinden sadece FoKE'nin WI-38 Fetal Akciğer Fibroblast hücre hattı üzerine 24, 48 ve 72. saatlerdeki etkinliği değerlendirildiğinde 72. saatte 65,19 µg/mL düzeyinde sitotoksik aktivite göstermesi ve bu değerin kabul edilebilir düzeyde olması ilaç adayı olma ihtimalini arttırmıştır. Çalışmamızda total ekstreler kullanıldığından, ileride yapılacak olan araştırmalarda bu ekstrelerdeki etken maddenin belirlenip ileri düzey çalışmalara ihtiyaç duyulacağı düşünülmüştür. Ayrıca araştırmamızda tek bir *Leishmania* türünü kullandığımız için, *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinin gerçek antileishmanial potansiyelinin ortaya çıkarılması için diğer *Leishmania* türleri üzerinde de denenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

9. KAYNAKLAR

Abamor EŞ. Nanopartikül-Glukantim Ve Nanopartikül-Nigella Satıva Yağ Kombinasyonlarının Leishmania Tropica'ya Karşı Antileishmanial Etkilerinin İn Vitro Ve İn Vivo İncelenmesi Ve Kütanöz Leishmaniasis'in Tedavisinde Yeni Yaklaşımlarının Geliştirilmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Danışman: Prof. Dr. A. ALLAHVERDİYEV). İstanbul 2014.

Agricultural C, Bulletin S, Li Y, Lihong D. A Review On Phytochemistry And Pharmacological Effects Of Prangos Ferulacea (L.) Lindl. 2013;29:209–212.

Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D. A Historical Overview Of The Classification, Evolution, And Dispersion Of Leishmania Parasites And Sandflies. Plos Negl Trop Dis. 2016;10:1–40.

Alemayehu B, Alemayehu M. Leishmaniasis: A Review On Parasite, Vector And Reservoir Host. Heal Sci J. 2017;11:1–6.

Aronson N, Herwaldt BL, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, Carvalho E, Ephros M, Jeronimo S, Magill A. Diagnosis And Treatment Of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines By The Infectious Diseases Society Of America (IDSA) And The American Society Of Tropical Medicine And Hygiene (ASTMH). Am J Trop Med Hyg. 2017;96:24–45.

Bagheri S, Hejazian S, Bafghi A. Antileishmanial Activity Of Ferula Assa-Foetida Oleo Gum Resin Against Leishmania Major: An İn Vitro Study. J Ayurveda Integr Med. 2014;5:223.

Bansal R, Sen SS, Muthuswami R, Madhubala R. A Plant Like Cytochrome P450 Subfamily CYP710C1 Gene İn Leishmania Donovanii Encodes Sterol C-22 Desaturase And Its Over-Expression Leads To Resistance To Amphotericin B. Plos Negl Trop Dis. 2019;13:E0007260.

Bañuls AL, Hide M, Prugnolle F. Leishmania And The Leishmaniases: A Parasite Genetic Update And Advances İn Taxonomy, Epidemiology And Pathogenicity İn Humans. Adv Parasitol. 2007;64.

Biologics I For International Cooperation İn Animal. Leishmaniasis Leishmaniasis (Cutaneous And Visceral). Cent Food Secur Public Heal. 2017;1–18.

Bruno M, Ilardi V, Lupidi G, Quassinti L, Bramucci M, Fiorini D, Venditti A, Maggi F. Composition And Biological Activities Of The Essential Oil From A Sicilian Accession Of Prangos Ferulacea (L.) Lindl. Nat Prod Res. Taylor & Francis; 2019;0:1–11.

Bruschi F, Gradoni L. The Leishmaniases : Old Neglected Tropical Diseases.

2018.

Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet*. 2018;392:951–970.

Cabezas Y, Legentil L, Robert-Gangneux F, Daligault F, Belaz S, Nugier-Chauvin C, Tranchimand S, Tellier C, Gangneux JP, Ferrières V. Leishmania Cell Wall As A Potent Target For Antiparasitic Drugs. A Focus On The Glycoconjugates. *Org Biomol Chem. Royal Society Of Chemistry*; 2015;13:8393–8404.

Can H, Kayalar H, Bozkurt B, Can Ş, Döşkaya M, Töz S. In Vitro Anti-Leishmanial Activity Of *Sarcopoterium Spinosum* Against *Leishmania Tropica*. *Ankara Univ Vet Fak Derg*. 2018;65:373–377.

Chakrabarti N, Kar C, Saha P, Sarkar P. Histopathological Study Of Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis And Its Importance For Diagnosis In A Peripheral Tertiary Institution. *IP Indian J Clin Exp Dermatology*. 2019;5:9–15.

Cheuka PM, Mayoka G, Mutai P, Chibale K. The Role Of Natural Products In Drug Discovery And Development Against Neglected Tropical Diseases. *Molecules*. 2017;22.

Cüneyt Cesur, Belgin Coşge Şenkal, Cennet Yaman Tu, Uskutoğlu MK. Antioxidant Activity Of Fruit Extracts Of *Prangos Ferulacea* (L .) Türkiye ' Deki *Prangos Ferulacea* (L .) Lindl . ' Nin Meyve Özütlerinin Antioksidan Aktivitesi. 2017;7:6631.

Dakah A, Maarrouf M. Antileishmanial And Antibacterial Activity Of Essential Oils Of Medicinal Plant *Achillea Santolina* L. *Online J Biol Sci*. 2019;19:69–76.

Dalimi A, Delavari M, Ghaffarifar F, Sadraei J. In Vitro And In Vivo Antileishmanial Effects Of Aloe-Emodin On *Leishmania Major*. *J Tradit Complement Med*. 2015;5:96–99.

Engin N, Erman Z. Düzce Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi. Düzce Üniversitesi Bilim Ve Teknol Derg. 2016;4:293–304.

Gündüz C, Harman M, Töz S, Kurt Ö, Karakuş M, Özbilgin A, Polat E, Çavuş İ, Van Gool T, Özbel Y, Bart A. Leishmaniasis In Turkey: Visceral And Cutaneous Leishmaniasis Caused By *Leishmania Donovanii* In Turkey. *Acta Trop*. 2017;173:90–96.

Gürel MS, Yeşilova Y, Olgen MK, Ozbel Y. [Cutaneous Leishmaniasis In Turkey]. *Turkiye Parazitol Derg*. 2012;36:121–129.

Hammi KM, Essid R, Tabbene O, Elkahoui S, Majdoub H, Ksouri R. Antileishmanial Activity Of *Moringa Oleifera* Leaf Extracts And Potential Synergy With Amphotericin B. *South African J Bot. Elsevier B.V.*; 2019;1–7.

Harman M. Kutanöz Leishmaniasis. *Turk Dermatoloji Derg.* 2015;9:168–179.

Iranshahi M, Arfa P, Ramezani M, Jaafari MR, Sadeghian H, Bassarello C, Piacente S, Pizza C. Sesquiterpene Coumarins From *Ferula Szowitsiana* And In Vitro Antileishmanial Activity Of 7-Prenyloxycoumarins Against Promastigotes. *Phytochemistry.* 2007;68:554–561.

Iranshahi M, Rezaee R, Najafi MN, Haghbin A, Kasaian J. Cytotoxic Activity Of The Genus *Ferula* (Apiaceae) And Its Bioactive Constituents. 2018;8:296–312.

Karakaya S, Göger G, Bostanlik FD, Demirci B, Duman H, Kiliç CS. Comparison Of The Essential Oils Of *Ferula Orientalis* L., *Ferulago Sandrasica* Peşmen And Quézel, And *Hippomarathrum Microcarpum* Petrov And Their Antimicrobial Activity. *Turkish J Pharm Sci.* 2019;16:69–75.

Karakaya S, Yilmaz Oral D, Gur S, Kılıç CS. Effect Of Aerial Part And Root Extracts From *Ferula Orientalis* L. Growing In Turkey On Erectile Dysfunction In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biol Divers Conserv.* 2019;12:1–6.

Kenya; RO, Health M Of. Prevention , Diagnosis And Treatment Of Visceral Leishmaniasis (Kala-Azar) In Kenya.

Kermani, Elaheh Kordzadeh, Seyed Ebrahim Sajjadi, Seyed Hossein Hejazi, Reza Arjmand, Sedigheh Saberi AAE. Anti-Leishmania Activity Of Osthole. *Pharmacognosy Res.* 2016;8:1–4.

M. M, S. B, N. N, A.N. A. Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of Essential Oils Isolated From Aerial Parts Of *Prangos Asperula* Boiss. (Apiaceae) Growing Wild In Lebanon. *Med Plant Res.* 2016;5:5–9.

Mahmoudv H, Sharififar F, Sharifi I, Ezatpour B, Fasihi Harandi M, Makki MS, Zia-Ali N, Jahanbakhsh S. In Vitro Inhibitory Effect Of *Berberis Vulgaris* (Berberidaceae) And Its Main Component, Berberine Against Different *Leishmania* Species. *Iran J Parasitol.* 2014;9:28–36.

Mahmoudvand H, Ayatollahi Mousavi SA, Sepahvand A, Sharififar F, Ezatpour B, Gorohi F, Saedi Dezaki E, Jahanbakhsh S. Antifungal, Antileishmanial, And Cytotoxicity Activities Of Various Extracts Of *Berberis Vulgaris* (Berberidaceae) And Its Active Principle Berberine . *ISRN Pharmacol.* 2014;2014:1–6.

Mahmoudvand H, Sepahvand P, Jahanbakhsh S, Azadpour M. Evaluation Of The Antileishmanial And Cytotoxic Effects Of Various Extracts Of Garlic (*Allium Sativum*) On *Leishmania Tropica*. *J Parasit Dis.* Springer India; 2016;40:423–426.

Mahmoudvand H, Tavakoli R, Sharififar F, Minaie K, Ezatpour B, Jahanbakhsh S, Sharifi I. Leishmanicidal And Cytotoxic Activities Of *Nigella Sativa* And Its

Active Principle, Thymoquinone. *Pharm Biol.* 2015;53:1052–1057.

Mérillon J. *Natural Antimicrobial Agents* [Internet]. 2018.

Monzote L, García M, Scull R, Cuellar A, Setzer WN. Antileishmanial Activity Of The Essential Oil From *Bixa Orellana*. *Phyther Res.* 2014;28:753–758.

Oryan A. Plant-Derived Compounds In Treatment Of Leishmaniasis. *Iran J Vet Res.* 2015;16:1–19.

Ozbilgin A, Cavus İ, Yildirim A, Kaya T, Ertabaklar H. Evaluation Of In Vitro And In Vivo Drug Efficacy Over *Leishmania Tropica*: A Pilot Study. *Turkish J Parasitol.* 2018;42:11–19.

Ozbilgin A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ertabaklar H, Gunduz C, Ural IO, Zeyrek F, Kurt O, Cavus I, Balcioglu C, Toz SO, Ozbel Y. Antileishmanial Activity Of Selected Turkish Medicinal Plants. *Trop J Pharm Res.* 2014;13:2047–2055.

Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Gündüz C. Türkiye’de Kutanöz Leyşmanyaziste Kemiricilerin Rolü Var Mı? *Mikrobiyol Bul.* 2018;52:259–272.

Özbilgin A, Çulha G, Uzun S, Harman M, Topal SG, Okudan F, Zeyrek F, Gündüz C, Östan I, Karakuş M, Töz S, Kurt Ö, Akyar I, Erat A, Güngör D, Kayabaşı Ç, Çavuş I, Bastien P, Pralong F, Kocagöz T, Özbel Y. Leishmaniasis İn Turkey: First Clinical İsolation Of *Leishmania Major* From 18 Autochthonous Cases Of Cutaneous Leishmaniasis İn Four Geographical Regions. *Trop Med Int Heal.* 2016;21:783–791.

Razavi SM, Nahar L, Talischi H, Sarker SD. Ferulone A And Ferulone B: Two New Coumarin Esters From *Ferula Orientalis L.* *Roots.* *Nat Prod Res.* 2016;30:2183–2189.

Rodrigues KADF, Amorim LV, Dias CN, Moraes DFC, Carneiro SMP, Carvalho FADA. *Syzygium Cumini (L.) Skeels* Essential Oil And İts Major Constituent A-Pinene Exhibit Anti-*Leishmania* Activity Through İmmunomodulation İn Vitro. *J Ethnopharmacol. Elsevier;* 2015;160:32–40.

Satoskar A, Durvasula R, Developments N. Pathogenesis Of Leishmaniasis. *Pathog. Leishmaniasis.* 2014.

Savoia D. Recent Updates And Perspectives On Leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries.* 2015;9:588–596.

Soosaraei M, Fakhar M, Hosseini Teshnizi S, Ziaei Hezarjaribi H, Banimostafavi ES. Medicinal Plants With Promising Antileishmanial Activity İn Iran: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Ann Med Surg. Elsevier Ltd;* 2017;21:63–80.

Steverding D. The History Of Leishmaniasis. *Parasites And Vectors*. *Parasites & Vectors*; 2017;10:1–10.

Tavares GSV, Mendonça DVC, Lage DP, Antinarelli LMR, Soyer TG, Senna AJS, Matos GF, Dias DS, Ribeiro PAF, Batista JPT, Poletto JM, Brandão GC, Chávez-Fumagalli MA, Pereira GR, Coimbra ES, Coelho EAF. In Vitro And In Vivo Antileishmanial Activity Of A Fluoroquinoline Derivate Against *Leishmania Infantum* And *Leishmania Amazonensis* Species. *Acta Trop*. Elsevier; 2019;191:29–37.

Torres-Guerrero E, Quintanilla-Cedillo MR, Ruiz-Esmenjaud J, Arenas R. Leishmaniasis: A Review. *F1000Research*. 2017;6:750.

Toz SO, Culha G, Zeyrek FY, Ertabaklar H, Alkan MZ, Vardarli AT, Gunduz C, Ozbel Y. A Real-Time ITS1-PCR Based Method In The Diagnosis And Species Identification Of *Leishmania* Parasite From Human And Dog Clinical Samples In Turkey. *Plos Negl Trop Dis*. 2013;7:1–8.

World Health Organization. Global Leishmaniasis Surveillance Update, 1998-2016. *Wkly Epidemiol Rec Relev Épidémiologique Hebd*. 2018;201–220.

QIAGEN. 2019. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook <file:///E:/HB-0329-004-1102728-HB-QIAamp-DNA-Mini-Blood-Mini-0516-WW.pdf> [Erişim:20.06.2019]

10. EKLER

10.1 MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÖNETİM KURULU KARARI

Evrak Tarih ve Sayısı: 18/02/2019-E.15025



T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı : 28233352-302.14.01-
Konu : Sefer Özer BABAT'ın tez konusu hk.

SBE TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüzün 15.02.2019 tarih ve 5/21 sayılı Yönetim Kurulu Toplantısında, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı 171356002 numaralı öğrencisi Sefer Özer BABAT'ın tez konusunun, etik kurul onayı alınması kaydı ile "**Şırnak Bölgesinden Toplanan Prangos Ferulaceae ve Ferula Orientalis Ekstrelerinin Türkiye'den İzole Edilmiş Leishmania Tropica'ya Karşı Antileishmanial Etkilerinin Araştırılması**" olarak belirlenmesine **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Bilal-i Habeş GÜMÜŞ
Enstitü Müdürü V.

18/02/2019 Bilgisayar İşletmeni
18/02/2019 Şef
18/02/2019 Enstitü Sekreteri

Ayşe ERTİK
Birsen KARAN
Aynur PALAMUTÇUOĞLU

Adres: Tıp Fakültesi Dekanlığı Zemin Kat Uncubozköy Kampüsü Manisa
Telefon (0 236) 2360989 Faks(0 236) 2382158
E-Posta: saglik.sekreterlik@cbu.edu.tr Elektronik Ağ: saglikbe.cbu.edu.tr

Bilgi İçin: Ayşe Ertik
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

10.2 ETİK KURUL KARARI

T.C.
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu
Karar Formu

KARAR TARİH / NO	10 / 04 / 2019 / 20.478.486				
ARAŞTIRMANIN ADI	Şırnak Bölgesinden Toplanan Prangos ferulaceae ve Ferula orientalis ekstrelerinin Türkiye'den izole edilmiş Leishmania tropica'ya karşı antileishmanial etkilerinin araştırılması				
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Prof. Dr. Nogay GİRİNKARDEŞLER				
ARAŞTIRMA EKİBİ	Prof. Dr. Ahmet Özbilgin,- Prof. Dr. Hüsnüye Kayalar,- Prof. Dr. Cumhuriyet Gündüz,- Öğr. Gör. Sefer Özer Babat,- Bio. İbrahim Çavuş,- Bio. Sahra Şirin Ceylan				
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>	YÜKSEK LİSANS-DOKTORA TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	14 / 03 / 2019 / Tarih ve 13669 Sayılı; araştırma dosyası				
KARAR BİLGİLERİ	Araştırma dosyası incelenmiş, bilimsel ve etik açıdan UYGUN olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	Unvanı /Adı /Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye
Prof. Dr. Zeki ARI Tıbbi Biyokimya AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Doç. Dr. Serdar TOK Spor Bilimleri Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Murat DEMET Psikiyatri AD	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Dr. Öğr. Üyesi Selim ALTAN Tıp Tarihi ve Etik AD	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Prof. Dr. Betül ERSOY Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dr. Öğr. Üyesi Nurgül Güngör TAVŞANLI Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT Halk Sağlığı AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mukadder YILMAZER Avukat	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Doç. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Sivil Üye Hüseyin TUNÇAY	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<p>Etik Kurulumuzun kararı yukarıda belirtilmiştir. <u>Araştırmanız Her Hangi Bir Aşamada Etik Kurulumuzun "İzleme - Denetleme" Görevi Gereği Lüzumu Halinde Haberli / Habersiz Olarak Denetlenebilir.</u> Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname - Bölüm E kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.</p> <p style="text-align: right;">Prof. Dr. Zeki ARI Başkan</p>					

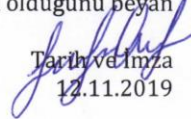
10.3 TEZ ORJİNALLİK RAPORU

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu
Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığı'na

Tez Adı: ŞIRNAK BÖLGESİNDEN TOPLANAN *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* EKSTRELERİNİN TÜRKİYE'DEN İZOLE EDİLMİŞ *Leishmania tropica*'YA KARŞI ANTİLEISHMANIAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tezime ilişkin 12/11/2019 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %12'dir.

Belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.


Tarih ve İmza
12.11.2019

Adı Soyadı : Sefer Özer BABAT
Öğrenci No : 171356002
Anabilim Dalı : Tıbbi Parazitoloji
Programı : Tıbbi Parazitoloji

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR
Prof. Dr. NOGAY GİRGİNKARDEŞLER

Açıklamalar

- 1-Tez Çalışması Orijinallik Raporu (TÇÖR), TURNITIN İntihal Tespit Programı kullanımı için kişisel hesap alma hakkı bulunan tez danışmanları, Enstitülerde görevlendirilen personeller, Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı'nda görevlendirilen kütüphaneciler tarafından alınır.
- 2-Sayfa sayısı 400'den az olan tezler için tez savunmasından önce ve başarılı olması durumunda düzeltmelerden sonra olmak üzere 2 kez TÇÖR alınır.(400 sayfadan fazla olan tezler 400 ve katları şeklinde bölünerek Turnitin veri tabanına yüklenmesi gerekmektedir. Bu gibi durumlarda benzerlik oranının hesaplanmasına ilişkin detaylı forma, kütüphane web sayfasında bulunan Turnitin kullanım kılavuzlarının altından erişilebilir.)
- 3-TÇÖR, tezin yalnızca Kapak Sayfası, Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan kısmının tek bir dosya olarak intihal tespit programına yüklenmesi ile alınır.
- Programa yükleme yapılırken Dosya Başlığı (document title) olarak tez başlığının tamamı, Yazar Adı (author's first name) olarak öğrencinin adı, Yazar Soyadı (author's last name) olarak öğrencinin soyadı bilgisi yazılır.
- 4- TURNITIN İntihal tespit programına yüklenen dosyanın süreçlenmesinde, ilgili programdaki filtreleme seçenekleri aşağıdaki şekilde ayarlanır: - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 5 words)
- 5-**İsteğe bağlı ayarlar kısmından; "Ödevleri şuraya gönder?" seçeneği mutlaka DEPO YOK şeklinde işaretlenmesi gerekmektedir;** aksi durumda aynı tezin ikinci kez yüklenmesi durumunda benzerlik %100 çıkacaktır ve depodan tezi silmek çok uzun süre gerektirecektir.
- 6- Raporlama işlemi tamamlandıktan sonra, kaydedilmiş olan ekranın görüntüsünü sağ üst köşesinde yüzdelik sayı olarak belirtilen "benzerlik oranı," raporlamaya tabi tutulmuş olan dosyanın "toplam sayfa sayısı" ve raporlama işleminin yapıldığı "tarih" bilgisi, "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu" formuna işlenir.
- 7- **Benzerlik oranında tüm sorumluluk öğrenciye aittir.**
- 8-Tez savunma sınavı sonrasında başarılı bulunan öğrenci, tez savunma sınavı tarihi sonrasında tezde yapılmış muhtemel değişiklikleri içeren dosya kullanılarak alınmış ikinci bir intihal raporundaki bilgiler kullanılarak hazırlanmış ve tez danışmanı tarafından onaylanarak imzalanmış ikinci bir "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu"nu Enstitüye teslim etmekle yükümlüdür.
- 9-Turnitin Hakkında Bilgiler: <http://kutuphane.cbu.edu.tr/turnitin.9370.tr.html>

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Sefer Özer	Soyadı	BABAT
Doğum Yeri	ULUDERE	Doğum Tarihi	20.04.1987
Uyruğu	TC	Tel	05320655615
E-mail	sozerbabat@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Manisa Celâl Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Tıbbi Parazitoloji	DEVAM
Yüksek Lisans	Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji (YI) (Tezli)	2016
Lisans	Gazi Üniversitesi Kırşehir Fen-Edebiyat Fakültesi/Biyoloji Pr.	2009
Lise	Zeytinburnu Mensucat Santral Lisesi	2002

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
ÖĞRETİM GÖREVLİSİ	ŞIRNAK ÜNİVERSİTESİ	2017-Devam
UZMAN	ŞIRNAK ÜNİVERSİTESİ	2013-2017

Yabancı Dil Sınav Notu	
YDS	YÖKDİL
52,5000	73,7500

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
Ales Puanı	63,99214	62,34937	58,18518

EK: Diğer Bilimsel Faliyetleri

ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

Babat Sefer Özer, Sirekbasan Serhat, Maçın Salih, Kariptaş Ergin, Polat Erdal (2018). **Diagnosics of Intestinal Parasites By Light Microscopy Among The Population of Children Between The Ages of 4-12 In Eastern Turkey.** Tropical Biomedicine, 35(4), 1087-1091. (Yayın No: 4777514)

ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA (proceedings) BASILAN BİLDİRİLER:

BABAT SEFER ÖZER, ÖZBİLGİN AHMET, KAYALAR HÜSNİYE, GÜNDÜZ CUMHUR, GİRGİN KARDEŞLER NOGAY (2019). **Şırnak Bölgesinden Toplanan Prangos ferulacea ve Ferula orientalis Ekstrelerinin Türkiye'den İzole Edilmiş Leishmania tropica'ya Karşı Anti-leishmanial Etkilerinin Araştırılması.** 21. Parazitoloji Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:5333301)

BİLGİÇ FATMA, AKDUR ÖZTÜRK EYLEM, BABAT SEFER ÖZER, DİRİM ERDOĞAN DERYA, İNCEBOZ TONAY, KORKMAZ METİN (2019). **İnsanlarda Alveolar Ekinokokkoz Serolojik Tanısında Em70 ve Em90 Bantlarının Kullanımı: 10 Yıllık Deneyim.** 21. Parazitoloji Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:5333357)

Babat Sefer Özer, Çavuş İbrahim, Özbilgin Ahmet, Babaoğlu Aylin, Korkmaz Metin, Girginkardeşler Nogay (2018). **Strongyloides Stercoralis'in Kriyoprezervasyonu.** 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:4610395)

Babat Sefer Özer, Çavuş İbrahim, Özbilgin Ahmet, Korkmaz Metin, Girginkardeşler Nogay (2018). **Strongyloides Stercoralis'in Kriyoprezervasyonu Öncü Çalışma.** III. Uluslararası Lisansüstü Eğitim Kongresi, 5 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:4610738).

Babaoğlu Aylın, Babat Sefer Özer, Bilgiç Fatma, Dirim Erdoğan Derya, Korkmaz Metin (2017). **İnsanlarda Strongiloidoz Tanısında Kullanılabilecek Özgül Antijenlerin Western Yöntemi İle Araştırılması: Ön Çalışma.** Uluslararası Katılımlı 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3928746)

ULUSAL HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

Uzunoğlu Karagöz Emel, Polat Erdal, Oğuz Işıl Deniz, Kır Büşra, Mutlu Döndü, Babat Sefer, Akdemir Cihangir (2017). **Tick Bite Cases Among Hazelnut Farm Workers In Giresun.** Cumhuriyet Tıp Dergisi, 39(2), 473-478, Doi: 10.7197/223.V39i29491.316367 (Kontrol No: 3632029)

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN BİLDİRİLER:

Babat Sefer Özer, Maçın Salih, Sirekbasan Serhat, Kariptaş Ergin, Polat Erdal (2015). **Enterebius Vermicularis Saptanan Çocuklarda Serum Total IgE Düzeylerinin Araştırılması.** 3.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:5019813)

Babat Sefer Özer, Maçın Salih, Sirekbasan Serhat, Kariptaş Ergin, Polat Erdal (2015). **Şırnak İlinde 4 12 Yaş Grubu Hasta Çocuklarda Saptanan Barsak Parazitleri.** 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:5019809)

Babat Sefer Özer, Maçın Salih, Sirekbasan Serhat, Kariptaş Ergin, Polat Erdal (2015). **Helmin İnfeksiyonu Saptanan 4 12 Yaş Grubundaki Çocukların Serumlarındaki Total IgE Seviyesinin Control Grubu ile Karşılaştırılması.** 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:5019801)

ÜNİVERSİTE DIŞI DENEYİM:

ÖĞRETİM GÖREVLİSİ (YÜKSEK ÖĞRETİM KURUMLARI KANUNU (2547) 39. MADDE GÖREVLENDİRME: MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ PARAZİTOLOJİ AB, 01.10.2018-02.07.2019 tarihleri arasında;

- NNN besiyerinin hazırlanması,
- NNN besiyerinde üretilen *Leishmania* suşlarının subkültürünün yapılması,
- Parazit izolatlarının kriyoprezervasyonu,
- Sıvı azot tankında muhafaza edilen parazit izolatlarının çözdürülüp canlandırılması,
- Sıvı azot tankında muhafaza edilen fare makrofaj hücre kültürünün çözdürülmesi ve üretilmesi,
- Fare makrofaj hücre kültürlerinin *Leishmania* ve *Toxoplasma* parazitleri ile enfekte edilmesi,
- Sıtma şüpheli hastanın periferal kanından yayma preparat hazırlanması ve preparatların giemsa boyası ile boyanması,
- Sıtma tedavisi almış hasta preparatlarında atipik *Plasmodium vivax* formlarının mikroskopik tanısı,
- *Leishmania*, *Toxoplasma* ve *Trichomonas* izolatlarından preparat hazırlanması,
- Kutanöz Leishmaniasis hastasından deri kazıntısı örneği alınması,
- Viseral Leishmaniasis hastasından kemik iliği örneği alınması,
- *Leishmania*, *Toxoplasma* ve *Plasmodium* izolatları ile deney hayvanı enfeksiyonu oluşturulması,
- Parazit izolatlarında DNA ve RNA izolasyonu,
- Klinik materyalden ve besiyerinden genetik materyal izolasyonu,
- Klinik örneklerin genotiplendirilmesi ve tanısı,
- Vektörlerden parazit DNA'xxsı izolasyonu,
- *Leishmania* suşlarının total Proteinlerin çöktürülmesi ve Saflaştırılması konularında eğitim ve uygulamalara katıldım, (Kamu)

ÖĞRETİM GÖREVLİSİ (YÜKSEK ÖĞRETİM KURUMLARI KANUNU (2547) 39. MADDE GÖREVLENDİRME: EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ PARAZİTOLOJİ AB, 17.04.2017-18.04.2018 tarihleri arasında 1 yıl süre ile; Parazitlerin serolojisinde kullanılan,

- İndirekt Hemaglutinasyon Testi (İHA),
- İmmün Floresan Antikor Testi (İFAT),
- ELİSA,
- WESTERN

yöntemleri konusunda eğitim aldım.

MAGOT VE HİRUDO ÜRETİMİ EĞİTİMİ: CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 21.03.2016-21.09.2016 tarihleri arasında gönüllü olarak Magot ve Hirudo Laboratuvarında Lucilla sericata larvaları ve Sülük üretimi konularında 6 (Altı) ay eğitim aldım.

KURSLAR:

GEN KLONLAMA YÖNTEMLERİ KURSU, DNA ekstraksiyonu, restriksiyon enzimleriyle DNA kesimi, elektroforezle fragmanların görülmesi, plazmid ekstraksiyonu, plazmid içerisine DNA fragmanı yerleştirilmesi, ligasyonu, Kompetant bakteri hazırlanması, bakterilere rekombinant plazmid aktarımı, elektroporasyon yöntemi, kimyasal transformasyon yöntemleri uygulanması, Gen transferi sonrası gen ifadesinin fenotipik yöntemlerle belirlenmesi, rekombinant proteinin ekstraksiyonu, ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ Rekombinant DNA ve Rekombinant Protein Merkezi (REDPROM), Kurs, 13.05.2019 -17.05.2019 (Ulusal).

MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİDE İLERİ DÜZEY TANI YÖNTEMLERİ KURSU, Moleküler mikrobiyolojik tanıda DNA dizi analizi yöntemlerinin temel prensipleri ve kullanım alanları, Kurs kapsamındaki yöntemlerle ilgili elektronik rehberlere ulaşım ile web kayıtlarının oluşturulması, Biyoinformatik analizler, Yeni nesil dizi analizleri ile mikroorganizma tiplendirilmesi ve Direnç saptanması konularında bilgilendirilme ve güncel gelişmelerin pratik uygulamaları, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kurs, 27.04.2019 -29.04.2019 (Ulusal).

DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI KURSU, İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU, Kurs, 07.03.2016-18.03.2016 (Ulusal).

ÇALIŞTAYLAR:

KENELERİN İDENTİFİKASYONU VE LABORATUVARDA KOLONİZASYON YÖNTEMLERİ, Kenelerin soy ve tür bazında identifikasyonu, Kenelerin morfolojik ayırım kriterleri (teorik) ve gerekli ekipmanlar (stereo mikroskop, ilgili kene türleri, vb.) kullanılarak uygulamalı eğitim, Kenelerin kolonizasyonu ile ilgili teorik bilgiler, Çeşme, Çalıştay, 01.10.2019-01.10.2019 (Ulusal)

MİYAZ SİNEKLERİNİN ERGİN VE LARVALARININ TANIMLANMASI VE FOTOĞRAFLANMASI, Miyaz sineklerinin ergin ve larvalarının tanımlanması ve fotoğraflanması eğitimi, ESKİŞEHİR, Çalıştay, 26.09.2017-26.09.2017 (Uluslararası).

LEISHMANİASİS'İN TANISINDA MİKROKÜLTÜR YÖNTEMİ ÇALIŞTAYI, Atatürk Üniversitesi ve Türkiye Parazitoloji Derneği tarafından 6 Ekim 2015 tarihinde düzenlenen” Leishmaniasisin Tanısında Mikrokültür Yöntemi Çalıştayı”, Atatürk Üniversitesi/ Erzurum, Çalıştay, 06.10.2015-06.10.2015 (Ulusal).

SEMİNERLER:

EKİNOKOKKOZA ÇOK ALANLI YAKLAŞIM, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Parazitoloji Çalışma Grubu ve Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilimdalı tarafından düzenlenen” EKİNOKOKKOZA ÇOK ALANLI YAKLAŞIM” etkinliği, BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ, Seminer, 18.04.2019-18.04.2019 (Ulusal).