

İki Farklı Kayısı (Prunus armeniaca L.) Çeşidi Yaprığı İnfüzyon Ve Ekstresinin Blastocystis Hominis’e Karşı Antiprotozoon Etkisi

Hazırlayan: Helin Gülen GEDİK

Projenin Amacı

Kayısı (P. armeniaca L.) yaprağından elde edilen infüzyon ve ekstrenin sık görülen ve gastrointestinal yakınmalara neden olan B. Hominis’e karşı antiprotozoon etkisinin in-vitro koşullarda belirlenmesidir.

Giriş

B. hominis oral-fekal yolla, kistlerle bulaşan, en yaygın insan bağırsak paraziti olarak tanımlanan ve gastrointestinal yakınmalara neden olan bir protozodur. En çok ishale neden olmaktadır. İshal bazen bol ve sulu olabilmektedir. Karın ağrısı, kramplar, mide bulantısı, kabızlık ve huzursuzluk gibi yakınmalar da görülebilmektedir. Tedavide en sık kullanılan ilaçlar metranidazol ve ornidazoldur. Bu tedaviler bazen yetersiz kalabilmekte ve hastaların yakınmaları sürmektedir.

Birçok bitki ve meyve ülkemizde ve dünyada çeşitli hastalıkların tedavisi için gerek ilaç üretilerek, gerekse doğal haliyle kullanılmaktadır. Kayısı meyvesinin yaş ile kuru hali ve çekirdeği yaygın olarak tüketilmektedir. Kayısı ve ürünlerinin besleyici, vitaminden zengin ve antioksidan özellikleri bir çok araştırma için kaynak olmuştur .Kabızlık, irritabl kolon sendromu, hemoroid gibi birçok hastalıkta yararlıdır. Mide ve on iki parmak bağırsak ülserlerini engellemekte olumlu etkilere sahiptir. Kayısı ürünleri aynı zamanda gastrointestinal sistem düzenleyicisi olarak bilinmektedir. Çekirdeğin tüketilmesinin bağırsak parazitlerine karşı etkili olduğu bilinmektedir .

Ülkemizde sık görülen B. hominis paraziti başta ishal olmak üzere ciddi yakınmalara neden olmaktadır. İshaller, tüm dünyada özellikle ülkemizde önemli bir halk sağlığı problemidir. Özellikle çocuklarda ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır .Kayısı ülkemizde çok yaygın olarak bulunan ve tüketilen bir meyvedir. Ayrıca mide bağırsak sistemi üzerine olumlu etkilere sahiptir. Yaprakları neredeyse yılın 6-7 ayında bulunabilmektedir.

Bu projede tüketilmesinde birçok faydası olduğu bilinen kayısı meyvesinin yaprak ekstresi ve infüzyonunun sık görülen B. hominis parazitine karşı etkileri araştırılarak olası doğal ve yeni ilaç hammaddesi olarak kullanılmasının rolü araştırılacaktır. Şu ana kadar literatürde, bu konu ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur. Bu nedenle projenin sonuçları büyük önem taşımaktadır.

Hasanbey (solda) ve hüdayi (sağda) kayısı çeşitlerinin olgun halinin yapraklarıyla birlikte görünümü

Daha önceden belirlenmiş iki farklı kayısı çeşidinde ait ağaçlardan yaprakların (sol) araştırıcı tarafından toplanması (sağ).



Materyel ve Metod

Kayısı yaprağı infüzyonu ve ekstresi için doğal ve zirai ilaç kullanılmamış zerdali (Hüdayi) ve Hasanbey çeşidi ağaçların yaprakları kullanılmıştır. Yapraklar kayısı üretiminin yaygın olarak yapıldığı Malatya ili sınırları içerisinde, sonbahar mevsiminde toplanmıştır. Yapraklar hava ve gün ışığı almayacak şekilde 4 °C sıcaklıkta korunmuştur. Yaprakların infüzyon ve ekstre elde edilme işlemleri İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen infüzyon ve ekstre solüsyonları ışıktan korumalı şişelerde 4 °C sıcaklıkta parazitlerle işlem görmek üzere saklanmıştır. Solüsyonların parazit kültürüne ekim işlemleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

İnfüzyonun Hazırlanması

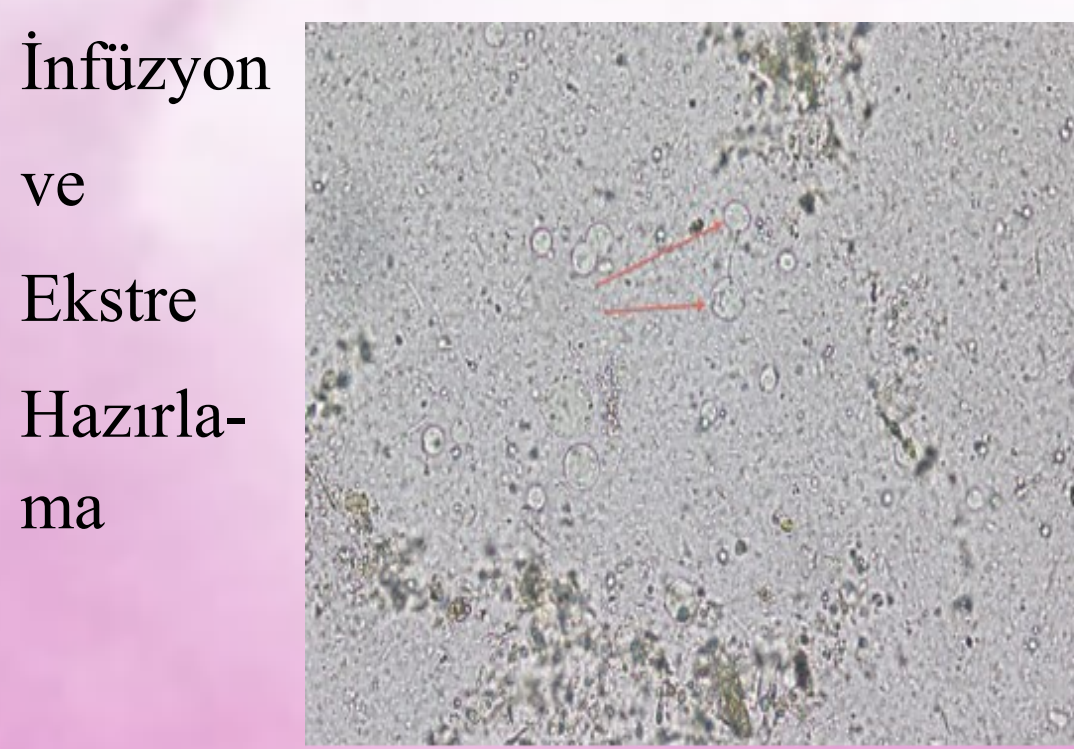
Zerdali (Hüdayi) ve Hasanbey yaprakları için benzer işlemler yapıldı. Kullanılacak yapraklar distile su ile temizlendi ve üzerindeki nemin kuruması beklendi. 40 g kayısı yaprağı tartılarak üzerine kaynayan distile sudan 160 mL eklendi ve 5 dakikada ısıtıcıda kaynamayacak şekilde bekletildi. Üzeri kapatılarak soğumaya bırakıldı. Daha sonra içerisindeki sıvı bir balon jöjeye aktararak toplandı. Elde edilen infüzyon solüsyonları ışıktan korumalı şişelerde 4 °C sıcaklıkta parazitlerle işlem görmek üzere korunmaya alındı.

Ekstrenin Hazırlanması

Zerdali (Hüdayi) ve Hasanbey yaprakları için benzer işlemler yapıldı. Kullanılacak yapraklar distile su ile temizlendi ve üzerindeki nemin kuruması beklendi. 20 g kayısı yaprağı sıcaklığı 60 °C olan % 80’lik alkolde 50 mL (25 mL metanol + 25 mL etanol) homojenize edildi. 500 g de 25 dakika santrifüj edildi. Üste kalan süpernatantlar toplandı. Kalan ekstrenin üzerine sıcaklığı 80°C olan de-iyonize distile su eklenerek tekrar 500 g de 25 dakika santrifüj edildi. Bu işlem 4 defa tekrarlandı. Toplanan alkol, su, ekstre karışımı 25 mL kalana kadar evaporatörde buharlaştırıldı. Üzerine 50 mL %95’lik etil alkol ilave edilerek 4 °C’de 10 saat süreyle bekletildi. Daha sonra çöken biyoaktif bileşenler üzerinde kalan sıvı faz yine evaporatörde tüm sıvı uzaklaşana kadar buharlaştırıldı. Balon jöjenin içinde kalan jelimsi yoğun faz 25 mL distile suda çözülerek çalışma süresince ekstre olarak kullanıldı.

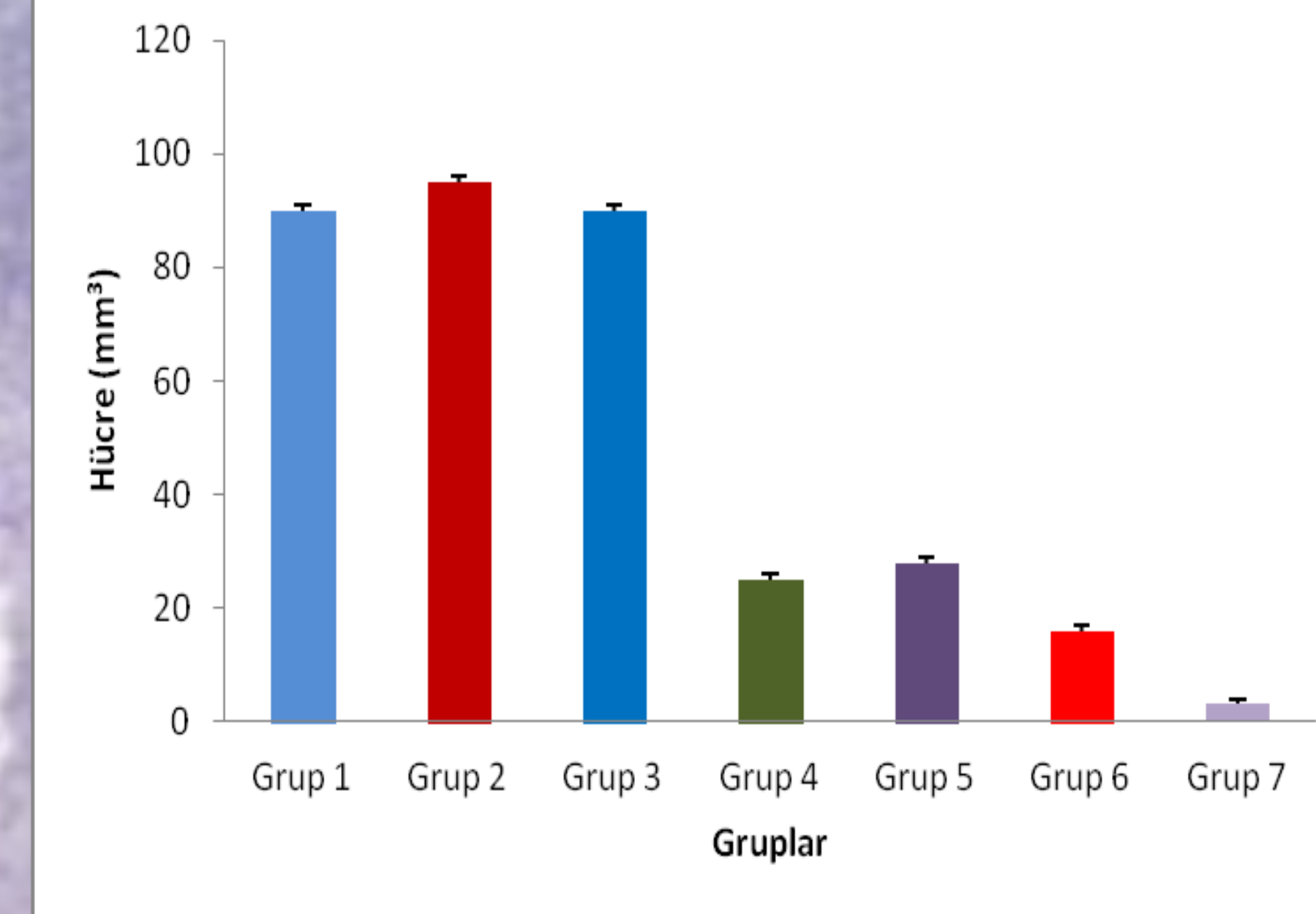
B. hominis parazitlerinin elde edilmesi

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı’na başvuran ve ishal yakınması olan hastaların dışkılarının mikroskopik incelemesinde X400 büyütme ile görüntü alanında beşten fazla B. hominis görülen örnekler çalışma için kullanılmıştır.



İnfüzyon ve Ekstre Hazırlama

Jones besiyeri ile üretilen Blastocystis hominis parazitlerinin görünümü (oklarla işaretli),



Grafik 1: İnfüzyon etkinliği kontrol ve çalışma gruplarında Thoma lamında X400 büyütme ile sayılarak belirlenen parazit sayısı (1 mm3’de bulunan sayı, Ort±SD)

Bulgular

Nicel veri içeren değişkenler Shapiro-Wilk testine göre normal dağılım gösterenler Un-paired t-test ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyenler Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. p<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tartışma ve Sonuç

İstatistiksel analiz yapıldığında Hasanbey çeşidi kayısı yaprağı infüzyonunun Hüdayi çeşidine göre parazit sayısını daha yüksek oranda azalttığı görülmektedir. Hasanbey çeşidinin 200 mg doz ile tam iyileşme sağladığı bulunmuştur. Parazitin X400 büyütmede Thoma lamında beşten küçük sayılması etkin bir tedaviyi göstermektedir .

Ekstre etkinliğinin çalışıldığı tüm deney gruplarında Hasanbey ve Hüdayi kayısı yaprakları için Thoma lamı sayımında parazite rastlanmamıştır. Kontrol grubunda 88±21,6 parazit sayılmıştır. Tüm deney gruplarında bulunan parazit sayısı 0 olduğundan istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Teşekkür

Bu projemin hazırlanması ve yürütülmesinde emeği geçen İnönü Üniversitesi öğretim üyeleri ve elemanları olarak; Ziraat Fakültesi Dekanı ve Kayısı Araştırma Merkezi Müdürü Prof. Dr. Bayram Murat ASMA’ya, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı’ndan Prof. Dr. Kadir BATÇIOĞLU ve doktora öğrencisi Savaş ÇELİK’e, Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı’ndan Prof. Dr. Metin ATAMBAY, doktora öğrencileri Mutlu Yar AYCAN ve Özge Erşan ÖZYALIN’a, Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı’ndan Doç. Dr. Neslihan YÜCEL’e ve Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı’ndan Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN’e ve her aşamada desteklerini gördüğüm TED Ankara Koleji Vakfı Özel Lisesi’nden öğretmenlerim Hande KUTLU, Metin GENÇ, Aydın ÜNAL ve danışman öğretmenim Demet İZGÜ’ye, teşekkür ederim.

REFERANSLAR

- Asma, B.M., Birhanlı, O., (2004), Mişmiş. Evrin Ofset, Malatya.
- Asma, B.M., (2007), Malatya: World’s capital of apricot culture. Chronica Horticulturae, 47(1), 21-24.
- Asma, B.M., (2011), Her yönüyle kayısı. Uyum Ajans, Ankara.
- Hamamcı, B., Yazar, S., Şahin, İ., (2004). Blastocystis hominis’in in-vitro kültürü ve antiprotozoal ilaçların in-vitro etkilerinin araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi . 13(1),7-15.
- Kalaycıoğlu, M.T., (2007), Medeniyetlerin sağlığa buluştuğu ‘Malatya Kayısı’. Malatya Kayısı Araştırma Geliştirme ve Tanıtma Vakfı. Beydağı Matbaası, Malatya.
- Kaya, S., Çetin, E.S., Ardoğan, B.C., Arkan, S., Demirci, M., (2007). Pathogenicity of Blastocystis hominis: A Clinical Re-evaluation. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31(3), 184-187.
- Sekar, U., Shanthi, M., (2013). Blastocystis: Consensus of treatment and controversies. Tropical Parasitology. 3(1), 35-39.
- Tan, T.C., Suresh, K. G., (2006). Predominance of ameboid forms of Blastocystis hominis in isolates from symptomatic patients. Parasitol Res. 98, 189-193.
- Otlu, A., Öztürk, F., Asma, B.M., (2008), Kayısının insan sağlığına etkileri konusunda yapılmış bilimsel araştırmalar. T.C. Malatya Valiliği. Evrin Ofset, Malatya.
- Özibilgin, A., Durmuşkahya, C., Kilimcioğlu, A.A., Sağlam, H., Kurt, Ö., Ermiş, V.Ö., Tabak, T., Östan, İ., (2014). Türkiye Parazitoloji Dergisi, baskıda.
- Turhan, Ö., Yalçın, A.N., (2004), Akut ishaller hastaya yaklaşım. Türkiye Tıp Dergisi, 11(4), 182-193.