

Centaurea lydia (Peygamber Çiçeği) ve *Phlomis nissolii* (Çalba) Endemik Bitkilerinin *Toxoplasma gondii* Üzerine Etkisi

Effect of Extracts of the Endemic Plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* on *Toxoplasma gondii*

Zeynep Özlem Doğan Şığva¹, Ezgi Eylül Hasvatan², Gizem Gülen², Remzi Uslu², Beyza Eryıldız², Cenk Durmuşkahya³, Hüsniye Kayalar⁴, Ahmet Özbilgin⁵, Metin Korkmaz⁶, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²İzmir Büyükşehirli Özel Türk Koleji, İzmir, Türkiye

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Orman Fakültesi, Orman Botaniği Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

⁶Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Doğan Şığva ZÖ, Hasvatan EE, Gülen G, Uslu R, Eryıldız B, Durmuşkahya C, Kayalar H, Özbilgin A, Korkmaz M, Gündüz C. Effect of Extracts of the Endemic Plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* on *Toxoplasma gondii*. Türkiye Parazitol Derg 2017; 41: 164-8.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada *Centaurea lydia* (Peygamber çiçeği) ve *Phlomis nissolii* (Çalba) endemik bitkilerinden elde edilen ekstraktların *T. gondii* trofozoitleri ile enfekte edilmiş fibroblast hücre kültüründe potansiyel antitoksoplazma etkinlikleri araştırılmışı amaçlanmıştır.

Yöntemler: *Centaurea lydia*' in hekzan, kloroform, metanol ekstraktlarının ve *Phlomis nissolii*' nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstraktlarının sitotoksitesiteleri WST-1 testi ile kolorimetrik değerlendirilmiştir. Endemik bitki ekstraktları ile muamele edilmiş (55 µg/ml) ve kontrol WI-38 hücre hatları 5×10⁵ *T. gondii* trofozoiti ile enfekte edilmiş, 7. gün, 14. gün ve 24. günde besi yerindeki parazit sayısı belirlenmiştir.

Bulgular: *C. lydia* ve *P. nissolii* ekstraktlarının 0,86-55 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarının WI-38 hücre hattında herhangi bir sitotoksik bir etki saptanmamış ve bu ekstraktların fibroblast hücre hattı üzerinde sitotoksitesite göstermemesi olumlu bir etki olarak değerlendirilmiştir. *C. lydia* ekstresi 55 µg/mL konsantrasyonu *T. gondii* trofozoitlerine karşı belirgin bir aktivite göstermiştir. Trofozoit sayısında ekstre verilmeyen grupta 47,5 katlık bir artış saptanırken, *C. lydia* ekstresi verilen grupta ise 84 katlık bir azalma saptanmıştır. *P. nissolii* ekstresi verilen grupta ise 36 katlık bir artış saptanmış ve antitoksoplazma aktivitesi göstermemiştir.

Sonuç: Endemik bitki *C. lydia* ekstresinin toksoplazmozis tedavisi için iyi bir aday ilaç olabileceği gösterilmiştir. *In vitro* olarak gösterilen bu etkinliğin *in vivo* hayvan modellerinde araştırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Toxoplasma gondii*, *Centaurea lydia*, *Phlomis nissolii*, sitotoksitesite, hücre kültürü

Geliş Tarihi: 11.07.2017

Kabul Tarihi: 21.08.2017

ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate the potential antitoxoplasma activities of extracts of the endemic plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* in a fibroblast cell culture infected with *T. gondii* trophozoites.

Methods: WI-38 cell lines treated with plant extracts (55 µg/mL each) and an untreated control were infected with 5×10⁵ *T. gondii* trophozoites, and the number of parasites in the medium was determined on days 7, 14, and 24.

Results: No cytotoxic effects of *C. lydia* and *P. nissolii* extracts were detected at concentrations of 0.86–55 µg/mL in the WI-38 cell line, and the absence of the cytotoxicity of these extracts on the fibroblast cell line was considered as a positive effect. *C. lydia* extract at 55 µg/mL had marked activity against *T. gondii* trophozoites. A 47.5-fold increase was observed in the number of trophozoites in the control group, while a 84-fold decrease was found in the *C. lydia* extract group. However, a 36-fold increase was detected in the *P. nissolii* extract group, indicating no antitoxoplasma activity.

Conclusion: The extract of *C. lydia*, an endemic plant, was found to be a good drug candidate for treating toxoplasmosis. The *in vitro* activity of the extract of this endemic plant should be further investigated in animal models *in vivo*.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, *Centaurea lydia*, *Phlomis nissolii*, cytotoxicity, cell culture

Received: 11.07.2017

Accepted: 21.08.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Zeynep Özlem Doğan Şığva, E.mail: ozlemdogan99@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5451

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Toksoplazmozis, zorunlu hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii* tarafından oluşturulan, tüm memelilerde ve kanatlılarda görülen yaygın bir enfeksiyondur. Etken insana, kedi ve kedi dışkısı bulaşmış besinlerdeki ookistlerle, doku kisti taşıyan çiğ veya az pişmiş etlerin ağız yoluyla alınmasıyla, enfekte anneden fetüse plasenta yolu ile veya kan yoluyla bulaşabilir (1, 2). Toksoplazmozis tedavisinde ilk tercih olarak pirimetamin ve sülfadiazinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Ancak enfeksiyonu geçirmekte olan gebe kadınlarda bebeğe geçişi engellemek için kullanıldıklarında veya bağışıklığı baskılanmışlarda kullanımlarını sınırlayacak düzeyde ciddi yan etkiler gelişebileceği gösterilmiştir. Bu tür durumlarda bu olgular spiramisin, atovaquon veya klindamisin ile tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Kansere tedavisi, organ transplantasyonları ve HIV enfeksiyonu gibi bağışıklığı baskılanan olgu sayılarındaki artış ve bu olgularda bu fırsatçı enfeksiyonun ağır seyretmesi nedeniyle, *T. gondii*'ye yönelik yeni ilaçların geliştirilmesi ayrı bir önem taşımaktadır (3-5).

Dünyanın sadece belirli bir yerinde bulunan ve belirli iklim şartlarında yetişen, başka yerde yetişmeyen bitkilere "endemik bitkiler" adı verilmektedir. Türkiye'nin endemik bitki türleri bakımından oldukça zengin bir varlığa sahip olduğu ve Avrupa'daki 2,500 endemik bitki türüne karşılık, tek başına Türkiye'de 3,000 endemik tür bulunduğu belirtilmektedir (6). Bu tür zenginliklerimiz yeni ilaçların geliştirilmesi için iyi bir aday olabilir. *Centaurea lydia* (Peygamber Çiçeği), Asteraceae familyasına ait olup, bu genus Akdeniz bölgesi ve Batı Asya ülkelerinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Antioksidan, antimikrobiyal, antitümoral ve antiinflamatuar özelliklere sahip çok sayıda sekonder metabolit açısından zengin bir genustur. *Centaurea* türlerinden elde edilen seskiterpen yapısındaki bileşiklerin sitotoksik ve antitümoral özellikte oldukları bulunmuştur (7, 8).

Phlomis nissolii (Çalba), Labiatae familyasına ait olup, bu familyaya ait bitkiler özellikle flavonoid içeriği bakımından zengin bitkilerdir. Bu familyaya dahil *Phlomis* türleri, uçucu yağlar, flavonoidler gibi sekonder metabolit içermektedirler. *Phlomis* türlerinin içerdiği bu sekonder bileşiklerin çeşitliliği nedeniyle biyolojik aktivite araştırmaları da oldukça geniş çapta ve farklı alanlarda yapılmıştır. *In vivo* şartlarda antidiyabetik, antialerjik, analjezik, antiülserojenik, antiinflamatuar etkileri yanısıra, *in vitro* şartlarda damar koruyucu, antibakteriyel ve antifungal etkileri ve antikanser aktiviteleri de araştırılmıştır. *Phlomis armeniaca*'dan izole edilen fenil propanoit, kafeik asit, fenetil alkol ve fenetil alkol glikozitlerinin çeşitli kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Phlomis* türlerinden izole edilen bileşiklerin hücre çoğalmasını engellenmesini ve hücre döngüsü arrestine neden olduğu gösterilmiştir (9, 10).

Bu çalışmada, *C. lydia* ve *P. nissolii* endemik bitkilerinden elde edilen ekstraktların antitoksoplazma etkinliğinin, *T. gondii* ile enfekte edilmiş WI-38 hücre kültürlerinde araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Parazit: Çalışmamızda; hücre kültüründe kullanılan *T. gondii* RH Ankara suşu trofozoitleri, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında yürütülen, intraperitoneal BALB/c fare pasajından alınmıştır.

Bileşikler: Çalışmamızda kullanılan *Centaurea lydia*'in hekzan, kloroform, metanol ekstraktlarının ve *Phlomis nissolii*'nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstraktlarını TÜBİTAK 108S168 nolu projeden sağlanmıştır (11). Bitki ekstraktlarının 5,5 mg/mL izotonik stok solüsyonları hazırlanmıştır.

WI-38 hücre kültürü: Normal insan fetal akciğer fibroblast hücre hattı WI-38 hücreleri, %10 fetal sıgır serum (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail), %1 L-glutamin (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail), 100IU/ml penisilin ve 10 mg/mL streptomisin (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail) içeren RPMI 1640 (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail) besiyerinde, 37°C'de ve %95 nem, %5 CO₂'li etüvde çoğaltılmıştır.

Sitotoksikite Analizi: IC₅₀ dozu, µm düzeyde, %50 inhibisyona neden olan, inhibitör konsantrasyonudur. *C. lydia* ve *P. nissolii* ekstraktlarının sitotoksik etkisini incelemek amacıyla WST-1 testi ve tripan mavisi boyası testleri uygulanmıştır. WI-38 hücre hattına uygulanan endemik bitki ekstraktlarının sitotoksikite testleri WST-1 testi (Roche, Basel, İsviçre) ile kolorimetrik değerlendirilmiştir. Bitki ekstraktları için 1×10⁴ hücre/ml bulunan 96 kuyucuklu platlerde 55-0,86 µg/mL ardışık azalan konsantrasyonlarının 24., 48. ve 72. saatlerde çalışılmış ve WST-1 1/10 dilue olacak şekilde ilave edilmiştir. WST1 ilavesinden sonra 37°C, %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmiştir. İki saat boyunca her yarım saat de bir mikropilaka okuyucusunda (Multiscan, FC Termo Scientific, Waltham, ABD) 450 absorban 620 referans aralığında okunarak optik dansite değerlendirilmiştir. *C. lydia* ve *P. nissolii* ekstraktları 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. Hücre canlılığı yüzdesi her bir kuyucukta ölçülen optik dansite değerinin kontrol optik dansite değerine bölünmesi ve yüz ile çarpılması ile hesaplanmıştır.

Endemik Bitki Ekstresi Uygulanması: Tüm yüzeyi kaplamış 25 cm²'lik flasklerdeki (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail) WI-38 hücre hattı 5×10⁵ *T. gondii* trofozoiti ile enfekte edilmiş, 21 gün sürecek deney düzeneğinde kontrol ve etken maddelerin uygulandığı farklı 3 çalışma grupları oluşturulmuştur. Fibroblast hücre hatlarına sitotoksikite saptanmayan en yüksek doz (55 µg/mL) bitki ekstraktları uygulanmıştır. Hücre kültür ortamındaki trofozoitler Neubauer lamı ile sayılmış mL parazit sayısı hesaplanmış 5 mL besiyerindeki toplam *T. gondii* trofozoit sayısı belirlenmiştir. Sayım işlemi üç kez tekrarlanmıştır.

1. Grup: Kontrol grubudur. Bu grupta WI-38 hücrelerine sadece 5×10⁵ *T. gondii* paraziti uygulanmıştır.

2. Grup: Etken madde-1 grubudur. Bu grupta 5 × 10⁵ *T. gondii*'li WI-38 hücrelerine *P. nissolii* bitki ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanmıştır.

3. Grup: Etken madde-2 grubudur. Bu grupta 5×10⁵ *T. gondii*'li *C. lydia* bitki ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanmıştır.

İstatistiksel analizler: Grupların karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Analizler GraphPad Prism v6.0 (San Diego, ABD) yazılımında yapılmış ve anlamlılık derecesi p<0,05 olarak alınmıştır.

BULGULAR

Endemik Bitki Ekstresi sitotoksitesi: *Centaurea lydia*' nın hekzan, kloroform, metanol ekstralarının ve *Phlomis nissolii*' nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstralarının WI-38 hücre hattında 0,86-55 µg/mL ardışık konsantrasyonlarının doz ve zamana bağlı bir sitotoksitesi saptanmamıştır (Şekil 1). Endemik bitki ekstralarının fibroblastlar üzerinde sitotoksite göstermemesi olumlu bir etki olarak değerlendirilmiştir.

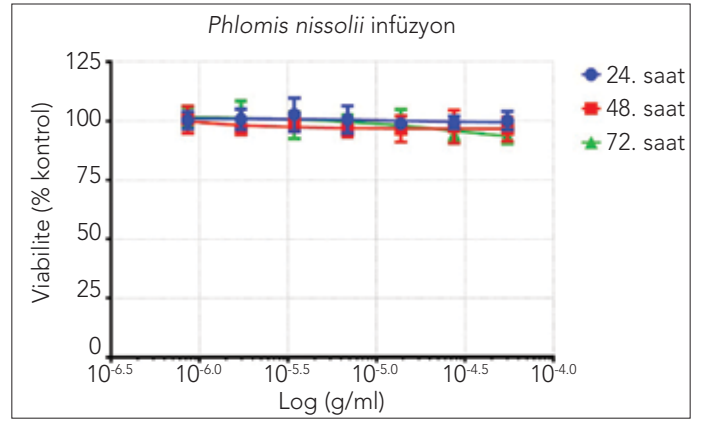
Endemik Bitki Ekstresilerinin in vitro *T. gondii* proliferasyonu üzerine etkileri: Kontrol grubunda, 5×10^5 *T. gondii* ile enfekte edilen WI-38 hücrelerinde takizoitlerinin 48. saat sonunda hücre içine girdikleri ve çoğaldıkları gözlemlenmiş ve 7. günde trofozoit sayısı $2,38 \times 10^7$ 'ye ulaşmıştır. Başlangıç takizoit sayısı ile karşılaştırıldığında 47,5 katlık bir artış saptanmıştır (Resim 1a, Şekil 2).

P. nissolii infüzyon ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan etken madde-1 grubunda antitoksoplazma aktivitesi saptanmamıştır. *P. nissolii* ekstresi 55 µg/mL konsantrasyonda trofozoit sayısı 7. günde $1,80 \times 10^7$ olarak belirlenmiş ve başlangıca göre 36 katlık bir artış bulunmuştur (Resim 1b, Şekil 2).

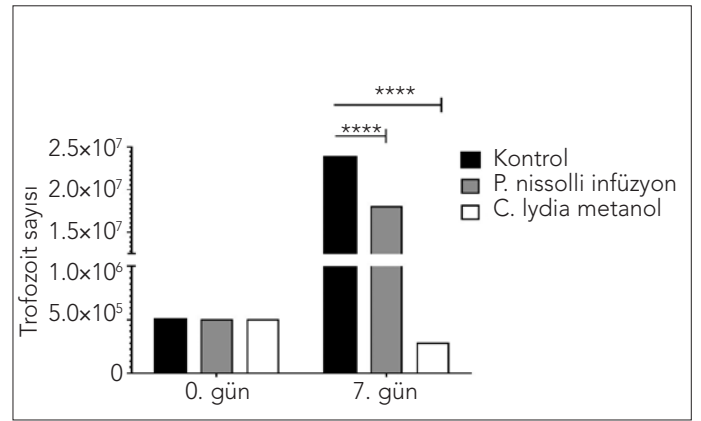
C. lydia metanol ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu konsantrasyonu uygulanan etken madde-2 grubunda *T. gondii* proliferasyonunun inhibisyonunda belirgin bir aktivite göstermiştir. *C. lydia* ekstresi ekstre uygulamasıyla 7. günde trofozoit sayısı $2,8 \times 10^5$ olarak belirlenmiş ve başlangıca göre %44 oranında bir azalma saptanmıştır. Yedinci gündeki *C. lydia* ekstresindeki trofozoit sayısını kontrol grubu ile karşılaştırıldığında parazit sayısında belirgin bir azalma (84 kat) saptanmıştır ($p < 0,0001$, Resim 1c, Şekil 2). On dört ve 21. günlerde de bu sayının değişmediği gözlenmiştir. Kontrol ve *P. nissolii* gruplarında ise sekizinci günde WI-38 hücrelerin tümü lizis olduğu için değerlendirilememiştir (Resim 1d)

TARTIŞMA

T. gondii tek hücreli, zorunlu hücre içi parazittir. Son yıllarda *T. gondii*' nin hücre kültüründe takizoitlerin davranışları konusunda çok sayıda araştırma yapılmaktadır (12). Döşkaya ve ark. yaptıkları çalışmada; *T. gondii* RH Ankara suşu takizoitlerinin hücre kültüründe büyümesi ve daha sonra *in vivo* da tanı amaçlı üretime geçilebilmesini araştırmışlardır. Bu sebeple miyeloma, HeLa, Hep-2 ve Vero hücre kültürlerinde *T. gondii* takizoitlerini 2 ay süre ile üretilmiştir. İlk inkübasyonda takizoitlerin boyutu $3 \times 5,7$ µm iken üretimin devamında ortalama takizoit boyutunda küçülme saptamışlardır. İki ay sonunda verimi artsa da miyelom hücre kültüründe takizoitlerin boyutu $1 \times 2,1$ µm olarak belirlemişlerdir (13). Benzer şekilde Chatterton ve ark. *T. gondii* için kültür metotları geliştirmek ve hızlı ve canlı takizoit üretmeyi amaçlayan çalışma yapmışlardır. Bu bağlamda HeLa hücre hattında 37°C de 48-144 saatte *T. gondii* üretebilmişlerdir. Takizoit miktarı $\geq 1 \times 10^6$ mL ve ≥ 90 canlılık olarak tespit etmişlerdir. Kültür 37°C den 25°C ye transfer edildiğinde maksimum enfeksiyonda stabil kalabilmişler (enfeksiyon sonrası 48-54-saat) ve 25°C de anlamlı olarak birçok kültür 783/811 (% 96,5) %90 canlılığa sahip olduğu görmüşlerdir. Yedi gün sonunda 25°C de HeLa hücre kültüründe kaliteli bir şekilde takizoitlerin görüldüğünü ve geliştirdikleri bu sistemin güçlü ve gerektiğinde standart kalitede takizoitlerin seri bir halde üretimini sağlayabilir olduğu görüşünü savunmaktadırlar (14). Çalışmamızda; *T. gondii* takizoitlerinin WI-38 hücre hattında 48. saatte



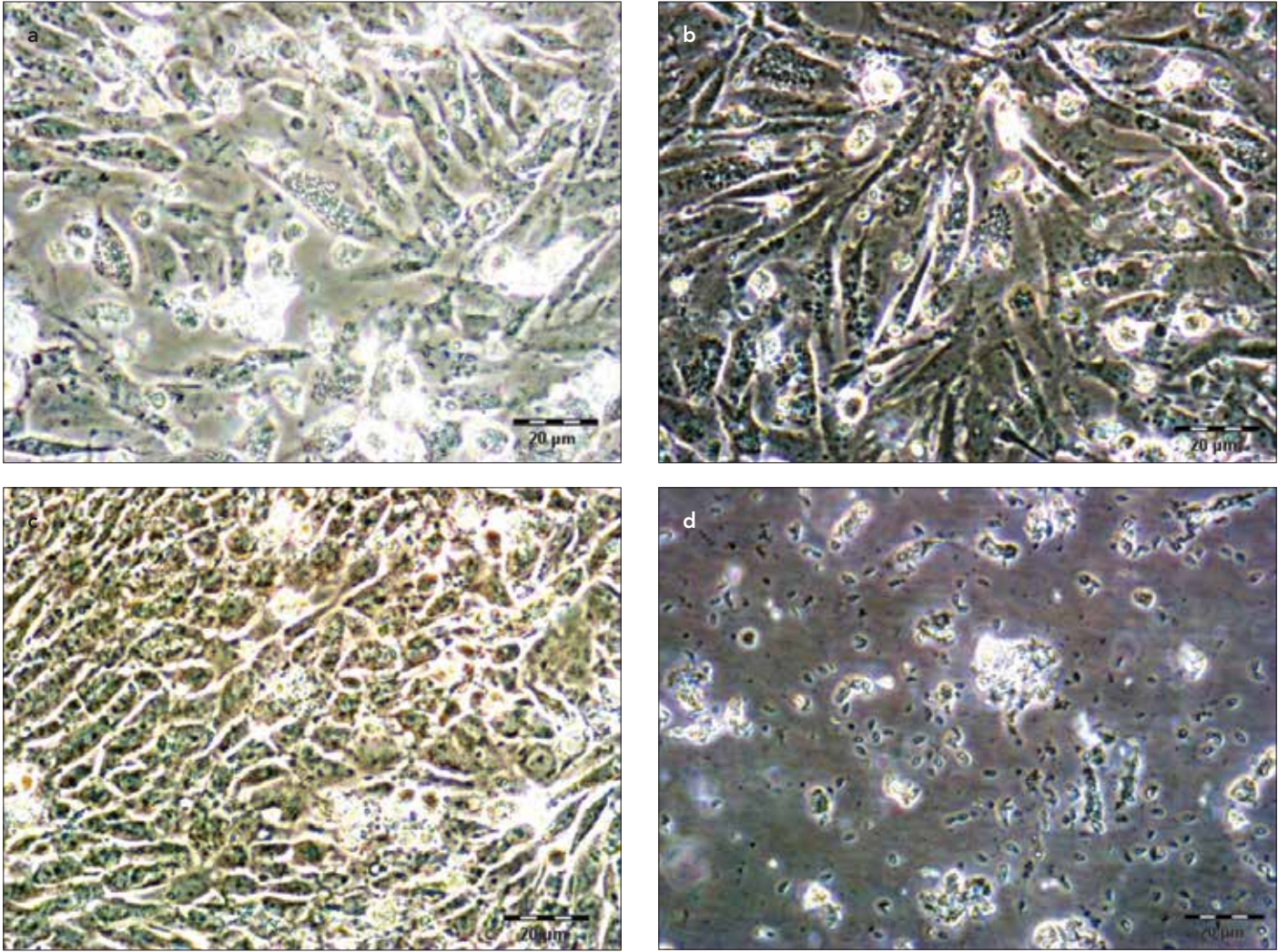
Şekil 1. Endemik bitki ekstralarının sitotoksite analiz sonuçları



Şekil 2. Endemik bitki ekstralarının toxoplasma canlılığı üzerine etkisi. Kontrolle göre 7. gün *P. nissolii* ve *C. lydia* uygulamasında trofozoit sayısında anlamlı azalma saptanmıştır (****, $p < 0,0001$)

çoğaldıkları ve 8. günde tüm hücreleri lize uğrattıkları bulgusuna dayanarak WI-38 hücre hattın *T. gondii* takizoitlerinin üretimi için uygun bir model sistem olabileceğini ileri sürmekteyiz.

Çeşitli bitki ekstralarının antitoksoplazma etkinlikleri üzerine çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. *Sophora flavescens* Aiton, *Sinomenium acutum* (Thunb.) *Pulsatilla koreana*, *Ulmus macrocarpa*, *Torilis japonica* bitkilerinin alkol ekstralarının *T. gondii* ve *Neospora caninum* kültürleri üzerindeki antiprotozoal etkilerinin araştırıldığı çalışmada; Youn ve ark. tarafından ekstralar final konsantrasyon aralığı 19,5-625 ng/mL olacak şekilde seri halde ilgili besiyeri ile dilüe edilmiş ve *T. gondii* ve *N. caninum* içeren equine dermal (E-derm) hücrelerine takizoitleri ilave edilmiştir. Parazit büyüme inhibisyonu, ^3H -uracil incorporation kullanılarak parazit uygulaması yapılmayan kontrol grubu ile karşılaştırılarak ölçülmüştür. Bu bitkiler uzun yıllardır Asya ülkelerinde insan parazitlerine karşı kullanılmaktadır. *T. japonica*' nın 312 ng/mL konsantrasyonun *T. gondii* proliferasyonunu % 99,7 inhibe ettiği ve *S. flavescens*' in ise aynı konsantrasyonda % 98,5 inhibe ettiği gösterilmiştir (15). Çalışmamızda ise *C. lydia* metanol ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan etken madde-2 grubunda *T. gondii* proliferasyonunun inhibisyonunda belirgin bir aktivite göstermiştir. *C. lydia* ekstresi uygulaması ile 7. günde trofozoit sayısında başlangıca göre %44 oranında bir azalma saptanırken, bu azalmanın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 84 kata ulaştığı saptanmıştır.



Resim 1. a-d. Kontrol ve bitki ekstresi uygulanan WI-38 hücre hatları 5×10^5 *T. gondii* trofozoiti ile enfekte edildikten sonra 7. gün görüntüleri. Bitki ekstresi uygulanmamış kontrol grubunda trofozoit sayısı $2,38 \times 10^7$ (a), *P. nissolii* infüzyon ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan WI-38 hücre hattında trofozoit sayısı $1,80 \times 10^7$ (b), *C. lydia* metanol ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan WI-38 hücre hattında trofozoit sayısı $2,8 \times 10^5$ (c), Kontrol ve *P. nissolii* gruplarında ise sekizinci günde WI-38 hücrelerin lizisi (d)

Endemik bitki olan *C. lydia* ekstresinin antitoksoplazma aktivitesi açısından önemli olduğunu ve ekstre fraksiyonlarının daha ileri çalışmalar ile değerlendirilmesi gerektiğini ileri sürmekteyiz.

Youn ve ark. (15) *T. japonica* ve *S. flavescens*' in 625 ng/mL konsantrasyonun yüksek sitotoksitesiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda; *C. lydia*' nın hekzan, kloroform, metanol ekstrelerinin ve *P. nissolii*' nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstrelerinin WI-38 hücre hattında 55 µg/mL gibi yüksek sayılabilecek konsantrasyonunun doz ve zamana bağlı bir sitotoksitesite göstermemesini bitki ekstrelerinin konağa zarar verme açısından minimum düzeyde olduğu şeklinde değerlendirilmiştir.

T. gondii' nin bulunduğu Apikompleksa sınıfında sıtma etkeni Plasmodium, Cryptosporidium gibi çok sayıda patojenik protozoa bulunmaktadır. Bu sınıftaki türlerin bazılarında uygulanan tedaviler yeterli olmamakta veya ilaçlara karşı direnç gelişimi sorun oluşturabilmektedir. Özbilgin ve ark. yaptıkları çalışmada endemik bitkilerin antimalaryal etkilerini *in vivo* olarak araştırmışlardır. On ikinci günde *C. lydia* ekstresinin %26,1, *P. nissolii* ekstresinin ise %13,75 ora-

nında parazitemiyi baskıladığını göstermişlerdir. En yüksek antimalaryal etkileri *C. polyclada*' da saptanmış olup %66,91 baskılanma söz konusudur (11). Çalışmamız ile Özbilgin ve ark. çalışmasında ki benzer bulgular Apikompleksa grubundaki parazit etkenlerinin tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaçların geliştirilmesinde bu ekstrelerin bir model olabileceğini desteklemektedir. *T. gondii*'nin *in vitro* ortamda kolaylıkla çoğaltılabilmesi ve rodent modellerinin olması, kullanılan bileşiklerin etkinliğinin ve farmakokinetiklerinin değerlendirilmesinde önemli bir avantaj olarak değerlendirilebilir.

SONUÇ

Lydia ekstresi toksoplazmozis tedavisi için iyi bir aday ilaç olabilir. *In vitro* olarak gösterilen bu endemik bitki ekstre etkinliğinin *in vivo* hayvan modellerinde araştırılması gerektiği kanısına varılmaktadır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik kurum onayına gerek yoktur.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - C.G., M.K.; Tasarım - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Denetleme - C.G., M.K.; Kaynaklar - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Malzemeler - A.Ö., H.K. C.D.; Veri Toplanması ve/ veya işlenmesi - Z.Ö.D.Ş., E.E.H., G.G., R.U., B.E.; Analiz ve/veya Yorum - C.G., M.K.; Literatür taraması - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Yazıyı Yazan - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Eleştirel İnceleme - C.G., M.K., A.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir

Ethics Committee Approval: Approval from the ethics committee was not required in this study.

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - C.G., M.K.; Design - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Supervision - C.G., M.K.; Resource - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Materials - A.Ö., H.K. C.D.; Data Collection and/or Processing - Z.Ö.D.Ş., E.E.H., G.G., R.U., B.E.; Analysis and/or Interpretation - C.G., M.K.; Literature Search - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Writing - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Critical Reviews - C.G., M.K., A.Ö.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Dubey J, Lindsay D. Biology of *Toxoplasma gondii* in Cats and Other Animals in World Class Parasites: Volume 9. Opportunistic Infections: *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, and *Microsporidia*. Kluwer Academic Publisher; 2004.
2. Innes EA. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1997; 20: 131-8. [CrossRef]
3. Nath A, Sinai AP. Cerebral Toxoplasmosis. *Curr Treat Options Neurol*. 2003; 5: 3-12. [CrossRef]
4. Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E. Treatment of toxoplasmosis with trimethoprim-sulphamethoxazole. *Scand J Infect Dis*. 1975; 7: 72-5. [CrossRef]
5. Petersen E, Schmidt DR. Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: what are the options? *Expert Rev Anti Infect Ther* 2003; 1: 175-82. [CrossRef]
6. Meral A. Çeşitlilik ve endemizm açısından türkiye'nin bitki örtüsü. *Coğrafya Dergisi* 2005; 13: 27-55.
7. El-Najjar N, Dakdouki S, Darwiche N, El-Sabban M, Saliba NA, Gali-Muhtasib H. Anti-colon cancer effects of Salograviolide A isolated from *Centaurea ainetensis*. *Oncol Rep* 2008; 19: 897-904. [CrossRef]
8. Koukoulitsa E, Skaltsa H, Karioti A, Demetzos C, Dimas K. Bioactive sesquiterpene lactones from *Centaurea* species and their cytotoxic/cytostatic activity against human cell lines *in vitro*. *Planta Med* 2002; 68: 649-52. [CrossRef]
9. Kirmizibekmez H, Calis I, Perozzo R, Brun R, Donmez AA, Linden A, et al. Inhibiting activities of the secondary metabolites of *Phlomis brunneogaleata* against parasitic protozoa and plasmodial enoyl-ACP Reductase, a crucial enzyme in fatty acid biosynthesis. *Planta Med* 2004; 70: 711-7. [CrossRef]
10. Saracoglu I, Inoue M, Calis I, Ogihara Y. Studies on constituents with cytotoxic and cytostatic activity of two Turkish medicinal plants *Phlomis armeniaca* and *Scutellaria salviifolia*. *Biol Pharm Bull* 1995; 18: 1396-400. [CrossRef]
11. Ozbilgin A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ostan I. Assessment of *in vivo* antimalarial activities of some selected medicinal plants from Turkey. *Parasitol Res* 2014; 113: 165-73. [CrossRef]
12. Akarsu GA, Salin D. *In vitro* cultivation of *Toxoplasma gondii* in various cell cultures. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30: 598-602. [CrossRef]
13. Doskaya M, Degirmenci A, Cicek C, Ak M, Korkmaz M, Guruz Y, et al. Behaviour of *Toxoplasma gondii* RH Ankara strain tachyzoites during continuous production in various cell lines. *Parasitology* 2006; 132: 315-9. [CrossRef]
14. Chatterton JM, Evans R, Ashburn D, Joss AW, Ho-Yen DO. *Toxoplasma gondii* *in vitro* culture for experimentation. *J Microbiol Methods* 2002; 51: 331-5. [CrossRef]
15. Youn HJ, Lakritz J, Kim DY, Rottinghaus GE, Marsh AE. Anti-protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 2003; 116: 7-14. [CrossRef]