

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***NİGELLA SATİVA L.* EKSTRESİ İLE
QUINACRİNE' İN FARELERDE *TOXOCARA CANİS W.* LARVA MİGRANSI
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Gülten ŞENOCAK

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2005**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***NİGELLA SATİVA L.* EKSTRESİ İLE
QUINACRİNE' İN FARELERDE *TOXOCARA CANIS W.* LARVA MİGRANSI
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Gülten ŞENOCAK

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2005**

Doç. Dr. Davut MUSA danışmanlığında, yüksek lisans öğrencisi Gülten ŞENOCAK'ın hazırladığı “*Nigella sativa L.* Ekstraktı İle Quinacrine’ in Farelerde *Toxocara canis W.* Larva Migransı Üzerindeki Etkileri” konulu bu çalışma 15/09/2005 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Davut MUSA :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Füsun BABA :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mehtap Gül ALTAŞ :

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım

Prof. Dr. İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: 656

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
1. 1. <i>Toxocara canis</i> Hakkında Genel Bilgi.....	1
1.1.1. Taksonomi.....	1
1.1.2. Tarihçesi.....	1
1. 2. Tanımı.....	2
1.2.1. Yaşam döngüsü.....	3
1.2.2. Morfolojisi.....	4
1.2.3. Yumurtası.....	5
1.2.4. Enfektif larvası.....	6
1.2.5. Biyolojisi.....	7
1.2.6. <i>Toxocara canis</i> ' in yayılışı.....	8
1.2.7. Patojenitesi.....	10
1. 3. Visceral Larva Migrans (İçorgan Larva Göçü).....	12
1.3.1. Paratenik Arakonaklarda Visceral Larva Migrans.....	13
1.3.2. Visceral Larva Migrans' ın yayılışı.....	15
1. 4. Oküler Larva Migrans.....	16
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	17
2.1. Teşhis.....	20
2.2. Tedavi.....	21
2.2.1. Kimyasal İlaçlar.....	20
2.2.2. Alternatif Tedavi.....	22
a) <i>Nigella sativa</i>	22
b) Quinacrine.....	28
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	31
3.1. <i>Toxocara canis</i> ' in Bulunması ve Saklanması.....	31
3.2. Yumurtaların Elde Edilmesi.....	31
3.3. Deney Hayvanı Seçimi, Bakım ve Beslenmesi.....	33
3.4. Farelerin <i>Toxocara canis</i> Yumurtaları ile Enfekte Edilmesi.....	33
3.5. Deneyde Kullanılacak Bitkisel İlaçların Hazırlanışı.....	34
3.5.1. <i>Nigella sativa</i> ekstresinin hazırlanışı.....	34
3.5.2. Quinacrine dihydrochloride ekstresinin hazırlanışı.....	34
3.6. Deneme Grupları Oluşturulması.....	35
3.7. Deneyin Yapılışı.....	35
3. 7. 1. Kan preparatlarının hazırlanması ve lökosit sayımı.....	37
3. 7. 2. Histolojik çalışmalar.....	37
3.8. İstatistiksel Analiz.....	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	39
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	62
ÖZET.....	63
SUMMARY.....	64

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

FARELERDE *NİGELLA SATİVA* EKSTRESİ İLE QUİNACRİNE' İN *TOXOCARA CANİS* LARVA MİGRANSI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Gülten ŞENOCAK

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Davut MUSA

Yıl: 2005, Sayfa: 64

Toxocara canis, köpekleri enfekte eden ve tesadüfen memeli hayvanlara geçebilen bir nematod parazittir. Bu çalışmada deneysel olarak *Toxocara canis*' le enfekte edilen farelerde *Nigella sativa* etanol ekstresi ve quinacrine' in toksokaryaza etkisi değerlendirildi. 100 mg/kg ve 200 mg/kg *N. sativa* etanol ekstresi ve 100 mg/kg quinacrine ağız yoluyla farelere verildi. Daha sonra sürme kan preparatında eozinofil miktarındaki azalma gözlemlendi. *N. sativa* ve quinacrine ile tedavi edilen enfekte farelerde larva iyileşmesi, tedavi edilmemiş kontrol farelerle karşılaştırıldı. Bu ilaçların parazite karşı toksik etki göstermediği belirlendi. Sonuçlarımız karaciğer ve akciğerlerde visseral larva migrans (VLM)' in iltihaba bağlı hastalıklarında 200 mg/kg *N. sativa* ve 100 mg/kg quinacrine' in potansiyel tedavi edici etkisini kanıtladı.

ANAHTAR KELİMELER : *Toxocara canis*, larva göçü, *Nigella sativa*, quinacrine

ABSTRACT

MSc Thesis

THE EFFECT OF *NIGELLA SATIVA* EXTRACT AND QUINACRINE ON VISCERAL LARVA MIGRANS IN MICE WITH *TOXOCARA CANIS*

Gülten ŞENOCAK

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Davut MUSA
Year: 2005, Page: 64

Toxocara canis is a nematode parasite infect dogs and transplanted a mammalian accidentally. In this study experimental infection of *T. canis* in mice was used to evaluate the effect of *Nigella sativa* ethanol extract and quinacrine on the development of Toxocariasis. 100 mg/kg and 200 mg/kg ethanol extract of *N. sativa* and 100 mg/kg Quinacrine orally was used. Subsequently we observed a reduction in the number of eosinophils in blood smears, larvae recovery from infected mice treated with *N. sativa* and quinacrine was comparable from that untreated control mice, suggesting that the drugs are not toxic to the parasite. Our results demonstrate a potential therapeutic effect of *N. sativa* 200 mg/kg and 100 mg/kg quinacrine in inflammatory diseases of visceral larva migrans (VLM) in liver and lungs.

KEY WORDS : *Toxocara canis*, VLM, *Nigella sativa*, quinacrine

TEŞEKKÜR

Bu alıőma konusunu bana öneren ve çalıőmalarım sırasında engin bilgisi ve yardımı ile destek olan, haftasonu tatillerinde bile bana zamanını ayıran danıőmanım Doç. Dr. Davut MUSA' ya, bilimsel çalışmalarda itina ve titizliği bana öğreten bölüm başkanımız Doç. Dr. Nihat DİLSİZ' e, tercüme çalıőmalarımda bana yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Osman EN' e, çalışmanın kalitesinin artması için beni motive eden Prof. Dr. Vagif HATEMOV' a, parazitlerin teşhisinde, deney farelerinden kan alımı ve organların çıkartılmasında destek olan Yrd. Doç. Dr. Mehtap Gül ALTAŞ' a, kan hücrelerinin sayımında destek olan Yrd. Doç. Dr. Hatice ÖZBİLGE' ye, dokuların patolojik incelenmesinde, kesit alımı, boyanması ve kalıcı preparatların hazırlanmasında destek olan Yrd. Doç. Dr. Füsun BABA' ya, deney aşamasında kimyasal madde temini hususunda destek olan Yrd. Doç. Dr. Mehmet ASLANOĞLU' na, tezlerimizi aynı dönemde yürüttüğümüz ve deney farelerinin bakım ve beslenmesinde yardımcı olan arkadaşım Araő. Gör. Ayőe őAHAPOĐLU' na ve deney farelerinin taşınması, talaő ve ilaç temini gibi hususlarda, çalışmanın her aşamasında maddi manevi destek olan babam M. İhsan şENOCAK' a teşekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1.	T. canis' in yaşam döngüsü..... 3
Şekil 1.2.	Tür ayrımında yardımcı olan servikal alae..... 4
Şekil 1.3.	<i>Toxocara canis</i> yumurtası..... 5
Şekil 1.4.	Toxocariasisli fare beyin yüzeyinde kanama..... 15
Şekil 2.1.	<i>Nigella sativa</i> 'nın bir görüntüsü..... 22
Şekil 2.2.	<i>N. sativa</i> (çörek otu) tohumları..... 23
Şekil 2.3.	Quinacrine' in yapısı..... 28
Şekil 3.1.	Embriosuz ve embriolu <i>Toxocara canis</i> yumurtası..... 32
Şekil 3.2.	Fareye ağız yoluyla madde verilmesi..... 36
Şekil 3.3.	Fare kuyruğunun kesilmesi ve fare kuyruğundan kan alınması..... 36
Şekil 4.1.	Sağlıklı farelerle <i>Toxocara canis</i> enfekte edilmiş kontrol grubun ve ilaç gruplarının karşılaştırılması 40
Şekil 4.2.	<i>Toxocara canis</i> enfekte edilen kontrol grubun karaciğerindeki nekroz odakları ve apoptosis..... 41
Şekil 4.3.	<i>Toxocara canis</i> enfekte edilen kontrol grubun akciğerlerindeki alveol duvarlarında rüptür ve kalınlaşmalar..... 42
Şekil 4.4.	Beyinde görülen kanama..... 43
Şekil 4.5.	Beyinde boz-beyaz renkte odaklar..... 46

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi.....	42
Çizelge 4.1. Sağlıklı kontrol grubunda kan lökosit değerleri.....	39
Çizelge 4.2. T. canis ile anfekte edilmiş kontrol grubunda kan lökosit değerleri.....	39
Çizelge 4.3. Profilaktik Quinacrine grubunda kan lökosit değerleri.....	40
Çizelge 4.4. Profilaktik 100 mg. <i>N. sativa</i> grubunda kan lökosit değerleri.....	40
Çizelge 4.5. Profilaktik 200 mg. <i>N. sativa</i> grubunda kan lökosit değerleri.....	41
Çizelge 4.6. Tedavi Quinacrine grubunda kan lökosit değerleri.....	41
Çizelge 4.7. Tedavi 100 mg. <i>N. sativa</i> grubunda kan lökosit değerleri.....	42
Çizelge 4.8. Tedavi 200 mg. <i>N. sativa</i> grubunda kan lökosit değerleri.....	42
Çizelge 4.9. Lökosit sayısı yüzdelerle sonuçları.....	43
Çizelge 4.10. Modifiye Knodell skorlamasına göre karaciğerde histolojik aktivite gradelemesi.....	48
Çizelge 4.11. Tüm grupların karaciğerlerindeki histolojik aktivite sayıları.....	49

SİMGELER DİZİNİ

cm	Santimetre
mm	Milimetre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
°C	Santigrad derece
IgG	Immüoglobulin G
IL-3	Interlökin- 3
Ser	Serin
Tc	Yardımcı T hücresi
Th	Sitotoksik T hücresi
Thr	Treonin

Kısaltmalar

ABZ	Albendazol
ADP	Adenozin Difosfat
ark.	Bu çalışmadaki arkadaşları
BF	Flokulasyon test
CFT	Kompleman Fikzasyon Testi
DNA	Deoksiribinükleik Asit
DEC	Dietilkarbamazin
DTQ	Ditimokinon
EIA	Enzim İmmunoassay
ID	İmmunodifüzyon
IFAT	İndirekt Floresan Antikor Testi
IHAT	İndirekt Hemaglutinasyon Testi
MBZ	Mebendazol
NK	Natural killer hücreleri
<i>N. sativa</i>	<i>Nigella sativa</i>
OLM	Oküler larva migrans
RIA	Radio Immunoassay
RNA	Ribonükleik asit
<i>T. canis</i>	<i>Toxocara canis</i>
<i>T. cati</i>	<i>Toxocara cati</i>
TES	Toxocara excretory/ secretory
TBZ	tiabendazol
TQ	Thymoquinone (timokinon)
THQ	Timohidrokinon
VLM	Visceral larva migrans
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

1.1. *Toxocara canis* Hakkında Genel Bilgi

1.1.1. Taksonomi

Superkingdom	Eukaryota
Kingdom	Animalia
Subkingdom	Metazoa
Phylum	Nematoda
Class	Chromadorea
Order	Ascaridida
Suborder	Ascaridina
Superfamily	Ascaridoidea
Family	Ascarididae
Genus	Toxocara

(anonymous, 2005)

1.1.2. Tarihçesi

Günümüzde *Toxocara canis* olarak bilinen parazitin ilk tanımlanması 1782 yılında Werner tarafından yapılmasına rağmen, yakın türleri ile arasındaki karışıklık uzun yıllar sürmüştür (Arean ve Crandall, 1971).

1940 ve 1950' li yıllarda Avustralya' da *Ascarid* nematodlarının biyoloji ve davranışları üzerine araştırmalar yapan Sprent (1958), *T. canis*' in köpektaki evrimini, paratenik konaklarını ve prenatal enfeksiyonu tanımlamıştır (Korkmaz, 1998).

Beaver 1952' de, ilk kez visceral larva migrans tanımını ortaya attıktan sonra, Ash ve Nichols'un 1956 yılında sadece *T. canis*' in değil, ayrıca diğer nematod türlerinin de insanda visceral larva migrans (VLM)' a neden olabileceğini gösterdiğini bildirmektedir (Korkmaz, 1998).

1. 2. Tanımı

Toxocara cinsi nematodlar arasında sadece iki tür: *canis* ve *cati* insan hastalıklarına neden olan parazit türü olarak tanımlanmıştır. Bu iki askaridin yetişkin formu sırasıyla köpekgiller (canids) ve kedigiller (felids) olan kendi asıl konaklarının üst sindirim bölgesinde yaşarlar (Magnaval ve ark., 2001).

Asıl konağı insan olmayan fakat özellikle çocuklarda görülen Toxocariasis sendromu; hipereosinofili, hepatomegali, ateş, geçici pulmoner infiltrasyon ve hipergammaglobulinemi ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. *T.canis*' in VLM' a neden olan en önemli etkenlerden biri olması nedeni ile toxocariasis ismi VLM ile özdeşleşmektedir (Ash, 1989). *T. canis*' in gözü etkilemesi durumunda hastalık oküler larva migrans (OLM) olarak adlandırılmaktadır (Schantz ve Glikman, 1989; Bowman ve Griffiths, 2000).

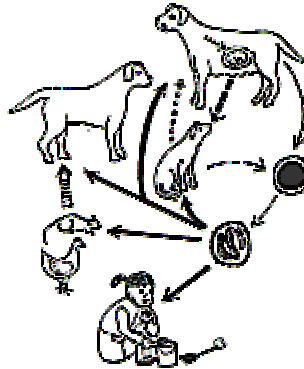
Bu hastalığın sinonimleri, toxocarosis, larval granulomatosis, familial eosinofili, eosinofilik pseudolökemi, lökemoid eosinofili, Weingarten hastalığı, Frimoldt-Moller sendromu ve eosinofili-hepatomegali sendromudur (Arean ve Crandall, 1971).

Hastalığın, nematod yumurtalarının insan tarafından sindirim yoluyla alınmasıyla başladığı, yumurtadan çıkan larvaların genel dolaşıma geçtiği, bu larvaların yaşam döngülerini tamamlayamayarak erişkin hale dönüşemedikleri ve uzun süre canlı kalarak dokularda göç ettikleri tanımlanmıştır (Unat ve ark., 1995).

1. 2. 1. Yaşam döngüsü

T. canis' in yaşam döngüsünü ilk olarak Sprent tanımlamıştır. Enfeksiyonun enfekte yumurtaların alınmasıyla başladığı, yumurta içinde gelişen embriyolar ince bağırsakta yumurtadan çıkarak sindirim kan damarları vasıtasıyla karaciğer, akciğerlere, beyin ve nadiren de böbrek, kalp ve göze ulaştığı bildirilmiştir (Korkmaz, 1998). Larvaların göç esnasında gömlek değiştirdiği ve büyüyerek tekrar bağırsaklara geçtiği ve bu sürenin yaklaşık 3 hafta olduğu bildirilmiştir (Sprent, 1958).

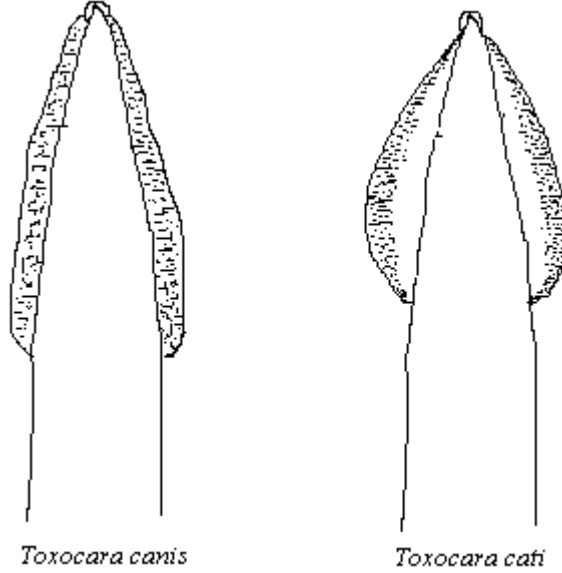
Son konağın dışkıyla atılan yumurtalar içinde uygun ısı ve nemde 10-12 gün içinde birinci dönem larva, 2-4 hafta içinde ise ikinci dönem larva gelişir. Enfektif yumurtalar son konak tarafından alındıktan sonra larvalar yumurtayı terk ederek bağırsak mukozasına yapışır, larvalar bağırsak mukozasını çıkardıkları proteaz enzimi etkisiyle mekanik olarak geçer, kan ve lenf damarları aracılığı ile portal dolaşıma oradan da karaciğere ulaşır. Larvaların büyük kısmı enfeksiyonun 2. gününde karaciğere, 3-5. günlerde ise akciğerlere ulaşır ve burada bir gömlek daha değiştirerek 2. dönemden 3. döneme geçer. Akciğerlerde bulunan larvalar bronş ve bronşiyollere geçer. Trahea yoluyla farenkse gelir ve yutularak özefagusu buradan da sindirim sistemine ulaşır. Sindirim sisteminde 14-15. günlerde görülen larvalar 2 gömlek değiştirerek olgunlaşır. Dışkıda yumurtaya 30-34 gün sonra rastlanmaktadır (Parsons, 1987; Urquhart, 1966; Overgaaauw ve Knapen, 2001).



Şekil 1.1. *T. canis*' in yaşam döngüsü (anonymus, 2003)

1. 2. 2. Morfolojisi

Toxocara canis' in erişkin erkekleri 4-6 cm., dişileri 6,5-10 cm. uzunluğundadır. Vücutları bütün nematodlarda olduğu gibi dıştan içe doğru çeşitli kısımlardan oluşur: 1. Renksiz, hücresiz, ölü kütikül tabakası, 2. Kütikül tabakasını salgılayan hipodermis, 3. Kas tabakası, 4. Yalancı vücut boşluğu ve boşlukta bulunan organlar (örneğin, sindirim kanalı, üreme organları gibi). Kütikülü enine, nadiren de boyuna çizgilidir ve ön kısmı kanat gibi genişlemiştir. Bunlara kanat anlamına gelen ala (çoğulu alae) denir. Ön tarafta olduğu için servikal alae adı verilir ve tür ayırımında yardımcı olur (Saygı G., 2002). (şekil 1.2.) Bunlar kalın çizgiler taşımakta ve geriye doğru ilerledikçe daralarak parazitin önüne lanset şeklini vermektedir. Ağızda, bir çifti dorsalde iki çifti de ventralde olmak üzere üç çift dudak bulunmaktadır. Spikülümleri 0.75-0.95 mm. uzunluktadır (Sprent, 1953). Dişi parazitlerde vulva vücudun son ¼' ünde bulunur (Soulsby, 1982). Erkek parazitin arka kısmı içe doğru kıvrılmış ve sonunda bir spikül vardır, dişilerinki ise düzdür.

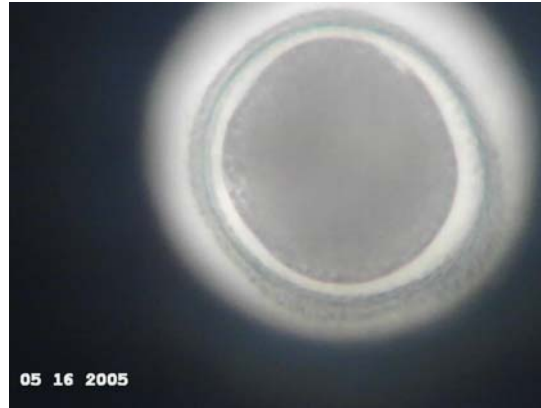


Şekil 1.2. Tür ayırımında yardımcı olan servikal alae

Kütikül altındaki hipodermis tabakası canlıdır ve sırt, karın ve yanlarda vücut boşluğuna doğru uzamıştır. Bunlara kord veya kiriş denir ve bulunduğu yere göre dorsal, ventral veya lateral kord adını alır. Kas tabakaları boyunadır. Sindirim sistemi ağızla başlayıp, anüsle sonlanır. Boşaltım ve sinir sistemleri bulunur ve duyu organları papillalar halindedir (Saygı G., 2002).

1. 2. 3. Yumurtası

Toxocara canis ovipardır. Yumurtalarının büyüklüğü *Ascaris* yumurtalarının büyüklüğü kadardır. Yaklaşık olarak 75-95 µm. büyüklüktedir. Şekli yuvarlağa yakın ovalimsidir ve içinde koyu renkte blastomer bulunur (Soulsby, 1982) (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. *Toxocara canis* yumurtası (x 40' lık büyütme)

Yumurta kabuğu kalın ve girintili çıkıntılıdır. Dış ortama dayanıklıdır. Diğer askarit yumurtalarında olduğu gibi kabuk üç katmandan oluşmaktadır. Bunlar:

1) albumin tabaka: En dış tabaka olup girintili çıkıntılıdır. Bu tabaka dişi parazitin uterusundan salgılanan bir madde ile kaplıdır. Bu maddenin oluşturduğu tabakaya uterin tabaka denir (Unat ve ark., 1995).

2) kitin tabaka: Orta tabakadır. Yumurta kabuğunun en kalın bölümünü oluşturmaktadır ve saydamdır. İki kısımdan oluşur. Dış kısım çıkıntılı, iç kısım düzdür. Bu tabaka yumurtanın direncini sağlar ve membrana lucida olarak tanımlanır (Unat ve ark., 1995).

3) lipit tabaka: Bu tabaka yumuşak ve incedir (Unat ve ark., 1995).

Erişkin bir dişi günde 200 000 civarında yumurta yapar (Magnaval ve ark., 2001). Yumurtalar kalın kabukları nedeniyle dış ortama dayanıklıdır. Uygun dış ortamda 6 yıl canlı kalabildikleri bildirilmiştir (Barriga, 1988).

Yumurtalar köpek dışkısı ile dışarı atıldığında enfektif değildir. Enfektif olabilmesi için 15-35 °C ısı ve % 85 nemli ortamda yumurta içinde embriyonun gelişmesi gerekmektedir. Bu da yaklaşık olarak 2-4 haftalık süre içinde meydana gelir (Fairbairn, 1961; Overgaaauw ve Knapen, 2001).

1. 2. 4. Enfektif larvası

Köpeklerde yumurtadan çıkan *Toxocara canis*' in enfektif ikinci dönem larvası yaklaşık olarak 400 µm. uzunlukta ve 18 µm. genişliğindedir (Nichols, 1956). Köpeklerde dışkı ile atılan yumurtalarda larva yaklaşık 12 günde ilk gömleğini, konak akciğerlerinde ikinci gömleğini ve sindirim sisteminde ise üç ve dördüncü gömleğini değiştirmektedir (Schacher, 1960). Birinci dönem larvada vücut duvarları, sinir sistemi, salgısal kanallar ve sindirim sisteminin geliştiği; ikinci dönemde sadece salgısal kanallarda minör değişikliklerin olduğu; üçüncü dönemde sindirim sisteminin belirginleşmeye ve cinsiyet farklılığının gelişmeye başladığı; dördüncü dönemde ise dudak yapıları ve cinsiyetin tamamen geliştiği bildirilmiştir (Korkmaz, 1998).

İkinci dönem larva enfektiftir, vücudunun kenarları birbirine paralel olup arka kısımları incelerken sonlanır. Ağızda üç çift dudak bulunmaktadır. Özefagus ve bağırsak bölgesi belirgin bir şekilde ayırt edilebilir. Anal delik median ve ventralde bağırsağın son kısmında, boşaltı deliği ise ventralde ve özefagusun ortasında yer alır (Nichols, 1956; Schacher, 1960).

1. 2. 5. Biyolojisi

Toxocara canis' in biyolojisi konağın yaşına ve cinsiyetine göre değişiklik gösterir. Köpeklerde enfeksiyon a. direkt, b. prenatal, c. galaktojen ve d. paratenik arakonaklarla olmak üzere dört yolla oluşur (Urquhart, 1966; Barriga, 1988).

a) Direkt bulaşma: Bu bulaşma şeklinde parazit normal göç yolunu izler. *Toxocara canis* larvalarının yaptığı bu göç olayı son konağın yaşına bağlı olarak değişiklik gösterir. Üç ayın üzerindeki köpeklerde traheal göç yerini somatik göçe bırakır (Soulsby, 1982), akciğerlere gelen larvalar sindirim sistemi yerine karaciğere oradan portal ven ile vena cava posteriora buradan da kalbin sağ atriumuna, daha sonra da sağ ventriküle geçer. Sağ ventrikülden arteria pulmonaris ile akciğerlere geçerek yerleşir. Bazen buradan da beyin ve böbrekler başta olmak üzere vücudun diğer organlarına ve iskelet kaslarına göç eder. Somatik göç yapan larvalar bu organ ve dokulara geldikten sonra daha ileri gitmeyerek oluşturdukları kapsül içinde uzun bir süre enfeksiyon yapma yeteneklerini koruyabilirler (Parsons, 1987).

b) Prenatal bulaşma: Dişi köpekte somatik göç sonucu dokularında bulunan ikinci dönem larvalarını içeren kapsülden, gebeliğin 42. gününden sonra gebeliğe bağlı hormonların etkisiyle larvalar çıkarak serbest hale geçerler. Plasenta yoluyla anneden fötusa geçer. Fötusun karaciğerine yerleşir ve doğuma yakın bir zamanda akciğerlere geçerek gömlek değiştirir. 3. dönem larva haline geçer (Parsons, 1987; Overgaaauw ve Knapen, 2001). Yeni doğan yavrunun akciğerlerinde 3. dönem larva bulunur, bu larvalar doğumu izleyen ilk 6-7. günde ince bağırsakta gömlek değiştirerek 4. dönem larvaya daha sonra da 2 hafta içinde olgun parazit haline dönüşür (Parsons, 1987).

c) Galaktojen bulaşma: Bu enfeksiyon somatik göçün olduğu gebe köpeklerde görülür. 2. dönem larvalar gebeliğin son dönemleri ile laktasyonun erken dönemlerinde süt bezlerine geçmekte (Overgaaauw ve Knapen, 2001) ve doğumdan sonra ilk üç hafta içinde en yoğun olmak üzere laktasyonun 5. haftasına kadar sütle yavru tarafından alınmaktadır. Bu yolla enfekte olan yavrularda larvalar direkt olarak gelişmektedir (Parsons, 1987).

d) Paratenik* ara konaklarla bulaşma: Enfektif yumurtalar paratenik konaklar tarafından alındığında ikinci dönem larvalar somatik göç yapmakta, fakat bir gelişme gösterememektedirler. Enfekte paratenik ara konakların son konaklar tarafından yenmesi sonucu dokularda bulunan larvalar serbest kalmakta ve bağırsak içinde gelişerek erişkin hale gelmektedirler (Barriga, 1988).

Parson, *T. canis* için kemiricileri, koyun, sığır, domuz, maymun, yer solucanı ve kanatlı hayvanların paratenik arakonak olabileceklerini bildirmektedir (1987). Ayrıca karasineklerin ve hamam böceklerinin *T. canis* yumurtalarının mekanik taşınmasında rol oynayabilecekleri bildirilmektedir (Takahashi ve Uga, 1990; Paharı ve Sasmal, 1990).

1. 2. 6. *Toxocara canis*' in yayılışı

Dünyadaki yayılışı: Parazitin köpeklerdeki yayılışı ile ilgili yapılan araştırmalarda, Afrika' da % 12.5-80.6, Asya' da % 3-23.7, Avustralya' da % 1-40 (Boreham ve Copan, 1982), Avrupa' da % 2.6-32.3 (Kozakiewicz, 1983), Amerika' da % 10.7-49.5 olarak kaydedilmiştir (Barriga, 1988).

Başka bir araştırmada *Toxocara*' lı köpeklerin enfeksiyon yaygınlığı batı ülkelerinde % 25 olarak bildirilmiştir, buna karşın kedilerdeki yaygınlık Fransa' da % 30-60 arasındadır (Magnaval ve ark., 2001).

*Paratenik arakonak: Helmintlerin larval dönemlerinin, vücudunda yerleşip, yaşamına devam ettiği fakat herhangi bir gelişme gösteremedikleri konaktır (Saygı, 2002).

Slovak Cumhuriyeti'nde varoşlar ve kırsal alanlarda yapılan bir araştırmada toxocariasisin genç köpeklerdeki yaygınlığı %50, yaşlı köpeklerdeki yaygınlığı ise %12.4' tür. Bu oran kırmızı tilkilerde kırsal alanlarda % 8.6, varoşlarda ise % 5.6' dır (Antolova ve ark., 2004).

Çeşitli hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda Brezilya' da otopsi yapılan 54 kedinin 2 sinde (% 3.7) rastlanmıştır (Oggassawara ve ark., 1986). Polonya (%13), Fransa (% 28.67) ve Almanya' da (%51.3) ise tilkilerde görülmüştür (Deblock ve ark., 1988).

Türkiye' deki yayılışı: *Toxocara canis*' e, Türkiye' de köpeklerde oldukça sık rastlanmaktadır. Ankara' da % 20-54.6 (Doğanay, 1983), Elazığ' da % 26-44.76 (Taşan, 1982), İzmir' de % 67.87 (Burak ve ark., 1986), İstanbul' da % 22.7 (Merdivenci, 1961), Bursa' da % 39 (Tınar ve ark., 1989), Kayseri' de % 40 (Şahin ve ark., 1993) olarak saptanmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada Sivas' ta *Toxocara* cinsine ait nematodların % 28 olduğu saptanmıştır (Saygı ve ark., 1990). Yine Sivas' ta yapılan bir araştırmada *Toxocara canis*' in oranının % 46' olduğu bildirilmiştir (Ataş ve ark., 1997).

Elazığ yöresindeki çocuk parklarında yapılan bir araştırmada toplam 744 toprak ve kum örneği incelenmiş ve buraların kedi ve köpekler tarafından *Toxocara spp.* ile kontamine edildiği gösterilmiştir (Kaplan ve ark., 2002). Sokak köpeklerinde ise %44.76 oranında *T. canis*' e rastlanmıştır (Güralp ve ark., 1977).

Ankara' da sokak köpekleri üzerine yapılan bir araştırmada köpeklerin %98' inde helmint türleriyle karşılaşmış ve bunların %24' ünün *T. canis* olduğu, bu oranın insan sağlığı açısından önemli olduğu bildirilmiştir (Doğanay, 1983).

Konya' da incelenen 48 kum örneğinin 2' sinde (%4.16) *Toxocara sp.* yumurtalarına rastlanmıştır (Güçlü ve Aydenizöz, 1998). Sokak köpeklerinde ise bu oranın % 16.66 olduğu bildirilmiştir (Aydenizöz, 1997). Kars' ta yapılan bir araştırmada *T. canis*' in köpeklerdeki oranının % 50 olduğu bildirilmiştir (Yamasaki ve ark., 2000).

1. 2. 7. *Toxocara canis*' in patojenitesi

Parazitin patojenitesi konağının yaşına (MagnaVal ve ark., 2001) ve bulunduğu organa bağlı olarak değişir. Genellikle köpeklerde karın sarkıklığı, ishal, büyümede gerileme, karın şişliği, kusma, iştah artışı gibi belirtiler görülür. Başlıca patojenite yavrularda görülür ve böyle yavrular doğumdan 12 saat sonra ile birkaç gün içinde ölür. Ölen yavruların mide ve bağırsaklarında çok sayıda parazit bulunur. Parazitin asıl zararlı etkileri larvaların iç organlardaki göçleri sırasında oluşan eozinofil infiltrasyonu, akciğerde pnömoni ve pulmoner ödemden ötürüdür (Levine, 1968).

Kan dolaşımı yoluyla karaciğere gelen larvaların bu organda kanamaya, eozinofilik infiltrasyona ve oluşturdukları kapsülün hemen altında nokta tarzında granümlara neden oldukları belirtilmektedir. Larvaların ayrıca kalp, akciğer, pankreas, dalak, böbrek ve göz gibi organlarda da granümatöz lezyonlara yol açabildikleri bildirilmektedir (Beaver, 1969).

T. canis larvalarının dokulardaki yaşama süresi konusunda yapılan çalışmalarda, periferik eozinofili, lökositöz, hepatomegali, splenomegali, solunum ve sindirim bozuklukları ve karın ağrısı (Bowman ve Griffiths, 2000) gibi klinik bulguları olan hasta grubunda gelişen antikor yanıtına bakılarak larvaların insanda en azından beş yıl yaşayabildiği ve larvaların oluşturduğu antijenik uyarımın yıllarca immünoglobulin düzeylerini yüksek tutabileceği düşünülmektedir (Fenoy ve ark., 1992). Ayrıca, *T. canis* larvalarının salgıladıkları ES antijenlerinin elastin, kollajen ve glikoproteinleri yıkabilen oldukça geniş enzimatik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Abo-Shehada ve ark., 1985).

Değişik parazitlerle yapılan çalışmalarda, vücutta bulunan olgun parazit veya larvalara karşı eozinofil, makrofaj ve nötrofillerin savunma yaptıkları, larvaların eozinofiller tarafından öldürüldükleri ve antikor bulunduğu parazitlerin yıkımlandıkları bildirilmiştir (Sarımehmetoğlu, 1995). Buna karşın larvalar, konak savunma hücrelerinden korunmak için kendi yüzeylerini çok ince bir madde ile kaplarlar ve özefagus bez hücrelerinden antijenik bir madde salgırlar (Lombardi ve ark., 1990). Bu madde *Toxocara excretory/ secretory* (TES) antijeni olarak bilinen glikoproteinik bir yapıdır, TES-32 ve TES-120 olmak üzere iki çeşidi tanımlanmıştır. TES-120' nin elektronik mikroskopisi ve radyoiodinasyon çalışmalarında yüzey tabakasının en büyük komponenti olduğu ve Ser ve Thr içerdiği bildirilmiştir (Gems ve Maizels, 1996).

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda vücuda gelen larva sayısı azsa düşük düzeyde antikor oluştuğu, larva sayısı fazla ise antikor seviyesinin hızlı bir şekilde arttığı bildirilmiştir (Sarımehmetoğlu, 1995).

Helmintlere karşı vücutta T-lenfositleri, eozinofiller, makrofajlar, nötrofiller ve granuloimler gelişerek bağışıklık sistemini oluşturur. Helmint enfeksiyonlarında genellikle eozinofili görülmektedir (Sarımehmetoğlu, 1995). Ancak bazı durumlarda sadece serolojik testlerde pozitif sonuç çıkmıştır, eozinofiliye rastlanmamıştır (Sarımehmetoğlu, 1995). Bu tür toksokaryaza gizli toxocariasis denir (Bowman ve Griffiths, 2000).

İmmünolojik hücreler olan eozinofiller, nötrofiller ve makrofajların larva yüzeyine yapışma şekilleri farklı olmaktadır:

Eozinofiller: Eozinofiller larvaların etrafını kaplayarak bağışıklık sistemine yardımcı olurlar. Ortamda aktif immün serum ve komplementin bulunması eozinofillerin yapışmasını arttırır (Woodruff, 1984). Eozinofillerin yapışma sırasında yuvarlak biçimlerini genellikle korudukları bildirilmiştir (Lombardi ve ark., 1990).

Nötrofiller: Nötrofiller sadece antikorların ve komplementin bulunduğu zaman larvalara yapışrlar ve larvalara yapışma esnasında yassılaşırlar. Bu hücrelerin yapışmaları 15 dakika içinde gerçekleşir (Lombardi ve ark., 1990).

Makrofajlar: Bu hücreler yaklaşık 3 saat sonra larvalara yapışırlar ve zaman içinde sayıları maksimum düzeye çıkar. Larvaya bağlanan makrofaj enfeksiyon sona erinceye kadar bağlı kalır. Komplemanlar yapışmayı hızlandırırken antikorların bir etkisi yoktur. Bir makrofaj larvaya yapıştıktan sonra diğer makrofajlarla yalancı ayaklarını kullanarak birleşir ve bağlanma yüzeyini artırır. Ancak larva yüzeyinde yıkımlanma gözlenmez. Larvaların hareketleri kısıtlanmış olur (Lombardi ve ark., 1990).

Toxocariasisde alerjik reaksiyonlar da görülmektedir. Larvalara karşı dokularda granulomlar oluşturulmaktadır. Bunlar eozinofil, dev hücreler ve epiteloidler tarafından oluşturulmaktadır. Bu granulomlar içinde bazı larvalar zarar görmeden kurtulabilmektedir (Sarımehmetoğlu, 1995).

Fareler üzerine yapılan bir çalışmada *T. canis* ile enfekte edilen farelerde IgG miktarında artış olduğu ve karaciğer, akciğerde şiddetli histopatolojik değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Fan ve ark., 2003).

1. 3. Visceral Larva Migrans (İçorgan Larva Göçü)

Başta nematodlar olmak üzere bazı helmint larvalarının normal konaklarının dışında özellikle de insanların içorganlarında yaptığı göç olayına içorgan larva göçü (visceral larva migrans) denir. Bu terimi ilk olarak 1952 yılında Beaver ve ark. kullanmıştır.

Günümüzde, insanlarda içorgan larva göçüne neden olan birçok etmen bulunmasına karşın birinci derecede sorumlu parazit olarak *T. canis*' bulunmuştur (Sprent, 1963; Urquhart ve ark., 1966). *T. canis*' ten başka *T. cati*, *Ascaris suum*, *Capillaria hepatica*, *Angiostrongylus cantonensis*, *Gnathostoma spinigerum* ve *Dirofilaria* türleri gibi diğer parazitlerin de VLM' ye neden olabileceği belirtilmiştir (Glikman ve ark., 1978).

İnsanda içorgan larva göçü oluşabilmesi için ilk önce enfektif yumurtanın ağız yoluyla alınması gerekmektedir. Bu da jeofaji (toprak yeme), enfekte çiğ sebze ve etlerin yenmesi gibi olaylarla gerçekleşir (Bowman ve Griffiths, 2000; Magnaval ve ark., 2001).

Sindirim sistemi aracılığıyla ince bağırsaklara giden yumurtalar bağırsakta açılır ve larvalar serbest kalarak kan ve lenf sistemi aracılığıyla karaciğer, kalp ve diğer organlara doğru göç ederler (O'connor, 1985; Magnaval ve ark., 2001; Overgaauw ve Knapen, 2001).

Bu sendrom bazen hiçbir belirti göstermezken bazen düzensiz ateş, öksürük, karın ağrısı, iştahsızlık, zayıflık, dikkatsizlik ve kas-eklem ağrısı gibi belirtiler gösterir (Bowman ve Griffiths, 2000; Magnaval ve ark., 2001). Ayrıca eosinofil oranı % 60' ın üzerine çıkabilmekte ve kronik eozinofili olabilmektedir. Bunun yanında Ig G, Ig M ve Ig E düzeylerinde artış görülür (Soulsby, 1982; Barriga, 1988).

İnsanda visceral larva migrans 2-3 yıl sürmekte, larvaların göçü sırasında bazı bakteri ve virüsleri beraberinde getirerek sekonder hastalıklara neden olabilmektedirler (Beaver, 1969).

İnsanlarda visceral larva migransın teşhisinde karaciğer biyopsisi, komplement figzasyon, bentonit flokulasyon test (BF), immundiffuzyon test (ID), kapiller tüp presipitasyon, larval presipitin test, indirekt hemaglutinasyon (IHA), indirekt floresan antikor test (IFAT), Elisa ve radio immun assay (RIA) gibi serolojik testler kullanılmaktadır, bunların en duyarlısının Elisa olduğu kaydedilmektedir (Pişkin, 1995).

1. 3. 1. Paratenik arakonaklarda visceral larva migrans

Bilimde deney metodunun kullanılmaya başlamasından bu yana deneme hayvanlarının önemi anlaşılmıştır. Bir çok ülkede çeşitli laboratuvar hayvanları bilimsel yöntemlere uygun olarak yetiştirilmekte ve standart hale getirilmektedir (Göksu ve ark., 1972).

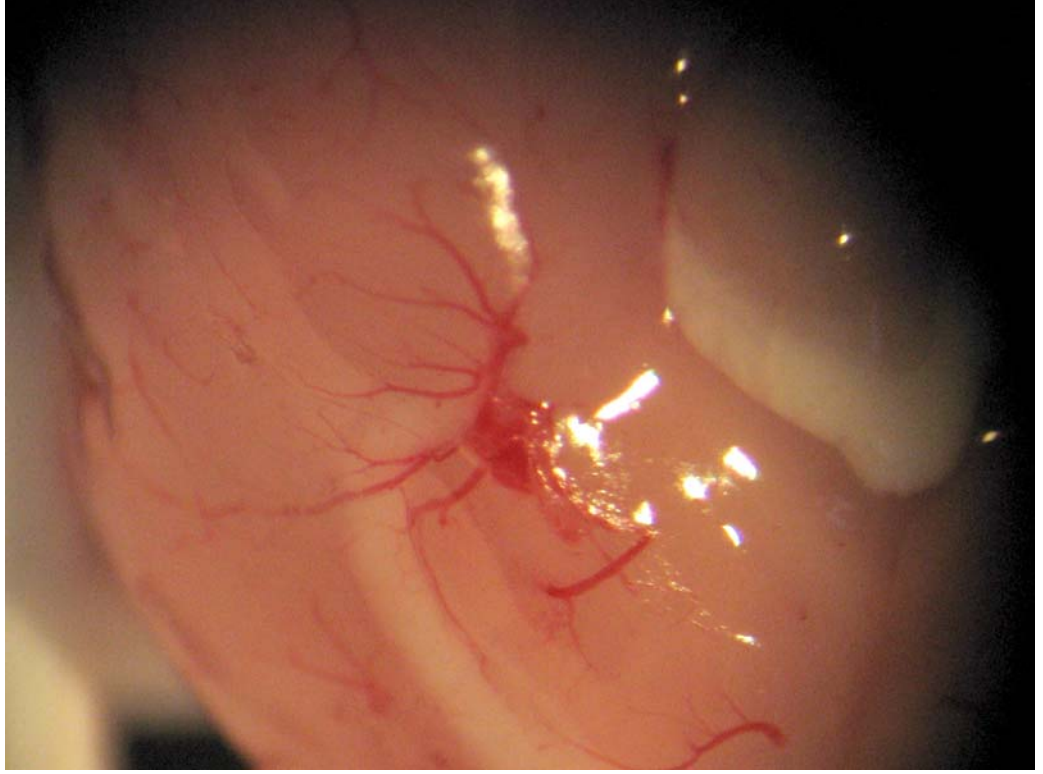
İnsan ve hayvan sağlığı konusunda yapılan araştırmaların büyük bir bölümünde canlı materyal olarak sıçan, fare, kobay, tavşan, hamster vb. gibi küçük deney hayvanları kullanılmaktadır (Ertürk ve Oğuz, 1974; Saygı ve ark., 1991).

İnsanlarda, VLM olgularında larvaların göç yollarının, göç sürelerinin, oluşan histopatolojik değişikliklerin ve immünolojik yanıtların, maymunlar ve bunların yanı sıra birçok küçük memelilerde ve kanatlılarda meydana gelen larva göçüne benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (Kayes ve ark., 1985). Bunun için deneysel oluşturulacak larva göçü çalışmalarında bu hayvanların kullanılabilmesi belirtilmekte ve farelerin rat, kobay, tavşan ve diğer hayvanlara göre daha iyi bir deney hayvanı olduğu bildirilmektedir (Sprent, 1953; Burgu ve ark., 1986; Bakışkan ve ark., 1989; Özçelik ve Saygı, 1990; Doğanay, 1994).

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda mideye gelen yumurtaların bazılarında larvaların çıktığı ve bağırsaklara giderek mukozaya yapıştığı bildirilmiştir. Larvaların 2. günden itibaren karaciğerde, 3. günden itibaren akciğerde ve 5. günden itibaren beyinde ve kaslarda bulunabildiği bildirilmiştir. Enfeksiyonun 15. gününden itibaren göçün sonlandığı, organ ve dokularda larva sayısının hemen hemen aynı kaldığı ve dokulardaki larvaların canlılığının 6-12 ay arasında olduğu bildirilmiştir (Burren, 1968).

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda enfeksiyonun 3. ve 5. günlerinde larvaların karaciğerde, 5. ve 8. günlerde akciğerlerde ve 5. günden itibaren beyinde en yüksek seviyesine ulaştığı bildirilmiştir (Lescano ve ark., 2004).

Fare organ ve dokularında larvalar serbest veya kapsül içinde bulunabilirler. Makroskopik olarak organların yüzeylerinde kanamalar (şekil 1.4.) ve boz-beyaz renkte odaklar şekillenebilir (Sprent, 1955).



Şekil 1.4. Toxocariasis' li fare beyin yüzeyinde kanama

Farelerde toxocariasis'e karşı organizma tarafından larvaların etrafında granulomatoz oluşturulduğu ve bunun savunma mekanizmasında önemli olduğu bildirilmiştir. Savunma sisteminde ayrıca eozinofil, nötrofil ve makrofaj hücrelerinin larva yüzeyine yapışarak hareketini engellediği bildirilmiştir (Sugane ve Oshima, 1983; Lombardi ve ark., 1990).

1. 3. 2. Visceral larva migrans' ın yayılışı

Bir ülkenin eğitim ve kültür düzeyi, bireyin şehirde veya kırsal bölgede oturması, köpek besleyip beslememesi ve bireyin yaşı gibi çeşitli faktörler içorganlar larva göçünün insanlardaki yayılışı üzerine etki etmektedir. Ancak gelişmiş ülkelerde de insanlarda içorganlar larva göçünün görüldüğü bildirilmektedir (Barriga, 1988; Schantz, 1991).

Batı ülkelerindeki seroprevalans muayenede kentsel alanlarda %2-5' inde bulunurken, kırsal alanlarda yetişkinlerin % 14.2-37 arasında olduğu bildirilmiştir. Tropikal bölgelerde bu oran daha da yükselir. Bali' de %63, Saint-lucia ve Batı Hindistan' da çocuklarda % 86 ve La Reunion' da yetişkinlerde %92.8' dir (Magnaval ve ark., 2001).

Visceral larva migransın insanlardaki yayılışı Afrika' da %16.4, Asya' da % 7.3-17.8, Japonya' da % 12.5, Avustralya' da % 7.0, Avrupa' da % 2.5-14.3, Güney Amerika' da % 8.8, Kuzey Amerika' da ise % 10.2-10.8 olarak bildirilmiştir (Barriga, 1988; Kamiya, 1988; Ljungström ve Knapen, 1989).

Bu hastalık en çok kontamine alanlarda oynayan 1-13 yaş arası çocuklarda bildirilmiştir (Overgaaauw ve Knapen, 2001). Yapılan bir çalışmada nörolojik belirtileri olan ve subkortikal lezyon ve serebrospinal sıvıda eozinofilik pleositoz (artış) olan 2 yaşındaki bir hastada MRI, serum ve omurilik sıvısı testlerinde *T. canis*' in pozitif çıktığı bildirilmiştir (Vidal ve ark., 2003). Yapılan başka bir çalışmada 5 yaşında bir erkek ve 5 yaşında bir kız çocuğunda yine aynı belirtiler gözlenmiş ve buna *T. canis*' in neden olduğu bildirilmiştir (Moreira-Silva ve ark., 2004).

Türkiye' de serolojik tanı yöntemleri ile yapılan çalışmalarda insanlardaki visceral larva migrans enfeksiyonunun yaygınlığı % 29.76-75.0 olarak belirtilmiştir (Özcel ve Altıntaş, 1987).

Toxocara canis' in fazla miktarda yumurta üretmesi nedeniyle köpek barındıran alanlarda insanlar için yüksek oranda visceral larva migrans riski olduğu bildirilmiştir (Donovich ve Burriğht, 1987).

1. 4. Oküler Larva Migrans

Oküler larva migrans (OLM) tipik olarak çocuklarda ve genç yetişkinlerde olur. Genellikle az sayıda yumurta ile gelişen enfeksiyonlarda ortaya çıkar (Sharkey ve Mckay, 1993). En genel belirtisi görme kayıplarıdır. Funduskopi ve biomikroskopik çalışmalar uveitis, endoftalmitis, papilitis, retinal granulomatoz lezyonları ve periferel camsı cisimde iltihaplı kitleler olduğunu göstermiştir (Magnaval ve ark., 2001).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Toxocariasis' in patolojisi ve immunolojisi hakkında birçok bilimsel araştırma yapılmış olmasına rağmen, insanlar üzerindeki etkisi konusunda gerek ülkemizde gerekse dünyada oldukça sınırlıdır. Epidemiyolojik çalışmaların çoğu yetişkinlere göre daha fazla risk altında olan çocuklarda yapılmıştır (Ayçiçek, 1999).

Schantz, Amerika Birleşik Devletleri' nde toxocariasis tanısının serolojik olarak doğrulanması amacıyla her yıl ortalama 2 600-3 500 serum örneğinin Hastalık Kontrol Merkezine gönderildiğini, bu örneklerin TES antijeni kullanılan ELISA yönteminde yaklaşık % 25-33 oranında pozitif olduğunu, gelişmekte olan tropikal ülkelerdeki çocuklarda ise % 50-80 oranında seropozitiflik görüldüğünü bildirmektedir (Ayçiçek, 1999).

Kuman ve Altıntaş, hastalığın laboratuvar tanısıyla ilgili çalışmalarında parazite ait kullandıkları antijenik yapılarla ve immünolojik yöntemlerle alınan sonuçların yeterli duyarlılıkta olmadığını, indirekt hemaglutinasyon testinde, antijen olarak erişkin *T. canis* kullanıldığında % 44.28 oranında seropozitiflik saptandığını bildirmektedirler (Ayçiçek, 1999).

T. canis larvalarının göç yollarının ortaya konması amacıyla yapılan çalışmalarda dışkıdan toplanan yumurtalar veya köpek bağırsaklarından toplanan dişi parazitlerden elde edilen yumurtalar kullanılmaktadır (Pişkin, 1995).

Mikrodalgalarla uyarılmış *T. canis* yumurtaları üzerine yapılan bir çalışmada Boucher ve ark., (1986) yumurta kabuğunda bazı morfolojik bozulmaların yanı sıra, blastomer yapısında da radyasyona bağlı yıkımlanma ve değişimlerin oluştuğunu ve buna bağlı olarak da larvaların gelişemediğini belirtmişlerdir.

Barriga ve Myser, X ışınlarıyla uyarılmış 2000 *T. canis* yumurtası ile fareleri enfekte ederek, enfeksiyon oranının normal yumurtalarla enfekte edilen farelere oranla daha az olduğunu kaydetmişlerdir (Barriga ve Myser, 1987).

Keleş ve ark. yaptıkları bir çalışmada bir grup fareye *T. canis* yumurtası, diğer bir grup fareye de *T. canis* ile enfekte civcivlerin karaciğerlerinin yedirilmesini karşılaştırmışlar ve karaciğerle daha fazla etki ettiğini belirtmişlerdir (Tüzer ve ark., 2002).

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda fare dokularında larvaların serbest veya kapsüllenmiş şekilde bulunabildikleri bildirilmiştir (Bisseru, 1969).

T. canis ile enfekte edilen hamile farelerde CD4+ ve CD8+ T hücrelerinde artış olduğu ve enfekte dişilerin % 54' ünden fazlasında düşük meydana geldiği belirtilmiştir (Reiterova ve ark., 2004).

T. canis ile ilgili çeşitli ilaç denemeleri de yapılmıştır. Ancak Türkiye' de bu konudaki çalışmalar sınırlıdır.

Yapılan çalışmalarda deneysel olarak visceral larva migrans oluşturulan farelerde enfeksiyondan 15 gün sonra levamizol hidroklorid ve ivermektini dört doz halinde 15 gün uygulamıştır. Kontrollere oranla kaslardaki larvaların % 17 oranında azaldığı fakat toplam parazit sayısında bir değişiklik olmadığını belirlenmiştir (Carillo ve Barriga, 1987).

Visceral larva migrans oluşturulan farelerde tiabendazolün ağızdan uygulanmasının göçü durdurmadığı, % 0.25 veya daha yüksek oranda ilaç içeren yem yedirmenin ise göçü önemli ölçüde durdurduğunu bildirilmiştir (Abdel-Hameed, 1984).

Lamina yaptığı bir çalışmada, *T. canis* ile deneysel olarak enfekte edilen farelere 4 mg dozda trikloroformun 6 ve 14. günler ile 9 ve 15. günler arasında iki kez oral yolla uygulanması ile larva sayısında belirgin bir azalma oluştuğunu bildirmiştir (Pişkin, 1995).

Yapılan çalışmalarda, deneysel olarak *T. canis* ile enfekte edilen farelere 12.5 mg. tek doz dietilkarbamazin ve benzimidazol karbamatlar (mebendazol, oksfendazol, albendazol, fenbendazol) uygulandığında, kullanılan anthelmintiklerden hiçbirinin beyindeki larva sayısını azaltmadığı bildirilmiştir (Wiseman ve ark., 1971).

Yarsan ve ark. (2003) *T. canis* ile enfekte edilen farelerde albendazolün kullanımının eozinofil miktarını azalttığını belirtmişlerdir.

Pişkin (1995) yaptığı bir çalışmada *T. canis*' e levamizol hidroklorid maddesinin ivermektin ve albendazol maddelerine göre daha çok etki ettiğini bildirmiştir.

Laboratuvar çalışmalarında kemirici hayvanların yanı sıra kanatlı hayvanlar da kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda bildircinlarda deneysel olarak toxocariasis gelişebildiği ve larvaların çoğunlukla karaciğerde yoğunlaştığı bildirilmiştir. Ayrıca, güvercin ve tavukların da paratenik arakonak olduğu belirtilmiştir (Paharı ve Sasmal, 1990).

Öge, *T. canis* yumurta gelişimine ve faredeki iç organ larva göçüne radyasyonun etkisini araştırmış ve yumurta içindeki larva gelişiminin radyasyon doz artışına bağlı olarak azaldığı, iç organ larva göçünü engellediğini bildirmiştir (Öge, 1995).

T. canis yumurtalarında enfektif larvanın geliştirilmesi, yumurtaların değişik ısı derecelerinde % 0.5-1' lik formol içinde tutulmasıyla sağlanmaktadır. İkinci dönem enfekte larva taşıyan yumurta elde etmek için Sommerfelt ve ark. (2001) 28°C' lik etüvde 35 gün, Abdel-Hameed (Pişkin, 1995). 28°C' lik etüvde 30 gün, Carillo ve Barriga (1987) 23°C' lik ısıda 4 hafta, Abo-Shehada ve ark. (Pişkin, 1995) 28°C' lik ısıda 15 gün tutarak geliştirmişlerdir.

T. canis yumurtalarıyla enfekte edilen farelerin yaşı ve cinsiyeti her araştırmada farklı olmuştur. Bazı araştırmacılar fareleri yaşına, cinsiyetine göre, bazıları ise ağırlıklarına göre gruplandırmışlardır. Abo-Shehada ve ark. (Pişkin, 1995) cinsiyet ve yaşına göre gruplandırırken, Abdel- Hameed (Pişkin, 1995) 25-30 gramlık erkek fare kullanmıştır. Çiğdem (1995), doktora çalışmasında 3-5 haftalık erkek fare kullanmıştır.

2.1. Teşhis

Köpeklerde teşhis dışkıda karakteristik yumurtaların görülmesiyle konur. Dışkı veya kusmukla dışarı atılan olgun parazitler ise erkeklerinin arka kısmında parmak şeklindeki bir çıkıntı bulunmasıyla teşhis edilir (Soulsby, 1982).

T.canis' in insanlardaki teşhisinde radyoloji, patolojik incelemeler, ELİSA, western blot gibi teknikler kullanılır (Magnaval ve ark., 2001). Hipokondrial ağrı, ateş ve eosinofili olan hastalarda ultrasonografi kullanılır. Serebral lezyonları olan hastalarda manyetik rezonans (MRI) kullanılır. En genel kullanılan yöntem ELİSA yöntemidir. Bunun için hazır kitler kullanılır. Okuler larva migransın teşhisinde antikor testleri için vitröz sıvı kullanılabilir (Bowman ve Griffiths, 2000). Parazit larvaları; virüs, bakteri veya funguslardan daha kompleks organizmalar oldukları için oluşturdukları hastalıkların serolojik tanısında duyarlılık ve özgüllüğü arttırmak amacıyla parazit etkenine ait spesifik protein yapılarının kullanılması gerçeği ortaya çıkmaktadır. Günümüzde toxocariasis' in serolojik tanısında, *Toxocara canis* larvalarına ait ekskretuar-sekretuar (ES) antijenlerin kullanılması ile yapılan ELİSA testinden yüksek duyarlılık ve özgüllükte sonuçlar elde edildiği görüşünde birleşilmektedir (Ayçiçek, 1999; Yamasaki ve ark., 2000; Noordın ve ark., 2005).

Ayrıca IHAT (İndirekt Hemaglutinasyon Testi), IFAT (İndirekt Floresan Antikor Testi), CFT (Kompleman Fikzasyon Testi), ID (İmmunodifüzyon), EIA (Enzim İmmunoassay), RIA (Radio Immunoassay) testleri kullanılmaktadır (Sarımehmetoğlu, 1995). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ELİSA' nın IFA testinden daha değerli olduğu bildirilmiştir (Ayçiçek ve Tanyüksel, 2003).

2.2. Tedavi

2.2.1. Kimyasal ilaçlar

Çok miktarda antihelmintik ilaçlar tedavi amaçlı kullanılmıştır. Benzimidazol türevleri olan tiabendazol (TBZ), mebendazol (MBZ) ve albendazol (ABZ) bunlardan bazılarıdır.

Bu ilaçların alınması çeşitli yan etkiler göstermiştir. TBZ ağız yoluyla hastalara verildiğinde hastaların % 50-60' ında baş dönmesi, mide bulantısı ve kusma gibi yan etkiler görülmüştür. En iyi tedavide MBZ % 70 etki ederken tedavi edilen kişilerin % 17' sinde zayıflama, baş dönmesi, mide bulantısı, karın ve gastrik ağrı gözlenmiştir. ABZ en az yan etkisi olan ilaçtır ve son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Magnaval ve ark., 2001).

Dietilkarbamazin (DEC) ve MBZ ile ilgili yapılan çalışmalarda hastaların %28'inde zayıflığın arttığı, baş dönmesi, mide bulantısı ve kusma gözlendiği bildirilmektedir. İvermektinin yüksek etki gösterdiği bildirilmiştir (Bowman ve Griffiths, 2000) ve OLM üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir (Magnaval ve ark., 2001).

Pirantel ve febendazol' ün etkisi üzerine yapılan bir çalışmada her iki ilacın da *T. canis* üzerine etkisinin aynı olduğu ve bu ilaçların yüksek dozda alınımında hipodermis, uzun kaslar, bağırsak, sinir kordonu ve genital organlara geri dönüşümsüz hasar bıraktığı bildirilmiştir (Mehlhorn ve ark., 2003).

2.2.2. Alternatif tedavi

Bitkiler, eczacılıkta, gıda, baharat, içki hazırlama, dericilik, kozmetik ve parfümeri sanayinde, süs ve çevre düzenlenmesi gibi birçok değişik alanda kullanılırken bunun yanı sıra bitkisel ilaç olarak da birçok ülkede kullanılmaktadır Dünya Sağlık Örgütü' nün (WHO) tahminlerine göre dünya üzerinde 20.000' den fazla bitki türü tıbbi amaçlı ilaç olarak kullanılmaktadır (Wagner ve Fransworth, 1990).

a) *Nigella sativa L.* Nigella türleri tek yıllık bitkilerdir. Çiçekler aktinomorf, tek ve tabanda ince parçalı yapraklardan yapılmış bir involukrum ile sarıdır. Korolla 5 petalli, nektaryum 5 tanedir. Meyve çok tohumlu, stilus meyva tepesinde uzun ve dışa doğru kıvrık olarak kalır (şekil 2.1.). Ülkemizde 12 türü yetişmektedir (Işık, 2003).



Şekil 2.1. *Nigella sativa* 'nın bir görüntüsü (Anonymus, 2005)

Nigella sativa Ranunculaceae (Düğünçiçeğigiller) familyasına ait, 20-30 cm yükseklikte, çiçeği mavimsi renkte bir bitkidir (Al-Awadi ve Gumaa, 1987). *Nigella* kelimesi Latince siyahımsı anlamına gelen *nigellus*'tan gelmektedir. Ülkemizde bu bitki için çörekotu, ekilen çörekotu, kara çörekotu ve siyah kimyon gibi isimler kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

Dünyada Güney Avrupa, Rusya, Sudan, Etiyopya, Suriye, İran, Afganistan ve Hindistan gibi ülkelerde yetiştirilirken (Türker ve Bayrak, 1997), yurdumuzun batı ve orta anadolu kısımlarında (Afyon, Burdur, Isparta) yetişmektedir (Al-Awadi ve Gumaa, 1987). Anavatanı Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa' dır.

Bitkinin tohumları (şekil 2.2.) siyah ve köşelidir, uçucu yağ taşımaktadır. Bu bitkinin tohumları, aromatik özelliğinden dolayı gıda sanayiinde, bazı gıdaları süslemede (bisküvi, çörek vb.) ve lezzet verici olarak tulum, çökelek gibi yiyeceklerde kullanılmaktadır (Salemaı ve Hossainb, 2000). Ayrıca çeşitli hastalıkları tedavi amaçlı olarak ilaç olarak da kullanılmaktadır.



Şekil 2.2. *N. sativa* (çörek otu) tohumları (Anonymous, 2000.)

N. sativa (çörek otu) tohumları birçok ülkede bronşial astım, romatizma, alerjik hastalıklar, çeşitli sindirim bozuklukları ve parazit enfeksiyonlarında kullanılmaktadır ve doğru dozda ve doğru şekilde kullanıldığında herhangi bir yan etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Haq ve ark., 1995; Haq ve ark., 1999; Ali ve Blunden, 2003).

Yunanlı doktorların yaptıkları çalışmalarda bu bitkinin baş ağrısına, diş ağrısına ve bağırsak kurtlarına etki ettiği bildirilmektedir. Ayrıca bu bitkinin tohumlarının lohusalıkta sütü arttırdığı, menstrasyonu düzenlediğini ve diüretik olarak kullanıldığını bildirmektedirler (Sahih, 2004).

Bazı araştırmalar sonucunda *N. sativa* tohumlarının immün sistemin yardımcı T (Th) ve sitotoksik T (Tc) hücre oranlarında % 70 artış sağladığı, farelerde yapılan çalışmalarda cisplatin ve ifosamide (IFO) kemoterapisinde sitotoksik ilacın antitümör etkisini arttırdığı ve sitotoksik ilaca bağlı yan etkileri azalttığı kanısına varılmıştır (Nair ve ark., 1991).

N. sativa tohumları T lenfositlerinden interlökin-3 (IL-3) salgılanmasını artırır. Makrofajlara direkt etkisinin bu interlökinlerle olduğu düşünülmektedir (Haq ve ark., 1995; Haq ve ark., 1999).

N. sativa mast hücrelerinden histamin salınımını engellemektedir. Ayrıca, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis* ve dış çürüklerine neden olan çeşitli bakterilere karşı antibakteriel etki gösterdiği bildirilmiştir. *N. sativa*'nın bu antibakteriel özelliğinden yararlanarak bazı besinlerin saklanması koruyucu olarak da kullanılabilir (Hanafy ve Hatem, 1991).

N. sativa'nın kimyasal içeriğinde 100' den fazla madde bulunduğu bildirilmiş, bu maddelerin %38'i karbonhidrat (glukoz, ksiloz, arabinoz) (Işık, 2003), %0.38-0.49 uçucu yağ, %30-40 sabit yağ, %20-30 protein, saponin, melantin, nigellin ve tanen olduğu bildirilmiştir (Türker ve Bayrak, 1997).

Ayrıca Thymoquinone (TQ), Nigellone, Arjinin, linoleik asit, oleik asit ve enzim fonksiyonları için ko-faktör rolü oynayan kalsiyum, potasyum, demir, çinko, magnezyum, selenyum ve vitaminlerden A, B, B2, C vitamini ve Niasin bulunmaktadır. Aldığımız gıdaların bazılarının doğal olmadığını ve vücudumuzda kansere neden olabilecek serbest radikallerin yıkımını da düşündüğümüzde, *N.sativa*' da bulunan yağ asitleri sayesinde serbest radikaller bağlanarak vücuttan atılabilirler (Sahih, 2004).

Çörekotu tohumunun kimyasal bileşimi üzerine yapılan çalışmaların bazı sonuçları birbiri ile çelişkilidir. Bileşim, tohumların yetiştirildiği iklim, tür, hasat ve bileşimin saptanmasında kullanılan tekniğe bağlı olarak değişmektedir (Türker ve Bayrak, 1997).

N.sativa tohumlarından elde edilen TQ'nun insektisit, antibakteriel, antitümöral, bronkodilatör, hipotansif ve antioksidant etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Salomi ve ark., 1992; Burits ve Bucar, 2000).

Akgül, çörekotunda %5-7 su, %3,7 kül, %30-40 sabit yağ, %0.01-01 uçucu yağ ve nigellin, melantin, %20-30 protein ve %1.06 Ca bulunduğunu bildirmiştir (Akgül, 1993).

Tohumu oluşturan diğer kimyasal bileşenler; β -sitosterol (% 69.4), stigmasterol (% 18.6) ve kampesterol (% 11.9)' dur. Ayrıca tohumda B vitamini bulunmaktadır (Nergiz ve Ötleş, 1993).

Çörekotu, 2000 yılı aşkın bir süredir Uzak Doğu ve Orta Doğu ülkelerinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Mahfouz ve El-Dakhakhny, 1960). Bir araştırmada, çörekotunun çeşitli kanser hücrelerine sitotoksik etki ettiğini, hücrel aktivasyonu arttırdığı ve tümör hücrelerine özgü antikörlerin sayısını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca, normal hücrelere olumlu etki yaptığı belirtilmiştir (Swamy ve Tan, 2000; Medenica ve ark., 1993).

Elkadi ve Kandil (1987), insanlar üzerine yaptıkları araştırmada çörekotu verilen insanlarda T4:T8 oranının %72 ve NK hücrelerinin oranının da arttığını göstermiştir (Kaya, 2002).

Çörekotunun uçucu yağ asitlerinin kullanıldığı araştırmalarda antibakteriel, antifungal ve tenyaya karşı antihelmintik etki gösterdiği ve çocuklar üzerinde yapılan çalışmalarda da sestodlara karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Rathee ve ark., 1982). Ayrıca uçucu yağın atardamar kan basıncını ve kalp atışını düşürdüğü belirtilmiştir (El-Tahir ve ark., 1993).

Çörekotu ile yapılan başka bir çalışmada bazı gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere etki ettiği, gram-negatiflere daha çok etki ettiği bildirilmiştir (Morsi, 2000). Ayrıca, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus fecalis*'in gelişimini olumsuz etkilediği belirtilmiştir (Saxena ve Vyas, 1986).

Kobay ve ratların üzerine yapılan bir çalışmada çörekotu tohumlarının uçucu yağının uterusun düz kaslarının spontan hareketlerini ve oksitosin stimülasyonunun neden olduğu olumsuz etkileri inhibe ettiği bildirilmiştir. Çörekotu tohumlarının uçucu yağının antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (Aqel ve Shaheen, 1996).

Yapılan çalışmalar, çörekotu tohumunda bulunan timokinon (TQ), ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ), timol ve nigellon' un uçucu yağlar oldukları ve bunlardan nigellon ve timokinon' un etken madde oldukları bildirilmektedir (Worthen ve ark., 1998).

Sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada etanol ile indüklenmiş ülser ve gastrik sekresyona *N.sativa* yağının etkisi incelenmiştir. İnceleme sonucunda *N.sativa* yağının koruyucu etkisinin olduğu ve bu koruyucu etki ile, etanol ile indüklenen ülserin sonlandırılacağı bildirilmiştir (El-Dakhkny ve ark., 2000).

Yapılan başka bir çalışmada, *N. sativa* tohumları ve çeşitli reçinelerden (myrrh, assafoetida, aloe ve olibanum) oluşan karışım diabetli ratlarda kullanılmış ve insülin salınımını intestinal glukoz emilimini baskılayarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Al-Awadi ve Gumaa, 1987).

Kanserli hastaların kemik iliği üzerine yapılan bir çalışmada çörekotunun kanserli hücreleri öldürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca, NK CD3-/CD56+, CD3, CD4, CD 8, CD38, CD37, CD19 ve CD33 yüzey markırlarını arttırdığı ve immün sistem ile ilgili hücrelerin sayılarını arttırdığı bildirilmiştir (Medenica ve ark., 1993).

N. sativa proteinlerinin antioksidan etki gösterdiği ve immün cevabı düzenlediği bildirilmiştir (Badary, 1999; Burits ve Bucar, 2000). *N. sativa* yağı üzerine yapılan bir çalışmada ratlarda lökosit ve trombosit sayısını azalttığı ve hemoglobinin miktarını arttırdığı gözlenmiştir (Zaoui ve ark., 2002).

N. sativa tohumlarının koruyucu özelliği üzerine yapılan bir çalışmada, schistosomiasis ile enfekte edilen fare hücrelerine *N. sativa* tohum ekstresi ve thymoquinone (TQ)' nun etkisi araştırılmıştır. Schistosomiasis' den kaynaklanan kromozomal sapmalara karşı *N. sativa* tohum ekstresi ve thymoquinone (TQ)' nun koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Aboul-Ela, 2002).

Yapılan araştırmalarda *N. sativa* yağının çeşitli parazitler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Rathee ve ark., 1982; Haq ve ark., 1999; Mahmoud ve ark., 2002; Ali ve Blunden, 2003).

Mahmoud ve ark.' nın yaptıkları bir çalışmada farede *Schistosoma mansoni*' nin enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hasarına karşı *N. sativa* yağının etkisi araştırılmıştır ve karaciğerdeki larva miktarını azalttığı, karaciğerdeki ve ince bağırsaktaki yumurta sayısını azalttığı bildirilmiştir (Mahmoud ve ark., 2002).

N. sativa' nin toksisitesi üzerine yapılan bir çalışmada düşük miktarda toksisitesinin olduğu belirtilmiştir. Serum kolesterol, trigliserid ve glukoz düzeyini ve lökosit ve platelet miktarını azalttığı, hematokrit ve hemoglobinin düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (Zaoui ve ark., 2002).

Hepatoksisitesi üzerine yapılan başka bir çalışmada ise hepatositler üzerine olumsuz herhangi bir etki bulunamamıştır. Ancak serum gamma-glutamil transferaz ve serum alanin aminotransferaz oranını arttırdığı belirtilmiştir (Tennekoon ve ark., 1991).

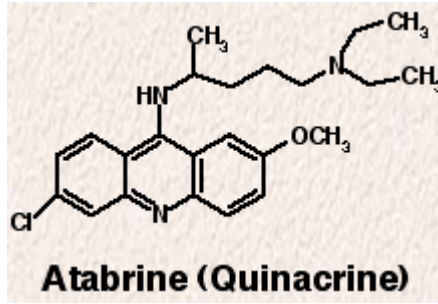
N. sativa (çörek otu) tohumları birçok ülkede bronşial astım, romatizma, alerjik hastalıklar, çeşitli sindirim bozuklukları ve parazit enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Haq ve ark., 1999; Ali ve Blunden, 2003). Çörekotunun uçucu yağ asitlerinin kullanıldığı araştırmalarda antibakteriel, antifungal ve tenyaya karşı antihelmintik etki gösterdiği ve çocuklar üzerinde yapılan çalışmalarda da sestodlara karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Rathee ve ark., 1982).

Mahmoud ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada farede *Schistosoma mansoni*'nin enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hasarına karşı *N. sativa* yağının etkisi araştırılmıştır ve karaciğerdeki larva miktarını azalttığı, karaciğerdeki ve ince bağırsaktaki yumurta sayısını azalttığı bildirilmiştir (Mahmoud ve ark., 2002).

b) Quinacrine İlk olarak 1920'lerde Almanya'da geliştirilmiş ilk kullanımı 1930'larda antimalaryal tedavi olarak II. Dünya savaşında askerler üzerinde yapılmıştır. Daha sonra Amerika'da birçok çalışan insan profilaktik amaçlı olarak günde 100 mg. almıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda quinacrinin başka amaçlarla da kullanılabileceği bildirilmiş, 1979 yılında ilk kez lupus adı verilen deri tüberkülozuna etki ettiği Edmund Dubois tarafından belirtilmiştir (Wallace, 1989).

Quinacrine'in atabrine, mepacrine, atebriane, chinacrine, erion, acriquine, acrichine, palacrine, quinacrine dihydrochloride, quinacrine hydrochloride, quinacrine dimesylate, metoquin ve balchin gibi sinonimleri de kullanılmaktadır.

Quinacrine'in kimyasal yapısı $C_{23}H_{32}Cl_3N_3O \cdot 2H_2O$ şeklindedir (anonim, 2000).(şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Quinacrine'in yapısı (Brodie, 1987)

Quinacrine parlak sarı renkte, kokusuz, sert ve suda çözünebilir (1:35) bir yapıdadır. İçeriğinin %80' i quinacrin, geri kalan kısım ise nişasta, talk pudrası (su ihtiva eden magnezyum silikat) ve stearik asittir (Wallace, 1989).

Genellikle yemekten sonra bol su ile ağızdan alınır. İlaç hızla emilir, şiddetli ishal bulunması durumunda bile hızla emildiği bildirilmiştir. Plasmadaki seviyesi 2 ile 4 saatte artar, 8 ile 12 saatte pik yapar. Plasmadaki yoğunluğu ilk hafta hızla artar ve 4 hafta içinde %94' ü dengeye ulaşır. Dokudaki yoğunluğu oldukça yüksektir. Yoğunluğunun en yüksek olduğu organlar karaciğer, dalak, akciğerler ve adrenal bezlerdir. Yoğunluğunun en düşük olduğu yerler ise beyin, kalp ve iskelet kaslarıdır (Wallace, 1989).

Quinacrine deride ve deri kökenli oluşumlarda özellikle tırnak ve koyu renkli saçlarda birikir. Plasentaya ve fetusa geçebilir. İlacın % 80-90' ı tedaviye bağlı olarak çeşitli dozlarda plazma proteinlerine bağlanır. Vücuttan atılımı yavaş olur. Bir kısmı ter ile, bir kısmı süt yoluyla, bir kısmı tükürük vasıtasıyla, bir kısmı da safra yoluyla dışarı atılır. Yaklaşık olarak % 11' lik bir kısmı günlük idrarla atılır (Wallace, 1989).

Vücuda alınan quinacrinin çeşitli etkileri vardır. Bunlar antiprostaglandin etki, platelet agregasyon inhibisyonu, DNA ve RNA polimerazın inhibisyonu ve baskılanması, antioksidant, antihemoliz, nötrofil ve lizozomun stabilizasyonu, Na-Ca yerdeğişiminin engellenmesi, hormonal etkileşim, bradikinin ve histamin antagonizasyonu, antiproliferatif / antimitojenik etkiler, fotokimyasal engelleme, antikolinesteraz ve simpatolitik A ve immünolojik cevap üzerine çeşitli etkileri vardır. Antiprostaglandin etkide fosfolipaz A2' nin güçlü inhibitörü olarak görev yapar. Bu etkide direkt olarak fosfatidil etanol amin başta olmak üzere membran fosfolipidlerinde olur. Quinacrine fibrinojenin bağlanmasını inhibe eder, trombin platelet bağlanmasını indükler ve adenosin difosfat (ADP)-platelet agregasyonu indükler. Komşu baz çiftleri arasında eklem yaparak DNA' yı bağlar. Bu bağ DNA' yı sağlamlaştırır, ısıyla denatürasyonu, enzimatik depolarizasyonu ve RNA transkripsiyonu ve translasyonunu inhibe eder (Wallace, 1989).

Quinacrine antileishmanial, anti giardial, antimalarial ve antitrypanosomal olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Kütenoz leishmanyazın tedavisinde ve Trypanosoma cruzi' ye karşı in vitro aktivitesinde kullanımı bilinmektedir (Chibale ve ark., 2001).

Quinacrine' in diğer sitotoksik kimyasallardan farklı olarak yüksek doz ve uzun periyotlarla ağızdan alındığında gastrointestinal sistem için zararsız olduğu ve kültür ortamında hücelere quinacrine ilave etmenin hücrede toksik etkiye neden olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca yapılan araştırmalarda, quinacrinin alınmasından bir süre sonra makrofajların, NK ve CD4+ hücrelerin arttığı belirtilmiştir. Bundan başka, interlökin 1β, 2, 4 ve 10' nın arttığı bildirilmiştir (Sotelo ve ark., 2004).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. *Toxocara canis*' in Bulunması ve Saklanması

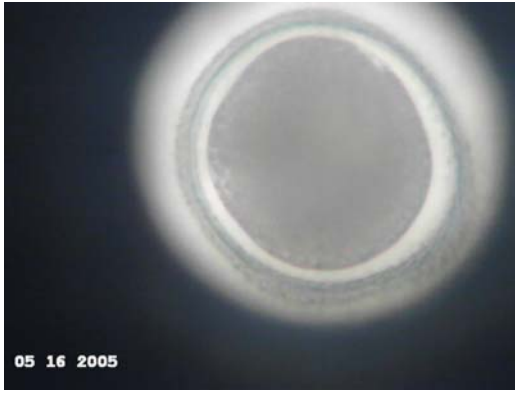
Benzer çalışmalarda sokak köpekleri ile mücadele programı çerçevesinde itlaf edilen köpeklerin kullanıldığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada canlıların yaşam hakkına saygı ilkesi hassasiyetle gözetilerek çeşitli nedenlerle kendiliğinden ölen köpekler kullanıldı. Bunu sağlamak için Şanlıurfa Belediyesine ait köpek barınağından yeni ölmüş köpeklerin cesetleri alındı. Doğal olarak, köpeklerin kendiliğinden ölmesi beklendiği için sabır ve takip gerekti. Dolayısıyla, çalışmanın bu husustaki araştırma safhası geniş zaman aldı.

Yeni ölmüş köpekler Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesine getirildi. Burada bağırsakları açılarak *T. canis*' ler toplandı. Petri kutularına alınarak temizlendi. Daha sonra parazitler fizyolojik tuzlu su içine alınarak kullanılacağı güne kadar cam kavanoz içerisinde +4 °C' de buzdolabında saklandı.

3.2. Yumurtaların Elde Edilmesi

Parazitlerin cinsiyet ayrımları yapılarak seçilen dişi parazitlere pensle önden arkaya doğru bastırarak uterustan yumurtalar boşaltıldı. Elde edilen yumurtalar 2000 devirde 3 dakika santrifüj edildi. Daha sonra bu yumurtalar % 0.5' lik formol (herhangi bir mantar ve bakteri oluşumuna karşı) içerisinde 30 °C' lik etüve konuldu.

Yumurtalar içlerinde enfektif larva (şekil 3.1.b, 3.1.c) tam gelişinceye kadar 20 gün süreyle etüvde bekletildi. Bu arada yumurtadaki larva gelişimi periyodik olarak kontrol edildi, yumurta süspansiyonu ince uçlu bir fırça ile sık sık karıştırıldı. Enfektif larva geliştikten sonra yumurta süspansiyonu 3000 devirde 3 dakika santrifüj edilerek üstteki formol kısmı alındı ve yerine aynı miktarda fizyolojik tuzlu su eklendi. Yumurtalar neubar sayım lamı ile sayıldı. Daha sonra 1 ml fizyolojik tuzlu suda 500 adet yumurta olacak şekilde sulandırıldı.



a)



b)



c)

Şekil 3.1. a) Embrio gelişmemiş (x40), b) ve c) embrio gelişme aşamasında (x40) olan *Toxocara canis* yumurtası

3.3. DeneY Hayvanı Seçimi, Bakım ve Beslenmesi

DeneY hayvanı olarak 25 ± 2 gr. balb/c cinsi beyaz, erkek fareler kullanıldı. Denemelerde kullanılan bütün fareler İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümünden temin edildi. Araştırma süresince Ankara Yem Fabrikası' nın özel fare yemi ile beslendi ve musluk suyu verildi. Ankara Yem Fabrikasından temin edilen yemin bileşiminde bulunan yemin katkı maddeleri, Çizelge 3.1' de gösterilmiştir. Üzeri tel muhafazalı 40×20×15 cm boyutlarında kafesler kullanıldı.

Bu deneYde 80 adet fare 8 eşit gruba ayrıldı. Her grup bir kafese konuldu.

Çizelge 3.1. DeneY hayvanlarına verilen yemin bileşimi

Yem Maddeleri	Yüzdesi
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
Kemik Unu	4
Melas	4
Tuz	4
Vitamin Karması	1
Mineral Karması	1

3.4. Farelerin *Toxocara canis* Yumurtaları ile Enfekte Edilmesi

Farelerin enfektif larva taşıyan *T. canis* yumurtaları ile enfekte edilmelerinde kullanılacak yumurta sayısı, bu yumurtaların ne miktarda sıvı içinde ve ne şekilde verileceği konusunda da yapılan araştırmalarda değişik kaynaklar bulunmaktadır (Carillo ve Barriga, 1987; Pişkin, 1995).

Bu çalışmada enfeksiyondan önce farelere çalışma sonucunu etkileyebilecek herhangi bir ilaç uygulanmadı. İlaç ve kontrol grubu farelere 0.5 cc fizyolojik tuzlu su içinde ortalama 500 larvalı yumurta, ucuna özel bir iğne takılı 1cc.lik bir enjektör yardımıyla ağız yoluyla verildi. Enjektöre her yumurta süspansiyonu çekildiğinde, kap iyice çalkalandı ve enjeksiyondan önce de yumurtaların homojen dağılabilmesi için enjektör alt üst edildi. Her enjeksiyondan sonra da hem enjektör hem de iğne su ile iyice yıkandı.

3.5. Deneyde Kullanılacak Bitkisel İlaçların Hazırlanışı

3.5.1. *Nigella sativa* ekstresinin hazırlanışı

N.sativa bitki tohumları temizlenerek suda yıkandı ve kurutuldu. Daha sonra elektrikli öğütücü ile öğütülerek toz haline getirildi. % 100' lük metanol içerisine bırakılan toz halindeki bitki tohumu 24 saat bekletildi, daha sonra süzülerek tortusu atıldı. Basınç altında rotary evaporator vasıtasıyla metanol uzaklaştırıldı. Elde edilen *N.sativa* yağı deneyde kullanılmak üzere % 5' lik gum arabica ile karıştırılarak 100 mg./kg ve 200 mg./kg şeklinde hazırlandı.

3.5.2. Quinacrine dihydrochloride ekstresinin hazırlanışı

Quinacrine dihydrochloride (fluka) toz halinde hazır olarak alınarak distile su ile eritildi. 100 mg./kg. olacak şekilde hazırlandı. Her fareye 2.5 mg. quinacrine olacak şekilde 10 fareye 25 mg. hazırlandı.

3.6. Deneme Grupları Oluşturulması

Çalışma iki deneme halinde yürütüldü ve deneme 1' de 3 profilaktik grup oluşturuldu. Her grupta 10' ar fareden toplam 30 fare kullanıldı. Deneme 2' de 3 tedavi grup oluşturuldu. Her grupta 10' ar fareden toplam 30 fare kullanıldı. Ayrıca kontrol grup oluşturuldu.

Deneme 1' in amacı farelere parazit bulaştırmadan önce profilaktik olarak, deneme 2' nin amacı ise parazit bulaştırıldıktan sonra tedavi olarak bitkinin etkisini araştırmaktır.

Kontrol

Grup I: Normal farelerden oluşan kontrol gruptur.

Grup II: *T. canis* ile enfekte edilmiş kontrol gruptur.

Deneme 1

Grup III: 100 mgr. Quinacrine verilen profilaktik gruptur.

Grup IV: 100 mgr. *N.sativa* verilen profilaktik gruptur.

Grup V: 200 mgr. *N.sativa* verilen profilaktik gruptur.

Deneme 2

Grup VI: 100 mgr. Quinacrine verilen tedavi gruptur.

Grup VII: 100 mgr. *N.sativa* verilen tedavi gruptur.

Grup VIII: 200 mgr. *N.sativa* verilen tedavi gruptur.

3.7. Deneyin Yapılışı

Profilaktik gruplara sırasıyla 3. gruba 100 mgr. Quinacrine (şekil 3.2.), 4. gruba 100 mgr. *N.sativa* ve 5. gruba 200 mgr. *N.sativa* her gün ağız yoluyla verildi. Diğer gruplara ilaç olarak herhangi bir şey verilmedi. Bu durum 5 gün devam etti ve daha sonra farelerin kuyruklarından kan alınarak periferik yayma örnekleri hazırlandı. (şekil 3.3.a, 3.3.b).

Daha 6nceden hazırladığımız *T. canis* yumurtaları 7 gruptaki bütün farelere ağız yoluyla verildi. 24 saat beklendikten sonra kontrol grup haricindeki tüm gruplara (profilaktik ve tedavi) sırasıyla 100 mgr. quinacrine, 100 mgr *N.sativa* ve 200 mgr. *N.sativa* yine ağız yoluyla verildi. Bu durum farelerin otopsi yapıldığı güne kadar her gün devam etti. Daha sonra bütün farelerin kuyruk kısmından kan alınarak periferik yayma 6rnekleri hazırlandı. Aynı gün fareler dislokasyon tekniği ile 6ldrlerek karaciğer, akciğer ve beyinler alındı. Bu organlar ilk 6nce makroskobik olarak incelendi ve lezyonlar sayıldı.



Şekil 3.2. Fareye ağız yoluyla madde verilmesi



Şekil 3.3. a) Fare kuyruğunun kesilmesi

b) Fare kuyruğundan kan alınması

3. 7. 1. Kan preparatlarının hazırlanması ve lökosit sayımı

Farelerin kuyruk kısmından alınan kan fizyolojik su damlatılmış olan lama damlatılarak periferik yayma örnekleri hazırlandı. Daha sonra havada sallayarak kurutuldu. May- Grünwald Giemsa boyası ile boyandıktan sonra lökosit sayımı yapıldı. Her fareden 3 preparat hazırlandı. Her preparattan 100 ± 20 lökosit sayıldı. Lökositler monosit, lenfosit, nötrofil, bazofil ve eozinofil olmak üzere 5 grupta değerlendirildi.

3. 7. 2. Histolojik çalışmalar

Otopsi yapılacak fareler dislokasyon yöntemi ile öldürüldükten sonra parafin blok üzerine sırtüstü yatırıldı ve iğnelerle bacaklarından tespit edildi. Daha sonra göğüs ve karın boşlukları açılan farelerde bağlantıları kesilerek karaciğer, akciğerler ve beyin alındı. Önce makroskopik olarak parazitli ve parazitsiz lezyonlar sayıldı. Daha sonra karaciğer, akciğerler ve beyinden alınan parçalar formol içine alındı. Rutin parafin blok yöntemi ile $5\mu\text{m}$ ' lik kesitler alındı. Hematoksilen- Eosin ile boyama serilerinden geçirilerek mikroskopik olarak incelendi.

3.8. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, oluşturulan 8 gruptaki farelerden hazırlanan kan preparatları istatistiksel olarak incelendi. Parazit bulaştırmadan önceki ve sonraki profilaktik gruptaki farelerin lökosit sayıları karşılaştırıldı. Ayrıca profilaktik, kontrol ve tedavi gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı. Bu çalışmada bağımsız t-testi ile istatistiksel analiz yapıldı.

4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA

Bu alışma sırasında denemelerde T. canis yumurtaları ile enfekte edilen ve belirtilen doz ve srelerde seçilen ilaçlarla sağaltımı yapılan fare gruplarında gerek enfeksiyona gerekse ilaç uygulamasına bağlı herhangi bir klinik belirti gözlenmedi. Bütün gruplarda bulunan farelerin kan lökosit sayıları hesaplanarak ortalamaları değerlendirildi. Gruplardan elde edilen ortalama değerler aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sağlıklı kontrol grubunda kan lökosit değerleri

Grup I Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	4	0	65	37	3
2	2	0	72	28	2
3	2	0	72	30	5
4	3	1	71	22	5
5	2	0	59	32	2
6	7	1	67	27	3
7	2	0	21	16	2
8	2	0	88	14	2
9	2	0	73	29	4
10	5	0	79	16	5
ortalama	3.1	0.2	66.7	25.1	3.3

Çizelge 4.2. T. canis ile anefekte edilmiş kontrol grubunda kan lökosit değerleri

Grup II Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	15	1	55	36	5
2	19	0	59	31	4
3	12	0	57	28	7
4	19	0	63	32	5
5	15	1	52	28	9
6	14	0	46	37	8
7	12	0	66	27	3
8	16	0	74	44	2
9	12	0	66	31	5
ortalama	14.8	0.2	59.7	32.6	5.3

Çizelge 4.3. Profilaktik Quinacrine grubunda kan lökosit değerleri

Grup III Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	6	0	70	31	7
2	7	0	66	30	6
3	8	0	73	37	4
4	4	0	68	30	6
5	8	1	60	37	8
6	5	0	79	29	6
7	11	0	66	38	9
8	7	0	47	42	10
9	8	0	72	40	7
ortalama	7.1	0.1	66.7	34.8	7.0

Çizelge 4.4. Profilaktik 100 mg. *N. sativa* grubunda kan lökosit değerleri

Grup IV Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	6	0	73	33	7
2	7	0	58	41	10
3	5	0	64	31	6
4	11	1	53	30	9
5	8	0	67	42	8
6	10	1	61	34	12
7	8	0	58	36	13
8	6	1	58	26	8
ortalama	7.6	0.3	61.5	34.1	9.1

Çizelge 4.5. Profilaktik 200 mg. *N. sativa* grubunda kan lökosit değerleri

Grup V Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	8	1	59	33	7
2	7	0	51	49	9
3	10	0	67	33	7
4	4	0	70	36	11
5	8	0	55	43	5
6	10	0	59	36	6
7	6	0	59	31	7
8	8	1	52	38	10
9	6	1	54	30	4
10	11	0	61	30	4
ortalama	7.8	0.3	58.7	35.9	7.0

Çizelge 4.6. Tedavi Quinacrine grubunda kan lökosit değerleri

Grup VI Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	4	0	72	30	6
2	2	0	82	23	5
3	1	0	59	48	7
4	11	1	61	31	6
5	10	2	64	26	4
6	12	0	57	34	6
7	8	0	52	39	6
8	7	0	54	37	6
9	8	0	61	46	10
10	12	0	61	28	7
ortalama	7.5	0.3	62.3	34.2	6.3

Çizelge 4.7. Tedavi 100 mg. *N. sativa* grubunda kan lökosit değerleri

Grup VII Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	10	1	47	35	11
2	6	0	49	48	13
3	8	0	90	33	5
4	9	1	53	44	6
5	15	1	57	35	6
6	12	7	51	42	9
7	11	1	50	42	2
8	17	6	58	30	3
9	4	1	60	29	8
ortalama	10.2	2.0	57.2	37.5	7.0

Çizelge 4.8. Tedavi 200 mg. *N. sativa* grubunda kan lökosit değerleri

Grup VIII Kontrol	Eosinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1	7	4	52	45	5
2	12	0	64	42	5
3	10	2	41	47	9
4	11	3	50	33	10
5	15	0	66	33	7
6	14	5	63	26	4
7	4	1	70	31	8
8	10	1	47	31	7
9	10	0	57	36	7
10	4	1	60	41	10
ortalama	9.7	1.7	57.0	36.5	7.2

Bütün gruplarda bulunan farelerin kan lökosit yüzdeleri değerlendirildi, bu değerler izelge 4.9.' de verilmiştir. Çizelge 4.9.' den de görüleceği gibi eozinofil miktarında en fazla değişmeye neden olan profilaktik quinacrine' dir. Bunu tedavi quinacrine ve profilaktik Nigella grupları izlemiştir.

Çizelge 4.9. Lökosit sayısı yüzdelik sonuçları. (Her fareden  preparat hazırlanmıştır ve her preparattan ortalama 100 lökositin sayılmasından oluşan ortalamalarıdır, preparatlar May- Grünwald Giemsa ile boyanmıştır).

GRUP	EOSİNOFİL	BAZOFİL	NÖTROFİL	LENFOSİT	MONOSİT
Grup I	3.1	0.2	66.7	25.1	3.3
Grup II	14.8	0.2	59.7	32.6	5.3
Grup III	7.1***	0.1	66.7	34.8	7.0
Grup IV	7.6***	0.3	61.5	34.1	9.1**
Grup V	7.8***	0.3	58.7	35.9	7.0
Grup VI	7.5***	0.3	62.3	34.2	6.3
Grup VII	10.2*	2.0	57.2	37.5	7.0
Grup VIII	9.7**	1.7	57.0	36.5	7.2

P>0.05 (nemsiz).

* P<0.05 (nemli).

** P< 0.01 (ok önemli).

*** P< 0.001 (ileri düzeyde önemli).

Profilaktik ve tedavi grubundaki tüm farelerin kandaki lökosit hücreleri kontrol grupla karşılaştırılmaları ve istatistiksel değerlendirme ile ilgili toplu bilgi izelge 4.9.' de verilmiştir.

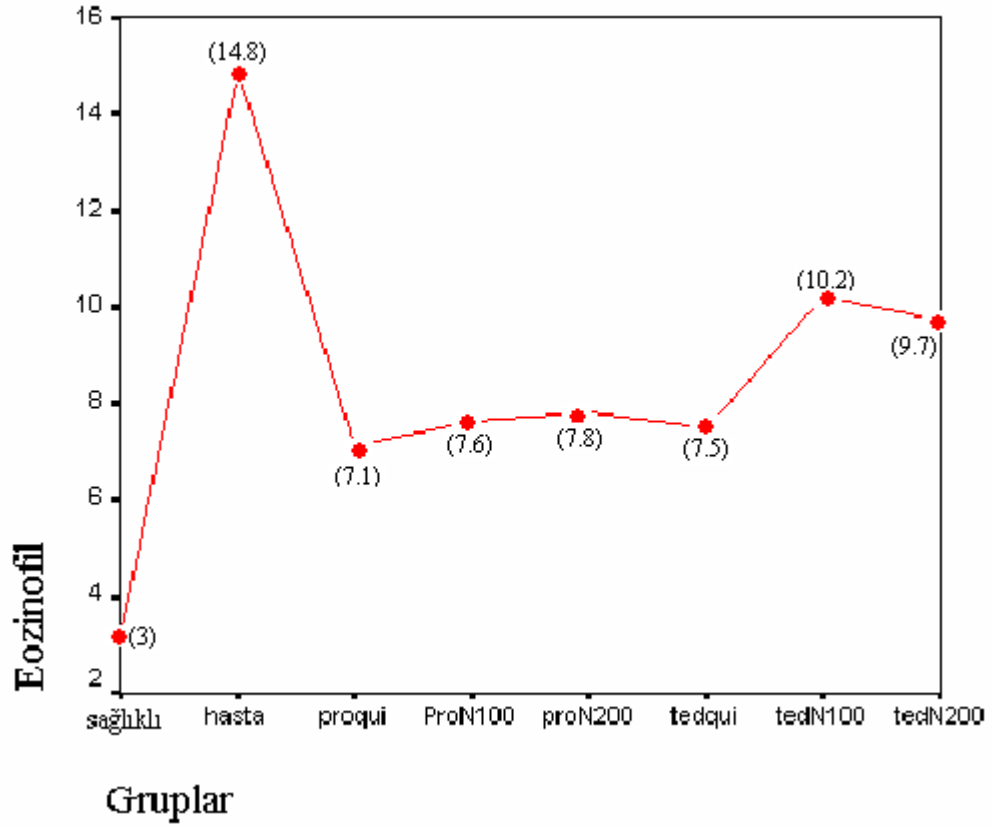
Yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda; profilaktik gruptaki tüm farelerin eozinofil miktarı ile kontrol gruptaki farelerin eozinofil miktarındaki farklılık ileri düzeyde önemli bulundu (p<0,001). Diğer lökositlerden bazofil, nötrofil ve lenfositin sayılarındaki farklılık önemsiz (p>0,05), monositin profilaktik *N. sativa* 100 mg.' da çok önemli (P<0,01), diğer gruplarda önemsiz (p>0,05) olduğu bulundu.

Tedavi grubundaki farelerle kontrol karşılaştırıldığında ise; eozinofil miktarındaki farklılık quinacrin grubunda ileri düzeyde önemli ($P<0,001$), *N. sativa* 100 mg. grubunda önemli ($P<0,05$) ve *N. sativa* 200 mg. grubunda çok önemli ($P<0,01$), bazofil miktarındaki farklılık quinacrine ve *N. sativa* 100 mgr.gruplarında önemsiz ($p>0,05$), *N. sativa* 200 mgr. grubunda önemli ($P<0,05$), nötrofil, lenfosit ve monosit miktarındaki farklılık tüm gruplarda önemsiz ($p>0,05$) olarak bulundu.

Bu çalışmada farelere parazit enfeksiyonundan önce kontrol grubundan (sağlıklı) kan alındı. Enfekte edildikten sonra tekrar kan alınarak karşılaştırıldı. Eozinofil sayısının 3.1'den 14.8'e çıktığı, lenfosit sayısının 25.1'den 32.6'ya çıktığı ve monosit sayısının 3.3'den 5.3'e çıktığı belirlendi. Eozinofil miktarının profilaktik quinacrine grubunda 7.1, profilaktik *N. sativa* 100 mg. grubunda 7.6, *N. sativa* 200 mg. grubunda 7.8, tedavi quinacrine grubunda 7.5, *N. sativa* 100 mg. grubunda 10.2, ve *N. sativa* 200 mg. grubunda ise 9.7 olarak bulundu (izelge 4.9.).

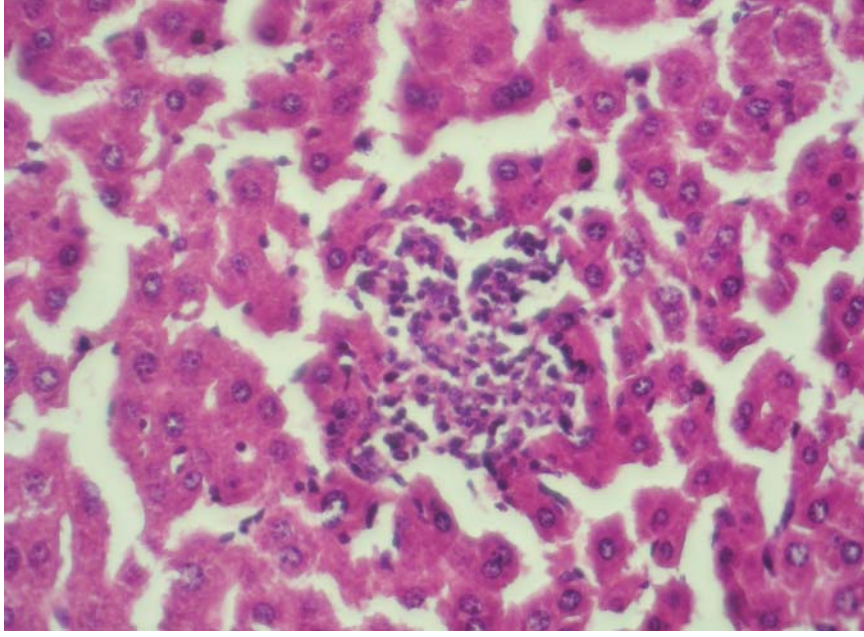
Parazit enfekte edilmemiş kontrol grupla diğer grupların istatistiksel karşılaştırılmasında eozinofil miktarının sağlıklı farelerdekinden ileri düzeyde arttığı ve bu artışın ilaç gruplarında azalma gösterdiği ve en fazla azalmanın profilaktik quinacrine gruplarında olduğu görülmektedir.

Bu durum grafiksel olarak incelendiğinde ise Şekil 4.1.' de de görüldüğü gibi sağlıklı kontrol gruptaki eozinofil miktarı 2 dzeylerindeyken parazitin enfekte edilmesiyle bu sayı 19 seviyelerine kadar artmıştır. Farelere ilaç verilmesiyle bu artışın azaldığı görülmektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi sağlıklı kontrol gruba en yakın eozinofil miktarı profilaktik ve tedavi amaçlı kullandığımız quinacrin gruplarındadır. Bunu profilaktik *Nigella sativa* 200 mg., *Nigella sativa* 100 mg. ve daha sonra da tedavi gruplar takip etmiştir.

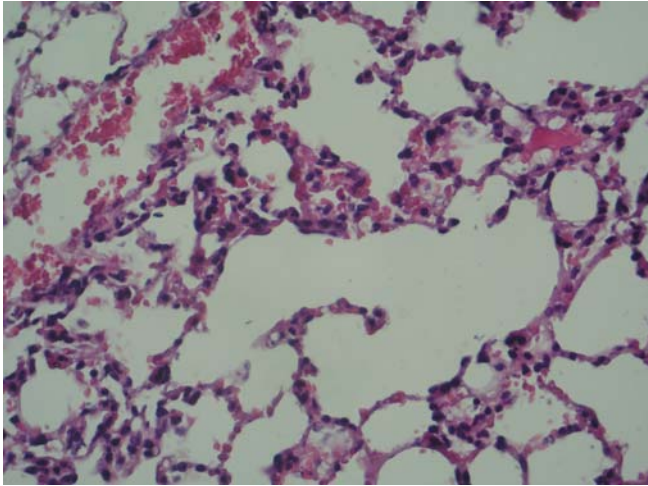


Şekil 4.1. Sağlıklı farelerle *Toxocara canis* enfekte edilmiş kontrol grubun ve ilaĉ gruplarının karşılaştırılması

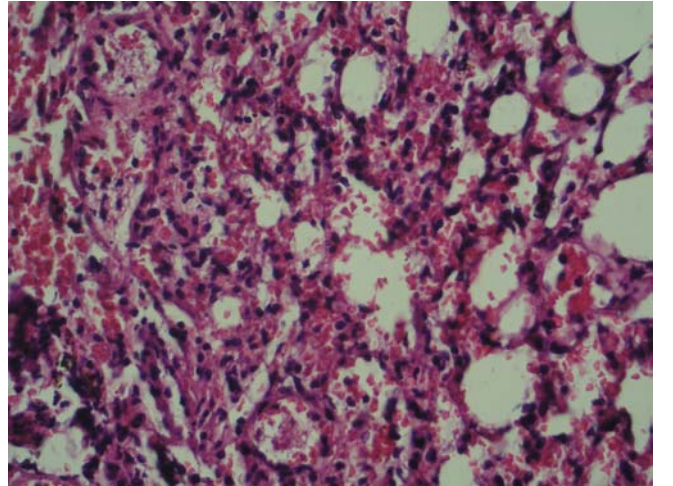
Gĉ eden larvaların, organ, doku ve vücut boŐluklarına göre dağılımları hem profilaktik gruplarda hem de tedavi gruplarında kontrol ile arasında farklılık göstermiştir. Yapılan incelemede kontrol grubunda, akciğerlerde kanamalar ve iltihabi infiltrasyon görüldü. Ayrıca alveolar septalarda rüptür (yırılma), duvar kalınlaŐması gözlendi (Şekil 4.3.). Karaciğerde sinüzoidlerde konjesyon, parenkim iĉinde ise knodell skorlamasına göre (ĉizelge 4.10.) grade 3 düzeyinde litik nekroz odakları (Şekil 4.2.) ve bazı yerlerde apoptosis görüldü. Beyinde de yine nekroz odağı ve kanama görüldü (Şekil 4.4.).



Şekil 4.2. *Toxocara canis* enfekte edilen kontrol grubun karaciğerindeki nekroz odakları ve apoptosis (x400 HE)



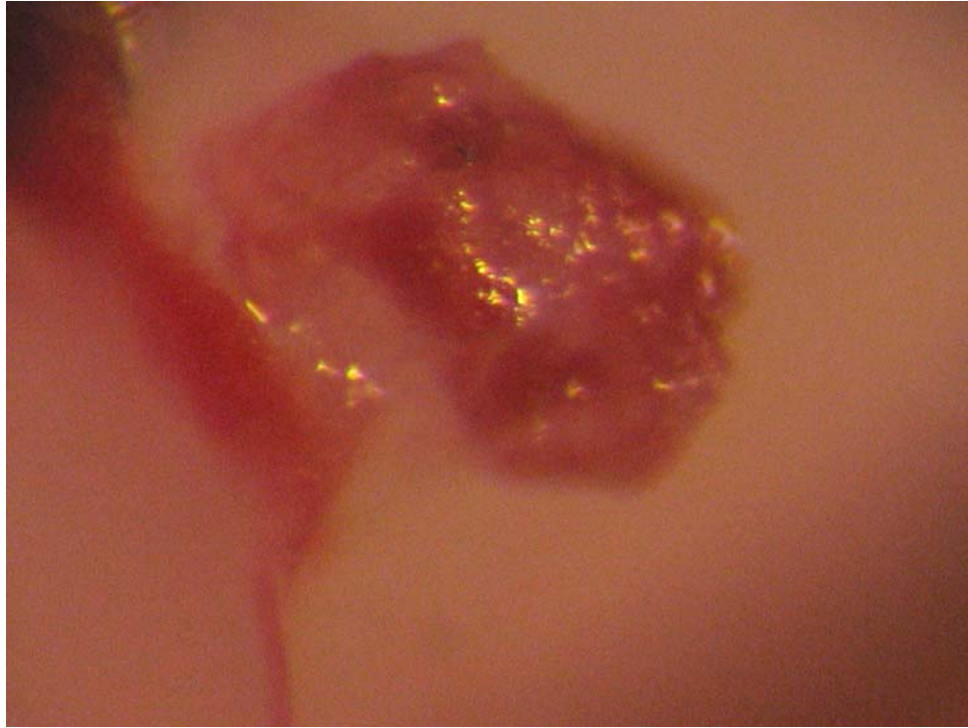
(a)



(b)

Şekil 4.3. *Toxocara canis* enfekte edilen kontrol grubun akciğerlerindeki alveol duvarlarında rüptür (a) (x400) ve kalınlaşmalar (b) (x400)

Şekil 4.2. ve 4.3.' ten de anlaŐılacađı gibi kontrol grubun karaciğerinde nekroinflamatuvar odaklar ve akciğerlerinde ise alveol duvarlarında rüptür, kollabe parankim, alveol duvar kalınlaŐması ve lenfositik infiltrasyon gözlendi. Bu durumun ilaç gruplarında iyileŐmeye doğru gittiği görüldü. Karaciğerdeki nekroinflamatuvar odakların küçüldüğü ve sayısının azaldığı görüldü. Akciğerlerde ise alveol yırtılmasının ve duvar kalınlaŐmasının yer yer azaldığı görüldü.



Şekil 4.4. Beyinde görülen kanama

Profilaktik gruplar incelendiğinde, quinacrine grubunda karaciğerde nekroz odaklarının grade 1 düzeyinde olduğu, akciğerlerde fokal alveol septalarında yırtılma, kanama ve bazı kısımlarda duvar kalınlaŐması olduğu, fakat kontrol grubundan daha az olduğu gözlendi. *N. sativa* 100 mg. incelendiğinde karaciğerde grade 1-2 düzeyinde nekroz görüldü.

Akciğerlerde alveol duvarlarında kalınlaşma ve yer yer septa yırtılmalarına rastlandı. Ancak bu yırtılmaların kontrol grubundan daha az olduğu görüldü. *N. sativa* 200 mg. grubunda karaciğerde nekroinflamatuvar odaklar grade 2 düzeyinde ve daha küçülmüş olarak görüldü. Akciğerlerde parenkim dokusu normal histolojik yapıda görüldü ve iltihabi infiltrasyona, septalarda yırtılmalara ve alveol duvarında kalınlaşmaya rastlanmadı.

Tedavi grupları incelendiğinde, quinacrine grubunda akciğerlerde septalarda minimal düzeyde kalınlaşma, kanama ve yırtılmalar görüldü. Karaciğerde grade 1 düzeyinde nekroz gözlemlendi. Beyinde fokal astrositik proliferasyon görüldü. *N. sativa* 100 mg. grubunda karaciğerde grade 1 (çizelge 4.11.) düzeyinde nekroza rastlandı. Akciğerlerde hafif fokal kanama, septalarda fokal yırtılma ve kalınlaşma gözlemlendi. Beyinde fokal astrosit proliferasyonu görüldü. *N. sativa* 200 mg. grubunda karaciğerde 0-2 arasında nekroz odakları var (grade 1). Akciğerlerde düzenli parenkim yapısı görüldü. Beyinde fokal astrositik hücre artışı var, nekroza rastlanmadı.

Çizelge 4.10. Modifiye Knodell skorlamasına göre karaciğerde histolojik aktivite gradelemesi

Skor	Fokal litik nekroz odakları, apoptosis ve fokal inflamasyon
Grade 0	Hiç yok
Grade 1	10x büyütme alanında 1 ve daha az sayıda (minimal)
Grade 2	10x büyütme alanında 2 ve 4 arasında (hafif)
Grade 3	10x büyütme alanında 5 ve 10 arasında (orta)
Grade 4	10x büyütme alanında 10' dan daha fazla (şiddetli)

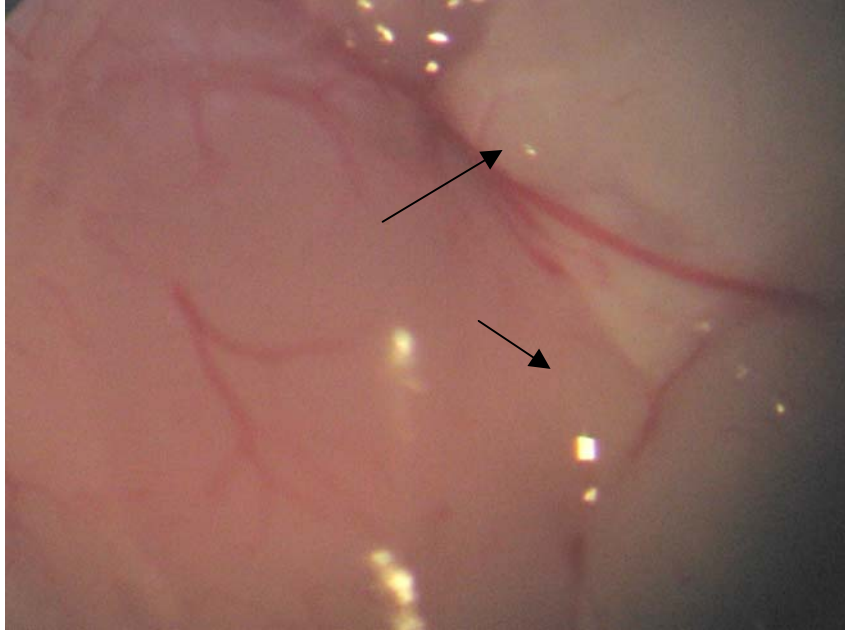
Çizelge 4.11. Tüm grupların karaciğerlerindeki histolojik aktivite sayıları

GRUP	Karaciğerde 10x büyütme alanında histolojik aktivite sayıları
Grup I	0
Grup II	8-10
Grup III	1-2
Grup IV	1-3
Grup V	1-2
Grup VI	0-2
Grup VII	1-2
Grup VIII	0-2

Çizelge 4.11.'ten de anlaşılacağı gibi sağlıklı farelerin karaciğerlerinde hiç harabiyet görülmezken hasta grupta grade 3 düzeyinde harabiyet gözlenmiştir. Profilaktik ve tedavi gruplarda ise harabiyette azalma olduğu gözlendi.

Deney aşamasının 7. gününde otopsiyi yapılan bir farenin akciğerlerinde kanamalar olduğu ve karaciğerde boz-beyaz odakların bulunduğu görüldü. Ayrıca akciğerden alınan bir lezyon içinde larva görüldü.

Deney sonunda yapılan otopsielerde kontrol grupların karaciğer, akciğerler, böbrekler, testis ve beyinin profilaktik ve tedavi gruplarından daha büyük olduğu gözlendi. Ayrıca karaciğer, akciğer ve beyinde boz-beyaz odaklara rastlandı (şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Beyinde boz-beyaz renkte odaklar

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada yumurtalar köpek bağırsaklarından toplanan olgun dişi parazitlerin uteruslarından elde edildi, parazitin normal gelişimi ve araştırmacıların sonuçları göz önünde tutularak yumurtalar % 0.5' lik formol içinde 30 °C' lik etüvde içlerinde enfektif larva tam gelişinceye kadar 20 gün süreyle bekletildi. Çalışmada konuyla ilgili araştırmalar göz önünde bulundurularak 25 ± 2 gr. balb/c cinsi beyaz, erkek fareler kullanıldı.

T. canis ile enfekte edilen hayvanlarda oluşturulan larva göçü konusundaki çalışmalarda 3. ve 5. günlerinde larvaların karaciğerde, 5. ve 8. günlerde akciğerlerde ve 5. günden itibaren beyinde en yüksek seviyesine ulaştığı bildirilmiştir (Lescano ve ark., 2004).

Bu çalışmada deney aşamasının 7. gününde otopsi yapılan bir farenin akciğerlerinden alınan bir lezyon içinde larva görüldü. Yine 14. gün otopsilerinde akciğer, karaciğer ve beyinde larvaların neden olduğu lezyonlara rastlandı.

T. canis larvaları, farelerin organ ve dokularında yangısal reaksiyonlara yol açmakta, makroskobik olarak organ yüzlerinde yer yer kanamalara ve boz-beyaz renkte odaklara neden olmaktadır (Pişkin, 1995). Bu çalışmada akciğerler, karaciğer ve beyinde kanamalar (şekil 4.4.) ve boz- beyaz renkte odaklar (şekil 4.5.) görüldü.

T. canis ile enfekte edilen ve içorgan larva göçü oluşturulan farelerin sağaltımında birçok ilaç denemesi yapılmıştır (Wiseman ve ark., 1971; Abdel-Hameed, 1984; Carillo ve Barriga, 1987; Öge, 1995; Yarsan ve ark., 2003). Bu çalışmaların genel sonucunda organ ve dokulardaki larva sayılarının ilaç kullanımına bağlı olarak kontrollerle karşılaştırıldıklarında giderek azaldığı bildirilmiştir (Abdel-Hameed, 1984; Öge, 1995; Bowman ve Griffiths, 2000; Magnaval ve ark., 2001; Yarsan ve ark., 2003). Bu çalışmada alternatif tedavi olarak bitkilerin kullanımı düşünüldü ve *N. sativa* ve Quinacrine kullanıldı.

N. sativa çok kuvvetli bir antioksidanttır. Paraziti direkt olarak öldürmez ancak patojenitesini azaltır. Bu çalışmada araştırmacıların sonuçları göz önünde tutularak *N. sativa* yağı kullanıldı ve dokularda enfeksiyonun oluşturduğu lezyon miktarında ve büyüklüğünde kontrol grupla karşılaştırıldığında azalma olduğu görüldü.

Bu çalışmada quinacrine' nin lezyon sayısını ve büyüklüğünü azalttığı gözlemlendi. Ayrıca erken dönemde sağaltım uygulanması (deneme 1), geç dönemde sağaltım uygulanmasına (deneme 2) oranla daha etkili bulundu.

Bu çalışmada da dokulardaki lezyon sayısı kontrol grubunda grade 3 düzeyindeyken *N. sativa* ve quinacrine grubunda grade 1-2 düzeyine indiği gözlemlendi (çizelge 4.11.). Ayrıca lezyon büyüklüklerinin de azaldığı görüldü.

Bu çalışmada *N. sativa* 200 mg., *N. sativa* 100 mg.' a göre daha etkili bulundu. Yani doz artışı dokulardaki lezyon sayısını ve büyüklüğünü etkilemiştir. *N. sativa* 200 mg. grubunda karaciğerde nekroinflamatuvar odaklar grade 2 düzeyinde ve daha küçülmüş olarak görüldü.

Akciğerlerde parenkim dokusunda iltihabi infiltrasyona, septalarda yırtılmalara ve alveol duvarında kalınlaşmaya rastlanmadı. Doku hücreleri normal görüldü, kontrol grubuna oranla daha küçük ve iyileşme eğiliminde olduğu görüldü.

T. canis ile enfekte ettiğimiz farelerde kan hücrelerinin karşılaştırılmasında etki yönünden profilaktik quinacrine en iyi bulundu, bunu tedavi quinacrine grubu, profilaktik *N. sativa* 200 mg. ve profilaktik *N. sativa* 100 mg. takip etti. Yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda; profilaktik gruptaki tüm farelerin eozinofil miktarı ile kontrol gruptaki farelerin eozinofil miktarındaki farklılık ileri düzeyde önemli bulundu ($p < 0,001$). Tedavi grubundaki farelerle kontrol karşılaştırıldığında ise; eozinofil miktarındaki farklılık quinacrine grubunda ileri düzeyde önemli ($P < 0,001$), *N. sativa* 100 mg. grubunda önemli ($P < 0,05$) ve *N. sativa* 200 mg. grubunda çok önemli ($P < 0,01$) bulundu.

Daha önceki araştırmalarda *N. sativa* (Medenica ve ark., 1993; Zaoui ve ark., 2002) ve quinacrine (Sotelo ve ark., 2004)' in kan lökosit hücrelerini arttırdığı ve özellikle eozinofil miktarında artışa neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca *N. sativa* proteinlerinin antioksidan etki gösterdiği ve immün cevabı düzenlediği bildirilmiştir (Badary ve ark., 1999; Burits ve Bucar, 2000). Bu çalışmada da bütün gruplardaki eozinofil, lenfosit ve monosit miktarı parazit enfekte edilmemiş sağlıklı farelerle karşılaştırıldığında önemli düzeyde arttığı belirlendi (Çizelge 4.9.).

Sonuç olarak; alternatif ilaç olarak bitkilerin kullanıldığı gruplarda kontrol gruplara oranla doza ve kullanım zamanlarına bağlı olarak dokulardaki lezyon sayısını ve büyüklüğünü azalttığı ve enfeksiyona bağlı olarak oluşan eozinofiliyi azalttığı belirlendi. Kullanılan ilaçlardan en etkilisinin quinacrine olduğu, bunu *N. sativa* 200 mg. ve *N. sativa* 100 mg.' in izlediği saptandı. Ayrıca erken dönemde sağaltımın (deneme 1), geç dönemdeki sağaltıma (deneme 2) oranla daha başarılı olduğu kaydedildi.

Türkiye' de ve dünyada visceral larva migransın alternatif ilaçlarla sağaltımı konusunda başvurulacak herhangi bir araştırmaya rastlanmadığından dolayı, bu çalışma önemli bir bilimsel açığı dolduracak ve gelecekte insan ve hayvanlarda görülebilecek içorgan larva göçüne karşı etkili alternatif ilaç, etkili doz ve uygun sağaltım aralığını belirlemede kaynak olabileceği kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

- ABDEL-HAMEED, A.A., 1984. Effect of thiabendazole on the migration of *Toxocara canis* larvae in Mouse. *J. Parasitology*, 70: 226-231.
- ABO-SHEHADA, M. N., AL-ZUBAİDY, B. A., and HERBERT, I. V., 1985. The Migration of Larval *Toxocara canis* in Mice I. Migration Through The Intestine in Primary Infections. *Vet. Parasitol.*, 17: 65-73.
- ABOUL-ELA, E. I., 2002. Cytogenetic Studies on *Nigella sativa* Seeds Extract and Thymoquinone on Mouse Cells Infected With Schistosomiasis Using Karyotyping. *Mutation Research*, 516: 11-17.
- AKGÜL, A., 1993. *Baharat Bilimi ve Teknolojisi*. Gıda Teknolojisi Der. Yay. No: 15, Ankara.
- AL-AWADI, F. M., and GUMAA, K. A., 1987. Studies on The Activity of Individual Plants of An Antidiabetic Plant Mixture. *Acta. Diabetol. Lat.*, 24: 37-41.
- ALI, B. H., and BLUNDEN, G., 2003. Pharmacological and Toxicological Properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.*, 17(4): 299-305.
- ANONYMOUS, 2000. Quinacrine hydrochloride-yourDictionary.com - American Heritage Dictionary.
- ANONYMOUS, 2005. Merops-The peptidase Database.
- ANTOLOVA, D., REITEROVA, K., MITERPAKOVA, M., STANKO, M., and DUBINSKY, P., 2004. Circulation of *Toxocara* spp. in Suburban and Rural Ecosystems in The Slovak Republic. *Vet. Parasitol.*, 126: 317-324.
- ANONYMOUS, 2005. http://www.anthemis.nl/beeldaroma/schwarz_kummelbloemen.jpg.
- AQEL, M., and SHAHEEN, R., 1996. Effects of The Volatile Oil of *Nigella sativa* Seeds on The Uterine Smooth Muscle of Rat and Guinea Pig. *J. of Ethnopharmacol.*, 52: 23-26.
- AREAN, V. M., and CRANDALL, C. A., 1971. Toxocariasis. In *Pathology of Protozoal and Helminthic Diseases*. (Eds) Marcial-Rojas, R. A., Krieger, R. E. Publishing Co., New York. 808-842.
- ANONYMOUS, 2003. www.armillatox.com/images/egg1.gif
- ANONYMOUS, 2000. www.worldspice.com/product_pages/spice_images/0138nigella.jpg
- ASH, L. R., 1989. Larva Migrans Then. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 41(3): 18-20.
- ATAŞ, A. D., ÖZÇELİK, S., ve SAYGI, G., 1997. Sivas Sokak Köpeklerinde Görülen Helmint Türleri, Bunların Yayılışı ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 21(3): 305-309.
- AYÇİÇEK, H., 1999. *Toxocara canis* Yumurtalarıyla Deneysel İnfekte Beyaz Farelerde, *Toxocara canis* Larval ve Erişkin Antijenleri Kullanılarak ELİSA ve İFA Teknikleri İle Serolojik Tanı. Genel Kur. Bşk. Gülhane Ask. Tıp Akd. Ask. Tıp Fak. Mik. ve Klinik Mik. A. B. D., Tıbbi Paraz. B. D. Bşk., Doktora Tezi, Tez no: 86761, Ankara, s.62.

- AYÇİÇEK, H., ve TANYÜKSEL, M., 2003. *Toxocara canis* ile Deneysel Olarak İnfekte Edilen Farelerde ELİSA ve İFAT Sonuçlarının Karşılaştırılması. Türk. J. vet. Anim. Sci. 27: 879-885.
- AYDENİZÖZ, M., 1997. Konya Yöresi Köpeklerinde Helmintolojik Araştırmalar. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 21(4): 429-434.
- BADARY, O. A., AL-SHABANAH, O. A., NAGİ, M. N., AL-RİKABİ, A. C., and ELMAZAR, M. M., 1999. Inhibition of Benzo(a)pyrene- induced Forestomach Carcinogenesis in Mice by Thymoquinone. Eur. J. cancer Prev., 8(5): 435-440.
- BAKIŞKAN, V., ŞAHİN, İ., ve ERENMEMİŞOĞLU, A., 1989. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarındaki Deneysel Farelerinde Koproparazitolojik Bir Araştırma. T. Parazitol. Derg., 13(3-4): 91-94.
- BARRIGA, O. O., 1988. A Critical Look At The Importance, Prevalence and Control of Toxocariasis and The Possibilities of Immunological Control. Vet. Parasitol., 29: 195-234.
- BARRIGA, O. O., and MYSER, W. C., 1987. Effects of Irradiation on The Biology of The Infective Larvae of *Toxocara canis* in The Mouse. J. Parasit., 73: 89-94.
- BAYTOP, T., 1984. Türkiye’ de Bitkiler ile Tedavi. İ.Ü. Yayınları No: 3255, İstanbul.
- BEAVER, P. C., 1969. The Nature of Visceral Larva Migrans. J. Parasitol., 55(1): 3-12.
- BISSERU, B., 1969. Studies on Liver, Lung, Brain and Blood of Experimental Animals Infected with *Toxocara canis*. J. Helminth., 43: 267-272.
- BOREHAM, P. F., and COPAN, A. G., 1982. Environmental Contamination with Canine Zoonotic Helminths in Brisbane. Aust. Vet. Practitioner, 12: 14-16.
- BOUCHER, F., BOULARD, Y., BACCAM, D., and LEGER, N., 1986. Ultrastructural Studies of Alterations Induced by Microwaves in *Toxocara canis* eggs: Prophylactic Interest. Z. ParasitenKde, 72: 755-764.
- BOWMAN, D. D., and GRIFFITHS, J. K., 2000. Larval toxocariasis. Current Science Inc., 2: 70-77.
- BRODIE, B.B., 1987. <http://www.issx.org/images/history%20pics/Septgifts/quinacrine.gif>.
- BURAK, S., SERMET, İ., ve ÜNER, A., 1986. İzmir Civarındaki Sokak Kedilerinde Askarit Prevalansı. T. Parazitol. Derg., 9: 57-65.
- BURGU, A., DOĞANAY, A., ve YILMAZ, H., 1986. Laboratuvar Beyaz Fare ve Ratlarında *Syphacia obvelata* ve *S. muris* Enfeksiyonları. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 33(3): 434-451.
- BURITS, M., and BUCAR, F., 2000. Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. Phytother. Res., 14(5): 323-328.
- BURREN, C.H., 1968. Experimental toxocariasis. I. Some observations on the histopathology of the migration of *Toxocara canis* larvae in the Mouse. Z. ParasitenKde, 30 : 152-161.
- CARILLO, M., and BARRIGA, O.O., 1987. Anthelmintic effect of levamisole hydrochloride or ivermectin on tissue toxocariasis of mice. Am. J. Vet. Res., 48: 281-283.

- CHIBALE, K., HAUPT, H., KENDRICK, H., YARDLEY, V., SARAVANAMUTHU, A., FAIRLAMB, A. H., and CROFT, S. L., 2001. Antiprotozoal and Cytotoxicity Evaluation of Sulfonamide and Urea Analogues of Quinacrine. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*, 11: 2655-2657.
- DEBLOCK, S., PETAVY, A. F., and GILOT, B., 1988. Intestinal Helminths of The Common Fox (*Vulpes vulpes*) in The Masif Central (France). *Can. J. Zool.*, 66: 1562-1569.
- DOĞANAY, A., 1994. Farelerde Sekunder Hidatidoza Karşı Albendazol ve Oxfendazol'ün Etkisi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 41(3): 1-20.
- DOĞANAY, A., 1983. Ankara Köpeklerinde Görülen Helmint Türleri, Bunların Yayılışı ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 30(4): 550-561.
- DONOVICH, P. J., and BURRIGHT, R. G., 1987. The Consequences of Parasitic Infection for The Behaviour of The Mammalian Host. *Environ. Hlth. Perspectives*, 73: 247-250.
- EL-DAKHAKNY, M., BARAKAT, M., ABD EL-HALIM, M., and ALY S. M., 2000. Effect of *Nigella sativa* Oil on Gastric Secretion and Ethanol Induced Ulcer in Rats. *J. Ethnopharm.*, 72: 299-302.
- EL-TAHIR, K. E. H., ASHOUR, M. M. S., and ALHARBI M., 1993. The Cardiovascular Actions of The Volatile Oil The Black Seed (*Nigella sativa*) in Rats: Elucidation of The Mechanism of Action. *Gen. Pharmac.* 24(5): 1123-1131.
- ERTÜRK, E., ve OĞUZ, T., 1974. Beyaz Farelerde (*Mus Musculus* Var. *Albinos*) Rastladığımız *Strobilocercus Fasciolaris* Olayları. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, s.355-361.
- FAIRBAIRN, D., 1961. The In vitro Hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Can. J. Zool.* 39: 153-162.
- FAN, C.-K., LIN, Y.-H., DU, W.-Y., and SU, K.-E., 2003. Infectivity and Pathogenicity of 14-Mounth-Cultered Embryonated Eggs of *Toxocara canis* in Mice. *Veterinary Parasitology*, 113: 145-155.
- FENOY, S., CUELLAR, C., AGUILA, C., GUILLEN, J. L., 1992. Persistences of Immune Response in Human Toxocariasis as Measured by ELİSA. *Int. J. Parasitol.*, 22(7): 1037-1038.
- GEMS, D., and MAIZELS, R. M., 1996. An Abundantly Expressed Mucin-Like Protein From *Toxocara canis* Infective Larvae: The Precursor Of The Larval Surface Coat Glycoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 1665-1670.
- GLIKMAN, L., SCHANTZ, P., DOMBROSKE, R., and CYPESS, R., 1978. Evaluation of Serodiagnostic Tests for Visceral Larva Migrans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 492-498.
- GÖKSU, K., ALİBAŞOĞLU, M., ve DİNÇER, Ş., 1972. Beyaz Fareler (*Mus Musculus* Var. *Albinos*) ve Beyaz Kemelerde (*Rattus norvegicus* Var. *Albinos*) Helminthiasis' ler. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 19(1-2): 117-125.
- GÜÇLÜ, F., ve AYDENİZÖZ, M., 1998. Çocuk Parklarındaki Kumların Köpek ve Kedi Helminti Yumurtaları ile Kontaminasyonunun Tespiti. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 22(2): 194-198.

- GÜRALP, N., DİNÇER, Ş., KEMER, R., CANTORAY, R., ve TAŞAN, E., 1977. Elazığ Yöresi Köpeklerinde Görülen Gastrointestinal Helmint Türleriyle Bunların Yayılış Oranı ve Halk Sağlığı Yönünden Önemleri. A. Ü. Vet. Fak. G. Parazitoloji ve Helmintoloji Derg., s.240-248.
- HANAFY, M. S., and HATEM, M. E., 1991. Studies on the Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* Seeds (Black Cumin). J. Ethnopharmacology, 34(2-3): 275-280.
- HAQ, A., LOBO, I. P., AL-TUFAIL, M., RAMA, R. N., and AL SEDAIRY, T. S., 1999. Immunomodulatory Effect of *Nigella sativa* Proteins Fractionated by Ion Exchange Chromatography. Int. J. Immunopharmacol. Apr., 21 (4): 283-295.
- HAQ, A., ABDULLATIF, M., LOBO, I. P., KHABAR, S. A. K., SHETH, U. K., and AL SEDAIRY, T. S., 1995. *Nigella sativa* : Effect on Human Lymphocytes and Polymorphonuclear Leucocyte Phagocytic Activity. Immunopharmacology, 30 (2): 147-155.
- IŞIK, H., 2003. *Nigella sativa* (Çörek otu) Tohum Destek Tedavisinin Alerjik Rinit Hastalarının Hematolojik Parametreleri ve Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları Üzerine Etkisinin *Ex vivo* Araştırılması. Marmara Ü. Sağlık Bil. E. Farmasötik Mik. Anabilim Dalı, Yük. Lisans Tezi, Tez no: 124083, İstanbul, 75s.
- KAMIYA, M., 1988. Infectious diseases transmitted by dogs to humans. Asian Med. J., 31: 87-93.
- KAPLAN, M., KUK, S., ve KALKAN, A., 2002. Elazığ' daki Çocuk Parkları ve Oyun Shalarında *Toxocara* spp. Araştırılması. F.Ü. Sağlık Bil. Derg., 16(3-4): 277-279.
- KAYA, M. S., 2002. Çörek otu (*Nigella sativa*) Tohumunun İnsanlarda Hücresel Bağışıklık Sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ Hücreleri ve Diğer Lökositler Üzerine Etkileri. Yüzüncü Yıl Ü. Sağ. Bil. E. Fizyoloji Anabilim Dalı Yük. Lisans Tezi, Tez no: 115061, Van, s44.
- KAYES, S. G., OHMHOLT, P. E., and GRIEVE, R. B., 1985. Immune Responses of CBA/J Mice to Graded Infections with *Toxocara canis*. Infect. Immun., 48: 697-703.
- KOZAKIEWICZ, B., 1983. Prevalence of *Toxocara canis* Infection in Dogs and Its Epidemiological Features in Urban Conglomerations. Medycyna wet., 39: 660-663.
- LESCANO, S. Z., QUEIROZ, M. L., and CHIEFFI, P. P., 2004. Larval Recovery of *Toxocara canis* in Organs and Tissues of Experimentally Infected *Rattus norvegicus*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro., 99(6): 627-628.
- LEVINE, N.D., 1968. Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man. Burgess Publishing Comp., USA.
- LJUNGSTRÖM, I., and KNAPEN, F.V., 1989. An epidemiological and serological study of *Toxocara canis* infection in Sweden. Scand. J. Dis., 21: 87-93.
- LOMBARDI, S., VEGNI-TALLURI, M., BANCHIERI, L., and ESPOSITO, F., 1990. The In vitro Adherence of Murine Eosinophils, Neutrophils and Non-induced and Induced Macrophages to Infective Larvae of *Toxocara canis* (Nematoda, Ascarididae). Int. J. Parasit., 20: 603-613.
- MAGNAVAL, J. F., GLICKMAN, L. T., DORCHIES, P., and MORAS-SIN, B., 2001. Highlights of Human Toxocariasis. The Korean Journal of Parasitology, 39(1): 1-11.

- MAHMOUD, M. R., EL-ABHAR, H. S., and SALEH, S., 2002. The Effect of *Nigella sativa* Oil Against The Liver Damage Induced by *Schistosoma mansoni* Infection in Mice. Journal of Ethnopharmacology, 79: 1-11.
- MEDENICA, R., MUKERJEE, S., HUSCHART, T., KOFFSKY, J., and CORBIT, W., 1993. *Nigella sativa* Plant Extract Increases Number and Activity of Immune Component Cell in Humans. Exper. Hematol., 21(3) : 1186.
- MEHLHORN, H., HANSER, E., HANSEN, A. H. O., MENEKE, N., and SCHAPER, R., 2003. A Light and Electron Microscopic Study on The Synergistic Effect of Pyrantel and Febentel Metabolite Febendazole on Adult *Toxocara canis* in Vitro. Parasitol. Res., 90: 305-313.
- MERDİVENCİ, A., 1961. İstanbul' da Larva Migrans Rezervuarları Üzerinde Araştırmalar. Türkiye Tıp Encümeni Arşivi., 46: 149-164.
- KORKMAZ, M., 1998. Visceral Larva Migrans: İkinci-Evre *Toxocara canis* Larvalarının *in vitro* Kültürü, Ekskretuar/Sekretuar Antijenin Elde Edilmesi ve ELİSA Yöntemi ile Tanısı. Ege Ü. Tıp Fak. Par. Anabilim Dalı Doktora Tezi, 71244, İzmir, s.72.
- MOREIRA-SILVA, S. F., RODRIGUES, M. G., PIMENTA, J. L., GOMES, C. P., FREIRE, L. H., and PEREIRA, F. E. L., 2004. Toxocariasis of The Central Nervous System: With Report of Two Cases. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 37(2): 169-174.
- MORSI, N. M., 2000. Antimicrobial Effect of Crude Extracts of *Nigella sativa* on Multiple Antibiotics-resistant Bacteria. Acta. Microbiol. Pol., 49(1): 63-74.
- NAIR, S. C., SALOMI, M. J., PANIKKA, R. B., and PANIKKAR, K. R., 1991. Modulatory Effects of *Crocus sativus* and *Nigella sativa* Extracts on Cisplatin-Induced Toxicity in Mice. J. Ethnopharm., 31: 75-83.
- NERGİZ, C. ve ÖTLEŞ, S., 1993. Chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds. Food Chem., 48(3) : 259-261.
- NICHOLS, R. L., 1956. The etiology of Visceral Larva Migrans. I. Diagnostic Morphology of Infective Second-Stage *Toxocara* Larvae. J. Parasitol., 42: 349-362.
- NOORDIN, R., SMITH, H. V., MOHAMAD, S., MAIZELS, R. M., FONG, M. Y., 2005. Comparison of Ig G- ELISA for Toxocara Serodiagnosis. Acta Tropica, 93: 57-63.
- O'CONNOR, G.R., 1985. Host-parasite interaction. Int. Ophthal. clin., 25: 63-70.
- ÖĞE, S., 1995. *Toxocara canis* Yumurtalarına ve Visceral Larva Migrans' a Radyasyonun Etkileri. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 42: 327-335.
- OGGASSAWARA, S., BENASSI, S., LARSON, C. E., LEME, P. T. Z., and HOGIVORA, M. K., 1986. Prevalence of Helminth in Cats in Sao Poulo City. Revta Fac. Med. vet., 23: 145-149.
- OVERGAAUW, P. A. M., and KNAPEN, F. V., 2001. Dogs and Nematode Zoonoses. MacPherson, C. N. L.(Editor). Dogs, Zoonoses and Public Health. Cambridge, MA, USA: CABI Publishing, p.213-225.
- ÖZCEL, A.M., ve ALTINTAŞ, N., 1987. İçorganlar larva göçü hastalığının serolojik yöntemlerle araştırılması. T. Parazitol. Derg., 11: 88-95.
- ÖZÇELİK, S., ve SAYGI G., 1990. Laboratuar Farelerinde (Mus Musculus Var. Albino) Sekonder Kist Hidatik Oluşumuna Albendazolün Etkisi. T. Parazitol. Derg., 14(1): 45-49.

- PAHARI, T.K., and SASMAL, N.K., 1990. Experimental infection of mice with *Toxocara canis* larvae obtained from Japanese quails. *Int. J. Parasit.*, 20: 263-264.
- PARSONS, J.C., 1987. Ascarid infections of cats and dogs. *Vet. clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 17: 1307-1339.
- PHILIP C., 2000. *Toxocara canis*. http://cal.vet.upenn.edu/dxendopar/parasitepages/ascaris/t_canis.html.
- PİŞKİN, F. Ç., 1995. Farelerde Deneysel *Toxocara canis* Larva Migransına karşı Levamizol Hidroklorid, İvermektin ve Albendazolün Etkileri. Ankara Ü. Sağlık Bil. E. Parazitoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Tez no: 44676, Ankara, s.60.
- RATHEE, P. S., MISHRA, S. H., and KAUSHAL, R., 1982. Antimicrobial Activity Essential Oil, Fixed Oil and Unsaponifiable Matter of *Nigella sativa* L. *Indian. J. Pharmac. Sci.*, 44: 8-10.
- REITEROVA, K., TOMASOVICOVA, O., and DUBINSKY, P., 2004. Post-parturitional Changes in The Proportion of CD4+ and CD8+ T Lymphocytes in *Toxocara canis*-Infected Mice and Their Offspring. *Vet. Med.- Czech*, 49(4): 103-108.
- SAHIH, B., 2004. Black Seed. [www.members.aol.com/Black seeds](http://www.members.aol.com/Black%20seeds).
- SALEMAI, M. L., and HOSSAINB, M. S., 2000. Protective Effect of Black Seed Oil from *Nigella sativa* Against Murine Cytomegalovirus İnfection. *Int. J. Immunopharmacol.*, 22(9): 729-740.
- SALOMI, N. J., NAIR, S. C., JAYAWARDHANAN K. K., VARGHESE, C. D., and PANİKKAR, K. R., 1992. Antitumour Principles from *Nigella sativa* Seeds. *Canser. lett.*, 63(1): 41-46.
- SARİMEHMETOĞLU, H. O., 1995. *Toxocara canis* ile deneysel enfekte farelerde visceral larva migransın indirekt hemaglutinasyon ve indirekt floresan antikor testleri ile teşhisi. Ankara Ü. Sağlık Bil. En. Doktora tezi, tez no: 44680, Ankara, s.79.
- SAXENA, A. P., and VYAS, K. M., 1986. Antimicrobial Activity of Seeds of Some Ethnomedicinal Plants. *J. of Economic and Taxonomic Botany*, 8: 291-299.
- SAYGI, G., ÖZÇELİK, S., ve TEMİZKAN, N., 1990. Sivas Sokak Köpeklerinin İnce Bağırsaklarında Bulduğumuz Helmintler. *T. Parazitol. Derg.*, 14(1): 81-93.
- SAYGI, G., ERANDAÇ, M., ve ÇETİNKAYA, S., 1991. Laboratuar Farelerinin Sindirim Kanalının Farklı Bölgelerinde Saptadığımız Parazitler. *T. Parazitol. Derg.*, 15(1): 85-93.
- SAYGI, G., 2002. Temel Tıbbi Parazitoloji. Cumhuriyet Ü. Tıp Fak. Parazitoloji Anabilim Dalı. Es-Form Ofset Ltd. Şti. (2. baskı): Sivas, s.4-5.
- SCHACHER, J. F., 1960. A Contribution to The Life History and Larval Morphology of *Toxocara Canis*. *J. Parasit.*, 46: 17..
- SCHANTZ, P.M., 1991. Parasitic zoonoses in perspective. *Int. J. Parasit.*, 21: 161-170.
- SCHANTZ, P. M., and GLIKMAN, L. T., 1989. *Toxocara* Larva Migrans Now. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 41(3): 21-34.

- SHARKEY, J. A., and MCKAY, P. S., 1993. Ocular Toxocariasis in Patient with Repeatedly Negative ELISA Titre to *Toxocara canis*. Br. J. Ophthalmol., 77: 253-254.
- SOMMERFELT, I. E., SANTILLÁN, G., LOPEZ, C., RIBICICH, M., and FRANCO, A. J., 2001. Immunological and Hematological Response In Experimental *Toxocara Canis*-Infected Pigs. Veterinary Parasitology, 96(2): 127-134.
- SOULSBY, E. J. L., 1982. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7 th. Ed., Bailliere Tindall, London.
- SPRENT, J. F. A., 1953. On the migratory behaviour of the larvae of various ascaris species in white mice. II. Longevity of encapsulated larvae and their resistance to freezing and putrefaction. J. infect. Dis., 92: 114-117.
- SPRENT, J. F. A., 1958. Observations of the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in dog. Parasitology, 48: 184-209.
- SPRENT, J. F. A., 1963. Visceral Larva Migrans. Aust. J. Sci., 25: 344-354.
- SPRENT, J. F. A., 1955. On the invasion of the central nervous system by nematodes. II. Invasion of the nervous system in ascariasis. Parasitology, 45: 41-55.
- SOTELO, J., GUEVARA, P., PINEDA, B., and DIAZ, C., 2004. Interstitial quinacrine activates a distinctive immune response effective for tumor immunotherapy. Surgery, 136: 700-707.
- SUGANE, K., and OSHIMA, T., 1983. Trapping of large numbers of larvae in the livers of *Toxocara canis* reinfected mice. J. Helminth., 57: 95-99.
- SWAMY, S. M., and TAN, B. K., 2000. Cytotoxic and Immunopotentiating Effects of Ethanolic Extract of *Nigella sativa* L. Seeds. J. Ethnopharmacol., 70(1): 1-7.
- ŞAHİN, İ., EKİNCİ, N., ŞEN, İ., ÖZCAN, M., ve GÖDEKMERDAN, A., 1993. Kayseri Yöresi Köpeklerinde *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) ve Diğer Parazitlerin Yayılışı. T. Parazitol. Derg., 17: 69-76.
- TAKAHASHI, J., and UGA, S., 1990. Cockroach as A Possible of *Toxocara canis*. Jap. J. Parasitol., 39(6): 551-556.
- TAŞAN, E., 1982. Elazığ Kırsal Yöre Köpeklerinde Helminthlerin Yayılışı ve İnsan Sağlığı Yönünden Önemi. Doğa Bilim Derg., 8: 160-167.
- TENNEKON, K. H., JEEVATHAYAPARAN, S., KURUKULASO-ORIYA, A. P., and KARUNANAYAKE, E. H., 1991. Possible Hepatotoxicity of *Nigella sativa* Seeds and *Dregea volubilis* Leaves. Journal of Ethnopharmacology, 31: 283-289.
- TINAR, R., COŞKUN, Ş. Z., DOĞAN, H., DEMİR, S., AKYOL, Ç. V., ve AYDIN, L., 1989. Bursa Yöresi Köpeklerinde Görülen Helminth Türleri ve Bunların Yayılışı. T. Parazitol. Derg., 13: 113-120.
- TÜRKER, L., ve BAYRAK, A., 1997. Çörek otu (*Nigella sativa* L)' nun Sabit ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Araştırılması. Standart., 430: 128-137.
- TÜZER, E., TOPARLAK, M., GARGILI, A., GÜLANBER, A., KELEŞ, V., EFİL, İ., ve ULUTAŞ ESATGİL, M., 2002. Visceral Larva Migrans in Mice Caused by Eating *Toxocara canis*-Infected Chick Livers. Türk. J. Vet. Anim. Sci., 26: 293-297.

- UNAT, E. K., YÜCEL, A., ALTAŞ, K., ve SAMASTI, M., 1995. Unat' in Tıp Parazitolojisi. İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıklar. Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yay., 15 (5.baskı): s.285-288.
- URQUHART, G. M., JARRETT, W. F. H., JENNINGS, F. W., McINTYRE, W. I. M., and MULLIGAN, W., 1966. Immunity to *Haemonchus contortus* Infection: Relationship Between Age and Successful Vaccination with Irradiated Larvae. Am. J. Vet. Res., 27: 1645-1648.
- VIDAL, J. E., SZTAJNBOK, J., and SEGURO, A. C., 2003. Eosinophilic Meningoencephalitis Due to *Toxocara canis* Case Report and Review of The Literature. Am. J. Trop. Med. Hyg., 69(3): 341-343.
- WAGNER, H., and FRANSWORTH, N. R., 1990. Economic and Medicinal Plant Research. Plants and Traditional Medicine, Academic press. No: 4, London.
- WALLACE, D. J., 1989. The Use of Quinacrine (Atabrine) in Rheumatic Diseases: A Reexamination. Seminars in Arthritis and Reumatism, 18(4): 282-297.
- WISEMAN, R. A., WOODRUFF, A. W., and PETTITT, L.E., 1971. The treatment of Toxocaral infection : Some experimental and clinical observations. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg., 65: 591-598.
- WOODRUFF, A. W., 1984. Toxocariasis. Med. Int., 2: 206-208.
- WORTHEN, D. R., GHOSHEH, O. A., and CROOKS, P. A., 1998. The In vitro Anti-tumor Activity of Some Crude and Purified Components of Black Seed. *Nigella sativa* L. Anticancer Res., 18(3A): 1527-1532.
- YAMASAKI, H., ARAKI, K., KIM COOL LIM, P., ZASMY, N., WAH MAK J., TAIB,, R., and AOKI, T., 2000. Development of a Highly Specific Recombinant *Toxocara canis* Second-Stage Larva Excretory- Secretory Antigen for Immunodiagnosis of Human Toxocariasis. Journal of Clinic Microbiol., 38(4): 1409-1413.
- YARSAN, E., ALTINSAAT, Ç., AYÇİÇEK, H., ŞAHİNDOKU- YUCU, F., ve KALKAN, F., 2003. Effects of Albendazole Treatment on Haematological and Biochemical Parameters in Healthy and *Toxocara canis* Infected Mice. Türk. J. Vet. Anim. Sci., 27: 1057-1063.
- ZAOUI, A., CHERRAH, Y., ALAOUI, K., MAHASSİNE, N., AMAROUCH, H., and HASSAR, M., 2002. Effects of *Nigella sativa* Fixed Oil on Blood Homeostasis in Rat. J. of Ethnopharmacol., 79: 23-26.
- ZAOUI, A., CHERRAH, Y., MAHASSINI, N., ALAOUI, K., AMAROUCH, H., and HASSAR, M., 2002. Acute and Chronic Toxicity of *Nigella sativa* Fixed Oil. Phytomedicine, 9: 69-74.

ÖZGEÇMİŞ

05. 09. 1980 tarihinde Şanlıurfa' da doğdu. 1991 yılında Şanlıurfa Cengiz Topel İlkokulu' ndan, 1995 yılında Şanlıurfa Fırat Koleji Orta Kısım' ndan, 1998 yılında İstanbul Kadıköy Kız Lisesi' nden, 2003 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü' nden mezun oldu.

Halen Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir

ÖZET

Toksokaryaz Ascaridae familyasına ait, köpeklerde bağırsak paraziti olan *Toxocara canis*' in enfeksiyonudur. Koyun, sığır gibi memelilerde, tavuklarda ve yanlışlıkla insanlarda (özellikle çocuklarda) visceral larva migrans' a neden olurlar. VLM insandaki karaciğer, akciğerler, beyin ve karkas gibi yumuşak dokuları enfekte eder. Bu çalışmanın amacı toksokaryazın tedavisinde *Nigella sativa* ve quinacrine' in etkisini araştırmaktır. Bu çalışmada *Toxocara canis* dişileri, Şanlıurfa köpek barınağındaki yavru köpeklerden elde edildi. Hamile dişi parazitlerin uteruslarından yumurtalar toplanarak, % 0.5' lik formaldehit içinde bekletildi ve larvalar gelişinceye kadar 30°C' de inkübatörde 3 hafta inkübe edildi. Embriyolu yumurtalar normal yıkama solusyonunda yıkandı ve formalinin uzaklaştırılması için 3 dk. 3000 rpm' de santrifüj edildi. 500 embriyolu yumurta 1 ml. normal yıkama solusyonunda hazırlandı ve her fareye kör iğne ile ağız yoluyla verildi. 80 fare her grupta 10 fare içeren 8 eşit gruba ayrıldı.

Grup I: Normal farelerden oluşan kontrol gruptur.

Grup II: *T. canis* ile enfekte edilmiş kontrol gruptur.

Grup III: 100 mgr. Quinacrine verilen profilaktik gruptur.

Grup IV: 100 mgr. *N.sativa* verilen profilaktik gruptur.

Grup V: 200 mgr. *N.sativa* verilen profilaktik gruptur.

Grup VI: 100 mgr. Quinacrine verilen tedavi gruptur.

Grup VII: 100 mgr. *N.sativa* verilen tedavi gruptur.

Grup VIII: 200 mgr. *N.sativa* verilen tedavi gruptur.

Yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda; profilaktik gruptaki tüm farelerin eozinofil miktarı ile kontrol gruptaki farelerin eozinofil miktarındaki farklılık ileri düzeyde önemli bulundu ($p<0,001$). Tedavi grubundaki farelerle kontrol karşılaştırıldığında ise; eozinofil miktarındaki farklılık quinacrine grubunda ileri düzeyde önemli ($P<0,001$), *N. sativa* 100 mg. grubunda önemli ($P<0,05$) ve *N. sativa* 200 mg. grubunda çok önemli ($P<0,01$) bulundu.

SUMMARY

Toxocariasis is an infection of *Toxocara canis* belong to Ascaridae family an intestinal parasite in dogs and cause visceral larvae migrans in mammals as sheep, cattle, chicks and accidentally in human especially in childhood. VLM infect soft tissues in human as liver, lungs, brain and caracas. The aim of this study to investigate two drugs *Nigella sativa* and quinacrine in order to treatment toxocariasis. In this study *T. canis* female obtained from puppies in Şanlıurfa dog house. Eggs were collected from uterus of pregnant worms, suspended in 0.5% formaldehyde and incubated for three weeks in incubator at 30°C to let the larva developing. Embryonated eggs washed in normal saline in centrifuge at 3000 rpm for 3 minutes in order to remove formalin. 500 embryonated eggs were prepared in 1 ml. normal saline and administered orally with blunt needle for each mouse. 80 animals were divided into 8 equal group each contain 10 mice.

Group I: Normal mice not received *T. canis* or drug control not treated group.

Group II: Received *T. canis* control group.

Group III: Treated with quinacrine 100 mg/kg for one week then received *T. canis*.

Group IV: Treated with *N. sativa* 100 mg/kg for one week then received *T. canis*.

Group V: Treated with *N. sativa* 200 mg/kg for one week then received *T. canis*.

Group VI: Received *T. canis* then treated with quinacrine.

Group VII: Received *T. canis* then treated with *N. sativa* 100 mg/kg.

Group VIII: Received *T. canis* then treated with *N. sativa* 200 mg/kg.

The data obtained that profilactic group of quinacrine and *N. sativa* 200 mg/kg bodyweight found the effect treatment. The eosinophil decreased and statistically significant ($p < 0.001$).