

NİTRAT VE NİTRİT'İN FARELERDE İMMUNOSUPRESİF ETKİLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Mustafa KAHRAMAN*

ÖZET

Bir aylık seksen beyaz fare dört eşit gruba ayrıldı ve altı ay müddetle aynı şartlarda beslendiler. Bu müddet zarfında üçüncü ve dördüncü grupların içme sularına 400 mg/lt. miktarlarda sırası ile NaNO_2 ve NaNO_3 tuzları ilave edildi. Bu süre sonunda birinci grup hariç diğer gruplar Newcastle hastalığı virüsü (NHV) Hitchner B₁ (10 İD/0,25 ml) ile subkutan yolla birer gün ara ile üç defa aşılandılar. Son enjeksiyondan 15 gün sonra bütün hayvanlardan ayrı gruplar halinde kan alındı. Serumları çıkarıldı ve Hemaglutinasyon-İnhibisyon (HI) testleri uygulanarak bağışıklık durumları incelendi. Sonuçta I. grupta 2^{-2} HI titresi, II. grupta 2^{-6} HI titresi, III. grupta 2^{-5} HI titresi ve IV. grupta 2^{-4} HI titresi tesbit edildi. Elde edilen bu sonuçlar içme sularına nitrit ve nitrat katılan sırası ile üçüncü ve dördüncü gruplarda immunosupresif etki meydana gelmiştir.

SUMMARY

Studies on The Immunosuppressive Effects of Nitrat and Nitrit in Mice

Eighty white mice, which were a month of age, were divided into four equal-numbered groups and were fed for six months under the same circumstances. During this period 400 mg/lt of NaNO_2 and NaNO_3 were added into the drinking water of third and fourth groups, respectively. At the end of six months, all groups except for the first one were injected Hitchner B₁ (10 ID/0.25 ml) of Newcastle virus (NV) by way of subcutan three times at one day intervals. Fifteen days after the last injection blood was taken from all the animals in separate groups; serums were prepared and examined by means of Hemaglutination-Inhibition (HI) tests. As a result, the titers of the four different groups were found to be 2^{-2} , 2^{-6} , 2^{-5} and 2^{-4} HI titers respectively. Mean while, immunosuppressive effect was observed in the third and fourth groups, into whose drinking water nitrita and nitrate were added.

* Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

GİRİŞ

Nitrat (NO_3) ve nitrit (NO_2) toksik ve kanserojen karakterde oldukları bilinmektedir^{1,2}. Bu maddeler insan ve hayvanlar tarafından çeşitli vasıtalarla alınmaktadır. İnsanlar için en önemli kaynak sebze ve insanın kendi tükürüğüdür. Kür edilmiş et ürünleri ile alınan nitrat miktarı (% 9.4), sebzelerle alınana kıyasla (% 86.3) çok daha düşük olmaktadır. NO_2 ortalama % 21.2'si et ürünlerinden, % 76'sı ise tükürükten kaynaklanmaktadır³. Almanya koşullarında normal beslenen bir insanda bünyeye alınan günlük miktar 50-120 mg, nitrit miktarı ise 2-5 mg arasındadır⁴. Ülkemizde beslenme farklılığı nedeniyle bu miktarlar değişebilir.

Nitrat ve nitrit sun'i gübre ile yetiştirilen yeşil sebze ve yemlerde yüksek oranda bulunmakta⁵ ve insan ve hayvanlarda kronik zehirlenmelere neden olmaktadır³. Kür edilmiş et mamüllerinde katkı maddesi olarak kullanılmaları² insanlar için tehlikeyi daha da artırmaktadır. Ancak gıda maddeleri içerisindeki miktarları belli sınırlar içerisinde (100-200 ppm) tutulurlarsa zararlı etkileri son derece azalır².

Nitrat ve nitrit iyonlarının toksik ve kanserojen etkileri bilinmesine, çeşitli gıda ve yem maddelerindeki miktarları çeşitli araştırmalarla ortaya konmasına rağmen^{1,3,6,7} bu maddelerin immunosuppresif etkileri bilinmemektedir. Bu nedenle Nitrat ve nitrit iyonlarının hem immunosuppresif etkilerini incelemek, hem de meydana getirdikleri patolojik bozuklukları, bazı kan parametreleri ve barsak germ sayılarında meydana gelecek değişiklikleri ortaya koymaktır. Son üç konuda alınacak sonuçlar ayrı ayrı yayınlanacaktır.

MATERYAL VE METOD

Virus: Newcastle hastalığı virusu (NHV) Hitchner B₁ suşu farelerin enfekte edilmelerinde, Roakin suşu Hemaglutinasyon gücü ölçülerek Hemaglutinasyon-İnhibisyon testlerinde kullanıldı. Hitchner B₁ suşu 10 İD/0.25 ml'de ve Ia Sotz suşu 10 HAÜ/0.25 ml'de sabit tutulmuştur.

Fare: 20'şer adetlik 4 grup bir aylık beyaz fareler denemeye alındılar. Hayvanlar U.Ü. Veteriner Fakültesinden temin edilmiştir. 1. ve 2. gruplar kontrol, 3. grup nitrit, 4. grup nitrat denemesi için ayrıldılar.

Nitrat ve nitrit solusyonları: Bu çözeltiler NaNO_3 ve NaNO_2 tuzları normal musluk suyun bir litresine 400 mg ilave edilerek hazırlandı. Nitrat ve nitrit solusyonları sırası ile 4. ve 3. gruplara 6 ay müddetle içirildi.

Virus inokülasyonları: Denemelerde 4 grup halinde toplam 80 fare kullanıldı. Her grup ayrı kafeslerde bulunduruluyordu. 1. grup aşısız kontrol, 2. grup aşılı kontrol, 3. grup nitrit içirilen aşılılar ve 4. grup nitrat içirilen aşılılar. Denemeye alındıklarından 6 ay sonra 1. grup hariç diğer üç gruptaki bütün hayvanlara subkutan virus inokülasyonları yapıldı. İnokülasyonda kullanılan virus 10 İD/0.25 ml miktarlarında verildi.

Serumlar: 6 ay süre ile nitrit ve nitrat içirilen hayvanlara ve 2. kontrol gruba birer gün ara ile üç defa virus inokule edildi. Son enjeksiyondan 15 gün sonra daha önce bildirilen metoda göre⁸ hayvanların retro-orbital plexus'undan ayrı ayrı gruplar halinde kan alındı, serumları çıkarıldı ve Hemaglutinasyon-İnhibisyon testlerine tabi tutuldu.

HA ve HI testleri: Her iki testde Arda⁹'nın bildirdiği metotlara göre uygulanmıştır.

SONUÇ

HI titreleri Tablo I'dedir, görüleceği üzere farklılık arz etmektedir. Aşısız kontrol grup (1. grup)'da 2^{-2} serum sulandırması hariç diğer tüplerde HI gözüküyor. Ve hemen ikinci tüpten itibaren Hemaglutinasyon başlamaktadır. Aşılı kontrol grup (2. grup) serumlarında 2^{-6} lik bir inhibisyon titresi elde edildi. Aşılı ve nitrit içirilenlerin (3. grup) serumlarında 2^{-5} lik bir inhibisyon titresi, buna karşılık nitrat içirilenlerin (4. grup) serumlarında 2^{-4} lik bir titre tesbit edildi.

Tablo: I
HI Titreleri

SERUMLAR	SERUM SULANDIRMALARI							
	2^{-2}	2^{-3}	2^{-4}	2^{-5}	2^{-6}	2^{-7}	2^{-8}	2^{-9}
1. Grup (Aşısız kontrol)	X	0	0	0	0	0	0	0
2. Grup (Aşılı kontrol)	X	X	X	X	X	0	0	0
3. Grup (Aşılı ve nitrit içirilen)	X	X	X	X	0	0	0	0
4. Grup (Aşılı ve nitrat içirilen)	X	X	X	0	0	0	0	0

X = İnhibisyon

0 = Hemaglutinasyon

TARTIŞMA

Nitrat ve nitrit toksik etkili maddelerden olup zaman zaman bu maddelerin sebep olduğu zehirlenme vakalarına rastlanmaktadır⁵. Hatta bu maddelerin karsinogen etkilerinde bulunduğu bildirilmektedir¹. Son yıllarda tarım alanlarında, özellikle sebze yetiştirmesinde fazla miktarda nitratlı gübre kullanılması bu sebzelerde birikim yapmakta ve bu sebzeleri yiyen insanlarda kronik zehirlenmelere neden olmaktadır³. Aynı tehlike hayvanlar içinde söz konusudur. Yem bitkileri veya posalarından yem olarak faydalanılan bitkilerin yetiştirildiği alanlarda nitratlı gübrelerin aşırı kullanılması aynı şekilde hayvanları etkilemektedir². Nitrat vücuda girdikten sonra barsaklardan kana geçer, tükürük bezlerine gelir. Tükürükle çıkar ve ağız florası tarafından hemen nitrite indirgenir ve tekrar barsaklara gelerek zararlı etkisini yapmaya başlar ve kanda methemoglobin artmaya başlar².

Bütün bu etkilerin yanı sıra nitrat ve nitritin immunosuppresif etkilerinden bahsedilmemektedir. Bu çalışmada nitrat ve nitritin immunosuppresif etkisinin olduğu ortaya konulmuştur. Nitekim sonuç bölümünde de görüleceği gibi herbirisinde 20 fare bulunan dört grup fareden 1. grup aşısız kontrollerde 2^{-2} HI titresi. 2. grup

aşılı kontrollerde 2^{-6} HI titresi edilmesine karşılık nitrit içirilen 3. grup aşılılarda 2^{-5} HI titresi, 4. grupta 2^{-4} HI titresi saptanmıştır.

Bu tablo birinci grupta bağışıklığın olmadığını, ikinci grupta tam bir korunmanın meydana geldiği görülmesine karşın aynı şartlarda beslenen ve aynı metod ve yollarla aşılana ve sularına nitrit ve nitrat katılan üçüncü ve dördüncü gruplarda bağışıklık baskılanmış, başka bir deyişle immunosuppresif etki ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR

1. ERTÜRK, E., PAMUKÇU, A.M. and BRYAN: Altered urinary and intestinal carcinogenic activity of bracken fern (*pteris aquilina*) in albino rats by concurrent administration of bicarbonate, nitrate and nitrite in drinking water. Intern. Cancer Congren Abstr. Book II. pp. 41-42 (1974).
2. TEZCAN, İ.: Sosislerde spektrofotometrik metotla kantitatif nitrit tayini üzerinde bir araştırma. Lalahan Zootečni Araşt. Enst. Deneme Çiftl. Md. Basım Servisi (1977).
3. GÖKALP, H.Y., YETİM, H. ve KAYA, M.: İnsan bünyesine alınan nitrat, nitrit miktarı ve kaynakları, aminler ve çeşitli gıdaların amin içerikleri. Et ve Balık Endüstrisi Dergisi 49 (8) 12-18 (1987).
4. ÖZÇELİK, S.: Bazı gıdalarda nitrit ve nitrozaminlerin oluşumu ve sağlığa zararlı etkileri. Gıda 82 (4): 183-188 (1982).
5. MILLER, W.J.: Dairy cattle feeding and nutrition. A series of Monographs, 411 + XVI, Academic press. New York, (1979).
6. ERDİNÇ, H., ÇAMAŞ, H, OĞAN, M., KELLEÇİ, M.H. ve ÇELEBİCAN, A.: Bezelye silajının besi sığırları rasyonunda kullanma olanakları üzerinde bir araştırma. A.Ü. Vet. Fakültesi Dergisi, 32 (3): 474-483 (1985).
7. PİRİNÇ, İ. ve KELEŞTİMUR, H.: Koyunlarda nitrat ve nitrit zehirlenmesi üzerine deneysel çalışmalar. Doğa TU Vet. ve Hay. Derg. 11 (3): 255-265 (1987).
8. KAHRAMAN, M.: Newcastle hastalığı virusu (Hitchner B₁ suşu) ile enfekte edilen farelerde Hemaglutinasyon-inhibisyon titreleri üzerinde çalışmalar. Elik Vet. Mikrobiyoloji Dergisi, 6 (2): 72, 82 (1988).
9. ARDA, M.: Hollanda'da Newcastle hastalığı üzerinde çalışmalar ve HI testinin yeni yöntemle göre değerlendirilmesi. Türk Vet. Hek. Derg. 46: 19-28 (1976).