

NİTRAT VE NİTRİTE BAĞLI İMMUNOSUPRESİF ETKİ OLUŞTURAN FARELERDE BAZI BİYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

I. BAZI KAN PARAMETRELERİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİKLİKLER

Mustafa KAHRAMAN*
Kemalettin YAMAN**

ÖZET

Bu çalışmada 80 beyaz fare 4 eşit gruba ayrılmış, her gruptan rastgele seçilen 4 hayvandan alınan kan örnekleri hematokrit değeri, hemoglobinin miktarı, alyuvar ve akyuvar sayıları yönünden incelenmiştir.

Gruplarda (I. Aşısız Kontrol, II. Aşılı Kontrol, III. Nitrit içirilmiş, IV. Nitrat içirilmiş) hematokrit değerleri sırasıyla % 47, 45, 41, 45, hemoglobinin miktarları; 10.7, 10.9, 9.7, 10.9 gr olarak normal hudutlarda, alyuvar sayıları; 1 mm³ te 6.78, 8.94, 8.94, 8.77, 11.7x10⁶ olarak farklı, akyuvar sayıları ise 1 mm³'te 9.830, 9.070, 8.170, 7.830 olarak immunosupresif etkiye paralel şekilde azalır biçimde bulunmuştur.

SUMMARY

Studies on Some Biological Changes Observed in Swiss Mice Treated With Immunosuppressants Nitrite and Nitrate. I. Changes in Some Blood Parameters

Eighty Swiss mice divided into 4 groups were used. Blood samples were taken from four animals randomly selected to obtain the hematocrit values, hemoglobin levels, red (rbc) and white (wbc) blood cell counts.

The groups were I. Negative controls, II. Vaccinated with Hitchner B₁ Newcastle vaccine, III. Treated with nitrite and IV. Treated with nitrate in their drinking water.

The respective hematocrit values were 47, 45, 41, 45 per cent, while the hemoglobin levels were 10.7, 10.9, 9.7, 10.3 g (s) which were considered in the normal limits.

* Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Bursa.

** Doç. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Bursa.

Respective rbc counts per cu mm of blood were 6.78, 8.94, 8.77 and 11.73x 10⁶, while wbc counts per cu mm of blood were 9.830, 9.070, 8.170 and 7.830. These values were different than normal numbers and this diffence was in a close parallelism with the immunosuppressive activity of nitrite and nitrate.

Key words: Immunosuppressant, nitrate, nitrite, hematocrit, hemoglobin, red blood cell.

GİRİŞ

Nitrat ve nitritin aşırı miktarlarda alınması gerek insan, gerekse hayvanların vücudunda kendini özel ve genel semptomlarla belli eden çeşitli biyolojik değişikliklerin meydana gelmesine neden olur. Zehirlenmeler, kanserojen etki immunosuppressif etki, kan dokusunda değişiklikler, mikroflora sayısı gibi olguları bunlar arasında sayabiliriz.

Nitrat zehirlenmesinin belirtileri, solunum güçlüğü, vazodilatasyon, kan basıncında düşme, süt sekresyonunun azalması, yavru atma, A avitaminoz ve tiroid fonksiyonunda bozukluklar olarak bildirilmektedir¹⁻². Araştırmacılar nitratın alınan gıda ve sularla vücuda girmesi yanında, vücuttaki üretiminde başka mekanizmalarında mevcut olduğunu bildirmektedirler. Spiegelhalder ve ark.³ ları tükrükle ağız boşluğuna salgılanan NO₃'ün ağız içerisindeki doğal mikroflora tarafından indirgenerek bol miktarda nitrite dönüştüğü nitrit'inde yutularak mideye eriştiğini açıklamaktadırlar. Tannenbaum ve ark.⁴ barsaklarda nitrojenli bileşiklerden mikrobiyolojik yolla NO₃ oluştuğunu ve oluşan bu NO₃'ün belli bir kısmının yine mikrobiyolojik olarak NO₂'e indirgenişini saptamışlardır.

Nitrit ister ekzojen ister endojen karakterde olsun vücut için son derece toksik bir maddedir. Hemoglobini methemoglobine çevirir. Methemoglobin oksijen taşıyamaz⁵⁻⁶. Mamafih alyuvarlarda bulunan reduktaz enzim sistemi, oluşan methemoglobini sürekli olarak hemoglobine dönüştürür⁷. Nitrat ve nitrit'in, bu bildirilen etkileri sonu hematolojik değerlerde değişiklikler meydana geldiği açıklanmaktadır. Nitekim, Borowiec⁸ koyunlarda yemdeki nitrat miktarının artmasına paralel olarak kanın hemoglobin ve hematokrit değerlerinde de artışlar olduğunu, Son⁹ 0.2 ve 0.3 gr/kg dozlarında sodyum nitrat verilen koyunların hematokrit değer ve hemoglobin miktarlarında 4. haftadan itibaren belirgin artışlar meydana geldiğini rapor etmektedir. Nikolov¹⁰ % 2 oranında nitrat kapsayan rasyonla beslenen koyunlarda hemoglobin düzeyinin istatistiki olarak önemli değişiklikler göstermediğini bildirmektedir. Aynı araştırmacı düşük miktarlarda (% 0.8 ve 1.5) nitrat içeren yemle beslenen koyunların kanlarında alyuvar sayısının azaldığını, yüksek miktarlarda nitrat kapsayan yemle beslenenlerde ise (% 2) arttığını tesbit etmiştir. Keleştimur ve ark.¹¹ nın yaptıkları araştırmaya göre 0.2 gr/kg dozunda nitrat verilen grupta alyuvar sayısının önemli bir artış göstermemesine karşılık 0.3 gr/kg dozunda nitrat verilen koyunların alyuvar sayıları araştırmanın sonunda anormal bir artış göstermiştir. Ayrıca her iki grubunda alyuvar sayısı başlangıçta azalma kaydetmiştir. Druckrey ve ark.¹² 'na göre üç generasyon boyunca bütün hayatları müddetince 100 mg/kg dozunda nitrit verilen BD ratlarında sadece hemoglobin konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Erdinç ve ark.¹³ fazla miktarda nitrit içeren bezelye silajının yedirildiği hayvanlarda methemoglobin değerlerinin yükseldiğini bildirmektedirler.

MATERYAL VE METOD

İmmunosuppresif etki; farelerde immunosuppresif etki evvelce bildirildiği şekilde¹⁴ oluşturulmuştur.

Hematolojik muayeneler: Fareler 4 gruba ayrılmış (aşısız kontrol, aşılı kont., sularına nitrat katılanlar, 400 mg/lt, sularına nitrit katılanlar, 400 mg/lt). Her gruptan rastgele seçilen dört farenin kuyruk venalarından taze kan örnekleri alınarak hematokrit, hemoglobin, alyuvar ve akyuvar yönünden bildirilen metodlara göre¹⁵ incelenmiştir. Hematokrit: heparinli mikrohematokrit borular 3/4 oranında kanla doldurulup 5 dakika santrifüje edildi. Okuma aracında hematokrit değer yüzde olarak okundu. Hemoglobin: Asit hematin yöntemi ile sahli hemoglobinometre'sinde okunan hemoglobin miktarları 100 ml de gram olarak kaydedildi.

Alyuvar: Hayem eriyiği ile 200 kez sulandırılan kan örnekleri Thoma sayma lamına aktarıldı ve değerler 1 mm³'te alyuvar olarak kaydedildi.

Akyuvar: Kan Türk eriyiği ile 10 kez sulandırılarak Thoma sayma lamında akyuvarlar sayılıp değer 1 mm³ te akyuvar olarak kaydedildi.

BULGULAR

Materiyal olarak kullanılan seksen hayvan 4 eşit gruba ayrılmış, her gruptan 4 kan örneği alınarak hematokrit, hemoglobin, alyuvar ve akyuvar yönünden incelenmiştir. Bu değerler aşağıda Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I
Farelerdeki Hematolojik Bulgulara Ait Ortalama Değerler

Gruplar	Hematokrit (%)	Hemoglobin (100 mg/gr)	Alyuvar (10 ⁶ /1 mm ³)	Akyuvar (1 mm ³)
Aşısız	47	10.7	6.78	9.830
Aşılı	45	10.9	8.94	9.070
Nitrit	41	9.7	8.77	8.170
Nitrat	45	10.3	11.73	7.830

TARTIŞMA

Denemeye alınan 4 grup fareden aşısız ve aşılı kontrollerde sonuçlara göre mukayese edildiğinde elde edilen hematolojik değerler immunosupressif etkiyle paralellik arz etmektedir. Hematokrit değerler açısından bakıldığında aşısız kontrol, aşılı kontrol ve nitratlı su içirilen 4. grup hayvanlarda, nitrit içirilen 3. gruba nazaran daha yüksek düzeyde görülüyor. Bu sonuç Nikolov¹⁰ un bildirdiği sonuca uyaktadır. Bu araştırıcı az miktarlarda nitrat verilen hayvanlarda (% 0.8) hematokrit değerinde azalma olduğunu bildirmektedir. Bu sonuç başka araştırmacılar¹¹ tarafından desteklenmektedir.

Hemoglobin miktarı 100 ml kanda gram olarak değerlendirilmektedir. Farelerde normal değer olarak 12.0 ile 13.5 gr/100 ml. olarak bildirilmektedir¹⁵. Ancak al-

dığımız sonuçlara göre kontroller ile nitrat ve nitrit içirilenler arasında hemoglobin düzeyi bakımından büyük bir farklılık görülmemektedir. Nitrat içirilen hayvanlarda hemoglobin miktarı 4. haftadan sonra yükselmeye başlamaktadır⁹. Ancak az miktarlarda nitrat verilen hayvanlarda kayda değer bir değişiklik görülmektedir¹⁰.

Alyuvar sayısı bakımından aşısız kontrollere göre diğer 3 grupta yüksek değerler bulunmuştur. Özellikle sularına nitrat katılan grupta kontrole nazaran bir kat yüksek değer elde edilmiştir. Koyunlarda az miktarda (0.2 gr/kg) nitrat verildiğinde alyuvar sayısında önemli bir artış görülmemesine karşılık fazla miktarlarda (0.3 gr/kg) alanlarda önemli artışlar görülmektedir¹¹.

Akyuvar sayıları gruplar arasında farklılık göstermektedir. Kontrol gruplarına nazaran diğer gruplarda akyuvar sayısı azalmaktadır. Bu tablo daha evvel bildirilen immunosuppresif etki¹⁴ ile beraber gözden geçirildiğinde bu etkinin mevcut olduğu 3. grup (nitrit içirilen) ve 4. grup (nitrat içirilen)'ta bağıışıklığın önlenmesi reaksiyonuna paralel olarak akyuvar sayılarında azalma görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. DAVISON, K.L., MEENTEG, K., WRIGHT, M.J.: Responses in pregnant ewes fed forages containing various levels of nitrate. *Journal Dairy science*, 48: 963, 976 (1965).
2. ŞANLI, Y., İMREN, H. ve KAYA, S.: Isparta yöresinde doğmuş buzağularda görülen amorozis olguları ile gebe ineklerde karşılaşılan kronik nitrat zehirlenmeleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 30, 4: 657-673, (1983).
3. SPIEGELHALDER, B., EISENBRAND, G. and PREUSSMAN, R.: Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: possible relevance to in vivo formation of N-nitroso compounds. *Food Cosmet. Toxicol.* 14: 545-548 (1976).
4. TANNENBAUM, S.R., FETT, D., YOUNG, V.R., LAND, P.D. and BRUCE, W.R.: Nitrite and Nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine. *Science*. 200: 1487-1489 (1978).
5. PİRİNÇÇİ, İ., ACET, A.: Yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleri ile ilgili çalışmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 31, 1: 41-52 (1984).
6. EMERICK, R.J.: Consequences of high nitrate levels in feed and water supplies, *Federation Proceedings*, 33, 5, 1183-1187 (1974).
7. KAYAALP, O.: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, cilt I., Garanti Basımevi, Ankara (1978).
8. BOROWIEC, F.: Action of nitrates in feeds on some heamatological indices in blood of Wethers, *zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej W. Krakowie*, 152, 27-43 (1978).
9. SON, Y.S.: Studies on the effect of nitrate intake on blood and other physiological parameters in lactating cows, *Korean journal of dairy science*, G. 1: 11-19 (1984).

10. NIKOLOV: Changes in some paraclinical (heamatological) values of sheep during nitrate poisoning. Veterinarnomeditski Nauki 20, 8: 34-43 (1983).
11. KELEŞTİMUR, H., PİRİNÇCI, İ. ve SERVİ, K.: Deneysel olarak nitrat zehirlenmesi oluşturulan koyunlarda bazı heamatolojik araştırmalar. Doęa. Tu Vet. ve Hay. D. 12 (1) 52-58 (1988).
12. DRUCKREY, H. et al.: Průfund von nitrit auf chronischtoxische wirkung an ratten. Arzneimittel forochugn, Prof. Int. Symp. Nitrite meat prod. Zeist. pudoc. wageningen (1963).
13. ERDİNÇ, H., ÇAMAŞ, H., OĖAN, M., KELLECI, M.H. ve ÇELEBİCAN, A.: Bezelye silajının besi sığırları rasyonunda kullanma olanakları üzerinde bir araştırma. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 32 (3): 474-483 (1985).
14. KAHRAMAN, M.: Nitrat ve nitritin farelerde immunosuppresif etkileri üzerinde araştırmalar. Uludaę Üniversitesi Veteriner Fakóltesi dergisi (1988) (Basımda).
15. KONUK, T.: Pratik Fizyoloji I. Vet. Fak. Yayınları: 314 A.Ü. Basımevi, Ankara, pp. 55-89 (1975).