

# İçme sularında yüksek nitrat bulunan Akkaraman koyunlarda serum lipid profili ve enzim düzeyleri\*

Volkan GÜNEŞ, Ögünç MERAL, Ulvi Reha FİDANCI, Görkem KISMALI, Tevhide SEL

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

**Özet:** Çalışmada, içme sularında yüksek düzeyde nitrat bulunan Akkaraman koyunlarında serum lipid ve protein profili ile kreatinin düzeyi ve karaciğer enzimlerinden laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST) ve alkalen fosfataz (ALP) aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Nevşehir'in Hacibektaş ilçesi ve çevresinden farklı kaynak sularından örnek alınarak nitrat düzeyleri belirlenmiştir. Sularda nitrat tayini kromatografik yöntemle Bio LC cihazında belirlenmiştir. Akkaraman koyunlardan alınan kan serum örneklerinde AST, ALP ve LDH enzim analizleri ile trigliserid, kolesterol, HDL-C, toplam protein, albumin, ve kreatinin düzeyleri otoanalizörde yapılmıştır. VLDL-C, LDL-C ve globulin düzeyleri ile albumin/globulin oranları hesaplanarak bulunmuştur. Hacibektaş ilçesi ve çevresinde 34 farklı noktadan alınan kaynak suyunun %74'ünün kabul edilebilir seviyenin üzerinde nitrat içerdiği, bunun da %12'sinin 100mg/L üzerinde olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna göre içme sularında yüksek nitrat bulunan Akkaraman koyunların serum LDH ve ALP enzim aktivitelerinde bir azalma tespit edilmiş ve LDH enzim aktivitesinde saptanan azalma istatistik olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Serum trigliserid ve kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre istatistik olarak  $p<0.01$  ve  $p<0.001$  düzeylerinde önemli bir azalma göstermiştir. Serum HDL düzeylerinde gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Serum toplam protein, VLDL ve LDL değerleri kontrol grubuna göre deneme grubunda istatistik olarak sırasıyla  $p<0.05$ ,  $p<0.01$  ve  $p<0.001$  düzeyinde önemli derecede düşüş göstermiştir. Sonuç olarak, analiz edilen sulardaki nitrat seviyelerinin insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturabilecek seviyede olduğu ortaya konmuştur. Yüksek nitrat içeren bu suları tüketen koyunlarda yapılan kan analizi sonuçları da hayvan sağlığının etkilendiğinin bir göstergesidir.

Anahtar sözcükler: ALP, AST, LDH, lipid profili, nitrat, serum proteinleri.

## Serum lipid profile and enzymes levels in Akkaraman sheep with high nitrate in drinking water

**Summary:** In this study, we aimed to determine serum lipid and protein profile and level of creatinine and liver enzymes, LDH, AST and ALP activity in Akkaraman sheep with high nitrate in drinking water. Additionally, spring water nitrate levels were measured from Nevşehir province. Nitrate concentration in water was detected by chromatographic method with Bio LC. Akkaraman sheep' serum AST, ALP and LDH enzyme activities and triglyceride, cholesterol, HDL-C, total protein, albumin and creatinine levels were analyzed with autoanalyzer. VLDL-C, LDL-C, globulin and albumin/globulin ratio were obtained with calculation. The spring water samples collected from 34 different regions in Hacibektaş area. Over acceptable nitrate level have found in 74% of them also there were measured 12% over 100mg/L. In Akkaraman sheep with high nitrate in drinking water serum LDH and ALP enzyme activities decreased compare to control group. LDH activity decrement was found statistically significant ( $p<0.001$ ). Serum triglyceride and cholesterol levels were found significantly higher in control group ( $p<0.01$ ,  $p<0.001$  respectively). No significant difference was found in HDL level. Serum total protein, VLDL and LDL levels were determined in study group significantly lower than control animals ( $p<0.05$ , ( $p<0.01$  and  $p<0.001$  respectively). Consequently, drinking water nitrate levels were detected higher than acceptable limits. Akkaraman sheep with high nitrate in drinking water, blood sample analyses have shown health effects of high nitrate level in consuming water.

Key words: ALP, AST, LDH, lipid profile, nitrate, serum proteins.

## Giriş

İçme amaçlı olarak kullanılan suların çeşitli nedenlerle fiziksel, kimyasal ve biyolojik kirliliğe maruz kalması suyun içilebilir kalitesini olduğu kadar halk sağlığını da önemli derecede etkilemektedir. Nüfus artışı, hızlı kentleşme, evsel-endüstriyel ve tarımsal atıkların arıtma

işi uygulanmadan sulara karışması mevcut su kaynaklarının kirlenmesine neden olmaktadır. Çeşitli faktörler nedeniyle kirlenme, yer altı sularından okyanuslara kadar bütün suları etkilemektedir (9, 18, 25, 28). Nitrit ve nitrat doğal olarak toprak, su, bitkiler ve bazı gıdalarda bulunan azotlu bileşiklerdir. Azotlu bileşikler su kirliliği açısın-

\* Çalışma birinci yazarın yüksek lisans çalışmasından özetlenmiştir.

dan önemli bileşenlerdir. İçme sularındaki seviyeleri de su kalitesi için önemli bir göstergedir. Tarım alanları dışında, yüzey ya da yer altı sularında genel olarak 0-10 mg/L düzeyinde nitrat bulunmaktadır (28). Ülkemizde geçerli olan “Sular-insani tüketim amaçlı sular” standardında (TS 266), nitrat için müsaade edilebilir maksimum değer 50 mg/L olarak tanımlanmaktadır (3). Avrupa Birliği 50 mg/L’lik bir üst sınır getirirken, EPA (US Environmental Protection Agency) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 10 mg/L Nitrat-N (45 mg/L Nitrat) üst sınır olarak tanımlanmaktadır (2,5). TS 266’ya göre içme sularında amonyak ve nitritin hiç bulunmaması istenmektedir (3). İçme suyu kaynaklarının nitrat ile kirlenmesi, altı aydan daha küçük çocuklardan mavi bebek (methemoglobinemia) hastalığına ve yetişkinlerden sindirim sisteminde kansere neden olmaktadır (4,7,8,16,40).

Hayvanların içerisinde en fazla ekonomik öneme sahip olan süt sığırları ile koyunların nitrate karşı olan toleransları pek çok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Bunlar hayvanın yaşı, verim durumu, rasyonun kimyasal yapısı, nitratın tüketim miktarı, şekli ve hızı ile ön midede mikrobiyal parçalanma derecesidir. Rumende nitratın parçalanması sonucu oluşan amonyak yine mikroorganizmalarca protein sentezinde azot kaynağı olarak kullanılmaktadır. Mikrobiyal olayların normal geliştiği koşullarda nitrat amonyağa kadar parçalandığından olumsuz bir etki ortaya çıkmazken nitratın nitrite çevrildiği safhada herhangi bir sebeple parçalanma devam etmezse ortamda kalan nitrit kana geçmektedir. Kanda methemoglobin düzeyi %50’nin üzerine çıktığında zehirlenme belirtileri, karaciğer metabolizmasında bozukluklar, canlı ağırlık ve süt veriminde gerileme ile döl veriminin düşmesi özellikle gözlenmektedir. Geviş getiren hayvanlar ön midelerinde yaşayan mikroorganizmalardan dolayı tek midelilere göre nitrate daha fazla duyarlıdır (9,16,18,25). Dünyada da, çeşitli bölgelerde suların nitrat kirliliği ile ilgili çalışmalar mevcuttur (19,38,43). Amerika’da, tarım alanlarındaki kuyu sularının % 22’sinin nitrat içeriği maksimum kontaminant (MCL) düzeyinin üzerinde olduğu bildirilmektedir. Avrupa Birliğinde de kentsel alanlardaki sularda nitrat düzeyi WHO’nun belirttiği düzeylerin çok altında iken, kırsal alanlardaki su kaynaklarında nitrat miktarı tavsiye edilen düzeyden 10-15 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. Birçok Doğu Avrupa ülkesinde, Çin, Türkiye, Senegal ve Meksika gibi diğer birçok ülkede de kuyu sularında 68 mg/L Nitrat-N üzerinde nitrat kirliliği rapor edilmektedir (39). Çalışmada, içme sularında yüksek düzeyde nitrat bulunan Akkaraman koyunlarında serum lipid ve protein profili ile kreatinin düzeyi ve karaciğer enzimlerinden LDH, AST ve ALP aktiviteleri belirlenerek kontrol grubu ile karşılaştırılması ve içme sularında yüksek nitrat bulunan yöre hayvanlarında genel sağlık değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Nevşehir’in Hacıbektaş ilçesi ve çev-

resinden farklı kaynak sularından da örnek alınarak nitrat düzeyleri belirlenmiştir.

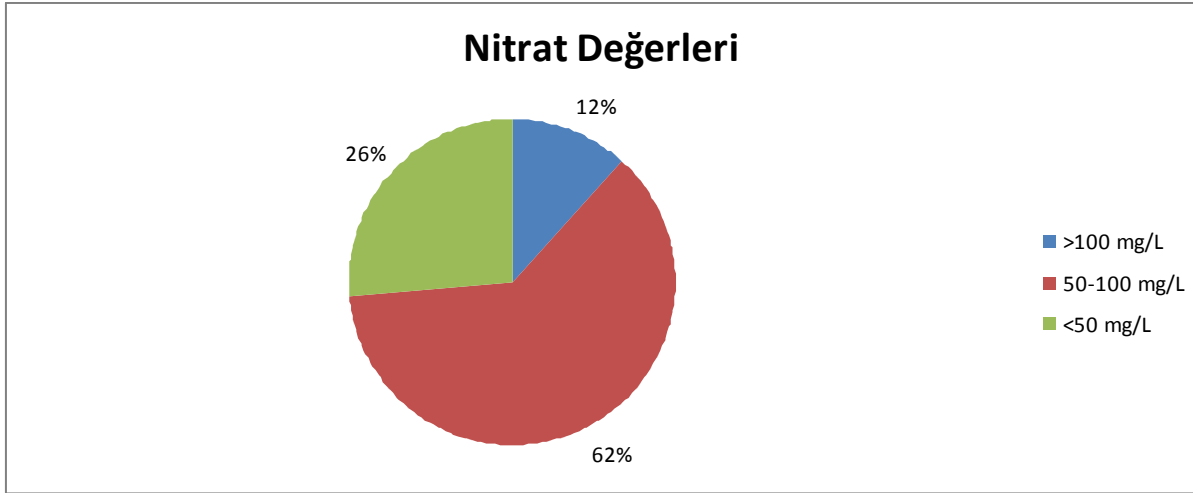
### Materyal ve Metot

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurul Kararı (Karar no: 2012-4-15) esaslarına uygun olarak yürütülmüştür. Çalışmada, veteriner hizmetleri kapsamında Nevşehir’in Hacıbektaş ilçesi ve çevresinden alınan su örneklerinde yüksek nitrat tespit edilmesi üzerine bölgede 34 farklı kaynak suyundan örnek alınarak nitrat analizleri yapılmıştır. Sularda nitrat düzeyi kromatografik yöntemle Bio LC cihazında belirlenmiştir. Su örnekleri kromatografi sistemine (BioLC, Dionex) enjekte edilerek nitrat tayinleri gerçekleştirilmiştir. Kromatografi sisteminde nitrat analizi için anyon-değişim kolonu (Ion Pac AS9-HC, Dionex) ve mobil faz olarak 0,005M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kullanılmıştır. Kolon ısı 30 °C de sabit tutularak akış hızı 1 ml/dakika olarak ayarlanmıştır. Nitrat analizi için standart (Seven anion standart, Dionex) kullanılarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Nitrat düzeyi yüksek kaynak sularını tüketen Akkaraman koyunlar da hayvan materyali olarak kullanılmıştır. Bu amaçla 30 Akkaraman koyundan kan örnekleri alınmıştır. Kontrol grubu olarak aynı bakım ve beslenme şartlarındaki, içme sularında nitrat düzeyi düşük aynı yöreden 10 sağlıklı Akkaraman koyundan kan alınmıştır. Kan örnekleri, 10 dakika 2500 devirde santrifüj edilerek serumları çıkarılmıştır. AST, ALP ve LDH enzim analizleri ile trigliserid, kolesterol, HDL-C, toplam protein, albumin, ve kreatinin analizleri ticari test kitleri kullanılarak otoanalizörde çalışılmıştır. VLDL-C, LDL-C, globulin ve albumin/globulin düzeyleri ise hesaplanarak elde edilmiştir (23). Su ve serum örnekleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda analiz edilmiştir. Gruplararası farkın önemliliği, parametrik test varsayımını sağlayan değişkenler için Student t testi ile, parametrik test varsayımlarını sağlayamayan değişkenler için ise Mann Whitney U testi ile incelenmiştir (35). Tüm sonuçlar minimum %5 hata payı ile değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Hacıbektaş ilçesi ve çevresinde 34 farklı noktadan alınan kaynak suyunun %26’sı WHO kriterlerine göre içilebilir seviyede nitrat içermektedir. Alınan örneklerin %74’ünün kabul edilebilir seviyenin üzerinde nitrat içerdiği, bunun da %12’sinin 100mg/L üzerinde olduğu görülmüştür (Şekil 1).

Kontrol grubuna göre içme sularında yüksek nitrat bulunan Akkaraman koyunların serum LDH ve ALP enzim aktivitelerinde bir azalma tespit edilmiştir, LDH enzim aktivitesindeki azalma istatistik olarak önemli (P< 0.001) bulunmuştur. Serum AST aktivitesinde ise, gruplar arasında önemli bir farklılık görülmemiştir (p>0.05) (Tablo 1).



Şekil 1. Hacibektaş ilçesi kuyu sularında nitrat değerleri.  
Figure 1. Nitrate levels in well water from Hacibektaş region.

Tablo 1. İçme Sularında Yüksek Nitrat Bulunan Akkaraman Koyunların Serum Enzim Düzeyleri.  
Table 1. Serum Enzymes levels in Akkaraman Sheep With High Nitrate in Drinking Water.

	Kontrol N = 10	Deneme Grubu N = 30	P
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
AST (U/L)	63.76 ± 11.30	70.23 ± 13.95	
LDH (U/L)	1457.3 ± 185.36	1114.76 ± 172.58	***
ALP (U/L)	215.15 ± 91.52	122.85 ± 34.19	

\* P<0.05 , \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

Serum trigliserid ve kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli düzeyde azalma göstermiştir, sırasıyla (P< 0.01) ve (P< 0.001). Serum HDL düzeyinde ise gruplar arasında önemli bir fark (p>0.05) bulunmamıştır. Serum VLDL ve LDL değerleri kontrol grubuna göre deneme grubunda istatistik olarak önemli derecede (P< 0.001) düşüş göstermiştir (Tablo 2).

Tablo 2. İçme Sularında Yüksek Nitrat Bulunan Akkaraman Koyunların Lipit Profili.  
Table 2. Serum Lipid Profile in in Akkaraman Sheep With High Nitrate in Drinking Water.

	Kontrol N = 10	Deneme Grubu N = 30	P
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
Trigliserid (mg/dl)	61.1 ± 12.96	39.23 ± 21.80	**
T.Kolesterol (mg/dl)	87.00 ± 21.65	43.13 ± 16.44	***
HDL-c (mg/dl)	12.69 ± 5.11	12.19 ± 3.17	-
VLDL-c (mg/dl)	12.22 ± 2.59	7.84 ± 4.35	**
LDL-c (mg/dl)	62.09 ± 17.24	23.09 ± 11.99	***

\* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

Serum toplam protein düzeyi kontrol grubuna göre deneme grubunda istatistik olarak p< 0.05 düzeyinde düşüş göstermiştir. Serum kreatinin, albumin, globulin ve Alb/Gl oranlarında ise önemli bir fark (P>0.05) bulunmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. İçme Sularında Yüksek Nitrat Bulunan Akkaraman Koyunların Serum Proteinleri ve Kreatinin Düzeyleri.  
Table 3. Serum Protein Profile and Creatinine Levels in Akkaraman Sheep With High Nitrate in Drinking Water.

	Kontrol N = 10	Deneme Grubu N = 30	P
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
T. Protein g/dl	10.98 ± 0.95	8.59 ± 2.87	*
Albumin g/dl	2.68 ± 0.13	2.66 ± 0.35	-
Globulin g/dl	8.3 ± 1.00	5.91 ± 2.57	-
Alb/Glb	0.32 ± 0.005	0.58 ± 0.40	-
Kreatinin mg/dl	0.90 ± 0.18	1.03 ± 0.20	-

\* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

### Tartışma ve Sonuç

Yüksek düzeyde nitrat ve nitrit tüketiminin insan ve hayvanlar açısından tehlike oluşturduğu ve bu tehlikenin insanlarda ağır hastalıklardan ölüme kadar vardığı, hayvancılıkta ise verim düşüklüğü ve ölüm yoluyla ekonomik kayıplara yol açtığı bildirilmektedir (7,8) . Yüksek nitrat seviyelerini içeren suların uzun dönemli tüketimi kronik sağlık sorunları yaratmasından dolayı tavsiye edilmemektedir. Bazı araştırmacılar içme suyundaki nitrat seviyelerinin aşıldığı yerlerde daha yüksek mide kanseri olaylarının olduğunu bildirmişlerdir (5,7,8,16, 39). Bursa yöresinde yem ve yem hammaddelerinde belirlenen nitrat ve nitritin sığırlarda akut bir zehirlenmeye yol açmayacak düzeylerde olduğu, ancak bazı numu-

nelerin içerdiği nitrat ve nitrit miktarlarının subakut veya kronik bir zehirlenmeye yol açabileceği, içme sularındaki nitrat ve nitrit düzeylerinin ise, hayvanların sağlığı açısından bir risk oluşturmamakla birlikte numunelerin % 21'indeki nitrat düzeyi insanlar için belirtilen sınır değerleri aştığı bulunmuştur (30). Kayseri'deki içme sularının karşılandığı kullanma sularında nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlendiği bir çalışmada (14), incelenen örneklerde nitrat düzeyleri kabul edilebilir düzeylerde, nitrit düzeyleri ise bazı bölgelerde yüksek bulunmuştur. Eskişehir ili sınırları içerisinde yüzey ve yer altı suyu örneklerinde nitrat düzeylerinin incelendiği çalışmada (11), yüzeysel su örneklerinde nitrat değerlerinin 0.087-24.25 mg/l arasında, yer altı suyu örneklerinde ise nitrat düzeyi 13-360 mg/l arasında tespit edilmiş ve nitrat düzeyinin yüksek olduğu alanlarda katı atık depolarından yer altı suyu sızma ve/veya dere yatağı yoluyla taşınmış olabileceği ileri sürülmüştür. Şanlıurfa ve yöresindeki kuyu sularında nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlendiği çalışmada (12), nitrat ve nitrit düzeyleri sırasıyla 0.63-46.61 mg/L ve 0-0.14 mg/L arasında tespit edilmiş ve analiz edilen kuyu suyu numunelerinde tespit edilen nitrat ve nitrit miktarlarının İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmeliğe göre uygun olduğu belirlenmiştir. Konya'da su örneklerinde nitrat düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmada, şehir merkezindeki sularda nitrat düzeyi daha yüksek bulunmuştur (26). Afyon bölgesinden 142 kuyu suyu örneğinde nitrat düzeyi 243.61 ppm, nitrit düzeyi ise 0.63 ppm olarak belirlenmiştir. Afyon bölgesi kuyu sularındaki nitrat ve nitrit düzeylerinin sağlık açısından sakınca oluşturabilecek düzeylerde olduğu görülmüştür (31). Isparta ve yöresi ile Kapadokya yöresinde sıkça rastlanan bakarkör buzağı doğumları, nitrat zehirlenmesi sonucu gelişen yine bir Vitamin A yetersizliği ile ilişkilendirilmiştir (1,17,37). Nitrat ve nitritin su ve yemlerle birlikte alınması söz konusu olduğundan, her iki kaynaktan gelen toplam nitrat ve nitrit miktarının birlikte düşünülmesi gerektiği, yemle alınan 5000 ppm'in üzerindeki nitrat düzeyinin mutlak anlamda tehlikeli miktar olduğu bildirilmiştir (41). Niğde ile Nevşehir illerinin çeşitli yerleşim birimlerinden alınan patates sapsarı ve yapraklarında analiz edilen nitrat düzeyleri tek yönlü ve yemlik olarak uzun süreyle kullanılmaları halinde, hayvanlarda bir çok yetiştirme probleminin ortaya çıkmasına yol açabilecek boyutta olduğu ve patates sapı ve yapraklarının tümündeki nitrat değerleri bu tür maddeleri yemlik olarak tüketen hayvanlar için güven sınırı düzeyinin üzerinde olduğu görülmüştür (41). Sünal ve Erşahin (36), yaptıkları çalışma sonuçları ile Türkiye'nin birçok bölgesinde nitrat kirliliğinin önemli bir çevre sorunu olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada ise, Hacıbektaş ilçesi ve çevresinde 34 farklı noktadan alınan kaynak suyunun %26'sının WHO kriterlerine göre içilebilir seviyede nitrat içerdiği

tespit edilmiştir. Su örneklerin %74'ünün ise kabul edilebilir seviyenin üzerinde nitrat içerdiği, bunun da %12'sinin 100mg/L'nin üzerinde olduğu görülmüştür. 20-30 yıl önce yapılan çalışmalar bölgede bir nitrat kirliliğini ve hayvanlar üzerinde de olumsuz etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır (1,17, 37, 41). Çalışma sonuçları bölgede daha önce yapılan çalışmalarla (1,17, 37, 41) ortaya konulan sorunun halen devam ettiğinin bir göstergesidir.

Üç hafta boyunca yemlerle sodyum nitrat verilen ratlarda serum kolesterol LDL ve HDL düzeylerinde önemli bir değişim gözlenmezken, en yüksek nitrat verilen grupta serum trigliserid düzeyinde önemli artış gözlenmiştir (24). Dört hafta boyunca sodyum nitrit katılan yem verilen ratların serum AST, ALT, ALP, kreatinin, total lipid, kolesterol ve trigliserid düzeylerinde önemli artış görülmüş ve serum biyokimyasal parametrelerindeki artış karaciğerdeki obstrüktif yıkıma bağlanmıştır (32). Deneysel bir çalışmada (34), 30 gün süreyle ağız yoluyla farklı dozlarda sodyum nitrit verilen tavşanlarda serum trigliserid ve kolesterol seviyelerinde önemli azalmalar gözlenmiş ve bu değişimin, karaciğerdeki lipid sentez, kullanım ve sekresyon hızındaki dengesizlik sonucu olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada serum kreatin değerlerinde yüksek dozlardaki artış dışında herhangi bir değişim tespit edilmemiş ve yüksek dozlarda gözlenen kreatin düzeyindeki artış nefrite bağlı böbrek fonksiyon bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir (34). Yeme katılan potasyum nitratın (6 hafta boyunca) ratlardaki toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada (6), 5.ve 6.haftalarda serum kolesterol, ALT ve AST düzeylerinde önemli artışlar tespit edilmiştir. Kolesterol ve enzim düzeyindeki artışlar, potasyum nitratın toksik etkisi sonucu karaciğerde şekillenen yıkıma bağlanmış ve askorbik asit verilmesinin biyokimyasal parametrelerdeki değişimi düzelttiği gözlenmiştir (6). Rasyonla subakut düzeyde nitrat verilen koyunlarda yapılan çalışmada (10), bireysel toleransta farklılıklar bulunmuştur. Yüksek tolerans gösteren koyunlar kontrol koyunlara göre % 82'lik yem tüketirken, düşük tolerans gösteren koyunlar kontrol koyunlara göre % 23'lük yem tüketmişler ve gruplar arasında plazma glikoz, kortizol ve retinol düzeylerinde bir farklılık bulunmazken, plazma üre azotu yüksek tolerans gösteren koyunlarda düşük bulunmuştur (10). İçme sularında ve yemlerinde nitrat/nitrit ölçümü ile teyit edilen, kronik nitrat zehirlenmesi görülen süt sığırcılığı işletmesindeki gebe hayvanlarda plazma AST, ALP, LDH ve CK aktivitelerinde artış, Vit A, Beta-karoten düzeyleri ile troid hormon düzeylerinde düşüş tespit edilmiş ve kronik nitrat zehirlenmesinin üreme fonksiyonlarındaki bozukluklar yanında oksidatif lezyonları indükleyerek sistemik bozukluklara da sebep olduğu bildirilmiştir (33). Ağızdan 6 ay boyunca sodyum nitrit verilen ratların serum toplam lipid, protein, albumin ve A/G oranında önemli düşüş,

serum kolesterol, ALT ve AST düzeylerinde ise önemli artışlar görülmüştür. Serum protein düzeylerinde görülen önemli düşüşler, hücre içi protein sentez mekanizmasındaki değişikliğe bağlanmıştır (20). Sularına 100 mg/L, 250 mg/L ve 500 mg/L konsantrasyonlarda nitrat katılan ratlarda yapılan çalışmada (13), 250-500 mg/L düzeyindeki yüksek dozlarda nitrat içeren sulardan tüketen ratlarda NO düzeyi nitrat konsantrasyonundaki artışa paralel artış göstermiştir. Fakat 100 mg/L nitrat içeren sulardan tüketen ratlarda NO düzeyinde değişim gözlenmemiştir (13). Balıklarda yapılan bir çalışmada (21), 200 mg/l nitrat azotu dozunda farklı nitrat kaynakları kullanılarak nitratın toksik etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın 5. haftasının sonunda serum biyokimyasında değişimler gözlenmiş ve kreatinin, Ca değerleri artarken, klor değerleri düşmüştür. Yedinci haftadan sonra balıklarda ölümler görülmeye başlanmış ve kreatinin, bilirubin, AST düzeylerinde önemli artışlar görülürken, Na değerleri düşmüştür (21). Nitrat ile birlikte florun ratlardaki toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada (42), serum ALP, ALT, AST ve GGT düzeyleri kontrol grubuna göre hem nitrat verilen hem de nitratla birlikte NaF verilen grupta artış göstermiştir. Serum toplam protein düzeyi ise her iki grupta da düşme gösterirken idrar protein düzeyleri ise artış göstermiştir. Renal fonksiyon bozukluğuna bağlı şekillenen proteinürinin serum protein değerlerinin düşmesine neden olduğu ileri sürülmüştür (42). Ratlarla yapılan deneysel çalışmada (27), 200 mg/l ve 400 mg/l nitrat içme suyu ile verilmiştir. 400 mg/l nitrat verilen grubun karaciğer analizlerinde, albümin, toplam protein, trigliserid, ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinde artış gözlenmiştir. 400 mg/l nitratla ilave tokoferol verilen grupta ise sadece nitrat verilen grupta gözlenen değişimler kontrol grubundaki düzeylerde bulunmuştur (27). Endüstriyel aktiviteler sonucu kirlenen suların deney hayvanlarındaki etkilerinin araştırıldığı çalışmada (29), nitrat yanında bir çok organik ve inorganik madde ile de kontamine su ile çalışma yapılmıştır. Hem serum hem de dokularda ALP, ALT, AST ve LDH enzim aktiviteleri ölçülmüş ve kirli su oranı arttıkça serum enzimleri yükselmiştir. Karaciğer enzim düzeyleri ise kontrol grubuna göre kirli su oranı arttıkça daha belirgin gözlenen azalma tespit edilmiştir. Karaciğerdeki yıkımın enzim düzeylerindeki azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (29). Kırmızı bacaklı kekliklerde nitratın sub-kronik etkilerinin incelendiği çalışmada (15), içme sularına 400 mg/l ve 500 mg/l nitrat katılmıştır. Nitrat verilen grupların serum enzimlerinden AST, LDH ve CK düzeylerinde azalma, ALP düzeyinde ise artış bulunmuştur. Nitratla maruz kalan kuşların serum albümin düzeylerinde de istatistik olarak önemli olmayan bir azalma gözlenmiştir. Sadece 500 mg/l düzeyinde nitratla maruz kalan grupta kreatinin düzeyi kontrole göre artış göstermiştir. Serum kolesterol ve trigliserid düzeyleri de istatistik olarak önemli olmamakla birlikte düşme

göstermiştir (15). Kazara nitrat gübresi yiyen 1-2 yaşlarında 7 kıl keçisinde, tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplar arasında ALP, sodyum ve potasyum düzeylerinin ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemsiz olduğu, glikoz, klor, kreatinin, AST ve ALT düzeyleri, nitrit miktarı ve kan üre azotu düzeyleri ortalama değerleri arasında ise önemli farklılıkların olduğu saptanmıştır. Hastalarda tedavi öncesi saptanan AST ve ALT ortalama düzeylerinde istatistik olarak önemli derecede artışların akut nitrat zehirlenmesinde karaciğerin, kreatinin ve kan üre azotu düzeylerindeki artışların ise üriner sisteminin etkilenmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (22). Niğde ve yöresindeki hayvanların serum AST, ALT, üre ve ürik asit düzeylerinde saptanan önemli derecede düşüş gözlenen kondisyon bozukluğu da dikkate alınarak, protein, amino asit ve nükleik asit metabolizması ile enerji metabolizması arasındaki mümkün ilişkinin Vit A yetersizliği sonucu bozulduğu şeklinde yorumlanmıştır (17). Hacıbektaş yöresinde yapılan bu çalışmada ise, serum AST, ALP ve LDH enzim analizleri yapılmıştır. Kontrol grubuna göre içme sularında yüksek nitrat bulunan Akkaraman koyunların serum LDH ve ALP enzim aktivitelerinde bir azalma tespit edilmiş, LDH enzim aktivitesindeki azalma istatistik olarak önemli ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur. Serum AST aktivitesinde ise gruplar arasında önemli bir farklılık ( $p > 0.05$ ) görülmemiştir. Çalışma sonuçları Fidancı ve ark.'nın (17) aynı bölgede yaptığı çalışma sonuçları ve Estival ve ark. (15)'nin yaptığı çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermiştir. Diğer çalışmalarda gözlenen enzim düzeylerindeki artışlar (6,20,22) akut toksikasyon şekillenmesi, farklı formda madde ile toksikasyon oluşturulması ya da hayvan türlerindeki farklılıklardan ileri gelmiş olabilir. Sezer ve ark. (33) tarafından süt ineklerinde yapılan çalışmada da serum enzim düzeyleri artmış, ancak bu çalışmadan farklı olarak çalışma gebe hayvanlarda yürütülmüştür. Serum trigliserid ve kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli düzeyde azalma göstermiştir (sırasıyla  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$ ). Serum HDL düzeyinde ise gruplar arasında önemli bir fark ( $p > 0.05$ ) bulunmamıştır. Serum VLDL ve LDL değerleri kontrol grubuna göre deneme grubunda sırasıyla  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$  düzeylerinde istatistik olarak önemli derecede düşüş göstermiştir. Bu çalışmadaki serum lipid düzeyleri ile ilgili sonuçlar Azeez ve ark, (6), Kostogry ve ark, (24), Sahran ve ark, (32) ve Ogur ve ark, (27) tarafından yapılan çalışma sonuçlarındaki serum lipid düzeylerindeki artıştan farklılık göstermektedir. Estival ve ark, (15), Helal ve ark. (20) ve Shour ve El-Aziz, (34) tarafından yapılan çalışmada elde edilen serum lipid düzeyleri ile ilgili sonuçlar, bu çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Bu çalışmada, serum toplam protein düzeyi kontrol grubuna göre deneme grubunda istatistik olarak  $p < 0.05$  düzeyinde düşüş göstermiştir. Serum albumin, globulin

ve bunların oranlarında ise önemli bir fark ( $p>0.05$ ) bulunmamıştır. Çalışmadaki serum protein düzeyi sonuçları, Helal ve ark. (20), Estival ve ark. (15) ve Zabulyte ve ark. (42) tarafından yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Helal ve ark. (20), serum protein düzeylerinde görülen önemli düşüşleri, intrasellüler protein sentez mekanizmasındaki değişikliğe bağlamışlardır. Serum kreatinin düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Çalışma sonuçlarından farklı olarak, İssi ve ark. (22), Sarhan ve ark. (32) ve Shour ve El-Aziz, (34) serum kreatinin düzeylerinde artış bulmuşlar ve bu artışı üriner sistemin etkilenmesine bağlamışlardır.

Sonuç olarak, Nitrat ve nitrit düzeyi yüksek suların insan ve hayvan sağlığı üzerine olumsuz etkileri dikkate alındığında, sulardaki nitrat kirliliğinin belirlenmesi önemlidir. Hacibektaş ilçesi ve çevresinde yapılan çalışmada analiz edilen sulardaki nitrat seviyeleri insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturabilecek seviyede olduğu ortaya konmuştur. Yüksek nitrat içeren suları tüketen koyunlarda yapılan kan analizi sonuçlarında tespit edilen değişimler hayvan sağlığının etkilendiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

### Kaynaklar

1. **Altıntaş A** (1995): *Buzağularda bakarkörlük ve vitamin A yetersizliği*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **42**: 479-485.
2. **Anonim** (1996): *Guidelines for Canadian drinking water quality*. 6th Ed. Canada Communication Group-Publishing. Ottawa, Canada.
3. **Anonim** (1997): *Sular-İçme ve Kullanma Suları*. TS 266, TSE, Ankara.
4. **Anonim** (2006): [www.des.nh.gov](http://www.des.nh.gov), *Nitrate and nitrite: health information summary: Environmental Fact Sheet*. New Hampshire Department of Environmental Services.
5. **Anonim** (2013): [www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je14.htm](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je14.htm), 845 Nitrate (WHO Food Additives Series 35). Erişim Tarihi: 25.12.2013
6. **Azeez OH, Mahmood MB, Hassan JS** (2011): *Effect of nitrate poisoning on some biochemical parameters in rats*. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, **25**, 47-50.
7. **Bruning-Fann CS, Kaene JB** (1993): *The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on animal health: A rev Vet. Human. Toxicol*, **35**, 237-253.
8. **Bruning-Fann CS, Kaene JB** (1993a): *The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: A review*. Vet. Human. Toxicol, **35**, 521-538.
9. **Chow CK, Hong CB** (2002): *Dietary vitamin E and selenium and toxicity of nitrite and nitrate*. Toxicology **180**, 195-207.
10. **Cockrum RR, Austin KJ, Ludden PA, Cammack KM** (2010): *Effect of subacute dietary nitrate on production traits and plasma analytes in Suffolk ewes*. Animal, **4**:5, 702-708.
11. **Çakmak Ö** (2007): *Eskişehir ilinde yer altı ve yüzeysel sulardaki nitrat kirliliğinin kirlenici kaynakları göz önünde bulundurularak değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun.
12. **Durmaz H, Ardiç M, Aygün O, Genli N** (2007): *Şanlıurfa ve öresindeki kıyı sularında nitrat ve nitrit düzeyleri*: YYÜ Vet. Fak. Derg. **18**, 51-54.
13. **El-Wakf AM, Hassan HA, El-Said FG, El-Said AE** (2008): *Hypothyroidism in male rats of different ages exposed to nitrate polluted drinking water*. Mansoura J. Forencis Med. Clin. Toxicol Vol.XVI, No:2, 77-90.
14. **Ertaş N, Gönülalan Z, Yıldırım Y, Al S, Karadal F** (2013): *Kayseri Bölgesi Kıyı Sularındaki Nitrat ve Nitrit Düzeyleri*, Erciyes University Journal of Faculty of Veterinary Medicine, **10**, 15-19.
15. **Estival JR, Haro MM, Hernando PM, Mateo R** (2010): *Sub-chronic effects of nitrate in drinking water on red-legged partridge (Alectoris rufa): Oxidative stress and T-cell mediated immune function*. Environmental Research **110**, 469-475.
16. **Fan AM, Steinberg VE** (1996): *Health implications of nitrate and nitrite in drinking water an update on methemoglobinemia occurrence and reproductive and developmental toxicity*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, **23**, 35-43.
17. **Fidancı UR, Altıntaş A, Salmanoğlu B** (1994): *Niğde ili ve çevresinde rastlanan bakarkör buzağularda serum transaminaz (GOT, GPT). Üre ve ürik asit düzeyleri*. Türk. Vet. Hek. Derg., **6**, 64-66.
18. **Gadberry S, Jennings J** (2013): *Nitrate poisoning in cattle*. University of Arkansas Division of Agriculture. Agriculture and Natural Resources. FSA 3024.
19. **Halwani J, Baroudi BO, Wartel M** (1999): *Nitrate contamination of the groundwater of the Akkar Plain in northern Lebanon*. Sante, **9**, 219-23.
20. **Helal E, Zahkok S, Soliman GZA, Al-Kassas M, Abdel Wahed H** (2008): *Biochemical studies of the effect of sodium nitrite and/or glutathione treatment on male rats*. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, **30**, 25-38.
21. **Hrubec TC, Robertson JL, Smith SA** (1997): *Effects of ammonia and nitrate concentration on hematologic and serum biochemical profiles of hybrid striped bass (Morone chrysops x Morone saxatilis)*. Am.J. Vet Res. **58**, 131-135.
22. **İssi M, Gül Y, İlhan S, Başbuğ O, Gül B** (2009): *Keçilerde akut nitrat zehirlenmesi*: Kafkas Üniv, Vet. Fak. Derg **15**, 807-810.
23. **Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T** (2000): *Klinik Biyokimya*. 1. Baskı, Medisan yayın serisi, **45**, 153-154. Ankara.
24. **Kostogry RB, Pisulewski PM, Pecio A** (2006): *Nitrates affect thyroid status and serum triacylglycerols in wistar rats*. Pol. J. Food. Nutr. Sci. **15/56**, 71-76.
25. **Manassaram DM, Backer LC, Moll DM** (2007): *A review of nitrates in drinking water: maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes*. Ciencia and Saude Coletiva, **12**, 153-163.
26. **Nas B, Berktaş A** (2006): *Groundwater contamination by nitrates in the city of Konya (Turkey): A GIS perspective*. Journal of Environmental Management **79**, 3-37.
27. **Ogür R, Coşkun Ö, Korkmaz A, Oter Ş, Yaren H, Haste M** (2005): *High nitrate intake impairs liver functions and morphology in rats; protective effect of*

- alfa-tocopherol*. Environmental Toxicology and Pharmacology **20**, 161-166.
28. **Olhan E, Ataseven Y** (2009): *Türkiye’de içme suyu havza alanlarında tarımsal faaliyetlerden kaynaklanabilecek kirliliği önleme ile ilgili yasal düzenlemeler*. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, **6**, 161-169.
29. **Oloyede O, Sunmonu TO** (2008): *Decrease in activities of selected rat liver enzymes following consumption of chemical effluent*. J. Appl. Sci. Environ. Manage. **12**, 95-100.
30. **Oruç HH, Ceylan S** (2001): *Bursa yöresinde sığırların yemlerinde, içme sularında ve rumen içeriğinde nitrat, nitrit ve kanda methemoglobin düzeylerinin araştırılması*. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Dergisi, **20**, 25-32.
31. **Özdemir M, Yavuz H, İnce S** (2004): *Afyon bölgesi kıyı sularında nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **51**, 25-28.
32. **Sarhan MAA, Shati AA, Elsaïd FG** (2013): *Biochemical and molecular studies on the possible influence of the brassica oleracea and beta vulgaris extracts to mitigate the effect of food preservatives and food chemical colorants on albino rats*. Saudi Journal of Biological Sciences, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.11.004>.
33. **Sezer K, Albay MK, Özmen O, Haligür M, Şahinduran S, Mor F, Köker A** (2011): *Haematological, biochemical and thyroid gland investigations in pregnant cows and in calves chronically intoxicated with nitrate*. Revue Med. Vet. **162**, 5, 223-228.
34. **Shour A, El-Aziz IA** (1999): *Effect of oral administration of nitrate on serum glucose, some lipid and non-protein nitrogen constituents*. Islamic Univ. J. **7**: 1-13.
35. **Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V** (2000): *Biyoistatistik*, Hatiboğlu yayınları No:53, 9. baskı, Ankara.
36. **Süenal S, Erşahin S** (2012): *Türkiye’de tarımsal kaynaklı yeraltı suyu nitrat kirliliği*. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, **5**, 116-118.
37. **Şanlı Y, İmren HY, Kaya S, Koç B, Kahraman M** (1983): *Isparta yöresinde doğmuş buzağılarda görülen amoroz olguları ile gebe ineklerde karşılaşılan kronik nitrat zehirlenmeleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **30**, 657-73.
38. **Van Grinsven HJM, Ward MH, Benjamin N, Dekok TM** (2006): *Does the evidence about health risks associated with nitrate ingestion warrant an increase of the nitrate standard for drinking water?* Environmental Health: A Global Access Science Source: **5**, 26, 1-6.
39. **Ward MH, Dekok TM, Levallois P, Brenden J, Gulis G, Nolan BT, Vanderslice J** (2005): *Workgroup report: Drinking-water nitrate and health-recent findings and research needs*. Environmental Health Perspective. **113**, 1607-1614.
40. **Yarube IU** (2011): *Nitrate-induced oxidative stress and the effects of dietary antioxidant vitamins C, E and A: Insights from experimental and clinical studies*. Bajopas **4**, 69-79.
41. **Yavuz H, Kaya S, Altıntaş A, Maraşlı Ş** (1994): *Nevşehir ve Niğde yöresinden sağlanan toprak ve su örnekleri ile yemlik olarak kullanılan patates bitkisinin çeşitli kısımlarında nitrat ve nitrit düzeyleri*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **41**, 107-118.
42. **Zabulyte D, Uleckiene S, Kalibatas J, Paltanaviciene A, Jascaniniene N, Stosik M** (2007): *Experimental studies on effect of sodium fluoride and nitrate on biochemical parameters in rats*. Bull Vet. Inst. Pulawy. **51**, 79-82.
43. **Zhao XF, Yang LR, Shi Q, Ma Y, Zhang YY, Chen LD, Zheng HF** (2008): *Nitrate pollution in groundwater for drinking and its affecting factors in hailun, northeast China*. Huan Jing Ke Xue. **29**, 2993-8.

Geliş tarihi: 30.05.2014/ Kabul tarihi: 24.10.2014

**Yazışma adresi:**

Volkan Güneş

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

Biyokimya Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı/Ankara

e-mail: volkangunes@yandex.com