

RATLARDA BAZI NİTROSOAMİNLERİNDÜŞÜK MİKTARDA-UZUN SÜRELİ VERİLMESİNİN KAN, KARACİĞER VE BÖBREKLERDE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİ

İzzet KARAHAN¹ Seval YILMAZ²

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 23119 Elazığ-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 23119 Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 14.11.2005 Kabul Tarihi: 30 12 2005

ÖZET

Bu araştırmada, ratlarda bazı nitrosoaminlerin uzun süreli uygulanmasını takiben kan, karaciğer ve böbrekte lipid peroksidasyonun göstergesi olan malondialdehit (MDA) ve glutasyon (GSH) düzeyleri ile glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri araştırıldı.

Araştırmada kullanılan ratlar her grupta 12 hayvan olacak şekilde 4 gruba bölünerek, birinci grup kontrol olarak ayrıldı. Grup 2, 3 ve 4'teki ratlara sırasıyla N-Nitrosodietilamin (N-NDEA), 1-Nitrosopiperidin (1-NPip) ve N-Nitrosopirrolidin (N-NPir) 30 gün süreyle içme suyuyla ağızdan 200 ppb miktarda verildi. Biyokimyasal analizler için uygulamaların her gruptan toplam 12 rattan kan, karaciğer ve böbrek numuneleri alındı.

Tüm uygulamalarda uzun süreli nitrosoamin verilmesi sonucunda kontrol grubuna göre serum, karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin önemli düzeyde arttığı; GSH-Px ve CAT aktivitelerinin ise azaldığı belirlendi. MDA düzeylerinde en önemli artışların N-NDEA verilen grupta karaciğer ($p<0,001$) ve böbrekte ($p<0,001$) sırasıyla %91.3 ve %98.7 düzeyinde olduğu tespit edildi. Diğer yandan GSH-Px aktivitelerinin N-NDEA ve 1-NPip verilen gruplarda karaciğerde ($p<0,001$) sırasıyla %44.8 ve %38.8; CAT aktivitelerinin ise N-NDEA verilen grupta karaciğer ($p<0,01$) ve böbrekte ($p<0,001$) sırasıyla %34.4 ve %28.8 oranında azaldığı tespit edildi. GSH düzeylerinin ise tüm nitrosoamin uygulamalarında azaldığı gözlemlenirken, bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) gözlemlendi.

Sonuç olarak, bu bulgular ratlarda uzun süreli nitrosoamin uygulamalarının ve özellikle N-NDEA'nın öncelikle karaciğerde ayrıca kan ve böbrekte de lipid peroksidasyona neden olarak oksidatif stres oluşumunu önemli ölçüde arttırdığı ortaya konuldu. Bu nedenle, başta su olmak üzere çeşitli yollarla nitrosoaminlere maruz kalınmasının lipid peroksidasyona bağlı olan insan ve hayvanlarda sağlık problemlerine yol açabileceğinden dolayı gereken önemin gösterilmesi kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler : Nitrosoaminler, Malondialdehit, Glutasyon, Glutasyon peroksidaz, Katalaz, Oksidatif stres.

ABSTRACT

Effects of Prolonged Low Amounts Some Nitrosamines Administrations on Oxidative Stress in Blood, Liver and Kidney of Rats

In this study, we investigated blood, liver and kidney levels of malondialdehyde as a marker of lipid peroxidation, and glutathione; with activities of glutathione peroxidase and catalase following prolonged low amounts administrations of some nitrosamines in rats.

Rats were divided into four groups; first group served as control. Groups 2, 3 and 4 administered orally Nitrosodiethylamine, 1-Nitrosopiperidine, N-Nitrosopyrrolidine at the amount of 200 ppb with drinking water for 30 successive days, respectively. For biochemical analyses tissue samples were collected from a total of 12 rats of each group.

Significant increases in serum, liver and kidney MDA levels, but significant decreases in GSH-Px and CAT activities were observed during nitrosamines administrations in rats according to the control group. It was found significantly increases in serum MDA levels of liver and kidney of N-NDEA treated group. These increases were determined to be respectively %91.3 and %98.7 higher than control. However, it was found that GSH-Px activity in liver treated with N-NDEA and 1-NPip decreased by %44.8 ve %38.8; CAT activities of liver and kidney in rats treated with N-NDEA decreased by %34.4 and %28.8 respectively as compared with the control. GSH levels in experimental groups were detected to decrease but, these decreases were statitically nonsignificant.

In conclusion, these findings demonstrate that prolonged administration of nitrosamine, especially N-NDEA rats increased markedly the oxidative stresses by inducing lipid peroxidation in liver and to lesser extent in blood and kidney. Therefore, it is important to remind that lipid peroxidation resulting fom nitrosamine exposure of different resources particularly water cause serious health problems in human and animals and thus it requires necessary attention.

Key words: Nitrosamines, Malondialdehyde, Glutathion, Glutathione peroxidase, Catalase, Oxidative stress.

GİRİŞ

Çeşitli ksenobiotikleri ihtiva eden gıda ve suların alınmasından dolayı, oluşan lipid peroksidasyonla ilişkili görülen pek çok hastalığın gelişmesinde bu maddelerin önemli rol oynadığı iyi bilinmektedir. İnsan ve hayvan gıdalarında karşılaşılan nitrat, nitrit ve N-nitroso bileşikleri sağlık açısından önemli riskler oluştururlar. Sular ve bitkisel gıdalar ile yemler insan ve hayvanların nitrat ihtiva eden bileşikleri almasında %85'lik oranla en önemli kaynaklardır (1, 2). Su ve gıdalarla dışarıdan alınan nitrit ve nitrosoaminler canlılarda önemli bir yer tutmakla birlikte, biyolojik olarak çok aktif olan bu bileşiklerin ana kaynağını çeşitli yollarla alınan nitratlı bileşiklerin vücutta bakteriyel ve memeli metabolizması sonucunda oluşan kısmı teşkil eder (3-5).

Nitrosoaminlerin karsinojenik etkinlikleri ve insan ve hayvan sağlığı açısından önemli bileşikler olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Nitrosoaminler ve özellikle N-NDEA çevresel ortamlarda yaygın olarak bulunabilmekte ve güneş ışığı altında kolayca yıkımlanmaktadır. Fakat, çevre ortamında bulunan N-nitroso bileşikleri ile nitrat ve nitrit gibi bunların ön maddeleri vücuda alındıktan sonra kanser oluşumları için potansiyel risk faktörlerini oluştururlar(6-8). Örneğin içme sularında N-NDEA gibi nitrosoaminlerin 0.010 µg/l, alkollü içkilerde 0.1 µg/l ve çeşitli gıdalarda ise 0.2 ile 150 µg/kg düzeylerinde bulunabileceği tespit edilmiştir(9, 10). Araştırmacılar gıdalar ile içme suyu içindeki nitrat ve nitritin de N-nitrosoaminlerin oluşumuna yol açarak kanser oluşturabileceğini bildirmektedirler (1, 5, 10-12).

Çeşitli araştırmalarda deney hayvanlarına N-NDEA, 1-NPip ile N-NPir ve diğer nitrosoaminler verildiğinde başta karaciğer olmak üzere diğer organ ve doku tümörlerine neden olduğu gösterilmiştir(12-15). Nitrosoaminler tarafından oluşturulan bu doku hasarlarının patogenezisinde oluşan oksidatif hasar temel mekanizma olarak görülmektedir. Çoğu ksenobiotiklerin toksisitesinde olduğu gibi, oksidatif hasar sonucu anormal düzeyde etkin oksijen radikalleri oluşumu; bazı makromoleküller ve hücrede hasar, membran lipidlerinin peroksidasyonunu içeren çeşitli mekanizmalar aracılığıyla nekroz, protein denatürasyonu ve DNA hasarı meydana getirir (16-20). Nitrosoaminlerin oluşturduğu etkin oksijen gruplarının artmasıyla karakterize oksidatif stressin sonucu lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerinde artma ve GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerinde değişiklikler görülür (21-24).

Yukarıdaki bilgilerin ışığı altında nitrosoaminlerin içme suyu ve gıdalar başta olmak üzere çeşitli yollarla alınmalarının insan ve hayvanlarda özellikle karsinojenik potansiyelleri bakımından önemi büyüktür. Bu nedenle, bu araştırmada düşük miktarda uzun süreli olarak bazı nitrosoaminlerin içme suyu içinde verilmesinin lipid peroksidasyon ve oksidatif stres üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İlaç ve Kimyasal Maddeler: N-Nitroso-diethylamine (N-NDEA, Code: N-0756), 1-Nitrosopiperidine (1-NPip, Code: N-6007) N-Nitrosopyrrolidine (N-NPyr, Code: N-6257) Sigma'dan (St Louis, MO, USA); indirgenmiş glutatyon, glutatyon redüktaz, tiyobarbitürik asit, fosfotungustik asit, hidrojen peroksit, NADPH ve diğer kimyasal maddeler Sigma'dan (St Louis, MO, USA) ile Merck (Darmstadt, Germany)'ten temin edildi.

Hayvan Materyali: Bu araştırmada; 48 adet, 170-220 g ağırlıklarında, 8 haftalık sağlıklı, Sprague-Dawley ırkı ratlar kullanıldı. Araştırmada deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık : 12 saat karanlık ve 24±3°C) uygun olarak yürütüldü. Deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari rat yemi (pellet yem, Elazığ Yem Sanayi) ve musluk suyu *ad libitum* sağlandı.

Deneysel İlaç Uygulamaları: Hayvanlar, bir grupta 12 rat olacak şekilde rastgele 4 gruba bölündü. Kontrol grubu (Grup 1) ratlara *ad libitum* olarak içme suyu verildi. Grup 2, 3 ve 4'teki ratlara ise sırasıyla N-NDEA, 1-NPip, N-NPir birbirini takip eden 30 gün süreyle uygulandı. Bu deneme gruplarına nitrosoaminlerin tümü 200 ppb miktarında içme suyu içerisinde verildi. Bu çalışmada kullanılan nitrosoaminlerin miktarı daha önceki çalışmalara (1, 2, 10, 11) göre belirlendi ve her gün taze içme suyuna katılarak uygulandı.

Örneklerin Alınması ve Biyokimyasal Analizler: Bütün gruplardan, uygulamaların 3, 7, 15 ve 30. günlerinde 3'er rat olmak üzere her gruptan toplam 12 rat kurban edilerek, kan, karaciğer ve böbrek dokusu örnekleri alındı. Kan örneklerinin bir kısmının serumları santrifüje edilerek çıkarıldı. Bir kısmı ise antikoagülan (%2 sodyum okzalit) içeren tüplere toplandı ve plazmalarını ayırmak için +4 °C'de 200 g'de 5 dak santrifüje edildi. Serum ve plazma ile karaciğer ve böbrek doku örnekleri

biyokimyasal analizler yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı. Analizler öncesinde karaciğer ve böbrek dokuları tüm homojenatta 1:10 (a/h) bulunacak şekilde % 1.15 KCl içeren bir tampon ile Teflon-glass homojenizatörde homojenize edildi. Bu homojenatlar MDA ve GSH düzeyleri ile CAT aktivitelerini belirlemek için 14.000 rpm'de, +4°C'de 15 dk., GSH-Px aktivitelerini belirlemek için ise 18.000 rpm'de, +4°C'de 50 dk santrifüje edildi.

Lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeyleri serum ve doku örneklerinde tiyobarbitürik asit ile reaksiyonuna dayanan Ohkawa ve ark. (25)'nin modifiye yöntemine göre; plazma ve doku GSH düzeyleri Ellman (26)'m bildirdiği spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü. Kan ve doku homojenatlarında GSH-Px ve CAT aktiviteleri sırasıyla Beutler (27) ve Aebi (28) tarafından; protein düzeyleri ise Lowry ve ark. (29) tarafından önerilen yöntemlerle belirlendi

İstatiksel Analizler: Alman tüm örneklerde belirlenen veriler; ortalama değerler ($X \pm S.E.M$) olarak tablolarda verildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizini takiben Duncan testiyle değerlendirildi. Sonuçların önem dereceleri $p < 0.05$ olarak vurgulandı.

BULGULAR

MDA Düzeyleri: Tüm uygulamalardaki serum, karaciğer ve böbreklerde oluşan MDA düzeyleri Tablo 1'de sunuldu. Nitrosoamin uygulamaları sonucunda serum ($P < 0.01$), karaciğer ($P < 0.001$) ve böbrekte ($P < 0.001$) MDA düzeylerinin önemli oranlarda kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi. Bu artışların; N-NDEA verilen grupta böbrek ve karaciğerde kontrol grubuna göre sırasıyla %98.7 ve %91.3; 1-NPip ve N-NPir verilen gruplarda ise karaciğer ve kanda kontrol grubuna göre sırasıyla %50.5 ve %89.4 oranlarında arttığı belirlendi.

Tablo 1. N-NDEA, 1-NPip and N-NPir uygulanan ratlarda serum (nmol/ml) karaciğer ve böbrek (nmol/g protein) MDA düzeyleri ve kontrol grubuna göre % değişimleri.

	Grup 1 Kontrol	Grup 2 (N-NDEA)	Grup 3 (1-NPip)	Grup 4 (N-NPir)	P
Serum	3.77 ± 0.17 ^a	6.25 ± 0.57 ^b	5.62 ± 0.56 ^b	5.21 ± 0.28 ^b	**
% Değişim	--	+65.8	+49.1	+38.2	
Karaciğer	50.41 ± 2.18 ^a	96.42 ± 10.61 ^b	75.87 ± 10.85 ^b	95.49 ± 7.86 ^b	***
% Değişim	--	+91.3	+50.5	+89.4	
Böbrek	74.40 ± 3.21 ^a	147.83 ± 8.87 ^b	98.60 ± 7.75 ^c	110.22 ± 11.74 ^c	***
% Değişim	--	+98.7	+32.5	+48.1	

Ortalama değerler ± S.E.M olarak verilmiştir ($n=12$).

^{abc}Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.
** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

GSH Düzeyleri: Tüm uygulamalardaki kan, karaciğer ve böbreklerde oluşan GSH düzeyleri Tablo 2'de sunuldu. Nitrosoamin uygulamaları sonucunda kan, karaciğer ve böbrekte GSH düzeylerinin azaldığı gözlenmekle birlikte, bu

azalmaların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi. Bu azalmaların; N-NDEA, 1-Npip ve N-Npyr verilen gruplarda sırasıyla %33.1, %17.8 ve %15.0 oranlarında kanda oluştuğu belirlendi.

Tablo 2. N-NDEA, 1-NPip and N-NPir uygulanan ratlarda kan (µmol/ml) karaciğer ve böbrek (nmol/g protein) GSH düzeyleri ve kontrol grubuna göre % değişimleri.

	Grup 1 Kontrol	Grup 2 (N-NDEA)	Grup 3 (1-NPip)	Grup 4 (N-NPir)	P
Kan	6.73 ± 0.59	4.50 ± 0.80	5.53 ± 0.56	5.72 ± 0.72	ÖD
% Değişim	--	-33.1	-17.8	-15.0	
Karaciğer	5.02 ± 1.11	3.85 ± 0.27	4.17 ± 0.48	4.32 ± 0.53	ÖD
% Değişim	--	-23.3	-16.9	-13.9	
Böbrek	6.77 ± 0.65	6.32 ± 0.66	6.15 ± 0.92	6.18 ± 0.76	ÖD
% Değişim	--	-6.6	-9.2	-8.7	

Ortalama değerler ± S.E.M olarak verilmiştir ($n=12$).

ÖD : Önemli Değil ($p > 0.05$)

GSH-Px Aktiviteleri: Tüm uygulamalardaki kan, karaciğer ve böbreklerde oluşan GSH-Px aktiviteleri Tablo 3'te sunuldu. Nitrosoamin uygulamaları sonucunda kan ($P<0.05$), karaciğer ($P<0.001$) ve böbrekte ($P<0.05$) GSH-Px aktivitelerinin kontrol

grubuna göre önemli oranlarda azaldığı belirlendi. Bu azalmaların; N-NDEA ve 1-NPip verilen gruplarda kontrol grubuna göre sırasıyla %44.8 ve %38.8 oranında karaciğerde, N-NPir verilen grupta ise %29.8 oranında kanda olduğu gözlemlendi.

Tablo 3 : N-NDEA, 1-NPip and N-NPir uygulanan ratlarda kan (U/g Hb) karaciğer ve böbrek (U/g protein) GSH-Px aktiviteleri ve kontrol grubuna göre % değişimleri.

	Grup 1 Kontrol	Grup 2 (N-NDEA)	Grup 3 (1-NPip)	Grup 4 (N-NPir)	P
Kan	6.87 ±0.37 ^a	5.55 ±0.58 ^{ab}	6.49 ±0.68 ^a	4.82 ±0.55 ^b	*
% Değişim	--	-19.2	-5.5	-29.8	
Karaciğer	0.67 ±0.05 ^a	0.37 ±0.04 ^b	0.41 ±0.04 ^{bc}	0.51 ±0.03 ^c	***
% Değişim	--	-44.8	-38.8	-23.9	
Böbrek	0.71 ±0.06 ^a	0.65 ±0.06 ^{ab}	0.55 ±0.04 ^{ab}	0.52 ±0.06 ^b	*
% Değişim	--	-8.5	-22.5	-26.8	

Ortalama değerler ± S.E.M olarak verilmiştir ($n=12$).

^{abc}Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

* : $P<0.05$, *** : $P<0.001$

CAT Aktiviteleri: Tüm uygulamalardaki kan, karaciğer ve böbreklerde oluşan CAT aktiviteleri Tablo 4'te sunuldu. Nitrosoamin uygulamaları sonucunda kan ($P<0.05$), karaciğer ($P<0.01$) ve böbrekte ($P<0.001$) GSH-Px aktivitelerinin kontrol

grubuna göre önemli oranlarda azaldığı gözlemlendi. Bu azalmaların; N-NDEA ve N-NPir verilen gruplarda kontrol grubuna göre sırasıyla %34.4 ve %18.9 oranında karaciğerde, 1-NPip verilen grupta ise %15.6 oranında kanda olduğu belirlendi.

Tablo 4. N-NDEA, 1-NPip and N-NPir uygulanan ratlarda kan (k/g Hb) karaciğer ve böbrek (k/g protein) CAT aktiviteleri ve kontrol grubuna göre % değişimleri.

	Grup 1 Kontrol	Grup 2 (N-NDEA)	Grup 3 (1-NPip)	Grup 4 (N-NPir)	P
Kan	24.67 ±1.09 ^a	19.67 ±0.87 ^b	20.83 ±1.25 ^b	22.57 ±1.55 ^{ab}	*
% Değişim	--	-20.3	-15.6	-8.5	
Karaciğer	279.58 ±14.34 ^a	183.33 ±9.15 ^b	240.83 ±17.64 ^a	226.67 ±27.03 ^{ab}	**
% Değişim	--	-34.4	-13.9	-18.9	
Böbrek	71.08 ±3.23 ^a	50.58 ±1.98 ^b	61.75 ±2.86 ^c	69.83 ±2.65 ^a	***
% Değişim	--	-28.8	-13.1	-1.8	

Ortalama değerler ± S.E.M olarak verilmiştir ($n=12$).

^{abc}Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

* : $P<0.05$, ** : $P<0.01$, *** : $P<0.001$

TARTIŞMA

Hücrel oksidasyonlar ve lipid peroksidasyon kanser başta olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişimine yol açan patolojik olaylarda etkin oksijen grupları, organik peroksitler ve diğer radikallerin düzeylerinde artış şeklinde kendini gösterir. Lipid peroksidasyon hücrelerde antioksidan enzimatik sistemi etkileyen serbest radikal metabolitlerinin aracılık ettiği hücrel hasarlarda gerçekleşen önemli bir olaydır (15, 16).

Nitrosoaminlerin ve ön maddeleri olan nitrat ve nitritli bileşiklerin etkin oksijen radikallerinin oluşturma yeteneğinde olduğu ve etkin oksijen radikallerinin bu maddeler tarafından oluşturulan hasarlarda arttığı bildirilmektedir (4, 6, 7, 11, 12). Pek çok deneysel çalışmada nitrosoaminlerin ve özellikle N-NDEA'nın karaciğer hasarı oluşturmak

ve karsinogenik amaçla kullanılması söz konusudur (5, 8, 13, 14). Nitrosoaminlerin toksik etkilerinin oluşmasına bir cevap olarak, metabolizması ve metabolik olarak etkisizleştirilmesinde karma görevli sitokrom P-450'ye bağımlı monooksidaz enzim sistemi görev yapar. Bu enzimlerin bir kısmı tarafından oluşturulan serbest radikaller; H_2O_2 ve süperoksit anyonlarının oluşumuna neden olarak oksidatif stresi güçlendirilebilir (4, 6, 21, 22). Serbest radikaller için bir substrat görevi gören MDA, doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına sonucu oluşan dokulardaki lipid peroksidasyonun son ürünüdür (16, 17).

Kan ve eritrositler, demir ve doymamış yağ asitleri bakımından zengin olduğundan dolayı serbest

radikallerin oluşumunun sonucunda görülen oksidatif hasardan kolayca etkilenirler. Bununla birlikte doymamış yağ asitlerinin bu otooksidasyonu in vivo olarak etkili bir koruyucu mekanizmanın göstergesidir. Bu koruyucu mekanizmanın doygunluğu veya eksikliği dokularda oluşan oksidatif hasarın düzeyiyle ilişkilidir (8, 21, 22, 24). Yukarıda belirtilen nitrosoaminlerin metabolizması öncelikle karaciğerde gerçekleşir. Ancak, başta N-NDEA olmak üzere nitrosoaminler toksik etkilerini öncelikle kanda, ama özellikle karaciğerde oluştururlar. Ayrıca kan akımının fazla olduğu böbrekler gibi diğer organlarda bu durumdan daha düşük düzeyde etkilenirler (7, 15, 17, 18). Pek çok deneysel çalışmada farklı nitrosoamin türlerinin bilhassa karaciğerde olmak üzere oluşturdukları doku hasarlarında artmış olan MDA düzeyleriyle karakterize lipid peroksidasyona yol açtığı bildirilmektedir (7, 13, 23). Yapılan bu çalışmada; lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerinin tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre kan ve böbrek dokusu ile özellikle karaciğerde arttığı gözlemlendi (Tablo 1). Ayrıca, N-NDEA verilen grupta (Grup 2) oluşan MDA düzeylerindeki artışın diğer nitrosoaminlerin verildiği gruplara (Grup 3 ve 4) göre daha yüksek düzeylerde olduğu belirlendi. Bu bulgular yukarıdaki araştırmacıları bulgularına paralel olarak nitrosoaminlerin oluşturduğu oksidatif stresteki artışa bağlı olarak etkin oksijen radikallerinin oluşumuna sebep olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu etkinin özellikle N-NDEA verilmesinde ve karaciğerde daha belirgin olduğunu ortaya koymaktadır.

Glutasyon, hücre metabolizmasına katılan, hücre bütünlüğünün muhafazası için esansiyel bir bileşiktir ve karaciğer vücut GSH içeriğinin en önemli kaynağını oluşturur. Lipid peroksidasyonun artması sonucu GSH'nın konjuge bileşiklerinin oluşması ve glutasyon redüktaz aktivitesinin engellenmesi dokularda GSH düzeylerinin azalmasına sebep olabilir (1-3, 16). Diğer yandan ksenobiyotikler ve diğer toksik maddelerin oluşturdukları oksidatif hasarlarda oluşan doku GSH seviyeleri ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler halen tartışmalı bir problemidir. Bazı araştırmacılar (5, 21) oksidatif strese bağlı olarak dokularda GSH düzeylerinde azalma gözlemlerken, bazı araştırmacılar (22, 24) ise oluşan hasarın GSH düzeylerini

değiştirmedini ve hatta arttırabileceğini belirlemişlerdir. Bansal ve ark. (22) tarafından N-NDEA verilmesinin kan ve karaciğerde GSH düzeylerini azalttığını; buna karşın bir başka çalışmada (21) eritrositlerde total GSH düzeylerinin arttığı bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada kan, deneme gruplarında karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin azaldığı belirlenmekle birlikte, tüm dokulardaki bu azalmaların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü (Tablo 2). Ancak yine de GSH düzeylerindeki bu azalmalar dokuların oksidatif strese karşı bir tepkisi olarak değerlendirilebilir.

Lipid peroksidasyona karşı oluşan korunma mekanizmasında GSH-Px ve CAT birincil antioksidan enzimler olarak bilinirler. GSH-Px okside glutasyon oluşumunda GSH aracılığıyla H_2O_2 gibi etkin radikallerin indirgenmesinde; CAT ise karaciğerde çok bulunan ve H_2O_2 'in oksijen ve suya indirgenmesinde GSH-Px'la birlikte etkiyen önemli bir enzimdir. Her iki enzim vücuttaki hücresel korunmada önemli rol oynarlar. Bu nedenle oksidatif strese bağlı olaylarda GSH-Px ve CAT aktivitelerinde değişmelerin olduğu bildirilmektedir (16, 23, 24). Yapılan araştırmalarda, nitrosoaminler ve diğer ksenobiyotiklerle oluşturulan lipid peroksidasyon olaylarında GSH-Px ve CAT gibi antioksidan enzimlerin düzeylerinde azalmaların olduğu gösterilmiştir (15, 18-22). Bu çalışmada da, Tablo 3 ve 4'te görüldüğü gibi hem GSH-Px hem de CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre özellikle karaciğerde ve N-NDEA verilen grupta (Grup 2) önemli düzeyde azaldığı tespit edildi (Tablo 3 ve 4). GSH-Px ve CAT aktivitelerindeki bu azalma etkin oksijen radikallerine karşı dokularda koruyucu bir etkinlik oluştuğunu ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, bu bulgular uzun süreli nitrosoamin uygulamalarının ve özellikle N-NDEA'nın kan, karaciğer ve böbrek dokularında lipid peroksidasyona neden olarak oksidatif stres oluşumunu önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir. Bu nedenle, başta su olmak üzere çeşitli yollarla nitrosoaminlere maruz kalınmasının oksidatif strese bağlı olan insan ve hayvanlarda sağlık problemlerine yol açabileceğinden dolayı gereken önemin gösterilmesi ve su ve gıdalarla nitrosoaminlere maruz kalmanın riskleri konusunda gerekli tedbirlerin alınmasının önemli olduğu kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Aiub CA, Pinto LF, Felzenszwalb I. N-Nitroso-diethylamine mutagenicity at low concentrations. *Toxicol Lett* 2003; 145, (1): 36-45.
2. Levallois P, Ayotte P, Van Maanen JM, et al. Excretion of volatile nitrosamines in a rural population in relation to food and drinking water consumption. *Food Chem Toxicol* 2000; 38, (11): 1013-1019.
3. Bruning-Fann CS and Kaneene JB. The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human

- health: A review. *Vet Hum Toxicol* 1993; 35, (6): 521-538.
4. Gangolli SD, Van den Brandt PA et al. Nitrate, nitrite and N- nitroso compounds. *Eur J Pharmacol* 1994; 292, (1): 1-38.
 5. Velmurugan B, Bhuvanewari V, Nagini S. Antiperoxidative effects of lycopene during N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine induced gastric carcinogenesis. *Fitoterapia* 2002; 73, 7-8: 604-611.
 6. Bartsch H, Hietanen E, Malaveille C. Carcinogenic nitrosamines: free radical aspects of their action. *Free Radic Biol Med* 1989; 7, (6): 637-644.
 7. Sanchez-Perez Y, Carrasco-Legleu C, Garcia-Cuellar C. et al. Oxidative stress in carcinogenesis. Correlation between lipid peroxidation and induction of preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2005 ; 217, (1): 25-32.
 8. Hietanen E, Bartsch H, Ahotupa M, et al. Mechanisms of fat-related modulation of N-nitrosodiethylamine-induced tumors in rats: organ distribution, blood lipids, enzymes and pro-oxidant state. *Carcinogenesis* 1991; 12, (4): 591-600.
 9. Acet A, Traş B, Karahan İ, Baş AL. Alkollü içkilerde nitrozamin düzeylerinin belirlenmesi. *Doğa Tr J vet Anim Sci* 1993; 17 (4): 275-279.
 10. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 17. Some N-nitroso compounds, Suppl. 7. Intern. Agency for Res. on Cancer, Lyon, 1987.
 11. Mirvish SS. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Lett* 1995; 93, (1): 17-48.
 12. Thirunavukkarasu C and Sakthisekaran D. Effect of selenium on N-nitrosodiethyl-amine-induced multistage hepatocarcinogenesis with reference to lipid peroxidation and enzymic antioxidants. *Cell Biochem. Funct* 2001; 19, (1): 27-35.
 13. Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, et al. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 175, (2): 130-139.
 14. George J, Tsutsumi M, Takase S. Expression of hyaluronic acid in N-nitroso-dimethylamine induced hepatic fibrosis in rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36 (2): 307-319.
 15. Ahotupa M, Bussacchini-Griot V, Bereziat JC, et al. Rapid oxidative stress induced by N-nitrosamines. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 146: 1047-1054.
 16. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23 (1): 21-48.
 17. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev* 1999; 31 (4): 971-997.
 18. Karahan İ, Atessahin A, Yilmaz S, et al. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology* 2005 215, (3): 198-204.
 19. Çelik S, Bal R, Yarsan E, Durgut R. Effects of lead on lipid peroxidation in rabbits. *Indian Vet J* 2004; 81: 765-768.
 20. Yarsan E, Tanyüksel M, Çelik S, Aydın A. Effects of aldicarb and malathion on lipid peroxidation. *Bull Environ Contam Toxicol* 1999; 63:575-581.
 21. Bansal AK, Bansal M, Soni G, Bhatnagar D. Modulation of N-nitrosodiethylamine (NDEA) induced oxidative stress by vitamin E in rat erythrocytes. *Hum Exp Toxicol* 2005; 24, (6): 297-302.
 22. Bansal AK, Bansal M, Soni G, Bhatnagar D. Protective role of vitamin E pre-treatment on N-nitrosodiethylamine induced oxidative stress in rat liver. *Chem Biol Interact* 2005B; 156, (2-3): 101-111.
 23. Mittal G, Kaur, M, Soni G. Impact of hypercholesterolemia on in vitro toxicity on N-nitrosodiethylamine: effect on lipidperoxidation of blood and tissue. *Indian J Exp Biol* 2002; 40, (9): 1071-1073.
 24. Mizuoka H, Shikata N, Yang J, et al. Biphasic effect of colchicine on acute liver injury induced by carbon tetrachloride or by dimethylnitrosamine in mice. *J Hepatol* 1999; 31 (5): 825-833.
 25. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
 26. Ellman G. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.
 27. Beutler E. Red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods*. New York: Grune Strottan, 1975: 67-69.
 28. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU. Ed. *Methods in Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press, 1983: 276-286.
 29. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.