

Dietilnitrozamin Verilen Ratlarda Omega-3 Yağ Asitlerinden Zengin Balık Yağının Koruyucu Rolünün Araştırılması

[Investigation of the Protective Role of Omega-3 Fatty Acids Riched Fish Oil on Rats Given Diethylnitrosamine]

Emine Atakişi

Ayla Özcan

*Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya
AD. Paşacayın 36100 KARS/ TÜRKİYE

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Emine Atakişi
Tel: 0474.242 68 00/1160
Faks: 0474.242 68 53
e-mail: et_tasci@hotmail.com

Kayıt tarihi 28.05.2005; kabul tarihi 25.08.2005
[Received 28.05.2005; accepted 25.08.2005]

ÖZET

Çalışmada, dietilnitrozaminin karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesi ve bu toksik etkilere bağlı olarak meydana gelebilecek oksidatif strese karşı omega-3 (ω -3) yağ asitlerinin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal olarak yaklaşık 4 aylık ve $212 \pm 6,41$ g olan 40 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanılmıştır. Ratlar, kontrol (periton içi tek doz % 0,9'luk NaCl çözeltisi), grup II (periton içi tek doz 150 mg/kg dietilnitrozamin), grup III (periton içi tek doz 150 mg/kg dietilnitrozamin ile derialtı 0,4 g/kg/gün ω -3 yağ asiti içeren balık yağı) ve grup IV (0,4 g/kg/gün derialtı ω -3 yağ asiti içeren balık yağı) olmak üzere dört eşit gruba ayrılmıştır. Yedi gün süren uygulamanın sonunda anestezi altında kalplerinden heparinli tüplere kan örnekleri alındıktan sonra öldürülen ratların karaciğer dokuları çıkarılarak %10'luk formaldehitte saklanmıştır. Alınan kan örneklerinden bir miktarı hiçbir işleme tabi tutulmadan tam kan olarak ayrılmıştır. Geriye kalan kanların plazmaları elde edilmiştir. Tam kanda redükte glutatyon, plazmada malondialdehit düzeyi ile adenoazin deaminaz aktivitesi kolorimetrik olarak tayin edilmiştir.

Plazma adenoazin deaminaz aktivitesi ve tam kan redükte glutatyon düzeyi grup II ve III'te kontrol grubuna göre düşük ($p < 0,001$), tam kan redükte glutatyon düzeyi grup III'te grup II'ye göre yüksek ($p < 0,001$) bulunmuştur. Plazma malondialdehit düzeyinde grup II'de kontrol grubuna göre artış ($p < 0,001$) tespit edilmiştir.

Sonuç olarak dietilnitrozaminin toksik etkilerine bağlı olarak oksidatif strese arttırabileceği, ω -3 yağ asitlerinin ise meydana gelen bu strese karşı lipit peroksidasyonunu önleyerek, redükte glutatyon gibi antioksidan moleküllerin miktarını arttırarak ve bir serbest radikal temizleyicisi gibi rol oynayarak koruyucu etki yapabileceği kanaatine varılmıştır. Dietilnitrozaminin adenoazin deaminaz aktivitesinde meydana getirdiği azalmanın ω -3 yağ asitleri tarafından etkili bir şekilde önlenemediği, bu nedenle de bu konu üzerine daha ileri araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler; ω -3 Yağ Asitleri, Dietilnitrozamin, Redükte Glutatyon, Malondialdehit, Adenoazin Deaminaz

ABSTRACT

This study aimed to determine toxic effects of diethylnitrosamine on liver and to investigate the protective effect of ω -3 fatty acids to oxidative stress related with the toxic effects of diethylnitrosamine.

Fourty male rats weighing $212 \pm 6,41$ g (approximately 4 months-old) were used in this study. The animals were equally divided into four groups, control (0,9 % NaCl solution intraperitoneally with a single dose), group II (150 mg/kg diethylnitrosamine intraperitoneally with a single dose), group III (150 mg/kg diethylnitrosamine intraperitoneally with a single dose and 0,4 mg/kg/day subcutaneous dose of fish oil containing ω -3 fatty acids) and group IV (0,4 mg/kg/day subcutaneous dose of fish oil containing ω -3 fatty acids). After seven-day-application, the blood was collected from heart under anesthesia and the liver samples were collected after euthanasia and preserved in 10 % formaldehyde. Part of blood samples were stored without any process as a whole blood. The plasma was seperated from remaining blood samples. The reduced glutathione in whole blood and level of malondialdehyde and activity of adenosine deaminase in plasma were colorimetrically determined.

While the activity of adenosine deaminase and whole blood glutathione level in groups II and III increased comparing to that of in groups II, it was observed that plasma malondialdehyde level increased in group II comparing to that of control group.

The results of this study may suggest the possibility of increase of oxidative stress related with toxic effects of diethylnitrosamine and protective effect of ω -3 fatty acids to this stress by blocking lipid peroxidation, increasing antioxidant molecules such as reduced glutathione and playing a role like scavenging of free radicals. Further study is needed on this subject since the activity of adenosine deaminase caused by diethylnitrosamine was not effectively prevented by ω -3 fatty acids in the current study.

Key Words: Omega-3 fatty acids, Diethylnitrosamine, Reduced glutathione, Malondialdehyde, Adenosine deaminase

GİRİŞ

Omega-3 (ω -3) yağ asitleri α -linolenik asit (LNA), ω -6 yağ asitleri ise linoleik asit (LA) ile temsil edilmekte ve karaciğerde LA araşidonik asite (ARA), LNA ise eikosapentaenoik asit (EPA) ve ardından da dokosaheksaenoik asite (DHA) metabolize edilmektedir (1). ω -3 yağ asitleri diyetle alındığı zaman ARA ile yarışarak hücre zarı fosfolipitlerinin içerisine girmekte ve böylece yangı yapıcı eikozanoid sentezi için kullanılabilecek olan ARA miktarı azalmaktadır (2). Serbest radikaller, molekülleri hasara uğratarak yaşlanma, kanser ve arteriyoskleroz oluşumunu hızlandırmaktadır. ω -6 yağ asitlerine göre ω -3 yağ asitleri, atmosfer havası koşullarında ootooksidasyona daha duyarlı olmasına rağmen, bu tür hastalıkların oluşumunu baskılamaktadır. ω -6 yağ asitleri ve özellikle de LA, ARA'dan yangı yapıcı eikozanoidlerin aşırı ve dengesiz üretimine neden olarak bu olayları hızlandırırken, ω -3 yağ asitleri işemi, yangı ve serbest radikal oluşumunu baskılamaktadır (3). Karsinojen bir madde olan dietilnitrozaminin (DEN) insektisitlerden, tarımda kullanılan kimyasallardan ve nitrattan şekillendiği, sigara dumanında bulunduğu ve aynı zamanda besinlerde bulunan nitratin midede sekonder ve tersiyer aminlerle reaksiyonu sonucu da meydana geldiği bildirilmektedir (4).

Adenozin deaminaz (ADA, EC 3.5.4.4) purin metabolizmasının anahtar enzimi olup, adenozin ve deoksi adenozinin hücre içindeki düzeylerini kontrol etmektedir (5). Karbontetraklorürle yapılan intoksikasyon ve siroz çalışmalarında ADA aktivitesinin karaciğer hasarının belirlenmesinde önemli bir kriter olabileceği bildirilmiştir (5, 6). Yine sirozlu hastalarda ölçülen ADA aktivitesinin sirozun evreleriyle bağlantılı olarak değişim gösterebileceği öne sürülmüştür (7).

Gelişen gıda teknolojisi ile beraber gıdaların uzun süre muhafazası amacıyla fazla miktarda kullanılan nitrat, nitrit gibi katkı maddelerinin nitrozaminlere dönüşmesi ve değişen beslenme alışkanlıkları (ω -3 yağ asiti oranı düşük, doymuş yağ ve kolesterol oranı yüksek diyetler) organizmada geriye dönüşsüz hasarlar meydana getirmekte, metabolik olayların çoğunun meydana geldiği karaciğer ise bu durumdan en çok etkilenen organ olmaktadır. Bu çalışmada, yüksek dozda verilen DEN'in karaciğer üzerindeki toksik etkileri ile bu etkilere bağlı olarak meydana gelebilecek oksidatif stresin belirlenmesi ve son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılan ω -3 yağ asitlerinin bu etkilere karşı koruyucu rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Cihazlar ve Kimyasal Maddeler: Çalışmada spektrofotometre (UV-1201, Shimadzu), santrifüj (Heraeus christ), su banyosu (SB100, Nüve), Hassas

terazi (Scaltec), taşınabilir terazi, saf su cihazı (Heidolph, type-mono, Dest -3000), pH metre (Consort C 732), derin dondurucu (So-low Environmental Equip.Co.) kullanılmıştır. ω -3 yağ asiti kapsülü (Marinkap) Koçak Farma; DEN (d: 0,95 g/ml) ve 1,1,3,3-tetraetoksipropen Sigma; metafosforik asit, 5,5'-(2-ditiobis nitrobenzoik asit (DTNB), sodyum sitrat, redükte glutatyon (GSH), tiyobarbitirik asit (TBA), triklor asetik asit (TCA), amonyum sülfat, fenol, Na-nitroprussid Merck; adenozin ise Calbiochem firmasından temin edilmiştir.

Deney Grupları: Çalışmada ortalama 4 aylık ve $212 \pm 6,41$ g olan 40 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanılmıştır. Ratlar, oda ısısı $20-22^\circ\text{C}$ olan, havalandırılmalı, nem ve ışık kontrollü (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) bir odada barındırılmıştır. Tüm hayvanlara ticari rat yemi ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Denemeye başlamadan önce her grupta 10'ar adet olmak üzere ratlar 4 gruba ayrılmıştır. Grup I'e (Kontrol) tek doz % 0,9'luk NaCl çözeltisi periton içi (ip), grup II'ye tek doz 150 mg/kg DEN (ip), grup III'e tek doz 150 mg/kg DEN (ip) ve ω -3 yağ asiti içeren balık yağı 0,4 g/kg/gün dozda yedi gün boyunca derialtı, grup IV'e ω -3 yağ asiti içeren balık yağı 0,4 g/kg/gün dozda yedi gün boyunca derialtı verilmiştir.

Uygulamaya başlamadan önce ve deneme boyunca her gün tartılarak ratların ağırlıkları kaydedilmiştir. Uygulama sonunda eter anestezisi altında enjektörle kalplerine girilerek heparinli tüplere kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örneklerinden bir kısmı GSH düzeylerinin saptanması amacıyla hiçbir işleme tabi tutulmadan tam kan olarak ayrılmıştır. Geriye kalan kan örneğinden, malondialdehit (MDA) ve ADA parametrelerinin ölçülmesi için santrifüjleme işlemiyle plazma elde edilmiştir. Numuneler ölçümleri yapıncaya kadar -25°C 'de derin dondurucuda saklanmıştır. Kan örnekleri alındıktan sonra öldürülen ratların karın boşlukları açılarak alınan karaciğer dokuları makroskobik olarak incelendikten sonra mikroskobik bulgular yönünden değerlendirilmek amacıyla %10'luk formaldehitte saklanmıştır. Mikroskobik inceleme Luna'nın (8) bildirdiği yöntemle göre yapılmıştır. Parafin bloklardan mikrotom ile 5 μm kalınlığında kesitler alınarak, bu kesitlere rutin hemotoksilen-eozin boyaması yapılmış, kalsiyum-formolde tespit edilen dokulardan kriostatla 10 μm kalınlığında kesitler alınarak Sudan Siyahı ile boyanmıştır.

GSH analizi: Beutler ve ark.'nın (9) bildirdiği yöntemle göre yapılmıştır. Bu yöntemde heparinli kanın distile su ile hazırlanan hemolizatında, -SH taşımayan tüm proteinler çöktürülmektedir. Elde edilen berrak sıvıda -SH gruplarının DTNB ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülmektedir.

MDA analizi: Yoshioka ve ark.'nın (10) bildirdiği yöntemle göre yapılmıştır. Lipit içerik, düşük pH ve

TBA varlığında ısıtıldığında MDA molekülü ile iki TBA molekülünün birleşmesi sonucu oluşan kromojenden dolayı 532-535 nm’de absorbans veren stabil kırmızı-pembe renk meydana gelmektedir. Kalibrasyon için 2,5-5-10 ve 20 µmol/L derişimlerinde olacak şekilde, alkolde çözünmüş 1.1.3.3-tetraetoksipropen kullanılmıştır.

ADA analizi: Giusti ve Galanti’nin (11) bildirdiği yonteme göre yapılmıştır. ADA analizinde kullanılan çözeltiler sudaki amonyak varlığı ihtimaline karşı, cam bir geri soğutucu aracılığıyla distile suyun tekrar damıtılması sonucu elde edilen su ile hazırlanmıştır. Bu yonteme göre substrat olarak kullanılan adenozin, numune ile 37 °C’de 1 saat inkübe edildiğinde amonyak meydana gelmekte, oluşan amonyak da alkali ortamda sodyum hipoklorit ve fenol ile kuvvetli olarak mavi renkli indofenol oluşturmaktadır. Amonyak derişimi indofenolün absorbansıyla doğru orantılıdır. Sodyum nitroprussid katalizör etkisi göstermektedir.

İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Elde edilen verilerin istatistik analizlerinin yapılmasında SPSS Windows 6.0 paket programından yararlanılmıştır. Gruplar arasındaki ortalama değerler arasındaki farklılıklar varyans analizi (ANOVA) ve Duncan testi ile belirlenmiştir. Sonuçlar, ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

BULGULAR

Kontrole göre, II. ve III. gruplarda, plazma ADA aktivitelerinde azalma ($p<0,001$) ve grup II’de plazma MDA konsantrasyonlarında artış ($p<0,001$) bulunurken, GSH derişimlerinde, grup II ve III’te azalma ($p<0,001$) tespit edilmiştir. Grup III’te II’ye göre MDA düzeyinde önemli derecede düşüş ($p<0,001$) bulunurken, GSH düzeyinde artış ($p<0,001$) tespit edilmiştir (Tablo I).

Grup II ve III’teki hayvanlarda özellikle denemenin 2. gününden başlayan ve 4. günde en düşük seviyeye ulaşan ağırlık azalmaları tespit edilmiştir. Bu gruplarda denemenin 4. gününden itibaren ağırlıkta bir toparlanma görülmüştür. Ancak grup III’teki ağırlık kazanımı, denemenin sonunda başlangıçtaki ağırlık değerlerine oldukça yakın bulunmuştur (Şekil 1).

Makroskobik incelemede Grup II’nin karaciğerleri

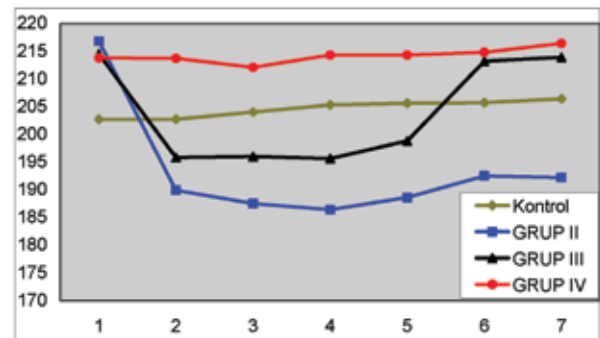
şiddetli hiperemik görünümde iken, grup III’ün sarımsak soluk renkli, her ikisinin de kapsulalarının pürüzlü ve yaygın bir şekilde toplu iğne ucu büyüklüğünde çöküntülerle kaplı olduğu gözlenmiştir (Şekil 2 A, B).

Mikroskobik incelemede grup II’nin vena sentralislerinde şiddetli hiperemi, II ve III’üncü gruplarda nekroz odaklarının olduğu, bazı hepatositlerin çekirdeklerinin oldukça büyük ve koyu, bazı hepatositlerin çekirdeklerinin ise oldukça soluk renkte boyandığı, remark kordonlarının dizilimlerinin bozulduğu, grup III’ün karaciğerlerinin perivasküler bölgelerinde mononükleer hücre infiltrasyonunun olduğu gözlenmiştir (Şekil 3-6).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda ω-3 yağ asitlerinin başta kanser ve kaşeksi (12) olmak üzere, kalp damar hastalıkları (13), görme ve beyin fonksiyonlarının gelişimi (14) ve bağışıklık sistemi (15) gibi bir çok sistem üzerine yararlı etkilerinin olduğu bildirilmektedir.

DEN karsinojenik bileşiklerden birisi olup, iş sahalarında (kauçuk endüstrisi gibi) (16), sigara dumanı (17), alkollü



Şekil 1. Ratlarda 7 gün boyunca kaydedilen ortalama canlı ağırlık değişimleri (Düşey eksen ortalama canlı ağırlıkları, yatay eksen ise günleri göstermektedir).



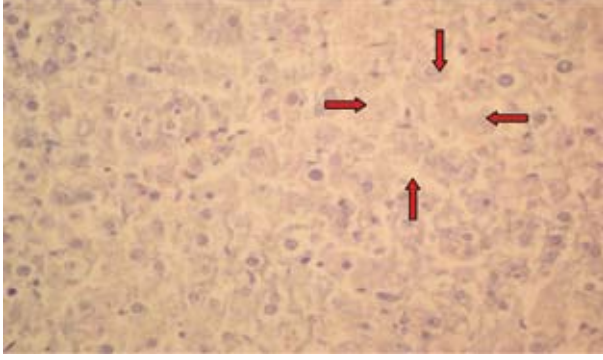
Şekil 2. Karaciğerlerin makroskobik görüntüleri (A: Grup II, B: Grup III ve C: Grup IV).

Tablo 1: Gruplarda ADA Aktivitesi ile GSH ve MDA Düzeyleri.

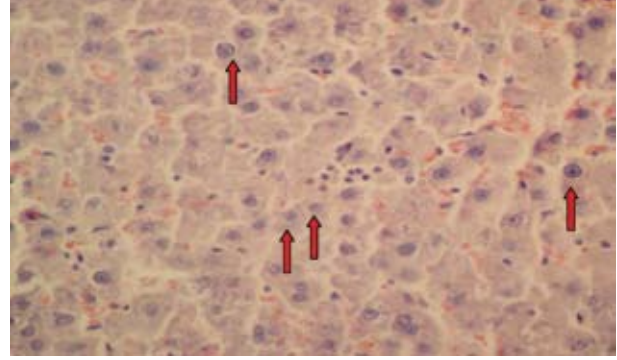
	KONTROL	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	p
ADA (U/L)	6,83±0,47 ^a	2,68±0,26 ^b	3,31±0,31 ^b	6,89±0,36 ^a	<0,001
MDA (µmol/L)	4,24±0,16 ^b	6,28±0,34 ^a	3,82±0,20 ^b	4,10±0,13 ^b	<0,001
GSH (mg/dl)	58,68±1,88 ^a	29,11±1,58 ^c	52,83±1,37 ^b	55,80±1,06 ^{ab}	<0,001

Gruplarda ADA aktivitesi ile GSH ve MDA düzeyleri. Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

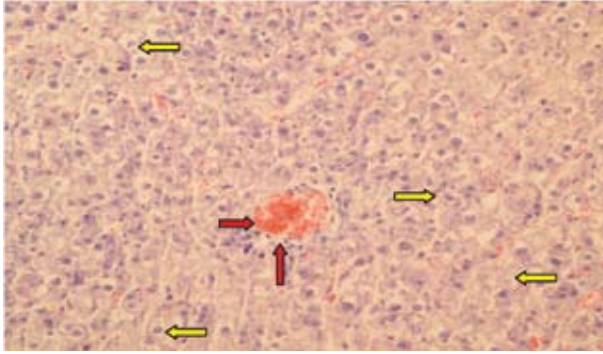
a,b,c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklar önemlidir ($p<0,001$) (SPSS istatistik programında Duncan testine göre, a>b>c).



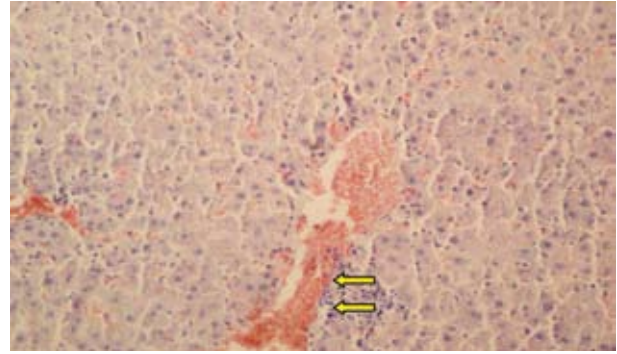
Şekil 3: Hidropik dejenerasyon ve fokal nekrozlar (kırmızı oklar) Grup II, karaciğer, x 40.



Şekil 5: Anizonükleozis (kırmızı oklar), Grup II, karaciğer, x 25.



Şekil 4: Hiperemi (kırmızı ok) ve hidropik dejenerasyon (sarı oklar), Grup II, karaciğer, x 25.



Şekil 6: Hiperemi ve perivasküler yerleşimli mononükleer hücre infiltrasyonu (sarı oklar) Grup III, karaciğer, x 10.

içkiler (18) ve işlenmiş et ürünlerinde bulunmakta, bazı terapötik ilaçların karaciğerde metabolize edilmesi sırasında da ortaya çıkabilmektedir (19). DEN, sitokrom p-450 bağlı monooksijenaz sisteminin enzimleri tarafından uzaklaştırılmakta, bu sırada meydana gelen reaktif ara ürünler, bağlayıcı enzimlerin katalitik bölgelerine ilgileri az olduğu için idrarla atılamayıp önemli hücre bileşenleriyle kovalan bağlar oluşturarak nekroz, mutasyon ve kansere neden olmaktadır (20).

Yapılan bu çalışmada DEN verilmesinin ardından meydana gelen vücut ağırlığındaki azalmalar Tessitore'nin (21) yaptığı çalışmayla benzerlik göstermektedir. Bu durumun, verilen maddenin toksik etkisinden dolayı meydana gelen iştahsızlık nedeniyle gıda alımının azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. DEN'e ek olarak ω -3 yağ asiti verilen grupta 4. günden sonra meydana gelen ağırlık kazanımının DEN verilen gruba göre daha fazla olmasının ω -3 yağ asitlerinin koruyucu rolünü gösterebileceği kanaatine varılmıştır.

Çalışmada tespit edilen hepatositlerdeki ciddi hidropik dejenerasyon, piknoz, fokal nekroz, orta derecede mononükleer hücre infiltrasyonu ve karaciğer kesitlerinde hiperemik kan damarları bulguları, yapılan diğer çalışmalarla (4, 20) benzerlik göstermektedir. Tespit edilen bu bulgular DEN'in karaciğerde ciddi bir hasar meydana getirdiğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda ratlara toksik dozda (200 mg/kg) DEN verilmesinin ardından karaciğer dokusunda MDA

miktarının arttığı ileri sürülmüştür (4, 19). Bu çalışmada da DEN verilen grupta plazma MDA miktarının önemli derecede arttığı tespit edilmiş olup, DEN'in özellikle karaciğerde olmak üzere toksik etkilerine bağlı olarak lipid peroksidasyonu artışına sebep olabileceği düşünülmüştür.

DEN verilmesinin GSH, süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidanların miktarını azalttığı (4, 20), DEN yanında GSH verilmesinin ise SOD aktivite düşüşünü önlediği, bu durumun da antioksidan bir molekül olan GSH'nin reaktif metabolitler üzerine temizleyici bir etkiye sahip olması gerçeğine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (4).

DEN enjekte edilerek ve kısmi hepatektomi uygulanarak karaciğer kanserinin uyarıldığı bir çalışmada ratlara farklı oranlarda ω -6/ ω -3 yağ asiti içeren gıda verilmiş ve çalışmanın sonunda balık yağındaki ω -3 yağ asitlerinin ratlarda karaciğer kanseri oluşumu aşamasında lipid peroksidasyonunu düşürerek, mikrozomal membran stabilizasyonunu ve karaciğer mikrozomal monooksijenaz sistemini uyarak koruyucu bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (22).

Sarsılmaz ve ark. (23), 30 gün boyunca ω -3 yağ asiti verdikleri sağlıklı ratlarda beyin dokusunda MDA miktarının azaldığını ve SOD aktivitesinin önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. MDA miktarının ve ksantin oksidaz aktivitesinin azalmasının yanı sıra SOD aktivitesinde meydana gelen artışın, ω -3 yağ

asitlerinin antioksidan sistem üzerine düzenleyici etkisini gösterebileceğini, ω -3 yağ asitlerinin doğrudan hücre zarı yapısına girip fosfolipaz A₂'yi inhibe ederek ve böylece zar yapısının stabilizasyonunu sağlayarak, reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyonu üretimini azaltmak suretiyle koruyucu rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yapılan bu çalışmada da diğer çalışmalara (22, 23) benzer olarak ω -3 yağ asitlerinin artan lipid peroksidasyonunu düşürerek ve azalan GSH miktarını artırarak serbest radikal hasarına karşı koruyucu rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Üstündağ ve ark. (5) ratlarda, Altuğ ve ark. (6) köpeklerde karbonditetraklorürle oluşturdukları karaciğer intoksikasyonunda serum ADA aktivitesinin önemli derecede arttığını ve bu artışın karaciğer hasarının teşhisinde önemli bir gösterge olabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada ise, kontrol grubuna göre DEN verilen grupta plazma ADA aktivitesinde düşme ($p<0,001$) tespit edilmiştir. Yapılan literatür incelemelerine dayanılarak bu düşüşün olası sebepleri aşağıda sıralanmıştır.

ADA aktivitesi immün sistemin aktive olduğu durumlarda artmakta (24), baskılandığında ise azalmaktadır (25). Farelerde yapılan bir çalışmada DEN ile meydana getirilen kanserleşme olayının erken döneminde kontrol grubuna göre karaciğer dokusu ADA aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir düşme tespit edilmiş ve DEN'in özellikle kanser oluşum sürecinin başında immün sistemde baskılanmaya neden olabileceği ileri sürülmüştür. Yapılan bu çalışmada da azalan ADA aktivitesinin DEN'in immün sistemi baskılamasından dolayı olabileceği düşünülmüştür.

Kaynaklar

- 1-Rose DP, Connolly JM. (1999) Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol. Ther.* 83 (3), 217-244.
- 2-Calder PC. (2003) Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: Potential application in surgical and trauma patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 36 (4), 433-446.
- 3-Okuyama H, Kobayashi T, Watanabe S. (1996) Dietary fatty acids. The n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. *Prog. Lipid Res.* 35 (4), 409-457.
- 4-Akyüz F, İnal M, Bayçu C, Kanbak G. (2001) Changes in antioxidant status and lipid peroxidation at liver and kidney tissues of the rats that were given diethylnitrosamine. *Ann. Med. Sci.* 10 (2), 50-54.
- 5-Üstündağ B, Bahçecioglu İH, Canatan H, Özercan İH, Çinkılıç N. (1999) Deneyel siroz oluşturulmuş ratlarda serum adenozin deaminaz (ADA) aktivite düzeyleri. *Türk J. Biochem.* 2 (24), 16-21.
- 6-Altug N, Agaoglu ZT. (2000) Serum adenosine deaminase activity in dogs: its importance in experimental liver intoxication. *Isr. J. Vet. Med.* 55 (4), 129-133.
- 7-Bahçecioglu İH, Kalkan A, Erel Ö, Bingöl NK, Koçköprü İ, Demir A. (2000) Karaciğer sirozlu hastalarda serum adenozin deaminaz ve guanaz aktivite. *T. Klin. J. Gastroenteropatol.* 11(3), 136-140.

Olson ve ark. (26), yaptıkları çalışmada periton içi verilen DEN'in siklik adenozin 3' 5'-monofosfat (c-AMP)-bağımlı protein kinaz aktivitesini arttırdığını belirtmişlerdir. Enerji metabolizmasının incelendiği transgenik farelerde yapılan bir çalışmada ise DEN verildikten sonra enerji ihtiyacının dolayısıyla ATP sentezinin artabileceği öne sürülmüştür (27). Yapılan bu çalışmada ADA aktivitesindeki azalmanın bir başka sebebinin de DEN verilmesiyle meydana gelen enerji ihtiyacındaki artışa bağlı olarak, artan ATP sentezinde adenozinin kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak DEN'in toksik etkilerine bağlı olarak oksidatif stresi arttırabileceği, ω -3 yağ asitlerinin ise meydana gelen bu strese karşı lipid peroksidasyonunu önleyerek, redükte glutatyon gibi antioksidan moleküllerin miktarını arttırarak ve bir serbest radikal temizleyicisi gibi rol oynayarak koruyucu olabileceği kanaatine varılmıştır. DEN'in ADA aktivitesinde meydana getirdiği azalmanın ω -3 yağ asitleri tarafından etkili bir şekilde önlenemediği, bu nedenle de bu konu üzerine daha ileri araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

BİLGİLENDİRME VE TEŞEKKÜR

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonu tarafından desteklenmiş olan (Proje no: 2003-VF-014) aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır.

- 8-Luna LG. (1968) Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, s.222-226, McGraw-Hill Book Company, New York.
- 9-Beutler E, Duron O, Kelly BM. (1963) Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61, 882-888.
- 10-Yoshioka T, Kawada K, Shimada T., Mori M. (1979) Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 135 (3), 372-376.
- 11-Giusti G, Galanti B. (1984) Methods of Enzymatic Analysis, s. 315-323, Verlag Chemie, Weinheim.
- 12-Whitehouse AS, Smith HJ, Drake JL, Tisdale MJ. (2001) Mechanism of skeletal muscle protein catabolism in cancer cachexia by eicosapentaenoic acid. *Cancer Res.* 61, 3604-3609.
- 13-Supari F, Ungerer T, Harrison DG, Williams JK. (1995) Fish oil treatment decreases superoxide anions in the myocardium and coronary arteries of atherosclerotic monkeys. *Circulation* 91 (4), 1123-1128.
- 14-Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. (2003) Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics* 111 (1), 39-44.

- 15-Fritsche KL, Byrge M, Feng C. (1999) Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids from fish oil reduce interleukin-12 and interferon-gamma production in mice. *Immunol. Lett.* 65, 167-173.
- 16-Straif K, Weiland SK, Bungers M, Holthenrich D, Taeger D, Keil U. (2000) Exposure to high concentrations of nitrosamines and cancer mortality among a cohort of rubber workers. *Occup. Environ. Med.* 57, 180-187.
- 17-Goodsell DS. (2004) The molecular perspective: Nicotine and nitrosamines. *Oncologist* 9 (3), 353-354.
- 18-Acet HA, Traş B, Karahan İ, Baş AL. (1993) Alkollü içkilerde nitrozamin düzeylerinin belirlenmesi. *Türk J. Vet. Anim. Sci.* 17, 275-279.
- 19-Kaya S. (2002) Soframızdaki tehlike: 4. Gıdaların pişirilmesi, işlenmesi, saklanması sırasında oluşan zehirli-zararlı maddeler. *Türk Vet. Hek. Birl. Derg.* 2 (3-4), 50-52.
- 20-Chiarello PG, Iglesias AC, Zucoloto S, Moreno F, Jordao AA Vannucchi H. (1998) Effect of a necrogenic dose of diethylnitrosamine on vitamin E-deficient and vitamin E-supplemented rats. *Food Chem. Toxicol.*, 36: 929-935.
- 21-Tessitore L. (2000) Apoptosis and cell proliferation are involved in the initiation of liver carcinogenesis by a subnecrogenic dose of diethylnitrosamine in re-fed rats. *J. Nutr.*, 130: 104-110.
- 22-Kim Y, Ji SK, Choi H. (2000) Modulation of liver microsomal monooxygenase system by dietary n-6/n-3 ratios in rat hepatocarcinogenesis. *Nutr. Cancer*, 37(1): 65-72.
- 23-Sarsılmaz M, Songur A, Özyurt H, Kuş İ, Özen OA, Özyurt B, Söğüt S, Akyol Ö. (2003) Potential role of dietary ω -3 essential fatty acids on some oxidant/ antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 69: 253-259.
- 24-Erel O, Kocyigit A, Gurel MS, Bulut V, Seyrek A, Ozdemir Y. (1998) Adenosine deaminase activities in sera, lymphocytes and granulocytes in patients with cutaneous leishmaniasis, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 93(4): 491-494.
- 25-Türközkan N, Özkurt Ş, Arıcıoğlu A, Görgün M, Özkurt M. (1987) Dietilnitrozaminle oluşturulan kanserleşme olayının erken döneminde fare karaciğer adenoazin deaminaz aktivitesindeki değişimler. *Türk J. Biochem.*, XII (3): 19-24.
- 26-Olson JW, Russell DH. (1979) Prolonged induction of hepatic ornithine decarboxylase and its relation to cyclic adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase activation after a single administration of diethylnitrosamine. *Cancer Res.*, 39: 3074-3079.
- 27-Arai T, Ogawa T, Nakamura M, Hosoya M, Ohnishi Y. (2002) Changes in hepatic enzyme activities in transgenic mice carrying human prototype c-Ha-ras gene treated with diethylnitrosamine. *J. Vet. Med. Sci.*, 64 (11): 1065-1067.